

ACTA BIOLOGIAE EXPERIMENTALIS

VOL. VII.

SUBVENTIONNÉ PAR LE FOND NATIONAL POUR LA PROTECTION
DE LA CULTURE POLONAISE

VARSOVIE
RÉDACTION ET ADMINISTRATION:
INSTITUT NENCKI (SOC. SCI. VARS.)
8, RUE ŚNIADECKI
1931/32

<http://rcin.org.pl>

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 liczbie około dwu tomów rocznie.

Tom VI, 1931, (pod redakcją K. BIAŁASZEWICZA) zawiera następujące rozprawy:

E. A. SYM (Warszawa): Badania nad syntetycznym działaniem lipazy w układzie: kwas oleinowy, gliceryna, woda i lipaza w stanie rozpuszczonym. — H. KOWARZYK (Kraków): Promieniowanie mitogenetyczne a wpływ ciał lotnych ze zmiążdżonych tkanek cebuli na zjawiska koloidalne. — A. ROWIŃSKA (Warszawa): Badania nad zachowaniem się kwasu moczowego we krwi. — T. MANN (Lwów): O domniemanym udziale azotu amidowego białek krwi i mięśni w przemianach chemicznych mięśnia pracującego. — H. P. KRYŃSKA i W. R. WITANOWSKI (Kraków): O przepuszczalności mięśnia względem jonów sodu i potasu. — J. DEMBOWSKI (Warszawa): Dalsze studia nad geotropizmem Paramaecium. — W. GEDROYĆ i St. J. PRZYŁĘCKI (Warszawa): Wpływ soli na stężenie jonów wodorowych w roztworach amfolitów. — K. IWASZKIEWICZ and J. NEYMAN (Warsaw): Counting Virulent Bacteria and Particles of Virus. — S. FRAJBERGERÓWNA (Warszawa): Struktura i reakcje enzymatyczne. Część X. Wpływ lepkości i stanu agregacji fazy rozdrobnionej. — A. WOLAŃSKI (Wilno): Studja nad reakcją Manołłowa i niektórymi innymi reakcjami kolorymetrycznymi na płeć u ludzi, zwierząt i roślin. — M. Z. GRYNBERG (Warszawa): Kinetyka działania urikazy. — M. WIERZUCHOWSKI (Warszawa): Przetwarzanie cukrów, wprowadzonych dożylnie ze stałą prędkością. VI. Wpływ hormonów, głodu i czynników pokarmowych na przyswajanie galaktozy i glikozy.

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

Zgłoszenie do prenumeraty przyjmuje:

Administracja Instytutu im. Nenckiego T. N. W.
(Warszawa, ul. Śniadeckich 8, tel. 826-31).

Skład główny:

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

ACTA BIOLOGIAE EXPERIMENTALIS

VOL. VII.

SUBVENTIONNÉ PAR LE FOND NATIONAL POUR LA PROTECTION
DE LA CULTURE POLONAISE

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

1931/32

<http://rcin.org.pl>

ACTA BIOLOGIAE
EXPERIMENTALIS

Redaktor:

K. BIAŁASZEWICZ.



P.180

Drakarnia i Litografja „JAN COTTY” w Warszawie, Kapucyńska 7.

<http://rcin.org.pl>

S e m m a i r e .

№№	pp.
1. R. J. Wojtusiak. Doświadczenia nad wpływem podwójnego oświetlenia na larwy homara i jeżokraba (z uwzględnieniem wioślarek). <i>Versuche mit Hummer- und Majalarven bei doppelter Belichtung (mit Berücksichtigung von Cladoceren)</i> . [Biologische Station in Roscoff und Psychogenetisches Institut der Jagellonischen Universität in Kraków].	1
2. P. Ostern i J. K. Parnas. O powstawaniu amonjaku w związku z czynnością serca. <i>Untersuchungen über Ammoniakgehalt im Herzen</i> . [Institut für Medizinische Chemie der Universität in Lwów]	29
3. J. W. Supniewski. Właściwości farmakodynamiczne beta-apioleptylaminy. <i>Études sur les propriétés pharmacodynamiques de la bêta-apiolethylamine</i> . [Institut Pharmacologique de l'Université à Cracovie]	49
4. M. Bogucki. O regulowaniu ciśnienia osmotycznego hemolimfy równonogów morskich (<i>Mesidotea entomon</i> L.). <i>Sur la régulation de la pression osmotique de l'hénolymphe chez les Isopodes marins (Mesidotea entomon L.)</i> . [Laboratoire de Physiologie de l'Institut Nencki à Varsovie].	61
5. E. Kryszczyński. O chłonienu składników mineralnych moczku w steku ptaków. <i>Über die Resorption von mineralischen Bestandteilen des Harnes in der Vogelkloake</i> . [Laboratoire de Physiologie de l'Institut-Nencki à Varsovie]	79
6. Wł. Niemierko. Oznaczanie chloru w drobnych ilościach tkanek. <i>Chlorbestimmung in kleinen Gewebemengen</i> . [Physiologisches Laboratorium des Nencki Institut in Warszawa]	101
7. S. Skowron. O przebiegu exosmozy i endosmozy w ślimaku winniczka (<i>Helix pomatia</i>) i wytrzymałości komórek spermatogennych na zmiany ciśnienia osmotycznego. <i>Über den Verlauf der Exosmose und Endosmose bei Helix pomatia und über die Resistenzfähigkeit des Spermatozyten gegen die Veränderungen des osmotischen Druckes</i> . [Institut für Biologie und Embryologie an der Jagellonischen Universität in Kraków]	107
8. M. Chejfec. Regulacja i regeneracja <i>Paramecium caudatum</i> . <i>Regulation und Regeneration von Paramecium caudatum</i> . [Laboratorium für Experimentelle Morphologie. Nencki-Institut in Warszawa]	115

9. K. Białaszewicz. O oznaczaniu objętości fazy rozdrobnionej w komórkach żyjących. *Sur la détermination du volume de la phase dispersée dans les cellules vivantes*. [Laboratoire de Physiologie de l'Institut Nencki à Varsovie et Station Zoologique de Naples]. 135
10. J. Szulc. Wpływ nerwów układu autonomicznego na krzepliwość krwi. *Influence des nerfs du système autonome sur la coagulation du sang*. [Institut de Physiologie de l'Université de Varsovie]. 153
11. F. Rogoziński i J. Ciechanowska. O krzywicy doświadczalnej. IV. Pszenica jako pokarm wywołujący krzywicę. *Sur le rachitisme expérimental. IV. Le blé comme aliment rachitigène*. [Institut de Physiologie et d'Alimentation Animale, Université Jagellonienne, Cracovie]. 179
12. E. A. Sym. Kataliza kwaso-zasadowa a działanie esterazy. *Säure-Basen-Katalyse und Esterasewirkung*. [Institut für physiologische Chemie an der Universität Warszawa]. 197
13. K. Białaszewicz. Przyczynek do znajomości składu mineralnego krwi u zwierząt morskich. *Contribution à l'étude de la composition minérale du sang chez les animaux marins*. [Laboratoire de Physiologie de l'Institut Nencki à Varsovie et Station Zoologique de Naples]. 220
14. W. A. Adolph. Studja nad rytmem podziału pierwotniaków. I. Rytm dobowy w rozrodzie *Paramecium caudatum*. *Studien über Rhythmik der Protistenteilungen. I. Über tagesperiodischen Rhythmus in der Fortpflanzung von Paramecium caudatum*. [Wilno]. 232
15. E. Falik. Wpływ antagonizmu jonów na hemolizę. *Einfluss des Ionenantagonismus auf die Hämolyse*. [Physiologisches Institut an der Universität in Lwów]. 259
16. St. Kucharski. Drażnienie nerwu kulszowego żaby upadającymi kroplami płynu Ringera. *Die Reizung des Nervus ischiadicus beim Frosch durch herabfallende Tropfen einer Ringertlösung*. [Physiologisches Institut an der Universität in Lwów]. 267
17. J. Konarski. Pomiar długości fali promieni mitogenetycznych. *Longueur d'onde des rayons mitogénétiques*. [Institut de Physique Médicale de l'Université de Poznań]. 278
18. W. Z. Tychowski. O pobudliwości kory mózdzku. *Sur l'excitabilité de l'écorce du cervelet*. [Institut de Physiologie à l'Université de Lwów]. 283
- Bibliographia Polonica 290

[Stacja Biologiczna Uniw. Paryskiego w Roskoff i Zakład Psychogenetyczny Uniw. Jagiellońskiego].¹⁾

R. J. Wojtusiak.

Doświadczenia nad wpływem podwójnego oświetlenia na larwy homara i jeżokraba (z uwzględnieniem wioślarek).

Versuche mit Hummer- und Majalarven bei doppelter Belichtung (Mit Berücksichtigung von Cladoceren).

Rękopis nadesłany w dniu 1. V. 1931 r.

Bei den vorliegenden Untersuchungen handelte es sich um Feststellung, auf welche Orientierungsart das Verhalten der Hummer- und Spinnenkrebslarven (*Maja*) bei doppelter Belichtung zurückzuführen sei.

In einem länglichen Behälter, dessen Seitenwände alternierend in schwarze und weisse Schirmflächen abgeteilt waren, schwimmen die Larven nicht geradlinig, sondern zickzackartig dem Lichte zu, wobei sie stets zu weissen Schirmen ablenken (Fig. 1); die durch die letzteren reflektierten Strahlen wirken demnach auf die Tiere wie eine zweite Lichtquelle.

Bei zwei Lichtern von gleicher Intensität (Fig. 2) liessen sich drei Reaktionstypen unterscheiden:

1°. Die Bewegungsbahn führt direkt zu einem von ihnen und sobald die Seitenwand des länglich viereckigen Aquariums erreicht wird, führt sie weiter längs der Wand bis zu einem der Lampe nächstliegenden Punkt.

2°. Die Bahn deckt sich anfangs mit der Resultierenden, welche den durch den Anfangspunkt und die Lampen gebilde-

¹⁾ Kierownikowi Zakładu Prof. Dr. TADEUSZOWI GARBOWSKIEMU za wielostronną pomoc i cenne wskazówki składam na tem miejscu najserdeczniejsze podziękowanie.

ten Winkel halbiert, bis zu einem Entscheidungspunkt, worauf sie zu einer der Lampen abbiegt. An der kritischen Stelle geschieht es oft, dass die Tiere innehalten und eine Weile um die Körperachse balancieren. Der Entscheidungswinkel beträgt für Hummerlarven 120—130°, für *Maja* 90—110°.

3°. Bei drittem Typus verfolgt die Bahn ebenfalls die Mittellinie, überschreitet jedoch, ohne abzubiegen, den Entscheidungspunkt, worauf die Tiere (in verschiedener Entfernung von jenem Punkte) zu Boden sinken. Unter diesen Hauptarten giebt es eine Menge von Übergangsbahnen von verschiedener Krümmung.

Bei ungleichen Lichtern von dem Intensitätsverhältnis 1:4 begegnet man ebenfalls drei Hauptformen photomotorischer Reaktionen (Fig. 3). 1) Die Larven steuern von Anfang an einem Lichte, dem stärkeren oder dem schwächeren, zu und schwimmen dann, wie oben, die Seitenwand entlang bis zu einem dem Lichte nächstliegenden Punkt. 2) Die Bewegungsbahn fällt anfangsannähernd in die Mittellinie unter fortgesetztem Abbiegen gegen die stärkere Lichtquelle, wodurch diese der parabolischen Einwirkungsresultante zweier ungleich starker Lichter ähnlich wird. Sobald der Entscheidungspunkt — bei einem Winkel von 120—130° für *Astacus* und 90—110° für *Maja* — erreicht wird, erfolgt die Wendung zu einem der Lichter. 3) Der Entscheidungspunkt wird überschritten, worauf die Tiere zu Boden sinken. Bei Kontrollversuchen mit *Daphnia magna* Straus kommt noch ein weiterer Reaktionstypus vor: die Wasserflöhe erreichen mitunter den Entscheidungspunkt auf der Mittelbahn, als ob es sich um zwei gleich entfernte Lichter von gleicher Stärke handeln würde.

Bei allen diesen Versuchen mit Doppelbelichtung von gleicher oder ungleicher Intensität pflegen die Tiere zwischen den beiden Lichtquellen zu pendeln, d. h. von einer zur anderen herüberzuschwimmen. Ausser zwei Lampen wurden auch Lichtstrahlen von einer Lampe verwendet, die jedoch von zwei Spiegeln zurückgeworfen wurden; sie beschienen die Aquarien unmittelbar oder aber wurden in einen von schwarzem Papier umhüllten Behälter durch Fensterchen als zwei Strahlenbündel hineingelassen. War das letztere der Fall, dann löste der durch die Strahlenkreuzung der Bündel gebildete Schattenkeil beim

zweiten Reaktionstypus eine Wendung zu einer von den Lichtquellen aus, unter einem kleineren Winkel als der sonstige Entscheidungswinkel; der Schatten wirkte folglich wie ein unübersehbares Hindernis (Fig. 6). Bei Verwendung von Lichtbündeln zeigten sowohl die Hummer- als die Spinnenkrebstarven eine Reihe von Kreisbewegungen. Waren die Lichtstrahlen im Behälter nur von einer Seite durch schwarzen Wandschirm abgehalten, dann kreisten die Tiere vom Schatten an der Gefässwand bis gegen die Mitte des Behälters und abermals von der beschatteten Seite gegen die Lampe (Fig. 6). Bei doppelseitiger Beschattung des Lichtfeldes waren je zwei Kreisungsfelder zu sehen (Fig. 7), welche gegen die Schattenzone nach zwei entgegengesetzten Richtungen gewendet waren. Nach Ausschaltung der einen Lampe eilten die Larven auf einer krummen Bahn zu der anderen, ohne die Schattenzone zu berühren und fingen an zu kreisen (Fig. 8 u. 9). Die Grösse der umschriebenen Kreise hängt ab von der Verteilung der Licht- u. Schattenpartien im Verhältnis zu den Gefässwänden (dieselben Figuren), aber auch von der Lichtintensität (Fig. 12).

Der Entscheidungswinkel hängt offenbar ab vom Winkel, unter welchem die Augen gegen einander und gegen den Körper angelegt sind, wie auch von der Achsenrichtung jener vorderen Ommatidien die als „Fixierraum“ fungieren oder tropotaktischer Orientierung dienen. Ein deutlicher morphologischer Unterschied in verschiedenen Partien liess sich an diesen zusammengesetzten Augen nicht feststellen.

Bei den Kontrollversuchen mit Cladoceren diente ihr Doppelpelauge als Reaktionsindex. Auf Daphnien, die im Objektträgeraquarium durch das Deckglas seitlich immobilisiert waren, wirkte das Licht zweier Glühlampen. Wenn der durch die Lampen und das Auge gebildete Winkel kleiner war als ca. 120° , wurde das bewegliche Auge stets in die Mitte d. h. in die Richtung der Resultante der Lichter eingestellt. Nach Ausschaltung der einen Lampe erfolgte eine Drehbewegung des Auges, um es auf die andere Lampe einzustellen. Wenn der besagte Winkel grösser war als $120-140^{\circ}$, wendet sich das Auge auch beim Glühen beider Lampen zu einer von ihnen, anstatt eine Mittelstellung anzunehmen. Wird der Objektträger mit dem Tier auf dem Mikroskoptisch bei nur einseitiger Belichtung gedreht, dann

dreht sich die Augenkugel der eingeklemmten *Daphnia* nach dem Lichte, bis zur Grenze der möglichen Muskelspannung und verharrt in dieser Stellung, bis die Lichtstrahlen das Sehfeld der Randsinnesorgane nicht mehr treffen, worauf das Auge zu der normalen Lage zurückkehrt. Diese Reaktion zeugt von der Abhängigkeit des Entscheidungswinkels vom Auge selbst. Für freischwimmende Tiere beträgt er bei seitlicher Doppelbelichtung 90° . Der Unterschied der Winkelweite hängt somit ab von der Richtung der Belichtungsebene.

Statistische Zusammenstellungen zeigen, dass bei doppelter Belichtung gleicher Stärke die Zahl der den beiden Lichtern zustrebenden Tiere ungefähr gleich ist. Beim Intensitätsverhältnis 1:4 verändert sich auch die Individuenzahl zugunsten der stärkeren Lichtquelle. Ähnliche Resultate erzielt man bei gleich starken Lampen, deren Strahlenbündel in den verhüllten Behälter durch ungleiche Fenster gelangen (Flächenverhältnis 1:4) In diesem Falle kann man durch Abänderung der Belichtungsintensität bis zum Verhältnis 1:4 einen Ausgleich der den Lichtern zustrebenden Stückzahl herbeiführen. Die ungleichmässige Verteilung der Tiere bei ungleichen Lichtern lässt sich durch zwei Momente erklären. Erstens durch die schiefe Richtungslage am Entscheidungspunkt der Tiere, deren Bewegungsrichtung sich mit der Resultante deckte; an der kritischen Stelle ist ja das Tier mehr gegen das stärkere Licht gewendet. Zweitens durch den physiologischen Zustand; beziehungsweise den Adaptationsgrad der Tiere, der sie zur Wahl des intensiveren Lichtzieles veranlasst. Dies wird auch durch Versuche bestätigt, wo bei ungleich starker Belichtung die in der Mitte des Behälters an der Verbindungslinie der beiden Lichter angesammelten Daphnien sich ebenfalls zahlreicher dem stärkeren zuwenden.

Auf Grund obiger Versuche gewinnt man den Eindruck, dass man hier nicht mit nur einer Orientierungsart zu tun habe, sondern dass sich diese Crustaceen teils tropotaktisch orientieren, in welchem Fall ihre Bahnen der Belichtungsresultierenden entsprechen, teils telotaktisch, wobei die Tiere sich entweder symmetrisch zu beiden Lichtern fortbewegen, oder direkt nur einem Lichte zustreben. Die eine oder die andere Bewegungsart wird durch andersartige, nicht näher analysierte Umstände bedingt. In ähnlicher Weise wären auch die verschiedenen Übergangsbahnen zu erklären.

W s t ę p.

Sprawa orientacji zwierząt bezkręgowych, poruszających się pod wpływem dwóch źródeł światła, bywała już niejednokrotnie przedmiotem doświadczeń i rozważań. Z obfitej literatury, odnoszącej się do powyższego zagadnienia, wystarczy przypomnieć tylko kilka zasadniczych poglądów na tę kwestję, które były podstawą i głównym bodźcem do niniejszych spostrzeżeń. Szczegółową literaturę tego przedmiotu, niemal do ostatnich czasów, zestawiał ROSE ('29).

W zapatrywaniach na wyżej wspomniane reakcje zwierząt wyróżnić można dwa główne kierunki. Jeden z nich uważa je za wynik symetrycznego działania na boki zwierzęcia dwóch sił, pod których wpływem płynie ono po linii wypadkowej. Byłaby to więc orientacja tropotaktyczna w sensie KUHNA ('19, '29). Pogląd ten zapoczątkowany przez BOHNA ('95 a, b), a będący potwierdzeniem teorii tropizmów LOEBA ('13), został przyjęty z mniejszymi lub większymi zmianami przez szereg badaczy późniejszych. W ostatnich czasach oświadczyli się za tym poglądem FRAENKEL ('27) i HENKE ('30), obaj jednak wykazują, że reakcje ruchowe są bardziej skomplikowane, aniżeli sądzono pierwotnie.

Drugie zapatrywanie podciąga reakcje na dwa źródła światła raczej pod pojęcie orientacji telotaktycznej, przy której zwierzę płynie ku światłom. „utrwaliwszy“ je w narządach wzrokowych. Z tego też powodu droga zwierzęcia prowadzi w ostatecznym wyniku ku jednemu ze światła. Dzieje się to albo bezpośrednio w przypadku utrwalenia tylko jednego ze światła (BIERENS DE HAAN '21), albo też jeżeli oba światła równej siły utrwalone zostały równocześnie, zwierzę płynie z początku po linii wypadkowej biegnącej w równej odległości pomiędzy oboma światłami (podobnie więc jak przy orientacji tropotaktycznej) aż do „punktu rozstrzygającego“ (Entscheidungspunkt), w którym następuje zwrot wprost ku jednemu lub drugiemu bodźcowi. Pogląd ten reprezentują głównie BUDDENBROCK ('22) i ALVERDES ('24), różnią się jednak w zapatrywaniu na ów „punkt rozstrzygnięcia“. BUDDENBROCK uzależnia go od kąta, pod jakim położone są względem siebie pewne partje oczu, funkcjonujące jako pole określonego widzenia przedmiotu („Fixierraum“), i od punktu oddalenia zwierzęcia od przedmiotów, od którego począwszy zwierzę nie może obejmować naraz obu przedmiotów (względnie obu źródeł światła), skutkiem czego zmienia kierunek i zwraca się ku jednemu z nich. ALVERDES odrzuca natomiast ten sposób tłumaczenia i uzależnia położenie punktu zwrotnego od właściwości ośrodków nerwowych; w punkcie tym zwierzę, widzące oba światła, wybierałoby jedno ze światła instynktownie.

Nakoniec trzeba zaznaczyć, że wspomniany już HENKE wskazuje na ważną rolę, jaką odgrywa położenie i budowa oczu w czasie orientacji tropotaktycznej, w owym „punkcie rozstrzygającym“. Poglądy te będziemy

mieli sposobność bliżej rozpatrzyć w trakcie omawiania odpowiednich doświadczeń.

Głównem zagadnieniem było stwierdzić, czy i o ile orientacja zwierząt bezkręgowych, w głównej mierze niektórych skorupiaków, odpowiada powyższym poglądom, czy zatem należy ją zaliczać do grupy tropotaktyzmów czy telotaktyzmów, ewentualnie, jak ją do nich ustosunkować.

Spostrzeżenia, dotyczące tego zagadnienia, wykonano częściowo na Stacji Biologicznej w Roskofie w r. 1928 na młodych świeżo wylęgniętych larwach homara (*Astacus gammarus* L.) i jeżokraba (*Maja squinado* Latr.), częściowo zaś w Zakładzie Psychogenetycznym U. J. w celach porównawczych na rozwielitkach (*Daphnia magna* Straus). Larwy homara stanowiły doskonały materiał doświadczalny, używany swego czasu w podobnych do niniejszych zagadnieniach przez BOHNA ('05 a, b) i HADLEY'A (.08), objawiają bowiem nadzwyczaj silny fototaktyzm; larwy jeżokraba nie ustępują im wcale pod tym względem. Jako pomieszczenia dla zwierząt w czasie doświadczeń służyły naczynia szklane zarówno graniastościenne (dług. 45 cm, szer. 15 cm, wys. 9 cm), jak i okrągłe krystalizatory o średnicy 16 cm.

Doświadczenia z ekranami białymi i czarnymi.

Celem ogólnego poznania reakcyj fotomotorycznych na powyższym materiale powtórzyłem przedewszystkiem, z pewnemi zmianami, doświadczenia BOHNA ('05a) z ekranami. Dwie ściany podłużne graniastego akwarjum zostały oblepione naprzemian kawałkami papieru czarnego i białego (9×15 cm) w ten sposób, że na jednej ścianie po papierze czarnym następował biały, a po nim znów czarny, na przeciwległej zaś porządek był odwrotny, tak że naprzeciw ekranu białego jednego boku przypadał ekran czarny drugiego boku i t. d. Przy obu ścianach krótszych, przedniej i tylnej, umieszczono po jednej lampie elektrycznej, które można było zapalać naprzemian to jedną to drugą. Z chwilą zaświecenia tylnej, larwy homara gromadziły się na środku ściany oświetlonej, naprzeciw lampki. Skoro wyłączyono tę żarówkę, a zapalono przednią, larwy, straciwszy bodziec poprzedni, zaczynały płynąć ku nowemu światłu.

Jednakże, jak widać z rys. 1, droga ich wcale nie była prostą, ale zygzakowatą¹⁾, zbaczały bowiem stale ku jasnym

¹⁾ Pomijam tutaj szereg różnorodnych ruchów i reakcyj larw homara, opisanych przez BOHNA, podobnie jak i larw jeżokraba, aby nie komplikować przedstawienia i tak bardzo złożonych sposobów reagowania, wspomnieć jednak muszę, że larwy te płyną zwrócone odwłokiem w przód.

ekranom białym co przy naprzemianległości ekranów powodowało odchylenia naboczne. Z tego też powodu miejsce, które larwy zajmowały u mety, przy ścianie oświetlonej, nie leżało na jej środku, jak to się dzieje w naczyniu bez osłon, lecz ulegało przesunięciu w stronę ekranu białego. Zupełnie tak samo zachowywały się młode larwy jeżokraba. Najlepsze wyniki otrzymać można było z larwami całkiem młodemi, na pierwszym stadium młodoraczka (*Zoëa*); okazują one wybitny fototaktyzm dodatni; u larw starszych tak szybkość reagowania, jak i sam fototaktyzm przedstawiają się odmiennie. Jeżeli larwy starsze reagowały fototaktycznie dodatnio, to jednak w słabym stopniu; płynęły wolno i opadały co chwila na dno, przy ekranach zaś białych tworzyły gęste skupienia.

Wyniki te odpowiadały w zupełności wynikom BOHNA, który tłumaczył je działaniem przyciągającym ekranów, względnie płaszczyzn białych, a odpychającym czarnych. Reakcje te trzeba uznać za wynik działania dwóch bodźców świetlnych. Jeden z nich pochodziłby od promieni lampy, drugi od ekranów białych, wysyłających promienie odbite. Droga zwierzęcia przedstawiałaby się jako wypadkowa pomiędzy obu działającymi bodźcami.

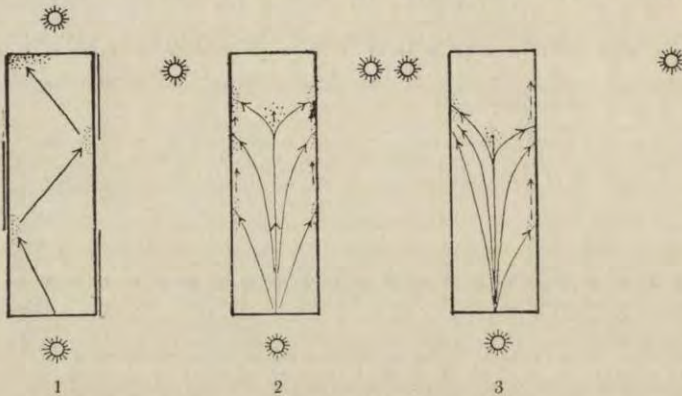
Doświadczenia z dwoma światłami o równym natężeniu.

Larwy homara znajdowały się w akwarjum podłużnym, graniastem. Dwie lampy 100-wattowe, odsuwane od akwarjum kolejno i równocześnie o 10, 20, 30 cm, umieszczone były przy przednim końcu akwarjum (rys. 2). Przy tylnej ścianie akwarjum znajdowała się trzecia lampa pomocnicza, służąca do skupiania larw przed rozpoczęciem doświadczenia, w miejscu przypadającym na środek oświetlonej nią ściany, z któregoby mogły zacząć swój start ku lampom przednim, zapalonym równocześnie po wyłączeniu tylnej; wędrówka larw rozpoczynała się bezwzględnie.

Wśród dróg odbytych przez larwy możemy wyróżnić trzy główne typy podobne do stwierdzonych u rozgwiazdy *Asterias rubens* przy reakcjach świetlnych (JUST '26, '27) i chemicznych (WOJTUSIAK '29), a z grupy skorupiaków równonogich — u kulanki *Armadillidium* (HENKE '30) i innych bezkręgowych.

1) Pierwszy typ to ruch larw homara, zmierzających wprost ku jednemu z dwóch światła.

2) W typie drugim droga wypada początkowo po linii, połowiącej kąt zawarty między zwierzęciem a obu lampami, a następnie zbacza ku jednej z dwu lamp. Krytyczny punkt rozstrzygający leżał w miejscu, w którym kąt między zwierzęciem a lampami wynosił $120-130^{\circ}$. W reakcjach tego typu można było często zauważyć kołysanie się larw homara na boki, na wzdłużnej osi ciała. Dopiero po pewnym czasie takiego ba-



Drogi larw homara i jeżokraba.

Rys. 1. Przy ekranach bocznych białych i czarnych przy oświetleniu końcowym.

Rys. 2. Różne typy reakcyj przy dwóch światłach bocznych o równym natężeniu.

Rys. 3. Różne typy reakcyj przy dwóch światłach nierównych.

Schwimmbahnen der Hammer- u. Maja-Larven.

Fig. 1. Bei schwarzen u. weissen Seitenwandschirmen und 1 Ziellicht.

Fig. 2. Verschiedene Reaktionstypen bei zwei gleichstarken Lichtern.

Fig. 3. Verschiedene Reaktionstypen bei zwei ungleichstarken Lichtern.

lansowania następował zwrot wprost ku jednemu ze światła, albo też można było zauważyć, że larwy opadały w miejscu kołysania się, tworząc na dnie naczynia gęste skupienie, aby dopiero po pewnym czasie podplynać ku jednej z lamp.

3) Do trzeciego typu ruchów nakoniec należałyby zwierzęta, które przekroczywszy punkt krytyczny, zachowywały nadal obrany kierunek ruchu na rozmałą odległość, zwykle niewielką, a tylko wyjątkowo aż do końca zbiornika, poczem opadały na dno.

Pomiędzy temi trzema głównymi typami można było stwierdzić cały szereg przejść, gdzie drogi opisywały krzywe mniej lub więcej wygięte.

Reakcje te zależały znów w dużej mierze od stanu fizjologicznego i od wieku larw; u larw całkiem młodych, tuż po wylęgnięciu, a więc najwybitniej fototaktycznych, przeważał typ drugi, u larw starszych pierwszy. Taki sam szereg doświadczeń, wykonany z larwami jeżokraba dał wyniki zupełnie podobne, z tą różnicą, że w drugiej grupie reakcyj kąt rozstrzygnięcia wynosił nie 120—130°, lecz 90—110°.

Podobne wyniki dały doświadczenia z larwami, znajdującymi się w naczyniach okrągłych. Można tu było zauważyć figury podobne do tych, jakie otrzymywali KÜHN i ALVERDES. Zależnie od kąta przecięcia się promieni świetlnych w obrębie naczynia, w przypadku, gdy kąt ten był większy od kąta rozstrzygnięcia (rys. 4), tworzyły się przy ścianie dwie gromady larw, mniej lub więcej od siebie oddalone, albo też oba skupienia mogły się zlewać w jedno, jeżeli kąt ten był znacznie mniejszy od kąta rozstrzygnięcia (rys. 5).

W dalszym ciągu, zamiast bezpośrednio działających nieosłoniętych dwóch światel, używałem — metodą EWALDA ('14), KÜHNA i ALVERDESA — dwu wiązek promieni jednej lampy, odbitych od dwóch zwierciadeł; strona naczynia zwrócona ku lampie była zakryta. W innych znowu przypadkach używałem dwóch wiązek promieni z dwóch lamp, dopuszczonych do okrągłych naczyń, okrytych czarnym papierem przez dwa wycięte w zasłonie okienka. Dzięki szczegółowym urządzeniom można było okienka te dowolnie przesuwac wzdłuż ścian naczynia, przybliżać do siebie lub oddalać i stosownie do potrzeby otrzymywać różny kąt przecięcia się smug światła. Oprócz tego można było otwory te dowolnie zwężać lub rozszerzać i w ten sposób regulować wielkość wiązek, co było potrzebne do dalszych obserwacyj ze światłami różnej siły.

Wyniki ogólne, otrzymane przy tego rodzaju oświetleniu, były takie same, jak przy oświetleniu bezpośrednim, stosowanem z początku.

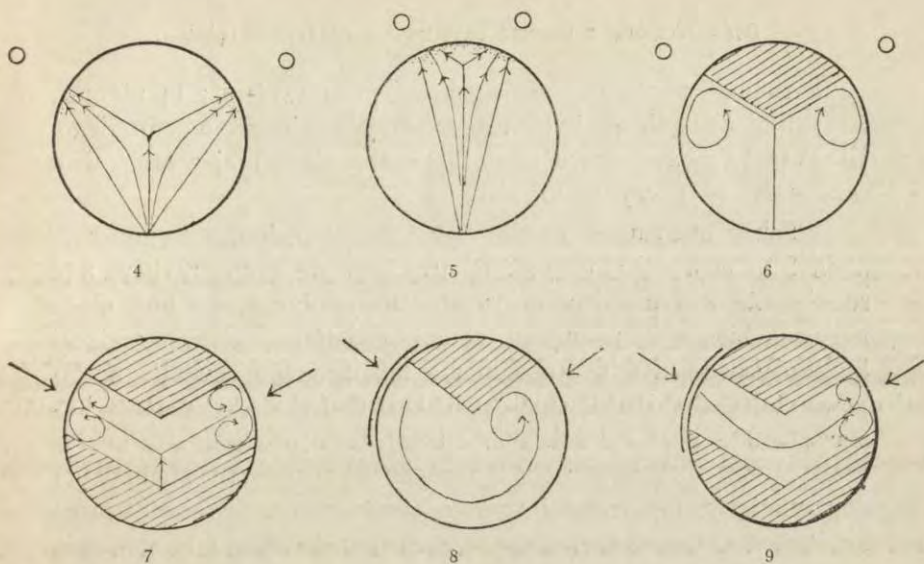
Przy sposobności można wspomnieć o szeregu reakcyj, uzyskanych w toku doświadczeń z oświetleniem naczyń wiązkami promieni. Strefy cienia stanowiły dla larw, z którymi eksperymentowano, nieprzebytą przeszkodę, tak że przy wyszukiwaniu i stwierdzaniu kąta rozstrzygnięcia trzeba je było brać zawsze w rachubę. Bez tej ostrożności kąt ten możnaby określić fałszy-

wie, ponieważ larwy, natknąwszy na klin cienia, powstałego przy skrzyżowaniu wiązek świetlnych, rozdzielały się, znajdując się nawet pod mniejszym kątem, niż stwierdzony dla nich poprzednio „kątem rozstrzygnięcia“ (rys. 6). Z tego też powodu jako kąt rozstrzygnięcia należało brać kąt, pod którym larwy rozdzielały się w środku jasnego pola przecinających się wiązek.

Na granicy cienia i światła wykonywały tak larwy homara, jak i jeżokraba szereg ruchów kołowych przy ścianach naczynia. Jeżeli cień ograniczał tylko z jednej strony wiązkę świetlną, wtedy wszystkie osobniki kołowały w jednym kierunku, a mianowicie od cienia, wzdłuż oświetlonej ściany, a później ku środkowi naczynia i znów ku cieniowi (rys. 6). Jeżeli cień ograniczał wiązkę z obu stron w naczyniu, widać było dwa młynki krążenia lecz ruchy ich odbywały się w odwrotnych niż poprzednio kierunkach, a więc od środka wiązki świetlnej wzdłuż ścian ku cieniom (rys. 7). Jeżeli wiązki światła dokładnie się nakrywały, padając ze stron wprost przeciwległych, przy zupełnej symetrii rozmieszczenia cieni i światła na oświetlonych polach ścian naczynia, wtedy koła zakreślane przez raczki były równe (rys. 10). Jeżeli zaś wiązki przecinały się pod pewnym kątem, wielkość owych kół była różna, odpowiednio do stopnia asymetrii ułożenia cieni wobec światła (rys. 7).

Ciekawie przedstawiały się również drogi larw w naczyniu okrągłym z krzyżującymi się wiązkami, jeżeli nagle z jednej strony dopływ światła został odcięty. Raczki przepływały torem łukowym od strony zasłoniętej ku pozostałemu światłu, omijając strefę cienia, a dopłynąwszy do ściany, zataczały jedno lub dwa koła, podobnie jak poprzednio (rys. 8, 9). Wszystkie te reakcje występowały najwyraźniej u larw tuż po wylęgnięciu.

Wypada na koniec podkreślić, że w każdym prawie przypadku w doświadczeniach z dwoma światłami następowało przenoszenie się larw z jednej strony oświetlonej na drugą i odwrotnie, a więc ustawiczna wymiana osobników na torze między światłami. Działo się to zarówno wtedy, gdy larwa wpłynąwszy w strefę cienia wystawiona była na działanie tylko jednego światła po drugiej stronie naczynia i zaczynała ku niemu płynąć, jak i wtedy, gdy raczki były oświetlone równocześnie przez oba światła, odwracały się od bliższego i dążyły ku odleglejszemu (rys. 11).



Rys. 4—5. Typy reakcyj wobec dwóch światel różnie ustawionych wobec naczynia.

Rys. 6. Działanie cienia jako przeszkody i ruchy kołowe przy jednostronnem oświetleniu.

Rys. 7. Ruchy kołowe przy dwustronnem oświetleniu.

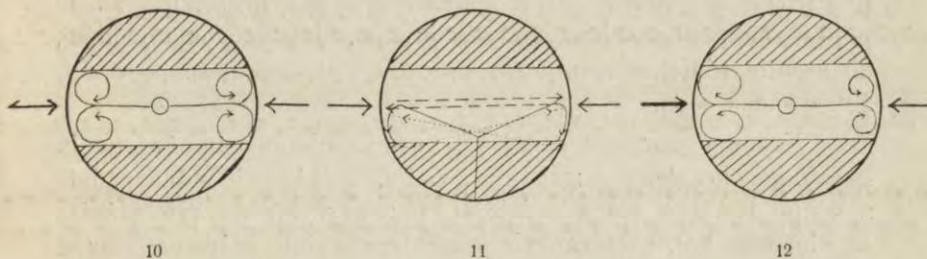
Rys. 8—9. Omijanie strefy cienia przy jedno- i dwustronnem oświetleniu.

Fig. 4—5. Reaktionstypen bei verschiedener Entfernung der Endlichter.

Fig. 6. Schattzone als Hindernis und Kreisbewegungen bei einseitiger Beschattung.

Fig. 7. Kreisbewegungen bei beiderseitiger Beschattung der Bewegungszone.

Fig. 8—9. Das Vermeiden der Schattzone bei ein- und zweiseitiger Beschattung.



Rys. 10. Ruchy kołowe przy jednakowem oświetleniu przeciwnym.

Rys. 11. Wędrowki od jednego światła ku drugiemu.

Rys. 12. Ruchy kołowe przy różnem oświetleniu. Strzałka grubsza oznacza światło silniejsze.

Kółko środkowe na rys. 10 i 12 oznacza pole białe na dnie zbiornika.

Fig. 10. Kreisbewegungen bei gleichmässiger entgegengesetzter Belichtung.

Fig. 11. Pendelbahnen zwischen den beiden Lichtern.

Fig. 12. Kreisbewegungen bei ungleicher Belichtung. Der stärkere Pfeil bezeichnet das stärkere Licht.

Doświadczenia z dwoma światłami o różnym natężeniu.

Analogiczny szereg doświadczeń powtórzyłem z tą różnicą, że jedno ze światel było cztery razy silniejsze od drugiego. Uzyskać to można łatwo przez umieszczenie jednej z lamp dwa razy dalej od naczynia niż drugiej.

Także otrzymane wyniki były naogół podobne do poprzednich. I tu można było wyróżnić trzy główne grupy reakcyj, z tą różnicą, że w typie drugim ruchu larwy płynęły po linii nieco krzywej, biegnącej pomiędzy oboma światłami, ale zbaczającej ku silniejszemu. Zwrot ku jednemu lub drugiemu światłu następował tak samo jak dawniej pod kątem $120-130^{\circ}$ u larw homara, a $90-110^{\circ}$ u jeżokraba. I tutaj część osobników przekraczała punkt rozstrzygnięcia i opadała na dno odpowiednio do poprzedniej grupy trzeciej reakcyj, część zaś zmierzała wprost ku jednemu ze światel, jak w grupie pierwszej. I tu wreszcie między wyszczególnionymi typami reakcyj zachodził szereg przejść w postaci linii mniej lub więcej krzywych. Larwy, które w akwarjum podłużnym dopłynęły albo wprost, albo od punktu rozstrzygnięcia ku lampie bardziej oddalonej, tworzyły przy ścianie skupienie, które następnie przesuwało się wzdłuż ściany aż do miejsca położonego najbliżej lampy (rys. 3). Mniej wyraźnie widać to było przy ścianie zwróconej ku drugiej lampie, ponieważ, jak łatwo wywnioskować z rysunku, mniejszą tu miały przestrzeń do przebycia od punktu osiągnięcia ściany aż do punktu najintensywniejszego oświetlenia. Jak zobaczymy niżej, do światła silniejszego płynęła znacznie większa ilość larw aniżeli do słabszego.

Nakoniec zaznaczyć należy, że przy nierównym oświetleniu naczyń okrągłego wiązkami światła, z których jedna padała z lampy bliższej, druga z dalszej, zauważyć można było różnice w wielkości kół, zataczanych przez larwy pod wpływem cienia. Od strony słabszego oświetlenia średnica ich była mniejsza niż po stronie silniejszego (rys. 12), i to tak w przypadku kołowania dwustronnego przy obustronnym ocienieniu, jak i jednostronnego przy ocienieniu jednostronnym. W przypadkach światel równych, gdzie naczynia okrągłe były osłonięte czarnym papierem z okienkami zmiennymi, podobne efekty można otrzymać przez

zmianę wielkości otworów, np. w stosunku wzajemnym wielkości okienek jak 1 : 4.

Oczy a kąt rozstrzygnięcia.

W obserwacjach dróg larw płynących pomiędzy dwoma światłami na szczególną uwagę zasługuje kąt, pod którym następuje zwrot ku jednemu ze światła, a po którego przekroczeniu larwy prędej, czy później opadają na dno. Jak wyżej wspominałem, BUDDENBROCK tłumaczy go właściwościami oczu, przyjmując w oku dwie strefy, z których przednia ma pełnić rolę pola oglądania zauważonych przedmiotów („Fixierraum“) i odpowiadałaby *fovea centralis* wyższych kręgowców (BUDDENBROCK '31). Pole to obejmuje np. dwie lampy zależnie od wielkości kąta ograniczającego owo wspólne pole widzenia, zwierzę, zbliżywszy się do światła bardziej, aniżeli na to ów kąt zezwała, nie może już percepcować naraz obrazów obu światła, według których to obrazów poprzednio się orjentowało i będzie zmuszone zwrócić ku jednemu z nich kierunek swej drogi. HERTER ('27) określił takie partje oczu z punktu widzenia orientacji tropotaktycznej jako przestrzeń tropotaktyczną. ALVERDES przyjmuje zależność wymienionego kąta od ośrodkowego systemu nerwowego. Ostatnio HENKE śledził zależność „kąta rozstrzygającego“ u kulanki (*Armadillidium*), postugując się sztucznymi modelami oczu, z wynikiem dodatnim i wykazał zależność jego od ułożenia oczu względem siebie i względem ciała. Po oświetleniu tylnych części oczu a zaciemnieniu przednich musi nastąpić zwrot ku jednemu ze światła. Oczy równonogów, którymi posługiwał się przy swych doświadczeniach, mają budowę stosunkowo prostą, o niewielkiej ilości ommatydjów, tak że stosunkowo łatwo było zebrać potrzebne spostrzeżenia i kontrolować je na modelach. U larw homara (rys 13) i jeżokraba (rys. 14), jak wskazują załączone fotografie, mamy do czynienia z oczami o bardzo licznych ommatydjach, co też utrudnia śledzenie zmian oświetlenia poszczególnych elementów oka. Sprawę komplikuje jeszcze bardziej to, że larwy tych skorupiaków płyną z głową zwróconą wtył i odwłokiem wprzód i wykonywają szereg ruchów wahadłowych na boki około osi strzałkowej i t. p. Jak widać ze schematu przekroju oczu u larwy homara (ryc. 15), osie skrajnych ommatydjów

brzeżnych przecięłyby się w pobliżu nasady warstwy pigmentowej pod kątem bardzo rozwartym $\pm 240^\circ$, skutkiem czego też



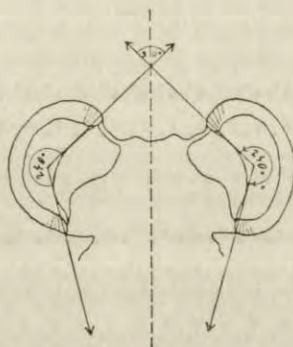
Rys. 13. Przekrój czołowy przez oczy larwy homara.
 Fig. 13. Frontalschnitt durch die Augengegend der Hummerlarve.



Rys. 14. Zoëa jeżokraba widziana z góry.
 Fig. 14. Zoëa von Maja, von oben.

pola widzenia, obejmowane każdym okiem zosobna, krzyżują się z sobą na osi wzdłużnej ciała, tak z przodu, tuż przed głową larwy, pod kątem w przybliżeniu prostym, jak i z tyłu, w znacz-

nej odległości, pod kątem ostrym. Wobec tego kąta rozstrzygnięcia nie można z tych stosunków morfologicznych wydedukować. Ostrość widzenia, jak podaje JORDAN ('29) za HESSE'M, zależy od długości ommatydjów, wielkości rogówki (*cornea*) i kąta, pod jakim osadzone są ommatidja sąsiednie względem siebie. Jednakowoż, nawet przyjąwszy to założenie, natrafimy na nową trudność, albowiem na oczach tych nie wyróżnia się miejsce, gdzie zachodziłaby stanowcza różnica w strukturze ommatydjów, potrzebna do wytłumaczenia „kąta rozstrzygnięcia“: długość om-



Rys. 15. Schematyczne przedstawienie przecięcia się osi ommatydjów u larwy homara.

Fig. 15. Schematische Darstellung der gegenseitigen Kreuzung der Sehfelder bei der Hummerlarve (nach der Achsenrichtung der Ommatidien).

matydjów zmienia się tu stopniowo bez nagłego odskoku. Wobec tych trudności musimy poprzestać na stwierdzeniu faktu, że u obu larw dziesięcionogów oczy osadzone są w stosunku do siebie pod różnymi kątami; u obu skierowane są nieco ku tyłowi, ale kąt zawarty między nimi jest nieco większy niż u kraba. Kąt rozstrzygnięcia mógłby zatem zależeć od kąta osadzenia oczu i u obu larw jest faktycznie inny; u homara wynosi on 120—130°, u jeżokraba 90—110°. Z drugiej strony, choćbyśmy przyjęli zależność badanego kąta od osadzenia oczu, nie rozwiązałyby to kwestji, w jakiej okolicy dopatrywać możnaby granicy, wywołującej zmianę w fotomotorycznych reakcjach. Morfologicznie takiego miejsca ustalić nie można, przynajmniej na podstawie spostrzeżeń dotychczasowych. Pozostawałoby więc przypuszczenie, że w szukanym miejscu krytycznym ommatidja różnią się od siebie fizjologicznie, i na zaciemnienia lub naświe-

tlenia reagują odmiennie, przyczem byłoby rzeczą obojętną, czy przyjmujemy pola wyraźnego oglądania („Fixierraum“), czy też tropotaktyczne.

Opadanie larw po przekroczeniu punktu rozstrzygnięcia tłumaczyłoby się z łatwością nagłą zmianą oświetlenia i jej wpływami fizjologicznymi.

Doświadczenia kontrolne z rozwieltkami.

Celem potwierdzenia powyższych spostrzeżeń nad larwami dziesięcionogów morskich wykonałem szereg doświadczeń kontrolnych na materiale dostępnym w pracowni Zakładu Psychogenetycznego, a mianowicie nad rozwieltką *Daphnia magna* Straus.

Na początek powtórzyłem szereg obserwacji, znanych już z cytowanej literatury, nad drogami rozwielitek pod działaniem dwóch światel. Największy nacisk kładłem przytem na orjentację osobników, wpuszczanych pojedynczo do obszernego zbiornika. Zamiast oświetlenia z poza szklanych ścian naczynia, wprowadziłem oświetlenie bezpośrednie zapomocą dwu żarówek elektrycznych, zanurzonych w wodzie.

Wyniki potwierdziły w zupełności wyniki poprzednie z larwami skorupiaków morskich.

Przy oświetleniu jednakowem żarówkami 40-wattowemi rozwielitka, wypuszczona z pipety na linię środkową między obu lampami, w pewnej od nich odległości, poruszała się po jednej z trzech dróg typowych, płynąc albo wprost ku jednej z żarówek, albo idąc zrazu po linii środkowej, a znalazłszy się pod kątem 90° do obu lamp, zwracając się ku jednej lampie. Stwierdzony kąt odpowiada dokładnie podanemu dla rozwielitki przez BUDDENBROCKA i ALVERDES'A. Oprócz tego można było zauważyć trzeci typ reakcji, gdy rozwielitka minawszy punkt rozstrzygający płynęła przez krótki czas dalej w tym samym kierunku po linii środkowej, a później dopiero ku jednej lampie. Do częstych zjawisk należało przepływanie od jednej lampy ku drugiej i odwrotnie.

Przy oświetleniu żarówkami o różnem natężeniu, a więc np. jedną 40, a drugą 25-wattową, wyniki były podobne do otrzymanych u larw dekapodów. Rozwielitka płynęła albo wprost ku jednemu ze światel, albo z początku po linii środkowej, nieco

przebiegłej ku lampie silniejszej, a po osiągnięciu punktu rozstrzygającego, tworzącego z obiema lampami kąt 90° , wiodła do jednej z nich. Prócz tego można tu było jednak zaobserwować inny jeszcze sposób orientacji: rozwielitki płynąć mogą z początku po linii prostej, prostopadłej do poprzecznej osi lamp, zupełnie tak jak przy światłach równej siły, poczem znalazłszy się pod kątem 90° do obu lamp, kierują się ku jednej, silniejszej lub też słabszej. Ostatnią wreszcie grupę, najmniej liczną, stanowią okazy przekraczające ów punkt rozstrzygnięcia. Trzeba osobno podkreślić, że różne te typy reakcyj występować mogą po kolei u jednego i tego samego osobnika, z którym powtarza się doświadczenia.

W dalszych doświadczeniach chodziło o stosunek kąta rozstrzygnięcia do budowy oka. Już RÄDL ('02) zajmował się wzrokowymi reakcjami rozwielitek na światło. Oczy ich zwracają się za światłem o kąt dość znaczny i dzięki temu służyły niejednokrotnie do doświadczeń (np. EWALD '10, HESS '10, FRISCH i KUPELWIESER '13), ponieważ zaś oko rozwielitki składa się ze stosunkowo nielicznych ommatydjów (22) (WAGLER '26—27), przeto nadaje się dobrze do spostrzeżeń. Zwierzę musiało być umieszczone nieruchomo, aby poruszało się tylko oko; uzyskiwałem to w ten sposób, że umieszczałem rozwielitkę (*Daphnia magna*) w małym naczyniu okrągłym z wodą (małej szalce Petriego) i kładłem na nią szkiełko przykrywkowe. Ciężar szkiełka krępował jej ruchy, natomiast ruchy oczu można było doskonale obserwować.

Doświadczenia podzielone zostały na dwie serje: w pierwszej obie lampy znajdowały się w dość znacznej odległości od zwierzęcia, tak że kąt utworzony między nimi a rozwielitką był mniejszy od prostego, w drugiej serji kąt ten wynosił około 160° .

W pierwszym przypadku zwracało się oko, po zapaleniu lamp ku linii wypadkowej, połówiącej kąt między okazem a lampami. Jeżeli teraz zgaszono lampę lewą, oko zwracało się od wypadkowej na prawo ku lampie pozostałej; z chwilą zaświecenia drugiej przybierało znów pozycję „wypadkową“, a po wyłączeniu prawej żarówki kierowało się ku lewej. W doświadczeniach tych występują więc wyraźnie trzy fazy ruchów oka: w pierwszej ku jednemu ze światel, w drugiej ku drugiemu przy działaniu jednej lampy, i wreszcie w trzeciej ku linii pośrodkowej, przy równoczesnem działaniu dwóch światel.

Inaczej przedstawiały się wyniki, gdy kąt między okiem a lampami wynosił około 160° . Oko, zwrócone ku lampie płonącej, zwracało się odrazu ku drugiej, później zapalanej, a nie zatrzymywało się w pozycji pośredniej i dlatego po zgaszeniu pierwszej nie obracało się już dalej w stronę drugiej, lecz trwało w swem położeniu. W drugiej serji doświadczeń istniały więc tylko dwie fazy obrotu oka. W przypadku działania dwóch światel równocześnie zwracało się oko ku jednemu z nich, brakło natomiast pośredniej pozycji wypadkowej.

W dalszych doświadczeniach chodziło o określenie kąta pod którym następuje zmiana reakcji trójfazowej w dwufazową. Z jednej więc strony zwiększałem stopniowo kąt 90° , z drugiej zmniejszałem kąt 160° i w obu przypadkach zaznaczałem kąt, decydujący o zmianie reakcji. W ten sposób jako kąt decydujący mogłem wyznaczyć kąt, wahający się w granicach $120 - 140^{\circ}$, a zatem kąt, obejmujący przeważną część ommatydjów oka w płaszczyźnie strzałkowej ¹⁾.

Do dalszego zilustrowania zależności reakcyj oka od jego budowy, a w szczególności od ułożenia ommatydjów, mogą nadto posłużyć doświadczenia, podobne do opisanych przez FRISCHA i KUPELWIESERA ('13). Unieruchomioną rozwiłkę obraca się na stoliku mikroskopu przy jednostronnem oświetleniu. Oko zwraca się stale za przesuwanym się światłem i zatrzymuje dopiero wtedy, gdy maksymalne napięcie mięśni na dalszy jego obrót nie pozwala. Jeżeli światło przesuwa się dalej w poprzednim kierunku, to z chwilą przejścia jego promieni poza stożki skrajnych ommatydjów, przestaje działać na oko, co pociąga za sobą nagły zwrot oka do położenia normalnego. To samo można zauważyć przy obracaniu stolika z okazem w stronę przeciwną.

Doświadczenia powyższe wykazują więc, że kąt rozstrzygnięcia w reakcjach na dwa źródła światła musi zależeć od budowy i właściwości fizjologicznych oka. Kąt $120 - 140^{\circ}$ w niniejszych obserwacjach różni się od kąta rozstrzygającego 90° , jaki otrzymano u okazów wolno pływających; różnicę tę łatwo

¹⁾ FRISCH i KUPELWIESER zwrócili uwagę na to, iż oko rozwiłtek niezawsze reaguje wyraźnie, dlatego też jako materiału używałem tylko okazów o silnych reakcjach oczu i to przez krótki tylko czas, aby wyłączyć wpływ zmęczenia na ruchy oka. Wobec tego wyniki otrzymane mogą uważać za wystarczające.

jednak wytłumaczyć, zważywszy, że w doświadczeniach z okazami unieruchomionymi działały na oko światła w płaszczyźnie strzałkowej, u zwierząt zaś wolno płynących w płaszczyźnie poprzecznej, z obu boków.

Stosunki ilościowe w doświadczeniach z larwami homara i jeżokraba.

Stosunki ilościowe w reakcjach rozwielitek na dwa źródła światła uwzględnił już ALVERDES. Zauważył on mianowicie, że ilość okazów dopływających do światła o równych natężeniach jest prawie równa, natomiast przy różnych natężeniach zmienia się na korzyść światła silniejszego. HENKE zestawiał również w swych obserwacjach nad *Armadillidium* dane liczbowe w tabelach. Stojąc na gruncie orientacji tropotaktycznej tłumaczy on ilość okazów, dążących do światła słabszego, prosto błędną orientacją tych zwierząt.

W doświadczeniach z larwami homara miałem sposobność niejednokrotnie zestawić ilości okazów płynących do jednego lub drugiego światła. Prócz tego wykonałem szereg osobnych doświadczeń, ułatwiających obliczenia. Po dopłynięciu zwierząt do obu światła wstawiałem do naczynia przegrodę szklaną lub tekturową, która zapobiegała wymianie okazów z obu stron i pozwalała na swobodne przeliczenie ich w każdej połowie z osobna.

Tabela I.

Obie lampy o jednakowym natężeniu <i>Gleichstarke Lichter</i>							
w odległości 30 cm od naczynia <i>in gleicher Entfernung (30 cm) vom Behälter</i>				jedna oddalona od naczynia o 30 cm, druga o 15 cm. <i>in ungleicher Entfernung (30 u. 15 cm)</i>			
Stosunek powierzchni okienek bocznych, dopuszczających promienie <i>Flächenverhältnis seitlicher Lichtöffnungen.</i>							
1 : 1		1 : 4		1 : 1		1 : 4	
Liczba okazów użytych w doświadczeniach <i>Zahl der bei den Versuchen verwendeten Stücke</i>							
400		920		168		280	
z jednej strony	z drugiej strony	przy szerszym okienku	przy węższym okienku	przy lampie dalszej	przy lampie bliższej	lampa dal-sza i okienko szersze	lampa bliż-sza i okienko węższe
<i>eine Seite</i>	<i>zweite Seite</i>	<i>bei grös-serer Öffnung</i>	<i>bei engerer Öffnung</i>	<i>bei entfern-terem Licht</i>	<i>bei näh-rem Licht</i>	<i>entfernte-res Licht, weitere Öffnung</i>	<i>näheres Licht, engere Öffnung</i>
178	228	218	702	44	124	110	170
44·5%	55·5%	23·7%	76·3%	26·1%	73·9%	39·2%	60·8%

Z otrzymanych w ten sposób liczb przytoczyć można następujące (patrz tabela I, str. 19):

Podobne wyniki dały larwy jeżokraba.

