

# ACTA BIOLOGIAE EXPERIMENTALIS

VOL. IV.

SUBVENTIONNÉ PAR LE MINISTÈRE DE L'INSTRUCTION PUBLIQUE

VARSOVIE  
RÉDACTION ET ADMINISTRATION:  
INSTITUT NENCKI (SOC. SCI. VARS.)  
8 RUE ŚNIADECKI  
1930

## Acta Biologiae Experimentalis

Czasopismo, ogłaszające rozprawy naukowe z zakresu fizjologii i chemii fizjologicznej roślin i zwierząt, morfologii doświadczalnej, zoopsychologii oraz dziedzin pokrewnych. Ponadto — dział p. t.: „Bibliographia Polonica”.

Wydawnictwo to ukazuje się w liezbie około dwu tomów rocznie.

Tom III, 1929, zawiera następujące rozprawy:

St. J. PRZYŁĘCKI (Warszawa): Urlika za i jej działanie. I. Otrzymywanie. — J. DEMBOWSKI (Warszawa): Ruchy pionowe *Paramecium caudatum*. I. Względne położenie środka ciężkości w ciele wymoczka. — T. ROGOZIŃSKI i M. STARZEWSKA (Kraków): Skład błon komórkowych owsa w różnych stadiach rozwoju. — St. KUCZKOWSKI (Warszawa): Badania nad zjawiskami wydzielniczo-chłonnymi w jelicie cienkim. I. Wydzielanie elektrolitów. — E. GRINWALD (Warszawa): Badanie czynników rozwoju hodowli pierwotniaków. Czy istnieje zjawisko allelokatalizy w hodowlach *Colpidium colpoda* Ehrb.? — Z. KRASIŃSKA (Warszawa): Przyczynki do energetyki kiełkowania słonecznika. — W. NIEMIERKO (Warszawa): Wpływ pracy na zawartość tłuszczów w mięśniu żaby. — R. J. WOJTUSIAK (Kraków): O reagowaniu na światło normalnych i oślepionych larw toniaka (*Aclisus*). — L. JABUREK (Lwów): Badania nad stosunkami czasowymi mitoz w tkance rosnącej. — J. DEMBOWSKI (Warszawa): Ruchy pionowe *Paramecium caudatum*. II. Wpływ niektórych warunków zewnętrznych. — A. MOKŁOWSKA (Lwów): Badania nad składem chemicznym hemolimy gąsienicy wilczomlecza (*Deilephila euphorbiae*). — M. BOGUCKI (Warszawa): Wpływ ciśnienia osmotycznego środowiska na powstawanie periwitelinu w zapłodnionych jajach jeźwoceów (*Paracentrotus lividus* L.). — R. J. WOJTUSIAK (Kraków): O reagowaniu rozgwiazdy *Asterias rubens* L. na bodźce chemiczne parzyste. — H. SIKORSKI i R. LENTZ (Warszawa): Badania nad alkalozą i acydozą. III. Działanie zmian stężenia jonów wodorowych na serce żaby, zatrute chloroformem. — H. JAWŁOWSKI (Wilno): Über die Funktionen des Zentralnervensystems bei *Lithobius forficatus* L. — BIBLIOGRAPHIA POLONICA.

Cena pojedynczego tomu (20—25 arkuszy): w prenumeracie—20 zł., oddzielnie—25 zł. Współpracownicy czasopisma otrzymują 10% ustępstwa.

Zgłoszenie do prenumeraty przyjmuje:

Administracja Instytutu im. Nenckiego  
(Warszawa, ul. Śniadeckich 8, tel. 536-31).

Skład główny:

„Ekspedycja Kasy im. J. Mianowskiego”  
(Warszawa, Nowy-Świat 72, Pałac Staszica).

# ACTA BIOLOGIAE EXPERIMENTALIS

VOL. IV.

SUBVENTIONNÉ PAR LE MINISTÈRE DE L'INSTRUCTION PUBLIQUE

VARSOVIE  
RÉDACTION ET ADMINISTRATION:  
INSTITUT NENCKI (SOC. SCI. VARS.)  
8 RUE ŚNIADECKI  
1930

ACTA BIOLOGIAE  
EXPERIMENTALIS

VOL. IV.

Redaktor:

K. BIALASZEWICZ.

REDAKTOR: K. BIALASZEWICZ, WARSZAWA, UL. KRZYWYKALNA 10.

WARSZAWA  
REDAKTOR I ADMINISTRATOR:  
INSTYTUT KIMII (SOK. POL. WARSZ.)  
UL. KRZYWYKALNA 10

Druk i Lit. „JAN COTTY” w Warszawie, Kapucyńska, 7.

<http://rcin.org.pl>

## S o m m a i r e.

№№	pp.
1. <b>M. Laskowski.</b> O pobieraniu tlenu przez skórę u żaby. <i>Über die Sauerstoffaufnahme durch die Haut beim Frosche.</i> [Physiologisches Laboratorium des Nencki-Institutes in Warschau] . . . . .	1
2. <b>Z. Koehler †.</b> Rozpuszczalność związków fosforowych zarodków żyta. <i>La solubilité des composés phosphorés des embryons du seigle.</i> [Laboratoire de Chimie Agricole de l'Université à Cracovie]. . . . .	33
3. <b>A. Dmochowski.</b> O purynach mięśni. Część I i II. <i>The purines of muscle. Part I and II.</i> [Laboratory of Chemical Physiology, University of Warsaw] . . . . .	51
4. <b>M. Chejfec.</b> Długość życia <i>Paramecium caudatum</i> w związku z odżywianiem. <i>Die Lebensdauer von Paramecium caudatum in Abhängigkeit von der Nahrungsmenge.</i> [Laboratorium für Experimentelle Morphologie des Nencki-Institutes in Warschau]. . . . .	73
5. <b>Br. Zawadzki.</b> Badania nad rozmieszczeniem niektórych krystaloidów w układach koloidalnych, zbliżonych do cytoplazmy. <i>Researches on the distribution of certain crystalloids in colloidal systems similar to cytoplasm.</i> [Physiological Laboratory of Nencki-Institute in Warsaw] . . . . .	119
6. <b>Z. Czerniewski.</b> <i>Spirostomum ambiguum</i> Ehrbg. Studja biologiczne. Cz. I: Hodowle w odwarze siana. Ruch wodniczok pokarmowych, utworzonych w zawieszinach karminu i żółtka. Mechanizm skurczu. <i>Spirostomum ambiguum Ehrbg. Biologische Studien. I. Zucht im Heuaufguss. Bewegung der Nahrungsvakuolen, welche die Karmin- und Eidotterteilchen enthalten. Kontraktionsmechanismus.</i> [Laboratorium für allgemeine Biologie des Nencki-Institutes in Warschau] . . . . .	151
7. <b>D. Assenhajm.</b> O ilościowym oznaczeniu puryn w kwasie nukleinowym drożdżowym metodą Steudela. <i>Über die quantitative Bestimmung der Purinbasen in Hefenukleinsäure nach Steudel's Methode.</i> [Physiologisch-chemisches Institut der Universität in Warschau]. . . . .	167
8. <b>O. Krauze.</b> Przyczynek do poznania zachowania się dżdżownicy. <i>Beitrag zur Kenntnis des Verhaltens des Regenwurmes.</i> [Laboratorium der Experimentellen Morphologie, Nencki-Institut in Warschau] . . . . .	175

9. **T. Cygowa.** Studja anatomiczno-ekologiczne nad liśmi storczyków krajowych. *Recherches anatomiques et écologiques sur les feuilles d'Orchidées indigènes.* [Institut de Systématique des Plantes de l'Université à Varsovie] . . . . . 20 207
10. **J. M. Zdunkiewicz.** O rozkładzie puryn w różnych warunkach autolizy. *Decomposition of purines under various conditions of autolysis.* [Department of Physiological Chemistry, University of Warsaw] . . . . . 24 241
11. **E. Eisenberg-Hamburg.** Wpływ soli strontu na poruszanie się wymoczka *Paramecium caudatum*. Rola wapnia i stężenia jonów H<sup>+</sup>. *L'influence des sels de Sr sur le mouvement du Paramecium caudatum. Le rôle des sels de Ca et de la concentration en ions hydrogènes.* [Laboratoire de Physiologie Générale de l'Université Libre à Varsovie] . . . . . 26 261
12. **J. V. Supniewski.** Nowy przyrząd do określania gazowej przemiany materji małych zwierząt. *A new apparatus for the gaseous metabolism determination of the small animals.* [Pharmacological Laboratory, University of Cracow] . . . . . 27 279
13. **L. Mazurkiewicz and H. Bukowiecki.** Photomicrography in the dark. *Mikrofotografja w ciemności.* [Institute of Pharmacognosy and Medicinal Botany of the University of Warsaw] . . . . . 28 287
14. **Bibliographia Polonica** . . . . . 29 293

[Zakład Fizjologii Instytutu im. Nenckiego].

M. Laskowski.

**O pobieraniu tlenu przez skórę u żaby.**

*Über die Sauerstoffaufnahme durch die Haut beim Frosche.*

Rękopis nadesłany w dniu 1. IX. 1929 r.

Der Zweck der vorliegenden Arbeit war die Faktoren der Hautatmung in der Luft und im Wasser zu vergleichen und den spezifischen Einfluss des Wassermilieu's auf die Sauerstoffaufnahme zu ermitteln.

Um individuelle Schwankungen zu vermeiden, wurden alle vergleichende Messungen an ein und demselben Frosch ausgeführt.

Der Verfasser trachtete zunächst zu entscheiden, ob unter gleichen Bedingungen (Temperatur, Sauerstoffdruck) die Intensität der Sauerstoffaufnahme im Wasser und in der Luft verschieden ist. Die diesbezüglichen bis jetzt von BOHR ('00) und KROGH ('04) — zwar an einem, wie es scheint ungenügenden Material ausgeführten — Untersuchungen haben diese Autoren zu zwei, einander widersprechenden Folgerungen veranlasst. Der Verfasser der vorliegenden Arbeit führte seine Versuche in der Weise aus, dass er die Intensität der Sauerstoffaufnahme durch die Haut, nach Ausschaltung der Lungenatmung, ebensowohl im Wasser, wie auch in der Luft prüfte. Die Versuche im Wasser wurden in einem Respirationsapparate — bei durchfliessendem Wasser — vorgenommen (Fig. 1). Das Prinzip dieses Apparates ist demjenigen von EGE und KROGH ('14) ähnlich. Der Sauerstoffgehalt des Wassers wurde nach der Methode von WINKLER bestimmt. Die Intensität der Sauerstoffaufnahme in der Luft wurde in dem in Fig. 2 abgebildeten Apparate gemessen. Auf Grund der in Tab. 1 angegebenen Resultate der Versuche glaubt sich der Verfasser zu der Folgerung berechtigt, dass Frösche mit ausgeschalteter Lungenatmung bei etwa 160 mm Hg Sauerstoffpartialdruck,

sowohl in der Luft, als auch im Wasser gleiche Mengen von Sauerstoff aufnehmen.

Der Verfasser untersuchte ebenfalls den Einfluss des Sauerstoffpartialdruckes auf die Sauerstoffaufnahme. Die Intensität der Sauerstoffaufnahme im Wasser wurde bei 80—250 mm Hg Sauerstoffpartialdruck gemessen. Wie aus Tab. II, III, IV und V, Fig. 3 und 4 ersichtlich, ist die Intensität der Sauerstoffaufnahme dem Sauerstoffdrucke proportional.

Es wurde ferner der Einfluss der Temperatur auf die Intensität der Sauerstoffaufnahme durch die Haut untersucht. Die Sauerstoffaufnahme wurde bei 4°, 14° und 24°, jedesmal bei ein- und demselben Individuum, stets bei 160 mm Hg Sauerstoffpartialdruck und in den beiden Milieux: in der Luft (Tab. VI) und im Wasser (Tab. VII) gemessen. Der durch Steigerung der Temperatur um 10° hervorgerufene Zuwachs der Sauerstoffaufnahme durch die Haut ist von der Höhe der Temperatur unabhängig und in den beiden Milieux ungefähr gleich:  $Q_{10} = 1.6$ . Der scheinbare Widerspruch mit den diesbezüglichen Resultaten PÜTTER'S ('14, '17) lässt sich dadurch erklären, dass, im Gegensatz zu dem genannten Autor, in der vorliegenden Arbeit die Sauerstoffaufnahme als Funktion einer einzigen Veränderlichen (Temperatur, oder Sauerstoffpartialdruck) untersucht wurde. Der vom Verfasser festgestellte Koeffizient ( $Q_{10} = 1.6$ ) ist somit kleiner als derjenige, der für die gleichzeitige Lungen- und Hautatmung bestimmt wurde ( $Q_{10} > 2$ , KROGH '14), grösser dagegen als der von KROGH ('19) für die Sauerstoffdiffusion bei isolierten Geweben ermittelte Koeffizient ( $Q_{10} = 1.1$ ). Der Verfasser schliesst daraus, dass ausser Veränderungen der Diffusionsgeschwindigkeit, auch noch spezifische Regulationen der Sauerstoffaufnahme durch die Haut bei Temperaturwechsel angenommen werden dürfen.

Der Verfasser vergleicht ferner die Kurve des Zuwachses der Sauerstoffaufnahme durch die Haut bei Temperatursteigerung mit der analogen von KROGH ('14) bei normal (Lunge und Haut) atmenden Fröschen aufgezeichneten Kurve. Wie aus Fig. 5 ersichtlich, steigt die erstere Kurve weniger steil. Daraus schliesst der Verfasser, dass der Anteil der Haut in der Gesamtsauerstoffaufnahme mit Steigerung der Temperatur abnimmt.

Zwecks Feststellung der ev. Nachwirkung des Aufenthaltes in einem Milieu wurden Frösche von der Luft ins Wasser und



vice versa übertragen. Bei Überführung normaler Frösche aus der Luft ins Wasser blieb die Intensität der Sauerstoffaufnahme durch die Haut, ganz ungeachtet der langen Dauer des Versuches, (bis 24 Stunden) unverändert (Tab. VIII und IX). Die geringen Schwankungen, in den Zahlen, welche aus den Tabellen ersichtlich sind, treten auch bei kurzdauernden Versuchen, die ganz exact ausgeführt werden konnten, auf (Tab. X). Wenn hingegen ein normales Tier, welches eine Zeitlang im Wasser verblieb, dann in die Luft übertragen wurde, wo es sowohl durch die Haut als durch die Lungen atmen konnte, liess sich zuerst eine Steigerung, und nach Erreichung eines Maximums, ein Abstieg der Kurve (bis zu einem gewissen Niveau) feststellen (Tab. XI, Fig. 6).

Die im ersten Zeitabschnitte direkt nach Übertragung des Frosches aus dem Wasser in die Luft auftretende Steigerung der Sauerstoffaufnahme erklärt sich durch eine intensivere Lungenatmung, da ja die Hautatmung, wie vorher (Tab. I) erwähnt, keine Änderung bei Wechsel des Milieu erfährt. Der plötzliche Anstieg der Kurve der Sauerstoffaufnahme nach Übertragung des Tieres an die Luft weist auf Sauerstoffmangel, den es im Wasser gelitten hat.

Zwecks Bestimmung dieses Mangels und seiner Abhängigkeit von der Temperatur, prüfte der Verfasser die Luft aus der Lunge eines im Wasser befindlichen Frosches. Auf Grund dieser Versuche konnte festgestellt werden, dass der Sauerstoffgehalt in der Lunge bis unter 1% sinkt, und ferner, dass dieser minimale Sauerstoffgehalt von der Temperatur nicht beeinflusst wird (Tab. XIII). Die Geschwindigkeit, mit welcher der Prozentgehalt des Sauerstoffes in der Lungenluft fällt, ist dagegen durch die Temperatur beeinflusst; bei 14° ist diese Geschwindigkeit 3.5 mal grösser als bei 4° (Tab. XII, Fig. 7).

In Übereinstimmung mit DOLK und POSTMA ('27) wurde beobachtet, dass der Gehalt an CO<sub>2</sub> in der Lungenluft von 0.8 bis zu 1.7% beträgt und weder von der Temperatur, noch von der Dauer des Aufenthaltes des betreffenden Tieres im Wasser abhängt.

Istnienie oddychania skórniego u żaby pierwszy wykazał SPALLANZANI. Późniejsze doświadczenia W. EDWARDSA ('824) potwierdziły ten fakt.

W dalszym ciągu nasunęło się pytanie, jaka część całej wymiany gazowej przypada na oddychanie skórne. REGNAULT i REISET ('49), BERG ('68) i KŁUG ('84)<sup>1)</sup> starali się zbadać to zagadnienie ilościowo, wyniki jednak otrzymane przez tych autorów różniły się od siebie znacznie.

BOHR ('00) pierwszy zwrócił uwagę na jakościową różnicę, istniejącą pomiędzy oddychaniem płucnym i skórnym. Stwierdził on, że po usunięciu płuc iloraz oddechowy wzrasta i przekracza jedność. Usunięcie więc płuc powoduje większe zmiany w ilości pobieranego tlenu, niż w ilości wydzielanego CO<sub>2</sub>.

Wyczerpujące badania KROGHA ('04) wyświetliły rolę, jaką odgrywa oddychanie skórne w całkowitej wymianie gazowej zwierzęcia. KROGH pierwszy zwrócił uwagę na zmiany, jakie zachodzą w natężeniu oddychania w zależności od pory roku, i stwierdził, że intensywność pobierania tlenu przez skórę jest w ciągu całego roku stała i że zwierzę wydziela znacznie więcej CO<sub>2</sub> przez skórę, niż przez płuca. Jako główny wniosek swojej pracy autor ten podaje, że oddychanie skórne jest niezależne od bezpośredniego wpływu systemu nerwowego i dokonywa się wyłącznie na podstawie praw fizycznych (dyfuzja).

Wyniki KROGH'A, dotyczące wpływu pory roku na pobieranie tlenu potwierdzili ostatnio DOLK i POSTMA ('27).

We wszystkich powyższych pracach bardzo mało miejsca poświęcano analizie warunków oddychania skórniego. Wszystkie dane, dotyczące tego zagadnienia, są to najczęściej fragmentaryczne doświadczenia, wiążące się tylko pośrednio z głównymi zadaniami pracy. Wyniki, bezpośrednio odnoszące się do interesującego nas zagadnienia, dadzą się streścić w sposób następujący.

DISSARD ('93) badał wpływ wilgotności środowiska zewnętrznego na oddychanie żaby. Autor przytacza tylko jedno doświadczenie, w którym—po usunięciu oddychania płucnego przez przewiązanie tętnicy płucnej—badał wydzielanie CO<sub>2</sub> przez skórę w wodzie oraz w powietrzu wilgotnym i suchem. W doświadczeniu tem żaba wydzielała w wodzie 0.0605 g CO<sub>2</sub> na kg/godz., w powietrzu wilgotnym 0.051 g, w powietrzu suchem 0.049 g. Autor na podstawie tego jednego doświadczenia dochodzi do wniosku, że zwiększenie wilgotności środowiska otaczającego powoduje zwiększenie ilości wydzielanego przez skórę CO<sub>2</sub>.

---

<sup>1)</sup> Ograniczam się do podania tylko ważniejszych prac dla wykazania rozwoju zagadnienia. Literatura została wyczerpująco omówiona przez WINTERSTEINA ('21).

BOHR ('00) i KROGH ('04) badali natężenie pobierania tlenu przez skórę w środowisku powietrznym i wodnym. BOHR znalazł, że przy jednoczesnym oddychaniu płucami i skórą żaby pobierały  $141.1 \text{ cm}^3 \text{ O}_2$  na kg/godz. Natomiast w przypadku oddychania skórniego w wodzie zużycie wynosiło  $134.4 \text{ cm}^3 \text{ O}_2$  na kg/godz. W innych doświadczeniach, w których usuwano płuca i badano oddychanie skórne w powietrzu, BOHR znajdował liczby znacznie mniejsze. Stąd wynikałoby, że natężenie pobierania tlenu przez skórę jest większe w wodzie, niż w powietrzu.

KROGH ('04) wykonał trzy doświadczenia na pojedynczych żabach, które znajdowały się w słojach z wodą. Tlen oznaczał w gazie wypompowanym przy pomocy pompy rtęciowej. Autor ten stwierdził, że ilość tlenu pobieranego przez skórę w wodzie jest znacznie mniejsza, niż ilość tlenu pobieranego przez skórę i płuca w powietrzu. Posługując się wynikami, otrzymanymi na różnych osobnikach, przekonał się on, że znalezione wartości pobierania tlenu przez skórę w wodzie wahają się w granicach znalezionych dla pobierania tlenu przez skórę w powietrzu. KROGH przyszedł więc do wniosku, że natężenie pobierania tlenu przez skórę w powietrzu i w wodzie jest jednakowe. Wniosek ten jest sprzeczny z wnioskiem BOHRA.

KROGH ('04) wykonał również jedno doświadczenie, w którym badał wpływ temperatury na wydzielanie  $\text{CO}_2$  przez płuca i przez skórę. Z doświadczenia tego wynika, że wraz z obniżeniem się temperatury ilość  $\text{CO}_2$  wydalanego przez płuca zmniejsza się bardziej, niż ilość  $\text{CO}_2$  wydalanego przez skórę.

PÜTTER ('14, '17) zajmował się badaniem wpływu ciśnienia cząstkowego tlenu oraz temperatury na zużycie tlenu przez żabę, oddychającą tylko skórą. Na podstawie swoich doświadczeń, w których mierzył zawartość tlenu w wodzie metodą WINKLERA, PÜTTER wywnioskował, że zależność pomiędzy zużyciem tlenu a ciśnieniem cząstkowym tlenu, panującym w środowisku zewnętrznym, posiada charakter funkcji wykładniczej.

Wpływ temperatury na zużycie tlenu pobranego przez skórę wyraża się według PÜTTERA w tem, że zużycie tlenu zwiększa się  $2\frac{1}{2}$  razy wraz z podniesieniem się temperatury o  $10^\circ$ .

W pracy DOLKA i POSTMY ('27) znajdujemy również dwa doświadczenia, które miały na celu wyjaśnienie wpływu ciśnienia cząstkowego tlenu w powietrzu na pobieranie tego gazu przez skórę przy zachowaniu oddychania płucnego. Autorowie ci stwierdzili, że zmniejszenie zawartości tlenu w powietrzu z 20.9% na 13.8% powoduje zmniejszenie się ilości pobieranego przez skórę tlenu z  $56 \text{ cm}^3$  na  $44 \text{ cm}^3$  na kg/godz.

Jak widzimy, dane bezpośrednio odnoszące się do kwestji wpływu warunków zewnętrznych na oddychanie skórne żaby są naogół dosyć skąpe; ponadto w wielu przypadkach są one sprzeczne, wreszcie — niezawsze metodycznie poprawne.

W pracy niniejszej zająłem się wyłącznie sprawą pobierania tlenu przez skórę u żaby, dążąc do wyjaśnienia wpływu czynników zewnętrznych i wewnętrznych na przebieg tego zjawiska.

W tym celu przeprowadziłem przede wszystkim doświadczenia, które miały rozstrzygnąć, czy środowisko (powietrzne lub wodne) wywiera wpływ na intensywność pobierania tlenu przez powierzchnię ciała zwierzęcia — zagadnienie nie pozbawione ogólnie-ekologicznego znaczenia; następnie chodziło mi o ustalenie zależności między zmianami ciśnienia cząstkowego tlenu, rozpuszczonego w wodzie, oraz zmianami temperatury środowiska zewnętrznego z jednej strony, a natężeniem pobierania tlenu przez skórę — z drugiej, i wreszcie zależało mi na wyświetleniu, czy w warunkach uniemożliwionego oddychania płucnego występują w organizmie zmiany, które mogłyby normować natężenie pobierania tlenu przez skórę.

### Metodyka.

Natężenie pobierania tlenu przez skórę mierzyłem u żab, którym uniemożliwiałem oddychanie płucne. W ciągu doświadczenia starałem się zachować wszystkie warunki zewnętrzne bez zmian, zmieniając tylko ten czynnik, którego wpływ badałem. Większość doświadczeń wykonałem na żabach wodnych *Rana esculenta* L. Dla kontroli przeprowadziłem niektóre doświadczenia na żabach lądowych *Rana temporaria* L. Doświadczenia były wykonywane w środowiskach wodnym lub powietrznym.

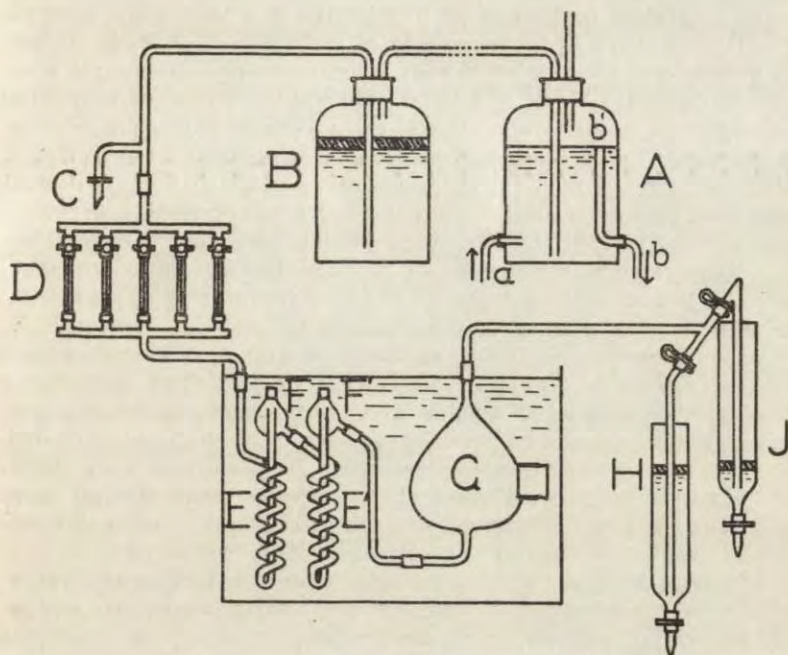
#### A. Doświadczenia w środowisku wodnym.

Ten typ doświadczeń nie wymagał zabiegów operacyjnych, gdyż samo zanurzenie zwierzęcia w wodzie uniemożliwiała oddychanie płucne. W celu utrzymania stałej temperatury naczynie, w którym mieściło się zwierzę, było zanurzone w dużym basenie z wodą pojemności przeszło 40 litrów, w którym znajdował się termometr z podziałką co 0.1° C. Temperaturę w basenie zmieniałem w miarę potrzeby, dodając ciepłej wody lub lodu. Dzięki dużej masie wody w basenie, temperatura jej, po doprowadzeniu do wymaganej wysokości, nie zmieniała się więcej, niż o 0.5° w ciągu pół godziny. Doświadczenia były wykonywane w temperaturach od 4° do 24°. Utrzymywałem potrzebną wysokość temperatury, dodając ciepłą wodę lub lód w odstępach piętnastominutowych.

Możliwie stałe ciśnienie cząstkowe tlenu w otoczeniu zwierzęcia starałem się osiągnąć przez umieszczenie zwierzęcia w komorze oddechowej, przez którą przepływał stały prąd wody o możliwie jednakowej zawartości tlenu. W celu obliczenia pobranego przez zwierzę tlenu oznaczałem zawartość tlenu w wodzie dopływającej i wypływającej oraz mierzyłem ilość wody, która w jednostce czasu przepływała przez aparat.

Aparat oddechowy wodny, używany przeze mnie, był zbliżony do aparatu, opisanego przez EGEGO i KROGHA (14). Właściwa komora odde-

chowa *G* (rys. 1) miała kształt czaszy, pokrytej stożkiem. W najniższym punkcie czaszy oraz w wierzchołku stożka były wtopione rurki: doprowadzająca (dolna) i wyprowadzająca wodę (górną). W jednym z boków komory znajdowała się boczna szyjka, zamykana korkiem gumowym. Przez otwór szyjki wprowadzałem i wyjmowałem zwierzę. Pojemność komory wynosiła 339 cm<sup>3</sup>.



Rys. 1. Aparat oddechowy wodny. A — zbiornik wody dopływającej o stałym poziomie wody, B — zbiornik wody dopływającej, zabezpieczonej o stałym poziomie parafiną ciekłą, C — rurka do pobierania próbek wody dopływającej, D — rurki włoskowate regulujące szybkość przepływu wody, E i E' — węzownice, F i F' — bezpieczniki służące do zatrzymywania pęcherzyków gazu, G — komora oddechowa, H i J — odbieralniki.

*Fig. 1. Wasserrespirationsapparat. A — Behälter für das zufließende Wasser, welcher ein konstantes Niveau versichert, B — Behälter für das zufließende, mit Paraffinöl verschützte Wasser, C — Röhrchen zum Entnehmen der Proben vom zufließenden Wasser, D — Kapillarröhrchen zur Regulierung der Wasserleitungsgeschwindigkeit, E und E' — Spiralen, F und F' — Sicherheitsventile, G — Respirationskammer, H und J — Rezipienten für das abfließende Wasser.*

Wodę, wypływającą z komory, zbierałem kolejno do jednego z dwu odbieralników *H* i *J*, o pojemności po 750 cm<sup>3</sup> każdy. Odbieralniki te w kształcie cylindrów były zaopatrzone w podziałkę, pozwalającą odczytać ilość zebranej w nich wody z dokładnością do 3 cm<sup>3</sup>. W każdym z cylindrów zbierałem wodę w ciągu 15 minut, w wyjątkowych przypadkach — w ciągu 30 minut. Woda w czasie zbierania się w odbieralniku była stale pokryta

grubą warstwą parafiny płynnej, która, jak wiemy (KUBIE '27), jest trudno przepuszczalna dla gazów.

Jako zbiorników wody dopływającej używałem dużych flaszek pojemności około 10 litrów. Jeśli doświadczenie wykonywałem, przepuszczając przez aparat wodę wodociągową, posługiwałem się zbiornikiem *A*, do którego woda dopływała przez rurkę *a*. Rurka odpływowa *bb'* miała na celu utrzymanie stałego poziomu wody w zbiorniku *A*, a tem samym utrzymanie stałego ciśnienia hydrostatycznego w aparacie oddechowym. W szeregu doświadczeń korzystałem z wody o innej zawartości tlenu, niż w wodzie wodociągowej. Wodę o wyższej zawartości tlenu przygotowywałem mieszając wodę wodociągową z wodą, przez którą uprzednio przepuszczalem strumień tlenu z bomby. Wodę o niższej zawartości tlenu przyrządzałem, wypędzając z niej gazy przez ogrzewanie. Wodę przygotowaną w powyższy sposób nalewałem do balonu *B* i powierzchnię pokrywałem grubą warstwą płynnej parafiny. W przypadku używania zbiornika *B* ciśnienie hydrostatyczne zmniejszało się w ciągu doświadczenia. Nie powodowało to jednak większych zmian w szybkości przepływu, gdyż dzięki wielkości zbiornika poziom wody obniżał się w nim bardzo powoli.

Ażeby dowolnie regulować szybkość przepływu, rurka, prowadząca ze zbiornika wody dopływającej, rozgałęziała się przy *D* na szereg rurek włoskowatych, połączonych z pniem głównym rurkami gumowemi, zaopatrzonymi w zaciskacze. Rurki włoskowate miały różną długość i różne średnice światła, przedstawiały więc różne opory dla strumienia wody. Szybkość przepływu wody przez aparat przy otwarciu poszczególnych rurek była oznaczona. Otwierając więc jedną lub więcej rurek, mogłem dowolnie zmieniać szybkość przepływu w granicach od 90 do 600 cm<sup>3</sup>/15'.

Po przejściu przez rurki włoskowate woda wchodziła do dwu węzłownice *EF* i *EF'*, zanurzonych w basenie z wodą. Miały one na celu wyrównanie temperatur pomiędzy wodą dopływającą do komory, a znajdującą się w basenie. Bezpieczniki *F* służyły do zatrzymywania pęcherzyków gazu, które mogłyby powstać podczas ogrzewania się wody w basenie. Po przejściu przez obie spirale woda dochodziła do komory.

Próbki wody dopływającej pobierałem przez rurkę *C*, próbki zaś wody wypływającej — przez rurki dolne odbiorników *H* i *J*.

Tlen rozpuszczony w wodzie oznaczałem metodą WINKLERA. Do analizy brałem po 50 cm<sup>3</sup> wody. Miareczkowałem 0.01 n roztworem Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, którego miano oznaczałem codzień. W ciągu doby zmieniało się ono nieznacznie.

Po rozpoczęciu doświadczenia wodę do analizy brałem najwcześniej po 45 minutach, przeciętnie dopiero po godzinie od chwili wstawienia komory do basenu, gdyż tyle czasu było potrzeba na wyrównanie się temperatur zwierzęcia i otoczenia (DOLK i POSTMA), oraz na ustalenie się zawartości tlenu w komorze.

Natężenie pobierania tlenu obliczałem z różnicy zawartości tlenu w wodzie dopływającej i wypływającej, na podstawie jednej pary liczb w tych tylko wypadkach, gdy chodziło mi o porównanie intensywności pobierania w różnych odstępach czasu. We wszystkich pozostałych do-

świadczeniach miałem conajmniej pięć par oznaczeń zawartości tlenu w wodzie i z nich obliczałem średnie natężenie pobierania. Do obliczania wartości średniej upoważniły mnie wyniki doświadczeń długotrwałych (p. wyniki), w których nie stwierdziłem żadnych kierunkowych zmian w natężeniu pobierania w zależności od czasu przebywania zwierzęcia w wodzie.

Ciążenie cząstkowe tlenu, panujące w komorze oddechowej obliczałem ze wzoru  $p = \frac{v \cdot 760}{\alpha t}$ . Wartość  $v$  (ilość tlenu zawarta w litrze wody) była to średnia pomiędzy przeciętnymi oznaczeń tlenu w wodzie dopływającej i wypływającej. Wartość  $\alpha t$  (współczynnik rozpuszczalności tlenu w wodzie) brałem z tablicy WINLERA (Chemiker Kalender, 1927, str. 326).

## B. Doświadczenia w środowisku powietrznym.

Badając natężenie pobierania tlenu przez skórę w środowisku powietrznym, usuwałem oddychanie płucne drogą zabiegów operacyjnych. Stosowałem metody następujące:

1°. Sposób BOHRA — zasycenie otworu gębowego i zatamponowanie otworów nosowych mokrą watą; ten sposób dawał mi najgorsze rezultaty, gdyż tampony dość łatwo wypadaly.

2°. Usunięcie płuc. Operację wykonywałem zwykle prowadząc cięcia wzdłuż obu boków żaby, zaś płuca po podwiązaniu usuwałem. W innych doświadczeniach robiłem cięcia od strony grzbietowej, przecinając wyrostki poprzeczne kręgów conajmniej po dwa z każdej strony. Usunięcie płuc jest oczywiście sposobem radykalnym, jest to jednak operacja poważna, powoduje często silne krwawienia i prawdopodobnie wywołuje głębokie zmiany w organizmie.

3°. Sposób KROGHA polegający na zatamponowaniu krtani. W tym celu używałem pałeczki szklanej, zakończonej dwiema oliwkami. Jedną z oliwek wprowadzałem do wnętrza krtani, druga pozostawała nazewnątrz, to jest w jamie gębowej. Szczelinę, pozostającą między ścianami głośni a pałeczką, zaszywałem. Sposób ten dawał dobre rezultaty, operacja zaś była prawie bezkrwawa.

Wszystkie operacje wykonywałem pod narkozą, używając w tym celu eteru lub uretanu. Do doświadczeń brałem zwierzęta już obudzone. W przypadkach, kiedy zwierzę było narkotyzowane eterem, używałem je do doświadczeń dopiero na drugi dzień po operacji.

Natężenie pobierania tlenu przez skórę w środowisku powietrznym mierzyłem w aparacie (przedstawionym na rysunku 2), zaopatrzonym u góry w manometr ( $G$ ) i boczną rurkę zamykaną kranem, i posiadającym u dołu rozszerzenie  $A$ , wypełnione roztworem KOH 3-5%. Część dolna zbiornika  $A$  była oddzielona od części górnej  $B$ , w której umieszczano zwierzę, przy pomocy szklanej płytki  $C$ , gęsto podziurawionej. Szlifowany korek  $D$  zamykał górną szyjkę naczynia. W korek była wtopiona rozgałęziona rurka szklana, której jedna część prowadziła nazewnątrz, a druga — do manometru. Manometr  $G$  był wypełniony olejkim goździkowym, którego gęstość oznaczyłem piknometrem. Wynosiła ona 1.038. Objętość całego aparatu wynosiła 387.1 cm<sup>3</sup>.

Ponieważ  $\text{CO}_2$  było chłonięte przez znajdujący się w aparacie ług, ze zmniejszenia ciśnienia powietrza w aparacie obliczałem ilość zużytego tlenu.

Zwierzę umieszczałem w przyrządzie, który następnie zanurzałem w basenie z wodą. W celu wyrównania temperatury zwierzęcia i otoczenia zamykałem przyrząd conajmniej po upływie godziny od chwili umieszczenia go w basenie.

Postępowałem inaczej tylko wtedy, gdy na tem samym zwierzęciu i w tej samej temperaturze wykonywałem dwa pomiary: pierwszy w wodzie, drugi w powietrzu. Wówczas, przed ukończeniem doświadczenia w środowisku wodnym, zanurzałem aparat powietrzny w basenie, aby doprowadzić go do potrzebnej temperatury. Po ukończeniu doświadczenia wodnego szybko przenosiłem zwierzę z komory oddechowej wodnej do aparatu powietrznego. Ponieważ zwierzę już uprzednio posiadało temperaturę wymaganą, zamykałem kran *E* po upływie 5 minut.

Stan manometru odczytywałem co 15 lub co 30 minut, z dokładnością do 0.02 mm słupa cieczy manometrycznej (olejku). Przy obliczaniu ilości pobranego przez zwierzę tlenu wprowadzałem poprawkę na temperaturę i ciśnienie barometryczne. Temperaturę odczytywałem z dokładnością do 0.02°, ciśnienie barometryczne z dokładnością do 0.01 mm Hg.

### C. Badanie gazów w płuc.

W celu oznaczenia zmian, zachodzących w zawartości tlenu w powietrzu płucem żaby, przebywającej w wodzie, wprowadzałem do płuc zwierzęcia i zamykałem w nich pewną ilość powietrza, które następnie analizowałem. Operację wykonywałem metodą KROGHA, z tą tylko różnicą, że zamiast szklanej pałeczki wprowadzałem do krtani podobnego kształtu kanjule. Łącząc kanjule rurką gumową ze strzykawką, wprowadzałem odmierzoną ilość powietrza atmosferycznego do płuc, poczem rurkę gumową przewiązywałem szczelnie sznurkiem. Zwierzę operowane umieszczałem w komorze oddechowej aparatu wodnego o stałej temperaturze. Co pe-

Rys. 2. Aparat oddechowy powietrzny. A — zbiornik zawierający ług, B — właściwa komora oddechowa, C — podziurkowana szklana płytka, G — manometr.

Fig. 2. Luftrespirationsapparat. A — Behälter für Lauge, B — Eigentliche Respirationskammer, C — Durchlöcherter Glasplatte, G — Manometer mit Nelkenöl.

wien czas wyjmowałem żabę z aparatu i pobierałem próbki gazu, przekłuwając strzykawką bok zwierzęcia. Analizowałem gaz w mikrotonometrze KROGHA. Robiłem conajmniej trzy równoległe oznaczenia z każdej próbki gazu.



### I. Wpływ środowiska na pobieranie tlenu przez skórę.

Jak podawałem we wstępie, BOHR i KROGH, badając oddychanie skórne żaby w powietrzu i wodzie, przyszli do wręcz przeciwnych wniosków. Należy jednak podkreślić, że materiał doświadczalny obu autorów był niedostateczny. Uważałem więc, że zagadnienie nie jest ostatecznie rozwiązane i wymaga dalszych badań eksperymentalnych.

Ażeby uniknąć możliwych różnic indywidualnych, wykonywałem na jednej i tej samej żabie oba typy doświadczeń, możliwie bezpośrednio jedno po drugim. Kolejność doświadczeń nie była przestrzegana.

Tabela I zawiera wyniki wszystkich wykonanych przeze mnie doświadczeń. Tylko doświadczenia niedokończone lub wadliwe zostały pominięte. Jak widzimy z rubryki 15, w większości przypadków natężenie pobierania tlenu w wodzie nie różni się więcej niż o 30% od natężenia pobierania tlenu w powietrzu. Różnice te możemy uważać za błąd popełniony podczas wykonywania doświadczeń, gdyż jak widać z liczb, oznaczonych gwiazdką, dwa pomiary wykonane na tej samej żabie i w tym samym środowisku różnią się pomiędzy sobą: w powietrzu o 22.4%, w wodzie o 16.5%. Tylko w trzech doświadczeniach [35, 36(I), 43] natężenie pobierania tlenu w wodzie wynosi mniej, niż 70% pobierania w powietrzu.

W każdym jednak z tych trzech przypadków obniżenie natężenia pobierania tlenu w wodzie mogło być spowodowane przyczynami ubocznymi. W doświadczeniu 35 żaba została zoperowana między doświadczeniem w środowisku wodnym a powietrznym. Pomiarów w środowisku powietrznym dokonano na drugi dzień po operacji. Operacja zaś polegała na usunięciu płuc, przytem zwierzę było usypiane eterem. Doświadczenie 43 skończyło się śmiercią żaby w komorze wodnej. Wartość więc natężenia oddychania w wodzie nie może być uważana za normalną. Różnice, występujące w doświadczeniu 36(I), należy przypisać niedość dokładnemu wyeliminowaniu oddychania płucnego. Po usunięciu bowiem płuc [dośw. 36(II)] wartości pobierania tlenu w obu środowiskach u tej samej żaby różniły się tylko o 7%.

Należy jeszcze zaznaczyć, że w doświadczeniach podanych w tabeli I, ciśnienie cząstkowe tlenu w wodzie nie było zupeł-

№ doszadzenia	Data 1928	Gatunek zwierzęcia Tierspezies	Płeć	Ciężar Gewicht des Tieres	Temperatura basenu Temperatur im Bassin	Środowisko wodne Wasser-Milieu				Środowisko powietrzne Luft-Milieu	Uwagi			
						średnia szybkość przepływu wody przez aparat Durchschnittliche Geschwindigkeit des durch den Apparat durchfließenden Wassers	średnia ilość tlenu pobieranego przez zwierzę w wodzie Menge des durch die Haut in der Luft aufgenommenen Sauerstoffes	średnia ilość tlenu pobieranego przez zwierzę w wodzie Menge des durch die Haut in der Luft aufgenommenen Sauerstoffes	średnia ilość tlenu pobieranego przez zwierzę w powietrzu Menge des durch die Haut in der Luft aufgenommenen Sauerstoffes					
				g	°C	cm <sup>3</sup>	cm <sup>3</sup>	cm <sup>3</sup> /15'	mm Hg	h	cm <sup>3</sup> /15'	h	cm <sup>3</sup> /15'	%
37	3.III	<i>Rana temporaria</i>	♀	41.2	18	6.27	5.41	434	135	2 1/4	0.37	3 1/2	0.30	123
38	11.III 12.III	<i>R. tempor.</i>	♀	36.0	8	7.56	6.91	300	138	2	0.20	3	0.37	54
39	13.III	<i>R. esculenta</i>	♂	45.0	8	8.11	7.50	293	150	2 1/4	0.18	2 3/4	0.29	62
40	22.III	<i>R. esculenta</i>	♂	45.0	15	8.05	7.24	306	167	2	0.25	2 3/4	0.27	93
41	23.III	<i>R. esculenta</i>	♂	78.4	14	7.72	6.99	416	160	2 1/2	0.30	2 3/4	0.35	86
42	26.III	<i>R. esculenta</i>	♀	60.4	16.5	7.26	6.43	436	157	2	0.36	2 3/4	0.47	77
43	28.III	<i>R. tempor.</i>	♂	53.4	16.5	7.40	6.32	460	157	2 1/4	0.50	3	0.55	91
44	29.III	<i>R. esculenta</i>	♀	69.4	17	7.37	6.68	435	162	2 1/4	0.30	3	0.35	86
45	31.III	<i>R. esculenta</i>	♀	71.1	11	7.81	7.05	301	152	2 1/2	0.23	2 3/4	0.26	85
46	2.IV	<i>R. tempor.</i>	♂	49.7	11	7.33	6.77	299	147	2	0.17	2 3/4	0.26	65
47	17.IV	<i>R. esculenta</i>	♀	45.5	25	6.01	4.45	448	140	2 1/4	0.70	3	0.56	125
48	18.IV	<i>R. esculenta</i>	♀	31.7	25	6.61	5.96	448	171	2 1/4	0.29	3	0.36	81
49	23.IV	<i>R. esculenta</i>	♀	53.3	16	6.60	5.88	423	144	2 1/4	0.30	2 3/4	0.32	83*
50	25.IV	<i>R. esculenta</i>	♂	52.5	16	6.56	5.79	432	140	2	0.33	2 3/4	0.60	77*
51													0.40	72

Liczby oznaczone gwiazdką przedstawiają mniejszą z liczb, oznaczających natężenie pobierania tlenu przez skórę, otrzymanych na tej samej żabie i w tym samym środowisku. Mit \* wurde die kleinere von den beiden an ein und demselben Frosche und in demselben Milieu festgestellte Intensität der Sauerstoffaufnahme bezeichnet.

Doświadczenie wykonane przy okazji i o dzieł wziętych w wasserliem ein Tag vor der Operation

Zaba zdechła w komorze wodnej. Der Frosch erkrankte in der Wasserrespirationkammer.

Kolejność: woda → powietrze → w. → pow. Reihenfolge: Wasser → Luft → Wasser

Kolejność: woda → powietrze → w. → pow. Reihenfolge: Wasser → Luft → Wasser

nie stałe. Stwierdzamy jednak, że wahało się ono od 135 do 171 mm Hg, t. j. w obie strony od wartości 160 mm, odpowiadającej ciśnieniu tlenu w powietrzu atmosferycznym.

Z podanych doświadczeń wnioskujemy, że żaby, którym uniemożliwiono oddychanie płucne, pobierają przez skórę w powietrzu i w wodzie, przy ciśnieniu cząstkowym  $O_2$ , równym około 160 mm Hg, jednakowe ilości tlenu. Wniosek ten jest zgodny z wnioskiem KROGHA, w przeciwstawieniu do twierdzenia BOHRA.

Fakt ten tłumaczymy w ten sposób, że żaba w obu środowiskach pobiera tlen przez skórę nasyconą cieczą, zbliżoną — co do wartości współczynnika rozpuszczalności tlenu (jak inne ciecze żywych organizmów, np. osocze krwi) — do wody. Wobec tego żaba może pobierać z powietrza tyle tylko tlenu, ile go się może przy danym ciśnieniu rozpuścić w cieczy nasycającej skórę, a więc tyleż co w wodzie.

## II. Wpływ ciśnienia cząstkowego tlenu na pobieranie tlenu przez skórę.

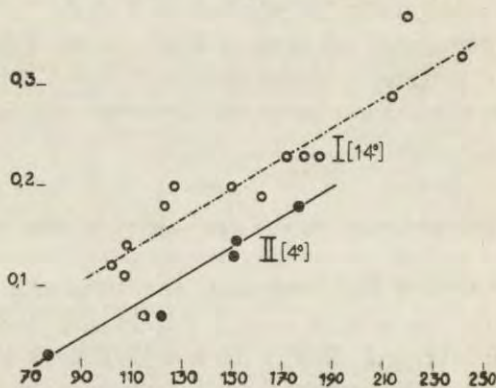
DOLK i POSTMA ('27) stwierdzili, że obniżenie zawartości tlenu w powietrzu otaczającym żabę (oddychającą płucami i skórą) z 20.9% (160 mm Hg) na 13.8% (105 mm Hg) powoduje zmniejszenie pobierania tlenu przez skórę i odpowiednie zwiększenie pobierania przez płuca, tak że suma pobranego tlenu nie ulega prawie zupełnie zmianie.

Fakt ten przypisują autorowie różnicy istniejącej w grubości błon, przez które dyfuzja się odbywa. W płucach błona, rozdzielająca środowisko zewnętrzne i wewnętrzne, jest bardzo cienka. Szybkość dyfuzji jest dzięki temu duża. Krew przepływająca przez kapilary płuc zostaje doprowadzona do stanu fizjologicznego nasycenia tlenem, zaś obniżenie się ciśnienia  $O_2$  w płucach tak długo nie wpływa wyraźnie na pobieranie tego gazu, dopóki to ciśnienie nie opadnie poniżej ciśnienia, odpowiadającego nasyceniu krwi tlenem.

Skóra natomiast jest znacznie grubsza od nabłonka płuc. Dzięki temu szybkość dyfuzji tlenu przez skórę jest mniejsza, niż przez płuca. Krew, przepływająca przez naczynia włoskowate skórne, nie zostaje doprowadzona do stanu fizjologicznego nasycenia tlenem. Obniżenie ciśnienia w środowisku zewnętrznym będzie zmniejszało już poprzednio małą szybkość dyfuzji tlenu przez skórę, a tem samym natężenie pobierania tego gazu.

Nasunęło się więc przypuszczenie, że przy ciśnieniach tlenu w środowisku zewnętrznym niezbyt różniących się od 160 mm Hg (jak to miało miejsce w doświadczeniach DOLK i POSTMY) powinna istnieć prosta proporcjonalność pomiędzy ciśnieniem tlenu w środowisku zewnętrznym a pobieraniem tego gazu przez skórę.

W celu sprawdzenia tego przypuszczenia wykonałem szereg doświadczeń, umieszczając żabę w aparacie wodnym w stałej temperaturze i zmieniając ciśnienie cząstkowe tlenu w przepływającej przez aparat wodzie w granicach od 80 do 250 mm Hg. Pragnąc możliwie dokładnie wyizolować wpływ warunków we-



Rys. 3. Zależność pomiędzy pobieraniem tlenu przez skórę a ciśnieniem cząstkowym tlenu w wodzie. Oś odciętych — ciśnienie cząstkowe tlenu w mm Hg; oś rzędnych — ilość tlenu pobrana przez skórę zwierzęcia w  $\text{cm}^3/15'$ . *Rana esculenta* № 1, ♀, ciężar 45.3 g. Prosta I — w temp.  $14^\circ\text{C}$  (tab. II), prosta II — w temp.  $4^\circ\text{C}$  (tab. III).

Fig. 3. Abhängigkeit der Sauerstoffaufnahme durch die Haut von dem Sauerstoffpartialdruck im Wasser. Abszissen: — Sauerstoffaufnahme durch die Haut in  $\text{ccm}/15'$ . Gerade I: — bei  $14^\circ\text{C}$  (Tab. II). Gerade II: —  $4^\circ\text{C}$  (Tab. III).

wewnętrznych, wykonywałem znaczną liczbę pomiarów na tem samym zwierzęciu, przyczem zwierzę znajdowało się w stanie głodu. Doświadczenia były przeprowadzone w trzech temperaturach:  $4^\circ$ ,  $14^\circ$ ,  $24^\circ$ .

Tabela II i III oraz rys. 3, przedstawiają doświadczenia, wykonane na żabie № 1 w temperaturze  $14^\circ$  i  $4^\circ$ . Tabele IV i V tudzież rys. 4 ujmują to samo zjawisko na żabie № 2, w temperaturze  $14^\circ$  i  $24^\circ$ . Na rysunkach widzimy, że charakter prostej proporcjonalności pomiędzy ciśnieniem cząstkowym tlenu w środowisku zewnętrznym a natężeniem pobierania tlenu przez skórę rzeczywiście występuje, aczkolwiek dyspersja poszczególnych punktów jest bardzo duża.

Tabela II.

Zależność pobierania tlenu przez skórę od cząstkowego ciśnienia tego gazu w wodzie w temp. 14°. Dośw. 62, żaba № 1, *Rana esculenta* L. ♀. Ciężar żaby 45.3 g. Wszystkie pomiary, trwające 2—3 godzin, wykonano od 1/VI do 10/VI. 1928.

*Abhängigkeit der Sauerstoffaufnahme durch die Haut vom Sauerstoffpartialdruck im Wasser bei 14° C. Versuch 62, Frosch № 1, Rana esculenta L. ♀. Gewicht 45.3 g. Alle, 2—3 Stunden dauernde Messungen, sind vom 1/VI bis zum 10/VI. 1928 ausgeführt worden.*

№ kolejny <i>Laufende № der Messungen</i>	Średnia zawartość tlenu w litrze wody <i>Sauerstoffgehalt in 1 Liter Wasser</i>		Średnia szybkość przepływu wody przez aparatus <i>Durchschnittliche Geschwindigkeit des durch den Apparat durchfließenden Was. cm<sup>3</sup>/15'</i>	Średnie ciśnienie cząstkowe tlenu w komorze oddechowej <i>Durchschnittlicher Sauerstoffpartialdruck in der Respirationskammer mm Hg</i>	Ilość pobranego przez skórę zwierzęcia tlenu <i>Menge des durch die Haut des Tieres aufgenom- menen Sauerstoffes cm<sup>3</sup>/15'</i>
	dopływającej zufließendes W.	wypływającej abfließendes W.			
	cm <sup>3</sup>	cm <sup>3</sup>			
7	5.39	3.93	83	102	0.12
14	5.05	4.78	406	107	0.11
5	5.52	4.39	121	108	0.14
11	5.34	5.17	426	115	0.07
2	5.86	5.45	432	123	0.18
3	6.14	5.48	302	127	0.20
6	7.13	6.64	407	150	0.20
8	7.67	7.21	406	162	0.19
10	8.22	7.65	399	172	0.23
13	8.50	7.95	412	179	0.23
4	8.74	8.19	412	185	0.23
9	10.17	9.46	413	214	0.29
1	11.02	10.09	399	220	0.37
12	11.48	10.72	428	242	0.33

Tabela III.

Zależność pobierania tlenu przez skórę od cząstkowego ciśnienia tego gazu w wodzie, w temp. 4°. Dośw. 60, żaba № 1, *Rana esculenta* L. ♀, ciężar żaby 45.3 g. Wszystkie pomiary, trwające po 2—3 godzin, wykonano od 31/V do 13/VI. 1928.

*Abhängigkeit der Sauerstoffaufnahme durch die Haut vom Sauerstoffpartialdruck im Wasser bei 4°. Vers. 60, Frosch № 1, Rana esculenta L. ♀. Gewicht 45.3 g. Alle, 2—3 Stunden dauernde Messungen, sind vom 31/V bis zum 13/VI. 1928 ausgeführt worden.*

№ kolejny pomiaru <i>Laufende № der Messungen</i>	Zawartość tlenu w litrze wody <i>Sauerstoffgehalt in 1 Liter Wasser</i>		Średnia szybkość przepływu wody przez aparatus <i>Durchschnittliche Geschwindigkeit des durch den Apparat durchfließenden Wassers cm<sup>3</sup>/15'</i>	Średnie ciśnienie cząstkowe tlenu w komorze oddechowej <i>Durchschnittlicher Sauerstoffpartialdruck in der Respirationskammer mm Hg</i>	Ilość tlenu pobrana przez skórę zwierzęcia <i>Menge des durch die Haut des Tieres aufgenom- menen Sauerstoffes cm<sup>3</sup>/15'</i>
	dopływającej zufließendes W.	wypływającej abfließendes W.			
	cm <sup>3</sup>	cm <sup>3</sup>			
2	4.58	4.34	128	77	0.03
5	7.35	6.83	124	122	0.07
3	9.24	8.20	124	151	0.13
1	9.35	8.26	124	152	0.14
4	10.99	9.37	128	177	0.18

Tabela IV.

Zależność pobierania tlenu przez skórę od cząstkowego ciśnienia tego gazu w wodzie w temp. 14°. Dośw. 64. Żaba № 2, *Rana esculenta* L ♀, ciężar 50.1 g. Wszystkie pomiary, trwające po 2—3 godzin, wykonano od 14/VI do 25/VI 1928.

*Abhängigkeit der Sauerstoffaufnahme durch die Haut vom Sauerstoffpartialdruck im Wasser bei 14°. Vers. 64. Frosch № 2, Rana esculenta L ♀, Gewicht 50.1 g. Alle, 2—3 Stunden dauernde Messungen, sind vom 14/VI bis 25/VI. 1928 ausgeführt worden.*

№ kolejny pomiaru	Zawartość tlenu w litrze wody Sauerstoffgehalt in 1 Liter Wasser		Średnia szybkość przepływu wody przez aparat <i>Durchschnittliche Geschwindigkeit des durch den Apparat durchfließenden Wassers</i> cm <sup>3</sup> /15'	Średnie ciśnienie cząstkowe tlenu w komorze oddechowej <i>Durchschnittlicher Sauerstoffpartialdruck in der Respirationsskammer</i> mm Hg	Ilość tlenu pobrana przez skórę zwierzęcia <i>Menge der durch die Haut des Tieres aufgenommenen Sauerstoffes</i> cm <sup>3</sup> /15'
	dopływającej zufließendes W. cm <sup>3</sup>	wypływającej abfließendes W. cm <sup>3</sup>			
1	4.76	4.49	444	101	0.12
2	4.82	4.56	452	102	0.13
4	6.10	5.50	431	127	0.26
7	6.55	6.00	408	137	0.22
6	7.02	6.26	387	145	0.29
5	8.24	7.36	433	170	0.38
3	8.77	7.81	408	181	0.39
9*	8.60	7.71	369	178	0.33
8*	9.39	8.46	417	195	0.39

\* Pomiary 8 i 9 wykonano po uprzednim zastrzyknięciu 0.25 cm<sup>3</sup> pituitryny.

\* Messungen 8 und 9 sind nach Injection von 0.25 cm<sup>3</sup> Pituitrin ausgeführt worden.

Tabela V.

Zależność pobierania tlenu przez skórę od ciśnienia cząstkowego tego gazu w wodzie w temp. 24°. Dośw. № 65. Żaba № 2, *Rana esculenta* L ♀, ciężar zwierzęcia 50.1 g. Wszystkie pomiary, trwające po 2—3 godzin, wykonano od 16/VI do 22/VI. 28.

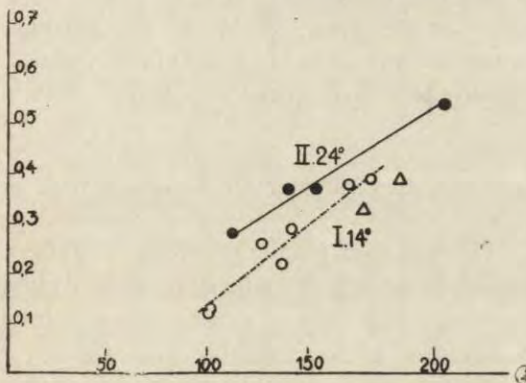
*Abhängigkeit der Sauerstoffaufnahme durch die Haut vom Sauerstoffpartialdruck im Wasser bei 24°. Vers. № 65. Frosch № 2, Rana esculenta L ♀, Gewicht 50.1 g. Alle, 2—3 Stunden dauernde Messungen, sind vom 16/VI bis 22/VI. 28 ausgeführt worden.*

№ kolejny pomiaru	Zawartość tlenu w litrze wody Sauerstoffgehalt in 1 Liter Wasser		Średnia szybkość przepływu wody przez aparat <i>Durchschnittliche Geschwindigkeit des durch den Apparat durchfließenden Wassers</i> cm <sup>3</sup> /15'	Średnie ciśnienie cząstkowe tlenu w komorze oddechowej <i>Durchschnittlicher Sauerstoffpartialdruck in der Respirationsskammer</i> mm Hg	Ilość tlenu pobrana przez skórę zwierzęcia <i>Menge des durch die Haut des Tieres aufgenommenen Sauerstoffes</i> cm <sup>3</sup> /15'
	dopływającej zufließendes W. cm <sup>3</sup>	wypływającej abfließendes W. cm <sup>3</sup>			
1	4.57	4.00	484	113	0.28
2	5.69	4.89	463	140	0.37
3	6.23	5.42	450	154	0.37
4	8.82	7.66	464	218	0.54

Na przytoczonych rysunkach widzimy również, że charakter zależności pomiędzy ciśnieniem tlenu a pobieraniem tego gazu

przez skórę nie ulega zmianie pod wpływem temperatury. Natomiast natężenie pobierania jest zawsze większe w temperaturze wyższej. Wpływ temperatury na pobieranie omówiony jest w rozdziale następnym.

Doświadczenia podobne zostały wykonane przez PÜTTERA ('14, '17), który stwierdził, że w temp.  $0^{\circ}$  przy ciśnieniu tlenu, wynoszącym 90 mm Hg, w temp. zaś  $10^{\circ}$  przy ciśnieniu = 130 mm Hg zostaje osiągnięta wartość graniczna zużycia tlenu, innymi słowy: przy dalszym zwiększaniu ciśnienia poza wyżej podane wartości pobieranie tlenu nie zwiększa się. W moich natomiast doświadczeniach powyższa wartość graniczna nie została osiągnięta w temp.  $4^{\circ}$  nawet przy ciśnieniu 160 mm Hg.



Rys. 4. Zależność pomiędzy pobieraniem tlenu przez skórę a ciśnieniem cząstkowym tlenu w wodzie. Oś odciętych — ciśnienie cząstkowe tlenu w mm Hg; oś rzędnych — ilość tlenu pobrana przez skórę zwierzęcia w  $\text{cm}^3/15'$  *Rana esculenta* ♀, № 2, ciężar 50.1 g. Prosta I — w temp.  $14^{\circ}\text{C}$  (tab. IV), prosta II — w temp.  $24^{\circ}\text{C}$  (tab. V). Punkty, zaznaczone trójkątami, odpowiadają pobieraniu tlenu w temp.  $14^{\circ}$  po zastrzyku pituitryny.

Fig. 4. Abhängigkeit der Sauerstoffaufnahme durch die Haut von dem Sauerstoffpartialdruck im Wasser. Abszissen: — Sauerstoffpartialdruck in mm Hg. Ordinaten: — Sauerstoffaufnahme durch die Haut in  $\text{ccm}/15'$ . Mit  $\triangle$  bezeichnete Punkte bedeuten Sauerstoffaufnahme bei  $14^{\circ}$  nach Pituitrinjection.

Pragnąc wyjaśnić dyspersję punktów, oznaczających natężenie pobierania tlenu (rys. 3 i 4), powziąłem przypuszczenie, że powodem jej może być zmiana powierzchni wymiany gazów, wywołana zwążaniem się lub rozszerzaniem naczyń krwionośnych skóry. Przypuszczenie to oparłem na twierdzeniu KROGHA ('04), z którego wynika, że oddychanie skórne może być regulowane w wąskich granicach na drodze naczynioruchowej. W celu

BIN

sprawdzenia swego przypuszczenia wykonałem dwa doświadczenia, w których żabie № 2, uprzednio kilkakrotnie badanej, zastrzykiwałem przed każdym doświadczeniem po 0.25 cm<sup>3</sup> pituitryny (preparat Parke & Davis) dla wywołania skurczu naczyń włoskowatych skóry. Wyniki doświadczeń są oznaczone na rys. 4 trójkątami. Stwierdzamy, że w obu przypadkach punkty, odpowiadające pobieraniu tlenu przez skórę po zastrzyku pituitryny, leżą poniżej interpolowanej przez nas prostej, aczkolwiek odchylenia nie przekraczają wahań, występujących w doświadczeniach nad zwierzętami normalnymi (rys. 3). Na podstawie więc tych doświadczeń możemy twierdzić tylko, że skurcz naczyń krwionośnych może powodować zmiany w natężeniu pobierania tlenu przez skórę, musimy jednak przyjąć, że prócz tego wchodzi tu w grę inne jeszcze czynniki. Możliwe, że jednym z powodów są zmiany natężenia procesów oksydacyjnych, zachodzące w organizmie w miarę przedłużającego się głodu.

### III. Wpływ temperatury na natężenie pobierania tlenu przez skórę.

KROGH ('19) wykonał pomiary szybkości dyfuzji tlenu przez izolowane tkanki zwierzęce i znalazł, że stała dyfuzji (t. j. ilość cm<sup>3</sup> gazu, dyfundująca w ciągu 1 minuty przez tkankę o powierzchni 1 cm<sup>2</sup> i grubości 1  $\mu$  przy zachowaniu różnicy ciśnień gazu 760 mm Hg) zmienia się w przybliżeniu o 1% swej wartości podczas zmian temperatury o 1°. Innymi słowy — przybliżona wartość współczynnika  $Q_{10}$  dla zmian szybkości dyfuzji tlenu przez tkankę wynosi 1.1.

Z drugiej strony, na podstawie szeregu prac, dotyczących wpływu temperatury na oddychanie całego zwierzęcia<sup>1)</sup>, wiemy, że wartość współczynnika  $Q_{10}$  w tym ostatnim przypadku jest znacznie wyższa, najczęściej waha się w granicach od 2 do 3, dochodząc w niskich temperaturach do 5.

Powstało więc pytanie, jak zmienia się pod wpływem temperatury szybkość pobierania tlenu przez skórę u żaby, pozbawionej oddychania płucnego.

---

<sup>1)</sup> Literatura, dotycząca tego zagadnienia, jest zebrana w książce KANITZA ('15).



Doświadczenia, które miały dostarczyć odpowiedzi na to pytanie, wykonywałem w obu środowiskach: wodnem (tabela VI) i powietrznem (tabela VII) w temperaturach 4°, 14° i 24°.

Tabela VI.

Wpływ temperatury na natężenie pobierania tlenu przez skórę w wodzie. *Rana esculenta* L.  
*Einfluss der Temperatur auf die Intensität der Sauerstoffaufnahme durch die Haut, im Wasser. Rana esculenta* L.

№ doświadczenia № des Versuches	№ zwierzęcia № des Tieres	Płeć Geschlecht des Tieres	Ciężar zwierzęcia Gewicht des Tieres g	Temperatura basenu Temperatur im Bassin °C	Ilość tlenu pobrana przez skórę żaby Menge des durch die Haut des Tieres aufgenommenen Sauerstoffes cm <sup>3</sup> /15'	Q <sub>10</sub>
63	1	♀	45.3	24	0.35	} 1.6
62	1	♀	45.3	14	0.22	
60	1	♀	45.3	4	0.15	} 1.5
64	2	♀	50.1	24	0.40	
65	2	♀	50.1	14	0.32	} 1.3

Tabela VII.

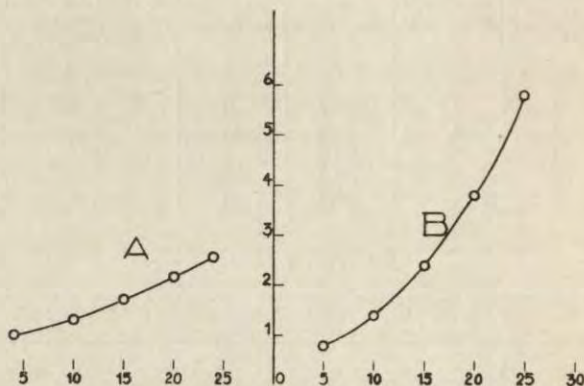
Wpływ temperatury na natężenie pobierania tlenu przez skórę w powietrzu.  
*Einfluss der Temperatur auf die Intensität der Sauerstoffaufnahme durch die Haut in der Luft.*

№ doświadczenia № des Versuches	Gatunek zwierzęcia Tierspezies	Płeć Geschlecht des Tieres	Ciężar zwierzęcia Gewicht des Tieres g	Data Datum	Czas trwania doświadczenia Dauer des Versuches h	Temperatura basenu Temperatur im Bassin °C	Ilość tlenu pobrana przez skórę żaby Menge des durch die Haut des Tieres aufgenommenen Sauerstoffes cm <sup>3</sup> /15'	Q <sub>10</sub>
73	<i>R. esculenta</i>	♂	52.2	1.XI.28	2	24	0.38	} 1.4
73	<i>R. esculenta</i>	♂	52.2		2 1/2	14	0.28	
73	<i>R. esculenta</i>	♂	52.2	2.XI.	2 1/2	4	0.16	} 1.7
73	<i>R. esculenta</i>	♂	52.2		1 1/2	14	0.26	
73	<i>R. esculenta</i>	♂	52.2		1 1/2	24	0.37	} 1.4
74	<i>R. temporaria</i>	♀	57.3	3.XI.	2	4	0.19	
74	<i>R. temporaria</i>	♀	57.3		2	14	0.30	} 1.6
74	<i>R. temporaria</i>	♀	57.3		2	24	0.53	
75	<i>R. esculenta</i>	♀	57.1	4.XI.	2	14	0.23	} 1.8
75	<i>R. esculenta</i>	♀	57.1		2	24	0.41	

Zwierzętom badanym w środowisku powietrznem uniemożliwiałem oddychanie płucne przy pomocy pałeczki szklanej, wprowadzanej do krtani. Doświadczenia w środowisku powietrznem zostały wykonane pod ciśnieniem cząstkowym tlenu = 160 mm Hg. Liczby, oznaczające natężenie pobierania tlenu w wodzie, zostały otrzymane drogą interpolacji pomiarów, omówionych w roz-

dziale poprzednim, i odpowiadają pobieraniu pod ciśnieniem również 160 mm Hg. Porównywałem pobieranie tlenu w różnych temperaturach zawsze na tej samej żabie.

Jak widzimy z tabel VI i VII, wartość współczynnika  $Q_{10}$  obliczona dla odstępu temperatur  $4^{\circ} - 14^{\circ}$ , oraz  $14^{\circ} - 24^{\circ}$  jest zawsze niższa od 2, przyczem powyższe wartości, znalezione zarówno dla środowiska wodnego, jak i powietrznego, wahają się w jednakowych granicach. Średnia wartość obliczona z obu tabel wynosi  $Q_{10} = 1.6^1$ ).



Rys. 5. Zależność pobierania tlenu od temperatury. Oś odciętych — temperatura w stopniach Celsjusza; oś rzędnych — ilość pobranego tlenu w jednostkach dowolnych. Krzywa A, przedstawiająca zmiany natężenia pobierania tlenu przez skórę przy uniemożliwionem oddychaniu płucnem, została wykreślona na podstawie znalezionej przez nas wartości  $Q_{10}$ . Krzywa B, wzięta z pracy Krogh'a ('14), przedstawia wpływ temperatury na natężenie pobierania tlenu przy równoczesnem oddychaniu płucami i skórą.

Rys. 5. Abhängigkeit der Sauerstoffaufnahme von der Temperatur. Abszissen:— Temperatur in °C. Ordinaten:— Menge des aufgenommenen Sauerstoffes in relativen Einheiten. Kurve A stellt die Veränderungen der Intensität der Sauerstoffaufnahme durch die Haut bei ausgeschalteter Lungenatmung dar. Gezeichnet auf Grund des vom Verfasser gefundenen Wertes  $Q_{10}$ . Die Kurve B — aus Krogh's Arbeit: — sie stellt die Änderungen der Sauerstoffaufnahme durch die beiden AtmungsOberflächen (Haut und Lungen) dar.

Korzystając ze znalezionej przez nas wartości  $Q_{10}$ , wykreślamy krzywą pobierania tlenu przez skórę w jednostkach względnych, przyjmując natężenie pobierania tlenu w temperaturze  $4^{\circ}$  za jedność. Porównywując otrzymaną przez nas krzywą (rys. 5A),

<sup>1)</sup> Wartość znaleziona przez nas nie jest porównywalna z wartością znalezioną przez PÜTTERA ('14)  $Q_{10} = 2.5$ , albowiem ta ostatnia jest obliczona na podstawie oznaczeń zużycia tlenu przez zwierzę, znajdujące się pod innym w każdej temperaturze ciśnieniem  $O_2$  w wodzie.

z krzywą otrzymaną przez KROGHA ('14) (rys. 5B), ilustrującą pobieranie tlenu u żaby przez obie powierzchnie wymiany, t. j. przez płuca i skórę, widzimy, że krzywa KROGHA wznosi się bardziej stromo, niż krzywa, przedstawiająca pobieranie tlenu przez skórę. Stąd wnioskujemy, że stosunek pobierania tlenu przez skórę do pobierania tego gazu przez obie powierzchnie zmniejsza się wraz ze wzrostem temperatury.

Druga konsekwencja, wynikająca z powyższych faktów, jest następująca. Gdyby w naszych doświadczeniach pod wpływem temperatury zmieniała się tylko stała dyfuzji, jak to miało miejsce w badaniach nad szybkością dyfuzji tlenu przez tkankę izolowaną, umieszczoną w środowisku zastępczym, gdzie można utrzymywać stałe ciśnienie cząstkowe gazu po obu stronach błony (KROGH) — należałoby oczekiwać wartości współczynnika  $Q_{10}$  bliskiej 1.1. Tymczasem tak nie jest. Znaleziona przez nas wartość jest wyższa. Wnioskujemy stąd, że pod wpływem zmian temperatury występują w organizmie swoiste zmiany, które wpływają na szybkość pobierania tlenu przez skórę w ten sposób, że pobieranie tego gazu wzrasta wraz z temperaturą szybciej, niż stała dyfuzji. Wydaje się prawdopodobne, że powodem stosunkowo wysokiej wartości  $Q_{10}$  są zmiany zawartości tlenu we krwi, uzależnione od dysocjacji hemoglobiny.

#### IV. Zmiany natężenia pobierania tlenu w zależności od czasu.

Poprzednio wykazaliśmy, że natężenie pobierania tlenu przez skórę żaby, pozbawionej możliwości oddychania płucnego, nie zależy od środowiska. W doświadczeniach tych badałem jednak zwierzęta przeważnie po upływie doby od chwili wyłączenia oddychania płucnego. Nasunęło się więc pytanie, jak wpływa na natężenie pobierania tlenu przejście zwierzęcia normalnego z jednego środowiska do drugiego. W celu wyjaśnienia tego zagadnienia wykonałem dwa rodzaje doświadczeń, przenosząc zwierzę z powietrza do wody i przeciwnie — z wody do powietrza.

W pierwszym przypadku zależało mi na wyjaśnieniu kwestji, czy po przejściu do środowiska wodnego natężenie pobierania tlenu przez skórę zmienia się w zależności od czasu przebywania zwierzęcia w tem nowem środowisku. Można było bowiem przypuszczać, że po wyłączeniu oddychania płucnego skóra będzie choć

w części pełniła funkcję zastępczą płuc. Gdyby tak było istotnie, natężenie pobierania tlenu przez skórę wzrastałoby z biegiem czasu w miarę wzrastającego zapotrzebowania tlenu.

Doświadczenia przeprowadziłem w następujący sposób. Umieściłem zwierzę na kilkanaście godzin w komorze oddechowej aparatu wodnego, przepuszczając stały prąd wody wodociągowej, i mierzyłem w pewnych odstępach czasu intensywność pobierania  $O_2$  przez skórę.

Tabele VIII i IX przedstawiają dwa takie doświadczenia długotrwałe. Stwierdzamy, że natężenie pobierania waha się w pewnych granicach, ale nie wykazuje żadnych kierunkowych zmian w zależności od czasu trwania doświadczenia. Niestety, ani temperatura, ani ciśnienie cząstkowe tlenu nie były stałe. Jak widać z tabel, oba te czynniki wahały się jednak w granicach niezbyt szerokich. Dla porównania, jakie wahania występują w natężeniu pobierania tlenu przez skórę, przy możliwie ścisłym ustaleniu wszystkich warunków zewnętrznych w doświadczeniach krótkotrwałych, przytaczam tabelę X. Jak widzimy, wahania w natężeniu pobierania tlenu w doświadczeniach długotrwałych (tabele VIII i IX) niewiele przekraczają wahania, które stwierdzamy w doświadczeniu przedstawionem w tabeli X.

Wnioskujemy więc, że u żaby, której wyłączono oddychanie płucne, natężenie pobierania tlenu przez skórę nie zależy od czasu, w ciągu którego żaba oddycha tylko skórą.

Należy zaznaczyć, że doświadczenia długotrwałe w środowisku wodnym wykonywał pierwszy PÜTTER (14) i przyszedł do podobnego wniosku — oddychanie skórne nie zmienia się z biegiem czasu. Jednak liczby PÜTTERA oznaczają tylko średnie wartości zużycia tlenu na godzinę i są obliczone z różnych doświadczeń, trwających różne okresy czasu.

Drugi rodzaj doświadczeń był wykonany w sposób następujący. Zwierzę normalne, które przez pewien czas przebywało pod wodą, przynosiliśmy do aparatu powietrznego, dając możliwość oddychania także i płucami. Rysunek 6 przedstawia wyniki trzech takich doświadczeń<sup>1)</sup>. Czas był mierzony od momentu wyjęcia zwierzęcia z wody. Jak widzimy, po upływie 45 — 90 minut od

---

<sup>1)</sup> Liczby, które posłużyły dla wykreślenia krzywej II, przytaczam w tabeli XI.

Tabela VIII.

Badanie wpływu czasu przebywania żaby w wodzie na natężenie pobierania tlenu przez skórę. Dośw. № 18, 12/XII.27. *Rana temporaria* ♂.

*Untersuchung des Einflusses der Dauer des Aufenthaltes des Frosches im Wasser auf die Intensität der Sauerstoffaufnahme durch die Haut. Vers. № 18, 12/XII 27. Rana temporaria* ♂.

Moment wzięcia próbki wody do analizy <i>Moment des Entnehmens der Wasserprobe zur Analyse</i>	Temperatura basenu <i>Temperatur im Bassin</i>	Zawartość tlenu w litrze wody <i>Sauerstoffgehalt in 1 Liter Wasser</i>		Średnia szybkość przepływu wody przez aparat <i>Durchschnittliche Geschwindigkeit des durch den Apparat durchfließenden Wassers</i>	Ilość tlenu pobrana przez skórę żaby <i>Menge des durch die Haut des Tieres aufgenommenen Sauerstoffes</i>	
		dopływającej <i>zufließendes W.</i>	wypływającej <i>abfließendes W.</i>			
h	°C	cm <sup>3</sup>	cm <sup>3</sup>	cm <sup>3</sup> /15'	cm <sup>3</sup> /15'	
10 <sup>40</sup>	14.2 ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ 15.6			} 316	0.19	
11 <sup>17</sup>		6.65	6.04		} 319	0.22
11 <sup>47</sup>		6.75	6.05			0.16
13 <sup>17</sup>		6.83	6.37	0.21		
13 <sup>47</sup>		6.89	6.23	0.14		
14 <sup>17</sup>		6.92	6.47	0.23		
14 <sup>47</sup>		6.91	6.20	0.16		
15 <sup>17</sup>		6.91	6.42	0.14		
15 <sup>47</sup>		6.93	6.50	0.17		
16 <sup>17</sup>		6.93	6.40	0.17		
17 <sup>17</sup>		6.84	6.31	0.21		
17 <sup>47</sup>		6.98	6.32	0.21		
18 <sup>17</sup>		6.93	6.24	0.22		

Tabela IX.

Badanie wpływu czasu przebywania żaby w wodzie na natężenie pobierania tlenu przez skórę. Dośw. № 17, *Rana esculenta* L.

*Untersuchung des Einflusses der Dauer des Aufenthaltes des Frosches im Wasser auf die Intensität der Sauerstoffaufnahme durch die Haut. Vers. Nr. 17. Rana esculenta* L.

Data <i>Datum</i>	Moment wzięcia próbki wody do analizy <i>Moment des Entnehmens der Wasserprobe zur Analyse</i>	Temperatura basenu <i>Temperatur im Bassin</i>	Zawartość tlenu w litrze wody <i>Sauerstoffgehalt in 1 Liter Wasser</i>		Średnia szybkość przepływu wody przez aparat <i>Durchschnittliche Geschwindigkeit des durch den Apparat durchfließenden Wassers</i>	Ilość tlenu pobrana przez skórę żaby <i>Menge des durch die Haut des Tieres aufgenommenen Sauerstoffes</i>
			dopływającej <i>zufließendes W.</i>	wypływającej <i>abfließendes W.</i>		
	h	°C	cm <sup>3</sup>	cm <sup>3</sup>	cm <sup>3</sup> /15'	cm <sup>3</sup> /15'
8.XII	10 <sup>00</sup>	16.2 ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ 17.2 ↓ 15.8			} 460	0.21
	11 <sup>07</sup>		6.56	6.11		0.28
	11 <sup>37</sup>		6.73	6.12		0.23
	14 <sup>07</sup>		6.84	6.34		0.23
	14 <sup>37</sup>		6.86	6.35		0.23
	17 <sup>07</sup>		7.04	6.53		0.23
	17 <sup>37</sup>		7.05	6.55		0.32
	20 <sup>07</sup>		7.52	6.83		0.27
	20 <sup>37</sup>		7.55	6.97		0.26
	9.XII		10 <sup>37</sup>	15.8		7.79
11 <sup>07</sup>		7.82	7.22	0.24		
11 <sup>29</sup>		7.90	7.32	0.27		
11 <sup>37</sup>		7.91	7.27	0.27		

Tabela X.

Wahania, występujące w natężeniu pobierania tlenu przez skórę, przy możliwie ścisłym zachowaniu wszystkich warunków zewnętrznych. Dośw. № 53, 5/V. 1928. *Rana esculenta*.  
*Schwankungen in der Intensität der Sauerstoffaufnahme durch die Haut, bei möglichst präziser Berücksichtigung aller äusserer Bedingungen. Vers. Nr. 53, 5/V. 1928. Rana esculenta.*

Moment wzięcia próbki wody do analizy <i>Moment des Entnehmens der Wasserprobe zur Analyse</i>	Temperatura basenu <i>Temperatur im Bassin</i>	Zawartość tlenu w litrze wody <i>Sauerstoffgehalt in 1 Liter Wasser</i>		Średnia szybkość przepływu wody przez aparat <i>Durchschnittliche Geschwindigkeit des Durchfliessens des Wass. durch den Apparat</i>	Ilość tlenu pobrana przez skórę żaby <i>Menge des durch die Haut des Tieres aufgenommenen Sauerstoffes</i>
		dopływającej <i>zufließendes W.</i>	wypływającej <i>abfließendes W.</i>		
h	°C	cm <sup>3</sup>	cm <sup>3</sup>	cm <sup>3</sup> /15'	cm <sup>3</sup> /15'
16 <sup>45</sup>	14 ± 0.3				
17 <sup>45</sup>		7.10	6.61	414	0.20
18 <sup>00</sup>		7.17	6.62	410	0.21
18 <sup>15</sup>		7.16	6.60	402	0.20
18 <sup>30</sup>		7.06	6.70	402	0.14
18 <sup>45</sup>		7.18	6.69	388	0.19

Tabela XI.

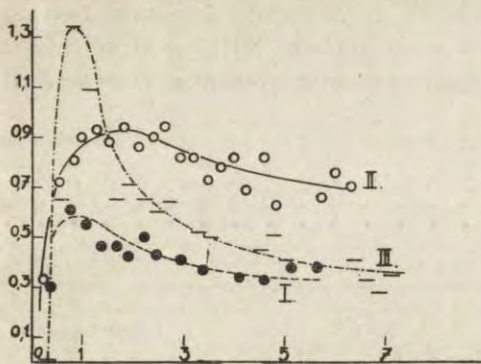
Zmiany, występujące w natężeniu pobierania tlenu przez obie powierzchnie oddechowe (skórę i płuca) po przeniesieniu zwierzęcia z wody do powietrza. Dośw. 59. *Rana esculenta* ♂.  
 Żaba była w wodzie od 20<sup>00</sup> 24/V do 9<sup>00</sup> 25/V. 28. Temp. basenu 17.5°.

*Die Änderungen der Intensität der Sauerstoffaufnahme durch die beiden Atmungsflächen (Haut und Lungen) nachdem das Tier aus dem Wasser in die Luft übertragen worden war. Der Frosch befand sich im Wasser von 20<sup>00</sup> 24/V bis 9<sup>00</sup> 25/V. 28. Temperatur im Bassin 17.5°. Vers. 59. Rana esculenta ♂.*

№ kolejny pomiaru <i>Laufende Nr. der Messungen</i>	Pomiar trwał: <i>Eine Messung dauerte</i>		Ilość tlenu pobrana przez żabę <i>Menge des vom Tier aufgenommenen Sauerstoffes</i>	№ kolejny pomiaru <i>Laufende Nr. der Messungen</i>	Pomiar trwał: <i>Eine Messung dauerte</i>		Ilość tlenu pobrana przez żabę <i>Menge des vom Tier aufgenommenen Sauerstoffes</i>
	od <i>von</i>	do <i>bis</i>			od <i>von</i>	do <i>bis</i>	
	h	h	cm <sup>3</sup> /15'		h	h	cm <sup>3</sup> /15'
1	10 <sup>03</sup>	10 <sup>18</sup>	0.34	12	13 <sup>05</sup>	13 <sup>20</sup>	0.82
2	10 <sup>21</sup>	10 <sup>36</sup>	0.72	13	13 <sup>23</sup>	13 <sup>38</sup>	0.73
3	10 <sup>39</sup>	10 <sup>54</sup>	0.81	14	13 <sup>38</sup>	13 <sup>52</sup>	0.78
4	10 <sup>54</sup>	11 <sup>09</sup>	0.90	15	13 <sup>55</sup>	14 <sup>10</sup>	0.82
5	11 <sup>12</sup>	11 <sup>27</sup>	0.93	16	14 <sup>10</sup>	14 <sup>25</sup>	0.69
6	11 <sup>27</sup>	11 <sup>42</sup>	0.83	17	14 <sup>29</sup>	14 <sup>44</sup>	0.82
7	11 <sup>45</sup>	12 <sup>00</sup>	0.94	18	14 <sup>44</sup>	14 <sup>59</sup>	0.63
8	12 <sup>00</sup>	12 <sup>15</sup>	0.86	19	15 <sup>40</sup>	15 <sup>55</sup>	0.66
9	12 <sup>17</sup>	12 <sup>32</sup>	0.90	20	15 <sup>55</sup>	16 <sup>10</sup>	0.76
10	12 <sup>32</sup>	12 <sup>47</sup>	0.95	21	16 <sup>14</sup>	16 <sup>29</sup>	0.73
11	12 <sup>50</sup>	13 <sup>05</sup>	0.82				

chwili wyjęcia z wody występuje wyraźne maksimum pobierania tlenu. Po tym okresie pobieranie spada mniej lub więcej łagodnie, zbliżając się do pewnej granicy.

Wzrost natężenia pobierania tlenu w pierwszym okresie po przeniesieniu zwierzęcia do powietrza wskazuje, że w warunkach naszych doświadczeń podczas pobytu w wodzie zwierzę było niedostatecznie zaopatrzone w tlen.



Rys. 6. Zmiany, występujące w natężeniu pobierania tlenu przez obie powierzchnie oddechowe (skórę i płuca) po przeniesieniu zwierzęcia z wody do powietrza. Oś odciętych — czas w godzinach, mierzony od chwili wyjęcia żaby z wody, oś rzędnych — ilość pobranego tlenu w  $\text{cm}^3/15'$ .

Fig. 6. Die Änderungen der Intensität der Sauerstoffaufnahme durch die beiden Atmungsoberflächen (Haut und Lungen), nachdem das Tier aus dem Wasser in die Luft übertragen worden war. Abszissen: — Zeit in Stunden, gemessen von dem Momente an, als das Tier das Wasser verlassen hat. Ordinate: — Menge des aufgenommenen Sauerstoffes in  $\text{ccm}/15'$ .

Z opisanych doświadczeń wynika również, że po przeniesieniu zwierzęcia do powietrza zwiększa ono natężenie pobierania tlenu kosztem oddychania płucnego: wykazaliśmy bowiem, że u zwierząt, pozbawionych możliwości oddychania płucnego, przejście z jednego środowiska do drugiego nie powoduje zmian natężenia pobierania tlenu przez skórę.

## V. Badanie gazów płuc.

W doświadczeniach poprzednich wykazaliśmy, że po przeniesieniu zwierzęcia normalnego z wody do powietrza natężenie pobierania tlenu wykazuje wzrost, spowodowany niedostatecznym dopływem tlenu do organizmu podczas przebywania zwierzęcia w środowisku wodnym. W celu zbadania, jak daleko jest posunięty stan niedotleniania zwierzęcia, przebywającego w wodzie, oraz jaki wpływ na to zjawisko wywiera temperatura, wykonałem doświadczenia, w których badałem powietrze płucne żaby, prze-

bywającej w wodzie. Drugą ciekawą kwestją było sprawdzenie, czy oprócz niedotleniania występuje gromadzenie się  $\text{CO}_2$  w organizmie <sup>1)</sup>.

Wykonałem dwa rodzaje doświadczeń: w jednych badałem wpływ temperatury na szybkość znikania tlenu z zamkniętego w płucach powietrza (tabela XII), w drugich — stan końcowy zawartości tlenu w powietrzu płucnym (tabela XIII).

Tabela XII.

Zmiany procentowej zawartości tlenu w płucach żaby w czasie przebywania zwierzęcia pod wodą w dwu różnych temperaturach. Oba doświadczenia na *Rana esculenta* ♀ ♀ (różne osobniki).

Änderungen des perzentuellen Sauerstoffgehaltes in der Lungenluft des im Wasser befindlichen Tieres bei zwei verschiedenen Temperaturhöhen.

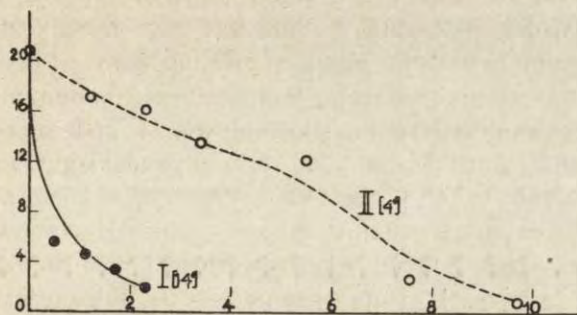
№ doświadczenia Nr. des Versuches	Moment wzięcia próbki gazu do analizy Moment des Entnehmens der Gasprobe zur Analyse h	Temperatura basenu Temperatur im Bassin °C	Zawartość gazów w powietrzu płucnym Gehalt an Gasen in der Lungenluft	
			$\text{CO}_2$ %	$\text{O}_2$ %
68	11 <sup>10</sup>	14 <sup>0</sup>		20.9
	11 <sup>40</sup>	14	1.7	5.65
	12 <sup>15</sup>	14	1.5	4.7
	12 <sup>51</sup>	14	1.4	3.5
69	13 <sup>27</sup>	14	1.5	2.2
	10 <sup>30</sup>	4 <sup>0</sup>	—	20.9
	11 <sup>42</sup>	4	1.3	17.2
	12 <sup>47</sup>	4	1.2	16.2
	13 <sup>52</sup>	4	0.8	13.5
	15 <sup>57</sup>	4	0.9	12.25
	18 <sup>03</sup>	4	0.8	2.8
	20 <sup>05</sup>	4	1.0	1.0

Tabela XII przedstawia dwa doświadczenia pierwszego typu. Oba doświadczenia zostały wykonane na *Rana esculenta* ♀ zbliżonej wagi, jedno w temperaturze 4°, drugie w temperaturze 14°. Obu żabom zamknąłem w płucach po 8 cm<sup>3</sup> powietrza, uprzednio tam wprowadzonego. Po dokonanych zabiegu umieściłem zwierzę w komorze wodnego aparatu oddechowego, przez który przepływał stały prąd wody wodociągowej. Co pewien czas żabę wyjmowałem i pobierałem zapomocą strzykawki próbki gazu z płuc do analizy. Jak widzimy z tabeli XII i rys. 7 —

<sup>1)</sup> DOLK i POSTMA ('27) wzmiankują (str. 422), że w powietrzu płucnym żaby, znajdującej się pod wodą, zawartość  $\text{CO}_2 = 1.75\%$ ,  $\text{O}_2 = 5\%$ . Żadnych szczegółów doświadczenia autorowie nie podają.



czas, w którym zawartość tlenu w płucach dochodzi do 2%, jest w temperaturze 4° 3½ razy większy, niż w temp. 14°.



Rys. 7. Zmiany procentowej zawartości tlenu w płucach żaby w czasie przebywania zwierzęcia pod wodą w dwu różnych temperaturach. Odcięte — czas w godzinach, mierzony od chwili ukończenia operacji; rzędne — procentowa zawartość tlenu w płucach. Krzywa I w temp. 14°, krzywa II w temp. 4°.

Fig. 7. Änderungen des perzentuellen Sauerstoffgehaltes in der Lungenluft des im Wasser befindlichen Tieres bei zwei verschiedenen Temperaturhöhen. Abszissen: — Zeit in Stunden, gemessen nach Beendigung der Operation. Ordinaten: — perzentueller Sauerstoffgehalt der Lungenluft. Kurve I — bei 14°, Kurve II — 4°.

W tabeli XIII są zestawione wyniki doświadczeń, w których chodziło mi o stwierdzenie, czy końcowa (minimalna) za-

Tabela XIII.

Badanie wpływu temperatury na końcową (minimalną) zawartość procentową tlenu w powietrzu płucnym żaby, przebywającej w wodzie. Oba doświadczenia na *Rana esculenta* ♂ ♂ (osobniki różne).

Untersuchung des Temperatur-Einflusses auf den am Ende des Versuches festgestellten (Minimum) prozentuellen Sauerstoffgehalt in der Lungenluft bei einem im Wasser befindlichen Frosche, bei zwei verschiedenen Temperaturhöhen. Untersuchungsobjekt in den zwei Versuchen: *Rana esculenta* ♂ ♂ (verschiedene Individuen).

№ doświadczenia Nr. des Versuches	Moment wzięcia próbki gazu do analizy Moment des Entnehmens der Gasprobe zur Analyse h	Temperatura basenu Temperatur im Bassin °C	Zawartość gazu w powietrzu płucnym Gehalt an Gasen in der Lungenluft	
			CO <sub>2</sub> %	O <sub>2</sub> %
70	10 <sup>25</sup>	14	1.6	0.5
	14 <sup>5</sup>	14		
	15 <sup>00</sup>	4		
	16 <sup>00</sup>	4		
	19 <sup>00</sup>	4		
71	25.X 9 <sup>50</sup>	14	1.1	0.6
	14 <sup>00</sup>	14		
	14 <sup>30</sup>	4		
	18 <sup>05</sup>	4		
	26.X 9 <sup>20</sup>	14.9		
		↓	1.4	0.1

wartość tlenu w płucach żaby zależy od temperatury. Po wprowadzeniu pewnej ilości powietrza do płuc trzymałem żabę w aparacie wodnym w temp.  $14^{\circ}$  w ciągu 4 godzin. Jak się uprzednio przekonałem doświadczalnie, po upływie tego czasu zostaje osiągnięte minimum zawartości tlenu w płucach żaby. Przy dalszem pozostawieniu zwierzęcia w tej temperaturze, minimum to waha się tylko w granicach błędu. Po upływie 4 godzin pobierałem z płuc próbkę gazu do analizy i doprowadzałem temperaturę w otoczeniu żaby do  $4^{\circ}$ , pozostawiając zwierzę w komorze aparatu wodnego na dalsze 4 godziny, poczem pobierałem znowu próbkę gazu. Jak widzimy z tabeli XIII, zawartość końcowa tlenu w płucach spada poniżej  $1\%$  i nie zmienia się w zależności od temperatury.

Z podanych wyżej doświadczeń widzimy, że temperatura wpływa wyraźnie ( $Q_{10} = 3.5$ ) na szybkość znikania tlenu z płuc. Stąd wnioskujemy, że rola płuc maleje wraz z obniżeniem się temperatury. Natomiast minimalna zawartość tlenu w płucach jest stała i nie zależy od temperatury. Wydaje się prawdopodobne, że ta minimalna zawartość odpowiada ciśnieniu tlenu w środowisku wewnętrznym zwierzęcia.

Zawartość  $\text{CO}_2$  w powietrzu płucnym nie ulega wyraźnym zmianom ani w zależności od temperatury, ani od czasu przebywania zwierzęcia w wodzie i waha się w granicach od  $0.8\%$  do  $1.7\%$ . Stwierdzamy więc, że w czasie przebywania w wodzie nie występuje gromadzenie się  $\text{CO}_2$  w organizmie.

#### Omówienie wyników.

DOLK i POSTMA ('27) wyrazili pogląd, że szybkość dyfuzji tlenu przez skórę jest (według definicji BLACKMANA) czynnikiem ograniczającym pobieranie (limiting factor). W rozważaniach tych autorowie nie brali pod uwagę wpływu temperatury. Wszystkie doświadczenia DOLK i POSTMA były wykonane w temperaturze stałej około  $25^{\circ}$ .

Z doświadczeń zaś, przedstawionych w części faktycznej pracy niniejszej, wynika, że temperatura wywiera swoisty wpływ na układ warunków decydujących o pobieraniu tlenu.

W naszych doświadczeniach maksymalna szybkość pobierania tlenu przez skórę u żaby, pozbawionej oddychania płucnego,

występowała przy najwyższym ze stosowanych przeze mnie ciśnieniu cząstkowym tlenu oraz — najwyższej temperaturze w środowisku zewnętrznym. Warunki jednakże, w których było osiągnięte maksymalne pobieranie tlenu, nie były optymalnymi dla zwierzęcia, pozbawionego możliwości oddychania płucnego. W wyżej podanych warunkach zwierzę zanurzone w wodzie ginie już po kilku godzinach, podczas gdy w temperaturze niskiej W. EDWARDSOWI ('824) udało się zachować żabę przy życiu przez 2½ miesiąca. Niska więc temperatura stwarza optymalne warunki dla życia żaby, oddychającej tylko skórą.

Już z powyższych faktów wynika, że wzrost pobierania tlenu przez skórę podczas wznoszenia się temperatury otoczenia nie może dorównać wzrostowi metabolizmu. Jeszcze wyraźniej uwidocznione jest to zjawisko na rysunku 5. Krzywa *B*, znaleziona przez KROGHA na zwierzętach, oddychających jednocześnie płucami i skórą, przedstawia wzrost metabolizmu, zaś krzywa *A* pobieranie tlenu przez skórę. Jak widzimy, krzywa *A* wznosi się mniej stromo.

Z drugiej strony wykazaliśmy, że szybkość pobierania tlenu przez skórę żywej żaby wzrasta pod wpływem temperatury bardziej, niż szybkość dyfuzji tlenu przez tkankę izolowaną. Gdyby wartość współczynnika  $Q_{10}$  dla pobierania tlenu przez skórę wynosiła tylko 1.1, jak wynosi dla tkanek, podniesienie temperatury środowiska, w którym znajduje się zwierzę pozbawione możliwości oddychania płucnego, wywoływałoby jeszcze prędszą asfiksję. Moglibyśmy to zjawisko uważać za pewnego rodzaju „regulację“ pobierania tlenu przez skórę na drodze zmian fizykochemicznych własności krwi. Zakres tej regulacji jest jednak wąski, gdyż w temperaturze powyżej 20° zwierzę, pozbawione oddychania płucnego, prędko ginie.

Z rysunku 5 wywnioskowaliśmy także, że pod wpływem temperatury zmienia się stosunek pobierania tlenu przez płuca do pobierania tlenu przez skórę. Przyszliśmy do przekonania, że jednym z powodów zmian tego stosunku jest zbyt wolny przyrost szybkości pobierania tlenu przez skórę, dzięki czemu udział oddychania skórniego w całkowitej wymianie gazowej zwierzęcia zmniejsza się w wyższych temperaturach. Istnieje także i druga przyczyna zmiany tego stosunku: mianowicie — bardzo silne zmniejszenie się udziału oddychania płucnego w temperaturach

niskich. Wykazaliśmy, że w temperaturze 4° ta sama ilość tlenu zostaje pobrana przez płuca 3½ razy wolniej, niż w temp. 14°. Oddychanie płucne znajduje więc niekorzystne warunki w temperaturach niskich, rola jego staje się nikła. Dyfuzja tlenu przez skórę, będąca w wysokich temperaturach wyraźnie czynnikiem ograniczającym pobieranie, w niskich temperaturach staje się wielkością tego samego rzędu, co szybkość zachodzących w organizmie procesów oksydacyjnych.

#### Wnioski.

1°. Po wyłączeniu oddychania płucnego zwierzę pobiera przez skórę w powietrzu i w wodzie (ciśnienie cząstkowe O<sub>2</sub> około 160 mm Hg) jednakowe ilości tlenu.

2°. Pomiędzy ciśnieniem cząstkowym tlenu w wodzie, wahającym się w granicach od 80 do 250 mm Hg, a pobieraniem tlenu przez skórę istnieje prosta proporcjonalność.

3°. Szybkość pobierania tlenu przez skórę po wyłączeniu oddychania płucnego wzrasta wraz z temperaturą, przyczem  $Q_{10} = 1.6$ . Wobec tego, że — jak to stwierdził KROGH — pobieranie tlenu przez obie powierzchnie oddechowe wzrasta znacznie szybciej, niż pobieranie tlenu wyłącznie przez skórę, wnioskujemy, że udział skóry w całkowitej wymianie gazowej maleje ze wzrostem temperatury.

4°. Intensywność pobierania tlenu przez skórę żaby, przeniesionej z powietrza do wody, nie zmienia się w zależności od czasu przebywania zwierzęcia w tem nowym środowisku.

5°. U żaby, która przebywała przez dłuższy czas w wodzie i która miała zatem zmniejszony dopływ tlenu, pobieranie tego gazu z powietrza przez obie powierzchnie oddechowe wykazuje wyraźne maksimum po upływie 45—90 minut od chwili wyjęcia zwierzęcia z wody. W dalszym przebiegu krzywa pobierania tlenu ustala się na pewnym poziomie.

6°. Zawartość tlenu w powietrzu płucnym żaby zanurzonej w wodzie spada poniżej 1%. Czas, po upływie którego zostaje osiągnięta zawartość końcowa, zależy od temperatury; czas ten jest 3½ razy większy w temperaturze 4°, niż w temperaturze 14°. Natomiast zawartość końcowa tlenu w płucach nie zależy od temperatury.

7°. W tych samych co poprzednio warunkach doświadczenia zawartość procentowa CO<sub>2</sub> w powietrzu płucnym nie ulega wyraźnym zmianom w zależności od czasu przebywania zwierzęcia w wodzie. Zawartość ta waha się w granicach od 0.8% do 1.7% i nie zależy od temperatury.

Już po ukończeniu rękopisu niniejszej pracy ukazała się publikacja CHR. BASTERTA (29) [Über die Regulierung des Sauerstoffverbrauches aus der Lunge der Frösche im Hinblick auf ihr Tauchvermögen. Zeitschr. f. vergleich. Physiol. 9 (212)], w której autor badał szczegółowo pobieranie tlenu z powietrza, zamkniętego w płucach żaby zanurzonej w wodzie i stwierdził, że zwierzę reguluje, prawdopodobnie w sposób odruchowy, ilość pobieranego z płuc tlenu na drodze zmian powierzchni naczyń włoskowatych płucnych. W ten sposób żaba przebywająca pod wodą pobiera z powietrza płucnego stałą, zaspakajającą jej potrzeby, ilość tlenu. Regulacja jednak występuje tylko w granicach zawartości tlenu w powietrzu płucnym od 16% — 8%. Powyżej i poniżej tych granic kapilary są już w stanie maksymalnego zwężenia lub rozszerzenia. Doświadczenia te były wykonane w temperaturze około 15°. Tłumaczą one przebieg otrzymanej przez nas krzywej, przedstawionej na rysunku 7. Na krzywej widzimy, że zawartość tlenu w płucach żaby, przebywającej w wodzie o temperaturze 14°, spada gwałtownie do 5%; poniżej 5% — spadek staje się łagodny, gdyż wobec tak małej zawartości tlenu w powietrzu płucnym zwierzę nie może już normować ilości pobieranego tlenu. To samo zjawisko występuje również w temperaturze 4°, jest jednak mało widoczne na naszym rysunku, gdyż odstępy czasu, w których pobierałem próbki gazu, były zbyt długie.

Prócz tego BASTERT wypowiada zdanie, że przez czas przebywania żaby w wodzie zawartość tlenu we krwi zwierzęcia jest stała.

#### Piśmiennictwo.

- Berg W. 1868. Untersuchungen über die Hautatmung des Frosches. Inaug. Diss. Dorpat. Cyt. wedł. Wintersteina (21). Bohr Chr. 1900. Über die Haut- und Lungenatmung der Frösche. Skand. Arch. f. Physiol. 10 (74). Dolk H. E. und N. Postma. 1927. Über die Haut- und Lungenatmung von *Rana temporaria*. Zeitschr. f. verg. Physiol. 5 (417). Edwards W. 1824. De l'influence des agents physiques sur la vie. Paris. Cyt. wedł. Edwards M.