Z zestawień tych wynika jasno, że ilość larw płynących ku światłom równego natężenia jest prawie równa. Zrozumieć to łatwo, przyjmąwszy, że larwy płynące w równej odległości między obiema lampami równymi, mają z obu stron równe warunki do skierowania się w lewo lub w prawo, prawdopodobieństwo więc równego ich rozdziału jest jednakowe. Trudniej przedstawia się sprawa przy oświetleniu nierównym. Na podstawie obserwacji dróg odbywanych przez larwy spróbujemy jednak choć w przybliżeniu wytłumaczyć tę sprawę, pozostawiając dokładniejsze jej rozpatrzenie późniejszym specjalnym doświadczeniom.

U zwierząt pływających swobodnie muszą nas zainteresować przede wszystkim drogi, wiodące wprost ku jednemu ze światła, i drogi biegnące po wypadkowej aż do kąta rozstrzygnięcia. W tej ostatniej grupie droga pośrodkowa wykazuje, jak widzieliśmy, odchylenie ku lampie silniejszej, co przypomina parabolę, jako wypadkową działania dwóch sił nierównych. Jeżeli teraz weźmiemy pod uwagę okaz dopływający po takiej linii do kąta rozstrzygającego, to widzimy, że jest on bardziej zwrócony ku lampie silniejszej, a więc w miejscu tem istnieje większe prawdopodobieństwo, że się ku niej skieruje. Tu więc możnaby się dopatrywać jednej przyczyny różnicy ilościowej. Wśród zwierząt z pierwszej grupy płynących wprost ku jednemu ze światła, ilościowe stosunki mogłyby być równe. Tak jednak w pierwszym jak i w drugim przypadku może wchodzić w rachubę jeszcze jeden czynnik, a mianowicie stan fizjologiczny wzgl. przystosowanie się do danego okazu, które przy fototaktyzmie dodatnim mogłoby spowodować wybór raczej intensywniejszego światła. Rolę tego czynnika potwierdzałoby następujące doświadczenie: larwy skupiano przy pomocy lampy pomocniczej w środku naczynia przy białym krążku, podłożonym pod dno zbiornika; lampy główne tworzyły z tem miejscem kąt 180° ; po wyłączeniu pomocniczej lampy, a zapaleniu głównych większa część larw zwracała się ku silniejszej, mniejsza ku słabszej. Jak wspomniałem, cała ta sprawa wymaga dalszych obserwacji.

Rozważania ogólne.

Na podstawie opisanych spostrzeżeń możemy się zastanowić, do jakich rodzajów orientacji wypada zaliczyć opisane reakcje. Jeżelibyśmy wzięli pod uwagę reakcje na dwa źródła światła o jednakowym natężeniu, moglibyśmy niemal wszystkie typy reakcji zaliczyć albo do grupy tropotaktycznej, albo do telotaktycznej. Dopiero doświadczenia z dwoma światłami o różnych natężeniach mogłyby, jak słusznie zauważył FRAENKEL ('27), tę kwestję rozwiązać. Gdybyśmy bowiem mieli do czynienia wyłącznie z tropotaktyzmem, musiałyby, w przypadku światel nierównych, wszystkie drogi po zakreśleniu krzywej parabolicznej kończyć się przy świetle silniejszym. Tymczasem wyniki doświadczeń okazały, że wprawdzie większość larw płynie ku światłu silniejszemu, znaczna jednak część zwraca się mimo to ku słabszemu. FRAENKEL tłumaczy podobne odchylenia od „wypadkowej” tem, że zwierzęta odczuwają różnice w intensywności tylko wtedy, gdy siła światel nie przekracza pewnej granicy, skoro zaś granicę tę przekroczy, zachowują się tak, jak gdyby różnic nasilenia nie było. Jako drugi sposób wytłumaczenia owej niezgodności z zasadami orientacji tropotaktycznej wymienia on asymetrię jużto (motorycznych) efektorów, jużto (sensorycznych) receptorów zwierzęcia, które powodują odchylenia w jedną lub w drugą stronę. HENKE sprowadza odchylenia od normy wypadkowej w obu kierunkach wprost do błędów w orientacji samych zwierząt.

Po rozpatrzeniu wszystkich tych poglądów, usiłujących tłumaczyć orientację zwierząt jużto samymi reakcjami tropotaktycznymi, jużto telotaktycznymi, musimy na podstawie wykresów ruchu, otrzymanych przez szereg poprzedników, oraz przy niniejszych spostrzeżeniach, przyjść do przekonania, że nie mamy tu do czynienia bynajmniej z jednym tylko sposobem orientacji, którymby można było wytłumaczyć wszystkie przypadki bez sztucznego naciągania do teorii różnych faktów ze schematem niezgodnych, ale że zachodzą tu bardziej złożone reakcje różnorodnej natury. Zamiast tłumaczyć odchylenia od teoretycznej wypadkowej, czy to błędami w orientacji, czy asymetrii receptorów lub efektorów zwierzęcia, wydaje się prawdopodobniejszym pogląd, że zwierzęta użyte do doświadczeń posiadają możliwość orientacji bądź telotaktycznej, bądź tro-

potaktycznej, zależnie od zespołu warunków zewnętrznych i stanu fizjologicznego¹⁾. Przyjmując możliwość owej dwojakiej orientacji, łatwo można zrozumieć, dlaczego w wynikach wielu doświadczeń mamy obok dróg typowo tropotaktycznych, pokrywających się z teoretyczną wypadkową, drogi wiodące bezpośrednio ku jednemu ze światel, a więc typowo telotaktyczne, oraz że między obiema grupami spotykamy szereg dróg pośrednich, zależnie od przewagi jednego lub drugiego sposobu orientacji u zwierzęcia. Potwierdzałyby ten sposób ujęcia kwestji spostrzeżenia FRAENKLA nad zależnością ilości zwierząt, płynących po wypadkowej i odchylających się od niej, od intensywności światel, a które mają potwierdzać jego przypuszczenia, że zwierzęta tylko wtedy wyczuwają różnice natężenia światła, jeżeli oba bodźce nie są maksymalne. I tak utrzymuje FRAENKEL, że przy słabem świetle świec, oraz przy znacznej różnicy światel — większej niż 4:1 — znacznie więcej okazów „dem Resultantengesetz gehorcht”. W trakcie doświadczeń z larwami homara mogłem zauważyć, że całkiem młode larwy tuż po wylęgnięciu płyną w przeważnej części po linii wypadkowej, rzadziej zaś wprost ku jednemu światłu, gdy tymczasem u starszych stosunek się odwraca.

Możemy nakoniec zaznaczyć, że i w innych gromadach stawonogów istnieją różne sposoby orientacji, zależnie od warunków zewnętrznych i stanu fizjologicznego. Np. u gąsienic bielinka kapustnika stwierdziłem również dwa typy reakcyj na światło, pomimo, że orientacja ich należy do najwyższej grupy mnemotaktycznej (WOJTUSIAK '29, '30). Mianowicie, na stołach pracowni dążyły one wprost ku oknu lub oddalały się od niego, zależnie od stopnia oświetlenia, wykazując reakcje zbliżone do tropotaktycznych, lub też poruszały się pod stałym kątem do promieni świetlnych, a więc menotaktycznie, przy doświadczeniach na wolnym powietrzu lub jasnej werandzie. Podobnie podaje FRAENKEL

¹⁾ Na możliwość tak jednego, jak i drugiego sposobu orientacji zwrócił uwagę BUDDENBROCK ('19), tłumaczy to jednak obecnie ('31) właściwościami oczu. Oświetlenie bowiem części przedniej, odpowiadającej strefie wyraźnego widzenia „Fixierraum”, a więc spełniającej funkcje *fovea centralis*, powodowałoby orientację telotaktyczną, hamowałoby zaś równocześnie odruchy ommatydjów bocznych. Oświetlenie wyłącznie tych ostatnich byłoby przyczyną orientacji tropotaktycznej.

(27b) dla *Elysi* orientację menotaktyczną, wspomina jednak, że i tropotaktyczna znajduje u niej wyraz w drogach po wypadkowej między dwoma światłami.

O przyczynach zmiany jednej orientacji w drugą nic na razie powiedzieć nie możemy; przy zmianie tej musi grać rolę także wiele innych czynników na razie nie poznanych.

Streszczenie wyników.

1°. Drogi larw homara i jeżokraba, płynących ku światłu pomiędzy ciemnymi i jasnymi ekranami, wykazują odchylenia w stronę bocznych ekranów białych.

2°. Pod wpływem dwóch jednakowo silnych żarówek, wszystkie zwierzęta, z którymi eksperymentowano, wykazują trzy główne typy reakcji:

a) płyną wprost ku jednej lampie;

b) płyną zrazu po linii połowiącej kąt, zawarty między punktem wyjścia a lampami, aż do pewnego punktu, w którym zwracają się ku jednemu lub drugiemu światłu;

c) płyną po wypadkowej środkowej, lecz przekroczywszy ów punkt krytyczny, zachowują nadal ten sam kierunek poczem opadają na dno. Pomiędzy temi typami istnieje szereg przejść w postaci linii krzywych o rozmaitych kątach krzywizny.

3°. Kąt, zawarty między zwierzęciem a lampami w chwili zwrotu, wynosi u larw homara 120 — 130°, u larw jeżokraba 90 — 110°, u rozwielitek 90°.

4°. Pod wpływem dwóch światel o stosunku natężenia 1:4 można widzieć również trzy główne typy reakcji:

a) okazy płyną wprost ku jednemu światłu;

b) płyną pomiędzy oboma światłami, droga jednak wykazuje odchylenie ku światłu silniejszemu, a po osiągnięciu pewnego kąta w stosunku do lamp zwracają się ku jednej z nich;

c) płyną poza punkt zwrotny i opadają na dno.

U rozwielitek występuje oprócz tego wyraźnie typ reakcji podobny do reakcji wobec dwóch równych światel, a mianowicie zwierzęta mogą płynąć po linii połowiącej kąt między punktem wyjścia a lampami.

5°. Kąt, pod którym następuje zwrot ku jednej lub drugiej lampie, musi zależeć od położenia oczu w stosunku do całego

ciała, wzgl. do jego osi i wzajemnego stosunku ułożenia części oczu, spełniających fizjologicznie funkcje dokładnego oglądania przedmiotów („Fixierraum“) wzgl. pola trópotaktycznego.

6°. Oko rozwielitki znajdujące się w płaszczyźnie strzałkowej pod kątem mniejszym aniżeli 120—140° względem obu światła, ustawia się w pośrodku między nimi, a więc niejako na wypadkowej, jeżeli kąt ów — przez rozsuniecie lamp — staje się większy, oko zwraca się tylko ku jednej z lamp, ustaje bowiem wówczas możność równoczesnego oglądania obu światła.

Przy obracaniu całego zwierzęcia, unieruchomionego pod szkiełkiem przykrywkowym, ruchy oka wskazują na zależność reakcyj od jego budowy. Z chwilą wyjścia promieni świetlnych poza obręb bliskich ommatydjów następuje odwrócenie go od światła.

7°. Przy działaniu światła o jednakowym natężeniu ilości okazów, płynących ku jednemu lub drugiemu z nich, są równe. Przy światłach różnych (lub równych, ale oświetlających pola różnej rozciągłości) stosunek ilościowy wypada na korzyść silniejszego.

8°. U badanych skorupiaków może zachodzić zarówno orientacja tropotaktyczna jak telotaktyczna; na każdym osobniku można obserwować oba sposoby orientacji. Zależnie od przewagi jednej lub drugiej z nich obraz dróg ulega zmianie.

Piśmiennictwo.

- Alverdes F.** 1924. Das Verhalten positiv phototaktischer Daphnien gegen eine doppelte Lichtquelle. Ztschr. f. wiss. Zool. **123** (247). **Bierens de Haan J. A.** 1921. Phototaktische Bewegungen von Tieren bei doppelter Reizquelle. Versuche an Littorinen und Daphnien. Biol. Ztrbl. **41** (395). **Bohn G.** 1905a. Attractions et oscillations des animaux marins sous influence de la lumière. Mém. de l'Institut. gén. psychol. **1** (1). **Bohn G.** 1905b. Impulsions motrices d'origine oculaire chez les Crustacés. Bull. Inst. Génér. Psychol. **5** (412). **Buddenbrock W. v.** 1919. Versuch einer Analyse der Lichtreaktionen der Heliciden. Zool. Jb. Abt. Allg. Zool. u. Physiol. **37**. **Buddenbrock W. v.** 1922. Untersuchungen über den Mechanismus der phototropen Bewegungen. Wiss. Meeresuntersuchungen. Abt. Helgoland. **15** (1). **Buddenbrock W. v.** Tropismen. 1931. w Gellhorn E.: Lehrb. d. Allg. Physiol. Leipzig. (689). **Ewald W. F.** 1910. Über Orientierung, Lokomotion und Lichtreaktionen einiger Cladoceren und deren Bedeutung für die Theorie der Tropismen. Biol. Ztrbl. **30** (1, 49, 379, 385). **Ewald W. F.** 1914. Ver-

suche zur Analyse der Licht- und Farbenreaktionen eines Wirbellosen (*Daphnia*). Ztschr. f. Sinnesphysiol. **48** (285). **Frisch K. v. u. Kupelwieser H.** 1913. Über den Einfluss der Lichtfarbe auf die phototaktischen Reaktionen niederer Krebse. Biol. Ztrbl. **33** (517). **Fraenkel G.** 1927 a. Phototropotaxis bei Meerestieren. Naturwiss. **15** (117). **Fraenkel G.** 1927 b. Über Photomenotaxis bei *Elysia viridis* Mant. Ztschr. f. vergl. Physiol. **6** (385). **Hadley Ph. B.** 1908. The reaction of blinded Lobsters to light. Amer. Journ. of Physiol. **21** (180). **Henke K.** 1930. Die Lichtorientierung und die Bedingungen der Lichtstimmung bei der Rollassel *Armadillidium cinereum* Zenker. Ztschr. f. vergl. Physiol. **13** (534) **Herter K.** 1927. Reizphysiologische Untersuchungen an der Karpfenlaus (*Argulus foliaceus* L.) Ztschr. f. vergl. Physiol. **5** (283). **Hess C.** 1910. Neue Untersuchungen über den Lichtsinn bei wirbellosen Tieren. Arch. f. d. ges. Physiol. **136** (286). **Jordan H. J.** 1929. Allgemeine vergleichende Physiologie der Tiere. Berlin - Leipzig (626). **Just G.** 1926. Untersuchungen zur Frage der Gültigkeit des Resultanten-Gesetzes. Verh. d. D. Zool. Ges. **31** (162). **Just G.** 1927. Untersuchungen über Ortsbewegungsreaktionen I. Über das Wesen der phototaktischen Reaktionen von *Asterias rubens*. Ztschr. f. vergl. Physiol. **5** (247). **Kühn.** 1919. Die Orientierung der Tiere im Raum. Jena. **Kühn A.** 1929. Phototropismus und Phototaxis der Tiere. Hdb. d. norm. u. path. Physiol. **12/1** (17). **Loeb J.** 1913. Die Tropismen, w Winterstein: Hdb. vergl. Physiol. **4** (451). **Radl E.** 1901. Über den Phototropismus einiger Arthropoden. Biol. Ztrbl. **21** (75). **Rose M.** 1929. La question de tropismes. Paris. **Wagler E.** 1926/27. *Branchiopoda, Phyllopora* = Kiemenfüßer. w Kükenthal - Krumbach: Hdb. d. Zool. Berlin - Leipzig (305). **Wojtusiak R. J.** 1929 a. Über die Reaktionsweise von *Asterias rubens* L. bei chemischer Doppelreizung. Acta Biol. Exper. **3** (271). **Wojtusiak R. J.** 1929 b. Über die Raumorientierung bei *Pieris*-Raupen. Bull. Acad. Sc. Cracovie. (59). **Wojtusiak R. J.** 1930. Weitere Untersuchungen über die Raumorientierung der Kohlweisslingraupen. Bull. Acad. Sc. Cracovie (629).

[Instytut Chemji Lekarskiej Uniwersytetu we Lwowie].

P. Ostern i J. K. Parnas.

O powstawaniu amoniaku w związku z czynnością serca.

Untersuchungen über die Ammoniakbildung im Herzen.

Rękopis nadesłany w dniu 15.V. 1931 r.

Da die Untersuchungen von PARNAS und seinen Mitarbeitern erwiesen hatten, dass bei jeder Zustandsänderung des quergestreiften Muskels eine Ammoniakbildung stattfindet, lag die Vermutung nahe, dass auch bei der Arbeit des Herzens Ammoniak gebildet werden könnte. In einer Reihe von Versuchen an überlebenden, isolierten Froschherzen ist hier diese Frage studiert worden und in der Tat liess sich eine Ammoniakbildung feststellen. Binnen 24 Stunden bildet das isolierte Froschherz 15—30 mg% $\text{NH}_3\text{-N}$. Diese Ammoniakbildung scheint der geleisteten Arbeit proportional zu verlaufen. Als Quelle des gebildeten Ammoniaks kam in erster Linie das Adeninnukleotid in Betracht, welches von POHLE auch im Herzmuskel vom Rind nachgewiesen worden ist. Am Froschherzen konnte infolge der Kleinheit des Objektes die Untersuchung der Purinbasen nicht vorgenommen werden, so dass wir den Gehalt an Adeninnukleotid auf Grund der traumatischen Ammoniakbildung in Froschherzen zu schätzen versuchten. Der Verlauf dieses Prozesses im Herzmuskel des Frosches ist ungefähr 100-mal langsamer, als im Skelettmuskel, die gebildete Ammoniakmenge aber ist nicht grösser und beträgt etwa 6—7 mg% $\text{NH}_3\text{-N}$. Diese maximale Menge wird nach 2—3 Stunden erreicht. Es ist dann festgestellt worden, dass selbst nach 24-stündiger Arbeit die Menge des traumatisch-postmortal gebildeten Ammoniaks sehr wenig abnimmt. Falls also das Adeninnukleotid die Muttersubstanz des im Herzen gebildeten Ammoniaks sein sollte, müsste man annehmen,

dass ähnlich wie im quergestreiften, ermüdungslos gereizten Muskel die Ammoniakbildung auf Kosten des Adeninnukleotides gehe, welches aus seinem Spaltungsprodukt — der Inosinsäure- und einer unbekanntem Aminogruppen-spendenden Substanz in oxydativen Ruhepausen des Herzens wieder aufgebaut werde.

Um dennoch einen Einblick über das Verhalten der Purinkörper zu gewinnen ist eine orientierende Bestimmung der Purinbasen nach der von PARNAS beschriebenen Methode in frisch präparierten Kaninchenherzen, und 4 Stunden nach ihrer Zerreibung mit Quarzsand und Wasser vorgenommen worden. Die traumatische Ammoniakbildung verhielt sich ähnlich, wie im Froschherzen, war also ziemlich bedeutend. Obwohl gleichzeitig eine Desaminierung des Adeninnukleotides festgestellt wurde, so war dennoch seine Menge zu gering, um die Ammoniakbildung zu decken. Der Gehalt an Adeninnukleotid betrug 11 mg% Adenin-N. Ausser der Desaminierung konnte auch eine Dephosphorylierung der Nukleotide in Kaninchenherzen festgestellt werden, ein Vorgang, der unter ähnlichen Versuchsbedingungen in quergestreiften Muskeln nicht stattfindet. Wenn die Verhältnisse des Kaninchenherzens auf das Froschherz zu übertragen wären, so wäre also auch in diesen der Gehalt an Nukleotid für die Deutung der traumatisch postmortalen Ammoniakbildung nicht hinreichend. Um über die Fähigkeit, Adeninnukleotid abzubauen eine Aufklärung zu gewinnen, setzten wir dieses schlagenden Froschherzen zu.

Hierbei stiessen wir auf die mächtige Herzwirkung dieser Substanz, die früher von DRURY und SZENT GYÖRGYI an Warmblüterherzen in anderer Form beobachtet worden ist. Diese Herzwirkung lässt sich folgendermassen zusammenfassen: kleine Mengen von Adeninnukleotid (100γ — $10^{-3} \gamma$) bewirken einen Herzstillstand, nach dem das Herz nach kürzerer oder längerer Pause seine Arbeit wieder aufnimmt. In der Wirkung verschiedener Adenosinphosphorsäurepräparate und Adeninnukleotidpyrophosphorsäure aus Muskeln — zeigten sich nur unbedeutende quantitative Unterschiede: insbesondere, was das Adeninnukleotid aus Hefe anbetrifft, stand seine Wirksamkeit dem Adeninnukleotid aus Muskeln nur wenig nach, was in Gegensatz zu den Beobachtungen von DRURY und SZENT GYÖRGYI an Warmblüterherzen steht. Die Wirkung der verschiedenen Adeninnu-

kleotide auf das Froschherz war die eines Potentialgiftes im Sinne LÖWES. Wir konnten dies auf folgende Weise zeigen: wir setzten dem schlagenden Froschherzen eine bestimmte Dosis Adeninnukleotid zu, beobachteten den Herzstillstand und nach der Wiederaufnahme der Tätigkeit durch das Herz entnahmen wir die Flüssigkeit möglichst genau, ersetzten sie durch eine frische Ringerlösung und setzten sie nach einer Stunde wieder dem Herzen zu. Es entwickelte sich wie beim ersten Male das typische Bild des Herzstillstandes und langsamer Erholung, was sich wohl nur dadurch erklären lässt, dass ein Ausgleich der Konzentrationen die Giftwirkung beseitigt.

Liessen wir jedoch selbst eine grössere Nukleotidmenge durch 15 Stunden im schlagenden Herzen, so konnte dieser Wiederholungseffekt weder an demselben Herzen, noch an anderen erzielt werden. Damit konnte also der Beweis geführt werden, dass das Adeninnukleotid im Herzen irgendwie chemisch umgewandelt werde. Die Wirkung des Adeninnukleotides ist eine unmittelbare Muskelwirkung, sie bleibt nämlich bei vollständiger Atropinisierung und Nikotinisierung des Herzens erhalten. Glukose- und Phosphorzusatz zur Ringerlösung, sowie geringe Schwankungen der Wasserstoffionenkonzentration sind gleichfalls ohne Einfluss. Was die chemische Umwandlung des Adeninnukleotides im Herzen anbetrifft, so beruht sie wahrscheinlich auf der Abspaltung des Ammoniaks, da wir einen Zuwachs der Ammoniakwerte nach Adeninnukleotidzusatz beobachten konnten. Jedenfalls ist die dadurch bewirkte Alkalinität, wie dies DRURY und SZENT GYÖRGYI annehmen, sicherlich nicht die Ursache der mächtigen Herzwirkung, denn dann müsste sie ja im Laufe des Versuches zu- und nicht abnehmen. Die Empfindlichkeit der Froschherzen nimmt in der Regel mit der Zeit der Überlebensdauer des isolierten Herzens stark zu. Die Steigerung der Temperatur hat einen ähnlichen Einfluss. Interessant ist es, dass die Menge des im Froschherzen enthaltenen Adeninnukleotides — Ähnlichkeit der Zusammensetzung mit dem Kaninchenherzen vorausgesetzt, — so gross ist, dass sie selbst die refraktärsten Herzen zum Stillstand bringen könnte.

I.

Doświadczenia PARNASA i jego współpracowników wykazały, że każdej czynności mięśnia prążkowanego towarzyszy wytwarzanie amonjaku. Źródłem wytworzonego amonjaku jest nukleotyd adeninowy, wykryty w mięśniach królika przez EMBDENA i panią ZIMMERMANN ('27), ulegający rozkładowi na kwas inozynowy i amonjak. Z tego samego źródła pochodzi też amonjak krwi (MOZOŁOWSKI '29). Stwierdzenie obecności nukleotydu adeninowego w mięśni sercowym wołu (POHLE '29) nasunęło dlatego przypuszczenie, że także podczas pracy serca powstaje amonjak. Staraliśmy się o tem przekonać w doświadczeniach na przeżywających, izolowanych sercach żabich. Preparaty sercowe, sporządzone według STRAUBA, nadawały się szczególnie do tych badań, ponieważ można było zgóry przewidzieć, że ilości wytworzonego amonjaku będą nieznaczne i że dadzą się wykazać tylko w długotrwałych doświadczeniach. Istotnie też w ciągu 6-godzinnej pracy serca powstał amonjak w ilościach, nadających się już do analizy. Pozatem zbadano przebieg amonjogenezy urazowej w mięśni sercowym żaby.

II.

Metodyka.

Przeprowadzono dwa rodzaje doświadczeń — pierwszy dla stwierdzenia powstawania amonjaku podczas pracy serca, drugi dla zbadania przebiegu amonjogenezy urazowej w mięśni sercowym. Do I grupy doświadczeń używano dużych i średnich żab. Izolowane preparaty sercowe, sporządzano według przepisu FÜHNERA, wypłukiwano płynem RINGERA dokładnie ze krwi i umieszczano w naczynkach szklanych o podwójnym płaszczu zewnętrznym, przez który przepuszczano wodociągową celem utrzymania jednostajnej temperatury. Serca znajdowały się w tem naczynku bezpośrednio nad poziomem płynu RINGERA, przez który przepływał od dołu prąd tlenu, zwilżając w ten sposób serce. Temperatura wahała się w ciągu doświadczeń w granicach 14—15½° C (doświadczenia przeprowadzano w lecie). Po określonym czasie zbierano plyn RINGERA z kanjuli i zewnętrznego naczynka i oznaczano w nim amonjak. Na końcu zaś doświadczenia oznaczano także zawartość amonjaku w mięśni sercowym, który rozcierano z piaskiem kwarcowym i boranem sodowym. Do oznaczeń amonjaku stosowano metodę PARNASA i HELLERA ('24). Do dru-

giej grupy doświadczeń używano przeważnie żab małych. Preparowano możliwie szybko kilka serc (na jednym nie można dokładnie oznaczyć amonjaku ze względu na małą jego zawartość), zmywano płynem RINGERA ze krwi, suszono bibułą, ważono i rozcierano z piaskiem kwarcowym i wodą dystylowaną. Roztartą miazgę umieszczano w probówkach, chłodzonych bieżącą wodą, zadawano po określonym czasie boranem sodowym i oznaczano amonjak, jak poprzednio.

Do doświadczeń I grupy używano tylko takich preparatów sercowych, które dawały znaczne wychylenia w kanjuli (przynajmniej na wysokość $\frac{1}{2}$ cm.). Częstość akcji serca wahała się przeważnie w granicach 30—38 uderzeń na minutę. W ciągu doświadczeń okazały się pewne nieregularności w czynności serca bezpośrednio po sporządzeniu preparatu. Dlatego też począwszy od 4 doświadczenia zmieniano po pierwszej godzinie płyn RINGERA i dopiero od tej chwili liczono doświadczenie. Wyniki otrzymane z tej serii doświadczeń zestawione są w następujących dwóch tabelach.

Tabela I.

Amonjak wytworzony podczas pracy serca i zawartość amonjaku w mięśniu sercowym po pracy.

Ammoniakkbildung im Froschherz und Gehalt des Herzmuskels an Ammoniak nach vollendeter Arbeit.

Liczba protokółu Protokollnummer	Waga serca Gewicht des Herzens mg	Czas pracy Arbeitszeit godziny std.	Wytworzony NH ₃ -N Gebildeter Ammoniak-N mg	Zawartość NH ₃ -N w mg% po pracy w mięśniu sercowym Gehalt des Herzmuskels an Ammoniak-N in mg% nach vollendeter Arbeit
1	150	24	0.023	
2	170	48	0.050	4.0 ¹⁾
		18	0.021	
3	120	26	0.028	2.06
4	200	19	0.018	2.92
		6	0.011	
		22	0.030	2.2
5	176	6	0.0075	
		24	0.0285	1.48
6	125	18	0.028	1.8
7	100	18	0.022	2.0
8	70	18	0.0158	2.2

Jak z tabel powyższych wynika, serce wytwarza podczas pracy, podobnie jak mięsień prądkowany, dość znaczne ilości amonjaku. Z doświadczeń Nr. 1, 2, 4, 5. wynikałoby, że są one proporcjonalne do wykonanej pracy. W doświadczeniach tych bowiem wykazują wartości amonjaku okresowo oznaczane zupełną zgodność.

¹⁾ Serce znajdowało się w czasie oznaczania w stanie stężenia.

Tabela II.

Wartości amonjaku, przeliczone na 24-godzinną pracę.
Während 24-stündiger Herztätigkeit gebildete Ammoniakmengen.

Liczba protokółu <i>Protokollnummer</i>	Bezwzględna ilość NH_3 -N podczas 24 godz. <i>In 24 stündiger Arbeit gebildete absolute NH_3-N-Menge</i> mg	NH_3 -N przeliczony na 24 godz. pracę i 100 g mięśnia sercowego <i>Auf 24 stündige Arbeit und 100 g Herzmuskel berechnete NH_3-N-Menge</i> mg%
1	0.023	15.3
2	0.026	15.3
3	0.023	19.2
4	0.033	16.5
5	0.0285	16.2
6	0.035	28.0
7	0.029	29.0
8	0.021	30.0

Fakt, że bezwzględnie wytworzone ilości amonjaku podczas pracy serca zgadzają się w poszczególnych doświadczeniach znacznie lepiej (różnice do 50%), aniżeli wartości amonjaku przeliczone na 100 g mięśnia sercowego i 24-o godzinną pracę (różnice do 100%), polega prawdopodobnie na tem, że przy równym wypełnieniu kanjuli płynem RINGERA małe serce wykonywało stosunkowo znacznie większą pracę, aniżeli duże. Zresztą nie jest wyłączone, że — nawet *ceteris paribus* — wytwarzanie amonjaku nie jest proporcjonalne do wagi mięśnia sercowego.

Po stwierdzeniu wytwarzania amonjaku podczas pracy serca wyłoniła się kwestja jego pochodzenia. Jak wiadomo, PARNAS

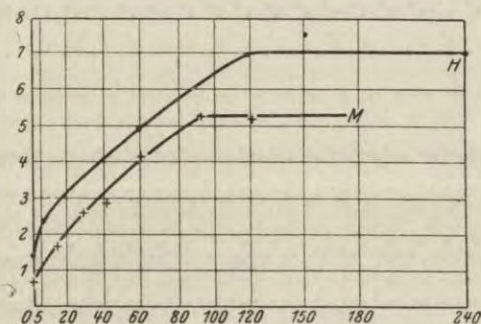
Tabela III.

Zawartość amonjaku w mięśniu sercowym żaby po rozruci z piaskiem kwarcowym i wodą.
Ammoniakgehalt des Herzmuskels des Frosches nach Zerreibung mit Quarzsand und Wasser.

Zawartość początkowa NH_3 -N w sercu <i>Anfangsgehalt des Herzmuskels an NH_3-N</i> mg%	5 minut <i>5 Min.</i>	1 godzina <i>1 Std.</i>	2 godziny <i>2 Std.</i>	2½ godzin <i>2½ Std.</i>	4 godziny <i>4 Std.</i>
	po rozruci — <i>nach der Zerreibung</i>				
1.4 (4 serca <i>Herzen</i>) = 284 mg)	2.38 (3 serca <i>Herzen</i>) = 199 mg)	5.0 (4 serca <i>Herzen</i>) = 306 mg)	7.06 (4 serca <i>Herzen</i>) = 256 mg)	7.4 (3 serca <i>Herzen</i>) = 268 mg)	7.0 (3 serca <i>Herzen</i>) = 242 mg)
1.4 (4 serca <i>Herzen</i>) = 310 mg)	2.44 (3 serca <i>Herzen</i>) = 266 mg)	5.0 (3 serca <i>Herzen</i>) = 234 mg)	6.84 (3 serca <i>Herzen</i>) = 236 mg)		

i MOZOŁOWSKI wykazali, że substancja macierzysta amonjaku ulega po roztarciu mięśni z piaskiem kwarcowym i wodą bardzo szybkiemu rozkładowi. Proces ten przebiega w mięśniach szkieletowych żaby tak szybko, że podczas 2 (najwyżej 5) minut powstają maksymalne ilości amonjaku, nie wzrastające już nawet po dłuższym staniu miazgi mięśniowej. Wytworzony w ten sposób amonjak stanowi poniekąd miarę substancji macierzystej. Przebieg tego procesu w mięśniu sercowym żaby wskazuje tabela III.

Jeszcze lepiej uwidocznia się on w krzywej przebiegu urazowego powstawania amonjaku w mięśniu sercowym, do której celem porównania dołączono krzywą dla mięśnia szkieletowego.



Rys. 1. Przebieg krzywych urazowego powstawania amonjaku w mięśniu sercowym i szkieletowym żaby.

Fig. 1. Verlauf der traumatischen Ammoniakbildung im Herz- und Skelettmuskel des Frosches. H = Herzkurve. M = Muskelkurve.¹⁾ Abszisse: Für die Herzkurve Zeit in Minuten, für die Muskelkurve Zeit in Sekunden. Ordinate: NH₃-N-Gehalt in mg%.

Krzywe te wykazują wyraźnie zasadniczo odmienny przebieg obydwu spraw. Układ amonjakerodny mięśnia sercowego rozkłada się około 100 razy wolniej, a maksimum amonjaku powstaje dopiero po 2 mniej więcej godzinach. Zjawisko to polega może na tem, że mięsień szkieletowy nastawiony jest na krótsze, ale za to bez porównania większe wysiłki, aniżeli mięsień sercowy, a układ amonjakalny, należący do chemizmu skurczu mięśniowego, jest bardziej gotowy do rozpadu. Ilości amonjaku,

¹⁾ Krzywa urazowego powstawania amonjaku w mięśniu szkieletowym żaby pochodzi z pracy Parnasa i Mozołowskiego (Biochem. Ztschr. 184, 413, 1927).

wytworzone podczas pracy mięśnia sercowego, są bardzo znaczne w stosunku do tych, jakie tworzy mięsień prążkowany, jakkolwiek ilości urazowo powstającego amonjaku są tylko nieznacznie większe. Zachodzi tu prawdopodobnie to samo zjawisko, jakie stwierdził PARNAS w długotrwałych doświadczeniach na mięśniach żaby, drażnionych przy dostatecznym dopływie tlenu w takich odstępach czasu, aby znużenie nie wystąpiło. W doświadczeniach tych gromadziły się znaczne ilości amonjaku, mimo że nie ubywało nukleotydu adeninowego. PARNAS tłumaczył to w ten sposób, że amonjak powstaje w procesie nieodwracalnym podczas skurczów mięśniowych, natomiast reaminacja kwasu inozynowego następuje kosztem jakichś grup aminowych, a nie odszczepionego już raz amonjaku. Można więc przypuszczać, że także w mięśniu sercowym amonjak pochodzi wprost od nukleotydu adeninowego, który w tlenowej fazie wypoczynkowej odbudowuje się z kwasu inozynowego i nieznanej bliżej substancji, dostarczającej grup aminowych.

Oznaczenia przemian nukleotydu adeninowego w przeżywającym sercu żabiem nie można było przeprowadzić ze względu na wielkość obiektu, gdy natomiast próbowaliśmy obserwować te przemiany na nukleotydzie adeninowym, który dodawaliśmy do bijącego serca żaby, napotkaliśmy na trudności eksperymentalne, wynikające z potężnego działania nasercowego tego ciała; działanie to było po raz pierwszy obserwowane i dokładniej zbadane przez DRURY'EGO i SZENT GYÖRGYI'EGO na sercu zwierząt stałocieplnych, a dalsze prace nad wpływem nukleotydu adeninowego, albo też wyciągów sercowych lub mięsnych na serce, ogłosili DRURY, ROTHMANN, RIGLER i SCHAUMANN.

Nie znamy doświadczeń nad działaniem nukleotydu adeninowego na serca zmiennocieplnych; wykonaliśmy je z jednej strony, by przezwyciężyć wspomniane trudności, a z drugiej ze względu na ciekawość zjawiska samego, które w wielu punktach różni się od obserwacji DRURY'EGO i SZENT GYÖRGYI'EGO nad sercami stałocieplnych. Działanie nasercowe ciała, które samo znajduje się obficie w tkance sercowej, posiada znaczenie nie tylko farmakologiczne, szczególnie jeżeli substancja ta wywiera tak mnogie działania, jak nukleotyd adeninowy i jego kwas dwufosforowy.

IV.

O stosunku, zachodzącym między wytwarzaniem amonjaku podczas pracy serca do wytwarzania amonjaku przez mechaniczne zniszczenie, usiłowaliśmy się zorientować w następujących doświadczeniach:

Oznaczano wytwarzanie amonjaku przez serce podczas 19–24 godz. pracy, rozcierano następnie serca i po pewnym czasie, po którym według doświadczenia ustawało urazowe powstawanie amonjaku, określano zawartość amonjaku w miądzce sercowej. Wyniki doświadczeń zestawione są w tabeli IV.

Tabela IV.

Liczba protokółu	Waga serca	Wytworzony $\text{NH}_3\text{-N}$	Wytworzony $\text{NH}_3\text{-N}$ w mg%	Czas pracy serca w godzinach	Czas urazowego powstawania amonjaku w godzinach	Wytworzona ilość $\text{NH}_3\text{-N}$ urazowego
Protokollnummer	Gewicht des Herzens	Gebildete $\text{NH}_3\text{-N}$ Menge	Gebildete $\text{NH}_3\text{-N}$ Menge in mg%	Arbeitszeit des Herzens in Stunden	Zeit der traumatischen $\text{NH}_3\text{-N}$ Bildung in Stunden	Gebildete traumatische $\text{NH}_3\text{-N}$ Menge in mg%
	mg	mg				
3	184	0.024	13.3	23	1½	4.5
5	200	0.025	12.5	19	3	5.5
6	130	0.013	10.0	19	3	5.8
7	140	0.029	20.7	24	3	5.7

Wartości, otrzymane po trzygodzinnym urazowym powstawaniu amonjaku dają średnią 5.66 mg %, z nieznacznym tylko odchyleniem. Różnią się zatem niewiele od średniej wartości pośmiertnego powstawania amonjaku z miesięcy zimowych. Wytworzenie 10–20 mg % amonjaku na 100 g tkanki zmniejszyło zatem ilość substancji, dostarczającej amonjak w procesie urazowo pośmiertnym conajwyżej w stopniu, wynoszącym nie więcej, jak 20% amonjaku czynnościowego. Ze powstawaniem amonjaku w rozrartym mięśniu sercowym po 3 godzinach postępuje bardzo nieznacznie, ustalono także dla miesięcy zimowych w następującym doświadczeniu: roz tarto po 3 serca żab z piaskiem kwarcowym i wodą i pozostawiono obie porcje w temp. 10° C, pierwszą przez 3½ godzin, drugą 6½ godzin. Pierwsza zawierała: 6.47 mg % $\text{NH}_3\text{-N}$, druga 6.93 mg %.

Związek między purynami mięśnia sercowego a urazowo-pośmiertnym powstawaniem amonjaku zbadano na sercach króliczych. Podane tu doświadczenia mają narazie tylko znaczenie orientacyjne i prowadzi się je dalej.

Serca królików świeżo zabitych rozcierano szybko z kwasem trójchlorooctowym (wartość spoczynkowa) albo z drobną ilością wody i piasku kwareowego (wartość urazowo-pośmiertna). Obydwie porcje pozostawiono przez 4 godziny w temp. 11° C; porcję traumatyczną strącono również kwasem trójchlorooctowym i przerobiono dokładnie w sposób, podany przez PARNASĄ (26) dla amonjaku i puryn mięśniowych. W określonej części wyciągu wodnego oznaczono amonjak, w tym samym wyciągu oznaczono następnie puryny strącalne octanem uranilowym (frakcja A), puryny nie dające się strącić tym odczynnikiem (frakcja B), wreszcie puryny zawarte w osadzie z kwasu trójchlorooctowego. W poszczególnych frakcjach purynowych oznaczono po oddzieleniu ciał strącalnych amonjakiem (gwaniny) strącalną przez kwas pikrynowy adeninę i nie dające się wytrącić oksypuryny. Zamiast strącenia puryn amonjakalnym, odczynnikiem srebrnym oczyszczono je przez drugie strącenie według KRÜGERA.

Wynik doświadczenia podaje tabela V.

Tabela V.

	Amonjak I: 2.3 mg %				Amonjak II: 7.8 mg %			
	Gwani- na	Adeni- na	Oksy- puryny	Suma	Gwani- na	Adeni- na	Oksy- puryny	Suma
	Guanin mg % N	Adenin mg % N	Oxypu- rine mg % N	Summe mg % N	Guanin mg % N	Adenin mg % N	Oxypu- rine mg % N	Summe mg % N
Frakcja A. <i>Fraktion A</i>	1.7	6.6	3.0	11.3	1.6	—	1.8	3.4
„ B. „ <i>B</i>	1.2	—	3.1	4.3	2.1	2.5	10.1	14.7
„ C. „ <i>C</i>	1.9	4.2	13.2	19.3	1.7	1.2	14.9	17.8
	4.8	10.8	19.3	34.9	5.4	3.7	26.8	35.9
Amonjak II — I								5.5
								41.4

Suma azotu purynowego w oddzielnem oznaczeniu.

Purin-N summarisch bestimmt.

		I mg% N	II mg% N
Frakcja A	<i>Fraktion A</i>	10.0	3.4
„ B	„ <i>B</i>	2.5	11.9
„ C	„ <i>C</i>	20.8	19.0
		32.3	34.3

Przy dyskusji wyników chcielibyśmy zwrócić uwagę tylko na te liczby, które wydają nam się niewątpliwe, ponieważ różnią się tak istotnie w porcji I i II: zdaje się, że przez proces urazowo-pośmiertny prawie cała adenina przeszła ze stanu nukleotydowego bądźto w oksypuryny, bądźteż w niestrącalne octanem uranilowym połączenia. Przemiany te możemy pojmować z jednej strony jako dezaminację, z drugiej jako odszczepienie reszty kwasu fosforowego, a dalsze wyjaśnienie tej sprawy należy pozostawić doświadczeniom, przeprowadzonym na większych sercach. Musimy jednakże podkreślić, że w tych warunkach w mięśniach szkieletowych nie ma odszczepienia kwasu fosforowego. Dla różnorodności rozkładu tych samych nukleotydów w różnych, blisko pokrewnych narządach u rozmaitych zwierząt istnieje szereg znanych analogij w pracach szkoły W. JONESA.

Musimy podkreślić, że — założywszy oczywiście podobieństwo składu serca żaby i królika i przy wykazaniu podobieństwa urazowo-pośmiertnego powstawania amonjaku — całkowita zawartość adeniny jest zbyt mała, by pochodne adeninowe uważać za ciała macierzyste powstałego amonjaku. Liczby nasze dla nukleotydu adeninowego niewiele się zresztą różnią od wartości, które DRURY i SZENT GYÖRGYI podają na podstawie oceny farmakologicznej. Według ich oceny zawartość nukleotydu adeninowego wynosi 9.6 mg azotu w 100 g tkanki, gdy natomiast my znajdujemy w wyciągu trójchlorooctowym 6.6 mg%, przyczem wszystkie źródła błędów naszych doświadczeń idą in minus. Zarówno jednak wartości tych autorów, jakoteż nasze, są niewystarczające dla wytłumaczenia powstania przeszło 5 mg% $\text{NH}_3\text{-N}$ urazowo-pośmiertnego.

V.

Działanie i przemiany nukleotydu adeninowego badaliśmy na przeżywających sercach żabich, bijących na kanjuli STRAUBA-FÜHNERA.

Opiszemy pokrótce technikę doświadczeń: używamy kanjuli, która podobnie, jak kanjula FÜHNERA, jest prosta, podobnie szeroka, jak STRAUBA (średnica 15 mm, o ostrem przejściu w część zwężoną, która również jest możliwie szeroka). W późniejszych doświadczeniach zapisywaliśmy zarówno czynność przedsionków, jakoteż komory. Przy sporządzeniu takich pre-

paratów sercowych podnosiliśmy serce na kanjuli po wprowadzeniu jej do komory i przewiązaniu aorty, a następnie podwiązaliśmy długą nitką żyłę główną dolną i przecinaliśmy ją. Nitka służyła do przenoszenia ruchu przedsionków na lekką dźwignię. Nitkę tę przeprowadzaliśmy przez otwór wydmuchany w szklanym płaszczu naczynia FÜHNERA, a następnie przez mały bloczek na dźwignię. Skurcz przedsionków i komór powiększaliśmy w jednakowym stopniu.

W sercach żabich, bijących na kanjuli STRAUBA ujście przedsionkowo-komorowe nie jest szczelne, co wynika już stąd, że działanie nukleotydu adeninowego, które zaczyna się od przedsionków na wrażliwych preparatach sercowych występuje prawie natychmiast po wprowadzeniu go przez kanjule do komory. Używaliśmy następujących preparatów nukleotydu adeninowego:

- 1) nukleotyd adeninowy zwierzęcy otrzymany z mięśni królika według przepisu EMBDENA i ZIMMERMANN (27) ¹⁾,
- 2) nukleotyd adeninowy zwierzęcy otrzymany z krwi wieprzowej według przepisu HOFFMANN ¹⁾,
- 3) pyrofosforan adenilowy z mięśni,
- 4) nukleotyd adeninowy z kwasu nukleinowego drożdżowego, otrzymany metodą nadmanganjanową JONESA ²⁾,
- 5) nukleotyd adeninowy z kwasu nukleinowego drożdżowego, który dostarczyła nam firma G. HENNING z Berlina.

Spostrzeżenia DRURY'EGO i SZENT GYÖRGY'EGO na sercach stałocięplnych, dają się w sposób następujący streścić:

Po dożylnem wstrzyknięciu ułamki mg nukleotydu adeninowego powodują u świnki morskiej krótki blok sercowy; u kota 50 mg nukleotydu powoduje przemijające zwolnienie czynności serca, pochodzenia zatokowego, u królika dopiero 100 lub więcej mg. U psa stwierdza się bradykardję zatokową i zaburzenia w przewodnictwie. Adenozyna i pyrofosforan adenilowy działają podobnie. Działanie jest niezależne od nerwu błędnego, pozostaje niezmienione po zupełnem zatruciu serca atropiną. Nukleotyd adeninowy z kwasu nukleinowego drożdżowego jest nieczynny, natomiast w adenozynach różnica ta nie zaznacza się. Ze względu na praktyczne znaczenie szczególnie ważne jest działanie adenozyny i nukleotydu adeninowego, rozszerzające naczynia wieńcowe serca, zbadane szczególnie przez DRURY'EGO.

Według naszych doświadczeń przedstawia się działanie nukleotydu adeninowego na izolowane serce żaby w sposób następujący:

¹⁾ Preparaty 1 i 2 zawdzięczamy Doc. Drowi MOZOŁOWSKIEMU i Dr. MROCZKIEWICZÓWNI; identyczność obu nukleotydów wobec dezaminacji mięśniowej została wykazana w pracy MROCZKIEWICZÓWNY z tego zakładu. Inny preparat nukleotydu adeninowego oraz pyrofosforan adenilowy zawdzięczamy Doc. Dr. LOHMANNOWI z Heidelbergi.

²⁾ Preparat ten zawdzięczamy ś. p. Drowi MOTYLEWSKIEMU.

Jeżeli do serca żaby, bijącego na kanjuli, dodamy najmniejszą czynną dawkę nukleotydu adeninowego albo jego pyrofosforanu, to spostrzega się przeważnie następujące zmiany: po kilku lub kilkunastu skurczach, które następują w coraz to wolniejszym, ale zupełnie prawidłowym rytmie, przychodzi do przerwy w akcji serca, która następuje po skurczu komorowym. Zależnie od wrażliwości serca — o tem będzie w dalszym ciągu obszernie mowa — wywołują ten skutek dawki minimalne od 10^{-3} — 100γ ¹⁾ w 1 cm^3 płynu RINGERA: w określonym stanie serca wielkość dawki minimalnej jest ściśle określona, z tem zastrzeżeniem, że bezpośrednio po zadziałaniu i wypłókanu czynnej dawki nukleotydu adeninowego, potrzeba nieco większej ilości, by wywołać ten sam efekt. Jeżeli zatem wywołaliśmy np. przez $1/100\gamma$ przerwę w akcji serca, a po wypłókanu go płynem RINGERA serce bije znowu regularnie, to po godzinie osiągniemy przez tę samą dawkę podobny efekt; nie wystąpi on jednak po 5' albo po 10'. To samo odnosi się także do mniej czułych preparatów sercowych.

I tak np. (w doświadczeniu, przedstawionem na rys. 1) po przerwie w akcji serca, trwającej 2', po dawce 10^{-5} mg nukleotydu przychodzi do skurczu serca, który zupełnie regularnie rozpoczyna się od zatoki żyłnej; po krótszym czasie (w tem dośw.—45'') następuje drugi skurcz, po dalszych 20'' trzeci. W przyspieszonym tempie serce powraca do pierwotnej szybkości tętna. W tym okresie nie zauważyliśmy nigdy bloku sercowego ani też izolowanego skurczu przedsionkowego lub komorowego. Powrót do normalnego tętna można przyspieszyć przez przepłókanie serca płynem RINGERA; przeważnie widzi się po tym zabiegu szybszą i silniejszą akcję, aniżeli przed zadziałaniem na serce nukleotydu adeninowego.

Po dawkach, które dla danego serca są mniejsze, aniżeli te, które wstrzymują jego czynność, spostrzega się albo przejściowe zwolnienie czynności serca, albo brak wszelkiego efektu. Jeżeli daje się dawki większe, to wywołują one naogół zarówno przedłużenie przerwy do pierwszego uderzenia serca, jakoteż przedłużenie następujących pauz, zawsze jednak powraca czynność serca, rzadziej nawet po przerwach 20 minutowych.

¹⁾ $\gamma = 10^{-6}\text{ g} = 10^{-3}\text{ mg}$.

Dla obrazu zatrzymania akcji serca jest bardzo charakterystyczne, że przedsionek — mówimy tu zawsze o przedsionku prawym — jest zupełnie porażony i rozdęty ponad stosunki fizjologiczne, pomimo, że pozostaje pod nieznacznym ciśnieniem niecałego centymetra słupa wody. Jeżeli przerwa w akcji trwała kilka minut i zbliża się czas, w którym przy danym preparacie i danej dawce serce zwykle zaczyna bić, wystarczy niekiedy odjąć nieco płynu z kanjuli, by wywołać pierwszy skurcz, po którym przedsionek powoli się opróżnia i dochodzi do pierwotnego napięcia. Musimy jednak szczególnie podkreślić, że w pierwszym okresie zatrzymania akcji serca podniety mechaniczne nie wywołują ani skurczu przedsionka, ani też komory. Skurcze przedsionkowe i komorowe są podczas działania nukleotydu wyraźnie zwolnione; zaburzeń w przewodnictwie przedsionkowo-komorowym nie mogliśmy zauważyć przy pomocy naszych środków.

Wspomnieliśmy o tem, że wrażliwość serc żabich wobec nukleotydu adeninowego waha się w szerokich granicach. Od czego ona zależy, o tem nic pewnego nie wiemy. Zauważyliśmy tylko następującą zależność: w izolowanem sercu żabiem dawka minimalna, powodująca zahamowanie akcji serca, zmniejsza się wyraźnie w miarę czasu przeżywania serc. Szczególnie wyraźnie zaznacza się to w doświadczeniu № 30 z 4—6 marca; preparat sercowy z żaby wodnej, sporządzony 4 marca o godz. 16-ej, ustaje o godz. 17-ej po podaniu 1 γ nukleotydu adeninowego (z mięśni) na 65"; w ciągu tego samego popołudnia reaguje na te same dawki nukleotydu adeninowego z drożdży, nukleotydu adeninowego z krwi, nukleotydu adeninowego (HENNING) podobnie, natomiast 0.1 γ nukleotydu mięśniowego powoduje tylko wyraźne zwolnienie; 1.3 γ pyrofosforanu adeninowego nie ma żadnego wpływu; 5 marca występuje po 0.1 γ nukleotydu mięśniowego typowa przerwa w akcji, a tak samo działa 0.1 γ nukleotydu adeninowego z drożdży, 0.01 γ nukleotydu mięśniowego pozostaje natomiast bez skutku. Tego samego dnia popołudniu o godz. 16.30 ustaje serce po 0.01 γ nukleotydu mięśniowego, 0.001 γ natomiast nie działa zupełnie; ta ostatnia dawka w dniu 6 marca o godz. 10.15 okazuje się jednak czynną. Nukleotyd adeninowy z kwasu nukleinowego drożdżowego wywoływał 5 marca popołudniu w dawkach 0.01 γ a 6 marca w 0.001 γ tylko wyraźną bradykardję. Tego rodzaju przyróbki wrażliwości

obserwowaliśmy regularnie, w sercach jednak, które reagują dopiero na 100 γ , nie daje się uzyskać tak znaczny przyrost wrażliwości, jak opisany w tem doświadczeniu.

Wpływ temperatury zaznaczał się w naszych doświadczeniach na izolowanych sercach żabich inaczej, aniżeli w doświadczeniach DRURY'EGO i SZENT GYÖRGY'EGO na sercach stałocieplnych; ze spadkiem temperatury spadała jednocześnie pobudliwość. Skorzystaliśmy z tego obniżenia wrażliwości w tych przypadkach, w których chodziło o to, by serce przetworzyło możliwie wielkie ilości nukleotydu adeninowego. Zwykłe doświadczenia, w których badaliśmy działanie nukleotydu adeninowego, były wykonywane w temp. 18—20° C.

Bardzo ciekawe jest porównanie czynnej ilości nukleotydu adeninowego z zawartością tego ciała w mięśniu sercowym. Jeżeli zawartość w mięśniach sercowych żaby jest podobna, jak w badanych sercach zwierząt stałocieplnych, to w sercu o wadze 100 mg należałoby przyjąć zawartość od 30—50 γ nukleotydu adeninowego. Wartość ta zbliżona jest do tych dawek, które powodują zahamowanie akcji najodporniejszych serc. Brak danych na uzasadnienie przypuszczenia, że wzrost wrażliwości przeżywających serc, w miarę czasu przeżywania, pozostaje w związku ze spadkiem zawartości nukleotydu adeninowego. Cały obraz zatrucia natomiast, szczególnie zaś okres powracania do czynności prawidłowej, oraz istnienie okresu odporności po każdym zatruciu wskazują na to, że istota działania pozostaje w związku z wyrównywaniem stężeń w pewnym kierunku. Można by sobie wyobrazić, że wzrost wrażliwości pozostaje w związku ze zmianami przepuszczalności.

W dalszym ciągu wykazemy, że reakcja serca na nukleotyd adeninowy składa się z dwu spraw, wyraźnie odrębnych: najpierw podejmuje serce swoją czynność w danym stężeniu nukleotydu adeninowego w płynie odżywczym — proces ten jest w ułamku godziny ukończony. Następnie działa serce na truciznę, i po upływie kilku godzin płyn odżywczy nie zawiera nukleotydu adeninowego.

Działanie nukleotydu adeninowego jest niezależne od zakończeń nerwu błędnego i zwojów nerwowych w sercu. Wynika to stąd, że ani zatrucie atropiną, ani też nikotyną nie wywiera żadnego wpływu na działanie nukleotydu. Że działanie to jest

niezależne od zazwyczaj wchodzących w rachubę spraw odżywiania serca, wynika stąd, że występuje ono w płynie RINGERA z glukozą lub bez glukozy i że jest niezależne od dodania fosforanów nawet w sercach długo przeżywających. Zmiany stężenia jonów wodorowych, które w doświadczeniu na sercach izolowanych wykazujemy zapomocą czerwieni fenolowej, nie wpływają również na obraz zatrucia i powrotu do stanu pierwotnego.