1857. Leçons sur la physiologie. Paris. 1 (503). **Ege** and **A. Krogh**. 1914. On the relation between temperature and respiratory exchange in fishes. Internat. Revue f. Hydrobiologie und Hydrographie. 7 (48). **Kanitz A.** 1915. Temperatur und Lebensvorgänge. Berlin. **Klug F.** 1884. Über die Hautatmung des Frosches. Arch. f. Anat. und Physiol. (183). **Krogh A.** 1904. On the cutaneous and pulmonary respiration of the frog. Skand. Arch. f. Physiol. 15 (328). **Krogh A.** 1914. The quantitative relation between temperature and standart metabolism in animals. Internat. Zeitschr. f. phys.-chem. Biologie. 1 (491). **Krogh A.** 1919. The rate of diffusion of gases through the animal tissues, with some remarks on the coefficient of invasion. Journ. of Physiol. 52 (391). **Kubie L.** 1927. The solubility of O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> and N<sub>2</sub> in mineral oil and the transfer of carbon dioxyde from oil to air. Journ. of biol. Chem. 72 (545). **Pütter A.** 1914. Temperaturkoeffizienten. Zeitschr. f. allg. Physiol. 16 (574). **Pütter A.** 1917. Sauerstoffverbrauch und Sauerstoffdruck. Arch. f. d. ges. Physiol. 168 (491). **Regnault V. et J. Reiset.** 1849. Recherches chimiques sur la respiration des animaux des diverses classes. Ann. Chim. Phys. 26 (476). **Winterstein H.** 1921. Die physikalisch-chemische Erscheinungen der Atmung. Handb. d. verg. Phys. Band 1. Teil 2 (1).

[Zakład Chemji Rolniczej Uniwersytetu Jagiellońskiego]

Z. Koehler (†).

**Rozpuszczalność związków fosforowych zarodków żyta <sup>1)</sup>.**

*La solubilité des composés phosphorés des embryons du seigle.*

Rękopis nadesłany w dniu 15.VIII.1929 r.

L'auteur a étudié la solubilité des composés phosphorés que contenait une préparation dégraissée d'embryons du seigle. Il s'aperçut que lorsque la concentration du HCl employé à la lixiviation s'élevait à 0.01% ou au-dessus, on observait le même rapport entre la teneur des extraits en  $P_2O_5$  soluble total et en  $P_2O_5$  minéral d'une part et la concentration de l'acide d'autre part, que celui dans les expériences antérieures de l'auteur exécutées avec du maïs dent de cheval, ainsi que dans les épreuves exécutées avec de l'orge et de l'avoine par M-lle MINKOWSKA et M-lle LINDENBAUM. Sous l'action de solutions diluées d'acide chlorhydrique, de l'eau et de solutions diluées d'hydrate de sodium, les substances protéiques et les composés nucléiques phosphorés se dissolvaient progressivement. On voyait diminuer en même temps la teneur des extraits en composés de la fraction phytique et en phosphates minéraux.

S'appuyant sur les résultats obtenus, l'auteur admet que sur la teneur globale en  $P_2O_5$  des embryons de seigle, 44% environ correspondent aux composés de la fraction phytique, tandis qu'à peu près 11% sont représentés par des phosphates minéraux.

---

<sup>1)</sup> Praca niniejsza została przedstawiona na posiedzeniu Polskiej Akademji Umiejętności w dniu 1.VII.1929 r. i przyjęta do druku w Biuletynie Wydż. Matem.-Przyr.

W poprzednich pracach autora ('26), MINKOWSKIEJ ('26), LINDENBAUMÓWNY ('26) znaleziono, że jeżeli próbki mąki z zarodków końskiego zębu, a także z całych ziarn końskiego zębu, jęczmienia lub owsa ługować wodą oraz roztworami kwasów solnego i octowego o różnym stężeniu (w wyjątkowych przypadkach posługiwano się też bardzo rozcieńczonymi roztworami ługu sodowego), to między zawartością całkowitego rozpuszczalnego i mineralnego  $P_2O_5$  w wyciągach a rodzajem i stężeniem użytego rozpuszczalnika występuje bardzo charakterystyczna zależność. Z doświadczeń LINDENBAUMÓWNY, wykonanych z mąką owsianą, okazało się nadto, iż wyższa lub niższa zawartość fitynowego  $P_2O_5$  w wyciągach jest w pierwszym rzędzie warunkowana przez to, że w słabo kwaśnym środowisku (pH około 1.9) kwas fitynowy wiąże się z białkami na nierozpuszczalne połączenie, które rozpuszcza się lub rozkłada dopiero pod działaniem względnie mocnego kwasu solnego (0.5 — 1%). W niniejszej pracy zajęto się zbadaniem rozpuszczalności związków fosforowych zarodków żyta, rozszerzając jednak zakres doświadczeń o tyle, że do ługowania stosowano też na szerszą skalę roztwory wodorotlenku sodowego o różnym stężeniu.

Produkt wyjściowy, który posłużył do przygotowania preparatu zarodków, został mi łaskawie dostarczony przez D-ra S. Waśniewskiego, Dyrektora Gospodarstwa Doświadczalnego U. J. w Mydlnikach <sup>1)</sup>. Składał się on z całych, nieuszkodzonych zarodków żytnich, silnie zanieczyszczonych okrucami pozostałych części ziarna. Produkt ten przedewszystkiem wysuszono dokładnie na powietrzu, poczem rozsegregowano na sitach o średnicy otworów 1.25, 1.00 i 0.50 mm. Na sicie o największych otworach pozostała tylko niewielka ilość szczególnie dużych zarodków, przeważna ich część została zatrzymana dopiero przez sito milimetrowe, reszta zaś przeszła i przez to sito i zebrała się na sicie o najmniejszych otworach. Do dalszej przeróbki użyto tylko środkowej frakcji, t. j. zarodków o wymiarach 1.25 — 1.00 mm.

<sup>1)</sup> Korzystam z okazji, aby i na tem miejscu złożyć Mu wyrazy szczerego podziękowania.



Ale i ta frakcja była jeszcze silnie zanieczyszczona okruciami bielm. W braku innych środków zastosowano do niej ręczne przebijanie<sup>1)</sup> i dopiero tą drogą uzyskano około 100 g zupełnie czystych zarodków.

34 g tych zarodków roztarto w moździerzu, otrzymaną miazgę zważono, oddzielono z niej małą próbkę do oznaczenia ogólnego  $P_2O_5$ , resztę zaś umieszczono natychmiast w suszarce próżniowej, ogrzanej do 66 — 68°. Po wysuszeniu miazgę odtłuszczono bezwodnym eterem w aparacie SOXHLETA, tłuszcz zważono i oznaczono zawarty w nim  $P_2O_5$ , mąkę zaś, pozostałą w gilzie ekstrakcyjnej, roztarto w moździerzu agatowym i w cienkiej warstwie pozostawiono na powietrzu przez kilkanaście godzin. Następnie ją zważono, pobierając jednocześnie próbkę do oznaczenia ogólnego  $P_2O_5$ . W ten sam sposób przerobiono w kilka dni później drugą porcję zarodków wagi 35 g.

Tabela I.

	I			II		
	Procentowa zawartość $P_2O_5$ <i>Taux de <math>P_2O_5</math></i> %	W przeliczeniu na 34 g zarodków mg $P_2O_5$ <i><math>P_2O_5</math>, en mg pour 34 gr. d'embryons</i> mg	% w stos. do $P_2O_5$ zarodków <i>% de <math>P_2O_5</math> par rapport au <math>P_2O_5</math> des embryons</i>	Procentowa zawartość $P_2O_5$ <i>Taux de <math>P_2O_5</math></i> %	W przeliczeniu na 35 g zarodków mg $P_2O_5$ <i><math>P_2O_5</math>, en mg pour 35 gr. d'embryons</i> mg	% w stos. do $P_2O_5$ zarodków <i>% de <math>P_2O_5</math> par rapport au <math>P_2O_5</math> des embryons</i>
Całe zarodki <i>Embryons entiers</i>	3.106	1056	100	3.115	1090	100
Surowy tłuszcz <i>Graisse brute</i>	—	8.7	0.82	—	8.8	0.81
Odtłuszczona mąka <i>Farine dégraissée</i>	3.579	1042	98.67	3.621	1084	99.45
Razem w surowym tłuszczu i odtłuszczonej mące <i>Quantité totale contenue dans la graisse brute et la farine dégraissée</i>	—	1050.7	99.49	—	1092.8	100.26

Wyniki oznaczeń  $P_2O_5$  oraz oparte na nich bilanse fosforowe podano w tabeli I, przyczem dane, znalezione dla miazgi, przeliczono na całe zarodki, uwzględniając, że podczas rozcie-

<sup>1)</sup> Przeważną część tej żmudnej pracy wzięła na siebie Inż. H. Sowińska, za co i na tem miejscu pozwalam sobie złożyć Jej wyrazy uprzejmego podziękowania.

rania traciły one wprawdzie na wadze — zapewne skutkiem wysychania — 0.4%, ale prawie cała ilość  $P_2O_5$  pozostawała przytem w miazdze <sup>1)</sup>).

Z liczb tej tabeli można przedewszystkiem wywnioskować, że przeróbki, jakim poddawano zarodki, właściwie nie pociągały za sobą żadnych strat materiału. Dalej widzimy, że całe zarodki zawierały okrągło 3.11%  $P_2O_5$  i że eter ługował z miazgi tylko bardzo małe ilości tego składnika.

Nie podana w tabeli zawartość surowego tłuszczu wynosiła 10.3 — 10.4% w stosunku do wagi zarodków.

Obie porcje odtłuszczonej mąki, otrzymane w powyżej podany sposób, dokładnie przemieszano i pozostawiono przez 2 dni na powietrzu. Tym właśnie ostatecznym preparatem posługiwano się przy wykonywaniu wszystkich dalszych doświadczeń. Zawierał on średnio 6.60% wilgoci, 7.41% N i 3.548%  $P_2O_5$ .

Pierwszą serję wyciągów z tego preparatu przygotowano bezpośrednio po jego otrzymaniu, drugą mniej więcej w rok później. W pierwszym przypadku do ługowania używano wody oraz roztworów HCl i kw. octowego o różnem stężeniu, w drugim stosowano też rozcieńczone roztwory NaOH, lecz wyciągów w roztworach kw. octowego już nie powtarzano. W drugiej serji doświadczeń oznaczono w szeregu cieczy, używanych do ługowania, oraz w wyciągach stężenie jonów wodorowych przy pomocy elektrody chinhydronowej. Stosunek między ilościami ługowanej substancji a ilościami rozpuszczalników wynosił w obu serjach doświadczeń 1:100 (na 1 g preparatu 100 cm<sup>3</sup> rozpuszczalnika), czas zaś dygerowania — o ile nie podano inaczej — 3 godziny. Przy oznaczaniu całkowitego rozpuszczalnego i mineralnego  $P_2O_5$  zachowywano sposób postępowania, jaki został szczegółowo opisany przez autora w poprzedniej jego pracy ('26).

Wyniki 1. serji doświadczeń, z wyjątkiem danych, odnoszących się do wyciągów w kw. octowym, zostały zebrane w tabeli II, wyniki zaś 2. serji w tabeli III.

W 3. i 4. kolumnie tabeli II przytoczono dane, dotyczące prędkości sączenia się oraz większej lub mniejszej klarowności wyciągów. Począwszy od wyciągu w 0.008% HCl występuje tu

<sup>1)</sup> Moździerz, w którym rozcierano zarodki, wymyto dokładnie stęż.  $HNO_3$ , lecz w tym roztworze znaleziono zaledwie ślady  $P_2O_5$ .

taka sama zależność między obu rozpatrywaniem cechami a zawartością całkowitego rozpuszczalnego  $P_2O_5$  w wyciągach, jaką już zauważono w poprzednich pracach. Tam mianowicie, gdzie w miarę wzrastania stężenia kw. solnego, użytego do ługowania,

Tabela II.

№ wyciągu de l'extract	Rozpuszczalnik <i>Dissolvant</i>	Prędkość sączenia się <i>Le liquide filtre</i>	Przesącz <i>Filtrat</i>	Odczyn z $CCl_4$ , $COOH$ <i>Réaction avec <math>CCl_4</math>, <math>COOH</math></i>	Całkowity rozpuszczalny $P_2O_5$ <i><math>P_2O_5</math> soluble total</i>		Mineralny $P_2O_5$ <i><math>P_2O_5</math> - minéral</i>	
					% w stos. do preparatu	% w stos. do ogólnego $P_2O_5$	% w stos. do preparatu	% w stos. do ogólnego $P_2O_5$
					% par rapport à la préparation	% par rapport au $P_2O_5$ total	% par rapport à la préparation	% par rapport au $P_2O_5$ total
1	Woda <i>Eau</i>	b. wolno <i>très lentement</i>	mętny <i>trouble</i>	osad <i>précipité</i>	2.468	69.56	0.817	23.03
2	0.0025% HCl	"	+ +	"	2.296	64.69	—	—
3	0.005 "	"	+ +	"	2.171	61.17	1.419	39.98
4	0.006 "	dość wolno <i>lentement</i>	+ <i>clair</i>	mały osad <i>peu de précipité</i>	2.095	59.05	—	—
5	0.008 "	prędko <i>rapidem.</i>	klarowny <i>clair</i>	+ <i>clair</i>	2.083	58.70	—	—
6	0.01 "	"	"	+ <i>clair</i>	2.044	57.61	—	—
7	0.03 "	b. prędko <i>très rapidement</i>	klarowny <i>clair</i>	+ <i>clair</i>	0.752	21.20	—	—
8	0.05 "	prędko <i>rapidem.</i>	+ <i>clair</i>	+ + + + <i>mały osad peu de précipité</i>	0.684	19.29	0.447	12.59
9	0.07 "	wolno <i>lentement</i>	+ <i>clair</i>	+ + + + <i>mały osad peu de précipité</i>	0.790	22.26	—	—
10	0.1 "	wolno <i>lentement</i>	+ <i>clair</i>	osad <i>précipité</i>	0.947	26.69	0.415	11.70
11	0.5 "	"	+ <i>clair</i>	" <i>précipité</i>	1.782	50.24	0.403	11.34
12	1.0 "	prędko <i>rapidem.</i>	+ <i>clair</i>	osad <i>précipité</i>	1.955	55.11	—	—
13	1.0 "	"	+ <i>clair</i>	" <i>précipité</i>	1.949	54.93	0.391	11.01
14	2.0 "	"	+ <i>clair</i>	" <i>précipité</i>	2.031	57.24	—	—
15	3.0 "	"	+ <i>clair</i>	" <i>précipité</i>	2.129	60.01	—	—
16	3.0 "	"	+ <i>clair</i>	" <i>précipité</i>	2.141	60.37	—	—
17	5.0 "	"	+ + + <i>clair</i>	+ + + + <i>précipité</i>	2.508	70.68	—	—
18	5.0 "	"	+ + + <i>clair</i>	+ + + + <i>précipité</i>	2.534	71.42	—	—

Krzyżkami oznaczono większy lub mniejszy stopień opalizacji, względnie zmętnienia wyciągu po dodaniu  $CCl_4COOH$ .

*Nous avons indiqué par des croix (+) l'opalescence du filtrat, respectivement l'opacité de l'extract plus ou moins forte, après l'addition de  $CCl_4COOH$ .*

zawartość całkowitego rozpuszczalnego  $P_2O_5$  malała, wyciągi sączyły się prędko i klarownie, gdzie zaś zawartość całkowitego rozpuszczalnego  $P_2O_5$  rosła, wyciągi z początku sączyły się wolno, potem zaś (począwszy od 1% HCl) względnie prędko, lecz w obu przypadkach słabiej lub silniej opalizowały. Wyłamują się z pod powyższej reguły wyciągi wodne i w bardzo rozcieńczonych roz-

tworach HCl (aż po 0.006% włącznie). Wyciągi te bowiem sączyły się powoli i nie były klarowne, chociaż zawartość całkowitego rozpuszczalnego  $P_2O_5$  szybko w nich malała w miarę wzrastania stężenia kwasu. To ich zachowanie się, jak również

Tabela III.

№ wyciągu de l'extract	Rozpuszczalnik <i>Dissolvant</i>	pH		Całkowity rozpuszczalny $P_2O_5$ <i>P_2O_5 soluble total</i>		Mineralny $P_2O_5$ <i>P_2O_5 minéral</i>	
		rozpuszczalnika	wyciągu	% w stosunku do preparatu	% w stosunku do ogólnego $P_2O_5$	% w stosunku do preparatu	% w stosunku do ogólnego $P_2O_5$
		<i>du dissolvant</i>	<i>de l'extract</i>	<i>par rapport à la préparation</i>	<i>par rapport au <math>P_2O_5</math> total</i>	<i>par rapport à la préparation</i>	<i>par rapport au <math>P_2O_5</math> total</i>
19	0.088% NaOH <sup>1)</sup>	—	—	2.134	60.15	—	—
20	0.044 "	—	—	2.127	59.96	0.337	9.51
21	0.022 "	—	—	2.089	58.89	—	—
22	0.011 "	—	8.1	1.971	55.55	—	—
23	0.011 "	—	8.0	2.040	57.49	0.389	10.96
24	0.0055 "	—	7.6	2.162	60.92	—	—
25	0.0055 "	—	7.6	2.194	61.81	—	—
26	Woda	6.7	6.58	2.428	68.41	—	—
27	Eau	6.7	6.62	2.459	69.29	0.675	19.03
28	0.004% HCl	2.98	5.99	2.358	66.45	—	—
29	0.006 "	2.81	5.71	2.034	57.35	—	—
30	0.008 "	2.68	5.38	1.967	55.46	—	—
31	0.010 "	2.58	5.03	1.943	54.76	—	—
32	0.012 "	2.49	4.71	1.862	52.48	—	—
33	0.02 "	2.30	3.87	1.260	35.50	—	—
34	0.03 "	2.09	3.08	0.777	21.90	—	—
35	0.03 "	2.09	3.08	0.791	22.29	—	—
36	0.035 "	—	2.82	0.760	21.42	—	—
37	0.04 "	1.99	2.72	0.770	21.70	—	—
38	0.04 "	—	—	0.762	21.48	—	—
39	0.05 "	1.90	2.41	0.808	22.79	0.441	12.43
40	0.07 "	1.78	2.13	0.873	24.61	—	—
41	0.1 "	—	—	0.986	27.79	—	—
42	0.5 "	—	—	1.776	50.06	0.400	11.27
43	1.0 "	—	—	1.921	54.14	0.390	11.00
44	2.0 "	—	—	1.988	56.04	—	—
45	3.0 "	—	—	2.088	58.86	—	—
46	5.0 "	—	—	2.570	72.44	—	—

<sup>1)</sup> Roztwory NaOH, użyte do ługowania, były równoważne kolejno roztworom HCl o stężeniu 0.08, 0.04, 0.02, 0.01 i 0.005%.

*Les solutions de NaOH employées au lessivage étaient équivalentes à des solutions de HCl dont les concentrations étaient les suivantes: 0.08, 0.04, 0.02, 0.01 et 0.005%.*

odczyn, jaki dawały z  $CCl_3COOH$  (kolumna 5. tabeli), wskazuje, że zawierały one znaczne ilości białek, a — jak zobaczymy niżej — zapewne także i nukleinowych związków fosforowych.

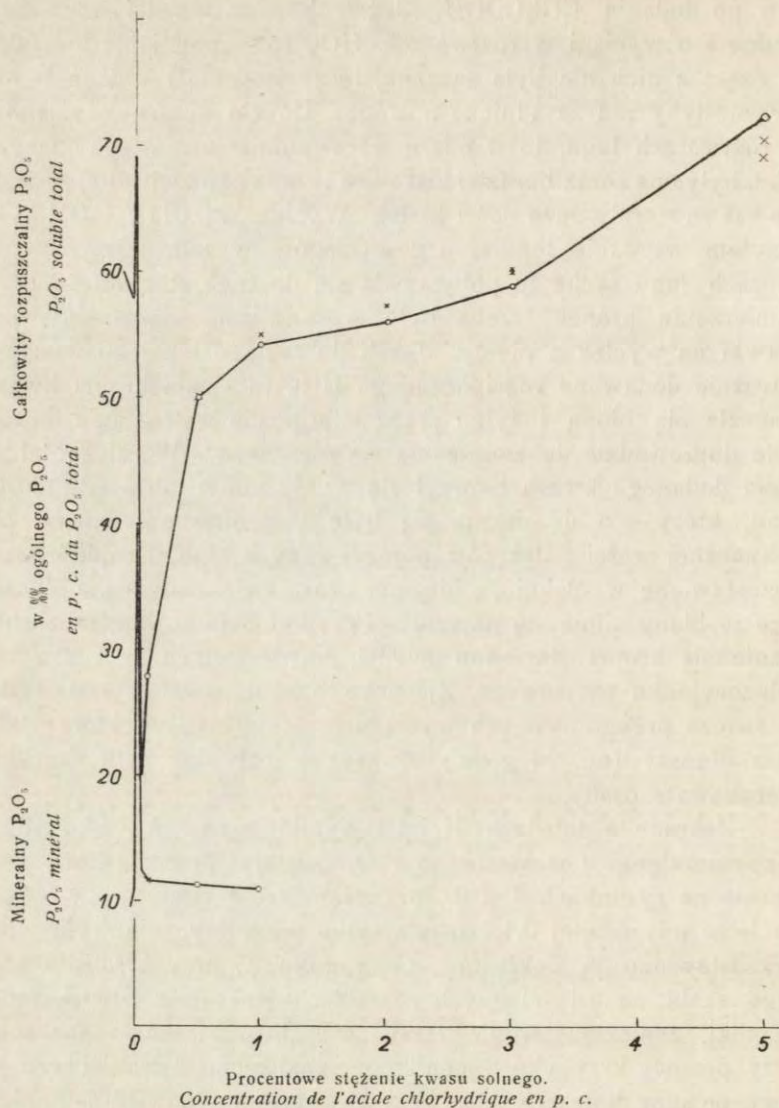
W tabeli III pominięto dane, dotyczące prędkości sączenia się, silniejszej lub słabszej opalizacji oraz zachowania się wycią-

gów po dodaniu  $\text{CCl}_3\text{COOH}$ . Jeżeli bowiem chodzi o wyciągi wodne i o wyciągi w roztworach  $\text{HCl}$ , to — pomijając już fakt, że część z nich nie była sączona, lecz wirowana<sup>1)</sup> — dane te nie przyniosłyby nic zasadniczo nowego. Co zaś dotyczy wyciągów w roztworach ługu, to w miarę wzrastania stężenia tego odczynnika, były one coraz bardziej klarowne i coraz bardziej żółte, wszystkie zaś zawierały duże ilości białek. Wyciągi w 0.011%  $\text{NaOH}$  były przytem wyraźnie lepkie, a u wyciągów w mocniejszych roztworach ługu cecha ta potęgowała się do tego stopnia, że przy odmierzaniu próbek trzeba było wprowadzać odpowiednie poprawki na wyciek z pipety. Jeżeli do takiego lepkiego wyciągu ostrożnie dodawano rozcieńczonego  $\text{HCl}$ , to każda kropla kwasu otaczała się błoną i tylko przez energiczne wstrząsanie można było doprowadzić do zmieszania się obu cieczy. W zależności od ilości dodanego kwasu tworzył się wtedy mniej lub więcej obfity osad, który — o ile można się było zorientować — składał się w znacznej części z strzępów porozrywanych błon. Krople kwasu, pozostawione w spokoju, z biegiem czasu zwiększały się, a otaczające je błony silnie się napinały. Przypominało to bardzo zachowanie się kropeł siarczanu miedzi, zawieszonych w roztworze żelazocyjanku potasowego. Zjawisko to występowało zresztą tylko w świeżo przygotowanych wyciągach. Z wyciągów, które stały czas dłuższy (np. 24 godz.), kwasy strącały już tylko zwykłe kłaczkowate osady.

Zebrane w tabelach II i III wyniki oznaczeń całkowitego rozpuszczalnego i mineralnego  $\text{P}_2\text{O}_5$  zostały przedstawione graficznie na rysunkach 1. i 2., przyczem część rysunku 1., leżąca na lewo od odciętej 0.1, została tylko schematycznie wykonana. Przedstawiono ją dokładnie na rysunku 2., przy kreśleniu którego skala na osi odciętych została 20-stokrotnie powiększona. Wyniki, znalezione w pierwszej serji doświadczeń, zaznaczono przy pomocy krzyżyków, wyniki zaś, znalezione w drugiej serji, — przy pomocy kółek. Kreśląc krzywe, łączono odpowiednie punkty za pomocą ciągłych prostych.

---

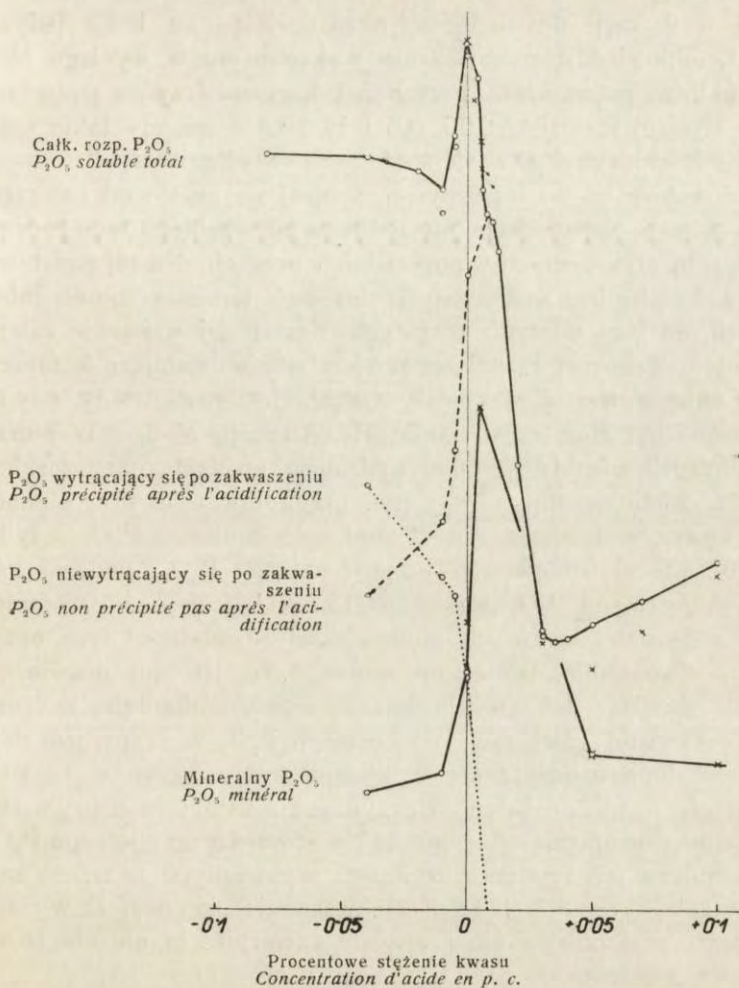
<sup>1)</sup> Wirowano wszystkie wyciągi w roztworach  $\text{NaOH}$ , wyciągi wodne, a także wyciągi w rozcieńczonych roztworach  $\text{HCl}$  aż po 0.012% włącznie. Wyciągi te przygotowywano bezpośrednio w probówkach od wirówki, których i na czas wirowania nie odkorkowywano.



Rys. 1. — Fig. 1.

Krzywą, odtwarzającą zawartość całkowitego rozpuszczalnego  $P_2O_5$  w wyciągach, poprowadzono wyłącznie przez punkty, wyznaczone w 2. serji doświadczeń, przyczem z pośród wyników, jakie dały równoległe wyciągi w wodzie oraz w 0.0055 i 0.011% NaOH, uwzględniono tylko wyniki oznaczeń, wykonanych w wy-

ciągach № 27, 25 i 23, gdyż — jak zobaczymy niżej — te właśnie wyciągi zostały użyte do wykonania kilku dalszych doświad-



Rys. 2. — Fig. 2.

czeń. Jak widać z wykresu i z tabel, wyciągi 1. serji zawierały w pewnych przypadkach nieco więcej, w innych zaś nieco mniej całkowitego rozpuszczalnego  $P_2O_5$  od analogicznych wyciągów serji 2. Trudno zdać sobie sprawę z przyczyny tych różnic.

W każdym razie nie były one zbyt wielkie, gdyż dochodziły co najwyżej do 3.5% w stosunku do ogólnego  $P_2O_5$  preparatu.

Krzywą, odtwarzającą zawartość mineralnego  $P_2O_5$  w wyciągach, poprowadzono zarówno przez punkty wyznaczone w 1. jak i w 2. serji doświadczeń, pozostawiając na boku jedynie punkt, odpowiadający oznaczeniu wykonanemu w wyciągu № 1. Z punktów, przez które przechodzi krzywa, trzy są podwójne, gdyż wyciągi 1. serji w 0.05, 0.5 i 1% HCl zawierały takie same ilości mineralnego  $P_2O_5$ , jak analogiczne wyciągi serji 2.

Przebieg części tej krzywej, leżącej na prawo od osi rzędnych, niczem zasadniczym nie różni się od przebiegu tego rodzaju krzywych, otrzymanych w poprzednich pracach. Na tej podstawie można do niej bez zastrzeżeń zastosować ten sam sposób interpretacji, co i do tamtych krzywych. Kształt jej wskazuje zatem, że badany preparat zarodków zawierał silnie działające fosfatazy, które najenergiczniej rozkładały związki fosforowe wtedy, gdy do ługowania był stosowany 0.005% HCl (wyciąg № 3). W pierwszym rzędzie ulegały przytem hydrolizie związki rozpuszczalne, gdyż w 26-ciogodzinnym wyciągu, przygotowanym przy pomocy tego kwasu, znaleziono — w stosunku do ogólnego  $P_2O_5$  — tylko o 1.30% więcej całkowitego rozpuszczalnego  $P_2O_5$ , podczas gdy ilość mineralnego  $P_2O_5$  wzrosła o 13.33%<sup>1)</sup>. Zarówno w mniej, jak i w bardziej kwaśnych środowiskach działalność tych enzymów szybko słabła, tak że np. wobec 0.05% HCl już prawie zupełnie ustawała. Jak zwykle jednak, wynik najbardziej zbliżony do rzeczywistej zawartości mineralnego  $P_2O_5$  w preparacie dały zapewne dopiero oznaczenia wykonane w wyciągach w 1% HCl. Zawartość tę można zatem w przybliżeniu ustalić na 0.40% w stosunku do preparatu, względnie 11% w stosunku do ogólnego  $P_2O_5$ . Wspomniana już zgodność oznaczeń, wykonanych w trzech analogicznych wyciągach 1. i 2. serji, wskazuje przytem, że w ciągu rocznego przechowywania preparatu zawartość ta nie uległa widocznym zmianom.

Przebieg części krzywej, leżącej na lewo od osi rzędnych, a w szczególności niskie położenie jej wyjściowego punktu (rzędna 9.51), można uważać za wskazówkę, że już stosunkowo bardzo nawet rozcieńczony roztwór NaOH (0.044%) nie był w sta-

<sup>1)</sup> Wyniki oznaczeń, wykonanych w tym wyciągu, nie zostały włączone do tab. II.



nie wyługować całej ilości mineralnego  $P_2O_5$  z preparatu. Wskutek alkaliczności środowiska tworzyły się tu zapewne, względnie nie ulegały rozpuszczeniu już od początku istniejące drobne ilości jakichś trudnorozpuszczalnych fosforanów.

Krzywa, odtwarzająca przebieg ługowania całkowitego rozpuszczalnego  $P_2O_5$ , w części swej, leżącej na prawo od odciętej 0.01, również kształtem swym w zupełności odpowiada analogicznym krzywom, jakie zostały wyznaczone w poprzednich pracach. Czemuś nowem i nieoczekiwanem jest dopiero przebieg jej odcinka, leżącego na lewo od tej odciętej. Wszystkie bowiem dotychczasowe krzywe zaczynały się w punktach mniej lub bardziej nisko położonych, wznosiły się stromo ku górze, przechodziły przez ostro zazwyczaj zaznaczone maksimum, poczem, tak jak i nasza krzywa, stromo opadały. Wzmiankowane jednak maksimum nigdy nie leżało wyżej od punktu, wyznaczonego przez zawartość  $P_2O_5$  w wyciągu w 1% HCl. Tymczasem maksimum naszej krzywej leży znacznie wyżej od punktu, odpowiadającego takiemu wyciągowi. Rzędna bowiem tego ostatniego wynosi 54.14, podczas gdy rzędna maksimum — 69.29. Z drugiej jednak strony na opadającej części naszej krzywej występuje pewna zmiana kierunku, która zresztą niezbyt wyraźnie tylko zaznacza się na wykresie. Odcinek mianowicie, zawarty między odcięciami 0.006 — 0.012, a w szczególności jego środkowa część, ograniczona przez odcięte 0.008 — 0.010, nieco mniej stromo opada, niż poprzedzająca go i następująca za nim część krzywej. Ta drobna zmiana kierunku nie miałaby oczywiście sama przez się większego znaczenia, gdyby nie wiązała się bardzo wyraźnie ze zmianami pewnych innych własności wyciągów. Tak np. wyciągi wodny i kwasowe — aż po wyciąg w 0.006% HCl włącznie — silnie opalizowały, zawierały białka, a bardzo rozcieńczony kwas solny wytrącał z nich mniej lub więcej obfite osady. Natomiast wyciągi w 0.008% HCl i dalsze, aż po minimum krzywej, były bardziej klarowne, odczynów na białka prawie nie dawały i nie reagowały też z kwasem solnym<sup>1)</sup>. Ponadto trzeba jeszcze zaznaczyć, że środkowa część omawianego, mniej stromo opadającego odcinka, leży na tej samej wysokości, co słabo tylko wznosząca

<sup>1)</sup> Wyciągi te zachowywały się więc tak samo, jak analogiczne wyciągi serji 1.

się ku górze część krzywej, zawarta między odciętami 1 i 2. Wszystkie te dane zdają się wskazywać, że leżący mniej więcej w środku tego odcinka punkt, wyznaczony przez zawartość całkowitego rozpuszczalnego  $P_2O_5$  w wyciągu w 0.008% HCl, ma tu takie same znaczenie, jakie posiadały maksyma krzywych, opisanych w poprzednich pracach, t. j. że zaznacza on moment, w którym do roztworu przechodziła cała ilość związków frakcji fitynowej i fosforanów mineralnych, a inne organiczne związki fosforowe, jak np. kwasy nukleinowe, nie były przytem ługowane. Gdyby tak było w istocie, to stosując kryterjum, sformułowane przez autora w poprzedniej jego pracy, dochodzimy do wniosku, że łączna zawartość  $P_2O_5$  związków frakcji fitynowej oraz fosforanów mineralnych wynosiła w badanym preparacie około 1.95% w stosunku do preparatu, względnie około 55% w stosunku do ogólnego  $P_2O_5$ . Odejmując od tych liczb wyżej podaną rzeczywistą zawartość mineralnego  $P_2O_5$  w preparacie, znajdujemy, że zawartość  $P_2O_5$  związków frakcji fitynowej (= „fitynowy“  $P_2O_5$ ) wynosiła 1.55, względnie 44%.

Rozpatrując rozmieszczenie punktów, wyznaczonych przez zawartość całkowitego rozpuszczalnego  $P_2O_5$  w wyciągach 1. serji, widzimy, że gdyby przez nie poprowadzić krzywą, to i na niej wystąpiłby mniej stromo opadający odcinek. Leżałby on jednak nieco wyżej i nieco bardziej na lewo od analogicznego odcinka, wyznaczonego w drugiej serji doświadczeń. Wobec tego wyniki 1. serji zdawałyby się wskazywać, że preparat zawierał nieco więcej „fitynowego“  $P_2O_5$ , niż to podano powyżej.

Pozostaje nam teraz rozpatrzyć pytanie, w jaki sposób możnaby wytłumaczyć przebieg części krzywej ługowania, leżącej na lewo od odciętej 0.008. Otóż najprościej jest przyjąć, że w miarę jak do ługowania były stosowane coraz to bardziej rozcieńczone roztwory HCl, woda, wreszcie coraz to mocniejsze roztwory NaOH, nukleinowe związki fosforowe rozpuszczały się stopniowo w coraz to większych ilościach. Jednocześnie obniżała się łączna zawartość „fitynowego“ oraz mineralnego  $P_2O_5$  w wyciągach <sup>1)</sup>, przyczem ubytki te były z początku mniejsze, potem

---

<sup>1)</sup> Obniżanie się rozpuszczalności związków frakcji fitynowej można łatwo wytłumaczyć w ten sam sposób, w jaki objaśniono poprzednio obniżanie się rozpuszczalności mineralnych fosforanów.

większe, a w końcu znów mniejsze od przyrostów nukleinowego  $P_2O_5$ . Tym trzem stosunkom między przyrostami nukleinowego a ubytkami „fitynowego“ i mineralnego  $P_2O_5$  odpowiadają kolejno trzy odcinki krzywej ługowania, zawarte między odciętami 0.008 i 0, 0 i — 0.01, wreszcie 0.01 i — 0.08.

Aby sprawdzić słuszność powyższych przypuszczeń, należało w wyciągach, wyznaczających rozpatrywaną część krzywej, pooznaczać zawartość różnych kategorii związków fosforowych. Ponieważ jednak — o ile mi wiadomo — nie opracowano dotychczas metody, która pozwalałaby na bezpośrednie oznaczanie nukleinowego  $P_2O_5$  wobec fitynowego  $P_2O_5$  lub naodwrot, spróbowano więc przedewszystkiem, czy nie da się wydzielić nukleinowych związków fosforowych przez odpowiednie zakwaszanie wyciągów. Było to tem prawdopodobniejsze, że wyciągi te zawierały białka, które — jak wiadomo — tworzą z kwasami nukleinowymi związki nierozpuszczalne w rozcieńczonych kwasach. Z drugiej jednak strony należało pamiętać i o tem, aby przez zbyt silne zakwaszanie wyciągów nie stworzyć warunków, w których i kwas fitynowy daje nierozpuszczalne połączenia z białkami.

Otóż z kształtu krzywej ługowania wywnioskowaliśmy uprzednio, że wyciąg w 0.008% HCl zawierał jeszcze całą ilość związków frakcji fitynowej, podczas gdy nukleinowego  $P_2O_5$  już w nim nie było. Dlatego to odczyn tego wyciągu (pH = 5.38) został wybrany jako granica, do której starano się doprowadzać odczyn mniej kwaśnych czy też alkalicznych wyciągów.

Wykonywając odpowiednie doświadczenia, postępowano w ten sposób, że do próbek wyciągów (objętość ich wynosiła zazwyczaj 40 cm<sup>3</sup>) dodawano z biurety tyle wody, a potem — rozcieńczonego HCl, aby objętość próbki wzrosła o  $\frac{1}{4}$  pierwotnej objętości, a odczyn osiągnął wyżej podaną wartość. Kwas dodawano kroplami, ciągle przytem silnie kłóćąc. Mniej więcej po godzinie mieszaninę sączono, poczem oznaczano odczyn przesączu oraz ogólną ilość zawartego w nim  $P_2O_5$ .

Wyniki kilku z pośród wykonanych w ten sposób doświadczeń zestawiono w tabeli IV, wyrażając wszystkie dane, dotyczące zawartości  $P_2O_5$ , w procentach ogólnego  $P_2O_5$  preparatu.

Z liczb, podanych w dwóch ostatnich wierszach tej tabeli, widzimy, że im mniej kwaśna, względnie im bardziej alkaliczna była ciecz, użyta do przygotowania wyciągu, tem więcej związ-

ków fosforowych wytrącało się wskutek zakwaszenia wyciągu, a tem mniej pozostawało w roztworze.

Tabela IV.

Pierwotny wyciąg <i>Extrait sans aucune addition</i>	Nr. wyciągu i rodzaj rozpuszczalnika <i>N° de l'extrait et dissolvant</i>	№ 27 woda <i>eau</i>	№ 25 0.0055% NaOH	№ 23 0.011% NaOH	№ 20 0.044% NaOH
		Całkowity rozpuszczalny $P_2O_5$ <i>P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> soluble total</i>	69.29	61.81	57.49
Na 40 cm <sup>3</sup> wyciągu dodano cm <sup>3</sup> 0.2% HCl <i>Nombre de cm<sup>3</sup> de HCl à 0.2% ajouté à 40 cm<sup>3</sup> de l'extrait</i>		1.0	1.9	2.7	8.0
pH przesączu — pH du filtrat		5.36	5.35	5.35	5.37
$P_2O_5$ w przesączu — $P_2O_5$ du filtrat		50.62	36.71	31.03	26.10
$P_2O_5$ w osadzie <sup>1)</sup> — $P_2O_5$ du précipité <sup>1)</sup>		18.67	25.10	26.46	33.86

<sup>1)</sup> Obliczono z różnicy.

*Calculé d'après la différence.*

Na podstawie tych liczb poprowadzono na rys. 2. dwie krzywe, z których jedna (kropkowana) podaje zawartość wytrącającego się, druga zaś (kreskowana) niewytrącającego się  $P_2O_5$  w poszczególnych wyciągach. Prawidłowy kształt tych krzywych wyraźnie przeciwstawia się pozornie nieprawidłowemu kształtowi części krzywej ciągłej, jaką one zastępują. Trudno przypuścić, aby ta prawidłowość kształtu była czemś zgoła przypadkowym. Raczej zdaje się ona wskazywać, że w powyżej podany sposób można rzeczywiście oddzielić nukleinowe związki fosforowe od związków frakcji fitynowej i mineralnych fosforanów. Gdyby tak było w istocie, to krzywa kropkowana przedstawiałaby nam przebieg ługowania z preparatu nukleinowego, krzywa zaś kreskowana — „fitynowego“ i mineralnego  $P_2O_5$ .

Równoległe z powyższymi doświadczeniami starano się uzyskać inne jeszcze eksperymentalne dowody na to, że przez odpowiednie zakwaszenie wyciągów można oddzielić nukleinowe związki fosforowe od związków frakcji fitynowej i mineralnych fosforanów.

W tym celu sprawdzono przede wszystkim, że osady, wytrącające się podczas zakwaszania, dawały, po odpowiedniej przeróbce, bardzo silną reakcję mureksydową, podczas gdy przesącze reakcji tej wcale lub prawie wcale nie dawały.

Dalej próbowano oznaczyć tę część „fitynowego“ i mineralnego  $P_2O_5$ , jaka nie przechodziła do roztworu podczas przy-

gotowywania wyciągów, których próbki poddawano zakwaszeniu. Z powodu pewnych trudności natury technicznej doświadczeń tych nie można było przeprowadzić ściśle ilościowo.

Wykonywano je w ten sposób, że przemytą lub nieprzemytą próbkę substancji, pozostałej po odwirowaniu i możliwie dokładnem zlanu pierwotnego wyciągu, ługowano w zwykły sposób 1% HCl, wirowano (lub sączono) i w otrzymanym wyciągu oznaczano ogólną zawartość  $P_2O_5$ , a w pewnych przypadkach także i zawartość mineralnego  $P_2O_5$ . Celem uniknięcia strat przy przenoszeniu substancji wszystkie kolejne ługowania danej próbki wykonywano w tej samej probówce od wirówki. Do przemywania, o ile ono było stosowane, dobierano takie ciecze, w których — jak sądzono — związki „fitynowe“ i fosforany mineralne nie powinny się były rozpuszczać.

Wyniki oznaczeń, wyrażone, jak zwykle, w procentach ogólnego  $P_2O_5$ , podane są w tabeli V.

Tabela V.

Pierwotny wyciąg: Nr. i rodzaj rozpuszczalnika <i>Extrait sans aucune addition: N° et dissolvant</i>	№ 27	№ 25	№ 23	№ 20		
	woda <i>eau</i>	0.0055% NaOH	0.011% NaOH	0.044% NaOH		
	$P_2O_5$					
	ogólny <i>total</i>	ogólny <i>total</i>	ogólny <i>total</i>	mine- ralny <i>minéral</i>	ogólny <i>total</i>	mine- ralny <i>minéral</i>
Wyciąg w 1% HCl <i>Extrait à base de HCl à 1%</i>	7.10	20.03	24.30	1.45	28.94	2.01
Pierwotny wyciąg po zakwaszeniu i prze- sączeniu (Tab. IV) <i>Extrait acidulé et filtré (Tabl. IV)</i>	50.62	36.71	31.03	10.96 <sup>1)</sup>	26.10	9.51 <sup>1)</sup>
Razem — Total	57.72	56.74	55.33	12.41	55.04	11.52

<sup>1)</sup> Oznaczenie wykonano w próbce pierwotnego wyciągu.

*Le dosage a été exécuté dans une portion de l'extrait primitif.*

Rozpatrując liczby tej tabeli, widzimy, że w miarę jak malała ogólna zawartość  $P_2O_5$  w zakwaszanych próbkach pierwotnego wyciągu, rosła zawartość tego składnika w wyciągach, przygotowywanych przy pomocy 1% HCl z ługowanych już próbek preparatu, i to w ten sposób, że sumy obu tych wielkości bardzo nieznacznie się tylko obniżały <sup>1)</sup>, praktycznie zaś biorąc, były

<sup>1)</sup> Obniżanie się to można sobie tłumaczyć słabszą działalnością fosfataz w bardziej alkalicznych środowiskach.

one równe podanej poprzednio rzeczywistej zawartości „fitynowego“ i mineralnego  $P_2O_5$  w preparacie. Widzimy dalej, że to, co powiedziano o ogólnej zawartości  $P_2O_5$ , stosuje się bez zmian także i do zawartości mineralnego  $P_2O_5$ .

Wyniki te zdają się wskazywać z jednej strony na to, że oddzielanie nukleinowych związków fosforowych od związków „fitynowych“ i fosforanów mineralnych przez zakwaszanie wyciągów rzeczywiście przebiegało mniej więcej ilościowo, z drugiej zaś strony na to, że 1% HCl rozpuszczał całą ilość związków „fitynowych“ i fosforanów mineralnych, zawartych w próbkach preparatu, które już poprzednio były ługowane wodą lub roztworami NaOH.

Poprzednio już wspomniano, że równocześnie z 1. serją wyciągów w kwasie solnym przygotowano też kilka wyciągów w roztworach kw. octowego. Wyniki oznaczeń, wykonanych w tych wyciągach, podane są w tabeli VI.

Tabela VI.

Rozpuszczalnik <i>Dissolvant</i>	Całkowity rozpuszczalny $P_2O_5$ , <i>P_2O_5 soluble total</i>		Mineralny $P_2O_5$ , <i>P_2O_5 minéral</i>	
	% w stosunku do preparatu	% w stos. do ogólnego $P_2O_5$	% w stosunku do preparatu	% w stos. do ogólnego $P_2O_5$
	<i>% par rapport à la préparation</i>	<i>% par rapport au <math>P_2O_5</math> total</i>	<i>% par rapport à la préparation</i>	<i>% par rapport au <math>P_2O_5</math> total!</i>
0.01% $CH_3COOH$	2.016	56.82	1.376	38.77
0.1     "	1.391	39.20	0.789	22.23
1.0     "	0.825	23.25	0.503	14.17
10.0   "	0.557	15.70	—	—

Wskazują one, że tak, jak w doświadczeniach, wykonanych w poprzednich pracach z końskim zębem, jęczmieniem i owsem, tak też i tu zawartość całkowitego rozpuszczalnego  $P_2O_5$  w wyciągach malała w miarę wzrastania stężenia kwasu, oraz że fosfatazy mogły wobec tego kwasu przejawiać bardzo energiczną działalność. Działalność ta słabła wprawdzie, gdy stężenie kwasu rosło, ale nawet 1% kw. octowy nie był jeszcze w stanie całkowicie jej powstrzymać.

#### Streszczenie.

Gdy do ługowania odłuszczonego preparatu zarodków żytnich stosowano 0.01% lub mocniejszy HCl, to między zawartością całkowitego rozpuszczalnego i mineralnego  $P_2O_5$  w wyciągach

a stężeniem kwasu występowała taka sama zależność, jak w poprzednich doświadczeniach autora, MINKOWSKIEJ i LINDENBAUMÓWNY, wykonanych z końskim zębem, jęczmieniem i owsem. Pod działaniem bardziej rozcieńczonych roztworów HCl, wody i rozcieńczonych roztworów NaOH rozpuszczały się białka oraz — w coraz to wzrastających ilościach — nukleinowe związki fosforowe. Jednocześnie malała zawartość związków frakcji fitynowej i mineralnego  $P_2O_5$  w wyciągach.

Wyniki szeregu dalszych doświadczeń zdają się wskazywać, że przez odpowiednie zakwaszanie wyciągów, zawierających białka i nukleinowe związki fosforowe, można te ostatnie wytrącić tak, że cała ilość związków frakcji fitynowej i fosforanów mineralnych zostaje przytem w roztworze.

Wysuszone na powietrzu zarodki żytnie, użyte do przygotowania preparatu, zawierały średnio 3.11% ogólnego  $P_2O_5$ , odfuszczone zaś preparat — 3.548%. Z tej ilości  $P_2O_5$  przypadało na  $P_2O_5$  związków frakcji fitynowej około 44%, zaś na mineralny  $P_2O_5$  około 11%.

Zarodki żytnie zawierają enzymy, które w słabo kwaśnym środowisku bardzo energicznie odczepiają kwas fosforowy od organicznych związków fosforowych.

#### Piśmiennictwo.

Koehler S. 1926. La solubilité et la répartition des composés phosphorés contenus dans les semences. Bulletin de l'Acad. Polon. des Sc. et des Lettres, Cl. des Sc. mathém. et nat. Série B (707). Lindenbaum S. 1926. Sur la solubilité des composés phosphorés de la farine d'avoine et sur la faculté de l'acide phytique de se combiner avec les substances protéiques qu'elle contient. Ibidem (1041). Minkowska S. 1926. De la solubilité des composés phosphorés de la farine d'orge. Ibidem (1007).





[Zakład Chemji Fizjologicznej Uniwersytetu Warszawskiego]

A. Dmochowski.

**O purynach mięśni. Część I i II.**

*The purines of muscle. Part I and II.*

Rękopis nadesłany w dniu 3.X.1929 r.

It has been shown by DMOCHOWSKI ('28) that over 50% of muscle purine-N is extracted by hot water; this fact, as well as the total absence of concordance amongst the results obtained by earlier workers for muscle purine content indicated the necessity of once again examining the purines present in muscle tissue.

Quantitative determination of purine nitrogen, by the method of KRÜGER and SCHITTENHELM in hydrolysed and unhydrolysed aqueous muscle extracts showed that the content of „free“, directly precipitable purines is very small, on the average 5 mg % purine-N in dog and rabbit muscle. After the hydrolysis of the extracts with 4% sulphuric acid, however, the precipitable purine-N content rises to 40 — 45 mg %; the low values found by many earlier workers are due to this fact.

The addition to aqueous muscle extracts of hypoxanthine or of crystalline yeast adenylic acid showed that only added nucleotides do not undergo precipitation as cuprous salts. Precipitation of nucleotides with uranyl acetate (THANNHAUSER and CZONICZER, '20) and determination of purine-N in the residue and filtrate showed, that about  $\frac{3}{4}$  of the purines of muscle extract are present as nucleotides (in the rabbit on the average 30 mg % purine-N), and barely  $\frac{1}{4}$  as free purines and nucleosides.

In order further to elucidate the nature of muscle purines, the content of the individual purines was determined by the method of STEUDEL ('24), both in the aqueous extract, divided into its nucleoside and nucleotide fractions, and in the residue left

after extraction with boiling water. In accordance with EMBDEN'S ('27) and with PARNAS' ('28) findings, the greater part of the nucleotide purines of aqueous extracts consists of adenine derived from adenylic acid.

The average adenine-N content of the nucleotide fraction was 16.5 mg %, and the hypoxanthine-N content 4.3 mg %; the nucleoside and free purine fraction contained 3.2 mg % adenine-N and 5.8 mg % hypoxanthine-N, whence it would appear that the only nucleoside present is adenosine, whilst hypoxanthine occurs exclusively in the free state. Neither guanine nor xanthine were found in the aqueous extracts.

In the residue after extraction equal quantities of guanine-N and of adenine-N were found, vis., 3.4 mg %, together with 1—2 mg % of hypoxanthine-N and traces of xanthine. The equivalent quantities of guanine and adenine found indicate that these are derived from nucleic acids, probably of the cell nuclei.

The possibility of the presence of other purines is indicated by the low yield of purines isolated ( $\frac{2}{3}$  of the total purine-N, of muscle as compared with a yield of over 80% of the purines present in yeast nucleic acid).

A purine fraction was isolated giving a soluble picrate, precipitable with ammonia and giving a crystallised sulphate different from that of guanine.

---

W poprzednich pracach (DMOCHOWSKI '28), staraliśmy się rozstrzygnąć zagadnienie istnienia rezerw białkowych u zwierząt stało — i zmiennocieplnych zapomocą badania zmian t. zw. stosunku jądrowo-plazmatycznego organizmów lub oddzielnych tkanek w okresie głodu. Zagadnienie stosunku jądrowo-plazmatycznego, natury raczej morfologicznej, dopiero od niedawna zainteresowało fizjologów, którzy — jak SCHAEFFER i LE BRETON ('23) oraz ROBERTSON ('23) — uznali za względnie najlepszy odpowiednik sto-

sunku mas jądra i plazmy komórkowej stosunek kwasu nukleinowego do białka.

Idąc za jeszcze powszechnie wówczas przyjętym poglądem, że olbrzymią większość puryn organizmów zwierzęcych stanowią puryny zawarte w jądrach komórkowych, SCHAEFFER i Le BRETON, ze względów praktycznych, zadowolnili się określeniem, dla zarodków zwierzęcych, stosunku:

$$\frac{\text{Azot purynowy}}{\text{Azot całkowity} - \text{azot purynowy}}, \text{ czyli } \frac{N_p}{N_T - N_p};$$

u osobników dorosłych, jak nadmienią ci autorowie, całkowity azot purynowy ( $N_p$ ), dzięki obecności oksypuryn: hipoksantyny, ksantyny i kwasu moczowego, nie jest dokładną miarą istotnych aminopuryn jądrowych, t. j. adeniny i guaniny.

Kontynuując badania TRUSZKOWSKIEGO ('27) nad stosunkiem jądrowo-plazmatycznym mięśni ssaków, staraliśmy się początkowo uwzględnić ten szkodliwy czynnik puryn pozajądrowych i usunąć go zapomocą ekstrakcji wrzącą wodą (DMOCHOWSKI '28. II); oddzielenie wszelkich niebiałkowych, azotowych ciał wyciągowych musiało również wpłynąć korzystnie na istotną wartość stosunku— $N_{\text{pur}} : N_{\text{białka}}$ .

Nieoczekiwanie wysokie wartości azotu puryn wyciągowych, przekraczające w mięśniach 50% całości azotu purynowego, przytem dość stałe (średnio 40 mg  $N_p$  w 100 g mięśni) i niezależne od stanu wygłodzenia zwierzęcia, skłoniły nas do bliższego zbadania całości zagadnienia puryn mięśniowych, aczkolwiek wpływ ekstrakcji na względne zmiany stosunku  $\frac{N_p}{N_T - N_p}$  był stosunkowo nieznaczny.

Przegląd odnośnej a bardzo obfitej literatury wykazał prawie nierozgmatwalny chaos: dość wspomnieć, że ilości azotu puryn wyciągowych wahały się u różnych autorów od 2 — 129 mg %, a w żadnej z monografij puryn lub kwasów nukleinowych (JONES '20, FEULGEN '23, ROSE '23, SCHITTENHELM '25, FÜRTH '25) sprawa ta nie była dokładniej rozważana, co było tem dziwniejsze, iż prace BURIANA ('05) wykazały niewątpliwy udział ciał purynowych w przemianie mięśniowej i wyraźne zmiany ich ilości w różnych stanach mięśni.

Pierwsze, datujące się od 50 lat prace nad ilościami puryn mięśniowych miały, wobec braku ścisłych metod, charakter raczej orjentacyjny.

DEMANT ('79) w wyciągach z mięśni gołębi głodzonych znalazł 7—15 mg % puryn, KOSSEL ('84) w hydrolizowanych mięśniach psa i wołu znalazł 0—5 mg % guaniny, 55 mg % hipoksantyny, 12—23 mg % ksantyny, w ekstrakcie mięsnym ('86)—hipoksantynę, ksantynę, ślady guaniny, brak adeniny.

Konieczność uprzedniej hydrolizy tkanek dla ilościowych oznaczeń puryn oraz stwierdzenia hamującego wpływu kolloidów na strącanie „wolnych” puryn w wyciągach wodnych z tkanek (SALKOWSKI '90, GOTO '900, HIS i HAGEN '900) odwróciły uwagę badaczy od puryn wyciągowych; SALOMON ('81) otrzymał wprawdzie aż 69 mg % puryn po ogrzaniu wyciągu wodnego z  $\text{HNO}_3$ , obserwacja ta przeszła jednak bez echa. SCHITTENHELM ('05, '10) stwierdził mimochodem wzrost ilości puryn, strączonych solami miedziawemi, po uprzedniej hydrolizie wyciągów z organów zwierząt (do 40 mg % Np, jak wyliczyłem z jego danych dla mięśni świni i wołu), dopiero jednak SALKOWSKI ('13) postawił jasno hipotezę, że nietyle hamujące działanie kolloidów, co złożony charakter związków purynowych jest powodem trudności wytrącania puryn wyciągowych; zapowiedziane dalsze prace doświadczalne tego autora nie zostały niestety opublikowane.

Gdy metoda ilościowa BURIANA i HALLA ('03) umożliwiła oznaczenia całości puryn, autorowie ci oraz BUGLIA i COSTANTINO ('12) znaleźli w mięśniach ssaków 55—72 mg % Np, SCAFFIDI ('10) w mięśniach żaby znalazł 35 mg % Np, z czego na wyciąg wodny przypadło zaledwie 5 mg %, na odpowiedni wyciąg z mięśni wołu (SCAFFIDI '11) 9 mg % Np; niehydrolizowany wyciąg musiał jednak, jak to stwierdziłem poniżej, wykazać tak niskie wartości azotu purynowego.

YOSHIMURA ('11) w ekstrakcie z mięśni królika, strączając kw. fosforo-wolframowym, otrzymał zaledwie 4 mg % hipoksantyny i ślady ksantyny, ani guaniny, ani adeniny; SUZUKI i YOSHIMURA ('09) w ekstrakcie ze śledzia—28 mg % hipoksantyny, FÜRTH i SCHWARTZ ('10) w mocno zgęszczonym wyciągu z mięśni psa i konia, 23—36 mg % Np.

SMORODINCEW ('13, '14) z wyciągu z mięśni konia otrzymał, strączając kwasem fosforo-wolframowym, zaledwie 7—9 mg % puryn, u wołu—11 mg %, natomiast siarczanem rtęci 62 mg %, podobnież u owcy 38 mg % i 58 mg %, u świni (SMORODINCEW '22) 37 mg % i 120 mg %; oczywiście, wyprowadzone średnie wartości z tych liczb nie mogły mieć żadnego znaczenia.

OFFER i ROSENQUIST ('99) z wyciągu z mięsa wołowego i cielęcego otrzymali metodą srebrową 25—50 mg % Np, ADLER ('08) tą samą metodą 129 mg % Np i 14—25 mg % Np.

BESSAU i SCHMIDT ('10) dla mięsa wołu otrzymali 38 mg % Np, dla wyciągu zaś—15 mg % Np.

Najdokładniejsze oznaczenia wykonał v. FELLEBERG ('18); hydrolizował on mięso, wyciągi wodne i mięso wygotowane, zaś puryny oznaczał metodą KRÜGERA i SCHITTENHELMA ('05) i znalazł w mięsie wołu 55 mg % Np, w wyciągu 29 mg % Np, w pozostałości mięsnej—25 mg % Np, w mięśniach żaby—53 mg % Np i t. d.

KIKUCHI ('23) w mięśniach królika znalazł średnio 67 mg % Np. TRUSZKOWSKI ('27) u psa, konia, szczura 70 mg % Np, DMOCHOWSKI ('28, 11) u psa 80 mg % Np, u królika do 104 mg % Np.

Wszystkie te sprzeczne wyniki badań, podane w tab. I, nie wyjaśniły zupełnie charakteru i form występowania puryn mięśniowych; znacznie więcej światła rzuciły badania nad kwasami nukleinowymi, znajdowanymi w organizmach zwierzęcych, a szczególnie — nad wykrytym w mięśniach jeszcze przez LIEBIGA ('47) kwasem inozynowym.

Tabela I.

Zawartość azotu purynowego mięśni i wyciągów wodnych z mięśni w mg na 100 g tkanki.  
*Purine-N content of whole muscle and of aqueous extracts in mg per 100 g.*

Author — <i>Author</i>	Mięśnie <i>Whole muscle</i>	Wyciąg <i>Aqueous extr.</i>	Rodzaj zwierzęcia <i>Animal</i>
DEMANT ('79)	—	[3 — 6] <sup>1)</sup>	Gołąb. <i>Pigeon.</i>
KOSSEL ('84, '86)	[30 — 60]	—	Wół, pies, kura. <i>Ox, dog, chicken.</i>
SALOMON ('81)	—	[30]	Pies. <i>Dog.</i>
SCHITTENHELM ('05, '10)	—	40 — 50	Świnia, wół. <i>Pig, ox.</i>
BURIAN i HALL ('03)	55 — 72	—	Wół, koń. <i>Ox, horse.</i>
BUGLIA i COSTANTINO ('12)	68	—	Wół. <i>Ox.</i>
SCAFFIDI ('10, '11)	35 — 61	3 — 9	Żaba, wół. <i>Frog, ox.</i>
YOSHIMURA ('11)	—	[2]	Królik. <i>Wild rabbit.</i>
SUZUKI i YOSHIMURA ('09)	—	[12]	Śledź. <i>Herring.</i>
FÜRTH i SCHWARTZ ('10)	—	23 — 36	Pies, koń. <i>Dog, horse.</i>
SMORODINCEW ('13, '14, '22)	—	[3 — 50]	Koń, świnia. <i>Horse, pig.</i>
OFFER i ROSENQUIST ('99)	—	25 — 50	Wół, cielę. <i>Ox, calf.</i>
ADLER ('08)	—	14 — 129	" " " "
BESSAU i SCHMIDT ('10)	38	15	" " " "
v. FELENBERG ('18)	[50 — 55]	[28]	Wół, żaba. <i>Ox, frog.</i>
KIKUCHI ('23)	58 — 83	—	Królik. <i>Rabbit.</i>
TRUSZKOWSKI ('27)	54 — 80	—	Pies, koń, szczur. <i>Dog, horse,</i>
DMOCHOWSKI ('28)	80 — 104	—	Pies, królik. <i>Dog, rabbit. rat.</i>

<sup>1)</sup> Wartości w nawiasach wyliczono z wartości puryn.

*Values in brackets, calculated as purine-N from the total purine content.*

Kwas inozynowy,  $C_{10}H_{13}N_4O_8P$ , okazał się dzięki pracom NEUBERGA i BRAHNA ('07), BAUERA ('07), LEVENA i JACOBISA ('09) mononukleotydem pentozowym, zbudowanym według schematu: hipoksantyna — riboza — kw. fosforowy, a t. zw. „karnina” — nieczystym nukleozydem — inozyną (HAISER i WENZEL '07, '09).

Pochodzenie i rola kw. inozynowego były aż do ostatnich czasów zupełnie nieznanne, szczególnie wobec niemożności dezaminacji odpowiedniego mononukleotydu — kwasu adenilowego,  $C_{10}H_{14}N_5O_7P$ , na inozynowy (TANNHAUSER '20, FEULGEN '23), co pozwoliłoby związać ten ostatni genetycznie z występującym w organizmie zwierzęcym polinukleotydem pentozowym, znalezionym bądź ułamkowo (E. HAMMARSTEN '20, '21, FEULGEN '19, '22, STEUDEL '21), jako mononukleotydem — kwas guanylowy (sprzężony?), bądź prawie w całości w trzustce (JONES i PERKINS '24, JORPES '24).

Kolejno BASS ('14), THANNHAUSER i CZONICZER ('20), JACKSON ('23, '24), HOFFMANN ('25), BUELL i PERKINS ('28) wykryli, izolowali i oznaczyli kwas adenilowy we krwi zwierzęcej, a EMBDEN i LAQUER ('14) i ostatnio EMBDEN i ZIMMERMANN ('27 I, II) izolowali go z mięśni królika, wreszcie SCHMIDT i EMBDEN ('27) odnaleźli w nim dawno poszukiwaną substancję macierzystą kw. inozynowego i zarazem amonjaku mięśniowego (PARNAS '27).

Co się tyczy ilości kwasu inozynowego w mięśniach, to jedynie dawne badania KREITA ('69) wskazywały na wartości około 25 mg % Np, nowsze dane dotyczyły tylko handlowego wyciągu mięsnego.

Po odkryciu EMBDENA ('27) PARNAS ('27.II) pierwszy próbował oznaczyć ilościowo kwas adenilowy z różnicy ilości adeniny w zmiażdżonych mięśniach żaby z zahamowanym (boranem) i niezahamowanym powstawaniem amonjaku; pierwsze jego dane: 180 mg % — 120 mg % = 60 mg % pikrynanu adeniny odpowiadały około 34 mg % azotu adeniny mięśniowej, a zaledwie 11 mg % adeniny zdezaminowanej, następne (PARNAS '28.II) (datowane z 10.I.28 r.) były już znacznie większe; wynikało z nich, że wobec śladów guaniny i braku ksantyny prawie całość puryn świeżych mięśni królika należałoby przypisać adeninie (i nieco hipoksantynie); uwzględniając błędnie obliczone ilości adeniny z wagi znalezionej pikrynanu adeniny (według wzoru  $C_5H_5N_5$ ,  $C_6H_3N_3O_7$  adenina stanowi 37.1%, a nie 45.4%) azot adeninowy wyniósłby 50 mg %, a azot kwasu adenilowego co najmniej 32 mg %.

Wynikająca z naszych poprzednich badań konieczność ścisłego określenia udziału puryn, wchodzących w skład kwasów nukleinowych jądrowych, i niesłychana rozbieżność jakościowych i ilościowych danych co do puryn mięśniowych oraz niemożności pogodzenia ich ze świeżo ogłoszonymi wynikami EMBDENA ('27.I) stały się dla nas podniecią do wszechstronnego zbadania całego zagadnienia; należało początkowo dokładnie oznaczyć ilości puryn wyciągowych mięśni i formy ich występowania, a następnie określić ilości poszczególnych puryn, t. j. adeniny i hipoksantyny, guaniny i ksantyny, oddzielnie w wyciągu i w pozostałości po ekstrakcji wodą<sup>1)</sup>.

---

<sup>1)</sup> Pierwsza część niniejszej pracy — oznaczanie ilości azotu puryn wyciągowych i podział ich na frakcje nukleotydową i nukleozydową metodą THANNHAUSERA i CZONICZERA ('20) (wykonana w okresie maj 1927 — maj 1928), była zreferowana 20.VI.1928 na posiedzeniu Warsz. Oddz. Pol. Tow. Biol. i podana w zarysie w Comptes Rendues [XCIX, str. 1148], druga część — oznaczenie ilościowe poszczególnych puryn w okresie wrzesień 1928 — czerwiec 1929, została podana 5.VII.1929 na II-gim Zjeździe Chemików Polskich w Poznaniu.

## Część doświadczalna.

### I. Oznaczenia ogółu puryn.

Jako materiał do badań były użyte wyciągi wodne ze świeżych mięśni królików i psów. Mięśnie tylnych odnóży (czasami i inne), natychmiast po śmierci zwierzęcia, zabijanego najczęściej przez zastrzyk chloroformu do serca, były wycinane, przepuszczane przez maszynkę do mięsa, szybko ważone i w porcjach około 100 g wrzucane do 500—1000 cm<sup>3</sup> wrzącej wody; po 10—20 minutach wrzenia odsączało, ekstrakcję powtarzano 2—3 razy, przesącze strącano drobnymi ilościami kwasu octowego do maksymalnego zmętnienia, gotowano i po odsączeniu białka zagęszczano do 400—500 cm<sup>3</sup>. Azot całkowity wyciągu oznaczano Kjeldahlem, azot purynowy (Np) przez podwójne wytrącenie NaHSO<sub>8</sub> + CuSO<sub>4</sub> (KRÜGER i SCHITTENHELM '05), oddzielnie przed i po 4-godzinnej hydrolizie z 4% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, wreszcie osady miedziawe spalało Kjeldahlem.

Rezultaty oznaczeń były zupełnie jasne: osad miedziawy z płynu niehydrolizowanego zawierał zawsze b. niewielkie ilości puryn — średnio 5 mg % Np, po hydrolizie — był jasny i obfity, zawierał od 30—50 mg % Np (u psa nieco mniej, u królika więcej); zawartość Np w pozostałości mięsnej po ekstrakcji, zhydrolizowanej, jak zwykle, z 4% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> wynosiła również około 40 mg % (tab. II).

Ani oziębianie mięśni lodem przed posiekaniem ich, ani przedłużanie ekstrakcji nie wywołało wyraźnych zmian w tym podziale puryn mięśniowych na 3 frakcje; niehydrolizowane resztki tkanki oraz białko, strącone kw. octowym, nie zawierało już przytem żadnych puryn.

Dla wyjaśnienia wpływu hydrolizy na ilość strączanych puryn, względnie—ustalenia hamującego wpływu kolloidów na strącanie różnych form związków purynowych, do wyciągu wodnego z mięśni psa dodano: 1° hipoksantyny (Kahlbaum), jako najprawdopodobniej występującej wolnej puryny, 2° kwasu adenilowego, otrzymanego przez nas z *Natrium nucleicum* Boehringera metodą STEUDELA i PEISERA ('24) w postaci krystalicznej i z odpowiednią zawartością azotu (20.29% N, teoret. 20.19% N). Przy dwukrotnem strąceniu solami miedziawymi hipoksantyna, dodana do wyciągu, strąciła się całkowicie, kw. adenilowy prawie wcale:

- a) Np niehydrolizowanego wyciągu z mięśni psa — 16.2 mg N  
 b) „ po dodaniu hipoksantyny (+ 10.4 mg N) — 27.6 mg N  
 c) „  $\frac{1}{10}$  wyciągu a) + 52.8 mg N kwasu adenil. — 1.7 mg N

Fakt niestrącania się kwasu adenilowego z wyciągu z mięśni, wobec łatwego strącania się z roztworu wodnego, zgodnie z obserwacjami THANNHAUSERA i CZONICZERA ('20), tłumaczył dostatecznie zbyt niskie wartości puryn wyciągowych wielu autorów i dodatni wpływ stosowanej hydrolizy. Jeśli istotnie w wyciągu wod-

Tabela II.

Zawartość azotu w wyciągu wodnym z mięśni w %; azot purynowy 1<sup>o</sup>) mięśni, 2<sup>o</sup>) mięśni ekstrahowanych oraz 3<sup>o</sup>) wyciągu hydrolizowanego i niehydrolizowanego w mg %.

Total N—content of aqueous extract in %; purine—N content of whole muscle, residue after extraction, hydrolysed and unhydrolysed extract in mg %.

Data Date	N wyciągu w % N-content of extr.	Np w mg % — Purine-N content of				U w a g i R e m a r k s
		Wyciągu — Extract		Mięśni ekstrah. Residue after extraction	Mięśni całkow. Whole muscle	
		niehydr. unhydroł	hydrol. hydroł			
23.V. 27	0.56	8.7?	20.0?	39.07	109.75	Króliki karmione
10.VI „	0.47	5.0	42.3	43.78	87.35	Rabbit fed
3.XI „	0.44	6.7	—	—	—	„ „
19.XII „	—	3.8	44.3	30.6	—	„ „
24.IV. 28	—	3.4	44.2	—	85.8	„ „
6.IV. 27	—	—	33.8	74.19?	123.3 ?	„ głodzone
11.V „	—	5.0	—	46.47	95.5	„ hunger
27.VI „	0.48	—	45.3	39.28	91.97	„ „
3.VI „	0.65	5.1	—	47.22	101.5	„ „
23.X „	—	—	53.0	44.5	99.3	„ karmiony. fed
Średnia Mean	0.52	4.8	43.8	41.6	95.9	
19.X. 27	0.40	8.8	31.36	32.32	79.37	Pies karmiony kaszą Dog, fed on meal
14.XI „	0.35	5.7	34.3	30.61	79.13	„ „ mięsem, meat
10.VI „	—	5.6	27.5	—	—	„ chory, ill

nym znajdowały się nukleotydy: kw. adenilowy i inozynowy — przypuszczenie prawdopodobne wobec łatwej rozpuszczalności tych kwasów i ich soli — to po uprzednim strąceniu wyciągu roztworem octanu uranylu, metodą THANNHAUSERA i CZONICZERA ('20) i odsączeniu powinniśmy w zhydrolizowanym przesączu otrzymać znacznie mniejsze wartości Np, odpowiadające zawartości niestrącających się octanem uranylu nukleozydów i wolnych puryn.

Przypuszczenie nasze okazało się słuszne, jak to wynika z poniższego zestawienia rezultatów oznaczeń Np w wyciągu z mięśni królika:



Np wyciągu zhydrolizowanego	44.3 mg % N	44.2 mg % N
„ zhydroliz. przesączu od oct. uranyl.	12.4 „	11.8 „
„ zhydroliz. osadu uranylowego	28.0 „	—

W osadzie uranylowym po rozpuszczeniu go w rozc.  $H_2SO_4$ , usunięciu uranu ługiem sodowym lub amonjakiem; po strąceniu, jak zwykle,  $NaHSO_3 + CuSO_4$  i rozłożeniu  $H_2S$ , stwierdzono obecność pentoz i fosforu, co ostatecznie stwierdziło obecność nukleotydów. Zastosowanie octanu uranylu wyświeśliło więc ilościowy udział różnych form związków purynowych w wyciągu z mięśni: okazało się, że zaledwie  $\frac{1}{4}$  puryn występuje w postaci nukleotydów i wolnych puryn,  $\frac{3}{4}$  zaś w formie wolnych nukleotydów.

W purynach, strąconych z wyciągu niehydrolizowanego, pentoz nie wykryto, puryny te nie dają reakcji mureksydowej ani WEIDELA, a b. słabą ksantynową <sup>1)</sup>.

## II. Oznaczenia poszczególnych puryn.

Po ogólnem zorientowaniu się we względnych ilościach azotu purynowego różnych form puryn mięśniowych, przystąpiono do ilościowego oznaczenia poszczególnych puryn, t. j. adeniny i hipoksantyny, guaniny i ksantyny, oddzielnie w wyciągu wodnym—z uwzględnieniem podziału na frakcję nukleotydową i nukleozydową, oddzielnie zaś w mięśniach ekstrahowanych. Poza wspomnianymi oznaczeniami KOSSELA ('84) tylko BENNETT ('12), którego praca oryginalna była mi niedostępna, oznaczał poszczególne puryny mięśni; z najnowszymi analizami PARNASA ('28.I, '29) zaznajomiłem się już w czasie niniejszej pracy.

Oznaczenia były w zasadzie wykonywane metodą, podaną przez STEUDELA ('24), nieco zmodyfikowaną, uwzględniającą obserwacje KRÜGERA i SCHITTENHELMA ('05) przy izolowaniu puryn kału; w celu uniknięcia ewentualnych zmian pośmiertnych, zachodzących pod wpływem reakcyj enzymatycznych i możliwie wiernego odtworzenia stanu puryn w tkance żywej, mięśnie, natychmiast po śmierci zwierząt i po przepuszczeniu przez maszynkę do mięsa, były wrzucone do wrzącej wody, względnie

<sup>1)</sup> K. POHLE ('29) w najnowszej pracy [Zeitschr. f. physiol. Chem. 185 (9)] w świeżych mięśniach królika nie znajduje wcale wolnych puryn, a zaledwie 0.5—1 mg % azotu karniny, metoda jego jednak, jak przyznaje, nie jest ściśle ilościowa.

(przy ostatnich próbach) siekane według PARNASA z 5% HCl i wrzucane do wrzącego roztworu  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  dla zobojętnienia.

300 — 1600 g mięśni królików lub kur ekstrahowano kilkakrotnie wrzącą wodą (2 — 6 litrów), zadawano śladami  $\text{CH}_3\text{COOH}$ , zgęszczano do 500 — 1000  $\text{cm}^3$ , przesącz strącano niewielkim nadmiarem 1.5% roztworu octanu uranylu, odsączano, względnie jeszcze zgęszczano i odsączano; przesącz od osadu nukleotydów hydrolizowano 4 godziny z 4%  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , zobojętniano i puryny strącano, jak zwykle,  $\text{NaHSO}_3 + \text{CuSO}_4$ , rozkładano  $\text{Na}_2\text{S}$ , zakwaszono na gorąco  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (nie  $\text{CH}_3\text{COOH}$ , gdyż utrudnia to powtórny rozkład osadu miedziawego), znowu strącano i rozkładano siarkowodorem (frakcja I, nukleozydowa). Obfity osad uranylowy nukleotydów; doskonale przemyty, hydrolizowano również z 4%  $\text{H}_2\text{SO}_4$  przez 4 godziny, strącano uran  $\text{NaOH}$ , osad ten hydrolizowano jeszcze raz 1 — 2 godziny i strącono  $\text{NaOH}$ , połączone przesącze strącano dwukrotnie miedzią, jak frakcję I, i otrzymano odpowiedni roztwór siarczanów puryn nukleotydowych (frakcja II). Po zgęszczeniu do 100 — 200  $\text{cm}^3$  roztwory zadawano amonjakiem, po 24 godz. odsączano galaretowate osady (rozpuszczające się w przeciwieństwie do guaniny b. słabo w roztworach  $\text{NaOH}$ ), przesącze po usunięciu nadmiaru amonjaku i zakwaszeniu śladami HCl (na metyloranz) strącano nadmiarem nasyconego roztworu pikrynanu sodowego, sączono i przekrystalizowywano z wrzącej wody, suszono w 110 — 120° C i ważono, wreszcie oznaczano punkt topnienia; strącając pikrynanem sodu na gorąco, otrzymano wprost po oziębieniu osad zupełnie krystaliczny o punkcie topnienia 279 — 280° C z frakcji nukleotydowej, 274 — 276° C z nukleozydowej; w obu frakcjach pikrynan adeniny był więc zupełnie czysty.

Przesącz od pikrynanu adeniny zakwaszony  $\text{HNO}_3$  i uwolniony od kwasu pikrynowego przez kilkakrotne wyklócanie z benzolem, strącano amonjalkalnym roztworem  $\text{AgNO}_3$ , osad rozkładano i uwalniano od HCl według przepisu STEUDELA, roztwór na gorąco strącano kwasem pikrynowym i zgodnie ze STEUDELEM zawsze prawie otrzymywano dodatkowy osad pikrynanu adeniny (o p. topn. 280° C), którego wagę dołączono do pierwszego osadu; przesącz od ostatniego osadu zgęszczano początkowo dla wykrystalizowania pikrynanu hipoksantyny i po oddzieleniu tegoż strącano znowu amonjalkalnym roztworem  $\text{AgNO}_3$  (frakcja ksantynowa); przekonawszy się później, że wykrystalizowanie pikrynanu hipoksantyny ilościowo jest niemożliwe, że wobec zaledwie śladów ksantyny w mięśniach, osad srebrowy frakcji ksantynowej jest prawie czystym związkem hipoksantyny, dającym w rozc.  $\text{HNO}_3$  charakterystyczny azotan, a w obecności nadmiaru  $\text{AgNO}_3$  krystaliczny związek addytywny (BRUHNS '90), strącano przesącz od drugiego osadu pikrynanu adeniny (po wytrząsaniu benzolem) wprost amonjalkalnym roztworem  $\text{AgNO}_3$ , suszono w 120° C, ważono i wyliczano azot hipoksantyny ze wzoru  $\text{C}_5\text{H}_2\text{N}_4\text{OAg}_2$ .

Przeróbka mięśni ekstrahowanych była nieco trudniejsza: mięśnie były hydrolizowane dwukrotnie, raz 4 godz. następnie 2 godz. z nową porcją 4%  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ; po dwukrotnem strąceniu  $\text{NaHSO}_3 + \text{CuSO}_4$  i rozłożeniu  $\text{Na}_2\text{S}$  osad, pomimo przemywania, był zwykle tak zanieczyszczony, że trzeba

było wytrącić jeszcze trzeci raz miedzią lub amonjalkalnym roztworem srebra (frakcja III, mięśniowa).

Po rozłożeniu osadu miedziawego za pomocą  $H_2S$  lub srebrwego— $HCl$ , strącano guaninę amonjakiem, jak poprzednio, a szary proszkowaty osad odsączano po 24 godz., rozpuszczano w roze.  $NaOH$ , strącano  $CH_3COOH$ , odsączano, suszono i ważono, wreszcie sprawdzano zawartość azotu; pikrynian adeniny nie był z mięśni nigdy krystaliczny (punkt topnienia za niski, bo  $260^{\circ}C$ ), dopiero po przeprowadzeniu go jeszcze raz przez sól srebrową otrzymano zupełnie czysty preparat krystaliczny (o punkcie topnienia  $278 - 280^{\circ}C$ ).

Tabela III.

Poszczególne puryny różnych frakcyj mięśni 1<sup>o</sup> królika i 2<sup>o</sup> kury w mg na 100 g tkanki.  
The individual purines of 1) rabbit and 2) chicken muscle tissues and their content as mg purine—N par 100 g tissue.

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Frakcja badana Material	№ do- świad- czenia Nr. of exper- im.	Całko- wity Np Total pur. N	Ilość g Quan- tity g	Guanina Gua- nine	Azot guaniny Gua- nine-N	Pikryn- jan ade- niny Adenine picrate	Azot adeniny Adeni- ne-N	Azot hipo- ksanty- ny Hypox. N
Mięśnie ekstrahowane królika Extracted rabbit muscle	I		300	10.0	4.6	13.4	2.6	>0.7
	II		1000	5.8	2.7	—	—	—
	III	14.8	950	>4.63	>2.13	16.38	3.24	1.0
	IV	14.1	950	8.0	3.7	16.5	3.3	—
Mięśnie kury Chicken muscle	V	13.3	500	10.0	4.63	23.6	4.7	ślady
	Ia	—	1600	7.9	3.6	41.6	8.2	2.0
Wyciąg wodny Total extract	I		300	0	0	103.5	19.9	>2.16?
Osad uranylowy nukle- otydów Uranyl acetate precipi- tate from rabbit muscle extract	III	33.25	950	0	0	87.0	17.2	—
	IV	30.0	950	0	0	78.8	15.7	4.3
	Ia	—	800 (kury)	0	0	38.5	7.6	10.26
Przesącz od nukleoty- dów Filtrate from same	III	13.0	950	0	0	16.1	3.26	5.8
	IV	7.1	950	0	0	0?	0?	>2.9
	Ia	—	800 (chick.)	0	0	9.1	1.8	>5.8

Z tab. III wynika, że ilości poszczególnych puryn we wszyst-  
kich 3-ch frakcjach są niezmiernie różne, natomiast w tej samej  
frakcji dość stałe. Guaninę odnajdujemy wyłącznie w mięśniach  
ekstrahowanych (frakcja III) w ilości 4.6 — 10 mg %, czyli  
2.1 — 4.6 mg % N, średnio 3.4 mg % N; izolowana guanina była  
zupełnie czysta ze średnią zawartością 46.5% N (teor. 46.36% N).  
Adeninę frakcji III znaleziono również w ilości, odpowiadającej  
średnio 3.45 mg % N, co świadczy, że obie aminopuryny

znajdują się w tej frakcji w ilościach równoważnych; oprócz guaniny i adeniny izolowano drobne (1 — 2 mg % N) ilości hipoksantyny i ślady ksantyny (dodatnia reakcja ksantynowa). Zupełnie inne stosunki znaleziono w wyciągu wodnym z mięśni: ogromną większość puryn frakcji II, nukleotydowej, stanowi adenina, której izolowano średnio około 17 mg % N, hipoksantyny w świeżych mięśniach znaleziono nierównie mniej, bo zaledwie 4 mg % N, natomiast przy nieco powolniejszej przeróbce posiekanych mięśni, umożliwiającej częściową dezaminację kwasu adenilowego (t. zw. amonjogeneza urazowa — PARNAS '28), jak to zastosowaliśmy przy mięśniach kury, ilość izolowanej adeniny była znacznie mniejsza (7.6 mg % N), a hipoksantyny większa (10.25 mg % N). We frakcji I nukleotydowej znaleziono dla mięśni królika średnio adeniny w ilości 3.26 mg % N, hipoksantyny — 5.8 mg % N, u kury odpowiednio 1.8 mg % N i 5.8 mg % N; ani we frakcji I, ani w II guaniny i ksantyny nie wykryto.

W III i IV doświadczeniu jednocześnie z oznaczeniami ilości poszczególnych puryn oznaczono oddzielnie we wszystkich trzech frakcjach azot purynowy (w przesączach, otrzymanych po rozłożeniu siarkowodorem drugiego osadu miedziawego), a także azot ogólny purynowy mięśni nieekstrahowanych; w ten sposób można było ocenić w pewnym stopniu wartość stosowanej metody i wielkość strat nieuniknionych przy przeróbce tak znacznych ilości tkanki i bardzo starannem oczyszczaniu (3-krotne wytrącanie miedzią, bądź dwukrotne miedzią i raz srebrem).

Z 58 mg % Np, oznaczonego w dośw. III bezpośrednio metodą KRÜGERA i SCHITTENHELMA, znaleziono: a) w pozostałości mięsnej, wyekstrahowanej wrzącą wodą, zaledwie 14.8 mg % Np, natomiast b) we frakcji nukleotydowej, jak zwykle, 33 mg % Np, c) nukleotydowej — 13 mg % Np, izolowano zaś (w dośw. III i IV) odpowiednio (azotu guaniny, adeniny i hipoksantyny razem) a) 8 mg % Np, b) 20 mg % Np i c) 9 mg % Np.

### III. Dyskusja.

Stwierdzenie znacznego wpływu hydrolizy kwaśnej wodnych wyciągów z mięśni na wydajność azotu purynowego, oznaczonego metodą KRÜGERA i SCHITTENHELMA, umożliwiło zorientowa-

nie się w sprzecznych wynikach wielu autorów. Jak się okazało, puryn wyciągowych, t. zw. „wolnych“, strącających się bezpośrednio solami miedziawymi, w wyciągu z mięśni królików i psów jest bardzo niewiele, średnio — 5 mg % Np; ilości te nie zmieniają się znacznie ani przy kilkugodzinnej autolizie mięśni, ani wskutek parominutowej hydrolizy wyciągów z 4%  $H_2SO_4$ , dopiero dłuższa hydroliza powoduje wzrost ilości azotu purynowego do 40 — 45 mg % Np u królika, 30 mg % Np u psa.

Niedostateczne uwzględnianie tego faktu, obok stosowania wytrącania kolloidów w wyciągach<sup>h</sup> wodnych octanem ołowiu, strącającym również obecne mononukleotydy, tłumaczyło niewielkie ilości puryn wyciągowych, otrzymane przez wielu badaczy (SCAFFIDI '10, '11; SMORODINCEW '13; YOSHIMURA '11 i t. d.). Zupełne wytrącanie się hipoksantyny, dodanej do wyciągu z mięśni, a niewytrącanie się dodanego nukleotydu (kwasu adenilowego), pozwoliło przypuszczać, że ewentualne działanie kolloidów w wyciągach polega na hamowaniu wytrącenia wyższych kompleksów purynowych, a nie wolnych puryn, i że ilości Np osadów miedziawych z niehydrolizowanych wyciągów są miarą tychże puryn i to, jak się zdaje z dotychczasowych badań, przeważnie hipoksantyny.

Strącanie wyciągów wodnych octanem uranylu, który według THANNHAUSERA i CZONICZERA ('20) nie strąca wolnych puryn, ani nukleozydów, a tylko mono- i polinukleotydy, pozwoliło nam określić bliżej udział tych związków w ogólnej sumie azotu puryn wyciągowych.

Naogół z 40 — 45 mg % Np wyciągowego u królika 30 — 32 mg % występuje w związkach, strącających się roztworem octanu uranylu, ale nie w formie polinukleotydów pentozowych, nietrwałych w roztworach alkalicznych, jak np. w  $\beta$ -nukleo-proteinie (JONES i PERKINS '24), a strącających się siarczanem miedzi, tylko w formie mononukleotydów, mianowicie — kw. inozynowego i adenilowego.

Ilości azotu nukleotydowego są naogół zgodne z najnowszymi danymi PARNASA ('28.II) lub też z liczbami, wynikającymi z przeliczenia danych przez JAVILLERA ('28) ilości t. zw. „phosphore de transition organique“ w mięśniach, na azot nukleotydów.

Oznaczenia pentoz mięśni psa — średnio 23 mg % (GRUND '02) odpowiadałyby wprawdzie zaledwie 11 mg % Np, jednak EBSTEIN ('02) otrzymywał (u diabetyków) do 53 mg % pentoz.

najnowsze zaś prace SCHMIDTA ('29), wykazujące — obok innych różnic — znacznie silniejsze związanie pentoz w kwasie adenilowym z mięśni, niż w takimże z kwasu nukleinowego drożdżowego, pozwalają, zdaje się, złożyć te i inne (BLUMENTHAL '03) niskie rezultaty na karb wadliwych metod.

Z 12 — 13 mg % Np przesącza, zawierającego teoretycznie nukleozydy, wolne puryny i kwas moczowy, przypadaloby na nukleozydy, wobec braku kwasu moczowego, i 5 mg % Np wolnych puryn, około 7 — 8 mg % Np; liczby te zasadniczo są zgodne z danymi GUDZENTA i KEESERA ('22) na t. zw. „Uranylacetatwert“ w mięśniach człowieka i kury, natomiast są one znacznie wyższe od liczb PARNASA ('29) dla azotu purynowego frakcji nukleozydowej w mięśniach żab.

Ilościowe oznaczenia poszczególnych puryn wszystkich trzech frakcyj, przy jednoczesnem określaniu ilości azotu purynowego w tych frakcjach, rzuciło nowe światło na zagadnienie puryn mięśniowych, względnie — sięgając głębiej, na zagadnienie rodzaju kwasów nukleinowych mięśni. Znakomitą większość nukleotydów stanowi, jak się należało spodziewać z danych EMBDENA ('27), kwas adenilowy, a mianowicie z 32 mg % Np w mięśniach królika (doświadczenie III i IV) średnio azotu adeniny znaleziono 16.5 mg % Np, azotu hipoksantyny z kwasu inozynowego tylko 4.3 mg % N. Z 13 mg % azotu frakcji nukleozydowej izolowano adeniny 3.2 mg % N i hipoksantyny 5.8 mg % N, co świadczyłoby, że cała hipoksantyna występuje w postaci wolnej, jedynym zaś nukleozydem jest prawdopodobnie adenozyina i to w ilościach nieznacznych.

Puryny mięśni ekstrahowanych (14 mg % Np) dały w wyniku średnio 3.4 mg % N guaniny, tyleż azotu adeniny i 1 — 2 mg % N hipoksantyny. Ilości guaniny znalezione przez nas są 7-krotnie wyższe od znalezionych przez PARNASA ('28.III), stosunkowo znaczna jednak rozpuszczalność guaniny w wodzie i amonjaku [4 mg w 100 cm<sup>3</sup> wody, 9 mg w 100 cm<sup>3</sup> 1% amonjaku (WULFF '93)] wobec niewielkich ilości branych do analizy mięśni (maksymum 144 g) tłumaczy dostatecznie zbyt niskie liczby (1.1 mg % guaniny) tegoż autora; na trudności izolowania guaniny zapomocą strącania amonjakiem zwracał już uwagę FEULGEN ('19). Znajdowane przez nas ilości guaniny odpowiadałyby danym BENNETTA ('12), a zgodność z ilością adeniny świadczy,

iz stanowią one wspólny składnik kwasu nukleinowego jąder komórek mięśniowych.

Dane KOSSELA ('82) i nowsze JAVILLIER ('28) dotyczące t. zw. fosforu nukleinowego mięśni ( $6 P \text{ mg } \% = 7 \text{ mg } \% Np$ ), byłyby tego samego rzędu i hipoteza nukleoproteidu (PARNAS '29), szczególnie wobec braku w wyciągu odpowiedniego nukleotydu — kwasu guanylowego, jest zdaje się zbędna.

Jak widać z porównania ogólnej ilości azotu purynowego mięśni ( $59 \text{ mg } \% \text{ w III dośw.}$ ) z sumą azotu izolowanych puryn, ta ostatnia stanowi zaledwie  $\frac{2}{3}$  pierwszej; dla sprawdzenia wartości stosowanej przez nas metody izolowania puryn ASSENHAJM ('29) wykonał oznaczenia puryn na preparatach kwasu nukleinowego („Hefenukleinsaures Natrium“ Mercka i Boehringera) i otrzymał w stosunku do znalezionej ogólnej ilości azotu purynowego wydajność stale ponad 80%; widocznym stąd było, że uwzględniając nawet konieczność pewnych strat w czasie izolowania czystych puryn i pewną dowolność określania hipoksantyny (dokładnej metody ilościowej dla której dotychczas nie posiadamy) ilości znalezionych przez nas puryn mięśni były za niskie.

Fakt powyższy nasuwał przypuszczenie występowania jeszcze innych, nieokreślonych bliżej puryn, co znalazło potwierdzenie w strącaniu się z frakcji puryn wyciągowych amonjakiem galaretowatych osadów, różnych od guaniny i słabo rozpuszczalnych w NaOH.

W dośw. I, po wytrąceniu drugiego pikrynanu adeniny oraz częściowo pikrynanu hipoksantyny i zadaniu amonjakiem, wypadł obfity żel, który rozpuszczony w gorącym 10%  $H_2SO_4$  i strącony alkoholem dał krystaliczny siarczan, różny od siarczanu guaniny, nie dający nierozpuszczalnego pikrynanu i reakcji ksantynowej; identyczny związek, w mniejszej ilości, otrzymano w dośw. I i z ekstrahowanych mięśni; że należy on do grupy puryn, to wynika z jego zachowania się względem soli miedziawych i srebrnych, strącanie się zaś amonjakiem wyklucza adeninę, ksantynę i hipoksantynę, zaś ujemna reakcja ksantynowa i WEIDELA — znane metyloksantyny.

Z hipotezą występowania w mięśniach puryn, poza 4-ma znanymi purynami, wiąże się prawdopodobnie obserwacja EMBDENA i WASSERMAYERA ('29), znajdujących bardzo wysokie ilości azotu związków amonjakerodnych, strącających się zapomocą  $CuSO_4 + Ca(OH)_2$  i wynoszących np. w mięśniach królika 60 — 90

mg % N; wobec pięciokrotnego stosunku do ilości powstającego amonjaku mięśniowego wspomniani autorowie identyfikują owe związki z kwasem adenilowym, względnie z adenozyną, nasze liczby jednak, wskazujące na maksimum 30 mg % azotu z tego źródła, świadczyłyby, że należy się liczyć jeszcze z innym źródłem amonjaku i to prawdopodobnie o charakterze purynowym; być może, że i zaobserwowana przez PARNASA ('28.I) amonjogeneza pośmiertna u stałocięplnych (różna od urazowej) ma jakiś związek z tem zagadnieniem. Przypuszczenie występowania w mięśniach oksyadeniny (2-amino-6-oksypuryny), znalezionej przez BUELL i PERKINSA ('27) we krwi świni, prawdopodobnie również w postaci mononukleotydu, dotychczas nie zostało potwierdzone, dalsze zaś badania są w toku <sup>1)</sup>.

Nader trudnym do wytłumaczenia jest fakt wielkiej rozbieżności naszych liczb na azot purynowy mięśni ekstrahowanych z wartościami Np, znajdowanymi przy przeróbce większych, kilkusetgramowych ilości mięśni przy izolowaniu poszczególnych puryn: u królika w pierwszym przypadku otrzymywano średnio 40 mg % Np, w drugim, w analogicznym osadzie miedziawym, około 17 mg % Np, a w przesączu po rozłożeniu tegoż osadu H<sub>2</sub>S nawet 14 — 15 mg % Np; należy przytem dodać, że dla wyciągu z mięśni różnic tych nie zauważono. Wysokie wartości na azot purynowy mięśni ekstrahowanych otrzymał SCAFFIDI ('10, '11) i FELLEBERG ('18), z nowszych zaś ROBERTSON ('29) znalazł kolorymetrycznie nadmierne ilości guaniny (30 mg % N) w ekstrahowanych ciałach myszy, PARNAS ('28.III) natomiast znajduje w ekstrahowanych mięśniach żab (stosując odczynnik Schencka) niewielkie ilości azotu purynowego.

Czy przyczynę tych różnych wyników upatrywać należy w wadach stosowanych metod, czy też wchodzi tu w grę izolowana przez nas nowa frakcja purynowa — rozstrzygnąć muszą dalsze badania prowadzone w tym kierunku.

#### Streszczenie.

W czasie badań nad chemicznym stosunkiem jądrowo-plazmatycznym mięśni ssaków (DMOCHOWSKI '28) stwierdzono, że

<sup>1)</sup> K. POHLE (loc cit) przyjmuje możliwość powstawania z kwasu adenilowego produktów rozpadu o charakterze pirymidyn (tyminy).



przeszło 50% azotu puryn mięśniowych przechodzi do wyciągu wodnego; fakt ten oraz rażąca niezgodność wyników dotychczasowych badań nad purynami mięśni wysunął konieczność ponownego zbadania zagadnienia puryn mięśniowych.

Ilościowe oznaczenia azotu purynowego, metodą KRÜGERA i SCHITTENHELMA, w hydrolizowanych i niehydrolizowanych wyciągach wodnych z mięśni wykazało, że puryn „wolnych“, strącających się bezpośrednio, jest b. niewiele — średnio 5 mg % Np w mięśniach psa i królika, natomiast po hydrolizie wyciągu z 4% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ilość ta wzrasta do 40 — 45 mg % Np; niedostateczne uwzględnianie tego faktu tłumaczyło wiele błędnych danych dawnych autorów.

Dodanie do wyciągów wodnych bądź hipoksantyny, bądź krystalicznego kwasu adenilowego drożdżowego wykazało, że tylko dodane nukleotydy nie wytrącają się w tych warunkach solami miedziawemi; strącając wyciąg wodny z mięśni roztworem octanu uranylu (THANNHAUSER i CZONICZER '20) i oznaczając Np osadu i przesączu, stwierdzono, iż około  $\frac{3}{4}$  azotu puryn wyciągowych stanowią nukleotydy (u królika średnio 30 mg % Np), a zaledwie  $\frac{1}{4}$  puryny wolne i nukleozydy.

Dla dalszego wyjaśnienia charakteru puryn mięśniowych oznaczono metodą STEUDELA ('24) ilości poszczególnych puryn i to zarówno w wyciągu wodnym, z uwzględnieniem podziału na frakcje nukleotydotową i nukleozydotową, jak i w pozostałości mięsnej po ekstrakcji wrzącą wodą; ilości mięśni użytych wynosiły 300 — 1600 g. Zgodnie z pracami EMBDENA ('27) i PARNASA ('28) większość puryn nukleotydotowych wyciągów wodnych stanowi (przy użyciu wrzącej wody) adenina kwasu adenilowego: średnio izolowano adeniny w ilości 16.5 mg % Np, gdy hipoksantyny 4.3 mg % Np; we frakcji nukleozydów i wolnych puryn znaleziono 3.2 mg % N adeniny i 5.8 mg % N hipoksantyny, co świadczyłoby, że jedynym nukleozydem jest adenozyna, a hipoksantyna w całości występuje w stanie wolnym; ani guaniny, ani ksantyny w wyciągach wodnych nie wykryto; pikrynan adeniny był krystaliczny o punkcie topnienia 278 — 280° C.

W mięśniach ekstrahowanych znaleziono równe ilości guaniny (3.4 mg % Np) i adeniny (3.4 mg % Np) oraz nieco hipoksantyny (1 — 2 mg % Np) i ślady ksantyny. Równoważne ilości aminopuryn świadczą, że wchodzi one w skład kwasów nukleinowych, prawdopodobnie — jąder komórkowych.

Zbyt niska wydajność izolowanych puryn ( $\frac{2}{3}$  całkowitego Np), wobec przeszło 80% izolowanych z kwasu nukleinowego drożdżowego, mogła wskazywać na obecność jeszcze innych puryn.

Izolowano rzeczywiście frakcję puryn, strącających się amonjakiem, ale dających rozpuszczalny pikrynian, i różnych od guaniny.

#### Piśmiennictwo.

**Adler M.** 1908. Zur Frage über den Gehalt an Extractivstoffen des dunklen und weissen Fleisches. Berl. Klin. Woch. **8** (393). **Assenhajm.** O ilościowym oznaczaniu puryn w kwasie nukleinowym drożdżowym metodą Steudela (w druku w Acta Biologiae Experimentalis). **Bass R.** 1914. Über die Purinkörper des menschlichen Blutes und den Wirkungsmodus der 2-phenyl-4-chinolinkarbonsäure (Atophan). Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **76** (40). **Bauer F.** 1907. Über die Konstitution der Inosinsäure und der Muskelpentose. Hofmeister's Beitr. **10** (345). **Bennett C. B.** 1912. Die Purine des Muskels. Journ. biol. Chem. **11** (221); cytow. według Biochem. Handlex. 1915. **9** (2-Ergänzungsband) (268, 276). **Bessau und Schmidt.** 1910, Therap. Monatsh. (116); cytow. według Biochem. Handlex. 1911. **4** (1017). **Blumenthal F.** 1903. Zum Abbau der Eiweisskörper im Hunger. Deutsche med. Woch. **25** (437). **Buell M. V. and Perkins M. E.** 1927. Oxyadenine. Journ. biol. Chem. **72** (745). **Buell M. V. and Perkins M. E.** 1928. Adenine nucleotide content of blood with a micro analytical method for its determination. Journ. biol. Chem. **76** (95). **Buglia G. and A. Costantino** 1912. Beiträge zur Muskelchemie. II. Mitt. Der Stickstoff einiger Extractivstoffe und der Purinbasen in der glatten, der quergestreiften und der Herzmuskulatur der Säugetiere. Zeitschr. f. physiol. Chem. **81** (120). **Bruhns G.** 1890. Über Adenin und Hypoxanthin. Zeitschr. f. physiol. Chem. **14** (533). **Burian R.** 1905. Die Herkunft der endogenen Harnpurine bei Mensch und Säugetier. Zeitschr. f. physiol. Chem. **43** (532). **Burian R. and W. Hall.** 1903. Die Bestimmung der Purinstoffe in tierischen Organen mittels der Methode des korrigierten Wertes. Zeitschr. f. physiol. Chem. **38** (336). **Demant B.** 1879. Zur Kenntnis der Extractivstoffe der Muskeln. Zeitschr. f. physiol. Chem. **3** (381). **Dmochowski A.** 1928. Sur les purines extraites des muscles. C. R. Soc. Biol. **99** (1148). **Dmochowski A.** 1928. Changes in the nuclear-plasmic ratio of vertebrate poikilotherms during hunger. Biochem. Journ. **22** (1548). **Dmochowski A.** 1928. Changes in the nuclear-plasmic ratio of mammals during hunger. Biochem. Journ. **22** (1555). **Ebstein E.** 1902. Über den Pentosegehalt der Organe unter physiologischen und pathologischen Verhältnissen. Zeitschr. f. Stoffw. u. Verdauungskr. **3** (503). **Embden G. and F. Laquer** 1924 r. Über die Chemie des Lactacidogens. I Mitt. Isolierungsversuche. Zeitschr. f. physiol. Chem. **93** (94). **Embden G. and M. Zimmermann.** 1927. I. Kommunikat na zjeździe niem. lek. i przyrodn. w Düsseldorfie w 1926 r.

Ber. üb. d. ges. Physiol. 38 (157). **Embden G.** 1927. I. Neue Untersuchungen über die Tätigkeitssubstanzen der quergestreiften Muskulatur und den Chemismus der Muskelkontraktion. *Klin. Woch.* 6 (628). **Embden G.** und **M. Zimmermann.** 1927. II. Über die Bedeutung der Adenylsäure für die Muskelfunktion. I. Das Vorkommen der Adenylsäure in der Skelettmuskulatur. *Zeitschr. f. physiol. Chem.* 167 (167). **Embden G.** 1927. II. Komunikat i uwagi dyskusyjne na X zjeździe niem. fizjologów we Frankfurcie. *Ber. üb. d. ges. Physiol.* 42 (560). **Embden G.** und **H. Wassermeyer.** 1928. Über die Bedeutung der Adenylsäure für die Muskelfunktion. 5. Mitt. Die Quelle des bei der Kontraktion gebildeten Ammoniaks. *Zeitschr. f. physiol. Chem.* 179 (226). **Fellenberg Th.** 1918. Bestimmungen der Purinbasen in Nahrungsmitteln. *Biochem. Zeitschr.* 88 (323). **Feulgen R.** 1919. I. Bestimmung der Purinbasen in Nucleinsäuren nach huminfreier Spaltung. *Zeitschr. f. physiol. Chem.* 102 (244). **Feulgen R.** 1919. II. Über eine zusammengesetzte Nucleinsäure. *Vorl. Mitt. Zeitschr. f. physiol. Chem.* 108 (147). **Feulgen R.** 1922. Über die Guanylnucleinsäure. *Zeitschr. f. physiol. Chem.* 123 (145). **Feulgen R.** 1923. *Chemie und Physiologie der Nucleinstoffe.* Berlin, Borntraeger (351, 383). **Fürth O.** 1925. Artykuł w *Oppenheimer's Handbuch der Biochemie*, IV (327). **Fürth O.** und **C. Schwartz.** 1910. Über die Verteilung des Extraktivstickstoffes im Säugetiermuskel. *Bioch. Zeitschr.* 30 (413). **Goto M.** 1900. Über die Lösung der Harnsäure in Nucleinsäuren. *Zeitschr. f. physiol. Chem.* 30 (473). **Grund G.** 1902. Über den Gehalt des Organismus an gebundenen Pentosen. *Zeitschr. f. physiol. Chem.* 35 (111). **Gudzent F.** und **Keeser.** 1922. Experimentelle Beiträge zur Pathogenese der Gicht. II. Mitt. *Zeitschr. f. klin. Med.* 94 (1). **Haiser F.** und **F. Wentzel.** 1907. Über Karnin und Inosinsäure. I. Mitt. *Monats. f. Chem.* 29 (157). **Haiser F.** und **F. Wentzel.** 1909. Über Karnin und Inosinsäure II. Mitt. *Monats. f. Chem.* 30 (147). **E. Hammarsten.** 1920. Eine „gekoppelte“ Nucleinsäure aus Pankreas. I. Mitt. *Zeitschr. f. physiol. Chem.* 109 (141). **E. Hammarsten** und **E. Jorpes.** 1921. Eine gekoppelte Nucleinsäure aus Pankreas. II. Mitt. *Zeitschr. f. physiol. Chem.* 118 (224). **His W.** und **W. Hagen.** 1900. Kritische Untersuchungen über den Nachweis von Harnsäure und Purinbasen im Blut und in tierischen Organen. *Zeitschr. f. physiol. Chem.* 30 (350). **Hoffmann W. S.** 1925. The isolation of crystalline adenine nucleotide from blood. *Journ. biol. Chem.* 63 (675). **Jackson H.** 1923. I. Studies in nuclein metabolism. I. Adenine nucleotide in human blood. *Journ. biol. Chem.* 57 (121). **Jackson H.** 1924. II. Studies in nuclein metabolism. II. The isolation of a nucleotide from human blood. *Journ. biol. Chem.* 59 (529). **Jorpes E.** 1924. Zur Frage nach den Pankreasnucleinsäuren. *Bioch. Zeitschr.* 151 (227). **Jones W.** 1920. *Nucleic acids.* London. Longman and Green. **Jones W.** and **M. Perkins.** 1924. The occurrence of plant nucleotides in animal tissues. *Journ. biol. Chem.* 62 (291). **Javillier M., Cremieux A.** et **H. Hinglais.** 1928. Comparaison entre diverses espèces de Vertébrés au point de vue des indices de phosphore nucleique et des bilans phosphorés de leurs organes. *Bull. Soc. Chim. Biol.* 10 (527). **Kikuchi M.** 1923. Beiträge zum Purinstoffwechsel. III. Über die Bedeutung des Muskels als Quelle des endogenen Purins. *Journ. of Biochem.* 2 (409); *Ber. üb. d. ges. Physiol.* 22 (73). **Kos-**

sel A. 1882. Zur Chemie des Zellkerns. Zeitschr. f. physiol. Chem. 7 (7).  
**Kossel A.** 1884. Über Guanin. Zeitschr. f. physiol. Chem. 8 (404). **Kossel A.**  
1886. Weitere Beiträge zur Chemie des Zellkerns. Zeitschr. f. physiol. Chem.  
10 (248). **Kreite.** 1869. cytowane wedlug Fürtha w Handbuch der Biochemie,  
1909. II, 2 (268). **Krüger M.** und **A. Schittenhelm.** 1905. Die Menge und  
Herkunft der Purinkörper in den menschlichen Fäces. II. Mitt. Zeitschr. f.  
physiol. Chem. 45 (14). **Krüger M.** und **J. Schmidt.** 1905. Die Bestimmung  
der Harnsäure und Purinbasen im menschlichen Harn. Zeitschr. f. physiol.  
Chem. 45 (1). **Levene P. A.** and **W. A. Jacobs.** 1908. Über die Inosinsäure.  
Ber. 41 (2703). **Liebig J.** 1847. Über die Bestandteile der Flüssigkeit  
des Fleisches. Lieb. Annal. 62 (317). **Neuberg C.** und **B. Brahn.** 1907.  
Über die Inosinsäure. Bioch. Zeitschr. 5 (438). **Offer Th.** und **Rosen-  
quist E.** 1899. Über die Unterscheidung des weissen und dunklen Fleisches  
für die Krankenernährung II. Berl. klin. Woch. 44 (968). **Parnas J.** und  
**W. Mozołowski.** 1927. Über den Ammoniakgehalt und die Ammoniakbildung  
im Muskel und deren Zusammenhang mit Funktion und Zustandsänderung.  
I. Bioch. Zeitschr. 184 (399). **Parnas J.** 1928. II. Badania nad powstawaniem  
amonjaku i zależnością tej sprawy od czynności i stanu mięśni. Acta Biol.  
Exper. 1, № 3. **J. Parnas** 1927. I. Uwagi dyskusyjne na 10 zjeździe fi-  
zjologów niem. we Frankfurcie. Ber. üb. d. ges. Physiol. 42 (561). **Parnas J.**  
1928. III. Über die Ammoniakbildung im Muskel und ihren Zusammenhang  
mit Funktion und Zustandsänderung. VI. Mitt. Bioch. Zeitschr. 205 (16).  
**Robertson B.** 1923. The chemical basis of growth and senescence. Phila-  
delphia. **Robertson B.** 1929. A colorimetric method of estimating guanine  
and its application to the determination of Nucl.-Pl. R. Australian Journ. of.  
Exp. Biol. and Med. Sc. VI. Part. I (33). **Rose.** 1923. Physiol. Review III № 4 (544).  
**Salkowski E.** 1890. Über Autodigestion der Organe. Zeitschr. f. klin. Med. 17  
Supplementb. (77). **Salkowski E.** 1913. Über die Fällung der Purinbasen durch  
Zinksalze aus Fleischextrakt und Harn. Bioch. Zeitschr. 55 (254). **Salom-  
on G.** 1881. Zur Physiologie der Xanthinkörper. Jahresber. d. Tierchemie.  
11 (108). **Scaffidi V.** 1910. Untersuchungen über den Purinstoffwechsel. V.  
Mitt. über das Verhalten der Purinbasen der Muskeln während der Arbeit.  
Bioch. Zeitschr. 30 (473). **Scaffidi V.** 1911. Untersuchungen über den Purin-  
stoffwechsel. VIII Mitt. Über den Gehalt an Purinbasen der verschiedenen  
Arten von Muskelgewebe. Bioch. Zeitschr. 33 (247). **Schiller E.** und **K. Wie-  
ner.** 1914. Über das Verhalten der Purinkörper im Blut. Zeitschr. f. d.  
ges. exper. Med. 3 (407). **Schittenhelm A.** 1905. Der Nucleinstoffwechsel  
und seine Fermente bei Mensch und Tier. Zeitschr. physiol. Chem. 46 (354)  
**Schittenhelm A.** 1910. Über den Nucleinstoffwechsel des Schweines. Zeitschr.  
f. physiol. Chem. 66 (53). **Schittenhelm A.** und **Harpuder.** 1925. Artykuł  
w Oppenheimer's Handbuch der Biochemie. 8 (580). **Smorodincew J.** 1913.  
Zur Kenntnis der Extraktivstoffe der Muskeln. XV. Mitt. Über das Vorkom-  
men des Carnosins, Methylguanidins und Carnitins im Pferdefleisch. Zeit-  
schr. f. physiol. Chem. 87 (12). **Smorodincew J.** 1914. Zur Methodik der  
Fleischextrakt-Untersuchung. Über das Vorkommen des Carnosins, Methyl-  
guanidins und Carnitins im Schaffleisch. Zeitschr. f. physiol. Chem. 92  
(214, 221). **Smorodincew J.** 1922. Zur Kenntnis der Extractivstoffe der Mu-

skeln. XXI Mitt. Über die organischen Basen des Schweinefleisches. Zeitschr. physiol. Chem. **123** (116). **Schmidt G.** 1927. I. Komunikat na 10 zjeździe niemieckich fizjologów we Frankfurcie. Ber. üb. d. ges. Physiol. **42** (562). **Schmidt G.** 1928. II. Über fermentative Desaminierung im Muskel. Zeitschr. f. physiol. Chem. **179** (243). **Stedel H.** 1921. Über die Nukleinsäuren der Rindermilz. Zeitschr. f. physiol. Chem. **114** (255). **Stedel H.** 1924. Hoppe-Seyler Thierfelder. Physiologische und pathologische chemische Analyse (875). Berlin. Springer. **Stedel H.** und **E. Peiser.** 1924. Über die Hefenukleinsäure. IV. Eine einfache Methode zur Isolierung der Adenylsäure. Zeitschr. f. physiol. Chem. **127** (262). **Suzuki** und **K Joshimura.** 1909. Über die Extraktivstoffe des Fischfleisches. Zeitschr. f. physiol. Chem. **62** (1). **Thannhauser S. J.** und **P. Sachs.** 1920. Experimentelle Studien über den Nucleinstoffwechsel. X. Mitt. Die Desamidierung der Triphosphonucleinsäure. Zeitschr. f. physiol. Chem. **112** (187). **Thannhauser S. J.** und **Czoniczer.** 1920. Über den Nachweis und die Bestimmung von gebundenen und freien Purinen in menschlichen Blut und Eiterserum. Zeitschr. f. physiol. Chem. **110** (307). **Truszkowski R.** 1927. Studies in purine metabolism. III. Basal metabolism and purine content. Bioch. Journ. **21** (1040). **Wulff.** 1893. Beiträge zur Kenntnis der Nucleinbasen. Zeitschr. f. physiol. Chem. **17** (473). **Yoshimura K.** 1911. Über das Vorkommen einiger organischen Basen im Fleisch des Wildkaninchens. Bioch. Zeitschr. **37** (477).



[Zakład Morfologii Doświadczalnej Instytutu im. Nenckiego].

M. Chejfec.

**Długość życia *Paramecium caudatum* w związku  
z odżywianiem.**

*Die Lebensdauer von Paramecium caudatum in Abhängigkeit  
von der Nahrungsmenge.*

Rękopis nadesłany w dniu 6.X.1929 r.

Die vorliegende Arbeit bezweckt das Feststellen, ob und wie lange sich das individuelle Leben von *Paramecium caudatum* unter Verabreichung einer genau abgemessenen Nahrungsmenge verlängern lässt. In einer früheren Arbeit (CHEJFEC '28) wurde gezeigt, dass die Teilungsrate der Infusorien von der Bakterienzahl in der Kulturflüssigkeit abhängt (Tabelle I). Tabelle II beweist, dass grosse Bakterienkonzentrationen anfangs hemmend wirken, bis durch den Bakterienverbrauch ein Konzentrationsoptimum erreicht wird, wonach die Teilungsrate erheblich steigt. Die Wirkung geringer Konzentrationen ist gerade entgegengesetzt. Auch in reinen Linien tritt die ausschlaggebende Bedeutung der Nahrungsmenge hervor (Tab. III). Es wurde berechnet, dass die absolute von einem *Paramecium*individuum innerhalb einer Stunde aufgenommene Bakterienzahl 100,000 nicht übersteigt, was auch die Versuche bestätigen (Tab. IV). Für mittlere Konzentrationen, bis 15,000 Bakterien in 1 mm<sup>3</sup>, wurde tatsächlich 100,000 Bakterien als Verbrauchszahl pro Individuum und Stunde gefunden. Zwecks Bestimmung der minimalen Nahrungsmenge, welche die Teilung des Infusors noch ermöglicht, wurden Einzeltiere auf ausgehöhlten Objektträgern in 100 mm<sup>3</sup> Flüssigkeit beobachtet. Die Tiere erhielten immer geringere Bakterienanzahl, von 24,000 in 1 mm<sup>3</sup> ab. In Konzentration von 15,000 wird die Teilungsrate unregelmässig aber erst in 1500—2000 wird die Teilung aufgehoben. Tab. V bezieht sich auf Tiere,

welche erst nach 30 Tagen eine übrigens ganz normale Teilung durchgemacht hatten. Todesfälle sind in 90 Proz. durch Manipulationsschwierigkeiten verursacht worden.

In weiteren Versuchen kam die Methode der individuellen Zucht zur Anwendung: nur diejenigen Infusorien erhielten Nahrung, deren Aussehen einen ausgesprochenen Hungerszustand anzeigte. Auf diese Weise gelang es die Tiere über 120 Tage ohne Teilung zu züchten (Tab. VI und VII). Fast in allen Fällen wurde der Versuch nicht durch den Tod, sondern durch die Teilung, welche dank einer ungenügend genauen Berechnung der Nahrungsmenge eingetreten war, unterbrochen. Der durch Perioden einer nicht zu intensiven Nahrungszufuhr unterbrochene Hunger wird zum verjüngenden Faktor, ähnlich wie es die Regeneration in HARTMANN'S Versuchen war. Infusorien, bei denen die Teilung aufgehalten war, zeigen dieselbe Plasma-Kernrelation, wie Hungertiere (Tab. VIII): dieselbe verschiebt sich zugunsten des Kernes. Nach jeder Nahrungszufuhr kehrt sie zur Norm zurück. Sonst bleiben die Versuchstiere vollkommen normal.

In zwei Fällen gelang es Paramaecien, die sich eine längere Zeit nicht geteilt hatten, zu zerschneiden. In beiden Fällen erfolgte eine vollständige Regeneration (Fig. 1) innerhalb 5—7 Tage.

In Massenkulturen gelang es in 1000 ccm Flüssigkeit bei einer Konzentration von 1,500 *Bacterium Coli* in 1 mm<sup>3</sup>, die weitgehend konstante Paramaecienzahl (durchschnittlich 10 in 1 ccm) im Laufe von 3 Monaten aufrechtzuerhalten (Tab. X). Die Tiere erhielten jeden 4. Tag frische Nahrung, wobei die Kulturflüssigkeit ohne Infusorienverlust teilweise gewechselt wurde. Teilungen der Paramaecien und deren Absterben wurden niemals beobachtet und jedenfalls könnten diese Erscheinungen nur ganz ausnahmsweise vorkommen. Wird jedoch die Bakterienkonzentration der Kulturflüssigkeit erhöht, so steigt sofort die Infusorienanzahl (Tab. XI), wird sie verringert, so folgt auch die Paramaecienzahl nach (Tab. XII). In einer Heuinfusion lässt sich eine Konstanz der Infusorienzahl nicht erhalten, sie schwankt vielmehr der schwankenden Bakterienkonzentration parallel (Tab. XIII).

Die Verjüngung durch Teilung stellt demnach nicht die einzige Möglichkeit des Überlebens der Art dar. Das in der Natur sterbliche Individuum kann vielleicht in einem entsprechend gestellten Experiment unsterblich werden.



Die Teilung von Einzeltieren lässt sich also in einer Bakterienkonzentration von 1000 in 1 mm<sup>3</sup> 120 Tage lang und darüber aufheben. Wenn man jedoch zum Versuch 20 — 25 Infusorien verwendet, die in 2 — 2.5 ccm. Flüssigkeit verbleiben und dieselbe Bakterienkonzentration erhalten, so tritt schon nach 72 Stunden die Teilung fast sämtlicher Tiere ein, obwohl die absolute und die relative Nahrungsmenge dieselbe geblieben ist (Tab. IX). Das unerwartete Ergebnis könnte durch den allelokatalytischen Faktor ROBERTSONS erklärt werden. Wenn man aber in je 2 ccm Flüssigkeit von derselben Bakterienkonzentration 1, 2 oder 4 *Paramecien* setzt und nach 3—4 Tagen die Tiere berechnet, so erweist sich, dass die erhaltene Infusorienzahl stets der Ausgangszahl derselben proportional ist (Tab. XIV). Auch die Beobachtungen von 1 und von 2 *Paramecium*-individuen sowohl auf ausgehöhlten Objektträgern, wie in kleinen Röhrchen haben keine Bestätigung der Befunde ROBERTSONS gebracht. (Tab. XVI). Dafür gelang es festzustellen, dass in Indigo-Suspensionen von bestimmter Teilchenkonzentration in flachen Tropfen 2 *Paramecien* mehr Nahrungsvakuolen, als ein *Paramecium* bilden (Tab. XVII). Werden hingegen die Tiere in engen Röhrchen auf einem Klinostaten langsam rotiert, so ergibt sich jener Unterschied nicht. Die Körnchen der Suspension fallen zu Boden, was deren Aufnahme seitens der Infusorien erschwert. Es besteht demnach die Möglichkeit, dass im Falle zweier Infusorien die Suspension besser aufgewirbelt wird, was deren Aufnahme erleichtert. Eine grössere Teilungsfähigkeit zweier Infusorien in einem flachen Tropfen, mit derjenigen eines Einzeltieres verglichen, hängt also vielleicht nicht mit dem allelokatalytischen Faktor, sondern einfach mit einer besseren Ausnutzung des Nahrungsmediums zusammen. In keinem Versuch wurde die Anwesenheit des allelokatalytischen Faktors festgestellt worden.

*Paramecien*, welche von einer normalen, nicht behandelten Kultur stammen, vermögen sich nach einer Waschung im Leitungswasser selbst in ganz ungenügender Nahrungsmenge zu teilen (Tab. IX). Wenn jedoch die Tiere einer bereits durch geregelte Nahrungszufuhr stabilisierten Kultur angehören und deren Waschung unterlassen wird, so liefert deren Beobachtung unter denselben Bedingungen wie in der Tab. IX, ein anderes

Bild, indem die Teilungen kaum zu verzeichnen sind (Tab. XVIII). Nicht also die Nahrungsmenge allein, sondern auch der vorherige Zustand der Tiere ist für das Ergebniss massgebend. Somit spricht auch die Tab. IX eher gegen das Vorhandensein eines allelokatalytischen Faktors, weil hier die Waschung das Teilungsvermögen vergrössert.

---

Wiemy z prac WOODRUFFA ('08, '09, '11, '12, '13) i METALNIKOWA ('16, '22), że umieranie kultur pierwotniaczych nie jest objawem nieuniknionych starczych zmian organizmu lecz jest wynikiem oddziaływania czynników zewnętrznych, pozakomórkowych. Wychodząc z założenia, iż stopień podzielności można uważać za miarę żywotności kultury, badań WOODRUFFA ('11, '13) zależność pomiędzy liczbą podziałów a ilością pokarmu i objętością środowiska zewnętrznego.

W pierwszej serji doświadczeń badacz ten posługiwał się szkiełkami wydrążonemi rozmaitej pojemności, zawierającemi 2, 5, 20 i 50 kropeł środowiska pokarmowego, do których wpuszczał pierwotniaki. W tych warunkach okazało się, że w większych ilościach pożywki podzielność była szybsza. Tak więc podzielność *Paramaecium caudatum* w 5 kroplach przewyższała o 2.4% podzielność w 2, w 20 kroplach o 6.4%, a w 40 kroplach o 7.4% podzielność w 2 kroplach.

W następnej serji doświadczeń zmieniał czas przebywania pierwotniaków w danem środowisku i wykazał, że szybkość występowania po sobie podziałów jest tem większa, im częstsza zmiana pożywki.

Wreszcie w serji trzeciej, jeden z dwóch siostrzanych osobników był przenoszony do świeżej pożywki, drugi do starej, w której uprzednio znajdowały się *Paramaecia*. Okazało się, że stopień podzielności w świeżej pożywce był znacznie wyższy, niż w pożywce już poprzednio używanej, w której jakiś czas trzymano pierwotniaki. W grupie „A”, obejmującej pierwotniaki, przenoszone do świeżej pożywki, notował WOODRUFF dwa podziały w ciągu doby, w grupie „B”, obejmującej pierwotniaki siostrzane, przenoszone do pożywki, w której poprzednio były już *Paramaecia*, podzielność nie przekroczyła 0.5 podziałów w ciągu doby. Krzyżowe przenoszenie pierwotniaków ze środowiska grupy „A” do środowiska grupy „B”, i odwrotnie, podnosiło podzielność z 0.5 do 1.7 lub obniżało ją z 2 do 1 w ciągu doby. Przenoszenie *Paramaecium caudatum* do środowiska, w którym uprzednio były *P. aurelia*, odpowiednio obniża podzielność, natomiast prze-

noszenie wymoczków do środowiska, w którym uprzednio trzymano *Pleurotricha*, nie wpływa na podzielność *Paramecium*. Naogół mógł WOODRUFF wnioskować, iż istnieć musi jakieś specyficzne działanie produktów przemiany, inne dla *Paramecium* i inne dla *Pleurotricha*.

W zgodzie z temi badaniami stoją eksperymenty DOFLEINA ('13) z *Trypanosomami*, które to wiciowce były wciąż przenoszone do świeżych pożywek, przyczem okazało się, że ogromnie wrażliwe na własne produkty przemiany *Trypanosomy* nie zawsze wyraźnie reagują na produkty przemiany innych pasorzytniczych gatunków.

O ile wskazane szkodliwe czynniki przemiany materji usunie się ze środowiska zewnętrznego pierwotniaka przez hodowlę indywidualną we wciąż zmienianych kroplach pożywki, to przy stosunkowo równomiernej podzielności można taką hodowlę prowadzić w ciągu dziesiątków lat, jak to czynili WOODRUFF i METALNIKOW. Nie zanotowali oni żadnych objawów wyczerpania energii życiowej. To też teza WEISMANNNA, że pierwotniaki są nieśmiertelne, gdyż nie znają śmierci naturalnej, wywołanej czynnikami wewnątrzniemi, w dalszym ciągu nie straciła swej aktualności.

Ale we wskazanych pracach rozstrzygała egzystencja i trwanie nieśmiertelne linii ciągłych, nie liczono się z osobnikiem jako takim, który przecież po każdym i w każdym podziale przestaje być sobą, zaś osobniki powstałe z podziału nie są także identyczne z osobnikiem macierzystym. Dwa nowe osobniki podziałowe to dwa odrębne indywidua, bardzo bliskie, a przecież już różniące się od siebie, każdy nowy podział to świeży przyrost różnie indywidualnych.

W ciągu lat ostatnich mamy w tej dziedzinie pewien postęp. W ramach potencjalnej nieśmiertelności pierwotniaków zajęto się kwestją nieśmiertelności pojedynczych osobników, lecz prace są tu bardzo nieliczne. Przedewszystkiem HARTMANN ('22, '24, '28) wychodząc z założenia, że podział i zjawiska przedpodziałowe mogą odgrywać dla pierwotniaka rolę czynników odmładzających, postawił zagadnienie: czy można zastąpić podział przez jakiś inny czynnik, o możliwie zbliżonem znaczeniu, i utrzymać mimo to osobnika przy życiu bez podziału.

Przez stosowanie zranień w określonych odstępach czasu udało mu się zmusić *Stentora*, karmionego zawiesiną *Colpidium*, do każdorazowej regeneracji i do życia bez podziału w ciągu 52 dni, podczas gdy osobnik siostrzany, trzymany w tem samym środowisku, i nie poddawany operacjom, dzielił się, dając w tym czasie 35 pokoleń. Gdy po 52 dniach operacje zostały zaniechane, *Stentor* doświadczałny podzielił się normalnie, zahamowana zdolność podziałowa bynajmniej nie została zniszczona. Analogiczny wynik otrzymał HARTMANN dla wirka, *Stenostomum*, oraz dla ameb, które dzięki amputacji części ciała i regeneracji dały się hodować bez podziału do 4 miesięcy.

W dalszym ciągu w ciekawych pracach GOETSCHA ('21, '22) dla *Metazoa* (*Turbellaria*, *hydry*) wyniki powyższe potwierdziły się w całej rozciągłości, pozwalając mówić wspomnianym autorom nietylko o potencjalnej nieśmiertelności kultury, ale o potencjalnej nieśmiertelności osobnika w odpowiednich warunkach.

Nie ulega wątpliwości, że obserwowanie życia osobnika w ciągu jakiegoś czasu nie uprawnia jeszcze do ostatecznych wniosków, ale wyniki prac HARTMANNa i GOETSCHA mogły się stać punktem wyjścia dla dalszych badań. Praca niniejsza przede wszystkim miała na celu stwierdzenie, czy można i na jak długo przedłużyć indywidualne życie *Paramaecium caudatum* bez uciekania się do tak gwałtownego czynnika, jakim jest zmuszanie pierwotniaka do regeneracji, i czy nie należy przytem zwrócić raczej uwagę na dobór odpowiednich warunków zewnętrznych środowiska, które, jak wynika z badań WOODRUFFA i innych, tak ważną odgrywają rolę.

Chodziłoby zatem o dobór takich warunków zewnętrznych, w których pierwotniak mógłby żyć i odżywiać się, lecz nie ulegałby podziałowi.

W trakcie pracy wysunęło się zagadnienie, związane z wynikami badań ROBERTSONA ('21, '22, '24) nad tak zwanym czynnikiem allelokatalitycznym.

W myśl wyników ROBERTSONOWSKICH, podzielność pierwotniaków może ulec wzmoczeniu wskutek wydziałania przez nich do środowiska kultury czynnika allelokatalitycznego o charakterze wybitnie chemicznym. Czynnikiem ten daje się przez specyficzne zabiegi ekstrahować z jednego środowiska i przenosić do drugiego, a dodanie takiego wyciągu do wody destylowanej z pierwotniakami, naogół hamującej podzielność, wzmacnia podzielność w znacznym stopniu. Jako czynnik chemiczny, substancja allelokatalityczna pozwala się koncentrować i rozcieńczać, co w praktyce zostaje osiągnięte w ten sposób, iż w odpowiednich małych kroplach pożywki umieszcza się 1,2, lub więcej pierwotniaków. W myśl wyników ROBERTSONA w badaniach nad *Enchelys* i *Colpidium*, w kroplach 0.08 cm<sup>3</sup> pożywki sianowej 1 osobnik po 24 godzinach daje 2, po 48 — 16, zaś 2 osobniki po 24 godzinach dają 3, po 48 godzinach — 120 osobników, czyli pierwotniaki pobudzają się energicznie wzajemnie do podziału.

Fakty te jednak nie zostały potwierdzone przez innych badaczy, jak CUTLER i CRUMP ('23, '25), GREENLEAF ('24, '26) MYERS ('27) oraz GRINWALD ('28), ani dla *Colpidium colpoda*, ani dla *Paramaecium caudatum*, *P. aurelia* i *Pleurotricha*.

Wreszcie wyniki otrzymane przez ROBERTSONA stoją w sprzeczności z przytoczonymi powyżej wynikami WOODRUFFA, gdyż w myśl założeń Robertsonowskich zmniejszenie objętości kropli pożywki winno wzmacniać podzielność, gdy w wynikach zarówno WOODRUFFA, jak i wymienionych przeciwników ROBERTSONA dzieje się wręcz naodwrot.

Ponieważ w pracy niniejszej nie mogłem pominąć tak ważnego zagadnienia, ostatnie rozdziały poświęcam rozpatrzeniu tej

kwestji, tembardziej, że jak się zdaje, wszyscy przeciwnicy ROBERTSONA i on sam pracowali z pożywkami sianowemi, które kryją w sobie bardzo wiele czynników nieoznaczalnych, dzięki ogromnej różnorodności stężenia, zawartości bakteryj, rozmaitej kwasowości i t. p.

W pracach wskazanych autorów nie uwzględniono jednak ani morfologicznej, ani ilościowej strony odżywiania, choćby ilości bakteryj, co, jak wynika z mojej pracy, ma pierwszorzędne znaczenie i decyduje częstokroć o takich, czy innych wynikach doświadczeń.

### M e t o d y k a.

Ponieważ w ciągu moich badań byłem zmuszony do operowania bardzo różnymi metodami, podam szczegółową metodykę w odpowiednich rozdziałach.

Na zasadzie poprzedniego doświadczenia (CHEJFEC '28) stosowałem karmienie wycieków czystymi kulturami *Bacterium Coli*, których otrzymywanie opisałem przedtem (loc. cit., str. 95). Obliczania bakteryj dokonywałem z pomocą kamery THOMA-ZEISSA, operując w każdym przypadku ściśle określonymi ilościami bakteryj i dokładnie oznaczonymi stężeniami. Pożywkę sianową, stosowaną sporadycznie w poszczególnych doświadczeniach, otrzymywałem z 20—25 gramów siana, gotowanego od 30 do 45 minut w 500 cm<sup>3</sup> wody. W tych warunkach dominują w pożywce *B. subtilis*. Pożywkę tę stosowałem 24, 48 najdalej w ciągu 72 godzin po przegotowaniu, po uprzednim, odpowiednim dla danych celów rozcieńczeniu. Kultury masowe prowadziłem w dużych 2 litrowych naczyniach, zawierających 1000 cm<sup>3</sup> cieczy hodowlanej.

Pojedyńcze pierwotniaki hodowałem na zwykłych szkiełkach wydrążonych w 50 do 200 mm<sup>3</sup> cieczy. Szkiełka te z pierwotnikami trzymałem w komorze wilgotnej, w temperaturze pokojowej, w poszczególnych przypadkach w termostacie o temperaturze 22—23°.

Barwikiem stosowanym przeze mnie we wszystkich badaniach dożywezych był „Methylgrün” w 10% kwasie octowym. Niektóre preparaty stałe barwiłem w karminie boraksowym, po utrwaleniu w kwasie pikrynowym. Pomiary pierwotniaków uskuteczniałem po utrwaleniu w kwasie pikrynowym, przy pomocy okularu mikrometrycznego.

Oznaczenia stężenia jonów wodorowych dokonywałem metodą kolorymetryczną GILLESPI'EGO.

Pierwotniaki badane pochodziły ze starej dobrze prosperującej kultury laboratoryjnej *Paramecium caudatum*, hodowanej na pożywce sianowej i bakteryjnej, od której ustawicznie odprowadzałem nowe linje.

**Podzielność pierwotniaków w zależności od stopnia stężenia bakteryj w środowisku zewnętrznym.**

Ponieważ badania moje miały na celu osiągnięcie takich warunków zewnętrznych, w których mógłbym utrzymać pierwotniaka możliwie najdłużej bez podziału, z wykluczeniem wszelkich objawów depresyjnych, starczych i śmiertelnych, musiałem przede wszystkim stosować takie czynniki, które mogłem stosunkowo najłatwiej i najskuteczniej oznaczać i regulować. Takim czynnikiem był bezsprzecznie pokarm, zaś stosowane przeze mnie pożywki zawiesiny *B. Coli* ułatwiały to zadanie.

Już w mojej poprzedniej pracy ('28) miałem możność wskazać, jak dalece udaje się utrzymać równowagę warunków zewnętrznych w pożywce *B. Coli*, i w jakim stopniu podzielność jest związana z pokarmem i jego stężeniem w poszczególnych objętościach. Ograniczę się obecnie do przytoczenia tabeli I ze wskazanej pracy, uzupełnionej liczbami, odpowiadającymi stężeniu 50 tysięcy bakteryj w mm<sup>3</sup>. Tabela ta wskazuje na rolę stężenia bakteryj w pożywce, podawanej pierwotnikom, i zależność podziałów od stężenia pożywki. Podkreślić tu muszę pewien szczegół, którego w mojej poprzedniej pracy świadomie nie poruszałem, mianowicie — zwracam uwagę na przyrost liczby pierwotniaków w dobach po sobie następujących w rozmaitem stężeniu. W celu łatwiejszej orientacji tabela II podaje mnożniki, wskazujące przyrost absolutnej liczby pierwotniaków w następujących po sobie okresach dwudobowych w poszczególnych stężeniach *B. Coli*, stosowanych w doświadczeniach, których wyniki zostały objęte tabelą I.

**Tabela I.**

Ilość osobników *Paramecium* w środowisku *B. Coli* o rozmaitem stężeniu po 2, 4, 6 dniach.  
*Individuenzahl in verschiedenen B. Coli-Konzentrationen nach 2, 4 und 6 Tagen.*

Doby Tage	Liczba początkowa <i>Ausgangszahl</i>		Zawartość <i>B. Coli</i> w 1 mm <sup>3</sup> pożywki <i>B. Coli-Zahl in 1 mm<sup>3</sup> des Mediums</i>											
			25000		50000		75000		125000		175000			
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2		
2	25	25	366	390	323	297	224	262	197	168	127	179		
4	25	25	583	567	783	808	1665	1396	1872	2039	2428	2786		
6	25	25	486	519	1045	1056	1686	1620	3476	4000	6680	6770		

Widzimy, że przyrost liczbowy pierwotniaków (podzielność) jest funkcją przynajmniej dwóch zmiennych, mianowicie: czasu i stężenia podawanej pożywki, o ile oczywiście temperatura jest wartością stałą, co też miało miejsce we wszystkich obserwacjach tego typu, gdyż naczynka z pierwotniakami stale były trzymane w termostacie o temperaturze 22 — 23° C.

Nadmiar pokarmu, wpływający hamująco na podział w ciągu pierwszych 48 godzin, już po czterech dobach umożliwia ogromny przyrost. Dzielące się stopniowo pierwotniaki, pomnażając swą ilość, zużywają nadmiar pokarmu i wytwarzają optymalną, właściwą dla swej liczby w danym stężeniu bakteryjnym. Ta pomyślność warunków pokarmowych wyraża się we wzrastającym mnożniku przyrostu liczbowego. Naodwrot, mniejsze ilości po-

Tabela II.

Mnożnik absolutnego przyrostu pierwotniaków po 2, 4, 6 dniach.  
*Koeffizient des absoluten Zuwachses der Infusorienzahl nach 2, 4 und 6 Tagen.*

Doby Tage	Zawartość <i>B. Coli</i> w mm <sup>3</sup> pożywki <i>B. Coli</i> -Zahl in cmm des Mediums				
	25000	50000	75000	125000	175000
2	15.1	12.0	9.7	7.3	6.0
4	1.6	2.5	6.3	10.7	17.1
6	0.8	1.3	1.0	1.9	2.6

karmu, stwarzając optymalne warunki wyjściowe, już po czterech dobach zmieniają się w sposób niekorzystny, a niedostatek pokarmu natychmiast wyraża się w mnożniku przyrostu, który gwałtownie opada, niejednokrotnie znamionując głód. Dla przykładu porównajmy wyniki dla stężenia: 25 tysięcy *B. Coli* w mm<sup>3</sup> i stężenia 175 tysięcy *B. Coli* w mm<sup>3</sup>. W stężeniu pierwszym największy przyrost notujemy w ciągu pierwszych 48 godzin, co wyraża się mnożnikiem 15.1 czyli z 25 osobników otrzymaliśmy po dwóch dniach (25 × 15.1), podczas gdy dla stężenia drugiego tylko (25 × 6), a więc przeszło dwa razy mniej osobników. Ale po czterech dniach wyniki się odwracają: mnożnik dla stężenia pierwszego jest tylko 1.6, gdy dla drugiego 17.1, co w przeliczeniu na liczbę pierwotniaków w pierwszym przypadku daje (25 × 15.1 × 1.6), a w drugim (25 × 6 × 17.1) osobników. Po sześciu dobach różnica na korzyść drugiego stę-

żenia uwytadnia się w dalszym ciągu, charakteryzując się odpowiednio mnożnikami dla mniejszego stężenia 0,8, dla większego 2,6, co w przerechowaniu na liczbę pierwotniaków daje, jak widzimy z tabeli I, stosunek 13:1 na korzyść stężenia większego.

Podobne wyniki otrzymujemy przy obserwacji pojedynczych pierwotniaków na szkiełkach wydrążonych, zawierających po 100 mm<sup>3</sup> pożywki *B. Coli* o rozmaitem stężeniu. Oczywiście dla pojedynczych pierwotniaków warunki pokarmowe muszą być odpowiednio dobrane, gdyż, jak wykażą poniżej, zużycie pokarmu nie jest wprost proporcjonalne do ilości pierwotniaków; proporcjonalność tu występująca jest innego typu.

Tabela III.

Podzielność wyizolowanych z kultury osobników na szkiełkach wydrążonych w 100 mm<sup>3</sup> pożywki o rozmaitem stężeniu *B. Coli*.

*Teilungsrate der aus der Kultur isolierten Individuen auf ausgehöhlten Objektträgern in 100 mm<sup>3</sup> Nahrungsfüssigkeit in verschiedenen B. Coli-Konzentrationen.*

Ilość <i>B. Coli</i> w 1 mm <sup>3</sup> pożywki <i>B. Coli</i> -Zahl in 1 cmm	Podzielność po godzinach <i>Teilungsrate nach Stunden:</i>				
	0	10	16	24	48
5000	20	20	20	20	25
20000	20	20	30	120	240
40000	20	20	40	130	320
60000	20	20	27	54	168
80000	20	20	27	54	216

Tabela III daje nam obraz podzielności dla wyizolowanych z kultury osobników, hodowanych na szkiełkach wydrążonych w rozmaitem stężeniu pokarmu. Mamy tu wyniki bardzo ściśle obserwowanej, dokonywanej na oddzielnych pierwotniakach, których podzielność mogłem oznaczać wprost z godziny na godzinę.

W wyniku opisanych w tym rozdziale doświadczeń możemy stwierdzić, że:

1°. Podzielność pierwotniaków jest zależna od stężenia bakteryj w pożywce i od czasu, w ciągu którego pierwotniaki w środowisku pożywki pozostają.

2°. Zbyt wielkie stężenia hamują podzielność pierwotniaków i niejednokrotnie oddziałują wprost ujemnie.

3°. Mniejsze stężenia, przekraczające jednak pewne dające się określić minima, o czym jeszcze szczegółowo mówić będę, umo-



żliwiają regularne wystąpienie pierwszych podziałów, lecz w następstwie podzielność opada z powodu zbyt szybkiego wyczerpania pokarmu w środowisku.

#### Absolutna ilość bakterij pochłanianych przez pierwotniaki.

Dla odtworzenia optymalnych warunków pokarmowych dla *Paramecium caudatum* nie mogłem poprzestać na stwierdzeniu zależności podziałów od stężenia, musiałem oznaczyć absolutne ilości bakterij pobieranych przez pierwotniaki.

Za punkt wyjścia posłużyły mi następujące liczby teoretyczne: Jeśli średnia długość *B. Coli* wynosi 2 mikrony, szerokość 0.5 mikronów, to przyjmując bakterję za walec o średnicy 0.5 mikronów i tworzącej 2 mikronów oznaczamy jej objętość na 0.39 mikronów<sup>3</sup>. Z pomiarów, dokonanych na pierwotniakach, średnicę przeciętnego wodniczka możemy oznaczyć jako równą 16 mikronom, możemy więc, przyjmując wodniczek za kulę o promieniu 8 mikronów, obliczyć jej objętość jako 2143.56 mikronów<sup>3</sup>. Stąd z podzielenia objętości wodniczka pokarmowego przez objętość bakterji otrzymujemy teoretyczną najwyższą ilość bakterij, zawartych w jednym wodniczku, czyli  $2143.56 : 0.39 = 5496$  bakterij wypełnia wodniczek pokarmowy. Jeżeli uwzględnimy, że w optymalnych warunkach w ciągu godziny pierwotniak pobiera około 20 podobnych wodniczków, to ilość w ten sposób zużytych bakterij daje się określić jako  $5496 \times 20 = 109920$  bakterij na godzinę.

Znając te liczby orientacyjne zwracamy się do ich odpowiednika doświadczalnego. Aby uzyskać liczby faktyczne, umieściłem pojedyncze osobniki *Paramecium caudatum*, dobyte z młodej dobrze prosperującej kultury, w celu pewnego wygłodzenia na 10 godzin w czystej wodzie wodociągowej, poczem przeniósłem je do szkiełek wydrażonych, zawierających po 100 mm<sup>3</sup> zawiesiny *B. Coli* o ściśle oznaczonym stężeniu, obejmującym w poszczególnych doświadczeniach od 1200 do 4500 tysięcy bakterij w liczbach absolutnych (od 12 do 45 tysięcy bakterij w mm<sup>3</sup>).

Po 6 godzinach obliczałem absolutną ilość pozostałych na szkiełku w kropli bakterij z pomocą kamery THOMA-ZEISSA. Różnica liczb bakterij przed i po doświadczeniu, podzielona przez czas trwania doświadczenia wskazywała ilość średnio zużytych

przez pierwotniaka bakteryj w ciągu godziny. Całe doświadczenie obejmowało 130 osobników w 13 serjach po 10 pierwotniaków w każdej. Każda więc liczba tabeli IV jest średnią arytmetyczną dziesięciu obliczeń, zaokrągloną do tysiąca.

Kilkakrotnie powtarzające się obliczenia w tych samych serjach wskazały, że błąd obliczeń nie przekraczał 5000 bakteryj, co wobec liczb otrzymanych jest błędem nieznacznym. Zaznaczyć muszę, że doświadczenia wskazane robiłem w ciągu lata

i jesieni w temperaturze pokojowej w najrozmaitszych porach dnia i nocy. Tabela IV podaje otrzymane wyniki. Rzut oka na nią wystarczy do stwierdzenia, że wartości teoretyczne w tym przypadku nie odbiegają zbyt od wartości doświadczalnych. Dla średnich stężeń, nie przekraczających 2.2 miliona bakteryj w 100 mm<sup>3</sup> cieczy (22 tysiące w mm<sup>3</sup>), zużycie bakteryj w ciągu godziny wynosi przeciętnie 100 tysięcy dla każdego pierwotniaka. Dla stężeń wyższych zużycie nie przekracza 218 tysięcy bakteryj na godzinę. Z góry muszę się jednak zastrzec, iż liczby te są nieco wygórowane, gdyż pewna ilość bakteryj w kroplach płasko rozlanych, w miarę ich wysychania, zachodzącego nawet w komorze wilgotnej, osiada na brzegach kropli. Przy opisanej metodzie obliczeń, uwzględ-

Tabela IV.

Absolutna ilość bakteryj (w tysiącach), pochłanianych przez pojedyncze pierwotniaki w rozmaitych stężeniach w ciągu godziny.

*Die absolute Anzahl (in Tausenden) der von Einzelinfusorien binnen einer Stunde aufgebrauchten Bakterien in verschiedenen Konzentrationen derselben.*

Ilość <i>B. Coli</i> w 100 mm <sup>3</sup> pożywki	Z tego zużyto w ciągu godziny
<i>B. Coli</i> Anzahl in 100 mm <sup>3</sup>	Davon binnen 1 Stunde auf- gebraucht
1200	95
1250	104
1300	83
1500	64
1600	136
1700	120
2200	100
2300	150
2400	183
2700	138
2950	200
3400	195
4500	218

nijącej liczbę początkową i końcową, zawieszonych w środowisku, po jego wstrząśnięciu bakteryj, owa nieznaną, zresztą bardzo niewielką dla mniejszych stężeń liczbą bakteryj osiadłych figuruje jako spożyta przez pierwotniaki, podnosząc w pewnej mierze obliczoną liczbę bakteryj, zużytych przez pierwotniaka pojedynczego w ciągu godziny. W wyniku, stwierdzić możemy, że liczby doświadczalne nie odbiegają zbyt od teoretycznych, że podniesienie stężenia bakteryj zwiększa odpowiednio ilość bakteryj pobranych przez pierwotniaka, oczywiście w pewnych granicach. Tak więc ilość pobranych dla 2.9, 3.4,

4.5 miliona bakterij w 100 mm<sup>3</sup> cieczy wynosi średnio około 200 tysięcy bakterij w ciągu godziny. Odpowiednio ilość ginących przez wysychanie bakterij jest większa, a specjalne obliczenia kontrolne kropli zawiesiny bez pierwotniaków wykazują, że strata przez wysychanie kropli może czasami obejmować do 20% bakterij, jednak tak wysoki procent zanotowałem tylko w paru sporadycznych przypadkach w bardzo dużych stężeniach bakteryjnych. W małych stężeniach pożywki pierwotniaki szybciej wybierają bakterje i dla tej przyczyny brak pierścienia wysychających bakterij, więc błąd popełniany jest znacznie mniejszy.

#### Minimalne ilości pożywki wystarczające do uskutecznienia podziałów.

Znając przynajmniej w przybliżeniu przeciętną liczbę pochłanianych przez pierwotniaka bakterij w ciągu godziny, mogłem już przystosowywać warunki pokarmowe, licząc się z potrzebami osobnika, i znowu obliczenie teoretyczne stało się punktem wyjścia dla dalszych doświadczeń.

Ponieważ *Paramaecium caudatum* dzieli się raz w ciągu doby, więc uwzględniając ilość zużytej w ciągu godziny pożywki i przyjmując liczbę 100 tysięcy bakterij, mogłem oznaczyć liczbę bakterij w pożywce dobowej na  $100,000 \times 24 = 2,400,000$  *B. Coli* w 100 mm<sup>3</sup> cieczy. Rzeczywiście w takiej pożywce 100% pierwotniaków (trzymanych pojedynczo na szkiełkach wydrążonych) dzieli się nieodwołalnie.

W dalszym ciągu, mając wciąż na celu dążenie do wykluczenia podziałów i jednoczesnego zachowania pierwotniaka przy życiu, począłem stopniowo zmniejszać stężenie podawanej pożywki. Zmniejszenie stężenia przeprowadzałem bardzo systematycznie, umieszczając wciąż nowe serje pojedynczych pierwotniaków na szkiełkach wydrążonych w 100 mm<sup>3</sup> ściśle oznaczonej ilościowo pożywki *B. Coli*. Okazało się, że 2.2, 2.0, 1.8, 1.5 i 1.2 milionów bakterij w 100 mm<sup>3</sup> cieczy (22, 20, 18, 15, 12 tysięcy bakterij w mm<sup>3</sup> cieczy) umożliwiają normalną dobową podzielność, jednak stężenie 1.5 miliona *B. Coli* w 100 mm<sup>3</sup> w wielu przypadkach jest przełomowe, gdyż aczkolwiek wszystkie pierwotniaki się dzielą, to podział staje się nieregularny.

Wobec tego przystąpiłem do pierwszych eksperymentów, mających na celu utrzymanie pierwotniaków przy życiu bez podziałów.

Nastawiłem 2 serie doświadczeń, z których każda obejmowała 50 osobników *Paramecium caudatum*, pochodzących ze świeżo założonej linii czystej. Pierwotniaki umieszczałem pojedynczo na szkiełkach wydrążonych w 100—150 mm<sup>3</sup> pożywki o średnim stężeniu 10 tysięcy *B. Coli* w mm<sup>3</sup>. Co 24 godziny wszystkie osobniki przenoszone były do świeżego środowiska pokarmowego. Normalnej dobowej podzielności w tych warunkach już zanotować nie można, jednak po 12 dniach najdalej wszystkie pierwotniaki, nie licząc straconych w czasie manipulacji i zmarłych, co razem nie przekraczało 10% ogólnej ilości pierwotniaków badanych, podzieliły się przynajmniej raz, a niektóre od 3 do 5 razy. Oczywiście po zanotowaniu podziału, jednego z osobników siostrzanych natychmiast usuwałem z kropli.

Tabela V.

Losy pojedynczych pierwotniaków na szkiełkach wydrążonych w 100—150 mm<sup>3</sup> pożywki o stężeniu 1000—2000 *B. Coli* w 1 mm<sup>3</sup>.  
*Verhalten einzelner Infusorien auf aufgehöhlten Objektträgern in 100—150 cmm Flüssigkeit in Konzentrationen von 1000—2000 B. Coli in 1 cmm.*

Serja Serie	Podzieliło się z 50 początkowych: Von 50 Ausgangstieren geteilt:					Zginęło Eingegan- gen
	10 dni 10 Tage	15 dni 15 Tage	20 dni 20 Tage	25 dni 25 Tage	30 dni 30 Tage	
I	30	10	2	2	2	4
II	26	10	4	5	0	5
Razem Zusammen	56	20	6	7	2	9

Aczkolwiek wskazane stężenia bakteryjne pożywki obniżały podzielność, to przecież jej nie wykluczały i okazało się w następstwie, że im dłużej trwało doświadczenie w tych warunkach, tem regularniej dzieliły się pierwotniaki. Zaszło przystosowanie się do podawanej ilości pokarmu i niejednokrotnie w poszczególnych liniach podziały zachodziły raz na 24 lub 48 godzin.

Nie będę opisywał szczegółowo dalszych zmuć, obejmujących około 300 osobników doświadczeń, wszystkie różniły się od siebie tylko zmniejszonymi stężeniami podawanej pożywki.

Wciąż zmniejszając liczbę bakterij w pożywce, doszedłem do liczb, odpowiadających ilości bakterij, zużywanych przez pierwotniaka w ciągu godziny w warunkach optymalnych, to znaczy—do stężeń 150 do 200 tysięcy bakterij w 100 mm<sup>3</sup> cieczy,

czyli do stężeń około 20 do 25 razy mniejszych od optymalnych. W tych warunkach regularna podzielność ulega stosunkowo wielkiemu zahamowaniu, aczkolwiek i tutaj nie zanika zupełnie. *Paramaecium* okazuje zadziwiającą wprost zdolność do ograniczania i ekonomizowania swych potrzeb, pokarmowych. Egzystuje w warunkach teoretycznie głodowych, faktycznie umożliwiających mu nie tylko normalną egzystencję, ale nie wykluczających reprodukcję.

Tabela V podaje wyniki dwóch seryj doświadczeń, obejmujących po 50 osobników *P. caudatum* na szkiełkach wydrążonych, w 150 mm<sup>3</sup> cieczy o stężeniu 1 do 2 tysięcy *B. Coli* w mm<sup>3</sup>. Co 24 godziny wszystkie osobniki były przenoszone do świeżego środowiska i odstawiane do kamery wilgotnej, znajdującej się w temperaturze pokojowej od 16 do 22°.

Jak widzimy i w tych warunkach prawie wszystkie pierwotniaki dzielą się, ale podział przy odpowiednim postępowaniu w poszczególnych przypadkach można odsunąć w odstępy miesięczne. Poprzestaną tu jedynie na stwierdzeniu tego faktu, odsuwając omówienie pewnych stron morfologicznych do specjalnego rozdziału.

#### Maksymalny okres trwania życia pojedynczego osobnika.

Chociaż odsunięcie podziałów w okresy 30-dniowe było już bardzo dodatnim wynikiem, nie mogłem na nim poprzestać, gdyż, jak się miałem możliwość w trakcie doświadczeń przekonać, stan pierwotniaków, utrzymanych w ciągu tego miesiąca bez podziałów był najzupełniej zadawalający. Muszą i mogą więc istnieć sposoby, zezwalające na dalsze wydłużenie okresu bezpodziałowego trwania pojedynczego osobnika.

Już w poprzednich doświadczeniach udało się stwierdzić, że mimo bardzo starannie dobieranych warunków zewnętrznych, jednakowych dla wszystkich pierwotniaków serji, jedno się przystosowały inaczej od drugich, stopień zaś wyczerpania życiowej potencji był różny dla różnych pierwotniaków. Szereg obserwacyj wskazał, że ponieważ w głównej mierze mam za zadanie przedłużyć życie indywidualne osobnika, winienem metodę hodowli bardziej indywidualnie stosować i traktować każdego osobnika, nie jak cyfrę serji, lecz jak odrębną jednostkę o swoistych właściwościach.

W czasie doświadczeń, objętych tabelą V, mogłem wyróżnić pewne stany pierwotniaków, które są wskaźnikami wzmożonego głodu lub zbliżającej się możliwości podziału. Do takich wskaźników należą: szybkość ruchów pierwotniaków (raczej ogólny stopień ruchliwości), wielkość osobnika, stopień zwakuolizowania protoplazmy i odkształcenie zewnętrznej postaci.

Pierwotniaki o obniżonej potencji życiowej wykazują, wskutek małej ilości wypełnionych zawartością wodniczkom pokarmowych, silne wyjaśnienie i przezroczystość plazmy, są wyraźnie mniejsze i często silniej odkształcone od tych, które wykazują tendencję podziałową. Te ostatnie są wyraźnie bardziej ruchliwe, duże, ciemne, dzięki lepiej wypełnionym wodniczkom pokarmowym.

O ile podawać pokarm przy codziennym odświeżeniu środowiska tylko tym pierwotniakom, których wygląd budzi obawę i wskazuje na stan obniżonej życiowości, zaś pozbawiać świeżej zawiesiny bakteryjnej te, które tego stanu nie wykazują, lub charakteryzują się wzmożoną potencją życiową, można okresy bezpodziałowe przedłużyć.

W nowej serji doświadczeń, obejmującej 50 osobników tabeli VI, zastosowałem metodę niżej przytoczoną.

Zawiesinę bakteryjną przestałem dodawać codziennie przy przenoszeniu pierwotniaków do świeżych kropeł (100 mm<sup>3</sup> wody), a czyniłem to w odstępach 4 do 7-dniowych. Pierwotniaki wszystkie co dzień były przenoszone do świeżych kropeł i tylko te otrzymywały pożywkę w dozie nie przekraczającej 2 tysiące bakterij w mm<sup>3</sup>, których wygląd wzbudzał przypuszczenie, iż znajdują się w stanie obniżonej potencji życiowej (zmniejszona ruchliwość, zmniejszone rozmiary i zwiększona przezroczystość). Jednak i tutaj stopień przystosowania się pierwotniaków do warunków sięga tak daleko, że każde przekroczenie zwykłej dozy pokarmowej, nieznaczna, trudno dająca się uniknąć nadwyżka stężenia bakteryjnego wystarcza za bodziec podziałowy. Aczkolwiek oba osobniki siostrzane po podziale od razu wykazują stan wielkiego osłabienia, dający się przewyciężyć przez codzienne równomierne dokarmianie, to jednak, mimo, zdawałoby się, nieprzychylnych warunków głodowych, pierwotniaki raczej dzielą się, niż umierają w razie zbyt gwałtownego podniesienia koncentracji podawanej pożywki.

Porównyując wyniki tabeli VI z wynikami tab. V, stwierdzamy, iż opisana metoda przedłuża okres życia bezpodziałowego do 90 dni. W ciągu tego okresu osobniki, pozostające bez podziału, maksymalnie otrzymały pokarm 18 razy w odstępach 2 do 7-dniowych, zależnie od stanu, w jakim się znajdowały. Podziały, zanotowane we wskazanej tabeli, następują zawsze w ciągu pierwszych 48 godzin po dodaniu pokarmu, każdy podział jest tylko oznaką trudności w skalowaniu ilości potrzebnej pożywki, każde najdrobniejsze odchylenie, dające się stwierdzić eksperymentalnie, wywołuje w określonych warunkach doświadczenia podział.

Tabela VI.

Zachowanie się pojedynczych pierwotniaków przy zastosowaniu metody indywidualnego dokarmiania.

*Verhalten einzelner Tiere unter Anwendung der Methode der individuellen Ernährung.*

Podzieliło się z 50 początkowych: <i>Von 50 Ausgangstieren geteilt:</i>									Zginęło <i>Eingegangen</i>
10 dni <i>10 Tage</i>	20 dni <i>20 Tage</i>	30 dni <i>30 Tage</i>	40 dni <i>40 Tage</i>	50 dni <i>50 Tage</i>	60 dni <i>60 Tage</i>	70 dni <i>70 Tage</i>	80 dni <i>80 Tage</i>	90 dni <i>90 Tage</i>	
10	5	12	1	1	1	3	2	2	13

Wymieranie samoistne, mimo warunków bardzo nieprzychylnych, wyraźnie głodowych, nie przekracza 10% przypadków, pierwotniaki częściej giną w trakcie manipulacji przenoszenia na świeże szkiełka lub w czasie oczyszczania środowiska otaczającego. W 90% przypadków śmierci winę ponosi eksperymentator.

W miarę trwania moich badań, w miarę ulepszania metodyki, coraz mniejsze ilości pierwotniaków giną, coraz dłuższy okres bezpodziałowy osiągnąć się daje. W ostatniej serji IV, obejmującej tylko 30 wymoczki, postępowiałem nieco inaczej. Nie przenosiłem wymoczków do świeżych kropeł na innych szkiełkach, lecz pozostawiałem pierwotniaka na własnym szkiełku, odciągałem tylko codzień cieniutką pipetą ciecz otaczającą, wciąż dodając krople świeżej, czystej wody. Po kilku powtórzeniach tej samej manipulacji pierwotniak znajdował się już w określonej objętości wody wodociągowej, do której dopiero dodawałem zawiesinę bakteryj, zupełnie według metody opisanej poprzednio.

Dzięki takiemu postępowaniu straciłem mniejszą liczbę osobników, a okres bezpodziałowy udało się wyciągnąć jeszcze bardziej, t. j. do przeszło 120 dni.

Zakończył tę serję podział osobników 4-miesięcznych, spowodowany błędem obliczeniem bakteryj; zbyt wielka ilość dodanego pokarmu przyczyniła się do przedwczesnego podziału pierwotniaków. Muszę w tem miejscu podkreślić, iż nadwyżka podanego pokarmu była stosunkowo mała, gdyż przy nadwyżkach zbyt wysokich zamiast podziału mogłaby w tych warunkach wystąpić śmierć.

Pięć osobników wskazanej serji żyło i żyje po dzień dzisiejszy (9.VII.29), a jeden z nich przekroczył prawdopodobnie 180 dni życia, lecz dzięki pewnym błędom w znakowaniu szkiełek nie mogłem tego wyniku z całą pewnością załączyć do tabeli VII, która reprezentuje ostateczne moje wyniki we wskazanych badaniach.

Tabela VII.

Zachowanie się pojedynczych pierwotniaków przy zastosowaniu metody indywidualnego dokarmiania.

*Verhalten einzelner Tiere unter Anwendung der Methode der individuellen Ernährung.*

Podzieliło się z 25 początkowych: <i>Von 25 Ausgangstieren geteilt:</i>				Zgineło <i>Eingegangen</i>
0-80 dni <i>0-80 Tage</i>	80 dni <i>80 Tage</i>	100 dni <i>100 Tage</i>	120 dni <i>120 Tage</i>	
0	4	8	10	3

W rezultacie stwierdzam, że w doświadczeniach moich dzięki opisanej metodzie hodowli indywidualnej, bardzo zresztą łatwej do naśladowania przy pewnej wprawie, okres bezpodziałowy życia *Paramaecium caudatum* można przedłużyć do 120 dni i więcej przy odpowiednio subtelnej metodyce.

Głód, przerywany okresami niezbyt, jak widzimy, intensywnego karmienia, staje się, jak w doświadczeniach HARTMANN'a ze stentorem i amebami, czynnikiem odmładzającym i regulującym. Pierwotniak żyje, reguluje do pewnego stopnia przemianę energetyczną, zaś nadmiar energii pozyskanej ze świeżo dodanego pokarmu zużywa na wewnętrzną regulację, która z pewnością zachodzić w nim musi w tych warunkach, w sposób bardzo intensywny, wyczerpując zapas energii podziałowej w zupełnie innym kierunku. Być może energia ta idzie na uporządkowanie zachwianej równowagi plazmo-jądrowej, o czem szerzej będę mówił w rozdziale następującym.



## Morfologia.

Aby dokładniej zbadać pierwotniaki, którym uniemożliwiłem podział, nastawiłem serję obejmującą kilkadziesiąt osobników, hodowanych w sposób podobny jak *Paramaecia* tabeli VII, poczem w pewnych odstępach czasu utrwaliałem od 5 do 10 osobników i dokonywałem pomiarów oraz analizy mikroskopowej. Krótko dla orientacji podaję wyniki tych obserwacji i pomiarów w tabeli VIII. Obejmuje ona: długość pierwotniaka, wielkość jądra i ilość wodniczków pokarmowych. Stanu plazmy i układu jądrowego (makro i mikro) w tabeli tej nie umieszczam, pozostawiając te sprawy do dalszego omówienia.

Tabela VIII.

Wymiary pierwotniaków utrwalonych w mikronach.  
*Massen fixierter Infusorien, in Mikronen.*

Serja Serie	Pierwotniaki po dniach <i>Infusorien nach Tagen</i>	Długość ciała <i>Körperlänge</i> μ	Długość jądra <i>Kernlänge</i> μ	Ilość wodniczków <i>Vakuolen-Zahl</i>	Stosunek plazmojądrowy PJK <i>Plasma-Kern-Relation</i>
1	0	280	70	12	4.0
2	14	235	80	7	2.3
3	25	245	90	3	2.7
4	50	250	80	5	3.1
5	75	240	85	4	2.8
6	100	240	110	4	2.2

Zwróćmy uwagę na pierwotniaki przed doświadczeniem, wydobyte ze zwykłej dość dobrze prosperującej kultury, ale stosunkowo skąpo karmionej.

Długość przeciętna osobnika 280 mikronów<sup>1)</sup>, długość jądra 70 mikronów. Ilość wodniczków przeciętnie — 12. Po 100 dniach przeciętna długość spada do 240 mikronów, jądro wydłuża się do 110 μ i odpowiednio rozszerza, mikro wyraźnie odsuwa się od makronucleusa, wodniczków 4. We wszystkich przypadkach depresji pierwotniaków i ich obniżonej potencji życiowej stosunek plazmo-jądrowy (stosunek długości ciała do długości jądra) przesuwa się na korzyść jądra.

<sup>1)</sup> Cyfry pomiarów zaokrąglone. Błąd średniej wartości w każdej serji pomiarów ± 5 mikronów.

Zdawałoby się więc, iż wszelkie stosunki układają się wyraźnie na niekorzyść pierwotniaka, i taki też wniosek możnaby wyciągnąć, gdybyśmy poprzestali na samych liczbach przytoczonych. Ale porównajmy ze sobą pierwotniaki, pozostające bez podziału w ciągu 14 dni, których długość wynosi 235 mikronów, jądro 80 mikronów, ilość wodniczków 7, z pozostającymi bez podziału 50 dni, o długości 250, jądrze 80 mikronów i ilości wodniczków równej 5. Stosunek długości ciała do długości jądra wynosi dla pierwszych 2.94, dla drugich zaś 3.13, a więc stosunek ten wypada korzystniejszy dla pierwotniaków 50-dniowych.

Rzeczywiście, pierwotniaki tej grupy (4) były utrwalone i zbadane następnego dnia po zasileniu ich wszystkich pożywką, co wpływa od razu na stosunek plazmo-jądrowy w sensie dodatnim, podnosząc go od 2.7 do 3.1. Zmniejszone rozmiary pierwotniaków i wzrost jądra przy zwakuolizowaniu plazmy i zmniejszonej ilości wodniczków, to typowe, jak wskazują doświadczenia kontrolne, zjawiska głodowe. Pierwotniaki specjalnie głodzone, obserwowane przeze mnie, tak się właśnie zachowują; zjawiska wskazane występują już po 10 najdalej dniach absolutnego głodu, ale o ile po tym czasie stopniowo, bardzo małymi dozami podawano pożywkę, już po 48 godzinach pierwotniaki regulują stan plazmo-jądrowy. W celu ściślejszego zbadania wspomnianego stosunku, wydobywałem z kultury stopniowo i systematycznie wyglądanej (do 14 dni) pewną ilość pierwotniaków i po utrwaleniu kwasem pikrynowym oznaczałem stosunek plazmo-jądrowy P/K. Wynosił on dla pierwotniaków głodzonych 1.2 — 2. Po przeniesieniu pierwotniaków głodzonych na szkiełka wydrążone w krople czystej wody, do której co parę godzin w ciągu pierwszego dnia dodawałem nieznaczne ilości świeżej pożywki, już po 3 dniach występuje 25% podziału. Stosunek P/K dla pierwotniaków popodziałowych wynosi 4.1, 50% niepodzielonych wykazuje stosunek P/K — 2.5 — a po 24 godzinach dzielą się i te pierwotniaki, wykazując P/K — 4.0, pozostałe 25% pierwotniaków zginęło.

Jeżeli teraz z serji, objętej tabelą VIII, wydobyć kilkanaście pierwotniaków, pozostających bez podziału od 25 do 50 dni i wykazujących średnio stosunek P/K — 2.7, i przenieść wskazane pierwotniaki do kropeł ze świeżą pożywką, której koncentrację stopniowo podnosić, to już po 48 godzinach podzieli się prawie 50% pierwotniaków, wykazując po podziale stosunek P/K = 3.8 —

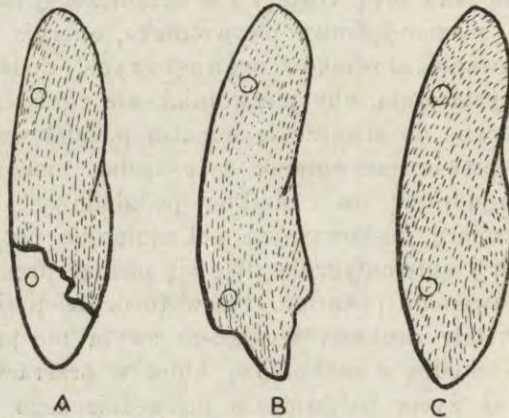
— 4.1, zaś najdalej po 72 godzinach dzielą się pozostałe, dając stosunek  $P/K = 3.5 - 4.4$ , a jeśli je wciąż dostatecznie starannie pielęgnować, po następnych podziałach stosunek  $P/K$  przekracza 5.

Stwierdzam więc w wyniku, że przerost jądra, silna wakuolizacja, mała ilość wodniczków wskazują jedynie na stan podglodowy pierwotniaków, który, o ile go nie przeciągać nadmiernie, nietylko nie przybiera objawów patologicznych, ale — jak widzimy — zastępuje do pewnego stopnia regulację podziałową, wykluczając ją jako taką. Świeży i w ograniczonej ilości pokarm reguluje stan plazmo-jądrowy pierwotniaka, energia zużywa się na uporządkowanie stosunków wewnętrznych, dodawane doży pokarmowe wystarczają, aby pierwotniak nie zginął z głodu, ale nie są dostateczne do stworzenia impulsu podziałowego.

W następstwie pierwotniak żyje nadal, niekorzystny stosunek plazmo-jądrowy ma charakter podglodowy. Przy dostatecznym i w miarę dostarczonym pokarmie nie przybiera form patologicznych i automatycznie daje się usunąć przez podniesienie ilości podawanego pokarmu. Pierwotniak dzieli się wówczas, a świeżo powstałe osobniki wyglądem swym nie przypominają zupełnie, iż pochodzą z osobników, które w przerachowaniu na normalny okres życia indywiduum pierwotniaczego byłyby formami metuzalemowemi.

Na dwa niezmiernie ciekawe przypadki muszę jeszcze zwrócić w tym rozdziale uwagę. Podczas manipulacji przenoszenia pierwotniaków z jednego szkiełka na drugie w czasie odświeżania środowiska, przerwałem pierwotniaka, pozostającego bez podziału 24 dni, powyżej tylnego wodniczka tętniącego w sposób wskazany na rysunku (rys. 1 A, p. str. 94). Ponieważ po tem przypadkowym uszkodzeniu pierwotniak nie zginął od razu, a ruch rzęsek trwał nadal jeszcze po godzinie, przeniósłem zranionego do świeżej kropli i szkiełko odstawiłem do komory wilgotnej. Już po 24 godzinach, ku memu zdumieniu, pierwotniak zaczął regenerować, wykazując charakterystyczny dorost stożkowy i odkształcenia jak wskazuje rys. 1 B. Nie dodając więc większej doży pożywki niż uprzednio, pozostawiłem pierwotniaka w tem samem środowisku. Regulacja kształtu występowała bardzo powoli, ale już po 7 dniach pierwotniak niczem się nie różnił od innych osobników (rys. 1 C). Straciłem go po 18 dniach, podczas oczyszczania szkiełka wydrążonego, na którym się znajdował.

W drugim analogicznym przypadku pierwotniak został uszkodzony igłą zaostrzoną w podobny sposób, regeneracja zupełna wystąpiła w ciągu 5 dni. Po zakończonej regeneracji, w celu zbadania, czy podzielność uległa jakiemuś specjalnemu zaburzeniu, dodałem zwiększoną ilość pożywki, i po 24 godzinach pierwotniak podzielił się normalnie, a utrwalone osobniki siostrzane zupełnie niczem się nie różniły od innych, powstałych z podziału normalnych pierwotniaków.



Rys. 1. Regeneracja *Paramecium caudatum*.  
Fig. 1. Regeneration von *Paramecium caudatum*.

We wszystkich innych przypadkach odpowiednie uszkodzenie pierwotniaków dla braku właściwej aparatury nie mogło być powtórzone, nie mogłem więc stwierdzić ostatecznie, czy brak podzielności wyzwała nową, mało znaną dla *Paramecium caudatum* właściwość regeneracji. Dwa przypadki w sensie statystycznym nie są oczywiście przekonywujące, a jednak nie mogę ich pominąć. *Paramecium caudatum* uchodzi za formę naogół nie regenerującą. Opisywane odosobnione przypadki potworności i regeneracji CALKINSA ('26) przypominają niezawsze to, cośmy zwykli pod regeneracją rozumieć. W moim przypadku mogłem obserwować, niestety dwukrotnie tylko, ale zato niemal klasyczne przebiegi regeneracji, gdyż w dwóch przypadkach jedynie udało mi się pierwotniaki zranic.

Sądzę, iż sprawa ta wymaga specjalnego zbadania z zastosowaniem aparatury mikrurgicznej. Metodyka i sposób postę-

powania wynika w dostatecznej mierze z niniejszego opisu. Wystarczy pierwotniaki utrzymać 20 do 30 dni bez podziału, a po odpowiednim uszkodzeniu ciała w rozmaitych punktach stwierdzić, czy w rzeczywistości przynajmniej pewien procent pierwotniaków w maków zregeneruje w tych warunkach.

### Kultury masowe.

Gdy poznałem warunki hodowli pojedynczych wymoczków bez podziału, przystąpiłem do badań nad kulturami masowymi i od razu zetknąłem się z ogromnymi trudnościami metodycznymi.

Trzy kwestje wysunęły się na plan pierwszy.

1°. Jakimi ilościami pożywki bakteryjnej trzeba operować w masowej kulturze.

2°. Jakie powinno się dobrać stężenie pierwotniaków.

3°. Jak utrzymać kulturę w możliwie jednostajnych warunkach zewnętrznych.

Zdawałoby się, że punkt pierwszy nie powinien nastęrczać żadnych trudności, wystarczy poprostu po dokonaniu obliczenia pożywki dla jednego pierwotniaka, pomnożyć cyfrę bakterij stosowanych w hodowlach indywidualnych przez ilość pierwotniaków w kulturze masowej. Jednak sprawa okazała się daleko trudniejsza. Od razu po pierwszych próbach stanąłem wobec zagadnienia kilku zmiennych, o czym już poprzednio wspominałem. Jak miałem możność zaznaczyć w najgrubszych zarysach, ilość zużywanego pokarmu, stężenie pożywki i ilość cieczy decydują o podzielności, ale wykrycie spólcynnika proporcjonalności na drodze rozważań teoretycznych nie jest możliwe.

Parę prostych doświadczeń, mających swe źródło w rozważaniach teoretycznych, zilustruje to.

O ile 1,000,000 bakterij w  $\text{cm}^3$  ( $1000/\text{mm}^3$ ) jest ilością pożywki graniczną, hamującą z pewnością podziały pierwotniaka pojedynczego, umieszczonego w  $100 \text{ mm}^3$  cieczy, to podobnie nie wystąpią podziały, jeśli naprzykład hodować 20 — 25 pierwotniaków w odpowiednio pomnożonych ilościach bakterij i cieczy.

Wydobyłem z normalnej, młodej, dobrze prosperującej, ale słabo karmionej kultury *Paramaecium caudatum* pewną ilość pierwotniaków i po przemyciu ich wodą wodociągową na szkiełkach zegarkowych, odliczyłem po 20 — 25 osobników do 2 — 2.5

cm<sup>3</sup> pożywki o średnim stężeniu 1000 bakteryj w mm<sup>3</sup>. Po 72 godzinach obliczałem, po utrwaleniu całej zawartości naczynka, ilość osobników. Tabela IX podaje otrzymane wyniki. Jak widzimy, we wszystkich naczynkach wystąpił przeciętnie raz podział, obejmujący wszystkie prawie pierwotniaki. Więc w stężeniu bakteryj, w którym pojedyncze pierwotniaki napewno się nie dzielą, kultura masowa wykazuje podziały wymoczków.

Ten nieco nieoczekiwany wynik, którego wyjaśnienie zostało zdobyte dopiero w związku z dalszemi badaniami, odrazu wskazał mi trudności, z jakimi wypadnie się zmierzyć w trakcie hodowli kultur.

Tabela IX.

Podzielność w próbnym kulturach masowych w minimalnych stężeniach pożywki.

*Teilungsrate in schwach besiedelten Kulturen bei geringer Nahrungsmenge.*

Ilość cieczy w naczynku w cm <sup>3</sup> <i>Flüssigkeitsmenge in ccm.</i>	Stężenie <i>B. Coli</i> - <i>B. Coli-Konzentrat.</i>	Ilość osobników <i>Individuenzahl</i>	
		Początkowo <i>Anfangs</i>	po 72 godz. <i>nach 72 Stunden</i>
2	1000/mm <sup>3</sup>	20	31
2.5		25	42
2.5		25	50
2		20	27
2		20	35
2		20	34
2		20	40
2		20	40

Opierając się na wynikach prac ROBERTSONA, mogłem przypuszczać, iż czynnik allelokatalityczny nie pozostaje tu bez wpływu. Wychodząc więc z tego niepotwierdzonego, jak się okaże później, przypuszczenia, postanowiłem operować kulturami większemi pod względem objętości cieczy. Założone w tym celu młode kultury, stosunkowo gęste, rozcieńczyłem do 1000 cm<sup>3</sup>, utrzymując średnio wyjściowe stężenie pierwotniaków na 10 osobników w 1 cm<sup>3</sup>, sądząc iż w tych warunkach czynnik allelokatalityczny ograniczę w sposób wystarczający przez nadmiar cieczy i małą ilość osobników.

W tych warunkach, t. zn. w 1000 cm<sup>3</sup> cieczy kultury o stężeniu średnim 10 pierwotniaków w cm<sup>3</sup> i stężeniu pożywki od 1 do 1.5 tysiąca bakteryj w mm<sup>3</sup>, podzielność zostaje zahamowana w sposób widoczny.

Oczywiście powstała odrazu trudność dodawania świeżych ilości pożywek i odświeżania środowiska.

Po całym szeregu doświadczeń przekonałem się, iż stosunkowo najrówniejsze warunki zostaną osiągnięte (w sensie zahamowania podziałów), o ile pokarm świeży będę podawał w odstępach 4 — 5-dniowych z założeniem, że wszystkie bakterje, zawarte w kulturze i zdatne na pokarm, zostały zużyte przez pierwotniaki. Praktycznie przeprowadzałem to w ten sposób, że do 1000 cm<sup>3</sup> kultury dodawałem parę centymetrów bardzo stężonej zawiesiny bakteryjnej, by po rozmieszczeniu otrzymać średnio, sprawdzane z pomocą kamery THOMA, stężenie 1 — 1.5 tysięcy bakteryj w mm<sup>3</sup>. Codziennie obliczałem stężenie pierwotniaków w cm<sup>3</sup> cieczy za pomocą wyskalowanej pipety, biorąc po gruntownem, ale niezbyt gwałtownem wymieszaniu kultury 10 prób centymetrowych z rozmaitych poziomów. Po obliczeniu, pierwotniaki wydobyte wracały do kultury. Dla dokonywania pomiarów wypadło pewną ilość pierwotniaków utrwalać, musiałem je więc w kulturze badanej zastępować innemi, branemi z kultury siostrzanej, analogicznej i jedynie w tym celu hodowanej. Wprowadziłem przeto do środowiska kultury badanej pewną ilość pierwotniaków kultury siostrzanej, liczba w ten sposób przetranslokowanych pierwotniaków nie przekroczyła jednak tysiąca. Metoda ta ma pewne braki, ale był to jedynie możliwy sposób nie uszczuplania przez utrwalenie stałej liczby pierwotniaków w kulturze.

Dodawanie świeżej wody skuteczniałem codziennie, korzystając z pewnej bardzo pomyślnej okoliczności. Jak się okazało, pierwotniaki w takich kulturach, o ile je zostawia się w spokoju, zbierają się w dole, częstokroć wprost osiadają tuż koło dna, prawdopodobnie wskutek większego stężenia *B. Coll*, które, jak wykazały doświadczenia kontrolne, zwłaszcza w większych stężeniach opadają ku dołowi.

Niezależnie od przyczyn, powodujących takie zachowanie się pierwotniaków, fakt opisany umożliwiał mi odciąganie z naczynia cieczy w małych, do 20 cm<sup>3</sup> wynoszących dozach, dających się kontrolować, czy nie zawierają pierwotniaków, oraz umożliwiał mi odświeżanie stopniowe i dosyć równomierne kultury.

Pomiary stężenia jonów wodorowych, dokonywane metodą kolorymetryczną, pozwalały mi stwierdzić pod tym względem stosunkowo dużą jednorodność warunków, objawiającą się także w stałej liczbie pierwotniaków, występujących w kulturze.

Tabela X zamyka wyniki prawie dwumiesięcznej hodowli w tych warunkach. Zaznaczam, że miałem do czynienia w ciągu moich badań z kulturami, prowadzonymi w ten sposób 3 miesiące i dłużej, lecz zaniechać musiałem hodowlę wprost dla braku czasu, gdyż prowadzenie kultur w tych warunkach wymaga tylu zabiegów, że z ledwością mogłem wszystkie codzienne obserwacje, obliczenia i sprawdzenia dokonywać. W tabeli X podaję wyniki dla kultury, oznaczonej cyfrą 1<sup>a</sup>, gdyż w ciągu owych dwóch miesięcy najściślejsze i najbardziej drobiazgowo obliczenia tej właśnie kultury dotyczyły.

Widzimy, że w okresie od 6/IX do 29/X w kulturze 1<sup>a</sup> utrzymała się stała liczba pierwotniaków w granicach od 7 do 12 osobników w cm<sup>3</sup>. W tym liczba 12 wystąpiła 2 razy, 11—4 razy, 10—9 razy, 8—10 razy, 7—7 razy. Jeśli zważymy, że liczba wyjściowa stężenia początkowego 6/IX wynosiła 10 osobników w cm<sup>3</sup>, zaś liczba końcowa 29/X wynosiła 9 osobników w cm<sup>3</sup> i jeśli uwzględnimy możliwość ewentualnego błędu, wynikającego z dziesięciu obliczeń, musimy się zgodzić, iż stałość liczby pierwotniaków w tych warunkach jest bardzo znaczna. Nie da się tego powiedzieć ani o wielkości pierwotniaków, ani o rozmiarze jąder, ani też o ilości wodniczków, skala wahań tutaj jest o wiele wyższa. Długość pierwotniaków waha się od 185 do 300 mikronów. Wielkość jądra w granicach od 50 do 100 mikronów. Ilość wodniczków od 0 do 14. Jednak dokładniejsza analiza wskazuje, iż wszelkie nie występujące u normalnych osobników objawy, poza cechami podglądowymi, nie mają żadnego patologicznego charakteru. Każda świeża porcja pożywki normalizuje stan pierwotniaków, następujący po niej okres czterodniowy jest okresem stopniowo wzmagającego się stanu podglądowego, objawiającego się w zmniejszeniu osobnika, w przeroście jądra, odsunięciu mikro od makro (nie we wszystkich przypadkach) i w zmniejszającej się ilości wodniczków, ale ponowne dodanie pożywki zawsze reguluje stan pierwotniaków.

Czy jednak mógłbym orzec z pewnością, iż stała liczba pierwotniaków w kulturze utrzymuje się dzięki nieśmiertelności i brakowi podziałów?

Kategorycznie zdecydować tego nie mogę, mogę jedynie stwierdzić, że w ciągu wielu miesięcy, pomimo częstych, długotrwałych, w różnych porach dokonywanych obserwacyj kultur,



Tabela X.

Zachowanie się pierwotniaków w kulturach masowych o małej zawartości pokarmu.  
*Das Verhalten der Infusorien in Massenkulturen bei spärlicher Ernährung.*

Data Datum	Ilość <i>B. Coli</i> w 1 mm <sup>3</sup> <i>B. Coli-Zahl</i> in cmm	Ilość pierwot. Infusor. Zahl in 1 cmm	Długość ciała <i>Körperlänge</i> μ	Długość jądra <i>Kernlänge</i> μ	Ilość wodnicz- ków <i>Vakuolen-Zahl</i>	pH
6. IX	1500	10	230 — 265	65 — 90	6 — 7	7.8
7 "		11	245 — 270	60 — 75	4 — 6	
8 "		10	245 — 250	50 — 80	4 — 6	
9 "		9	240 — 280	80 — 90	4 — 6	
10 "		8	205 — 275	55 — 80	3 — 6	
10 "	1500	8	205 — 275	55 — 80	3 — 6	7.6
11 "		7	220 — 265	65 — 85	4 — 8	
12 "		6	225 — 265	75 — 85	4 — 7	
13 "		7	225 — 270	65 — 95	3 — 7	
14 "	1500	7	225 — 250	60 — 80	4 — 7	7.6
15 "		7	225 — 250	60 — 80	3 — 7	
16 "		7	225 — 250	60 — 80	3 — 7	
17 "		9	230 — 250	60 — 80	3 — 8	
18 "	1500	8	240 — 265	55 — 75	5 — 6	7.7
19 "		8	250 — 260	55 — 75	5 — 6	
20 "		9	225 — 270	60 — 85	3 — 4	
21 "		10	240 — 265	65 — 80	3 — 4	
22 "	1500	9	225 — 275	60 — 85	4 — 7	7.8
23 "		9	225 — 265	65 — 80	3 — 4	
24 "		9	235 — 245	65 — 80	2 — 5	
25 "		9	230 — 285	60 — 85	2 — 3	
26 "	1500	8	225 — 260	60 — 85	4 — 9	7.8
27 "		10	225 — 275	65 — 85	4 — 7	
28 "		9	225 — 265	75 — 80	2 — 4	
29 "	1500	9	250 — 260	75 — 90	3 — 4	7.7
1. X		8	230 — 270	75 — 90	2 — 4	
2 "		9	215 — 260	75 — 85	2 — 4	
3 "	1500	8	235 — 275	75 — 85	0 — 4	7.8
4 "		9	225 — 270	70 — 80	2 — 6	
5 "		8	240 — 275	75 — 95	2 — 6	
6 "	1500	9	230 — 315	75 — 105	4 — 9	7.9
8 "		9	260 — 280	75 — 80	4 — 6	
9 "		11	240 — 260	70 — 80	3 — 5	
10 "	1500	10	250 — 300	60 — 80	4 — 9	7.7
11 "		12	250 — 300	70 — 85	4 — 8	
12 "		10	250 — 300	70 — 85	5 — 7	
13 "		10	260 — 230	75 — 85	5 — 5	
14 "	1500	9	215 — 270	50 — 75	2 — 3	7.6
15 "		9	235 — 275	60 — 85	2 — 4	
16 "		8	260 — 275	65 — 80	2 — 4	
17 "	1300	7	225 — 245	75 — 80	1 — 3	7.9
18 "		7	225 — 250	75 — 80	1 — 3	
19 "		9	185 — 250	65 — 75	1 — 3	
20 "	1200	10	230 — 275	75 — 85	7 — 10	7.9
21 "		9	235 — 280	75 — 80	6 — 9	
22 "		8	240 — 250	60 — 90	4 — 5	
23 "	1300	8	240 — 275	75 — 100	5 — 7	7.8
24 "		9	260 — 275	75 — 100	6 — 8	
25 "		12	250 — 270	70 — 90	6 — 8	
26 "	1500	10	250 — 275	50 — 75	3 — 4	7.8
27 "		11	245 — 275	65 — 80	3 — 4	
28 "		9	250 — 260	70 — 90	3 — 5	

ani razu nie natrafiłem na dzielącego się pierwotniaka. Mimo to jednak możliwe, iż pewna ilość pierwotniaków mogła się podzielić, aczkolwiek nie dała się zaobserwować.

Chcąc wytłumaczyć stałość liczby pierwotniaków w mojej kulturze i przyjmując istnienie pewnej podzielności, musiałbym przyjąć, że dokładnie tyleż pierwotniaków dziennie dzieli się, ile umiera. Ponieważ takie przypuszczenie jest mało prawdopodobne, muszę jedynie wnosić, że jeśli w mojej kulturze w ciągu dwóch miesięcy dokładnych obserwacji pierwotniaki dzieliły się i umierały, to przypadki te mogły objąć tak minimalne ilości osobników, że nie mogły one zaważyć na szali obliczeń statystycznych. Pewną niewyraźną wskazówkę istnienia słabej podzielności dają liczby tabeli X w okresie od 6 do 18.X.28 roku.

Przy oczyszczaniu środowiska kultury i zmianie naczyń dn. 29.X wskutek rozlania kultury straciłem pewną ilość pierwotniaków, wobec czego przerwałem badania, ale posłużyłem się kulturą pozostałą do dalszych celów, nadając jej cyfrę II<sup>a</sup>. Uży-

Tabela XI.

Liczebność kultury masowej przy zwiększonej ilości pokarmu.  
*Infusorenzahl der Massenkultur bei erhöhter Nahrungsmenge.*

Data Datum	Ilość <i>B. Coli</i> w 1 mm <sup>3</sup> <i>B. Coli Zahl</i> in 1 cmm	Ilość osob- ników w 1 cm <sup>3</sup> <i>Individuen-</i> <i>Zahl in</i> <i>1 cmm</i>	Długość ciała <i>Körperlänge</i> μ	Długość jądra <i>Kernlänge</i> μ	Ilość wodnicz- ków <i>Vakuolen-Zahl</i>	pH
1. XI	2500	6	225 — 250	75 — 80	1 — 3	7.8
2 "		8	230 — 250	70 — 75	7 — 10	
3 "		10	235 — 250	70 — 75	20 — 28	
4 "		18	235 — 250	65 — 75	10 — 15	
5 "		21	250 — 280	65 — 85	8 — 10	
6 "	2500	20	250 — 280	60 — 80	3 — 12	7.8
7 "		23	225 — 245	55 — 85	4 — 10	
8 "		20	200 — 250	70 — 85	9 — 14	
9 "		20	230 — 270	70 — 90	9 — 15	
10 "		19	250 — 275	55 — 90	10 — 13	
11 "	2600	20	250 — 310	80 — 105	7 — 11	7.7
12 "		19	275 — 300	75 — 100	7 — 15	
13 "		19	275 — 300	75 — 100	6 — 10	
14 "		18	250 — 300	70 — 90	8 — 12	
15 "		19	250 — 320	70 — 105	9 — 10	
16 "	2500	19	250 — 320	75 — 90	9 — 12	7.8
17 "		18	250 — 310	75 — 90	8 — 12	
18 "		17	250 — 300	70 — 100	6 — 11	
19 "		20	250 — 300	70 — 95	7 — 9	
19 "		19	250 — 305	75 — 90		
20 "	2600	19	250 — 300	70 — 80	7 — 13	7.8
21 "		19	245 — 305	85 — 100	8 — 11	
22 "		18	230 — 300	70 — 90	8 — 11	
23 "		20	250 — 300	75 — 95	5 — 10	
24 "		21	250 — 315	75 — 90	6 — 9	

łem jej do stwierdzenia, jak się zachowa liczba pierwotniaków, jeśli podwoić stężenie podawanej pożywki. Jak się okazało, przy zdwojonem stężeniu pożywki efekt był prawie natychmiastowy.

Tabela XI ilustruje dosadnie plastykę liczebności pierwotniaków w kulturze. Podniesienie stężenia podawanej zawiesiny bakteryjnej podnosi podzielność, osiąga ona pewne maksimum,

Tabela XII.

Zależność liczby pierwotniaków w kulturze od stężenia pożywki.  
*Infusorienzahl der Massenkultur in Abhängigkeit von der Nahrungsmenge.*

Data Datum	Ilość <i>B. Coli</i> w 1 mm <sup>2</sup> <i>B. Coli Zahl</i> in 1 cmm	Ilość osob- ników <i>Individuen</i> <i>Zahl</i> in 1 cmm	Długość ciała <i>Körperlänge</i> $\mu$	Długość jądra <i>Kernlänge</i> $\mu$	Ilość wodnicz- ków <i>Vakuolen Zahl</i>
1. I	1500	9	240 — 275	70 — 90	3 — 7
2 "		8	240 — 270	70 — 90	3 — 8
3 "		9	240 — 260	60 — 90	0 — 7
4 "	1500	12	200 — 255	50 — 90	3 — 7
5 "		13	230 — 290	60 — 100	4 — 7
6 "	1500	12	225 — 260	75 — 90	4 — 6
7 "		13	225 — 270	55 — 90	2 — 4
8 "	1600	11	225 — 260	65 — 80	2 — 7
9 "		11	200 — 270	65 — 90	2 — 5
10 "	3400	13	200 — 265	55 — 80	6 — 8
11 "		17	210 — 265	55 — 75	6 — 8
12 "		18	225 — 265	70 — 90	2 — 9
13 "	3400	32	230 — 265	60 — 75	4 — 8
14 "		32	215 — 265	75 — 100	4 — 6
15 "		28	215 — 240	70 — 100	2 — 3
16 "	3600	31	215 — 290	60 — 90	8 — 10
17 "		31	215 — 250	60 — 90	8 — 14
18 "		36	205 — 245	70 — 100	6 — 8
19 "		36	205 — 245	75 — 100	5 — 8
20 "	6000	38	200 — 275	50 — 75	12 — 17
21 "		43	235 — 275	60 — 75	8 — 14
22 "		42	225 — 275	60 — 80	5 — 8
23 "	4000	44	225 — 260	60 — 75	4 — 10
24 "		40	210 — 250	50 — 75	4 — 11
25 "		40	200 — 250	70 — 80	8 — 10
26 "		33	225 — 250	65 — 100	6 — 8
27 "	4000	33	225 — 250	65 — 80	8 — 10
28 "		26	250 — 265	75 — 80	5 — 6
29 "		25	225 — 245	70 — 75	5 — 6
30 "		25	225 — 250	50 — 60	5 — 6
31 "	6000	25	220 — 260	60 — 80	8 — 12
1. II		30	220 — 260	75 — 90	2 — 4
2 "		42	220 — 250	50 — 60	2 — 5
3 "	10000	37	255 — 235	60 — 100	7 — 14
4 "		36	235 — 300	60 — 100	8 — 10
5 "		30	240 — 300	60 — 90	6 — 7
6 "		28	240 — 320	80 — 110	2 — 4

poczem następuje spadek, ale ostatecznie ustala się liczba pierwotniaków wyższa od wyjściowej dwu-, a nawet trzykrotnie.

Jeszcze wyraźniej zależność ilości pierwotniaków w kulturze od pokarmu obrazuje tabela XII, gdzie każdej zmianie stężenia pożywki w pewnych granicach towarzyszy zmiana liczebności pierwotniaków. W pewnych granicach, o ile bowiem pierwsze nadprogowe stężenia oddziałują bardzo energicznie na przyrost liczby pierwotniaków, o tyle dalsze okazują się coraz mniej skuteczne. Pierwotniaki poprostu „immunizują się“, nie odpowiadają na nowe przyrosty bakterij w pożywce. O ile w granicach stężeń 1.5 do 4 tysięcy bakterij w  $\text{mm}^3$  pierwotniaki reagują w kulturze bardzo żywo, o tyle na dalsze zmiany stężenia w granicach od 4 do 6 tysięcy bakterij w  $\text{mm}^3$  stają się prawie nieczułe, a wyższe stężenia, poczynając, jak wiadomo, w tych warunkach wogóle oddziaływać deprymująco na liczebność pierwotniaków w kulturze. Powrót do niskich stężeń bakteryjnych natychmiast odzwierciadla się w liczbie pierwotniaków, przyczem spadek jest bardzo gwałtowny. Wskazuje to na szybkie wymieranie pierwotniaków, przywykłych już do wysokiego stężenia pożywki bakteryjnej.

Kultura oznaczona cyfrą III<sup>a</sup> posłużyła mi do wskazania różnic między kulturami, prowadzonymi w powyższy sposób, a kulturami zwykłymi, prowadzonymi na pożywce sianowej. Do 900  $\text{cm}^3$  kultury dodałem 10/II około 100  $\text{cm}^3$  pożywki sianowej zwykłej, przygotowanej w sposób opisany w części metodycznej i od razu mogłem zaobserwować działanie karmienia pożywką tego typu.

Jak wynika z tabeli XIII, liczebność wyjściowa pierwotniaków po 15 dniach osiąga maksimum 150 osobników w  $\text{cm}^3$ . Potem następuje wymieranie pierwotniaków i po miesiącu, t. j. 13.III, jest już tylko 15 osobników w  $\text{cm}^3$ , ale powtórne dodanie pożywki znowu gwałtownie podnosi podzielność. Pożywka sianowa nie jest wielkością stałą, rozwój bakterij postępuje w myśl krzywej parabolicznej, co zresztą wynika także z szeregu prac VIEWEGERÓW ('18, '21, '22), równolegle postępuje przyrost liczby pierwotniaków, ilość wodniczków pokarmowych w nich zawartych i stosunek plazmo-jądrowy.

W kulturach, oznaczonych cyframi I<sup>a</sup> i II<sup>a</sup>, nic podobnego nie spostrzegamy. Odpowiednio dobrana stałość warunków, stałość stężenia bakterij w środowisku, decyduje o utrzymaniu

tempa życiowego i rozwojowego na pewnym poziomie. Okres życia pojedynczego pierwotniaka przedłuża się w sposób nieproporcjonalnie wielki do czasu trwania normalnego indywiduum w pożywce sianowej.

Jeżeli fakty z hodowli indywidualnej nie zawsze w najprostszy sposób wiążą się z wynikami uzyskanymi w doświadczeniach, opartych na hodowli kultur masowych, to jednak z całą pewnością stwierdzić możemy, iż sobie nie przeczą.

Tabela XIII.

Zachowanie się pierwotniaków w kulturach po dodaniu pożywki sianowej 10/II i 15/III.  
*Das Verhalten der Infusorien in Kulturen nach Heuinfusion- Zugabe am 10/II und am 15/III.*

Datum Datum	Ilość osobników 1 cm <sup>3</sup> Individuen Zahl in 1 cm <sup>3</sup>	Długość ciała Körperlänge μ	Długość jądra Kernlänge μ	Ilość wodniczków pokarmowych Nahrungsvakuolen Zahl
10. II	22	275 — 310	80 — 100	10 — 14
12 „	33	275 — 320	70 — 80	10 — 14
14 „	43	275 — 300	70 — 90	10 — 15
16 „	55	275 — 300	70 — 80	16 — 24
18 „	79	300 — 320	70 — 90	10 — 15
20 „	105	260 — 280	65 — 75	10 — 17
22 „	126	260 — 350	75 — 105	17 — 20
24 „	140	290 — 335	60 — 95	15 — 16
26 „	150	280 — 315	70 — 90	15 — 20
28 „	150	280 — 315	70 — 90	15 — 20
3. III	126	300 — 335	70 — 90	14 — 15
5 „	120	280 — 335	60 — 80	7 — 16
7 „	110	245 — 270	60 — 85	3 — 8
9 „	100	225 — 245	70 — 105	3 — 6
11 „	52	225 — 240	70 — 115	2 — 4
13 „	15	190 — 240	80 — 112	
15 „	15	250 — 280	70 — 105	3 — 7
18 „	13	250 — 290	70 — 100	3 — 10
20 „	17	280 — 350	70 — 80	10 — 12
22 „	29	285 — 340	50 — 85	12 — 14
24 „	36	260 — 315	55 — 80	12 — 18
26 „	41	255 — 315	60 — 65	13 — 17
28 „	68	245 — 230	70 — 80	13 — 20
30 „	93	270 — 290	75 — 85	12 — 22

Doświadczenia WOODRUFFA, stwierdzające, że warunki zewnętrzne tylko i jedynie kierują losem linii, pozwalają sobie, opierając się na moich wynikach, potwierdzić w całej rozciągłości i posunąć się o krok dalej w twierdzeniu, iż istnieją i można dobrać takie warunki zewnętrzne egzystencji pojedynczej komórki pierwotniaczej, że regulacja podziałowa nie będzie, jak sądzi

HARTMANN, jedyną formą trwania komórki. W warunkach bezpodziałowych uda się tak dostosować środowisko otaczające, iż nastąpi całkowita równowaga między asymilacją i dysymilacją, tak że system komórkowy może zyskać warunki nieśmiertelności w najpełniejszym tego słowa znaczeniu w odpowiednio postawionym eksperymencie.

#### Czynnik allelokatalityczny Robertsona.

Wyniki doświadczeń, przedstawionych w tabeli IX, nie dały się początkowo pogodzić z wynikami hodowli pierwotniaków indywidualnych.

Przypominam, iż w stężeniu obejmującym 1000 bakterij w  $\text{mm}^3$  cieczy podzielność dla pojedynczego pierwotniaka w 100  $\text{mm}^3$  takiej pożywki zostaje zahamowana, a przy odpowiednim postępowaniu daje się odsunąć o całe 120 dni i więcej. Nie ulega także wątpliwości, iż we wskazanej ilości pożywki pierwotniak znajduje się w warunkach podglodowych, ilość dostarczonej w tak skąpej porcji pokarmu energii jest niewystarczająca do pobudzenia podziałowego. Jeśli jednak zmienimy nieco doświadczenie, powiększając ilość pierwotniaków do 20 — 25, odpowiednio ilość cieczy do 2 — 2.5  $\text{cm}^3$ , a ilość bakterij do miliona w  $\text{cm}^3$ , co w przeliczeniu na jednego pierwotniaka daje warunki prawie te same co w hodowli indywidualnej, podzielność w takiej kulturze występuje i obejmuje w okresie 72 godzinnym prawie wszystkie osobniki.

Czyli — warunki zmieniły się faktycznie, aczkolwiek liczbowo nie uległy dla poszczególnych osobników żadnej zmianie. Najwidoczniej w kulturze, obejmującej 25 pierwotniaków, wystąpił nowy czynnik, nieobecny w hodowli pojedynczych pierwotniaków na szkiełkach wydrążonych.

Z konieczności szukałem wyjaśnień w czynniku allelokatalitycznym ROBERTSONA. W myśl założeń tego autora, wyciąg z kulturek małych, w których pierwotniaki się podzieliły, dodany do innych świeżo założonych kulturek, winien oddziaływać jako czynnik wzmagający podzielność. W próbach dokonanych przeze mnie, podobnego zadziałania stwierdzić nie mogłem. W wielu przypadkach środowisko stare, w którym już trzymano pierwot-

niaki, oddziaływało raczej szkodliwie na środowisko kulturki świeżej, branej do doświadczenia. Ponieważ mogłem przypuszczać, że pewne szkodliwe substancje toksyczne, wydzielone przez bakterje, lub też ich produkty przemiany ujemnie wpływają na wynik, musiałem się uciec do innej metody, także zresztą stosowanej przez ROBERTSONA i jego przeciwników, z tą różnicą, iż badacze ci pracowali z nieokreślonymi ilościowo i jakościowo pożywkami sianowymi, ja zaś stosowałem pożywkę *Bacterium Coli* ściśle oznaczoną.

W celu zbadania podzielności pierwotniaków w związku z istnieniem czynnika allelokatalitycznego ROBERTSONA, nastawiłem szereg jednakowych naczynek 15 cm<sup>3</sup> (po 10 każdej kategorii) i umieszczałem w każdym w 2 cm<sup>3</sup> pożywki o znanym stężeniu po 1, 2 i 4 pierwotniaków, a po 3 i 4 dniach obliczałem pierwotniaki pozostałe z podziału w każdym naczynku.

W pierwszych trzech serjach (I, II, III) ilość pokarmu dawałem proporcjonalną do ilości pierwotniaków w naczynku. W serji IV, V, VI i VII we wszystkich naczynkach, niezależnie od ilości pierwotniaków, była taka sama ilość pokarmu, rozmaita dla każdej serji.

Tabela XIV (str. 106) podaje otrzymane wyniki. Liczby w rubryce „ilość osobników końcowa“ są średniami dziesięciu wyliczeń po odrzuceniu ułamków (liczby obok w nawiasach wskazują cyfry teoretyczne, właściwe normalnym podziałom — teoretycznym). Podzielność w tych warunkach (ilości pokarmu teoretycznie wystarczające do wywołania podziału) w szerokich granicach jest niezależna od ilości pierwotniaków oraz bakteryj w 2 cm<sup>3</sup> cieczy. Ilości ostateczne osobników w naczynkach są prawie proporcjonalne do liczby wyjściowej pierwotniaków i zgadzają się w przybliżeniu z odpowiednimi liczbami teoretycznymi dla normalnej podzielności *Paramaecium caudatum*.

Więc w doświadczeniach I i II we wszystkich czterech naczynkach, zawierających razem 10 osobników, po 4 dobach znalazłem, zamiast 160 teoretycznych w jednym przypadku 164, a w drugim 161 osobników. W doświadczeniu III, zamiast teoretycznych 96 znalazłem faktycznie 91 osobników. Dopiero w serjach IV, V i VI liczby faktyczne znajdowanych osobników są mniejsze od teoretycznych, ale pierwotniaki w tych naczynkach miały odpowiednio mniejsze ilości pokarmu, gdyż jak wiadomo

ilość progowa pokarmu dla jednego osobnika w warunkach optymalnych wynosi 1.5 tysięcy bakteryj w mm<sup>3</sup>; oczywiście, takich ilości bakteryj ani 3, ani 4 pierwotniaki, zamknięte w naczyniach w 1 cm<sup>3</sup> cieczy, nie miały. Dzieliły się wprawdzie, gdyż podziały zachodzą także w stężeniach mniejszych, ale podziel-

Tabela XIV.

Podzielność pierwotniaków w naczyniach, zawierających początkowo 1 do 4 osobników.

*Die Teilungsrate in Gefässen die Anfangs 1 bis 4 Individuen enthielten.*

Serja Serie	Absolutna liczba bakteryj w naczyniu w tysiącach <i>Die absolute Bakterien-Zahl im Gefäss, in Tausenden</i>	Czas trwania doświadczenia w dniach <i>Die Dauer des Experimentes in Tagen</i>	Ilość osobników w naczyniu <i>Individuenzahl im Gefäss</i>	
			Początkowa <i>Anfangszahl</i>	Końcowa <i>Endzahl</i>
I	6000	4	1	17 (16)
	12000		2	22 (32)
	18000		3	58 (48)
	24000		4	67 (64)
II	6000	4	1	15
	12000		2	25
	18000		3	43
	24000		4	78
III	5000	4	1	15 (16)
	10000		2	26 (32)
	15000		3	50 (48)
IV	5000	4	1	17
			2	27
			4	44
V	4000	4	1	14
			2	20
			4	50
VI	2000	4	1	12
			2	17
			4	30
VII	18000	3	1	7 (8)
			2	18 (16)
			4	27 (32)

ność ich jest wyraźnie zahamowana. Więc w IV doświadczeniu z 4 wyjściowych, zamiast teoretycznych 64, znajdujemy 44 osobniki, w V — 50, a w VI, gdzie ilość pokarmu jest bardzo mała, znajdujemy tylko 30 osobników.