O działaniu badanych preparatów nukleotydowych uczyniliśmy następujące spostrzeżenia: między nukleotydami z mięśni i krwi niema różnicy; między nukleotydem mięśniowym a nukleotydem z kwasu nukleinowego drożdżowego zachodzi bardzo mała różnica w działaniu, można ją dostrzec na najczulszych preparatach sercowych i w najmniejszych dawkach. Jeżeli nukleotyd mięśniowy działa w stężeniu 0.01 — 0.001 γ , to te same ilości preparatu drożdżowego powodują tylko wyraźne zwolnienie. W doświadczeniach naszych zachowuje się zatem serce żaby wobec nukleotydu z kwasu nukleinowego drożdżowego inaczej, aniżeli serca stałocięplnych w doświadczeniach DRURY'EGO i SZENT GYÖRGYI'EGO; autorowie ci nie spostrzegali działania nukleotydu adeninowego z drożdży. Wobec pyrofosforanu adeninowego, który dodawaliśmy jako sól sodową w ilościach równoważnych z nukleotydem adeninowym, okazały się te same preparaty sercowe mniej czułe, aniżeli wobec nukleotydu.

Opisaliśmy obraz działania tak, jak występuje on na sercach żab wodnych, które z reguły w krótki czas po sporządzeniu preparatu zatrzymują się po dodaniu 10 γ nukleotydu. Na takich sercach zaznacza się tylko zwolnienie lub ustanie czynności, rozkurczowe porażenie przedsionków i komór, wysokość skurczów natomiast nie ulega zmianie pod wpływem jadu; na preparatach innych żab, szczególnie *Rana arvalis*, spostrzegaliśmy często zachowanie się nietypowe, małą wrażliwość i obniżanie się wysokości skurczowej komory. Zachowania się tego nie mogliśmy dotychczas dokładnie zbadać.

Jeżeli serce po dwudniowym przeżywaniu wykazuje tylko skurcze zatokowe i przedsionkowe, a komora nie bije, to nukleotyd adeninowy wstrzymuje czynność przedsionkową, a po upływie zwykłej przerwy powraca akcja serca, z którą teraz jedniak są połączone słabe skurcze komór.

VI.

Oddziaływanie mięśnia sercowego na nukleotyd adeninowy składa się przynajmniej z dwu spraw: pierwsza polega na tem, że serce przy praktycznie niezmienionem stężeniu nukleotydu adeninowego w płynie odżywczym powraca do czynności pierwotnej; proces ten polega prawdopodobnie na wyrównaniu stężeń, których różnica powodowała działanie trujące.

Drugi proces polega na zmianie, jaka zachodzi w nukleotydzie wskutek działania mięśnia sercowego. Po upływie kilku godzin znika zupełnie działanie nukleotydu z płynu odżywczego, a to nie dlatego, że serce wydziela do niego jakies ciało, unieczynniające działanie nukleotydu, lecz przez to, że czynna substancja sama jest wyczerpana.

Dowód, że w chwili nastania prawidłowej akcji serca zatrutego znajduje się w płynie odżywczym nukleotyd w stężeniu praktycznie jeszcze niezmienionem, przeprowadzono w sposób następujący: czynną dawkę nukleotydu dodano do płynu odżywczego; nastąpiło zatrzymanie serca; po powrocie do czynności prawidłowej wyjęto płyn odżywczy z serca możliwie dokładnie i przechowano go (płyn A). Serce przepłócano płynem RINGERA, a po 30 minutach sprawdzono jego czułość tą samą dawką nukleotydu adeninowego. Po otrzymanym efekcie przepłócano znowu serce i po 30 minutach wprowadzono po zupełnem wydobyciu płynu RINGERA płyn A. Wystąpiła przerwa w akcji, a obraz zatrucia rozwinął się taksamo, jak przy zatruciu czystym, świeżym nukleotydem adeninowym. Wynika stąd, że serce powróciło do czynności pomimo że trucizna w płynie odżywczym znajduje się jeszcze w stężeniu, wystarczającym ażeby zatrzymać to samo serce po przepłókanii płynem RINGERA. Podobny efekt można osiągnąć w rozmaitych stężeniach nukleotydu adeninowego. Nukleotydy z mięśni i z drożdży zachowują się pod tym względem jednakowo.

Dowód, że jad czasem znika z płynu odżywczego, przeprowadzono w następujących doświadczeniach:

Serce żaby wodnej (dośw. № 26) ustaje w niskiej temperaturze (10° C) po wielkiej dawce nukleotydu mięśniowego (100 γ). Po 4 minutach przerwy serce zaczyna znowu bić, czynność

prawidłowa powraca powoli, a nukleotyd pozostaje w sercu przez 15 godzin, w ciągu których serce bije zupełnie regularnie. Po tym czasie wyjmuje się płyn (płyn A) i zastępuje się go przez płyn RINGERA; w godzinę później 1 γ tego samego nukleotydu nie działa, w powtórnym doświadczeniu tak samo, natomiast 10 γ powoduje przerwę 4-minutową. Po przepłókaniu serca płynem RINGERA i dalszych 3 godzinach czynności zastępuje się płyn RINGERA przez płyn A: niema teraz nawet zwolnienia tętna, po 15 minutach dodaje się 10 γ nukleotydu adeninowego: następuje przerwa 2-minutowa i powolny powrót czynności.

Przez 15-godzinne zetknięcie z sercem pracującym stracił płyn odżywczy z pewnością więcej niż 90% działania, prawdopodobnie jednak całość. Ten płyn odżywczy mógł w chwili podania poraz 2-gi do serca ulec conajwyżej przez pozostały w tem sercu płyn RINGERA 1,5-krotnemu rozcieńczeniu. Że nieczynność nie była skutkiem działania ciała, które serce mogło wydzielić do płynu, a które przez swoją obecność mogłyby hamować działanie nukleotydu, wynika stąd, że ilość 10-krotnie mniejsza od pierwotnie użytej, dodana do zmienionego płynu odżywczego, zatrzymała akcję serca. Wobec tego musiała nastąpić zmiana w samym nukleotydzie. Uległ on albo związaniu przez tkankę sercową albo też zmianie chemicznej.

Tę samą przemianę obserwowaliśmy także na nukleotydzie adeninowym z kwasu nukleinowego drożdżowego, czego właściwie nie oczekiwaliśmy.

Wśród przemian, które wchodzi tu w rachubę, odszczepianie kwasu fosforowego nie tłumaczy tego zjawiska, gdyż według doświadczeń DRURY i SZENT GYÖRGY'EGO nukleozyd adeninowy jest przynajmniej tak samo czynny jak nukleotyd. Raczej można się było w dezaminacji nukleotydu dopatrywać utraty jego działania.

Próbowaliśmy stwierdzić, czy podanie nukleotydu adeninowego do serca zwiększa odszczepianie amonjaku. Nie jest to zadanie łatwe, gdyż jeżeli się doda do serca bijącego 100 γ nukleotydu adeninowego, to przy zupełnej dezaminacji, która nastąpi po 12—15 godzinach, może powstać z tego tylko 4 γ azotu amonjakowego. W tym samym czasie wytworzyłoby serce, bez dodatku nukleotydu, amonjak w ilości około 10 γ . Różnica byłaby zatem nieznaczna.

Usiłowaliśmy ją dlatego stwierdzić w krótkotrwałych doświadczeniach: oznaczaliśmy powstawanie amonjaku w sercu podczas pracy, trwającej 2 do 4 godzin, następnie dodawaliśmy nukleotydu i po takim samym okresie oznaczaliśmy ilość amonjaku, wytworzonego przez serce. Uwzględnialiśmy oczywiście błąd, wynikający z zanieczyszczenia amonjakiem nukleotydu i płynu RINGERA. Stwierdziliśmy, że wytwarzanie amonjaku wzrasta po dodaniu nukleotydu adeninowego, i to o jakie 60–100%. Wartości otrzymane były np.: okres kontrolny (150') 1.2 γ $\text{NH}_3\text{-N}$, po takim samym czasie po dodaniu 100 γ nukleotydu 2.47 γ $\text{NH}_3\text{-N}$. Ze 100 γ nukleotydu mogło przy zupełnej dezaminacji powstać 4 γ $\text{NH}_3\text{-N}$, jak już wyżej wspomniano. W innym doświadczeniu znaleźliśmy w okresie kontrolnym (225') 3 γ $\text{NH}_3\text{-N}$, po dodaniu nukleotydu adeninowego i upływie tego samego czasu 4.8 γ $\text{NH}_3\text{-N}$. Jeżeli te wartości weźmiemy jako dane orientacyjne, które należy oczywiście sprawdzić przez serjowe doświadczenia, to w pierwszym doświadczeniu uległo w godzinie dezaminacji 13%, w drugim 12% nukleotydu ¹⁾.

Ze względu na rodzaj spraw chemicznych, w których nukleotyd adeninowy traci swoje działanie, należy wziąć pod uwagę także możliwości innych przemian. Według LOHMANN serce zawiera nukleotyd jako połączenie dwufosforowe, które przy hydrolizie zachowuje się inaczej, aniżeli pyrofosforan adenilowy z mięśnia. Być może, że serce przerabia nukleotyd adeninowy, albo też pyrofosforan adenilowy na właściwe dla siebie połączenie pyrofosforowe.

Co do działania nukleotydu adeninowego i pyrofosforanu adenilowego można tylko tyle powiedzieć, że działają one na izolowane serce żaby jako jady potencjalne w sensie LÖWEGO, że punkt zaczepienia ich leży w zatoce żylniej i że powodują one rozkurczowe porażenie przedsionków i komór (w słabszych dawkach tylko zwolnienie akcji serca). Charakter jadów potencjalnych zaznacza się w tem, że działanie przemija z chwilą wyrównania się stężeń. Przystosowanie serca do mniejszych lub większych dawek nukleotydu następuje tak szybko, że przesłania zupełnie powolny proces przemiany chemicznej tej substancji.

¹⁾ Do tej zgodności nie przywiązujemy oczywiście żadnej wagi.

Nie stoimy bynajmniej na tem stanowisku, co DRURY i SZENT GYÖRGYI, że działanie nukleotydu adeninowego opiera się tylko na dezaminacji. Autorowie ci, którzy z tego zakresu znają, zdaje się, tylko prace EMBDENA, przenoszą na serce poglądy tego autora o pierwotnej roli wytwarzania amonjaku w skurczu mięśniowym.

Porównują oni na podstawie danych z piśmiennictwa łatwość, z jaką poszczególne związki adeninowe w tkankach odszczepiają amonjak, i zauważają równoległość między tą łatwością a działaniem nasercowem, jeżeli zestawić nukleotydy, nukleozyd adeninowy i samą adeninę. Wydaje się nam niesłusznem odnoszenie do samej tkanki szybkości reakcji, spostrzeżonej w miazdze tkankowej lub wyciągu tkankowym; w tej bowiem istnieją szczególne warunki reakcji, zależne od struktury komórkowej i uwarunkowanego przez nią działania fermentów, podłoża i aktywatorów. W każdym razie obraz zatrucia na sercach żabich przemawia na podstawie naszych doświadczeń przeciw pogładowi, że odszczepiony amonjak jest istotnym czynnikiem, albo też, że jest nim spowodowane przez to oddziaływanie zasadowe, nawet w tym przypadku, o ileby się chciało przyjąć, że działa ono na szczególne punkty tkankowe. Działanie bowiem nukleotydu adeninowego ustaje, gdy po kilku minutach nastąpiło wyrównanie się stężeń między tkanką a płynem odżywczym, albo przynajmniej różnica stężenia stała się mniejsza. Jeżeliby się chciało przyjąć, że produkt przemiany nukleotydu jest istotnym czynnikiem, to należałoby się spodziewać przyrostu działania, podczas gdy w opisany wyżej sposób działanie to się kończy, zanim trucizna zniknęła z płynu odżywczego.

Nie możemy wogóle przyjąć z DRURYM i SZENT GYÖRGYI'M, że przemiana nukleotydu poprzedza jego działanie: na wrażliwych sercach działanie jest prawie natychmiastowe: tak np. w jednym z doświadczeń wystąpiło pełne działanie po pięciu uderzeniach.

Działanie nasercowe nukleotydu adeninowego, który znajduje się obficie zarówno w mięśniu sercowym, jakoteż we krwi, wydaje się mniej dziwne, jeżeli się bierze pod uwagę, że ciało to znajduje się w ciałkach czerwonych pod postacią związku pyrofosforowego, a w mięśniu sercowym jako szczególne połączenie pyrofosforowe. Skąd mięśnie szkieletowe

i serce uzupełniają zapas nukleotydu, tego nie wiemy; jeśliby nawet następowała wymiana między krwią a mięśniem sercowym w postaci czynnego nukleotydu, to nie może stąd wynikać działanie na serce, podobnie jak niema go przy uzupełnianiu zapasu jonów potasowych w mięśniu i w sercu.

Czy na podstawie stwierdzonych tu faktów należy nukleotydowi adeninowemu przypisać jakąś funkcję w regulacji czynności serca i jakie zachodzą związki z powikłaną dziedziną hormonów sercowych, tego dotychczas nie możemy dostatecznie ocenić.

Piśmiennictwo.

Drury A. N. *Journal of Physiol.* **68**. Cytowany według Ber. Drury A. N. a. A. M. Wedd. 1930. The influence of adenosine and related compounds upon the coronary arteries in the perfused rabbits heart. *Journal of Physiol.* **70**. Embden u. Zimmermann. 1927. Über die Bedeutung der Adenylsäure für die Muskelfunktion. *Zeitschr. f. physiol. Chem.* **167** (137). Fühner. 1923. Nachweis und Bestimmung von Giften auf pharmakologischen Wege. Abderhalden's Arbeitsmethod. Abt. IV. Teil 7 (421). Jones W. 1920. Nucleic acids. II wydanie (115). Mozołowski. 1929. Über den Ursprung des Blutammoniaks. *Biochem. Zeitschr.* **206** (150). Ostern P. 1930. Über die Ammoniakbildung im isolierten Froschherzen. *Biochem. Zeitschr.* **228** (401). Parnas J. 1929. Der Zusammenhang der Ammoniakbildung mit der Umwandlung des Adeninnukleotids zu Inosinsäure. *Biochem. Ztschr.* **206** (16). Parnas J. u. J. Heller. 1924. Über den Ammoniakgehalt und über die Ammoniakbildung im Blute. I. *Biochem. Zeitschr.* **152** (1). Parnas J. u. Kłisicki. 1926. Über den Ammoniakgehalt und die Ammoniakbildung im Blute VI. *Biochem. Zeitschr.* **173** (224). Parnas J. u. Mozołowski. 1927. Über den Ammoniakgehalt und die Ammoniakbildung im Muskel und deren Zusammenhang mit Funktion und Zustandsänderung. *Biochem. Zeitschr.* **184** (399); *Klin. Wochenschr.* **6** (998). Parnas, Mozołowski u. Lewiński. 1927. Über den Ammoniakgehalt und die Ammoniakbildung im Blute IX. *Biochem. Zeitschr.* **188** (15); *Klin. Wochenschr.* **6** (1710). Parnas 1928. Über den Purinstoffwechsel des Muskels und über die Muttersubstanz des im Muskel entstehenden Ammoniaks. *Klin. Wochenschr.* **7** (1423). Parnas 1929. Soc. de Biol (Reunion plénière, Mai 1929). Pohle. 1929. Über das Vorkommen der Muskeladenylsäure und Hexosemonophosphorsäure im Herzen. *Zeitschr. f. physiol. Chem.* **181** (261). Rigler u. Schaumann. 1930. Beeinflussung der Weite der Herzkranzgefäße durch Produkte des Zellkernstoffwechsels. *Klin. Wochenschr.* **10** (172S); *Verh. d. Deutsch. Ges. f. inn. Med.* **42**; *Kongr. Ber.* **1** (159). Rothman. 1931. *Klin. Wochenschr.* **11**. Heft 2; 1930. *Arch. f. allg. Pathol. u. Pharm.* **155** (129). Szent Györgyi a. Drury. 1929. The influence upon the heart of substances related to nucleic acid. *Journ. of Physiol.* **67** (35) i **68** (213).

[Zakład Farmakologii Uniwersytetu w Krakowie]

J. V. Supniewski.

Właściwości farmakodynamiczne beta-apioleptylaminy.

*Études sur les propriétés pharmacodynamiques de la
bêta-apioléthylamine.*

Rękopis nadesłany w dniu 27.V.1931 r.

Nous avons accompli la synthèse d'une nouvelle base, dérivé d'apiol: — la bêta-apioléthylamine 2.3 (CH₃O)₂ 3.4 (CH₂O)₂ (C₆H CH₂ CH₂ NH₂).

Le chlorhydrate de cette base introduit par la voie sous-cutanée en dose de 0.25 gr. par kgr. produit la paralysie de la respiration chez les souris blanches.

Ce composé introduit par la voie intraveineuse (une dose de 0.002 gr. par kgr.) produit chez le chat une chute de la pression sanguine, accompagnée par l'augmentation des volumes du coeur et des intestins et par la diminution du volume des extrémités, c'est-à-dire, par la vaso-dilatation des régions intestinales et par la dépression du coeur.

Le chlorhydrate de la bêta-apioléthylamine dans une solution à 1/1000000 cause l'accélération du fonctionnement du coeur isolé de grenouille. Les solutions plus fortes qu'à 1/10000 provoquent les irrégularités des battements du coeur.

La solution 1/1000 de cette base provoque — chez la grenouille — la dilatation des veines et des artères.

Cette base, introduite en dose de 0.001 gr. par kgr., cause l'augmentation et l'accélération des mouvements respiratoires.

La même dose de ce composé provoque chez le chat la contraction des bronches et des intestins. La contraction des intestins est très passagère et va être remplacée, très vite, par le relâchement des intestins. Les mouvements péristaltiques des intestins sont réprimés.

Les solutions du chlorhydrate de la bêta-apoléthylamine à 1/10000 provoquent les contractions des organes isolés contenant des fibres lisses, comme l'œsophage de grenouille, l'utérus de cobaye et les intestins de lapin, mais cette contraction est vite remplacée par le relâchement des mêmes organes et leurs mouvements péristaltiques sont arrêtés.

Il y a une grande ressemblance entre les propriétés pharmacodynamiques de la mescaline et celles de la bêta-apoléthylamine.

W wielu roślinnych olejkach eterycznych występują pochodne allylobenzenu, bądź izoallylobenzenu. Z monooksypochodnych allylo- bądź izoallylobenzenu znaleziono w olejku z *Piper betle* i olejku *Bay* para-allylofenol, zwany chawikolem. Pochodna metylowa (para-metoksy-allylobenzen) chawikolu, zwana esdragolem, występuje w olejkach z *Artemisia dracunculus*, *Persea gratissima*, *Foeniculum vulgare* *Illicium anisatum* oraz w olejku z liści *Laurus nobilis*. Izomeron izoallylowy poprzedniego związku, zwany anetolem, nadaje charakterystyczny zapach olejkom eterycznym z *Pimpinella anisum*, *Illicium anisatum* i *Foeniculum vulgare*.

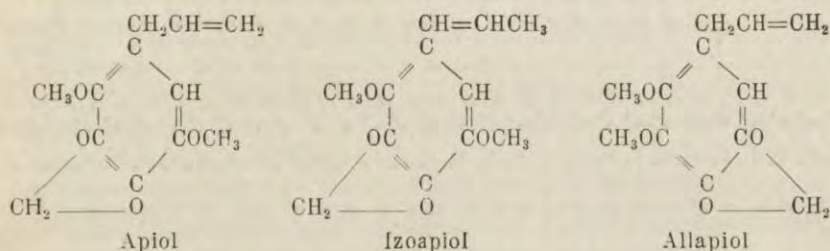
Z pochodnych dwuhydroksyallylobenzenu znaleziono w olejku *Chavica betle* ester monometylowy allylopyrokatechiny zwany, chawibetolem. Izomeronem chawibetolu jest eugenol, nadający charakterystyczną woń wielu olejkom eterycznym, np. olejkowi z *Eugenia caryophyllata*, *Geum urbanum* oraz występującym w niewielkich ilościach w olejkach cynamonowym, kamforowym, tatarakowym, różanym oraz olejkach, otrzymanych z gatunków *Illicium*. Pochodna izoallylowa eugenolu, zwana izoeugenolem, występuje w małych ilościach w wielu olejkach eterycznych.

W olejkach eterycznych z *Sassafras officinalis*, *Laurus camphorae* i *Asarum ariformium* występuje pochodna metylenowa allylopyrokatechiny, zwana safrolem. Izomeryczny z safrolem izosafrol znaleziono w olejku *Anona odorata*.

Trójhydroksypochodne allylobenzenu rzadziej już są spotykane w państwie roślinnym. W olejkach z *Myristica fragrans* i *Petroselinum sativum* znaleziono myrystycynę. W żywicy elemi z *Canarium commune* otrzymano pochodną trójmetylopyrogallolowe elemicynę, wreszcie w olej-

kach z *Calamus acorus*, *Piper angustifolium* oraz z *Asarum europeum* otrzymano krystaliczny asaron; wszystkie te związki są pochodnymi allylo- bądź izoallylo-pyrogallolu.

Najrzadziej w świecie roślinnym występują pochodne czterohydroksyallylobenzenu. Przez destylację z parą wodną nasion pietruszki STANGE ('23) i BLANCHET SELL ('37) otrzymali krystaliczny związek przez GERICHTENA ('76) nazwany apiolem, który pod wpływem alkoholanu sodu łatwo przechodzi w odmianę izoallylową izoapiol. (CIAMICIAN SILBER '88—90). W olejku z drzewa kamforowego występuje izomeron apiolu zwany dillapiolem, różniący się nieznacznie swą budową chemiczną od apiolu właściwego.



Wszystkie te związki chemiczne pochodne allylo- bądź izoallylobenzenu są silnymi truciznami ośrodkowego układu nerwowego oraz ogólnymi truciznami tkankowymi, wywołującymi zwyrodnienie tłuszczowe organów mięsnych. Związki pochodne allylobenzenu działają mocniej, niżli pochodne izoallylowe. W miarę wzrostu liczby metoksyli przy pierścieniu benzenowym rosną również właściwości toksyczne pochodnych allylobenzenu. Związki metylenowe (safrol) działają mocniej od normalnych związków metoksylowych (metylo Eugenol). Wszystkie pochodne allylowe benzenu porażają i zwiększają przepuszczalność śródbłonek naczyń, od czego zależy ich działanie diuretyczne, zależne od zwiększenia przepuszczalności kłębków. Związki te obdarzone są, jako trucizny protoplazmatyczne, dość silnymi właściwościami przeciwnie. Na tkanki zwierzęce pochodne allylo- i izoallylobenzenu działają drażniaco i porażają. Wywołują odczyny zapalne i nekrozy, przyczem porażają czuciowe zakończenia nerwowe, działając jako anestetyki lokalne. Drażniące działanie tych związków na śluzówkę jelit i żołądka jest powodem stosowania surowców, zawierających je, jako środków żołądkowych tak w medycynie, jak i w sztuce kulinarnej. Większe dawki tych preparatów podane „per os” wywołują ostre zapalenie przewodu pokarmowego.

Narkotyczne działanie pochodnych allylowych benzenu zależy od obecności w nich podwójnego wiązania w bocznym łańcuchu alifatycznym.

Względnie najmniej poznanymi przedstawicielami grupy allylobenzoli są apiole i to tak pod względem chemicznym, jak i farmakologicznym.

Bezpośrednio po wyosobnieniu jako czyste ciało chemiczne, apiol znalazł zastosowanie w terapii, bądź jako ciało czyste, bądź jako surowy olej z nasion pietruszki (*Apium viride*), zawierający obok apiolu również

myrystycynę. Użycie apiolu jako leku szczególnie rozpowszechniło się we Francji. Używano apiol jako środek przeciwgorączkowy, stomacicum, lub środek moczopędny, bądź wreszcie jako eumenagogum i abortivum.

Używany we Francji ekstrakt alkoholowo-eterowy *Apiolum viride* nasion pietruszki jest mieszaniną wielu ciał. Obok apiolu mieszanina ta zawiera myrystycynę i izomyrystycynę. Ekstrakt ten był szeroko polecany przez HOMOLLE'A i JARETA ('52), jako surogat chininy. Różne apiole zielone różnią się bardzo między sobą pod względem zawartości ciał czynnych (WHITNEY '80, LUTZ '20). Zgodnie z badaniami HOMOLLE'A i JARET'A, „apiolum viride“ wywołuje u ludzi stan upojenia, połączonej niekiedy z nieznacznymi halucynacjami słuchowymi i wzrokowymi.

Działanie krystalicznego apiolu na ludzi było badane przez CERVELLIN'A i LUSSANA (88). Związek ten wywoływał przyspieszenie pulsacji serca oraz arytmję sercową. W dawkach większych apiol wywoływał bóle głowy, stan upojenia, zaburzenia w trawieniu, niekiedy gorączkę. Izoapiol i allapiol działają podobnie, choć nieco słabiej. BRENAT ('16) opisał wypadek śmiertelnego zatrucia apiolem ('16). Śmierć nastąpiła przy objawach ostrego nieżytu jelit, żółtaczk i uremji. CHEVALIER opisał śmiertelny wypadek zatrucia allapiolem. U otrutego wystąpiło wybitne pobudzenie odruchów, drgawki epileptyczne, ogólny paraliż, coma i śmierć.

Farmakologicznie apiol był bliżej badany przez HEFFTERA ('95). U zwierząt stałocięplnych i żab apiol wywoływał stan narkozy, a w razie podania dużych dawek ogólny paraliż zwierząt oraz porażenie oddychania. Apiol jest ciałem mniej toksycznym od safrolu czy myrystycyny, ponieważ trudno rozpuszcza się w wodzie i trudno wchłania się. Lokalnie apiol działa silnie drażniąco na błony śluzowe; tem tłumaczy się działanie drażniące tego ciała na przewód pokarmowy. Apiol podany w dużych dawkach może wywołać ostry krwotoczny nieżyt jelit. Bardzo małe dawki apiolu wywierają dość silne działanie na serce, charakteryzujące się początkowo zwolnieniem pulsacji serca, a następnie przyspieszeniem pulsacji sercowych. U saków zatrutych apiolem znajdujemy zawsze duże stłuszczenia w organach mięsnych, szczególnie w wątrobie.

Krystaliczny apiol, a częściej „apiolum viride“ jest nadużywany jako abortivum (JOACHIMOGLU '26, '27). Małe dawki apiolu kurczą wyosobnione macice, wówczas gdy większe dawki porażają je. Apiol w małych dawkach pobudza do skurczu gładkie mięśnie pijawek. Apiol poraża i hamuje perystaltykę wyosobnionych jelit (CHRISTOMANOS '27). Działanie abortywne apiolu prawdopodobnie w części zależy od bezpośredniego działania na mięsień macicy, a w części z powodu dużych uszkodzeń, wywołanych przez ten preparat w jelitach i wątrobie.

Stosowanie apiolu jako leku nie ma żadnych podstaw naukowych.

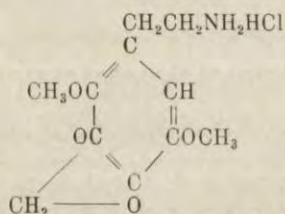
Pod względem chemicznym apiol jest bardzo niedokładnie opracowany. Ostatnio FABINYI i SZÉRI ('17) otrzymali aldehyd apiolowy, jednak związek ten nie był badany biologicznie. Aldehyd apiolowy służył za produkt wyjściowy syntez dalszych pochodnych apiolu. MANNICH i FALBER ('29) otrzymali z aldehydu apiolowego beta-apiol-beta-metoksy-etylaminę, która służyła dalej do syntezy pochodnej papawerynowej apiolu. Związki te

jednak otrzymali w tak minimalnych ilościach, że nie mogli przesać je do badania biologicznego.

W niniejszej pracy będą opisane ogólne właściwości farmakologiczne beta-apioetylaminy, czterohydroksylowej pochodnej beta-fenyletylaminy, związku chemicznego ciekawego z wielu względów. Amina ta zalicza się do zasad pokrewnych tyraminie, adrenalinie i meskalinie, jednak posiada aż cztery zmetylowane hydroksyle przy pierścieniu benzenowym.

Ze względu na duże trudności, które wyloniły się podczas syntezy tego związku, otrzymaliśmy bardzo małą ilość czystego krystalicznego chlorowodoru beta-apioetylaminy i z tego względu musieliśmy się ograniczyć jedynie do najważniejszych badań właściwości farmakologicznych tego preparatu.

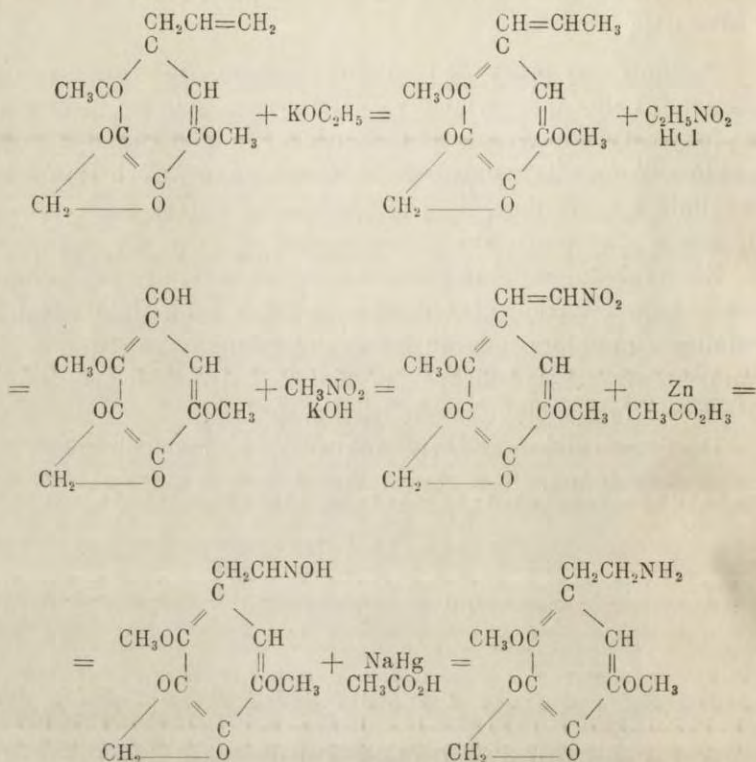
Do doświadczeń służyły roztwory wodne chlorowodoru beta-apioetylaminy. Roztwory takie reagują słabo kwaśno.



Chlorowodorek beta-apioetylaminy.

S y n t e z a .

Przez ogrzewanie apiolu z alkoholowym roztworem wodzianu potasu zamieniamy go w izoapiol. Izoapiol utleniaemy do aldehydu apiolowego w niskiej temperaturze azotynem etylu i kwasem solnym. Otrzymany aldehyd oczyszczamy przez jego pochodną z kwaśnym siarczanem sodu. Aldehyd apiolowy łączymy z nitrometanem i wodzianem potasu w roztworze alkoholu metylowego w temp. — 8°. Po zmieszaniu otrzymanego produktu reakcji z wodą wytrącamy kwasem solnym związek nitrowy, który redukujemy do oksymu pyłem cynkowym i kwasem octowym w roztworze alkoholowym w temp. 50°, wreszcie oksym redukujemy do aminy amalgamatem sodu i kwasem octowym w roztworze alkoholowym w 50°. Wydatek aminy bardzo mały, około 10%.



Amina sama jest oleistym płynem, przyciągającym dwutlenek węgla z powietrza, reagującym silnie alkalicznie na papierek lakmusowy. Do badań biologicznych używano bardzo dobrze rozpuszczalny obojętny chlorowodorek tej aminy.

Toksyczność dla białych myszy.

Kolejne dawki chlorowodoru aminy zastrzykiwano podskórnie białym myszkom. W dziesięć do piętnastu minut po zastrzyku występowały objawy zatrucia, wyrażające się podnieceniem ruchowym zwierzęcia. Po podaniu dawek śmiertelnych występowały nagle skurcze i drgawki typu opuszkowego, zatrzymanie oddechu, sinica i śmierć. Po ustaniu oddychania serce biło jeszcze przez czas pewien.

Toksyczność chlorowodoru apioleetylaminy dla białych myszek po podaniu go drogą podskórną.

La toxicité de chlorhydrate d'apiolethylamine (introduit par la voie souscutanée) pour les souris blancs.

D a w k a <i>L a d o s e</i>	0.05 g/kg	0.1 g/kg	0.2 g/kg	0.25 g/kg	0.3 g/kg	0.4 g/kg	0.5 g/kg	1.0 g/kg
Myszy użyte do doświadczenia <i>Les souris employés dans l'expérience</i>	1	3	3	3	3	1	1	1
Żyją po godzinie <i>Vivent après une heure</i>	1	3	2	0	0	0	0	0

Działanie na krążenie.

Ciśnienie krwi. Doświadczenia wykonano na kotach, narkotyzowanych uretanem (1.4 g/kg). Dożylny zastrzyk preparatu wywoływał początkowo nieznaczną zwyżkę ciśnienia krwi, następnie dość duży nagły spadek ciśnienia krwi oraz szybki powrót krzywej ciśnienia krwi do poziomu normalnego. Bardzo małe dawki preparatu, jak np. 0.0003 g/kg, wywołują jedynie bardzo nieznaczną zwyżkę ciśnienia krwi. Podobnie działają nieco większe dawki preparatu po zastrzyku ich dekapitowanym kotom, u których normalnie ciśnienie krwi jest bardzo niskie. Często brak było zupełnie zwyżki ciśnienia krwi i jedynie obserwowano spadek ciśnienia; obserwowano to zawsze po podaniu dużych dawek preparatu.

Objętość kończyny przedniej kota. Do doświadczeń służył kot narkotyzowany 1.4 g/kg uretanu. Objętość kończyny zapisywano przy pomocy pletysmografu wodnego. Po dożylnym zastrzyku 0.003 g/kg preparatu obserwowano równolegle do spadku ciśnienia krwi zmniejszanie się objętości kończyny przedniej, zamkniętej w pletysmografie. Po powrocie ciśnienia krwi do poziomu normalnego objętość kończyny wracała również do normy.

Objętość jelit cienkich kota. U kota narkotyzowanego uretanem rejestrowano objętość pętli jelit cienkich przy pomocy onkometru SCHAFERA. Dożylny zastrzyk 0.003 g/kg preparatu wywoływał równolegle do spadku ciśnienia krwi, zwię-

kszanie się objętości jelit cienkich zamkniętych w onkometrze. W miarę powrotu ciśnienia krwi do normy obserwowano zmniejszanie się objętości jelit.

Krzywa kardiometryczna. Serce kota narkotyzowanego 1.4 g/kg uretanu umieszczano w kardiometrze HENDERSONA i zapisywano zmiany objętości serca metodą transmisji powietrznej.

Dożylny zastrzyk 0.002 g/kg preparatu wywoływał zwolnienie pulsacji serca (normalnie 184 uderzeń na minutę, po preparacie — 152 uderzenia), nieznaczne przejściowe zwiększenie się objętości serca, oraz przejściowe bardzo małe zmniejszenie objętości skurczów serca.

Wyosobnione serce żaby. Rozcieńczenie preparatu 1/1000000 wywoływało dość duże przyśpieszenie pulsacji serca żaby, przemywanego metodą STRAUBA. Rozcieńczenie 1/100000 preparatu wywoływało obok opisanych zmian również mierne zmniejszenie amplitudy skurczów serca.

Badany preparat w roztworze 1/10000 wywoływał zmniejszanie się amplitudy skurczowej serca oraz częściowy blok serca.

Perfuzja naczyń żaby. Do doświadczenia służył preparat TRENDELENBURGA z żaby wodnej. Roztwór 1/100000 aminy nie wywierał wyraźnego wpływu na naczynia krwionośne żaby (normalny wypływ 26 kropli na minutę, po podaniu 1/100000 roztworu preparatu 24 krople na minutę).

Roztwór 1/1000 preparatu wywoływał mierne rozszerzenie naczyń krwionośnych żaby (normalnie 26 kropli na minutę, po podaniu 1/1000 preparatu 18 kropli na minutę). Adrenalina i chlorek baru wywołują kurcz naczyń żaby przemywanej betaapioletylamina.

Chlorowodorek beta-apioletylaminy, wprowadzony do organizmu zwierzęcego, wywołuje spadek ciśnienia krwi, zależny głównie od rozszerzenia się naczyń krwionośnych jelit, a częściowo również od działania depresyjnego na serce, wyrażającego się zwolnieniem akcji serca, nieznacznym zmniejszeniem amplitudy skurczów oraz osłabieniem mięśnia sercowego (obserwowane zwiększanie się objętości serca przy równoczesnym spadku ciśnienia krwi). Względnie duże dawki preparatu powodują rozszerzenie się naczyń krwionośnych żaby. Chlorowodorek beta-apioletylaminy w bardzo dużym rozcieńczeniu przyśpiesza wydatnie pulsację wyosobnionego serca żaby. Większe dawki tego preparatu porażają serce żaby.

Działanie na oddychanie.

Ruchy oddechowe. Przy pomocy bębena MAREYA rejestrowano z tchawicy ruchy oddechowe kota narkotyzowanego uretanem (1.4 g/kg). Dożylny zastrzyk dawek począwszy od 0.001 g/kg chlorowodoru beta-apioleetylaminy wywołuje duże przyspieszenie i pogłębienie oddechu.

Ruchy oskrzeli kota. U dekapitowanego kota rejestrowano ruchy oskrzeli metodą JACKSONA. Dożylny zastrzyk 0.002 g/kg preparatu wywoływał krótkotrwały nieznaczny skurcz oskrzeli.

Chlorowodorek beta-apioleetylaminy w małych dawkach działa pobudzająco na ośrodki opuszkowe. Pobudza on ośrodek oddechowy oraz prawdopodobnie pobudza też i inne ośrodki rdzenia przedłużonego, np. ośrodek nerwu błędnego (zwolnienie pulsacji serca obserwowane po podaniu tego preparatu). Nasze doświadczenia wykonane na białych myszach wykazały, że toksyczne dawki tego preparatu porażają ośrodek oddechowy.

Działanie na organy zawierające mięśnie gładkie.

Wyosobniona macica dziewiczej świnki morskiej. Chlorowodorek beta-apioleetylaminy w roztworze 1/20000 nie wywiera widocznego wpływu na ruchy wyosobnionej macicy świnki morskiej. W roztworze 1/12000 preparat ten powodował obniżenie się napięcia tonicznego tego organu, przyczem normalna perystaltyka organu nie ulegała zahamowaniu,

Wyosobniony przełyk żaby wodnej. Chlorowodorek beta-apioleetylaminy w roztworze 1/60000 nie wywierał widzialnego wpływu na ruchy wyosobnionego przełyku żaby. Roztwór 1/10000 preparatu wywoływał zahamowanie perystaltyki przełyku, oraz spadek napięcia tonicznego tego organu. Na przełyki taki arekolina i chlorek baru działają kurcząco.

Wyosobnione jelito królika. Roztwór 1/15000 chlorowodoru beta-apioleetylaminy wywoływał przejściowe mierne przyspieszenie i zwiększenie amplitudy perystaltycznej wyosobnionego jelita, następnie napięcie toniczne jelita spadało i amplituda ruchów perystaltycznych zmniejszała się wybitnie. Roztwór

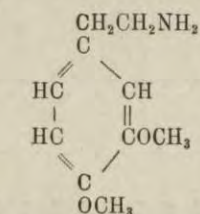
1/5000 preparatu hamuje perystaltykę jelitową i obniża tonus jelita. Na jelito takie arekolina działa kurcząco.

Jelito kota „in situ“. Do doświadczeń służył dekapitowany kot. Ruchy jelita cienkiego tego kota rejestrowano przy zastosowaniu metody balonikowej.

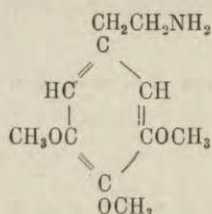
Zastrzyk dożylny 0.002 g/kg preparatu wywoływał początkowo krótkotrwały kurez i zwiększenie perystaltyki jelita, następnie napięcie toniczne jelita zmniejszało się, a perystaltyka jelitowa ulegała zahamowaniu.

Beta-apioleetylamina powoduje zahamowanie perystaltyki organów, zawierających mięśnie gładkie, oraz wpływa na zmniejszenie się napięcia tonicznego mięśni gładkich. Niekiedy okres zahamowania funkcji mięśniowej jest poprzedzony krótkotrwałym okresem pobudzenia tychże funkcji, wyrażający się zwiększeniem napięcia tonicznego i pobudzeniem perystaltyki tych organów.

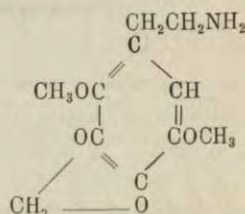
Porównując właściwości farmakodynamiczne metoksylo- wych pochodnych beta-fenyletylaminy zauważymy, że w miarę wzrostu metoksyli w pierścieniu benzolowym zmieniają się wybitnie właściwości biologiczne związków:



beta-weratroletylamina



Meskalina



Beta-apioleetylamina

Beta-weratroletylamina, a więc związek o dwóch metoksy- lach, jest typowym jadem sympatykotonicznym. Związek ten wywołuje wyżkę ciśnienia krwi z powodu skurczu naczyń jamy brzusznej, hamuje ruchy i obniża napięcie toniczne organów, zbudowanych z gładkich mięśni, rozszerza oskrzela, powoduje hyperglykemię. Jedyne w stosunku do serc nie wywiera dzia- łania sympatykotonicznego, bo związek ten zwalnia pulsację serca, działając bezpośrednio na autonomiczne zwoje serca.

Następna pochodna trójmetoksyłowa beta-fenylloetylaminy pozbawiona jest prawie zupełnie właściwości sympatykotonicznych, zato wywiera specyficzne działanie narkotyczne na wzrokowy odcinek kory mózgowej.

W odróżnieniu od beta-weratroletylaminy meskalina obniża ciśnienie krwi z powodu wazodylatacji w jamie brzusznej; w małych dawkach pobudza do skurczu organy zbudowane z mięśni gładkich, w dawkach zaś większych hamuje perystaltykę tych organów i obniża ich napięcie toniczne. Jad ten kurczy oskrzela i nie powoduje hyperglykemji. W małych dawkach meskalina przyspiesza pulsację serca, w dawkach większych zwalnia ją.

Ostatnio badana przez nas pochodna czterometoksyłowa (dwumetoksy- i metylenodwuoksy-) beta-fenylloetylaminy beta-apioleetylamina pod względem swych właściwości farmakodynamicznych jest związkiem bardzo podobnym do meskaliny.

Związek ten jest bardziej toksycznym (dla białych myszy) od meskaliny. Nie wywiera u białych myszek tak charakterystycznego dla meskaliny stanu otumanienia. Działanie farmakodynamiczne bardziej obwodowe tego związku jest identyczne z meskaliną. Beta-apioleetylamina obniża ciśnienie krwi z powodu wazodylatacji w jamie brzusznej. Preparat ten w małych dawkach pobudza do skurczu organy zbudowane z gładkich mięśni; w większych zaś dawkach obniża napięcie toniczne i znosi perystaltykę tych organów. Związek ten kurczy oskrzela, w małych dawkach przyspiesza pulsacje serca, w większych dawkach poraża serca. W odróżnieniu od meskaliny beta-apioleetylamina już w małych dawkach pobudza ośrodek oddechowy.

Wynik naszych badań wskazuje, że wprowadzenie więcej niż dwóch metoksyli do pierścienia benzenowego beta-fenylloetylaminy znosi ich właściwości sympatykotoniczne, a nadaje im inne właściwości farmakodynamiczne (nazwijmy je meskalinowemi) w wielu punktach działania antagonistyczne w stosunku do działania sympatykotonicznego.

Piśmiennictwo.

Blanchet u. **Sell**. 1836. Arch. d. Chem. u. Pharm. **4** (67). **Brenot**. 1916. Ther. Mon. **30** (56). 1914 Schweitz. Apoth. Zeit. **6**. **Ciamician Silber**. 1888. Ber. d. deutsch. chem. Gesell. **21**. (919); 1888, **21** (1627 i 2129); 1889, **22** (119). 1890, **23** (2283). **Cervellin Lussana** 1888. Ber. d. deutsch. chem. Gesell. **21** (1632). **Chevalier**. Compt. rend. hebd. Soc. de Biol. **68** (306). **Christomanos**. 1927. Arch. f. exp. Path. u. u. Pharmakol. **123** (252). **Fabinyi Széki**. 1917. Ber. d. deutsch. chem. Gesell. **50** (1338). **Gerichten**. 1876. Ber. d. deutsch. chem. Gesell. (1477). **Heffter**. 1895. Arch. f. exp. Path. u. Pharmakol. **35**. (342). **Homolle Joret**. 1852. Journ. de pharm. et chem. **27**. (212). 1895. Union médic. **Joachimoglu**. 1926. Deutsch. med. Wochschr. **49** (2079); 1927. Klin. Wochschr. (1859). **Lutz**. 1920. Precid. amer. pharm. assoc. **58** (380). **Mannich Falber**. 1929. Arch. d. Pharmac. **267**. (601). **Stange Buchner**. 1823. Report. der Pharmac. **15** (108). **Supniewski**. 1930. Polska Gazet. Lekar. Nr. 16 i 23. **Whitney**. 1880. Pharm. journ. a. trans. **10** (585).

[Zakład Fizjologii Instytutu im. Nenckiego T. N. W.]

M. Bogucki.

O regulowaniu ciśnienia osmotycznego hemolimfy równonogów morskich (*Mesidotea entomon* [L.]).

*Sur la régulation de la pression osmotique de l'hémolymph chez les Isopodes marins (*Mesidotea entomon* [L.]).*

Rękopis nadesłany w dniu 1 XI. 1931 r.

Le présent travail avait pour but l'étude des variations de la concentration des sels minéraux dans le milieu intérieur de *Mesidotea* en fonction de la concentration du milieu extérieur.

Comme l'hémolymph extraite de l'animal se coagule au bout de quelques minutes on était obligé d'employer pour les analyses le sérum qui se sépare de l'hémolymph coagulée.

On a constaté que la pression osmotique du sérum est plus de deux fois supérieure à celle de l'eau de la Baltique, son Δ étant égal à -1.07°C , tandis que le Δ de l'eau de mer comporte -0.41°C .

Le tableau I nous renseigne sur la différence entre la composition minérale de l'eau de mer et du sérum de *Mesidotea*.

Pour apprécier les variations de la teneur du sérum en sels sous l'influence des différents milieux extérieurs, on déterminait la concentration du chlore dans le sérum et dans l'eau ambiante. Les résultats respectifs sont présentés dans les tableaux III et V et sur les courbes de la fig. 1 et 2.

Ces résultats nous démontrent que la concentration du Cl dans le sérum est égale à celle du milieu quand la teneur en Cl de ce dernier se rapproche de celle de l'eau de mer océanique (20 mgr. Cl/cm³). Dans les milieux dilués la teneur en Cl du sérum de *Mesidotea* devient supérieure à celle du milieu. Le rapport entre la concentration du Cl dans le sérum (Cl_s) et dans l'eau de mer (Cl_m) augmente considérablement à mesure que la concentration du milieu extérieur diminue:

	Cl _s /Cl _m
dans l'eau de l'océan (20 mgr. Cl/cm ³)	1.04
" " " " diluée à 75 p. c. (15 mgr. Cl/cm ³)	1.07
" " " " diluée à 50 p. c. (10 mgr. Cl/cm ³)	1.3
" l'eau de la Baltique (3.9 mgr. Cl/cm ³)	2.6
" " " " diluée à 25 p. c. (0.93 mgr. Cl/cm ³)	9.5

Ainsi les *Mesidotea*, suivant la concentration du milieu extérieur se comportent soit comme des animaux poecilomotiques (dans les milieux concentrés) soit - comme des animaux homéosmotiques (dans les milieux dilués).

En supportant sans troubles visibles les dilutions très basses de l'eau de mer (0.93 mgr. Cl/cm³) les *Mesidotea* succombent en peu de jours dans l'eau douce. Transférés dans ce milieu ils perdent vite les composants minéraux de leur sang comme l'indique la diminution de la teneur en chlore du sérum (fig. 3).

Les faits mentionnés nous démontrent que *Mesidotea* possède un mécanisme osmorégulateur dont le fonctionnement devient évident dans les milieux dilués.

Les recherches de DUVAL ('25), de SCHLIEPER ('29) et d'autres auteurs ainsi que les résultats des recherches présentées ici nous permettent de constater que parmi les invertébrés marins il y a de nombreuses formes pourvues d'un mécanisme osmorégulateur plus ou moins développé. Ces formes constituent une transition graduelle entre les invertébrés marins poecilomotiques et les invertébrés d'eau douce homéosmotiques.

Dotychczasowe badania, dotyczące ciśnienia osmotycznego cieczy ciała organizmów wodnych w stosunku do ciśnienia osmotycznego środowiska, dały podstawę do podziału organizmów wodnych na organizmy homoosmotyczne i pojkilosmotyczne (HÖBER '26). Grupa pierwsza reprezentowana jest przez zwierzęta kręgowce, wyjąwszy ryby spłouste. Dzięki specjalnym urządzeniom osmoregulacyjnym ciśnienie osmotyczne krwi tych zwierząt jest stałe i różne od ciśnienia osmotycznego środowiska naturalnego.

U organizmów morskich jest ono niższe, a u słodkowodnych wyższe, niż ciśnienie środowiska. Należą tu również bezkręgowce słodkowodne, posiadające ciśnienie osmotyczne krwi wyższe, niż panujące w środowisku.

Do drugiej grupy należą bezkręgowce morskie. Ciśnienie osmotyczne krwi tych zwierząt, według licznych autorów ¹⁾, równa się ciśnieniu osmotycznemu otaczającej wody i zmienia się wraz ze stężeniem soli w niej zawartych.

¹⁾ BOTTAZZI '25, QUINTON '12, FREDERICQ '04.

Ryby spouste stanowią grupę przejściową, gdyż krew ich, będąc izotoniczną w stosunku do środowiska podobnie jak krew bezkręgowców morskich, jest jednocześnie o wiele uboższą w składniki mineralne, niż woda morska. Ta „hipotonja mineralna“ krwi spoustych wyrównywana jest przez obecność w niej znacznych ilości mocznika (SCHRÖDER '90).

Według FREDERICQA ('04, '22) te różnorodne stosunki między środowiskiem wewnętrznym organizmów a środowiskiem zewnętrznym dadzą się sformułować w sposób następujący:

1) organizmy homoosmotyczne

a) morskie

$$\Delta \text{ krwi} < \Delta \text{ środowiska } ^1)$$

$$\text{i } S^{0/00} \text{ " } < S^{0/00} \text{ "}$$

b) słodkowodne

$$\Delta \text{ " } > \Delta \text{ "}$$

$$S^{0/00} \text{ " } > S^{0/00} \text{ "}$$

2) ryby spouste

$$\Delta \text{ " } = \Delta \text{ "}$$

$$S^{0/00} \text{ " } < S^{0/00} \text{ "}$$

3) organizmy pojkilosmotyczne

$$\Delta \text{ " } = \Delta \text{ "}$$

$$S^{0/00} \text{ " } = S^{0/00} \text{ "}$$

W powyższym ujęciu pojkilosmotyczne organizmy bezkręgowców morskich różnią się od organizmów homoosmotycznych brakiem urządzeń osmoregulacyjnych.

Jednakże już na podstawie prac FREDERICQA ('04) nad krabem *Carcinus moenas*, a następnie DUVALA ('25) można było przypuszczać, że bezkręgowce morskie nie stanowią tak jednolitej grupy pod względem osmoregulacyjnym, aby można je wszystkie zaliczyć do organizmów pojkilosmotycznych. Przemawiają przeciwko temu również prace SCHLIEPERA ('29) oraz BAUMBERGA i OLMSTEDA ('28).

Nowym argumentem przeciwko powyższemu uogólnianiu są przedstawione w pracy niniejszej dane, dotyczące składu mineralnego hemolimfy oraz jej ciśnienia osmotycznego u równonoga, *Mesidotea entomon* [L].

Materiał i metody.

Mesidotea entomon [L] występuje gromadnie w wodach Polskiego Bałtyku, jako przedstawiciel fauny dennej. Zwierzęta te są bardzo odporne na zmiany warunków zewnętrznych, dzięki czemu można je było łatwo przewozić do Warszawy w wilgotnej trawie.

¹⁾ Δ oznacza obniżenie punktu zamarzania, $S^{0/00}$ — zawartość soli w promille.

Używane do doświadczeń zwierzęta trzymane były w różnych stężeniach sztucznej wody morskiej, przyrządzonej według zmodyfikowanego przepisu MC CLENDONA ('17) o składzie następującym:

NaCl — 28,27 g/L, KCl — 0,76 g/L, CaCl₂ — 1,22 g/L, MgCl₂ — 5,1 g/L,
MgSO₄ — 7,03 g/L, NaBr — 0,08 g/L, NaHCO₃ — 0,21 g/L.

Przez pięciokrotne rozcieńczenie tak przygotowanej wody oceanicznej, otrzymywano wodę, odpowiadającą stężeniem soli w wodzie Bałtyku.

Akwarja, w których trzymano zwierzęta, były codziennie przewietrzane. Wodę zmieniano w akwariach co 4—5 dni. W tych warunkach *Mesidotea* trzyma się zupełnie dobrze. Wskazuje na to jej apetyt, ruchliwość, linienie oraz rozród, obserwowane w ciągu przeszło 5 miesięcy od lutego do lipca 1931 r.

Temperatura piwnicy, w której umieszczone były akwarja ze zwierzętami, wynosiła 5 — 10° C.

Ciśnienie osmotyczne krwi mierzone było metodą krioskopową w aparacie DECKHUYZENA.

Składniki mineralne oznaczano następującymi metodami.

K — metodą KRAMERA i TISDALLA ('21).

Na — metodą BARRENSCHENA i MESSINER ('27)

Ca — metodą DE WAARDA ('19) w modyfikacji HECHTA ('23)

Mg — metodą KRAMERA i TISDALLA ('21) skombinowaną z metodą BRIGGSA ('22) według wskazówek BIAŁASZEWICZA ('26)

Cl — metodą WHITEHORNA ('21)

P — metodą BRIGGSA ('22)

S — metodą grawimetryczną jako BaSO₄.

W każdej serji oznaczeń kontrolowano wyniki przez równocześnie dokonywaną analizę roztworów wzorcowych.

Hemolimfa podwoja była wydobywana pipetą przez nakłócie błony między 4 i 5 pierścieniem pancerza grzbietowego.

W kilka godzin po wytworzeniu się skrzepu, powstającego w ciągu kilku minut po wydobyciu hemolimfy, oddzielana była płynna słomkowego koloru surowica. Niebieskie zabarwienie, jakie przybiera surowica przy wstrząsaniu jej w probówce, jest prawdopodobnie uwarunkowane zawartą w niej hemocjaniną.

Ciśnienie osmotyczne hemolimfy i jej skład mineralny.

Ze względu na nieznaczną ilość hemolimfy, jaką można wydobyć z jednego osobnika (ca 0,5 cm³), używano do oznaczenia obniżenia punktu zamarzania surowicę zebraną z kilkudziesięciu egzemplarzy.

Trzykrotnie dokonywane pomiary (w sierpniu, grudniu i lutym) dały następujące liczby dla obniżenia punktu zamarzania surowicy: 1,23°, 0,96° i 1,02°, czyli średnio $\Delta = 1,07^\circ$. Woda Bałtyku natomiast posiada $\Delta = 0,41^\circ$.

Ta znaczna różnica między ciśnieniem osmotycznym środowiska zewnętrznego i wewnętrznego podwoja znajduje swój wyraz w stężeniu składników mineralnych, znalezionem w wodzie Bałtyku i surowicy.

Tabela I daje nam obraz ustosunkowania się wzajemnego składników mineralnych wody środowiska i surowicy.

T a b e l a I.

Skład mineralny surowicy podwoja w porównaniu ze składem mineralnym wód Bałtyku.
Composition minérale du sérum de Mesidotea entomon [L] comparée à celle de l'eau de la Baltique.

	Surowica <i>Sérum</i> mg/cm ³	Woda Bałtyku <i>Eau de la Baltique</i> mg/cm ³
K	0.24	0.07
Na	4.64	1.88
Ca	0.50	0.11
Mg	0.28	0.24
Cl	7.30	3.60
P	0.04	—
S	0.23	0.19

Wyjąwszy Mg i S, które występują w wodzie i w surowicy w bardzo zbliżonych stężeniach oraz P — którego woda nie zawiera wcale, wszystkie inne zbadane składniki mineralne znajdują się w surowicy w stężeniu o wiele wyższym, niż w wodzie.

Przyjmując, że Mg występuje w surowicy w postaci siarczynu, zaś inne metale w postaci chlorków, zrobiony został roztwór tych soli w stężeniu, w jakim występują one w surowicy. Obniżenie punktu zamarzania takiego roztworu wynosi $\Delta = 0.83^\circ$, t. j. mniej o blisko 20% niż Δ surowicy ($= 1.07^\circ$). Można stąd wnioskować, że oprócz mineralnych składników występują w surowicy organiczne substancje osmotycznie czynne.