Aczkolwiek w warunkach tych doświadczeń mamy w pewnych granicach niezależność podziału od ilości pokarmu, to prze-



cież oczywisty brak pokarmu odrazu obciąża podzielność, czynnik allelokatalityczny w tych doświadczeniach także się nie ujawnia, chociaż nie wynika stąd jeszcze, że jest nieobecny.

Po ściślejszej analizie tych wyników powstało przypuszczenie, czy nie dałoby się odwrócić w pewnym stopniu zagadnienie pożywki, mianowicie—czy pierwotniaki nie wydzielają do środowiska pewnych produktów przemiany, któreby oddziaływały na bakterje, wywołując ich podział, w wodzie wodociągowej dla *B. Coli* naogół zahamowany.

Tabela XV.

Zachowanie się bakteryj w kulturach 2 cm<sup>3</sup> pod wpływem wyciągów z kultur *Paramaecium*.

*Das Verhalten der Bakterien in 2 ccm.—Kulturen unter dem Einfluss der Auszüge aus Paramaecium-Kulturen.*

Serja Serie	Liczba kropeł Tropfenzahl		Liczba bakteryj w tysiącach Bakterienzahl in Tausenden	
	Odwirowanej kultury Abzentriegiger Kulturflüs- sigkeit	Wody Wasser	Początkowa Ausgangszahl	Końcowa Endzahl
I	0	8	4000	3700
	2	6		3000
	4	4		4600
	8	0		3300
II	0	7	2000	1300
	3	4		1450
	5	2		1000
	7	0		1400
III	0	6	18000	15200
	2	4		15000
	4	2		14000
	6	0		13300

Aby poznać wpływ pierwotniaków na zachowanie się bakteryj w środowisku pożywki, przeprowadziłem następujący szereg doświadczeń.

Po bardzo intensywnem odwirowaniu kultury z pierwotniakami nieco wygłodzonymi, w których ilość bakteryj jest minimalna, tak by nie wpływała na wynik obliczeń, dodawałem określone ilości cieczy tej kultury do naczynek z bakterjami, zawierającymi określoną ich ilość. Po 3—4 dniach obliczałem bakterje raz jeszcze. Załączona tabela XV wskazuje otrzymane wyniki. Stwierdzamy z niej, że wyciąg z kultury oddziałuje na bakterje

raczej szkodliwie, aczkolwiek zaznaczyć muszę, że w czystej wodzie wodociągowej w poszczególnych przypadkach pewna ilość *B. Coli* ginie także. W każdym razie o jakimkolwiek zwiększeniu ilości bakteryj w środowisku kultur z tabeli XIV pod wpływem pierwotniaków mowy być nie może.

Należało następne doświadczenie przeprowadzić w warunkach jeszcze bardziej zbliżonych do doświadczeń Robertsonowskich. Nastawiłem więc w tym celu szereg szkiełek wydrążonych i do kropeł jednakowych, obejmujących 50 mm<sup>3</sup> o stężeniu 15—20 tysięcy bakteryj w mm<sup>3</sup>, wpuszczałem 1 lub 2 pierwotniaki, poczem obliczałem ilość osobników po 24 i po 48 godzinach.

Tabela XVI.

Podzielność 1 i 2 pierwotniaków na szkiełkach wydrążonych i w rurkach.

*Die Teilungsrate von 1 und von 2 Infusorien auf ausgehöhlten Objektträgern und in Röhren.*

Po godzinach Nach Stunden	Ilość pierwotniaków — <i>Paramaecienzahl</i>																				
	Początkowo <i>Anfangs</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2		
24	Szkiełka wydrążona <i>Ausgehöhlte Objektträger</i>	4	3	2	2	2	2	2	2	2	4	7	4	4	4	4	5	6	4	4	3
	Rurki <i>Röhren</i>	1	2	2	2	2	2	2	2	2	4	4	4	3	4	4	5	4	4	4	4
48	Szkiełka wydrążona <i>Ausgehöhlte Objektträger</i>	4	2	2	4	4	4	2	4	4	4	8	8	8	7	6	6	5	5	8	8
	Rurki <i>Röhren</i>	4	4	4	4	3	3	2	4	2	2	8	8	7	7	8	6	6	8	8	8

Ponieważ w tak małych kroplach wysychanie jest bardzo intensywne, drugą serję doświadczeń nastawiłem w rurkach szklanych otwartych o średnicy 2 mm, które wypełniłem 50 mm<sup>3</sup> pożywki o stężeniu 18 tysięcy bakteryj w mm<sup>3</sup>, zawierającej 1 lub 2 pierwotniaki. Wyniki otrzymane jednak nie różniły się prawie od wyników poprzednich doświadczeń, co uwidoczniła tabela XVI. Możemy znowu stwierdzić na jej podstawie, że tempo podzielności pozostaje niezmienione zarówno dla jednego, jak i dla dwóch pierwotniaków. Obserwacje ROBERTSONA, dokonane nad *Enchelys* i *Colpidium*, dla *Paramaecium* nie potwierdzają się.

Aby zamknąć tę grupę doświadczeń pozostało mi jeszcze zbadać, w jakim stopniu wykorzystują środowisko kropli poje-

dyńcze, a w jakim liczniejsze pierwotniaki. Sporządziłem zawiesinę z bardzo dobrze i równomiernie rozartego indygo, po którego sfrakcjonowaniu oznaczałem stężenie zawiesiny, otrzymanej za pomocą kamery THOMA-ZEISSA, podobnie jak to czyniłem dla bakteryj. Na szkiełkach wydrążonych w kroplach 100—150 mm<sup>3</sup> zawiesiny o oznaczonym stężeniu umieszczałem 1, 2, 3 lub 4 pierwotniaki na czas od 25 do 60 minut, poczem utrwaliałem zawartość szkiełka i obliczałem utworzone przez *Paramecia* wodniczki pokarmowe, wypełnione przez zawiesinę indygo. Analogiczne doświadczenia przerobiłem z pierwotniakami, zamkniętymi w rurkach o średnicy 2 mm i długości 30 mm, ustawionych nieruchomo, lub na klinostacie, obracającym się z szybkością 2—4 obrotów na minutę. Wyniki tych doświadczeń zawiera tabela XVII. Serje I, II, III, IV, V i VI obejmują pierwotniaki na szkiełkach wydrążonych w kroplach płasko rozlanych. Serja VII, VIII i IX obejmuje pierwotniaki w rurkach pionowych nieruchomych, pozostałe serje w rurkach obracających się na klinostacie.

Na szkiełkach wydrążonych i w mniejszym stopniu w rurkach nieruchomych pojedynczy osobnik pobiera mniej zawiesiny, niż dwa w tych samych warunkach. Okazuje się, że para pierwotniaków lepiej wyzyskuje środowisko, niż pierwotniak pojedynczy, oczywiście w przypadku, gdy nie ma ci spokoju środowiska. Na klinostacie różnica wskazana zanika, a jednocześnie wyniki klinostatowe tłumaczą całość zjawiska.

Cząsteczki indygo są stosunkowo ciężkie i opadają na dno, ruch pierwotniaka w naczynkach nieruchomych jest jedynym czynnikiem mieszającym środowisko. Oczywiście w warunkach kropli dwa pierwotniaki dokładniej i intensywniej mieszają środowisko, niż jeden; więcej cząsteczek jest zawieszonych w cieczy, mniej opada i to właśnie staje się przyczyną intensywniejszego pobierania zawiesiny. Różnice te są małe, a jednak dostrzegalne w statystycznym obliczeniu. (Każda liczba tabeli XVII jest średnią conajmniej 10 do 15 obliczeń). Na klinostacie wskutek ustawicznego ruchu cząsteczek jeden pierwotniak pobiera podobnie jak dwa, trzy, czy cztery.

Powstaje więc przypuszczenie, wymagające zresztą bardzo subtelnie przeprowadzonych doświadczeń, że lepsza w pewnych przypadkach podzielność dwóch pierwotniaków na szkiełkach jest wynikiem nie czynnika allelokatalitycznego, lecz wprost lepszego

Tabela XVII.

Pobieranie indygo przez 1, 2, 4 *Paramaecia* w kroplach i w rurkach.Die Aufnahme einer Indigo-Suspension von 1, 2, 4 *Paramaecien* in Tropfen und in Röhren.

№ seria Serie	Minuty Minuten	Liczba cząstek indygo Körnchenzahl von Indigo	Ilość cieczy Flüssig- keitsmenge	Ilość osob- ników Individuen- zahl	Ilość utworzo- nych wodnic- ków Anzahl gebilde- ter Nahrungs- vakuolen	
Płaskie krople Flache Tropfen	I	60	10000/mm <sup>3</sup>	100mm <sup>3</sup>	1	11.6
					2	16.0
					4	17.1
					5	15.2
	II	60	10000	100	1	12.4
					2	15.1
III	50	40000	100	1	13.8	
				2	15.0	
IV	45	10000	100	1	10.0	
				2	12.0	
V	25	10000	100	1	8.9	
				2	11.0	
VI	60	15000	100	1	12.4	
				2	12.6	
				3	15.0	
Rurki pionowe nieruchome Vertikale unbewegliche Röhren	VII	45	10000	100	1	10.0
					2	12.5
					3	11.2
VIII	60	20000	150	1	14.8	
				2	13.9	
				3	17.1	
IX	60	15000	100	1	13.2	
				2	14.0	
				3	14.2	
X	45	10000	100	1	14.4	
				2	14.0	
				3	13.8	
XI	40	10000	150	1	13.2	
				2	12.0	
				3	12.0	
XII	40	10000	100	1	13.2	
				2	12.0	
				3	12.3	
XIII	60	20000	100	1	13.8	
				2	13.0	
XIV	60	20000	100	1	18.5	
				2	18.9	
XV	85	20000/mm <sup>3</sup>	100mm <sup>3</sup>	1	20.6	
				2	18.1	
				3	18.6	
				4	19.1	

wyzyskania środowiska pokarmowego kropli. Dzięki temu ta sama ilość pokarmu, pozornie potrzebna do podziału jednemu pierwotniakowi, może się także okazać wystarczająca dla dwóch, gdyż dwa osobniki, dzięki mieszaniu środowiska, dokładniej i lepiej mogą wybrać stosunkowo ciężkie bakterje, opadające na dno. W tym świetle pobieranie pokarmu przez większą ilość pierwotniaków w określonych objętościach może być znacznie intensywniejsze, niż w przypadku jednego osobnika.

Fakt ten wyjaśnia wiele spraw, dotyczących wyników tabeli XIV, gdzie w serjach poszczególnych stopień podzielności pozostawał mniej więcej stały, pomimo różnej ilości bakteryj, przypadających na jednego osobnika. W tym przypadku mieliśmy jednak naogół stosunkowy nadmiar pokarmu. Inaczej przedstawia się sprawa w doświadczeniach objętych tabelą IX (str. 96), gdyż tam absolutna ilość bakteryj w odniesieniu do jednego osobnika była tak mała, że w kulturach indywidualnych wstrzymywała ona podział przez 120 dni. Mimo to pierwotniaki dzieliły się. Dopiero następne doświadczenia przynoszą tu pewne wyjaśnienie.

Aby się ostatecznie przekonać, czy zawsze pierwotniaki się zachowują tak, jak objęte wynikami tabeli IX, postawiłem nową serję doświadczeń, kierując się nieco inną metodą.

Z kultury masowej, utrzymanej w warunkach bezpodziałowych, do której dnia 30/III dodano pożywkę o stężeniu 1.6 tysięcy *B. Coli* w  $\text{mm}^3$ , dnia 2/IV wydobyłem 15  $\text{cm}^3$  cieczy z pierwotniakami, które rozmieściłem w 5 naczyniach po 2  $\text{cm}^3$  i w 5 naczyniach po 1  $\text{cm}^3$ . Liczba pierwotniaków wyniosła 18 osobników w  $\text{cm}^3$ . Naczynka zakorkowane watą po dwóch dniach zostały otwarte, ich zawartość utrwalona i zbadana. Wyniki tych doświadczeń w tabeli XVIII są oznaczone serją A. W analogiczny sposób postępowałem w serji B i C, z tą różnicą, że pierwotniaki serji B były umieszczone w naczynkach w dniu ponownego dodania pożywki do całej kultury macierzystej, t. j. 6/IV, a w serji C — dwa dni później.

Widzimy z liczb tabeli, że stałość warunków i stopień podzielności, a raczej brak podzielności we wszystkich serjach, naogół pozostają te same. Stopień zmienności nie przekracza granic, opisanych dla kultur 1000 centymetrowych, chociaż warunki w tym przypadku podobne są do tych, w jakich znajdowały się pierwotniaki, objęte tabelą IX.

Pierwotniaki tabeli IX były wydobyte z normalnej, ale słaboo karmionej kultury, przemyte w wodzie wodociągowej na szkiełkach zegarkowych i potem dopiero przeniesione do świeżo przygotowanej pożywki o określonym stężeniu bakteryjnym. Szereg specjalnie przedsięwziętych prób kontrolnych potwierdził, że właśnie moment pewnego przegłodzenia, a zwłaszcza przemycia, sta-

Tabela XVIII.

Stalność warunków w małych naczynkach i związana z niemi stalność liczby osobników.  
*Konstanz der Bedingungen in kleinen Gefässen und damit verbundene konstante Individuenzahl.*

Kultury Kulturen		Zasadnicza — Grundkultur				W naczyniach 2 cm <sup>3</sup> In 2 ccm Gefässen				W naczyniach 1 cm <sup>3</sup> In 1 ccm Gefässen			
Serja — Serie	Data — Datum	Ilość osobników w 1 cm <sup>3</sup> Individuenzahl in 1 cm <sup>3</sup>				Ilość osobników w 1 cm <sup>3</sup> Individuenzahl in 1 cm <sup>3</sup>				Ilość osobników w 1 cm <sup>3</sup> Individuenzahl in 1 cm <sup>3</sup>			
		μ	μ	μ	μ	μ	μ	μ	μ	μ	μ	μ	μ
		Długość ciała Körperlänge	Długość jądra Kernlänge	Ilość wodniczoków Vakuolenzahl	Długość ciała Körperlänge	Długość jądra Kernlänge	Ilość wodniczoków Vakuolenzahl	Długość ciała Körperlänge	Długość jądra Kernlänge	Ilość wodniczoków Vakuolenzahl	Długość ciała Körperlänge	Długość jądra Kernlänge	Ilość wodniczoków Vakuolenzahl
A	2/IV	18	295	90	9	18	295	90	9	18	295	90	9
	4/IV	17	280	95	7	23	295	75	15	18	295	75	15
B	6/IV	19	285	100	7	19	285	100	9	19	285	100	9
	8/IV	21	300	90	9	22	280	90	11	20	290	95	9
C	8/IV	21	300	90	9	20	300	90	9	21	300	90	9
	10/IV	20	285	85	9	23	290	85	13	21	315	100	7

nowi o różnicy wyników tabeli IX a XVIII. Podzielność wy-moczków zależy nie tylko od obecnej w kulturze ilości pokarmu, ale w znacznym stopniu także od poprzedniego stanu pierwotniaków. A więc i te doświadczenia raczej zaprzeczają istnieniu czynnika allelokatalitycznego, niż je potwierdzają, gdyż w myśl poglądów ROBERTSONA przemycie powinno osłabić podzielność, gdy w moich próbach rzecz się miała odwrotnie.

#### Część ogólna.

Jak wynika z pracy niniejszej, badania komórki pierwotniacznej, jej energii życiowej i możliwości rozwojowych pomimo znacznej ilości prac, tworzących ogromną literaturę, są wciąż u prognozy.

W tej próbie wykrycia ściślejszych zależności między czynnikami zewnętrznymi, przede wszystkim pokarmem, t. j. jego ilością, a trwaniem życia indywiduum pierwotniaczego powstaje dziedzina nowych zupełnie możliwości. Okres życia pojedynczego osobnika w specjalnie dobranych warunkach daje się ogromnie wydłużyć. 120 dni życia jednego pierwotniaka wydaje się okresem zawrotnie długim, dającym w przerachowaniu na normalną podzielność potężną ilość osobników, których masa substancji żywej miliony razy przekroczyłaby masę pojedynczego osobnika, a przecież — jak wynika z moich doświadczeń — 120 dni nie jest kresem życia osobnika. HARTMANNOWSKIE *Stentory* i *Ameby*, przeżywające wskutek regeneracji po zranieniach bez podziału w ciągu 50 do 100 dni, *Hydry* z badań GOETSCHA nad nieśmiertelnością *Metazoa* pozostają pod tym względem w tyle.

Czynnikiem przedłużającym życie indywiduum jest nietyle pokarm, ile właściwie pewien niedostatek pokarmu. Zwolniona przemiana, pewne obniżenie energetyki procesów życiowych i oto okres życia wydłuża się ogromnie. Niskie natężenie procesów życiowych, powolna regulacja stosunków wewnętrznych bez pomocy tak gwałtownego środka, jakim jest podział, działa odmładzająco.

Wyniki moich doświadczeń pozwalają sądzić, iż możliwe jest uzyskanie takich warunków zewnętrznych, w których życie komórki pierwotniaczej da się przedłużyć jeszcze bardziej, niż dotąd. Śmierć indywidualna w tych warunkach odsunie się nieograniczenie i kto wie, czy nie zostanie w swej dzisiejszej postaci wyparta w odpowiednio postawionym eksperymencie, potwierdzając w ten sposób ostatnio wypowiedziane przez METALNIKOWA ('24) twierdzenie o nieśmiertelnej potencji komórki w najważniejszym znaczeniu, stojącej u podstaw życia organicznego.

W świetle wyników tej pracy nie znajdujemy potwierdzenia dla istnienia ROBERTSONOWSKIEGO czynnika allelokatalitycznego w hodowlach *Paramecium caudatum*. W tej mierze wyniki moje pokrywają się z wynikami przeciwników ROBERTSONA, przede wszystkim z wynikami DONALDA W. CUTLERA i LETTICE MAY CRUMP, GREENLEAFA, GRINWALDÓWNY i MYERSA. Nie mogę tylko zgodzić się z tym ostatnim, gdy kategorycznie stwierdza,

iż przemywanie pierwotniaków pozostaje bez wpływu na ich dalsze zachowanie się. W doświadczeniach moich, zobrazowanych w tabeli IX, mogłem stwierdzić, że w pewnych warunkach ten czynnik może odegrać swoją rolę.

Dlaczego czynnika ROBERTSONOWSKIEGO nie udało się wykryć nikomu prócz YOCOMA ('28), na to pytanie trudno odpowiedzieć. Prócz *Enchelys*, także dla *Colpidium* ROBERTSON notuje występowanie czynnika allelokatalitycznego, ale CUTLER i CRUMP po powtórzeniu jego doświadczeń nad temi wycieczkami doszli do wniosku, że 1, 2, 3 i 4 osobniki w rozmaitych ilościach cieczy i różnem stężeniu pożywki wykazują naogół stałą proporcjonalną podzielność, co stoi w zupełnej sprzeczności z twierdzeniem ROBERTSONA i całkowicie pokrywa się z mojami wynikami dla *Paramaecium caudatum*.

Pozostaje założyć, że pożywka Robertsonowska posiadała jakieś specyficzne własności, aczkolwiek żadnych specjalnych danych w tej mierze w pracach jego, ani w pracach YOCOMA nie znajdujemy. Raczej, porównywując otrzymane przez niego liczby podzielności z liczbami POPOFFA ('24) i SPEKA ('19), charakteryzującymi działanie bodźców stymulacyjnych, szczegółowo przez tych autorów badanych, odnosi się wrażenie jakiejś zbieżności między czynnikiem allelokatalitycznym a bodźcem stymulacyjnym. Ten ostatni jest wynikiem zadziałania pewnych jonów na pierwotniaki w ciągu jakiegoś czasu, niejednokrotnie bardzo krótkiego, w wyniku czego podnosi się znacznie stopień podzielności, podobnie jak to się dzieje w doświadczeniach ROBERTSONA. Oczywiście jest to tylko przypuszczenie.

#### Streszczenie.

1<sup>o</sup>. Podzielność *Paramaecium caudatum* jest zależna od stężenia bakteryj w pożywce i od czasu, w ciągu którego pierwotniaki w środowisku pożywki pozostają.

2<sup>o</sup>. Zbyt wielkie stężenia hamują podzielność pierwotniaków i mogą oddziaływać ujemnie.

3<sup>o</sup>. Ilość pobranych przez pojedynczego pierwotniaka bakteryj w ciągu godziny jest proporcjonalna do stężenia zawiesiny bakteryjnej i wynosi około 100 — 150 tysięcy bakteryj na godzinę w stężeniach optymalnych.



4°. Optymalna ilość pożywki dobowej dla osobnika *Paramecium caudatum* wynosi 2.5 miliona bakterij w 100 mm<sup>3</sup> cieczy (25 tysięcy w mm<sup>3</sup>).

5°. Przy stopniowym obniżaniu stężenia bakterij, pierwsze nieregularności podziału występują w koncentracji 1,500,000 bakterij w 100 mm<sup>3</sup>.

6°. Przy systematycznym i powolnym obniżaniu stężenia pożywki zachodzi pewne przystosowanie się pierwotniaków, dzięki czemu podzielność dobową, bardzo nawet regularną, udaje się utrzymać także dla mniejszych, niż w punkcie 5°, stężeń bakteryjnych.

7°. W stężeniu 150 — 200 tysięcy w 100 mm<sup>3</sup> (1.5 — 2 tysięcy w mm<sup>3</sup>) podzielność dobowa zanika, okres życia osobniczego pozwala się przedłużyć w pewnych przypadkach do 30 dni.

8°. *Paramecium caudatum* okazuje jednak dużą zdolność ograniczania swych potrzeb pokarmowych i może w ciągu dłuższego czasu egzystować w odpowiednich warunkach głodowych.

9°. Dzięki metodzie hodowli indywidualnej w określonych ilościach pożywki, dodawanej według potrzeby, udaje się okres bezpodziałowy życia pojedynczych pierwotniaków przedłużyć do 120 i więcej dni.

10°. Czynnikiem, odmładzającym i regulującym stosunki wewnętrzne w pierwotniaku w moich doświadczeniach, jest jedynie takie lub inne stężenie pożywki, lub jej niewystarczające ilości, uniemożliwiające normalną podzielność.

11°. Pierwotniaki, którym uniemożliwiono podziały, wykazują stosunek plazmo-jądrowy taki sam, jak pierwotniaki głodzone, po każdym dodaniu pożywki stosunki powracają do normy, tak samo, jak u pierwotniaków głodzonych. Innych specyficjnie patologicznych objawów niema.

12°. Świeży, w ograniczonej ilości podany pokarm reguluje stan plazmo-jądrowy pierwotniaka nie dzielącego się, energia zużywa się prawdopodobnie na uporządkowanie stosunków wewnętrznych, dodawane dozy pokarmowe wystarczają, aby pierwotniak nie zginął z głodu, ale nie są dostateczne do stworzenia impulsu podziałowego.

13°. W dwóch przypadkach, gdy pierwotniaki, utrzymane bez podziału, udało się uszkodzić, zaszła regeneracja.

14°. W kulturach masowych o objętości 1000 cm<sup>3</sup> cieczy i stężeniu bakteryjnym 1.5 miliona w cm<sup>3</sup> udaje się utrzymać

stałą liczbę pierwotniaków średnio 10 w  $\text{cm}^3$  w ciągu 2 — 3 miesięcy. W okresie tym nie zaobserwowano nowych podziałów. Ewentualny procent podziałów i śmierci jest zupełnie minimalny.

15°. Podniesienie stężenia pożywki podnosi stężenie pierwotniaków, obniżenie stężenia obniża stężenie pierwotniaków w kulturze, oczywiście w pewnych określonych granicach.

16°. O ile w granicach stężeń 1.5 — 4 milionów bakteryj w  $\text{cm}^3$  pierwotniaki w kulturze reagują bardzo żywo przez podział, o tyle dalsze zmiany stężenia w granicach od 4 — 6 milionów w  $\text{cm}^3$  nie przynoszą w tym względzie żadnych zmian.

17°. W pożywkach sianowych utrzymanie stałego stężenia pierwotniaków nie daje się urzeczywistnić. Ilość pierwotniaków postępuje za przyrostem bakteryj i z ich obniżeniem opada w myśl prawidłowej krzywej parabolicznej.

18°. Istnieją więc i można dobrać takie warunki zewnętrzne egzystencji pojedynczego pierwotniaka, oraz częściowo i w masie pierwotniaków, że regulacja podziałowa nie będzie jedyną formą przeżycia komórki. System komórkowy może zyskać warunki nieśmiertelności w odpowiednio postawionym eksperymencie.

19°. W małych ilościach pożywki, wystarczających do wywołania podziału, dzielią się 1, 2 lub 4 pierwotniaki w tem samym tempie.

20°. Na szkiełkach wydrążonych i w rurkach pionowych nieruchomych w dostatecznych ilościach pożywki 1 i 2 pierwotniaki dzielią się jednakowo szybko, czynnik allelokatalityczny nie ujawnia się.

21°. W zawiesinach indygo dwa pierwotniaki w pewnych warunkach tworzą większą ilość wodniczków, niż pojedynczy.

22°. W zawiesinach indygo, zamkniętych w rurkach umieszczonych na klinostacie, pobieralność zawiesiny przez 1 i 2 pierwotniaki jest taka sama, wskutek równomiernego mieszania zawiesiny.

23°. Lepsza podzielność 2 pierwotniaków w zawiesinach bakteryjnych częściowo może być wynikiem lepszego wykorzystania środowiska pokarmowego przez 2 osobniki, niż przez 1.

## Piśmiennictwo.

- Calkins G. N. 1911. Effects produced by cutting *Paramecium* cells. Biol. Bull. **21** (36). Calkins G. N. 1926. Biology of the Protozoa. Philadelphia. Chejfec M. 1928. On the nuclear reorganisation in *Paramecium caudatum*. Acta Biol. Experimentalis. **2** (89). Cutler D. W. L. M. Crump. 1923. The rate of reproduction in artificial culture of *Colpidium colpoda*. Bioch. Journ. **11** (174). Cutler D. W. a. L. M. Crump. 1923. The rate of reproduction in artificial culture of *Colpidium colpoda*. Part II. Bioch. Journ. **17** (878). Part III. Bioch. Journ. **18** (905). Cutler D. W. a. L. M. Crump. 1925. The influence of washing upon the reproductive rate of *Colpidium colpoda*. Bioch. Journ. **19** (450). Doflein F. 1913. Die Unsterblichkeit im Tierreich. Freiburg. Doflein F. 1919. Das Problem des Todes und der Unsterblichkeit bei den Pflanzen und Tieren. Jena. Grinwald E. 1928. Recherches sur les facteurs du développement des cultures de microorganismes. L'action de la substance allelocatalitique apparaît-elle dans les cultures du *Colpidium colpoda* Ehrbg? Acta Biol. Experimentalis. **3** (81). Goetsch W. 1921. Beiträge zum Unsterblichkeitsproblem der Metazoen. Teil I. Biol. Zentralbl. **41** (374), Teil II. ibid. **42** (231), Teil III. ibid. **42** (278). Greenleaf W. 1924. The influence of volume of culture medium and cell proximity on the rate of reproduction of Protozoa. Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. **21** (405). Greenleaf W. 1926. The influence of volume of culture medium and cell proximity on the rate of reproduction in infusoria. Journ. Exper. Zool. **46** (143). Hartmann M. 1922. Über den dauernden Ersatz der ungeschlechtlichen Fortpflanzung durch fortgesetzte Regenerationen. Biol. Zentralbl. **42** (364). Hartmann M. Der Ersatz der Fortpflanzung von Amöben durch fortgesetzte Regeneration. Arch. Protistenk. **49** (447). Hartmann M. 1926. Über experimentelle Unsterblichkeit von Protozoen-Individuen. Naturwissenschaften. Jg. **14**, H. **19** (433). Hartmann M. 1928. Der Ersatz der Fortpflanzung von *Amoeba proteus* durch fortgesetzte Regenerationen. Zool. Jahrb. Abt. f. Zool. u. Physiol. d. Tiere. **45** (973). Hertwig R. Über Korrelation von Zell- und Kerngrösse. Biol. Zentralbl. **23** (49). Metalnikov S. 1924. Sur l'immortalité des animaux unicellulaires. Bulletin de l'Institut Leshaft. **9** (1). Metalnikov S. 1924. Immortalité et rejuvenissement dans la biologie moderne. Paris. Myers E. C. 1927. Relation of density of population and certain other factors to survival and reproduction in different biotypes of *Paramecium caudatum*. Journ. Exp. Zool. **49** (1). Peters A. 1906. Chemical studies on the cell and its media. Amer. Journ. of Physiol. **17** (443). Popoff M. 1924. Über die Beschleunigung der Teilungsrate von *Paramecium caudatum* durch Zellstimulierende Mittel. Biol. Zentralbl. **44** (87). Robertson T. B. 1921. Experimental studies on cellular multiplication. I. The multiplication of isolated infusoria. II. The influence of mutual contiguity upon reproductive rate and the part played therein by the X substance in bacterised infusions which stimulate the multiplication of infusoria. Bioch. Journ. **15** (595). Robertson T. B.

1922. Reproduction in cell communities. *Journ. of Physiol.* **16** (404). **Robertson T. B.** 1923. The chemical basis of growth and senescence. New-York. **Robertson T. B.** 1924. Allelocatalitic effect in cultures of *Colpidium colpoda* in hay infusions and syntetic media. *Bioch. Journ.* **18** (1240). **Robertson T. B.** 1924. The influence of washing upon the multiplication of isolated infusoria and upon allelocatalitic effect in cultures initially containing two infusoria. *Austr. Journ. of exp. biol. and med. Science.* **1** (151). **Rubner M.** 1908. Das Problem der Lebensdauer und seine Beziehungen zum Wachstum und Ernährung. München. **Spek J.** 1919. Experimentelle Beiträge zur Physiologie der Zellteilung. *Biol. Zentrabl.* **39** (23). **Vieweger T.** 1918. Zależność rozwoju wyciezków od rozwoju bakteryj. *Spraw. Tow. Nauk. Warsz.* **11** (847). **Viewegerowie J. i T.** 1921. L'influence de la quantité de la nourriture et du jeûn, *Trav. Instit. Nencki.* **1**. **Vieweger T.** 1928. Les rapports entre le développement des bacteries et des infusoires. *Journ. de Physiol. et de Pathol. génér.* **21** (700). **Weismann A.** 1882. Über die Dauer des Lebens. Jena. **Weismann A.** 1892. Über Leben und Tod. Jena. **Woodruff L. L.** 1908. The life cycle of *Paramecium* when subjected to a varied environment. *Amer. Natur.* **42** (520). **Woodruff L. L.** 1911. Two thousand generations of *Paramecium*. *Arch. Protistenk.* **21** (263). **Woodruff L. L.** (1911). The effect of excretion products of *Paramecium* on its rate of reproduction. *Journ. Exp. Zool.* **10** (558). **Woodruff L. L.** 1913. Dreitausend und dreihundert Generationen von *Paramecium caudatum*. *Biol. Zentralbl.* **33** (34). **Woodruff L. L.** 1912. A summary of the results of certain physiological studies on a pedigreed race of *Paramecium* without conjugation. *Biolog. Bull.* **1** (396). **Woodruff L. L.** 1912. A five years pedigreed race of *Paramecium* without conjugation. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* **9** (121). **Woodruff L. L.** 1913. The production of specific excretion products by Infusoria. *Biolog. Bull.* **1** (465), *Journ. Exp. Zool.* **14** (579). **Yocom H. B.** 1928. The effect of the quantity of culture medium on the division rate of *Oxytricha*, *Biol. Bull.* **54** (410).

[Zakład Fizjologii Instytutu im. Nenckiego].

Br. Zawadzki.

**Badania nad rozmieszczeniem niektórych krystaloidów  
w układach koloidalnych, zbliżonych do cytoplazmy.**

*Researches on the distribution of certain crystalloids in colloidal  
systems similar to cytoplasm.*

Rękopis nadesłany w dniu 22.X.1929 r.

This paper deals with the distribution of sucrose, maltose, glucose, laevulose, urea, and sodium, potassium, calcium and magnesium chlorides in egg yolk (*Gallus domesticus* L.) solutions containing 50% by volume of added isotonic salt solution, as well as of sucrose, glucose, galactose, and urea in 33.3% aqueous solutions of dried ovalbumin. It follows from the work of a number of authors that hydrophile colloidal systems, such as are the above solutions, contains apart from the colloid itself, two types of water, differing in their behaviour towards crystalloids; these types we have termed „combined“ and „free“ water. The above research consisted firstly in the determination of the concentration of added solutes in the free water, using cryoscopic methods, or, in the case of electrolytes, ultrafiltration was applied to the determination of chlorine. A comparison of the concentration, expressed in mg./cc.,  $u$  of solute in free water with the concentration  $c_1$  which should theoretically be given by the given solute were it to be distributed uniformly throughout the entire volume  $v$  of the water of the system, shows whether the solute is distributed uniformly throughout the solvent, unevenly in the two types of the latter, and, finally, whether adsorption or combination with the colloid has taken place. The solubility of all carbohydrates in free water was both for eggs yolk and white solutions greater than the theoretical solubility. On the assumption that this difference is due to solution of car-

bohydrate solely in free water  $d$ , the volume per cc. of the latter in the given systems was calculated from the equation  $d = c:u$  where  $c$  represents the amount of solute added per cc. of the system. The ratio  $c:u$  should, if it is to remain equal to  $d$ , be a constant for all sugars, and this was found to be the case, within the limits of experimental error (tab. III—VI for egg-yolk, VII for ovalbumin). We have thus at the same time showed that sugars dissolve exclusively in free water, and that the ratio  $c:u$  gives a constant value  $d$  for all sugars. In the case of urea it has been found that its actual concentration is on the whole less than the theoretical value  $c_t$  (tab. VIII and IX), pointing to its concentration in some part of the system. Since, however, the above difference appeared on the whole to be independent of concentration of urea, it is supposed that we have here to do not with adsorption on the colloid, but with concentration in the combined water. Sodium and potassium chlorides gave actual concentrations  $u$  identical within the limits of experimental error with the theoretical values  $c_t$  (tab. X and XI), whence it is concluded that these salts are uniformly distributed throughout the system.

Calcium and magnesium chlorides are in all probability adsorbed by the colloid, as is indicated by the diminution of percentage sorption with increasing concentration of solute (tab. XII and XIII). For all four salts cryoscopic data were on the whole in entire agreement with determinations of the chlorine content of the ultrafiltrates of the diluted egg yolk, pointing to the similar behaviour of both anions and cations.

In order to ascertain to what extent the value for the volume of free water,  $d$ , corresponds to that of the intermicellar fluid, the value of the latter volume was computed from viscosity data, basing our calculations on KUNITZ's formula ('26). As is shown by table XIV, the values obtained by both methods are on the whole in agreement with each other.

## 1. Wstęp.

Sprawa rozmieszczenia krystaloidów w układach koloidalnych hydrofilnych ma ogromne znaczenie dla całego szeregu zjawisk życiowych, a przede wszystkim dla zagadnień wymiany materji, dla reakcyj enzymatycznych oraz dla wszelkich spraw, w których biorą udział elektrolity nieorganiczne. Ze względu na znaczenie tego zagadnienia, cały szereg autorów zajmował się nim, że wymienimy tu między innymi prace AUGSBERGERA ('25), BIALASZEWICZA ('27, '28 b, '28 c, '29), BERCELERA ('18), BUGARSKY'EGO i LIEBERMANNA ('98), COHNA ('25), EGE'GO ('22), FREDERICQA ('02, '04), HAMBURGERA ('02), LOEBA ('22), NETTERA ('27), NORTHROPA i KUNITZA ('25, '26), PAULI'EGO ('20, '26), POLÁNYI'EGO ('20), RONY ('10).

Jak wynika z prac tych autorów, wpływ koloidów na rozmieszczenie krystaloidów zaznacza się głównie w 3-ch kierunkach. Przede wszystkim koloidy zajmują znaczną część objętości roztworów. Wskutek tego, krystaloidy znajdują się w roztworze w objętości mniejszej, niż objętość układu. Następnie koloidy hydrofilne wiążą część wody, która tworzy t. zw. otoczki wodne na cząstkach koloidu, przyczem związana część wody zachowuje się odmiennie w stosunku do niektórych krystaloidów, niż część niezwiązana. Wreszcie wiele krystaloidów ulega wiązaniu przez koloidy w sposób odwracalny, przyczem stopień wiązania zależy od ogólnej koncentracji krystaloidu. Wynika stąd, że w układzie koloidalnym hydrofilnym mamy do czynienia z trzema składnikami, a mianowicie z koloidem, z wodą związaną przez koloid oraz z niezwiązaną częścią wody, którą będziemy nazywali wodą wolną. Jak wynika dalej z prac wymienionych autorów, poszczególne krystaloidy wykazują różne stężenie w każdym z tych składników, brak jednak było systematycznych badań porównawczych nad rozmieszczeniem poszczególnych typów krystaloidów w każdym z tych trzech składników układu.

W pracy niniejszej staraliśmy się określić rodzaj rozmieszczenia czterech typów krystaloidów, mianowicie — cukrów, mocznika, chlorków alkalicznych oraz chlorków ziem alkalicznych w dwukrotnie rozcieńczonym żółtku jaj kurzych, które uważaliśmy za układ zbliżony do cytoplazmy. W tym celu należało

przedewszystkiem oznaczyć objętość względną każdego ze składników w stosunku do objętości całego układu, a następnie stężenie, względnie całkowitą zawartość dodanego krystaloidu w każdej części układu.

## 2. Materiał.

A. Wybór materiału. Zasadnicze badania nad rozmieszczeniem krystaloidów przeprowadzaliśmy w rozcieńczonym żółtku jaj kurzych (*Gallus domesticus L.*). Materiał ten okazał się bardzo odpowiednim ze względu na to, że ten rodzaj cytoplazmy można otrzymać w dowolnych ilościach w stanie zupełnie czystym, zaś wobec braku struktur stałych stanowi on masę całkowicie jednorodną, dzięki czemu oznaczenia równoległe dają naogół wyniki zgodne. Przytem jest to materiał niewątpliwie fizjologicznie ważny i nasuwający dla naszego zagadnienia wiele punktów zaczepienia, jak to wynika z prac BIAŁASZEWICZA ('26, '27, '28, '29), dotyczących tegoż zagadnienia i wykonanych częściowo właśnie na tym materiale. Rozcieńczenie żółtka było konieczne, jakkolwiek bowiem badanie żółtka nierozcieńczonego byłoby ciekawe i dla zagadnień fizjologicznych ważniejsze, to jednak, ze względu na wielką lepkość tego materiału, badania te, zwłaszcza opierające się na ultrafiltracji, są metodycznie niewykonalne. W każdym razie staraliśmy się jak najmniej zmienić warunki układu, jak to wynika z podanego dalej opisu rozcieńczania.

Prócz tego zasadniczego materiału część doświadczeń wykonano w roztworach białka (*Albumen ex ovis siccum* z f. Spiess) w wodzie destylowanej. Badania te miały na celu skontrolowanie pewnych wyników, otrzymanych w żółtku rozcieńczonym.

B. Oczyszczanie materiału. Żółtka jaj kurzych, starannie oddzielone od białka, przemywano kilkakrotnie izotonicznym roztworem soli kuchennej, a następnie osuszano bibułą.

C. Rozcieńczanie żółtka. Do każdej serji oznaczeń używano około 10 jaj, zaś do doświadczeń, w których stosowano ultrafiltrację, nawet przeszło 30 jaj. W ten sposób ewentualne różnice indywidualne zaczęły się całkowicie, jak to widać z porównania wyników otrzymanych w różnych doświadczeniach dla tych samych substancyj, użytych w tych samych stężeniach (tab. I). Pierwsze trzy kolumny tabeli pierwszej obejmują dane dla jednakowych stężeń sacharozy, odpowiadających kolumnie czwartej tabeli III i IV, następne trzy kolumny odpowiadają stężeniom pozycji piątej tabeli III i IV. Widzimy, że wartości ilorazu  $c : u$ , otrzymane dla tych samych stężeń w różnych doświadczeniach, nie różnią się więcej, niż dla różnych stężeń w tem samym doświadczeniu (tab. III i IV) pomimo, że doświadczenia 7, 8 i 9 były przeprowadzone na wiosnę, zaś 18 na jesieni.

W celu zachowania warunków możliwie zbliżonych do istniejących w żółtku nierozcieńczonym, do rozcieńczania użyto płynu o składzie zbliżonym do składu cieczy międzycząstkowej. Przy sporządzaniu płynu oparto się na wynikach pracy BIAŁASZEWICZA ('27). Skład płynu, co do



ogólnego stężenia soli, był niezawsze jednakowy, gdyż starano się o utrzymanie izotoniczności z żółtkiem zaś obniżenie punktu zamarzania żółtka ulega dość dużym wahaniom w zależności od wieku jaj (BIALASZEWICZ '12). Natomiast stosunek stężeń poszczególnych jonów utrzymywano stały w ten sposób, że sporządzono roztwór hipertoniczny, który w miarę potrzeby rozcieńczano. Skład tego roztworu był następujący: 6.54 g KCl + 1.44 g NaCl + 1.18 g CaCl<sub>2</sub> + 1.05 g MgCl<sub>2</sub> + 1000 cm<sup>3</sup> wody. Odpowiednio

Tabela I.

Porównanie wyników badania rozmieszczenia sacharozy w żółtku dwukrotnie rozcieńczonym, otrzymanych w różnych doświadczeniach.

Comparison of the results obtained from different experiments, of the investigation of the distribution of sucrose in 50% egg-yolk.

№ pozycji Item №	№ doświadczenia, № oznaczenia i data		7/IV	8/IV	9/VII	7/V	8/V	18/VI
	№ of experiment, № of determination and date		8-9.II 1928	13-14.III 1928	15-20.III 1928	8-9.III 1928	13-14.III 1928	18-21.IX 1928
1	Δ	plynu rozcieńczającego	bez sacharozy	0.521 <sup>0</sup>	0.521 <sup>0</sup>	0.521 <sup>0</sup>	0.521 <sup>0</sup>	0.521 <sup>0</sup>
2		of diluting liquid	z sacharozą	0.940 <sup>0</sup>	0.940 <sup>0</sup>	0.940 <sup>0</sup>	1.006 <sup>0</sup>	1.006 <sup>0</sup>
3		żółtka of yolk	bez sacharozy	0.502 <sup>0</sup>	0.507 <sup>0</sup>	0.495 <sup>0</sup>	0.502 <sup>0</sup>	0.507 <sup>0</sup>
4			z sacharozą	1.086 <sup>0</sup>	1.104 <sup>0</sup>	1.102 <sup>0</sup>	1.192 <sup>0</sup>	1.196 <sup>0</sup>
5	Stężenie sacharozy w mg/cm <sup>3</sup> Concentration of sucrose in mg/ccm.	w całym żółtku	c	74.0	74.0	74.0	85.5	85.5
6		w cieczy międzycząstkowej	u	102.4	104.7	106.9	121.0	121.0
7		teoretyczne	c <sub>t</sub>	98.4	98.4	98.4	113.5	113.5
8		Przyrost stężenia u w stosunku do c <sub>t</sub>	u-c <sub>t</sub>	+4.0	+6.3	+8.5	+7.5	+7.5
9	Difference between actual concentration u and c <sub>t</sub>	procentowy	as per cent 100	+4.2%	+6.5%	+8.6%	+6.5%	+6.5%
10	Wartość ilorazu	c : u	0.723	0.707	0.692	0.707	0.707	
	Value of quotient						0.710	

rozcieńczonym roztworem, który będziemy stale nazywali płynem rozcieńczającym, rozcieńczano żółtko we wszystkich doświadczeniach ściśle dwukrotnie objętościowo. W tym celu żółtka oczyszczone ważono, mnożąc ciężar przez objętość właściwą otrzymywano objętość żółtka, poczem odmierzano taką samą objętość płynu rozcieńczającego.

Objętość właściwą żółtka oznaczano przy pomocy piknomtru o szerokiej szyjce, stosowanego przy badaniu ciężaru właściwego melasy, gdyż wobec wielkiej lepkości żółtka zwykły piknometr o wąskiej szyjce okazał

się nieodpowiednim. Średnia wartość objętości właściwej żółtka wyniosła 0.970 (0.967 — 0.969 — 0.972).

D. Rozpuszczanie białka. Białko kupne ucierano na proszek i rozpuszczano w wodzie destylowanej w stosunku 100 g białka na 200 cm<sup>3</sup> wody. Białko zawierało duże ilości krystaloidów, zwłaszcza soli, jak na to wskazuje  $\Delta$  tak przyrządzonego roztworu, które wynosiło 1.393° — 1.411°, oraz duża zawartość chloru w ultraprzesączach roztworów bardziej rozcieńczonych. Dokładniej składników mineralnych nie badano, gdyż chodziło tylko o badania porównawcze w jednakowo przyrządzonych roztworach. Ażeby określić, jaką część objętości zajmuje w roztworze woda dodana, oznaczono objętość właściwą sproszkowanego białka. Oznaczenie wykonano w tym samym piknometrze o szerokiej szyjce, wypełniając przestrzeń wolną po nasypaniu zważonej ilości białka alkoholem amylovym, który zachowywał się zupełnie obojętnie w stosunku do białka. Znając objętość właściwą alkoholu amylowego, można było z różnicy ciężarów przed i po dodaniu alkoholu obliczyć objętość właściwą białka, która wyniosła 0.765 (0.762 — 0.765 — 0.768). Ponieważ objętość wody wolnej w roztworze białkowym zależy w znacznym stopniu od stężenia jonów wodorowych roztworu, uznaliśmy za wskazane określić pH obu rodzajów roztworów. Wyniosło ono dla żółtka rozcieńczonego 6.14, zaś dla roztworu białka 6.22.

### 3. Metoda.

Z uwag podanych we wstępie wynika, że dla określenia rozmieszczenia krystaloidu w układzie koloidalnym musimy oznaczyć następujące wielkości:

1°. Całkowite stężenie badanego krystaloidu w układzie koloidalnym, czyli ilość substancji w mg, dodanej do 1 cm<sup>3</sup> układu. Oznaczamy ją przez  $c$ .

2°. Stężenie krystaloidu w wodzie wolnej układu. Wyrazimy je również w mg na 1 cm<sup>3</sup> i oznaczymy przez  $u$ .

3°. Całkowitą objętość wody w cm<sup>3</sup>, zawartą w 1 cm<sup>3</sup> układu. Oznaczmy ją przez  $v$ . Wówczas objętość koloidu będzie równa  $1 - v$  cm<sup>3</sup>.

4°. Objętość wody wolnej w cm<sup>3</sup>, zawartej w 1 cm<sup>3</sup> układu. Oznaczmy ją przez  $d$ . Wówczas objętość wody związanej będzie równa  $v - d$ .

5°. Dla całkowitego scharakteryzowania rozmieszczenia musimy jeszcze oznaczyć albo stężenie ciała w wodzie związanej, albo ilość krystaloidu związaną przez koloid zawarty w 1 cm<sup>3</sup> układu, albo wreszcie ilość ciała zawartą w całej wodzie w 1 cm<sup>3</sup> układu. Znając którąkolwiek z tych wielkości,

moglibyśmy na podstawie poprzednio wymienionych danych obliczyć obie pozostałe, i tem samym moglibyśmy oznaczyć zawartość krystaloidu w każdym z trzech składników układu. Niestety nie mamy metody, któraby nam pozwoliła oznaczyć którąkolwiek z wspomnianych wielkości. Wynika stąd, że całkowite określenie rozmieszczenia krystaloidu jest możliwe tylko wówczas, gdy ciało badane znajduje się wyłącznie w wodzie wolnej. Nie jesteśmy natomiast w stanie rozstrzygnąć, czy część krystaloidu, która nie znajduje się w wodzie wolnej, a której wartość liczbową wyniosłaby w  $1 \text{ cm}^3$   $c - du$ , znajduje się w wodzie związanej, czy też jest związana bezpośrednio przez koloid, względnie — czy zachodzą obie możliwości jednocześnie. W tym ostatnim przypadku nie możemy również określić, w jaki sposób krystaloid jest rozdzielony pomiędzy te dwa składniki. Jakkolwiek nie jesteśmy więc w stanie z całą stanowczością rozstrzygnąć tych wątpliwości, to jednak, jak się przekonamy przy omawianiu wyników, istnieją pewne wskazówki, które pozwalają nam z pewną dozą prawdopodobieństwa wnioskować o tem, czy część krystaloidu, niezawarta w wodzie wolnej, znajduje się w wodzie związanej, czy też jest związana przez koloid.

Oprócz czterech wspomnianych wielkości, a mianowicie  $c$ ,  $v$ ,  $u$  i  $d$ , wprowadzimy jeszcze jedną, którą nazwiemy stężeniem teoretycznym i oznaczmy przez  $c_t$ . Wielkość tę otrzymujemy dzieląc całą ilość krystaloidu dodanego do  $1 \text{ cm}^3$  układu czyli  $c$  przez objętość całej wody  $v$ , a więc  $c_t = c : v$ . Łatwo spostrzec, że takie właśnie stężenie wystąpiłoby, gdyby ciało dodane nie podlegało żadnym wpływom koloidu, ani przyciągającym, ani odpychającym. Wówczas wartość liczbową  $u$  pokrywałaby się z wartością  $c_t$ .

W przypadku natomiast, gdyby cały krystaloid znajdował się tylko w wodzie wolnej,  $u$  byłoby większe od  $c_t$ , zaś odwrotnie, w przypadku wiązania krystaloidu przez koloid, otrzymalibyśmy  $u$  mniejsze od  $c_t$ . Widzimy więc, że z wartości różnicy  $u - c_t$  możemy odrazu wnioskować o rodzaju rozmieszczenia krystaloidu w układzie.

Podamy metody oznaczania wspomnianych wielkości.

#### 1. Całkowite stężenie krystaloidu ( $c$ ).

Oznaczenie wielkości  $c$  nie nastęrczało żadnych trudności, gdyż każdorazowo do układu badanego dodawano substancję w ten sposób, że do

kolbki, zawierającej odważoną ilość tej substancji, dolewano odpowiednią objętość roztworu koloidalnego. Wobec tego stężenie należy rozumieć w tem znaczeniu, że podana liczba miligramów przypada na 1 cm<sup>3</sup> rozpuszczalnika, a nie roztworu.

2. Stężenie krystaloidu w wodzie wolnej układu ( $u$ ).

Stężenie to określano metodą dializy kompensacyjnej (RONA '10, POLÁNYI '20 i wielu innych). Polega ona na dobraniu roztworu danego krystaloidu o takim stężeniu, ażeby po zanurzeniu roztworu koloidalnego zawartego w dializatorze, do takiego roztworu, nie zaszła zmiana stężenia krystaloidu. Wówczas stężenie krystaloidu w wodzie wolnej jest równe jego stężeniu w płynie zewnętrznym.

W naszej pracy posługiwaliśmy się metodą krjoskopową. Metodę tę stosowali FREDERICQ ('01) oraz EGE ('22). Polega ona na tem, że oznacza się  $\Delta$  (obniżenie punktu zamarzania) układów badanych przed dodaniem substancji i po jej dodaniu, poczem z różnicy  $\Delta$  wnioskuje się o stężeniu substancji w cieczy międzycząstkowej układu. Metoda ta opiera się na założeniu, że znana proporcjonalność  $\Delta$  roztworu do stężenia substancji jest własnością ściśle addytywną, to znaczy, że każda substancja obecna w układzie spowoduje obniżenie odpowiadające jej stężeniu niezależnie od obniżenia, spowodowanego przez inne osmotycznie czynne ciała, obecne w roztworze. Jeżeli więc, po dodaniu do roztworu, posiadającego np.  $\Delta = \Delta_1$ , pewnej substancji, oznaczymy ponownie  $\Delta$  i otrzymamy wartość  $\Delta_2$ , to przypuszczamy, że  $\Delta_2 - \Delta_1$  będzie równe temu  $\Delta$ , jakie posiadałby roztwór tej samej substancji o tem samym stężeniu w wodzie czystej. Tymczasem EGE ('22) przy omawianiu tej metody zwraca uwagę na to, że rozpuszczając nową substancję w roztworach, zawierających już inne substancje, a w szczególności elektrolity, jak to ma miejsce w badanych przez nas układach, możemy zmieniać własne  $\Delta$  układu, a więc  $\Delta_1$  przez zmianę dysocjacji elektrolitów, znajdujących się w roztworze.

Ażeby skompensować wpływ tego czynnika, przynajmniej w stosunku do rozcieńczonego żółtka, oznaczaliśmy zależność pomiędzy stężeniem substancji i odpowiadającym mu  $\Delta$  nie w czystej wodzie, lecz w płynie rozcieńczającym. Wobec tego, że płyn rozcieńczający miał skład mineralny zbliżony do składu cieczy międzycząstkowej, własne  $\Delta$  tych płynów powinno się zmienić przez dodanie nowej substancji w jednakowym stopniu, a ponieważ obliczaliśmy stężenie substancji w cieczy międzycząstkowej z  $\Delta$ , przypadającego na daną substancję, opierając się na stosunku tych wielkości w płynie rozcieńczającym, więc te jednakowe zmiany się zniosą i na wartość  $u$ , oznaczonego tą metodą, nie powinny wpłynąć. Obliczenie stężenia substancji z przypadającego na nią  $\Delta$  opiera się na proporcjonalności tych wielkości. Zależność ta nie jest jednak ściśle linjowa, to też w praktyce oznaczaliśmy  $\Delta$  odpowiadające kilku stężeniom substancji w płynie rozcieńczającym, możliwie bliskim do spodziewanego  $u$ , i następnie dla danego  $\Delta$  obliczaliśmy odpowiadające mu stężenie przez interpolację. W naszych doświadczeniach oznaczaliśmy  $\Delta$  dla takich stężeń substancji w płynie rozcieńczającym, jakie stosowaliśmy później w ukła-

dzie. Stężenia takie oznaczaliśmy przez  $c$ . Tak więc znaleźliśmy zmiany  $\Delta$ , jakie powinny wywołać substancja po rozpuszczeniu w układzie, gdyby się w nim rozpuściła równomiernie. Stosowaliśmy zwykle kilka różnych stężeń z powodów podanych dalej, tak że mieliśmy dla każdej substancji kilka wartości  $c$  i odpowiadających im  $\Delta$ , zarówno w płynie rozcieńczającym, jak i w układach badanych. W celu obliczenia  $u$  na podstawie znajomości  $\Delta$  układu, zawierającego substancję dodaną w stężeniu  $c$ , posługiwaliśmy się następującym wzorem:

$$u = \frac{1}{2} \left( \frac{c' (\Delta_1 - \Delta_3)}{\Delta'_2 - \Delta_1} + \frac{c'' (\Delta_1 - \Delta_3)}{\Delta''_2 - \Delta_1} \right)$$

Poszczególne symbole mają tu następujące znaczenie:  $\Delta_1$  jest to  $\Delta$  płynu rozcieńczającego,  $\Delta'_2$  i  $\Delta''_2$  są to  $\Delta$  płynu rozcieńczającego po dodaniu doń substancyj badanych w stężeniach  $c'$  i  $c''$ , przy czem  $c'$  jest równe  $c$ , czyli stężeniu substancji w całej objętości układu,  $c''$  jest najbliższe większe zbadane stężenie. Ponieważ  $c$  jest naogół mniejsze od  $u$ , więc  $c'$  i  $c''$  są to dwa stężenia najbliższe do spodziewanego  $u$ . Z powyższego wynika, że  $\Delta'_2 - \Delta_1$  i  $\Delta''_2 - \Delta_1$  oznaczają  $\Delta$ , przypadające w płynie rozcieńczającym na substancję dodaną w stężeniach  $c'$  i  $c''$ .  $\Delta_3$  jest to  $\Delta$  samego układu badanego.  $\Delta_1$  wreszcie, to  $\Delta$  układu badanego po dodaniu doń substancji badanej w stężeniu  $c$ . A więc  $\Delta_1 - \Delta_3$  to  $\Delta$  przypadające na substancję dodaną w układzie badanym. Dla największych wartości nie można było stosować wzoru interpolacyjnego, gdyż nie mieliśmy już wartości  $c''$  i odpowiadającego mu  $\Delta$ . Wówczas stosowaliśmy wzór

$$u = \frac{c (\Delta_1 - \Delta_3)}{\Delta_2 - \Delta_1}$$

Poszczególne symbole mają znaczenie podane powyżej.

Oznaczenia  $\Delta$  wykonywaliśmy przy pomocy krjoskopu DEKHUYZENA ('08).

Badając rozmieszczenie elektrolitów stosowaliśmy do oznaczenia  $u$  obok metody krjoskopowej również metodę ultrafiltracyjną. Metodą tą posługiwał się między innymi BJAŁASZEWICZ w swoich badaniach nad rozmieszczeniem elektrolitów w cytoplazmie ('27, '28, '29). Przy ultrafiltracji oddzielamy część cieczy międzycząstkowej od koloidu, stosując jako filtry błony nieprzepuszczające koloidów. Należy tu zaznaczyć, że elektrolity w układach koloidalnych mogą podlegać specjalnemu rodzajowi wiązania. Mianowicie jeden z jonów może być wiązany przez koloid więcej niż drugi, a mimo to jon niezwiązany nie może przejść do przesączu w ilości równoważnej ze związaną częścią jonu drugiego. Metoda krjoskopowa daje tylko globalne zmiany w stężeniu jonów, nie pozwalające wnioskować o zachowaniu się poszczególnych jonów. Jeżeli jednak zestawimy wyniki, otrzymane tą metodą, z wynikami, otrzymanymi metodą ultrafiltracji, możemy wyciągnąć pewne wnioski w tej sprawie. Mianowicie, jak wspominaliśmy, jon nie związany bezpośrednio nie będzie jednak mógł przejść do przesączu, gdyż jest on zatrzymywany przez naładowany elektrycznie koloid. Jeżeli więc obliczymy z pomiarów stężenia tego jonu w przesączu,

że zostało związane  $x\%$  tego jonu, zaś w rzeczywistości ten jon nie był wcale związany bezpośrednio, a tylko  $x\%$  drugiego jonu, to  $\Delta$ , przypadająca na ten elektrolit, zmniejszy się nie o  $x\%$ , jak to miałyby miejsce przy związaniu obu jonów, lecz o  $\frac{1}{2}x$ , jeżeli oba jony są tej samej wartościowości, jak w NaCl czy KCl, zaś o  $\frac{1}{3}x$ , jeżeliby w  $\text{CaCl}_2$  lub  $\text{MgCl}_2$  związanymi przez sam koloid jonami były Ca czy Mg. Jeżeli więc procent związanego chloru, w przypadku badanych przez nas soli, oznaczony na podstawie pomiarów Cl w przesączu, jest równy procentowi zmniejszenia  $\Delta$ , to możemy wnioskować, że oba jony są związane w tym samym stopniu przez koloid, jeżeli zaś te wielkości nie są równe, to należy przypuszczać, że poszczególne jony są wiązane w różnym stopniu. Ażeby w tym ostatnim przypadku przekonać się, który jon jest wiązany, metoda ta nie wystarcza, ponieważ jednak, jak zobaczymy przy omawianiu wyników, dane otrzymane obydwojema metodami okazały się zgodne, więc mogliśmy się zatrzymać na tym sposobie, jako praktycznie nadzwyczaj prostym i dogodnym.

Co się tyczy wykonania ultrafiltracji, to postępowaliśmy tu naogół w sposób opisany w pracy BIAŁASZEWICZA ('27), z tą różnicą, że używaliśmy sączków nie kupnych, lecz własnej roboty, przygotowanych według następującego przepisu, opartego częściowo na pracach EGGERTHA ('21), LOONEY'A ('22) oraz ASHESHOVA ('25).

3g celoidyny Sheringa, drobno pokrajanej i wysuszonej rozpuszczano w mieszaninie 45g eteru etylowego zwykłego (nie bezwodnego) oraz 15g alkoholu etylowego 96%. Obecność wody zmniejsza lepkość roztworu, dzięki czemu można otrzymywać błony bardzo cienkie, a mimo to trwałe. Otrzymany roztwór celoidyny wylewano na płytkę szklaną, poczem przy pomocy pałeczki szklanej, opartej na podstawkach cokolwiek wyższych od płytki, rozprowadzano roztwór równomiernie po powierzchni płytki. Następnie płytkę wraz z warstwą celoidyny wkładano do naczynia z wodą. Jako moment odpowiedni, w którym należy płytkę umieścić w wodzie, po długich próbach ustaliliśmy chwilę, gdy zapach eteru znika, zaś występuje wyraźny zapach alkoholu. W tej chwili zanurzone błony dają optymalne warunki co do trwałości z jednej strony, oraz szybkości sączenia z drugiej. Wytworzona błona po pewnym czasie pozostawiania w wodzie daje się z łatwością oddzielić od płytki.

Do zwiększenia szybkości sączenia przyczyniło się w bardzo dużym stopniu, oprócz zastosowania cienkich i w odpowiednim momencie zanurzonych do wody sączków, intensywne mieszanie roztworu i ścieranie powierzchni sączka przy pomocy mieszadła zakończzonego szerokim płaskim pędzlem.

W przesączach badaliśmy tylko stężenie chloru, stosując mikrometodę WHITEHORNA ('20).

Że wyniki otrzymane metodą ultrafiltracyjną, po uwzględnieniu ostrożności, opisanych przez BIAŁASZEWICZA ('27, str. 6) zasługują na zaufanie, świadczą dane tabeli II, gdzie mamy porównanie  $\Delta$  żółtka rozcieńczonego przed sączeniem, po odsączeniu pewnej porcji (około 15% objętości) i wreszcie ultraprzesączu. Jak widzimy, ultrafiltracja nie wpływa

zupelnie na ogólne stężenie krystaloidów w wodzie wolnej oraz ultraprzesączu, oczywiście, o ile nie wchodzi w grę równowaga DONNANA.  $\Delta$  tych płynów nie różni się więcej, niż poszczególne oznaczenia tych samych płynów.

Elektromotorycznego oznaczania stężenia poszczególnych jonów, stosowanego przez wielu autorów w stosunku do jonów H oraz Cl (BUGARSKY i LIEBERMANN '98, PAULI '20, LOEB '22 i inni), nie mogliśmy stosować ze względu na brak elektrod, któreby pozwalały oznaczać obok siebie K, Na, Ca oraz Mg.

Tabela II.

Porównanie  $\Delta$  żółtka dwukrotnie rozcieńczonego przed sączeniem (w doświadczeniach 16 i 17 bez dodatku substancji, w doświadczeniu 20 po dodaniu  $\text{CaCl}_2$  w ilości 6.15 mg na 1  $\text{cm}^3$  żółtka),  $\Delta$  pozostałości po odsączeniu około 15% objętości oraz  $\Delta$  przesączu.

Comparison of  $\Delta$  of 50% yolk, before ultrafiltration (in experiment 16 and 17 without addition of solute, in experiment 20 with 6.15 mg  $\text{CaCl}_2$  per cc. of yolk) with that of the residue after separation of about 15% by volume of ultrafiltrate and with that of the ultrafiltrate.

№ pozycji Item №	№ doświadczenia of experiment		16	17	20	
1	$\Delta$ żółtka rozcieńczonego of diluted yolk	przed sączeniem before ultrafiltration	oznaczenie determination I	0.480 <sup>o</sup>	0.478 <sup>o</sup>	0.716 <sup>o</sup>
2			oznaczenie determination II	0.483 <sup>o</sup>	—	—
3		po odsączeniu około 15% objętości after ultrafiltrate. of about 15% by volume		0.484 <sup>o</sup>	0.483 <sup>o</sup>	—
4	$\Delta$	przesączu of ultrafiltrate		0.481 <sup>o</sup>	0.483 <sup>o</sup>	0.712 <sup>o</sup>

### 3. Objętość całej wody zawartej w układzie (v).

Oznaczyliśmy ją w następujący sposób: przedewszystkiem oznaczyliśmy procentową zawartość wody w nierozcieńczonym żółtku, względnie w sproszkowanym białku, z różnicy ciężarów po usunięciu wody w suszarce próżniowej w temperaturze około 55° C. Odpowiednie wartości wynoszą dla nierozcieńczonego żółtka 49.0% (48.82 — 48.90 — 49.32), dla sproszkowanego białka 14.4% (14.3 — 14.4). Znając objętość właściwą tych ciał (str. 124) oraz stopień rozcieńczenia obliczyliśmy, jaką objętość zajmuje woda w jednym  $\text{cm}^3$  rozcieńczonego żółtka, względnie roztworu białka.

Obliczenie przeprowadziliśmy, opierając się na następujących rozważaniach: jeżeli 1 g żółtka nierozcieńczonego zajmuje objętość 0.970  $\text{cm}^3$  (str. 124) i zawiera 0.490 g (49%) wody, która zajmuje 0.490  $\text{cm}^3$ , to po dodaniu do żółtka takiej samej objętości płynu rozcieńczającego otrzymamy, zakładając, że objętość żółtka rozcieńczonego równa się sumie objętości żółtka przed rozcieńczeniem oraz płynu dodanego, z 1 g żółtka 1.940  $\text{cm}^3$  żółtka rozcieńczonego, które będzie zawierać razem 1.460  $\text{cm}^3$  wody, a mianowicie 0.970  $\text{cm}^3$  z płynu oraz 0.490  $\text{cm}^3$  z żółtka. Łatwo obliczyć, że 1.460  $\text{cm}^3$  wody w 1.940  $\text{cm}^3$  żółtka, odpowiada zawartości 0.753  $\text{cm}^3$  w 1  $\text{cm}^3$ .

Analogiczne obliczenia przeprowadziliśmy dla białka, otrzymując dla 33,3% wagowo roztworu białka 0,775 cm<sup>3</sup> wody w 1 cm<sup>3</sup> roztworu.

#### 4. Objętość wody wolnej (*d*).

Wartość tę oznaczano kilkoma metodami. HAMBURGER ('02) oraz EGE ('22) mierzyli objętość krwinek w roztworach o różnej wartości osmotycznej. Wychodząc z założenia, że tylko woda wolna zmienia swą objętość w tych warunkach, z zależności objętości krwinek od wartości osmotycznej roztworów obliczali oni objętość wody wolnej. POLÁNYI ('20), AUGSBERGER ('25) oraz BIALASZEWICZ ('27) podali metodę rozcieńczania, która polega na oznaczaniu stężenia pewnej substancji w wodzie wolnej najpierw układu nierozcieńczonego, a następnie po rozcieńczeniu. Jeżeli substancja ta rozpuszczała się tylko w wodzie wolnej, to ze zmiany stężenia jej po rozcieńczeniu oraz ze stopnia rozcieńczenia można obliczyć objętość wody wolnej w układzie nierozcieńczonym.

W naszej pracy stosowaliśmy metodę stężania, którą podał FREDERICQ ('02), a następnie stosował EGE ('22). Opiera się ona na następującym rozumowaniu: jeżeli cały dodany krystaloid rozpuszcza się tylko w wolnej wodzie, to jego stężenie w tym składniku (*u*) pomnożone przez objętość wody wolnej (*d*) będzie równe ilości krystaloidu, zawartej w 1 cm<sup>3</sup> układu, czyli  $d \cdot u = c$ , stąd znając *c* oraz *u* możemy obliczyć *d* ze wzoru  $d = c : u$ . Wzór ten, jak widzimy, będzie słuszny tylko wówczas, jeżeli dodany krystaloid rozpuszcza się tylko w wolnej wodzie. W omówieniu wyników doświadczeń podamy wskazówki, które kierowaliśmy się przy rozstrzygnięciu tego zagadnienia.

Prócz tej metody, opierającej się na pomiarze wartości *u* i *c*, stosowaliśmy dla porównania inną, w której objętość wody wolnej oblicza się z tarcia wewnętrznego cieczy. EINSTEIN ('06, '11-cyt. wg. KUNITZ'A '26) podał wzór, który ustala zależność pomiędzy lepkością roztworu a objętością ciała rozpuszczonego. W przypadku koloidów hydrofilnych należy przypuszczać, że „objętość ciała rozpuszczonego“ można utożsamiać z objętością koloidu uwodnionego. Jednak wzór EINSTEINA, który w pełnej postaci wygląda jak następuje:

$$\eta = \frac{1 + 0.5 \varphi}{(1 - \varphi)^2},$$

gdzie  $\eta$  oznacza względne tarcie wewnętrzne roztworu w stosunku do rozpuszczalnika, zaś  $\varphi$  stosunek objętości ciała rozpuszczonego do całej objętości roztworu, a więc  $1 - d$ , nie daje dobrych rezultatów w przypadku roztworów koloidalnych, podobnie jak i wzór HATSCHKA ('11 cyt. wg. KUNITZA '26), a który ma postać następującą:

$$\varphi = \left( \frac{\eta - 1}{\eta} \right)^n$$

Natomiast wzór empiryczny, który podał KUNITZ ('26), daje bardzo dobre wyniki, nawet w bardzo stężonych roztworach koloidalnych. Wobec tego w naszej pracy zastosowaliśmy wzór KUNITZA. Oto ten wzór:



$$\eta = \frac{1 + 0.5 \varphi}{(1 - \varphi)^4}$$

Jak widzimy, różni się on od wzoru EINSTEINA tylko wykładnikiem potęgowym w mianowniku. Oznaczanie lepkości wykonywaliśmy przy pomocy wiskostalagmometru TRAUBEGO, stosując wzór następujący:

$$\eta_i = \frac{t' d'}{t_w d_w}$$

gdzie  $t'$  = czas wypływu cieczy badanej,  $t_w$  — czas wypływu wody,  $d'$  — gęstość cieczy,  $d_w$  — gęstość wody.

#### 5. Stężenie teoretyczne ( $c_t$ ).

Z definicji stężenia teoretycznego wynika, że jego wartość liczbową otrzymamy, dzieląc  $c$  przez  $v$  (str. 125).

### 4. Wyniki doświadczeń.

Doświadczenia nasze można podzielić na cztery grupy w zależności od rodzaju rozmieszczenia badanych substancyj.

#### A. Cukry.

W pierwszej grupie doświadczeń chodziło nam przede wszystkim o oznaczenie objętości wody wolnej, czyli  $d$ . W tym celu oznaczaliśmy iloraz  $c:u$  dla szeregu cukrów, o których wiedzieliśmy na podstawie prac EGE'GO ('22) oraz BERCZELLERA ('18), że wykazują one w stosunku do białek t. zw. adsorbując negatywną, czyli spełniają warunek  $u > c_t$  (str. 125). Przypuszczaliśmy mianowicie, że adsorbacja negatywna pochodzi w tym przypadku stąd, że cukry rozpuszczają się tylko w wodzie wolnej. Ażeby upewnić się w tem przypuszczeniu, porównaliśmy wartości ilorazu  $c:u$  dla różnych cukrów, gdyż jeżeli wszystkie cukry rozpuszczają się tylko w wodzie wolnej, to iloraz  $c:u$  dla każdego z nich musi być równy  $d$ , a więc jednakowy dla wszystkich. Ażeby przekonać się, czy wartość ilorazu  $c:u$  nie zależy od stężenia cukru, badaliśmy kilka różnych stężeń substancyj.

Najdokładniej zbadaliśmy iloraz  $c:u$  dla sacharozy w żółtku rozcieńczonem, w dwóch doświadczeniach po 6 oznaczeń w każdym. Wyniki tych doświadczeń przedstawiają tab. III i IV. Oznaczenia podane są w kolejności wzrastających stężeń cukru. Pierwsze cztery szeregi poziome zawierają wyniki oznaczeń  $\Delta$

z jednej strony płynu rozcieńczającego i żółtka rozcieńczonego, nie zawierających sacharozy, z drugiej strony — tychże płynów po dodaniu cukru w stężeniach, które podaje pozycja piąta. Jakżeśmy to opisali w części metodycznej, na podstawie tych danych obliczaliśmy  $u$ , stężenie cukru w cieczy międzycząstkowej żółtka, podane w pozycji 6. Pozycja 7 podaje stężenie teoretyczne  $c_t$ , które otrzymujemy dzieląc  $c$  przez 0.753, czyli przez objętość całej wody, zawartej w 1 cm<sup>3</sup> żółtka rozcieńczonego.

Tabela III.

Rozmieszczenie sacharozy w żółtku dwukrotnie rozcieńczonem. Doświadczenie 7.

*The distribution of sucrose in 50% yolk solutions. Experiment 7.*

№ pozycji Item №	№ oznaczenia of determination		I	II	III	IV	V	VI	Średnia Mean	
1	Δ	płynu rozcieńczającego of diluting liquid	bez sacharozy without sucrose	Δ <sub>1</sub>	0.521 <sup>0</sup>	0.521 <sup>0</sup>	0.521 <sup>0</sup>	0.521 <sup>0</sup>	0.521 <sup>0</sup>	0.521 <sup>0</sup>
2		z sacharozą with sucrose	Δ <sub>2</sub>	0.619 <sup>0</sup>	0.725 <sup>0</sup>	0.833 <sup>0</sup>	0.940 <sup>0</sup>	1.006 <sup>0</sup>	1.502 <sup>0</sup>	
3		żółtka of yolk	bez sacharozy without sucrose	Δ <sub>3</sub>	0.502 <sup>0</sup>	0.502 <sup>0</sup>	0.502 <sup>0</sup>	0.502 <sup>0</sup>	0.502 <sup>0</sup>	0.502 <sup>0</sup>
4			z sacharozą with sucrose	Δ <sub>4</sub>	0.640 <sup>0</sup>	0.800 <sup>0</sup>	0.983 <sup>0</sup>	1.086 <sup>0</sup>	1.192 <sup>0</sup>	1.887 <sup>0</sup>
5		w żółtku in yolk	$c$	18.5	37.0	55.5	74.0	85.5	171.0	
6	Stężenie sacharozy w mg/cm <sup>3</sup> Concentration of sucrose in mg/cc.	w cieczy międzycząstkowej in the intermicellar fluid	$u$	25.55	53.5	76.0	102.4	121.0	241.4	
7		teoretyczne theoretical	$c_t$	24.5	49.2	73.8	98.4	113.5	227.0	
8	Przyrost stężenia $u$ w stosunku do $c_t$	bezwzględny absolute	$u - c_t$	+1.0	+4.3	+2.2	+4.0	+7.5	+14.4	
9	Difference between actual concent. $u$ and $c_t$	procentowy as per cent of $c_t$	$100 \frac{u - c_t}{c_t}$	+4.0%	+9.0%	+3.2%	+4.2%	+6.5%	+6.3%	+5.5%
10	Wartość ilorazu Value of quotient	$c : u$		0.725	0.691	0.730	0.723	0.707	0.708	0.714

Pozycja 8 wykazuje przyrost stężenia  $u$  (w sensie matematycznym) w stosunku do teoretycznego  $c_t$ , jako różnicę  $u - c_t$ , z której możemy wnioskować o rodzaju rozmieszczenia badanej substancji. Pozycja 9 podaje procentową wartość tego przyrostu w stosunku do  $c_t$ , która dla substancyj nieadsorbowanych po-

winna być stała dla wszystkich stężeń tej samej substancji. Wreszcie pozycja 10 zawiera wartości ilorazu  $c:u$ .

Tabele V i VI, które zawierają dane dotyczące maltozy, glukozy i lewulozy, są zestawione zupełnie tak samo, jak tab. III i IV z tą różnicą, że dla każdego z tych cukrów badano tylko po 3 różne stężenia. Możemy rozpatrywać dane, zawarte w tych czterech tabelach, jednocześnie. A więc przedewszystkiem musimy stwierdzić, że we wszystkich oznaczeniach mamy zacho-

Tabela IV.

Rozmieszczenie sacharozy w dwukrotnie rozcieńczonym żółtku. Doświadczenie 8, identyczne z 7.  
The distribution of sucrose in 50% yolk solutions. Experiment 8, identical with experiment 7.

№ pozycji / Item №	№ oznaczenia / of determination		I	II	III	IV	V	VI	Średnia / Mean
1	płynu rozcieńczającego / of diluting liquid żółtka / of yolk	bez sacharozy / without sucrose	$\Delta_1$ 0.521 <sup>0</sup>	0.521 <sup>0</sup>	0.521 <sup>0</sup>	0.521 <sup>0</sup>	0.521 <sup>0</sup>	0.521 <sup>0</sup>	0.521 <sup>0</sup>
2		z sacharozą / with sucrose	$\Delta_2$ 0.619 <sup>0</sup>	0.725 <sup>0</sup>	0.833 <sup>0</sup>	0.940 <sup>0</sup>	1.006 <sup>0</sup>	1.502 <sup>0</sup>	
3		bez sacharozy / without sucrose	$\Delta_3$ 0.507 <sup>0</sup>	0.507 <sup>0</sup>	0.507 <sup>0</sup>	0.507 <sup>0</sup>	0.507 <sup>0</sup>	0.507 <sup>0</sup>	0.507 <sup>0</sup>
4		z sacharozą / with sucrose	$\Delta_4$ 0.645 <sup>0</sup>	0.797 <sup>0</sup>	0.946 <sup>0</sup>	1.104 <sup>0</sup>	1.196 <sup>0</sup>	1.922 <sup>0</sup>	
5		w żółtku / in yolk	$c$ 18.5	37.0	55.5	74.0	85.5	171.0	
6	Stężenie sacharozy w mg/cm <sup>3</sup> / Concentration of sucrose in mg/cc. in yolk	w cieczy międzycząstkowej / in the intercellular fluid	$u$ 25.55	52.1	77.5	104.7	121.0	246.6	
7		teoretyczne / theoretical	$c_t$ 24.55	49.2	73.8	98.4	113.5	227.0	
8	Przyrost stężenia $u$ w stosunku do $c_t$ / Difference between actual concent. $u$ and $c_t$	bezwzględny / absolute	$u - c_t$ +1.0	+2.9	+3.7	+6.3	+7.5	+19.6	
9		procentowy / in per cent of $c_t$	$100 \frac{u - c_t}{c_t}$ +4.0%	+6.0%	+5.1%	+6.5%	+6.5%	+8.6%	+6.1%
10	Wartość ilorazu / Value of quotient	$c:u$	0.725	0.710	0.716	0.707	0.707	0.693	0.709

wany warunek  $u > c_t$ , czyli różnica  $u - c_t$  jest stale dodatnia. Wartości procentowego przyrostu stężenia  $u$  w stosunku do  $c_t$  wykazują wprawdzie duże wahania, ale wahania te mają przebieg zupełnie niezależny od wielkości stężenia  $c$ , tak samo zresztą, jak i wartości ilorazu  $c:u$ . Stąd możemy wnosić, że objętość wody

wolnej nie zależy od stężenia cukru, a tem samem prawdopodobnie wogóle od jego obecności. Że tak jest można było przypuszczać na podstawie badań LOEBA ('22), który stwierdził, że lepkość roztworu białka nie zmienia się po dodaniu cukru. Dalej możemy się przekonać, że różnice pomiędzy średnimi wartościami ilorazu  $c : u$  dla różnych substancyj nie przekraczają różnic, jakie wykazują dane dla tej samej substancji w różnych oznaczeniach. Np. tab.

Tabela V.

Rozmieszczenie maltozy w żółtku dwukrotnie rozcieńczonem. Doświadczenie 10.  
The distribution of maltose in 50% yolk solutions. Experiment 10.

№ pozycji Item №	№ oznaczenia of determination	I	II	III	Średnia Mean	
1	płynu rozcieńczającego of diluting liquid	bez maltozy without maltose	$\Delta_1$ 0.413 <sup>0</sup>	0.492 <sup>0</sup>	0.413 <sup>0</sup>	
		z maltozą with maltose	$\Delta_2$ 0.611 <sup>0</sup>	0.968 <sup>0</sup>	1.281 <sup>0</sup>	
	żółtka of yolk	bez maltozy without maltose	$\Delta_3$ 0.440 <sup>0</sup>	0.440 <sup>0</sup>	0.440 <sup>0</sup>	
		z maltozą with maltose	$\Delta_4$ 0.720 <sup>0</sup>	1.106 <sup>0</sup>	1.635 <sup>0</sup>	
5	Stężenie maltozy w mg/cm <sup>3</sup> Concentration of maltose in mg/cc.	w żółtku in yolk	$c$ 40.0	92.4	166.7	
6	Przyrost stężenia $u$ w stosunku do $c_t$ Difference between actual concent. $u$ and $c_t$	w cieczy międzycząstk. in the intermicellar fluid	$u$ 55.5	128.6	229.5	
7		teoretyczne theoretical	$c_t$ 53.1	122.8	221.3	
8		bezwzględny absolute	$u - c_t$ +2.4	+5.8	+8.2	
9	procentowy as per cent of $c_t$	$100 \frac{u - c_t}{c_t}$ +4.5%	+4.7%	+3.7%	+4.3%	
10	Wartość ilorazu Value of quotient	$c : u$	0.721	0.719	0.726	0.722

III podaje wahania ilorazu  $c : u$  od 0.691 do 0.730, zaś średnie dla różnych cukrów wahają się w granicach od 0.709 do 0.727, a więc w granicach znacznie mniejszych. Wobec tego możemy przyjąć, że wartości ilorazu  $c : u$  są w granicach błędu doświadczenia jednakowe dla wszystkich zbadanych przez nas cukrów. Średnia ogólna dla wszystkich cukrów wynosi 0.719, wobec czego możemy przyjąć, że objętość wody wolnej wynosi około 0.719 cm<sup>3</sup> w 1 cm<sup>3</sup> żółtka dwukrotnie rozcieńczonego. Wobec tego, że

cała woda zajmuje około  $0.753 \text{ cm}^3$ , woda związana zajmuje około  $0.034 \text{ cm}^3$ , co stanowi  $4.4\%$  całej wody.

Ażeby przekonać się, czy fakt, że cukry rozpuszczają się tylko w wodzie wolnej, jest zjawiskiem ogólnem dla różnych roztworów koloidalnych, czy też tylko indywidualną właściwością rozcieńczonego żółtka, pozostającą może w związku z tem, że

Tabela VI.

Rozmieszczenie glukozy (dośw. 11) i lewulozy (dośw. 12) w żółtku dwukrotnie rozcieńczonem.  
The distribution of glucose (exper. 11) and laevulose (exper. 12) in 50% yolk solutions.

№ pozycji Item №	№ doświadczenia i rodzaj substancji of experiment and substance used		№ 11. Glukoza Glucose				№ 12. Lewuloza Laevulose				
	№ oznaczenia of determination		I	II	III	Średnia Mean	I	II	III	Średnia Mean	
1	Δ płyn rozcieńczającego of diluting liquid	bez substancji $\Delta_1$ without substance	0.501 <sup>0</sup>	0.501 <sup>0</sup>	0.501 <sup>0</sup>		0.413 <sup>0</sup>	0.492 <sup>0</sup>	0.413 <sup>0</sup>		
2		z substancją $\Delta_2$ with substance	0.699 <sup>0</sup>	1.021 <sup>0</sup>	1.332 <sup>0</sup>		0.613 <sup>0</sup>	1.000 <sup>0</sup>	1.250 <sup>0</sup>		
3		bez substancji $\Delta_3$ without substance	0.424 <sup>0</sup>	0.424 <sup>0</sup>	0.424 <sup>0</sup>		0.424 <sup>0</sup>	0.424 <sup>0</sup>	0.424 <sup>0</sup>		
4		z substancją $\Delta_4$ with substance	0.708 <sup>0</sup>	1.142 <sup>0</sup>	1.577 <sup>0</sup>		0.710 <sup>0</sup>	1.124 <sup>0</sup>	1.559 <sup>0</sup>		
5	Stężenie substancji w $\text{mg}/\text{cm}^3$ Concentration of substance in $\text{mg}/\text{cc}$ .	w żółtku in yolk	20.0	50.0	80.0		20.0	48.65	80.0		
6		w cieczy międzycząstkowej in the intermolecular fluid	28.0	69.1	111.0		27.9	67.0	108.5		
7		teoretyczne theoretical	26.6	66.4	106.2		26.6	64.6	106.2		
8		Przyrost stężenia $u$ w stosunku do $c_t$ Difference between actual concentration $u$ and $c_t$	bezwzględny absolute	$u-c_t$	+1.4	+2.7	+4.8	+1.3	+2.4	+2.3	
9		procentowy as per cent of $c_t$	$\frac{u-c_t}{c_t}$	+5.4%	+4.0%	+4.6%	+4.7%	+5.0%	+3.6%	+2.1%	+3.6%
10	Wartość ilorazu Value of quotient		$c : u$	0.715	0.724	0.721	0.720	0.717	0.726	0.737	0.727

żółtko przedstawia zawiesinę ziarenek deutoplazmatycznych, przeprowadziliśmy analogiczne badania w roztworze białka. Wyniki tych badań przedstawia tab. VII. Dotyczy ona rozmieszczenia sacharozy, glukozy oraz galaktozy w roztworze białka. Poszczególne pozycje są zestawione w ten sam sposób, jak i tabele, dotyczące rozmieszczenia cukrów w żółtku. I tu również możemy

T a b e l a VII.

Rozmieszczenie sacharozy (Dośw. 13), glukozy (Dośw. 14) oraz galaktozy (Dośw. 15) w roztworze białka.  
*The distribution of sucrose (Exper. 13), glucose (Exper. 14) and galactose (Exper. 15) in solutions of ovalbumine.*

№ pozycji Item №	№ doświadczenia i rodzaj substancji of experiment and substance used	№ 13. Saccharoza Sucrose			№ 14. Glukoza Glucose			№ 15. Galaktoza Galactose		
		I	II	III	Średnia Mean	I	II	III	Średnia Mean	
1	№ oznaczenia of determination	Δ <sub>1</sub>	0.521 <sup>0</sup>	0.521 <sup>0</sup>	0.521 <sup>0</sup>	0.501 <sup>0</sup>	0.501 <sup>0</sup>	0.501 <sup>0</sup>	0.501 <sup>0</sup>	
		bez substancji without substance								
		z substancją with substance	0.725 <sup>0</sup>	1.006 <sup>0</sup>	1.502 <sup>0</sup>	0.699 <sup>0</sup>	1.021 <sup>0</sup>	1.332 <sup>0</sup>	0.995 <sup>0</sup>	1.293 <sup>0</sup>
		Δ	1.411 <sup>0</sup>	1.411	1.411 <sup>0</sup>	1.393 <sup>0</sup>	1.393 <sup>0</sup>	1.393 <sup>0</sup>	1.393 <sup>0</sup>	1.393 <sup>0</sup>
2	roztworu białka of solution of ovalbumine	Δ <sub>1</sub>	1.684 <sup>0</sup>	2.106 <sup>0</sup>	2.829 <sup>0</sup>	1.690 <sup>0</sup>	2.130 <sup>0</sup>	2.540 <sup>0</sup>	2.077 <sup>0</sup>	2.514 <sup>0</sup>
3	Stężenie substancji w mg/cm <sup>3</sup> Concentration of substance in mg/cc.	c	37.0	85.5	171.0	20.0	50.0	80.0	50.0	80.0
4	Przyrost stężenia u w stosunku do c <sub>1</sub> Difference between actual concentra- tion u and c <sub>1</sub>	u	49.2	121.8	247.2	29.3	70.9	110.4	68.9	112.8
5	teoretyczne theoretical	c <sub>t</sub>	47.7	110.3	220.6	25.8	64.5	103.2	64.5	103.2
6	bezwzględny absolute	u-c <sub>t</sub>	+1.5	+11.5	+26.6	+3.5	+6.4	+7.2	+4.4	+9.6
7	procentowy as per cent of c <sub>1</sub>	$\frac{u-c_t}{100 c_t}$	+3.1%	+10.4%	+12.0%	+13.5%	+9.9%	+6.9%	+6.9%	+9.3%
8	Wartość ilorazu Value of quotient	c : u	0.752	0.702	0.692	0.683	0.705	0.725	0.725	0.709
9										
10										

stwierdzić po pierwsze, że  $u - c_t$  jest stale dodatnie, po drugie, że procentowy przyrost  $u$  w stosunku do  $c_t$  nie zależy od stężenia, i wreszcie, że średnie dla ilorazu  $c : u$  różnych cukrów różnią się znacznie mniej pomiędzy sobą, niż poszczególne oznaczenia tej samej substancji. Wobec tego, możemy przyjąć, że objętość wody wolnej w roztworze białka równa się ogólnej śred-

Tabela VIII.

Rozmieszczenie mocznika w żółtku dwukrotnie rozcieńczonym. Dośw. 9.  
The distribution of urea in 50% yolk solutions. Experiment 9.

№ pozycji Item. №	№ oznaczenia of determination			I	II	III	IV	V	VI	Średnia Mean
1	Δ	plynu rozcieńczającego of diluting liquid	bez mocznika without urea	$\Delta_1$	0.521 <sup>0</sup>	0.521 <sup>0</sup>	0.521 <sup>0</sup>	0.492 <sup>0</sup>	0.492 <sup>0</sup>	0.492 <sup>0</sup>
2		z mocznikiem with urea	$\Delta_2$	0.621 <sup>0</sup>	0.719 <sup>0</sup>	0.823 <sup>0</sup>	0.890 <sup>0</sup>	0.986 <sup>0</sup>	1.475 <sup>0</sup>	
3		żółtka of yolk	bez mocznika without urea	$\Delta_3$	0.495 <sup>3</sup>	0.495 <sup>0</sup>	0.495 <sup>0</sup>	0.495 <sup>0</sup>	0.495 <sup>0</sup>	0.495 <sup>0</sup>
4			z mocznikiem with urea	$\Delta_4$	0.625 <sup>0</sup>	0.758 <sup>0</sup>	0.902 <sup>0</sup>	1.000 <sup>0</sup>	1.135 <sup>0</sup>	1.730 <sup>0</sup>
5	Stężenie mocznika w mg/cm <sup>3</sup> Concentration of urea in mg/cc.	w żółtku in yolk	$c$	3.246 <sup>0</sup>	6.492	9.738	12.98	16.23	32.46	
6		w cieczy międzycząstkowej in the intermicellar fluid	$u$	4.242	8.620	13.32	16.63	21.08	40.69	
7		teoretyczne theoretical	$c_t$	4.311	8.622	12.93	17.24	21.55	43.10	
8		Przyrost stężenia $u$ w stosunku do $c_t$ Difference between actual concent. $u$ and $c_t$	bezwzględny absolute	$u - c_t$	-0.069	-0.002	+0.39	-0.61	-0.47	-2.41
9		procentowy as per cent of $c_t$	$\frac{u - c_t}{c_t} \cdot 100$	-1.6%	0.0	(+3.0)	-3.6%	-2.2%	-5.6%	-2.6%
10	Wartość ilorazu Value of quotient	$c : u$		0.765	0.753	(0.731)	0.781	0.770	0.798	0.773

niej wartości  $c : u$  i wynosi 0.712 cm<sup>3</sup> w 1 cm<sup>3</sup> 33.3% wagowo roztworu białka. Ponieważ objętość całej wody zawartej w 1 cm<sup>3</sup> roztworu wynosiła 0.775 cm<sup>3</sup>, więc objętość wody związanej równała się 0.063 cm<sup>3</sup>, co odpowiada około 8.1% całej wody. Jak widzimy, roztwór albuminy, przy prawie tej samej zawartości wody całkowitej, co i żółtko rozcieńczone (0.753 i 0.775 cm<sup>3</sup> w jednym cm<sup>3</sup> roztworu) zawierał prawie dwa razy więcej wody związanej (0.063 cm<sup>3</sup> i 0.034 cm<sup>3</sup> w 1 cm<sup>3</sup> roztworu).

## B. Mocznik.

Tabela VIII podaje dane, dotyczące rozmieszczenia mocznika w żółtku rozcieńczonem. Tabela jest ułożona w ten sam sposób, jak tabele, obejmujące dane dla cukrów. Widzimy, że 4 z pośród 6 oznaczeń wykazują  $u < c_t$ , czyli  $u - c_t$  ujemne, w jednym przypadku mamy  $u = c_t$ , a tylko w jednym  $u > c_t$ . Odpowiednio do tego iloraz  $c : u$  jest naogół większy od  $v$ , czyli od ob-

Tabela IX.

Rozmieszczenie mocznika w roztworze białka. Doświadczenie 16.  
The distribution of urea in solutions of ovalbumine. Experiment 16.

№ pozycji Item №	№ oznaczenia of determination		I	II	III	Średnia Mean	
1	Δ	plynu rozcieńczającego of diluting liquid	bez mocznika without urea	$\Delta_1$	0.521 <sup>0</sup>	0.492 <sup>0</sup>	0.492 <sup>0</sup>
2		z mocznikiem with urea	$\Delta_2$	0.719 <sup>0</sup>	0.986 <sup>0</sup>	1.475 <sup>0</sup>	
3		białka of ovalbumine	bez mocznika without urea	$\Delta_3$	1.411 <sup>0</sup>	1.411 <sup>0</sup>	1.411 <sup>0</sup>
4			z mocznikiem with urea	$\Delta_4$	1.638 <sup>0</sup>	1.950 <sup>0</sup>	2.546 <sup>0</sup>
5	Stężenie mocznika w mg/cm <sup>3</sup> Concentration of urea in mg/cc	w białku in ovalbumine	c	6.493	16.23	32.46	
6		w cieczy międzycząst. in the intermicellar fluid	u	7.382	17.75	37.48	
7		teoretyczne theoretical	$c_t$	8.378	20.94	41.88	
8	Przyrost stężenia u w stosunku do $c_t$ Difference between actual concentra- tion u and $c_t$	bezwzględny absolute	$u - c_t$	0.996	3.19	4.40	
9		procentowy as per cent of $c_t$	$100 \frac{u - c_t}{c_t}$	-11.9%	-15.2%	-10.5%	-12.5%
10	Wartość ilorazu Value of quotient	$c : u$		0.879	0.914	0.866	0.856

jętości całej wody. Wynika z tego, że część mocznika znajduje się poza wodą wolną, jednak nie wiemy, czy jest ona związana przez koloid, czy też jest rozpuszczona w wodzie związanej. W tym drugim przypadku musielibyśmy przyjąć, że mocznik rozpuszcza się w wodzie związanej więcej, niż w wodzie wolnej. Niezależność stopnia wiązania od stężenia, którą możemy stwierdzić, przeglądając procent mocznika związanego, przemawia



przeciw adsorbacji, a raczej za rozpuszczaniem się mocznika w fazie koloidalnej. Tu jednak nasunęły się dwie możliwości: 1° mocznik może się rozpuszczać w wodzie związanej, albo też 2° w lipidach, które — jak wiadomo — występują w dużych ilościach w żółtku jaj kurzych. Ażeby rozstrzygnąć tę wątpliwość, wykonaliśmy oznaczenia rozmieszczenia mocznika w roztworze białka, co do którego przekonaliśmy się, że nie zawiera ciał rozpuszczalnych w eterze. Wyniki tych badań przedstawia tab. IX, zestawiona w sposób analogiczny do poprzednich. Wykonaliśmy tylko trzy oznaczenia, ale wszystkie zgadzają się dobrze, wykazując, że mocznik jest związany jeszcze silniej, niż w żółtku. Przeczy to przypuszczeniu, jakoby rozpuszczalność mocznika w tłuszczach była miarodajna dla jego wiązania w żółtku. Z drugiej strony fakt, że objętość wody związanej jest większa w roztworze białka, a zarazem i stopień wiązania mocznika jest większy, czyni prawdopodobnem, że wiązanie mocznika w układach koloidalnych polega na jego większej rozpuszczalności w wodzie związanej.

### C. Chlorki alkaliów.

Przechodzimy teraz do wyników, dotyczących rozmieszczenia soli katjonów jednowartościowych w żółtku rozcieńczonem. Tab. X przedstawia dane dla NaCl. Obejmuje ona zarówno wyniki otrzymane metodą krjoskopową, jak i ultrafiltracyjną. Część pierwsza tabeli, zawierająca dane krjoskopowe, jest zestawiona zupełnie tak samo, jak tabele dla sacharozy. Część druga podaje ogólne stężenie chloru, dodanego jako NaCl do rozcieńczonego żółtka, oznaczone przez  $c'$ , dalej zawartość chloru w przesączu samego żółtka w mg na  $1\text{ cm}^3$  przesączu, oznaczone przez  $c'_1$ , następnie ogólne stężenie chloru w przesączach po dodaniu NaCl oznaczone przez  $c'_2$ , pozycja czwarta podaje stężenie chloru dodanego w przesączu, obliczone z różnicy  $c'_2 - c'_1$ , a oznaczone przez  $u'$  dalej pozycja piąta zawiera wartości teoretycznego stężenia dodanego chloru  $c'_t$ , otrzymane z podzielenia  $c'$  przez objętość całej wody, zawartej w  $1\text{ cm}^3$  żółtka. Pozycja szósta i siódma części drugiej wskazują przyrosty stężenia znalezione  $u'$  w stosunku do  $c'_t$ , najpierw jako różnicę  $u' - c'_t$ , a potem procentowo. Wreszcie ostatnia kolumna pozioma podaje wartość ilorazu  $c' : u'$ .

Rozpatrzmy najpierw wyniki metody krjoskopowej. Z spośród pięciu oznaczeń dwa wykazują  $u$  mniejsze od  $c_t$ , zaś trzy

Tabela X.

Rozmieszczenie NaCl w żółtku dwukrotnie rozcieńczonem. Doświadczenie 18.

*The distribution of NaCl in 50% yolk solutions. Experiment 18.*

№ pozycji Item №	№ oznaczenia of determination		I	II	III	IV	V	Średnia Mean
1	płynu rozcieńczającego of diluting liquid	bez NaCl without NaCl	$\Delta_1$	0.413 <sup>0</sup>	0.413 <sup>0</sup>	0.413 <sup>0</sup>	0.413 <sup>0</sup>	0.413 <sup>0</sup>
		z NaCl with NaCl	$\Delta_2$	0.588 <sup>0</sup>	0.801 <sup>0</sup>	0.985 <sup>0</sup>	1.291 <sup>0</sup>	1.535 <sup>0</sup>
		bez NaCl without NaCl	$\Delta_3$	0.430 <sup>0</sup>	0.430 <sup>0</sup>	0.430 <sup>0</sup>	0.430 <sup>0</sup>	0.430 <sup>0</sup>
		z NaCl with NaCl	$\Delta_4$	0.676 <sup>0</sup>	0.938 <sup>0</sup>	1.186 <sup>0</sup>	1.602 <sup>0</sup>	1.946 <sup>0</sup>
5	Stężenie NaCl w mg/cm <sup>3</sup> Concentration of NaCl in mg/cc.	w żółtku in yolk	$c$	3.33	6.66	10.00	15.00	20.00
		w cieczy międzycząstk. in the intermicellar fluid	$u$	4.46	8.80	13.07	20.45	27.02
7		teoretyczne theoretical	$c_t$	4.43	8.85	13.28	19.92	26.56
8	Przyrost stężenia $u$ w stosunku do $c_t$	bezwzględny absolute	$u - c_t$	+0.03	-0.05	-0.21	+0.53	+0.46
9	Difference between actual concentration $u$ and $c_t$	procentowy as per cent of $c_t$	$100 \frac{u - c_t}{c_t}$	+0.66%	-0.6%	-1.6%	+2.7%	+1.7%
10	Wartość ilorazu Value of quotient	$c : u$		0.748	0.757	0.765	0.734	0.740
11	Ilość Cl dodanego jako NaCl w mg/cm <sup>3</sup> żółtka Amount of Cl added as KCl in mg/cc. of yolk	$c'$		2.02	4.04	6.07	9.10	12.13
12	Stężenie Cl w mg/cm <sup>3</sup> w przesączu Concentration of Cl in mg/cc. in the ultrafiltrate	żółtka rozcieńczonego of diluted yolk	$c'_1$	3.48	3.48	3.48	3.48	3.48
13		żółtka po dodaniu soli of yolk after addition of salt	$c'_2$	6.07	9.10	11.37	15.60	18.65
14		dodanej soli of added salt	$u' = c'_2 - c'_1$	2.59	5.62	7.89	12.12	15.17
15		teoretyczne theoretical	$c'_t$	2.68	5.37	8.05	12.08	16.11
16	Przyrost stęż. $u'$ w stosun. do $c'_t$	bezwzględny absolute	$u' - c'_t$	-0.09	+0.25	-0.16	+0.04	-0.94
17	Difference between actual concentration $u'$ and $c'_t$	procentowo as per cent of $c'_t$	$100 \frac{u' - c'_t}{c'_t}$	-3.5%	+4.7%	-2.0%	+0.3%	-5.8%
18	Wartość ilorazu Value of quotient	$c' : u'$		0.780	0.719	0.769	0.751	0.799

$u$  większe od  $c_t$ , jednak we wszystkich pięciu przypadkach procentowy przyrost  $u$  w stosunku do  $c_t$  ma tak małą wartość bez-

Tabela XI.

Rozmieszczenie KCl w żółtku dwukrotnie rozcieńczonym. Doświadczenie 19.  
The distribution of KCl in 50% yolk solutions. Experiment 19.

№ pozycji Item №	№ oznaczenia of determination		I	II	III	IV	V	Średnia Mean	
1	Δ	płynu rozcieńczającego of diluting liquid	bez KCl without KCl	Δ <sub>1</sub>	0.413 <sup>0</sup>	0.413 <sup>0</sup>	0.413 <sup>0</sup>	0.413 <sup>0</sup>	0.413 <sup>0</sup>
2		z KCl with KCl	Δ <sub>2</sub>	0.606 <sup>0</sup>	0.813 <sup>0</sup>	1.014 <sup>0</sup>	1.243 <sup>0</sup>	1.447 <sup>0</sup>	
3		żółtka of yolk	bez KCl without KCl	Δ <sub>3</sub>	0.431 <sup>0</sup>	0.431 <sup>0</sup>	0.431 <sup>0</sup>	0.431 <sup>0</sup>	0.431 <sup>0</sup>
4		z KCl with KCl	Δ <sub>4</sub>	0.686 <sup>0</sup>	0.943 <sup>0</sup>	1.222	1.507 <sup>0</sup>	1.809 <sup>0</sup>	
5	Stężenie KCl w mg/cm <sup>3</sup> Concentration of KCl in mg/cc.	w żółtku in yolk	$c$	4.33	8.67	13.33	18.33	23.33	
6		w cieczy międzycząstk. in the intercellular fluid	$u$	5.63	11.24	17.50	24.28	31.10	
7		teoretyczne theoretical	$c_t$	5.76	11.51	17.70	24.35	30.99	
8	Przyrost stężenia $u$ w stosunku do $c_t$ Difference between actual concent $u$ and $c_t$	bezwzględny absolute	$u - c_t$	-0.13	-0.27	-0.20	-0.07	+0.11	-1.6%
9		procentowy as per cent of $c_t$	$100 \frac{u - c_t}{c_t}$	-2.3%	-2.4%	-1.15%	-0.3%	0.35%	1.16%
10	Wartość ilorazu Value of quotient	$c : u$		0.770	0.771	0.762	0.755	0.750	0.761
11	Ilość Cl dodanego jako KCl w mg/cm <sup>3</sup> żółtka Amount of Cl added as KCl in mg/cc of yolk	$c'$	2.06	4.12	6.34	8.72	—		
12	Stężenie Cl w mg/cm <sup>3</sup> w przesączu Concentration of Cl in mg/cc in the ultra- filtrate	żółtka rozcieńczonego of diluted yolk	$c'_1$	3.77	3.77	3.77	3.77	—	
13		żółta po dodaniu soli of yolk after addition of salt	$c'_2$	6.46	9.18	12.45	15.05	—	
14		dodanej soli of added salt	$u'$	2.69	5.41	8.68	11.28	—	
15		teoretyczne theoretical	$c'_t$	2.74	5.47	8.42	11.58	—	
16	Przyrost stęż. $u'$ w stos. do $c'_t$ Difference between actual concentration $u'$ and $c'_t$	bezwzględny absolute	$u' - c'_t$	-0.05	-0.06	+0.26	-0.30	—	
17		procentowy as per cent of $c'_t$	$100 \frac{u' - c'_t}{c'_t}$	-1.8%	-1.1%	+3.1%	-2.6%	—	-0.6%
18	Wartość ilorazu Value of quotient	$c' - u'$		0.766	0.762	0.731	0.773	—	0.758

względna, że możemy uznać te odchylenia od zera jako wyniki błędów metody. Podobnie iloraz  $c:u$  różni się tak nieznacznie od 0.753, czyli objętości całej wody, zawartej w układzie, że

Tabela XII.

Rozmieszczenia  $\text{CaCl}_2$  w żółtku dwukrotnie rozcieńczonem. Doświadczenie 21.  
The distribution of  $\text{CaCl}_2$  in 50% yolk solutions. Experiment 21.

№ pozycji Item №	№ oznaczenia of determination		I	II	III	IV	V	
1	Δ	płynu rozcieńczającego of diluting liquid	bez $\text{CaCl}_2$ without $\text{CaCl}_2$ Δ <sub>1</sub>	0.398 <sup>0</sup>	0.398 <sup>0</sup>	0.398 <sup>0</sup>	0.398 <sup>0</sup>	0.398 <sup>0</sup>
2		z $\text{CaCl}_2$ with $\text{CaCl}_2$ Δ <sub>2</sub>	0.653 <sup>0</sup>	0.920 <sup>0</sup>	1.188 <sup>0</sup>	1.386 <sup>0</sup>	1.610 <sup>0</sup>	
3		żółtka of yolk	bez $\text{CaCl}_2$ without $\text{CaCl}_2$ Δ <sub>3</sub>	0.480 <sup>0</sup>	0.480 <sup>0</sup>	0.480 <sup>0</sup>	0.480 <sup>0</sup>	0.480 <sup>0</sup>
4			z $\text{CaCl}_2$ with $\text{CaCl}_2$ Δ <sub>4</sub>	0.716 <sup>0</sup>	1.065 <sup>0</sup>	1.393 <sup>0</sup>	1.665 <sup>0</sup>	1.933 <sup>0</sup>
5	Stężenie substancji w $\text{mg/cm}^3$ Concentration of substance in $\text{mg/cc}$	w żółtku in yolk c	6.15	12.29	18.44	23.08	27.67	
6		w cieczy międzycząstk. in the intermicel. fluid u	5.69	13.72	21.32	27.36	33.16	
7	Ilość substancji związanej przez koloid Amount of substance bound by the colloid	w $\text{mg w } 1 \text{ cm}^3$ żółtka in $\text{mg/cc}$ of yolk $c-uv$	1.87	1.96	2.39	2.48	2.70	
8		w procentach ilości dodanej as per cent of the $\frac{c-uv}{c} \cdot 100$	30.3%	16.0%	12.9%	10.7%	9.7%	
9	Ilość Cl dodanego jako $\text{CaCl}_2$ w $\text{mg/cm}^3$ żółtka Amount of Cl added as $\text{CaCl}_2$ in $\text{mg/cc}$ of yolk	c'	3.93	7.86	11.80	14.75	17.70	
10	Stężenie Cl w $\text{mg/cm}^3$ w przesączu Concentration of Cl in $\text{mg/cc}$ in the ultrafiltrate	żółtka bez $\text{CaCl}_2$ of yolk without $\text{CaCl}_2$ c' <sub>1</sub>	4.44	4.44	4.44	4.44	4.44	
11		żółtka z $\text{CaCl}_2$ of yolk with $\text{CaCl}_2$ c' <sub>2</sub>	7.93	14.16	18.00	21.95	26.23	
12		Cl dodany jako $\text{CaCl}_2$ Cl added as $\text{CaCl}_2$ $u' = c'_2 - c'_1$	3.49	8.77	13.56	17.51	21.79	
13	Ilość Cl związanego przez koloid Amount of Cl bound by the colloid	w $\text{mg w } 1 \text{ cm}^3$ żółtka in $\text{mg/cc}$ of yolk $c' - u'v$	1.30	1.26	1.59	1.57	1.29	
14		w procentach Cl dodanego as per cent of the $\frac{c' - u'v}{c'} \cdot 100$	33.2%	16.1%	13.5%	10.6%	7.2%	

możemy przyjąć z dużym prawdopodobieństwem, że  $\text{NaCl}$  rozpuszcza się równomiernie w całej wodzie. Podobne wyniki otrzymali BUGARSKY i LIEBERMANN ('98) oraz FREDERICQ ('01) w roz-

tworach albuminy jaj. Zupełnie to samo możemy stwierdzić w stosunku do danych, otrzymanych metodą ultrafiltracyjną, z tą tylko różnicą, że metoda ta daje większe błędy. Wynika stąd,

Tabela XIII.

Rozmieszczenie  $MgCl_2$  w żółtku dwukrotnie rozcieńczonym. Doświadczenie 22.  
The distribution of  $MgCl_2$  in 50% yolk solutions. Experiment 22.

№ pozycji Item №	№ oznaczenia of determination		I	II	III	IV	V		
1	Δ	plynu rozcieńczającego of diluting liquid	bez $MgCl_2$ without $MgCl_2$	$\Delta_1$	0.398 <sup>0</sup>	0.398 <sup>0</sup>	0.398 <sup>0</sup>	0.398 <sup>0</sup>	0.398 <sup>0</sup>
2		z $MgCl_2$ with $MgCl_2$	$\Delta_2$	0.687 <sup>0</sup>	0.963	1.178 <sup>0</sup>	1.336 <sup>0</sup>	1.587 <sup>0</sup>	
3		żółtka of yolk	bez $MgCl_2$ without $MgCl_2$	$\Delta_3$	0.440 <sup>0</sup>	0.440 <sup>0</sup>	0.440 <sup>0</sup>	0.440 <sup>0</sup>	0.440 <sup>0</sup>
4			z $MgCl_2$ with $MgCl_2$	$\Delta_4$	0.780 <sup>0</sup>	1.119 <sup>0</sup>	1.411 <sup>0</sup>	1.634 <sup>0</sup>	1.907 <sup>0</sup>
5	Stężenie $MgCl_2$ w $mg/cm^3$ Concentration of $MgCl_2$ in $mg/cc.$	w żółtku in yolk	$c$	5.15	10.30	13.73	17.17	20.60	
6		w cieczy międzycząstk. in the intermicel. fluid	$u$	6.13	12.17	17.22	20.68	25.41	
7	Ilość $MgCl_2$ związanego przez koloid Amount of $MgCl_2$ bound by the colloid	w $mg$ w $1\text{ cm}^3$ żółtka in $mg/cc.$ of yolk	$c - uv$	0.53	1.13	0.77	1.59	1.47	
8		w procentach ilości dodanej as per cent of the amount added	$\frac{c - uv}{c} 100$	10.4%	11.0%	5.6%	9.2%	7.1%	
9	Ilość $Cl$ dodanego jako $MgCl_2$ w $mg/cm^3$ żółtka Amount of $Cl$ added as $MgCl_2$ in $mg/cc$ of yolk		$c'$	3.89	7.77	10.37	12.96	15.55	
10	Stężenie $Cl$ w $mg$ na $cm^3$ w przesączu Concentration of $Cl$ in $mg/cc$ in the ultrafil- trate	żółtka bez $MgCl_2$ of yolk without $MgCl_2$	$c'_1$	4.16	4.16	4.16	4.16	4.16	
11		żółtka z $MgCl_2$ of yolk with $MgCl_2$	$c'_2$	8.75	12.96	16.03	19.19	23.58	
12	$Cl$ dodanego ja- ko $MgCl_2$ $Cl$ added as $MgCl_2$		$u' = c'_2 - c'_1$	4.59	8.80	11.87	15.03	19.42	
13	Ilość $Cl$ zwią- zanego przez koloid Amount of $Cl$ bound by the colloid	w $mg$ w $1\text{ cm}^3$ żółtka in $mg/cc$ of yolk	$c' - u'v$	0.43	1.15	1.43	1.64	0.93	
14		w procentach $Cl$ dodanego as per cent of the amount added	$\frac{c' - u'v}{c'} 100$	11.0%	14.8%	13.8%	12.6%	5.9%	

że oba jony zachowują się jednakowo i rozpuszczają się równomiernie w całej wodzie układu.

Tab. XI zestawiona tak samo jak X podaje wyniki, doty-

czące rozmieszczenia KCl w żółtku rozcieńczonem. Tutaj wyniki metody krjoskopowej nasuwają pewne wątpliwości. Wprawdzie procentowe przyrosty  $u$  w stosunku do  $c_t$ , co do swej bezwzględnej wartości, nie przewyższają takichże przyrostów w przypadku NaCl, ale natomiast wykazują pewną prawidłowość. Tak więc pierwsze cztery oznaczenia w kolejności wzrastających stężeń wykazują przyrosty ujemne, a przytem wartość bezwzględna tych przyrostów maleje naogół ze zwiększeniem stężenia. Być może więc, że mamy tu do czynienia z bardzo nieznaczną adsorbcją KCl. Ponieważ jednak przyrosty pozostają całkowicie w granicach błędu, zaś z drugiej strony dane ultrafiltracyjne nie wykazują żadnej prawidłowości, musimy uznać za bardziej prawdopodobne, że KCl podobnie jak i NaCl, rozpuszcza się równomiernie w całej wodzie układu.

#### D. Chlorki ziem alkalicznych.

Tabele XII i XIII obejmują wyniki dotyczące chlorków metali dwuwartościowych.

Wobec tego, że wiązanie tych soli przez koloid wydaje się niewątpliwem, zmieniliśmy układ tych tabel w porównaniu z X i XI. Pierwsze sześć pozycji odpowiada takim samym pozycjom poprzednich tabel, podobnie pozycje 9, 10, 11 i 12 odpowiadają pozycjom 11, 12, 13 i 14 tabeli X. Natomiast w pozycji 7 podajemy ilość soli związanej przez koloid jako różnicę między ilością soli dodanej do 1 cm<sup>3</sup> żółtka, a ilością zawartą w całej wodzie. Tę ostatnią ilość uważaliśmy za równą iloczynowi stężenia  $u$  przez objętość całej wody  $v$ , wychodząc z założenia, że niezwiązana część soli jest, podobnie jak NaCl i KCl, rozpuszczona równomiernie w całej wodzie. Wobec tego ilość substancji związanej przez koloid będzie równa  $c - uv$ . Pozycja 8 podaje, jaki procent całej ilości dodanej stanowi ilość związana, co obliczamy na podstawie wzoru  $\frac{c - uv}{c} \cdot 100$ . Zupełnie analogiczne wartości dla chloru podają pozycje 13 i 14.

Przeglądając liczby podane w tych pozycjach, musimy stwierdzić, że mamy tutaj niewątpliwe i bardzo znaczne wiązanie, przy czem wykazujące w przybliżeniu charakter izotermy adsorbcyjnej. Uderzająca jest zgodność wyników, otrzymanych metodą

krjoskopową i ultrafiltracyjną. Dowodzi to, że oba jony są w tym samym stopniu wiązane. Ten sam wniosek nasuwają dane, przedstawione w tabeli II (kolumna pionowa trzecia). Widzimy tam, że przesącz żółtka rozcieńczonego, zawierającego  $\text{CaCl}_2$  w stężeniu, wykazującym największe procentowe wiązanie, wykazuje  $\Delta$  takie samo, jak żółtko przed sączeniem, czyli ogólne stężenie jonów jest identyczne w wodzie wolnej żółtka i w przesączu.

Tabela XIV.

Porównanie objętości cieczy międzycząstkowej dwukrotnie rozcieńczonego żółtka oraz roztworu białka, obliczonych na podstawie ich lepkości z wartością  $d$  tych roztworów. Doświadczenie 23 i 24.

Comparison of the values of  $d$  obtained for 50% egg-yolk and for ovalbumen solutions with the values calculated for the volumes of the intercellular fluid from viscosity considerations.

№ pozycji Item №	Rodzaj układu koloidalnego Colloidal system used		Żółtko Yolk	Białko White
1	Czas wypływu ze stalagmometru w sekund. <i>The time of outflow from the stalagmometer in seconds</i>	wody of water $t_w$	79.0	79.0
2		roztworu koloidal. of colloidal solution $t'$	393 (392, 392, 395)	350 (345, 349, 355)
3	Gęstość roztworu koloidalnego <i>Density of colloidal solution</i>	$s$	1.015	1.088
4	Względna lepkość roztworu wg. wzoru <i>Relative viscosity of solution according to the formula</i>	$\frac{t's}{t_w}$	5.05	4.82
5	Objętość cieczy międzycząstkowej wg. wzoru Kunitza <i>Volume of intercellular fluid calculated according to the formula of Kunitz</i>	$V_i = \frac{1 + 0.5 \varphi}{(1 - \varphi)^4}$	0.692	0.699
6	Objętość wody wolnej <i>Volume of free water</i>	$d$	0.719	0.712

Tabela XIII podaje wyniki, dotyczące  $\text{MgCl}_2$ . I tu, podobnie jak w przypadku  $\text{CaCl}_2$ , mamy niewątpliwie wiązanie, wykazujące charakter izotermy adsorbcyjnej, jednak błędy oraz różnice wyników metod krjoskopowej i ultrafiltracyjnej są dużo większe, niż dla  $\text{CaCl}_2$ . Naogół można przypuszczać, że  $\text{MgCl}_2$  jest wiązane w podobny sposób, jak i  $\text{CaCl}_2$ , lecz w mniejszym stopniu, jakkolwiek wyniki dla  $\text{MgCl}_2$  są znacznie mniej wyraźne, niż dla  $\text{CaCl}_2$ .

### E. Objętość cieczy międzycząstkowej.

Ażeby przekonać się, o ile zgadzają się dane, dotyczące objętości cieczy międzycząstkowej, otrzymane metodami różnemi, obliczyliśmy ją również z lepkości roztworów koloidalnych, posługując się wzorem KUNITZA ('26). Tabela XIV przedstawia wyniki tych badań. Początkowe pozycje tabeli zawierają dane, potrzebne do obliczenia lepkości roztworów, a mianowicie czas wypływu ze stalagmometru (str. 131) wody  $t_w$ , względnie cieczy badanych,  $t'$  oraz gęstość roztworów koloidalnych. Gęstość wody przyjęliśmy za równą jedności. Pozycja czwarta podaje lepkość, obliczoną na podstawie tych danych, zaś pozycja piąta objętość cieczy międzycząstkowej, odpowiadającą tej lepkości według wzoru KUNITZA. Porównując  $d$ , otrzymane z ilorazu  $c : u$  dla cukrów, z objętością cieczy międzycząstkowej, otrzymaną wg. wzoru KUNITZA, musimy uznać, że, uwzględniając duże błędy przy oznaczaniu lepkości w roztworach, zawierających stosunkowo duże ziarnka deutoplazmatyczne, jak w żółtku rozcieńczonem, względnie duże stężenie białka, — wyniki otrzymane różnemi metodami są nadspodziewanie zgodne, zwłaszcza w roztworze białka. Wyniki te potwierdzają zarazem słuszność wzoru empirycznego KUNITZA, w przeciwieństwie do wzorów EINSTEINA oraz HATSHECKA, które dają wartości zupełnie nieprawdopodobne.

### 5. Omówienie wyników.

W pracy naszej zwróciliśmy uwagę przedewszystkiem na dwie kwestje, a mianowicie — po pierwsze — na objętości, jakie zajmują w układzie koloidalnym hydrofilnym woda wolna, woda związana oraz koloid, a po drugie — na rozmieszczenie krystaloidów w każdym z tych składników układu. Opierając się na właściwościach cukrów, obliczyliśmy prawdopodobne objętości każdego ze składników, a mianowicie: w żółtku rozcieńczonem objętość wody wolnej według naszych obliczeń stanowiła 71.9%, objętość wody związanej 3.4%, zaś objętość koloidu 24.7% całej objętości układu. W 33.3% wagowo roztworze białka objętości te stanowiły odpowiednio 71.2%, 6.3% oraz 22.5% całej objętości roztworu.



W ten sposób pierwsze zagadnienie możemy uważać za rozwiązane. Natomiast zagadnienie rozmieszczenia poszczególnych krystaloidów w różnych częściach układu udało nam się rozwiązać tylko częściowo. Mianowicie co do cukrów możemy stwierdzić z dużą dozą prawdopodobieństwa, że rozpuszczają się one tylko w wodzie wolnej, natomiast wcale nie przechodzą ani do wody związanej, ani do koloidu. Dla NaCl oraz KCl stwierdziliśmy, że rozpuszczają się one równomiernie zarówno w wodzie wolnej, jak i w związanej, natomiast nie są one wiązane przez koloid. Co się tyczy  $\text{CaCl}_2$  oraz  $\text{MgCl}_2$ , to możemy uznać za bardzo prawdopodobne, że występują one we wszystkich trzech składnikach, przy czym w wodzie wolnej oraz związanej prawdopodobnie wykazują one jednakowe stężenie, podobnie jak NaCl i KCl, natomiast w koloidzie występują w stężeniach zmiennych, zależnych od ogólnego stężenia soli w układzie, i różnych niż stężenia w wodzie.

Wyniki, dotyczące rozmieszczenia tych trzech grup związków, możemy uznać za równie prawdopodobne, jak i wyniki dotyczące objętości poszczególnych składników układu. Natomiast co do mocznika, to wprawdzie wysunęliśmy przypuszczenie, że występuje on tylko w wodzie, przy czym w wodzie związanej więcej, niż w wodzie wolnej, jednak musimy stwierdzić, że przypuszczenie to opiera się na mniej przekonujących dowodach, niż poglądy nasze, dotyczące rozmieszczenia pozostałych związków. Jedynie niewątpliwym jest fakt, że mocznik częściowo znika z wody wolnej. Ponieważ jednak całkowite rozstrzygnięcie tej sprawy byłoby możliwe tylko wówczas, gdybyśmy mogli określić stężenie dodanej substancji w wodzie związanej, a co wobec braku odpowiednich metod jest narazie niewykonalne, musimy poprzestać na wskazówkach pośrednich, przytoczonych w poprzednim rozdziale.

#### Wnioski.

1°. Cukry, a mianowicie sacharoza, maltoza, glukoza, galaktoza i fruktoza zarówno w żółtku rozcieńczonym, jak i w roztworze białka kurzego, rozpuszczają się tylko w wodzie wolnej

układu. Dzięki tej właściwości cukrów mogliśmy oznaczyć objętość wody wolnej, a zarazem i związanej obu badanych układów koloidalnych.

2°. Mocznik rozpuszcza się nietylko w wodzie wolnej rozcieńczonego żółtka i roztworu białka.

3°. Chlorki alkaliów, a mianowicie NaCl i KCl, rozpuszczają się równomiernie w całej wodzie układu. Przez sam koloid wiązane nie są.

4°. Chlorki ziem alkalicznych, mianowicie CaCl<sub>2</sub> i MgCl<sub>2</sub> występują zarówno w wodzie wolnej, jak i w wodzie związanej a przytem są wiązane przez koloid. Dwa ostatnie punkty tyczą się tylko rozmieszczenia soli w rozcieńczonem żółtku kurzem.

#### Piśmiennictwo.

- Asheshov I. N. 1925. Préparations des membranes en collodion graduées. *Compt. Rend. Soc. Biol.* **77** (362). Augsberger A. 1925. Ultrafiltration und Kompensationsdialyse. Ein Beitrag zur Frage der Ionenbindung im Blutserum. *Erg. d. Physiol.* **24** (618). Berczeller L. 1918. Über negative Adsorption. *Bioch. Zeitschr.* **90** (290). Białaszewicz K. 1912. Über das Verhalten des osmotischen Druckes während der Entwicklung der Wirbeltierembryonen. *Arch. f. Entw. Mech.* **34** (489). Białaszewicz K. 1926. O składzie mineralnym komórek jajowych. *Trav. Inst. Nencki (Varsovie)*. **3**. № 52. Białaszewicz K. 1927. O zastosowaniu ultrafiltracji w badaniach nad rozmieszczeniem elektrolitów w cytoplazmie. *Trav. Inst. Nencki (Varsovie)*. **4**. № 57. Białaszewicz K. 1928 a. Sur la composition minérale des cellules-oeufs. *Publicaz. della Stazione Zool. di Napoli*. **8** VIII (355). Białaszewicz K. 1928 b. L'ultrafiltration appliquée aux recherches sur la répartition des électrolytes dans le cytoplasme. *Ann. de Physiologie*. **4**. VII (190). Białaszewicz K. 1928 c. Studja porównawcze nad składem cieczy międzycząstkowej komórek jajowych. (Etudes comparées sur la composition du liquide intermicellaire des oeufs). *Acta Biol. Experim.* **1**. N II. Białaszewicz K. 1929. Recherches sur la répartition des électrolytes dans le protoplasme des cellules ovulaire. *Protoplasma*. **6** (1). Bugarzky S. und L. Liebermann. 1898. Über das Bindungsvermögen eiweißartiger Körper für Salzsäure, Natriumhydroxyd und Kochsalz. *Arch. f. ges. Physiol.* **72** (51). Cohn E. J. 1925. The physical chemistry of the proteins. *Physiol. Rev.* **5** (348). Dekhuyzen. 1908. Ein Kryoskop. *Bioch. Zeitschr.* **11** (346). Ege R. 1922. Untersuchungen über die Volumenveränderungen der Blutkörperchen in Lösungen von verschiedenem osmotischen Druck. III Mitteilung. Studien über das osmotische Verhalten der Blutkörperchen. *Bioch. Zeitschr.* **130** (99). Eggerth A. H. 1921. The preparation and standardization of collodion membranes. *Journ. of biol. Chem.* **48** (203). Einstein A.

1906. *Ann. d. Physik.* **19** (289). (Cytow. wg. Kunitza, '26). **Einstein A.** 1911. *Ann. Physik.* **34** (591). (Cytow. wg. Kunitza, '26). **Fredericq L.** 1902. Sur la concentration moléculaire des solutions d'albumine et de sels. *Acad. Roy. de Belgique. Bull. de la Classe des Sc.* **7** (437). *Arch. Biol.* **20** (731). **Fredericq L.** 1904. Sur la concentration moléculaire du sang et des tissus chez les animaux aquatiques. *Arch. de Biol.* **20** (709). **Hamburger H. J.** 1902. *Osmotischer Druck und Ionenlehre in den medizinischen Wissenschaften.* Wiesbaden. **Hatscheck E.** 1910. *Z. Chem. u. Ind. Kolloide.* **7** (301). (Cytow. wg. Kunitza '26). **Kunitz M.** 1926. An empirical formula for the relation between viscosity of solution and volume of solute. *Journ. of gen. Physiol.* **9** (715). **Lceb J.** 1922. Proteins and the theory of colloidal behavior. New-York. **Looney J. M.** 1922. The preparation of flexible collodion membranes. *Journ. of biol. Chem.* **50** (1). **Netter H.** 1927. Über den nichtlösenden Raum (sog. disperse Phase) und seine Bedeutung für zellphysiologische Probleme. *Protoplasma.* **2** (554). **Northrop J. H. and M. Kunitz.** 1925. The combination of salts and proteins. I. *Journ. of gen. Physiol.* **7** (25). **Northrop J. H. and M. Kunitz.** 1926. The combination of salts and proteins. II. *Journ. of gen. Physiol.* **9** (351). **Pauli Wo.** 1920. *Kolloidchemie der Eiweisskörper.* Wien-Liepzig. **Pauli Wo.** 1926. *Eiweisskörper und Säuren.* *Koll. Zeitschr.* **40** (185). **Polányi M.** 1920. Studien über Leitfähigkeitserniedrigung und Adsorption durch lyophile Kolloide. *Bioch. Zeitschr.* **104** (237). **Rona P.** 1910. Über das Verhalten des Chlors im Serum. *Bioch. Zeitschr.* **27** (501). **Whitehorn J. C.** 1921. A system of blood analysis. Simplified method for the determination of chlorides in blood plasma. *Journ. of biol. Chem.* **45** (449).



[Zakład Biologii Ogólnej Instytutu im. Nenckiego].

Zygmunt Czerniewski.

*Spirostomum ambiguum* Ehrbg. Studja biologiczne.

Cz. I: Hodowle w odwarze siana. Ruch wodniczków pokarmowych, utworzonych w zawiesinach karminu i żółtka. Mechanizm skurczu.

*Spirostomum ambiguum* Ehrbg. *Biologische Studien. I. Zucht in Heuaufguss. Bewegung der Nahrungsvakuolen, welche die Karmin- und Eidotterteilchen enthalten. Kontraktionsmechanismus.*

Rękopis nadesłany w dniu 24. X. 1929 r.

1<sup>o</sup>. Im Widerspruch zu der hie und da vertretenen, entgegengesetzten Meinung, lässt sich *Spirostomum* wohl in Heuaufgüssen züchten. Der vom Verfasser zu solchen Zuchten gebrauchte Heuaufguss (6 — 10 g. Heu auf 1 L. Wasser: vor jedem Gebrauche mit Wasser zu verdünnen) wurde zunächst, mehrere Tage hindurch in zugedeckten Glasgefässen isoliert gelassen. Es ist sehr zweckmässig, den sich darin etwickelnden, gasförmigen Verbindungen einen Ausführungsgang zu versichern. Zu dem Zwecke rollt man ein Stück Papier zusammen und legt es zwischen den Gefässrand und den Deckel ein. Nicht minder günstig wirkt — in demselben Sinne — auch die Anwesenheit der von Heu herkommenden Grasteilchen auf dem Boden des Gefässes ein.

In die so bereiteten Milieux brachte man nun *Spirostomen* hinein und erhielt bald darauf gut entwickelte Kulturen. Wenige Stunden nach jedem nachträglich erneuten Zusatze des Heuaufgusses (zu den erhaltenen Kulturen), pflegen die Spirostomen sich in der obersten Schicht der Kultur in dicht gedrängten Mengen zu sammeln. Nach einiger Zeit sinken sie allmählich nieder — so, dass sie nunmehr in dem ganzen, für sie zugänglichen Raume, herumtaumeln. In diesem Zustande verbleibt die Kultur, gewöhnlich, ziemlich lange: nachher fangen einzelne Indivi-

duen an, zu Boden zu sinken, und — nach einigen Tagen — kann man den Tieren nur ausnahmsweise oberhalb des Gefässbodens begegnen.

2°. Die Nahrungsvakuolen, welche Karmin- und Eidotterteilchen enthalten, bewegen sich, wie die gewöhnlichen Nahrungsvakuolen, und gelangen bis an das vordere Ende des Tieres.

3°. Was die von STEIN ('67) aufgestellte Anschauung über den Kontraktionsmechanismus bei *Spirostomum* anbetrifft, so sollte man dieselbe als unrichtig betrachten, und zwar aus folgenden Gründen: vor allem, lässt sie sich weder als deutlich, noch als eindeutig formuliert betrachten (man vergleiche entsprechende Stellen aus der Arbeit von STEIN ('67) selbst auf S. 27—30 mit den anderen, welche der Verfasser in seiner Arbeit aus STEIN zitiert).

Selbst unabhängig von der Auseinandersetzungsweise der Begriffe von der Natur des Streifens (Fibrille) und der Kontraktion kann die in Rede stehende Anschauung nicht als richtig anerkannt werden. Nehmen wir, zuerst, an, dass die Fibrillen bei *Spirostomum* sich in derselben Weise kontrahieren sollten, wie die Muskelfaser im Stiele der *Vorticelliden*, und die Streifen bei verschiedenen Infusorien von gleicher Beschaffenheit wären, wie es STEIN annimmt, — wie könnte man dann, sich die grosse Differenz zwischen den Kontraktionsarten bei *Stentor*, einerseits, und bei *Spirostomum*, andererseits, erklären? Und wie könnte man, ferner, den Prozess der Kontraktion mit Hilfe der Annahme STEIN's erklären, wonach nicht alle Streifen, bzw. nicht alle Streifen gleichförmig, sich in ihrer ganzen Länge kontrahieren sollten?

Nehmen wir, zweitens an — die Fibrillen kontrahieren sich, wie die gewöhnlichen Muskelfibrillen, — so müsste als natürliche Folge der Fibrillenkontraktion die Annäherung ihrer beiden Endigungen zustandekommen: somit würde die Fibrillenkontraktion eine Körperverkürzung nebst einer schwachen Rotation um die Körperachse zur Folge haben, nur in einer anderen Richtung als die in der Wirklichkeit zu Tage auftretende.

4°. Die Untersuchungen des Verfassers erweisen, dass die *Spirostomen* — nach der Beendigung der Kontraktion — sich zunächst in einer geraden Richtung ausdehnen und, nachdem diese Ausdehnung ca. 50% der Länge des Tieres in kontrahiertem Zustande erreicht hatte, fängt die Rotation des Tieres an.

Der hypothetische Kontraktionsmechanismus mag bei *Spirostomum* aus zwei Systemen der kontraktilen Fibrillen bestehen: dies wären: a) — die Längsfibrillen, welche in der Richtung der Körperstreifen verlaufen, und b) — die Spiralfibrillen, bei deren Kontraktion die Umdrehung des Körpers zustandekommt. Den eigentlichen Verlauf des Ausdehnungsprozesses könnte man als Folge der Verzögerung des Erschlaffens der Spiralfibrillen betrachten.

### I. Hodowle w odwarze siana.

Próby hodowli *Spirostomum* w odwarze siana zostały dokonane po raz pierwszy, o ile mi wiadomo, przez BISHOP ('23). Po wstępnych niepowodzeniach, które zapewne należy tłumaczyć użyciem zbyt świeżych odwarów, autorka zaprzestała dalszych prób w tym kierunku. Następną wzmiankę spotykamy u BLÄTTNERA ('26). W sprawie nas obchodzącej autor ten wypowiada się wyraźnie: „Die Aufzucht in Heuinfusionen ist unmöglich“. (str. 260).

Materiał, używany przeze mnie do hodowli i doświadczeń, — *Spirostomum ambiguum* Ehrbg. var. *maior* — pochodzi z Drewnicy pod Warszawą, ze stawków torfowych. W wodzie przyniesionej z wycieczki (wrzesień 1925 r.) nie znalazłem ani jednego osobnika *Spirostomum* — były one zapewne ukryte na dnie akwarjum wśród butwiejących cząstek i zaczęły się ukazywać dopiero po paru tygodniach, gdy się rozpoczął intensywny proces rozpadu nagromadzonych w akwarjum resztek organicznych.

Z chwilą ukazania się większej ilości osobników *Spirostomum* rozpocząłem próby hodowli w odwarze siana, zawierającym bakterje.

Odwar otrzymywałem, gotując 5 — 8 g siana w 1 l wody i rozcieńczając przed użyciem kilkoma objętościami wody zwyczajnej. W celu przyspieszenia rozwoju bakteryj — zimą, w stosunkowo niskiej temperaturze pracowni — staje się to niemal koniecznością — pozostawiałem kolbę po ostygnięciu odwaru na kilka wzgl. kilkanaście godzin bez przykrycia. Naczynia, używane do hodowli, należały do różnych typów, najczęściej były to szklane słoje około 2 l pojemności bez przewężenia u góry.

Początkowo naczynia, zawierające hodowle *Spirostomum*, przykrywałem szklanymi płytkami, nie stosując szczególnych środków ostrożności. W tych warunkach próby użycia odwaru siana niezawierającego bakteryj nie powiodły się — odwar świeżo przygotowany działał tak silnie, że

*Spirostoma* gnieły w nim już po kilku godzinach, przedłużając swoją egzystencję w najlepszym przypadku do jednej doby; w odwarze zaś, przygotowanym na kilka dni przed użyciem, ale nie zawierającym bakteryj, *Spirostoma* pozostawały wprawdzie przy życiu, lecz ich ruchy zwolnione oraz opadanie na dno i pozostawanie tam przynajmniej w ciągu kilkunastu godzin wskazywały na nieodpowiednie właściwości takiego odwaru, jako środowiska dla *Spirostomum*.

W odwarze siana, zawierającym bakterje, hodowle rozwijały się na ogół dobrze. Nieliczne jednak wypadki wyginięcia hodowli z powodu nagromadzenia się większych ilości szkodliwych substancyj zmusiły mnie do zmodyfikowania warunków hodowli. Modyfikacja polegała na tem, że na brzegu naczynia pod przykrywką umieszczałem waleczek ze zwiniętego papieru, pozostawiając w ten sposób szparę, przez którą mogły uchodzić lotne substancje. W tych warunkach hodowle rozwijają się bardzo dobrze<sup>1)</sup>, a w nielicznych przypadkach otrzymałem dodatnie wyniki nawet przy użyciu świeżo przygotowanego odwaru siana.

Zachowanie się *Spirostomum* w tak prowadzonych hodowlach jest dość stereotypowe. W kilka godzin po dodaniu odwaru siana *Spirostoma*, leżące dotąd na dnie naczynia pomiędzy kawałkami łądyżek i listków<sup>2)</sup>, zaczynają równomiernie wypełniać całą dostępną im przestrzeń. Zazwyczaj już w następnym dniu gromadzą się u góry, tworząc gęste skupienia, poczem w ciągu następnych dni skupienia te zaczynają się stopniowo opuszczać, jednocześnie się rozpraszając, tak iż po 1—2 tygodniach wszystkie niemal osobniki zostają zgromadzone wśród butwiejących cząstek na dnie naczynia.

Odchylenia od wyżej naszkicowanego typowego obrazu bywają następujące: 1) równomierne rozmieszczenie *Spirostomum* w całej masie odwaru utrzymuje się przez czas dłuższy; 2) niekiedy można obserwować parokrotne wznoszenie się i opadanie *Spirostomum*, połączone nieraz z tworzeniem się u góry wyraźnej warstwy, powstającej skutkiem nagromadzenia się *Spirostomum* na tym poziomie; 3) czasem tworzą się lokalne skupienia — zajmują one zwykle jedną stronę naczynia, niekiedy są ułożone ukośnie i występują nawet w środowisku przezroczystym, zawierającym w najlepszym przypadku minimalne ilości bakteryj wtedy gdy większość osobników żeruje już na dnie naczynia. Prócz tego dość często, zwłaszcza w naczyniach, zawierających od dłuższego czasu hodowle, rozwijają się nadzwyczaj gęste skupienia na dolnej powierzchni błonki bakteryjnej, pokrywającej hodowlę, oraz w różnych miejscach hodowli dokoła unoszących się w cieczy drobnych cząstek.

Równoległe do zmian w rozmieszczeniu *Spirostomum* zachodzą zmiany w środowisku. Po dodaniu nowej porcji odwaru środowisko to staje się

<sup>1)</sup> Pojęcie o stanie hodowli dają obliczenia, wykazujące przeciętnie 20 i więcej osobników w 1 cm<sup>3</sup> w miejscach, gdzie nie było gęstych skupień.

<sup>2)</sup> Z licznych spostrzeżeń wyniosłem wrażenie, że obecność butwiejących resztek roślinnych wywiera dodatni wpływ na rozwój *Spirostomum*.



mętne skutkiem obecności znacznych ilości bakteryj oraz drobnych cząstek siana — *Spirostoma* gromadzą się wówczas u góry. Taki stan rzeczy trwa zwykle 2—3 dni. W tym czasie środowisko staje się mniej mętne skutkiem zmniejszenia się ilości bakteryj (cząstki siana opadają już w ciągu pierwszej doby, a u góry tuż pod powierzchnią może się utworzyć warstwa zupełnie przezroczysta paru centymetrów grubości). W tym okresie *Spirostoma* zaczynają zwykle wypełniać sobą całą wolną przestrzeń dostępną dla nich części naczynia z wyjątkiem tej właśnie przezroczystej warstwy u góry. Proces ten postępuje w dalszym ciągu ku dołowi tak, że po kilku wzgl. kilkunastu dniach środowisko w całej masie staje się przezroczyste, zachowując ten wygląd i nadal. Jeżeli w tym czasie dodać trochę odwaru siana, rozpoczynają się ponownie zmiany wyżej opisane z tą jednak różnicą, że poszczególne okresy trwają w tym przypadku krócej; odpowiednio do małej ilości dodanego odwaru.

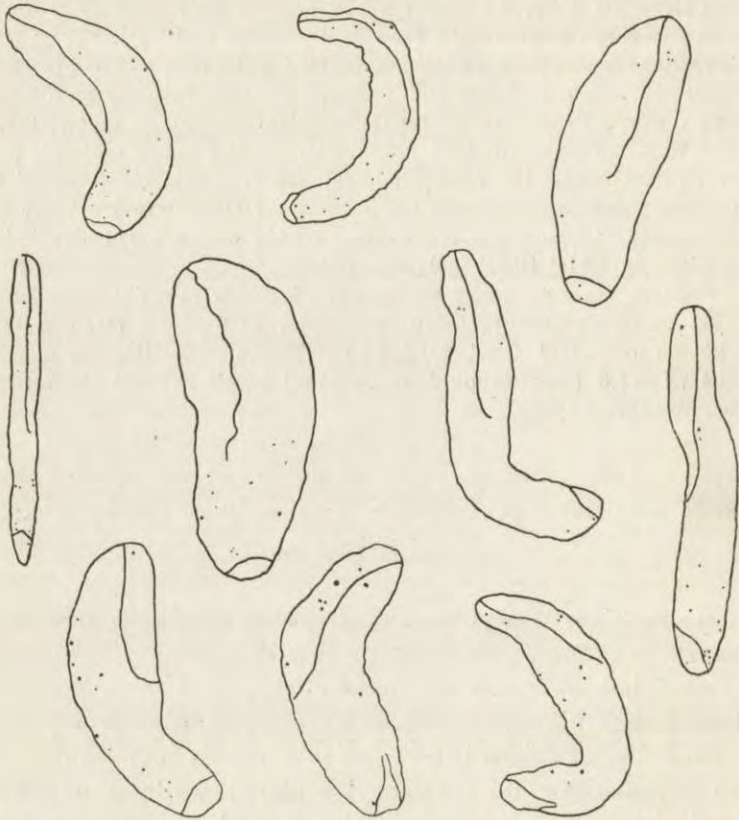
Pomiary stężenia jonów wodorowych w hodowlach, dokonane przeze mnie już po ukończeniu rękopisu, wykazały, że wartości pH, otrzymane przy użyciu czerwieni fenolowej jako indykatora, zmieniają się w granicach od 7.1—7.6 (wkrótce po dodaniu nowej porcji odwaru) do 7.8—8.2 (koniec opisanego cyklu).

## II. Ruch wodniczków pokarmowych, utworzonych w zawieszinie karminu i żółtka.

BISHOP ('23) w wyniku swoich badań doszła do wniosku, że wodniczki pokarmowe, utworzone z cząstek substancyj, obojętnych pod względem odżywczym, przebywają w ciele *Spirostomum* krótszą drogą, niż wodniczki, zawierające substancje odżywcze (np. bakterje). Ponieważ przeniesienie zasady odmiennego stosunku wymoczków do substancyj o różnej wartości odżywczej w czasie ich pobierania na dziedzinę zjawisk, związanych z trawieniem pobranych substancyj, nie narzucało mi się z koniecznością, ani wydawało się celowem ze względów metodologicznych; ponieważ, dalej, i moje przygodne spostrzeżenia przeczyły wynikom, otrzymanym przez autorkę, uważałem za wskazane podjęcie odnośnych badań.

Metodyka i technika wykonywania doświadczeń.  
1<sup>o</sup>. Przed wykonaniem doświadczenia *Spirostoma*, kilkakrotnie przemyte, przenosiłem na 1 dobę do czystej wody w celu usunięcia uprzednio utworzonych wodniczków pokarmowych, poczem jedną połowę osobników umieszczałem w zawieszinie karminu wzgl. żółtka, drugą zaś przenosiłem do odwaru siana, zawierającego bakterje (kontrola). 2<sup>o</sup>. W doświadczeniach, ro-

bionych metodą autorki <sup>1)</sup>, przenosiłem osobniki, przeznaczone do badań, z odwaru siana (bez uprzedniego głodzenia) do zawiesiny karminu w odwarze siana (nie w wodzie). <sup>3)</sup> Zawiesinę przygotowywałem, rozcieraając z wodą



Rys. 1. *Spirostomum ambiguum*. Rozmieszczenie wodniczków pokarmowych, utworzonych w zawiesinach żółtka (dolny rząd) i karminu (pozostałe). Peristom oraz wodniczek kurczliwy przedstawiono schematycznie, zarys ciała i rozmieszczenie wodniczków pokarmowych dokładnie według preparatów. Powiększenie około 100 razy.

Fig. 1. *Spirostomum ambiguum*. Die Verteilung der Nahrungsvakuolen, welche die Karmin und Eidotterteilchen enthalten (obere und mittlere Reihe — Karmin, untere — Eidotterteilchen). Das Peristomfeld und die kontraktile Vakuole sind schematisch dargestellt; dagegen der Körperumriss und die Verteilung der Nahrungsvakuolen sind nach den Präparaten genau aufgezeichnet. Vergr. ca 100-mal.

<sup>1)</sup> W doświadczeniach tych, pozbawionych, zresztą, wartości metodologicznej w zastosowaniu do rozwiązania głównego zagadnienia, chodziło mi o stosunek cząstek karminu do bakteryj w wodniczkach, w tych warunkach utworzonych.

karmin wzgl. żółtko ugotowanego jaja. Tak przygotowaną zawiesinę używałem po paru godzinach, zdejmując zapomocą pipety górną warstwę niezawierającą większych cząstek. 4°. Badania mikroskopowe (imersja  $1/12$ ) wodniczków, utworzonych w zawiesinie karminu wzgl. żółtka, nie wykazały obecności drobnitkich ziarenek, charakterystycznych dla wodniczków pokarmowych, utworzonych w odwarze siana, zawierającym bakterje. Przyjmuję na tej podstawie, że wodniczki, utworzone w zawiesinie karminu wzgl. żółtka, bakteryj nie zawierały. 5°. W każdym doświadczeniu starałem się uwzględnić wszystkie osobniki.

W tych warunkach (met. 1) *Spirostoma* już po upływie paru godzin tworzą wodniczki, zawierające tylko cząstki karminu, wzgl. żółtka. Ilość i rozmieszczenie tych wodniczków waha się w szerokich granicach tak, iż obok osobników, zawierających dużo wodniczków, są i takie, które ich nie posiadają. We wszystkich wszakże przypadkach, w których wodniczki zostały utworzone, mogłem stwierdzić, iż posuwają się one i dochodzą ku przodowi tak daleko, jak wodniczki, utworzone w odwarze siana (p. rys. 1).

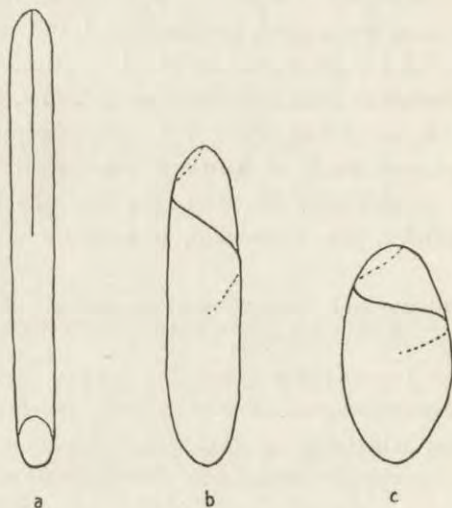
W doświadczeniach, przerobionych metodą autorki (met. 2), *Spirostoma* tworzyły wodniczki, zawierające obok bakteryj trochę cząstek karminu i posuwające się tak samo, jak i wodniczki, utworzone w odwarze siana. Nigdy jednak, wbrew temu, co podaje autorka, nie widziałem w tych warunkach wodniczków pokarmowych, zawierających wyłącznie albo głównie cząstki karminu.

Poprzestaję na stwierdzeniu różnicy w wynikach doświadczeń, wykonanych przy użyciu tej samej metody (met. 2), nie wdając się w analizę przyczyn tej różnicy wobec braku w pracy autorki szczegółowych danych, dotyczących metodyki wykonywania doświadczeń (brak wzmianki np. o tem, czy i w jaki sposób były wykonane doświadczenia kontrolne).

### III. Mechanizm skurczu.

*Spirostomum* swoście reaguje na podniety o odpowiedniem natężeniu: ciało wymoczką skraca się, skręcając się jednocześnie dokoła swojej osi podłużnej, trwa w tym stanie zazwyczaj krótką chwilę, poczem rozkurcza się, jeżeli ustaje działanie podniety, skurcz wywołującej. Podniety trwale wywołują szereg szybko po sobie następujących skurczów, które się zlewają w jeden długotrwały skurcz. Zjawisko skurczu w każdym przypadku przebiega

ze znaczną szybkością, zależną w pewnym stopniu od natężenia podniety. Rys. 2 przedstawia schematycznie *Spirostomum* w trzech stadiach. Linja, wyobrażająca peristom, daje pojęcie o stopniu skręcenia, które dla całego organizmu wynosi 2 obroty<sup>1)</sup>. Ektoplazma *Spirostomum* posiada szereg wąskich podłużnych pasek, z którymi zgodnie przebiegają nieco głębiej położone włókienka (od przodu i z lewej strony ku tyłowi i na prawo ze stanowiska obserwatora).



Rys. 2. *Spirostomum ambiguum* w stanie a) rozkurczu, b) słabego skurczu, c) silnego skurczu. (Schemat).

Fig. 2. Schematische Darstellung von *Spirostomum ambiguum*: a) in der Ausdehnung, b) mässig kontrahiert, c) stark kontrahiert.

Krytyczny przegląd piśmiennictwa. Zjawisko skurczu wymoczków zostało przez STEINA ('67) uzależnione od kurczenia się włókienek<sup>2)</sup>.

Poglądy tego autora na zjawiska, związane z procesem skurczu *Spirostomum*, dadzą się przedstawić w postaci następujących twierdzeń:

<sup>1)</sup> Zwracam uwagę na to, że przebieg peristomu *Spirostomum* w stanie skurczu został przedstawiony przez DOFLEINA ('27, rys. 142) błędnie — peristom w czasie skurczu zawsze ulega skręceniu.

<sup>2)</sup> Mimo, że WERNECK wcześniej od STEINA wypowiedział podobny pogląd na rolę włókienek w kurczeniu się wymoczków, za właściwego twórcę tego poglądu należy jednak uznać STEINA, który w celu uzasadnienia swego poglądu zebrał i opracował bogaty materiał.

1. Pasemka (Körperstreifen) odpowiadają włóknom mięśniowym (l. c., str. 29, 30, 202).

2. W organizmie nieskurezonym pasemka przebiegają, tworząc około  $2\frac{1}{2}$  obrotów <sup>1)</sup> (str. 27 — 28).

3. Skurecz *Spirostomum* jest połączony ze skręceniem się ciała dookoła osi zwierzęcia i odbywa się w kierunku przebiegu pasemek (str. 29, 189, 202).

4. Każde pasemko zachowuje się tak, jak mięsień w łodyżce *Vorticellidae* (str. 29).

5. Skurecz *Spirostomum* jest wynikiem tego, że kurczą się nie wszystkie pasemka, wzgl. nie w całym swoim przebiegu jednakowo (str. 202).

Twierdzenia te nasuwają kilka uwag.

Punkt 3. w odniesieniu do *Spirostomum* nie odtwarza istotnego stanu rzeczy. Nigdy bowiem dzięki spiralnemu przebiegowi włókienek <sup>2)</sup> oraz złożonemu ruchowi, skurecz zwierzęcia nie przebiega ściśle w kierunku włókienek. Jeżeli zaś zadowolić się najogólniej pojętą zgodnością obu kierunków, wówczas twierdzenie to staje się tak wieloznaczne, że zatracą wszelką wartość.

Treść twierdzenia 4. została wypowiedziana przez STEINA aż nadto wyraźnie, natomiast twierdzenie 1. może nasunąć pewne wątpliwości o tyle, że pojęcie „entsprechen“ i jemu pokrewne mogą nie oznaczać identity w przebiegu skurezu. Opierając się na tem, co mówi STEIN o elementach kurezliwych i ich funkcji u wymoczków, należałoby uznać, że włókienka kurczą się jak zwykle włókna mięśniowe *Metazoa*, co zresztą pośrednio wynika z ich struktury. A w tym przypadku twierdzenia 1. i 4. wyłączają się wzajemnie.

Pogląd STEINA został przyjęty przez późniejszych autorów bez podania go krytyce, mimo iż nie był sformułowany jednoznacznie, o czem dosadnie przekonywa zestawienie odnośnych miejsc <sup>3)</sup>.

<sup>1)</sup> Według BÜTSCHLI'ego ('87 — 89) ilość obrotów wynosi tylko 1. Wielkość ta zdaje się odpowiada rzeczywistym stosunkom, przynajmniej u *var. maior*.

<sup>2)</sup> STEIN używał wyrazu „pasemka“ w znaczeniu włókienek.

<sup>3)</sup> „Die Contraktionen erfolgen in der Richtung der Körperstreifen, bald nur an bestimmten Gruppen oder an partiellen Strecken derselben, bald an allen zugleich und ihrer ganzen Länge nach. Im ersteren Falle nimmt der Körper eine geschlängelt-schraubenförmige Gestalt an oder er dreht sich mit der vordern Hälfte spiralförmig nach rechts oder nach links; im letztern Falle schnell er plötzlich, indem er sich gleichzeitig schraubenförmig um seine Axe windet, der Länge nach mit grosser Energie zusammen“ (STEIN '67, str. 189). „Hieraus ergibt sich, dass die schraubenförmige Drehung und das Zusammenschnellen des Körpers dadurch erfolgt, dass sich die Körperstreifen nicht gleichzeitig und gleichmässig verkürzen, sondern dass ein gewisser Complex von Streifen, wie der, welcher dem mittleren Feld in Fig. 3. entspricht, sich früher und stärker contrahirt, als die übrigen Streifen, und dass die Streifen eines Complexes sich wieder nur streckenweise in grösseren Längsabschnitten contrahiren“ (STEIN '67, str. 202).

Niemniej trudno uznać ten pogląd za należyście uzasadniony, STEIN bowiem ani razu nie wspomina o charakterze związku, zachodzącego pomiędzy kurczeniem się włókienek a bardzo złożonym ruchem, jaki zachodzi w czasie skurczu zwierzęcia. A przecież związek ten nie jest aż tak oczywisty, iżby można było uznać pogląd STEINA za uzasadniony bez szczególnego wyjaśnienia mechanizmu tego zjawiska.

Pogląd ten wreszcie nie może być uznany za słuszny i to niezależnie od interpretacji pojęcia skurczu włókienek. Przypuśćmy narazie, że włókienka się kurczą podobnie, jak mięsień w łydźce *Vorticellidae*. Jeżeli, jak to zaznacza STEIN, włókienka rozmaitych wymoczków posiadają jednakie cechy istotne (Wesenheit), to jak wytłumaczyć bądź co bądź znaczną różnicę w przebiegu skurczu *Stentora* a *Spirostomum*? Prócz tego, czy w tym przypadku konieczne jest do wywołania skurczu zwierzęcia, ażeby się kurczyły nie wszystkie włókienka, wzgl. nie w całym swoim przebiegu jednakowo, o czym STEIN mówi niemniej wyraźnie, podając to właśnie, jako istotną przyczynę skurczu? Trudności są oczywiste i zbyt poważne, aby je ominąć i uznać pogląd STEINA w tej interpretacji za słuszny.

Weźmy pod rozwagę drugą możliwość: włókienka się kurczą jak zwykle włókna mięsne. Wówczas bez względu na to, czy kurczą się wszystkie włókienka, czy tylko pewna ich część, wzgl. czy to zjawisko zachodzi na całej długości włókienek, czy też dotyczy pewnych tylko odcinków, zawsze wynikiem skurczu włókienka jest zbliżenie się ku sobie jego końców, a w przypadku *Spirostomum* — spiralny przebieg włókienek i możliwość skręcenia ciała dokoła osi — rozkręcenie spirali i, eo ipso, lekkie skręcenie ciała zwierzęcia dokoła jego osi, ale w kierunku odwrotnym do obserwowanego przy skurczu. Czyli pogląd STEINA i w tej interpretacji nie może być uznany za słuszny.

Po tej niezbędnej dygresji wracam do historii zagadnienia.

Dłuższa przerwa poprzedza ukazanie się pracy MAIERA ('03). Stosując metody utrwalania i barwienia, wykazał ten autor w komórce *Spirostomum*: a) układ włókienek, przebiegających w kierunku pasemek i tuż od niemi położonych, b) dwa grubsze włókna („zonale Myoneme“), leżące wzdłuż peristomu po jednym z każdej strony, oraz c) dużo krótkich włókienek, leżących na obwodzie tuż pod pellikulą i przebiegających okrężnie na przestrzeni niewielkiej części obwodu. Trzy te rodzaje włókienek uznaje autor za włókienka kurczliwe, wyobrażając sobie ich rolę w mechanizmie skurczu w sposób nader zawiły <sup>1)</sup>.

<sup>1)</sup> „Vielleicht bewirken diese „zonalen“ Myoneme, wie wir sie nennen wollen, die wiederholt beobachtete Torsion des *Spirostomum* von der STEIN annahm, dass sie darauf beruhe, dass sich nicht die Myoneme aller Körperstreifen gleichzeitig kontrahieren, wie bei normaler Zusammenziehung, sondern nur eine Anzahl benachbarter. Bei solchen Spirostomeen erfolgt also die Kontraktion längs eines den Körper schraubig umziehenden Bandes nach Art des Vorticellenstieles. Die Wirkung eines solchen Bandes ist vielleicht auf die beiden starken zonalen Myoneme zurückzuführen“ (MAIER '03, str. 110).

Przytaczam ten ustęp w całości jako dosadną charakterystykę stosowanych podówczas metod „tłumaczenia“ badanych zjawisk.

Nieco później ukazała się praca PÜTTERA ('04 a), poświęcona zresztą innym zagadnieniom, w której autor stwierdził niezależność czynnościową włókienek podłużnych i włókien zonalnych. Nadto uznał, że włókienka okrężne są czynne w czasie rozkurczu oraz, że przy skurczu zwierzęcia wszystkie podłużne włókienka kurczą się jednakowo.

Na tem kończę przegląd piśmiennictwa, ponieważ inne prace, dotyczące *Spirostomum*, do ostatnich włącznie nie zawierają nic nowego z dziedziny interesującego nas zagadnienia.

Krytyczne rozpatrzenie poglądu STEINA i jego ewolucji nasuwa następujące uwagi.

Ewolucja i stan obecny zagadnienia skurczu *Spirostomum* nie odpowiadają postępowi, dokonany w pokrewnych dziedzinach biologii.

Pogląd STEINA ('67) na rolę włókienek w skurczu *Spirostomum* nie może być uznany za słuszny. Mógłby jednak zostać uzgodniony z ogólnie znanym przebiegiem skurczu w postaci twierdzenia 4. po odrzuceniu dodatkowych założeń i hipotez <sup>1)</sup>.

Badania własne. Pomijając ogólny opis zjawiska skurczu, jako dobrze znany, poprzestaję na podkreśleniu kilku punktów.

1°. Ruch spiralny nie ogranicza się do części powierzchniowych, ale ogarnia i głębiej położone jądro, kanał wodniczka kurczliwego, wodniczki pokarmowe i t. d.

2°. Przy rozważaniu zmian, zachodzących w czasie skurczu, dowolnie obrany przekrój wzgl. jeden z końców ciała może być warunkowo przyjęty za pozostający w spoczynku. Szybkość linjowa i droga, dowolnie obranej cząstki są funkcjami odległości od tego przekroju (do końców ciała) oraz od osi zwierzęcia (ku obwodowi).

3°. Ruch cząstek ciała zachodzi tak, jakgdyby był wypadkową 2 ruchów: wzdłuż osi ciała (dośrodkowo) i obrotowego. Całkowite skręcenie wynosi około 2 obrotów.

4°. Cząstki, leżące w tej części zwierzęcia, którą można uważać za walec, poruszają się po krzywych, opasujących powierzchnię walca i nachylonych do osi zwierzęcia pod kątem około 45°. Na powierzchni rozwiniętej krzywym tym odpowiadają proste, tak samo nachylone do osi. Cząstki, leżące na końcach ciała, którego powierzchnia w tych miejscach znacznie się różni od powierzchni walca, poruszają się inaczej.

<sup>1)</sup> O niezgodności poglądu STEINA z przebiegiem rozkurczu p. niżej.

Zjawisko rozkurczu, niemal pomijane w opisach autorów, nie jest li-tylko odwróceniem poprzedniego zjawiska, ale posiada swoisty przebieg.

Jeżeli umieścić *Spirostoma* na szkiełku w kropli wody wzgl. pożywki i przykryć szkiełkiem pokrywkowym, ograniczając w ten sposób swobodę ich ruchów <sup>1)</sup>, wówczas można łatwo stwierdzić, że wskutek mechanicznej podniety, jaką może być np. lekkie uderzenie stolika mikroskopu, następuje raptowny skurcz zwierzęcia, a w chwilę później, gdy ustanie działanie podniety, powrót do stanu rozkurczu. Otóż w okresie rozkurczu we wszystkich przypadkach, kiedy analiza ruchów była możliwa, mogłem stwierdzić, że powrót do stanu rozkurczu zaczyna się od wydłużania ciała i że dopiero później, po stosunkowo znacznem wydłużeniu, *Spirostomum* zaczyna się rozkręcać i wraca do stanu zupełnego rozkurczu. Dwie te fazy dają się łatwo zaobserwować dzięki temu, że zazwyczaj ciemno zabarwiony brzeg peristomu jest dobrze widoczny.

Niemniej łatwo można zaobserwować dwufazowość rozkurczu i w tych przypadkach, gdy *Spirostoma* zostaną umieszczone w drobnej zawieszynie karminu Grüblera. Pod wpływem słabych bodźców, jakimi są drobne cząstki karminu, występują dość często skurcze, przyczem w okresie rozkurczu ruch obrotowy zwierząt niekiedy ustaje i dzięki temu można łatwo zaobserwować niezależność ruchów wydłużania się i rozkręcania. Spostrzeżenia, w tych warunkach dokonane, usuwają — rzecz jasna — zarzuty, jakie możnaby podnieść w wypadku stosowania wyłącznie pierwszej metody (zmiany w organizmie *Spirostomum*, wywołane uciskiem szkiełka pokrywkowego).

Okoliczność, że ruchy te, niejednocześnie występujące, nie zostały od siebie oddzielone przez żadnego z badaczy, wynika zapewne stąd, że w okresie rozkurczu *Spirostoma*, obracając się dość szybko dokoła osi — najczęściej na prawo ze stanowiska obserwatora, — wywołują złudzenie jednolitego ruchu tak dalece, że robiąc spostrzeżenia w zwykłych warunkach nie mogłem odróżnić obu jego składników, mimo że wielokrotnie stwierdzałem oddzielne ich występowanie w warunkach doświadczenia.

---

<sup>1)</sup> Daje się to łatwo wykonać, opierając szkiełko pokrywkowe na nóżkach z wosku lub z mieszaniny parafiny z wazeliną. Lekko naciskając szkiełko, można osiągnąć żądany stopień unieruchomienia.



Hipotetyczny mechanizm skurczu. Z dwufazowości rozkurczu wynika istnienie w ciele *Spirostomum* dwufazowego mechanizmu<sup>1)</sup>. Mechanizm ten może być czynny a) tylko w czasie skurczu, b) w rozkurczu, c) zarówno w skurczu jak i w rozkurczu. Jakkolwiek obecny stan badań w tej dziedzinie nie pozwala na dokonanie zdecydowanego wyboru, będą w dalszym ciągu omawiał tę sprawę ze stanowiska pierwszej możliwości: mechanizm dwufazowy jest czynny tylko w czasie skurczu. Skłania mnie do tego okoliczność, że w zjawisku rozkurczu czynne są w pierwszym rzędzie siły, powstające przy odkształceniach w czasie skurczu, a więc nie działające dwukierunkowo (wydłużenie i rozkręcenie), wobec czego istnienie dwufazowego mechanizmu, czynnego w czasie rozkurczu, nie wydaje się prawdopodobne. Niemniej przemawia za tem i stosunkowo powolny przebieg skurczu.

Dwufazowy mechanizm, którego fazy zlewają się w szybkim skurczu, a mogą być oddzielone w okresie rozkurczu, może się składać z 2 układów włókienek kurczliwych. Jeden z tych układów — to włókienka, przebiegające w kierunku przebiegu pasek. Powodowałyby one w czasie skurczu skracanie się zwierzęcia, połączone z lekkim skruceniem na prawo, wywołanem nieco ukośnym przebiegiem tych włókienek. Drugi układ byłby utworzony przez włókienka, przebiegające spiralnie<sup>2)</sup>. O ich przebiegu można wypowiedzieć pewne przypuszczenia, opierając się na faktach, zaobserwowanych w czasie skurczu. Przebiegałyby więc one pod pewnym kątem do włókienek podłużnych. Z zasady równoległoboku sił wynika, że kierunek wypadkowej zależy od względnej wielkości obu tych sił oraz od wielkości kąta, utworzonego przez ich kierunki. Przyjęcie układu włókienek spiralnych, przebiegających niemal prostopadle do podłużnych, doprowadza do następującej konsekwencji: przy takim układzie sił ich

---

<sup>1)</sup> Z powyższego wynika konieczność odrzucenia poglądów, opartych li-tylko na istnieniu układów jednofazowych.

<sup>2)</sup> Włókienka okrężne mogłyby w czasie skurczu skrócić *Spirostomum* tylko wtedy, gdyby ich części końcowe lub początkowe były ustalone na jakiejś krzywej, przebiegającej spiralnie. Takiej zaś krzywej u *Spirostomum* nie stwierdzono i jej istnienie wydaje się zgoła nieprawdopodobne. To samo dotyczy układów włókienek spiralnych o b. zbliżonych skrętach i kilku zaledwie obrotach.

wielkości musiałyby być niemal równe, skąd wobec wielkiej liczby zwojów, utworzonych przez układ spiralny, liczba obrotów organizmu w stanie skurczu wyniosłaby dużo więcej od obserwowanej. Prócz tego tak przebiegający układ hamowałby działanie układu podłużnego. Zakładając, że kąt pochylenia wynosi ok.  $45^{\circ}$  i rozumując analogicznie, dochodzimy do zupełnie odmiennej konsekwencji — zbyt małej liczby zwojów spiralnych oraz do znikomo małej ich siły kurczliwej, co znów zaprzecza faktom. Najbardziej prawdopodobne wydaje się przypuszczenie, że kąt pochylenia obu układów wynosi ok.  $60^{\circ}$  —  $70^{\circ}$ . Wówczas włókienka spiralne tworzyłyby kilka obrotów i przy współdziałaniu włókien podłużnych mogłyby powodować zmiany, obserwowane w czasie skurczu.



Rys. 3.  
*Spirostomum ambi-*  
*guum*. Hipotetycz-  
ny przebieg spiral-  
nego włókienka  
(schemat).

Fig. 1.  
*Spirostomum ambi-*  
*guum*. Schematische  
Darstellung des hy-  
pothetischen Ver-  
laufs einer Spiral-  
fibrille.

Obydwu tym układom należy przypisać znaczny, zapewne jednakowy stopień pobudliwości, niejednakową natomiast szybkość powrotu do stanu rozkurczu po ustaniu działania podniety: włókienka podłużne już po krótkotrwałym skurczu przechodzą w stan rozkurczu, podczas gdy skurcz włókienek spiralnych trwa dłużej, tak że wskutek działania czynników rozkurczu organizm zdąży stosunkowo znacznie się wydłużyć, zanim ustanie skurcz włókienek spiralnych i organizm zacznie się rozkręcać. Dwufazowość rozkurczu byłaby więc wynikiem częściowego hamowania procesu przez włókienka spiralne.

Powyższa hipoteza tłumaczy zasadnicze fakty, obserwowane w czasie skurczu, oraz dwufazowość rozkurczu, i uzyskałaby wiele prawdopodobieństwa, gdyby się udało stwierdzić w ciele *Spirostomum* obecność obydwu układów włókienek.

Istnienie włókienek podłużnych nie nasuwa wątpliwości. Interpretacja włókienek okrężnych w sensie morfologicznych odpowiedników włókienek układu spiralnego zyskuje na prawdopodobieństwie, jeśli się zważy, że na przekrojach poprzecznych zwierzęcia włókienka spiralne, przebiegające pod kątem około  $60^{\circ}$  —  $70^{\circ}$  do włókienek podłużnych, mogą dać obrazy, odpowiadające obra-

zom włókienek okrężnych, dzięki temu, że w czasie skurczu zwoje spirali zbliżają się ku sobie, podczas gdy kąt wzajemnego pochylenia obu układów wzrasta.

Hipoteza dwufazowego mechanizmu skurczu zyskuje w ten sposób na prawdopodobieństwie, nie wystarczającym jednak, do uznania jej za należycie udowodnioną. Sądzę, że obecny stan badań w tej dziedzinie nie pozwala jeszcze na ostateczne rozwiązanie zagadnienia. Należy się spodziewać, że przyszłość rzuci więcej światła na tę sprawę, kierując ją, być może, na zasadniczo inne tory. Dalsze badania powinny pójść w kierunku pogłębienia naszej znajomości struktur, zawartych w komórce *Spirostomum*, oraz wszechstronnego poznania przebiegu zjawiska w zmiennych warunkach otoczenia i pod wpływem rozmaitych bodźców.

#### Streszczenie wyników.

Wbrew poglądom, wypowiedzianym przez niektórych autorów, *Spirostomum ambiguum* EHRBG. daje się łatwo hodować w odwarze siana, zawierającym bakterje.

Rozmieszczenie osobników w hodowlach ulega okresowym zmianom, odpowiednio do zmian, zachodzących w środowisku.

Wyniki doświadczeń z karminem i żółtkiem przemawiają za tem, że jakość pobranych substancyj nie wpływa na drogę, jaką wodniczki pokarmowe przebywają w ciele *Spirostomum*.

Wydaje się prawdopodobnym, że proces rozkurczu zachodzi wskutek działania sił, rozwijających się przy odkształceniach, które powstają w czasie skurczu.

Stwierdzono dwufazowość rozkurczu — wydłużanie się i rozkręcanie się *Spirostomum* zachodzą niejednocześnie.

Dwufazowość rozkurczu pociąga za sobą konieczność odrzucenia poglądów, tłumaczących zjawisko skurczu li-tylko za pomocą jednofazowego mechanizmu.

Strukturalne podłoże mechanizmu skurczu można wyobrazić jako zespół dwóch rodzajów włókienek kurczliwych — podłużnych i spiralnych — nachylonych ku sobie pod kątem około 60°. Dwufazowość rozkurczu byłaby wynikiem częściowego hamowania procesu przez włókienka spiralne. Obecny stan badań nie pozwala jednak na ostateczne rozwiązanie zagadnienia skurczu *Spirostomum*.

## Piśmiennictwo.

**Bishop A.** 1923. Some observations upon *Spirostomum ambiguum* Ehrbg. Quart. Journ. of Micr. Sc. **67** (391). **Bishop A.** 1927. The cytoplasmic structures of *Spirostomum ambiguum* Ehrbg. Quart. Journ. of Micr. Sc. **71** (147). **Blättner H.** 1926. Beiträge zur Reizphysiologie von *Spirostomum ambiguum* Ehrbg. Arch. f. Protistenkunde. **53** (253). **Bütschli O.** 1887 — 1889. *Protozoa*. III. *Infusoria* und System der *Radiolaria*. Leipzig. **Calkins Gary N.** 1926. The biology of the *Protozoa*. Philad., New-York. **Doflein F.** 1927. Lehrbuch der Protozoenkunde. V Aufl. Jena. **Eyferth's B.** 1909. Einfachste Lebensformen des Tier- und Pflanzenreiches. IV Aufl. Braunschweig. **Maier H. N.** 1903. Über den feineren Bau der Wimperapparate der Infusorien. Arch. f. Protistenkunde. **2** (73). **Neresheimer E. R.** 1903. Über die Höhe histologischer Differenzierung bei heterotrichen Ciliaten. Arch. f. Protistenkunde. **2** (305). **Pütter A.** 1904. Die Reizbeantwortungen der ciliaten Infusorien. Zeitschr. f. allg. Physiologie. **3** (406). **Saunders J. T.** 1924. The effect of the hydrogen ion concentration on the behaviour, growth and occurrence of *Spirostomum*. Proceedings of the Cambridge Philosophical Society. **1** (189). **Stein F.** 1867. Der Organismus der Infusionsthiere. II Abt. Leipzig. **Wallengren H.** 1903. Zur Kenntnis der Galvanotaxis. Zeitschr. f. allg. Physiologie. **2** (516). **Wetzel A.** 1925. Vergleichend cytologische Untersuchungen an Ciliaten. Arch. f. Protistenkunde. **51** (209).

[Zakład Chemji Fizjologicznej Uniwersytetu Warszawskiego]

D. Assenhajm.

**O ilościowym oznaczeniu puryn w kwasie nukleinowym drożdżowym metodą Steudela.**

*Über die quantitative Bestimmung der Purinbasen in Hefenukleinsäure nach Steudel's Methode.*

Rękopis nadesłany w dniu 14.XII.1929 r.

In Hinsicht darauf, dass die bei der Isolierung der Purin-nukleinsäuren von STEUDEL ('24) angewandete Methode des Purinniederschlagens nach manchen Autoren bedeutende Verluste nach sich zieht, entstand die Notwendigkeit dieselben zu prüfen, eventuell eine Modification hineinzuführen. Die vergleichende parallele Bestimmungen mit den hydrolysierten Präparaten der Hefenukleinsäure (Merck, Boehringer) führten zu Ergebnissen, aus denen folgendes entsteht: die einmalige Kupfermethode zur Purinisolierung ist ungenügend, dagegen ist die zweimalige Kupfermethode bei der Bestimmung der gesamten Purin-N zu empfehlen (Verluste betragen kaum 6.6%); bei der zweimaligen Kupfer-Methode wie bei Kupfer-Silber-Methode wird 81 — 83% der theoretisch gedenkten Purin-N erhalten. Die zweimalige Kupfer-Methode gibt reinere Guaninpräparate und eine nur geringe Menge künstlich entstandenes Hypoxanthins.

W związku z odkryciem przez EMBDENA i ZIMMERMANA ('27) mononukleotydu — kwasu adenilowego (adenozynofosforowego) w mięśniach i stwierdzeniu genetycznego związku tego ciała ze stałym składnikiem mięśni, znanym oddawna kwasem inozynowym, stało się aktualnym dokładne poznanie ilości poszczególnych puryn mięśni, a szczególnie — udziału ich w różnych formach związków purynowych, t. j. poli- i mononukleotydach, nukleozydach i wolnych purynach.

Jedyną metodą, pozwalającą dzisiaj na tego rodzaju ilościowe oznaczania puryn w tkankach, jest metoda podana przez STEUDELA ('24); oparta na dawnych pracach BRUHNSA ('90), WULFA ('93), KRÜGERA i SCHITTENHELMA ('05) i innych, jest ona dzisiaj może najlepszą próbą zużytkowania dotychczasowych badań nad własnościami poszczególnych puryn do racjonalnego ich rozdzielania i oznaczania. Metoda ta z pewnymi modyfikacjami była stosowana ostatnio do badań nad purynami mięśni przez PARNASA ('28, '29) i DMOCHOWSKIEGO ('29); pewne rozbieżności wyników, jak np. w ilościach izolowanej guaniny, a przede wszystkim niedostateczna wydajność izolowanych puryn, wynosząca zaledwie  $\frac{2}{3}$  w porównaniu z oznaczoną jednocześnie (metodą KRÜGERA i SCHITTENHELMA) całkowitą ilością azotu purynowego (DMOCHOWSKI '24), wysunęły konieczność sprawdzenia metody STEUDELA na jakichkolwiek czystych preparatach kw. nukleinowego. Co się tyczy ilościowego oznaczania całkowitego azotu purynowego (Np), to żadna ze stosowanych obecnie metod nie może być uważana za zupełnie dokładną; metoda BURIANA i HALLA według SCHAEFFERA i LE BRETON ('23) daje za niskie rezultaty, podobnie w metodzie KRÜGERA i SCHITTENHELMA ('05), stosowanej do czystych preparatów kw. nukleinowego (KOLLMAN '24), jednorazowe strącanie  $\text{CuSO}_4 + \text{NaHSO}_3$ , jakoby nie oczyszcza należycie frakcji purynowej, kombinacja zaś jednorazowego strącenia miedzią i następnie srebrem w amonjalkalnym roztworze, daje straty, dochodzące według KOLLMANA ('24) i ALDERSA ('27) do 25%.

Zadaniem naszej pracy było: 1<sup>o</sup>, stwierdzenie, czy metoda STEUDELA, zastosowana do możliwie czystych preparatów kw. nukleinowego (przedewszystkiem drożdżowego — jako najbardziej zbliżonego do nukleotydów pentozowych mięśni), daje w rezul-

tacie wyniki, mogące być uważane za ilościowe i zbliżone do teoretycznych; 2<sup>o</sup>, czy ewentualna modyfikacja przez zastąpienie w metodzie STEUDELA drugiego strącania srebrem — strąceniem miedzią nie usunie strat azotu purynowego, obserwowanych przez KOLLMANA i jak wpływa ona na wydajność poszczególnych izolowanych puryn; 3<sup>o</sup>, w jakim stopniu w danych warunkach adenina i guanina, przyjmowane jako jedyne aminopuryny, występujące w kwasie nukleinowym, ulegają dezaminacji na hipoksantynę i ksantynę i które z tych puryn dają najwyższe straty w analizie ilościowej.

Jednocześnie ilościowe oznaczenie poszczególnych puryn w preparatach kw. nukleinowego drożdżowego stanowiłoby nowy przyczynek do badań nad składem tego kwasu, chociaż bowiem uznana ogólnie nukleotydoma koncepcja LEVENE'A przyjmuje występowanie tylko adeniny i guaniny w cząsteczce pentozowego kwasu nukleinowego, i to w ilościach równoważnych, tem niemniej brak jest wyczerpujących oznaczeń tych puryn: od czasu pracy LEVENE'A ('09), który otrzymał (strącając  $\text{Ag}_2\text{SO}_4$ ) około 90% teoretycznej ilości puryn, tylko KOWALEWSKA ('10) usiłowała oznaczyć ilościowo puryny z kw. nukleinowego; niestety zbyt mocne kwasy (30%), używane przez nią do hydrolizy, powodowały znaczny rozpad związków purynowych.

#### Część doświadczalna.

Do doświadczeń użyłem nukleinjanu sodu (Boehringer) i kwasu nukleinowego (Merck); preparat Boehringera okazał się czystszy i zawierał 14.3% azotu (na suchą substancję). Preparat Mercka 14.7% azotu; według wzoru LEVENE'A  $\text{C}_{38}\text{H}_{49}\text{N}_{15}\text{P}_4\text{O}_{28}$  na kwas nukleinowy pentozowy, sól sodowa z 4 atomami sodu powinna zawierać 15.2% N, z 8 atomami sodu 14.2% N.

Hydroliza była przeprowadzona zgodnie ze wskazówkami SCHAEFFERA i LE BRETON przez 4 godzin i w 4%  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ; strącanie i oczyszczanie puryn przeprowadzono równolegle trzema metodami: a) przez jednorazowe strącanie  $\text{CuSO}_4 + \text{NaHSO}_3$  i rozłożenie zapomocą  $\text{Na}_2\text{S}$ ; b)  $\text{CuSO}_4 + \text{NaHSO}_3$  i  $\text{AgNO}_3 + \text{NH}_3$ ; c) dwukrotne strącanie miedzią i rozkład  $\text{Na}_2\text{S}$ . Rozkładanie i oczyszczanie związków miedziowych puryn, gdy chodzi o talk stężone roztwory guaniny, jakie spotykamy w hydroliza-

tach z kwasu nukleinowego, musi być przeprowadzone z pewnymi ostrożnościami; w celu uniknięcia strat, jak się okazało, należy: a) pracować z rozcieńczonymi roztworami, b) unikać wytwarzania środowiska obojętnego, c) doskonale wygotować siarczki miedzi rozcieńczonym kwasem siarkowym, d) nie stężyć zbytnio roztworu przed ostatecznym strącaniem guaniny amonjakiem, gdyż powoduje to domieszkę adeniny. Strącając pikrynan adeniny ściśle według przepisów STEUDELA, niejednokrotnie otrzymano zbyt niskie ilości w porównaniu do teoretycznych (nawet po uwzględnieniu powstałej sztucznie hipoksantyny); oddzielanie i oznaczanie hipoksantyny w postaci pikrynanu (według STEUDELA) okazało się zupełnie niedokładne. Ksantyny znaleziono tylko ślady.

Za podstawę porównawczą strat azotu purynowego przy izolowaniu puryn, obrano całkowity azot pierwszego osadu miedziowego z odbiałzonego (kw. octowym) hydrolizatu kw. nukleinowego, po rozłożeniu siarczkiem sodu i wygotowaniu  $\text{CuS}$ ; przesącz od siarczku miedzi stanowi teoretycznie całkowity azot purynowy (Np) i w czystych preparatach kw. nukleinowego winien wynosić  $\frac{2}{3}$  całkowitej ilości azotu; jak widzimy z tabeli I, stanowi on — w porównaniu do azotu hydrolizatu (po odjęciu resztek białka z  $\text{CH}_3\text{COOH}$  i zanieczyszczeń pozostałych w siarczках miedzi) — od 66.5% do 69.6%, średnio 68.4%.

Straty zarówno w całkowitym azocie purynowym przy dalszym oczyszczaniu, jak i przy izolowaniu poszczególnych puryn zależą (tab. I i II) od rodzaju stosowanej metody. Metoda miedziowo-srebrowa wykazuje w porównaniu z pojedynczą miedziową straty w ogólnym azocie purynowym, sięgające 17%, podwójna miedziowa zaledwie 6.6%, natomiast przy dalszym izolowaniu poszczególnych puryn — pojedyncza miedziowa daje 18.6% strat, miedziowo-srebrowa 2.2%, podwójnie miedziowa 10.8% (tab. II), tak że ostatecznie straty są do siebie zbliżone i wahają się w granicach od 17 — 19%. W zależności od metody spostrzegamy różnice w procentowej zawartości azotu guaniny; największe odchylenie wykazuje guanina w metodzie jednorazowego strącania miedzią, co zgadza się z brudnym wyglądem puryny; druga pod względem czystości jest guanina, otrzymana metodą srebrową, gdzie odchylenia od normy są mniej znaczne; najczystszym preparatem jest guanina strącona dwa razy miedzią, której tak pro-



Tabela I.

Ilość puryn kwasu nukleinowego drożdżowego w poszczególnych stadiach izolowania.  
Die Menge der Purinen in Hefenkleinsäure in einzelnen Stadien der Isolierung.

Preparat	Metoda	Waga preparatu kw. nuklei- nowego Gewicht der Hefenklein- säure	N po hydrolizie N nach der Hydrolyse	N osadu od kw. octowego N des Essigsäureentde- schlags	N w pierwszych stazkach N in den Sulfiden	$\text{CuSO}_4$ i rozbitiu $\text{Na}_2\text{S}$ Np do drugiem stazceni Np des zerlegten zweiten Cu-Niederschlags	N stazekow drugich N in den zweiten Sulfiden	N po stazceni srebrnem N des zerlegten Ag-Nie- derschlags	Straty przy oczyszczaniu ogólny ilosc puryn Verluste bei der Reinigung der gesamten Purinen	Waga pikryjanu adeniny Das Gewicht des Pikrynsäu- res-Adenin	N adeniny N adenin	Waga guaniny Guanin in g.	N guaniny Guanin-N	% azotu w gwaninie N % im Guanin	N hipoksanliny Hypoxanthin-N	Straty przy izolowaniu po- szcególnych puryn Verluste bei der Isolierung der einzelnen Purinen	
Boehringer	$\text{CuSO}_4$	1.5801	0.2270	0.005	0.011	0.1477	0.014	—	—	0.350	0.068	0.168	0.074	44	+	10	13.7
M e r c k	$\text{CuSO}_4$	5.2740	0.7824	0.161	—	0.1604	—	—	9	0.270	0.052	0.160	0.074	46.3	Ślady	1	16.7
	$\text{AgNO}_3$ $\text{CuSO}_4$ $\text{CuSO}_4$	5.7261	0.8496	0.190	—	0.167	0.176	0.128	3	>0.352	>0.068	0.170	0.0787	46.4	Ślady	24	3.1
M e r c k	$\text{CuSO}_4$	—	—	—	—	0.160	—	—	—	0.225	0.043	0.210	0.084	40	+	—	—
M e r c k	$\text{CuSO}_4$ $\text{AgNO}_3$ $\text{CuSO}_4$	—	—	—	—	0.160	—	—	—	0.365	0.070	0.156	0.075	48	0.003	22	—
M e r c k	$\text{CuSO}_4$ $\text{AgNO}_3$ $\text{CuSO}_4$	—	—	—	—	0.160	—	—	—	0.355	0.088	0.119	0.056	47	+++	3.1	—

centowa zawartość azotu, jak i kolor wskazuje na zupełną czystość. Punkt topliwości krystalicznego pikrynanu adeniny jest we wszystkich przypadkach zadawalający (278 — 280°); jednak zauważyć należy, że metodą pojedynczego strącania miedzią otrzymuje się niższy punkt, niż w pozostałych metodach. Ilość sztucznie powstałej hipoksyantyny zwiększa się przy metodzie srebrowej; wreszcie z tabeli wnioskujemy, że straty poszczególnych puryn dotyczą w większej mierze adeniny, niż guaniny.

### Dyskusja.

Wziąwszy pod uwagę rezultaty przez nas otrzymane, stwierdzić należy, że słusznem jest twierdzenie KOLLMANA, jakoby jednorazowe strącanie miedzią było niedostateczne dla oczyszczania puryn, natomiast niezgodne są jego rezultaty z naszymi, gdy chodzi o metodę miedziowo-srebrową.

Średnia strat według KOLLMANA wynosi w tej metodzie 25%, natomiast, jak wynika z naszych danych (tab. II), średnia strat równa się 17%. Zrozumiałą stanie się ta rozbieżność, o ile weźmiemy pod uwagę to, iż KOLLMAN nie uwzględnił tych ostrożności, o jakich wspomnieliśmy w części doświadczalnej w stosunku do guaniny.

Zagadnienie podwójnego strącania miedzią było już poruszone przez SCHITTENHELMA ('05) w pracy nad purynami kału, przyczem autor dochodzi do wniosku, że strącanie całkowitej ilości puryn metodą miedziowo-srebrową daje te same rezultaty, co i podwójnie miedziową. Zaprzeczeniem tego są prace SCHAEFFERA i LE BRETON, którzy stwierdzili na preparatach czystej guaniny i adeniny z dodatkiem białka, że strącanie dwa razy miedzią daje dokładniejsze wyniki, niż metoda miedziowo-srebrowa, przyczem różnica między metodami wynosi średnio 8.5%. Z naszej pracy wynika, że o ile chodzi o poszukiwanie ogólnej ilości puryn — metoda podwójnie miedziowa jest daleko dokładniejsza, gdyż straty wynoszą zaledwie 6.6% (tab. I i II).

Jeśli chodzi o izolowanie poszczególnych puryn to stwierdzić należy, że ostateczne straty są w przybliżeniu jednakowe i wynoszą 17 — 19% (tab. II). Wziąwszy jednak pod uwagę (tab. I), że: 1°, guanina, otrzymana metodą podwójnego strąca-

Tabela II.

Zestawienie porównawcze strat puryn (w % w stosunku do teor. Np).  
*Die Zusammenstellung der Purinverluste (in % Verhältnis zu teor. Np).*

Metoda <i>Methoden</i>	CuSO <sub>4</sub>	CuSO <sub>4</sub> , AgNO <sub>3</sub>	CuSO <sub>4</sub> , CuSO <sub>4</sub>
Straty przy oczyszczaniu ogólnej ilości N puryn <i>Verluste in % bei Reinigung der Purinen</i>	0%	17%	6.6%
Straty przy izolowaniu poszczególnych puryn <i>Verluste in % bei Isolierung der einzelnen Purinen</i>	18.6%	2.8%	11.6%
Całkowita strata <i>Der ganze Verlust</i>	18.6%	19.2%	17.4%

nia miedzią, jest czystsza od guaniny w metodzie miedziowo-srebrowej, i 2<sup>o</sup>, metoda miedziowo-srebrowa wytwarza większy odsetek sztucznej hipoksantyny, musimy przyjść do wniosku, że również przy izolowaniu poszczególnych puryn metoda podwójnego strącania miedzią jest bardziej wskazana.

#### Streszczenie.

Metoda jednorazowego strącania puryn zapomocą CuSO<sub>4</sub> + NaHSO<sub>3</sub> jest dla celów izolowania poszczególnych puryn kwasów nukleinowych niedostateczna, wskazaną natomiast jest zarówno przy oznaczeniu ogólnej ilości azotu puryn jak i przy izolowaniu poszczególnych puryn (STEUDEL) metoda podwójnego strącania miedzią, jako korzystniejsza nawet od miedziowo-srebrowej. Zarówno metoda miedziowo-srebrowa, jak i podwójna miedziowa, daje przy izolowaniu poszczególnych puryn kwasu nukleinowego drożdżowego średnio 81 — 83% wydajności w stosunku do azotu otrzymanego z rozłożenia pierwszego osadu miedziowo-purynowego (teoretycznego Np).

#### Piśmiennictwo.

- Alders N. 1927. Kritisches und Experimentelles über die Bestimmung des Nukleinsäuregehalts von Organen. *Bioch. Zeitschr.* **181** (400).  
 Bruhns G. 1890. Über Adenin und Hypoxanthin. *Zeitschr. f. physiol. Chem.* **14** (533).  
 Dmochowski A. 1929 O purynach mięśni. *Acta Biol. Experim.* **4** (51).  
 Kollman G. 1924 Zur Kritik des üblichen Verfahrens zur Ermittlung des

Purinbasengehaltes von Nahrungsmitteln. *Bioch. Zeitschr.* **144** (219). **Kowalesky A.** 1910. Über die Zusammensetzung der Nukleinsäure aus Hefe. *Zeitschr. f. physiol. Chem.* **69** (240). **Krüger und Salomon.** 1898/9. Die Alloxurbasen des Harnes. *Zeitschr. f. physiol. Chem.* **26** (350). **Krüger und Schittenhelm.** 1902. Die Purinkörper der menschlichen Faeces. *Zeitschr. f. physiol. Chem.* **35** (153). **Krüger und Schittenhelm.** 1905. Die Menge und Herkunft der Purinkörper in dem menschlichen Faeces. *Zeitschr. f. physiol. Chem.* **45** (14). **Levene P. A.** 1909. Über die Hefenukleinsäure. *Bioch. Zeitschr.* **17** (120). **Parnas J. K.** 1928. Über die Amoniakbildung in Muskel und ihren Zusammenhang mit Funktion und Zustandsänderung. *Bioch. Zeitschr.* **206** (16). **Schaeffer et Elianne le Breton.** 1923. Variations biochimiques du rapport nucleo-plasmatique. Paris. **Wulff C.** 1893. Beiträge zur Kenntnis der Nukleinbasen. *Zeitschr. f. physiol. Chem.* **17** (468).

[Zakład Morfologii Doświadczalnej Instytutu im. Nenckiego]

Olga Krauze.

**Przyczynek do poznania zachowania się dżdżownicy.**

*Beitrag zur Kenntnis des Verhaltens des Regenwurmes.*

Rękopis nadesłany w dniu 14. XII. 1929 r.

In der vorliegenden Arbeit werden die Faktoren, welche das Verhalten der Regenwürmer beim Einziehen verschiedener Gegenstände bestimmen, einer experimentellen Analyse unterworfen. Als Versuchsobjekt dienten grosse Exemplare von *Lumbricus terrestris*, die teils im Freien, teils in in einem Keller aufgestellten Holzkisten beobachtet wurden.

Es werden vier Teile der Blattspreite unterschieden, die auf der Fig. 1 mit Buchstaben bezeichnet worden sind. Dieselben Buchstaben bezeichnen in den Zahlentabellen die beim Einziehen von den Würmern bevorzugten Blattteile. Wie aus der Tab. I folgt, werden die Blätter von Esche, Akazie, Linde und Birke vorwiegend an der Spitze eingezogen, was mit den Ergebnissen früherer Untersucher übereinstimmt. Zwecks Analyse des chemischen Sinnes wurde der Versuch von HANEL in modifizierter Form wiederholt: blattähnliche Ausschnitte mit verkehrter Polarität (Fig. 3) wurden meistens an der neuen Basis eingezogen, was zugunsten einer Bevorzugung der Blattspitze auf Grund chemischer Unterschiede zu sprechen scheint. Jedoch sind in diesem Falle die Widerstandsverhältnisse unübersichtlich, indem der an der Blattbasis wesentlich stärkere Hauptnerv einen grösseren Widerstand bietet. Die Methode der mit zerriebenen und mit Gelatine vermischten Blattteilen bedeckten Holzstäbchen (MANGOLD) ergab, dass innerhalb der Blattspreite keine lokalen vom Regenwurm rezipierten Chemismen vorhanden sind. Die Blattspitze wird von der Blattbasis nicht unterschieden. Demgegenüber üben

alle Blattteile, mit reiner Gelatine verglichen, einen deutlich anziehenden Einfluss aus (Tab. IV).

Was die Form der Blätter anbelangt, so misslangen die Versuche mit Papierdreiecken, indem dieselben, ähnlich wie bei MALEK, von den Tieren überhaupt nicht eingezogen wurden. Aus Blättern geschnittene Dreiecke verschiedener Form (Fig. 4) wurden vorwiegend an deren Basis eingezogen (Tab. V), was gegen den massgebenden Einfluss der Form und zugunsten eines solchen des Widerstandes spricht.

In der Mehrzahl der Fälle werden Weidenblätter an der Spitze eingezogen, was dem in dieser Richtung geringeren Widerstand zugeschrieben werden muss. Die Regenwürmer saugen sich gewöhnlich an den mittleren Teilen der Blattspreite fest, wobei der Hauptnerv quer über die Höhlenmündung zu liegen kommt und einen grossen Widerstand leistet. Die lokalen Unterschiede der Nervendicke sind daher von grosser Bedeutung. Die dem Hauptnerven entlang aus Lindenblättern geschnittenen Streifen werden vorwiegend an deren Spitze eingezogen. Wird jedoch der Hauptnerv des Streifens in seinen dickeren Teilen künstlich verdünnt, so dass in seiner ganzen Länge die Nervendicke ungefähr die nämliche bleibt, so ziehen die Würmer unterschiedlos an den beiden Enden des Streifen ein (Tab. VI). Wenn auch der Einfluss des Widerstandes klar zutage tritt, so macht sich derselbe nur mit einer bestimmten minimalen Grösse des Widerstandes geltend. Solange der Widerstand die Kräfte des Wurmes nicht übertrifft, macht das Tier keine Versuche etwa die Richtung des geringeren Widerstandes zu finden. Junge, weiche Lindenblätter werden in jeder beliebigen Richtung gleich oft eingezogen, ebenso wie aus den distalen Blattteilen geschnittene Kreise (Tab. VI).

Die Beobachtungen der Würmer während der Arbeit konnten eine Zielstrebigkeit des Verhaltens nicht nachweisen.

Beim Einziehen von Kiefernadelpaaren spielt der spezifische Chemismus an der Basis derselben eine wichtige Rolle. Wie aus den Tab. VII — X folgt, ist derselbe lediglich in den basalen Schuppen lokalisiert. Zugleich ist der Widerstand der Nadeln von Bedeutung, indem künstliche Nadelpaare aus Strohhalmen vorwiegend an deren „Basis“ eingezogen wurden (Tab. XI). Weitere Modifikationen der Versuche (Fig. 6, 7 und Tab. XII u. XIII) zeigten, dass die beiden Faktoren: der spezifische Che-

mismus, sowie der Widerstand, voneinander getrennt werden können, indem sie entweder gegeneinander wirken, oder aber summiert werden.

Im theoretischen Teile wird gezeigt, dass in der Arbeit eines Regenwurmes alle Voraussetzungen fehlen, die beim Menschen zur Erkenntnis der Form führen. Es gibt hier kein systematisches Abtasten der Gegenstände, sondern es gibt eine Reihe von Einzelgriffen, die räumlich voneinander sehr weit entfernt sein können und die unmöglich zu einer Formerkenntnis zu führen imstande sind. Das Tier macht keine Versuche die zweckentsprechende Ziehrichtung zu finden, sondern es zieht blindlings an der ersten zufällig angetroffenen Stelle. Der Widerstand spielt sicher eine grosse Rolle, jedoch fehlt auch in diesem Falle jede Bemühung die Richtung des geringeren Widerstandes zu ermitteln. Die Grösse des Widerstandes, sofern sie die Kräfte des Wurmes nicht übertrifft, beeinflusst nicht das Verhalten. In anderen Fällen aber führt aus vielen Einzelbemühungen zufällig eine zum Ziel. Der chemische Faktor ist von Bedeutung, und zwar dürfte derselbe mit der Möglichkeit die eingezogenen Gegenstände als Nahrung auszunützen assoziiert sein. Verffasser hält das Vermögen der Regenwürmer Assoziationen zu bilden für wahrscheinlich, obwohl spezielle Versuche diesbezüglich nicht ange stellt worden sind.

---

Zagadnienie, czy dżdżownice posiadają pewną dozę inteligencji, bierze swój początek w pracy DARWINA z 1881 r. Obserwując życie dżdżownicy i wpływ jaki wywierają na glebę, zauważył DARWIN, że posiadają one instynkt zatykania otworów norek rozmaitemi przedmiotami, a przede wszystkim liśćmi z drzew, pod którymi znajdują się norki. Liście przeważnie wciągają wierzchołkiem ku norce, igły sosnowe złączone parami — nasadą, trójkąty papierowe — kątem najbardziej ostrym. DARWIN wskazuje, że przedmioty te właśnie w ten sposób najłatwiej dadzą się wciągnąć i robak, chwytając za miejsce umożliwiające wciągnięcie przedmiotu z najmniejszym wysiłkiem, kieruje się inteligencją. Jeśli dać robakom do wcią-

gania liście węższe przy nasadzie, niż przy wierzchołku, to przewaga wciągnięć przechyla się ku nasadzie. Zdaniem DARWINA, wciąganie liści nie jest instynktem, gdyż dżdżownice wciągają w sposób celowy trójkąty papierowe i liście takich drzew, które zostały importowane do Anglii w czasach historycznych, a więc instynkt nie mógł jeszcze się wytworzyć. Sposób wciągania może być nabyty przy pomocy inteligencji i dziedzicznie robakom przekazywany. Na wciągniętych przez robaki trójkątach papierowych pozostają wyraźne ślady chwytów. Ponieważ trójkąty, wciągnięte kątem najbardziej ostrym lub koło niego, na pozostałej powierzchni nie były wcale zabrudzone, wnosi DARWIN, że chwytając od razu za dogodnie do wciągnięcia miejsce bez uprzedniego obmacywania dżdżownice zdradzają wyobrażenie kształtu trójkąta i norki. Igły sosnowe wciągają nasadą, kierując się w tym przypadku najmniejszym oporem. Poza tem przypuszcza DARWIN, że przy nasadzie igieł jest coś przyciągającego robaki, są jakieś substancje chemiczne, wywołujące reakcję dodatnią.

Już w pracy DARWINA spotykamy więc rozróżnienie trzech rodzajów możliwych czynników, jakimi kieruje się dżdżownica przy wciąganiu do norki rozmaitych przedmiotów. Są to: 1<sup>o</sup> kształt, 2<sup>o</sup> opór, 3<sup>o</sup> własności chemiczne. Dżdżownica może kierować się kształtem przedmiotu przy wyborze kierunku najmniejszego oporu.

ELIZA HANEL ('04) dochodzi do wniosku, że w pracy dżdżownicy nie ma przejawów psychiki, że działają tylko podrażnienia natury chemicznej, bądźto dotykowej. Robaki nie mają poczucia kształtu jako takiego, a przy wciąganiu liści gra rolę chemotropizm dodatni względem substancji wierzchołka liściowego. Blaszka liściowa działa przyciągająco, ogonek zaś — odpychająco. Ogonek sam, bez blaszki, jest dość chętnie brany przez robaki. Jednakże kształt odgrywa ważną rolę. Gdy dżdżownicy podać trójkąt papierowy, to zwierzę obmacuje go systematycznie z różnych stron i w pewnej chwili następuje chwyt. Wrażenia kinestetyczne, spowodowane przez różną siłę i różną kolejność napięcia mięśni, zależą w wysokim stopniu od kształtu obmacowanego przedmiotu i w tem też znaczeniu dżdżownica powoduje się kształtem. Dla trójkątów ostrokątnych ustala HANEL regułę: refleks chwytu występuje, gdy kolejność obmacywanych boków i kątów jest: krótki bok — kąt — długi bok — kąt. Dzięki temu większość chwytów przypada na kąt najbardziej ostry. Tem się również tłumaczy przewaga nasady przy wciąganiu połączonych ze sobą par igieł sosnowych, które można uważać za trójkąt otwarty z jednej strony i posiadający ostry kąt koło 30°. HANEL odrzuca możliwość dziedziczenia doświadczeń, które są cechami nabytymi. Praca robaka nie wykazuje celowości, lecz jest szeregiem refleksów na podrażnienia mechaniczne. Wnioski HANEL są oparte na badaniu przedmiotów, wciągniętych do norki przez dżdżownicę. Jednak samego procesu wciągania autorka nie obserwowała.

JORDAN ('13) pierwszy obserwował pracę dżdżownic w warunkach naturalnych, w ogrodzie przy słabem świetle lampy. Stwierdził, że robaki nie obmacują trójkątów, lecz chwytają je w punkcie dowolnym. Tem samym upada hipoteza kolejności podrażnień. Chwyty są zupełnie przypadkowe i w pracy robaka wyraźnie występuje metoda „trial and error“ JENNINGSA ('10).



Brak celowości pracy wynika z faktu, że robak często porzuca uchwycony wierzchołek, by chwycić za miejsce o wiele bardziej niedogodne.

MANGOLD (25) badał czynniki, działające przy wciąganiu przez robaki liści, igieł sosnowych oraz rozmaitych innych przedmiotów. Obserwował dżdżownicę w tararach, w nieopalanym pokoju, w których to warunkach pracowały normalnie. Liczne obserwacje procesu wciągania wykazały, że: 1°. Chwyt następuje w punkcie, w którym głowa robaka po raz pierwszy styka się z liściem. 2°. Gdy dżdżownica ciągnie liść ku norce, ogonek opiera się o ziemię i działa na podobieństwo steru, skierowując liść wierzchołkiem naprzód; również i położenie środka ciężkości liścia bliżej nasady wpływa na jego zwrot wierzchołkiem w kierunku norki. 3°. Robak wielokrotnie puszcza liść w trakcie wciągania, chwytając go w coraz to innym punkcie. 4°. Opór przy wierzchołku jest najmniejszy, gdyż tam nerwy są najcieńsze. 5°. Jest wyraźna różnica w chemizmie blaszki i ogonka. Pęczki związanych igieł sosnowych, wycieczone w zakwaszonym alkoholu w celu usunięcia ewentualnych różnic chemizmu i moczone następnie jednym końcem w żelatynie z rozartami drobno suchymi wierzchołkami liści, drugim zaś w żelatynie z rozartami ogonkami, w ogromnej większości przypadków zostały wciągnięte tym pierwszym końcem naprzód. Igły sosnowe są częściej brane za podstawę, gdyż: 1°. Jest to najdogodniejsze miejsce przyssania. 2°. Przy wciąganiu za jedną igłę, druga oparłaby się o brzeg norki. 3°. Jest coś przyciągającego dla robaka przy podstawie. 4°. Ze względu na wymiary przyssawki, pochwyconie igły pojedynczej jest o wiele trudniejsze, niż chwyt u nasady, gdzie igły są złączone. 5°. Dotknięcie łusek u podstawy igieł, wycieczonych uprzednio w zakwaszonym alkoholu, nie powoduje żadnej różnicy zachowania się w porównaniu z dotknięciem wierzchołków.

Odrzuca autor kategorycznie twierdzenie DARWINA, że dżdżownice posiadają wyobrażenie kształtu, oraz hipotezę HANEL o kolejności podrażnień. Przy wciąganiu przedmiotów chemicznie jednorodnych gra rolę tylko opór. Opierając się na pracach YERKESA ('12) i HECKA ('19/20), uważa MANGOLD gromadzenie doświadczenia indywidualnego przez dżdżownice i tworzenie skojarzeń za możliwe. Jednak w warunkach przyrodzonych może to grać rolę tylko podrzędną, ponieważ robaki wykonywują nieraz dalekie wędrówki, podczas których stykają się z przedmiotami coraz to innego kształtu. W przypadku igieł sosnowych warunki są bardziej jednolite i dlatego też powstanie trwałego skojarzenia mechanicznie najdogodniejszego punktu chwytu z podniętą chemiczną przy nasadzie jest do przyjęcia.

Ostatnią publikacją w tej dziedzinie jest praca MALEKA (27). MALEK przeprowadzał doświadczenia tylko w naturalnych warunkach, gdyż w skrzyżniach dżdżownice wcale nie pracowały. Autor wnosi, że dżdżownica potrafi się uczyć i nauka idzie tem szybciej, im dana czynność dla życia robaka jest potrzebniejsza. Jeżeli po pewnej liczbie chwytów nie uda się robakowi liścia wciągnąć, to dżdżownica nie próbuje już więcej. Szybkość tworzenia się skojarzeń jest różna dla rozmaitych czynności. Jedne czynności są plastyczne bardziej lub mniej — inne wcale, i od tego zależy

szybkość tworzenia się asocjacji. Robak porusza się niesystematycznie, więc nie poznaje kształtu. Ma jednak wyczucie przestrzeni i bardzo rozwinięty zmysł dotyku. Może rozróżnić przedmioty z położenia w przestrzeni, lub z ich własności chemicznych. Liście, który był przytwierdzony i ciągnięty przez robaka do 12 razy, dżdżownice nie ciągną już wcale, a jeśli go podać na innym miejscu, chwytają, ciągną 2 — 3 razy i puszczają. Liść poznał robak po pozostałej na nim ślinie. W każdym razie pewną dozę doświadczenia robak osiągnąć może.

Zagadnienie sprowadza się więc właściwie do dwu punktów.

1°. Czy robaki są zdolne gromadzić doświadczenia i asocjacje pamięciowe, a co za tem idzie, czy posiadają pewną dozę inteligencji?

2°. Jakie czynniki wpływają na sposób pracy dżdżownicy?

W pracy niniejszej uwzględniam jedynie to drugie zagadnienie.

#### Materiał i metody.

Doświadczenia wykonywałam na dużych osobnikach *Lumbricus terrestris*. Dżdżownice trzymałam w skrzyniach w piwnicy oraz na gazonie w ogródku. Przez dłuższy czas nie udawało mi się stworzyć odpowiednich warunków w piwnicy, aby dżdżownice intensywnie wciągały podawane im przedmioty. Wreszcie po wielu próbach udało się dostosować wilgotność i stopień ubicia ziemi o tyle, że w ciągu całej zimy miałam w piwnicy 20 — 30 dżdżownic, które dość dobrze pracowały. Skrzynie miałam różnej wielkości, nasypywałam do nich 20 — 30 cm wysoko ziemi zwykłej, nieprzesianej, gdyż pomimo usilnych starań w przesianej ziemi dżdżownice wcale wciągać nie próbowały. Pod koniec zimy obgryzały na powierzchni dawane im liście, ale ani jednego nie wciągnęły. Ziemię podlewałam codziennie, by była miernie wilgotna. Wpuszczałam do każdej skrzyni 20 — 40 robaków. Dżdżownice wybierałam duże, gdyż małe wciągają przedmioty drobne, trudne częstokroć do obserwacji. Z pośród 20 — 40 wpuszczonych do każdej skrzyni dżdżownice pracowało 5 — 10, i nie miałam możności sprawdzić, czy stale pracują te same osobniki, gdyż norki w skrzyniach nie były stałe: coraz to były w innym miejscu, zrobione niedbale. Oświetlałam skrzynie przez parę godzin dziennie światłem żarówki elektrycznej, by chociaż w przybliżeniu zachować rytm dziennie-nocny pracy robaków. Codziennie w południe kładłam przedmioty, które miały dżdżownice podczas nocy wciągnąć — rano sprawdzałam ile i jak zostało wciągniętych.