Z liczb tabeli I wynika, że aczkolwiek absolutne stężenie Mg w surowicy podwoja jest takie samo, jak w wodzie morskiej, to koncentracja względna tego metalu w obu cieczach różni się znacznie. Na 100 g chloru w surowicy przypada 3.84 g Mg, gdy w morzu stosunek Cl: Mg wynosi 100:6.26, jak to przedstawia tabela II, w której podane są w gramach ilości oddzielnych składników, przypadających na 100 g chloru.

T a b e l a II.

Ilości poszczególnych składników, przypadających na 100 g Cl w g.
Quantité des différents composés correspondants à 100 gr. Cl. en gr.

	Surowica <i>Sérum</i>	Woda morską <i>Eau de mer</i>
Cl	100	100
Na	63.57	52.22
K	3.29	1.94
Ca	6.85	3.06
Mg	3.84	6.66
P	0.55	—
S	3.15	5.28

Celem przekonania się, czy w składzie mineralnym hemolimfy zaznaczają się różnice indywidualne, wytoczono hemolimfę z 8 większych osobników i oznaczono Cl osobno w surowicy każdego zwierzęcia.

Otrzymane wyniki przedstawia nam tabela III.

T a b e l a III.

Wahania indywidualne ilości Cl w hemolimfie
Variations de la teneur en Cl dans l'hémolymphé.

Nr. osobnika <i>de l'animal</i>	Ilość Cl <i>Teneur en Cl</i> mg/cm ³	Uwagi <i>Adnotations</i>
1	10.6	Surowica <i>Sérum</i>
2	11.2	
3	10.0	
4	9.8	
5	11.0	
6	10.7	
7	8.3	Hemolimfa nieskoagulowana <i>Hémolymphé non coagulée</i>
8	8.6	
Woda morską sztuczna <i>Eau de mer artificielle</i>	4.3	

Ilość Cl znaleziona w powyższych przypadkach jest nieco większa, niż znaleziona w surowicy, zebranej z kilkudziesięciu egzemplarzy (7.3 mg w 1 cm³—por. tab. I). Tłumaczy się to tem,

że oddzielnie badane osobniki (tab. III) wzięte były z wody sztucznej, która zawierała nieco więcej Cl (4.3 mg/cm^3), niż woda naturalna Bałtyku (3.6 mg/cm^3).

O ile pominiąc ilości Cl w № 7 i 8 tabeli III, które odnoszą się do hemolimfy nieskoagulowanej, i weźmiemy pod uwagę tylko zwierzęta oznaczone № 1 — 6, to stwierdzić należy, że różnice zawartości Cl w surowicy różnych osobników dosięgają 14%. Tę okoliczność należy wziąć pod uwagę w ocenie analiz surowicy, pochodzącej od wielu osobników.

Odmienny skład mineralny surowicy i wody morskiej i związana z tem różnica między ciśnieniem osmotycznym wewnętrznego i zewnętrznego środowiska podwoja świadczą, że organizm ten posiada rozwinięty mechanizm osmoregulacyjny i chemoregulacyjny. Pod tym względem *Mesidotea* należy do organizmów homoosmotycznych podobnie jak bezkręgowce słodkowodne.

Według danych literatury ekologicznej (EKMAN '19 '20, GURJANOWA '30) *Mesidotea entomon* jest organizmem wybitnie euryhalicznym. Spotyka się go w morzach arktycznych przy ujściach rzek, gdzie woda podobnie jak w Bałtyku jest mniej lub więcej wysłodzona. Występuje jednak i w środowiskach słodkowodnych, jak np. w jeziorach szwedzkich (Vätter) i rosyjskich (Ładoga) oraz w rzekach syberyjskich, tworząc tam odmiany lokalne, różniące się wielkością i odmiennem ustosunkowaniem się do siebie wymiarów niektórych części ciała.

W morzach północnych o stężeniu normalnem gatunek ten nie występuje. Zastępuje go tam *Mesidotea sibirica* [B], od której EKMAN wyprowadza inne gatunki, należące do rodzaju *Mesidotea*.

Z doświadczeń APSTEINA ('23), robionych na podwojach Bałtyku, wynika również, że organizm ten może znosić środowisko słodkowodne przez szereg dni.

Na tle powyższych faktów powstaje pytanie, czy skład mineralny hemolimfy podwoja a wraz z tem i jej ciśnienie osmotyczne ulegają zmianom w środowiskach o różnych stężeniach soli i jaki jest ewentualny kierunek tych zmian.

W celu rozstrzygnięcia tych pytań wykonano szereg doświadczeń, których wyniki przedstawione są w rozdziale następnym.

Część doświadczalna.

W wykonanych doświadczeniach, jako wskaźnik zmian mineralnego składu surowicy, wzięto ilości chloru, występujące w surowicy zwierząt, trzymany w środowiskach o różnej koncentracji soli.

Środowiska te przyrządzone były przez rozcieńczenie wodą wodociągową podwójnie stężonej wody oceanicznej o składzie, podanym w części metodycznej niniejszej pracy. Kontrolowana kolorymetrycznie koncentracja jonów wodorowych tych środowisk wahała się od $\text{pH} = 7.2$ do 7.8.

Do każdego oznaczenia chloru zbierano hemolimfę z 3 — 5 osobników zależnie od ich wielkości.

Tabela IV zawiera wyniki serji doświadczeń, w których najdłuższy okres pozostawania zwierząt w zmienionych środowiskach nie przekraczał 1 tygodnia.

Tabela IV.

Ilości Cl w surowicy podwojów, umieszczonych w różnych stężeniach wody morskiej.
Teneur en Cl du sérum des Mesidotea dans l'eau de mer à concentration croissante.

Stężenie Cl w środowisku <i>Concentration du Cl dans le milieu mg/cm³</i>	Stężenie Cl w surowicy w mg/cm ³ <i>Concentration du Cl dans le sérum p o g o d z i n a c h</i>		
	<i>après 40 heures</i>	<i>après 70 heures</i>	<i>après 168 heures</i>
20.0	18.0	19.1	19.2
12.5	13.8	13.8	14.9
10.0	11.7	14.4	13.6
3.9	10.2		
woda słodka <i>eau douce</i>	8.3 ¹⁾	6.2 ²⁾	

¹⁾ po 24 godzinach

²⁾ po 53 godzinach

Jak widzimy, ilości chloru w surowicy wzrastają w miarę zwiększania się stężenia środowiska. Zwiększanie się stężenia chloru w surowicy odbywa się dość powolnie, nowa bowiem równowaga między stężeniem chloru w środowisku zewnętrznym i wewnętrznym ustala się dopiero po kilku dniach.

Podwoje, przeniesione do środowiska izotonicznego, zawierającego takie same ilości chloru, jak ich hemolimfa, mianowicie

10 mg Cl w 1 cm³, już po 40 godzinach posiadają we krwi więcej chloru (11.7 mg/cm³), niż zawiera go nowe środowisko. Po tygodniu zawartość chloru we krwi dochodzi do 13.6 mg/cm³. Ujawnia się tu wyraźnie ze strony organizmu tendencja do osiągnięcia wyższego stężenia składników mineralnych we krwi, niż w nowym środowisku.

Tę samą tendencję dostrzega się u badanych zwierząt po przeniesieniu do środowiska hipertonicznego, zawierającego 12.5 mg Cl w 1 cm³. Surowica podwoja w takim środowisku posiada już po 40 godzinach o 10% większe stężenie chloru (13.8 mg/cm³), niż środowisko. Po tygodniu różnica ta dochodzi do 19% (14.9 mg/cm³).

Natomiast w środowisku oceanicznym (20 mg Cl w 1 cm³) stężenie chloru surowicy nie przekroczyło stężenia, panującego w wodzie, nawet po tygodniowym pozostawianiu zwierząt w tem środowisku.

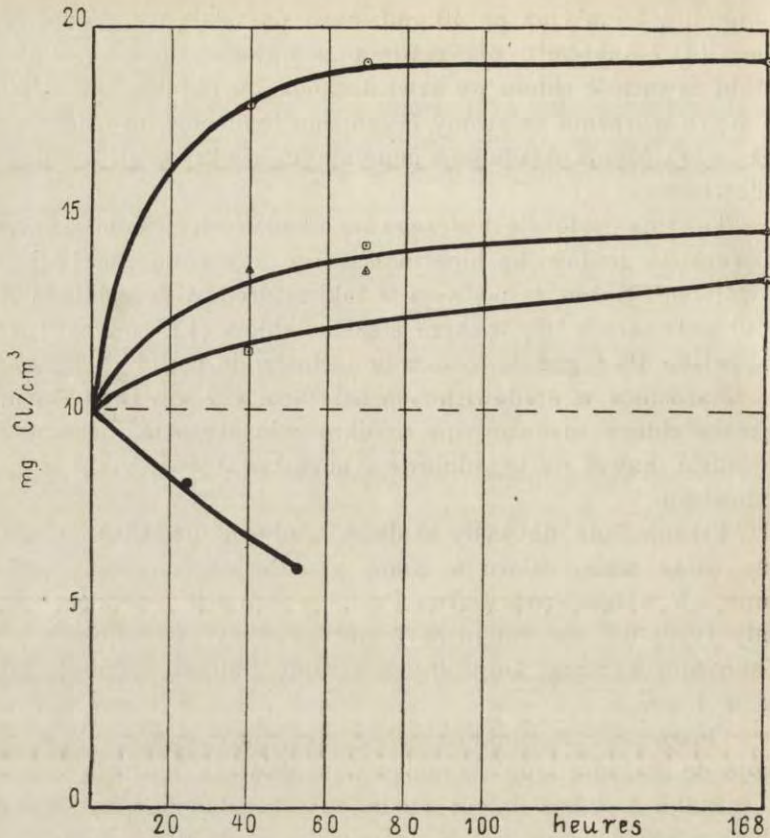
Przeniesione do wody słodkiej, podwoje posiadają w surowicy coraz mniej chloru w miarę przedłużającego się pozostawania ich w tem środowisku. Po 53 godzinach zwierzęta takie miały tylko 6.2 mg chloru w 1 cm³ surowicy, gdy ilość chloru w surowicy zwierząt kontrolnych z wody Bałtyku wynosiła 10.2 mg w 1 cm³.

Omówione ustosunkowanie się stężenia chloru we krwi podwoja do stężenia tego składnika w środowisku ilustrują krzywe na rysunku 1, gdzie na osi rzędnych przedstawione są stężenia chloru w surowicy zaś na osi odciętych czas działania środowiska na organizm.

Zależnie od stężenia soli w środowisku, w którym trzymane są podwoje, stosunek stężenia chloru w surowicy do stężenia chloru w środowisku ulega znacznym przesunięciom i po tygodniu przedstawia się jak następuje:

	$\frac{Cl_s}{Cl_w}$
1) w wodzie Bałtyku (3.9 mg Cl/cm ³)	2.6
2) w rozcieńczonej do połowy wodzie oceanu (10 mg Cl/cm ³)	1.4
3) w rozcieńczonej do $\frac{2}{3}$ wodzie oceanu (12.5 mg Cl/cm ³) .	1.2
4) w wodzie oceanu (20 mg Cl/cm ³)	0.96

Liczby te wskazują, że surowica podwoja, która w warunkach naturalnych jest wybitnie hipertoniczna w stosunku do środowiska, zbliża się do izotonji w miarę zwiększania się stężenia soli w tem ostatniem. W wodzie oceanicznej następuje wyrów-



Rys. 1. Krzywe stężenia chloru w surowicy podwojów w środowiskach o wzrastającym stężeniu Cl: ● — woda słodka, --- — woda Bałtyku, □ — 50% woda oceaniczna (10 mg Cl/cm³), △ — 66% woda oceaniczna (12,5 mg Cl/cm³), ○ — woda oceaniczna (20 mg Cl/cm³).

Fig. 1. Courbes de la teneur en chlore du sérum de *Mesidotea* soumis à l'action des différents milieux: ● — eau douce, --- — eau de la Baltique, □ — eau de mer à 50% (10 mgr Cl/cm³), △ — eau de mer à 66% (12,5 mgr Cl/cm³), ○ — eau de mer (20 mgr Cl/cm³).

nanie stężenia chloru w surowicy i w otoczeniu, stosunek $\frac{Cl_s}{Cl_w}$ zbliża się w tych warunkach do jedności tak, jak to stwierdzono u większości badanych bezkręgowców morskich.

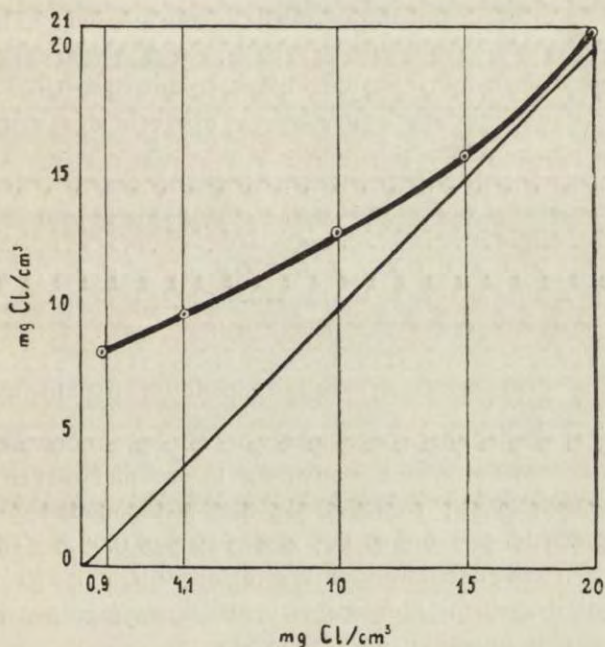
Celem przekonania się, czy dłużej trwające oddziaływanie na podwoje wzrastających stężeń wody morskiej zmienia ustalone w opisanym doświadczeniu ustosunkowanie się chloru surowicy do chloru środowiska, wykonano doświadczenie, trwające czas dłuższy, którego wyniki przedstawione są w tabeli V.

Tabela V.

Stężenie chloru w surowicy podwojów, umieszczonych w różnych stężeniach wody morskiej.
Teneur en chlore du sérum de Mesidotea provenant de l'eau de mer à concentration croissante.

Koncentracja chloru w środowisku <i>Teneur en chlore du milieu</i> <i>mg/cm³</i>	Koncentracja chloru w surowicy w mg/cm ³ <i>Teneur en chlore du sérum en mgr/cm³</i>				
	po dniach — après				
	4	7	18	31	125 jours
28,5	27,0	—	—	—	—
20,0	20,0	20,4	21,5	20,8	20,0
15,0	15,3	16,2	16,6	16,0	—
10,0	12,3	12,3	12,4	13,0	—
4,1	9,8	—	—	—	—
0,9	—	—	—	8,6	—
woda słodka <i>eau douce</i>	5,5 ¹⁾ —4,6	—	—	—	—

¹⁾ po dniach 3 après 3 jours.



Rys. 2. Krzywa stężenia chloru w surowicy w zależności od stężenia Cl w środowisku, według doświadczenia, trwającego 31 dni (patrz tabl. V).

Fig. 2. Courbe de la teneur en chlore du sérum en fonction de la concentration du milieu extérieur. Durée de l'expérience 31 jours.

Liczby, przedstawione w tabeli V, potwierdzają w zupełności wyniki poprzedniej serii doświadczeń.

Krzywa na rys. 2 obrazuje nam wyraźnie ustosunkowanie się stężenia chloru surowicy i środowiska w zależności od koncentracji soli w tem ostatniem.

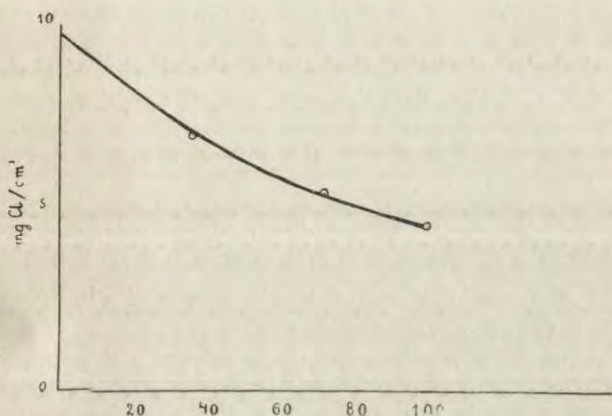
W obrębie stężeń od 15 do 20 mg Cl/cm³ w środowisku surowica podwojów ma takie samo stężenie chloru jak środowisko: krzywa stężenia chloru w środowisku i w surowicy biegną równolegle, prawie się pokrywając. W środowiskach zaś więcej rozcieńczonych te dwie krzywe coraz więcej oddalają się od siebie w miarę zmniejszania się stężenia chloru w środowisku. Znaczy to, że w środowiskach morskich, zbliżonych pod względem koncentracji soli do warunków oceanicznych (15–20 mg Cl/cm³), podwoje zachowują się, jak organizmy pojkilosmotyczne — w tych granicach koncentracji soli w środowisku stężenie chloru we krwi podwoja jest wiernym odbiciem stężenia chloru w otaczającej wodzie. Natomiast w środowiskach więcej rozcieńczonych ujawnia się coraz więcej rozbieżność między zawartością składników mineralnych krwi i środowiska (rys. 2), czego wyrazem jest stosunek chloru surowicy (Cl_s) do chloru środowiska (Cl_w) u zwierząt, trzymanyh w ciągu miesiąca w różnych stężeniach wody morskiej.

	$\frac{Cl_s}{Cl_w}$
1) w wodzie Bałtyku rozcieńczonej do $\frac{1}{4}$ (0.93 mg Cl/cm ³)	9.5
2) w wodzie Bałtyku (3.75 mg Cl/cm ³)	2.6
3) w rozcieńczonej do połowy wodzie oceanu (10 mg Cl/cm ³)	1.3
4) w rozcieńczonej do $\frac{3}{4}$ wodzie oceanu (15 mg Cl/cm ³)	1.07
5) w wodzie oceanicznej (20 mg Cl/cm ³)	1.04

Gdy w dwu ostatnich środowiskach (4, 5) stosunek $\frac{Cl_s}{Cl_w}$ zbliżony jest do jedności, świadcząc o izotonji środowiska wewnętrznego i zewnętrznego podwoja, to w pierwszych trzech rozcieńczeniach (1, 2, 3) stosunek ten jest znacznie większy, dochodząc do 9.5 w środowisku, zawierającym 0.93 mg Cl w cm³. W tych rozcieńczeniach wody morskiej organizm podwoja zachowuje się, jak organizmy homojosmotyczne, krew jego jest wybitnie hipertoniczna w stosunku do środowiska.

Zaznaczyć należy, że tendencja w kierunku utrzymania w cieczy krwi wyższego stężenia elektrolitów, niż w otaczającym środowisku ujawnia się tylko w organizmach żywych. Surowica

osobników, które zginęły w czasie doświadczenia, zawierała ilości chloru zbliżone do ilości chloru w wodzie. Tak np. surowica zwierząt trzymanyh w wodzie Bałtyku, zawierającej 3.9 mg Cl/cm^3 , analizowana w kilka godzin po śmierci, zawierała 5.5 mg Cl/cm^3 , zamiast 10 mg , znajdujących w surowicy zwierząt żywych. Surowica zwierząt żywych, trzymanyh przez 7 dni w środowisku hipertonicznem, w którym stężenie chloru wynosiło 12.5 mg Cl/cm^3 , zawierała 14.9 mg Cl/cm^3 , natomiast w surowicy osobnika martwego, analizowanej w kilka godzin po jego śmierci stężenie chloru wynosiło 12.7 mg/cm^3 .



Rys. 3. Krzywa stężenia chloru w surowicy podwojów przeniesionych do wody słodkiej.

Fig. 3. Courbe de la teneur en chlore du sérum de *Mesidotea* mis dans l'eau douce.

W wodzie słodkiej trzymane podwoje już po kilku dniach zdradzały wyraźne osłabienie, przestawały jeść, coraz słabiej reagowały na bodźce mechaniczne i szybkość ich oddechów malała. Objawom tym towarzyszy stały spadek stężenia chloru w surowicy (rys. 3), którego ilości po 4 dniach spadają do 4.6 mg/cm^3 wobec ca 10 mg/cm^3 w surowicy zwierząt kontrolnych, trzymanyh w sztucznej wodzie Bałtyku.

Dłużej niż 4 dni wytrzymywały w wodzie słodkiej (ca 0.04 mg Cl/cm^3) tylko pojedyncze egzemplarze mniejszych rozmiarów, co uniemożliwiało zbadanie dalszego spadku zawartości chloru w surowicy podwojów, trzymanyh w tem środowisku.

Spadek zawartości chloru surowicy zwierząt trzymany w wodzie destylowanej jest szybszy jeszcze, niż w wodzie słodkiej, o czym świadczy następujące doświadczenie.

Osobnik większych rozmiarów (ca 8 cm³ długości) po wypłókanu go w strumieniu wody destylowanej umieszczony został w wodzie destylowanej. Po 20 godzinach, gdy zwierze zdradzało jeszcze słabe oznaki życia, wzięta była krew, która zawierała tylko 5.5 mg Cl/cm³. Analiza wody destylowanej, w której zwierzę było trzymane, stwierdziła obecność w niej 8.5 mg chloru. Doświadczenie to wskazuje, że w środowiskach bardzo rozcieńczonych elektrolity hemolimfy przechodzą do otaczającej wody. Towarzyszące ubytkowi elektrolitów hemolimfy objawy śmierci występują przytem tem szybciej, im gwałtowniejszy jest spadek zawartości elektrolitów w hemolimfie.

Powyższe dane pozwalają stwierdzić, że *Mesidotea entomon* posiada mechanizm regulujący stężenie elektrolitów we krwi. Mechanizm ten wyraźnie ujawnia swe działanie w stężeniach wody morskiej, nie przekraczających 75% stężenia wody oceanicznej (15 mg Cl/cm³), używanej w omówionych doświadczeniach i działa w kierunku utrzymania hiperttonji środowiska wewnętrznego w stosunku do środowiska zewnętrznego.

Istnienie odmian słodkowodnych gatunku *Mesidotea entomon* pozwala przypuszczać, że przy stopniowym przystosowywaniu się tego organizmu do wody słodkiej mechanizm osmoregulacyjny zabezpiecza go przed nadmierną utratą składników mineralnych hemolimfy. Raptowna bowiem strata tych składników, jak widzieliśmy, powoduje śmierć organizmu w ciągu krótkiego czasu.

Przedstawione wyniki badań nad zmianami stężenia soli w hemolimfie podwoja zgadzają się z wynikami prac DUVALA (25) nad szeregami form zwierzęcych, zwłaszcza nad krabem *Carcinus moenas*. Krzywa zmian, zachodzących w stężeniu składników mineralnych hemolimfy tych zwierząt pod wpływem zmiennego stężenia środowiska, ma taki sam przebieg, jak przedstawiona w niniejszej pracy krzywa, ilustrująca te zmiany w hemolimfie podwoja.

Według SCHLIEPERA ('29), badane przez niego formy euryhaliczne jak *Eryochair sinensis*, *Carcinus moenas*, *Cancer pagurus*, *Nereis diversicolor*, posiadają w rozcieńczonej wodzie morskiej wyższe stężenie soli w hemolimfie, niż środowisko.

HYKES ('30) stwierdza, że *Beroe ovata* znosi wodę morską

rozcieńczoną (75‰) i że w hipotonicznym środowisku ciężar zwierzęcia początkowo zwiększa się, ulegając następnie redukcji poniżej swej wartości początkowej.

Z pracy BAUMBERGA i OLMSTEDA ('28) wynika, że hemolimfa krabów (*Pachygrapsus crassipes* i *Callinectes sapidus*) ma w czasie wylinki ciśnienie osmotyczne znacznie wyższe, niż woda morska.

Według MEDWEDEWOJ ('27), ciśnienie osmotyczne krwi u *Artemia salina* ulega nieznacznym wahaniom w porównaniu z wahaniami stężenia soli w środowisku.

Skala stężenia wody morskiej, w jakiej mogą żyć, według KREPSA ('26), *Balanus crenatus* i *Balanus balanoides* wynosi od 0—70‰ soli, zaś mięczak, *Haminea hydatis*, według SCORDIA ('27),¹ wytrzymuje w stanie dorosłym granice słoności od 10 do 52‰, a formy młodociane nawet do 70‰. Trudno sobie wyobrazić, by organizmy, wytrzymujące tak szeroką skalę stężenia soli w środowisku, nie posiadały odpowiedniego mechanizmu, regulującego zawartość soli w cieczech ciała.

Przytoczone przykłady dowodzą, że izotonja krwi i środowiska nie jest cechą właściwą wszystkim bezkręgowcom morskim, wiele z nich bowiem posiada zdolność uniezależniania stężenia soli krwi od ich stężenia w środowisku.

Rzeczą godną uwagi jest to, że zależność stężenia środowiska wewnętrznego od stężenia środowiska zewnętrznego ma taki sam charakter u bezkręgowców słodkowodnych, jak u wspomnianych wyżej bezkręgowców morskich euryhalicznych. Według doświadczeń CALUGAREANU ('15) nad szczeżują oraz DUVALA ('28) nad zatoczkami (*Planorbis*), błotniarką (*Lymnaea*) i szczeżują (*Anodonta*), krew tych organizmów w miarę wzrastającej do pewnych granic koncentracji środowiska staje się coraz mniej hipertoniczną dochodząc wreszcie do izotonji z otaczającą wodą. Podobnie dzieje się (DUVAL '25) z krwią kraba rzeczno-jeziernego, *Telphusa fluviatilis*, oraz raka rzeczno-jeziernego, *Potamobius astacus* (HERMANNÓWNA '31).

Widzimy stąd, że nietylko bezkręgowce słodkowodne posiadają możliwość regulowania składu mineralnego krwi, ale również wiele bezkręgowców morskich posiada mniej lub więcej rozwinięty mechanizm regulacyjny, który w znacznej mierze uniezależnia stężenie molarne ich krwi od stężenia środowiska zewnętrznego.

¹) Cytowane według ISSELA ('27).

Podnieść należy, że niezależność środowiska wewnętrznego od otoczenia ujawnia się nie tylko w różnicy stężeń składników mineralnych krwi i otaczającej wody, ale również w ich odmiennym ustosunkowaniu się wzajemnym w obrębie każdego z tych dwu środowisk. Wynika to zarówno z analizy składników mineralnych podwoja, podanej w niniejszej pracy, jak z analiz BETHEGO ('31) nad szeregiem organizmów morskich oraz badań doświadczalnych BIAŁASZEWICZA ('30) nad regulacją składu mineralnego krwi u kraba, *Maja squinado*.

Reasumując, stwierdzić można, że ogół bezkręgowców przedstawia skalę przejść od morskich organizmów pojkilosmotycznych (zwierzęta stenohaliczne) do organizmów słodkowodnych homojosmotycznych. Ogniwem, łączącym te dwa krańcowe typy, są bezkręgowce morskie euryhaliczne. W środowisku oceanicznym posiadają one krew izotoniczną z otoczeniem, zaś w rozcieńczonej wodzie morskiej krew ich jest hipertoniczną w stosunku do środowiska, podobnie jak się to dzieje u bezkręgowców słodkowodnych..

Streszczenie wyników.

1°. Ciśnienie osmotyczne hemolimfy podwoja jest przeszło dwa razy większe, niż wody Bałtyku.

2°. Skład mineralny hemolimfy podwoja różni się od składu mineralnego wody morskiej zarówno pod względem stężenia soli, jak i pod względem stosunku poszczególnych jonów.

3°. Podwoje znoszą bez żadnych widocznych zaburzeń bardzo szeroką skalę stężeń wody morskiej, od wody oceanicznej (20 mg Cl/cm³) do 25% wody Bałtyku (0.93 mg Cl/cm³).

4°. Przy obniżaniu się stężenia wody morskiej, stężenie chloru surowicy podwoja maleje znacznie wolniej niż w środowisku, w wyniku czego izotoniczna z wodą oceaniczną hemolymfa staje się w środowiskach rozcieńczonych hipertoniczną.

5°. W wodzie słodkiej podwoje tracą szybko znaczne ilości chloru i po kilku dniach giną.

6°. Na podstawie otrzymanych tu wyników oraz danych innych autorów można stwierdzić, że zwierzęta bezkręgowce morskie posiadają w mniejszym lub większym stopniu wykształcony mechanizm osmoregulacyjny i chemoregulacyjny i stanowią

szeroką skalę przejść od typu organizmów pojkilosmotycznych morskich do organizmów słodkowodnych homojosmotycznych.

Panu A. HRYNIEWICKIEMU, kierownikowi Morskiego Instytutu Rybackiego, składam gorące podziękowanie za dostarczanie materiału doświadczalnego do niniejszych badań.

Piśmiennictwo.

- Apstein C.** 1923. Weiteres über *Glyptonotus entomon*. Wissensch. Meeresuntersuch. 15, H. 1. **Barrenscheen H. K.** und **L. Messiner** 1927. Eine kolorimetrische Mikrobestimmung des Natriums. Bioch. Zeitschr. 189 (308). **Baumberg J. P.** and **I. M. D. Olmsted.** 1928. Changes in the osmotic pressure and water content of crabs during the molt cycle. Physiol. Zool. 1 (351). **Bethe A.** 1928. Jonendurchlässigkeit der Körperoberfläche von wirbellosen Tieren des Meeres, als Ursache der Giftigkeit von Seewasser abnormer Zusammensetzung. Pflüg. Arch. 221 (344). **Bethe A.** und **E. Berger** 1931. Variationen im Mineralbestand verschiedener Blutarten. Pflüg. Arch. 227 (571). **Białaszewicz K.** 1926. O składzie mineralnym komórek jajowych. Prace Instyt. im. Nenckiego 3. **Białaszewicz K.** 1930. Badania nad zjawiskami regulowania składu mineralnego cieczy ciała. I. Doświadczenia nad krabem *Maja squinado*. Acta Biol. Exp. 5 (57). **Bottazzi F.** 1925. Cytoplasma und Zellsäfte. Winterstein's Handb. der vergl. Physiol. 1. **Briggs A. P.** 1922. A modification of the Bell - Doisy phosphate method. Jour. of biol. Chem. 53 (13). **Calugareanu** 1915. Recherches chimiques et physico-chimiques sur le sang de l'Anodonte. Bull. Section scientif. de l'Académie Roumaine. 7 (216). **Wedtug Duvala '25.** **Duval M.** 1925. Recherches physico-chimiques et physiologiques sur le milieu intérieur des animaux aquatiques. Modifications sous l'influence du milieu extérieur. Ann. de l'Inst. Océanogr. Nouvelle série 3 (233). **Duval M.** 1928. Concentration moléculaire du sang de quelques Mollusques d'eau douce. Annales de Physiol. 4 (27). **Ekman S.** 1919. Studien über die marine Relikte der nordeuropäischen Binnengewässer. VI. Intern. Revue d. ges. Hydrobiol. und Hydrogr. 8 (477). **Fredericq L.** 1904. Sur la concentration moléculaire du sang et des tissus chez les animaux aquatiques. Arch. de Biol. 20 (709). **Fredericq L.** 1922. Action du milieu marin sur les Invertébrés. Arch. intern. de Physiol. 19 (309). **Gurjanowa.** 1930. Beiträge zur Fauna der Crustacea Malacostraca des arktischen Gebietes. Zool. Anzeig. 86 (231). **Hecht G.** 1923. Bestimmung des Organkalkes nach de Waard. Bioch. Zeitschr. 143 (342). **Herrmann F.** 1931. Über den Wasserhaushalt des Flusskrebse. Zeitschr. f. vergl. Physiol. 14 (479). **Höber R.** 1926. Physikalische Chemie der Zelle und der Gewebe. Leipzig. **Hykes O. V.** 1930. Résistance des Cténophores du genre *Berce* dans l'eau de mer diluée. C. R. Soc. Biol. 103 (355). **Issel R. A.** 1927. A proposito di organismi eurialini e di narcosi osmotica. Boll. Mus. Genova. 7 (15). **Kramer B.** and **F. F. Tisdall** 1921. A clinical method for the quantitative determination of potassium in small

amounts of serum. *Jour. of biol. Chem.* 46 (339). **Kramer B.** and **F. F. Tisdall** 1921. A simple technique for the determination of calcium and magnesium in small amounts of serum. *Jour. of biol. Chem.* 47 (475). **Kreps E.** Über den Einfluss auf die litoralen Balanidaeformen der Veränderungen in der Salzkonzentration des umgebenden Mediums. *Russkij fiziol. Žurnal.* 9 (121). **Mc Clendon J., F. C. C. Gault and S. Mulholland.** 1917. The hydrogen-ion concentration, CO₂ tension, and CO₂ content of sea-water. *Papers from Depart. Marine Biology, of H. Carnegie Insitut.* 9 (23). **Medwedewa N. B.** 1927. Über osmotischen Druck der Hämolymphe von *Artemia salina*. *Zeitschr. f. vergl. Physiol.* 5 (547). **Quinton R.** 1912. *L'eau de mer, milieu organique.* 2-me éd. Paris. Masson. **Scordia C.** 1927. Eurialinità di un mollusco opisthobranchio allo stato giovanile. *Riv. di Biol.* 9 (17). **Schlieper C.** 1929. Über Einwirkung niederer Salzkonzentrationen auf marine Organismen. *Zeitschr. f. vergl. Physiol.* 9 (478). **Schröder W.** 1890. Über die Harnstoffbildung der Haifische. *Zeitschr. f. physiol. Chemie.* 14 (576). **Wetochin J. A.** 1931. Osmoticeskoje dawlenje wniesznej i wnutriennej sriedy žiwotnych organizmow. *Izwestja Biolog. Naucznoizsledowatielskawo Instituta pri Permskom Gosudar. Uniwersitietie.* 7 (293). **Whitehorn J. C.** 1921. A system of blood analysis. Simplified method for the determination of chlorides in blood plasma *Jour. of biol. Chem.* 45 (449).

[Zakład Fizjologii Instytutu im. Nenckiego T. N. W.]

E. Kryszczyński.

O chłonienu składników mineralnych moczu w steku ptaków.

*Über die Resorption von mineralischen Bestandteilen des Harnes
in der Vogelkloake.*

Rękopis nadesłany w dniu 1. XII. 1931 r.

Es ist eine bekannte Tatsache, dass die Vögel den flüssigen Harn in die Kloake ausscheiden, wo er infolge der Rückresorption von Wasser, einer bedeutenden Verdichtung unterliegt. Nach den knappen Literaturangaben (STEEL '22, DAVIS '27) werden aus dem Harne, unter natürlichen Bedingungen, Na und Cl, sowie verschiedene organische Verbindungen aufgesaugt.

Der Verfasser hat sich in vorliegender Arbeit die Aufgabe gestellt, die mineralische Zusammensetzung, der in der Kloake rückresorbierten Flüssigkeit, zu untersuchen.

In diesem Zweck bestimmte der Verfasser die Konzentration der mineralischen Bestandteile (Na, K, Ca, Mg, Cl und P) und des Stickstoffs, welche alle sich, einerseits, in dem aus den Ureteren herkommenden Harne und andererseits in dem kloakalen Kote, an demselben Hungertage befanden. Alle diese Versuche wurden an hungernden Hennen ausgeführt, damit man den Anteil des eigentlichen Kotes bei der Bildung des kloakalen Kotes womöglich, vermindern könnte. Der Harn wurde — in der Mehrzahl der Versuche — ohne einen scharfen Eingriff vorzunehmen, mit einem passenden Probierring, das man unter die Mündungen der Ureteren stellte, gesammelt. Es geht aus den acht ausgeführten Versuchen hervor, dass nur Na und Cl im Kote in kleinerer Konzentration, als im Harne, auftreten (Tab. I). Diese Feststellung beweist nun, dass diese zwei mineralischen Bestandteile in der Kloake resorbiert werden. Nach der Umrechnung aller Bestandteile im Verhältnis zum Stickstoff, der in geringstem Grade der

Resorption unterliegt und überwiegend im Harn ausgeschieden wird, hat sich gezeigt, dass die relative Menge von K, Ca, Mg und P sich der im Harn auftretenden Menge von diesen Bestandteilen nähert, wenn die relative Menge von Na und Cl im Harn 3-4 mal grösser ist, als die im Kote vorkommende (Tab. II). Man kann daraus folgenden Schluss ziehen: — dass die Schleimhaut der Kloake ein selektives Resorptionsvermögen für die untersuchten mineralischen Bestandteile besitzt.

Um der Ursache der eben besprochenen geringen Resorptionsgeschwindigkeit von Kalium in der Kloake näher zu treten, führte der Verfasser zwei Serien von Versuchen aus. In der ersten Serie führte er in die gut ausgespülte Kloake einer hungernden Henne eine bestimmte Menge Harn ein, der vorher bei einer anderen Henne gesammelt worden war. Diese Versuche haben wieder gezeigt (Tab. III, IV, V), dass das Kalium 2—3 mal langsamer als das Natrium resorbiert wird. Aus der zweiten Serie der Versuchen, in denen man Lösungen von Kaliumsalzen (Chlorid und Phosphate) in die Kloake einführte, geht es hervor, dass diese Kaliumsalze ebenso leicht wie Natriumchlorid resorbiert werden (Tab. VI, VII, VIII). Die geringe Durchlässigkeit der Schleimhaut der Kloake für Kalium tritt also auf, wenn es in einer unbekanntenen Verbindung im Harn vorkommt.

Der Verfasser untersuchte ferner die Ausscheidungsintensität von Harn (Tab. IX, X) und von mineralischen Bestandteilen (Tab. XI, XII) aus den Ureteren in die Kloake, indem er den Harn ohne Narkose sammelte. Bei zwei gut genährten Hennen wurde in einer Zeitdauer von 5 Tagen durchschnittlich, auf 1 Stunde und 1 Kg Körpergewicht $2.14 \pm 1.64 \text{ cm}^3$ Harn ausgeschieden, also — nicht mehr, als bei der Tieren anderer Klassen, was aus den Literaturangaben hervorzugehen scheint (PÜTTER '26).

Die Ausscheidungsintensität von Na und Cl in der 10-tägigen Hungerperiode (Tab. XIII) war in seinen Versuchen einigemal grösser, als in den Versuchen von SATA YOSHIHISO ('22), welche letztere an den Hennen mit dem *anus praeternaturalis* ausgeführt worden waren, und bei welchen durch diesen Eingriff der Rückresorptionsprozess in der Kloake erschwert wurde. Diese Feststellung könnte als Beweis dafür dienen, dass die Kloake beim Hungerstoffwechsel von Natrium und Chlor beteiligt sei.

I. Wstęp.

Zagadnienie resorpcji w steku pierwszy poruszył WIENER ('02) w pracy o powstawaniu kwasu moczowego w organizmie ptaków. Autor ten w celu uzyskania oddzielnie kału i moczu zakładał kurom sztuczny odbył (*celu praeternaturalis*). Okazało się, że zwierzęta po takiej operacji wydalają bardzo znaczne ilości moczu, pijąc dla wyrównania strat odpowiednie ilości wody. Autor przypuszcza, że również w warunkach naturalnych ptaki wydalają znaczne ilości moczu, jednak skutkiem resorpcji zwrotnej w jelicie ilości wody wydalane wraz z kałem są bardzo nieznaczne.

Eksperymentalnym zbadaniem resorpcji w steku ptaków zajął się poraz pierwszy SHARPE ('11, '23). Wprowadzał on do steku przewiązanego od strony jelita, po przecięciu dopływu moczu, roztwory soli i stwierdził ich resorpcję. Znalazł pozatem, że woda resorbuje się zawsze, niezależnie od stężenia roztworu wprowadzonego do steku.

DAVIS ('27) w pracy nad wydalaniem składników azotowych w moczu kur wspomina, że mocz zawiera znacznie więcej NaCl, niż kał ostateczny, co wskazywałoby na resorpcję tej soli w steku. Autor ten nie przytacza bliższych szczegółów ani liczb. Powołuje się jedynie na zgodność z wynikami STEELA ('22), który porównywał skład moczu i kału kur i miał stwierdzić resorpcję NaCl, mocznika i kreatyniny. Praca ta, nigdzie pozatem nie cytowana, nie była mi dostępna.

Ogólne rozważania nad możliwą rolą steku w resorpcji moczu znajdujemy w pracy MAYRS'A ('24), dotyczącej zdolności wydalniczych nerki ptaków. Autor, biorąc pod uwagę hipotoniczność moczu, przypuszcza, że rola steku w przygotowaniu ostatecznego moczu jest natury drugorzędnej i polega głównie na chłonienu wody.

Jak widać z przeglądu literatury, sprawa resorpcji zwrotnej w steku nie została dostatecznie zbadana. Fragmentaryczność tych badań czyniła wskazaniem podjęcie nowych poszukiwań w tym kierunku. Ponadto temat ten, po pracach MAYRS'A i GIBBS'A ('29), przypisujących nerce ptaków zdolność wydalania gruczołowego, a więc tem samem mniejsze znaczenie resorpcji zwrotnej w kanalikach, nabiera specjalnej wagi. Zjawia się bowiem pytanie, czy skutkiem odmiennego, mniej doskonałego wydalania nerkowego, niż u ssaków, w przygotowaniu ostatecznego moczu bierze u ptaków udział stek w bardziej istotnej roli, resorbując ciecz o pewnym, fizjologicznie ważnym składzie.

Praca niniejsza została podjęta celem częściowej odpowiedzi na to pytanie. Ze względów metodycznych ograniczono się do zbadania zdolności resorbcyjnych steku kur głodzonych tylko w stosunku do niektórych składników mineralnych, wydalanych

przez nerkę. Zdawało się bowiem, że w tych uproszczonych warunkach, wobec konieczności oszczędzania składników potrzebnych do życia, więcej się uwydatnią poszukiwane właściwości steku.

II. Metodyka.

Doświadczenia, podane w niniejszej pracy, wykonane zostały na kurach. Podzielić je można na część obserwacyjną oraz część eksperymentalną. Badania pierwszego typu, mające na celu poznanie resorbcji w warunkach naturalnych, były prowadzone na zwierzętach, znajdujących się w okresie od 3 do 10 dnia głodu. Mocz zbierano od 3 do 7 godzin. Kura, umieszczona w klatce, umożliwiającej jej ruchy swobodne, dostawała wodę w ilościach dowolnych. Na dobę przed zbieraniem moczu zakładano jej ściśle przylegający w okolicy odbytu worek gumowy, tak że kał zabezpieczony był przed parowaniem. Przed zbieraniem moczu dołączano kał, zawarty w steku, do kału, zebranego w worku.

Mocz w pierwszych doświadczeniach zbierano w zabiegu ostrym z kanjulek, zakładanych do moczowodów po otwarciu jamy brzusznej lub po wyizolowaniu ich od strony zewnętrznej, blisko ujścia do steku. Jako narkozę stosowano 25% roztwór uretanu, wstrzykiwany podskórnie na godzinę przed doświadczeniem w ilości 1.5 g na kg wagi, oraz eter w czasie trwania doświadczenia. Metoda ta, powszechnie dotychczas stosowana, okazała się niecelową i niedogodną. Przedewszystkiem narkoza tego rodzaju wpływa, jak wykazali GARNIER ('86), CHITTENDEN ('88) i DAVIS ('27), na ilość i skład moczu, który w doświadczeniach takiego typu winien być możliwie podobny do składu moczu, wydalanego w czasie zbierania kału. Następnie trudno było w ograniczonym czasie trwania zabiegu ostrego zebrać potrzebną ilość moczu, występowała bowiem po krótkim czasie silna oligurja, światło kanjulek zatykało się obfitym osadem i mimo przepychania mocz przestawał płynąć.

Zarzucono więc ten sposób i zastosowano podobny do opisanego przez DAVISA ('27). Kurze, przywiązanej w pozycji siedzącej, po uprzednim wypłokaniu steku, podstawiano pod ujścia moczowodów naczynko w kształcie ukośnie ściętej próbówki o średnicy od 15 do 20 mm i długości 10 cm, trzymając je w odpowiedniej pozycji przez cały czas zbierania moczu. Eliptyczny, o łagodnych brzegach otwór przylegał ściśle do górnej ściany *urodaeum*, obejmując wyloty moczowodów. Dzięki temu mocz, nie stykając się z powierzchnią resorbującą, zbierał się ilościowo i zabezpieczony był od zanieczyszczenia kałem. Narkozy nie stosowano, dzięki czemu mocz nie różnił się od moczu, spływającego do steku w warunkach naturalnych.

Mocz, zebrany w ciągu znanego czasu, ważono i po dokładnem wymieszanu z osadem rozdzielano na trzy części. Pierwsza służyła do oznaczania Δ . Drugą po zważeniu rozpuszczano w 2% LiOH i uzupełniano do znanej objętości. Służyła ona do oznaczania Cl i N. Trzecią, największą,

spopieleno w stężonym HNO_3 , używając jej do reszty oznaczeń. Kał zebrany w worku gumowym, po usunięciu kamyków, wydalanych z żołądka w czasie głodu, ważono, dodawano kilka kropel kwasu cytrynowego i odparowywano na łaźni wodnej do suchości. W tem samym naczyniu pozostałość suchą ucierano i suszono dalej w suszarce w 100°C . Po ponownem możliwie dokładnem utarciu i przeniesieniu do naczynka wagowego, oznaczano pozostałość suchą. Proszek ważono do poszczególnych seryj oznaczeń, biorąc odpowiednie jego ilości.

Jedno z doświadczeń poświęcono zbadaniu intensywności wydalania składników mineralnych do steku w czasie 10-dniowego głodu. Wykonano je na dwu kurach, karmionych przedtem pszenicą. W czasie głodu zwierzęta dostawały jedynie destylowaną wodę do picia. Mocz zbierano u kury Nr 8 w godzinach rannych, u kury Nr 11 w południowych, mierząc jego objętość co pół godziny z dokładnością do 0.1 cm^3 . Potrzebną do ograniczonej liczby oznaczeń ilość, conajmniej 2.5 cm^3 , zbierano około 3 godzin, nie uciekając się do wywoływania diurezy wodnej. Mocz, zwykle z bardzo obfitym osadem, rozcieńczano dwukrotnie i odmierzano pipetą do poszczególnych oznaczeń. W dziewiątym i dziesiątym dniu głodu zebrano również kał, z którym postępowano jak wyżej.

Mocz i kał spopieleno w HNO_3 , według metody, podanej przez BIAŁA-SZEWICZA (27). Po spaleniu kału, trwającem około 2 dni, pozostawał nierozpuszczalny w wodzie i kwasach osad, który okazał się krzemionką. Mocz spopielał się w ciągu 6 godzin całkowicie. W części spopielenonej oznaczano Na, Ca, Mg, K i P.

W doświadczeniach drugiego typu, kurze głodzonej, przywiązanej jak do zbierania moczu, po usunięciu kału i wielokrotnem wypłókanu steku, wprowadzano 15 cm^3 wody destylowanej. Po 20 min. wyciągano możliwie dokładnie pozostałość i natychmiast wprowadzano na ten sam przeciąg czasu 15 cm^3 płynu badanego. Objętość taką mogła kura utrzymać przez czas dłuższy, jednak dla pewności otwór odbytowy zaciskano. Do wyciągania płynu używano pipety z kulką przedziurawioną licznymi otworkami, co pozwalało na wydobycie płynu bez krwawienia. W razie zanieczyszczenia płynu kałem, co zdarzało się rzadko dzięki nieznacznej jego ilości u zwierząt głodzonych, wprowadzano płyn ponownie. Roztwory soli po resorbcji oraz płyn pozostały po wprowadzeniu wody destylowanej odwirowywano, i po dodaniu chloroformu przechowywano do analiz. W doświadczeniach tego typu wprowadzano głównie do steku NaCl i KCl oraz mieszaninę KH_2PO_4 i K_2HPO_4 o $\text{pH} = 7.1$. Roztwory ostateczne otrzymywano przez mieszanie roztworów zasadniczych o jednakowem Δ w odpowiednich stosunkach objętościowych. Składniki oznaczano w roztworach przed i po resorbcji oraz w roztworze kontrolnym. W doświadczeniach, w których wprowadzano do steku mocz, celem kontroli zbierano mocz, spływający z moczowodów, przed wprowadzeniem i po niem przez czas, równy czasowi resorbcji. Mocz potrzebny do doświadczeń zbierano w dniu poprzednim, zwykle u innej kury, wywołując diurezę wodną, i przechowywano przez noc w lodówce.

Płyn wprowadzano ogrzane do 40°C . Obliczając stopień resorbcji,

do ilości, wprowadzonych w doświadczeniu właściwym, dodawano ilości, znalezione w płynie kontrolnym.

W pracy niniejszej stosowano następujące metody mikrochemiczne: Sód oznaczano metodą BARRENSCHENA i MESSINGERA ('27), przemywając osad $\text{UNa}_2\text{FeCN}_6$ alkoholem 90%, w słabszej bowiem koncentracji alkoholu osad jest rozpuszczalny. Potas oznaczano metodą KRAMERA i TISDALLA ('21), uprzednio odpędziwszy sole amonowe, Ca metodą DE WAARDA ('21), Mg — metodą BRIGGSA i BELL-DOISY'EGO ('22), zmodyfikowaną przez BIAŁASZEWICZA ('27). Chlor oznaczano w moczu świeżym metodą WHITEHORNA ('20), ogrzewając roztwór po dodaniu odczynników do wrzenia, a to w celu odbarwienia i rozłożenia składników organicznych, przeszkadzających w czasie miareczkowania. Chlor w kale i moczu z nim porównywanym oznaczano metodą, opracowaną przez NIEMIERKĘ ('31). Azot całkowity oznaczano metodą KJELDAHLA, zmodyfikowaną przez PREGLA. Obniżenie punktu zamarzania oznaczano w krioskopie DEKHUYZENA.

Azot całkowity, Cl i Δ oznaczano w dniu zbierania moczu, resztę składników — serjami w czasie późniejszym. Do mikroanaliz poszczególnych składników używano ilości substancyj spoielonych, optymalne dla każdej metody. Trzymano się również zasady wykonywania równoległych oznaczeń w roztworach wzorcowych, w ilościach zbliżonych do ilości substancji badanej.

III. Część doświadczalna.

1. Względna szybkość chłonięcia składników mineralnych w warunkach naturalnych.

Pierwsze doświadczenia niniejszej pracy miały na celu zbadanie resorpcji składników mineralnych w steku przez porównanie zawartości tych składników w moczu, wydalonym z moczowodów, z zawartością tych składników w kale stekowym, t. j. w moczu częściowo zresorbowanym, zmieszanym z kałem właściwym.

Doświadczenia te, w liczbie 8-miu, przeprowadzono na 4-ech osobnikach (Nr: 6, 7, 8, 11), znajdujących się w stanie głodu organicznego, w dniach głodu od 3—10; wykonane były one według opisu, znajdującego się w części metodycznej, przyczem wyniki oznaczeń poszczególnych składników (Na, K, Ca, Mg, Cl, P, N) podane zostały w mg zawartych w 1 g świeżych substancyj (mocz i kału stekowego).

Interpretacja wyników powyższych doświadczeń (tab. I) musi być bardzo ostrożna, nieznanym jest bowiem udział kału właściwego w tworzeniu się kału stekowego. Pewną wskazówką mogą być tutaj analizy moczu i kału właściwego kur głodzonych

Tabela I.

Zawartość azotu i składników mineralnych w moczu i w kale stekowym kur głodzonych.
Gehalt an Stickstoff und an mineralischen Bestandteilen im Harn und in dem kloakalen Kote bei den Hennen während des Hungers.

doświadczenia Nr. des Versuches	Data		zwierzęcia Nr. des Tieres	Dzień głodu Hungertag	Rodzaj substancji Untersuchte Substanz	Zawartość składników w 1 g kału i moczu							Uwagi Anmerkungen
	Datum					Gehalt an Bestandteilen in 1 g des Harnes und des Kotes							
	Na	K				Ca	Mg	Cl	P	N			
mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg							
7	14-II-30	6	6	mocz Harn kał Kot	—	0.93	0.89	0.007	0.97	0.61	5.88	Przed zbier. moczu wprowadzono 20 cm ³ wody do żołądka <i>Vor dem Harnan- sammeln führte man 20 cm³ Wasser in den Magen ein.</i>	
					1.12	4.72	3.91	0.068	1.17	3.18	34.90		
8	24-III-30	6	7	mocz Harn kał Kot	0.76	0.43	0.14	0.007	0.57	0.15	1.53	Przed zbier. moczu wprowadzono 25 cm ³ wody do żołądka <i>Vor dem Harnan- sammeln führte man 25 cm³ Wasser in den Magen ein.</i>	
					0.84	5.28	0.83	0.173	1.41	2.54	17.00		
9	18-III-30	7	3	mocz Harn kał Kot	3.42	2.48	0.26	0.059	—	1.61	9.19		
					2.87	3.63	0.39	0.244	3.14	1.33	14.60		
10	20-III-30	7	5	mocz Harn kał Kot	0.12	0.13	0.05	0	0.11	0.08	0.51	Przed zbier. moczu wprowadzono 50 cm ³ wody do żołądka <i>Vor dem Harnan- sammeln führte man 50 cm³ Wasser in den Magen ein.</i>	
					0.36	1.54	0.70	0.071	0.74	2.10	5.90		
11	22-III-30	7	7	mocz Harn kał Kot	0.89	1.42	0.62	0.061	1.17	1.19	10.45		
					0.27	2.64	0.87	0.172	0.23	2.50	15.59		
12	10-IV-30	7	7	mocz Harn kał Kot	1.39	3.98	0.52	—	2.20	2.23	13.80		
					0.43	4.06	0.60	—	1.38	1.93	14.60		
13	20-1-31	8	9	mocz Harn kał Kot	1.69	7.13	—	—	0.99	2.54	33.00		
					0.47	4.51	—	—	0.47	3.00	26.57		
14	20-1-31	10	10	mocz Harn kał Kot	1.74	6.93	—	—	0.46	1.85	47.70		
					0.69	4.48	—	—	0.03	3.08	37.40		

(po założeniu im *anus praeternaturalis*), podane przez SATA YOSHIIISO ('22). Autor ten znalazł w kale właściwym, odmienne niż w moczu, niewielkie ilości Na, K i Cl oraz znaczne ilości Ca i Mg.

W większości doświadczeń Mg i Ca występują w kale stekowym w stężeniach wyższych, niż w moczu. Wzrost stężeń tych składników w kale stekowym może być spowodowany

wyżej wspomnianą znaczną ich zawartością w kale właściwym. Mimo to możemy wnioskować na podstawie znacznego stężenia Ca i Mg w kale stekowym, że błona śluzowa steku jest względem tych składników mało przepuszczalna.

Również azot i potas występują w kale stekowym w stężeniach naogół wyższych, niż w moczu. Ponieważ składniki te wydalone są prawie wyłącznie w moczu, różnica powyższa świadczy o małej ich resorbcji w steku.

Odmienne zachowują się chlor i sól. Stężenia tych składników w moczu są naogół wyższe, niż w kale stekowym, co wskazuje, że pierwiastki te ulegają wyraźnej resorbcji.

W tabeli rozpatrywanej znajdujemy jednak pewne odchylenia. Np. azot i potas w doświadczeniu 13-tym występują w moczu w stężeniach wyższych, niż w kale stekowym, sól i chlor w doświadczeniach 7, 8 i 10-tym — w kale w stężeniach wyższych, niż w moczu, a więc zachowują się całkowicie odmiennie, niż w pozostałych doświadczeniach. Różnice powyższe znikają jednak po odniesieniu wszystkich składników do azotu, przyjmując zawartość tego składnika za równą 100 (tab. II).

Powyższy sposób przedstawienia wyników uzasadniamy przede wszystkim tem, że azot występuje w moczu w ilościach, dających się łatwo oznaczyć, i to głównie w postaci trudno rozpuszczalnego w wodzie osadu kwasu moczowego i moczanów alkaliów (SZALAGYI i KRIWUSCHA '14, VÖLTZ '22, DAVIS '27). Skutkiem tego azot w najmniejszym stosunkowo stopniu może ulegać resorbcji zwrotnej, a więc najwięcej nadaje się do porównywania względnej szybkości chłonięcia składników badanych.

We wszystkich 8-miu doświadczeniach, przytoczonych w tab. II, znajdujemy zawartość względną chloru i sodu w kale przeciętnie 3—4 razy mniejszą niż w moczu, co świadczy o wybitnej resorbcji tych składników w steku.

Zupełnie odmiennie zachowuje się magnez, którego względne ilości w kale są około dwóch razy większe, niż w moczu. Fakt ten świadczy o wydalaniu magnezu przez jelito oraz o stosunkowo najmniejszej szybkości chłonięcia tego składnika. Wapń ulega nieznacznej resorbcji w doświadczeniu 7 i 8-tym, fosfor w doświadczeniach 7, 9 i 12-tym. Potas ulega nieznacznemu chłonięciu w doświadczeniach 7, 13 i 14-tym, w pozostałych doświadczeniach względne jego ilości w kale są prawie równe podobnym jego ilo-

Tabela II.

Porównanie składu mineralnego moczu i kału stekowego w odniesieniu do zawartości azotu przyjętej za 100.

Vergleichende Darstellung der mineralischen Zusammensetzung des Harnes und des kloakalen Kotes im Bezug auf den Stickstoffgehalt, wobei der letztere als 100 angenommen wird.

doświadczenia Nr. des Versuches	Data Datum	Nr. zwierzęcia des Tieres	Dzień głodu Hungertag	Rodzaj substancji Untersuchte Substanz	Względne ilości składników mineralnych w odniesieniu do azotu. <i>Relative Mengen der mineralischen Bestandteile in Bezug auf den Stickstoffgehalt.</i>						
					N	Na	K	Ca	Mg	Cl	P
					7	14-II-30	6	6	mocz Harn	100	—
				kał	100	3.2	13.5	11.2	0.19	3.5	9.1
				Kot	100	4.9	31.1	4.9	1.02	8.3	14.9
8	24-II-30	6	7	mocz Harn	100	49.7	28.1	9.1	0.47	37.3	9.8
				kał	100	4.9	31.1	4.9	1.02	8.3	14.9
				Kot	100	4.9	31.1	4.9	1.02	8.3	14.9
9	18-III-30	7	3	mocz Harn	100	37.2	27.0	2.8	0.64	—	17.5
				kał	100	19.6	24.9	2.7	1.67	21.5	9.1
				Kot	100	19.6	24.9	2.7	1.67	21.5	9.1
10	20-III-30	7	5	mocz Harn	100	23.5	25.5	9.8	0	21.5	15.7
				kał	100	6.1	26.1	11.8	1.20	12.6	35.6
				Kot	100	6.1	26.1	11.8	1.20	12.6	35.6
11	22-III-30	7	7	mocz Harn	100	8.5	13.6	5.9	0.58	11.2	11.4
				kał	100	1.7	16.9	5.6	1.10	1.5	16.0
				Kot	100	1.7	16.9	5.6	1.10	1.5	16.0
12	10-IV-30	7	7	mocz Harn	100	10.1	28.8	3.8	—	15.9	16.1
				kał	100	3.0	28.3	4.2	—	9.6	13.4
				Kot	100	3.0	28.3	4.2	—	9.6	13.4
13	20-I-31	8	9	mocz Harn	100	5.1	21.6	—	—	3.0	7.7
				kał	100	1.8	16.9	—	—	1.8	11.3
				Kot	100	1.8	16.9	—	—	1.8	11.3
14	21-I-31	11	10	mocz Harn	100	3.6	14.6	—	—	1.0	3.9
				kał	100	1.8	11.8	—	—	0.0	8.1
				Kot	100	1.8	11.8	—	—	0.0	8.1

ściom w moczu, co świadczy o małej szybkości chłonięcia tego składnika w steku.

Streszczając wyniki rozpatrzonych doświadczeń, widzimy, że błona śluzowa steku jest w bardzo nieznacznym stopniu przepuszczalna względem składników mineralnych moczu, będących właściwymi produktami przemiany głodowej (K, Ca, Mg i P), ujawnia natomiast wybitną zdolność chłonięcia Na i Cl, których retencja w organizmie w stanie głodu jest konieczna dla zachowania stałości składu cieczy ciała.

2. Resorbcja moczu, wprowadzonego eksperymentalnie do steku.

Stwierdzoną poprzednio wybiórczość steku w stosunku do niektórych składników mineralnych moczu w warunkach naturalnych należało zbadać również ilościowo.

Wskazaną w tym kierunku ścisłą metodą byłoby wprowadzenie określonej ilości moczu do steku, przewiązanego od strony jelita oraz przecięcie dopływu moczu z moczowodów. Doświadczenia w podobny sposób wykonane nie udawały się, czy to skutkiem hamującego działania narkozy na zjawisko chłonięcia, czy też dzięki upośledzeniu dopływu krwi do steku wskutek jego przewiązania. Nawet po upływie godziny resorbcja była tak nieznaczna, że musiano w dalszych doświadczeniach ograniczyć się do sposobu mniej dokładnego, jednak stwarzającego dla procesu resorbcji warunki możliwie zbliżone do naturalnych.

Mianowicie badano resorbcję w steku, nie przerywając dopływu moczu z moczowodów i nie znając ponadto wielkości powierzchni chłonnej. Wpływ pierwszego czynnika starano się wyeliminować, zbierając mocz przed doświadczeniem i po niem przez czas, równy czasowi resorbcji moczu wprowadzonego, i poddając następnie mocz ten analizie. Drugi czynnik powodował trudny do skontrolowania błąd w ilościowym oznaczaniu objętości cieczy niezresorbowanej¹⁾. Wynosił on od 7 do 15% ilości wprowadzonej.

W doświadczeniach tego typu ograniczono się tylko do analiz Na, K, Cl i P. Z większej liczby doświadczeń, naogół zgodnych, przytaczamy trzy w tab. III, IV i V, podając stężenia składników w moczu wprowadzonym i wyciągniętym po resorbcji (mg/cm^3), całkowite ilości składników wprowadzonych i wyciągniętych po resorbcji oraz ilości zresorbowane (w mg) i ponadto względną intensywność chłonięcia (w odsetkach ilości wprowadzonej, po uwzględnieniu ilości znalezionej w moczu zebranym dla kontroli).

Resorbcja wody, jak widać z podanych w tej tabeli stężeń, po 45 min. pozostawiania moczu w steku, zachodzi naogół prędzej, niż resorbcja składników mineralnych. Znajdujemy więc wzrost

¹⁾ W warunkach naturalnych mocz ulega resorbcji nie tylko we właściwym steku, ale i w stopniowo przechodzącym w stek jelicie odbytowem, oddzielonem od jelita biodrowego okrężnym zwieraczem. Przed tym ostatnim uchodzą do jelita odbytowego dwa ślepe jelita, które, jeśli weźmiemy pod uwagę mechanizm ich napelniania (KRÜGER '26), mogą w chłonięciu moczu również niejaką rolę odgrywać.

Tabela III.

Mocz kury, znajdującej się w 3-cim dniu głodu, wprowadzony do steku innej kury w 4-tym dniu głodu. Wprowadzono 15 cm³, po 45 min. wyciągnięto 9 cm³. Nr. zwierzęcia 8, Nr. doświadczenia 30, 19-XII-30 r.

Der Harn bei einer Henne am 3-ten Hungertage gesammelt, bei einer anaeren am 4-ten Hungertage in die Kloake eingeführt. Man führte 15 cm³ ein und zog nach 45 Min. 9 cm³ heraus. Nr. des Tieres 8. Nr. des Versuches 30, 19-XII-30.

Składniki Bestandteile	Ilość składników w moczu <i>Mengen der Bestandteile im Harn</i>					Ilości składników zresorbo- wane <i>Die resor- bierten Mengen der Bestand- teile</i>	Resorbcja w $\frac{100}{\%}$ ilości wprowadzo- nych i wydalonych z mo- czem w czasie doświadczenia <i>Resorptions- grad in $\frac{100}{\%}$ der eingeführten und im Harn während der Dauer d. Ver- suches ausge- schiedenen Mengen</i>
	wprowadzonym do steku na po- czątku doświad- czenia <i>eingeführt in die Kloake am Anfang des Versuches</i>		wydalonym do steku w czasie doświadczenia <i>ausgeschieden in die Kloake während d. Versuches</i>	pozostałym w ste- ku w końcu doświadczenia <i>übrig geblieben in der Kloake am Ende d. Versuches</i>			
	mg/cm ³	mg	mg	mg/cm ³	mg		
Na	0.95	14.2	2.5	1.19	10.7	6.0	36
Cl	1.60	24.0	1.4	1.84	16.6	8.8	35
K	0.77	11.5	2.0	1.31	11.8	1.7	13
P	0.93	13.9	3.3	1.47	13.2	4.0	23

Tabela IV.

Mocz kury, znajdującej się w 4-tym dniu głodu, wprowadzony do steku innej kury — w 5-tym dniu głodu. Wprowadzono 15 cm³, po 45 min. wyciągnięto 9 cm³. Nr. zwierzęcia 11. Nr. doświadczenia 31, 4-I-31.

Der Harn bei einer Henne am 4-ten Hungertage gesammelt, bei einer anderen am 5-ten Hungertage in die Kloake eingeführt. Man führte 15 cm³ ein und zog nach 45 Min. — 9 cm³ heraus. Nr. des Tieres 11. Nr. des Versuches 31, 4-I-31.

Składniki Bestandteile	Ilości składników w moczu <i>Mengen der Bestandteile im Harn</i>					Ilości składników zresorbo- wanych <i>Die resor- bierten Mengen der Bestand- teile</i>	Resorbcja w $\frac{100}{\%}$ ilości wprowadzo- nych i wydalonych z mo- czem w czasie doświadczenia <i>Resorptions- grad in $\frac{100}{\%}$ der eingeführten und im Harn während der Dauer des Versuches aus- geschiedenen Mengen</i>
	wprowadzonym do steku na po- czątku doświad- czenia <i>eingeführt in die Kloake am Anfang des Versuches</i>		wydalonym do steku w czasie doświadczenia <i>ausgeschieden in die Kloake während d. Versuches</i>	pozostałym w ste- ku w końcu doświadczenia <i>übrig geblieben in der Kloake am Ende des Versuches</i>			
	mg/cm ³	mg	mg	mg/cm ³	mg		
Na	0.99	14.8	0.8	1.23	11.7	3.9	25
Cl	1.21	18.1	0.9	1.57	14.9	4.1	22
K	0.98	14.7	4.3	1.82	17.3	1.7	9
P	0.50	7.5	1.6	0.48	4.6	4.5	49

Tabela V.

Mocz kury odżywianej, wprowadzony do steku kury, znajdującej się w 6-tym dniu głodu. Wprowadzono 15 cm³, po 45 min. wyciągnięto 10 cm³. Nr. zwierzęcia 8. Nr. doświadczenia 32, 15-XII-30 r.

Der Harn bei einer gefütterten Henne gesammelt und bei einer anderen am 6-ten Hungertage in die Kloake eingeführt. Nr. des Tieres 8. Nr. des Versuches 32, 15-XII-30.

Składniki Bestandteile	Ilości składników w moczu <i>Mengen der Bestandteile im Harn</i>					Ilości składników zresorbo- wane	Resorbcja w % ilości wprowadzonych i wydalonych z moczem w czasie doświadczenia <i>Resorptionsgrad in % der eingeführten und im Harn während der Dauer des Versuches ausgeschiedenen Mengen</i>
	wprowadzonym do steku na początku doświadczenia <i>eingeführt in die Kloake am Anfang des Versuches</i>		wydalonym do steku w czasie doświadczenia <i>ausgeschieden in die Kloake während d. Versuches</i>	pozostałym w steku w końcu doświadczenia <i>übrig geblieben in der Kloake am Ende der Versuches</i>			
	mg/cm ³	mg	mg	mg/cm ³	mg	mg	%
	<i>Die resorbierten Mengen der Bestandteile</i>						
Na	2.00	30.0	1.9	2.20	22.0	9.9	31
Cl	2.69	40.3	1.2	2.83	28.3	13.2	32
K	1.17	17.5	11.3	2.58	25.8	3.0	10
P	0.42	6.2	5.0	1.08	10.8	0.4	4

stężeń chloru i sodu w moczu po resorbcji, czego po bardzo długim czasie resorbcji w warunkach naturalnych nie było. Odsetki, wyrażające intensywności chłonięcia chloru i sodu, są do siebie zbliżone, co świadczyłoby, że pierwiastki te resorbują się w postaci chlorku sodowego. Potas resorbuje się 2 do 3 razy wolniej, niż sód. Fosfor znika w ilościach bardzo niestałych: od 4 do 50% ilości wprowadzonej.

Znaczne różnice w szybkości chłonięcia Na i K świadczą ponownie o wybiórczości błony śluzowej steku w stosunku do tych składników.

3. Resorbcja roztworów soli.

Nieznaczna szybkość chłonięcia potasu w steku, mimo naogół łatwego chłonięcia związków tego katjonu w jelicie (MALKIEWICZ '24, KUCZKOWSKI '28), domagała się bliższego zbadania.

Wykonaliśmy szereg doświadczeń, w których szło nam głównie o zbadanie resorbcji nieorganicznych soli potasowych oraz

o porównanie szybkości ich chłonięcia z szybkością chłonięcia NaCl. W doświadczeniach tych wprowadzano do przemytego steku kury głodzonej (przed wprowadzeniem roztworu badanego) 15 cm³ wody na czas, równy czasowi resorbcji tego roztworu. Ilości składników wydalone z moczem do steku w czasie resorbcji wody, znalezione w płynie pozostałym po jej resorbcji, uwzględniano przy obliczaniu stopnia resorbcji tych składników w roztworze badanym.

Z wielu zgodnych doświadczeń przytaczamy wyniki trzech w tab. VI, VII i VIII.

Tabela VI.

Resorbcja roztworów K₂HPO₄ + KH₂PO₄ i KCl w steku kury, znajdującej się w 4-tym dniu głodu. Czas resorbcji każdego roztworu 20 min. pH roztw. = 7.1. Cl:P = 1:1. Nr. dośw. 40, 2-X-30.

Die Resorption der Lösungen von K₂HPO₄ + KH₂PO₄ und KCl in der Kloake bei einer Henne, am 4-ten Hungertage. Resorptionsdauer jeder Lösung 20 Min. pH der Lösungen = 7.1, Cl:P = 1:1. Nr. des Versuches 40, 2-X-30.

Δ roztwo- ru wpro- wadzo- nego der ein- geführ- ten Lösung	Wprowadzono do steku:				Wyciągnięto ze steku				Resorbcja w % ilości wpro- wadzonych i znalezionych w roztworze wyciągniętym ze steku po resorbcji wody <i>Resorptionsgrad - in % - der eingeführten und der aus der Kloake nach Wasserresorp- tion herausgezogenen Mengen</i>			
	<i>Man führte in die Kloake ein</i>				<i>Man zog aus der Kloake heraus</i>							
	H ₂ O cm ³	K mg	Cl mg	P mg	H ₂ O cm ³	K mg	Cl mg	P mg	H ₂ O %	K %	Cl %	P %
	15	—	—	—	6.3	8.8	4.1	2.3	—	—	—	—
1 ⁰	15	222.6	74.2	73.5	14.5	165.9	48.3	55.4	3	28	38	27
0.5 ⁰	15	111.3	37.1	36.7	10.2	50.6	19.8	17.9	32	57	52	54
0.25	15	55.6	18.6	18.3	4.5	14.3	6.0	5.0	77	78	74	76

W tabeli VI podano wyniki doświadczenia nad resorbcją chlorków i fosforanów potasu w roztworach hiper- i hipotonicznych względem krwi oraz w stężeniach częściowych takich, że ilości wagowe metaloidów w 1 cm³ były prawie jednakowe, przyczem pH roztworów wynosiło 7.1. Roztwory były wprowadzane do steku na 20 min.

Stwierdzamy, że sole potasowe wyżej wymienionych anjonów resorbują się łatwo, przyczem szybkość ich resorbcji wzrasta ze spadkiem stężeń.

W tab. VII i VIII podano wyniki doświadczeń nad resorbcją chlorków sodu i potasu w roztworach izotonicznych względem krwi oraz w stężeniach częściowych poszczególnych soli, pro-

Tabela VII.

Resorbcja izotonicznego w stosunku do krwi roztworu NaCl i KCl w ste ku kury, znajdującej się w 7-mym dniu głodu. Wprowadzono do ste ku 20 cm³, po 20 min. wyciągnięto 10 cm³.
NaCl : KCl = 58.46 : 74.66. Nr. doświadczenia 33, 17-V-30 r.

Resorption einer im Verhältnis zum Blute isotonischen Lösung von NaCl und KCl in der Kloake einer Henne am 7-ten Hungertage. Man führte in die Kloake 20 cm³ ein und zog nach 20 Min. 10 cm³ heraus. Nr. des Versuches 33, 17-V-30.

Składniki Bestandteile	Ilości składników w roztworze <i>Mengen der Bestandteile in der Lösung</i>					Ilości składników zresorbo- wane <i>Die resor- bierten Mengen der Bestand- teile</i>	Resorbcja w % ilości wprowadzo- nych i pozost- ałych w ste ku po resorbci wody <i>Resorptions- grad in % der eingeführten und in der Klo- ake nach der Wasserresorp- tion übrig geblie- benen Mengen</i>
	wprowadzonym do ste ku na po- czątek doświad- czenia <i>eingeführt in die Kloake am Anfang des Versuches</i>		pozostałym w ste ku po re- sorbci wody <i>übrig geblieben in der Kloake nach der Wasserresorp- tion</i>	pozostałym w ste- ku w końcu doświadczenia <i>übrig geblieben in der Kloake am Ende des Ver- suches</i>			
	mg/cm ³	mg	mg	mg/cm ³	mg	mg	%
	Na	2.63	52.6	4.6	1.37	13.7	43.5
Cl	7.65	153.0	11.6	5.27	52.7	111.9	68
K	3.98	79.6	10.1	3.06	30.6	59.1	66

Tabela VIII.

Resorbcja izotonicznego w stosunku do krwi roztworu KCl i NaCl w ste ku kury, znajdującej się w 7-mym dniu głodu. Wprowadzono do ste ku 15 cm³, po 20 min. wydobyto 5.3 cm³.
NaCl : KCl = 58.46 : 74.66. Nr. doświadczenia 34, 27-V-30 r.

Aufsaugung einer im Verhältnis zum Blute isotonischen Lösung von NaCl and KCl in der Kloake einer Henne am 7-ten Hungertage. Man führte in die Kloake 15 cm³ ein und zog nach 20 Min. — 5.3 cm³ heraus. Nr. des Versuches 34, 27-V-30.

Składniki Bestandteile	Ilości składników w roztworze <i>Mengen der Bestandteile in der Lösung</i>					Ilości składników zresorbo- wane <i>Die resor- bierten Mengen der Bestand- teile</i>	Resorbcja w % ilości wprowadzo- nych i pozost- ałych w ste ku po resorbci wody <i>Resorptions- grad in % der eingeführten so- wie der in der Kloake nach der Wasserresorp- tion übrig geblie- benen Mengen</i>
	wprowadzonym do ste ku na po- czątek doświad- czenia <i>eingeführt in die Kloake am Anfang des Versuches</i>		pozostałym w ste ku po re- sorbci wody <i>übrig geblieben in der Kloake nach der Wasserresorp- tion</i>	pozostałym w ste- ku w końcu doświadczenia <i>übrig geblieben in der Kloake am Ende des Versuches</i>			
	mg/cm ³	mg	mg	mg/cm ³	mg	mg	%
	Na	2.46	36.9	3.8	1.08	5.7	35.0
Cl	7.25	108.7	8.1	3.46	18.3	98.5	84
K	3.74	56.1	13.9	2.64	14.0	56.0	80

porcjonalnych do ich ciężarów cząsteczkowych. Resorbcja KCl, jak widzimy, zachodzi bardzo łatwo: np. w tab. VIII 80% KCl, wprowadzonego do steku, zresorboowało się w ciągu 20 min. Szybkość chłonięcia KCl jest nieznacznie mniejsza od szybkości chłonięcia NaCl.

Widzimy więc, że błona śluzowa steku jest względem fosforanów i chlorków potasu równie łatwo przepuszczalna, jak wobec chlorku sodu.

4. Rola steku w retencji wody i składników mineralnych.

a. Intensywność wydalania moczu i jego stężenie cząsteczkowe.

Opierając się na skąpych danych co do intensywności wydalania moczu u ptaków (SHARPE '11, SZALAGYI i KRIWUSCHA '14), należałoby przyjąć, że resorbcja zwrotna wody w steku jest procesem, zachodzącym na ogromną skalę. Ponieważ sprawa ta jest zasadniczą dla tematu niniejszej pracy, przystąpiliśmy przede wszystkim do sprawdzenia istniejących w literaturze obserwacji.

Mianowicie, w sposób opisany w części metodycznej, zbierano mocz u dwu kur dobrze odżywianych w ciągu dni 5, trzykrotnie w ciągu dnia, w dłuższych odstępach czasu. W tabeli IX podano całkowity czas zbierania moczu w godzinach, ilości zebranego w tym czasie moczu w cm^3 , obliczone z tych danych w cm^3 dobowe ilości moczu oraz intensywność wydalania moczu na kg wagi i godzinę.

Zwraca przedewszystkiem uwagę bardzo szeroka skala wahań dobowych ilości moczu: od 20.9 do 164.8 cm^3 . Przeciętna, dobowa ilość moczu 67.2 cm^3 jest znacznie niższa od wartości, znalezionej przez SHARPE'A (500 cm^3 na dobę), zbliża się zaś więcej do wartości, znalezionej przez SZALAGYI'EGO i KRIWUSCHA (120 cm^3 na dobę). Jeśli zważymy, że pierwszy autor zbierał mocz przez czas krótki (20 min.) w narkozie uretanowo-eterowej, wywołującej diurezę, dwaj następni u kur ze sztucznym odbytem, pijących nadmierne ilości wody, to odmienność naszych wyników, otrzymanych w warunkach zbliżonych do naturalnych, jest do pewnego stopnia usprawiedliwiona.

W tabeli X podano wyniki doświadczeń nad intensywnością wydalania moczu u kur głodzonych.

Tabela IX

Intensywność wydalania moczu u kur odżywianych. Zbierano mocz kilkakrotnie w ciągu dnia. Pokarm: pszenica i woda ad libitum.

Intensität der Harnausscheidung bei den gefütterten Hennen. Man sammelte den Harn einigemal während des Tages an. Nahrung: Weize und Wasser ad libitum.

kolejny Nr. Ordnungszahl	zwierzęcia Nr. des Tieres	Data Datum	Ciężar ciała Körpergewicht g	Czas zbier. moczu Dauer des Harnan- sammelns h	Ilość zebrana Gesammelte Menge cm ³	Intensywność wy- dalania moczu Intensität der Harnausscheidung		Uwagi Anmerkungen
						na dobę in 24 St. cm ³	na kg. wagi i godz. in 1 St. und kg Körper- gewichtes cm ³	
1	7	5-III-31	1550	3.0	2.85	22.8	0.61	Mocz zbierano bez przerw Der Harn wurde ununterbrochen angesammelt.
2	7	6 III-31	1540	2.0	1.74	20.9	0.57	
3	7	8-III-31	1550	2.0	5.50	27.0	1.47	
4	7	9-III-31	1530	1.5	4.20	67.2	1.82	
5	7	10-III-31	1540	1.5	2.95	47.2	1.29	
6	11	11-III-31	1270	1.5	7.60	122.2	3.98	Mocz zbierano bez przerw Der Harn wurde ununterbrochen angesammelt.
7	11	5-I-31	1270	2.5	3.57	34.3	1.12	
8	11	6-III-31	1270	2.0	3.00	36.0	1.15	
9	11	8-III-31	1300	2.0	12.80	153.6	5.00	
10	11	9-III-31	1280	1.5	10.30	164.8	5.40	
11	11	10-III-31	1270	1.5	2.70	43.2	1.42	
Przeciętnie Durchschnittlich						67.2	2.16 + 1.69	

Tabela X.

Intensywność wydalania moczu u kur w czasie głodu i jego stężenie cząsteczkowe.
Intensität der Harnausscheidung bei Hühnern während der Hungerperiode und seine molekuläre Konzentration.

doświadczenia Nr. des Versuches	Data Datum	zwierzęcia Nr. des Tieres	Ciężar ciała Körpergewicht g	Dzień głodu Hungertag	Czas zbier. moczu Dauer des Harnan- sammelns h	Ilość moczu zebr. Angesammelte Harnmenge cm ³	Intensywność wy- dalania moczu Intensität der Harnausscheidung		Obniżenie punktu zamarzania moczu Erniedrigung d. Gefrierpunktes d. Harnes °C	Uwagi Anmerkungen
							cm ³ /h	na dobę i kg. wagi in 24 St. und kg Körper- gewicht cm ³		
4	16-XII-29	3	1320	1	3.0	20.0	6.60	121.0	0.298	Mocz zbierano w narkozie Den Harn sammelte man in der Narkose an.
5	23-I-30	4	1280	2	1.0	12.0	12.00	225.0	0.282	
5	23-I-30	4	1280	2	3.0	10.0	3.33	125.0	0.742	
11	21-III-30	7	1170	7	7.0	5.5	0.78	16.0	0.926	Mocz zbierano bez narkozy Den Harn sammelte man ohne Narkose an.
12	10-IV-30	7	1150	7	4.0	3.5	0.88	18.2	1.008	
18	15-21-I-31	8	1575	4	23.3	20.9	0.89	16.2	—	
24			1100	10						
18	15-21-I-31	11	1274	4	20.7	20.7	1.17	25.3	—	" "
24			945	10						

Z tabeli powyższej widać, że jeśli zbierano mocz w sposób stosowany przez SHARPE'A, t. j. w narkozie, z kanjulek, zakładanych do moczowodów, to ilość dobową moczu, mimo zbierania w drugim dniu głodu, wynosiła 225 cm³, gdy natomiast bez narkozy — około 20 cm³ na dobę.

Obniżenie punktu zamarzania moczu głodowego, zawierającego znaczne ilości osadu, wynosiło około 1°C, a więc nerka ptaków może wydalac mocz dość znacznie hipertoniczny względem krwi (Δ krwi = 0.62°).

Wyniki powyższe świadczą, że intensywność wydalania moczu do steku nie jest u kur wyższa, niż u zwierząt w innych gromadach, co zdawało się wynikać z badań dotychczasowych (PÜTTER '26).

b. Intensywność wydalania do steku niektórych składników mineralnych przez nerkę kur w czasie głodu.

Celem zbadania intensywności wydalania składników mineralnych przez nerkę w czasie głodu, wykonano jednocześnie na dwu kurach doświadczenia, trwające 11 dni. W ciągu całego tego czasu zwierzęta otrzymywały tylko wodę destylowaną do picia, były więc w głodzie organicznym i mineralnym. Mocz zbierano codziennie możliwie krótko, aby zmniejszyć ewentualnie straty dla organizmu tych składników, które mogły być ze zbieranego moczu zwrotnie zresorbowane. Mając więc do dyspozycji niewielkie ilości moczu, ograniczono się tylko do oznaczeń Na, K, Cl, P i N.

W tabeli XI i XII zostały podane szczegółowe wyniki powyższego doświadczenia, mianowicie czas zbierania moczu (w godzinach), ilości całkowite zebranego w tym czasie moczu (w cm³), oraz stężenia analizowanych składników (w mg w 1 cm³ moczu). Z wyników powyższych obliczono przeciętnie intensywność wydalania składników mineralnych i azotu, jako wartości głównie nas tutaj obchodzące. Mianowicie w tabeli XIII podano ilość składników, wydalone na kg wagi i dobę w mg, jako wartości średnie z całego okresu 10 dni głodu. W celu porównania zestawiono poniżej wyniki, otrzymane na kurach głodzonych przez SATA YOSHIHISO ('23), obliczone na podstawie tab. III, IV i XII jego pracy dla okresu 10 dni głodu, oraz wyniki, osiągnięte przez S. SAKS ('30) w pracy nad przemianą mineralną psów w okresie 10 dni głodu, według tab XII i XIII tej pracy.

Tabela XI.

Wydalenie azotu i składników mineralnych w moczu kury w czasie 10-dniowego głodu.
Nr. zwierzęcia 8. Nr. dośw. 13-24, 10-21-1-31 r.
*Ausscheidung von Stickstoff und von mineralischen Bestandteilen im Hühnerharn während
des 10 Tage lang dauernden Hungers. Nr. des Versuches 13-24, 10-21-1-31.*

Dzień głodu Hungertag	Ciężar ciała Körpergewicht g	Czas zbierania moczu Dauer des Harn- ansammelns h	Ogółem zebrano moczu Harmenge cm ³	Intensywność wyda- niania moczu Intensität der Harn- ausscheidung cm ³ h	Zawartość składników Gehalt an Bestandteilen				
					Na mg/cm ³	K mg/cm ³	Cl mg/cm ³	P mg/cm ³	N mg/cm ³
0	1274	1.5	7.6	5.1	3.22	3.18	6.39	0.41	4.88
1		2.0	6.1	3.1	2.77	2.83	2.02	0.37	2.77
2		1.5	3.1	2.1	2.17	1.85	1.94	0.47	6.47
3		4.0	4.8	1.2	1.44	1.88	1.49	0.78	6.96
4		2.7	5.7	2.1	1.55	1.87	0.69	0.61	5.43
5		3.0	2.1	0.7	2.05	4.68	1.51	2.38	17.48
6		3.0	2.2	0.7	2.00	5.56	1.20	2.78	24.02
7		3.0	2.5	0.8	2.52	7.23	0.64	3.48	26.35
8		3.0	3.3	1.1	2.24	6.17	0.73	3.20	24.84
9		3.0	3.8	1.3	1.62	8.61	0.48	3.66	29.83
10	945	3.0	4.0	1.3	1.74	6.93	0.47	1.85	47.70

Tabela XII.

Wydalenie azotu i składników mineralnych w moczu kury w czasie 10-dniowego głodu. Nr.
zwierzęcia 11. Nr. doświadczenia 13-24, 10-21-1-31 r.
*Ausscheidung von Stickstoff und von mineralischen Bestandteilen im Hühnerharn während
des 10 Tage lang dauernden Hungers. Nr. des Tieres 11. Nr. des Versuches 13-24, 10-21-1-31 r.*

Dni głodu Hungertage	Ciężar ciała Körpergewicht g	Czas zbierania moczu Dauer des Harnan- sammelns h	Ogółem zebrano moczu Harmenge cm ³	Intensywność wyda- niania moczu Intensität der Harn- ausscheidung cm ³ h	Zawartość składników Gehalt an Bestandteilen				
					Na mg/cm ³	K mg/cm ³	Cl mg/cm ³	P mg/cm ³	N mg/cm ³
0	1.575	2.0	6.4	3.2	3.88	3.23	2.83	0.53	26.66
1		1.0	13.1	13.1	1.10	0.35	1.44	0.13	3.27
2		1.5	7.1	4.7	0.67	0.84	1.29	0.52	6.47
3		1.0	11.2	11.2	0.24	0.55	0.44	0.34	3.23
4		4.0	4.3	1.1	1.92	3.74	0.91	0.68	22.82
5		4.0	3.1	0.8	1.81	5.25	1.04	2.91	26.94
6		4.0	3.3	0.8	1.83	6.18	0.82	3.66	29.45
7		4.3	3.1	0.7	1.53	6.71	0.77	2.34	33.48
8		3.0	2.4	0.8	1.86	7.07	0.80	2.84	29.80
9		3.0	2.5	0.8	1.69	7.14	0.99	2.54	33.00
10	1.100	3.0	2.2	0.7	0.73	5.75	0.67	1.71	34.88

Tabela XIII.

Porównanie wydalania przez nerki składników mineralnych i azotu u kur i psów głodzonych w okresie 10 dni głodu.

Vergleichende Darstellung der Ausscheidung von mineralischen Bestandteilen und von Stickstoff durch die Niere bei den hungernden Hühnern und Hunden während des 10 Tage lang dauernden Hungers.

Rodzaj zwierzęcia i № kolejny <i>Tierart Nr. des Tieres</i>	Przebiegowa waga w okr. 10 dni głodu <i>Durchschnittliches Körpergewicht während des 10-tägigen Hungerperiode</i>	Przebiegowa waga w okr. 10 dni głodu na 1 kg wagi ciała wydalano się <i>Durchschnittlich während eines Hungertages auf 1 kg Körpergewicht ausgeschiedene Mengen der Bestandteile</i>					Autor <i>Verfasser</i>
		Na mg	K mg	Cl mg	P mg	N mg	
Kura № 8 <i>Henne</i>	1.11	45.7	85.9	38.5	47.7	486.4	E. Kryszczyński
Kura № 11 <i>Henne</i>	1.33	52.7	85.7	61.9	31.0	453.0	" "
Kura № 1 <i>Henne</i>	1.46	8.7	36.3	1.6	37.3	—	Sata Yoshihiso ('22)
Kura № 3 <i>Henne</i>	1.28	15.5	54.9	0.5	37.3	—	" "
Kura № 4 <i>Henne</i>	1.23	13.2	63.4	14.2	38.5	—	" "
Pies № 1 <i>Hund</i>	4.78	17.2	52.5	10.2	12.5	430	S. Saks ('30)
Pies № 2 <i>Hund</i>	4.70	13.0	41.0	11.1	22.7	402	" "

Jak wynika z powyższej tabeli, wydalanie azotu u kur, jako u zwierząt, mających stosunkowo większą powierzchnię ciała, jest większe, niż u psów. Daleko wybitniejsze różnice zachodzą jednak w wydalaniu składników mineralnych, przedewszystkiem zaś w wydalaniu chloru i sodu. Intensywność wydalania dwu tych składników jest w doświadczeniach, wykonanych przez nas, kilkakrotnie większa, niż u kur ze sztucznym odbytem i u psów. Podobne stosunki, choć przy daleko mniejszych różnicach w intensywności wydalania, zachodzą dla potasu. Fosfor jest wydalany u kur w ilościach zbliżonych do siebie, około dwóch razy większych, niż u psów.

Widzimy więc, że w nerce kur, po założeniu sztucznego odbytu i utrudnieniu przez to resorpcji zwrotnej w steku, może zachodzić w czasie głodu równie wybitna retencja chloru i sodu, jak w nerce psów. W warunkach naturalnych jednak, jak wskazują nasze doświadczenia, nerka kur wydała w czasie głodu nadmierne ilości tych składników do steku, co świadczy, że organ ten bierze niewątpliwie udział w wymianie głodowej chloru i sodu.

IV. Rozważania ogólne.

Wysunięte na wstępie zagadnienie, czy stek posiada czynność uzupełniającą w przygotowaniu ostatecznego moczu, zostało w pracy niniejszej rozwiązane dodatnio, choć w bardzo szczerpłym zakresie. Nie ustaliliśmy bowiem nie tylko ilościowego składu płynu resorbowanego w steku, ale nawet zbadanie sprawy, jakie substancje mineralne moczu wchodzi stale w skład tego płynu, udało się zaledwie częściowo.

Nie ulega w każdym razie wątpliwości, że głównymi składnikami roztworu resorbowanego zwrotnie są chlor i sód. Podlegają one tak wybitnej resorbcji, szczególnie w późniejszych dniach głodu, że świadczy to zgodnie z badaniami STEELA i DAVISA o swoistej w stosunku do nich wybiórczości błony śluzowej steku.

Ciekawy fakt małej zdolności chłonnej steku w stosunku do soli potasu pozostaje niewytłumaczony. Ponieważ badane przez nas nieorganiczne sole potasowe, jak wykazały powyższe doświadczenia oraz badania SHARPE'A ('23), łatwo resorbują się w steku, może nasuwać się przypuszczenie, że wybitnie nieznaczna resorbcja soli potasowych, wydalanych w moczu, może zależeć prosto od małej ich rozpuszczalności w wodzie. Jeśli zwrócimy uwagę na fakt, że stosunek potasu do azotu w kale stekowym jest prawie taki sam, co w moczu (tab. II), to przypuszczenie, że związek ten jest moczanem potasowym, byłoby prawdopodobne.

V. Streszczenie wyników.

1°. W jednostce wagi kału stekowego znajdujemy w stanie głodu u kur znacznie mniej chloru i sodu, niż w takiej samej ilości moczu. Ilości tych pierwiastków, wyrażone w stosunku do azotu, są w kale 3—4 razy mniejsze, niż w moczu. Uwzględniając możliwość częściowego chłonięcia związków azotowych, musimy przyjąć tembardziej wybitną resorbcję chloru i sodu w steku.

2°. Wobec innych składników mineralnych moczu (K, Ca, Mg i P) błona śluzowa steku ujawnia znacznie mniejszą przepuszczalność: dowodzą tego zbliżone do siebie liczby, wyrażające stosunek tych składników do azotu w kale i w moczu.

Fakty powyższe zostały potwierdzone przez dalsze doświad-

czenia, w których badano chłonięcie składników mineralnych ze zbieranego moczu, który wprowadzano kurze do steku.

3°. Nieorganiczne sole potasowe, wprowadzane do steku (chlorki, fosforany), resorbują się z szybkością nie wiele mniejszą od chlorku sodowego.

4°. Przeciętna intensywność wydalania moczu u kur odżywianych wynosi 2.16 ± 1.69 cm³ na kg wagi i godzinę, jest więc zbliżona do intensywności, obserwowanej u zwierząt w innych gromadach kręgowców.

5°. U kur głodzonych występuje silna oligurja, przyczem mocz wydalany wtedy jest hipertoniczny w stosunku do krwi (Δ moczu = 1° C).

6°. Przeciętna intensywność wydalania chloru i sodu do steku u kur głodzonych jest znacznie większa od wydalania tych składników u kur ze sztucznym odbytem.

Piśmiennictwo.

Barrenschen H. K. und **L. Messinger.** 1927. Kolorimetrische Bestimmung des Natriums. *Bioch. Z.* **189** (308). **Bell R. D.** and **A. Doisy.** Rapid colorimetric methods for the determination of phosphorus in urin and blood. *Journ. biol. Chem.* **44** (55). **Białaszewicz K.** 1926. O składzie mineralnym komórek jajowych. (Sur la composition minérale des cellules-oeufs). *Trav. Inst. Nencki.* **3** (1). **Briggs A. P.** 1922. An modification of the Bell-Doisy phosphate method. *Journ. biol. Chem.* **53** (13). **Chittenden R. H.** 1888. Über den Einfluss von Urethan, Antipirin und Antiferbin auf den Eiweißumsatz. *Z. f. Biol.* **25** (496). **Davis R. E.** 1927. The nitrogenous constituents of hen urin. *Journ. biol. Chem.* **74** (509). **Gibbs V. S.** 1929. The secretion of uric acid by the fowl. *Amer. Journ. Physiol.* **88** (87). **Garnier L.** 1886. Influence de l'urethane sur l'excrétion des éléments azotés de l'urine. *Compt. Rend. Soc. Biol.* (229). **Hári V.** und **Kriwuscha.** 1918. Weitere Beiträge zum Stoff- und Energiewechsel bei Vögel. *Bioch. Z.* **88** (345). **Kramer B.** and **F. F. Tisdall.** 1921. A. clinical method for the determination of potassium in small amounts of serum. *Journ. biol. Chem.* **46** (339). **Kuczkowski S.** 1928. Badania nad zjawiskami wydzielniczo-chłonnymi w jelicie cienkiem. I. Wydzielanie elektrolitów. *Acta Biol. Exper.* **4** (57). **Mal-kiewicz Z.** 1924. O chłonienu niektórych soli nieogranicznych w jelicie cienkiem. *Trav. Inst. Nencki.* **2**. **Krüger A.** 1926. Beiträge zur makro- und mikroskopisches Anatomie von *Gallus domesticus* mit besonderer Berücksichtigung der Darmzotten. *Deutsche Tierärz. Woch.* **34** (112). **Mayrs.** 1924. Secretion as a factor in elimination by the birds kidney. *Journ. Physiol.* **58** (276). **Niemierko Wł.** 1931. Oznaczanie chloru w drobnych ilościach tkanki (Chlorbestimmung in kleinen Gewebemengen). *Acta Biol.*

Exper. 7 (101). **Pütter A.** 1926. Die Drei-Drüsentheorie der Harnbereitung. (31) Berlin. **Sharpe N. C.** 1911. On the secretion of urin by birds. Journ. Amer. Physiol. 31 (75). **Scharpe N. C.** 1923. Absorption from cloaca in birds. Journ. Amer. Physiol. 66 (203). **Steel T.** 1922. Linnean Society N. S. Wales. 57 (443). Cytowane węglug **Davis'a** ('27). **Saks S.** 1930. O przemianie mineralnej podczas głodu u psa. Acta Biol. Exper. 5 (225). **Szalagyi** und **Kriwuscha.** 1914. Untersuchungen über die chemische Zusammensetzung und die physikalischen Eigenschaften des Enten- und Hühnerharnes. Bioch. Z. 66 (122). **Völtz W.** 1922. Stoffwechselfersuche an Tieren. Handb. Biol. Arbeitsmet. Abt. IV. 9 (300). **de Waard D. J.** 1919. Eine Mikrobestimmung des Calciums in Blut, Serum und anderen organischen Substanzen. Bioch. Z. 97 (176). **Whithorn J. C.** 1921. A system of blood analysis. Simplified method for the determination of chlorid in blood plasma. Journ. biol. Chem. 45 (449). **Yoshihiso Sata** 1922. Über die Ausscheidung der Mineralstoffe im Harn und im Kote auf der absolute Karenz gesetzten Hühner. Acta Schol. Med. Univ. Imp. Kioto. 4 (511).

[Zakład Fizjologii Instytutu im. Nenckiego T. N. W.]

Wł. Niemierko.

Oznaczenie chloru w drobnych ilościach tkanek.

Chlorbestimmung in kleinen Gewebemengen.

Rękopis nadesłany w dniu 10. XI. 1931 r.

Es wird eine Methode zur Chlorbestimmung in kleinen Gewebemengen ausgearbeitet, welche es erlaubt, neben Chlor auch andere Mineralbestandteile in derselben Substanzmenge zu bestimmen. Das Prinzip der Methode besteht im Folgenden.

Das nach Zerstörung des Gewebes mittels konz. HNO_3 erhaltene Silberchlorid wird in Ammoniak aufgelöst und mittels Ammoniumsulfid das Schwefelsilber gefällt. Nach Auflösung des Schwefelsilbers in verdünnter Salpetersäure wird das entstandene Silbernitrat titrimetrisch bestimmt und aus der Silbermenge die entsprechende Chlormenge berechnet.

Die Analyse wird in folgender Weise ausgeführt. Die abgewogene Substanzmenge wird in einem Zentrifugeröhrchen mit mehreren ccm konz. Salpetersäure und ein paar Tropfen 10% AgNO_3 -Lösung versetzt, auf dem Wasserbade 30 — 40 Minuten lang erwärmt und das ausgeschiedene Silberchlorid abzentrifugiert. (Die überstehende Flüssigkeit kann, nach Fällung des Silberüberschusses mittels Salzsäure, zur Bestimmung der übrigen Mineralbestandteile nach BIAŁASZEWICZ ('27) verarbeitet werden). Das Silberchlorid wird zweimal mit verdünnter Salpetersäure ausgewaschen, zentrifugiert und in 2 — 3 ccm 10% Ammoniak gelöst. Nach Zugabe von 2 — 3 Tropfen 10% KNO_3 -Lösung wird das Silber mittels ammoniakalischer Ammoniumsulfidlösung unter Erwärmen als Ag_2S gefällt, zentrifugiert, zweimal mit destilliertem Wasser ausgewaschen und zentrifugiert, und nach Absaugen des letzten Waschwassers in heisser verdünnter Salpetersäure aufge-

löst. Das entstandene Silbernitrat wird endlich nach VOLHARD mittels Kaliumrhodanidlösung titriert.

Die Genauigkeit der Methode wurde an einer reinen NaCl-Lösung geprüft, wobei man für die Chlormengen von 0.1 bis 31 mg eine Ausbeute von 97.1% und einen mittleren Fehler von $\pm 2.3\%$ erhielt (Tab. I). Die beschriebene Methode wurde mit derjenigen von VOLHARD an einer Harnchlorbestimmung verglichen, und man hat gut übereinstimmende Werte bekommen (Tab. II). Die Bestimmungen des Chlors in Geweben ergaben einen mittleren Fehler der Parallelanalysen von 3 – 5% (Tab. III), wobei auch die zum Gewebe hinzugesetzten NaCl-Mengen mit guter Genauigkeit wiedergefunden worden waren (Tab. IV).

Większość używanych obecnie w biochemji metod do oznaczania chloru opiera się na zasadzie stosowanej w metodzie KORÁNYI'EGO ('97). Metoda ta polega na spopieleniu tkanki kwasem azotowym z dodatkiem azotanu srebra i na oznaczeniu powstałego chlorku srebra. Metoda KORÁNYI'EGO w czasach późniejszych uległa dla celów mikroanalizy licznym modyfikacjom, które głównie się sprowadzały do rozmaitych sposobów miareczkowego oznaczenia nadmiaru dodanego srebra. Miareczkowanie to odbywa się zwykle według VOLHARDA i wymaga dość dokładnego spopielenia tkanki. Ogrzewanie zatem substancji z kwasem azotowym musi trwać nieraz kilkanaście godzin i więcej. W celu przyspieszenia procesu spopielenia próbowano dodawać silnie utleniające substancje, jak np. KMnO_4 , istnieje jednak w tym przypadku obawa możliwości powstania wolnego chloru, co spowodowałoby straty w oznaczeniu tego pierwiastka. Powyższe metody posiadają tę jeszcze niedogodność, że uniemożliwiają oznaczenie w jednej i tej samej próbce substancji obok chloru i innych składników mineralnych.

W opracowanej przeze mnie modyfikacji metody KORÁNYI'EGO

w przeciwieństwie do wyżej omawianych, oznacza się nie nadmiar dodanego AgNO_3 , lecz srebro związane z chlorem jako AgCl . W ten sposób w pozostałej cieczy można oznaczyć wszystkie inne składniki mineralne.

Zasada metody jest następująca: powstały podczas ogrzewania tkanki z kwasem azotowym i azotanem srebra chlorek srebra rozpuszcza się w amonjaku i z roztworu tego zapomocą siarczku amonu strąca się Ag_2S . Siarczek srebra należy do bardzo nielicznych soli srebrowych nierozpuszczalnych w amonjaku, łatwo natomiast rozpuszcza się w gorącym rozcieńczonym kwasie azotowym. Wytworzony w ten sposób azotan srebra daje się oznaczyć miareczkowo metodą VOLHARDA. Z oznaczonej ilości srebra oblicza się następnie odpowiadającą jej ilość chloru.

Analiza trwa około 2 godzin, nie wymaga specjalnej aparatury i pozwala na oznaczenie chloru w ilościach od 0.1 do 30 mg z dokładnością 3 — 5%.

Opis metody.

Odważoną ilość substancji umieszcza się w probówkach do wirowania, dodaje się parę kropel 10% roztworu azotanu srebra, kilka cm^3 stężonego kwasu azotowego i ogrzewa się na łaźni wodnej¹⁾. Po upływie 15 — 20 minut ciecz staje się klarowną i strącony AgCl zbija się w kłaczkę. Nadal ogrzewamy jeszcze przez 30 minut, poczem osad odwirowujemy, dwukrotnie przemywamy wodą dystylowaną, zakwaszoną niewielką ilością kwasu azotowego (oddzielony roztwór wraz z wodą po przemyciu chlorku srebra służy do oznaczania pozostałych składników mineralnych) i rozpuszczamy w kilku cm^3 10% amonjaku. Po rozpuszczeniu osadu dodajemy do roztworu kilka kropel 10% KNO_3 , 1 — 2 cm^3 amonjakałnego roztworu siarczku amonowego i ostrożnie ogrzewamy na łaźni wodnej przez 5 — 10 minut. Strącony w powyższy sposób Ag_2S daje się z łatwością odwirować, przemywa

¹⁾ Podczas tej czynności wydziela się zwykle znaczna ilość gazów, które powodują obfite pienie się mieszaniny; należy przeto początkowo dodawać niewielką tylko ilość HNO_3 (0.5 — 1.0 cm^3), ostrożnie następnie ogrzewać mieszając pałeczką i dopiero wówczas, gdy pienie się znacznie ustawać, dodać jeszcze kilka cm^3 HNO_3 i ogrzewać dalej.

się go następnie dwukrotnie wodą dystylowaną i rozpuszcza się na gorąco w kilku cm³ rozcieńczonego kwasu azotowego. W otrzymanym roztworze AgNO₃ oznaczamy srebro zapomocą miareczkowania rodankiem potasowym. Jako indyktor służy nasycony roztwór alunu żelazowego. Zależnie od zawartości chloru używa się roztworu KCNS o rozmaitem stężeniu: dla ilości Cl od 1—5 mg stosowano roztwór $\frac{1}{35.5}$ m (1 cm³ odpowiada 1 mg Cl), w przypadku mniejszych ilości Cl (0.1—1.1 mg) stosowano roztwór KCNS pięciokrotnie słabszy, w przypadku ilości Cl powyżej 5 mg odpowiednio stężony.

Oznaczenie innych składników mineralnych w roztworze pozostałym po oddzieleniu chlorku srebra odbywa się (po uprzednim strąceniu nadmiaru srebra kwasem solnym i odwirowaniu powstałego AgCl) według BIAŁASZEWICZA (27).

Dokładność metody.

Dokładność metody sprawdzona została przedewszystkiem na czystym roztworze NaCl. Otrzymane wyniki podane są w tab. I. Przy oznaczaniu więc ilości chloru od 0.1 do 31.5 mg znaleziono średnio 97.1% ilości obliczonej, przyczem średni błąd oznaczenia wynosił $\pm 2.3\%$.

Tabela I.

Oznaczenie chloru w roztworze NaCl.
Chlorbestimmung in NaCl - Lösung.

Obliczona ilość Cl <i>Berechnete Menge Cl</i>	Znaleziona ilość Cl <i>Gefundene Menge Cl</i>		Obliczona ilość Cl <i>Berechnete Menge Cl</i>	Znaleziona ilość Cl <i>Gefundene Menge Cl</i>	
	mg	%		mg	%
0.105	0.097	92.0	0.630	0.599	94.7
0.210	0.202	96.5	1.05	1.05	100.0
0.210	0.195	93.2	2.10	2.05	97.6
0.210	0.200	95.5	2.10	2.05	97.6
0.315	0.294	93.6	3.15	3.14	99.6
0.315	0.307	97.5	3.15	3.05	96.8
0.420	0.415	98.8	5.25	5.18	98.7
0.420	0.407	97.0	5.25	5.16	98.3
0.420	0.405	96.4	10.50	10.34	98.5
0.525	0.519	98.8	10.50	10.36	98.7
0.525	0.523	99.5	15.75	15.45	98.1
0.525	0.520	99.0	21.00	20.30	96.7
0.525	0.490	93.5	26.25	25.04	95.4
0.630	0.620	98.3	31.50	31.00	98.6
				Przeciętnie <i>Mittelwert:</i>	97.1%
				Błąd: <i>Fehler:</i>	$\pm 2.3\%$

Oznaczenie chloru przeprowadzone w moczu wykazało bardzo niewielkie wahania w równoległych analizach. Jak widać z tab. II, otrzymane wyniki są zgodne z liczbami, uzyskanymi zapomocą metody VOLHARDA.

Tabela II.

Oznaczanie chloru w moczu.

Chlorbestimmung im Harn.[w 1 cm³ moczu — 4.48 mg Cl (oznaczono wedł. Volharda)].

[1 ccm Harn — 4.48 mg Cl (bestimmt nach Volhard)].

Ilość moczu <i>Harnmenge</i>	Znaleziono Cl <i>Gefundene Menge Cl</i>	
		W odsetkach ilości ustalonej met. Volharda <i>In % der nach Volhard gefun-</i> <i>denen Menge</i>
cm ³	mg	%
0.50	2.23	99.5
0.50	2.24	100.0
1.00	4.36	97.3
1.00	4.34	96.8
1.00	4.39	98.0
1.00	4.39	98.0
1.50	6.61	99.0
1.50	6.57	98.2

Oznaczenie chloru w rozmaitych tkankach zwierzęcych również wykazało niewielkie wahania w równoległych analizach. Średni błąd oznaczenia wynosił 3 do 5%. Celem umożliwienia dokładniejszego porównania wyników wykonano oznaczenia na materiale wysuszonym i drobno sproszkowanym. Tab. III podaje jedną z seryj analiz, przeprowadzonych na mięśniach żaby. Średni błąd oznaczenia wynosi tu $\pm 3\%$.

Tabela III.

Oznaczenie chloru w mięśniach żaby.

Chlorbestimmung im Froschmuskel.

Ilość substancji <i>Substanzmenge</i>	Znaleziono Cl <i>Gefundene Menge Cl</i>	
	mg	%
0.254	0.66	0.253
0.248	0.64	0.254
0.341	0.93	0.268
0.514	1.31	0.256
0.518	1.31	0.254
0.877	2.12	0.242
0.722	1.88	0.260
1.103	2.76	0.250
	Przeciętnie: <i>Mittelwert:</i>	0.255 $\pm 3\%$

Dodane do poprzednio analizowanej substancji określone ilości chloru (w postaci roztworu NaCl) można było następnie wykryć z dość dużą dokładnością. Wyniki analiz tych podane są w tab. IIV.

Tabela IV.

Oznaczenie chloru dodanego do tkanki.
Bestimmung der zu Gewebe hinzugesetzten Chlormenge.

Ilość substancji <i>Substanzmenge</i>	Teoretyczna zawartość Cl <i>Theoretischer Chlorgehalt</i>	Dodana ilość Cl <i>Zugesetzte Chlormenge</i>	Znaleziono Cl <i>Gefundene Chlormenge</i>	
				w odsetkach dodanej ilości i <i>in % der zugesetzten Menge</i>
mg	mg	mg	mg	%
320	0.82	1.00	1.78	96
417	1.06	1.00	2.01	95
406	1.03	2.00	3.08	103
632	1.63	2.00	3.55	97

Streszczenie.

1°. Opracowana została metoda do oznaczenia chloru w drobnych ilościach tkanek.

2°. Metoda pozwala na oznaczenie obok chloru w tej samej próbie materiału również innych składników mineralnych.

3°. Metoda została sprawdzona dla ilości chloru od 0.1 do 30 mg. Średni błąd oznaczenia wynosi 3 — 5%.

Piśmiennictwo.

Białaszewicz K. 1927. O składzie mineralnym komórek jajowych. Prace Inst. im. Nenckiego. 3. Korányi A. 1897. Physiologische und klinische Untersuchungen über den osmotischen Druck tierischer Flüssigkeiten. ZZeitschr. f. klin. Medic. 33 (1).

[Zakład Biologiczno-Embrjologiczny Uniwersytetu Jagiellońskiego]

S. Skowron.

O przebiegu exosmozy i endosmozy u ślimaka winniczka (*Helix pomatia*) i wytrzymałości komórek spermatogennych na zmiany ciśnienia osmotycznego¹⁾.

Über den Verlauf der Exosmose und Endosmose bei Helix pomatia und über die Resistenzfähigkeit der Spermatozyten gegen die Veränderungen des osmotischen Druckes.

Rękopis nadesłany w dniu 20. I. 1932 r.

Die Weinbergschnecken wurden der Wirkung der Flüssigkeiten, welche im Verhältnis zu deren Blut hyper- resp. hypotonisch waren, ausgesetzt und es wurde die Gefrierpunktserniedrigung (Δ) des Blutes in verschiedenen Zeitabständen gemessen. Aus diesen Messungen und aus der Beobachtung des Verhaltens der Spermatozyten in den verwendeten Lösungen kann man folgende Schlüsse ziehen:

1°. Die Geschwindigkeit der Gefrierpunktserniedrigung des Blutes der Weinbergschnecke nach dem Hineinlegen in die hypertotonische NaCl Lösungen, entspricht der Formel, welche von R. S. LILLIE zu der Darstellung der Kinetik der Endosmose angewandt wurde. Der Wert K nach LILLIE'S Formel berechnet bleibt innerhalb der Grenzen der Versuchsfehler für die gegebene Konzentration konstant. Bei der Erhöhung des osmotischen Druckes des Aussenmediums wird K kleiner, was auf das Sinken der relativen Geschwindigkeit der Exomose, d. i. auf das Sinken der Durchlässigkeit der Zellmembran für Wasser, hinweist (Fig. 1, 2, 3. Tab. I, II, III).

2°. Bei den Messungen der Endosmose lässt sich LILLIE'S Formel nicht mit der gewünschten Genauigkeit anwenden. Der

¹⁾ Wykonano z pomocą zasiłku z fundacji Tyszkowskiego.

Wert K sinkt in diesen Versuchen, anstatt konstant zu bleiben; wenn man dagegen SKAPSKI's Formel, welche den Dehnungswiderstand der Zellmembran berücksichtigt, anwendet, variiert die Konstante K nur innerhalb den Grenzen der Versuchsfehler (Fig. 4. Tab. IV).