W ogródku na gazonie porośłym trawą oraz na ścieżce miałam przeszło 200 nerek zamieszkałych przez duże *Lumbricus terrestris*. Ścinałam trawę tuż przy ziemi, by nie przeszkadzała przy ciągnięciu liści przez robaka. Każda norka zaopatrzona była w numer. Norki były stałe. Ponumerowałam je na jesieni, a na wiosnę stwierdziłam, że są w tem samym

miejscu. Czy są w nich stale te same osobniki nie mogę stwierdzić, więc trudno jest wnioskować coś o indywidualności poszczególnych numerów. Oczyszczałam oraz podlewałam gazon w południe, lub nad wieczorem, pozostawiałam norki otwarte. Robaki po pewnym czasie zatykały je ekskrementami i wychodziły dopiero w nocy. Kładłam koło otworów różne przedmioty, jak liście, igły sosnowe, patyczki i t. p. Sprawdzałam rano, ile i jak zostało wciągniętych. Przedmioty uważałam za wciągnięte, gdy ponad otworem norki sterczało mniej niż połowa obiektu wciągniętego. Poza masowymi doświadczeniami obserwowałam dżdżownice przy pracy, zarówno w ogrodzie jak i w skrzyniach.

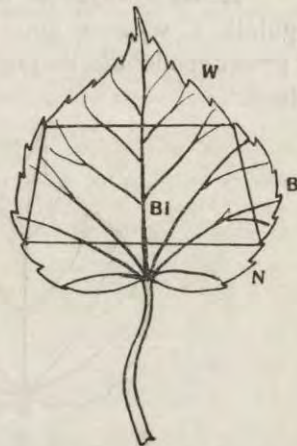
Metody, dotyczące poszczególnych doświadczeń, podam przy opisie tychże.

### Wciąganie liści.

Na jesieni w ogrodach, zarówno na ścieżkach jak i na trawnikach, można zauważyć nagromadzenia liści w postaci małych kopców, dosyć gęsto obok siebie leżących. W tych nagromadzeniach część liści jest luźno ułożona, a część tkwi w otworze norki dżdżownicy. Według DARWINA, około 79% takich liści mają wierzchołki skierowane ku norce. Analogiczny wynik otrzymali HANEL i MANGOLD. Aby to sprawdzić, dawałam dżdżownicom liście rozmaitych gatunków drzew. Dla rejestracji wciągnięć odróżniałam 4 części liścia: wierzchołek — *w*, nasadę — *n*, krawędź boczną — *b*, środkową część blaszki — *bl* (rys. 1).

Częstokroć liść po wyjęciu z norki jest tak pomięty i skłębiony, że trudno jest oznaczyć punkt, za który został wciągnięty. Dżdżownica nie ciągnie stale za jedno raz uchwycone miejsce blaszki, lecz coraz to przysysa się w nowem. Takich wątpliwych liści w obliczeniach nie uwzględniałam.

Z przytoczonej tabeli I wynika, że istotnie jest znaczna przewaga wciągnięć za wierzchołek liściowy. Liście jesionu, akacji i lipy w niektórych przypadkach zostały wciągnięte środkową częścią blaszki.



Rys. 1. Schemat liścia. W — wierzchołek, N — nasada, B — brzeg, Bl — środkowa część blaszki.

Fig. 1. Die in den Tabellen bezeichneten Blattteile.

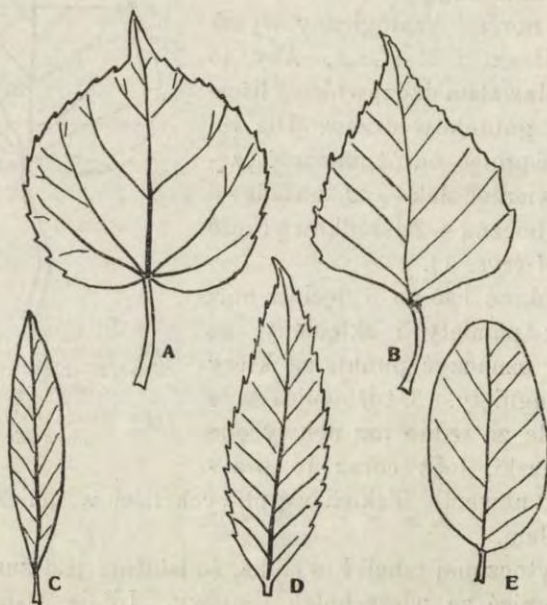
Tabela I.

Wciąganie liści opadłych, z ogonkami. We wszystkich tabelach *i* — oznacza ogólną ilość obiektów wciągniętych, *w* — procent wciągniętych wierzchołkiem, *n* — nasadą, *b* — brzegiem, *bl* — środkową okolicą blaszki.

*Einziehen abgefallener Blätter. In allen Tabellen bedeutet: i — die Gesamtanzahl eingezogener Gegenstände, w — eingezogen an der Spitze in Proz, n — an der Basis, b — am Rande, bl — an den mittleren Teilen der Blattspreite (vgl. Fig. 1).*

Rodzaj obiektu Objekt	<i>i</i>	<i>w</i>	<i>n</i>	<i>b</i>	<i>bl</i>
Jesion <i>Esche</i>	117	84.6	12.0	—	3.4
Akacja <i>Akazie</i>	172	52.9	23.3	—	23.8
Lipa <i>Linde</i>	189	65.6	15.9	—	18.5
Brzoza <i>Birke</i>	122	73.0	12.3	14.7	

Robak przysysa się w pobliżu środka liścia i ciągnąc zgniata i wygina go. Liście brzozy są stosunkowo sztywne i prawdopodobnie dlatego ten typ wciągnięć dla brzozy nie wystąpił.



Rys. 2. Kształt liści: A — lipa, B — brzoza, C — wierzba, D — listek jesionu, E — listek akacji.

Fig. 2. Die Blattform: A — Linde B — Birke, C — Weide, D — Esche E — Akazie.

Fakt znacznej przewagi wierzchołka nie ulega wątpliwości. Śladem DARWINA, wyróżniam tu trzy możliwe grupy czynników: 1°. Chemizm. Może istnieć pewna różnica w chemizmie poszczególnych okolic blaszki. Jakiś czynnik chemicznie dodatni dla dżdżownicy może tkwić w wierzchołku liścia. 2°. Kształt. Kształt obiektu wciąganego może w specjalny sposób podrażniać dżdżownicę, niejako zmusza do chwytania w pewien określony, dogodny do wciągania sposób. 3°. Opór. Liść przy wciąganiu do norki stanowi opór, dzięki unerwieniu, inny w każdej okolicy blaszki.

### Analiza zmysłu chemicznego.

Według HANEL ('04), ogonek w porównaniu z blaszką wpływa odpychająco. Aby uprościć warunki, uciniałam zupełnie ogonek. Pomimo to przewaga wciągnięć za wierzchołek była znaczna, co widać w tabeli II.

Tabela II.

Wciąganie liści z odciętemi ogonkami.  
*Einziehen von Blättern mit abgeschnittenen Stielen.*

Rodzaj obiektu <i>Objekt</i>	<i>i</i>	<i>w</i>	<i>n</i>	<i>b</i>	<i>bl</i>
Lipa <i>Linde</i>	187	64.7	16.6	9.6	9.1
Wierzba <i>Weide</i>	201	62.7	19.4		17.9

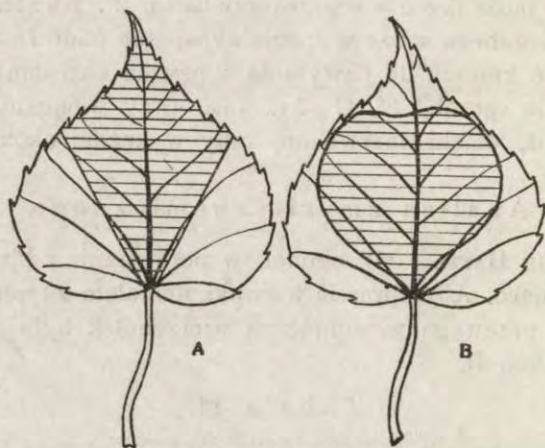
HANEL wykonała następujące doświadczenie, z którego wnioskuję o chemicznym zróżnicowaniu blaszki liściowej. Dawała dżdżownicom do wciągania wycinki z liści lipy, szerokie przy wierzchołku liściowym, wąskie przy ogonku (rys. 3a).

Dżdżownice wciągały za szeroką część blaszki, chociaż biorąc w ten sposób musiały przewycięzać większy stosunkowo opór.

Zmodyfikowałam nieco doświadczenie HANEL. Z dużego liścia lipy wycinałam liść mniejszy o normalnym kształcie w ten sposób, że gdzie był wierzchołek, obecnie była nasada liścia i odwrotnie (rys. 3b). Dżdżownice wciągały za obecną nasadę (część wierzchołkowa liścia) procentowo większą ilość razy, niż za nowy wierzchołek.

Wynik doświadczenia zdaje się istotnie przemawiać za istnieniem pewnego specyficznego chemizmu w okolicach wierz-

chołka liścia. Dżdżownice nie kierują się kształtem, gdyż jakkolwiek kształt liścia został niezmieniony, większość chwytów przypadła na nową nasadę. Jednakże ze względu na cieńsze nerwy w okolicy wierzchołka, sprawa oporu nie jest tu przejrzysta.



Rys. 3. Wycinki z liścia lipy.  
Fig. 3. Auschnitte aus Lindenblättern.

Należało tak przeprowadzić doświadczenie, by w obiekcie wciągającym ani opór, ani kształt nie mogły wpływać na sposób wciągania. W tym celu posługiwałam się metodą patyczków pokrytych żelatyną (MANGOLD), gdzie jedynie występowały różnice chemizmu.

### Tabela III.

Wciąganie wycinków w kształcie liści lipy.  
*Einziehen der in Gestalt von Lindenblättern ausgeschnittenen Blattstücke.*

<i>i</i>	<i>w</i> (Nasada liścia) (Blattbasis)	<i>n</i> (Wierzchołek liścia) (Blattspitze)	<i>b</i>	<i>bl</i>
147	25.9	57.1	14.3	2.7

Doświadczenie przeprowadzałam w sposób następujący.

Patyczki, używane do robót koszykarskich, o średnicy 2—3 mm, cięłam na kawałki 5 cm długie. Suszyłam liście, ucinałam wierzchołki, względnie nasady mniej więcej w odległości 1 cm od brzegu i rozcierałam w moździerzu na proszek. Tak samo postępowałam z ogonkami. Następnie odważałam 0.14 g proszku i 0.20 g żelatyny, zalewałam to 4.5 cm wody

cieplej i pozostawiałam na przeciąg  $\frac{1}{2}$  godziny. Do takiej proporcji doszłam doświadczalnie, gdyż otrzymana w ten sposób gęstość płynu była najdogodniejsza przy smarowaniu patyczków. Otrzymanym wyciągiem, nieco ogrzanym, by żelatyna mogła się dobrze rozpuścić, pokrywałam 70 — 80 patyczków na przestrzeni koło 15 mm od obu końców. Przynurzałam patyczki serjami, t. zn. w pierw jedno końce 35 patyczków, np. wyciągiem z wierzchołków, inne 35 wyciągiem z nasad. Drugie końce patyczków preparowałam, gdy pierwsze wyschły dostatecznie. W tej metodzie ewentualne różnice stopnia wysuszenia obu końców nie mogły wpłynąć na wynik, co ma duże znaczenie, gdyż zauważyłam, że dżdżownice chętniej biorą patyczki pokryte wilgotną żelatyną, niż już wyschnięte. Koło każdej norki kładłam po 3 patyczki w taki sposób, by tworzyły trójkąt równoboczny, w którego środku leży otwór rurki. Przy takim układzie patyczków prawdopodobieństwo pierwszego chwytu dla obu końców jest takie same. Codziennie rano wyjmowałam z norek patyczki wciągnięte, pozostałe usuwałam i kładłam świeże. Wynik tych doświadczeń ilustruje tabela IV.

Tabela IV.

Wciąganie patyczków, pokrytych proszkiem z poszczególnych części liścia, oraz czystą żelatyną.

*Einziehen von mit zerriebenen Blattteilen und mit Gelatine bedeckten Holzstäbchen.*

№	Blatt-sorter	Objekt pokryty: <i>Provenienz des Pulvers</i>	<i>i</i>	<i>w</i>	<i>n</i>	Ogonek <i>Stiel</i>	Żelatyna <i>Gelatine</i>
1	Lipa <i>Linde</i>	Wierzchołki-nasady <i>Spitze und Basis</i>	155	51.0	49.0	—	—
2	"	Wierzchołki-ogonki <i>Spitze und Stiel</i>	106	67.9	—	32.1	—
3	"	Nasady-ogonki <i>Basis und Stiel</i>	93	—	77.4	22.6	—
4	"	Wierzchoł.-żelatyna <i>Spitze und Gelatine</i>	133	92.5	—	—	7.5
5	"	Nasady-żelatyna <i>Basis und Gelatine</i>	103	—	91.2	—	8.8
6	"	Ogonki-żelatyna <i>Stiel und Gelatine</i>	116	—	—	83.6	16.4
7	Wierzba <i>Weide</i>	Wierzchołki-nasady <i>Spitze und Basis</i>	104	48.1	51.9	—	—

W próbach tych czynnik lokalnych różnic oporu i kształtu został całkowicie wyłączony, gdyż patyczki były jednostajnej grubości. Doświadczenia 4, 5 i 6 tabeli stanowią kontrolę. Wynika z nich, że dżdżownica bardzo dobrze odróżnia czystą żelatynę od żelatyny, zmieszanej z proszkiem liściowym, czyli substancją liścia, w porównaniu z żelatyną, wywiera wpływ wyraźnie dodatni na wciąganie. Wpływ ten jest mniej więcej jednakowy dla proszku, pochodzącego z wierzchołków liści, jak i nasad, natomiast jest nieco słabszy dla sproszkowanych ogonków.

W zupełnej zgodzie z tem są wyniki pozostałych doświadczeń tabeli. Nasady liścia robak nie odróżnia pod względem chemiczno-dotykowym od wierzchołków (doświadczenia 1 i 7), natomiast odróżnia wierzchołki od ogonków (dośw. 2) i nasady od ogonków (dośw. 3).

Fakty powyższe niewątpliwie wskazują, że przy wyborze kierunku wciągania dżdżownica może powodować się własnościami chemiczno-dotykowymi wciąganych przedmiotów, różniami w poszczególnych ich punktach. Ale ponieważ operowałam liśćmi z uciętym ogonkiem, przewaga wierzchołków tabeli II nie może zależeć od lokalnych różnic chemicznych liścia. W nieobecności ogonka dżdżownica nie odróżnia wierzchołka liścia od jego nasady.

### Analiza zmysłu kształtu.

Próby ze stosowaniami przez DARWINA i HANEL trójkątami z papieru nie udały się. Dżdżownice ani w piwnicy, ani w ogródku nie wciągały prawie zupełnie trójkątów papierowych, musiałam więc papier zastąpić czemś innem. Ponieważ stwierdziłam, że blaszka pod względem chemicznym jest jednorodna, mogłam z liści wycinać objekty rozmaitego kształtu. Liście takie dżdżow-

Tabela V.

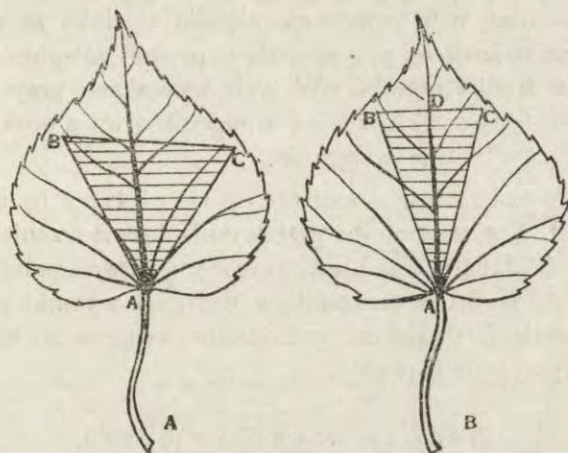
Wciąganie trójkątnych wycinków z liścia lipy.  
*Einziehen von Dreiecken aus Lindenblättern.*

Rodzaj obiektu <i>Objekt</i>	<i>i</i>	A	B	C
Trójkąty równoboczne <i>Gleichseitige Dreiecke</i>	110	18.2	23.6	58.2
Trójkąty równoramienne <i>Gleichschenklige Dreiecke</i>	137	19.0	37.2	43.8

nice po wciągnięciu do norki mogą zużytkować jako pokarm, dlatego też chętnie były brane i w dużych ilościach. Nerw główny liścia wpływa na rozłożenie oporu. Usiłowałam tak dobrać położenie nerwu w wycinku, by można było przewidzieć, w jakim miejscu opór będzie największy. Wycinki były trzech rodzajów: a) trójkąty równoboczne, b) trójkąty równoramienne, c) wycinki w kształcie liści lipy (wycięte z drugiego liścia lipy w kierunku odwrotnym). Wyniki przedstawia tabela V.



a) Trójkąty równoboczne. Do dużych liści lipy przykładałam model trójkąta równobocznego o boku 4.5 cm wycięty z tektury i posiadający linię AD. Punkt A przykładałam do nerwu głównego liścia tuż przy ogonku, punkt D również do nerwu i wzdłuż boków modelu obcinałam liść (rys. 4a).



Rys. 4. Wycinki trójkątne z liścia lipy.  
Fig. 4. Dreiecke aus Lindenblättern.

Opory teraz przy każdym kącie trójkąta są różne. Kąty zaś i boki trójkąta są równe, przeto podnieta kształtu nie może wpływać na uprzywilejowanie jakiejś części wycinka. Jeżeli dżdżownice powodują się kształtem przedmiotu, to powinny były wciągnąć jednakową ilość razy za każdy z trzech kątów. Tymczasem, jak widać w tabeli V, przewaga wciągnięć jest przy kącie C i to w 58.2%. Ponieważ w doświadczeniu wyłączyliśmy czynniki kształtu i chemizmu, więc jedynie wpływem trzeciego czynnika, czynnika oporu, wynik otrzymany możemy wytłumaczyć.

b) Trójkąty równoramienne. Wycinałam z liści lipy trójkąty równoramienne o boku 5.5 cm i podstawie 2.5 cm. Nerw stanowił wysokość trójkąta, przyczem najgrubsza jego część znajdowała się przy wierzchołku trójkąta, najcieńsza przy podstawie (rys. 4b).

Sądząc z kształtu, powinny dżdżownice najczęściej chwycić za kąt najostriejszy. Tak było istotnie w doświadczeniach DARWINA i HANEL z trójkątami papierowymi. Jednakże w mojem

doświadczeniu nastąpiło coś wręcz przeciwnego. Przeważna ilość wciągnięć (81% całości) przypada na dwa kąty przy podstawie. Taki wynik również można wytłumaczyć jedynie działaniem czynnika oporu, gdyż blaszka przy podstawie trójkąta jest najbardziej wiotka, przy wierzchołku zaś gruby nerw stanowi opór przy wciąganiu. Jak wykażę poniżej i jak to wynika również z obserwacji MANGOLDA, dżdżownica nie ciągnie wycinka za sam wierzchołek, lecz najczęściej przysysa się w pewnej odległości od niego, w kierunku środka blaszki. W tych warunkach przy wciąganiu gruby nerw liściowy kładzie się wpoprzek otworu norki, co oczywiście bardzo utrudnia wciąganie.

c) Wycinki w kształcie liści lipy (o unerwieniu odwrotnym). Przytaczane już przeze mnie doświadczenie tego typu wykazało, że dżdżownice nie kierują się przy wciąganiu kształtem przedmiotu. W 57.1% przypadków wciągają wycinki częścią nasadową (tabela III). Kształt przedmiotu wciąganego nie wpływa na wynik pracy dżdżownicy.

#### Analiza czynnika oporu.

Jako punkt wyjścia posłużyło mi doświadczenie z liśćmi wierzby. Liście są tu jednakowo szerokie przy wierzchołku i nasadzie. Ucinając ogonek, mogłam wyeliminować czynnik kształtu. Na obu końcach liść różni się jedynie grubością nerwu, która jest znacznie większa przy nasadzie. Po przeprowadzeniu doświadczenia z wyciągiem żelatynowym z wierzchołków i nasad liści wierzby stwierdziłam, że lokalne różnice chemizmu nie wpływają na wynik wciągania. Ponieważ czynnik kształtu również nie mógł odgrywać roli decydującej, ze względu na równomierną budowę blaszki, znaczną przewagę wciągnięć wierzchołkiem (tabela II) należy przypisać mniejszemu w tym kierunku oporowi.

Dżdżownica może w dwojaki sposób liść wciągać. Może chwycić za brzeg blaszki, wtedy liść opiera się krawędziami o brzeg norki i zostaje do niej wsunięty, lub też może przysysać się do powierzchni blaszki. W tym ostatnim przypadku liść pokrywa norkę i dżdżownica, znajdując się pod nim, usiłuje liść wygiąć. Opór w obu przypadkach jest oczywiście zupełnie różny.

Obserwując dżdżownice przy pracy, zauważyłam, że chwytają one za pierwsze napotkane miejsce, więc ciągną zarówno za

brzeg, jak też przysysają się do blaszki. Wykonałam próbę wymierzenia oporów liści, wciąganych w różnych kierunkach. W tym celu zaciskałam brzeg liścia: jego nasadę, wierzchołek lub krawędź boczną, w wąskich szczypcykach drewnianych, które wsuwałam do otwartej rurki szklanej odpowiedniej średnicy. Rurkę ustawiałam pionowo, liściem opierającym się krawędziami o brzeg otworu rurki, ku górze. Obciążając szczypczyki od dołu, można było oznaczyć ciężar w gramach, który wystarczał do całkowitego wciągnięcia liścia do rurki. Jednakże metoda ta nie dała jasnych wyników, gdyż taki sposób wciągania liścia różni się bardzo od zwykłej metody pracy dżdżownicy. Idzie o to, że w trakcie wciągania wielkość oporu liścia zmienia się z każdą chwilą zależnie od położenia liścia względem norki i stopnia jego sfałdowania. Dlatego też punkt liścia, za który ciągnie dżdżownica, nie jest stały, lecz zmienia się wielokrotnie w ciągu pracy, co jest bardzo trudne do ilościowego uwzględnienia. Do tego robak bardzo często przysysa się do środkowych części blaszki, co prowadzi do zgięcia i sfałdowania liścia, stwarzając zupełnie nowe warunki oporu. Naprzykład, opadły liść lipy, przy wciąganiu go do rurki szklanej za wierzchołek, stanowi nieco większy opór, niż wciągany za nasadę. A jednak przy chwycie za powierzchnię blaszki grube nerwy w pobliżu nasady bardzo silnie opierają się zgięciu, więc też rzeczywisty opór w tej okolicy jest nierównie większy. Zastosowałam więc inną metodę.

Wycinałam z dużych liści lipy paski wzdłuż nerwu. Obydwa końce paska były identyczne pod względem kształtu i cały wycinek różnił się na obu końcach jedynie grubością nerwu. Dżdżownice wciągały paski chętnie i częstokroć po wyjęciu z norki paski były przy końcu zgięte. Z tego można sądzić, że dżdżownica przeważnie ciągnie za blaszkę, a nie za jej brzeg. Znaczna przewaga wciągnięć przypada na część wierzchołkową (tabela VI).

W innym doświadczeniu ścinałam nerw od połowy aż do nasady liścia tak, że elastyczność paska była na całej długości mniej więcej jednakowa. Wynik wciągania okazał się zupełnie zgodny z mojem przypuszczeniem. Z chwilą, gdy opór został zrównany na obu końcach, jednakowo często dżdżownice wciągały za wierzchołek i nasadę. Prócz tego doświadczenie to potwierdza, że niema wewnątrz blaszki żadnych zróżnicowań che-

micznych, któreby wpływały na sposób pracy robaka. Po zrównaniu oporów dżdżownica nie odróżnia obu końców paska. Jednocześnie nie jest prawdopodobne, aby tak prosty zabieg, jak ścięcie nerwu głównego, spowodował dokładne zrównanie oporów obu końców paska. Raczej należy wnosić, że dżdżownica kieruje się oporem dopiero zaczynając od pewnej minimalnej wielkości tegoż. Jeśli opór nie przewyższa sił robaka, to dżdżownica nie wyszukuje kierunku najmniejszego oporu, lecz ciągnie liść w jakimkolwiek kierunku przypadkowym. Dopiero gdy opór staje się nadmierny, zwierzę zmienia miejsce przyczepu, porzucając je zawsze w chwili, gdy oporu nie zdoła przewyciężyć. Słuszności

Tabela VI.

Wciąganie młodych liści lipy i wycinków z liści starszych.  
*Einziehen junger Lindenblätter sowie der Ausschnitte aus älteren Blättern*

Rodzaj obiektu <i>Objekt</i>	<i>i</i>	<i>w</i>	<i>n</i>	<i>b</i>	<i>bl</i>
Paski z lipy <i>Streifen aus älteren Blättern</i>	104	75.0	16.4		8.6
Paski z lipy z nerwem ściętym przy nasadzie <i>Streifen mit gleichmässig dick gemachtem Hauptnerve</i>	111	46.8	47.8		5.4
Młode liście lipy bez ogonk. <i>Junge Blätter ohne Stiel</i>	105	43.8	26.7	25.7	3.8
Krażki wycięte z liścia lipy <i>Kreise aus älteren Blättern</i>	105	33.3	32.4	28.6	5.7

tej interpretacji dowodzi wynik osiągnięty z wciągania świeżych liści lipowych. Na wiosnę dawałam dżdżownicom do wciągania młode liście, jeszcze zupełnie miękkie. Liść taki jest wiotki i wciągnięcie go do norki w każdym kierunku jest dla dżdżownicy możliwe. Wynik doświadczenia wskazuje, że z chwilą, gdy nerwy bliższe nasady nie stanowią absolutnego oporu tak znacznego, jak przy liściach jesiennych, procent wciągnięć za wierzchołek spada z 64% na 43% (tabela VI).

Wreszcie dawałam dżdżownicom do wciągania wycinki z lipy w kształcie prawidłowych krążków, których średnicą był nerw główny. Średnica krążka wynosiła 35 mm. Podnieta kształtu została wyeliminowana, chemizm (jak stwierdziłam uprzednio) jest taki sam na całej rozciągłości blaszki. Ponieważ krążki wycinałam małe i blisko wierzchołka, nerw na całej średnicy był ela-

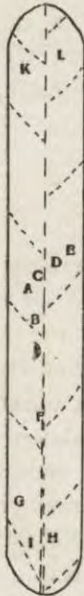
styczny i łatwy do zgięcia. Przeto i czynnik oporu (przyjmując, że dżdżownica ciągnie kółko przez przyssanie i usiłuje je zgiąć) został usunięty, gdyż opór absolutny w żadnym kierunku nie był nadmierny. Jak widać w tabeli VI, dżdżownice jednakowo często chwytają za każde miejsce na obwodzie koła.

Ze wszystkich faktów powyższych wnioskuje, że jedynie opór wciąganych liści określa sposób pracy dżdżownicy. Czynniki kształtu i lokalnych różnic chemizmu możemy z dużym stopniem prawdopodobieństwa wyeliminować. Fakt ten wynika również wyraźnie z obserwacji samego procesu wciągania, do którego opisu się zwracam.

#### Obserwacje pracy dżdżownic.

Obserwacja dżdżownic przy wciąganiu liści jest rzeczą bardzo żmudną, gdyż nieraz wymaga całonocnej ciągłości. Dżdżownica często z niewiadomych przyczyn porzuca obiekt wciągany, aby do niego nie powrócić, lub powraca doń dopiero nad ranem. Obserwowałam dżdżownice w ogródku, oświetlając je czerwoną latarką, oraz w skrzyniach. Dżdżownica przez cały dzień tkwi przy otworze norki, który jest zatkany liśćmi, lub zalepiony ekskrementami. O zmierzchu wysuwa wolno z norki przednią połowę ciała i robi ruchy kołowe, macając po drodze napotkane grudki ziemi, żdźbła trawy i t. p. Gdy natrafi na podsunięty jej liść lub inny jaki obiekt, przysysa się w pierwszym napotkanem miejscu i albo ciągnie parę razy słabo, jakby dla zorientowania się w ciężarze, albo od razu paroma silnymi skurczami dociąga liść do otworu norki. Teraz, czy liść zostanie od razu wciągnięty czy nie, zależy od miejsca, za jakie został uchwycony. Jeśli np. pasek z liścia chwyciła dżdżownica za brzeg, czy to przy wierzchołku, czy przy nasadzie, pasek zostanie paroma silnymi ruchami do norki wciągnięty. Jeżeli zaś przyssanie się nastąpiło w jakimkolwiek punkcie blaszki, robak musi liść zgiąć, by go wciągnąć, i tu już zadanie staje się o wiele trudniejsze. Jeżeli dżdżownica uchwyciła liść w okolicy wierzchołka, gdzie nerw jest cienki, to liść zostaje wciągnięty „wierzchołkiem“, ze zgiętą blaszką. Jeżeli uchwyciła blaszkę bliżej nasady, to nerw nie zgina się, pasek liściowy przez elastyczność odskakuje od otworu gębowego dżdżownicy. Robak zaczyna chytać liść w rozmaitych punktach, usi-

łując go wciągnąć. Staralam się sprawdzić, czy dżdżownica ma pewien plan pracy, czy też chwyta pasek zupełnie przypadkowo. W tym celu podawałam dżdżownicy pasek z liścia lipy tak, by uchwyciła go w środku blaszki tuż koło nerwu. Dżdżownica do-  
ciąga taki pasek do norki, przykrywa nim otwór, nad którym znajduje się środek paska. Sam robak, pozostający w norce,



Rys. 5. Pasek wycięty z liścia lipy. Kolejność liter oznacza także kolejność chwytów.

*Fig. 5. Streif aus Lindenblatt. Die Reihenfolge der Buchstaben entspricht der Reihenfolge der Ansaugpunkte.*

ciągnie liść od spodu. Poczynając od tej chwili, notowałam wszystkie kolejne chwytów dżdżownicy, usiłując odnaleźć w nich jakąś prawidłowość. Pomimo wielu obserwacji nie udało mi się wykryć systemu pracy dżdżownicy i przewidzieć jaki ruch następnie robak wykona. Ruchy są tak przypadkowe, tak często dżdżownica opuszcza miejsce bardzo dogodnie do wciągnięcia, by przyssać się i bezowocnie ciągnąć za inne, niedogodne, że trudno jest przypuścić, by jej zachowanie się było celowe. Raczej otrzymuje się wrażenie, że z pośród wielu przypadkowych chwytów wcześniej czy później jeden będzie celowy i ten umożliwi zwierzęciu częściowe wciągnięcie liścia do norki. Jednak, gdy blaszka liściowa częściowo już znikła pod ziemią, w pracy dżdżownicy występuje pewna prawidłowość. Robak nie wciąga liścia za jednym zamachem, lecz coraz to zmienia punkt przyssania, przenosząc go coraz wyżej. Trudno jest przypuścić, aby powodem takiego postępowania był nadmierny wzrost oporu wciąganego liścia i poszukiwanie punktu, w którym wysiłek wciągania byłby najmniejszy. Skoro liść dostał się do kanału norki, przeniesienie chwytu do punktu, położonego wyżej może tylko spowodować skłębienie się liścia i wzrost oporu. Ciągnąc go za najgłębiej w norce położony punkt, dżdżownica miałaby do pokonania opór mniejszy. Prawdopodobnie zmiany chwytów zależą od tego, że tylna, siedząca w norce część ciała robaka jest mocno zahaczona o ścianki i nie zmienia swego położenia względem norki. Podczas pracy wciągania wyciąga się i kurczy tylko przednia połowa ciała. W tych warunkach robak musi oczywiście chwytać liść coraz wyżej, chociaż-

by opór przytem wzrastał. Nieraz stwierdziłam, że robak wciąga liść np. nasadą, zaś po wyjęciu liścia całkowicie wciągniętego okazuje się, że jego wierzchołek leżał głębiej, niż nasada. Stosunki te można wytłumaczyć tylko zmianą chwytów, nie liczących się z oporem, o ile oczywiście nie przewyższa on sił robaka. Ale w tym ostatnim przypadku zwierzę porzuca liść i próbuje innych chwytów, zanim nie nastąpi właściwy. Dla przykładu przytoczę parę protokółów.

I. Dn. 13. IX. 1929 r.

Godz. 7<sup>40</sup> wieczorem. Obserwacje w ogródku. Dżdżownica, obmacując wkoło norki, dotknęła wierzchołka liścia lipy, przyssała się i dociągnęła liść do norki. Uchwyciła za wierzchołek i wciągnęła liść do norki o tyle, że stoi on pionowo. Teraz pracuje dżdżownica w głębi norki, nazewnątrz widać tylko, że liść pogrąża się coraz głębiej. Jest wciągnięty za „wierzchołek“ (całość trwa 5 minut).

II. Dn. 13. IX. 1929 r.

Godz. 8 wieczorem. Dżdżownica chwytą za poruszony brzeg, ciągnie do norki. Następnie przysysa się w punkcie bliskim pierw uchwyconego i liść zostaje wciągnięty za brzeg. Całość trwa do 10 minut. Po godzinie wyjęłam liść z norki i okazało się, że część wierzchołkowa tkwi w głębi norki. Jeślibym nie widziała sposobu wciągania, zaliczyłabym liść do wciągniętych wierzchołkiem.

III. Dn. 6 X. 1929 r.

Godz. 8<sup>50</sup> wieczorem. Dalam dżdżownicy pasek z liścia lipy. Chwytą w kolejności liter na rys. 5. Dżdżownica porusza się ku nasadzie i przez pewien czas usiłuje liść przez zginanie wciągnąć. Pasek pokrywa norkę dżdżownica pracuje pod nim.

Godz. 9<sup>00</sup> wiecz. — Stale obmacuje przy nasadzie.

Godz. 9<sup>30</sup> wiecz. — Wyszła nazewnątrz, robi ruchy kołowe. Dotknęła w punkcie K blaszki, przyssała się i ciągnie mocno. Chwyciła za L i liść wciągnęła do norki częścią wierzchołkową.

### Wciąganie igieł sosnowych.

Para igieł, złączonych przy nasadzie, stanowi obiekt, który daje się łatwo wciągnąć jedynie przy uchwyceniu za nasadę, gdyż pochwylenie wierzchołka jednej igły spowoduje, iż druga stanie wpoprzek norki. To też w moich obserwacjach dżdżownice w 95.3% wciągają pary igieł za nasadę (czyli spojenie dwu igieł). Wychodząc z tego faktu, usiłowałam zbadać, jakie czynniki stanowią przyczynę tak znacznej przewagi nasady. Nasada igieł

składa się z trzech części: nazewnątrz są łuski, po ich usunięciu zostaje zgrubienie łączące obie igły (skrócony pęd), które łatwo odpada, poczem igły się rozdzielają, wreszcie na bazalnym końcu każdej igły zostaje małe rozszerzenie. Eksperymenty przeprowadzałam z parami igieł i z igłami pojedynczemi. Pojedyncze igły były brane chętnie przez dżdżownice, pomimo że pracowały duże osobniki *Lumbricus terrestris*, a te naogół rzadko biorą przedmioty drobne.

### Wpływ części składowych nasady.

W celu zbadania wpływów chemicznych nasady należało wyłączyć wpływ oporu i kształtu. Dawałam dżdżownicom do wciągania igły związane przy wierzchołkach oraz igły pojedyncze. Pary igieł łączywałam nitką tuż przy wierzchołkach, nitkę ucinałam jak najkrócej. W jednym doświadczeniu dawałam do wciągania igły, których nasady posiadały łuski, w drugim łuski przy nasadzie usuwałam starannie. Wynik wciągania przedstawia tabela VII.

Tabela VII.

Wciąganie par igieł sosnowych ze związanymi wierzchołkami  
*Einziehen von Kiefernadeln mit zusammengebundenen Spitzen\**

Objekt wciągany <i>Objekt</i>	Ilość wciągnięć <i>Gesamtzahl</i>	Wierzchołkiem <i>An der Spitze</i>	Nasadą <i>An der Basis</i>
Nasada z łuskami <i>Basis mit Schuppen</i>	147	22,5	77,5
Nasada bez łusek <i>Basis schuppenlos</i>	136	48,5	51,5

Widać z niej, że łuski wywierają wielki wpływ na sposób wciągania igieł, gdyż po ich usunięciu dżdżownica wciąga obydwa końce jednakowo często. Dzięki związaniu wierzchołków, różnica oporu została całkowicie wyrównana.



Rys. 6. Sposób związania dwu par igieł w celu wyeliminowania czynnika oporu i kształtu.

Fig. 6. Zwei zusammengebundene Nadelpaare werden an der beschuppten Basis einzuzogen (Tab. VIII).

Aby dać możliwość wybierać dżdżownicom pomiędzy nasadą z łuskami a bez łusek, przy zachowaniu równości wszystkich



innych warunków, ucinałam wierzchołki dwu par igieł i związywałam je jak na rys. 6.

Na obu końcach symetrycznie ułożonej podwójnej pary igieł znajdowała się nasada. Nasadę jednego końca oczyszczałam z łuski, nasadę drugiego pozostawiałam bez zmiany. Zgrubienie, wywołane przez związanie wierzchołków czterech igieł, było w środku obiektu i jedynie obydwie końce różniły się od siebie obecnością, względnie nieobecnością łuski. Wynik wciągania był następujący:

T a b e l a VIII.

Wciąganie związanych dwu par igieł.  
*Einziehen von zusammengebundenen zwei Nadelpaaren (Fig. 6).*

Ilość wciągnięć <i>Gesamtzahl</i>	Nasada z łuskami <i>Basis mit Schuppen</i>	Nasada bez łuski <i>Basis schuppenlos</i>
124	81.5	18.5

Niewątpliwie łuski zawierają jakiś czynnik, wybitnie wpływający na pracę dżdżownicy.

Ten sam wniosek wynika z doświadczeń z igłami pojedynczymi. Przecinałam nożyczkami nasadę w kierunku podłużnym, by oddzielić od siebie dwie igły. Na końcu bazalnym każdej

T a b e l a IX.

Wciąganie igieł pojedynczych.  
*Einziehen einzelner Nadeln.*

Objekt wciągany <i>Objekt</i>	Ilość wciągnięć <i>Gesamtzahl</i>	Wierzchołkiem <i>An der Spitze</i>	Nasadą <i>An der Basis</i>	Wpoprzek <i>In der querren Richtung</i>
Nasada z łuskami <i>Basis mit Schuppen</i>	105	22.9	75.2	1.9
Nasada bez łuski <i>Basis schuppenlos</i>	109	47.7	50.5	1.8
Nasada ucięta w odległości 2 mm <i>Ohne 2 mm Basis</i>	106	46.2	50.0	3.8
Nasada ucięta w odległości 1 cm <i>Ohne 1 cm Basis</i>	114	51.7	47.4	0.9

igły pozostawało pół nasady z łuskami. Igły takie preparowałam następnie w różny sposób. Częściowo podawałam je dżdżownicy z nietkniętą nasadą i łuskami, częściowo po oczyszczeniu z łuski lub po ucięciu około 2 mm nasady lub wreszcie po usunięciu 1 cm igły ze strony nasady. Wynik doświadczenia podaje tabela IX.

Tabela wskazuje wyraźnie, że jedynie łuski wpływają na uprzywilejowanie nasady. W nieobecności łusek dżdżownica nie odróżnia obu końców igieł.

Najbardziej miarodajnym będzie wynik doświadczeń z wyciągiem żelatynowym z nasad igieł. Pary igieł suszyłam, ucinając wierzchołki na odległości 0.5 cm od końca. Tak samo postępowalam z nasadą z łuskami lub bez. Rozcierałam otrzymane kawałeczki na proszek. Brałam te same proporcje proszku i żelatyny, jak przy wyciągach z blaszki liściowej. Metoda pokrywania patyczków również była taka sama.

Tabela X.

Wciąganie patyczków, pokrytych proszkiem z poszczególnych części igieł.  
*Einziehen von mit zerriebenen Nadelteilen bedeckten Holzstäbchen.*

Pochodzenie proszku <i>Provenienz des Pulvers</i>	Ilość wciągnięć <i>Gesamtzahl</i>	Wierzchołkiem <i>An der Spitze</i>	Nasadą z łuską <i>Basis beschuppt</i>	Nasadą bez łuski <i>Basis ohne Schuppen</i>
Wierzchołki — nasada bez łusek <i>Spitzen—Basis schuppenlos</i>	78	47.4	—	52.6
Nasada bez łuski — nasada z łuską <i>Basis schuppenlos — Basis beschuppt</i>	75	—	80.0	20.0

Wynik doświadczenia (tabela X) potwierdza najzupełniej doniosłe znaczenie właściwości chemicznych łusek. Pod względem chemicznym dżdżownica nie odróżnia nasady igieł, pozbawionej łusek, od ich wierzchołków. Natomiast sproszkowane łuski działają wybitnie przyciągająco.

### Wpływ oporu.

Że opór wywiera duży wpływ na wciąganie igieł, widać to stąd, że jeżeli damy dżdżownicom do wciągania sztuczne igły z dwóch cienkich słomek, związanych na jednym końcu na podobieństwo pary igieł sosnowych, to wciągają one w 67.6% za złączoną część słomek. Podwójne igły sosnowe z nasadą oczyszczoną z łusek wciągają w znacznej mierze za nasadę, pomimo że nasada bez łusek nie wywiera wpływu chemotropicznego dodatniego.

Możemy więc przyjąć, że przy wciąganiu igieł istnieją dwa czynniki, powodujące przewagę wciągnięć za nasadę: a) chemizm

tkwiący w łuskach i b) wpływ oporu. Współdziałanie obu tych czynników wynika z doświadczenia wykonanego przez HANEL.

### Tabela XI.

Wciąganie par igieł chemicznie jednorodnych.  
*Einziehen chemisch indifferenter Nadelpaaren.*

Objekt wciągany <i>Objekt</i>	Ilość wciągnięć <i>Gesamtzahl</i>	Nasadą <i>An der Basis</i>	Wierzchołkiem <i>An der Spitze</i>
Igły sztuczne ze słomy <i>Künstliche Nadeln aus Stroh</i>	71	67.6	32.4
Para igieł sosnowych (nasada bez łusek) <i>Kiefernadelpaare Basis schuppenlos</i>	133	63.2	36.8

Związywała ona wierzchołki pary igieł a następnie jedną igłę przecinała w poprzek tuż przy nasadzie. Powstawała para igieł odwrotnych, jak to widać na rysunku 7. Nasadę tworzą związane wierzchołki, jedna z igieł jest zakończona nasadą z łuskami.



Rys. 7. Sposób związania dwu igieł w celu wykazania przeciwdziałania czynników oporu i chemizmu.

*Fig. 7. Nadelpaar mit verkehrter Polarität. Vgl. Tab. XII.*

W 56.6% przypadków dżdżownicy wciągały nową nasadę, czyli czynnik oporu przeważał nad chemizmem. Nowa nasada

### Tabela XII.

Wciąganie par igieł związanych przy wierzchołku, nasada z łuską tkwi na końcu jednej igły.

*Einziehen von Nadelpaaren mit zusammengebundenen Spitzen, Basis mit Schuppen bleibt am freien Ende einer Nadel (Fig. 7).*

Ilość wciągnięć <i>Gesamtzahl</i>	Wolny koniec z nasadą <i>Das freie Nadelende mit Basis</i>	Wolny koniec bez nasady <i>Das freie Ende ohne Basis</i>	Związane wierzchołki <i>Die zusammengebundenen Spitzen</i>
127	55.9	11.8	32.3

składała się z dwóch związanych ze sobą wierzchołkami igieł, w których wpływy chemotropiczne dodatkowo są nieobecne. A jednak robaki ciągnęły przeważnie za nową nasadę.

Mój wynik w tych samych warunkach był trochę inny, gdyż nieznaczna przewaga była po stronie nowego wierzchołka.

W tym przypadku wpływy chemiczne ze strony igieł i wpływy mechaniczny kształtu przeciwdziałają sobie. Natomiast porównanie wyniku wciągania igieł zwykłych i igieł, których nasady zostały oczyszczone z łusek, wskazuje, że oba te czynniki mogą współdziałać ze sobą.

Tabela XIII.

Wciąganie par igieł sosnowych.  
*Einziehen von Kiefernadelpaaren.*

Objekt wciągany <i>Objekt</i>	Ilość wciągnięć <i>Gesamtzahl</i>	Nasadą <i>An der Basis</i>	Wierzchołkiem <i>An der Spitze</i>
Nasada bez łusek <i>Basis ohne Schuppen</i>	133	63.2	36.8
Nasada z łuskami <i>Basis beschuppt</i>	278	95.3	4.7

Gdy grają rolę wyłącznie względy mechaniczne (igły o nasadach, oczyszczonych z łusek), robaki wciągają igły nasadą w 63.2% przypadków, gdy jednak dochodzi do tego jeszcze chemizm łusek, odsetek wciągnięć nasadą podnosi się do 95.3%. Obie kategorie czynników dadzą się więc wyraźnie odróżnić.

#### Uwagi ogólne.

Analiza czynników, wpływających na charakter pracy robaka przy wciąganiu do norki różnorodnych przedmiotów, nastrocza duże trudności teoretyczne. Zwłaszcza niejasne jest w tym przypadku pojęcie kształtu. Rozpoznajemy kształt przedmiotów wzrokowo lub też dotykowo. Gdy idzie o dotyk, który jedynie wchodzi w rachubę w przypadku dżdżownicy, niezbędnym warunkiem odróżnienia kształtu jest systematyczność i kolejność wrażeń. Ślepy doskonale odróżnia podany mu sześciąt od ośmiokątianu, ale tylko pod warunkiem, że obydwie formy obmaca systematycznie, krawędź po krawędzi i wierzchołek po wierzchołku. Gdybyśmy mu pozwolili dotknąć przedmiotu końcem palca w 50 przypadkowo wybranych punktach, to otrzymane 50 wrażeń nigdy nie złożyłyby się na wrażenie kształtu całości przedmiotu. Pomijając zupełnie sprawę przeżyć dżdżownicy, zwrócimy się do

zbadań, czy w sposobie jej pracy są obecne warunki, które w naszym doświadczeniu niezbędnie poprzedzają rozpoznanie kształtu.

Obserwacje moje wykazały jasno, że dżdżownica nigdy nie obmacuje przedmiotów systematycznie. Zahaczony tylnym końcem o ścianki norki robak wyciąga przednią część ciała nazewnątrz i obmacuje przyssawką gębową napotkane przedmioty. Skoro natrafi na coś ruchomego, przysysa się w pierwszym napotkanym punkcie i ciągnie, kurcząc się maksymalnie. Za jednym zamachem przedmiot nie może być całkowicie wciągnięty do norki, największy skurecz przedniej połowy ciała może doprowadzić otwór gębowy najwyżej do górnej części kanału norki, ale nie głębiej. Dlatego też, o ile przedmiot nie stanowi nadmiernego oporu, robak puszcza go, wyciąga się ponownie i chwytą przedmiot w punkcie bardziej odległym od otworu norki, poczem znowu kurczy się. W ten sposób, kawałek po kawałku, przedmiot zostaje wepchnięty do norki. Punkty przedmiotu, w których kolejno, przysysa się dżdżownica, są od siebie odległe nieraz o parę centymetrów, gdy punktów pośrednich robak wcale nie dotyka. Nie może tu być mowy o jakimkolwiek systematycznym obmacywaniu, jest tylko szereg oddzielnych, niezależnych od siebie chwytów, które nie mogą złożyć się na rozpoznanie kształtu całości. Liść, wciągany podobną metodą, pod względem kształtu miałby dla robaka najwyżej wartość cienkiego pręcika, który otrzymamy łącząc linjami prostymi kolejne punkty chwytu na powierzchni blaszki. W pracy robaka brak zupełnie warunków, poprzedzających wszelkie rozpoznanie kształtu.

Z drugiej strony domniemany czynnik kształtu często trudno jest odróżnić od czynnika oporu, bowiem przy wciąganiu przedmiotów obydwą są niezbędnie związane ze sobą. Gdyby jednak czynnik kształtu jako takiego odgrywał rolę w działaniach robaka, to przy wciąganiu przedmiotów dżdżownica koniecznie musiałaby wykonywać pewne ruchy, skierowane specjalnie li-tylko ku rozpoznaniu kształtu. Ewentualny związek kształtu z oporem musielibyśmy rozumieć jako rodzaj trwałego skojarzenia, dzięki któremu wrażenie otrzymane ze strony jednego ze składników wywołuje ruchy, związane z drugim składnikiem. Dżdżownica, wciągająca liść, wciąga go w kierunku mniejszego oporu, ale ten kierunek, czyli właściwe miejsce chwytu, robak musiałby roz-

poznać nie bezpośrednio z wielkości pokonywanego oporu, lecz z różnic kształtu liścia w poszczególnych jego punktach. Wówczas należy się spodziewać, że zwierzę będzie chwyciło liść w różnych punktach, ale zacznie go ciągnąć dopiero po natrafieniu na punkt właściwy, gdy inne punkty nie doprowadzą do tej reakcji. Tylko w tym przypadku mielibyśmy jasne odróżnienie czynnika kształtu od czynnika oporu. Jednak w rzeczywistości dżdżownica nigdy w ten sposób nie postępuje, bowiem każdy, przypadkowy chwyt stale powoduje natychmiastową próbę wciągnięcia. Dżdżownica nie czyni żadnych prób, skierowanych ku rozpoznaniu kształtu, ciągnąc zawsze „na ślepo“.

W wyniku, żadne fakty nie przemawiają za tem, aby kształt przedmiotów jako taki wpływał w czemkolwiek na pracę wciągania. W literaturze tylko DARWIN był zdania, iż dżdżownica powoduje się formą, nie dał jednak żadnej analizy tego pojęcia. HANEL usiłowała przeprowadzić taką analizę, sprowadzając rolę kształtu do określonej kolejności wrażeń kinestetycznych. Jednak jej pogląd całkowicie opiera się na systematyczności pracy robaka, który obmacuje kolejno tuż obok siebie położone punkty przedmiotu. Jak się okazało później, i jak wynika również jasno z moich obserwacji, założenie to nie jest słuszne, wobec czego musi upaść i sama teoria. Czynnikiem kształtu, jako przyczynę, wpływającą na sposób pracy robaka przy wciąganiu przedmiotów do norki, możemy z wszelką pewnością wyeliminować.

Czynnik oporu bezsprzecznie odgrywa bardzo ważną rolę w zachowaniu się dżdżownicy. Ale i tu musimy zrobić pewne zastrzeżenia. Należy ściśle odróżnić wpływ oporu na zachowanie się robaka od wpływu oporu na ostateczny wynik procesu wciągania. Jak już podnosiłam poprzednio, dopiero zaczynając od pewnej minimalnej absolutnej wielkości oporu robaki zaczynają reagować na jego lokalne różnice. Twierdzenie, iż robak wyszukuje kierunek najmniejszego oporu, kryje w sobie dwuznacznik. Jeśli robak ciągnie liść, który oparł się grubym nerwem środkowym o brzegi norki, uniemożliwiając wciągnięcie, i jeśli puszcza go po chwili, aby pochwycić w innym punkcie, to niema w tem właściwego wyszukiwania, niema momentu wyboru. Prostu liść zostanie wciągnięty w tym kierunku, który umożliwi jego wciągnięcie. W przypadku istnienia prawdziwego wyboru, robak powinien czynić próby oceny wielkości oporu, musi istnieć ścisły

związek pomiędzy metodą pracy dżdżownicy a wielkością napotkanego w każdym poszczególnym punkcie liścia oporu. Młody, wiotki liść lipy może być wciągnięty w każdym dowolnym kierunku i istotnie niema przy wciąganiu żadnej wyraźnej przewagi jakiegokolwiek jego okolicy. Podobnie kółka, wycięte z wierzchołkowej części blaszki liściowej, zostają wciągnięte jednakowo często za każdy punkt obwodu. Nie mniej, wielkość oporu tych przedmiotów w różnych kierunkach jest bardzo niejednakowa. Dżdżownica bynajmniej nie wyszukuje kierunku najmniejszego oporu, ciągnąc z tą samą siłą za każdy przypadkowo napotkany punkt liścia. Zmiana chwytów nigdy nie występuje systematycznie w kierunku oporu malejącego. Ścisłej więc będzie powiedzieć, że w pracy swej robak wyszukuje jedynie kierunek oporu, możliwego do przewyciężenia. Natomiast pomiędzy różnymi wielkościami takich możliwych oporów nie robi żadnej różnicy. Pojęcie wyboru i wyszukiwania ma tu znaczenie czysto mechaniczne: sposób pracy dżdżownicy nie zależy od wielkości napotkanego oporu, natomiast zależy od niej bezpośrednio wynik wciągania. Opór blaszki liściowej maleje ku wierzchołkowi, więc w tym samym kierunku wzrasta stopień możliwości wciągnięcia. Dlatego tylko większość liści zostaje wciągnięta za wierzchołek.

Bardziej zawily jest czynnik lokalnych różnic chemicznych. Podane liście całkowite dżdżownica w olbrzymiej większości przypadków wciąga za blaszkę, i tylko bardzo rzadko za ogonek. Za pomocą metody patyczków drewnianych, pokrytych mieszaniną żelatyny ze sproszkowanymi różnymi częściami liścia, ustaliłam, że ogonek liściowy o wiele słabiej przyciąga robaka, niż blaszka. Różnica jakichś właściwości chemicznych blaszki i ogonka idzie w parze z różnicą kierunku wciągania. Jednakże ten czynnik chemiczno-dotykowy z pewnością nie jest sam w sobie wystarczającym tłumaczeniem. Raczej właściwości chemiczno-dotykowe blaszki liściowej, względnie ogonka, stanowią tylko środek rozpoznawczy, gdy właściwym powodem przewagi wciągnięć za blaszkę jest ta okoliczność, że blaszka może służyć robakowi jako pokarm. Wciągnięte do norki liście dżdżownica najczęściej obgryza, pozostawiając tylko nerw główny z ogonkiem oraz twarde, bliżej nasady liścia leżące nerwy boczne. Przepuszczenie DARWINA, że dżdżownice wciągają do norki różne przedmioty w celu zabezpieczenia się od zimna, nie jest wcale

prawdopodobne. Robak pracuje w ciągu nocy, gdy temperatura jest niska, i wysuwa się wtedy prawie całkowicie z norki. Zatkanie zaś wylotu norki mogłoby chronić robaka przed zimnem tylko podczas dnia, gdy właśnie temperatura jest wyższa. Nie mniej nieprawdopodobna jest hipoteza, iż robaki przez zatkanie nerek utrudniają swoim wrogom dostęp do nich. Nagromadzone nad każdą norką kupy opadłych liści wskazują różnym ptakom, gdzie mają szukać dżdżownic. Ptaki doskonale też potrafią systematycznie rozgrzebywać kopce liściowe i wyciągać z nerek robaki. Najwięcej faktów przemawia za tem, że dżdżownice po prostu nagromadzają zapasy pożywienia. Różnorodne części roślinne, zbyt twarde dla bezpośredniego użytkowania, pozostając przez pewien czas w głębi zawsze wilgotnej norki, ulegają gniciu. Dzięki temu mogą powstać dookoła nich skupienia bakteryj, które robak połyka wraz z ziemią. Tem tłumaczę intensywne wciąganie przez dżdżownicę igieł sosnowych, które nie mogą być bezpośrednio użyte jako pokarm.

Wobec powyższego blaszka liściowa różni się od ogonka nie tylko pod względem chemiczno-dotykowym, ale jeszcze i tem, że blaszka dostarcza dżdżownicy pożywienia, gdy ogonek nadaje się do tego w daleko mniejszym stopniu. Natrafiając przy poszukiwaniach dookoła norki na cienki i twarty ogonek liściowy, zwierzę chwyci go raz i drugi, ale wypuszcza wkrótce, nieraz nie próbując ciągnąć, natomiast dotknięcie blaszki liściowej stale powoduje maksymalny skurek robaka.

W obrębie samej blaszki lokalnych różnic chemizmu dżdżownica nie rozpoznaje. Wynik doświadczeń z patyczkami drewnianymi i zwłaszcza z paskami, wyciętymi z liścia lipy równoległe do nerwu głównego, wyraźnie tego dowodzi. Wycinki podłużne z liści sięgały z jednego końca wierzchołka liściowego, z drugiego jego nasady. Po przybliżonem zrównaniu oporów (ścinałam nerw główny) nie było przewagi wciągnięć na żadnym końcu, czyli ewentualna różnica właściwości chemicznych nasady, względnie wierzchołka liścia, która właśnie w tych warunkach powinna była wystąpić, wcale nie ujawniła się w zachowaniu się robaka.

Właściwości chemizmu igieł przy ich nasadzie stanowią czynnik bardzo ważny, gdy idzie o kierunek wciągania. Jak widzieliśmy, decyduje tu obecność lub nieobecność łusek, które za-



wierają jakiś czynnik chemicznie dodatni. Jednocześnie, wciągając złączoną parę igieł za ich wspólną nasadę, dżdżownica ma do przewyciężenia mniejszy opór. Oba te czynniki, w zwykłym doświadczeniu robaka stale skojarzone ze sobą, udaje się eksperymentalnie rozdzielić. W doświadczeniu z parą igieł, związanych przy wierzchołku i rozdzielonych przy nasadzie, dżdżownice w 55.9% przypadków chwytają za wolny koniec igły ze znajdującą się na nim nasadą (rys. 7), jakkolwiek miały w tym przypadku do przewyciężenia większy opór. Widzimy tu wyraźną rywalizację obu czynników, które przy nasadzie zwykłych par igieł ulegają sumowaniu. Robak nie pracuje czysto mechanicznie, ciągnąc na ślepo za każdy przypadkowo napotkany punkt igieł, lecz w pewnej mierze kieruje się właściwościami chemicznymi przedmiotu, które mogą okazać się niezgodne z jego cechami mechanicznymi.

Nie przeprowadzałam specjalnych doświadczeń w celu sprawdzenia, czy dżdżownice mogą tworzyć skojarzenia pamięciowe (MALEK '27). Posiadam jednak w tej mierze pewne obserwacje. Podczas doświadczeń masowych robaki wciągają za każdym razem bardzo różną ilość przedmiotów. Igły sosnowe są przez jakiś czas wciągane bardzo intensywnie, jednakże po kilku dniach liczba igieł wciągniętych zmniejsza się bardzo znacznie. Zjawiska tego nie zauważyłam przy wciąganiu liści, natomiast najwyraźniej występuje ono przy wciąganiu patyczków. Jeśli obok igieł, które dżdżownice wciągają już w małej ilości, dać liście, to wzrasta się także i intensywność wciągania igieł. Zjawisko to żywo przypomina fakty hamowania i odhamowywania odruchów w doświadczeniach PAWŁOWA. Igieł, które przez długi czas leżały koło nerek, dżdżownice nie wciągały wcale. Natomiast po rozsypaniu na gazonie nowych igieł stwierdzałam następnego dnia, że duża ich ilość została wciągnięta. Zgodnie z hipotezą MALEKA, dżdżownice nie powracają do przedmiotów, które już raz próbowały wciągnąć i które prawdopodobnie poznają po pozostałym na nich śluzie. W każdym razie robaki po pewnym czasie zaczynają omijać przedmioty dla nich bezużyteczne jako pokarm. Wszystko to wskazuje na zdolność tworzenia skojarzeń i pewien stopień plastyczności zachowania się. Jednak w tej dziedzinie decydowałyby specjalnie w tym celu przeprowadzone obserwacje.

## Streszczenie.

1°. Przy wciąganiu przez dżdżownicę liści rozmaitych gatunków drzew przeważna ilość liści zostaje wciągnięta wierzchołkiem.

2°. Usunięcie ogonka liściowego nie wpływa na wynik wciągania.

3°. Metoda pokrywania patyczków drewnianych mieszaniną żelatyny ze sproszkowanymi różnymi częściami liścia wykazała różnicę wpływu dodatnio-chemotropicznego blaszki i ogonka na korzyść blaszki.

4°. W obrębie samej blaszki lokalnych różnic chemicznych dżdżownica nie rozpoznaje.

5°. Próby z trójkątami papierowymi nie udały się, musiano zastąpić papier wycinkami z blaszki liściowej.

6°. Wciąganie wycinków z liści lipy w kształcie trójkątów równobocznych i równoramiennych wykazały, że robak nie powoduje się kształtem przedmiotu wciąganego. Jedyne opór, niejednakowy przy każdym kącie wycinka, decyduje o wyniku wciągania.

7°. Wciąganie wycinków w kształcie liści lipy, ale o odwróconej biegunowości również wykazuje, że dżdżownica nie kieruje się przy wciąganiu kształtem przedmiotu.

8°. Jak wynika z bezpośredniej obserwacji pracy dżdżownic, chwytają one za pierwsze napotkane miejsce przedmiotu; systematycznie przedmiotu robaki nie obmacują.

9°. Doświadczenie z liśćmi wierzby, z młodeymi liśćmi lipy oraz z paskami wyciętymi z liści lipy wzdłuż nerwu głównego wykazały, że jedynie opór wpływa na końcowy wynik pracy dżdżownicy. Pasek o mniej więcej jednakowym oporze, uzyskanym przez ścięcie nerwu głównego przy nasadzie, jest jednakowo często wciągany za obydwie końce.

10°. Krążki wycięte z liści lipy (przy wyeliminowaniu różnic chemizmu, kształtu i oporu) są wciągane jednakowo często za każdy punkt obwodu.

11°. W pracy dżdżownicy niema prawidłowości i działania celowego.

12°. Igły sosnowe są w przeważającej liczbie przypadków wciągane za nasadę.

13°. Doświadczenia, w których wyłączono wpływ kształtu i oporu wykazały, że istnieje przy nasadzie igieł pewien czynnik chemicznie dodatni dla dżdżownicy. Czynnik ten mieści się wyłącznie w łuskach nasady.

14°. Sztuczne pary igieł ze słomy zostają wciągnięte przeważnie za nasadę.

15°. Przy wciąganiu odwróconej pary igieł (wierzchołki związane tworzą nasadę, nasada z łuską jest na wolnym końcu jednej igły) zachodzi przeciwdziałanie dwu czynników — oporu i chemizmu.

16°. Przy wciąganiu zwykłych par igieł z nasadą pokrytą łuskami czynniki oporu i chemizmu sumują się, powodując prawie wyłącznie wciąganie za nasadę.

17°. Wciągając rozmaite przedmioty do norki, dżdżownice gromadzą pożywienie.

18°. Przewaga wciągnięć blaszki w stosunku do wciągnięć ogonka tłumaczy się tem, że miękka blaszka może służyć robakowi jako pokarm.

19°. Igły sosnowe, pozostając w głębi wilgotnej norki ulegają gniciu i prawdopodobnie powodują skupienie bakteryj, połączonych wraz z ziemią przez robaki.

20°. Luźne spostrzeżenia zdają się potwierdzać hipotezę MALEKA, że dżdżownice są zdolne do tworzenia skojarzeń i wykazują pewien stopień plastyczności zachowania się.

#### Piśmiennictwo.

Darwin Ch. 1881. Die Bildung der Ackererde durch die Tätigkeit der Würmer. Ges. Werke. Stuttgart. Hanel E. 1904. Ein Beitrag zur „Psychologie“ der Regenwürmer. Zeitschr. f. allgem. Physiol. 4 (244). Heck L. 1920. Über die Bildung einer Assoziation beim Regenwurm auf Grund von Dressurversuchen. Lotos 67 (168). Jennings H. S. 1910. Das Verhalten der niederen Organismen. Übers. v. E. Mangold. Jordan H. 1913. Wie ziehen Regenwürmer Blätter in ihre Röhren. Zool. Jahrb. Abt. f. allgem. Zool. u. Physiol. 33 (95). Mangold O. 1925. Beobachtungen und Experimente zur Biologie des Regenwurms. Zeitschr. f. vergl. Physiol. 2 (57). Malek R. 1927. Assoziatives Gedächtnis bei den Regenwürmern. Biologia Generalis. 3 (317). Yerkes R. M. 1912. The intelligence of the earthworms. Journ. of anim. Behavior. 2 (332).



[Zakład Systematyki Roślin Uniwersytetu Warszawskiego]

T. Cygowa.

**Studja anatomiczno-ekologiczne nad liśćmi storczyków krajowych.**

*Recherches anatomiques et écologiques sur les feuilles d'Orchidées indigènes.*

Rękopis nadesłany w dniu 7. I. 1930 r.

En se basant sur les résultats de ses études quantitatives et qualitatives sur les Orchidées indigènes, l'auteur examine les questions suivantes: a) jusqu'à quel degré l'anatomie des feuilles des Orchidées indigènes peut s'adapter aux conditions extérieures, dans lesquelles se poursuit leur croissance, et b) à quels types écologiques pourrait-on rattacher les Orchidées étudiées?

Les études quantitatives comprenaient: 1) le calcul concernant le nombre des stomates par 1 mm<sup>2</sup> de surface du limbe foliaire et les mesurages de la longueur des stomates dans les feuilles provenant des différentes stations biologiques; 2) le calcul concernant le nombre des stomates portés par l'unité de surfaces et les mesurages de la longueur des stomates dans différentes feuilles du même individu; 3) les mesurages de la longueur des nervures, portées par l'unité de surface dans les feuilles provenant des différentes stations biologiques; 4) les mesurages de la longueur des nervures, portées par l'unité de surface du limbe foliaire dans différentes feuilles provenant d'une seule et même plante; 5) l'examen des variations concernant les éléments anatomiques dans différentes feuilles provenant du même individu, et, enfin — 6) l'examen des variations des éléments anatomiques différents dans les feuilles des plantes diverses, dont la croissance se poursuit dans des conditions biologiques différentes.

Ces études ont abouti à amener l'auteur aux conclusions suivantes: 1) le nombre des stomates par 1 mm<sup>2</sup> du limbe fo-

liaire est plus considérable chez les plantes dans les stations ensoleillées, que chez celles dans les stations ombragées; 2) le nombre des stomates, portés par l'unité de surface, est toujours plus grand dans les feuilles insérées plus haut, que dans celles qui les sont plus bas sur la même tige; 3) le nombre des faisceaux vasculaires, portés par 1 cm<sup>2</sup> du limbe foliaire est plus grand chez les plantes, habitant les stations ensoleillées, que chez celles qui habitent les stations ombragées; 4) l'augmentation du nombre des faisceaux, calculés par 1 cm<sup>2</sup> du limbe foliaire dépend de l'insertion de la feuille sur la tige: elle accroît avec la hauteur de l'insertion; 5) la diminution des dimensions de tous les éléments anatomiques de la feuille, dépend de l'insertion de la feuille donnée sur la tige. Les recherches qualitatives ont démontré également l'existence de certaines différences dans la structure anatomique des diverses feuilles provenant du même individu. On a pu constater: 1) la diminution de la sinuosité des parois latérales chez les cellules épidermiques par rapport à la hauteur de l'insertion de la feuille donnée sur la tige: elle s'accroît plus l'insertion est haute; puis, 2) que les cellules du parenchyme lacuneux avec l'insertion plus haute sur la tige prennent une forme plus arrondie et sont pourvues des méats beaucoup plus petits; 3) que les éléments mécaniques se sont développés bien mieux dans les feuilles supérieures que dans les inférieures, et 4) que les faisceaux vasculaires diminuent également avec la hauteur croissante de l'insertion de la feuille donnée. L'auteur a pu constater une corrélation bien rigoureuse entre le nombre des stomates et la structure de la feuille: le nombre des stomates, plus considérable, est en rapport à une structure du parenchyme plus serrée; par contre le nombre moindre — à une structure desserrée. Ensuite, l'auteur a pu constater, que l'augmentation du nombre des stomates et celle des faisceaux, portés par l'unité de surface du limbe foliaire, de même que la diminution des dimensions de toutes les cellules, l'une et l'autre contribuent à donner à la structure de la feuille un caractère plus xéromorphe. Les rapports anatomiques et écologiques, sus-mentionnés, sont représentés par les graphiques.

A la base aussi bien de ses propres recherches, resumées plus haut, qu'à la base des données physiologiques connues concernant la feuille des Orchidées, l'auteur exprime son opinion sur

la question à quel type écologique il faudrait rapporter les Orchidées examinées.

Habitants, dans la plupart des cas, des terrains, où l'accès de l'eau est rendu difficile, aussi bien dans la plaine, que dans les montagnes, n'ayant, qu'une faible capacité à transpirer et qu'un pouvoir osmotique relativement considérable, les Orchidées indigènes réunissent les caractères de quelques groupes écologiques, actuellement adoptés.

Or, l'auteur prétend pouvoir considérer les Orchidées indigènes, d'une part, — au point de vue de leur structure plus ou moins xéromorphe résultant de la corrélation entre la grandeur de la cellule et le nombre des stomates portés par 1 mm<sup>2</sup> de surface, entre les dimensions, le nombre des faisceaux vasculaires, portés par 1 cm<sup>2</sup> de surface, et, d'autre part, — au point de vue de la structure du tissu parenchymateux serré, ou déserré. Ainsi l'auteur s'estime autorisé à ranger presque toutes les Orchidées examinées dans le groupe des plantes xéromorphes, excepté *Listera ovata* (L.) R. Br., dont le caractère paraît être décidément mésophile.

Ce travail sera publié in extenso dans les „Mémoires de la Classe d. Sc. math. et nat. de l'Académie Polonaise d. Sciences et d. Lettres“. Série B, I. 1929.

---

#### W s t ę p.

Nieliczne były dotychczas prace nad anatomją liści storczyków. W roku 1887 ukazała się szczegółowa praca MÖBIUSA, który badał podobieństwa i różnice w budowie anatomicznej liści *Orchidaceae* z punktu widzenia pokrewieństwa systematycznego, w jakim dane gatunki, rodzaje i grupy względem siebie pozostają. Zagadnień zależności budowy anatomicznej od warunków zewnętrznych MÖBIUS ('87) w pracy swej bliżej nie poruszał, wszelkie różnice w budowie anatomicznej tłumaczył jako cechy dziedziczne, a nie jako przystosowanie do warunków. W roku 1905 wyszła praca TOMIŃSKIEGO, który badał anatomję liści *Orchi-*

*daceae* z punktu widzenia ekologicznego. Wspomniany autor badał liście storczyków z wyspy Ceylon. Krajowe storczyki potraktowane zostały dość pobieżnie i ogólnikowo, skutkiem czego odnośne wnioski fizjologiczne i ekologiczne są błędne. Zdaniem TOMIŃSKIEGO wszystkie storczyki krajowe rosną na stanowiskach „sprzyjających transpiracji”. W pracy swojej chciałabym wykazać, na podstawie swych ilościowych i jakościowych badań, w jakim stopniu anatomja liści storczyków krajowych odpowiada warunkom zewnętrznym, w jakich one żyją, i do jakich typów ekologicznych można je zaliczyć.

Badania były wykonane na materiale, zebrany z różnych stanowisk w różnych okolicach kraju i zakonserwowanym w alkoholu. W trzech przypadkach tylko korzystałam z materiału zielnikowego.

#### Stanowiska storczyków krajowych.

Storczyki krajowe rosną na terenach, które pod względem ekologicznym mają podobne stosunki klimatyczne i edaficzne. Są to przeważnie cieniste liściaste lub torfiaste iglaste lasy, wilgotne łąki, torfowiska, łąki pastewne lub zbocza gór o gruncie najczęściej wapiennym. Zasięg pionowy storczyków dochodzi do flory alpejskiej. Co się tyczy ogólnych warunków klimatycznych i stanowiskowych storczyków krajowych, to są one tego rodzaju, że wilgotność powietrza i wilgotność gleby, zarówno na niżu, jak i w górach są stosunkowo duże. Bardzo ciekawym zjawiskiem jest występowanie np. *Listera ovata* (L) R. Br. w lasach wilgotnych i zaroślach na całym obszarze Polski, aż po krainę kosodrzewu, co dowodzi nam, że warunki ekologiczne są na tych terenach podobne (wilgotność powietrza i gleby).

#### Metody badań.

Obliczanie ilości szperek na jednostkę powierzchni liścia wykonałam bezpośrednio na polu widzenia mikroskopu po uprzednim obliczeniu średnicy i powierzchni pola widzenia. W podobny sposób obliczałam ilość komórek skórki i mięksiszu przyswajającego na jednostkę powierzchni liścia. W danych obliczeniach jednak musiałam przerysowywać komórki na papier z całego pola widzenia. Przytem ilość



komórek mięksizu, przylegającego do skórki, była obliczona na przekroju stycznym.

Długość i szerokość szparek była wyznaczana zapomocą mikrometru okularowego, którego wartości były uprzednio obliczone (przy różnej kombinacji szkieł). W podobny sposób były obliczane wysokość i szerokość komórek skórki górnej i dolnej. Wysokość komórek mięksizu przyswajającego mierzyłam na poprzecznych przekrojach, średnicę tychże na stycznych przekrojach.

Metoda badań unerwienia. Przy badaniu długości wiązek naczyniowych na jednostkę powierzchni stosowałam metodę ZALENSKIEGO ('03). Z materiału alkoholowego lub świeżego wykrawałam wycinki o powierzchni  $1 \text{ cm}^2$  lub  $0.5 \text{ cm}^2$ , które kładłam do alkoholu absolutnego na 12 godzin, aż do całkowitego odbarwienia; następnie na 12 godzin do chloralhydratu (3 części odczynnika na 1 część wody). Po całkowitem prześwietleniu kładłam wycinki do gliceryny. Większą część obserwacji wykonałam nad wycinkami liści bezpośrednio w roztworze chloralhydratu na szkiełkach przedmiotowych. W liściach niektórych roślin nerwy były źle widoczne nawet na dobrze prześwietlonych preparatach. Barwiłam wtedy wycinki safraniną. Z otrzymanych w ten sposób preparatów przerysowywałam, przy każdorazowym sprawdzaniu powiększenia mikroskopu (49 — 50 razy), zapomocą aparatu rysunkowego ABBEGO sieć krzywych linii, które wyobrażały przebieg wiązek naczyniowych, objętych polem widzenia mikroskopu. Ogólna długość wszystkich krzywych linii otrzymanych na papierze, która wyrażała powiększoną 49—50 krotną długość wszystkich wiązek naczyniowych na danej powierzchni liścia była wymierzona zapomocą krzywomierza (używanego do bezpośredniego odczytywania odległości na mapach w kilometrach w zależności od skali). Przy wymierzaniu długości wiązek naczyniowych na rysunku, odczytywałam je bezpośrednio na krzywomierzu w milimetrach (skala na krzywomierzu 1:100000). W celu uniknięcia możliwych błędów przy wymierzaniu długości krzywych linii na rysunku, ogólna ich długość na rysunku wymierzana była pięciokrotnie. Zawsze była brana średnia. Dla wyznaczenia rzeczywistej długości wszystkich wiązek naczyniowych na powierzchni pola widzenia średnia długość była zmniejszana 49—50 razy (odpowiednio do powiększenia mikroskopu).

Po wyznaczeniu rzeczywistej powierzchni pola widzenia w  $\text{mm}^2$ , która wynosiła  $4.95 \text{ mm}^2$ ,  $4.79 \text{ mm}^2$  i  $5.02 \text{ mm}^2$ , mogłam obliczyć długość wiązek, przypadających na  $1 \text{ cm}^2$  powierzchni liściowej na danym wycinku liścia. Wobec niejednakowego unerwienia na całej powierzchni blaszki liściowej do pomiarów były brane wycinki z odpowiadających sobie mniej więcej środkowych części liścia według długości i w połowie odległości od środkowego nerwu do brzegu liścia według szerokości. W celu otrzymania dokładniejszych liczb długości wiązek na  $1 \text{ cm}^2$  powierzchni, które nie byłyby przypadkowymi, wyrażającymi unerwienie objęte przez pole widzenia mikroskopu, brałam 5—6 wycinków (z każdego liścia) z odpowiadających sobie środkowych części liścia.

Badania wykazały, że w odpowiadających sobie częściach blaszki liściowej wiązki naczyniowe są rozmieszczone mniej więcej równomiernie. Długość ich na 1 cm<sup>2</sup> powierzchni blaszki jest dość duża. Największe odchylenie od średniej, jakie otrzymałam przy swych pomiarach długości wiązek naczyniowych na 1 cm<sup>2</sup> powierzchni liścia w odpowiadających sobie wycinkach tego samego liścia, były w granicach przeciętnie od 3% do 10%. W jednym tylko przypadku % odchylenia wynosił 10.6%. Obliczenia zaś długości wiązek naczyniowych na jednostkę powierzchni różnych liści, wziętych z różnych wysokości umieszczenia na lodydze, wykazały dla każdego liścia % odchylenia w granicach jeszcze mniejszych od 1% do 10.3%. Pomimo stwierdzonego u mnie niewielkiego % odchylenia od średniej w pomiarach długości nerwów na jednostkę powierzchni liścia przy porównawczym rozwoju unerwienia w różnych liściach tego samego okazu, powtarzałam zawsze pięciokrotnie pomiary długości nerwów na 1 cm<sup>2</sup> powierzchni liścia dla każdego wycinka i pięciokrotnie dla każdego liścia, co wynosiło dla każdego liścia 25 pomiarów i odpowiednich obliczeń.

Dane o ilości szparek u różnych roślin, żyjących w różnych warunkach biologicznych.

Oдноśne badania przeprowadziłam nad 28 okazami storczyków, uwzględniając ich stanowiska ogólne, warunki biologiczne i miejsce znalezienia. Rozpatrując bowiem wyłącznie ogólne stanowiska roślin, nie możemy określić, do jakiego typu ekologicznego należą one. Rośliny jednego i tego samego stanowiska nie znajdują się często w tych samych warunkach meteorologicznych i edaficznych.

Największą ilość szparek znalazłam u *Coeloglossum viride* (L) Hartm.: 79 na 1 mm<sup>2</sup>. Okaz wysokogórski, 1600 m, strona południowa.

Następnie:

*Orchis globosus* L. wykazał 65 na 1 mm<sup>2</sup>, strona połud., duża insolacja. *Cephalanthera rubra* (L) Rich. wykazał 64 na 1 mm<sup>2</sup>, okaz znaleziony wczesną wiosną na polanie leśnej otwartej (b. rzadko spotykany). Liczby reszty gatunków wykazały słabe wahania. Najmniej szparek na 1 mm<sup>2</sup> zaobserwowałam u *Neottia Nidus avis* (L) Rich., który jest roztozczem.

W obrębie rodzaju *Orchis* L. ilość szparek na 1 mm<sup>2</sup> powierzchni wynosiła:

1 <sup>o</sup>	<i>Orchis maculatus</i>	L. 45	Największe odchylenie wyka-
2 <sup>o</sup>	" <i>incarnatus</i>	L. 45	zał <i>Orchis globosus</i> L.; okaz zna-
3 <sup>o</sup>	" <i>latifolius</i>	L. 46	leziony w Pieninach na suchej
4 <sup>o</sup>	" <i>ustulatus</i>	L. 49	łące górskiej, na stronie połud-
5 <sup>o</sup>	" <i>globosus</i>	L. 65	niowej.

Nie wiem, czy należy uważać ilość szparek, otrzymaną u *Orchis globosus* L. za przypadkową, czy wynika to z dużej insolacji, na którą dana roślina była wystawiona, a więc wzmożona transpiracja. Wymiary szparki są u *Orchis globosus* względnie nieduże: 43.2  $\mu$ .

W obrębie drugiego rodzaju *Epipactis*:

1 <sup>o</sup>	<i>Epipactis latifolia</i>	All.	średnio 30	Najmniejszą ilość szparek wy-
2 <sup>o</sup>	" <i>rubiginosa</i>	Gaud.	" 52	kazał <i>Epipactis latifolia</i> All.
3 <sup>o</sup>	" <i>palustris</i>	Crantz.	" 58	z gruntu wapiennego, między skalami, strona cieniasta.

W obrębie rodzaju *Gymnadenia* niema dużych wahań:

1 <sup>o</sup>	<i>Gymnadenia odoratissima</i>	Rich.	24.
2 <sup>o</sup>	" <i>conopea</i>	R. Br.	34.

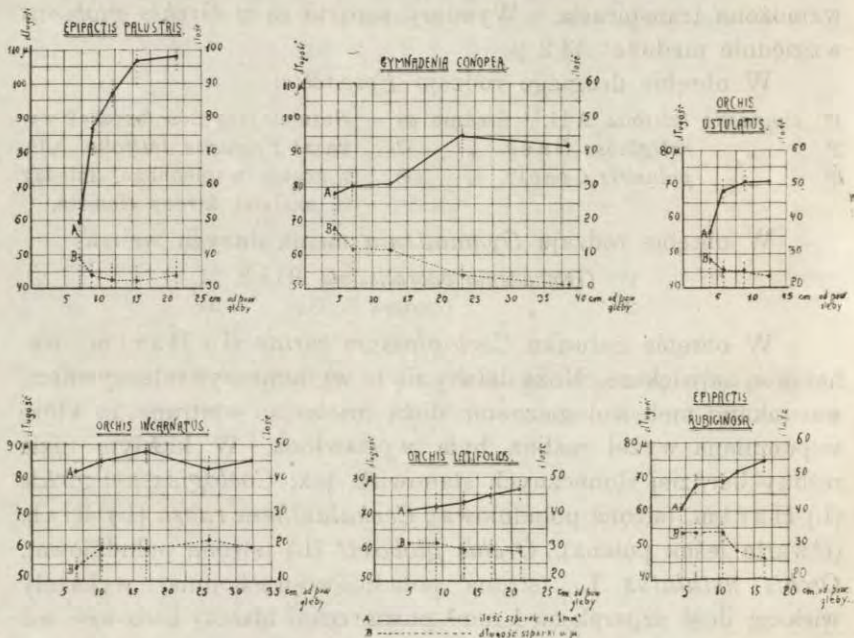
W obrębie gatunku *Coeloglossum viride* (L) Hartm. wahania są największe. Może dałoby się to wytłumaczyć intensywnymi warunkami meteorologicznymi: dużą insolacją i wiatrami, na które wspomniana wyżej roślina była wystawiona. W każdym razie rośliny bardziej słonecznych stanowisk, jak: *Coeloglossum viride* (L) Hartm. (strona południowa), *Cephalanthera rubra* (L) Rich. (otwarta leśna polana), *Orchis globosus* (L) (strona południowa), *Orchis ustulatus* L. (strona południowo-wschodnia) wykazały większą ilość szparek na 1 mm<sup>2</sup> powierzchni blaszki liściowej, niż cieniasta *Listera ovata* (L.) R. Br. i *Neottia Nidus avis* (L.) Rich.

Z dalszych moich badań nad szparkami wynika, że wahania rzeczony w ilości szparek na 1 mm<sup>2</sup> powierzchni, uzależnione są poniekąd i od tego, że do obliczeń szparek były brane liście bez uwzględnienia ich umieszczenia na łodydze. Następujące dane może te wahania wyjaśniają.

Dane liczbowe co do ilości szparek na jednostkę powierzchni i rozmiarów szparek w różnych liściach tego samego okazu.

Oдноśne badania przeprowadziłam nad 10 gatunkami storczyków, uwzględniając miejsce znalezienia, wysokość danego okazu, długość i szerokość blaszki danego liścia.

Z wykresu I-go, który wyraża dane, otrzymane z obliczeń ilości szparek na jednostkę powierzchni w liściach, umieszczonych na łądydze na różnych odległościach od powierzchni gleby, wynika, że liczba szparek na jednostkę powierzchni w różnych liściach tego samego pędu podlega różnym zmianom. Mianowicie: liczba szparek na jednostkę powierzchni jest zwykle większa w górnych liściach, niż w dolnych tego samego pędu.



Wykres I.

Ilość i długość szparek na 1 mm<sup>2</sup> powierzchni w różnych liściach tego samego okazu.  
 Nombre et longueur des stomates par 1 mm<sup>2</sup> de surface dans différentes feuilles du même individu.

ZALENSKI ('03, str. 93) poraz pierwszy zastosował tę metodę obliczeń szparek na różnych liściach tego samego pędu. Doszedł on do wniosku: „Im wyżej dany liść jest na łądydze lub im bardziej oddalony jest od systemu korzeniowego, tem więcej jest na nim szparek na jednostkę powierzchni w porównaniu z liśćmi niżej umieszczonemi“.

W badaniach moich spotkałam się z kilkoma odchyleniami od tego prawa. Znacznie więcej odchyień przypada na stronę górną liścia, niż na dolną. Rozmiary szparek też zmieniają się

w miarę oddalenia liścia od systemu korzeniowego. Tu jednak też są pewne odchylenia, które najczęściej są w związku ze zmniejszaniem się ilości komórek szparkowych na jednostkę powierzchni.

Dane, dotyczące liczby szparek na jednostkę powierzchni w różnych liściach tego samego okazu, znajdujemy w dawnych pracach WEISSA ('65 '66), który nie podaje jednak żadnych danych o umieszczeniu liści badanych na łądydze, SORAUERA ('78), który doszedł do wniosku o ogólnym zwiększaniu się liczby szparek na  $1 \text{ mm}^2$  pow. blaszki w liściach wyżej umieszczonych na łądydze, w porównaniu z niżej umieszczonymi, długości ich odpowiednio zmniejszają się; HABERLANDTA ('24), który stwierdził zwiększenie się liczby szparek na jednostkę pow. w liściach wyżej umieszczonych na łądydze i tłumaczy to zjawisko wiekiem górnych liści. Zdaniem ZALENSKIEGO ('03; str. 103 — 104) wyjaśnienia HABERLANDTA są niezgodne z jego własnymi badaniami. ZALENSKI brał bowiem do swych pomiarów szparek, tylko takie liście, które były zupełnie wykształcone i zakończyły swój wzrost. Badał on tylko takie okazy, które już okwitły, lub były w okresie owocowania. Mój zaś materiał był zbierany w różnych porach roku, może tem tłumaczy się większa liczba odchyień w pomiarach szparek. Z pracy swej mogę tylko orzec, jak dalece nieścisła jest metoda obliczania szparek na liściach roślin, bez uwzględnienia umieszczenia danego liścia na pędzie.

Wyniki moje, otrzymane dla gatunku *Gymnadenia conopea* R. Br., w porównaniu z różnymi roślinami, żyjącymi w różnych warunkach biologicznych wykazały dość duże odchylenia, jak np. 39, 37 i 31 szparek na  $1 \text{ mm}^2$  liścia. Wyniki zaś, dotyczące się wyłącznie gatunku *Gymnadenia conopea* R. Br., wykazują liczby: 28, 30, 31, 42, 45 na  $1 \text{ mm}^2$ . Większe jeszcze są odchylenia u *Epipactis palustris* Crantz, gdzie w ogólnym zestawieniu wykazano 58 szparek na  $1 \text{ mm}^2$ , gdy *Epipactis palustris* Crantz wzięty z wysokości 21.5 cm od gleby, wykazuje już 98 szparek na  $1 \text{ mm}^2$ . Wobec powyższych danych, uważam, że należy, podając tabelę, zaznaczyć, z jakiej wysokości od systemu korzeniowego jest dany liść, gdyż wtedy tylko liczby szparek podane na  $1 \text{ mm}^2$  pow. liścia będą względnie ściśle. Wszystkie nowsze badania, dotyczące zależności ilości szparek od stanowisk, warunków biologicznych i umieszczenia danego liścia na pędzie, są w wyraźnej sprzeczności z dawnymi zapytowaniami, które specjalnie w tabelach TSCHIRCHA ('81 — '99), utworzonych z liczb wziętych od WEISSA ('65 — '66), MORRENA ('64), CZECHA ('69) i ZYNGLERA ('73), były wyrażane i uchodziły za jedynie prawdziwe.

Opierały się na poniższem: „Liście słonecznych stanowisk mają mało szparek, liście cienistych stanowisk — dużo. Na stanowiskach gdzie odbywa się silna transpiracja, zmniejszona ilość szparek ogranicza wydzielanie wody. Tabela TSCHIRCHA ilustruje te stosunki.

Podawanie jednak stanowisk ogólnych roślin jest nieściśle, gdyż w innych warunkach transpiracyjnych znajdują się np. w „lesie wilgotnym“ liście drzew i liście roślin zielnych, tworzących podszycie lasu. Niema nigdy bowiem obszaru choćby najmniejszego, który byłby jednolity, i warunki stanowiska nigdy nie są równe, wskutek czego i ekologiczne przystosowanie się roślin musi być różne. Możemy wobec tego na jednym i tem samym stanowisku znajdować obok siebie kserofity i hydrofity.

ZALENSKI ('03, str. 203) przytacza dane, oparte na bardzo bogatym i licznyim materiale, które dowiodły wręcz przeciwnego rezultatu co do ilości szparek na jednostkę powierzchni w liściach roślin, należących nawet do jednej rodziny. W rodzinie *Ranunculaceae*, np. u *Thalictrum flavum*, z otwartego miejsca między skałami liczba szparek na 1 mm<sup>2</sup> wynosiła 186, rosnąca zaś na łąkach zalewanych — 158 szparek. Rosnąca pośród drobnych krzewów *Clematis integrifolia* — 167, w cieniستم miejscu między skałami *Atragene alpina* — 44 i t. p.

Praca ZALENSKIEGO ('03), napisana po rosyjsku, w mało dostępnem wydaniu, nie była znana szerszemu ogółowi botaników. Dopiero w roku 1912 zupełnie zgodnie z ZALENSKIM dane otrzymał YAPP, badając szczegółowo budowę liści rośliny błotnej *Spiraea Ulmaria*. YAPP badał 21 liści na jednym pędzie *Spiraea*, przyczem ilość szparek na 1 mm<sup>2</sup> pow. blaszki liściowej stale wzrastała przy przejściu od dolnych liści do górnych; otrzymał on ciekawy szereg liczb co do ilości szparek na 1 mm<sup>2</sup> w porządku kolejnym dla zbadanych liści rzeczonych *Spiraea*: najniższy posiadał 393 szparki, a najwyższy ze zbadanych — 1090 szparek.

Oprócz tego YAPP przytacza tabelę, w której oprócz ilości szparek na 1 mm<sup>2</sup> w liściach różnych pięter, podaje również ilości szparek w liściach roślin różnych stanowisk.

Na podstawie tych doświadczeń YAPP dochodzi do wniosku, że w różnych warunkach meteorologicznych zjawiania się liści różnych pięter, mianowicie w większej suchości tego okresu zjawiania się liści górnych, należy szukać przyczyny budowy bardziej kseromorficznej liści górnych pięter.

ZALENSKI ('03, str. 158 — 163) tłumaczy bardziej kseromorficzną budowę górnych liści utrudnionym dopływem do nich wody, która jest po drodze przejmowana przez liście dolne. Dane ZALENSKIEGO znalazły również potwierdzenie w pracy HEUSERA ('15), RIPPELA ('19), RÜBELA ('20), ALEKSANDROWA ('22), HUBERA ('24), MAKSIMOWA ('26) i jego współpracowników. AURELIAN ROSHARD ('21), badając szparki pływających wodnych roślin jezior szwaj-

carskich w zależności od wpływu światła, doszedł do następującego wniosku: „Liście lepiej oświetlane wykazały większą ilość szparek, niż liście słabiej oświetlane, różnica wynosiła od 50—110 szparek na jednostkę powierzchni“. Nie możemy wobec powyższego nie zgodzić się ze słusznym twierdzeniem RYWOSCHA (25): „Należy dawną a priori naukę o dużych ilościach szparek w liściach cienistych stanowisk, a małych — w słonecznych, odrzucić, wobec tego, że nowe badania, oparte na bogatym materiale dowiodły wręcz przeciwnego rezultatu: słoneczne stanowiska — większa ilość szparek, cieniste — mniejsza“.

Dziwić się tylko należy, że tablica TSCHIRSCHA została przyjęta przez HABERLANDTA. W nowym, co prawda, wydaniu HABERLANDTA (24) tabela TSCHIRCHA podana na str. 440 w wydaniu z 1918 roku, jest usunięta, lecz dalej HABERLANDT (24, str. 439) obstaje przy wniosku: „Im allgemeinem lässt sich der Satz aufstellen, dass mit der wachsenden Trockenheit des Standortes die Zahl der Spaltöffnungen abnimmt.“

Wyniki moich badań nad ilością szparek w liściach roślin, wziętych bądź z różnych stanowisk biologicznych, bądź w liściach tego samego okazu, w zależności od umieszczenia ich na pędzie, są, jak wykazują załączone wykresy, zgodne z danymi tych autorów, którzy stoją na stanowisku, że liście lepiej oświetlane wykazują większą ilość szparek na 1 mm<sup>2</sup> powierzchni blaszki liściowej, niż liście cieniste.

Dane o długości nerwów na jednostkę powierzchni na liściach, pochodzących z różnych stanowisk biologicznych.

Odnośne badania przeprowadziłam nad 34 okazami storczyków. Załączony wykres II-gi ilustruje otrzymane wyniki. Wyznaczanie długości nerwów na 1 cm<sup>2</sup> powierzchni liścia było robione bądź na liściach, znajdujących się w środkowej części łodygi, bądź brano średnią długość nerwów z różnych liści danego okazu. Uwzględniałam w pracy swojej w miarę możliwości warunki biologiczne, w jakich badane rośliny rosły, oraz ich stanowiska w Polsce według SZAFERA i KULCZYŃSKIEGO.

Jak widzimy, długości wiązek naczyniowych na jednostkę powierzchni liści u różnych przedstawicieli tej samej rodziny lub rodzaju, a nawet gatunku bardzo różnią się między sobą, np. w obrębie rodziny różnice są bardzo duże: u *Goodyera repens* (L.) R. Br. obliczona długość nerwów wynosiła 120 mm na 1 cm<sup>2</sup>, a u *Coeloglossum viride* (L.) Hartm. — 320 mm na 1 cm<sup>2</sup> pow. blaszki liściowej. W obrębie rodzaju różnice są nie mniejsze:





*Epipactis palustris* Crantz wykazał długość nerwów na powierzchni 1 cm<sup>2</sup> równą 271 mm, a *Epipactis latifolia* All. — 174 mm. Otrzymałam również duże różnice w pomiarach w obrębie tego samego gatunku, np.: *Coeloglossum viride* (L.) Hartm. u osobnika cienistego długość nerwów na 1 cm<sup>2</sup> pow. liścia wynosiła 197 mm, a u osobnika, rosnącego w miejscu, wystawionem na insolację i wiatry, długość wynosiła — 320 mm na 1 cm<sup>2</sup> powierzchni blaszki liściowej. Powyższe liczby wskazują nam, że długość wiązek naczyniowych nie jest w związku z systematycznym stanowiskiem rośliny, lecz zależy od warunków biologicznych, w jakich roślina dana żyje. Najmniejszą długość nerwów wykazała *Goodyera repens* (L.) R. Br., rosnąca na niżu w okolicach Wilna, w cienistym lesie szpilkowym, największą zaś — *Coeloglossum viride* (L.) Hartm., rosnący na wysokości 1600 m, wystawiony na silne działanie wiatru i na dużą insolację. Zestawienie powyższe wykazuje, że różnica w długości wiązek naczyniowych jest w związku z warunkami meteorologicznymi, a prawdopodobnie i — edaficznymi.

*Coeloglossum viride* (L.) Hartm. wykazał też największą ilość szparek na pow. 1 mm<sup>2</sup> blaszki liściowej, co pozwala na przypuszczenie, że roślina ta ma większe natężenie transpiracyjne, dlatego też musi posiadać bardziej rozwiniętą długość wiązek naczyniowych, by mieć ułatwiony dopływ wody. Opieram swe przypuszczenia na ogólnem gospodarstwie wodnem roślin, gdzie obok procesów fizjologicznych odgrywają też rolę procesy czysto fizyczno-chemiczne. Zdolność pobierania wody przez komórkę oznaczamy według terminologii URSPRUNGA, jako siłę ssącą komórki. Na niewielkiej odległości dyfuzja z komórki do komórki odgrywa przy zaopatrywaniu w wodę wszystkich roślin pewną rolę. Zewnętrzne komórki korzenia pobierają wodę wprost z gleby. Jest ona podawana z komórki do komórki aż do wiązek. Przez wiązki płynie ona dalej do góry do liścia, skąd znów idzie ona z komórki do komórki, aż dojdzie do komórek, graniczących wewnątrzniemi przestrzeniami międzykomórkowemi z atmosferą. Transpiracja zatem należy do procesów tego rodzaju, które wywołują wspomnianą siłę ssącą w komórkach liści i powoduje pobieranie wody z gleby. Doświadczenia URSPRUNGA ('22) wykazały, że siła ssąca w komórkach miękiszowych liści wzrasta w miarę oddalenia danej komórki od głównego nerwu,

dlatego też ten sposób krążenia wody na większych przestrzeniach jest niedogodny. W martwych zaś wiązkach naczyniowych, nie posiadających żadnej siły ssącej, mechanizm krążenia wody według poglądów DIXONA ('14 — '24) oparty jest na t. zw. teorii spójności. Siła spójności dochodzi do 300 — 350 atmosfer. Większy więc rozwój wiązek naczyniowych ułatwia krążenie wody w roślinie i dopływ jej do liścia, jednocześnie wpływa na ułatwienie wogóle wymiany gazów, na zwiększenie energii transpiracyjnej i asymilacyjnej.

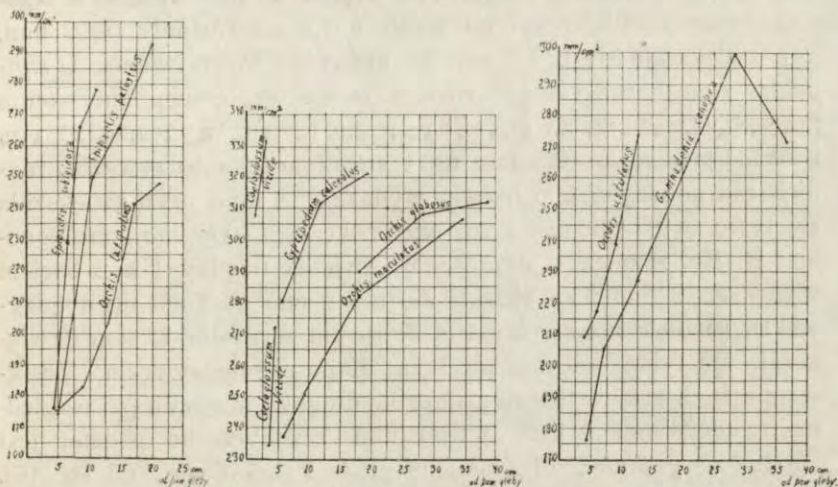
MAKSIMOW ('26, str. 347 — 348) dowodzi, że u cienistych roślin komórki miękiszowe liści są w znacznie gorszych warunkach co do zaopatrywania w wodę, niż u roślin rosnących na słońcu, gdyż mają one mniejszą ilość wiązek naczyniowych. Dalej MAKSIMOW (l. c., str. 363) zaznacza: „pobieranie i ruch wody u cienistych roślin nie może nie być utrudniony i dlatego gorszym zaopatrzeniem w wodę, a nie natężeniem transpiracji należy tłumaczyć wędnięcie roślin”. Niedostateczne zaopatrzenie w wodę tworzy w roślinach to, co ZALENSKI w ostatniej swej notatce ('20) nazywa „wewnętrzną fizjologiczną suchością”. Do podobnych wniosków o większym rozwoju wiązek naczyniowych i większej transpiracji u roślin słonecznych, niż u cienistych i wskutek tego łatwiejszego wędnięcia cienistych roślin doszli RÜBEL ('20) i HUBER ('24). ZALENSKI ('03, str. 193 i 194) przedstawił dane o większej długości wiązek naczyniowych u roślin, żyjących na suchych i słonecznych miejscach. Zbadał on długość wiązek naczyniowych u 44 rodzin i 175 gatunków różnych stanowisk biologicznych.

Moje zatem dane, przedstawione w wykresie II-im, wykazujące większą długość wiązek naczyniowych zarówno u roślin słonecznych górskich, jak u *Coeloglossum viride* (L.) Hartm., u *Orchis maculatus* (L.), rosnących na łące bagnistej, potwierdzają wyniki, otrzymane przez ZALENSKIEGO ('03) i innych badaczy.

Dane liczbowe długości nerwów na 1 cm<sup>2</sup> powierzchni blaszki liściowej w różnych liściach tej samej rośliny.

Metoda badań jest opisana przy metodach ogólnych, stosowanych w anatomii ilościowej. Dodam tylko, że wycinki liści do badań brałam z odpowiadających sobie miejsc różnych liści — wycinałam ze środkowej części liścia w jednakowej odległości od nasady blaszki. Wykresy II i III wykazują, że długość wiązek naczyniowych na 1 cm<sup>2</sup> powierzchni liściowej znacznie zmienia

się nietylko w liściach, pochodzących z różnych stanowisk biologicznych, lecz i w liściach tego samego okazu. Jest ona jakby funkcją odległości od punktu przymocowania liścia na łodydze i odległości od powierzchni gleby. Widzimy, że im wyżej jest umieszczony dany liść na łodydze, tem większą jest względna długość jego wiązek na 1 cm<sup>2</sup> pow. liściowej, w porównaniu z liśćmi, niżej umieszczonemi na tym samym pędzie.



Wykres III.

Długość nerwów na 1 cm<sup>2</sup> powierzchni w różnych liściach tego samego okazu.

Longueur des nerures par 1 cm<sup>2</sup> de surface dans différentes feuilles du même individu.

Najmniejszą ilość wiązek na jednostkę powierzchni liściowej wykazały liście niżej umieszczone, największą — najwyższym umieszczone. Różnice te są zupełnie wyraźne mimo to, że obserwacje były robione w obrębie tylko jednej rodziny.

U *Cypripedium calceolus* (L.) różnice pomiędzy 1 a 3 liściem wynoszą 14%, u *Coeloglossum viride* (L.) Hartm. między 1 a 2 liściem — 16% (różnica w wysokości — 1.2 cm), u *Orchis globosus* L. między 2 a 4 liściem — 7.6%, u *Orchis ustulatus* L. między 3 a 5 różnica wynosi 26%, u *Epipactis palustris* Crantz, między 2 a 7 różnica — 6.8%, u *Epipactis rubiginosa* Gaud. między 1 a 5 liściem różnica wynosi 30%, u *Orchis maculatus* L. między 1 a 6 liściem — 29.5%, u *Gymnadenia conopsea* R. Br. między 1 a 5 liściem 70.5%, u *Orchis latifolius* L. między 1 a 5 liściem różnica — 41.7%. Jednakże z obserwacyj moich widać

(wykres III), że względne zwiększanie się unerwienia na jednostkę powierzchni w miarę oddalenia liścia od gleby nie wykazuje jakiegś wyraźnej prawidłowości ze zwiększającą się wysokością umieszczenia liścia na pędzie. Tak np. u *Cypripedium calceolus* L. (wykres III) różnica w długości wiązek na 1 cm<sup>2</sup> pow. liścia między 1 a 2 liściem, oddalonymi od siebie o 7.5 cm wynosiła 32 mm, t. j. zwiększała się mniej więcej o 7.3 mm na każdy cm międzywęzła. Różnica w długości wiązek między drugim a trzecim liściem, oddalonymi od siebie o 7.5 cm równała się 9 mm, t. j. zwiększała się o 1.2 mm na każdy cm międzywęzła. U *Epipactis rubiginosa* Gaud. różnica ta we względnym unerwieniu pomiędzy pierwszym, a drugim liściem wynosiła 21 mm i zwiększała się o 10.5 mm na 1 cm długości międzywęzła, różnica zaś między 5 a 6 liściem wynosiła 38 mm, czyli zwiększała się tylko o 9.5 mm na 1 cm międzywęzła. U *Gymnadenia conopsea* R. Br. różnica w długości unerwienia między 1 a 2 liściem wynosiła 19 mm i zwiększała się o 7.2 mm na 1 cm dł. międzywęzła, różnica zaś między 2 a 3 liściem wynosiła 22 mm i zwiększała się tylko o 4 mm na 1 cm długości międzywęzła. Zestawienie tych przyrostów na jednostkę długości międzywęzła względnego unerwienia u liści, wyżej umieszczonych na pędzie, jest zgodne z wynikami, otrzymanymi przez ZALENSKIEGO ('03, str. 46), który uważa, że: „albo niema tu żadnej prawidłowości, albo ona istnieje i ztraca się w niedokładności metody i może być wykazana tylko przy bardzo dużej ilości obserwacji“.