3°. Die Beobachtungen in vivo der Spermatozyten der Weinbergschnecken haben ergeben, dass diese Zellen gegen die Veränderungen des osmotischen Druckes des Mediums sehr resistent sind. Als die obere und untere Grenze der Resistenzfähigkeit waren solche Konzentrationen betrachtet, in welchen die Zellen momentan absterben; der Abstand dieser Grenzen wird für 10 Atm. berechnet. Denselben Abstand der Grenzkonzentrationen zeigen auch die Spermatozyten der Wasserschnecke *Limnaea*, obwohl deren normaler, osmotischer Druck niedriger, als bei der Weinbergschnecke ist.

W czasie moich doświadczeń nad przepuszczalnością tkanek zwierzęcych dla niektórych barwników akrydynowych zwróciłem przypadkowo uwagę na zmiany w ciśnieniu osmotycznym krwi ślimaka winniczka w zależności od ciśnienia osmotycznego otoczenia, a równocześnie i na znaczną wytrzymałość osmotyczną komórek spermatogenetycznych. Ponieważ dane, jakie uzyskałem, stanowią dalszy przyczynek do kinetyki osmozy w ustrojach żywych i rzucają pewne światło na zachowanie się komórek badanych in vivo w płynach zarówno hipo-, jak i hipertonicznych, pragnę podać poniżej otrzymane wyniki, ujmując oddzielnie zjawiska exosmozy, endosmozy i wreszcie obserwacje cytologiczne na komórkach spermatogenetycznych gruczołu obojnaczego.

Jako materiału użyłem głównie ślimaka winniczka (*Helix pomatia*), zbieranego z jednej miejscowości z okolic Krakowa. Doświadczenia wykonane były w miesiącach letnich, od czerwca do połowy września w r. 1930 i 1931. Celem wyznaczenia przebiegu exosmozy, ślimaki starannie oczyszczone wkładane były do naczynia wypełnionego hipertonicznym w stosunku do ich krwi roztworem chlorku sodu, gdzie pozostawiano je przez określony przeciąg czasu, poczem oznaczano obniżenie punktu krzepnięcia krwi.

W każdym doświadczeniu wkładano nie więcej niż czternaście ślimaków do paru litrów płynu, aby utrzymać o ile możności bez zmian ciśnienie osmotyczne zewnętrznego roztworu. Oznaczanie obniżania punktu krzepnięcia (Δ) wykonywano za pomocą przyrządu BECKMANNA, używając do jednego oznaczenia około 6 cm³ krwi, pobranej mniejwięcej z 10 okazów. Dzięki temu starałem się wyłączyć błędy, mogące powstać wskutek różnicy u pojedynczych osobników. Krew pobierano szklaną pipetą wprost z serca, zwracając baczna uwagę, by nie uszkodzić przy usuwaniu części skorupy jamy płucnej wypełnionej zewnętrznym, hipertonicznym roztworem.

Przy badaniu endosmozy wkładano ślimaki do czystej wody wodociągowej, której punkt krzepnięcia przyjmowano za 0 (Δ wody wodociągowej = 0.008° C), i co pewien czas wyznaczano aparatem BECKMANNA zmiany w ciśnieniu osmotycznym krwi. Należy zaznaczyć, że nawet po 30 h. przebywania w wodzie ślimaki żyły i po przeniesieniu do warunków normalnych traciły szybko nadmiar wody.

W badaniach mikroskopowych zanurzano komórki spermatogenetyczne, a głównie spermatoocyty I rz., które się do tych celów najlepiej nadają, w roztworze NaCl o znanem Δ i oglądano w kropli wiszącej. Jak to już wykazano poprzednio (S. i H. SKOWRON '29), spermatoocyty ślimaka hodowane w tych warunkach mogą żyć i dzielić się prawidłowo przez czas dwóch dni, o ile tylko ciśnienie osmotyczne chlorku sodu będzie izotoniczne z krwią i tkankami zwierzęcia. Oznaczanie jak też i obserwacje mikroskopowe przeprowadzano w temperaturze około 18° C.

Zjawiska exosmozy i endosmozy.

Kinetyką osmozy z punktu widzenia fizjologii zajmował się pierwszy R. i S. LILLIE ('16), oznaczając zwiększenie się objętości niezapłodnionych i zapłodnionych jaj jeżowców, poddanych działaniu hipotonicznej wody morskiej. Podobne badania były też przeprowadzone przez Mc CUTCHEON'A i LUCKE'EGO ('26) z uwzględnieniem różnic hipertonji środowiska i wpływu temperatury. Autorowie ci w pracy nad szybkością exosmozy, mierzonej zmianą objętości jaj jeżowców, sądzą, że kinetyka ex- i endosmozy jest identyczna: różnym będzie tylko kierunek działania osmozy ('27). Ostatnio NORTHROP ('28), opierając się na danych z doświadczeń wyżej wspomnianych autorów, a także STILES'A i JØRGENSEN'A nad pęcznieniem płatków marchwi i ziemniaka, porównywa endosmozę w komórkach z dyfuzją wody przez ściankę z kolodjum, wprowadzając pewne uzupełnienia we wzorach, stosowanych przez poprzednich autorów.

W doświadczeniach swoich uśilo wałem na tym samym materiale t. j. na ślimaku winniczku wyznaczyć zarówno przebieg exosmozy, jak i endosmozy. Przy badaniu exosmozy, jak to już wyżej wspomniałem, oznaczałem co pewien czas Δ krwi ślimaków, zanurzonych w hipertonicznym roztworze NaCl, przy badaniu zaś endosmozy obniżenie punktu krzepnięcia krwi ślimaków, włożonych do wody wodociągowej. Ślimak włożony do wody lub do roztworu wypełnia otaczającą cieczą przez otwór oddechowy

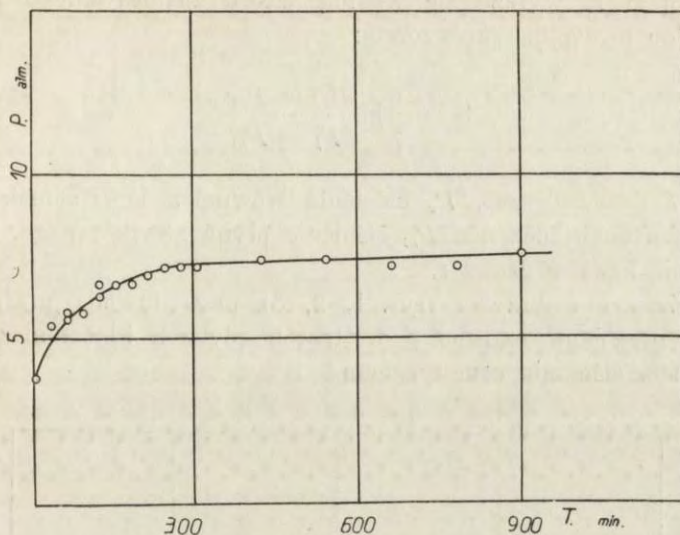
swą jamę płucną, poczem wymiana wody pomiędzy krwią a tym płynem odbywa się przez błonę, stanowiącą ścianę jamy płucnej. Chociażby nawet istniała częściowa przepuszczalność tej błony dla jonów Na^+ i Cl^- , to jednak szybkość przenikania wody przez błony zwierzęce jest nieporównanie większa, aniżeli przepuszczalność dla elektrolitów i pozostaje bez widocznego wpływu na przebieg krótko (max. 25 h.) trwającego doświadczenia. Zresztą niewiadomo, czy wogóle taka przepuszczalność dla soli przez ściany jamy płucnej ślimaka winniczka istnieje.

Przy określaniu exosmozy wkładano ślimaki do roztworu NaCl , którego Δ wynosiła w I serji doświadczeń 0.60° , a przeto ciśnienie posiadało wartość $\frac{0.60}{1.86} \times 22.4$, czyli ca. 7.2 atm. przy 0°C ., w serji II $\Delta = \text{ca. } 0.80^\circ$, czyli ca 9.7 atm. i wreszcie w serji III $\Delta = 1.00^\circ$, co odpowiada ciśnieniu ca. 12.1 atm. (Przyjmuję za innymi autorami stosowalność prawa VAN'T HOFFA dla używanych stężeń. vide R. S. LILLIE). Δ krwi ślimaków wynosiła najczęściej 0.32° , równoznaczne ciśnieniu 3.8 atm.

Przy wykonywaniu pomiarów pomagał mi p. ZENON WICIŃSKI cand. med., któremu za wielką sumienność i gorliwość serdecznie dziękuję.

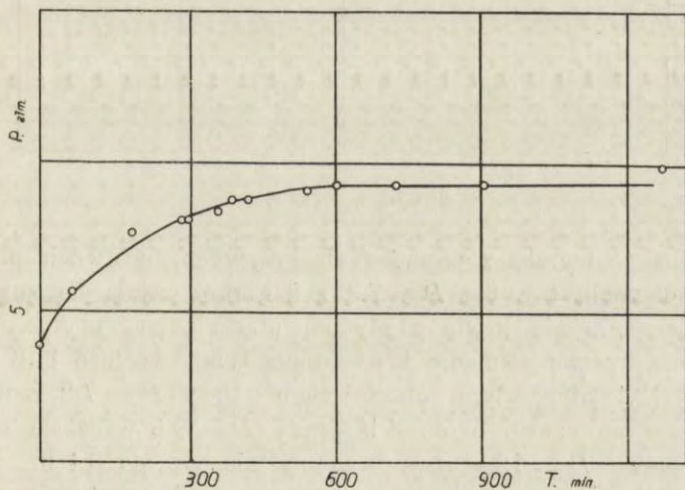
We wszystkich tych płynach hipertonicznych zaznaczało się znaczne zmniejszenie objętości ślimaków, które pozostawały wsunięte w skorupę, wskutek znacznego ubytku wody z krwi i tkanek. W ciągu całego okresu trwania doświadczeń ślimaki żyły, chociaż w stężeniu najsilniejszym, a więc przy 12.1 atm. następowało w parę godzin znaczne obniżenie czynności serca. Po 10 h. serce przestawało bić zupełnie i skurcze jego wracały tylko pod wpływem mechanicznego podrażnienia. Dopiero po okresie mniejwięcej 15 h. pewna ilość ślimaków, pozostawionych w płynie o $\Delta 1.00^\circ$, ginęła. W tym przypadku do pomiarów brano tylko te zwierzęta, których serce reagowało jeszcze na bodźce mechaniczne i których rożki i noga posiadały jeszcze zdolność kurczenia się. O ile jednak szybkie podwyższenie ciśnienia osmotycznego ślimaka do 7.2 atm. przez działanie płynu hipertonicznego nie powoduje śmierci zwierzęcia po przeniesieniu do normalnych warunków, to we wszystkich tych przypadkach, w których ciśnienie krwi dosięgało wartości 9.6 atm. zwierzęta po przeniesieniu do warunków normalnych ginęły w ciągu 1—3 dni.

Do matematycznego ujęcia uzyskanych wyników zastosowano wzór, którego użył LILLIE w poprzednio cytowanych doświadczeniach nad endosmozą. LILLIE, uważając zjawisko przenikania wody za czystą osmozę sądzi, że decydująca dla prędkości



Rys 1. Fig. 1.

przenikania wody będzie różnica ciśnień osmotycznych pomiędzy systemem zewnętrznym, a wewnętrznym. Szybkość dyfuzji będzie więc proporcjonalna do różnicy ciśnień osmotycznych krwi i otaczającego płynu.



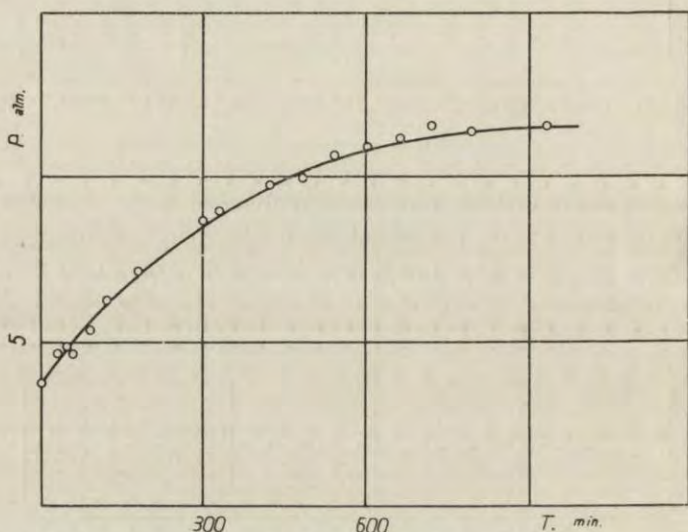
Rys 2. Fig. 2.

Stała K wyraża się według wzoru zastosowanego przez LILLIE'GO następującym wzorem:

$$K = \frac{1}{t} \ln \frac{P_e - P_m}{P_t - P_m}$$

gdzie t oznacza czas, P_e ciśnienie wewnątrz krwi ślimaka na początku doświadczenia, P_m ciśnienie płynu zewnętrznego, a P_t ciśnienie krwi w czasie t .

Załączone krzywe (rys. 1, 2, 3) przedstawiają graficzny obraz przebiegu exosmozy w trzech płynach hipertonicznych o różnym ciśnieniu osmotycznym.



Rys 3. Fig. 3.

Jak to wynika z powyższych krzywych, w dwóch pierwszych płynach, t. j. dla $P=7.2$ i 9.6 atm. ustala się zupełna izotonja pomiędzy krwią a płynem otaczającym, podczas gdy w płynie trzecim ciśnienie krwi osiąga tylko wartość 11.6 atm. wobec 12.1 atm. płynu otaczającego. Przy $P=7.2$ izotonja następuje po czasie około 4 h., przy $P=9.6$ w czasie około 10 h., przy $P=12.1$ równowaga ustala się po 14 h. Brak zupełnej izotonji w przypadku trzecim możnaby może przypisać silnemu wpływowi elektrolitów samej krwi, a głównie jonom

Na^+ na pęcznienie koloidów i zatrzymanie pewnej ilości wody, której działanie nawet silnej hipertoniczności otoczenia nie jest w stanie odciągnąć.

Celem wyznaczenia wartości K z zastosowanego powyżej równania interpolowano, aby uniknąć błędów doświadczalnych z wykreślonych krzywych wartości P_t dla czasów t , branych w odstępach 60 minutowych. Podane poniżej tabele zawierają wartości dla t , P_t , i K .

Tabela I.

Wzrost ciśnienia osmotycznego krwi ślimaków, zanurzonych w roztworze hipertonicznym NaCl o $P = \text{ca. } 7.2 \text{ atm.}$

Die Erhöhung des osmotischen Druckes des Blutes der Weinbergschnecken, welche in die hypertonische NaCl -Lösung ($P = \text{ca. } 7.2 \text{ Atm.}$) hineingebracht wurden.

t min.	P_t atm.	$K = \frac{1}{t} \ln \frac{P_e - P_m}{P_t - P_m}$
60	5.6	125×10^{-4}
120	6.4	121×10^{-4}
180	6.9	134×10^{-4}

Średnia, Mittelwert: 126×10^{-4}

Tabela II.

Wzrost ciśnienia osmotycznego krwi ślimaków, zanurzonych w roztworze hipertonicznym NaCl o $P = \text{ca. } 9.6 \text{ atm.}$

Die Erhöhung des osmotischen Druckes des Blutes der Weinbergschnecken, welche in die hypertonische NaCl -Lösung ($P = \text{ca. } 9.6 \text{ Atm.}$) hineingebracht wurden.

t min.	P_t atm.	$K = \frac{1}{t} \ln \frac{P_e - P_m}{P_t - P_m}$
60	5.3	50×10^{-4}
120	6.4	50×10^{-4}
180	7.3	51×10^{-4}
240	7.9	51×10^{-4}
300	8.3	48×10^{-4}
360	8.6	48×10^{-4}
420	8.8	47×10^{-4}
480	8.9	55×10^{-4}
540	9.0	54×10^{-4}

Średnia, Mittelwert: 50×10^{-4}

Tabela III.

Wzrost ciśnienia osmotycznego krwi ślimaków, zanurzonych w roztworze hipertonicznym NaCl o $P = \text{ca. } 12.1 \text{ atm.}$

Die Erhöhung des osmotischen Druckes des Blutes der Weinbergschnecken, welche in die hypertoniche NaCl-Lösung ($P = \text{ca. } 12.1 \text{ Atm.}$) hineingebracht wurden.

t min.	P_t atm.	K $K = \frac{1}{t} \ln \frac{P_e - P_m}{P_t - P_m}$
60	5.0	26×10^{-4}
120	6.1	29×10^{-4}
180	7.0	27×10^{-4}
240	7.8	27×10^{-4}
300	8.5	27×10^{-4}
360	9.1	28×10^{-4}
420	9.7	29×11^{-4}
480	10.3	31×10^{-4}
540	10.7	33×10^{-4}
600	11.0	33×10^{-4}
660	11.2	30×10^{-4}
720	11.4	37×10^{-4}
780	11.5	33×10^{-4}
840	11.6	33×10^{-4}

Średnia, Mittelwert: 30×10^{-4}

Jak wynika z tabel powyższych wartość K dla każdego doświadczenia jest wartością w granicach błędów doświadczalnych stałą i średnia wynosi dla $P=7.2$, $K=126 \times 10^{-4}$, dla $P=9.6$, $K=50 \times 10^{-4}$, dla $P=12.1$, $K=30 \times 10^{-4}$.

Różnice te w wartości K dla płynów zewnętrznych o różnej hipertoni wskazuja zmniejszanie się względnej szybkości exosmozy w miarę podwyższania ciśnienia osmotycznego otaczającego płynu, a więc zmniejszanie się przepuszczalności błony dla wody przy podnoszeniu ciśnienia osmotycznego roztworu NaCl.

Przy badaniu endosmozy wzór LILLIE'GO nie stosuje się z tą ścisłością co przy exosmozie: wartość dla K nie jest wartością stałą. Z tego też względu obliczenia przeprowadzałem na podstawie wzoru wyprowadzonego i sprawdzonego na podstawie moich danych doświadczalnych przez DR. A. SKAPSKIEGO (praca ta znajduje się w druku).

SKAPSKI, rozpatrując teoretycznie kinetykę endosmozy do komory kulistej, półprzenikliwej z uwzględnieniem oporu błony,

uważanej za spęczniały gel, jako siły hamującej dochodzi do zależności:

$$K = \frac{3}{2t} 2.3 \lg \frac{P_p^{2/3} - P_k^{2/3}}{P_p^{2/3} - P_k^{2/3}}$$

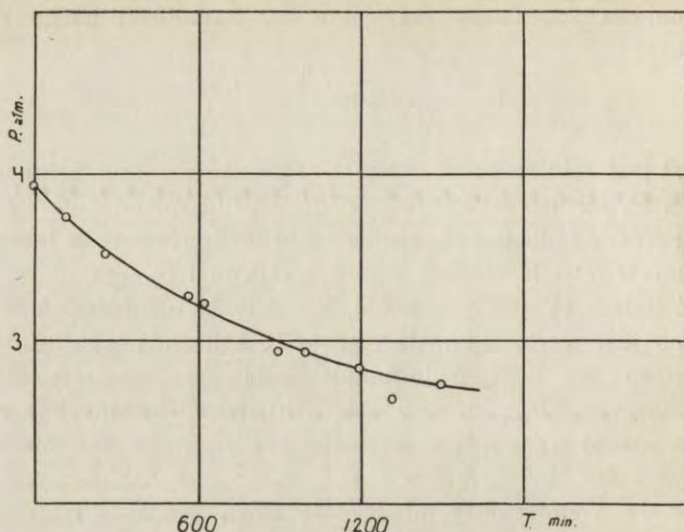
gdzie P jest ciśnieniem w czasie t , P_p oznacza ciśnienie początkowe, a P_k ciśnienie końcowe po dojściu do równowagi. Podana poniżej krzywa ilustruje przebieg endosmozy (rys. 4), a tabela IV obliczenia t , P i K według wzoru LILLIE'GO i SKĄPSKIEGO.

Z tabeli IV jest widoczne, że gdy K obliczona z wzoru LILLIE'GO jest wartością malejącą, to K obliczona według wzoru SKĄPSKIEGO ma wartość doskonale stałą przy średnim błędzie kwadratowym $2\frac{1}{2}\%$ a przy błędach doświadczalnych, wynoszących około 6% . Zdaje się więc rzeczą prawdopodobną, że zapatrywania Mc CUTCHEON'A i LUCKE'GO co do identyczności zjawisk ex- i endosmozy odnosić się mogą tylko do tych systemów, gdzie siłę oporu błony można pominąć.

Wytrzymałość komórek spermatogenetycznych na zmiany ciśnienia osmotycznego.

Ponieważ z porównania oznaczeń obniżenia punktu krzepnięcia krwi i tkanek, względnie soku tkankowego u różnych gatunków ślimaków lądowych i wodnych można wnioskować o zupełnej izotonji pomiędzy krwią a tkankami, należy przyjąć, że jakakolwiek zmiana w ciśnieniu osmotycznym krwi wywoła odpowiednią zmianę w ciśnieniu osmotycznym komórek.

Znaczną rozpiętość wahań w ciśnieniu osmotycznym komórek wskazują interesujące prace DUVALA. Autor ten ('28) przez przetrzymywanie małży i wodnych ślimaków w hipertonicznych roztworach soli uzyskiwał znaczne podwyższenie stężenia w ich krwi (*Anodonta* z $\Delta 0.10^\circ - 0.13^\circ$ do $\Delta 0.40^\circ$, *Limnaea* z $\Delta 0.21^\circ - 0.25^\circ$ do $\Delta 0.48^\circ$), a ponieważ ślimaki i małże żyły czas dłuższy w tych roztworach, można stąd wnioskować o znacznej wytrzymałości ich komórek na zmiany w stężeniu ciał osmotycznie czynnych. O wiele więcej jeszcze interesującymi są doświadczenia DUVALA ('30) nad ślimakiem winniczkim, gdyż autor ten zdołał wykazać współzależność pomiędzy aktywnością zwierzęcia i wartością ciśnienia osmotycznego jego krwi, a tem samem i komórek. Wykazał on mianowicie, że Δ krwi ślimaków, zbieranych w okresie zimy i zamkniętych wapiennem wieczkiem, wynosi 0.40° , podczas gdy zwierzęta czynne zbierane w okresie wiosennym i letnim posiadają ciśnienie osmotyczne znacznie niższe, około $\Delta 0.30^\circ$. Jak



Rys. 4. Fig. 4.

Tabela IV.

Obniżenie ciśnienia osmotycznego krwi ślimaków, zanurzonych w wodzie wodociągowej.

Die Erniedrigung des osmotischen Druckes des Blutes der Weinbergschnecken, welche in das Leitungswasser hineingebracht wurden.

t min.	P atm.	$K = \frac{3}{2t} \times 2.3 \log \frac{P^2 _a - Pk^2 _a}{Pp^2 _a - Pk^2 _a}$	$K = \frac{1}{t} \ln \frac{P_e - P_m}{P_t - P_m}$
0	3.95	—	—
120	3.74	-1.64×10^{-3}	-46×10^{-5}
240	3.57	-1.58×10^{-3}	-40×10^{-5}
360	3.42	-1.56×10^{-3}	-39×10^{-5}
480	3.30	-1.50×10^{-3}	-37×10^{-5}
600	3.18	-1.55×10^{-3}	-36×10^{-5}
720	3.08	-1.52×10^{-3}	-34×10^{-5}
840	2.99	-1.59×10^{-3}	-33×10^{-5}
960	2.92	-1.68×10^{-3}	-31×10^{-5}
1080	2.86	-1.65×10^{-3}	-29×10^{-5}
∞	2.35	—	—
	extrapol		

Średnia, Mittelwert: -1.58×10^{-3}

sądzi DUVAL, z nastaniem wczesnej wiosny, gdy w otoczeniu zimującego ślimaka znajduje się obficie woda, ciśnienie osmotyczne krwi obniża się zwolna a osiągnięcie wartości niższej niż $\Delta 0.40^0$ jest bodźcem, powodującym powrót zwierzęcia do życia czynnego. Zagęszczenie stężenia krwi

w okresie letnim u ślimaków, przetrzymywanych w atmosferze suchej, postępuje jeszcze dalej, niż w zimie. Δ krwi ślimaków wciągniętych w skorupę waha się od 0.40° do 0.50° . Przy stężeniu cokolwiek niższem od $\Delta 0.60^{\circ}$ zwierzęta, według DUVALA, giną.

W doświadczeniach moich spermatoocyty ślimaka winniczka żyły przez czas dłuższy w krwi ślimaków wodnych, a mianowicie: *Limnaea* i *Planorbis*, których ciśnienie osmotyczne ($\Delta 0.21^{\circ}$ — 0.25°) jest znacznie niższe od ciśnienia osmotycznego krwi winniczka ($\Delta 0.30^{\circ}$ — 0.32°). Wprawdzie można było zauważyć nieznaczne zwiększenie objętości komórek i większą przejrzystość protoplazmy, jednakże komórki zachowywały się prawidłowo, a nawet podziały przebiegały normalnie. Ten sam wynik otrzymano, obserwując spermatoocyty ślimaka przetrzymanego w wodzie wodociągowej przez 24 h., którego ciśnienie osmotyczne wynosiło $\Delta 0.23$ — 0.21 , a więc było izotoniczne z krwią *Limnaea* i *Planorbis*.

Zanurzając spermatoocyty ślimaka o $\Delta 0.32$ w krwi zwierzęcia przetrzymanego w wodzie, można było dostrzec szybkie dojście do równowagi komórek z otaczającym płynem. Komórki stawały się przejrzystsze i powiększały swą objętość do wartości stałej już w ciągu paru minut.

Nawet w silnie hipotonicznym roztworze ($\Delta 0.18^{\circ}$) NaCl znaczny procent komórek żyć może przez okres mniej więcej 24h. Objętość ich jednakże jest znacznie zwiększona, a podziały zostają zahamowane całkowicie. Przy $\Delta 0.16^{\circ}$ giną szybko wszystkie dzielące się komórki więcej wrażliwe na wszelkie szkodliwe wpływy otoczenia. Bardzo często można było zauważyć, że komórki, będące w anafazie, oddzielają drobne kulki protoplazmatyczne w równiku komórki, a więc w tem miejscu, gdzie w czasie anafazy najsilniej zaznaczają się zmiany w napięciu powierzchniowym. Komórki, których jądra znajdują się w spoczynku po włożeniu do płynu o $\Delta 0.16^{\circ}$, zawieszają początkowo zupełnie wysuwanie nibynózek, a równocześnie pojawiają się w obrębie jądra bardzo drobne ziarenka. Po pewnym jednak czasie pewien procent komórek spoczynkowych zaczyna zwolna wysuwać nibynóżki. Dopiero w roztworze o $\Delta 0.14^{\circ}$ wszystkie komórki rozpadają się w ciągu jednej minuty, pęczniąc początkowo bardzo silnie. Roztwór więc o $\Delta 0.14^{\circ}$, odpowiadający ciśnieniu ca. 1.79 atm., możemy uznać za dolną granicę osmotycznej wytrzymałości komórek.

Celem określenia granicy górnej zanurzano spermatocyty w hipertonicznych roztworach NaCl o znanym Δ . Przy $\Delta 0.50^\circ$ objętość komórek zmniejszała się równomiernie bez chwilowego nawet zahamowania ruchów nibynózek. Dopiero przy $\Delta 0.60^\circ$ spermatocyty kureczyły się znacznie, kontur ich stawał się początkowo nieregularny, lecz w parę minut powracały znów do postaci kulistej, o wyraźnie jednak zmniejszonej objętości. Ruchy zahamowane były przez czas około 60 minut. Po upływie tego czasu ruchy powracały. Podobnie też pojawiające się w pierwszej chwili po przeniesieniu do płynu hipertonicznego ziarenka w jądrze ginęły. Przez cały czas obserwacji, trwającej około 30 h., komórki żyły i podziały przebiegały prawidłowo. Przy jeszcze znaczniejszej hipertonii środowiska ($\Delta 0.75^\circ$) oprócz początkowo nieregularnego konturu protoplazmy zaznaczały się też krótko trwające wgłębienia w samej błonie jądrowej, powstałe przez nagłe odciągnięcie wody z jądra. W jądrze pojawiały się ziarenka, które nie zanikały już jak w poprzednim przypadku. W parę minut komórki przybierały znów kształt regularnie kulisty, przyczem pierwsze oznaki ruchu amebowatego występowały dopiero po 90 minutach. Ruch występował także i w tych komórkach, w których jądra wypełnione były silnie drobnymi ziarenkami. Podobnie, tylko jeszcze dalej posuwające się zmiany występowały przy $\Delta 0.80^\circ$ i $\Delta 0.85^\circ$. Przy $\Delta 1.00^\circ$ komórki ginęły, nie odzyskując zdolności do ruchów i stężenie to, odpowiadające ciśnieniu ca. 12.09 atm., możemy przyjąć za górną granicę wytrzymałości osmotycznej.

Równocześnie pragnę zwrócić uwagę na jeden szczegół charakterystyczny. Zarówno komórki, które przetrzymano w stężeniu $\Delta 0.60^\circ$, jak i komórki przy $\Delta 1.00^\circ$ po okresie początkowej utraty wody, odpowiadającym pojawianiu się nieregularnych konturów, powracały bardzo szybko, bo już w parę minut do postaci kulistej¹⁾. Można było jednak zauważyć, że objętość ostateczna komórek przy $\Delta 0.60^\circ$ była mniejszą, aniżeli przy $\Delta 1.00^\circ$. Pozorną sprzeczność można, jak sądzę, wytłumaczyć stopniem uszkodzenia błony plazmatycznej. Przy $\Delta 0.60^\circ$ komórka odzyskuje swą pierwotną postać kulistą prawdopodobnie dzięki elastyczności swej błony, przyczem NaCl nie wnika w znaczniejszym stopniu przez błonę komórkową, podczas gdy przy $\Delta 1.00^\circ$ uszkodzenie błony plazmatycznej jest tak

¹⁾ Pomijam w opisie pojawiające się czasem w płynach hipertonicznych bardzo cienkie, nitkowate wypustki protoplazmatyczne.

znaczne, że przechodzą do komórki jony Na, które, działając na pęcznienie koloidów, powodują zwiększenie się objętości komórki w tak silnie hipertonicznem środowisku.

Jak więc widzimy z powyższego zestawienia, rozpiętość ciśnień, które sprowadzają momentalnie prawie śmierć komórki, jest dość znaczną. Podobne zresztą stosunki istnieją i u ślimaków wodnych, jak np. u *Limnaea*. Ponieważ jednak normalnie krew tego zwierzęcia posiada niższe niż ślimak winniczek ciśnienie osmotyczne, należy przypuszczać, że w związku z tem znajdziemy obniżenie górnej i dolnej koncentracji granicznej. Obserwacje potwierdziły te przypuszczenia, gdyż u *Limnaea* dolna granica wytrzymałości osmotycznej komórek spermatogenetycznych leży przy $\Delta 0.08^\circ$, co odpowiada ciśnieniu 0.94 atm, górna natomiast przy $\Delta 0.85^\circ$, t. j. przy ciśnieniu 10.08 atm. Wytrzymałość więc komórek spermatogenetycznych zarówno u ślimaka winniczka, jak i u *Limnaea* posiada prawie tę samą wartość, wyrażoną liczbą około 10 atm.

Zestawienie wyników.

1°. Szybkość obniżania się punktu krzepnięcia krwi u ślimaka winniczka po włożeniu go do płynu hipertonicznego stosuje się do wzoru, stosowanego przez LILLEG'ó do zjawisk endosmozy.

2°. Dane doświadczalne nad przebiegiem endosmozy potwierdzają teoretycznie wyprowadzony wzór SKĄPSKIEGO, uwzględniający opór błony.

3°. Komórki spermatogenetyczne ślimaka winniczka wykazują znaczną wytrzymałość na zmiany ciśnienia osmotycznego. Uważając za granicę górną i dolną te pierwsze stężenia, w których komórki prawie momentalnie giną, ustalono rozpiętość wahań ciśnień. Wynosi ona około 10 atm. Tę samą wartość przy równomiernem obniżeniu granicy górnej i dolnej wykazują komórki spermatogenetyczne ślimaków wodnych (*Limnaea*).

Piśmiennictwo.

- Duval M. 1928. Annales Physiol. et Physicochimie. 4. Ibid. 5. 1930.
Gray J. 1931. Experimental Cytology. Lillie R. S. American Journal of Physiol. 40. Mc Cutcheon i Lucke B. 1926. Journ. Gener. Physiol. 9. Ibid. 10. 1927. Northrop J. 1928. Ibid. 11. Schieper C. 1930. Biological Reviews 5. Skąpski A. Bull. Acad. Sc. Pol. (w druku). Skowron S. i H. 1929. Ibid.

[Zakład Morfologii Doświadczalnej Instytutu im. Nenckiego T. N. W.]

M. Chejfec.

Regulacja i regeneracja *Paramecium caudatum*.

*Regulation und Regeneration von *Paramecium caudatum*.*

Rękopis nadesłany w dniu 15. II. 1932 r.

Es wird allgemein angenommen, insbesondere nach den Arbeiten von CALKINS und PEEBLES, dass *Paramecium caudatum* eine ganz minimale Regenerationsfähigkeit aufweist und zugleich eine Tendenz zeigt nach verschiedenen Operationseingriffen Missbildungen und Mehrfachbildungen zu erzeugen. In der vorliegenden Arbeit wird der Versuch unternommen, durch die Auswahl passender Aussenbedingungen die Regenerationskraft des Infusors zu heben.

Versuche wurden in drei Serien ausgeführt. Jede dieser Serien umfasste 5 Operationstypen, die als frontal (F), anterior (A), zentral (C), posterior (P) und caudal (Cd) bezeichnet worden sind. Die jeweilige Lage der Schnittebene ist aus Fig. 1 zu ersehen. Die operierten Infusorien züchtete Verf. einzeln auf ausgehöhlten Objektträgern, unter täglicher Auffrischung der Heuinfusion. Die Tiere der Serie I stammten aus einer auf Heuinfusion gezüchteten und gut ernährten Kultur. In der Serie II wurden Infusorien verwendet, denen binnen 10 Tage allmählich Nahrung bis zum vollständigen Hunger entzogen wurde. Nach der Operation und Vernarbung der Wunde kamen diese Tiere in eine verdünnte Heuinfusion. In der Serie III wurde das Kulturmedium allmählich mit Essigsäure versetzt, bis pH 5.5 — 6.0. Nach der Vernarbung kamen die Infusorien allmählich in die Heuinfusion von pH 8.0.

Die Ergebnisse der Versuche sind in drei Tabellen I — III zusammengestellt worden. Tab. I enthält die absoluten Zahlen, Tab. II dagegen die zugehörigen Prozentwerte. Eine Zusam-

menfassung beider Tabellen stellt die Tab. III dar, indem dieselbe Gesamtsummen, sowie Durchschnittsprozentwerte für sämtliche Versuche, und zwar in bezug auf die absolute Individuenzahl, Anzahl der regulierenden und diejenige der überhaupt überlebenden Tiere enthält.

Es wird die Regulation von der Regeneration unterschieden. Unter Regulation versteht der Verf. diejenigen Prozesse, welche es dem Infusor ermöglichen trotz der stattgehabten Verletzung annähernd normal zu funktionieren, jedoch ohne echte Wiederherstellung der ursprünglichen Gestalt so wie der abgetragenen morphologischen Elemente. Die Regeneration dagegen ist stets mit der Bildung eines mehr minder typischen Regenerationskegels verbunden und sie führt zur Wiederherstellung verlorener Strukturen.

Was nun die echte Regeneration anbelangt, so wurde sie wiederholt beobachtet, und zwar in den Operationstypen P und Cd, niemals bei F, A und C. Das hintere Körperende des Tieres bildet dabei einen Regenerationskegel und es erscheinen die durch den Eingriff entfernten so charakteristischen kaudalen Wimpern des *Paramecium*. Beim Typus F tritt nur die Regulation auf, obwohl hier die Beschädigungsgrösse derjenigen des Typus Cd ungefähr entspricht. Auch ist hier die Sterblichkeit eine bedeutendere (Tab. III). Die Operation F zeigte in 18 Proz. der Fälle unregelmässige Mehrfachbildungen (Fig. 2), welche sich offenbar auf die gehemmte Teilung des Tieres zurückführen. Die regulativ-regenerativen Potenzen des Vorderendes sind somit sicher von denjenigen des Hinterendes verschieden. In allen Serien war die Regulationskraft beim Operationstypus C äusserst gering, was sich dadurch erklärt, dass bei medianer Durchtrennung der Kernappart fast immer beschädigt wird. Insbesondere gilt das für die Serien II und III, in welchen eine bedeutende Vergrösserung des Macronucleus stets zu beobachten war. Auf Grund dieser Experimente lassen sich im *Paramecium*körper Zonen von verschiedener Regulationskraft unterscheiden (Fig. 3), wobei das Maximum derselben in der Zone Cd, das Minimum in C liegt.

Eine wichtige Rolle spielen die Regulationsbedingungen. Wie aus der Tab. III unmittelbar zu ersehen ist (die drei unteren horizontalen Reihen), ist sowohl der Prozentsatz überlebender,

wie auch regulierender Tiere in den Serien II und III merklich höher, als in der Serie I. Die teilweise Inanition und das angesäuerte Aussenmedium heben die Regulationskraft. Ohne Zweifel ist hier die Veränderung des kolloidalen Protoplasmazustandes nicht ohne Bedeutung, indem z. B. die Ansäuerung zu einer Verdichtung desselben führt (v. HERWERDEN). Andererseits ist auch die bereits erwähnte Vergrößerung des Grosskernes, welche gerade in den Serien II und III eintritt, zuberücksichtigen. Es wird damit die Kernplasmarelation zu Ungunsten des Protoplasmas verschoben, was möglicherweise den Gang der Regulation beeinflusst.

Die bisher erzielten Ergebnisse beziehen sich nur auf zwei Faktoren: Inanition und pH des Mediums. Doch zeigen sie schon klar, dass selbst bei einem so schwach regulierenden Tiere, wie es *Paramecium caudatum* ist, künstliche Experimentaleingriffe die Regulationskraft merklich zu heben imstande sind.

Prace, poświęcone badaniom zdolności regeneracyjnych *Paramecium caudatum*, zamykają się w trzech pozycjach dwojga badaczy.

Pierwszy CALKINS ('11) rozcinał cienkim nożykiem *Paramecia* w rozmaitych miejscach i kierunkach, stwierdzając, że wymoczki te należy zaliczyć do organizmów o słabej zdolności regulacyjno-regeneracyjnej, gdyż o ile nie umierają one po operacji, skłonne są do tworzenia heteromorfoz. Po nacięciu lub odcięciu pewnych partyj ciała, wymoczki regenerują w sposób nieprzewidywalny, przybierając, wskutek następujących po sobie podziałów niepełnych, nie oddzielających od siebie osobników potomnych, wprost fantastyczne kształty. Z tych monstrów złożonych, o charakterze wybitnie patologicznym, odszczepiać się mogą niejednokrotnie całkowicie regularne i prawidłowo ukształtowane osobniki. Regeneracja więc podług CALKINSA, byłaby związana z zupełnie nieprawidłowo zachodzącymi zjawiskami hyperregeneracji.

Ale już z prac PEEBLES ('12), wykonanych metodą CALKINSA, wynika, że regulacja i ewentualnie prawidłowa regeneracja u *Paramecium caudatum* występuje o wiele częściej, niż to podaje CALKINS, a hyperregeneracja i związane z nią twory monstrualne nie powstają bynajmniej zbyt często; że wreszcie rozmaite rasy *Paramecium* w odrębnych pożywkach zachod-

wują się pod tym względem inaczej, zaś różne partje tego samego osobnika wykazują różną skłonność regeneracyjną. O ile po uszkodzeniu przedniego końca osobnika *Paramaecium* regulacja, względnie regeneracja, zachodzi w 34% przypadków, to po uszkodzeniu tylnego końca regeneracja ma miejsce w 64% przypadków, co wskazywałoby, że przód i tył pierwotniaka są odpowiednio zróżnicowane i charakteryzują się odmienną zdolnością regulacyjno-regeneracyjną.

W trakcie moich doświadczeń nad wpływem odżywiania na długość życia *Paramaecium* (CHEJFEC '29) udało mi się zaobserwować dwa przypadki zupełnie prawidłowej regulacji operowanych wymoczków. Ponieważ chodziło o osobniki, hodowane w specjalnych warunkach podglodowych, bardzo odbiegających od warunków panujących w zwykłych kulturach, powstało przypuszczenie, że słaba zdolność regulacyjna *Paramaecium* w pewnej mierze może zależeć od niektórych warunków zewnętrznych. Wobec tego powinno być możliwe pewne podniesienie stopnia tej zdolności przez dobranie odpowiednich warunków hodowli.

Próbę rozwiązania tego właśnie zagadnienia podejmuje praca niniejsza.

Metodyka.

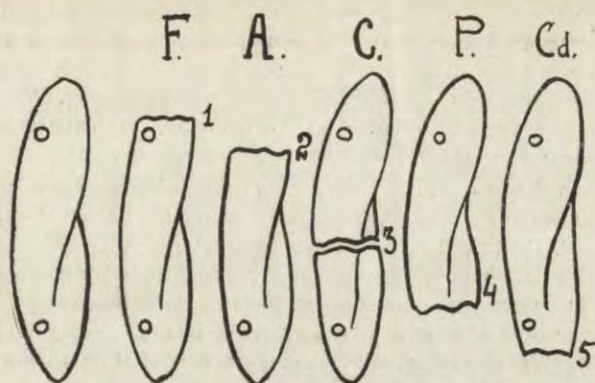
Paramaecia, użyte do doświadczeń, pochodziły z kultury masowej, hodowanej w zwykłej pożywce sianowej, podawanej raz w tygodniu 48 godzin po przegotowaniu.

Wszystkie osobniki badane umieszczałem pojedynczo na szkiełkach wydrążonych, w kroplach środowiska kultury lub w odpowiednich roztworach.

Operacje uskuteczniałem nożykiem, wykonanym z przekutej igły stalowej i stałe przed każdą serją operacyj doszlifowywanym na gładkim kamieniu.

Pierwotniaki były rozcinane, ewentualnie nacinane w bardzo skąpych kropelkach, utrudniających im swobodę ruchów. Przy pewnej wprawie, korzystając ze zwolnionego ruchu w tego rodzaju kroplach, można wykonać do 90% udanych operacyj.

Cięcia były dokonywane w miejscach scharakteryzowanych przez rys. I po liniach, oznaczonych cyframi (1, 2, 3, 4, 5). Operacje, w których oddzielałem część przednią do linii 1, otrzymały nazwę *frontalnych* (F), te w których odcinałem część do linii 2, oznaczałem jako *przednie* (A). Przecięcie osobnika na połowy według linii 3 oznaczałem jako *centralne* (C). Cięcia po linii 4 określałem jako *tylne* (P), cięcia zaś po linii 5 oznaczałem jako operacje *kaudalne* (Cd) i temi terminami posługiwałem się w całej pracy.



Rys. 1

Utrwalanie materiału w celu określenia położenia jądra, formowania wodniczków tętniących i ich budowy uskuteczniałem metodą GELEI, poza-
tém we wszystkich doświadczeniach dorywczych stosowałem „Methylgrün”
w kwasie octowym.

Obserwacje kanałów doprowadzających wodniczków umożliwiła mi
kofeina w roztworze 1:500, która rozszerza wodniczki, nie szkodząc osob-
nikom, oraz „Alizarinblau”, który to barwnik pozwala doskonale badać
za życia pierwotniaków charakter pierwotników tętniących, ich budowę
i kształt kanałów doprowadzających.

Ogółem wykonałem trzy serie doświadczeń.

Serja I obejmowała regenerujące i regulujące pierwotniaki w wa-
runkach normalnych. Wszystkie *Paramecia* tej serii pochodziły z dobrze
prosperującej kultury, z której były wydobywane po 5—7 dniach od daty
dodania świeżej pożywki.

Wycieczki umieszczałem w kroplach pożywki, rozcieńczonej wodą wo-
dociągową w celu możliwego wyrównania ciśnienia osmotycznego plazmy
i środowiska.

Staranne dobranie stopnia rozcieńczenia jest konieczne ze względu
na rozrywanie się operowanych osobników w stężeniach nieodpowiednich.
W rozcieńczonej pożywce pierwotniaki przebywały 24—36 godzin przed ope-
racją. Po operacji w małej kropli, natychmiast dodawałem świeżą kroplę
pożywki w tem samym rozcieńczeniu. Śmiertelność jednak wynosiła około
60—70%. Dodatkowo muszę zaznaczyć, że ponieważ nadmiar szczelnie wy-
pełnionych bakteriami wodniczków pokarmowych jest także powodem pę-
kania operowanych pierwotniaków, do eksperymentów wybierałem osobniki
z mniejszą liczbą wodniczków.

Natychmiast po udanej operacji, pierwotniak, bez względu na miejsce
dokonanego przecięcia, porusza się naprzód w kierunku części przedniej,
chociażby cała ta część została przez operację usunięta aż po linję 3.
Nawet drobne cząstki, które w kilka lub kilkanaście minut po operacji

zginą z pewnością, posuwają się ku przodowi. Jednak po jakimś czasie regularność ruchu takich odcinków ustaje, rozpoczyna się ruch obrotowy, zaokrąglenie się części dorannej, spęcznienie lub śmierć, związana najczęściej z eksplozywnym pęknięciem otoczki plazmatycznej. We wszystkich częściach, umierających wkrótce po ich odcięciu, nie odnalazłem śladów ani jądra większego (makro), ani jądra mniejszego (mikro).

Ogółem dokonałem w tej serji około 500 udanych operacyj. Obliczając je według typów dokonanych przecięć, wypadnie na typ F—87 operacyj, na typ A—72, C—120, P—90 i na typ Cd—131 operacyj.

Serja II obejmuje regulujące i regenerujące pierwotniaki, operowane po 10 dniach przebywania w wodzie wodociągowej. Pierwotniaki doświadczalnie wydobywałem z kultury po 5 dniach od daty dodania świeżej pożywki. Wszystkie osobniki okazują z początku doświadczenia 7—15 wodniczków, wypełnionych bakterjami.

Wymoczki, przeznaczone do operacyj, zostają rozmieszczone na szkiełkach wydrążonych w kroplach wody wodociągowej, odświeżanej codziennie. Oczywiście przejście od pożywki do wody odbywało się stopniowo przez codzienne rozcieńczanie środowiska. Operacje wykonywałem po 10 dniach głodu. Pierwotniaki okazują wówczas 1—5 wodniczków po karmowych prawie zupełnie przezroczystych, głównie wypełnionych wodą. Same *Paramaecia* charakteryzują się znaczną przezroczystością plazmy i powiększonym jądrem.

Natychmiast po operacji dodawałem na szkiełko większą kroplę wody wodociągowej. Dopiero po zabliźnieniu się rany, co następuje przeciętnie po 24 godzinach, przenosiłem badane osobniki do kropeł, zawierających rosnące stężenia pożywki. Zachowanie się pierwotniaków po operacji jest takie same, jak w serji I. Części odcięte bezjądrowe zamierają, ale często, poruszając się w rozmaitych kierunkach, pozostają przy życiu od 5 minut do kilkunastu godzin.

Na 100 pierwotniaków po operacjach pozostało przy życiu 61, gdy w serji I przeżyło odpowiednio tylko 41% osobników.

Dla omówionej serji, obejmującej 190 osobników odpowiednio na typ F przypadło 50 udanych operacyj, na typ A—42, na C—13, na P—45, a na typ Cd—40.

Serja III obejmowała pierwotniaki, regulujące i regenerujące w środowisku zakwaszonym. Poprzedziły ją doświadczenia wstępne, w których kilkanaście pierwotniaków, wydobytych z normalnej, dobrze prosperującej kultury, przenosiłem na szkiełko wydrążone do kropeł pożywki, zaczerpniętej z tejże kultury zasadniczej, które stopniowo bardzo słabo zakwaszałem kwasem octowym.

Przez przenoszenie pierwotniaków co 24 godziny do środowiska o coraz niższym pH ustaliłem, że przez stopniowe zwiększanie kwasowości można jeszcze w stężeniu pH=4 utrzymać pierwotniaki przy życiu od 14 do 16 dni bez występowania podziałów i bez znaczących zmian morfologicznych. Dopiero po tym czasie *Paramaecia* wykazują wakuolizację, obejmującą krańcowo całą plazmę, i giną.

Przez wykonywanie operacji w rozmaitych kolejnych stężeniach kwasowych stwierdziłem, że pierwotniaki syte, znajdujące się około trzeciego dnia w $\text{pH}=5.5-6.0$ są doskonałym materiałem eksperymentalnym, gdyż dzięki zakwaszeniu zwiększa się lepkość plazmy (HERVERDEN '25), wobec czego nie rozplývają się po operacji, ani nie rozpadają tak często, jak w poprzednich serjach. Na 250 operacji wypadło 176 najzupełniej udanych.

Wszystkie pierwotniaki doświadczalne tej serji pochodziły z tej samej kultury, hodowanej w pożywce sianowej o $\text{pH} 7.9-8.2$, a po przeniesieniu do kropeł na szkiełka wydrażone, były codziennie przeprowadzane do kropeł bardziej zakwaszonych, wreszcie operowane przy $\text{pH} 5.5-6.0$. Po zabliźnieniu rany przenoszono je do kropeł rozcieńczanych wodą, następnie do pożywki sianowej o $\text{pH} -8$, najwyższym ze stosowanych. Dla typu F miałem 21, dla A — 33, C — 49, P — 30, a dla typu Cd — 43 operacji udanych.

Zewnętrzne zachowanie się pierwotniaków, reakcja na przecięcie oraz charakter ruchów są w tej serji takie same, jak w I i w II, natomiast części bezjądrowe pozostają nieco dłużej przy życiu, niż w doświadczeniach poprzednich. Ponieważ jednak w serji III częściej niż w poprzednich zachodzi możliwość odcięcia fragmentów znacznie przerosłych jąder, więc odcinki przypuszczalnie bezjądrowe mogły zawierać jakieś fragmenty jąder,

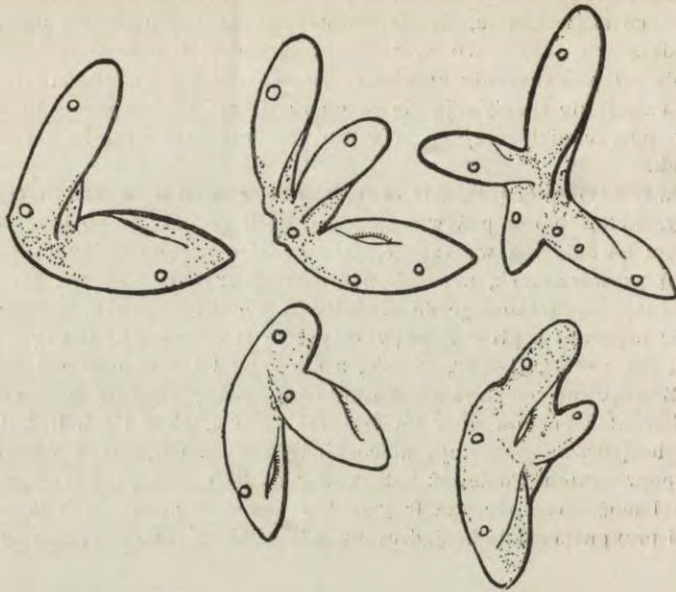
Operacje typu F.

Po operacjach tego typu w serji I blizna występuje w ciągu 24 godzin, tylko w 4 przypadkach blizna wystąpiła dopiero po 48 godzinach. Sama blizna swym wyglądem sprawia wrażenie nieregularnego poduszeczkowatego ściągnięcia, najczęściej obrzeżonego strzępkami, pozostałymi po operacji. Często już dzięki naciskowi noża obie strony pelikuli zostają zlepione z sobą i tak trwają w odkształceniu, ułatwiającem sformowanie się blizny.

Czopa regeneracyjnego, jako takiego, zaobserwować nie mogłem, aczkolwiek zgojenia i zlepienie pelikuli przy ranie, dzięki swojej nierówności i gruzełkowatości, tworzą pozory niezróżnicowanego czopa regeneracyjnego.

W tym typie operacji mamy do czynienia ze stosunkowo szybko zachodzącą regulacją kształtu, co zresztą może być uwarunkowane względnie małą szkodą, poniesioną przez osobnika. Operacja nie zakłóca ani funkcji wodniczkwów tętniących, ani peristomu w sposób, dający się zaobserwować pod mikroskopem, co najwyżej uszkadza części pewnych kanałów doprowadzających przedniego wodniczka i dlatego niewiele zostaje do naprawienia. Z całkowitą jednak regulacją kształtu mamy do czynienia rzadko. Między pierwotnikami normalnymi odrazu rzuca się w oczy pierwotniak operowany z przednią przyplaszczoną, a niejednokrotnie słabo wklęsłą częścią ciała.

Ostateczna regulacja kształtu, o ile zachodzi, występuje najdalej po 4—5 dniach od chwili operacji. Jeśli w tym terminie pierwotniak nie regulował, obserwujemy przerosty i hyperregenerację, prowadzącą do po-



Rys. 2.

wstawania potworności (rys. 2). W takich przypadkach wciąż wydłuża się część doranna, przesuując do przodu wodniczki tętniący i peristomy. Stopniowo zaokrągla się przód, a w ciągu 6 do 8 dni wciąż się powiększając przeobraża się w potężnie rozrosły, często wyginający się hakowato kształt, wewnątrz którego zjawiają się nowe wodniczki tętniące i nowe peristomy; według których określałem liczbę osobników uformowanych przez potwora. Lecz w miarę rozrastania się monstrum, liczba wodniczek bynajmniej nie staje się proporcjonalna, t. j. podwójna w stosunku do liczby peristomów, czasami bowiem jest ich mniej lub więcej. Również miejsce ułożenia wodniczek może być inne, niż w warunkach normalnych. Mimo to z tej przerosłej masy, odpowiadającej w moich doświadczeniach najwyżej 4—5 osobnikom, oddzielają się po 7—9 dniach pojedyncze zupełnie normalne wymoczki. Niestety ani razu nie uchwyciłem samego podziału potwora, ani też dostatecznie nie zbadałem stosunków jądrowych w większej liczbie osobników. W dwóch przypadkach, gdy potwora mogłem utrwalić w celu zbadania stosunków jądrowych, okazało się, że posiadając dwa peristomy i trzy wodniczki tętniące, zawierał jądro podwójne, natomiast w drugim przypadku taki sam potwór, ale z 4 wodniczkami tętniącymi, posiadał tylko jedno jądro, zupełnie wydłużone, jedynie rozszczepione pośrodku brózdą, mimo której obie oddzielone części znajdowały się w jednej wspólnej błonie jądrowej.

W miarę oddzielania osobników potomnych, potwór może przybrać rącz kształt monstrum podwójnego, albo oddzielić jednego osobnika, albo

może rozdzielać się na dwa zupełnie odrębne indywidua, z pozostawieniem jakiejś nieznacznej części niezróżnicowanej plazmy, której dalszych losów nie mogłem ustalić.

Osobniki, które zregulowały, ulegają podziałowi w ciągu 6 do 12 dni od chwili operacji. Mimo wszelkie zachody, pewna liczba osobników o zabliznionych nawet ranach umiera z niewiadomych powodów, zachowując aparat jądrowy w stanie zupełnie normalnym.

Ogółem, aczkolwiek pozornie prawie wszystkie osobniki (96%), po operacji tego typu zablizniają się i regulują, tylko około 40% wykształca się ostatecznie i dzieli, około 18% wykształca potwory, wszystkie inne giną; przypadków zaś wybitnie regeneracyjnych, związanych z formowaniem czopa regeneracyjnego i wyróżnicowaniem się zeń części utraconych, nie obserwowałem zupełnie.

W serji II blizna występuje również w ciągu 24 — 48 godzin w sposób analogiczny dla tegoż typu serji I. Poza tem cały charakter regulacji jest taki sam, jak w serji I. Nie zanotowałem natomiast ani jednej formy potwornej; prawdopodobnie potwory nie tworzą się prosto dlatego, że zostaje zahamowana zdolność podziałowa, więc w warunkach normalnych byłyby one raczej wynikiem niedoprowadzonych do końca podziałów, wskutek wstrząsu doznanego przez osobniki po operacji.

Jednak przyczyna powstawania potworów tylko w typie F operacji nie została przez to bynajmniej wyjaśniona.

Jakkolwiek w serji tej tylko 68% operowanych osobników tworzy bliznę, to jednak wszystkie one regulują kształt zewnętrzny i dzielą się. Warunki hodowli podglodowej wpływają dodatnio na zdolność regulacyjną pierwotników.

W serji III nie obserwowałem w żadnym przypadku czopa regeneracyjnego, zato regulacja kształtu, polegająca na zamykaniu się i zaożraglaniu rany w jej pierwotnej płaszczyźnie, często tuż przy wodniczku tętniącym, jest prawie powszechnem zjawiskiem. Czas kształtowania się postaci regulacyjnych, zwykle mniejszych od postaci pierwotnych, waha się w stosunkowo szerokich granicach: od 2 do 7 dni. Podziały, uwarunkowane do pewnego stopnia przez dodawanie pożywki sianowej, obserwujemy po 5—13 dniach od chwili operacji. Wyraźnej tendencji do formowania potworności niema. W zestawieniu z doświadczeniami poprzednich seryj, obok częstej regulacji, notujemy tylko 19% przypadków śmierci.

Operacje typu A.

Po operacjach tego typu, w serji I oddzielamy przednią część osobnika wraz z przednim wodniczkiem; część ta ginie w ciągu 5—30 minut, ruchy zaś pozostałego przy życiu osobnika są takie same, jak po operacji typu F. Tylko w pojedynczych przypadkach zaobserwowałem tworzenie się dorannego niekształtnego przyrostu niezróżnicowanej, ciemno zabarwionej plazmy. Zjawisko to w pewnej mierze mogłoby być potraktowane jako tendencja do hyperregeneracji, ale ponieważ dla tego typu operacji

naogół we wszystkich serjach doświadczeń nie zjawiają się formy potworne, nie można tych przypadków zaliczyć do tej kategorii. W tym typie zachodzi ściągnięcie części przyrannej bez widocznych zmian, co sprawia wrażenie, że przecięcie wogóle nie ulega zrośnięciu, lecz tylko pewnemu zakrzepnięciu dorannej części plazmy, uniemożliwiającemu wypłygnięcie plazmy nazewnątrz. W nielicznych zresztą przypadkach ściślego zamknięcia rany obserwujemy typową regulację bez widocznego przyrostu.

Zwykle po 3—4 dniach od operacji rana zaciska się zupełnie, formując ostatecznie rodzaj dziobka, którego zaostrome kontury stopniowo się zaokrąglają, aż wreszcie osobnik przybierze normalny kształt, ale jest mniejszy wyraźnie od osobnika przedoperacyjnego. Przedni wodniczek tętniący wytwarza się na nowo. Liczne skupienia ziarnistości, występujące w plazmie po operacji, rozpraszają się i znikają. Zczasem, po dodaniu pożywki, pierwotniak wypełnia się wodniczkami pokarmowymi, wreszcie dzieli na dwa osobniki, zazwyczaj nierówne. Większy powstaje z części nieuszkodzonej, mniejszy z części operowanej i jeszcze przed powtórny podziałem można rozpoznać różnicę rozmiarów obu osobników siostrzanych, która się zaciera ostatecznie dopiero w drugim lub w trzecim podziale. Regulacji całkowitej wielkości przedoperacyjnej w tym typie operacji nie obserwowałem zupełnie. Śmiertelność ogólna wynosiła 79%.

Pierwotniak w warunkach normalnych nie jest zdolny po tej operacji ani do regeneracji prawidłowej, ani do regulacji kształtu, a przynajmniej w opisanych dla tej serji warunkach ta zdolność regulacyjno-regeneracyjna jest ograniczona do minimum. Zaledwie 21% operowanych osobników zregulowało, gdy po operacjach typu F pewien stopień regulacji (blizna) wystąpił we wszystkich przeżywających osobnikach.

W serji II, po operacjach typu A regulacja kształtu, oraz regeneracja brakującego wodniczka tętniącego występuje częściej, niż w typie tym dla serji I. Procent śmiertelności jest także niższy, gdyż wynosi 43%.

Po operacjach tego typu dla serji III przednia część porusza się jakiś czas zupełnie normalnie, poczem ginie w ciągu kilku minut, ale w poszczególnych przypadkach przeżywa parę dni. Rana przekroju ulega konkrescencji w ciąg 24—48 godzin. Niektóre osobniki zamykają brzęgi rany rodzajem płaskiej przykrywki, słabo sfaldowanej i szerszej nieco od płaszczyzny lekko ściągniętego przekroju.

Z regulacją związane jest zawsze powstanie wodniczka tętniącego, który się zjawia z ukończeniem procesu regulacyjnego. Często, zanim to następuje, w części centralnej występuje wodniczek zastępczy, który mógł powstać z któregoś kanału doprowadzającego wodniczka usuniętego, albo z kanału wodniczka tylnego, czego nie mogłem ustalić z zupełną pewnością. Aczkolwiek można obserwować tętno wodniczka dodatkowego, przecież nie zawsze towarzyszy mu wylewanie się kanałów doprowadzających, właściwych wodniczkom normalnym, co byłoby także argumentem na rzecz wtórnego pochodzenia wodniczka tętniącego z kanału doprowadzającego. Wypada także wspomnieć, że często, już po zupełnem zregulowaniu, osobnik zachowuje wciąż wodniczek dodatkowy, znikający dopiero po podziale.

W sporadycznych przypadkach osobniki ranione tworzą podwójne wodniczki dodatkowe, z których przynajmniej jeden zachowuje się do podziału.

Czas gojenia się rany, występowania blizny, jej opóźnienie i związane z tem późniejsze dodanie pożywki lub nieodpowiedni dobór koncentracji mogłyby być powodem nierównomiernej regulacji, dzięki czemu w wyniku mamy do czynienia z osobnikami mniejszemi od przedoperacyjnych lub dorastającemi do pierwotnej wielkości. Chociaż naogół przebieg wszystkich procesów zostaje tu nieco zahamowany (blizna czasami po 3 dniach) przecież śmiertelność nie przekracza 30% przypadków, a więc znowu wyniki są lepsze, niż po analogicznych operacjach serji I, a nawet II.

Operacje typu C.

Dla typu C w serji I wykonałem 120 udanych operacyj i obie części rozciętego osobnika obserwowałem w tej samej kropli. Zresztą najczęściej jedna z nich ginie po kilkunastu minutach, wykazując po śmierci brak jądra wielkiego i małego, albo tylko części odciętego jądra wielkiego. We wszystkich przypadkach, po mniej lub więcej dokładnem ściągnięciu rany, bardzo długo nie następuje zasklepienie przerwanego otworu peristomu, którego rzeszki po operacji pracują nadal, jak przed operacją i przrzucają ziarenka tuszu, karminu, indygo w ten sposób, że osobnik przedni wyrzuca pobraną zawiesinę poza siebie, część zaś dolna peristomu osobnika tylnego nie może uporać się z poszczególnymi ziarenkami, które wirują tylko przed zranionym peristomem, nie mogąc przeniknąć do jego wnętrza. Zarówno więc tylny osobnik, jak przedni nie tworzą wodniczków pokarmowych.

W partjach przyranych obserwujemy najczęściej występowanie ziarnistości i zmętnienie plazmy obok słabych zarysów jądra, co jest niezawodnym zwiastunem śmierci, występującej w szerokim okresie czasu 2—9 dni po operacji.

We wszystkich przypadkach regulacji osobników, przeciętych po linii 3, podejrzewam, że sama operacja została wykonana w okresie przedpodziałowym, gdy jądro już się wydłużyło wstęgowato, chociaż bródka poprzeczna jeszcze się nie zarysowała. To przypuszczenie oparłem na materiale kontrolnym, z którego wynika, że w masie pierwotniaków utrwalonych prawie taki sam procent wykazuje jądra w stanie przedpodziałowym, jaki odpowiada nielicznym regulacjom typu C.

Operacja niejako przyspiesza oddzielanie się osobników siostrzanych, których regulacja z kolei wydłuża czas do nowego podziału, występującego w warunkach optymalnych dopiero po 48 i więcej godzinach.

We wszystkich przypadkach śmierci, mogłem po utrwaleniu i zabarwieniu materiału ustalić, że jądra w czasie operacji uległy uszkodzeniu, co z pewnością przyczyniło się do śmierci operowanych osobników. Występowanie zaś mikro w jednym tylko przeżywającym osobniku wyjaśnia do pewnego stopnia śmierć drugiego.

Ewentualna regulacja jest częściowa, gdyż osobnikom podobnie zregulowanym brak często wodniczka tętniącego, oraz nie są one zdolne do pobierania pokarmu, co w wyniku także może być powodem śmierci. Śmiertelność wyniosła 97%.

Zupełnie analogicznie zachowują się pierwotniaki serji II po operacjach tego typu, z tą zresztą różnicą, że regulacja nie zachodzi tu wogóle i śmiertelność obejmuje 100% operowanych wymoczków. W serji III obie oddzielone części osobnika natychmiast po operacji zachowują się jednakowo i poruszają normalnie. Rzęski ciała i peristomu pracują prawidłowo i energicznie. Po pewnym czasie (do 48 godzin) jedna część ginie; utrwalona nie wykazuje ani mikro, ani większej części makro. Ale i druga część ginie później, pomimo zabliznienia lub sklejenia rany. Tylko w dwóch przypadkach zanotowałem regulację jednej z odciętych części i skłonność do formowania odkształceń, stojącą w związku z jądrem przygotowanym do podziału.

Naogół jednak i w tej serji, podobnie jak w poprzednich, *Paramecium* rozcięty na dwoje, prócz zabliznienia rany około peristomu, nie jest w stanie ani zregulować, ani zregenerować i ginie w ciągu 3—13 dni od chwili operacji.

Operacje typu P.

Po operacjach tego typu w serji I tylna część odcięta ginie po kilku minutach, część pozostała zachowuje się tak samo, jak to już opisałem dla innych operacji. Rana przekroju ulega nietyle zamknięciu przez konkrescencję, jak widzieliśmy naogół w typie A, ile pewnemu spłaszczeniu i zalepia się gruzelkową blizną, plazma zaś obok zranienia ciemnieje, wskutek nagromadzenia ziarnistości, tworząc rodzaj stożkowatego czopa o rozszerzonej podstawie.

Regulacja tego typu jest zawsze związana z częściowem uformowaniem i wydłużeniem podobnego czopa. Wodniczek zjawia się później, zastępuje go często inny, utworzony z jednego kanału doprowadzającego. Czasami tworzą się nawet dwa wodniczki zastępcze, ale wyraźną pulsację mogłem zaobserwować tylko w jednym. Bardzo często jeden z wodniczków zastępczych pozostaje nawet po powstaniu wodniczka właściwego. W sporadycznych przypadkach zanotowałem tworzenie się nawet czterech wodniczków, z których jeden przynajmniej znika. Wskazywałoby to, jak się zdaje, na wielkie zapotrzebowanie wody i wzmożony metabolizm w czasie regulacji i regeneracji. Zresztą regeneracja dla tego typu operacji jest stosunkowo rzadkiem zjawiskiem. Znaczna śmiertelność w tej serji uzasadnia się możliwością uszkodzenia jądra i peristomu w czasie operacji, i chociaż wyniki liczbowe nie różnią się zbyt znacznie od wyników dla typu A, to jednak o ile w tym typie prawie zupełnie nie widzimy tendencji regeneracyjnej, a spotykamy się raczej z częściową regulacją kształtu, o tyle w typie P regeneracja, zachodząca rzadko, jest jednak niewątpliwa, zaś jej niewystępowanie należałoby przypisać trudności zadania odpowiedniego cięcia, przechodzącego dokładnie między dnem peristomu i wodniczkiem tętniącym, któreby jednocześnie nie uszkadzało jądra.

W każdym razie mamy tu na 27 przypadków 9 regeneracji związanych z różnicowaniem się nowych typowych rząsek kaudalnych, które dopiero w trakcie procesu regulacyjno-regeneracyjnego wykształcają się z nie-różnicowanej plazmy, formującej nieznaczny, zazwyczaj spłaszczony czop o charakterze wybitnie regeneracyjnym. Śmiertelność wyniosła 77%.

W serji II zachowanie się pierwotniaków po operacjach opisywanego typu jest takie same, jak w serji I. Natomiast po raz pierwszy dla serji II spotykamy tu przypadki kształtowania się bardzo charakterystycznej blizny z nieforemnego nagromadzenia ziarnistej plazmy, obok wzmoczonej tendencji regulacyjnej i jeszcze bardziej obniżonej śmiertelności (42%), chociaż ze względu na wydłużenie jądra zwiększa się możliwość uszkodzenia go przy operacji.

W serji III, po operacjach typu P, część odcięta ginie szybciej, niż w innych przypadkach tej serji. Rana przecięcia zamyka się rozmaicie, jednakże konkrescencji takiej, jak dla typu A, nie obserwowałem ani razu. Występowanie natomiast zabliznienia o charakterze nie-różnicowanego, zupełnie nieprawidłowo zarysowanego czopa jest stosunkowo bardzo częste. Ponieważ przez operację zostaje usunięty tylny wodniczka tętniący, zjawiają się wodniczki tego samego najprawdopodobniej pochodzenia, co w typach już omówionych. W porównaniu z typem A mamy tu do czynienia z stosunkowo większą ogólną śmiertelnością (43%) chociaż mniejszą, niż w analogicznym typie serji I. Wszystkie operowane osobniki regulują, co polega na wyrastaniu do tyłu części przyrannej w takim stopniu, że pierwotniaki prawie przywracają rozmiary przedoperacyjne, chociaż zupełne przywrócenie wielkości obserwujemy dopiero po drugim podziale.

Operacje typu Cd.

W serji I, po tym typie operacji, część odcięta ginie natychmiast, zaś osobniki ranione zachowują się normalnie. W większości przypadków rana zlepia się, zaś płaskie odkształcenie znika bardzo szybko. W poszczególnych przypadkach wykształca się rodzaj dziobkowatego czopa regeneracyjnego, lecz częściej regulacja kształtu, natychmiast po zabliznieniu, wyprzedza zaczętek czopa.

Początkowo nieforemne zamknięcie wykształca się bardzo szybko i zaokrąglą w koniec osobnika, nie wykazując żadnego przyrostu. Często występuje podział przed ostatecznym wykształceniem kaudalnej części pierwotniaka, wobec czego liczne osobniki dzielą się, mając wyraźnie tępy koniec, którego ostateczna regulacja następuje dopiero po podziale. Często jeszcze do następnego podziału możemy odróżnić osobnika powstałego z tylnej połowy pierwotniaka macierzystego. Po operacji tego typu, na 131 osobników uszkodzonych 114 uległo regulacji i regeneracji, a zaledwie 17 zginęło. Tylny więc koniec najłatwiej tworzy się na nowo, regenerując, jak już wspominałem, sztywne rząski kaudalne, które w czasie operacji zostały usunięte.

W serji II prawie wszystkie pierwotniaki regulują i regenerują tak samo, jak w serji poprzedniej. Procesy te różnią się jedynie tempem występowania, są bowiem opóźnione w porównaniu z procesami serji I.

W serji III wyniki operacji typu Cd są całkowicie zgodne z wynikami analogicznego typu serji II, jedynie podzielność tu jest opóźniona i waha się w granicach 4 - 11 dni. Regulacja zachodzi bardzo szybko i łatwo. Błizny wykształcają się w rodzaj czopów i występują w wielkiej liczbie osobników uszkodzonych. Charakter tych czopów jest wielce niezdecydowany, wskutek nierównomiernego zlepiania się brzegów rany.

Regulacja sprowadza się najczęściej do ściągnięcia brzegów rany tuż za tylnym wodniczkiem, a wówczas tył, zamiast regularnego cygarowatego kształtu, upodabnia się do rozszerzonej nieco stopki, tworzącej czasem gruzelkowate wypukliny, przypominające czopowaty stożek, a znikające dopiero po podziale.

Mamy tu na 43 udanych operacji tylko 2 przypadki śmierci, a z tych jeden jest wynikiem jakiejś niedokładności eksperymentalnej. W każdym razie mielibyśmy w tym typie przeszło 95% regulacji, a więc w granicach moich doświadczeń byłyby to wyniki optymalne.

Część ogólna.

Podane wyniki we wszystkich typach operacji i we wszystkich serjach zestawiam w tabelach I, II i III, które pozwalają na wysnucie niektórych wniosków ogólniejszych.

Chciałbym przede wszystkim bliżej zdefiniować pojęcia regulacji i regeneracji, którymi posługiwałem się w całej pracy.

Tabela I.

Zestawienie wyników w liczbach absolutnych.
Zusammenstellung der Ergebnisse in absoluten Zahlen.

Typ operacji <i>Operationstypus</i>	F			A			C			P			Cd		
	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III
Liczba osobników <i>Individuenzahl</i>	87	50	21	72	42	33	120	13	49	90	45	30	131	40	43
Błizna — <i>Narbe</i>	84	34	20	23	39	29	18	0	2	27	34	17	114	40	43
Regulują i dzielą się <i>Regulation und Teilung</i>	34	34	17	15	24	23	4	0	0	21	2	17	114	31	41
Potwory <i>Missbildungen</i>	16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Regulacja i śmierć <i>Regulation und Tod</i>	34	0	3	8	15	6	14	0	0	6	8	0	0	9	2
Giną bez regulacji <i>Sterben ohne Regulation</i>	3	0	1	49	3	4	102	13	47	63	11	13	17	0	0
Ogólnie umiera <i>Sterben insgesamt</i>	37	16	4	57	18	10	116	13	49	69	19	13	17	9	2

Tabela II.

Zestawienie wyników w procentach.
Zusammenstellung der Ergebnisse in Prozenten.

Typ operacji Operationstypus	F			A			C			P			Cd		
	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III
Zabliźnionych Narbenbildung bei	96	68	95	32	93	88	15	0	4	30	76	57	87	100	100
Regulują i dzielą się Regulation und Teilung	39	68	81	21	57	70	3	0	0	23	58	57	87	78	95
Potworności Missbildungen	18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Regulują i giną Regulation und Sterben	39	0	14	11	36	18	12	0	0	7	18	0	0	22	5
Giną bez regulacji Sterben ohne Regulation	4	32	5	68	7	12	85	100	100	70	24	43	13	0	0
Ogółem umierających Sterben insgesamt	43	32	19	79	43	30	97	100	100	77	42	43	13	22	5

Pod regulacją rozumiem szereg procesów poniekąd doraźnych, które zapobiegają szkodliwym skutkom dokonanej na pierwotniaku operacji, np. przez ściągnięcie się rany, przez zaokrąglenie części dorannej, przez utworzenie zastępczego wodniczka kurczliwego drogą lokalnego rozszerzenia jednego z kanałów doprowadzających i t. p. Procesy te umożliwiają pierwotniakowi przeżywanie i funkcjonowanie przez czas pewien, nie prowadzą jednak do odtworzenia kształtów i struktur przedoperacyjnych. Natomiast regeneracja wiąże się z powstaniem charakterystycz-

Tabela III.

Zestawienie osobników regulujących i przeżywających.
Die Gesamtsummen der überlebenden und der regulierenden Tiere.

Typ operacji Operationstypus	Liczba osobników Individuenzahl	Regulują—Regulieren		Przeżywają—Überleben	
		Liczba Zahl	%	Liczba Zahl	%
F	158	138	87	101	64
A	147	91	62	62	42
C	182	20	11	4	2
P	165	78	47	64	39
Cd	214	197	92	186	87
Serja	I	500	266	53	41
Serie	II	190	147	77	61
	III	176	111	63	56

nego czopa lub stożka regeneracyjnego oraz z wyróżnieniem na nowo brakujących części morfologicznych, jak rzęski kaudalne, wyróżniające się swoją strukturą, całego skomplikowanego i specyficznego w swej budowie aparatu wydalniczego i t. d.

Pod względem występowania prawdziwych procesów regeneracyjnych poszczególne okolice ciała *Paramaecium* wykazują znaczne różnice. Procesy te obserwowałem tylko w typach operacyjnych P i Cd. Wprawdzie przód ciała wymoczka mało nadaje się do stwierdzenia zachodzącej regeneracji, ze względu na jednostajny charakter rzęsek, jednak niewystępowanie typowego czopa po operacjach typów F, A i C pozwala wnosić, iż zdolność regeneracyjna przednich części ciała jest niższa, niż tylnych.

Przemawiają za tem stosunki liczbowe, zestawione w tabeli III. W typie Cd mamy dla wszystkich seryj 87% osobników przeżywających, w typie F zaś tylko 64%, procesy regulacyjne zaszły u 92% wymoczków typu Cd, ale u 87% typu F. Stopień uszkodzenia komórki w obu typach operacyjnych jest objętościowo ten sam, w obu przypadkach jądro pozostaje nietknięte, podobnie jak peristom. Jedynie niektóre kanały doprowadzające zostają uszkodzone, jednakże znowuż w tym samym stopniu w obu przypadkach, a ponadto nie mogą one decydować o różnicy wyników, ze względu na swoją znaną plastyczność (DAY, SZYMKIEWICZ). Niejednakowe wyniki operacji musimy więc przypisać lokalnym właściwościom protoplazmy wymoczka w obu punktach, co się zresztą zgadza z badaniami CHILDA, który stwierdził u *Paramaecium* żywszą przemianę materji w czołowej części wymoczka. Dodam, że tylko po operacjach typu F obserwowałem nieprawidłowe zahamowanie podziałów, prowadzące w następstwie do powstawania potworności i tworów wielokrotnych. Zgadza się to wreszcie z wynikami PEBBLES, która ogólnie stwierdza dla części przedniej *Paramaecium* 34% regulacyj, dla tylnej zaś 64%, nie uwzględnia jednak dokładnie miejsca dokonanego cięcia. Nie ulega zatem wątpliwości, że potencje regulacyjno-regeneracyjne przodu ciała *Paramaecium* są niższe, niż tyłu.

Równie niewątpliwa jest dla wszystkich seryj operacyjnych nader słaba zdolność regulacyjno-regeneracyjna w typie C. W operacjach tych rozcinano pierwotniaka na połowy. Jak wykazała analiza materiału utrwalonego i zabarwionego, w serji I możliwe

są niekiedy cięcia, nie uszkadzające wcale jądra, jednak należą one do wyjątków, a w serjach II i III, gdzie mamy do czynienia ze znacznym przerostem jądra, uszkodzenie go jest nieuniknione. Ale nawet w serji I nieliczne regulacje w typie C zachodzą, jak przypuszczam, tylko wtedy, gdy aparat jądrowy znajduje się już w stadium przygotowawczem do podziału. Zresztą sam proces zablizniania posuwa się tu opornie, a nawet w kilka dni po operacji pozostaje zwykle szpara niezabliznionego peristomu. Rzęski peristomalne pracują jednak intensywnie, przy czem część przednia chwyta ziarenka podawanej zawiesiny tuszu, karminu lub indyga i przerzuca przez niezablizniony otwór peristomalny, zamykający się nader powoli. Peristom zaś tylnego odcinka, pomimo nieustającej pracy rzęsek wpustowych, nie jest w stanie tworzyć prawidłowych wodniczków pokarmowych, jakkolwiek od czasu do czasu pojedyncze ziarenka przesuwają się do dna wpustowego i zostają pochłonięte.

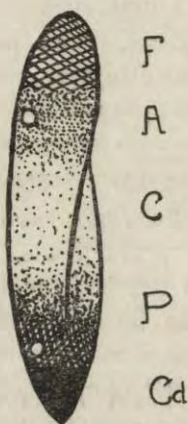
Mimo wszystko i dla tego typu operacji spotkałem się w serji I ze zjawiskami regulacji odcinka, zawierającego całkowity aparat jądrowy. Po regulacji tego typu powstają osobniki bardzo małe, które jeszcze po dwóch kolejnych podziałach niecałkowicie powracają do przedoperacyjnych wymiarów *Paramaecium*. W serjach II i III jednak regulacji nie było nigdy.

Co się tyczy typów operacyjnych A i P, to zdolność regulacyjno-regeneracyjna ma tu natężenie pośrednie. Jednakże w typie A nigdy nie obserwowałem prawdziwej regeneracji, jaka występuje niekiedy w typie P.

Na zasadzie tych danych można wyróżnić w ciele *Paramaecium* kilka stref o różnym stopniu zdolności regulacyjnych i regeneracyjnych, uwidoczniionych schematycznie na rys. 3. Potencje regeneracyjne maleją w porządku: $Cd > P > F > A > C$.

Prócz typu operacji ważną rolę odgrywają warunki, w jakich zachodzą procesy regulacyjne i regeneracyjne. W trzech serjach doświadczalnych wymoczki znajdowały się pod wpływem bardzo różnych warunków, gdyż w serji I miały optymalne warunki zwykłej hodowli, w serji II były głodzone, zaś w serji III znajdowały się w środowisku zakwaszonym. Wynik działania tych warunków unaocniają trzy ostatnie rzędy poziome tabeli III. We wszystkich typach operacji serja I wykazuje większą śmiertelność i mniejszy procent regulujących osobników, niż serje II i III.

Sztuczne warunki doświadczalne, zastosowane w tych dwóch serjach, powodują z pewnością zmiany stanu koloidalnego protoplazmy, zwłaszcza w serji III doprowadzają do znacznego jej zgęstnienia (HERWERDEN), a jednocześnie pociągają za sobą wybitny przerost jądra, zmieniając całkowicie normalny stosunek plazmojądrowy. Być może właśnie ta ostatnia okoliczność wywiera wpływ decydujący, wiemy bowiem z licznych prac regeneracyjnych, iż jądro bierze wybitny udział w procesie regeneracji, a zatem przerost jego nie może nie wpłynąć na te zjawiska.



Rys. 3.

Dotąd nie spotykamy w literaturze prac, któreby zajmowały się sprawą zależności procesów regulacyjno-regeneracyjnych pierwotniaków od warunków zewnętrznych, a i w ogólnej literaturze regeneracyjnej dane tego typu są bardzo skąpe. Wyniki moje są tylko drobnym przyczynkiem, dotyczą wpływu dwóch dość przypadkowo dobranych czynników: głodu i kwasowości środowiska. Nie mniej wskazują one, iż u tak typowego „nie-regeneratora” jak *Paramecium*, możliwe jest eksperymentalne wpłynięcie na stopień zdolności regeneracyjnej. Uwzględnienie szeregu innych czynników oraz dokładne dobranie ich natężenia może przyczynić się wybitnie do zwiększenia tej zdolności, a zarazem poznania przyczyn, powodujących tak nierównomierny jej stopień w państwie zwierzęcem.

Streszczenie wyników.

1°. Zdolność regulacyjno-regeneracyjna *Paramecium caudatum* w pewnej mierze jest zależna od warunków zewnętrznych.

2°. W normalnej hodowli indywidualnej, w dostatecznych ilościach pożywki sianowej zdolności te są bardzo ograniczone.

3°. Pierwotniaki, hodowane w środowiskach pozbawionych pokarmu i uszkodzone w tych środowiskach wykazują zwiększoną zdolność regulacyjno-regeneracyjną.

4°. Odpowiednio, hodowane w środowiskach zakwaszonych (pH 5.5—6.0) i ranione w tych środowiskach, po stopniowym podniesieniu pH okazują wzmożoną zdolność regulacyjno-regeneracyjną, obejmującą w poszczególnych przypadkach 95% uszkodzonych osobników.

5°. Ciało pierwotniaka możemy podzielić na strefy o różnej potencji regulacyjno-regeneracyjnej.

6°. Najlepiej regulują i regenerują osobniki z usuniętą częścią kaudalną, najgorzej przecięte przez środek ciała.

7°. Występowanie potworności jest ściśle związane z charakterem i miejscem nacięcia. Tworzą potwory osobniki z odciętą częścią przednią i nienaruszonymi wodniczkami tętniącymi.

8°. Należy odróżniać zjawiska regulacji, charakteryzujące się odrostem i stopniem przywracania kształtu wraz z wielkością, od zjawisk regeneracji, związanych z mniej lub więcej uformowanym czopem regeneracyjnym oraz z odradzaniem usuniętych jednostek morfologicznych.

9°. Osobniki regenerujące naogół przed podziałem osiągają już normalną wielkość przedoperacyjną, regulujące zaś, w krańcowym przypadku, dopiero po kilku podziałach wracają do normalnych rozmiarów.

10°. Wszystkie osobniki regenerujące tworzą na nowo brakujące rzęski i wodniczki tętniące, których liczba może być większa, niż przed operacją.

11°. Regeneracja wodniczków tętniących może być związana z przemianą w wodniczek jednego z kanałów doprowadzających.

12°. Ze wszystkich organelów *Paramecium* peristom najtrudniej ulega zablźnieniu, co w pewnej mierze, oprócz uszkodzenia jądra, może być przyczyną zahamowanej regeneracji i regulacji osobników przeciętych na połowy.

P i ś m i e n n i c t w o .

Bodin J. H. 1921. Hydrogen ion concentration of Protozoan cultures. Biol. Bull. **41** (73). **Brown V. E.** 1930. The neuromotor system of *Paramecium*. Arch. de Zool. Expér. et Génér. **70** (469). **Calkins G. N.** 1911. Effects produced by cutting *Paramecium* cells. Biol. Bull. **21** (36). **Chejfec M.** 1929. Die Lebensdauer von *Paramecium caudatum* in Abhängigkeit von der Nahrungsmenge. Acta Biol. Experimentalis. **4** (73). **Child and Deviney E.** 1926. Physiology of *Paramecium*. Journ. of Exper. Zool. **43** (257). **Darby H. H.** 1930. The experimental production of life cycles in Ciliates. Journ. of Exper. Biol. **7** (132). **Day H. C.** 1930. Studies on the contractile vacuole in *Spirostomum* and *Paramecium*. Physiol. Zool. **3** (56). **Fine M. S.** 1912. Chemical properties of hay infusion with reference to acidity and its relation to Protozoan sequence. Journ. of Exper. Zool. **12** (265). **Hance R. T.** 1917. Studies on a race of *Paramecium* possessing extra contractile vacuoles. Journ. of Exper. Zool. **28** (287). **Herwerden M. A.** 1926. Umkehrbare Gelbildung und Fixation. Nedrlandsch tidschr. V. Geneesk Jg. **70** (145). Umkehrbare Gelbildung und Gewebsfixation. Verslag d. afdeel natuurkunde Kenikl. v. wetensch Amsterdam. **35** (574), Protoplasma. **1** (366). **Haye A.** 1930. Über den Excretionsapparat bei Protisten nebst Bemerkungen über einige andere feinere Strukturverhältnisse der untersuchten Arten. Arch. Protistenk **70** (13). **Howland R. B.** 1930. Micrurgical studies on the contractile vacuole. The pH of the vacuolar fluid in *Actinosphaerium Eichhorni*. Journ. of Exper. Zool. **55** (53). **Jones E. P.** 1930. Hydrogen ion changes in hay and hay-flour-infusion. Biol. Bull. **59** (275). **Johnson W. H.** 1929. The reaction of *Paramecium* to solution of known hydrogen ion concentration. Biol. Bull. **57** (199). **Korentschewsky W.** 1902. Vergleichende pharmakologische Untersuchungen über die Wirkung von Giften auf einzelligen Organismen. Arch. f. Exper. Pathol. u. Pharmakol. **49** (Heft1). **Peebles F.** 1912. Regeneration in *Paramecium caudatum*. Science **35** (470). Regeneration and Regulation in *Paramecium caudatum*. Biol. Bull. **23** (154). **Rees H. W.** 1922. Neuromotor apparatus of *Paramecium*. Univ. of Calif Zool **20** (333). **Sokoloff.** 1923. Hunger und Regeneration. Royal microsc. Soc. London.

[Zakład Fizjologii Instytutu im. Nenckiego T. N. W. i Stacja Zoologiczna w Neapolu].

K. Białaszewicz.

O oznaczaniu objętości fazy rozdrobnionej w komórkach żyjących.

Sur la détermination du volume de la phase dispersée dans les cellules vivantes.

Rękopis nadesłany w dniu 25.III.1932 r.

Le problème de la relation existant entre le volume de la cellule vivante et la pression osmotique du milieu était l'objet de nombreuses recherches. D'après les recherches d'Hamburger ('98, '01), il existe une proportionnalité inverse entre le volume de la phase aqueuse de la cellule et la pression osmotique du milieu ambiant. Sur ce fait était basée la méthode de la détermination, du volume des substances dispersées dans les érythrocytes. Les recherches ultérieurs (Koeppel '00, Ege '22, '27, Fauré-Fremiet '24, Gough '24, Mc. Cutcheon, Lucké et Hartline '31) ayant aussi principalement trait aux globules rouges, en confirmant en principe les constatations d'Hamburger, n'ont pas donné de résultats concordants en ce qui concerne l'application de sa méthode pour la détermination quantitative de la phase dispersée.

Les recherches présentées dans ce travail avaient pour but d'établir l'exactitude de cette méthode, basée sur les variations du volume des oeufs dans les solutions anisotoniques, ainsi que de déterminer les limites de la pression osmotique dans lesquelles le principe d'Hamburger peut être appliqué par rapport aux cellules-oeufs.

Comme objet des expériences on a pris des oeufs non fécondés des Invertébrés marins suivants: *Phallusia mamillata*, *Para-*

centrotus lividus, *Arbacia pustulosa*, *Echinus microtuberculatus*, *Parechinus milliaris*. Les expériences étaient exécutées comme suit: on immergeait les oeufs pour 20 à 60 minutes dans de l'eau de mer artificielle (préparée d'après Herbst '04) à concentration choisie et on en mesurait les diamètres au moyen d'un oculaire micrométrique. La pression osmotique de l'eau de mer était mesurée par la méthode cryoscopique, au moyen de l'appareil de Deckhuyzen. Les données numériques des tableaux I—VI présentent les volumes des oeufs et la pression osmotique des solutions employées, les deux valeurs étant exprimées en pourcentages de celles trouvées dans l'eau mer à concentration normale.

Nos expériences ont établi en premier lieu que le produit du volume de la phase aqueuse de la cellule et de la pression osmotique du milieu ambiant présente — dans les solutions hypertoniques ne dépassant pas le double de la concentration de l'eau de mer normale — une valeur constante et caractéristique pour chaque espèce d'oeufs. La conformité des valeurs exprimant les volumes cellulaires mesurés et calculés d'après la formule respective (v. p. 138) est tout à fait satisfaisante (fig. 1 et 2).

Le fait établi ci-dessus démontre que la résistance mécanique des couches superficielles des oeufs examinés est insignifiante par rapport aux forces osmotiques des solutions hypertoniques. Il prouve aussi que l'action de l'eau de mer concentrée jusqu'au double ne modifie pas la sémi-perméabilité de la membrane plasmatique de l'oeuf à condition que cette action soit de courte durée; elle ne modifie non plus l'absorption de l'eau par les colloïdes cellulaires.

Les variations du volume des oeufs dans l'eau de mer hypertonique ont permis de calculer le volume de la phase dispersée du plasma ovulaire. Les résultats de ce calcul ont donné des valeurs suffisamment concordantes: pour les oeufs de *Paracentrotus lividus* elles comportent 25.1—27.0 vol. p. cent. (v. tabl. II, III), pour ceux d'*Arbacia pustulosa* (tabl. IV) — 36.4, de *Phallusia mammillata* (tabl. V) — 19.3 et d'*Echinus microtuberculatus* — 22.6 (tabl. VI).

Dans l'eau de mer hypotonique les oeufs absorbent de l'eau en quantité plus grande que celle calculée d'après l'équation indiquée plus haut. On peut supposer que dans ces conditions les colloïdes plasmatiques se gonflent par suite de la dilution des

électrolytes dans le liquide intermicellaire de la cellule. Ainsi donc les solutions hipotoniques ne se prêtent pas à la détermination du volume de la phase colloïdale d'après le principe d'H a m b u r g e r.

W dziedzinie fizjologii zwierząt autorem, który poraz pierwszy zajął się sprawą zależności między objętością komórki żyjącej a ciśnieniem osmotycznym jej środowiska, był H a m b u r g e r ('98). Autor ten stwierdził brak odwrotnej proporcjonalności między objętością czerwonych ciałek krwi, mierzoną za pomocą hematokrytu, a ciśnieniem osmotycznym roztworów soli i glikozy, w których te ciała były zawieszone. Fakt ten nasunął autorowi przypuszczenie, że w krwinkach znajdują się substancje, tworzące przestrzeń martwą („sztywny zrąb protoplazmatyczny”, białka i t. p.), których objętość w płynach anizotonicznych zupełnie nie ulega zmianie, powodując w zachowaniu się objętości całej komórki rzekome odchylenie od prawa v a n ' t H o f f a — B o y l e ' a — M a r i o t t e ' a. Obliczenia objętości zajętej przez te substancje, wynoszącej według rachunku 53,6—55% objętości krwinek, dały zgodność wystarczającą między teoretycznymi i znalezionymi w pomiarach objętościami całych krwinek, znajdujących się w roztworach o różnym ciśnieniu osmotycznym.

Wyniki, otrzymane przez H a m b u r g e r a, spotkały się z krytyką K o e p p e ' g o ('00), który zgodność powyższego założenia z rezultatami pomiarów uważał za przypadkową, twierdząc, iż — pomijając nieścisłość samych pomiarów hematokrytowych — niepodobna ocenić stopnia działania szeregu czynników, wpływających na ostateczną objętość komórki w płynach anizotonicznych. Z pośród tych czynników K o e p p e wysuwa znaczenie dysocjacji elektrolitów wewnątrz komórki, wpływ sprężystości błony komórkowej oraz zmian, jakim ulega pod wpływem zabiegów eksperymentalnych jej przepuszczalność względem elektrolitów.

Znacznym posunięciem naprzód interesującej nas tutaj sprawy były badania E g e ' g o ('22), przeprowadzone również na krwinkach. Wychodząc z założenia H a m b u r g e r a, że nie objętość całej komórki, lecz objętość fazy wodnej w komórce (t. j. różnica między znaną objętością komórki a nieznaną objętością jej fazy koloidalnej) jest odwrotnie proporcjonalna do ciśnienia osmotycznego środowiska, autor ten stwierdził zgodność między objętością fazy koloidalnej w czerwonych ciałkach krwi, obliczoną ze wzoru H a m b u r g e r a, a objętością tej fazy, znalezioną na podstawie pomiarów krjoskopowych w miążdze z krwinek, wykonanych przed i po

dodaniu określonej ilości nieadsorbującego się przez białka komórkowe cukru gronowego.

Następnie sprawą tą zajmował się Gough ('24), który również posługując się zasadą Hamburgera ocenia objętość fazy rozdrobnionej w krwinkach na 65—75%, t. j. wartość, zbliżoną do znalezionej przez Hamburgera (54—55%), znacznie jednak odbiegającą od wyników, otrzymanych poprzednio przez Egge'go (ca. 33% objętości krwinki). Niezgodność tych wyników w porównaniu ze swojemi Egge ('27) w późniejszej publikacji objaśnia błędem pomiaru objętości krwinek w płynach hipertonicznych, wynikającym z niezupełnej ich sedymentacji w czasie wirowania.

Wreszcie — należy tutaj wymienić publikację Mc. Cutcheona, Lucké'ego i Hartline'a ('31) nad właściwościami osmotycznymi jaj *Arbacia pustulosa*, w której autorowie ci, mierząc objętość jaj w wodzie morskiej o różnym rozcieńczeniu i posługując się również wzorem Hamburgera, stwierdzili, że jeśli się uwzględni ilość osmotycznie nieczynnych substancyj, które zajmują od 7 do 14% objętości komórki — to ilaraz z objętości fazy wodnej i ciśnienia osmotycznego jest wielkością w przybliżeniu stałą.

Zadanie niniejszych poszukiwań polegało na stwierdzeniu stosowalności zasady Hamburgera do komórek jajowych oraz na ustaleniu stopnia dokładności metody oznaczania ilości substancyj rozdrobnionych, opartej na zachowaniu się objętości tych komórek w roztworach anizotonicznych. Nie potrzeba podkreślać, iż możliwość mierzenia przestrzeni, jaką zajmują w żywej komórce te substancje, ułatwiłaby wyjaśnienie wielu zagadnień, związanych ze zmianami w rozmieszczeniu składników protoplazmatycznych, zachodzącymi pod wpływem zmian funkcjonalnych komórki.

M e t o d a.

Badania niniejsze przeprowadzono na niezapłodnionych jajach następujących gatunków morskich zwierząt bezkręgowych: *Phallusia mamillata*, *Paracentrotus lividus*, *Arbacia pustulosa*, *Echinus microtuberculatus* i *Parechinus milliaris*.

Zasada postępowania polegała na mierzeniu objętości, jaką przybierają ostatecznie komórki jajowe, przeniesione do roztworów wody morskiej o różnym ciśnieniu osmotycznym. Objętość fazy rozdrobnionej obliczano ze wzoru Hamburgera:

$$x = \frac{p_0 v_0 - p_1 v_1}{p_0 - p_1}, \quad (1)$$

z którego, znając objętość jaja w wodzie morskiej o normalnym stężeniu soli (v_0), ciśnienie osmotyczne tego roztworu (p_0), zmienioną objętość jaja w anizotonicznych stężeniach wody morskiej (v_1) oraz wartość ciśnienia osmotycznego tych roztworów (p_1), można obliczyć z szeregu pomiarów średnią bezwzględną objętość, jaką zajmują w komórkach jajowych substancje rozdrobnione (x). Wyrażając za p_1 i v_1 w odsetkach p_0 i p_0 , możemy obliczyć x wprost w procentach objętości komórki.

Szczegóły postępowania były następujące:

Do każdej serii pomiarów używano jaj dojrzałych, dających się zapłodnić, i pochodzących od jednej samicy. Po wyjęciu z jajnika przemywano je kilkakrotnie zwykłą wodą morską, biorąc do doświadczenia tylko tę porcję jaj, która po skłóceniu opadała na dno naczynia ze średnią prędkością: w ten sposób zyskiwano do pomiarów materiał możliwie jednolity pod względem wielkości jaj. Ostatnie przemywanie uskutecziano sztuczną wodą morską o normalnym stężeniu i pozostawiano na przeciąg 1—2 godz. w tym celu, aby jaja przybrały postać najbardziej zbliżoną do kulistej. Po upływie tego czasu część jaj przenoszono wraz z kilkoma kroplami na szkiełko przedmiotowe, posiadające wgłębienie, pokrywano szkiełkiem pokrywkowym, brzegi jego oblewano parafiną płynną, i na pewnej liczbie jaj, leżących bliżej środka wgłębienia, wykonywano pod mikroskopem pomiary wielkości osi. Pozostałe jaja wraz z możliwie małą ilością wody przenoszono następnie do szeregu krystalizatorów, napełnionych poprzednio jednakową objętością (ca. 20 cm³) roztworów sztucznej wody morskiej o różnym stężeniu (od 50 do 300% normalnego stężenia). Zawartość krystalizatorów dokładnie mieszano przez pewien czas pałeczką szklaną, biorąc jaja do pomiarów mikrometrycznych, uskutecznianych w wyżej podany sposób, dopiero po upływie przynajmniej 20 min.: jak stwierdziliśmy, jest to czas minimalny, niezbędny do osiągnięcia zupełnej równowagi osmotycznej między komórką jajową a jej zmienionym środowiskiem.

W celu zachowania stałego składu mineralnego i stężenia jonów wodorowych (pH = ca. 8) w roztworach doświadczalnych, przygotowano je przez odpowiednie rozcieńczenie stężonego roztworu zasadniczego, zawierającego sole w stosunku, w jakim znajdują się one w normalnej wodzie morskiej.

Roztwór ten przygotowano według przepisu Herbsta ('04) dla sztucznej wody morskiej, biorąc odpowiednią wielokrotność wszystkich wchodzących w jej skład soli, z wyjątkiem jedynie NaHCO₃, który brano w ilości, podanej dla stężenia normalnego. Jako roztworem rozcieńczającym posługiwano się 0.05 lub 0.1% dwuwęglanu sodowego, w zależności od tego czy roztwór zasadniczy był roztworem podwójnie, czy potrójnie stężonym: w większości doświadczeń używano roztworu zasadniczego podwójnie stężonego.

Wartość ciśnienia osmotycznego (p) roztworów doświadczalnych oznaczano krjoskopowo, wyrażając ją w stopniu obniżenia punktu zamrażania.

Pomiary jaj wykonywano pod możliwie dużym powiększeniem (obiektywy Leitz'a Nr. Nr. 3, 4, 5) z pomocą śrubowego okularu mikro-

metrycznego (Leitza), mierząc dwie najbardziej różniące się wielkością prostopadłe do siebie osie równikowe jaja. Objętość poszczególnych jaj obliczano według wzoru dla elipsoidu obrotowego i wyrażano ją bądź w mm³, bądź też w procentach objętości jaj, znajdujących się w wodzie morskiej o normalnem stężeniu soli. W doświadczeniach, w których wykonywano pomiary nie na jednej komórce jajowej, przenoszonej kolejno do różnych roztworów, lecz na większej ilości jaj z każdego roztworu, średnią objętość jaja wyprowadzono z obliczonych objętości wszystkich jaj mierzonych z każdej serji, charakteryzując tę wartość przeciętną wielkością błędu średniego.

Wyniki doświadczeń.

Wyniki naszych doświadczeń zostały przedstawione w tab. I—VI, w których zarówno punkty obniżenia zamarzania roztworów (p), jak i objętości jaj (v) wyrażono w procentach wartości, jakie one posiadają w wodzie morskiej o normalnem stężeniu ($\Delta = 1.26^\circ$), z podaniem ponadto normalnej objętości badanych jaj w jednostkach bezwzględnych (mm³). W doświadczeniach, w których wykonywano pomiary na większej liczbie jaj w każdym roztworze, przeciętną objętość jaj charakteryzowano wielkością błędu średniego.

Celem stwierdzenia stopnia zgodności wyników pomiarów z teoretycznemi założeniami równania (1) w następnej kolumnie tabel podano objętości jaj obliczone ze wzoru:

$$v = \frac{K}{p} + x$$

Procentową objętość fazy rozdrobnionej w komórce (x) wprowadzano jako średnią ze wszystkich kombinacyj rachunkowych pomiarów, dokonanych w roztworach jedynie izo- i hipertonicznych; również i w obliczeniu stałej równania (K) nie brano zupełnie pod uwagę pomiarów, wykonanych w roztworach hipotonicznych.

Powyższy sposób obliczania objętości teoretycznej jaj oraz średniej zawartości fazy rozdrobnionej usprawiedliwiają podane poniżej wyniki naszych poszukiwań.

Już pierwsze doświadczenia ujawniły fakt swoistego i zgoła odmiennego zachowania się jaj w roztworach, posiadających mniejsze od normalnego ciśnienie osmotyczne. Okazało się, że gdy

w roztworach hipertonicznych — zgodnie z badaniami poprzednich autorów nad czerwonymi ciałkami krwi — objętość komórek jajowych zachowuje się w ten sposób, jakgdyby istniała w nich przestrzeń, nie ulegająca zmianom pod wpływem zwiększonego ciśnienia osmotycznego, to w płynach hipotonicznych komórki te zwiększają swą objętość tak, jak gdyby ta przestrzeń ulegała, w miarę rozcieńczenia roztworu, stopniowej redukcji. W roztworach o znacznym rozcieńczeniu (przekraczającym 50% zawartości soli) objętość jaj może wzrastać w stopniu nawet znacznie większym od tego, jakiego należałoby oczekiwać w przypadku, gdyby posiadały właściwości komórek Traubego i nie zawierały substancji koloidalnych.

Tabela I.

Objętość jaj *Parechinus milliaris* w trzech stężeniach wody morskiej.
Doświadczenie VIII (4.VIII.1925).

Volume des oeufs de Parechinus milliaris dans trois concentrations d'eau de mer.

Nr. pomiaru <i>Nr. d'observation</i>	Ciśnienie osmotyczne roztworu <i>Pression osmotique de la solution</i> (1.96°Δ = 100) <i>p</i>	Objętość jaja <i>Volume de l'oeuf</i> (149.4 × 10 ⁻⁴ mm ³ = 100) <i>n = 10</i> <i>v</i>	<i>pv</i>
1	50	202.8 ± 4.0	10281
2	100	100.0 ± 1.2	10000
3	200	67.4 ± 1.2	13480

Tak np. w jednym z doświadczeń orientacyjnych, przeprowadzonych na jajach *Parechinus milliaris* (tab. I), stwierdzono, że gdy po przeniesieniu do dwukrotnie stężonej wody morskiej ($p = 200$) objętość ich uległa zmniejszeniu zaledwie do 67.4% (zamiast do 50% w razie nieobecności fazy rozdrobnionej), to jaja umieszczone w wodzie morskiej rozcieńczonej do połowy ($p = 50$) zwiększyły swą objętość do 202.8%, t. j. więcej niż dwukrotnie.

Zjawisko to, mające swe źródło w nadmiernym, pobieraniu wody z roztworów hipotonicznych, występuje — jak to wykazały dokładnie i szczegółowo przeprowadzone doświadczenia — u wszystkich badanych przez nas jaj (tab. II, IV, V i VI). Polega ono prawdopodobnie na tem, że wskutek zmniejszenia się stężenia elektrolitów w komórce następuje wiązanie wody przez koloi-

dy, stanowiące fazę rozdrobnioną protoplazmy. W zjawisku zatem pobierania wody przez całą komórkę biorą udział nietylko procesy osmotyczne, zależne od stężenia krystaloidów w cieczy międzycząstkowej protoplazmy, ale również umiejscowione w fazie dyspersyjnej zjawiska pęcznienia składników koloidalnych protoplazmy. Zależnie od intensywności wiązania wody przez koloidy, objętość komórki w roztworach rozcieńczonych może wzrastać, jak już wspomnieliśmy, ponad wartość, przewidzianą przez prawo *van't Hoffa* — *Boile'a* — *Mariotte'a* dla układów osmotycznych, wypełnionych roztworem jednorodnym.

Ilość wody, przedostającej się do komórki w roztworach hipotonicznych, zależy bezwątpienia nietylko od stopnia rozcieńczenia cieczy międzycząstkowej protoplazmy, ale również od swoistych zdolności wiązania wody przez substancje koloidalne. W tabelach naszych wyrazem stopnia wiązania wody przez fazę rozdrobnioną jest wielkość dodatnich odchyłeń objętości, stwierdzonych w pomiarach, od objętości obliczonych na podstawie zachowania się jaj w roztworach hipertonicznych. Z odnośnych tabel i rys. 1 w samej rzeczy wynika, że stopień odchylenia punktów eksperymentalnych od krzywej teoretycznej wzrasta wraz z rozcieńczeniem wody morskiej (tab. IV, *Arbacia pustulosa*) i że następnie (tab. II i VI)—ilości wody tą drogą pobierane przez różne komórki jajowe (*Paracentrotus lividus*, *Echinus microtuberculatus*), zawierające zbliżoną ilość substancyj rozdrobnionych (25.1 i 22.6%) i znajdujące się w jednakowym rozcieńczeniu ($p = 80.6\%$), mogą znacznie różnić się od siebie.

Opisane zachowanie się jaj w roztworach hipotonicznych rzuca ciekawe bez wątpienia światło na właściwości składników koloidalnych komórki jajowej, które prawdopodobnie są specjalnie wrażliwe na rozcieńczenie elektrolitów w cieczy międzycząstkowej jej protoplazmy. Ostatnio przeprowadzone badania przez *Kamadę* i *Jamamoto* ('31) nad wpływem roztworów anizotonicznych na wielkość jaj pierścienicy *Ceratocephale osawai* dowodzą, że opisane przez nas zjawisko nie jest odosobnione: autorowie ci na zasadzie licznych pomiarów i obliczeń stwierdzili również, że im bardziej środowisko otaczające jest rozcieńczone, tem więcej wzrasta skutek wiązania wody przestrzeń, zajęta w komórce jajowej przez substancje rozdrobnione.

Powyższe właściwość substancyj rozdrobnionych ooplazmy,

silnie adsorbujących wodę w roztworach rozcieńczonych, wyłącza stosowanie roztworów hipotonicznych w oznaczeniach objętości fazy rozdrobnionej według zasady Hamburgera. Zasada ta bowiem przyjmuje stałość wartości x i jej niezależność od stężenia ciał osmotycznie czynnych w środowisku.

Zachodzi pytanie, czy i w jakim stopniu warunek ten zostaje spełniony w roztworach hipertonicznych, czyli — idzie o stwierdzenie, czy zwiększenie stężenia ciał osmotycznie czynnych w komórce wywołuje zmiany wtórne w objętości substancji rozdrobnionych. Odpowiedź na to pytanie daje porównanie objętości jaj, zmierzonych w tych roztworach, z objętościami obliczonymi ze wzoru (1).

Najbardziej przekonujące w tym kierunku jest jedno z doświadczeń, przeprowadzonych na *Paracentrotus lividus* (tab. II), w którym wszystkie pomiary wykonano na jednym i tym samym jaju, przenoszonym kolejno do roztworów o wzrastającym ciśnieniu osmotycznym.

Tabela II.

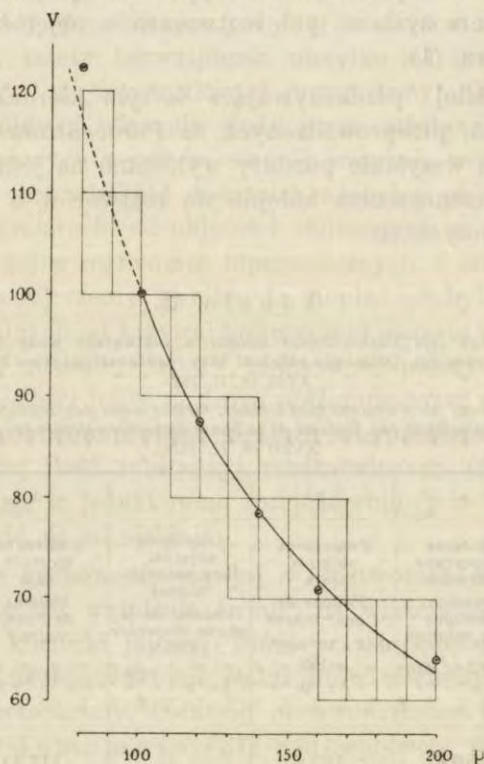
Objętość (v) jednego jaja *Paracentrotus lividus* w roztworach wody morskiej o różnym ciśnieniu osmotycznym (p). Obliczona objętość fazy rozdrobnionej (x) = 25.1%. Doświadczenie XVIII (8. II. 1929).

Volume (v) d'un oeuf de *Paracentrotus lividus*, mesuré dans des solutions d'eau de mer de diverse pression osmotique (p). Volume de la phase dispersée calculée (x) = 25.1%. Espérience XVIII (8. II. 1929).

Nr. obserwacji	a	b	c	d	e
Nr. d'observation	Ciśnienie osmotyczne roztworu Pression osmotique de la solution ($1.96^\circ\Delta = 100$) p	Znaleziona objętość jaja Volume de l'oeuf trouvé ($85.7 \times 10^{-4} \text{ mm}^3 = 100$) $n = 10$ v	Obliczona objętość fazy rozdrobnionej Volume de la phase dispersée calculé $x = v - \frac{7478}{p}$	Obliczona objętość jaja Volume de l'oeuf calculé $v = \frac{7478}{x} + 25.1$	b - d
1	80.6	122.6	—	(117.4)	(+4.9)
2	100.0	100.0	25.2	99.9	+0.1
3	120.4	87.5	25.4	87.2	+0.3
4	140.3	78.3	25.0	78.4	-0.1
5	159.7	70.9	24.0	71.9	-1.0
6	199.0	63.9	26.3	62.7	+1.2

Widzimy tutaj, że objętość jaja w roztworach o zwiększającym się stężeniu soli ($p = 100 - 199$) zmniejsza się prawidłowo,

dochodząc w podwójnie stężonej wodzie morskiej do 63.9% wielkości normalnej, czyli do wartości znacznie większej od tej, jaka przybrałaby w tych warunkach komórka Traubego, wypełniona roztworem krystaloidów. Fakt ten wyklucza istnienie odwrotnie proporcjonalnej zależności między objętością całej komórki a ciśnieniem osmotycznym roztworu hipertonicznego, natomiast analiza odnośnych wartości doprowadza do stwierdzenia istnienia takiej zależności między ciśnieniem osmotycznym a objętością fazy wodnej, która jest mniejsza od objętości całej komórki o przestrzeń, wypełnioną przez fazę rozdrobnioną.



Rys. 1. Zmiany objętości (v) jednego jaja *Paracentrotus lividus* w roztworach wody morskiej o różnym ciśnieniu osmotycznym (p). Według danych tab. II.

Fig. 1. Variations du volume (v) d'un seul oeuf de *Paracentrotus lividus* plongé dans des solutions d'eau de mer de diverse pression osmotique (p). D'après les données du tabl. II.