Niżej przytoczone dane wykażą tę średnią szybkość przyrostu unerwienia:

Nazwa rośliny:

1. <i>Cypripedium calceolus</i> L. . . . .	10.2 mm	
2. <i>Coeloglossum viride</i> (L.) Hartm. . . . .	38.0 mm	
3. <i>Epipactis rubiginosa</i> Gaud. . . . .	5.7 mm	
4. <i>Orchis latifolius</i> L. . . . .	4.6 mm	na 1 cm odległości
5. <i>Orchis maculatus</i> L. . . . .	2.4 mm	pomiędzy skrajne-
6. <i>Epipactis palustris</i> Crantz . . . . .	7.9 mm	mi zbadanemi
7. <i>Epipactis rubiginosa</i> Gaud. . . . .	5.6 mm	liśćmi.
8. <i>Orchis globosus</i> L. . . . .	1.0 mm	
9. <i>Orchis ustulatus</i> L. . . . .	7.6 mm	
10. <i>Epipactis palustris</i> Crantz . . . . .	3.2 mm	

Jak widzimy z powyższej tabeli, wielkość przyrostu nie zależy od stanowiska systematycznego rośliny, ani od rozmiarów

znajdujących się na danej łodydze liści, lecz raczej od biologicznych warunków stanowisk.

*Coeloglossum viride* (L.) Hartm., roślina ze zbocza otwartego, ze strony słonecznej, wykazała największy przyrost 38 mm na 1 cm odległości pomiędzy skrajnymi liśćmi, przytem odległość między nimi wynosiła tylko 1 cm, wtedy gdy u *Orchis maculatus* L., pochodzącej z łąki torfiastej zalewanej, przyrost ten wynosił 2.4 mm na 1 cm odległości pomiędzy skrajnymi liśćmi. Z tabeli tej wynika również, że i inne rośliny, rosnące na gruncie wilgotnym, mają mniejszy przyrost na 1 cm odległości między liśćmi od roślin, rosnących na gruncie suchym (wapiennym), co pozwala przypuszczać, że absolutna różnica w długości wiązek naczyniowych na jednostkę powierzchni pomiędzy liśćmi górnymi a dolnymi jest większa u roślin o charakterze bardziej kseromorficznym. Odchyień od ogólnej prawidłowości było bardzo mało.

*Gymnadenia conopea* R. Br. (okaz zebrany na początku czerwca). Odchylenie było tylko w dwóch najwyższych liściach, które przypuszczalnie nie zakończyły jeszcze swego wzrostu.

*Orchis incarnatus* L. Okaz z łąki torfiastej (materiał zielnikowy), który wogóle we wszystkich badaniach ilościowych i jakościowych wykazywał dużo odchyień.

*Orchis incarnatus* L. Okaz z łąki torfiastej Puszczy Kampinoskiej.

*Gymnadenia conopea* R. Br. — łąka torfiasta; odchylenie w najwyższym liściu, co zgadza się z innym okazem *G. conopea* R. Br. (Wykres III).

*Epipactis palustris* Crantz. Łąka torfiasta; odchylenie wykazuje przedostatni liść zbadany, z następnej znów wysokości długość wiązek naczyniowych na 1 cm<sup>2</sup> wzrasta.

*Orchis maculatus* L. wykazał najwięcej odchyień: jest to odmiana biała, okaz względnie niski, młody, liście prawdopodobnie jeszcze nie wykształcone.

Muszę jeszcze zaznaczyć, że zwiększenie długości wiązek naczyniowych na jednostkę pow. liściowej w górnych liściach w porównaniu z niżej umieszczonymi na pędzie nie zależy od wielkości rozwoju powierzchni porównywanych liści, jak np. u *Epipactis palustris* Crantz: powierzchnia najniższego liścia, wynosiła 770 mm<sup>2</sup>, a powierzchnia najwyższego liścia 350 mm<sup>2</sup> gdy tymczasem długość wiązek na jednostkę pow. wzrosła według

ogólnej prawidłowości, t. j. odległości od gleby. Wogóle w liściach zbadanych przeze mnie, powierzchnia liści zmniejszała się w miarę zbliżania się do wierzchołka pędu, gdy długość wiązek na 1 cm<sup>2</sup> pow. stale wzrastała. U storczyków o liściach o równoległym unerwieniu to zwiększanie się długości nerwów na 1 cm<sup>2</sup> pow. liścia w każdym wyżej umieszczonym liściu pochodzi nietylko od wzrastania liczby wiązek, przebiegających równoległe do długości liści na danej powierzchni, lecz i od zwiększenia liczby poprzecznych anastomoz. U niektórych roślin dało się zaobserwować większy rozwój zapasowych tracheid w liściach, wyżej umieszczonych na pędzie, co pozwala przypuszczać, że i one wpływają poniekąd na zwiększanie długości wiązek naczyniowych na 1 cm<sup>2</sup> pow. liścia. Stwierdziłam to u *Epipactis rubiginosa* Gaud. i u *Orchis ustulatus* L.

ZALENSKI ('03, str. 57) uważa, że zwiększenie długości wiązek naczyniowych na jednostkę powierzchni w liściach, wyżej umieszczonych na pędzie, zależy od mniejszych rozmiarów komórek mesofilu, który wypełnia przestrzeń pomiędzy nerwami.

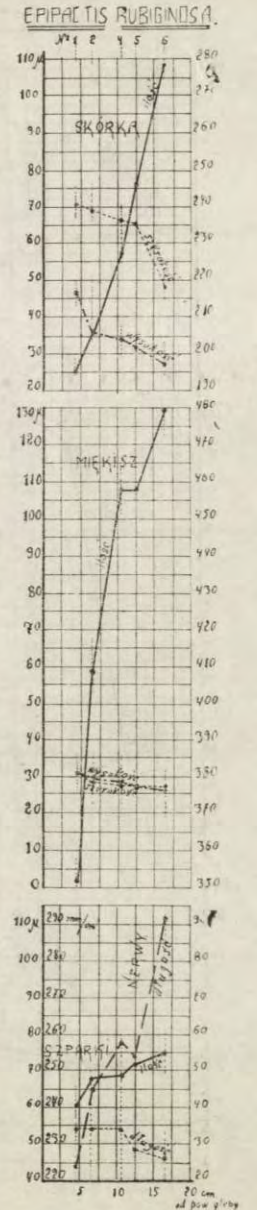
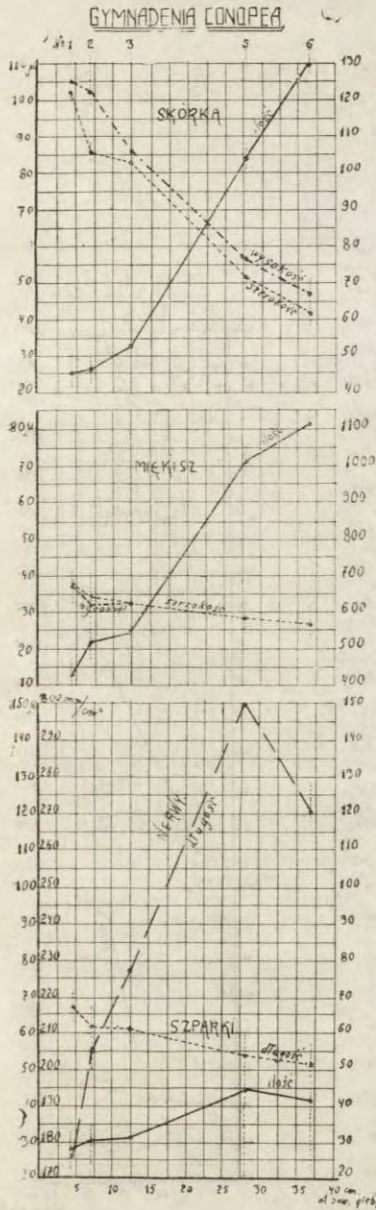
Wykresy IV i V wykażą, czy w zbadanych liściach storczyków jest korelacja między długością wiązek naczyniowych a wielkością i ilością innych elementów anatomicznych.

Zmiany elementów anatomicznych w różnych liściach tego samego okazu.

Badania przeprowadziłam nad 8 gatunkami roślin. Badania oddośne wykazały, że zmiany w budowie liścia przy stopniowym oddalaniu liścia od gleby sprowadzają się do następujących wyników:

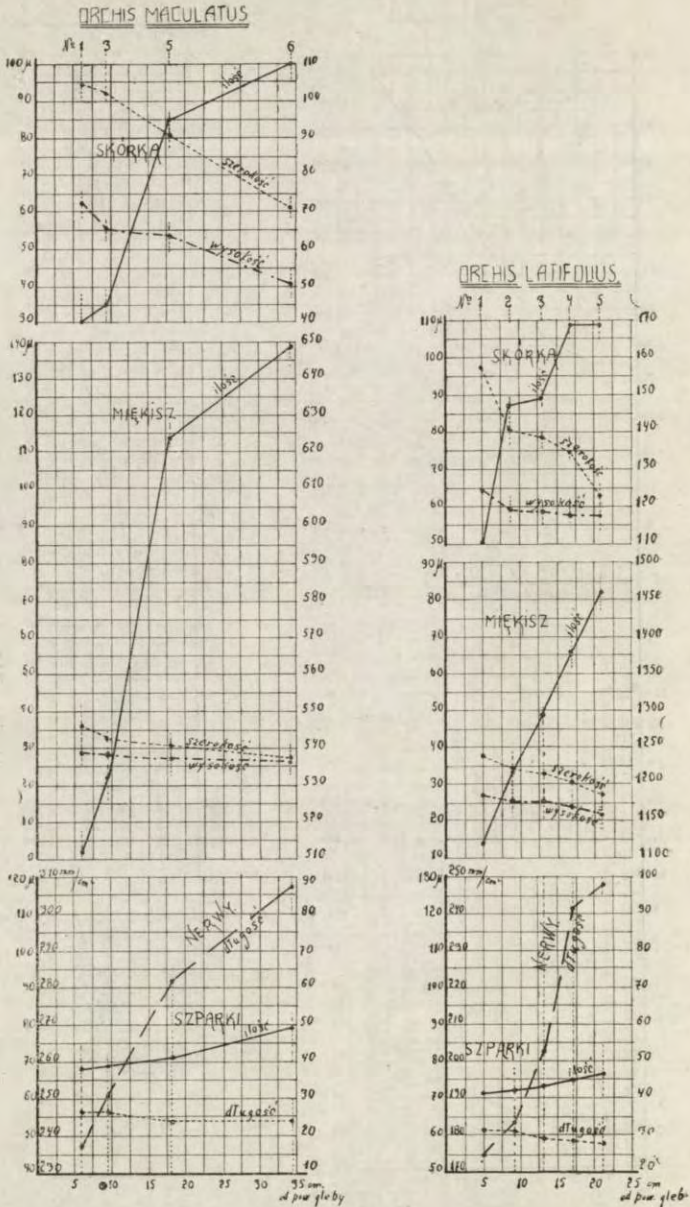
1<sup>o</sup>, ilość wiązek naczyniowych, przypadających na 1 cm<sup>2</sup> powierzchni, zwiększa się; 2<sup>o</sup>, ilość komórek skórki na jednostkę powierzchni zwiększa się, przyczem zarówno wysokość jak i szerokość komórek skórki odpowiednio zmniejsza się; 3<sup>o</sup>, ilość komórek mięksiszowych na jednostkę powierzchni zwiększa się; 4<sup>o</sup>, wysokość i średnica komórek mięksiszowych zmniejsza się; 5<sup>o</sup>, ilość szparek na jednostkę powierzchni liścia zwiększa się; 6<sup>o</sup>, długość komórek szparkowych zmniejsza się.

Widzimy, że zmiana budowy liści w miarę zwiększającej się odległości od gleby, sprowadza się do ogólnego zmniejszenia wielkości ich komórek, dzięki czemu ilość oddzielnych elementów,



Wykres IV.

Zmiany elementów anatomicznych w różnych liściach tego samego okazu.  
 Variations des éléments anatomiques dans différentes feuilles du même individu.



Wykres V.

Zmiany elementów anatomicznych w różnych liściach tego samego okazu.  
 Variations des éléments anatomiques dans différentes feuilles du même individu.



przypadających na jednostkę powierzchni, zwiększa się. W badaniach moich miałam kilka odchylenia od wyżej sformułowanej korelacji.

U *Gymnadenia conopea* R. Br. odchylenie wykazał tylko najwyższy liść, w którym ilość wiązek naczyniowych, ilość szparek na jednostkę powierzchni były mniejsze, niż w liściu poprzednim, rozmiary jednak szparek zmniejszały się w dalszym ciągu. Nasuwa mi to przypuszczenie, że liść może nie był jeszcze całkowicie wykształcony, stąd taki spadek w ilościach elementów anatomicznych.

U *Epipactis rubiginosa* Gaud. odchylenie w długości wiązek na jednostkę pow. w liściu 5-ym, wzrastające rozmiary szparek na jednostkę pow. w liściu 2-im, stałe ich rozmiary w 3-im i 4-ym liściu. W liściu ostatnim rozmiary szparek zmalały i ilość wiązek naczyniowych na jednostkę pow. wzrosła. Należy zaznaczyć, że brak korelacji co do rozmiarów szparek dał się zaobserwować u *Epipactis rubiginosa* Gaud. tylko na górnej stronie liścia, na dolnej była zupełnie zgodna z wyżej rzezonem prawem wzajemnej korelacji.

U *Epipactis palustris* Grantz. zaobserwowałam jedynie odchylenie w długości wiązek na jednostkę w liściu 7-ym przy zupełnej zgodności innych elementów anatomicznych.

U *Orchis globosus* L. stwierdziłam odchylenie w ilości szparek na jednostkę powierzchni, które szło w porządku malejącym. Zostało to uwzględnione w opisie badań nad ilością szparek na powierzchni 1 mm<sup>2</sup> w liściach roślin, żyjących w różnych warunkach biologicznych, gdzie jako przyczyny tego spadku podano luźniejszą budowę tkanki mezofilowej. Te niewielkie odchylenia nie zmieniają ogólnej prawidłowości zwiększania się ilości elementów anatomicznych i zmniejszania się ich wymiarów w liściach, wyżej umieszczonych na pędzie. Badania jakościowe również wykazały pewne różnice w budowie anatomicznej w różnych liściach tego samego okazu. Wraz ze zmianami rozmiarów komórek skórki górnej i dolnej zmienia się również i kształt komórek. Falistość bocznych ścianek komórek skórki zmniejsza się w liściach wyżej umieszczonych na pędzie, a nawet prawie zupełnie zanika. Badania mesofilu też wykazały różnice w budowie anatomicznej, mającej charakter jakościowy. W liściach o mesofilu izolateralnym, wraz z wysokością umieszczenia ich na pędzie, komórki

miękiszowe przybierały bardziej okrągły kształt, i równoległe ze zmianami rozmiarów komórek szły też i rozmiary przestrzeni międzykomórkowych, które zmniejszały się wraz z wysokością.

U niektórych roślin dolne liście wykazywały budowę grzbie-tobrzuszną, np. u *Orchis incarnatus* L. o wyraźnej tkance gąb-zastej, górne liście natomiast stawały się bardziej isolateralne.

Elementy mechaniczne rozwijały się w górnych liściach bardziej, niż w dolnych. Rozmiary wiązek naczyniowych zmiej-szały się wraz z wysokością umieszczenia liścia na pędzie. Ko-mórki mesofilu, zawierające rafidy, w górnych liściach zmiej-szają się, zarówno jak i rozmiary rafid.

Wyniki moich obserwacyj potwierdzają zasadę ZALENSKIEGO ('03, str. 128 — 129), którą zastosował poraz pierwszy do swych licznych badań ilościowych. W ogólnym wyniku wszystkich po-miarów i obserwacyj ZALENSKIEGO okazało się, że budowa anatomi-czna liści danego pędu jest jakby funkcją oddalenia od systemu korzeniowego. Tej to zależności MAKSYMOW ('26, str. 329) nadaje nazwę „prawo ZALENSKIEGO“.

Biometryczne pomiary stosował w Rosji KOLKUNOW ('05) do selekcji zbóż, wytrzymałych na suszę i do badań stopnia ksero-fitowości niektórych ras buraków cukrowych ('07). Badania ilościowe KOLKUNOWA idą w kierunku, wytkniętym przez ZALENSKIEGO. Wnioski zaś fizjologiczne KOLKUNOWA co do mniejszego natężenia transpiracji u roślin o małych komórkach, więc ksero-fitowych, są sprzeczne z danymi późniejszymi nowszych badaczy, zajmującymi się wspomnianymi zagadnieniami.

Pozwolę sobie przytoczyć niektóre dane fizjologiczne, oświet-lające sprawę natężenia transpiracji liści słonecznych i cienistych górnych i dolnych pięter.

MAKSYMOW ('26, str. 334) nadmienia, że wyraźne różnice anatomiczne w budowie liści górnych pięter wykazują również istotne różnice fizjologiczne. Różni współcześni badacze, jak MAKSYMOW i ALEKSANDROW ('26, str. 335) i ZALENSKI ('23), ogłosili swe doświadczenia o wielkości transpiracji górnych i dolnych liści różnych pięter, które wykazały, że liście wyżej umieszczone transpirują na jednostkę powierzchni znacznie więcej wody, niż dolne. Również i ciśnienie osmotyczne w liściach górnych pięter okazało się znacznie większe w porównaniu z liśćmi pięter niż-szych (badania PRINGSHEIMA '06, ZALENSKIEGO '11, ILJINA i SOBO-

LEWOJ '17). Asymilacja w liściach górnych piętér według ALEKSANDROWA ('23) wyróżnia się znacznie większą intensywnością, którą należy uznać jako jedną z przyczyn właściwości ich budowy anatomicznej.

Zatrzymałam się dłużej nad wyjaśnieniem nowszych badań wielkości transpiracji, które rzuciłyby trochę światła na to, że może i u storczyków, przeze mnie zbadanych, te różnice w natężeniu transpiracji, szczególnie w liściach górnych mogą mieć miejsce. Według STAHLA ('08) storczyki należą do roślin o małym bilansie wodnym, co nie jest wobec wyżej wspomnianych wyników fizjologicznych niesłuszne. •

Widzimy na podstawie rzeczonych danych, że liście górne różnią się od dolnych bardziej kseromorficzną budową, której głównymi właściwościami z punktu widzenia anatomicznego jest większy rozwój unerwienia na jednostkę powierzchni, mniejszy rozwój przestrzeni międzykomórkowych i wogóle słabszy rozwój tkanki gąbczastej, mniejszy rozwój wszystkich elementów anatomicznych i większy rozwój szparek na 1 mm<sup>2</sup> pow. liścia. Przyczyny, które warunkują te duże różnice w budowie pomiędzy liśćmi tego samego pędu, ZALENSKI ('03, str. 156 — 163) przypisuje działaniu „odciągających prądów“, powstających wskutek odciągania wody od wciąż jeszcze rosnących pączków przez dolne już wykształcone i silnie transpirujące liście, nowe zaś zawiązujące się lub rozwijające się listki odczuwają brak wody i przyjmują bardziej kseromorficzną budowę.

Widzimy, jak duży wpływ wywierają na budowę liścia warunki dopływu wody. Utrudniony dopływ wody powoduje budowę bardziej kseromorficzną, ułatwiony dostęp wody powoduje budowę bardziej hydromorficzną. Oprócz jednak dopływu wody duży wpływ na budowę liścia mają i warunki użytkowania wody.

ZALENSKI ('03, str. 162) zaznacza, że zmiany w budowie górnych liści nie są dziedzicznie przekazywane przez zaródź komórek, z których rozwijają się górne i dolne liście, lecz są uwarunkowane wpływem zewnętrznych i wewnętrznych czynników rozwoju (pod rozwojem wewnętrznym należy rozumieć działanie prądów odciągających).

YAPP ('12) przypisuje zmiany w budowie anatomicznej dolnych i górnych liści wpływom meteorologicznym, a głównie — większemu oświetleniu liści górnych i osuszającemu oddziaływaniu wiatru.

Dane liczbowe co do ilości i wielkości różnych elementów anatomicznych w liściach różnych roślin, żyjących w odmiennych warunkach biologicznych.

Odnośne badania przeprowadziłam nad 13 okazami storczyków, uwzględniając ich stanowiska i miejsce znalezienia. Wyniki, dotyczące ilości i wielkości różnych elementów komórkowych w liściach różnych roślin, żyjących w różnych warunkach biologicznych, naogół nie wykazały wybitnych różnic ilościowych, co wynika z tego, że storczyki zbadane rosły w niezbyt krańcowych warunkach klimatycznych i w podobnych warunkach edaficznych. Największe różnice wykazały storczyki bardziej słonecznych stanowisk co do ilości wiązek naczyniowych na 1 cm<sup>2</sup>.

Widzimy tu ścisłą korelację między długością wiązek naczyniowych na jednostkę powierzchni a warunkami meteorologicznymi, głównie ekspozycją względem słońca, na którą dany liść jest wystawiony. Rośliny, jak *Orchis globosus* L., *Orchis ustulatus* L., rosnące w podobnych warunkach meteorologicznych i edaficznych, wykazały prawie zupełnie zgodne dane co do wielkości i ilości elementów anatomicznych. To samo dotyczy i innych gatunków, rosnących w zgodnych warunkach biologicznych. Można na podstawie tych danych, a szczególnie o większym rozwoju wiązek na jednostkę pow. u roślin słonecznych, sądzić, że komórki miększu w liściach cienistych roślin, znajdują się w warunkach utrudnionego dopływu wody. Inne wielkości i ilości elementów anatomicznych należy rozpatrywać korelatywnie ze spoistą lub luźną budową tkanki mezofilowej.

Jeżeli porównamy cienistą *Listera ovata* (L.) R. Br. z bardziej eksponowanym na słońce *Coeloglossum viride* (L.) Hartm., to w danym przypadku widzimy, że u słonecznej *Coeloglossum viride* (L.) Hartm. wszystkie elementy anatomiczne są mniejsze, a ilości ich odpowiednio większe, gdy u cienistej *Listera ovata* (L.) R. Br. wszystkie składniki anatomiczne są większe, a ilości ich — mniejsze.

Storczyki krajowe żyją naogół w warunkach utrudnionego dopływu wody, lecz w względnie dużej wilgotności powietrza, czy to na niżu czy w górach. Może dlatego zaliczyć je można zgodnie ze STAHEM ('08) do roślin o małym bilansie wodnym.

## Wnioski ekologiczne.

Na podstawie wyżej przytoczonych danych, trudno orzec, do jakiego typu ekologicznego należy zaliczyć nasze storczyki krajowe. Rosną bowiem one przeważnie na łąkach torfiastych, korzenie mają niegłębokie, dopływ wody jest utrudniony przez niską temperaturę, złą wentylację i duże właściwości adsorbeyjne gleby. Wielu badaczy uważa, że brak tlenu w glebie osłabia parcie korzeniowe. Wpływu zaś niskiej temperatury gleby na pobieranie wody nikt ze współczesnych ekologów nie neguje. Chemiczne właściwości gleby torfiastej były również rozpatrywane przez różnych badaczy, którzy ustalili, że gleba torfiasta posiada właściwości trujące, lecz nie są to kwasy humusowe, podawane przez SCHIMPERA ('08). Ostatnio zaś MONTFORT ('21) wykazał, że gleba błotnista przeszkadza rozwojowi dużego systemu korzeniowego. Wszystkie nowsze poglądy różnych autorów są zgodne co do dużej adsorbeyj gleby torfiastej i co do trujących właściwości, co przemawia za tem, że większe ciśnienie osmotyczne u storczyków, dzięki większej sile ssącej komórek, sprzyja pobieraniu wody z gleby.

Przytem na łąkach torfiastych na niżu liście są często bardzo naświetlane, co wzmacnia transpirację. Obniżanie zaś transpiracji u storczyków, rosnących na pełnym świetle na łąkach torfiastych, jest osiąganę przez połyskującą powierzchnię blaszki, co zostało stwierdzone przez STAHLA ('08), który uważa storczyki za rośliny o małym bilansie wodnym, zmuszone do ograniczenia transpiracji. Te tak zwane przez HABERLANDTA ('24, str. 104) „Glanzlichter“ odbijają część światła słonecznego, które według niego są urządzeniem ochronnem przeciw zbyt silnej insolacji.

Takie liście posiadają: *Orchis maculatus* L., *Platanthera bifolia* (L.) Rchb., *Orchis incarnatus* L., *Orchis latifolius* L., i inne.

Storczyki krajowe, rosnące w górach, mają prawie zupełnie podobne warunki ekologiczne, występują one albo na łąkach torfiastych, pastwiskach, łąkach górskich, zboczach gór wapiennych lub lasach cienistych. Dopływ wody do storczyków tych jest również utrudniony, a różnice w promieniowaniu w górach i na

niżu są zbyt małe, ażeby mogły one wyrzucić wpływ na natężenie transpiracji. Jako przykład, ilustrujący podobne stosunki ekologiczne, może służyć występowanie *Listera ovata* (L.) R. Br. w lasach wilgotnych i zaroślach na całym obszarze Polski, aż po krainę kosodrzewu. Co się zaś tyczy zdolności transpiracyjnej roślin górskich, to doświadczenia SZYMKIEWICZA (str. 28) wykazały, że rośliny górskie nie posiadają charakterystycznej zdolności transpiracyjnej. Upatruje on brak korelacji pomiędzy charakterem ekologicznym a zdolnościami transpiracyjnymi. Dalej przytacza SZYMKIEWICZ ('26) wyniki swych doświadczeń, gdzie najsilniejszą transpirację wykazał *Senecio cineraria* kserofit o liściach pokrytych od spodu białym wołłokiem. Podobne wyniki o dużej transpiracyjnej zdolności kserofitów otrzymał MAKSIMOW ('26) i jego szkoła.

Rośliny górskie zatem zdaniem SZYMKIEWICZA ('26, str. 31) wyparowują bardzo różne ilości wody, średnio biorąc tyle, co rośliny niżowe. Jeżeli zaś mogą rosnąć tylko w klimacie bardziej wilgotnym, muszą posiadać bardzo słabą zdolność pobierania wody.

Storczyki zaś według STAHLA ('08) są roślinami o małych bilansach wodnych (t. j. o słabym pobieraniu wody i słabej transpiracji), a zarazem posiadają dużą koncentrację soku komórkowego. Trudno więc określić ściśle, do jakiego typu ekologicznego one należą.

Od czasu powstania ekologii, jako nauki, powstał podział wszystkich roślin na ekologiczne grupy hydrofitów, mezofitów i kserofitów, t. j. roślin żyjących w warunkach nadmiernego, w warunkach średniego i w warunkach niedostatecznego zaopatrzenia w wodę. Granicy wyraźnej w podziale tym przeprowadzić nie można i zaliczanie danej rośliny do tej, czy innej grupy często w praktyce napotyka na duże trudności. Badania MAKSIMOWA ('26) i jego szkoły, oraz ILJINA sprowadzają się do tego, że różnic fizjologicznych między mezofitami a kserofitami należy szukać nie w transpiracji, a w stosunku do wędnięcia. Jako cechą charakterystyczną dla kserofitów wysuwa MAKSIMOW ('26, str. 287) wytrzymałość na suszę, t. j. zdolność znoszenia bardzo dużej utraty wody.

Wielu badaczy, jak ZAŁENSKI ('20), KELLER ('24, '25), IWANOW ('23), HUBER ('24) i inni doszli do wniosku o braku cech

uniwersalnych budowy kserofitowej. Dla określenia mniejszej lub większej kserofitowości rośliny należy zdaniem ich liczyć się nie z jedną chociażby i istotną cechą (np. z natężeniem transpiracji), lecz należy wziąć pod uwagę właściwości anatomiczne i fizjologiczne roślin, ułatwiające pobieranie wody z gleby.

Zgodnie z MAKSIMOWEM ('03), jako kryterjum w określaniu typów ekologicznych, wzięłam całokształt zmian budowy anatomicznej w związku z ich właściwościami fizjologicznymi.

Jeżeli za podstawę definicji ekologicznej u storczyków weźmiemy przyjęte obecnie przez nowszych badaczy, jak MAKSIMOWA ('26), ZALENSKIEGO ('03), ALEKSANDROWA, YAPPA ('12), HEUSERA ('15), RIPPOLA ('19), RÜBELA ('20) i HUBERA ('24) i innych cechy budowy kseromorficznej a mianowicie: 1<sup>o</sup>, pod względem anatomicznym: zmniejszenie rozmiarów wszystkich komórek, w tej liczbie i szparek (zwiększenie ilości tych komórek), rozwój parenchymy palisadowej, zgrubienie ścianek, większy rozwój wiązek naczyniowych i zwiększenie ilości szparek na jednostkę powierzchni; 2<sup>o</sup>, pod względem fizjologicznym: zwiększenie transpiracji, zwiększenie asymilacji, zwiększenie ciśnienia osmotycznego, zwiększenie zdolności znoszenia wędnięcia, to napotkamy często na pozorne sprzeczności zarówno w budowie anatomicznej, jak i czynnościach fizjologicznych. Jako główne czynniki, wywołujące wyżej wymienione właściwości budowy kseromorficznej, należy uznać światło i deficyt wilgotności, powstającej w liściach.

Liście storczyków łączą w sobie cechy kilku przyjętych ogólnie grup ekologicznych. Jako roślinę o wyraźnie kseromorficznych cechach, odpowiadających wyżej wymienionym podstawom, można uznać słoneczną *Coeloglossum viride* (L.) Hartm., która oprócz braku tkanki palisadowej posiada: dużą ilość szparek na jednostkę powierzchni, wzrastającą wraz z wysokością umieszczenia na pędzie, zmniejszenie ich wymiarów, dużą ilość wiązek naczyniowych na jednostkę powierzchni, wzrastającą wraz z wysokością umieszczenia na pędzie, względnie mniejsze wymiary innych elementów anatomicznych. Cechy zaś fizjologiczne z jednej strony odpowiadają ogólnie przyjętemu obecnie podziałowi, jak duże osmotyczne ciśnienie, z drugiej znow strony mała transpiracja jest z nimi sprzeczna. Jeżeli zaś uwzględnimy doświadczenie HESSELMANA ('04) nad transpiracją roślin łąkowych, to zobaczymy, że między budową liścia, a transpiracją istnieje

ściśła łączność. HESSELMAN ('04) wykazał, że najczęściej transpirowały rośliny słoneczne, które posiadały największy rozwój tkanki palisadowej, słabiej zaś transpirowały takie rośliny, które zarówno na słońcu, jak i w cieniu nie mają wykształconej tkanki palisadowej. I inne storczyki, jak *Epipactis rubiginosa* Gaud., *Orchis ustulatus* L., *Orchis globosus* L. (poza jednym odchyleniem), *Orchis maculatus* L., *Cephalanthera rubra* (L.) Rich., *Orchis latifolius* L., *Epipactis palustris* Crantz., wykazały mniej więcej kseromorficzną budowę, odpowiadającą wyżej opisanej definicji. *Orchis incarnatus* L., rosnący w tych samych warunkach biologicznych, co *Orchis maculatus* L. i wykazujący zewnętrzne podobieństwo morfologiczne przez swą połyskującą blaszkę, odbijającą promienie świetlne, przy podobnej ilości szparek (wykresy I i V) i ich wymiarach, wykazał pewne odchylenie w ilości szparek w zależności od umieszczenia na pędzie (wykres V) mniejszą ilość wiązek naczyniowych na jednostkę powierzchni, odchylenie w długości wiązek naczyniowych w związku z umieszczeniem liści na pędzie (wykres III). Pod względem zaś jakościowej budowy anatomicznej wykazał wybitne różnice: bardzo luźną tkankę gąbczastą. *Epipactis latifolia* All. niezależnie od oświetlenia, występując często obok *Epipactis rubiginosa* Gaud., wykazał małą ilość szparek na jednostkę powierzchni, mniejszą ilość wiązek naczyniowych (wykres IV), ale budowę tkanek znacznie luźniejszą. *Gymnadenia conopsea* R. Br. i *Gymnadenia odoratissima* Rich. ujawniają w porównaniu z innymi — względnie niedużą ilość szparek (wykres IV), lecz zato bardzo dużą ilość wiązek naczyniowych na jednostkę powierzchni (wykres III); mimo tych różnic mają one budowę kseromorficzną. *Cypripedium calceolus* L. wykazał małą ilość szparek, dużą ilość wiązek naczyniowych na jednostkę powierzchni i dość luźną budowę tkanek pod względem jakościowej anatomii. Jeszcze większą różnicę w budowie anatomicznej pod względem ilościowym i jakościowym stwierdzono u *Listera ovata* (L.) R. Br. *Platanthera bifolia* (L.) Rehb., posiadając blaszkę liściową, odbijającą promienie słoneczne, wykazała względnie większą ilość szparek, nieduży rozwój wiązek naczyniowych na jednostkę powierzchni, pod względem anatomii jakościowej wykazuje dość luźną budowę i brak całkowity elementów mechanicznych. Jeszcze większą różnicę w budowie anatomicznej pod względem zarówno jakościowym,



jak i ilościowym wykazała *Listera ovata* (L) R. Br., wzięta z miejsca słonecznego południowego na urwistej skale, zarówno jak i z cienistego zbocza regla: 1<sup>o</sup>, ilość szparek na jednostkę powierzchni była mała, 2<sup>o</sup>, ilość wiązek naczyniowych na jednostkę pow. prawie najmniejszą z pośród zbadanych przeze mnie storczyków.

Powyższe dane niezawsze wykazały korelację, szczególnie między ilością szparek na jednostkę powierzchni a stanowiskiem biologicznym. Chciałabym wobec tego rozpatrzeć liczbę szparek na jednostkę powierzchni w związku z drogami wentylacyjnymi w liściach zbadanych storczyków, aby wykazać istnienie korelacji między budową liścia a ilością szparek.

Liście storczyków, w porównaniu z liśćmi innych roślin tych samych stanowisk, są ubogie w szparki: w jednym przypadku u *Coeloglossum viride* (L.) Hartm. słonecznego, ilość szparek na 1 mm<sup>2</sup> pow. wynosiła 79, u innych była daleko mniejsza wtedy, gdy ZALENSKI ('03, str. 83) podaje dla *Ranunculus auricomus* L. (okaz z łąki leśnej) 100 szparek na 1 mm<sup>2</sup>, u *Ranunculus polyanthemus* L. (łąka leśna) 150 szparek na 1 mm<sup>2</sup>. Naogół liście cieniste w stosunku do słonecznych są luźnie zbudowane i mała ilość szparek daje się sprowadzić do większego wykształcenia przestrzeni międzykomórkowych. Jeżeli więc rozpatrzymy małą ilość szparek np. u *Listera ovata* (L) R. Br. słonecznego, wynoszącą zaledwie 23 na 1 mm<sup>2</sup> pow. liścia, i wyraźnie luźną budowę jej gąbczastej tkanki, to możemy przyjąć, że wymiana gazów odbywa się bez przeszkody przez duże przestrzenie międzykomórkowe. Ta korelacja pomiędzy ilością szparek, a mniej więcej luźną budową tkanki mezofilowej spotyka się u storczyków dość często. Bardziej spoistą budowę anatomiczną obserwowałam tylko w liściach wyżej umieszczonych na pędzie. Wobec utrudnionego dopływu wody, złej wentylacji gleby (najczęściej zabagnionej) ta luźna budowa tkanki mezofilowej staje się zrozumiałą: ułatwia ona bowiem ogólną wymianę gazów. Znalazłam potwierdzenie wyników moich obserwacji w pracy RYWOSCHA ('82), który tłumaczy obecność luk powietrznych u iglastych małą ilością szparek (*Pinus* 50 szparek na 1 mm<sup>2</sup>). Oprócz tego zbadał RYWOSCH liście *Proteaceae*, które bardzo nadają się do wyświetlenia tego zagadnienia. Np. *Hakea suaveolens* wykazał bardzo wyraźną luźną budowę tkanki dolnego mezofilu

podobną, lecz mniej luźną budowę, ma liść *Hakea pectinata*; *Lometia* zaś — gęstą tkanę palisadową bez przestrzeni międzykomórkowych. Liść *Lometia* zwarto zbudowany, wykazał 240 szparek na 1 mm<sup>2</sup>, obie *Hakea* mają zaledwie 50 szparek na 1 mm<sup>2</sup>. Ciekawe badania RYWOSCHA uzupełniają dane innych autorów, którzy doszli do wniosku, że rośliny o budowie kseromorficznej winny mieć koniecznie dużą ilość szparek na 1 mm<sup>2</sup>.

Po rozpatrzeniu danych anatomicznych ilościowych i jakościowych oraz właściwości fizjologicznych liści storczyków krajowych, popartych badaniami różnych ekologów i fizjologów nad liśćmi roślin, należących przeważnie do innych rodzin, mogę wyprowadzić następujące wnioski:

Storczyki krajowe, jako rośliny występujące naogół na terenach o trudnym dopływie wody, czy to będzie na niżu, czy w górach, o małej zdolności transpiracyjnej i względnie dużym ciśnieniu osmotycznym, łączą w sobie cechy kilku grup ekologicznych. Jednym zaś z najważniejszych czynników, warunkujących budowę kseromorficzną, jest utrudniony dopływ wody. To też będziemy je rozpatrywać z punktu widzenia mniej więcej kseromorficznej budowy, wypływającej z korelacji między wielkością komórek, ilością szparek na 1 mm<sup>2</sup>, ich wymiarami, ilością wiązek naczyniowych na 1 cm<sup>2</sup> i zwartą lub luźno zbudowaną tkaną mięksisową. Kseromorficznymi będą storczyki: 1° *Coeloglossum viride* (L.) Hartm., 2° *Epipactis rubiginosa* Gaud., 3° *Gymnadenia conopsea* R. Br., 4° *Gymnadenia odoratissima* Rich., 5° *Cephalanthera rubra* (L.) Rich., 6° *Orchis maculatus* L., 7° *Orchis latifolius* L., 8° *Epipactis palustris* Crantz., 9° *Epipactis latifolia* All. K., 10° *Orchis ustulatus* L., 11° *Orchis globosus* L. *Cypripedium calceolus* L. pomimo dużej ilości wiązek naczyniowych na 1 cm<sup>2</sup> pow. posiada małą ilość szparek na 1 mm<sup>2</sup> i względnie małe przestrzenie międzykomórkowe komórek mezofilu, to też można uważać, że posiada charakter bardziej mezofitowy. *Platanthera bifolia* (L.) Rehb., rosnąca w widnych lasach, posiadająca powierzchnię blaszki połyskującą, odbijająca promienie świetlne, względnie dużą ilość szparek na 1 mm<sup>2</sup> (biorąc w stosunku do rodziny storczykowatych), system naczyniowy słabo rozwinięty, zajmuje miejsce pośrednie pomiędzy mezofitami a roślinami o mniej więcej kseromorficznej budowie. *Listera ovata* (L.) R. Br. pod względem budowy anatomicznej, ilościowej za-

równy jak i jakościowej, wykazała najbardziej mezofitowy charakter. *Orchis incarnatus* L. ze względu na stanowisko ekologiczne podobne do *Orchis maculatus* (a więc: utrudniony dopływ wody, duże względnie naswietlanie blaszki liściowej) łączy w sobie cechy *Orchis maculatus* L. przez połyskliwą blaszkę, odbijającą promienie świetlne, zbliżoną ilość szparek na jednostkę powierzchni, do *Listera ovata* (L.) R. Br. swą gąbczastą tkanką miększą, o długich ramionach i dużych przestrzeniach międzykomórkowych. Wobec tego, że badania RYWOSCHA wykazały u takich niewątpliwych kserofitów, jakimi są *Proteaceae*, bardzo luźną budowę tkanki mezofilowej przy małej ilości szparek na jednostkę powierzchni, zatem i *Orchis incarnatus* L. przy wszystkich innych cechach kseromorficznych może być zaliczony do tego samego typu, co i *Orchis maculatus* L. Przytem należy zaznaczyć, że liście górne tego samego osobnika wykazywały bardziej kseromorficzną budowę, niż liście dolne.

#### Streszczenie wyników.

Wyniki moich badań ilościowych dadzą się streścić jak następuje:

1°. Większa ilość szparek na 1 mm<sup>2</sup> powierzchni blaszki liściowej u roślin słonecznych stanowisk, niż u roślin cienistych.

2°. Liczba szparek na jednostkę powierzchni jest zwykle większa w górnych liściach, niż w dolnych tego samego pędu.

3°. Większa ilość wiązek naczyniowych na 1 cm<sup>2</sup> blaszki liściowej u roślin słonecznych stanowisk, niż u roślin cienistych.

4°. Wzrastanie ilości wiązek na 1 cm<sup>2</sup> pow. blaszki liściowej wraz z wysokością umieszczenia danego liścia na pędzie.

5°. Zmniejszanie się rozmiarów wszystkich elementów anatomicznych liścia oraz wzrastanie ich ilości wraz z wysokością umieszczenia danego liścia na pędzie.

6°. Zmniejszanie się przestrzeni międzykomórkowych wraz z wysokością umieszczenia danego liścia na pędzie.

7°. Zmniejszanie się falistości bocznych ścian skórki wraz z wysokością umieszczenia liścia na łodydze.

8°. Wzrastanie liczby szparek i ilości wiązek na jednostkę powierzchni blaszki liściowej, oraz zmniejszanie się rozmiarów

wszystkich komórek nadaje budowie danego liścia bardziej kseromorficzny charakter.

9°. Między ilością szparek a budową liścia jest ścisła korelacja: większa ilość szparek odpowiada bardziej spoistej budowie tkanki mezofilowej, mniejsza — budowie luźnej.

10°. Badania jakościowe wykazały różnice anatomiczne w budowie skórki, mezofilu, wiązek naczyniowych, komórek rafidowych i przestrzeni międzykomórkowych w zależności od umieszczenia danego liścia na pędzie.

Praca niniejsza jest częścią pracy, która wychodzi w języku francuskim w *Memuarach Polskiej Akademji Umiejętności*. Odnosne tabele, wykresy i rysunki ilościowej i jakościowej anatomji znajdują się w wymienionej pracy. Badania wykonałam w Zakładzie Systematyki Roślin Uniwersytetu Warszawskiego, pozostającym pod kierownictwem p. Prof. Dr. Bolesława Hryniewieckiego, któremu składam najserdeczniejsze podziękowania za rady i wskazówki.

P. S. Już po ukończeniu swej pracy otrzymałam monografię o storczykach A. FUCHSA i H. ZIEGENSPECKA: 1° *Entwicklung, Axen und Blätter einheimischer Orchideen*, 2° *Die Dactylorchisgruppe der Ophrydineen*, 3° *Bau und Form der Wurzeln der einheimischen Orchideen in Hinblick auf ihre Aufgaben*. W dziełach tych rozpatrywane jest stanowisko, historia rozwoju, morfologia, embriologia każdej grupy i anatomja (głównie jakościowa różnych narządów między innymi i liści).

Wszystkie zagadnienia, poruszane przez rzeczonych autorów, były rozpatrywane z punktu widzenia systematyki filogenetycznej. Niektóre nieliczne dane anatomji ilościowej liści storczyków krajowych niewiele odbiegają od moich.

#### Piśmiennictwo.

De Bary A. 1877. *Vergleichende Anatomie der Vegetationsorgane der Phanerogamen und Farne*. Leipzig. Benecke-Jost. 1924. *Pflanzenphysiologie*. I Band (Transpiration, str. 65 — 81), IV Auflage. Jena. Bonnier G. 1895. *Recherches expérimentales sur l'adaptation des plantes au climat alpin*. *Ann. des Sciences Naturelles. Bot.* Haberlandt G. 1924. *Zur Entwicklungsgeschichte des Spaltöffnungsapparates*. *Sitzungsber. d. Preuss. Akad. d.*

Wissenschaften. 28 — 31. **Haberlandt G.** 1924. Physiologische Pflanzenanatomie. Leipzig. **Hesselman H.** 1904. Zur Kenntnis des Pflanzlebens schwedischer Laubwiesen. Beihefte zum Bot. C. 17 (311). **Hryniewiecki B.** 1912. Anatomische Studien über die Spaltöffnungen bei den Dikotylen. Bull. de l'Acad. des Sc. de Cracovie. (585). **Kamerling Z.** 1913. Kleine Notizen. Ber. Bot. Ges. 31 (483). **Kolkunow W.** 1905. K woprosu o wyrobotkie wynosliwych k zasucham ras kulturnych rastenij. Kijew. **Kolkunow W.** 1907. K woprosu o wyrobotkie wynosliwych k zasucham ras kulturnych rastenij. Kijew. **Leclerc du Sablon.** 1911. Traité de physiologie végétale et agricole. Paris. **Maksimow M. A.** 1926. Fizjologiczeskije osnovy zasuchostojezivosti rastenij. Leningrad. **Meyer F. J.** 1923. Das trophische Parenchym. Berlin (Handbuch der Pflanzenanatomie herausgegeben von K. Linsbauer, Allgemeiner Teil: Histologie). 4 (79). **Monfort C.** 1918. Die Xeromorphie der Hochmoorpflanzen als Voraussetzung der physiologischen Trockenheit der Hochmoore. Zeitsch. f. Bot. 10 (256). **Möbbs M.** 1887. Über den anatomischen Bau der Orchideenblätter und dessen Bedeutung für das System dieser Familie. Jahrb. b. f. wiss. Botanik. 18 (530). **Pfitzer E.** 1889. *Orchidaceae*. Engler-Prantl. Die natürlichen Pflanzenfamilien, II Teil, 6 Abteilung (52). **Porsch O.** 1905. Der Spaltöffnungsapparat im Lichte der Phylogenie. Jena. **Roshard Aurelian P.** 1921. Zahl und Verteilung der Spaltöffnungen in ihrer Abhängigkeit von Licht, beobachtet am Blatt von *Nymphaea alba* L. Protokoll der Früharsversammlung der Schweizerischen Botanischen Gesellschaft, in Luzern. **Rotherth W.** 1913. Handwörterbuch der Naturwissenschaften. 4 (1144 — 1284). **Rywosch S.** 1923. Über die Beziehungen zwischen der Zahl der Spaltöffnungen und dem Bau des Blattes. Ber. d. deutsch. Botan. Gesellsch. 43 (67). **Schimper A. F.** 1898. Pflanzengeographie auf physiologischen Grundlage. Jena. **Schultze M.** 1904. Die Orchideen Deutschlands, Deutsch-Oesterreichs und der Schweiz. Jena. **Sorauer.** 1878. Bot. Zeitung. **Stahl E.** 1908. Die Schutzmittel der Pflanzen gegen übermäßige Insolation. Ber. d. deutsch. Botan. Gesellsch. **Szymkiewicz D.** 1926. Badania ekologiczne nad roślinami górskimi. Kosmos. (31). **Tomiański P.** 1905. Die Anatomie des Orchideenblattes in ihrer Abhängigkeit von Klima und Standort. Berlin, 1905. **Wagner A.** 1902. Zur Kenntnis der Blattbaues der Alpenpflanzen und dessen biologischer Bedeutung. Sitzungber. d. K. K. Akad. d. Wissenschaft. Wien. **Walter H.** 1925/26. „Wasserhaushalt der Pflanze in quantitativer Betrachtung“ „Die Anpassungen der Pflanzen an Wassermangel“. Freissing — München. Naturwissenschaft und Landwirtschaft, Heft 6 i 9. **Warming E.** 1902. Lehrbuch der ökologischen Pflanzengeographie. Berlin. **Weiss E.** 1865/66. Untersuchungen über die Zahlen und Grössenverhältnisse der Spaltöffnungen. Jahrb. f. Wiss. Botanik, 4 (124). **Yapp R. H.** 1912. *Spiraea ulmaria* and its bearing to the problem of xeromorphy in marsh plants. Ann. of Bot. 26 (815). **Zalenski W.** 1903. Materjały k koleżestwiennoj anatomji razlicznych rastenij. Kijew.



[Zakład Chemji Fizjologicznej Uniwersytetu Warszawskiego]

J. M. Zdunkiewicz.

**O rozkładzie puryn w różnych warunkach autolizy.**

*Decomposition of purines under various conditions of autolysis.*

Rękopis nadestany w dniu 5. XII. 1928 r.

SCHITTENHELM, WIECHOWSKI and others showed that purine substances contained in certain tissues or tissue-extracts undergo oxidation in the presence of oxygen.

The anaërobic autolytic oxidation of purines is, however, not so well known.

Thus, while SUBKOW ('03), SCHITTENHELM ('18, '26) and SCHULTZ ('13) have stated that anaërobic purinolysis is possible, yet their conclusions are based upon experiments which do not take into consideration the whole range of purine catabolism, and which further are methodically faulty.

A number of experiments have now been conducted upon the anaërobic autolysis of bovine liver-tissue, the extent of purine catabolism being compared with that obtained in aërobic conditions.

The object of these determinations was to establish the anaërobic action of the appropriate purinolytic ferments upon endogenous purines, and to find whether the path followed is the same as in the presence of oxygen.

The application of autolysis to this problem made possible the avoidance of various methodical errors, and allowed the whole scale of purinolytic ferments to be considered.

The experimental methods were as follows:

The purine-nitrogen content, including that of uric acid of minced liver tissue, was determined by the method of KRÜGER and SCHITTENHELM. Further portions of the same material were suspended in saline solution, and left at 37° for from 3 to 45

days, oxygen being passed through one flask and hydrogen through the other.

Toluene was added to prevent infection during autolysis, after which total purine-nitrogen was determined as before. The results obtained indicate that:

In every case, purinolysis takes place during the sterile autolysis of bovine liver tissue, whether under aërobie or anaërobie conditions. Under the latter conditions, however, the velocity of reaction is smaller than under aërobie conditions.

Independently of whether or not aërobie conditions are taken, the amount of purines oxidised grows with time of autolysis.

At equilibrium conditions 97% of the purines present has undergone oxidation, in the presence of pure oxygen, 96% in the presence of air, and from 25 — 80% in an atmosphere of hydrogen (cf table IV).

No proportionality appears to exist between the degree of purinolysis attained and the time and conditions of autolysis.

In all cases where the purine content decreased during autolysis the allantoin content increased roughly proportionately.

Only from 32 — 87% of oxidised purines could be accounted for as allantoin (cf tables V and III).

The anaërobie autolytic decomposition of purines follows the same path as in the presence of oxygen, i. e. purines  $\rightarrow$  uric acid  $\rightarrow$  allantoin.

---

Mimo licznych w tym kierunku badań proces normalnej przemiany purynowej nie jest jeszcze dość dokładnie i jasno poznany. Prace dotychczasowe wykazały, że przemiana purynowa jest różna, jeżeli nie co do swej istoty, to przynajmniej co do stopnia natężenia, u różnych przedstawicieli świata zwierzęcego i roślinnego. Co więcej — różne klasy zwierząt posiadają odrębną przemianę tych związków.

Ustalono również, że proces rozkładu puryn, należy do typu enzymatycznego.



Z badań KOSSELA i jego szkoły wynika, że wydalony kw. moczowy pochodzi u ssaków wyłącznie z puryn, zawartych w związkach nukleino-  
wych egzo- lub endogenicznych.

Zarówno człowiek, jak i inne ssaki mogą rozkładać związki zawierające puryny (nukleoproteidy i ich pochodne) do zasad purynowych i kw. moczowego. Natomiast dalszy los puryn jest odrębny u człowieka i u innych ssaków.

Mimo licznych w tym kierunku badań nie udało się dotąd ostatecznie wyświecić sprawy. Zaobserwowana w przemianie puryn u człowieka i innych ssaków różnica polegała na tem, że człowiek jako główny produkt końcowy wydziela normalnie kw. moczowy, podczas gdy inne zwierzęta wydalają allantoinę.

Odnosne badania ześrodkowały się głównie nad zagadnieniem t. zw. urikolizy, t. j. przemiany kw. moczowego w inny związek, specjalnie w allantoinę.

Wychodząc z założenia, że prawie wszystkie procesy przemiany purynowej są procesami enzymatycznymi, poszukiwano w ustrojach zarówno roślinnych jak i zwierzęcych, z człowiekiem włącznie, odpowiednich fermentów purynolitycznych, szczególnie urikazy. Badano również charakter samych fermentów i ich działanie w różnych warunkach fizyko-chemicznych.

Metody, któremi się w tym celu posługiwano, były różne. Różne też były i wyniki pracy w zależności od metod stosowanych. Przedsiębrane w tym kierunku próby zgrupować się dadzą w 2 działach:

- 1<sup>o</sup>, badania na całych organizmach żywych,
- 2<sup>o</sup>, badania na narządach „in vivo” i „in vitro”.

Pierwszy typ doświadczeń polegał na tem, że do badanego ustroju wprowadzano różnemi drogami: 1<sup>o</sup> doustnie, 2<sup>o</sup> w zastrzykach podskórnych, oraz 3<sup>o</sup> w zastrzykach dożylnych — produkty przemian nuklein, a więc roztwór samego kw. moczowego, kw. nukleinowy lub zasady purynowe, wreszcie samą allantoinę (SCHITTENHELM '27, WIECHOWSKI '09, '10, IBRAHIM i SOETBER '20, WIECHOWSKI '09, WIENER '97, STRANSKY '22); następnie zaś oznaczano ilość wydalonego niezmiennego produktu w moczu (WIECHOWSKI, SCHITTENHELM) lub w moczu i kale (FRANK i SCHITTENHELM '09); okazało się wszakże, że ta metoda postępowania nie prowadziła do pożądanego celu — komplikując przebieg doświadczenia, czyniła wnioski na niem oparte nie dość miarodajnymi.

Następne badania wykazały, że puryny mogą być rozkładane także i przez florę bakteryjną jelit. THANNHAUSER i DORFMÖLLER ('21) stwierdzili, że bakteryjna purynoliza może wybitnie wpływać na rozpad puryn, powodując do 60 jego procentu. Zaś produktami kw. moczowego byłyby CO<sub>2</sub> i NH<sub>3</sub>, który to związek zresorbowany tworzy mocznik i jest wydalany w moczu w zwiększonej ilości.

Przy doustnej podaży ciał purynowych bakteryjna purynoliza w jelitach może tedy zasłaniać purynolizę wewnątrzkomórkową i prowadzić do błędnych wniosków.

Zastrzyki dożylnie lub podskórne powodowały znowu wyższą temperaturę ciała, wmagając tem samym ogólną przemianę materji, zaś zwiększony rozpad nuklein endogenicznych był naturalnym rezultatem powyższego. Wyniki takich doświadczeń nie mogły być także miarodajne, gdyż wzmógł się rozpad nukleoproteidów dostarczał puryn pochodzenia endogenicznego, przyczem nie było możności oddzielnego ich oznaczenia.

Tam znowu, gdzie nie było wyższej temperatury, mogło zachodzić zatrzymanie względnie magazynowanie w pewnych narządach (np. wątrobie, mięśniach, nerkach) dostarczonych w nadmiarze ciał purynowych. Za możliwością tego rodzaju magazynowania ciał purynowych, krążących w nadmiarze w ustroju, przemawiają doświadczenia WIECHOWSKIEGO ('09) i późniejsze — FOLINA ('24).

Jak tedy widzimy metoda I nie jest bez zarzutu.

Metoda II, polegająca na badaniu narządów, wydaje nam się odpowiedniejszą.

Zabiegi najczęściej stosowane stanowią:

1<sup>o</sup>, Przepłókiwanie narządu bądź krwią, bądź też roztworem fizjologicznym (SCHITTENHELM '05) z dodaniem roztworu preparatu purynowego. Zestawienie bilansu preparatu purynowego, dodanego i odnalezionego pod koniec doświadczenia, pozwala wyciągnąć odnośne wnioski.

2<sup>o</sup>, Badanie wyciągów z tkanek. Doświadczeń tego typu przerobiono najwięcej, przyczem i tu również dodawano jakiś preparat purynowy, najczęściej kw. moczowy i z zestawienia podobnego bilansu wyciągano wnioski.

3<sup>o</sup>, Badanie zdolności purynolitycznych wysuszonych tkanek.

4<sup>o</sup>, Izolowanie z tkanek i badanie poszczególnych fermentów.

5<sup>o</sup>, Badanie fermentów w czasie autolizy.

W ostatnich 3 przypadkach (3, 4 i 5) dodawano również jakieś ciało purynowe w roztworze lub w stanie stałym.

Doświadczenia powyższe, mające na celu zbadanie fermentów purynolitycznych w różnych warunkach ich działania, nie są wszelako wolne od zarzutów.

Obecność, względnie siłę działania fermentów, określono: 1<sup>o</sup> na zasadzie stopnia rozpadu preparatu purynowego, dodanego na początku doświadczenia (adenina, guanina, ksantyna i t. p.), albo 2<sup>o</sup> w związku z przyrostem nowego ciała, powstałego z rozłożonego ciała purynowego. Za różnicą w bilansie przed i po doświadczeniu była wyrazem siły purynolitycznej fermentu.

I tu jednak popełniano błąd. Na znikanie bowiem, względnie przyrost ciał purynowych, wpływało kilka okoliczności, które nie zawsze były i mogły być brane pod uwagę.

Przedewszystkiem nie zawsze była oznaczana pierwotna ilość wszystkich ciał purynowych, znajdujących się w wyciągach lub tkankach, jakoteż ciał, które jako zawierające w swej cząsteczce związki purynowe, mogły, ulegając dalszemu rozpadowi, dawać jeszcze nadwyżkę puryn do ilości wprowadzonych ciał purynowych pochodzenia endogenicznego.

Wnioski, opierające się na takim bilansie, nie mogły być ściśle ani prawdziwe, gdyż nie uwzględniały nieznanej i nieoznaczonej ilości puryn

endogenicznych. Nie też dziwnego, że różni, a nawet ci sami autorowie, tą samą posilkując się metodą, otrzymywali w kolejnych doświadczeniach wręcz przeciwne wyniki.

WIECHOWSKI ('09, '10) naprzykład, badając rozkład kw. moczowego przez wątrobę, znajdował po autolizie jego przyrost miast ubytku. Dodawane związki purynowe, których dla otrzymania i oczyszczenia należało użyć szeregu manipulacyj chemicznych, nie dadzą się identyfikować z endogenicznymi postaciami ciał purynowych, które w ustroju żywym powstają w przemianie materji, krążą i ulegają ewentualnemu dalszemu rozpadowi, czy też wydaleniu, tembardziej, że puryny mogą występować w związkach tautomerycznych.

Doświadczenia GUDZENTA ('09) wykazały np., że kw. moczowy krąży we krwi w postaci soli sodowych kw. moczowego, i to w różnej formie *lacta-* czy *lactiform*, łatwiej lub trudniej rozpuszczalnej.

Postać ciał purynowych może tedy odgrywać rolę w ich przemianie. Preparaty purynowe miały tę niedogodność, że często wypadaly z roztworu i w stanie stałym słabiej ulegały działaniu fermentów. Dawanie preparatu purynowego w roztworze, zwykle dość silnie alkalicznym ze względu na jego rozpuszczalność, wytwarzać mogło środowisko, w którym działalność samych fermentów mogła być wyraźnie zmodyfikowana. Wiemy bowiem, że fermenty oprócz innych warunków wymagają także dla swej czynności odpowiedniego pH.

Z drugiej strony niektóre ciała purynowe, np. kw. moczowy, w roztworze ługu mogły się nawet bez udziału fermentu rozłożyć spontanicznie.

Możliwość powyższego uznaje WIECHOWSKI i WIENER ('07). Nie zawsze pozatem uwzględniano krótki zazwyczaj czas działania fermentów, co mogło jednak wpłynąć na ilość rozłożonych puryn.

Fermenty bowiem, osłabione w swej czynności zmianami warunków fizyko-chemicznych, a także wskutek działania różnych innych czynników hamujących, a więc produktów rozpadu, aseptyków i t. p., wymagały dla swego działania dłuższej styczności z ciałem.

Prace powyższych typów nad przemianą purynową podczas autolizy są naogół nieliczne i traktują najczęściej rozpad puryn w zwykłych jej warunkach. Z przeprowadzonych dotąd dociekań wynika bezsprzecznie, że rozpad puryn następuje przy doprowadzeniu tlenu czystego bądź też tlenu powietrza.

Badania przemiany purynowej w warunkach beztlenowych są jeszcze mniej liczne; wspomnę tu o pracach SUBKOWA ('03), SCHITTENHELMA ('04—'05) i SCHULTZA ('13).

SUBKOW skonstatował rozpad kw. moczowego do 90% wśród zupełnej aseptyki i izolacji od tlenu powietrza.

SCHITTENHELM stwierdzał w takich samych warunkach znikanie kw. moczowego do 40%.

Z badań SCHULTZA okazuje się, że znikający do 45% podczas autolizy zwykłej kw. moczowy rozkłada się do 71% przy przepuszczaniu tlenu, zaś tylko od 11 do 6% w atmosferze wodoru.

Badania takie prowadzone były zwykle na jakimś jednym związku purynowym, bez uwzględniania całokształtu procesu przemiany purynowej w warunkach beztlenowych.

Doświadczenia powyższe aczkolwiek wykazywały możliwość rozpadu puryn w warunkach beztlenowych, to jednak nie mogły być decydujące, gdyż nie uwzględniały całokształtu zjawiska i nie były wolne od błędów w metodyce.

Aby zagadnienia te rozwikłać, przeprowadziliśmy szereg doświadczeń na wątrobie bydłowej poddanej autolizie w środowisku beztlenowym.

Pragnęliśmy, po pierwsze, sprawdzić, czy rozpad puryn w warunkach beztlenowych jest rzeczywiście możliwy, po drugie wykryć, co z takiego rozpadu powstaje. Czy przebiega on normalnie poprzez aminopuryny, oksypuryny, kw. moczowy i allantoinę, czy też istnieje jakaś inna droga takiego rozkładu.

W oznaczonej ilości tkanki wątrobowej określano całkowitą ilość zasad purynowych i kw. moczowego włącznie. Drugą identyczną ilość tkanki poddawano po dodaniu roztworu fizjologicznego autolizie w warunkach beztlenowych. Po dokonaniu powyższego oznaczano znowu całkowitą ilość zasad puryn. i kw. moczowego. Ten sposób postępowania opieraliśmy na danych teoretycznych, starając się przeprowadzić doświadczenia, naśladujące możliwie dokładnie wewnątrzkomórkową przemianę materji w ustroju żywym.

Wiadomo, że przemiana purynowa jest procesem enzymatycznym. Autolizę, mimo że w swem pierwotnym znaczeniu jest ona procesem bardzo złożonym, uważaliśmy za proces najbardziej odpowiedni do śledzenia enzymatycznej przemiany materji.

Autoliza przebiega, jak wiadomo, z lekkim zakwaszeniem, sprzyjającym znowu jej wzrostowi przez aktywowanie niektórych fermentów.

W jakiej ilości i jakie mianowicie enzymy działają w tym przypadku, tego dokładnie niewiadomo. Pewną jest wszelako rzeczą, że w grę tu wchodzi wszystkie fermenty, zawarte w komórce a wyzwolone z hamulców koordynacji życiowej z chwilą śmierci.

Rozpad substancji podczas autolizy może być porównywany z przemianą wewnątrzkomórkową białka w żyjącym organizmie, mimo że autoliza w swej rozciągłości jest zjawiskiem pośmiertnym.

Niektórzy badacze z OPPENHEIMEREM ('26) na czele uważają nawet, że niema istotnej różnicy między autolizą i przemianą materji za życia, istnieje bowiem jedynie różnica ilościowa, przejawiająca się w stopniu nasilenia samych procesów i ich kolejności następowania. Enzymy w komórce nie są po śmierci niszczone, wywierają równolegle swoje specyficzne działanie.

Enzymatyczny rozpad puryn endogenicznych daje się również badać w czasie autolizy.

Zmieniając warunki autolizy, można badać wpływ nowych czynników na rozpad puryn. Tak więc stosując warunki beztlenowe autolizy, badamy ich wpływ na przemianę purynową.

### M e t o d y k a.

Badania nasze przeprowadziliśmy w dwu serjach.

W pierwszej serji doświadczeń starano się stwierdzić, jaki jest rozpad puryn w różnych warunkach, a szczególnie w warunkach beztlenowych. W tych doświadczeniach oznaczaliśmy tylko ubytek azotu purynowego (Np) w czasie autolizy.

Druga serja doświadczeń poświęcona była oznaczeniu produktów rozpadu puryn. Dla większej ścisłości przeprowadzano zawsze dwa równoległe doświadczenia i brano średnią arytmetyczną ich wyników.

Ażeby uniknąć błędów, o których wzmiankowaliśmy już wyżej, nie dodawano do papki z roztworem fizjologicznym żadnego preparatu purynowego. Wychodziliśmy bowiem z założenia, że sama tkanka posiada już puryny, jeżeli nie w stanie wolnym, to w związkach, które ulegną w czasie autolizy rozpadowi i w ten sposób dostarczą niezbędnych ciał purynowych. Wydawało nam się ponadto rzeczą bardziej prawdopodobną, że powstaną w tych warunkach związki purynowe w takiej postaci, w jakiej rzeczywistość tworzą się za życia w przemianie materji.

Oznaczając całkowitą ilość Np. i kw. moczowy włącznie w danej ilości tkanki przed autolizą i po niej, można było zestawić bilans ubytku puryn wyłącznie endogenicznych, które rozpadowi ulegały. Tego rodzaju dane, które przedstawiały jednocześnie wyraz działania fermentów purynolitycznych, były proste i ścisłe i można je było zupełnie dokładnie obliczyć.

Oznaczanie całkowitej ilości zasad purynowych i kw. moczowego w danej ilości tkanki odbywało się w ten sposób, że do papki dodawano pewną ilość 5%  $H_2SO_4$  i całość hydrolizowano.

Rozbijano w ten sposób związki, zawierające puryny, a te dopiero były oznaczane ilościowo metodą KRÜGER-SCHITTENHELMA.

Dla celów porównawczych przeprowadziliśmy jednocześnie i doświadczenia w środowisku tlenowym.

Otoczenie beztlenowe stwarzano, działając w atmosferze wodoru, zaś tlenowe osiągnano przez doprowadzanie wprost  $O_2$  czystego lub  $O_2$  powietrza.

Gaz, przechodząc pod pewnem ciśnieniem, ciągle mieszał roztwór (papkę) tkanki i perląc się wydobywał się nad powierzchnię, skąd przez drugą rurkę odprowadzany był na zewnątrz.

Potrzebny do doświadczeń wodór otrzymywano w aparacie KIPPA z cynku i kw. solnego. Oczyszczano go następnie, przepuszczając kolejno przez  $\text{KMnO}_4$  i  $\text{KOH}$  oraz dla wysuszenia przez  $\text{CaCl}_2$ .

Używany tlen czerpany był z balonu.

Powietrze przepędzano bezpośrednio pompką wodną.

Wszystkie gazy doprowadzano do naczyń, w których odbywała się autoliza, przepuszczając je przez filtr z waty.

Do badań naszych używaliśmy wątrobę bydlęcą, gdyż uważaliśmy ją za narząd, odgrywający najwybitniejszą rolę w przemianie materji wogóle, a więc i w przemianie purynowej. Czyniliśmy to także ze względów praktycznych, bowiem najłatwiej można było nabyć wątrobę bydlęcą w odpowiednim stanie i w żądanej ilości.

Jako antyseptyku używaliśmy stale toluolu.

Ażebym stworzyć fermentom środowisko fizyko-chemiczne, możliwe zbliżone do żywego, dodawano roztwór fizjologiczny do papki narządów autolizujących i umieszczano substancję w cieplarni o temp.  $37^\circ - 40^\circ$ . Czas autolizy przedłużano rozmyślnie, ażebym osłabione w swej sile fermenty mogły dłużej działać. Że działalność enzymów bywa w takich warunkach osłabiona, to nie ulega wątpliwości. Samo użycie bowiem antyseptyka ma, jak to wykazały badania KIKKOJI ('09), wpływ hamujący na autolizę. Poza tem w czasie autolizy tworzą się, być może, pewne produkty rozpadu, które nagromadzając się, mogą również hamować działanie fermentów.

W celu szybszego wyzwolenia enzymów wewnątrzkomórkowych przez częściowe przynajmniej zburzenie struktury, rozcierano tkankę analizowaną, sporządzając z niej miatką papkę.

## 1. Znikanie puryn.

### A. Szczegółowa część doświadczeń.

Do każdego doświadczenia używano 50 g papki, powstałej z dwukrotnego zmielenia wątroby na maszynie do mięsa. Do pierwszych dwóch porcyj dodawano po  $500 \text{ cm}^3$  5%  $\text{H}_2\text{SO}_4$  i hydrolizowano całość przez 4 godziny przy użyciu zwrotnej chłodnicy. Następnie studzono tę substancję i odmierzano objętość jej w cylindrze miarowym i mieszając ustawicznie, pobierano dwie porcje po  $10 \text{ cm}^3$  każda. Ilości te umieszczano w kolbach do spalań, dodawano  $10 \text{ cm}^3$   $\text{H}_2\text{SO}_4$  i kryształek  $\text{CuSO}_4$ , następnie spalano i oznaczano N. Był to azot całkowity ( $\text{N}_T$ ).

Pozostały roztwór papki zlewano powtórnie do kolb, w których odbywała się hydroliza, doprowadzano płyn do wrzenia i przesączano go na gorąco. Osad z sączkiem wkładano również do tej samej kolby (w której odbywała się hydroliza), dodawano  $250 \text{ cm}^3$  5%  $\text{H}_2\text{SO}_4$  i gotowano razem dwie godziny. Potem przesączano na gorąco do I przesączu i obydw

przesącze odparowywano do 500 — 400 cm<sup>3</sup>. Następne manipulacje polegały na zobojętnieniu NaOH, lekkim alkalizowaniu, lekkim zakwaszeniu CH<sub>3</sub>COOH i gotowaniu przez pół godziny celem odbiałenia. Poczem przesączano osad białka, przemywano dwukrotnie wodą. Przesącz lekko alkalizowano sodą i dodano do niego 1/10 jego objętości 40% NaHSO<sub>3</sub>. Ogrzewano to do wrzenia i dodawano 10% CuSO<sub>4</sub> w ilości takiej jak NaHSO<sub>3</sub>. Całość gotowano przez 3 minuty, przesączano, osad przemywano 5-krotnie wrzącą wodą. Osad ten wraz z sączkiem wrzucano następnie do 100 cm<sup>3</sup> ciepłej (60°) wody, dodawano do tego kilka kryształków Na<sub>2</sub>S, mieszano i poszukiwano przy pomocy papierka ołow. wolnych sulfjonów. W razie ich obecności zakwaszano silnie kw. octowym i przesączano. Osad przemywano wrzącą wodą aż do otrzymania w przesączu około 600 cm<sup>3</sup> płynu. Ilość tę zmniejszano przez parowanie do 400 cm<sup>3</sup> i lekko alkalizowano ją sodą albo ługiem sodowym. Na gorąco dodawano 1/10 całej objętości — 40% NaHSO<sub>3</sub> i takąż ilość 10% CuSO<sub>4</sub>. Wszystko to gotowano przez 3 minuty, przesączano i osad przemywano 5 — 10-krotnie wrzącą wodą (z dodaniem kilku kropli kw. octowego).

Sączek bezazotowy z osadem wkładano do kolby, spalano i oznaczano N metodą KJELDAHLA. Był to azot całkowity zasad purynowych i kw. moczowego włącznie (Np). W dalszej serji doświadczeń używano również po 50 g tak samo spreparowanej tkanki i do każdej porcji dodawano po 200 cm<sup>3</sup> roztworu fizjologicznego NaCl. Całość zalewano toluolem o warstwie 1.5 — 2.0 cm grubości, poczem ściśle zamykano ją korkiem gumowym z odpowiedniami dla doprowadzenia gazów rurkami i umieszczano w cieplarni na różnie długi przeciąg czasu, przepuszczając przez odpowiednie porcje wodór, tlen i powietrze.

Po autolizie dodawano do każdej porcji po 300 cm<sup>3</sup> H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> o takim stężeniu, by łącznie z poprzednio dodanym roztworem (200 cm<sup>3</sup>) fizjologicznym tworzył ilość 500 cm<sup>3</sup> — 5% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Dopiero ta substancja poddawana była hydrolizie.

Dalej postępowaliśmy jak podano wyżej.

## B. Wyniki doświadczeń.

Z tabeli I, przedstawiającej znikanie azotu purynowego (Np), oraz z tabeli IV, graficznie wyrażającej znikanie, Np widzimy, że:

1°, we wszystkich trzech przypadkach autolizy, zarówno przy przepuszczaniu powietrza (P), jak tlenu (O), tak i wodoru (H), konstatuje się ubytek Np;

2°, różnica wyników między poszczególnymi warunkami autolizy jest tylko ilościowa;

3°, ilość znikających puryn zależy od czasu autolizy, od jakości gazu przepędzonego, od prędkości jego wędrówki i od czasu działania tegoż gazu;

4°, w miarę przedłużania czasu autolizy ubytek Np wzrasta;

T a b e l a I.

Znikanie N purynowego w zależności od warunków autolizy.  
Decrease in Purine-N under different conditions of autolysis.

№ porządkowy doświadczeń No of experiment	% S % Solid substance	Przed autolizą Before autolysis			Po autolizie i przepuszczeniu After autolysis, with passage of			Ilość mg N puryn. całkowitego, znikającego w czasie autolizy mg Purine-N lost during autolysis			Procent Np znikającego w czasie autolizy % of Np lost during autolysis			Czas trwania i warunki autolizy Duration and conditions of autolysis
		ilość g N całkowitego w 100 g tkanek % total nitrogen	ilość mg Np purynow. w 100g tkanek mg % purine nitrogen	ilość mg N puryn. całkowitego w 100 g tkanek mg % purine nitrogen	Powietrze Air	tlen O Oxygen	wodór H Hydrogen	ilość mg N puryn. całkowitego w 100 g tkanek mg % purine nitrogen	ilość mg N puryn. całkowitego, znikającego w czasie autolizy mg Purine-N lost during autolysis	Przepuszczanie powietrza Passing air	Przepuszczanie tlenu Passing oxygen	Przepuszczanie wodoru Passing hydrogen	P	
1	24.8	3.1198	118.985	10.36	—	39.48	108.62	—	79.5	91.2	66.8	5 dni; H przez 13 godz. temp. 37°—40° 5 days; H <sub>2</sub> passed 13 hours at 37°—40°		
2	24.8	3.1198	118.985	4.20	—	5.32	114.78	—	113.76	96.4	95.6	8 dni; po 3 godz. dziennie H lub P 8 days; H <sub>2</sub> or air passed 3 hours daily		
3	30.355	4.1508	135.662	—	4.20	78.12	—	131.46	57.642	—	42.4	11 dni; 10 godz. dziennie O lub H 11 days; H <sub>2</sub> or O <sub>2</sub> pass. 10 hours daily		
4	30.355	4.1508	135.662	—	7.0	100.8	—	128.662	34.862	—	25.7	5 dni; po 12 godz. dziennie O lub H 5 days; H <sub>2</sub> or O <sub>2</sub> pass. 12 hours daily		



5<sup>o</sup>, najwięcej znika Np, bo do 97% — przy przepuszczaniu tlenu (O) czystego, mniej (96%) — przy przepuszczaniu powietrza, najmniej zaś (od 25 — 80%) przy przepuszczaniu (H) wodoru;

6<sup>o</sup>, w tym ostatnim przypadku rzecz się miała początkowo odwrotnie, im prąd wodoru był silniejszy a czas jego działania dłuższy, tem ubytek Np był mniejszy, zaś przy stałym przepędzaniu H (doświadczenie 5) i przedłużeniu autolizy do 43 dni skonstatowano znikanie Np (do 80%);

7<sup>o</sup>, nie udało się ustalić jakiejś stałej liczby przeciętnej, wyrażającej ubytek Np, któraby była proporcjonalna bądź do czasu trwania autolizy, bądź do natury, szybkości lub ilości przepędzanych gazów. Wytlumaczyć to się daje tem, że nie zawsze można było rozporządzać jednakowo świeżą tkanką do badania, a substancja wątroby nie zawsze zawierała jednakowe ilości ciał purynowych.

### C. Wnioski.

1<sup>o</sup>. W wątrobie bydłowej, poddanej autolizie jałowej, tak w środowisku tlenowym, jak i beztlenowym zachodzi zawsze rozpad puryn endogenicznych.

2<sup>o</sup>. Fermenty, biorące udział w tym procesie, mogą działać w środowisku tlenowym i beztlenowym.

3<sup>o</sup>. Rozpad puryn w warunkach tlenowych jest wydatniejszy, aniżeli w beztlenowych, bowiem warunki działania fermentów purynolitycznych w warunkach beztlenowych są mniej dogodne.

Do podobnych wniosków doszli wcześniej i inni badacze. Wykazali oni również, że czas trwania autolizy nie ma wpływu na fermenty, a ilość ich nie ulega prawie żadnej zmianie, że wreszcie działanie ich może utrudniać obecność t. zw. ciał hamujących (SCHITTENHELM '05, BATTELLI i STERN '09).

#### 2. Oznaczanie produktów rozpadu puryn.

Nie przesadzając o charakterze samych fermentów, biorących udział w procesie rozpadu puryn, zajmiemy się teraz oznaczaniem produktów ich rozpadu.

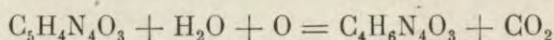
Na zasadzie badań dotychczasowych należało przyjąć, że puryny rozkładają się poprzez kw. moczowy.

Ponieważ oznaczano zasady purynowe łącznie z kw. moczowym, więc dalszym produktem rozpadu (nie mogącym tą metodą być oznaczonym) nie mógł być kw. moczowy, a inny jakiś związek.

Jest rzeczą wiadomą, że w przemianie materji powstaje najczęściej allantoina. W tym więc kierunku zwróciliśmy badania nasze, chcąc przekonać się, czy rozpadowi puryn towarzyszy lub odpowiada przyrost allantoiny.

Dwie drogi prowadziły do jej ilościowego wykrycia.

Pierwsza pośrednia polegała na oznaczaniu ilości powstałego  $\text{CO}_2$ , który tworzył się przy utlenianiu kw. moczowego na allantoinę:



W drugiej bezpośredniej oznaczano samą allantoinę. Pierwszą metodę uważaliśmy za niedość pewną, gdyż wytwarzający się podczas autolizy  $\text{CO}_2$  pochodził nietylko z rozłożonego kw. moczowego, lecz i z wielu innych, ulegających również rozkładowi ciał.

Wobec powyższego wybraliśmy drugą metodę — uciążliwszą w technice i oznaczaliśmy allantoinę metodą WIECHOWSKIEGO.

#### A. Szczegółowa część doświadczalna.

W tej serji badań podobnie jak w pierwszej oznaczano najpierw całkowitą ilość puryn i kw. moczowego w określonej ilości tkanki, a następnie w takiej samej ilości tejże tkanki poszukiwano allantoiny. Obliczeń dokonywano przed autolizą i po niej. Oznaczanie puryn wykonywano jak poprzednio. Z allantoiną postępowaliśmy jak następuje:

Do każdej porcji w doświadczeniu używaliśmy po 50 g papki z wątroby, dokładnie zmielonej. Ilość tę zalewano gorącą wodą (około 200  $\text{cm}^3$ ) dłuższy czas silnie kłócono, przesączano, osad dokładnie rozcierano, potem znowu lugowano wodą (około 200  $\text{cm}^3$ ). Operację tę powtarzano kilkakrotnie. Celem odbiałzenia połączonych przesączów ogrzewano je lekko i zadawano trzykrotną ilością roztworu sublimatu z kw. solnym w następującym stosunku: 3.3% sublimatu plus 1.3%  $\text{HCl}$ . Następnego dnia odsączono osad białka na sączku BÜCHNERA. Przesącz zubożętniano ostrożnie stężonym  $\text{NaOH}$  i zadawano sodą aż do wystąpienia różowego zabarwienia fenoltaleiny. Biały strąp po 24-godzinnem staniu był izolowany (prze-



sącz nie powinien reagować z odczynnikiem WIECHOWSKIEGO), następnie przemyty w gorącej wodzie, zawierającej trochę kw. octowego, skłócany i przy pomocy  $H_2S$  uwolniony od Hg.

Prąd przenikającego powietrza uwalniał przesącz od  $H_2S$ .

Ilość przesączu uzupełniano do 1 litra, w której to objętości mieściła się allantoina, pochodząca z 50 g tkanki. Oznaczenia tej ostatniej przeprowadzano według metody WIECHOWSKIEGO, podanej dla oznaczania allantoiny w moczu. Strącano ją wtedy odczynnikiem WIECHOWSKIEGO. Osad z sączkiem bezazotowym spalano, oznaczano N metodą KJELDAHLA. Był to azot allantoiny ( $N_A$ ).

Warunki autolizy porcyj, w których oznaczano allantoinę były takie same jak te, w których oznaczano puryny.

### B. Wyniki doświadczeń.

Z tabeli II i III oraz V, graficznie przedstawiającej przyrost  $N_A$ , wynika, że:

1<sup>o</sup>, stwierdzonemu ubytkowi  $N_p$  odpowiada zawsze przyrost  $N_A$ ;

2<sup>o</sup>, im znaczniejszy ubytek  $N_p$ , tem większy przyrost  $N_A$ ;

3<sup>o</sup>, bez względu na warunki autolizy zarówno tlenowe jak i beztlenowe stwierdzano zawsze mniejszy lub większy przyrost  $N_A$ ;

4<sup>o</sup>, przyrost  $N_A$  nie zawsze bywa jednakowy nawet w jednakowych warunkach autolizy i przy znikaniu podobnych ilości  $N_p$ ;

5<sup>o</sup>, nie udało się pod postacią N odnaleźć całości znikniętego  $N_p$  (wahanie wynosiło od 32 — 87%, patrz tab. III);

6<sup>o</sup>, przyrost  $N_A$  nie zależy bezpośrednio od czasu i warunków autolizy, lecz bezpośrednio od ilości wytwarzanego w tych okolicznościach kw. moczowego (patrz dośw. 9, 7, 10, tab. II);

7<sup>o</sup>, wahania w przyroście  $N_A$  są przeważnie wyrazem wahań rozkładu puryn.

### C. Wnioski.

W ostatnich doświadczeniach nie udało się odnaleźć całkowitej ilości znikającego  $N_p$  w postaci  $N_A$ . Widzimy trzy przyczyny powyższego zjawiska, a więc przedewszystkiem rozważyć należy możliwość istnienia jakiej innej drogi rozkładu puryn, aniżeli poprzez kw. moczowy i allantoinę. Po-drugie, wytworzona allantoina ulegać może dalszemu rozpadowi. Po-trzecie, w grę mogą tu wchodzić błędy, związane z oznaczeniem allantoiny.

Wracając do pierwszej możliwości, rozumiemy jak następuje:

Gdyby istniała jeszcze jakaś inna stała droga rozkładu puryn, niż poprzez kw. moczowy i allantoinę, to 1<sup>o</sup>, nie otrzymanoby w niektórych doświadczeniach aż 87% przyrostu NA, 2<sup>o</sup>, pewna mniejsza lub większa ale stała liczba przyrostu NA byłaby warunkowana właśnie tą drogą rozpadu puryn. Tymczasem takiej

Tabela III.

Zestawienie danych doświadczalnych.  
Comparison of experimental results.

№ doświadczenia № of experiment	Ubyło mg Np ze 100 g tkanki Mg Np lost per 100 g of tissue	Przybyło mg NA na 100 g tk. Increase in mg of NA per 100 g of tissue	Strata N (20%) przy desamin. aminopuryn (NH <sub>3</sub> ) Loss of Np (20%) with desamina- tion of aminopurines (NH <sub>3</sub> )	Powinno być mg NA Theoretical NA content (mg)	Odnaleziono procent mg NA Experimentally found NA content (mg)	U w a g i R e m a r k s
5	79.65	22.3	15.9	63.75	35.0	przepędzanie H <sub>2</sub> passage of H <sub>2</sub>
5	124.96	31.86	24.99	99.95	31.8	autoliza zwykła ordinary autolysis
7	7.63	5.5	1.5	6.13	87.2	przepędzanie H <sub>2</sub> passage of H <sub>2</sub>
8	22.42	4.2	4.5	17.9	23.4	przepędzanie H <sub>2</sub> passage of H <sub>2</sub>
9	66.31	25.7	13.3	53.0	49.2	przepędzanie H <sub>2</sub> passage of H <sub>2</sub>
10	43.31	12.9	8.7	34.6	37.2	przepędzanie H <sub>2</sub> passage of H <sub>2</sub>

stałej liczby w doświadczeniach naszych nie osiągnięto (patrz wynik 4). Wydaje nam się wobec powyższego, że istnienie owej hipotetycznej drogi rozpoznania puryn można wykluczyć. Jeśli chodzi o dalszy rozpad allantoiny, jest on według WIECHOWSKIEGO możliwy i zachodzi spontanicznie w pewnych warunkach przy dłuższym staniu.

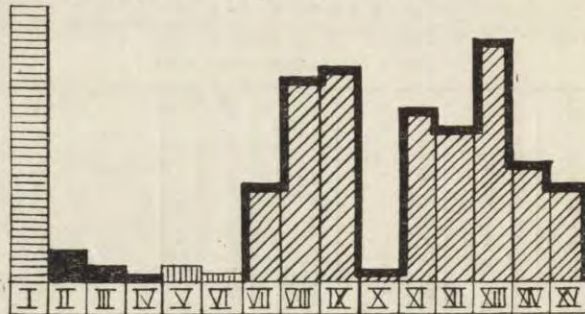
Moment ten wiązać się może z wysuniętą przez nas przyczyną, polegającą na robieniu błędów przy oznaczaniu allantoiny.

Pomyłka owa szła zawsze w kierunku zmniejszania ilości NA. Procedura metody bowiem powodowała — dla dokonania różnych

manipulacyj chemicznych—pozostawianie na pewien czas roztworu, zawierającego allantoinę; oczywiście w tym przeciągu czasu allantoina mogła ulegać częściowemu rozpadowi.

Tabela IV.

Graficzne przedstawienie znikania Np.  
Graphical presentation of disappearance of Purine — N.



Objaśnienie do tabeli IV.  
Explanation of Tab. IV.

	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV	XV
Np przed autol. before autol.	Np — po autolizie — Np — after autolysis														
Czas war. autol. Duration and conditions of autolysis	5 dni 5 days	8 dni 8 days	29 dni 29 days	5 d. po 12 g. 5 days, passed 12 hours	11 d. po 10 g. 11 d., passed 10 hours	5 d. po 2 g. 5 days, passed 2 hours	5 d. po 12 g. 5 days, passed 12 hours	7 dni stale 7 days constant pass.	8 d. po 3 g. 8 days, passed 3 hours	9 dni stale 9 d., const. passage	11 d. po 10 g. 11 days, passed 10 hours	12 d. stale 12 d., const. passage	16 d. stale 16 d., const. passage	43 d. stale 43 d., const. passage	43 d. stale 43 d., const. passage
	Powietrze Air		Tlen Oxygen		Wodór → Hydrogen										
№ dośw. of exp.	1	2	5	4	3	1	4	8	2	10	3	7	9	5	

Z drugiej znowu strony przeprowadzone w analogicznych warunkach doświadczenia próbne, do których wzięto ściśle oznaczoną ilość allantoiny (preparatu) wykazały, że błąd sięgać może do 20%. Opierając się na powyższem, możemy twierdzić, że niecałkowite odnalezienie Np w postaci NA wynika być może z rozpadu allantoiny, bądź też, co jest nawet bardziej prawdopodobne, z błędów nie do uniknięcia przy oznaczaniu allantoiny.

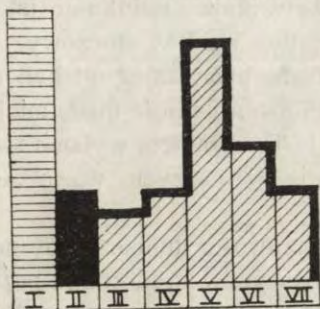
Wnioski, jakie możemy teraz dopiero prowadzić, są następujące:

1<sup>o</sup>, Produktem rozpadu puryn endogenicznych, powstałym podczas autolizy jałowej w środowisku zarówno tlenowym jak i beztlenowym, jest allantoina.

2<sup>o</sup>, Rozpad puryn endogenicznych idzie w takich warunkach poprzez kw. moczowy do allantoiny.

Tabela V.

Graficzne przedstawienie przyrostu  $N_A$ .  
Graphical presentation of increase in Allantoïne — N.



Objaśnienie do tabeli V.  
Explanation of Tab. V.

	I	II	III	IV	V	VI	VII
Ubytek Decrease in $N_p$							
		Przyrost $N_A$ Increase in $N_A$					
Czas i war. autolizy Duration and con- ditions of autolysis	29 dni 29 days	7 dni stale 7 d., const. passage	9 d. st. silny 9 d. constant pass. strong	12 d. stale 12 d., const. passage	16 d. stale 16 d., const. passage	43 d. stale 43 d., const. passage	
	Powie- trze Air	Wodór Hydrogen					
№ doświadc. of experim.	5	8	10	7	9	5	

3<sup>o</sup>, Z dokonanych doświadczeń wynika, że: purynoksydazy i urikaza działają najsilniej w obecności  $O$  czystego, słabiej z tlenem powietrza, a najsłabiej w środowisku beztlenowym.

4<sup>o</sup>, Środowisko beztlenowe zmniejsza tedy tylko szybkość działania urikazy i purynoksydaz.

Różnie było komentowane działanie purynoksydaz, a zwłaszcza — urikazy w środowisku beztlenowym. Z naszych badań okazuje się wszelako, że fermenty purynolityczne mogą działać w środowisku beztlenowym. Jest to specjalnie ciekawe, jeśli chodzi o urikazę. WIENER ('97) i WIECHOWSKI ('09) utrzymują, że jest ona oksydazą, ponieważ rozpad kw. moczowego nie zachodzi po zamknięciu dostępu O. Z naszych doświadczeń okazuje się jednak, że urikoliza może iść, aczkolwiek — wolniej, mimo braku O.

Jakże się to dzieje?

Dwie widzimy tu możliwości: albo proces utleniania zachodzi w ten sposób, że urikaza, redukując jakiś związek, przenosi otrzymany tą drogą tlen na kw. moczowy i zużywa go do utlenienia, albo też odbiera ona wodór od kw. moczowego.

Gdyby ta druga ewentualność miała miejsce, musiałoby istnieć ciało przyjmujące H. Tem samem wyłania się możliwość istnienia, czy też powstawania w naszych warunkach doświadczalnych, akceptorów dla H.

Przyjęcie tej możliwości tłumaczyłoby nam do pewnego stopnia proces rozpadu puryn w środowisku beztlenowym. Wszystko co powiedzieliśmy o urikazie dotyczy również i purynoksydaz.

Z punktu widzenia terapii byłoby rzeczą nader ciekawą wiedzieć, czy w podobny sposób w zbliżonych warunkach może się odbywać rozpad puryn w tkankach człowieka. Doświadczenia, starające się to wyjaśnić są w toku, lecz ze względu na trudności, związane z otrzymaniem odpowiedniego materiału ludzkiego, tempo tych badań jest znacznie powolniejsze. Stwierdzenie rozpadu puryn lub też jego braku w warunkach beztlenowych u człowieka przyczyni się być może do wyjaśnienia istoty dny.

#### Piśmiennictwo.

Bach und Nikolajew. 1926. Sind sauerstoffübertragende Enzyme mit wasserstoffübertragenden identisch? *Bioch. Zeitschr.* 169 (105). Batteli F. und L. Stern. 1909. Untersuchungen über die Uricase in den Tiergeweben. *Bioch. Zeitschr.* 19 (219). Brugsch T. und J. Rother. 1925. Die Bedeutung der enterotropischen Harnsäure für Physiologie und Pathologie des Harnsäurestoffwechsels nach experimentellen Untersuchungen über das Schicksal inkorporierter Harnsäure. *Zeitschr. f. physiol. Chem.* 143 (48). Chautrairie H. 1922. Untersuchungen über Harnsäureausscheidung und Harnsäurezerstörung im menschlichen Körper. *Bioch. Zeitschr.* 133



(613). **Chrometzka Fr.** 1926. Die Produkte der Wasserstoffsperoxyd. Oxydation der Harnsäure. Zeitschr. f. physiol. Chem. **162**(219). **Gudzent F.** 1909. Physikalisch-chemisches Verhalten der Harnsäure und ihrer Salze im Blut. Zeitschr. f. physiol. Chem. **63** (455). **Jones Walter** und **C. L. Partridge.** 1904. Über die Guanase. Zeitschr. f. physiol. Chem. **42** (343). **Herzger R.** 1927. Über den Ablauf der postmortalen Autolyse und Proteolyse im Organbrei röntgenbestrahlter Meerschweinchen. Bioch. Zeitschr. **184** (341). **Krüger M.** und **A. Schittenhelm.** 1905. Die Menge und Herkunft der Purinkörper in den menschlichen Faeces. Zeitschr. f. physiol. Chem. **45** (14). **Kohshi Ohta.** 1913. Über den Abbau der Harnsäure mit Wasserstoffsperoxyd und Eisensalz. Biochem. Zeitschr. **54** (439). **Kikkoji aus Kioto.** 1909. Beiträge zur Kenntnis der Autolyse. Zeitschr. f. physiol. Chem. **63** (109). **Oppenheimer C.** 1926. Lehrbuch der Enzyme. **Przyłęcki St.** 1926. La degradation de l'acide urique chez l'homme est-elle un fait incontestable? Bulletin de la Soc. de Chim. Biol. **8** (804). **Rother J.** 1920. Über Harnsäureausscheidung nach parenteraler Zufuhr von Purin-Nukleosiden beim gesunden Menschen. Zeitschr. f. physiol. Chem. **110** (240). **Schittenhelm A.** und **K. Wiener.** 1909. Über das Vorkommen und Bedeutung von Allantoin im menschlichen Urin. Zeitschr. f. physiol. Chem. **63** (283). **Schittenhelm A.** und **Fr. Frank.** 1909. Über die Umsetzung verfütterter Nucleinsäure beim normalen Menschen. Zeitschr. f. physiol. Chem. **63** (269). **Schittenhelm A.** 1905. Über die Harnsäurebildung und die Harnsäuresersetzung in den Auszügen der Rinderorgane. Zeitschr. f. physiol. Chem. **45** (121). Über das uricolytische Ferment. Ibidem. **45** (161). **Schittenhelm A.** 1904. Über die Harnsäurebildung in Gewebsauszügen. Zeitschr. f. physiol. Chem. **42** (251). **Schittenhelm A.** und **Fr. Chrometzka.** 1926. Studien über das urikolytische Ferment. Zeitschr. f. physiol. Chem. **162** (188). **Schittenhelm A.** und **K. Warnas.** 1927. Über die Entstehung von Carbonyldiharnstoff bei der Oxydation von Harnsäure und Allantoin und sein Verhalten im Stoffwechsel. Zeitschr. f. physiol. Chem. **171** (174). **Subkow L.** 1903. Über den Einfluss der Alkalien auf die Menge der ausgeschiedenen Harnsäure und über die Bedingungen der Zersetzung der Harnsäure im Säugetierkörper. Jahres-Bericht der Tier-Chemie. **33** (873). **Schulzt A.** 1913. Zur Kenntnis der Fermente der Purinreihe. Bioch. Zeitschr. **48** (86). **Salkowski E.** 1909. Bemerkungen über Autolyse und Konservierung. Zeitschr. f. physiol. Chem. **63** (136). **Schreiber Waldvogel.** 1899. Beiträge zur Kenntnis der Harnsäureausscheidung unter physiologischen und pathologischen Verhältnissen. Arch. f. experim. Pathol. und Pharmak. **42** (69). **Thannhauser J. S.** und **H. Schober.** 1921. Experimentelle Studien über den Nucleinstoffwechsel. Zeitschr. f. physiol. Chem. **115** (171). **Thannhauser J. S.** und **G. Dorfmler.** 1921. Über die Aufspaltung des Purinringes durch Bakterien der menschlichen Darmflora. Zeitschr. f. physiol. Chem. **102** (149). **Thannhauser J., Lurz L.** und **P. Gaza.** 1926. Studien zur Frage der Uricolyse und der Harnsäureausscheidung. Zeitschr. f. physiol. Chem. **156** (251). **Wiener H.** 1897. Über Zersetzung und Bildung der Harnsäure im Tierkörper. Arch. f. experim. Pathol. und Pharmak. **42** (375). **Wiechowski W.** 1910. Das Schicksal intermediärer Harnsäure beim Menschen und der Allantoingehalt des menschlichen Harns,

nebst Bemerkungen über Nachweiss und Zersetzlichkeit des Allantoin. Bioch. Zeitschr. 25 (431). **Wiechowski W.** 1909. Der Allantoingehalt des menschlichen Harns und ihre Bedeutung für Beurteilung des menschlichen Harnsäurestoffwechsel. Bioch. Zeitschr. 19 (368). **Wiechowski W.** 1909. Über die Zersetzlichkeit der Harnsäure im menschlichen Organismus. Arch. f. experim. Pathol. und Pharm. 60 (185). **Yanagawa M.** und **Em. Strausky.** 1922. Über die Allantoinausscheidung von Kaninchen unter verschiedenen Verhältnissen und unter dem Einflusse von Giften. Bioch. Zeitschr. 133 (434).

[Zakład Fizjologii Ogólnej Wolnej Wszechnicy Polskiej. Praca № 5]

E. Eisenberg-Hamburg.

**Wpływ soli strontu na poruszanie się wymocзка *Paramecium caudatum*. Rola wapnia i stężenia jonów H.**

*L'influence des sels de strontium sur les mouvements du Paramecium caudatum. Le rôle des sels de calcium et de la concentration en ion hydrogène.*

Rękopis nadesłany w dniu 1.II.1930 r.

J'ai signalé — en 1925 — le fait, que le mouvement du *Paramecium* transféré dans les solutions de  $SrCl_2$ , est interrompu toutes les 10 à 20 secondes, d'une manière plus ou moins rythmique, par des mouvements de recul de courte durée. Les mouvements de ce genre ont été constatés par JENNINGS, qui les a décrit entre de beaucoup d'autres perturbations du mouvement se produisant dans les solutions toxiques.

Mes premières observations ont pu démontrer que les mouvements de recul se manifestent dans les solutions, dans lesquelles les infusoires peuvent vivre quelques semaines, et qui par conséquent ne sont point toxiques.

Les recherches en question avaient pour but d'examiner, d'une manière plus détaillée, les conditions, dans lesquelles les dits mouvements se produisent, ainsi que le caractère de ces derniers.

Les expériences consistaient à placer dans les solutions des sels de: Sr, Ba, Mg, Ca, Zn, Fe, Na, K, Rb et Cs, les infusoires pris d'une culture dans l'infusion de foin et lavés dans l'eau distillée.

Dans les solutions non mortelles de  $SrCl_2$ , la réaction de recul se manifeste chez tous les individus sans exception pendant quelques semaines, et parfois même plus longtemps.

La durée de chaque mouvement de recul est d'autant plus longue que la concentration du liquide est plus élevée (0.001672%—0.013376%).

Le nombre de mouvements de recul de chaque individu varie également avec les modifications de la concentration de la solution de  $\text{SrCl}_2$ . Il faut faire observer, que, si les infusoires ne périssent pas dans les solutions employées, le nombre de réactions augmente avec la concentration (tabl. I). Au contraire, l'augmentation de la concentration dans les solutions toxiques est accompagnée d'une diminution du nombre de mouvements de recul. (tabl. IV).

Les variations du pH n'influent pas sur la prolongation de la durée de chaque recul, occasionné par l'augmentation de la concentration de la solution de  $\text{SrCl}_2$ . (mélanges: 1<sup>o</sup>, liquide de la culture dans l'infusion de foin +  $\text{SrCl}_2$ , 2<sup>o</sup>, mono- et bi-phosphates d'alcalis +  $\text{SrCl}_2$ ; pH — divers).

Dans les concentrations constantes de  $\text{SrCl}_2$ , les variations du pH produisent des changements dans l'intensité de la réaction. La réaction de recul se manifeste avec le plus d'intensité dans un milieu alcalin. Si les infusoires périssent dans un milieu, dans ce cas la réaction de recul disparaît au plus vite dans le milieu alcalin.

La réaction de recul se manifeste également dans les solutions de sels de Ba, Rb et Cs (tabl. III), mais pas toujours et pas chez tous les individus.

Aucun autre sel n'a occasionné la réaction de recul, quoiqu'il fut employé dans de vastes limites de concentrations.

Les expériences avec différents sels de Sr ( $\text{SrBr}_2$ ,  $\text{SrJ}_2$ ,  $\text{SrSO}_4$ ,  $\text{Sr}[\text{NO}_3]_2$ ) ont prouvé, que la réaction de recul se manifeste indépendamment de l'anion. L'intensité de la réaction augmentait dans toutes les expériences avec celle de la concentration moléculaire, le nombre de réactions dépend de l'anion (tabl. IV).

La réaction de recul peut être annulée par l'addition à la solution de  $\text{SrCl}_2$  d'une quantité suffisante du liquide de culture, ou de celui de Ringer (tabl. V). Il a été prouvé dans la suite, que le même effet peut être obtenu par l'addition de  $\text{CaCl}_2$  (tabl. IV). Aucun autre cation n'annule pas la réaction de recul. La proportion de la quantité de  $\text{CaCl}_2$  par rapport à  $\text{SrCl}_2$  est déterminée:— une

trop petite quantité de ce sel n'annule point le mouvement de recul.

Les observations sur la direction du mouvement des cils, ainsi que sur la quantité des vacoules digestives formées, n'ont pas donné des résultats suffisants pour pouvoir nous éclairer sur le problème du mécanisme des mouvements de recul.

Il résulte donc des faits décrits ci-dessus, que le phénomène du recul est spécifique au cation Sr. Dans les sels d'une série d'autres éléments cette réaction ne se manifeste pas d'une manière caractéristique. Le rôle de l'anion dans les différents sels de Sr se borne uniquement à des différences quantitatives. La toxicité de la solution d'un sel de Sr n'est pas la cause décisive pour la réaction de recul: au contraire, dans les solutions toxiques d'un sel de cet élément la réaction de recul ne se manifeste point dans la plupart des cas. On peut remarquer la réaction de recul dans les solutions des sels de Ba, Rb, et Cs, mais pas toujours et non chez tous les individus. Ce phénomène éclaire à un certain point le problème de la réaction de recul, qui est, selon toute probabilité, de caractère physico-chimique. (Les éléments cités, qui déterminent la dite réaction de recul, se trouvent indiqués — dans la tableau de MENDELEJEV — à proximité du Sr.).

W roku 1925, pracując nad wpływem chlorków alkalicznych i ziem alkalicznych na działanie wodniczków kurczliwych u *Paramecium*, zwróciłam uwagę na szczególne ruchy tego wymoczka w roztworach  $\text{SrCl}_2$ . W warunkach normalnych *Paramecium* porusza się naprzód, wykonywając przytem obroty wokół swej osi podłużnej i zataczając koła przednim końcem komórki, tak że normalna droga wymoczka posiada kształt śrubowaty i stale postępuje. W roztworach  $\text{SrCl}_2$  ruch normalny zo-

staje przerywany co kilkanaście sekund, mniej lub więcej rytmicznie, przez krótkotrwałe ruchy wsteczne wymoczką.

Zachowanie się *Paramecium* przeniesionego z hodowli, w której przebywało w ciągu dłuższego czasu, do środowiska odmiennego pod względem chemicznym, zostało opisane szczegółowo przez JENNINGSA ('14)\*). Jak wynika z jego obserwacji, *Paramecium* reaguje wówczas wykonaniem szeregu reakcyj ruchowych, mianowicie, obraca się wokoło swej osi poprzecznej, wykonywa przednim końcem komórki wielokrotne obroty o mniejszej lub większej amplitudzie, wreszcie — cofa się co pewien czas o ułamek drogi przebytej, zmieniając najczęściej kierunek drogi pierwotnej.

Z badań JENNINGSA wynika, że opisane wyżej ruchy *Paramecium* występują w różnorodnych roztworach, między innymi w  $SrCl_2$ , natychmiast po umieszczeniu w nich wymoczków, o ile roztwory te są toksyczne. Ruchy te JENNINGS uważa za próbę ucieczki wymoczków ze strefy o szkodliwym działaniu („avoiding reaction“).

Zastanawiający jest fakt, że w moich doświadczeniach wymoczką dawały reakcję wsteczną w roztworach  $SrCl_2$ , w których przebywały w przeciągu kilku dni, a nawet dłużej. Wyłoniło się wobec tego następujące zagadnienie: czy rzeczywiście powyższa reakcja wsteczna zależy od toksycznych własności roztworu, oraz czy działanie Sr jest specyficzne.

W celu wyjaśnienia omawianej kwestji badałam zachowanie się wymoczków w roztworach soli strontu oraz innych pierwiastków, należących do tej samej grupy chemicznej, co Sr; jak również — w roztworach soli pierwiastków innych grup chemicznych. W toku badań wyłoniła się ponadto kwestja antagonicznego działania innych katjonów w stosunku do Sr oraz kwestja znaczenia odczynu środowiska.

#### Metodyka postępowania.

Doświadczenia wykonałam na *Paramecium caudatum*. Wymoczką hodowałam w wodzie wodociągowej z dodatkiem niewielkiej ilości wywaru z siana. Odświeżałam hodowlę co 5 dni. Zbierałam wymoczki, posiłkując

\*) JENNINGS. 1914. Die niederen Organismen. Leipzig. Tłum. E. Mangolda.

się ich geotaktyzmem ujemnym w następujący sposób: probówkę z pożywką sianową i z wymoczkami zamykałam korkiem, zaopatrzoną rurką szklaną, wypełnioną wodą destylowaną. *Paramaecia* wędrowały z próbki do rurki z wodą, gdzie pozostawały w ciągu 24 godzin. Usuwałam na tej drodze z płynu doświadczalnego składniki z hodowli oraz otrzymywałam bardzo gęstą zawiesinę wymoczków, której niewielkie ilości wprowadzałam do płynów doświadczalnych.

Płyny doświadczalne sporządzałam na wodzie dwukrotnie przeze mnie destylowanej w kolbach z „pyrex'u”. Roztwory przechowywałam we flakonach parafinowanych wewnątrz i hermetycznie zamkniętych. Doświadczenia wykonywałam w klocekach szklanych. Ilość płynu doświadczalnego wynosiła w każdym przypadku 2 cm<sup>3</sup>. Stężenie roztworów ulegało zmianom zależnie od potrzeb. Doświadczenia były wykonane w temperaturze pokojowej 10 — 15°; temperatura w obrębie każdej serji doświadczeń była jednakowa. Zawartość soli w doświadczeniach jednej serji z kilkoma solami stanowiła jednakowy ułamek mola w roztworach poszczególnych soli. Reakcja środowisk doświadczalnych wahała się około pH = 6.85. Wyjątek stanowi serja, w której badałam wpływ zmian wielkości pH na przebieg reakcji wstecznej: w serji tej różnice stężeń H<sup>+</sup> były dość znaczne.

### Opis doświadczeń.

#### 1. Intensywność i powtarzalność reakcji wstecznej a toksyczność roztworu.

Pierwsze doświadczenia dotyczyły jedynie roztworów SrCl<sub>2</sub> o różnym stężeniu. W roztworach SrCl<sub>2</sub> nad całym chaotycznym zespołem ruchów wymoczków obserwowałam wyraźną przewagę jednego rodzaju ruchów — są to krótkotrwałe cofnięcia wsteczne, po których, jak już wzmiankowałam we wstępie, wymoczek w mniej lub bardziej widocznym stopniu zmienia kierunek drogi pierwotnej. Ruchy te w roztworach SrCl<sub>2</sub> w porównaniu z innymi roztworami są do takiego stopnia ogólne (t. zn. występują u wszystkich osobników) i częste, że nie przedstawia najmniejszej trudności wybrać z pośród wielu naczyń z wymoczkami to, które zawiera SrCl<sub>2</sub>, kierując się jedynie obserwacją poruszania się wymoczków. Wszelkie inne objawy zaburzeń w sposobie poruszania się *Paramaecium* mijają po pewnym czasie, ruch zaś wsteczny pozostaje w roztworach SrCl<sub>2</sub> przez dłuższy czas, a jak się później okazało — na stałe.

We wszystkich roztworach SrCl<sub>2</sub>, bez względu na stężenie, reakcja cofania się występowała bardzo wyraźnie i prawie momentalnie po umieszczeniu w nich wymoczków.

Czas trwania ruchu wstecz przy każdorazowym cofnięciu się wymocзка, czyli intensywność reakcji, jest jednak różny zależnie od stężenia roztworów i, jak wynika z wielu doświadczeń, tem większy, im stężenie roztworu jest większe. Obserwowałam wyraźny przyrost intensywności reakcji  $\text{SrCl}_2$  od 0.001672% do 0.013376%.

Częstość cofania się każdego wymocзка czyli powtarzalność reakcji wstecznej znajduje się również w związku ze stężeniem roztworu. Charakter tej zależności (zależność prosta czy też odwrotna) wiąże się ściśle ze stopniem toksyczności środowiska. Powyższą zależność powtarzalności reakcji u poszczególnych wymoczków od stężenia roztworu i jego toksyczności

Tabela I.

Przyrost powtarzalności reakcji wstecznej w miarę zwiększania stężenia  $\text{SrCl}_2$  w przypadkach roztworów nietoksycznych.

*Augmentation du nombre de réactions de recul avec celle de la concentration de  $\text{SrCl}_2$  dans les solutions non toxiques.*

Stężenie $\text{SrCl}_2$ Concentration de $\text{SrCl}_2$ %	Czas 10 cofnięć (t) po upływie <i>Durée (t) de 10 mouvements de recul au bout de:</i> " (sec.)			Powtarzalność reakcji $\left(\frac{60''}{t}\right)$ po upływie: <i>Nombre de réactions <math>\left(\frac{60''}{t}\right)</math> au bout de:</i>		
	70'	20 g (h)	48 g (h)	70'	24 g (h)	48 g (h)
0.000978	28.2	22.1	—	2.13	2.72	—
0.001956	22.6	16.9	20.4	2.66	3.55	2.94
0.003912	22.5	13.8	12.8	2.67	4.36	4.70

(sprawdzian — długość życia wymoczków) próbowałam wyznaczyć w sposób ilościowy. Notowałam w tym celu okres czasu (t), w ciągu którego pojedyncze *Paramaecium* wykazuje dziesięć kolejnych cofnięć. Przeprowadzałam powyższe obserwacje kolejno u dziesięciu osobników i wyprowadzałam następnie liczbę przeciętną. Obserwacje tego rodzaju wykonywałam w roztworach o rozmaitem stężeniu  $\text{SrCl}_2$ .

Dane, dotyczące roztworów  $\text{SrCl}_2$ , w których wymocзки nie ginęły w ciągu dłuższego czasu, zawiera tabela I. Z tabeli tej wynika, że o ile roztwór  $\text{SrCl}_2$  nie jest zabójczy — powtarzalność reakcji wstecznej, t. zn. ilość dziesiątków cofnięć w ciągu minuty, wzrasta wraz ze wzrostem stężenia.

Natomiast w roztworach toksycznych częstość cofania się maleje w miarę wzrostu stężenia (patrz tab. IV, str. 271).



Reakcja cofania się, jak już wspomniałam, utrzymuje się w roztworach  $\text{SrCl}_2$  na stałe. Doświadczenia, które prowadziłam dla kontroli długości życia wymoczków, trwały przez dwa tygodnie i dłużej, przyczem reakcja, o której mowa, trwała do ostatniej chwili. W przypadkach, kiedy roztwory były silnie zabójcze <sup>1)</sup> (nieodpowiednie ciśnienie osmotyczne, brak elektrolitów, zbyt duży %  $\text{SrCl}_2$ , stan fizjologiczny wymoczków), cofanie się nie występowało wcale, albo też mijało po krótkim czasie.

Występowanie opisanej reakcji wstecznej stwierdziłam również u innych gatunków, prócz *Paramaecium caudatum*, mianowicie u *Colpidium colpoda*, *Stentor viridis* i *Spirostomum ambiguum*.

## 2. Wpływ zmian pH na ruch *Paramaecium* w roztworach $\text{SrCl}_2$ .

Już w pierwszych doświadczeniach zwróciła moją uwagę zmienność granic toksyczności roztworów  $\text{SrCl}_2$ . Pierwszy czynnik, który, jak mi się wydawało, może tu wchodzić w grę — to okres rozwoju hodowli sianowej <sup>2)</sup>. Wiadomo bowiem, że odczyn hodowli *Paramaecium* na wywarze z siana ulega zmianom, mianowicie: na początku rozwoju hodowli jest słabo kwaśny, następnie stopniowo staje się alkaliczny. W związku z temi zmianami mogą zachodzić wahania odporności wymoczków.

Wpływ stężenia jonów wodorowych na występowanie reakcji cofania się wymoczków w roztworach  $\text{SrCl}_2$ , badałam w dwojaki sposób: 1<sup>o</sup>, w mieszaninach sączonego płynu z hodowli sianowej +  $\text{SrCl}_2$  (skala pH: 7.0 — 7.6) i 2<sup>o</sup>, w mieszaninach 1-o i 2-orzędowego fosforanów sodu (MICHAELIS '14) +  $\text{SrCl}_2$  (skala pH: 6.45 — 7.35). W obu serjach notowałam intensywność reakcji cofania się wymoczków (obserwowano kilkanaście osobników w każdym płynie), posilkując się symbolami + + + i t. d. (reakcja dodatnia) lub też symbolem — (brak reakcji). Ilość znaczków + nie wyraża absolutnej intensywności reakcji: przyrost ilości tych znaków świadczy jedynie o przyroście intensywności reakcji w obrębie danego doświadczenia.

Jak się okazało, przyrost intensywności reakcji wstecznej w miarę przyrostu stężenia  $\text{SrCl}_2$  (p. tab. II) nie zależy od od-

<sup>1)</sup> Wymoczki ginęły w przeciągu kilku godzin.

<sup>2)</sup> Hodowlę odświeżałam co 5 dni.

czynu środowiska, a więc zarówno w środowisku kwaśnym, jak w obojętnym i alkalicznym czas trwania ruchu wstecz przy każdorazowym cofnięciu się wymoczk jest wyraźnie większy w miarę przyrostu stężenia stosowanego roztworu  $\text{SrCl}_2$ .

Wyniki tego rodzaju otrzymałam zarówno z fosforanami, jak i z płynami z hodowli z różnych dni jej rozwoju.

Jeżeli jednak stężenie  $\text{SrCl}_2$  pozostaje niezmiennie, skutek jaki sól ta powoduje, zależy od stężenia  $\text{H}^+$ . Świadczy o tem tabela II, która zawiera dane, dotyczące sączonego płynu z hodowli. Reakcja wsteczna jest wyraźniejsza poza granicami odczynu obojętnego środowiska. W tabeli II intensywność cofania się wymoczków wzrasta w miarę alkalizowania środowiska. Powyższe zjawisko powtarza się dla szeregu koncentracji  $\text{SrCl}_2$ .

T a b e l a II.

Przyrost intensywności reakcji wstecznej w środowiskach alkalicznych (płyn z hodowli).

*Accroissement de l'intensité de la réaction de recul dans les milieux alcalins. (Liquide de la culture).*

Stężenie $\text{SrCl}_2$ Concentration de $\text{SrCl}_2$ %	Intensywność reakcji wstecznej po upływie 24 godzin. <i>Intensité de la réaction de recul au bout de 24 heures.</i>		
	pH = 7.0	pH = 7.2	pH = 7.6
0.0065	—	—	+
0.0163	—	+	+
0.0326	+	+	++
0.0652	+	+	+++
0.0978	++	++	++++

Dalsze próby dowiodły, że  $\text{SrCl}_2$  nie tylko w środowisku alkalicznym, lecz również i w kwaśnym wywołuje wyraźniejszą reakcję, niż w środowisku obojętnym. Różnica, o której mowa, występuje w mieszaninach fosforanów już po upływie kilku minut od chwili umieszczenia wymoczków w odpowiednich płynach, i po 24 godzinach jest równie wyraźna. Szybkość występowania maksimum intensywności reakcji dodatniej jest największa w środowisku alkalicznym.

Stężenie jonów wodorowych nie pozostaje bez wpływu również na toksyczność roztworów. Mieszaniny fosforanów +  $\text{SrCl}_2$  są bardziej trujące, niż płyn z hodowli z dodatkiem chlorku strontu.

Otóż w obecności fosforanów w danym stężeniu  $\text{SrCl}_2$  wymoczką giną najwcześniej w środowisku alkalicznym, później w kwaśnym i najpóźniej — w obojętnym. Odpowiednio do tego (patrz str. 267) reakcja wsteczna zanika najwcześniej w środowisku, w którym wymoczkę wcześniej giną, a więc w środowisku alkalicznym, następnie — w kwaśnym.

Odczyn moich typowych roztworów był bardzo słabo kwaśny ( $\text{pH} = 6.85$ ), a więc jeżeli chodzi o wytrzymałość wymoczków i o szybkość występowania badanej przeze mnie reakcji ruchowej — najzupełniej odpowiedni. Jeżeli się więc zdarzało, że wymoczkę ginęły w koncentracjach  $\text{SrCl}_2$ , które poprzednio nie były zabójcze — najprawdopodobniej należy poszukiwać przyczyn wahania ich odporności w zmianach, zachodzących w hodowli.

### 3. Zagadnienie specyficzności reakcji wstecznej w $\text{SrCl}_2$ .

Dalsze poszukiwania dotyczyły zagadnienia: czy zdolność powodowania reakcji cofania się u *Paramaecium* jest specyficzną dla  $\text{SrCl}_2$ ; jak wzmiankowałam we wstępie, w żadnym z chlorków, w granicach stężeń stosowanych w roku 1925, reakcja ta nie występowała, poza  $\text{SrCl}_2$ .

W celu rozstrzygnięcia tej sprawy badałam zachowanie się wymoczków w roztworach szeregu innych soli. Do badań brałam chlorki lub azotany pierwiastków tej samej grupy chemicznej co Sr, a więc  $\text{MgCl}_2$ ,  $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ ,  $\text{BaCl}_2$ ,  $\text{Ba}(\text{NO}_3)_2$ , jakoteż sole pierwiastków odmiennych grup chemicznych:  $\text{NaCl}$ ,  $\text{KCl}$ ,  $\text{RbCl}$ ,  $\text{CsCl}$  i  $\text{FeCl}_3$ . Stężenia roztworów wymienionych chlorków wahały się od bardzo słabych do toksycznych włącznie.

Jedynie w bardzo słabych roztworach soli Ba, Rb i Cs obserwowałam ruchy, podobne do cofania się w  $\text{SrCl}_2$  (tabela III). Pozostałe chlorki w granicach stężeń nietoksycznych nigdy nie powodowały reakcji wstecznej. W stężeniach, które *Paramaecia* wytrzymały i nie ginęły, ruch był w pierwszych chwilach chaotyczny, poczem wracał do normy. Zwiększanie stężenia poszczególnych soli powodowało śmierć wymoczków.

W chlorkach Ba, a szczególnie Rb i Cs, jak to zresztą obserwować można również w wyższych stężeniach  $\text{SrCl}_2$ , cofnięcia są mniej rytmiczne u poszczególnych osobników oraz są mniej ogólne, a więc pewien odsetek wymoczków nie cofa się wcale; cofnięcia

bardzo często idą w parze z szeregiem chaotycznych ruchów, dalej — każde cofnięcie trwa przeważnie znacznie dłużej, niż w nietoksycznych roztworach  $\text{SrCl}_2$ . Część wymoczków ginie w tych roztworach, chociaż pozostałe żyją przez kilka dni.

Tabela III.

Występowanie reakcji wstecznej w solach Ba, Rb i Cs.  
*Réactions de recul dans les solutions des sels de: Ba, Rb et Cs.*

Data Date	Jakość soli Sels	Granice stężeń stosowanych: Limites d. concentrations appliquées:	Wynik Résultats	Długość życia Durée de la vie
17. II. 29	Ba $(\text{NO}_3)_2$	0.000096 — 0.00077		†
"	Ba $(\text{NO}_3)_2 + \text{NaHCO}_3^*$ (ślady)	0.000096 — 0.00077	+	> 24 g. (h)
23. III. 29	BaCl <sub>2</sub>	0.000129 — 0.00133	+	> 54 g. (h)
3. V. 29	RbCl	0.000111 — 0.00089	+	
"	CsCl	< 0.001543	±	

\*  $\text{NaHCO}_3$  nie wykazuje działania antagonistycznego w stosunku do ruchu wstecznego.  
 *$\text{NaHCO}_3$  ne manifeste pas d'action antagoniste par rapport au mouvement de recul.*

#### 4. Rola anjonów.

Dalsze badania dotyczyły roli anjonów w przebiegu reakcji cofania się. Próby robiłam przedewszystkiem z rozmaitemi solami strontu. Stosowałam chlorek, bromek i jodek, a czasami również azotan i siarczan strontu. Rezultat był zawsze dodatni: wymoczki cofały się w charakterystyczny sposób zupełnie tak, jak to czynią w  $\text{SrCl}_2$ . Analogiczne wyniki dał  $\text{BaCl}_2$  i  $\text{BaBr}_2$ .

Większość prób przerobionych dotyczy porównawczego działania  $\text{SrCl}_2$ ,  $\text{SrBr}_2$  i  $\text{SrJ}_2$ . W pierwszym rzędzie badałam zależność intensywności reakcji wstecznej od stężenia soli strontu. Jak się okazało, w obrębie każdej soli intensywność jest wprost proporcjonalna do jej stężenia. Koncentracje  $\text{SrBr}_2$  wahały się w moich doświadczeniach w granicach od 0.0065 do 0.0520%, koncentracje zaś  $\text{SrJ}_2$  — w granicach od 0.0028 do 0.0225%. Powtarzalność reakcji w solach strontu jest różna w przypadkach różnych anjonów. Starłam się ustalić stosunek tej różnicy do toksyczności wymienionych soli, wychodząc z faktu wyżej stwierdzonego, a polegającego z jednej strony na zdecydowanym występowaniu reakcji + w roztworach chlorku strontu, w których *Paramaecia* przebywały przez kilka tygodni; a z drugiej

strony — na braku występowania tej reakcji w zabójczych koncentracjach  $\text{SrCl}_2$ .

Toksyczność  $\text{SrCl}_2$ ,  $\text{SrBr}_2$  i  $\text{SrJ}_2$  badałam w ten sposób, że jednocześnie umieszczałam wymoczki w trzech naczynkach, które zawierały roztwory izomolekularne poszczególnych soli, i notowałam czas, po upływie którego pojawiają się pierwsze trupy wymoczków, oraz czas, w ciągu którego wszystkie wymoczki giną. Z szeregu doświadczeń tego rodzaju wynika, że ze względu na toksyczność anjony badane dadzą się zszeregować przeważnie w następujący sposób:  $\text{J} > \text{Cl} = \text{Br}$ , zaś w niektórych przypadkach:  $\text{J} > \text{Cl} > \text{Br}$ .

Tabela IV.

Zmniejszanie się powtarzalności reakcji wstecznej w miarę zwiększania stężenia rozmaitych soli strontu w przypadku roztworów toksycznych.

*Diminution du nombre des réactions de recul au per et fur à la mesure de la diminution de la concentration de différents sels de Sr en cas des solutions toxiques.*

Data Date	Stężenie molarne soli Concentration moléculaire du sel	Średni czas: 10 cofnięć (#) Temps moyen de 10 reculements			Średnia powtarzalność reakcji ( $\frac{60''}{t}$ ) Nombre moyen de la répétition des réactions de recul			Szeregi anjonów: intensywność reakcji wstecznej maleje Séries des anions: l'intensité de la réaction de recul diminue
		$\text{SrBr}_2$	$\text{SrCl}_2$	$\text{SrJ}_2$	$\text{SrBr}_2$	$\text{SrCl}_2$	$\text{SrJ}_2$	
14. IV	1/4080	10	10	11	6.00	6.00	5.50	$\text{Br}, \text{Cl} > \text{I}$
"	1/2040	17	17	21	3.53	3.53	2.88	$\text{Br}, \text{Cl} > \text{I}$
"	1/1020	21	27	29	2.88	2.22	2.14	$\text{Br} > \text{Cl} > \text{I}$
9. IV	1/204	34	40	53	1.80	1.50	1.13	$\text{Br} > \text{Cl} > \text{I}$

Jeżeli chodzi o powtarzalność reakcji cofania się w obecności tych trzech anjonów — istnieje wyraźna od nich zależność (tab. IV). O ile roztwory, w których zostają umieszczone wymoczki, są toksyczne, anjony dają się ustawić w następujący szereg, którego pierwszy człon odpowiada największej częstości cofania się (największa powtarzalność reakcji):  $\text{Br}, \text{Cl} > \text{J}$  albo  $\text{Br} > \text{Cl} > \text{J}$ . Szereg ten świadczy, że im większa jest toksyczność soli, tem rzadziej odbywa się cofanie *Paramaecium*, o ile ono w roztworach tych ginie w ciągu krótkiego czasu. To samo otrzymałam w próbach z toksycznymi roztworami  $\text{SrCl}_2$ .

##### 5. Antagonistyczne działanie $\text{CaCl}_2$ .

W początkach badań nad wpływem  $\text{SrCl}_2$  na ruch *Paramaecium* natknęłam się kilkakrotnie na brak występowania zjawiska cofania się w środowiskach, które zawierały  $\text{SrCl}_2$ . Działo

się to w czasie próbných doświadczeń, do których brałam wymoczki wprost z hodowli z pewną ilością płynu z wywarem sianowym, oraz w niektórych doświadczeniach nad badaniem wpływu zmian pH w płynach z hodowli. Poszukując przyczyny tego zjawiska, wykonałam szereg prób z wymoczkami, zebranymi w H<sub>2</sub>O destylowanej, umieszczając je następnie w płynach, do których dodawałam SrCl<sub>2</sub>.

Wyniki pierwszych doświadczeń w tym kierunku poczynionych dowodzą, że hodowla sianowa zawiera czynnik, który niweluje omawiane działanie strontu: dodając do płynu z hodowli niewielkie ilości strontu (SrCl<sub>2</sub> 0.00978 — 0.0489%) nie otrzymywałam zupełnie cofania się. Ilość czynnika niwelującego w hodowli jest jednak ograniczona, bowiem w większych stężeniach SrCl<sub>2</sub> reakcja wsteczna występuje i zanika dopiero po pewnym czasie.

Tabela V.

Przeciwdziałanie płynu Ringera w stosunku do reakcji wstecznej, powodowanej przez SrCl<sub>2</sub>.  
L'action antagoniste du liquide de Ringer par rapport à la réaction de recul, provoquée par SrCl<sub>2</sub>.

Wahania stężeń SrCl <sub>2</sub> Oscillations des concentrations de SrCl <sub>2</sub> %	Stężenie płynu Ringera Concentration du liquide de Ringer	Wynik po upływie: Résultat au bout de:		Stosunki stężeń: Rapport entre les concentrations de: SrCl <sub>2</sub> : Ringer
		15'	24 g (h)	
0	0	—	—	
0.001672 — 0.006689	0	+	+	
0	n/500 — 64n/200	—	—	
0.001672 — 0.006689	n/500 — 64n/200	+	+	1:1
	n/200 — 64n/200	+	—	1:4
	n/200 — 64n/200	—	—	1:8

Analogiczne przeciwdziałanie wywiera płyn RINGERA, zastosowany w odpowiedniej ilości (tabela V).

Zastanawiając się dalej nad istotą czynnika przeciwdziałającego w hodowli i biorąc pod uwagę, że płyn RINGERA jest jedynie mieszaniną różnych chlorków + NaHCO<sub>3</sub>, zaczęłam analizować wpływ poszczególnych katjonów na działanie SrCl<sub>2</sub>. W tym celu brałam przede wszystkim roztwory chlorków, które występują w naturalnych zbiornikach wodnych i w płynach fizjologicznych, a więc NaCl, KCl, CaCl<sub>2</sub>, MgCl<sub>2</sub>. Prócz tego robiłam próby z NaHCO<sub>3</sub> i BaCl<sub>2</sub>. Roztwory powyższych soli stosowałam

w rozmaitych stężeniach, dodając do każdego rozmaite ilości  $\text{SrCl}_2$ , od najsłabszych aż do toksycznych włącznie.

W wyniku wspomnianych doświadczeń, stale otrzymywałam wyraźne hamowanie wpływu strontu jedynie przez Ca (w określonych granicach ilościowych). Tabela VI wskazuje, że w obecności  $\text{CaCl}_2$  reakcja wsteczna nie zachodzi, o ile ilość  $\text{CaCl}_2$  jest dostateczna w stosunku do ilości  $\text{SrCl}_2$ .

Żadna z pozostałych soli nigdy działania antagonistycznego w zakresie badanego zjawiska nie wywierała.

Tabela VI.

Antagonistyczne działanie  $\text{CaCl}_2$  w stosunku do reakcji wstecznej, powodowanej przez  $\text{SrCl}_2$ .

*L'action antagoniste du  $\text{CaCl}_2$  par rapport à la réaction de recul, occasionnée par  $\text{SrCl}_2$ .*

Stężenie $\text{SrCl}_2$ <i>Concentration de <math>\text{SrCl}_2</math></i> %	% $\text{CaCl}_2$ <i>% de <math>\text{CaCl}_2</math></i>	Wynik — <i>Résultat</i>	
		po 30' <i>au bout de 30'</i>	po 17 godz. <i>au bout de 17 heures</i>
0.001672 — 0.016725	0	+	+
0.001672 — 0.008362	0.05769	—	—
0.016725	0.05769	+	+

$\text{CaCl}_2$  usuwa również reakcję wsteczną, o ile ta już uprzednio została wywołana przez stront. Powyższe zjawisko wystąpiło w moich badaniach, gdy dodawałam 0.00337% — 0.01347%-ego  $\text{CaCl}_2$  do roztworów z wymoczkami, cofającymi się w 0.001673% — 0.01338%-owym roztworze  $\text{SrCl}_2$ . Poza tem w przypadkach małej ilości płynu z hodowli lub też płynu RINGERA (mało  $\text{CaCl}_2$ ) można zniwelować ruchy wsteczne, dodając minimalne ilości  $\text{CaCl}_2$ . Np. przy stężeniach  $\text{SrCl}_2$  0.01673% — 0.01338% wystarczy w obecności RINGERA (n/200 — 8n/200) 0.000136 — 0.001092%  $\text{CaCl}_2$ . Analogiczne wyniki dają próby z płynem z hodowli sianowej.

Antagonistyczne działanie  $\text{CaCl}_2$  występuje również w stosunku do  $\text{BaCl}_2$ : 0.0052% — 0.0206%-owy roztwór  $\text{BaCl}_2$  powoduje wyraźną reakcję wsteczną. W mieszaninie jednak wymienionych stężeń  $\text{BaCl}_2$  z  $\text{CaCl}_2$  0.13468 — 0.05387% ruchy *Paramaecium* pozostają normalne.

## 6. Obserwacje ruchu rzęsek i wytwarzania wodniczków pokarmowych w roztworach $SrCl_2$ .

Zastanawiając się nad bezpośrednią przyczyną cofania się wymoczków, a więc nad mechanizmem tego ruchu, badałam zachowanie się rzęsek wymoczków, cofających się pod wpływem  $Sr$ . Umieszczałam je w tym celu w kroplach wiszących, które zawierały drobną zawiesinę tuszu chińskiego: ruch cząsteczek tuszu wskazywał wyraźnie na kierunek ruchu rzęsek.

Normalnie wszystkie rzęski *Paramaecium*, zarówno peristomalne, jak i pozostałe, posiadają kierunek ruchu ku tyłowi komórki. Podczas cofania się wymoczka — wszystkie rzęski, prócz peristomalnych, zaczynają bić w kierunku odwrotnym, a więc od tyłu ku przodowi. Cząsteczki tuszu są odrzucane od tylnego ku przedniemu końcowi komórki. W ruchu rzęsek peristomalnych natomiast nie występują zmiany i tusz jest wyraźnie włączany bez przerwy do tworzących się wodniczków pokarmowych.

Nie znalazłszy zmian w kierunku ruchu rzęsek peristomalnych w roztworach soli strontu, poszukiwałam ewentualnych zmian jego intensywności. Przypuszczałam bowiem, że przy dostatecznym przyroście tej intensywności strumień wody, skierowany do peristomu, mógłby działać jako bodziec i powodować ruchy wsteczne.

Umieszczałam jednakowe ilości wymoczków z jednej strony w zawiesinie tuszu chińskiego w płynie z hodowli lub też w  $H_2O$ , zaś z drugiej — w takiej samej zawiesinie w roztworze  $SrCl_2$ . Po upływie pewnego czasu zabijałam wymoczki w obu płynach, dodając utrwalacza WORCESTERA i liczyłam wytworzone wodniczki pokarmowe.

Odnośne dane zawiera tabela VII. Jak wynika z tej tabeli, ilości wodniczków pokarmowych, wytwarzanych w płynie z hodowli czy też w wodzie, różnią się bardzo mało od ilości, jakie powstają w roztworach  $SrCl_2$ . Różnica wspomniana nie przekracza wahań, otrzymanych w dwóch przypadkach tego samego dnia w wodzie wodociągowej (dośw. 22.V:10.5 — 11.4).

A więc jeżeli chodzi o rzęski peristomalne — w ruchu ich nie zachodzą zmiany, którym możnaby przypisać przyczynę ruchów wstecznych.



Tabela VII.

Przeciętna ilość wodniczków pokarmowych, wytwarzana w płynach o różnym składzie chemicznym.

Quantité moyenne des vacuoles digestives, formées dans des liquides à composition chimique différente.

Data Date	Skład chemiczny płynu Composition chimique du liquide	Czas pobytu w płynie Temps de séjour dans le liquide	Przeciętna ilość wodn. pokarmo- wych, wytworzo- nych przez każdego osobnika Quantité moyenne des vacuoles for- mées par chaque individu	Granice wahań u poszczególnych osobników Limites extrêmes de la quantité des va- cuoles chez les dif- férents individus
26.IV. 29	Płyn z hodowli sianowej Liquide de la culture au foin	40	13.2	9 — 15
"	Roztwór SrCl <sub>2</sub> . Solution de SrCl <sub>2</sub>	40	12.5	10 — 15
30.IV. 29	Płyn z hodowli sianowej Liquide de la culture au foin	25	14.8	11 — 19
"	Roztwór SrCl <sub>2</sub> . Solution de SrCl <sub>2</sub>	25	15.0	10 — 18
20. V. 29	H <sub>2</sub> O wodociąg. Eau de robinet	30	10.5	6 — 16
"	Roztwór SrCl <sub>2</sub> . Solution de SrCl <sub>2</sub>	30	11.1	6 — 15
"	H <sub>2</sub> O wodociąg. Eau de robinet	30	11.4	7 — 16
"	Roztwór SrCl <sub>2</sub> . Solution de SrCl <sub>2</sub>	30	12.3	5 — 16

#### 7. Zjawianie się postaci anormalnych w roztworach SrCl<sub>2</sub>, BaCl<sub>2</sub> i RbCl.

Niejednokrotnie spotykałam w płynach doświadczalnych zjawisko występowania postaci teratologicznych. Jak się w szeregu doświadczeń przekonałam — formy te zjawiają się często już w krótkim czasie (2' — 3') po umieszczeniu wymoczków w niektórych roztworach soli wymienionych w nagłówku.

Postacie, o których mowa, sprawiają wrażenie, jak gdyby powstały z przecięcia wymoczka wpoprzek. Płaszczyzna przecięcia dzieli wymoczki czasem na dwie pod względem wielkości prawie jednakowe części; czasami zaś jedna część, tylna czy też przednia, bywa wyraźnie większa. Wspomniane ułamki komórek *Paramaecium* poruszają się w sposób zupełnie prawidłowy, tak jak wymoczki normalne: płyną więc naprzód, obracając się wokół osi podłużnej i co pewien czas cofają się wstecz.

Opisane potworki żyją przez szereg dni i zachowują ruch równie szybki, jak wymoczki normalne.

#### Próba interpretacji.

Przechodząc do interpretacji omawianego zjawiska cofania się *Paramaecium*, podkreślić należy najbardziej charakterystyczne momenty.

Reakcja wsteczna w postaci opisanej t. j., jako zjawisko stałe w obecności soli strontu i występujące u wszystkich osobników bez wyjątku — jest specyficzna dla katjonu Sr. Cofanie się nie jest wynikiem toksyczności roztworów, przeciwnie: im bardziej toksyczny jest roztwór soli strontu, tem słabiej i mniej masowo występuje zjawisko cofania się. Poza tem, słabe roztwory szeregu innych soli, nie mniej toksycznych od soli strontu, nie powodują nigdy reakcji wstecznej. W niektórych przypadkach można obserwować cofanie się w roztworach soli Ba, Rb i Cs, ale słabsze i w sposób mniej charakterystyczny, niż w solach strontu. Należy podkreślić bardzo bliskie sąsiedztwo tych pierwiastków do Sr w tablicy MENDELEJEWA. Z sąsiedztwa tego wynika podobieństwo cech fizycznych i chemicznych wszystkich wymienionych pierwiastków. Jest rzeczą nader prawdopodobną, że istota działania katjonu jest natury fizykochemicznej. Zachodzą, być może, zmiany w koloidach komórki wogóle, czy też bezpośrednio — aparatu rzęskowego, które powodują wyżej opisane odruchy. Powyższe przypuszczenie zyskuje na prawdopodobieństwie, jeżeli uwzględnić różny wygląd wymoczków, utrwalanych w płynie WORCESTERA: protoplazma osobników, które przebywały uprzednio w roztworach soli Sr, mętnieje bardzo, podczas gdy osobniki z hodowli sianowej zmętnienia nie wykazują wcale lub też w bardzo słabym stopniu.

Reakcja wsteczna zatem jest odruchem normalnego wymoczenia na obecność katjonu Sr, którego działanie fizykochemiczne najprawdopodobniej uderza w koloidy komórki.

### W y n i k i.

1°. *Paramecium caudatum*, umieszczone w słabym roztworze  $SrCl_2$ , wykonywa co kilkanaście sekund, mniej więcej rytmicznie, krótkotrwałe ruchy wsteczne.

2°. Intensywność reakcji wstecznej (czas trwania każdorazowego cofnięcia się) jest tem większa, im większe jest stężenie roztworu  $SrCl_2$ .

3°. Powtarzalność reakcji wstecznej (ilość cofnięć w jednostkę czasu) w toksycznych roztworach  $SrCl_2$  pozostaje w stosunku odwrotnym do ich stężenia. Natomiast w roztworach niezabójczych stosunek ten jest prosty.

4°. Reakcja wsteczna utrzymuje się w roztworach  $\text{SrCl}_2$  tak długo, jak długo wymoczki w nich żyją (tygodnie).

5°. W roztworach  $\text{SrCl}_2$ , w których wymoczki giną po krótkim czasie, reakcja wsteczna nie występuje wcale lub też po krótkim czasie zanika.

6°. Przyrost intensywności reakcji wstecznej w miarę przyrostu stężenia  $\text{SrCl}_2$  odbywa się niezależnie od odczynu środowiska.

7°. W danym stężeniu  $\text{SrCl}_2$  reakcja wsteczna zależy od stężenia jonów wodorowych; intensywność reakcji jest w środowisku alkalicznym i kwaśnym większa, niż w środowisku obojętnym.

8°. Reakcja wsteczna, nie tak jednak charakterystycznie, występuje również w słabych roztworach  $\text{BaCl}_2$ ,  $\text{BaBr}_2$ ,  $\text{Ba}(\text{NO}_3)_2$ ,  $\text{RbCl}$  i  $\text{CsCl}$ .

9°. W szeregu innych soli ( $\text{MgCl}_2$ ,  $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ ,  $\text{NaCl}$ ,  $\text{KCl}$ ,  $\text{FeCl}_3$ ) opisana reakcja wsteczna nie występuje wcale.

10°. Reakcja wsteczna występuje w roztworach soli Sr niezależnie od anjonu; istnieje jedynie różnica ilościowa (zmiany powtarzalności reakcji w przypadkach różnych anjonów).

11°. Płyn z hodowli sianowej lub płyn RINGERA usuwa reakcję wsteczną, wywołaną przez sól strontu. Analogiczne działanie posiada  $\text{CaCl}_2$ .

12°. Antagonizm  $\text{CaCl}_2$  (jak również hodowli czy też płynu RINGERA) w stosunku do  $\text{SrCl}_2$  znajduje się w zależności ściśle ilościowej.

13°.  $\text{CaCl}_2$  wykazuje działanie antagonistyczne również w stosunku do  $\text{BaCl}_2$  w obrębie omawianych ruchów.

14°. Kierunek ruchu rzęsek peristomalnych u *Paramaecium* w roztworach soli Sr nie ulega zmianie. Rzęski pozostałe uderzają ku przodowi w czasie cofania się wymoczka.

15°. Ilość wodniczków pokarmowych, wytwarzanych przez *Paramaecium* w jednostce czasu w roztworach soli strontu, nie ulega zmianie w porównaniu z normą.

16°. Ruchy wsteczne w roztworach  $\text{SrCl}_2$  dają również inne gatunki, poza *Paramaecium*, mianowicie: *Colpidium*, *Stentor* i *Spirostomum*.

[Zakład Farmakologii Uniwersytetu Jagiellońskiego]

J. V. Supniewski.

**Nowy przyrząd do określania gazowej przemiany materji ma-  
łych zwierząt.**

*A new apparatus for the gaseous metabolism determination of  
the small animals.*

Rękopis nadesłany w dniu 12.II.1930 r.

In this paper is described a new apparatus for the gaseous metabolism determination of the small animals. This apparatus is based on the methods of basal metabolism determination of REGNAULT-REISET and of BENEDICT. The  $\frac{1}{10}$  normal barium hydroxide solution is used to remove the carbon dioxide breathed out from the lungs of the animals. The carbon dioxide is determined volumetrically.

The results obtained with this apparatus are more accurate, than with HALDANE-PEMBREY respiration apparatus widely used for the gasous metabolism determination of the small animals.

The normal mice of 20 gr weight during the rest is breathing out during the five minuts about 6 — 8 cc. of carbon dioxide. During the same time this mice is absorbing about 9 — 11 cc. of oxigen.

---

Badanie gazowej przemiany materji zwierząt znalazło zastosowanie nietylko w pracach doświadczalnych z dziedziny biologji i medycyny klinicznej, lecz również w wielu działach fabrycznej produkcji środków lekarskich.

Przykładem mogą służyć preparaty tarczycowe. Hormon tarczycy, tyroksyna, występujący w niej w kompleksie białkowym, jest ciałem wrażliwym na działanie czynników fizycznych i chemicznych.

Prócz tego pojedyncze tarczycy, nawet tego samego gatunku zwierzęcego, różnią się poważnie między sobą zawartością tyroksyny.

Wszelkie próby chemicznego określania wartości preparatów tarczycowych oparte bądź na analizie jodu ogólnego tarczycy, bądź jodu, związanego z pierścieniem benzenowym, skończyły się niepowodzeniem. Często preparaty, zawierające dużo jodu, okazywały się w badaniu biologicznym zupełnie bezwartościowymi. Wskutek nieudolnej preparacji tyroksyna ulega w preparatach tarczycowych zupełnemu rozkładowi do nieczynnych związków jodowych.

Jedynym kryterjum wartości preparatu tarczycowego jest wynik badania biologicznego.

Sprawa badania biologicznego preparatów tarczycowych naręcza dość duże trudności. Wszystkie metody badania biologicznego preparatów tarczycowych oparte są na własności hormonu tarczycy przyspieszania wszystkich przemian biochemicznych organizmu zwierzęcego.

Hormon tarczycy uczula sympatyczny system nerwowy. Na spostrzeżeniu tem próbowano oprzeć metody badania preparatów tarczycowych na zwierzętach, karmionych temi preparatami, przyczem starano się określić stopień wrażliwości układu sympatycznego w stosunku do środków sympatykotonicznych. Otrzymane wyniki nie przedstawiały żadnej wartości praktycznej.

Hormon tarczycy przyspiesza metamorfozę larw płazów (aksolotli, żab) oraz hamuje ich wzrost. Metody badania preparatów tarczycowych, oparte na tem spostrzeżeniu, są długie i bardzo kłopotliwe, a prócz tego zależne od pór roku, w których płazy składają jaja i z jaj tych wylęgają się larwy. Metody te nie mogą mieć większego praktycznego znaczenia.

Hormon tarczycy przyspiesza przebieg procesów biochemicznych w organizmie zwierzęcym. Pod wpływem hormonu tarczycy wiele procesów biochemicznych odbywa się łatwiej i prędzej. Tak np. kwas guanydylooctowy ulega pod wpływem tyroksyny szybkemu metylowaniu do kreatyny, wówczas gdy u zwierząt

pozbawionych tarczycy przemiana ta wogóle nie zachodzi. Podobnie nitryle pod wpływem hormonu tarczycy ulegają w organizmie szybkiej przemianie do nietrujących rodanków.

Myszy karmione tarczycą są bardziej odporne na trujące działanie cjanowodoru i nitryli. Na obserwacji tej oparto acetonitrylową metodę określania wartości przetworów tarczycowych. Metoda ta ma bardzo poważne braki. Daje ona jedynie tylko wyniki jakościowe.

Hormon tarczycy przyspiesza ogólną przemianę materji zwierząt tak gazową, jak i azotową. Wahania indywidualne przemiany azotowej ssaków są tak duże, że spostrzeżenia tego nie można użyć do celu praktycznego — określania wartości preparatów tarczycowych. Zato przemiana gazowa zwierzęcia nadaje się do tego celu.

Wszystkie nowe metody określania wartości preparatów tarczycowych oparte są na tem spostrzeżeniu. Pewną odpowiedź otrzymujemy tu po upływie trzech dni bez wielkich kłopotów i kosztów.

W związku z będącymi w toku badaniami nad preparatami jodowymi oraz w związku z projektowanymi badaniami nad syntetycznymi pochodnymi tyroksyny opracowaliśmy szybką metodę określania gazowej przemiany materji białych myszy. Aparat opracowany przez nas jest bardzo tani, bardzo łatwy do skonstruowania i łatwy w użyciu. Otrzymujemy odpowiedzi bezpośrednio w  $\text{cm}^3$  pochłoniętego przez mysz tlenu i w  $\text{cm}^3$  wydzielonego przez nią dwutlenku węgla w wybranej jednostce czasu; przez to unikamy niepotrzebnych obliczeń.

Opisane w literaturze naukowej aparaty do badań gazowej przemiany materji małych zwierząt są zazwyczaj zbyt drogie, kłopotliwe w użyciu, bądź wreszcie niedokładne.

Aparat nasz zbudowany jest na zasadzie zamkniętego obwodu gazowego. Zwierzę badane oraz środek, służący do pochłaniania wydzielanego dwutlenku węgla, znajdują się w zamkniętej przestrzeni. Powietrze, znajdujące się w aparacie, jest w ciągłym ruchu, dzięki włączonej w obwód szczelnej pompy ssąco-tłoczącej, tak że nigdzie w aparacie nie może nastąpić większe zagęszczenie dwutlenku węgla, które mogłoby wywierać wpływ na przemianę materji zwierzęcia. W miarę zużycia tlenu przez zwierzę, dopuszczamy do aparatu zmierzone ilości tego gazu.

Zasada budowy aparatu jest identyczna z zasadą budowy nowych aparatów do badania podstawowej przemiany materji u ludzi.

### Opis aparatu.

Aparat nasz składa się z naczynia  $F$  pojemności około 80 cm<sup>3</sup>, w którym umieszczamy badane zwierzę. Naczynie to zrobione jest z szerokiej probówki, w której dnie wtopiono rurkę odprowadzającą gazy ( $k$ ). Naczynie  $F$  zatykamy korkiem kauczukowym  $k_1$ , przez który przechodzi rurka doprowadzająca gazy ( $j$ ). Naczynie  $F$  umieszczamy w łaźni wodnej  $E$  o stałej temperaturze 18 — 20°, mierzonej termometrem  $i_1$ .

Rurka doprowadzająca  $j$  jest stopiona z trójdrożnym kranem  $D$ , pozwalającym na połączenie wnętrza naczynia  $F$  bądź z powietrzem zewnętrznym, bądź przez ramię  $h$  z obwodem zamkniętym aparatu. Ramię  $h$  połączone jest grubościennym węzłem kauczukowym z szklanym trojakiem  $C$ , który znów z jednej strony łączy się węzłem kauczukowym  $i$  z obwodem zamkniętym aparatu, a z drugiej strony węzłem  $g$  z kranem trójdrożnym  $B$ , doprowadzającym tlen do aparatu.

Kran  $B$  ma jedno ramię, służące do doprowadzania tlenu z gazomierza do biurety gazowej  $a$  (ramię  $f$ ), a drugie, łączące się krótkim węzłem  $e$  z biuretą gazową, wypełnioną wodą ( $A$ ).

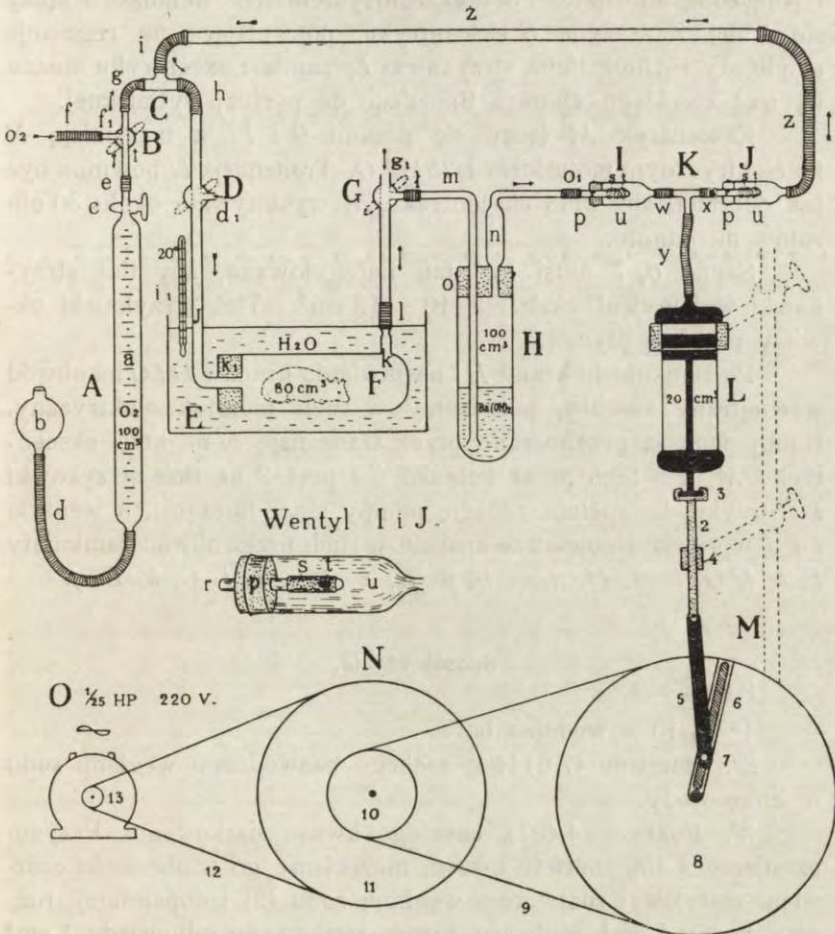
Odprowadzająca rurka  $k$  naczynia  $F$ , łączy się krótkim węzłem  $l$  z kranem trójdrożnym  $G$ , który służy bądź do doprowadzania powietrza zewnętrznego do naczynia  $F$  przez ramię  $g_1$ , bądź przez ramię  $l$  łączy się z aparatem, absorbującym dwutlenek węgla ( $H$ ).

Aparat  $H$  zrobiony jest z szerokiej 100 cm<sup>3</sup> probówki, zatkanej korkiem kauczukowym  $o$ , przez który przechodzą rurka doprowadzająca  $m$  i rurka odprowadzająca  $n$ , łączące się gumą  $o_1$  z wentylami ssąco-tłoczącymi.

Urządzenie wentylowe  $I-K-J$  składa się z dwóch wentyli połączonych kawałkami gumy  $w$ ,  $x$ , z trojakiem  $K$ .

Wentyle ( $I$ ,  $J$ ) zbudowane są podobnie jak wentyle dętek rowerowych. Każdy wentyl składa się z naczynia szkła nego  $u$ , zatkanego korkiem kauczukowym  $p$ , przez który przeprowadzona jest szklana rurka  $r$ . Koniec rurki  $r$  jest zatopiony, lecz z boku ma ona wydęty otwór  $t$ . Na rurkę tę naciągnięta

jest cienkościenna rurka gumowa *s*. Rurka ta spełnia funkcję wentyla, pozwala tylko na przepuszczenie powietrza przez rurkę *r* do naczynia *u*; w przeciwnym kierunku powietrze nie może się posuwać.



Aparat do gazowej przemiany materji dla małych zwierząt.

Ułożenie wentylów w aparacie umożliwia ruch powietrza tylko w kierunku  $I \rightarrow K \rightarrow J$ : Wentyl *J* łączy się rurką kauczukową grubościenną *z*, *z*, *i* z trojakiem *C*, tworząc obwód zamknięty aparatu.



Odnoga  $y$  rurki  $K$  łączy się rurką kauczukową ze zwykłą  $20\text{ cm}^3$  strzykawką „Record“ umocowaną na statywie, spełniającą funkcję pompy ssąco-tłoczącej. Osłoka strzykawki  $L$  łączona jest śrubą  $3$  ze sztabką  $2$ , poruszającą się w łożysku  $4$  i połączoną kolankiem  $5$  z ekscentrykiem  $M$ . Kolanko  $5$  łączy się śrubą  $7$  z szyną  $6$  ekscentryku, pozwalającą na regulację amplitudy ruchów tłoka strzykawki  $L$ ; zamiast ekscentryku można używać zwykłego aparatu BRODI'EGO do perfuzji rytmicznej.

Ekscentryk  $M$  łączy się pasami  $9$  i  $12$  z transmisją  $N$  i z elektrycznym motorkiem  $1/25\text{ HP}$   $O$ . Transmisja  $N$  powinna być tak dobrana, aby koło ekscentryku  $M$  wykonywało około 30 obrotów na minutę.

Szyna  $6, 7$  musi być tak naregulowana, aby tłok strzykawki wykonywał ekskursję  $10 - 12\text{ cm}^3$ . Tłok strzykawki oliwimy parafiną płynną.

Po zamknięciu kranu  $B$  i nastawieniu kranów  $D$  i  $G$  na obwód wewnętrzny aparatu, puszczaemy w ruch motorek elektryczny, Ruchy jego są przenoszone przez transmisję  $N$  na koło ekscentryku  $M$ , a z tego przez kolanko  $5$  i pręt  $2$  na tłok strzykawki  $L$ . Strzykawka spełnia funkcję pompy ssąco-tłoczącej, a wentyle  $I$  i  $J$  wprawiają powietrze aparatu w ruch przez obwód zamknięty  $F, k, l, G, t, m, H, n, o, L, w, K, x, J, z, z, i, C, h, D, j$ .

#### Sposób użycia.

Płyny.

1°.  $1/10$  n wodzian baru.

2°. Roztwór  $47.6144\text{ g}$  suchego bezwodnego węglanu sodu w litrze wody.

3°. Roztwór  $4.407\%$  czystego kwasu siarkowego. Przygotowujemy  $4.45\%$  roztwór kwasu, mianujemy go w obecności czerwienu metylowej roztworem węglanu sodu (2) i dopełniamy różnicę wodą:  $1\text{ cm}^3$  roztworu kwasu siarkowego odpowiada  $1\text{ cm}^3$  dwutlenku węgla w warunkach normalnych.

4°.  $1\%$  fenoltaleina w alkoholu.

Wykonanie.

Zważoną mysz umieszczamy w naczyniu  $F$  aparatu. Nastawiamy krany  $D$  i  $G$  tak, aby komunikowały  $F$  z powietrzem zewnętrznym. Naczynie  $F$  umieszczamy w wodzie termostatu  $E$ .

Do aparatu absorbcyjnego wlewamy  $50 \text{ cm}^3$   $1/10$  n wodzianu baru. Tłok strzykawki  $L$  nastawiamy na najniższy poziom.

Nastawiamy kurek  $B$  celem połączenia wypełnionej wodą biurety  $A$  z gazomierzem, zawierającym tlen i połączonym rurką gumową  $f$  z kranem  $B$ . Otwieramy kran  $c$  i napełniamy biuretę tlenem.

Zamykamy kran  $c$ , ustawiamy kran  $B$  na obwód wewnętrzny aparatu. Przesysamy przez kran  $G$  i odnogę  $g_1$  (pompką wodną) powietrze przez naczynie  $F$  i nastawiamy krany  $D$  i  $G$  na obwód wewnętrzny aparatu. Otwieramy teraz kran  $c$  i ustalamy poziomy wody w biurecie  $A$  i w gruszce  $b$  oraz notujemy objętość tlenu w biurecie. Zamykamy kran  $c$  i puszczaemy motorek elektryczny w ruch.

Wodzian baru w  $H$  mętnieje w miarę pochłaniania dwutlenku węgla. Co minutę dopuszczamy kurkiem  $c$  nieco tlenu do aparatu.

Po pięciu minutach zatrzymujemy motorek. Nastawiamy tłok strzykawki  $L$  na najniższy poziom, otwieramy kran  $c$ , ustalamy poziomy wody w gruszce  $b$  i biurecie  $A$  i odczytujemy objętość tlenu w biurecie.

Różnica dwóch kolejnych określeń da nam objętość tlenu, pochłoniętą przez mysz w ciągu pięciu minut. Zamykamy kran  $c$  i nastawiamy krany  $D$  i  $G$  tak, aby mysz mogła oddychać powietrzem zewnętrznym. Zawartość probówki  $H$  mianujemy kwasem siarkowym w obecności fenoltaleiny. Uprzednio mianujemy tymże samym kwasem  $50 \text{ cm}^3$   $1/10$  n wodzianu baru. Różnica tych dwóch określeń da nam objętość dwutlenku węgla, wydzielonego przez mysz w ciągu pięciu minut.

Przez podzielenie objętości dwutlenku węgla, znalezionej podczas doświadczenia, przez objętość tlenu, zużytego przez mysz w ciągu pięciu minut, otrzymamy iloraz oddechowy myszy w czasie doświadczenia.

Mając objętość tlenu, zużytą przez mysz w ciągu pięciu minut i jej iloraz oddechowy, łatwo możemy obliczyć ilość kaloryj, które wydzieliła mysz w czasie trwania doświadczenia.

W dokładnych badaniach objętość tlenu musi być zredukowana do objętości normalnej, po uwzględnieniu ciśnienia, temperatury i wilgotności.

## W y n i k i.

Mysz samiec wagi 21 g

Czas minuty	Ilość pochłonię- tego O <sub>2</sub> cm <sup>3</sup>	Ilość wydzielone- go CO <sub>2</sub> cm <sup>3</sup>	RQ
5	9.4	7.4	0.78
10	9.8	7.4	0.75
15	9.6	6.9	0.72

Mysz samica karmiona pszenicą, waga 20 g

5	7.4	6.8	0.92
10	11.6	9.3	0.80

Mysz samiec 22 g wagi (rzuca się po naczyniu aparatu)

5	12.6	8.7	0.69
10	17.6	12.7	0.72
15	9.4	6.1	0.64

Przemiana gazowa nienarkotyzowanej myszy, mierzona przez krótki okres czasu, wykazuje, jak należało się spodziewać, dość duże nieregularności zależne od ruchów zwierzęcia. Gdy zwierzę zachowuje się spokojnie, liczby zużytego tlenu, wydzielonego dwutlenku węgla i RQ są prawie równe (mysz pierwsza). Mysz, wykonywująca gwałtowne ruchy lub znajdująca się w okresie trawienia, wykazuje pewne nieregularności.

Do dokładnych doświadczeń należy przeto brać myszy narkotyzowane uretanem, bądź brać cyfry przeciętne z paru określeń.

Opisany aparat można używać do pomiarów przemiany gazowej innych małych zwierząt. Można używać naczynia *F* innego kształtu, wypełnione wodą, które może służyć do badań przemiany gazowej ryb, bądź aksolotli lub żab. Doświadczenia te muszą trwać nieco dłużej, bo przemiana gazowa zimnokrwistych odbywa się bardzo wolno.

Zwiększając wymiary całego aparatu, można go używać do badań przemiany gazowej szczurów i świnek morskich.

Dla badań serjowych można zmodyfikować aparat absorbcyjny *H* przez umieszczenie w korku *o* miarowego rozdzielacza szklanego na 100 cm<sup>3</sup> i przez wtopienie w dno próbówki kurka szklanego, służącego do wypuszczania wodzianu baru podczas doświadczenia. Świeży roztwór wodzianu baru wpuszczamy z rozdzielacza.

[The Institute of Pharmacognosis and Medicinal Botany of the University of Warsaw].

Ladislav Mazurkiewicz and Henry Bukowiecki.

### Photomicrography in the dark.

#### *Mikrofotografja w ciemności.*

Manuscript received 28. III. 1930.

Our chief object in the preparation of the annexed photomicrographs was to establish the existence of bodies which undergo oxidation in the dark in the presence of air and water in living, dying and dead plant cells.

On the basis of the well-known work of Prof. WILLIAM J. RUSSEL ('06) <sup>1)</sup> on photomacrography, we expected that a sufficiently sensitive and properly prepared photographic plate developed and fixed in appropriate media would give a microscopic picture of the bodies undergoing oxidation in the above mentioned plant cells, together with their exact form and position in the cell.

The photomicrographic technique applied by Dr. GEORGE ROSENMANN, the manager of Kodak's experimental laboratory in Warsaw, gave the most satisfactory results. For these experiments we used Kodak cut films (Eastman Process Film). The photomicrographs were obtained by placing transverse or longitudinal sections of the fresh plant, taken in the winter time from resting plants, in immediate contact with the photographic films. The exposure was made in a dark chamber, the atmosphere of which was saturated with water-vapour, and kept at room temperature for 24 — 72 hours. The negatives of sections of plants thus obtained were, after development and fixation, thoroughly washed and examined under the microscope.

<sup>1)</sup> RUSSEL W. J., Proc. of the Royal Soc. Series B. 78, 1906, p. 385.

The annexed plates represent positives obtained with the help of photomicrography from the images which appeared on the photographic film. These microscopic pictures in comparison with the ordinary photomicrography give stronger relief and membranes of individual cells often appear to be convex (Figs. 2, 6, 13, 14) they are, further, visibly swollen (Figs. 2, 10, 14).

Various tissues appear more or less distinctly on the photographic plate: periderm (Fig. 2), primary cortex (Fig. 2), phloem (Figs. 2, 7, 15), xylem (Figs. 1, 2, 6, 7, 8, 9), cambium (Figs. 2, 6, 7, 15), endodermis (Fig. 4), hypodermis (Fig. 11), parenchyma (Fig. 11), stele (Fig. 12), fibrovascular bundles (Fig. 5). Further appear heterogeneous elements of tissues possessing chemically different membrane: cork cells (Fig. 2), secretional cells (Fig. 14), vessels (Figs. 3, 5, 6), tracheids (Fig. 9), sieve tubes (Fig. 15), lactiferous vessels (Fig. 15), bast fibres (Fig. 2), secretion ducts (Fig. 10), cambium (Fig. 6), medulla (Fig. 1).

The most interesting objects found were, however, variously shaped bodies situated either in the interior of the cells (Figs. 6 and 14) or on or beside the membranes (Figs. 10, 13, 14); in the latter case, these membranes are swollen.

Not less interesting are the contents of secretional cells (Figs. 5 and 14) and of the epithelium of the secretion ducts and resinogenous layer (Figs. 8, 9, 10). The microscopic picture of the contents of these elements resembles that of bodies obtained from the dead, non-illuminated wood of *Guajacum officinale* or from the cuttings (non-illuminated) of *Resina Guajaci* and *Gumi Acaciae*.

Microscopic pictures of these bodies were similarly obtained by placing them in immediate contact with the photographic plate for about 72 hours in a dark chamber with damp air at room temperature.

All these bodies are easily distinguishable from the granulation of the emulsion of the plate itself; this granulation cannot, unfortunately, be avoided in the present state of photographic technique, and appears in the form of small, fairly faintly defined granules at high magnification. The specific bodies can easily be distinguished, as they are in most cases larger, surrounded with a dark ring, and possess a light centre; finally they are for the most part assembled in conglomerates. On the other hand

the granulations of the emulsion are much smaller in size, black all over and scattered all over the surface of the plate, using the developer taken in our case.

Whilst we would not at the moment desire to put forward any theory as to the formation of these images on photographic plates, as this requires still a large number of complementary experiments, we would wish now simply to state that photomicrography in the absence of light by contact with the plate in a damp dark chamber can contribute to the methods used for the elucidation of oxidative processes taking place in living, dying and dead organisms.

### Explanation of plates.

#### Plate I.

- Fig. 1. *Tilia cordata*, transverse section of stem.  
*xyl.*, xylem  
*m. r.*, medullary rays  
*m.*, medulla.
- Fig. 2. *Tilia cordata*, transverse section of cortex.  
*p. c.*, primary cortex  
*phl.*, phloem (bast)  
*c.*, cambium  
*xyl.*, xylem  
*m. r.*, medullary ray  
*b. f.*, bast fibres.
- Fig. 3. *Tilia cordata*, longitudinal section of xylem, scalariform and reticulated vessels. (Under high magnification).
- Fig. 4. *Acorus Calamus*, transverse section of the rhizome.  
*cor.*, cortex  
*end.*, endodermis  
*fv. b.*, fibrovascular bundle  
*st.*, stele.
- Fig. 5. *Acorus Calamus*, transverse section of the rhizome. (Under high magnification). Leptocentric bundle.  
*v.*, vessels  
*s.*, sieve tubes  
*secr.*, secretion cells.
- Fig. 6. *Atropa Belladonna*, transverse section of the root of cambium. (Under high magnification).  
*phl.*, phloem (sieve tubes)  
*c.*, cambium

*xyl.*, xylem  
*v.*, vessel  
*m. r.*, medullary ray.

## Plate II.

- Fig. 7. *Pinus silvestris*, transverse section of the root  
*cor.*, cortex  
*c.*, cambium  
*xyl.*, xylem  
*m. r.*, medullary ray.
- Fig. 8. *Pinus silvestris*, transverse section of xylem  
*m. r.*, medullary rays  
*oleo.*, oleoresin ducts (secretion ducts)  
*ep.*, epithelium of oleoresin duct (of secretion duct).
- Fig. 9. *Pinus silvestris*, transverse section of xylem and oleoresin duct. Under high magnification.  
*tr.*, tracheids  
*oleo.*, oleoresin duct (secretion duct).
- Fig. 10. *Pinus silvestris*, transverse section of oleoresin duct (secretion duct). Under high magnification, showing the epithelium of the resinogenous layer.
- Fig. 11. *Aspidium Filix mas*, transverse section of the rhizome.  
*hyp.*, hypodermis  
*p.*, parenchyma.
- Fig. 12. *Aspidium Filix mas.*, transverse section of the rhizome.  
*st.*, stele.

## Plate III.

- Fig. 13. *Aspidium Filix mas.*, transverse section of the rhizome. Under high magnification.  
 Parenchyma.
- Fig. 14. *Aspidium Filix mas.*, transverse section of the rhizome. Under high magnification  
*p.*, parenchyma  
*ol. c.*, oleoresin cells (secretion cells).
- Fig. 15. *Taraxacum officinale*, transverse section of the root.  
*phl.*, phloem  
*l. v.*, lactiferous vessels  
*s.*, sieve tubes  
*c.*, cambium  
*xyl.*, xylem.
- Fig. 16. Heart wood of *Guajacum officinale* (section). Under high magnification.
- Fig. 17. *Resina Guajaci*. Under high magnification.
- Fig. 18. *Gummi Acaciae*. Under high magnification.

### Streszczenie.

Załączone tablice otrzymano zapomocą mikrofotografji obrazów, które wystąpiły na błonach fotograficznych przez kontakt tak z żywymi, jak obumierającymi i martwymi obiektami roślinnymi. Kontakt ten stosowano przez jedną, dwie lub trzy doby w ciemności, w wilgotnej komorze powietrznej, w zwykłej temperaturze. Obrazy powyższe przemawiają za tem, że błona fotograficzna stanowi bardzo czuły odczynnik na różnorodne substancje utleniające się, a znajdujące się nietylko w błonach komórkowych i w komórkach, lecz również poza komórkami roślinnymi.

Mechanizm działania na błonę fotograficzną substancyj utleniających się może być sprecyzowany jedynie po szeregu uzupełniających doświadczeń.



BIBLIOGRAPHIA POLONICA \*)

- BARBACKI S. 1928. — Z badań porównawczych nad odmianami pszenicy ozi-  
mej Sandomierką i Wysokolitewką. (A comparative study on the  
varieties of winter wheat Sandomierka and Wysokolitewka). Pamięt-  
nik Państw. Inst. Nauk. Gosp. Wiejsk. w Puławach. **9** (252 — 280).
- BOGUCKI M. 1929. — Wpływ ciśnienia osmotycznego środowiska na powsta-  
wanie periwitelinu w zapłodnionych jajach jeźowców (*Paracentrotus*  
*lividus* L.). (L'influence de la pression osmotique du milieu sur la  
formation du périvitellin dans les oeufs fécondés d'Oursin). Acta  
Biologiae Experimentalis. **3** (255 — 270).
- BORYSIEWICZ A. 1929. — Action de l'adrénaline sur la pression artérielle et  
lieu d'injection (veines périphériques, veine porte et artères péri-  
phériques). C. R. Soc. de Biol. **102** (97 — 99).
- BORYSIEWICZ A. 1929. — La glycémie et le comportement des globules  
blancs du sang périphérique après injection d'adrénaline dans la  
circulation. C. R. Soc. de Biol. **102** (99 — 102).
- DADLEZ J. 1929. — Z farmakodynamiki i toksykologii ozonu. (Sur les pro-  
priétés pharmacodynamiques et toxiques de l'ozone). Medycyna Do-  
świadczalna i Społeczna. **10** (185 — 213).
- DADLEZ J. et W. KOSKOWSKI. 1929. — De quelques effets pharmacodynami-  
que de la phosphine et des échanges gazeux au cours de la fièvre  
provoquée par cette substance. C. R. Soc. de Biol. **102** (92 — 95).
- DADLEZ J. et W. KOSKOWSKI. 1929. — Les échanges gazeux dans la fièvre  
provoquée par l'injection intramusculaire de gélatine. C. R. Soc. de  
Biol. **102** (91 — 92).
- DEHNEL G. 1929. — Blastomie expérimentale des germes d'Oiseau. C. R.  
Soc. de Biol. **102** (313 — 314).
- DEMBOWSKI J. 1929. — Ruchy pionowe *Paramecium caudatum*. I. Względne  
położenie środka ciężkości w ciele wymoczka. (Vertikalbewegungen  
von *Paramecium caudatum*. I. Die relative Lage des Gleichgewichts-  
zentrums im Körper des Infusors). Acta Biologiae Experimentalis.  
**3** (19 — 48).
- DEMBOWSKI J. 1929. — Ruchy pionowe *Paramecium caudatum*. II. Wpływ  
niektórych warunków zewnętrznych. (Vertikalbewegungen von *Para-  
mecium caudatum*. II. Einfluss einiger Aussenbedingungen). Acta  
Biologiae Experimentalis. **3** (195 — 240).

---

\*) Opracowała S. DEMBOWSKA.

- DEMBOWSKI J. 1929. — Die Vertikalbewegungen von *Paramecium caudatum*. I. Die Lage des Gleichgewichtszentrums im Körper des Infusors. Arch. f. Protistkn. **66** (104 — 132).
- DEMBOWSKI J. 1929. — Die Vertikalbewegungen von *Paramecium caudatum*. II. Einfluss einiger Aussenfaktoren. Arch. f. Protistkn. **68** (215—258).
- ELMER A. WL., L. PTASZEK et M. SCHEPS. 1929. — Le métabolisme basal dans le diabète sucré. C. R. Soc. de Biol. **102** (1083 — 1084).
- ELMER A. WL., L. PTASZEK et M. SCHEPS. 1929. — Influence de l'insuline sur le métabolisme dans la diabète sucré. C. R. Soc. de Biol. **102** (1081 — 1082).
- FAURÉ-FREMIET E. i L. KAUFMAN. 1928. — Obniżanie się z wiekiem tempa niesności u kury domowej. (The decrease of the rate of egg production with age in the domestic Fowl). Pamiętnik Państw. Inst. Nauk. Gosp. Wiejsk. w Puławach. **9** (283 — 323).
- FRANKE M. 1929. — Sur la localisation anatomique de l'azotémie dans l'insuffisance rénale expérimentale du Chien. C. R. Soc. de Biol. **102** (1086 — 1088).
- FRENDZEL J. et Z. SZYMANOWSKI. 1929. — Sur la variabilité du Bacille de Bang. C. R. Soc. de Biol. **102** (111 — 113).
- GATTY-KOSTYAL M. et M. OBTUŁOWICZ. 1928. — La synergie de l'action de certains glycosides du groupe de la Digitale et la théorie de Bürgi. Bull. Intern. Acad. Polon. **3** — **6 B II** (229 — 236).
- GOEBEL F. 1929. — Le foie et le métabolisme des produits azotés. C. R. Soc. de Biol. **101** (598).
- GOEBEL F. 1929. — Nouveau mode de détermination des préparations thyroïdiennes. C. R. Soc. de Biol. **101** (598 — 599).
- GOEBEL F. 1929. — Influence de la thyroïde sur le blocage du système réticulo- endothelial. C. R. Soc. de Biol. **101** (596 — 597).
- GOEBEL FR. 1929. — Wątroba a przemiana związków azotowych. (Le foie et le métabolisme des produits azotés). Medycyna Doświadczalna i Społeczna. **10** (214 — 229).
- GÓRSKI FR. 1929. — Recherches sur les méthodes de mesure de photosynthèse chez les plantes aquatiques submergées. Acta Soc. Botan. Polon. **6** (1 — 29).
- GRABOWSKA Z. 1929. — Über die Plasmakomponenten (Golgi-Apparat u. a.) in den männlichen Geschlechtszellen von *Paramecium caudatum*. Bull. Intern. Acad. Polon. **3** — **6 B II**. (197 — 215).
- GRINWALD E. 1929. — Badanie czynników rozwoju hodowli pierwotniaków. Czy istnieje zjawisko allelokatalizy w hodowlach *Colpidium colpoda* Ehrbg.? (Recherches sur les facteurs du développement des cultures de microorganismes. L'action de la substance allelocatalytique apparaît-elle dans les cultures du *Colpidium colpoda* Ehrbg.? Acta Biologiae Experimentalis. **3** (81 — 100).

- GRODZIŃSKA W. 1928. — O nitrifikacji w obecności gliny i o stratach azotu wolnego w roztworach moczu. (La nitrification dans des solutions d'urine en présence d'argile et leurs pertes d'azote sous forme d'azote élémentaire). Pamiętnik Państw. Inst. Nauk. Gosp. Wiejsk. w Puławach. **9** (463 — 501).
- GRODZIŃSKA W. 1928. — De la nitrification de l'urine sous l'action de l'argile et des pertes d'azote libre qu'elle subit. Bull. Intern. Acad. Polon. **8 — 10 B. Bot.** (251 — 299).
- GRODZIŃSKI Z. 1929. — Entwicklung der Blutgefäße bei *Scyllium canicula*. Bull. Intern. Acad. Polon. **1 — 2 B. II** (417 — 455).
- GRODZIŃSKI Z. 1929. — Das Rusconische Organ bei *Triton cristatus*. Bull. Intern. Acad. Polon. **1 — 2 B. II** (455 — 460).
- HEINRICH W. 1929. — Les fonctions des capillaires en rapport avec la fixation de l'attention. Bull. Intern. Acad. Polon. **1 — 2 B. II.** (55 — 58).
- HELLER J. 1929. — Über den Harnstoffgehalt des Froschmuskels. Biochem. Zeitschr. **209** (74 — 78).
- HILLER ST. 1928. — Wpływ głodu na regenerację u aksolotla. (Influence de l'inanition sur la régénération des Axolotls. Rozprawy wydz. Matem.-Przyrodn. Polsk. Akad. Umiejętn. **68 B.** (1 — 32).
- HIRSZFELD L., W. HALBER, J. LASKOWSKI. 1929. — Untersuchungen über die serologischen Eigenschaften der Gewebe. I Mitteilung: Über gruppen spezifische Differenzierung der Normal- und Krebsgewebe. Zeitschr. f. Immunitätsforschung. **64** (61 — 81).
- HIRSZFELD L., W. HALBER, J. LASKOWSKI. 1929. — Untersuchungen über die serologischen Eigenschaften der Gewebe. II Mitteilung: Ueber serologische Eigenschaften der Neubildungen. Zeitschr. f. Immunitätsforschung. **64** (81 — 114).
- HIRSCHLER J. 1929. — Sur la relation entre le noyau et les composants plasmotiques (appareil de Golgi) dans les spermatocytes de *Palomena viridissima* Poda (Rhynchote-Pentatomide). C. R. Soc. de Biol. **101** (269 — 271).
- HIRSCHLER J. 1929. — Sur un appareil de Golgi primaire et secondaire dans les spermatides de *Palomena viridissima* Poda (Rhynchote-Pentatomide). C. R. Soc. de Biol. **101** (850 — 852).
- JABUREK L. 1929. — Badania nad stosunkami czasowemi mitoz w tkance rosnącej. (Über die zeitlichen Verhältnisse der Mitosen im wachsenden Gewebe). Acta Biologiae Experimentalis. **3** (175 — 194).
- JAWŁOWSKI H. 1929. — Über die Funktionen des Zentralnervensystems bei *Lithobius forficatus* L. (O czynnościach środkowego układu nerwowego dżdżniaka *Lithobius forficatus* L.). Acta Biologiae Experimentalis. **3** (289 — 316).
- KARWACKI L. 1929. — Certaines particularités biologiques des Bacilles tuberculeux biliés. C. R. Soc. de Biol. **101** (1177 — 1178).
- KARWACKI L. 1929. — Quelques remarques à propos des Bacilles tuberculeux biliés. C. R. Soc. de Biol. **101** (1175 — 1177).

- KAUFMAN L. i H. MALARSKI. 1928. — O pewnych morfologicznych i fizjologicznych różnicach zachodzących u dwu odmian kuropatwianych zielononózek w związku z odmiennym ubarwieniem ich głowy. (On some morphological and physiological differences in two differently coloured varieties of the Polish Greenleg Fowls). Pamiętnik Państw. Inst. Nauk. Gosp. Wiejsk. w Puławach. **9** (326 — 338).
- KĄCZKOWSKI B. 1928. — Studien über die Wolle der einheimischen Schafrasen in Polen. Bull. Intern. Acad. Polon. **8** — **10 B.** Zool. (521 — 594).
- KĄCZKOWSKI B. 1928. — przyczynek do badań nad pochodzeniem owiec europejskich. (Contribution to the study of the origin of European sheep). Pamiętnik Państw. Inst. Nauk. Gosp. Wiejsk. w Puławach. **9** (39 — 51).
- KLEIST C. 1929. — Recherches phytosociologiques sur les tourbières de la région des dunes de la rive droite de la Vistule aux environs de Varsovie. Bull. Intern. Acad. Polon. **1 BI.** (41 — 104).
- KORCZEWSKI M. 1929. — Wachstum und Ertrag. Acta Soc. Botan. Polon. **6** (46 — 68).
- KRZEMIENIEWSKA H. 1929. — przyczynek do biologji śluzowców. (Ein Beitrag zur Biologie der Schleimpilze). Acta Soc. Botan. Polon. **6** (86 — 92).
- KRASIŃSKA Z. 1929. — przyczynek do energetyki kiełkowania słonecznika. (Contribution à l'étude du métabolisme énergétique de la germination *Helianthus annuus*). Acta Biologiae Experimentalis. **3** (101—142).
- KUCZKOWSKI ST. 1929. — Badanie nad zjawiskami wydzielniczo-chłonnemi w jelicie cienkim. I. Wydzielanie elektrolitów. (Untersuchungen über die Absonderungs- und Aufsaugungserscheinungen im Dünndarm. I. Absonderung der Elektrolyte). Acta Biologiae Experimentalis. **3** (57 — 80).
- LANDAU, M. FEJGIN i B. JOCHWEDS. 1930. — Stosowanie masywnych dawek insuliny w przypadku cukrzycy powikłanej posuniętą gruźlicą i sztuczną odmą piersiową. (Application des doses massives d'insuline dans un cas de diabète compliqué de tuberculose pulmonaire avancée avec pneumothorax). Polska Gazeta Lekarska rok IX (67 — 69).
- LANDAU A., G. GLASS et ST. KAMINER. 1929. — La répartition du chlore dans le sang; ses relations avec l'équilibre acido-basique. C. R. Soc. de Biol. **101** (594 — 596).
- LATINIK I. 1928. — L'influence des agents thermiques, appliqués pendant des stades déterminés, sur le développement embryonnaire de la grenouille. Bull. Intern. Acad. Polon. **8** — **10 B.** Zool. (623 — 677).
- ŁAWBYNOWICZ A i H. PIOTROWSKA. 1929. — Spostrzeżenia nad pał. paratyfusowemi C. (Observations sur les bacilles paratyphiques C.). Medycyna Doświadczalna i Społeczna. **10** (278 — 292).
- LEWICKI S. 1928. — Osypywanie się ziarna u zbóż — jako cecha dziedziczna. (Shedding of grains as hereditary character). Pamiętnik Państw. Inst. Nauk. Gosp. Wiejsk. w Puławach. **9** (19 — 30).

- LIPSKA J. 1928. — Fizjologiczne badania nad śluzowemi drożdżakami (*Torulæ*). (Recherches physiologiques sur les levures glaireuses (*Torulæ*). Pamiętnik Państw. Inst. Nauk. Gosp. Wiejsk. w Puławach. 9 (508—532).
- MALCZYŃSKI ST. 1929. — L'influence de l'irradiation par la lampe de quartz sur le taux de la chole — térimémie chez les cancéreux. C. R. Soc. de Biol. 102 (95—96).
- MARCZEWSKI S. 1929. — L'action sécrétoire du paneréas par rapport à l'achylie gastrique. C. R. Soc. de Biol. 102 (117—118).
- MARKUSZEWICZ R. 1929. — O zaburzeniu instynktu samozachowawczego w schizofrenji. (Troubles de l'instinct de conservation dans la schizophrénie). Nowiny Psychjatryczne. VI r. (298—314).
- MEDEM J. 1929. — Badania kontrolne nad symptomatologią płynu mózgowodzeniowego w porażeniu postępującem i w innych schorzeniach kiłowych ośrodkowego układu nerwowego. (Examens de contrôle sur la symptomatologie du liquide céph-rachidien dans la paralysie générale et dans les autres affections syphilitiques du système nerveux central). Nowiny Psychjatryczne. VI r. (275—285).
- MEISEL H. 1929. — Influence de l'acidité sur l'agglutination et la vitalité des Bacilles muqueux encapsulés. C. R. Soc. de Biol. 102 (87—89).
- MEISEL H. et E. MIKULASZEK. 1929. — Sur les substances réductrices dans les souches muqueuses et non muqueuses du Bacille du rhinosclérome. C. R. Soc. de Biol. 102 (85—87).
- MELZAK J. 1929. — Przyczynek w sprawie wpływu układu siateczkowo-śródbłonkowego na anafilaksję. (Sur l'influence de blocus du système réticulo-endothélial sur l'anaphylaxie). Medycyna Doświadczalna i Społeczna. 10 (293—300).
- MICHNIEWICZ L. et J. ROGUSKI. 1929. — Contribution à l'étude de l'action thérapeutique de l'antivirus de Besredka dans quelques affections oculaires. C. R. Soc. de Biol. 101 (599—600).
- MIKULASZEK E. 1929. — La réaction de déviation du complément, dans le rhinosclérome, en présence de suspensions de Bacilles et de la substance soluble spécifique. C. R. Soc. de Biol. 102 (83—85).
- MIKULSKI J. 1928. — Beitrag zur Kenntnis des Baues und der Funktion der Haftballen des Laubfrosches (*Hyla arborea* L.). Bull. Intern. Acad. Polon. 8—10 B. Zool. (595—622).
- MOKŁOWSKA A. 1929. — Badania nad składem chemicznym hemolimfy gąsienicy wilczomlecza (*Deilephila euphorbiae*). (Recherches sur la composition chimique du sang chez la chenille du *Deilephila euphorbiae*. Acta Biologiae Experimentalis. 3 (241—254).
- MONNÉ L. 1929. — Les structures fibrillaires dans les cellules sexuelles mâles chez *Helix lutescens*. C. R. Soc. de Biol. 101 (418—420).
- MORAWSKI J. 1929. — Psychozy rodzinne. (Les psychoses familiales). Medycyna Doświadczalna i Społeczna. 10 (230—277).

- NIEMIERKO W. 1929. — Wpływ pracy na zawartość tłuszczów w mięśniu żaby. (Einfluss der Muskeltätigkeit auf den Fettgehalt des Froschmuskels). Acta Biologiae Experimentalis. **3** (143 — 164).
- NOWAK J. 1929. — Morphologie, nature et cycle évolutif du microbe de la péripneumonie des bovidés. Ann. de l'Inst. Pasteur. **43** (1330 — 1352).
- NOWIŃSKI M. 1928. — L'influence des conditions extérieures sur l'amidonité du pollen des fleurs. Bull. Intern. Acad. Polon. **8** — 10 B Bot. (215 — 250).
- PANEK K. 1929. — Nouvelle méthode de diagnostic différentiel de la morve apparente et latente. Epreuve provocatrice. C. R. Soc. de Biol. **102** (349 — 351).
- PASZKOWSKI ST. 1930. — Prawość charakteru u osób z psychozą manjakołno-depresyjną. (Psychose maniaque dépressive chez un malade par ailleurs normal). Polska Gazeta Lekarska rok **IX** (27 — 28).
- PIASECKA-LEYLAND E. 1929. — Sur la dissociation du Bacille bilié de Calmette et Guérin. C. R. de Soc. Biol. **102** (356 — 357).
- POLAK F. 1929. — Über Sulfid-gärung. Biochem. Zeitschr. **212** (363 — 398).
- POLAK F. und A. TYCHOWSKI. 1929. — Beiträge zur Chemie der Stärke, vom diastatischen Standpunkt aus betrachtet. Biochem. Zeitschr. **214** (216 — 228).
- PRZYŁĘCKI ST. J. 1929. — Urikaza i jej działanie. Część I. Otrzymywanie. (Uricase. I. Moyen d'obtention). Acta Biologiae Experimentalis. **3** (1 — 18).
- PTASZEK L. et ST. MALCZYŃSKI. 1929. — Influence de la castration chez les animaux des deux sexes sur l'action dynamique spécifique de l'albumine. C. R. Soc. de Biol. **102** (89 — 91).
- RASZEJA F. 1929. — Recherches expérimentales sur l'ionothérapie électrique. C. R. de Soc. Biol. **102** (352 — 354).
- ROGOZIŃSKI T. i M. STARZEWSKA. 1929. — Skład błon komórkowych owsa w różnych stadiach rozwoju. (Composition des parois cellulaires de l'avoine dans les différents stades de son développement). Acta Biologiae Experimentalis. **3** (49 — 56).
- ROSENBUSCH J. 1929. — Réserve alcaline et corps aromatiques du sang dans les altérations rénales toxiques chez le Chien. C. R. Soc. de Biol. **102** (1084 — 1086).
- SEMBRAT K. 1929. — The influence of fish thyroid transplants on the metamorphosis of *Rana temporaria* L. larvae and on their thyroid and thymus glands. (*Scyllium canicula* Cuv. and *Sc. stellare* Gthr.) and Teleosts (*Cyprinus carpio* L.). Bull. Intern. Acad. Polon. **8** — 10 B. Zool. (461 — 488).
- SEMBRAT K. 1929. — Appareil de Golgi et vacuome des cellules sexuelles mâles de *Dendrocoelum lacteum* Müll. et de *Planaria gonocephala* Dug. (*Turbellaria Tricladidae*). C. R. Soc. de Biol. **102** (1079 — 1081)

- SIENICKA A. 1929. — O budowie kwiatów i procesach tworzenia się pyłku u *Hemerocallis fulva* L. *fl. ploeno*. (Über den Blütenbau und den Pollenbildungsvorgänge bei *Hemerocallis fulva* L. *fl. ploeno*. Acta Soc. Botan. Polon. 6 (296 — 334).
- SIERAKOWSKI S. et R. ZAJDEL. 1929. — Sur la purification des toxines diphtériques par ultrafiltration et précipitation au moyen d'un acide à un pH convenable. C. R. Soc. de Biol. 102 (107 — 109).
- SIKORSKI H. i R. LENTZ. 1928. — Badania nad alkalozą i acydozą. III. Działanie zmian stężenia jonów wodorowych na serce żaby zatrute chloroformem. (Der Einfluss von Veränderungen der Wasserstoffionenkonzentration der Nährlüssigkeit auf das chloroformvergiftete Esculentenherz). Acta Biologiae Experimentalis. 3 (281 — 288).
- SKALIŃSKA M. 1929. — Das Problem des Nichterscheinens des väterlichen Typus in der Spaltung der partiell sterilen *Aquilegia*-Species-Bastarde. Acta Soc. Botan. Polon. 6 (138 — 164).
- SLOTWINSKI J. 1929. — Recherches histochimiques sur le rôle du système réticulo-endothélial dans le métabolisme des corps gras, chez le Chien normal et intoxiqué par la tolnylène-diamine. C. R. de Soc. Biol. 102 (357 — 360).
- SMRECYŃSKI ST. 1929. — Experimentelle Untersuchungen über die Empfindlichkeit gegen mechanische Reize und über den Verlauf der anormalen Gastrulation im Ei von *Rana fusca*. Bull. Intern. Acad. Polon. 1 — 2 B II. (67 — 100).
- SPARROW H., R. ZAJDEL et S. SIERAKOWSKI. 1929. — Sur la précipitation des toxines scarlatineuses à un pH convenable. C. R. Soc. de Biol. 102 (103 — 105).
- SZWEJKOWSKA G. 1928. — Recherches sur la physiologie de la maturation des oeufs d'*Ascaris*. Bull. Intern. Acad. Polon. 8 — 10 B. Zool (489 — 520).
- SZYMANOWSKI Z. 1929. — W sprawie biochemji antygenów. (Biochimie des antigènes). Medycyna Doświadczalna i Społeczna. 10 (301 — 310).
- ŚWIDER Z., J. GOZDZIEJEWSKA i H. GILECZEK-HACOWA. 1930. — O swoistości skór nego odczynu szczepionkowego w przebiegu duru brzusz nego oraz jego wartości dla celów rozpoznawczych. (Sur la spécifité de la réaction contre la vaccination intradermique au cours de la fièvre typhoïde: sa valeur diagnostique). Polska Gazeta Lekarska, rok IX (42 — 44).
- ŚWIERCZEK ST. 1929. — O leczeniu paraliżu postępującego malarją z uwzględnieniem wyników w Dziekance. (Le traitement de la P. G. par la malaria et les résultats obtenus à Dziekanka). Nowiny psychjacyjne. VI r. (220 — 245).
- TELEŻYŃSKI H. 1929. — Garnitures des chromosomes et synchronisme des divisions dans les filaments d'authérozoïdes chez certaines espèces du genre. Chara Vail. Acta Soc. Botan. Polon. 6 (230 — 247).

- TENENBAUMÓWNA N. 1929. — W sprawie wpływu żywienia bezwitaminowego na mikroflorę przewodu pokarmowego. (Contribution à l'étude de l'influence d'une nutrition carancée sur la microflore du tube digestif. Medycyna Doświadczalna i Społeczna. **10** (426 — 435).
- TUR J. 1929. — „Stadja krytyczne“ w embriologii normalnej i teratogenji. (Les „stades critiques“ dans l'embryologie normale et tératogénèse). Kosmos. **51** (585 — 594).
- TYCHOWSKI ALEXANDER und M. KOBEL. 1929. — Über eine schnell verlaufende Umwandlung von Hexose-diphosphat in Lactat unter dem Einfluss des typischen Milchsäurebildners *Bacillus Delbrücki*. Biochem. Zeitschr. **209** (134 — 141).
- UCHOCKA S. 1929. — Recherches expérimentales et cliniques sur le rapport entre la réserve alcaline et la formule leucocytaire. C. R. de Soc. Biol. **102** (354 — 355).
- WEYBERG Z. 1929. — O granicy błędu w miareczkowaniu. (Sur la limite d'erreur dans la titration). Kosmos. **54** (1 — 5).
- WIERZCHOWSKI Z. 1928. — O czynnikach strawności składników pokarmowych u ptactwa domowego. (On the factors influencing the digestibility of foodstuffs in poultry). Pamiętnik Państw. Inst. Nauk. Gosp. Wiejsk. w Puławach. **9** (388 — 458).
- WIERZCHOWSKI Z. 1928. — O zawartości witaminów B w dojrzewających i kielkujących ziarnach pszenicy. (On the contents of vitamins B in ripening and germinating wheat grains). Pamiętnik Państw. Inst. Nauk. Gosp. Wiejsk. w Puławach. **9** (537 — 552).
- WILEŃCZYK A. 1929. — Sur la formation d'asques chez l'Epidermophyton. C. R. Soc. de Biol. **101** (593 — 594).
- WILEŃCZYK A. 1929. — Forme atypique de *Trichophyton granulosum* cultivée à partir d'une éruption trichophytique de la peau humaine. C. R. Soc. de Biol. **102** (115 — 116).
- WILEŃCZYK A. 1929. — Obtention de *Trichophyton violaceum* et de *Trichophyton granulosum* à partir d'éruptions cutanées portées par un même sujet. Pléomorphisme de *Trichophyton violaceum*. C. R. Soc. de Biol. **102** (109 — 111).
- WILEŃCZYK A. 1929. — Etude expérimentale des asques de Champignons parasites des cheveux. C. R. Soc. de Biol. **102** (113 — 115).
- WOJTUSIAK R. J. 1929. — Über die Raumorientierung bei Pieris-Raupen. Bull. Intern. Acad. Polon. **1—2 B. II** (59 — 66).
- WOJTUSIAK R. J. 1929. — O reagowaniu rozgwiezdy *Asterias rubens* L. na bodźce chemiczne parzyste. (Über die Reaktionsweise von *Asterias rubens* L. bei chemischer Doppelreizung. Acta Biologiae Experimentalis. **3** (271 — 280).
- WOJTUSIAK R. J. 1929. — Entwicklungsgeschichtliche und psychographische Studien an *Mamestra* — Raupen. Bull. Intern. Acad. Polon. **1—2 B II** (1 — 54).



- WOJTUSIAK R. J. 1929. — O reagowaniu na światło normalnych i oślepionych larw toniaka (*Acilius*). (Über Lichtreaktionen normaler und geblendeter *Acilius*-Larven). *Acta Biologiae Experimentalis*. **3** (165—174).
- WÓYCICKI Z. 1929. — Die Entwicklung des Embryosackes bei *Haemanthus Katharinae*. *Acta Soc. Botan. Polon.* **6** (193 — 202).
- WÓYCICKI Z. 1929. — Sur les cristalloïdes des noyaux et les «oléoplastes» chez *Ornithogalum caudatum*. *Bull. Intern. Acad. Polon.* **1** B I. (25—40).
- ZAJDEL R., S. SIERAKOWSKI et H. SPARROW. 1929. — Sur la purification des toxines scarlatineuses par ultrafiltration et précipitation au moyen d'un acide à un pH convenable. *C. R. Soc. de Biol.* **102** (105 — 107).
- ZEYLAND I. 1929. — Sur la nature des formes actinomycosiques d'origine bactérienne ou mycosique d'après des expériences réalisées avec des bacilles BCG vivants et tués. *Ann. de l'Inst. Pasteur.* **43** (778—784).
- ZEYLAND I. et E. PIASECKA-ZEYLAND. 1929. — Etude de 50 autopsies d'enfants vaccinés au BCG et morts de maladies non tuberculeuses. *Ann. de l'Inst. Pasteur.* **43** (767 — 777).





Fig. 1

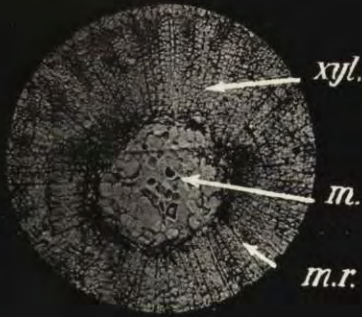


Fig. 2

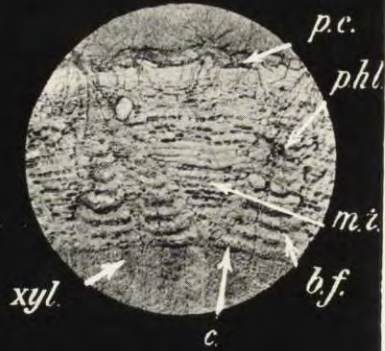


Fig. 3



Fig. 4

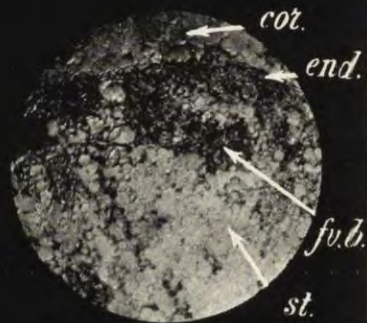


Fig. 5

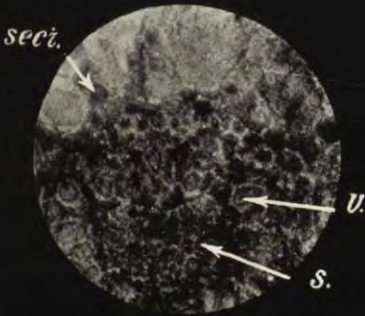


Fig. 6





Fig. 7

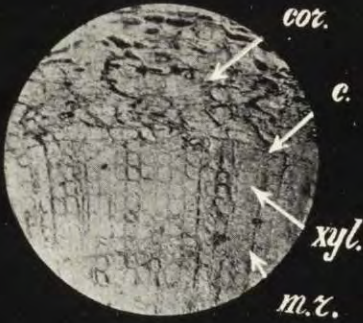


Fig. 8



Fig. 9

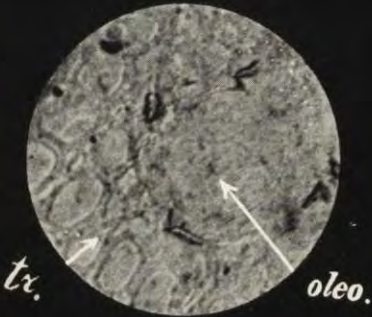


Fig. 10

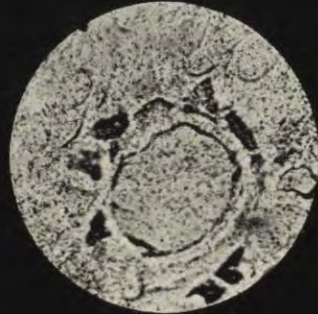


Fig. 11



Fig. 12

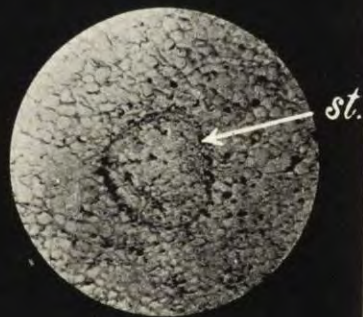




Fig. 7

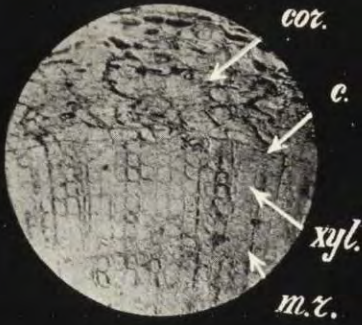


Fig. 8



Fig. 9

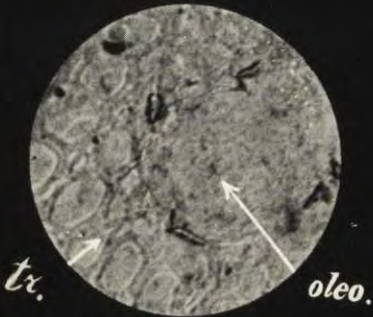


Fig. 10

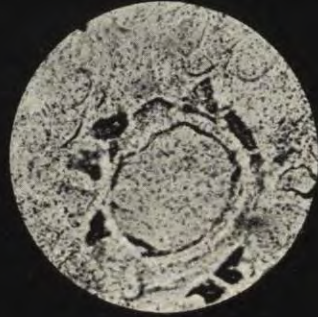


Fig. 11

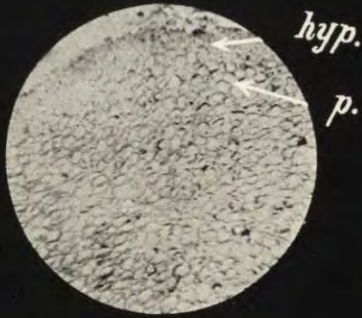
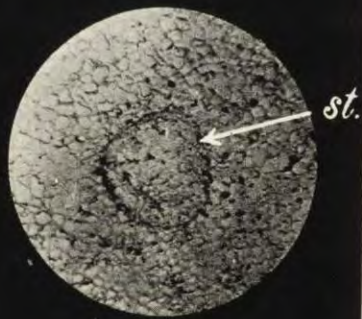
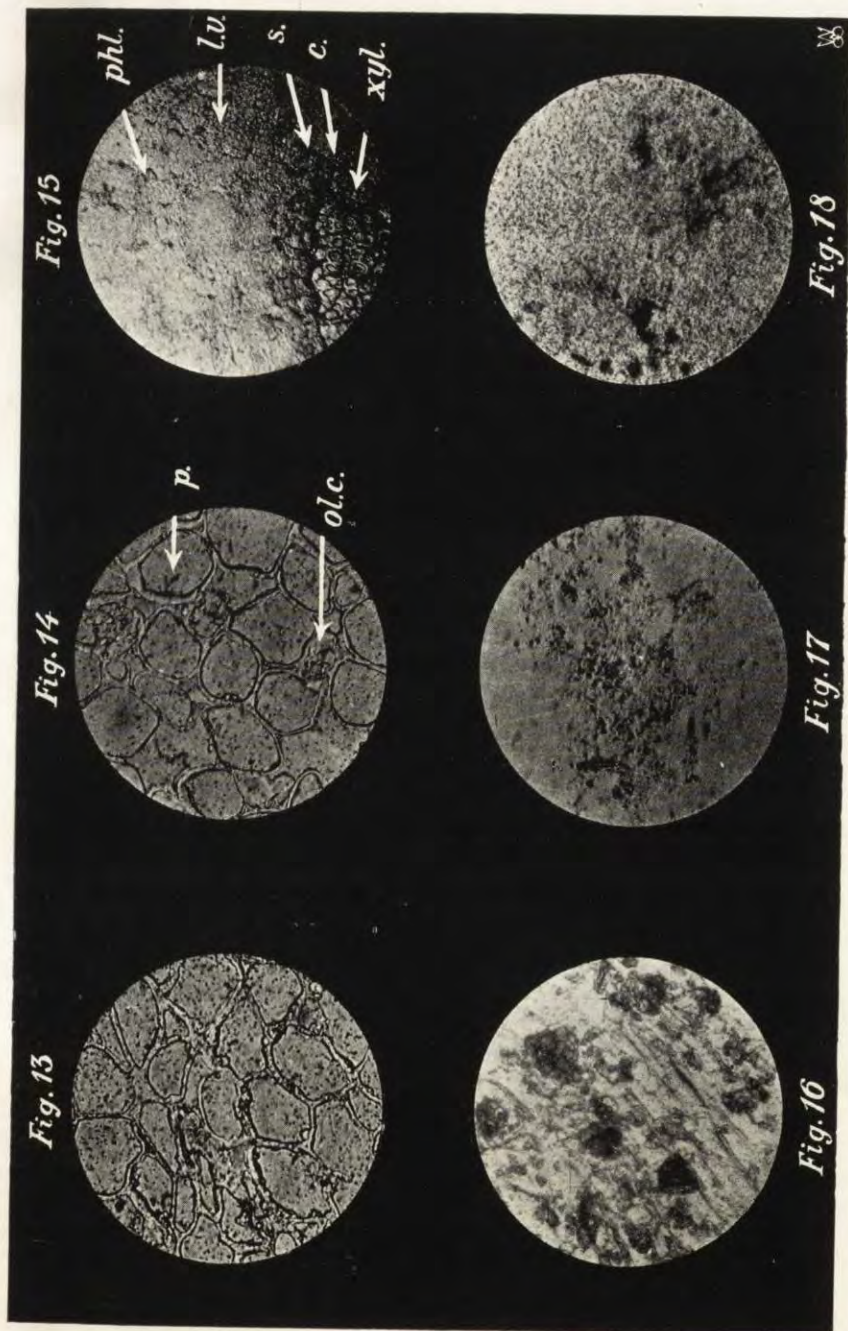


Fig. 12











PRACE PAŃSTWOWEGO MUZEUM ZOOLOGICZNEGO.  
Annales Musei Zoologici Polonici.

Tom VIII, zeszyt 2, 1929.

I. STACH: Eine neue *Japyx*-Art aus Kleinasien (*Apterygogenea*). —  
W. ROSZKOWSKI: Contributions to the study of the family *Lymnaeidae*. —  
J. STACH: *Lepismachilis feminata* n. sp., eine neue isländische Machiliden-  
Art (*Thysanura*).

Adres Redakcji: Warszawa, Państwowe Muzeum Zoologiczne.

ARCHIWUM HYDROBIOLOGJI I RYBACTWA.

Tom IV, zeszyt 1—2, 1929 (cena tomu w prenumeracie 10 zł.).

L. RETOWSKI: Materiały do biologji planktonu zbiorników zalewowych  
na zasadzie badań w delcie rzeki Wołgi. Referaty, notatki, biblijografia.

Adres redakcji i administracji: Suwałki, Stacja Hydrobiologiczna na  
Wigrach (Instytut im. Nenckiego).

FOLIA MORPHOLOGICA.

(Organ Polskiego Towarzystwa Anatomiczno-Zoologicznego).

Tom I, zeszyt 2—3, 1929 (cena 6 zł.).

J. TUR: *Studia Teratogenetica*. II. Les monstres incohérents. — T. MAR-  
CINIĄK i K. SERAFIN: W sprawie unerwienia łuku mięśniowego pachy przez  
nerw międzybrowo-ramienny u człowieka. — P. SŁONIMSKI: W sprawie  
składników komórkowych i ich pochodnych we krwi *Batrachoseps aten-*  
*nuatus* Esch. — Z. ZAKOLSKA: Przypadki partenogenetycznego podziału jaj  
w jajniku szczura. — A. RODRIGUES, L. DE PINA et S. EREIRA: Dissection  
d'un Nègre de Mozambique. — E. LEBLANC, M. RIBET, P. GOINARD, G. CHE-  
VAUX, H. EZES, E. CURTILLET, F. MORAND: Recherches sur 40 Sujets indigè-  
nas d'Algérie (Berbères). — Referaty. — Polskie Towarzystwo Anatomiczno-  
Zoologiczne. — Personalia.

Adres redakcji i administracji: Warszawa, Chałubińskiego 5.

MEDYCINA DOŚWIADCZALNA I SPOŁECZNA.

Tom X, zeszyt 5—6, 1929.

L. HIRSZFELD, W. HALBERÓWNA i J. LASKOWSKI: Badania serologiczne  
nad nowotworami człowieka. — S. HORNÓWNA: Badania doświadczalne nad  
paleczką pospolitą. — J. KAULBERSZ: O przygotowaniu insuliny. — L. PIET-  
KIEWICZ: Hodowle gonokoków na agarze Karwackiego. — N. TENENBAUMÓWNA:  
W sprawie wpływu żywienia bezwitaminowego na mikroflorę przewodu  
pokarmowego. — H. SPARROW, R. ZAJDLÓWNA i S. SIERAKOWSKI: Wytrącanie  
się toksyn szkarlatynowych. — R. ZAJDLÓWNA i S. SIERAKOWSKI i H. SPAR-  
ROW. Oczyszczanie toksyn szkarlatynowych. — M. KASPRZAK: Kronika Epi-  
demjologiczna.

Adres redakcji: Warszawa, Chocimska 24.



Drukarnia i Litografia  
„JAN COTTY“  
w Warszawie, Kapucyńska 7