Obliczanie objętości tej fazy w jajach, traktowanych różnymi roztworami hipertonicznymi, dowodzi, że nie ulega ona zmianom jednokierunkowym w zależności od ilości odciągniętej z komórki

wody (tab. II, kol. c) i nie zmienia się, jak to wynika z doświadczenia, podanego w tab. I — nawet w trzykrotnie stężonej wodzie morskiej. Odchylenia od średniej wartości x , równej 25.1% (kol. c), są w rozpatrywanym doświadczeniu wyjątkowo małe i prawdopodobnie znajdują się w granicach błędu pomiaru objętości całego jaja. Dzięki temu też stwierdzamy wystarczającą zgodność między punktami, odpowiadającymi znalezionym objętościom komórki w roztworach hipertonicznych, a przebiegiem krzywej teoretycznej, obliczonej dla $x = 25.1\%$ (por. rys. 1).

Tabela III.

Objętość jaj *Paracentrotus lividus* w roztworach hipertonicznych wody morskiej. Obliczona objętość fazy rozdrobnionej (x) = 27.0%. Doświadczenie XII (10. VIII. 1925).

Volume des oeufs de Paracentrotus lividus dans des solutions hypertoniques d'eau de mer. Volume de la phase dispersée calculé (x) = 27.0%. *Expérience XII (10. VIII. 1925).*

Nr. obserwacji <i>Nr. d'observation</i>	Ciśnienie osmotyczne roztworu <i>Pression osmotique de la solution</i> ($1.96^\circ \Delta = 100$) p	Objętość jaja <i>Volume de l'oeuf</i>		a - b
		znaleziona <i>trouvé</i> ($107.3 \times 10^{-4} \text{ mm}^3 = 100$) $n = 10$ v	obliczona <i>calculé</i> $v = \frac{7414}{p} + 27.0$	
		1	100	
2	150	73.9 ± 1.6	76.4	-1.5
3	200	64.7 ± 2.1	64.1	+0.6
4	225	59.2 ± 0.6	60.2	-1.0
5	300	53.5 ± 1.4	52.4	+1.1

Tabela IV.

Objętość jaj (v) *Arbacia pustulosa* w roztworach wody morskiej o różnym ciśnieniu osmotycznym (p). Obliczona objętość fazy rozdrobnionej (x) = 36.4%. Doświadczenie XXa (16. II. 1929).

Volume des oeufs d'Arbacia pustulosa dans des solutions anisotoniques d'eau de mer. Volume de la phase dispersée calculé (x) = 36.4%. *Expérience XXa (16. II. 29).*

Nr. obserwacji <i>Nr. d'observation</i>	Ciśnienie osmotyczne roztworu <i>Pression osmotique de la solution</i> ($1.96^\circ \Delta = 100$) p	Objętość jaja <i>Volume de l'oeuf</i>		a - b
		znaleziona <i>trouvé</i> ($121.6 \times 10^{-4} \text{ mm}^3 = 100$) $n = 10$ v	obliczona <i>calculé</i> $v = \frac{6379}{p} + 36.4$	
		1	60.7	
2	80.6	125.3 ± 3.7	(115.5)	(+ 9.8)
3	100.0	100.0 ± 2.6	102.2	- 0.2
4	120.4	89.5 ± 3.9	89.4	+ 0.1
5	159.7	76.7 ± 2.4	76.4	+ 0.3
6	199.0	68.2 ± 1.1	68.5	+ 0.3

Tabela V.

Objętość jaj (v) *Phallusia mamillata* w roztworach wody morskiej o różnym ciśnieniu osmotycznym (p). Obliczona objętość fazy rozdrobnionej (x)=19.3%. Doświadczenie XXVI (21.II.1929)
Volume des oeufs de Phallusia mamillata dans des solutions anisotoniques d'eau de mer.
Volume de la phase dispersée calculé (x)=19.3% Expérience XXVI (21.II.1929).

Nr. obserwacji Nr. d'observation	Ciśnienie osmotyczne roztworu <i>Pression osmotique de la solution</i> (1.95°Δ = 100) p	Objętość jaja <i>Volume de l'oeuf</i>		a - b
		znaleziona <i>trouvée</i> (938.1 × 10 ⁻⁴ mm ³ = 100) $n = 10$ v	obliczona <i>calculé</i> $v = \frac{8100}{p} + 19.3$	
1	80.6	126.3 ± 2.9	(119.5)	(+6.5)
2	100.0	100.0 ± 0.8	100.3	-0.3
3	140.3	77.6 ± 0.5	77.0	+0.6
4	159.7	69.9 ± 0.6	70.0	-0.1
5	179.6	63.9 ± 0.3	64.4	-0.5
6	199.0	60.3 ± 0.9	60.0	+0.3

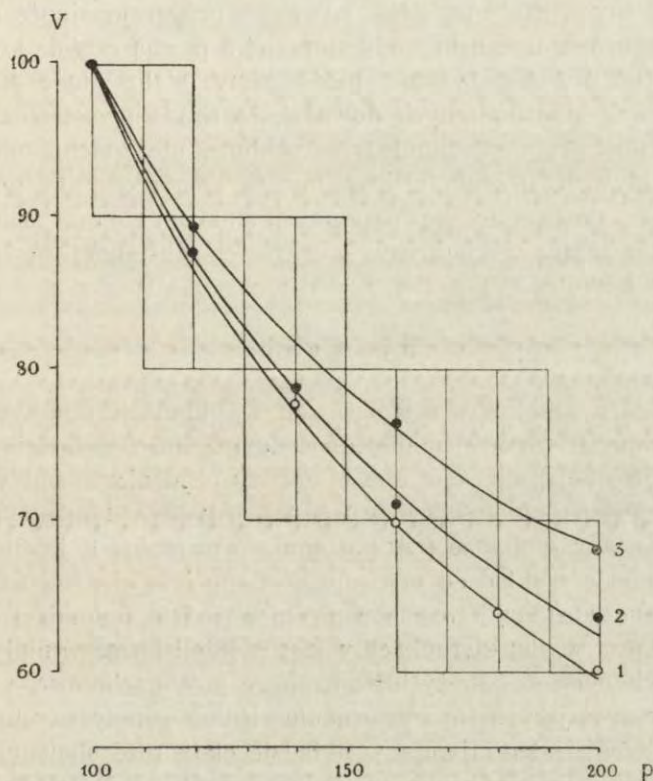
Tabela VI.

Objętość jaj (v) *Echinus microtuberculatus* w roztworach wody morskiej o różnym ciśnieniu osmotycznym (p). Obliczona objętość fazy rozdrobnionej (x) = 22.6%.
 Doświadczenie XX b (16. II. 1929).
Volume des oeufs d'Echinus microtuberculatus dans des solutions anisotoniques d'eau de mer.
Volume de la phase dispersée calculé (x) = 22.6%. Expérience XX b (16. II. 1929).

Nr. obserwacji Nr. d'observation	Ciśnienie osmotyczne roztworu <i>Pression osmotique de la solution</i> (1.96° Δ = 100) p	Objętość jaja <i>Volume de l'oeuf</i>		a - b
		znaleziona <i>trouvée</i> (124.5 × 10 ⁻⁴ mm ³ = 100) $n = 10$ v	obliczona <i>calculé</i> $v = \frac{7627}{p} + 22.6$	
1	80.6	124.5 ± 1.1	(117.2)	(+7.3)
2	100.0	100.0 ± 1.7	98.9	+1.1
3	140.3	76.1 ± 1.0	76.9	-0.8
4	159.7	70.2 ± 2.2	70.4	-0.2
5	199.0	61.1 ± 0.8	60.9	+0.2

Takiej samej analizy wyników dokonaliśmy w stosunku do doświadczeń, przeprowadzonych na jajach innych gatunków zwierząt morskich (*Arbacia pustulosa*, *Phallusia mamillata*, *Echinus microtuberculatus*, tab. III—VI). W tych jednak doświadczeniach jaja mierzono masowo, wyprowadzając średnią objętość jednego jaja z 10-ciu pomiarów w każdym roztworze. Pomimo większego

popelnianego w tym przypadku błędu, należy uznać we wszystkich doświadczeniach zgodność między wynikami pomiarów a założeniem równania (1) za wystarczające (rys. 2). Za szczególnie zadawalający można uznać wynik doświadczenia, przeprowadzonego nad jajami *Phallusia mamillata* (tab. V), które ze względu na stosunkowo małe różnice w wielkości poszczególnych jaj bardziej od innych nadają się do tego rodzaju pomiarów.



Rys. 2. Zmiany objętości jaj (v) *Pallusia mamillata* (krzywa № 1), *Paracentrotus lividus* (№ 2) i *Arbacia pustulosa* (№ 3) w roztworach hipertonicznych wody morskiej ($\Delta = 1.96^\circ$, $p = 100$).

Fig. 2. Variations du volume des oeufs (v) de *Phallusia mamillata* (№ 1), de *Paracentrotus lividus* (№ 2) et d'*Arbacia pustulosa* (№ 3) dans des solutions hypertoniques d'eau de mer ($\Delta = 1.96^\circ$, $p = 100$).

Ogólne wyniki dokonanych przez nas obliczeń objętości fazy rozdrobionej w jajach przedstawiają się zatem w sposób następujący:

№ tabeli	<i>x</i>
V. <i>Phallusia mamillata</i>	19.3%
VI. <i>Echinus microtuberculatus</i>	22.6%
II. <i>Paracentrotus lividus</i>	25.1%
III. <i>Paracentrotus lividus</i>	27.0%
IV. <i>Arbacia pustulosa</i>	36.4%

Reasumując, możemy zatem twierdzić, że w roztworach hipertonicznych zachodzi ściśle odwrotna proporcjonalność między ciśnieniem osmotycznym wody morskiej a pewną częścią komórki, odpowiadającą fazie wodnej protoplazmy; stałość tego stosunku w płynach hipertonicznych dowodzi, że reszta przestrzeni, która jest zajęta przez substancje rozdrobnione, nie zmienia objętości pod wpływem stężenia elektrolitów w komórce. Fakt ten daje możliwość, posługując się wzorem Hamburgera, obliczenia z wystarczającą dokładnością zawartości substancyj rozdrobnionych w komórce.

D y s k u s j a.

Zgóry możemy powiedzieć, że w układach osmotycznych, wypełnionych roztworem niejednorodnym, może zachodzić stosunek odwrotnej proporcjonalności między ciśnieniem osmotycznym zewnętrznym a objętością fazy wodnej, jedynie w tym przypadku, jeżeli zostaną spełnione trzy następujące warunki: 1, jeżeli błona, odgraniczająca układ od roztworu, jest zupełnie nieprzepuszczalna względem substancyj rozpuszczonych w wodzie, natomiast dobrze przepuszcza w obu kierunkach wodę; 2, jeżeli niema w niej znaczniejszych oporów (sprężystość, napięcie powierzchniowe, i t. p.), przeciwstawiających się wyrównaniu ciśnień osmotycznych; 3, jeżeli objętość, jaką zajmują w układzie ciała rozdrobnione, pozostaje niezmienna pod wpływem zmian stężenia kryształoidów w cieczy międzycząstkowej.

Jak stwierdziliśmy, komórki jajowe czynią zadość powyższym warunkom jedynie w roztworach hipertonicznych. Gdy mianowicie w wodzie morskiej rozcieńczonej zmniejszenie koncentracji elektrolitów powoduje nadmierne pobieranie wody wskutek jej wiązanie przez koloidy komórkowe, to w hipertonicznych roztworach komórka traci wodę w ten sposób, jakgdyby ogólna objętość substancyj rozdrobnionych była wielkością niezmienną, nie-

zależną od zwiększonego stężenia elektrolitów wewnątrz komórki. Zgodność pomiarów objętości jaj z założeniami równania, określającego stosunek objętości fazy wodnej komórki do ciśnienia osmotycznego roztworu, dowodzi ponadto, że komórki jajowe w roztworach hipertonicznych czynią również zadość dwu pozostałym warunkom układu osmotycznego: mianowicie, zachowują się one w ten sposób, jakgdyby wielkość oporów, stawianych przez warstwy powierzchniowe cytoplazmy, była znikomo mała w porównaniu z działającymi siłami osmotycznymi, oraz jakgdyby własności półprzepuszczalne otoczki plazmatycznej nie ulegały zmianie pod wpływem działania stężonych roztworów soli.

Oparcie metody oznaczania objętości fazy rozdrobnionej na opisanem zachowaniu się komórek w płynach hipertonicznych wymaga jednak zachowania szeregu specjalnych warunków doświadczalnych.

Pomijając dokładność samego pomiaru objętości, jednym z najważniejszych warunków, tkwiącym w samym obiekcie, jest duży stopień plastyczności warstw powierzchniowych komórki, biernie odkształcających się pod wpływem działania sił osmotycznych. Komórki badane winny być nieoblężone i posiadać otoczkę plazmatyczną, ujawniającą minimum oporu. Mała plastyczność warstw powierzchniowych może sprawić, że obliczona objętość fazy rozdrobnionej będzie większa od rzeczywistej dzięki temu, że objętość, jaką zajmie komórka w roztworze hipertonicznym, będzie — wskutek oporu tych warstw — zawsze większa od teoretycznej.

Drugim warunkiem, który może być w przeciwieństwie do poprzedniego opanowany eksperymentalnie, jest sprowadzenie do minimum szkodliwego działania płynów hipertonicznych. Z góry można przewidywać, że działanie to idzie w dwu kierunkach: 1, stężone roztwory soli mogą zwiększać przepuszczalność otoczki plazmatycznej względem ciał rozpuszczalnych, powodując endosmozę elektrolitów i związaną z nią deplazmolizę; 2, mogą one ponadto wtórnie zmniejszać objętość fazy rozdrobnionej, a to wskutek zagęszczenia elektrolitów wewnątrzkomórkowych, wywołując odwodnienie i wytrącanie się ciał koloidalnych. W pierwszym przypadku objętość komórki, jaką zajmie w roztworze hipertonicznym, będzie większa, w drugim zaś mniejsza od teoretycznej, obliczona zaś objętość fazy rozdrobnionej będzie odpo-

wiednio odbiegać od wartości rzeczywistych. Nie wiemy, w jakim stopniu to odwrotne działanie płynów hipertonicznych na ostateczną objętość komórki znosi się nawzajem, w każdym bądź razie może ono stanowić poważne źródło błędu metody.

Zmniejszenia błędu, wypływającego z tego źródła, można dokonać eksperymentalnie albo redukując do minimum czas działania roztworów hipertonicznych, bądź też używając roztworów mało stężonych, lub wreszcie uwzględniając oba te czynniki w stosunku wzajemnym, zapewniającym najlepsze warunki eksperymentu fizjologicznego oraz odpowiednią dokładność samego oznaczenia.

W pierwszym przypadku czynnikiem ograniczającym jest czas, niezbędny do wyrównania ciśnień osmotycznych. W naszych doświadczeniach czas, w którym komórki jajowe osiągały najmniejszą objętość, nie przekraczał, nawet w roztworach najbardziej stężonych, dwudziestu minut.

Druga ewentualność, polegająca na stosowaniu roztworów możliwie mało stężonych, pozostaje w sprzeczności z zasadą dokładnego oznaczenia zawartości substancji rozdrobnionych w komórce. Gdy bowiem w interesie zachowania fizjologicznych warunków leży utrzymanie stężenia, możliwie mało odbiegającego od stężenia ciał osmotycznych w normalnym środowisku komórki, to warunkiem dokładnego oznaczenia substancji rozdrobnionych jest osiągnięcie możliwie największej redukcji wielkości komórki, ponieważ błąd, jaki popełniamy w ustaleniu ostatecznej objętości komórki w hipertonii, ma wtedy wpływ stosunkowo najmniejszy na ścisłość oznaczenia objętości fazy rozdrobnionej. Jak to wynika z obliczenia orientacyjnego, w przypadku np. 20% zawartości substancji rozdrobnionych, błąd jednocentowy w pomiarze objętości komórki, znajdującej się w roztworze o $p = 200$, powoduje nieścisłość w oznaczeniu fazy rozdrobnionej, wynoszącą tylko 6%, w roztworze o $p = 150\%$ już 11.4%, zaś przy $p = 110\%$ dochodzi do błędu, równemu 52.6% mierzonej wielkości. W jednakowych pozostałych warunkach błąd ten jest tem mniejszy, im komórka zawiera większą ilość substancji rozdrobnionych.

Ponieważ zaś dokładność oznaczenia fazy rozdrobnionej zależy od stopnia odciągnięcia wody z komórki, pożądane jest użycie takiego najbardziej stężonego roztworu soli, w którym przy

najkrótszym czasie działania, zależnym od osiągnięcia równowagi osmotycznej, nie następowałyby zmiany wtórne ani w przepuszczalności otoczki plazmatycznej, ani też w stopniu wiązania wody przez koloidy komórkowe. Stosunek wzajemny tych dwu czynników eksperymentalnych, t. j. stopnia hipertoniczności roztworu i czasu jego działania, zależy niezawodnie od właściwości badanego obiektu. W naszych doświadczeniach, przeprowadzonych na niezaplodzonych, dojrzałych komórkach jajowych kilku zwierząt morskich, osiągnęliśmy warunki optymalne, działając w ciągu pół godziny dwukrotnie stężonym roztworem wody morskiej.

Streszczenie wyników.

1°. Metoda oznaczania objętości fazy rozdrobnionej w komórce żyjącej, oparta na zasadzie *Hamburgera*, przyjmującej odwrotną proporcjonalność między objętością cieczy międzycząstkowej w cytoplazmie a ciśnieniem osmotycznym środowiska, może być stosowana do niezaplodzonych komórek jajowych jedynie w przypadku użycia roztworów hipertonicznych.

2°. Zgodność między objętościami jaj znalezionymi i obliczonymi według wzoru dowodzi, że w warunkach zachowania odpowiedniego stężenia roztworów hipertonicznych oraz czasu ich działania — na ostateczną objętość komórki nie wywiera wpływu ani sprężystość warstw powierzchniowych protoplazmy, ani też ewentualne zmiany w przepuszczalności otoczki plazmatycznej lub w stopniu adsorpcji wody przez koloidy komórkowe.

3°. Odmiennie zachowanie się jaj w roztworach hipotonicznych, polegające na nadmiernym pobieraniu wody, autor tłumaczy pęcznieniem koloidów plazmatycznych, następującym wskutek rozcieńczenia elektrolitów w cieczy międzycząstkowej.

Piśmiennictwo.

Białaszewicz K. 1928. Studja porównawcze nad składem cieczy międzycząstkowej komórek jajowych. *Acta Biol. Exper.* 7, Nr. 11. Białaszewicz K. 1929. Recherches sur la répartition des électrolytes dans le protoplasme des cellules ovulaires. *Protoplasma.* 6 (1). Mc. Cutcheon M., B. Lucké and H. K. Hartline. 1931. The osmotic properties of living cells (eggs of *Arbacia punctulata*). *Journ. of gen. Physiol.* 14

(393). Ege R. 1922. Untersuchungen über die Volumveränderungen der Blutkörperchen in Lösungen verschiedenen osmotischen Druck. III Mit.: Studien über das osmotische Verhalten der Blutkörperchen. Bioch. Zeitschr. 130 (99). Ege R. 1927. The dispersed phase of the blood corpuscles. Bioch. Journ. 21 (967). Fauré - Fremiet E. 1924. L'oeuf de *Sabellaria alveolata*. Thèse (Sér. A, Nr. 960). Paris. Gough A. 1924. The nature of the red blood corpuscle. Bioch. Journ. 18 (202). Hamburger H. J. 1898. Ueber den Einfluss von Salzlösungen auf das Valumen tierischer Zellen. Arch. f. (Anat. u.) Physiol. Hamburger H. J. 1901. Osmotischer Druck und Ionenlehre. Bd. I. Wiesbaden. Herbst K. 1904. Ueber die zu Entwicklung der Seeigellarven nothwendigen anorganischen Stoffe, ihre Rolle und ihre Vertretbarkeit. III Teil. Die Rolle der nothwendigen anorganischen Stoffe. Arch. f. Entw.-Mech. 17 (306). Kamada T. and Yamamoto T. 1931. Elastic constant of membrane, non-aqueous space of protoplasm and amount of free solutes in the egg of an Annelid, *Ceratocephale osawai*. Journ. of the Fac. of Sc., Imper. Univ. of Tokyo. Sec. IV. Vol. 2, Part 4 (357). Koeppe H. 1900. Physikalische Chemie in der Medizin. Einführung in die physikalische Chemie und ihre Verwertung in der Medizin. Wien (Holder). Netter H. 1927. Ueber den nichtlösenden Raum (sog. disperse Phase) und seine Bedeutung für zellphysiologische Probleme. Sammelreferat. Protoplasma. 2 (554).

[Zakład Fizjologiczny Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Warszawskiego].
Dyrektor: Prof. Dr. Fr. Czubałski.

J. Szulc.

Wpływ nerwów układu autonomicznego na krzepliwość krwi.
Influence des nerfs du système autonome sur la coagulation du sang.

Rękopis nadesłany w dniu 14.IV.1932 r.

En relation avec les travaux de Popielski ('13), Cannon et Mendenhall ('14), ainsi qu'avec ceux de Plattner et Kōdera ('28) et dernièrement de Czubałski ('30), qui ont prouvé la dépendance de la coagulation du sang de l'excitation des nerfs particuliers du système autonome, mes expériences avaient pour but une étude détaillée comparative de la direction et du parcours des changements dans la coagulation, apparaissant après une excitation artificielle du nerf vague ou du nerf sympathique du cou.

J'ai exécuté mes expériences, 38 en tout, sur des lapins. Je préparais le nerf vague ou le nerf sympathique du cou dans une narcose d'éther et je les excitais ensuite au moyen d'un courant électrique pris d'une bobine de Du Bois-Reymond.

Le sang était pris des vaisseaux veineux des oreilles du lapin et le temps de sa coagulation était noté au moyen d'un coagulomètre Brodie-Russel modifié par Slowcow et Czubałski. Je commençais à noter le temps de la coagulation du sang avant l'excitation du nerf (norme) tandis qu'après l'excitation, répétée à plusieurs reprises, je pouvais tracer les courbes des changements survenus dans la coagulation à la suite de l'excitation du nerf.

Nous fondant sur ces expériences nous avons constaté, qu'après une excitation du nerf sympathique du cou entier ou de son bout inférieur central apparaît un raccourcissement du temps

de la coagulation du sang, un accroissement de la coagulation apparaît parfois après une courte période latente, la durée de la période d'une hypercoagulation est de 10' à une heure, le sommet en est atteint dans la période des quelques premières minutes suivant l'excitation du nerf (v. tableaux II et III).

Après l'excitation du bout périphérique du nerf vague apparaît une prolongation de la durée du temps de la coagulation ou une diminution temporelle de la coagulation du sang immédiatement après l'excitation du nerf, dont la durée est d'environ de 20' à 30' et où le sommet de l'incoagulabilité est atteint dans la période des cinq premières minutes suivant l'excitation (v. tableau IV).

L'excitation du nerf vague total non-sectionné provoque par contre un accroissement de la coagulation du sang durant 20 minutes après l'excitation du nerf (v. tableau IV).

Une coagulation amoindrie, consécutive à l'excitation du bout périphérique du nerf vague, se trouve sans doute en rapport avec la rétention des plaquettes de Bizzozero dans le réseau des plus délicats vaisseaux (Czubalski) et l'appauvrissement du sang veineux en plaquettes, ainsi qu'une augmentation du pH du sang et un éloignement de sa valeur de la valeur optima pour la précipitation de la fibrine.

L'excitation du nerf vague total donne le même effet que l'excitation du nerf sympathique d'où l'on peut supposer, que l'accroissement de la coagulation est ici vraisemblablement un réflexe dérivant de l'excitation du bout central du nerf vague qui parcourt par la voie centrifuge peut-être à travers le système sympathique. Ce réflexe masque l'effet simultané de l'excitation du bout périphérique du nerf vague.

L'excitation du nerf sympathique augmentant la coagulabilité du sang est transmise centripetalement (l'excitation du bout du nerf se dirigeant vers la tête n'a presque aucune influence sur la coagulabilité) par le nerf sympathique du cou vers les parties inférieures du système sympathique et agit vraisemblablement soit directement, soit par la voie d'un réflexe habituel ou axil (Axonreflex). Il se peut que dans le mécanisme de l'action du système sympathique sur la coagulabilité du sang à part les changements ci-dessus nommés du pH et des plaquettes de Bizzozero (Czubalski), les changements du Ca^{++} dans le sang (Zon-

dek '27, Dresel '24) jouent aussi un rôle et outre cela encore, le dégagement de certaines corps actifs du foie et des intestins favorisent la coagulation (Cannon et Mendenhall '14) ainsi que l'expression de corps semblables (Arthus '30) des parois des vaisseaux sanguins pendant la réaction vasomotrice.

Wśród szeregu prac, dotyczących fizjologii wegetatywnego układu nerwowego, coraz wyraźniej wykrystalizowują się fakty towarzyszenia stanowi czynnemu nerwów autonomicznych pewnych zmian fizyczno-chemicznych w sokach ustroju, a nawet pewnych przesunięć w elementach morfologicznych krwi.

Różni badacze, zarówno laboratoryjni jak i kliniczni, przytaczają spostrzeżenia z tej dziedziny. Jedni (szkoła Löwiego, Jendrassik '27, Brinkman '24 i inni), wysuwają prawdopodobieństwo powstawania pewnych ciał czynnych wskutek podrażnienia nerwów autonomicznych, zwłaszcza błędnego; inni wykazują tylko same zmiany właściwości fizycznych krwi lub płynów odżywczych po zadrażnieniu nerwów autonomicznych, przytaczając dane, dotyczące zmian napięcia powierzchniowego (Tsukiji Joshinobu '27), a także wskaźnika refraktometrycznego (Czubalski '30, Riccitelli '28), spostrzegane są także zmiany chemizmu krwi — powstają teorie regulowania przez układ wegetatywny równowagi jonowej K/Ca (Dresel '24) i okresowych zwicnięć tej równowagi w stanach wagotonji i sympaticotonji (Zondek i Kraus '27), udaje się wykazać wyraźny wpływ drażnienia nerwów autonomicznych na pH krwi (Czubalski '30).

Najnowsze wreszcie badania wykazują zależność rozmieszczenia elementów komórkowych krwi od pobudzenia nerwów autonomicznych, jak opisany przez Czubalskiego fakt zatrzymania płytek Bizzozero i ciałek białych w sieci najdrobniejszych naczyń, wskutek pobudzenia nerwu błędnego, z równoczesną trombopenją i leukopenją we krwi żyłnej, zaś trombo- i leukocytozą we krwi naczyń kręzkowych, odwrotny natomiast kierunek tych zjawisk przy pobudzeniu nerwu współczulnego (Czubalski '30).

Widzimy więc, że stan czynny nerwów układu autonomicznego wyraźnie i rozlegle odbija się na ugrupowaniu wielu składników krwi, a zatem niewątpliwie musi się odbijać i na jej właściwościach biologicznych. Ciekawem stąd staje się zagadnienie, czy i w jaki sposób odbija się stan czynny nerwów autonomicznych na krzepliwości krwi, zjawisku angażującym wielką liczbę składników krwi i będącym niejako funkcją jej stanu fizyczno-chemicznego.

Na to zagadnienie, wylaniające się na drodze rozważań teoretycznych, w chwili obecnej możemy częściowo dać odpowiedź dzięki niektórym spostrzeżeniom poczynionym przez Czubalskiego, który pobierając krew z królików, celem innych całkiem oznaczeń niż krzepliwości, spostrzegł nieraz, że po zadrażnieniu nerwu współczulnego w kaniulach, wprowadzonych do naczyń krwionośnych zwierzęcia, częściej powstawały skrzepy, niż po zadrażnieniu nerwu błędnego, a dla zniesienia krzepliwości krwi, pobranej po zadrażnieniu nerwu współczulnego należało użyć więcej cytrynanu sodu, niż do zniesienia krzepliwości krwi normalnej. Stąd w roku 1928 autor ten pisze, że: „drażnienie końca obwodowego nerwu współczulnego nie pozostaje bez wpływu na właściwości krwi, przyczem kierunek tego wpływu zdaje się być odwrotny do działania nerwu błędnego”, a później w dwa lata ogłasza dane liczbowe, ilustrujące przypadki przedłużenia, w porównaniu z normą, czasu krzepnięcia krwi, pobranej po zadrażnieniu nerwu błędnego, i skrócenia po zadrażnieniu nerwu współczulnego, co tłumaczy powstawaniem stanu zmniejszonej krzepliwości w pierwszym przypadku i zwiększonej w drugim. W parze z tem idą spostrzeżenia dawniejsze tegoż autora, dotyczące obniżenia krzepliwości krwi podczas pracy gruczołów trawiennych — stanu pewnej wago-tonji trawiennej, — również ilustracja istniejących współzależności między stanem czynnym nerwu autonomicznego a krzepliwością krwi. Ciekawe pod tym względem są także dawniejsze spostrzeżenia Popielskiego, który obserwował zmniejszenie krzepliwości wskutek zadrażnienia prądem elektrycznym obwodowego końca struny bębenkowej (*n. parasymp.*). W literaturze obcej mamy zaledwie parę prac, poruszających to zagadnienie, bez szerszego jednak ujęcia sprawy (Cannon i Mendenhall '14, Plattner i Koderer '28). Wyniki doświadczeń tych autorów bliżej omówię w dalszej części niniejszej pracy.

Wobec wszystkich powyższych danych ciekawem się wydawało bardziej szczegółowe zbadanie wpływu układu wegetatywnego na krzepliwość krwi i, jako pierwszy etap pracy w tym kierunku, szczegółowe, oparte na szerszym materiale doświadczalnym zbadanie zmian krzepliwości krwi wskutek sztucznego pobudzenia nerwu współczulnego, względnie błędnego, zdanie sobie sprawy z charakteru tego zjawiska, przez ustalenie częstości występowania tych zmian krzepliwości, ich rozległości, czasu trwania i przebiegu — co właśnie stało się zadaniem pracy niniejszej.

Metodyka.

Doświadczenia ostre, w ogólnej liczbie 38-miu, przeprowadziłem na królikach. Polegały one na drażnieniu prądem elektrycznym nerwu współczulnego, względnie błędnego na szyi i oznaczeniu zmian, jakie zachodzą w czasie krzepnięcia krwi wskutek takiego podrażnienia.

Przygotowanie zwierzęcia polegało na dokładnem ogoleniu oraz umyciu ciepłą wodą i benzyną lub eterem obu uszu, a następnie na szybkim odpreparowaniu w oszołomieniu eterowym (Eterrausch) jednego lub obu nerwów współczulnych lub błędnych na szyi, w miejscu ich przebiegu we wspólnej pochewce z tętnicą szyjną (*a. carotis com.*).

Krew do oznaczeń krzepliwości pobierałem stale z jednych i tych samych naczyń żylnych uszu królika (*ramus anterior et posterior v. auricularis posterioris* oraz *v. auricularis anterior*, wedł. Krausego). Koniec dosercowy żyły na chwilę pobrania zaciskałem naczyniowym zaciskiem, którego powierzchnie zabezpieczone były naciąganiem na nie miękkich rureczek gumowych. Wypełniającą się krwią żyłę nakłuwałem stale tym samym cieniutkim lancetkiem i wypływającą kroplę krwi chwytałem na środek przygotwanego uprzednio szkiełka¹⁾ (oczyszczone alkoholem i eterem i osuszone), nakładając szkiełko od góry na kroplę tak, by dotykało tylko szczytu kropli, nie dotykając powierzchni ucha. Kilkoma półkolistemi ruchami uzyskuje się rozplynięcie kropli, w położeniu zwisającym na dolnej powierzchni szkiełka, do rozmiarów koła o średnicy nieco poniżej 1 cm, i tej wielkości kroplę umieszcza się ze szkiełkiem nad komorą koagulometru Brodie - Russela w modyfikacji Słowcowa i Czubałskiego.

Przyrząd ten składa się z naklejonego na szkiełku podstawowym protościennego korka, z wyciętą w środku komorą w kształcie sześcianu. Przez boczną ścianę korka przeprowadzona jest rureczka szklana, której koniec, tkwiący we wnętrzu komory, zakończony jest włosowato i zagięty ku górze pod kątem, zaś koniec zewnętrzny połączony z balonikiem gumowym. Szkiełko ze zwisającą kroplą umieszczamy na górnym otworze komory tak, że zwisająca kropla krwi znajduje się ponad wylotem rureczki szklanej. Miejsca przylegania szkiełka do brzegów komory uszczelnione są wazeliną.

We wnętrzu komory znajduje się waleczek waty, napojony roztworem fizjologicznym soli, co zapobiega wysłuchaniu krwi. Całość umieszcza się na stoliku podstawowym mikroskopu, tak że stan badanej kropli, poruszanej prądem powietrza wydmuchiwanego przez rureczkę przez rytmiczne ściskanie gumowego baloniku, możemy obserwować w powiększeniu (obj. 3. okul. 4). Jednakowe we wszystkich doświadczeniach naświetlenie lampą elektryczną warunkuje stałą i jednakową temperaturę w komorze koagulometru. Miarą czasu krzepnięcia badanej krwi jest czas, upływający od chwili pobrania krwi do chwili zaciągnięcia się dna kropli równomierną warstwą ognisk wytwarzającego się włókniaka. Czas ten notuje sekundnik-sztoper, puszczany w ruch przy pobraniu krwi, tuż po nakłuciu żyły, a za-

¹⁾ Można używać szkiełek pokrywkowych, jednak najpraktyczniejsze do powyższej metody są szkiełka o wymiarach $0.1 \times 2 \times 5$ cm, jakie się uzyskuje przez przecięcie na pół szkiełka podstawowego (szlifowane). Są one b. trwałe i dają się mocno, szczelnie docisnąć do brzegów komory koagulometru.

trzymywany z chwilą powstania pierwszych skrzepów (j. w.) w badanej kropli.

Dla zorientowania się, w jakich granicach waha się norma krzepliwości u królika w ciągu 1—2 godzin, czy nie odbija się na krzepnięciu krwi samo jej pobieranie w krótkich odstępach i przez czas dłuższy, wreszcie, w jakich granicach waha się błąd doświadczalny, — rozpocząłem od szeregu doświadczeń kontrolnych, w których oznaczałem czasy krzepnięcia, bez wprowadzenia jakichkolwiek czynników, mogących spowodować zmiany krzepnięcia krwi u badanego zwierzęcia. Podobne badanie kontrolne przeprowadziłem jeszcze raz po ukończeniu serji badań doświadczalnych. Celem zilustrowania wyników, uzyskiwanych w takich doświadczeniach kontrolnych, przytaczam kilka z nich w tabeli I.

Tabela I.

A		B
22.X.29 r.	Królik samiec, wagi 2,5 kg 6' 5'57" 6'15" 5'22" 6'6" 5'	Różn. maks. 1'15"
26.XI.29 r.	Królik samica, wagi 2,5 kg 4'17" 3'50" 3'45" 4'31" 3'14" 4'28"	Różn. maks. 1'14"
29.XI.29 r.	Królik samica, wagi 2 kg 6'17" 5'30" 5'26" 6'12" 5'20" 5'30" 6'49" 6'35" 5'25" 5'36" 5'25"	Różn. maks. 1'15"
2.XII.29 r.	Królik samiec, wagi 2,7 kg 5'20" 6'4" 5'38" 5'13" 5'47" 5'57" 6'1" 5'30" 6'15"	Różn. maks. 1'2"
14.XII.29 r.	Królik samiec, wagi 2,4 kg 5'33" 5'9" 5'15" 5'17" 5'26"	Różn. maks. 18"
16.XII.29 r.	Królik samiec, wagi 2,5 kg 5'50" 6'30" 5'30" 5'31" 5'40" 5'21"	Różn. maks. 1'9"
15.I.31 r.	Królik samica, wagi 2,8 kg 7'6" 6'51" 7'32" 6'31" 6'42" 7'1" 6'55"	Różn. maks. 1'1"

Mamy tu przedstawiony czas krzepnięcia próbek krwi, pobranych w odstępach czasu 10-cio minutowych, przez okres czasu do 2 godzin (rubryka A) oraz obliczona dla każdego doświadczenia różnica między najdłuższym i najkrótszym czasem krzepnięcia, uzyskanym w ciągu całego doświadczenia (rubryka B).

Jak widzimy, wynik wszystkich doświadczeń kontrolnych jest niemal jednoznaczny. Rczległość wahań czasu krzepnięcia we wszystkich niemal doświadczeniach jest jednakowa i nigdzie nie przekracza wiele ponad wartość 1 minuty.

Na wartość tej maksymalnej różnicy czasu krzepnięcia składają się zarówno może fizjologiczne zmiany krzepliwości krwi u królika w ciągu

1—2 godzin, jak i zmiany krzepliwości, sztucznie wywołane przez przebieg doświadczenia, jak wreszcie pewien nieunikniony, w małych zresztą granicach, błąd doświadczalny samej metodyki.

We właściwej części doświadczalnej, każde doświadczenia rozpoczynałem od kilkakrotnego pobrania normy, a dopiero po ustaleniu się warunków doświadczenia przystępowałem do drażnienia uprzednio odpreparowanych nerwów współczulnego względnie błędnego. Do drażnienia nerwów używałem cewki saneczkowej Du Bois-Reymond'a przy ustawieniu cewek najczęściej na ca. 10 cm.

Sprawdzianem skuteczności drażnienia nerwu współczulnego był stan źrenicy oraz tętnie ucha, a przy drażnieniu nerwu błędnego zahamowanie akcji serca; na te objawy przy każdym drażnieniu bacznie zwracałem uwagę. W razie występowania zmian krzepliwości po drażnieniu nerwów, próbki krwi pobierano tak długo, aż czas ich krzepnięcia zaczynał zbliżać się do początkowej normy. Notowano czas pobrania, czas krzepnięcia, drażnienia nerwów, temperaturę otoczenia.

Wyniki doświadczeń przedstawiam graficznie, odkładając na osi odciętych czas pobrania próbki krwi, na osi rzędnych — czas jej krzepnięcia.

Wpływ pobudzenia nerwu współczulnego na krzepliwość krwi.

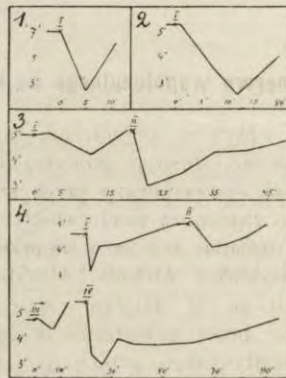
W badaniach nad wpływem pobudzenia nerwu współczulnego na krzepliwość krwi, starałem się, stosując powyżej opisaną metodykę, prześledzić zmiany krzepliwości, spowodowane przez sztuczne drażnienie szyjnego nerwu współczulnego zapomocą prądu elektrycznego. Najpierw badałem zmiany krzepliwości, drażniąc ten nerw nieprzecięty, w całości, a więc uzyskując pobudzenie wszystkich włókien, wchodzących w skład pęczka szyjnego nerwu współczulnego. W dalszym ciągu pracy badałem zmiany krzepliwości, spowodowane przez pobudzenie wyłącznie końca dośrodkowego szyjnego nerwu sympatycznego, przecinając ten nerw i drażniąc prądem elektrycznym tylko koniec dolny¹⁾ przeciętego nerwu, a więc przy pobudzeniu tylko włókienek, przewodzących w kierunku dolnego szyjnego zwoju sympatycznego. Wreszcie, po przecięciu szyjnego nerwu współczulnego, drażniłem dogłówny jego koniec, a więc ograniczyłem wpływy pobudzenia do terytorjum unerwionego przez włókienka, prowadzące w kierunku górnego szyjnego zwoju współczulnego.

W doświadczeniach z przecięciem nerwu sympatycznego, przecinałem go stale powyżej miejsca jego zetknięcia się z nerwem depresyjnym.

¹⁾ Dla uniknięcia nieporozumień, przypominam że koniec dogłówny jest końcem obwodowym tego nerwu, zaś koniec przeciwny czyli „dolny” jest końcem dośrodkowym. Terminu „dolny”, pomimo jego nieścisłości anatomicznej, używam, wzorując się na Podręczniku Fizjologii A. Becka, w wierze, że określenie takie szybciej orjentuje czytelnika w technice doświadczenia.

Wpływ pobudzenia całego nerwu sympatycznego oraz jego końca dolnego, dośrodkowego.

W doświadczeniach, w których przeprowadzałem drażnienie nerwu sympatycznego w całości, nieprzeciętego, jako stałe i regularne zjawisko obserwowałem zwiększenie krzepliwości krwi, którego wyrazem było skrócenie czasu krzepnięcia krwi, pobranej po zadrażnieniu nerwu. Skrócenie to występowało zarówno przy pobraniu krwi z ucha po stronie drażnionego nerwu, jak i z ucha po stronie przeciwległej. Na 9 przypadków drażnienia nerwu sympatycznego w całości skrócenie czasu krzepnięcia po zadrażnieniu nerwu, z następującym powrotem czasu krzepnięcia krwi badane-



Rys. 1. Graficznie przedstawione zmiany czasu krzepnięcia krwi po zadrażnieniu n. współczulnego w całości. (Por. tab. II). (Na osi x — czas pobrania krwi, na osi y — czas jej krzepnięcia; x I, II, III, IV — kolejne podrażnienia nerwu).

Fig. 1. Courbe représentant les changements survenant dans le temps de la coagulation du sang après l'irritation du nerf sympathique total (comparez le tableau II). Sur l'abscisse x — le temps de la prise du sang, sur l'ordonnée y — le temps de sa coagulation; x I, II, III — l'excitation consécutive du nerf.

go zwierzęcia do wartości bliskich początkowej normy wystąpiły w 8-miu przypadkach, zestawionych w tabeli II. W jednym tylko przypadku zmiany te były zatarte przez wikłający doświadczenie krwotok, jaki się zjawiał z ubocznych przyczyn w kilku minutach po zadrażnieniu nerwu i spowodował następowe, coraz to wzrastające, skrócenie czasu krzepnięcia aż do końca doświadczenia,

Tabela II.

1.	Czas krzepn. <i>Le temps de la coagulation</i>		4.	Czas krzepn. <i>Le temps de la coagulation</i>	
Norma <i>En norme</i>	7'1"	*	Norma <i>En norme</i>	4'35"	*
	1*	Drażn. praw. n. współcz. <i>L'excit. d. n. sympath. d.</i>		1*	Drażn. lew. n. współcz. <i>L'excit. d. n. sympath. g.</i>
po <i>après</i> 5'	2'38"	przez <i>pendant</i> 1'	po <i>après</i> 1½'	3'12"	przez <i>pendant</i> 1'
po <i>après</i> 11'	6'37"	cewki <i>bobine</i> 10 cm	po <i>après</i> 5'	4'10"	cewki <i>bobine</i> 15 cm
			po <i>après</i> 13'	4'15"	
2.	Czas krzepn. <i>Le temps de la coagulation</i>		po <i>après</i> 35'	5'2"	*
Norma <i>En norme</i>	5'20"	*		II*	Drażn. lew. n. współcz. <i>L'excit. d. n. sympath. g.</i>
	1*	Drażn. praw. n. współcz. <i>L'excit. d. n. sympath. d.</i>	po <i>après</i> ½'	5'10"	przez <i>pendant</i> 1'
po <i>après</i> 1'	5'20"	przez <i>pendant</i> 1'	po <i>après</i> 9'	4'10"	cewki <i>bobine</i> 10 cm
po <i>après</i> 7'	3'42"	cewki <i>bobine</i> 10 cm	po <i>après</i> 14'	4'15"	
po <i>après</i> 12'	2'37"		po <i>après</i> 22'	4'32"	
po <i>après</i> 20'	4'04"		po <i>après</i> 30'	5'3"	
			po <i>après</i> 39'	4'47"	*
3.	Czas krzepn. <i>Le temps de la coagulation</i>			III*	Drażn. lew. n. współcz. <i>L'excit. d. n. sympath. g.</i>
Norma <i>En norme</i>	5'1"	*	po <i>après</i> 1'	4'50"	przez <i>pendant</i> 2'
	1*	Drażn. lew. n. współcz. <i>L'excit. d. n. sympath. g.</i>	po <i>après</i> 7'	4'25"	cewki <i>bobine</i> 20 cm
po <i>après</i> 3'	5'5"	przez <i>pendant</i> 1'30"	po <i>après</i> 13'	5'30"	*
po <i>après</i> 11'	4'15"	cewki <i>bobine</i> 15 cm		IV*	Drażn. lew. n. współcz. <i>L'excit. d. n. sympath. g.</i>
po <i>après</i> 18'	5'10"		po <i>après</i> 2'	3'27"	przez <i>pendant</i> 1'30"
	II*	Drażn. lew. n. współcz. <i>L'excit. d. n. sympath. g.</i>	po <i>après</i> 6'	3'0"	cewki <i>bobine</i> 15 cm
po <i>après</i> 3'	3'2"	przez <i>pendant</i> 1'7"	po <i>après</i> 12'	4'3"	
po <i>après</i> 10'	3'35"	cewki <i>bobine</i> 12 cm	po <i>après</i> 18'	3'50"	
po <i>après</i> 16'	4'20"		po <i>après</i> 27'	3'49"	
po <i>après</i> 22'	4'25"		po <i>après</i> 32'	3'55"	
po <i>après</i> 30'	4'50"		po <i>après</i> 38'	4'4"	
			po <i>après</i> 47'	4'13"	
			po <i>après</i> 55'	4'52"	

maskując przytem zmiany krzepliwości, zależne od podrażnienia nerwu sympatycznego.

Zupełnie podobny efekt dało również drażnienie końca dolnego szyjnego nerwu współczulnego. Na 6 doświadczeń z drażnieniem końca dolnego tego nerwu, w 5-ciu przypadkach (tab. III)

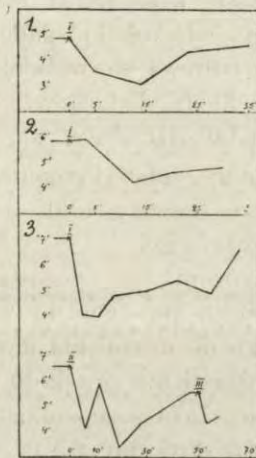
Tabela III.

1.	Czas krzepn. <i>Le temps de la coagulation</i>		3.	Czas krzepn. <i>Le temps de la coagulation</i>	
Norma <i>En norme</i>	4'50"	*	Norma <i>En norme</i>	7'5"	*
	I*			I*	
po <i>après</i> 5'	3'35"	Drażn. lew. n. współcz. końca doln. <i>L'excit. de bout inferieur d. n. sympath. g. przez pendant 1'15"</i> cewki <i>bobine</i> 12 cm	po <i>après</i> 5'	4'5"	Drażn. praw. n. współcz. końca doln. <i>Excit. de bout inferieur d. n. sympath. d. przez pendant 1'30"</i> cewki <i>bobine</i> 13 cm
po <i>après</i> 14'	3'2"		po <i>après</i> 11'	4'0"	
po <i>après</i> 23'	4'23"		po <i>après</i> 17'	4'50"	
po <i>après</i> 35'	4'36"		po <i>après</i> 30'	5'0"	
			po <i>après</i> 42'	5'25"	
		po <i>après</i> 55'	4'55"		
		po <i>après</i> 66'	6'40"		
		po <i>après</i> 2g.55'	6'35"	*	
2.	Czas krzepn. <i>Le temps de la coagulation</i>			II*	Drażn. praw. n. współcz. końca doln. <i>Excit. de bout inferieur d. n. sympath. d. przez pendant 1'30"</i> cewki <i>bobine</i> 12 cm
Norma <i>En norme</i>	5'50"	*	po <i>après</i> 6'	4'10"	
	I*		po <i>aorès</i> 11'	5'55"	
po <i>après</i> 3'	5'54"	Drażn. praw. n. współcz. końca doln. <i>Excit. de bout inferieur d. n. sympath. d. przez pendant 1'30"</i> cewki <i>bobine</i> 12 cm	po <i>après</i> 19'	3'26"	
po <i>après</i> 12'	4'15"		po <i>après</i> 27'	4'15"	
po <i>après</i> 20'	4'40"		po <i>après</i> 47'	5'32"	*
po <i>après</i> 30'	4'50"			III*	Drażn. praw. n. współcz. końca doln. <i>Excit. de bout inferieur d. n. sympath. d. przez pendant 3'</i> cewki <i>bobine</i> 10 cm
			po <i>après</i> 3'	4'25"	
		po <i>après</i> 8'	4'40"		

wystąpiło skrócenie czasu krzepnięcia krwi pobranej po drażnieniu, z następnym powrotem do poziomu, bliskiego początkowej normy. W jednym przypadku skrócenie czasu krzepnięcia było

bardzo nieznaczne i to z powodu zastosowania b. słabego bodźca elektrycznego.

Zestawiając tabele II i III i rys. 1 i 2, widzimy wyraźnie podobieństwo zarówno jakościowe, jak i ilościowe, w wahaniach czasów krzepnięcia po zadrażnieniu szyjnego nerwu współczulnego zarówno w całości, jak i w jego tylko dolnym odcinku. Wahania te mają dość charakterystyczny przebieg, podobny we wszystkich doświadczeniach.



Rys. 2. Graficznie przedstawione zmiany czasu krzepnięcia krwi po zadrażnieniu dolnego końca nerwu współczulnego. (Por. tab. III). (Na osi x — czas pobrania krwi, na osi y — czas jej krzepnięcia; x I, II, III — kolejne podrażnienia nerwu).

Fig. 2. Courbe représentant les changements survenant dans le temps de la coagulation du sang après l'irritation du bout inférieur du nerf sympathique (comparez le tableau III). Sur l'abscisse x — le temps de la prise du sang, sur l'ordonnée y — le temps de sa coagulation; x I, II, III — l'excitation consecutive du nerf.

Można tu zauważyć jednorazowe dość szybkie wychylenie, jakby zwiechnięcie normalnego poziomu krzepliwości krwi w kierunku nadkrzepliwości, z następowym powolnym powrotem krzepliwości do normy.

Tuż po zadrażnieniu nerwu spostrzegamy niekiedy okres jakby utajony, cechujący się niezmiennym czasem krzepnięcia krwi (tab. II, dośw. 2 i 3 oraz tab. III, dośw. 2), trwającym w powyższych doświadczeniach najdłużej do 3', i to tem dłużej, im mniejsze jest skrócenie czasu krzepnięcia dalszych próbek krwi

(tab. II, dośw. 3), w doświadczeniach zaś, gdzie zwiększenie krzepliwości dalszych próbek jest większe, okres utajony jest znacznie krótszy, gdyż pobranie już niekiedy po 1½ minucie (tab. II, dośw. 4, drażn. I) wykazuje wyraźnie skrócenie czasu krzepnięcia.

Po okresie utajonym występuje okres właściwego skrócenia czasu krzepnięcia, trwający rozmaicie długo, conajmniej jednak około 10-ciu minut, zaś najdłużej około 1 godziny (tab. II, dośw. 4, drażn. 4 i tab. III, dośw. 3, drażn. I).

Skracanie się czasu krzepnięcia rozwija się dość szybko i odpowiada mu stromy, najczęściej spadek krzywej na wykresach, powrót do normy odbywa się wolniej, krzywe podnoszą się łagodnie, wykazując niekiedy dodatkowe, wtórne wahania (tab. II, dośw. 4, drażn. IV i tab. III, dośw. 3).

Maksimum skrócenia czasu krzepnięcia przypada w tych doświadczeniach na okres między 1'30" a 19', licząc od końca drażnienia nerwu współczulnego.

Wielkość tego skrócenia: 1^o, pozostaje, w niektórych doświadczeniach, w stosunku prostym do wielkości bodźca elektrycznego, zastosowanego do drażnienia nerwu (tab. II, dośw. 3); drażnienie nerwu przy ustawieniu cewek du Bois - Reymonda na 15 cm daje skrócenie czasu krzepnięcia z 5'1" na 4'15", przy zbliżeniu cewek na 12 cm skrócenie z 5'10" na 3'2", podobny wynik ilustruje tabl. II dośw. 4, drażn. III i IV; 2^o, pozostaje w zależności od właściwości osobniczych (stan napięcia układu roślinnego?) zwierzęcia doświadczalnego, tak że pobudzenie nerwu sympatycznego bodźcem elektrycznym tej samej siły, u dwóch różnych zwierząt, daje zupełnie różne krzepliwości krwi, pod względem ilościowym.

Największa wartość skrócenia czasu krzepnięcia wyniosła w doświadczeniach tych blisko 70% normalnego czasu krzepnięcia (tab. II, dośw. 1), przeciętnie jednak była znacznie mniejsza, wynosząc około 30% początkowego czasu krzepnięcia i wyrażała się skróceniem w porównaniu z normą, o 1½—2 minuty.

Zmiany krzepliwości po zadrażnieniu nerwu współczulnego dają się wywołać także kilka razy z rzędu, przy kilkakrotnem drażnieniu nerwu zarówno w całości, jak i samego końca dolnego tego nerwu (tab. II, dośw. 3 i 4, oraz tab. III, dośw. 3).

Wpływ pobudzenia końca dogłowego, szyjnego nerwu współczulnego.

Zupełnie odmiennie przedstawiają się skutki pobudzenia końca dogłowego szyjnego nerwu współczulnego. W doświadczeniach moich na 6 doświadczeń z drażnieniem końca dogłowego tego nerwu, w 2 przypadkach wystąpiło, w jednym pobraniu nieznaczne skrócenie czasu krzepienia, również w 2 przypadkach wystąpiło nieznaczne przedłużenie czasu krzepienia po zadrażnieniu nerwu. W pozostałych 2 przypadkach czas krzepienia pozostał całkowicie bez zmian.

Pewną metodyczną trudność w tych doświadczeniach nastęrczał fakt, że podrażnienie końca dogłowego nerwu współczulnego powodowało przez skurcz naczyń anemizację ucha po stronie drażnienia, co utrudniało pobieranie krwi. Próby krwi, które wykazały nieznaczne zresztą zmiany czasu krzepienia, zachodziły właśnie z ucha po stronie drażnionego nerwu, pobrania natomiast z ucha po stronie przeciwległej najczęściej zmian krzepliwości nie wykazały. Zatem te drobne i nieregularne zmiany krzepliwości, jakie występują po zadrażnieniu końca dogłowego szyjnego nerwu współczulnego, przy pobraniach krwi z ucha po stronie drażnionego nerwu, zależą najprawdopodobniej od zakłócenia warunków pobierania próbek krwi do oznaczeń (konieczność dłuższego trzymania zacisków na wolnej wypełniających się żyłach, zmieniona szybkość wypływania krwi i t. d.). Trudno natomiast mówić tu o jakimś wyraźnym wpływie końca dogłowego szyjnego nerwu współczulnego na właściwości samej krwi na danem terytorjum tkankowym, a tembardziej w całym ustroju.

Widzimy zatem, że drażnienie wyłącznie końca dogłowego szyjnego nerwu współczulnego nie daje dość wyraźnych i jednokierunkowych zmian krzepliwości, jakie stwierdziliśmy po zadrażnieniu nerwu współczulnego w całości lub jego końca dolnego, dośrodkowego.

Wpływ pobudzenia nerwu błędnego na krzepliwość krwi.

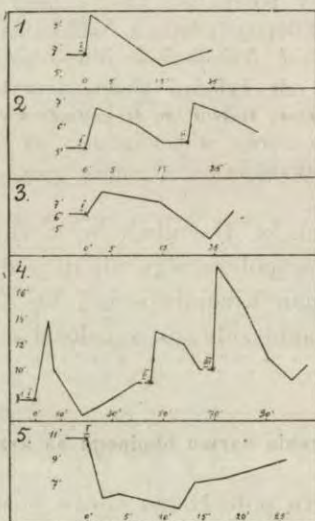
Badanie wpływu pobudzenia nerwu błędnego na krzepliwość krwi przeprowadziłem w 9-ciu przypadkach, na królikach.

Nerwy błędne preparowałem na szyi. Po przecięciu drażniłem koniec obwodowy w pięciu przypadkach prawego nerwu błędnego, w trzech przypadkach lewego. W jednym wreszcie przypadku drażniłem prawy nerw błędny nieprzecięty, w całości.

Wyniki pierwszych doświadczeń zmusiły do wprowadzenia pewnych ulepszeń w metodyce oznaczania zmian czasu krzepnięcia: — chcąc ściśle wykreślić krzywą tych zmian, należało wyznaczyć liczniejsze jej punkty, a więc starać się odpowiednio częściej pobierać krew do oznaczeń. Na przeszkodzie temu stawał przedłużony czas krzepnięcia próbek krwi, pobranych po zadrażnieniu nerwu błędnego, powodujący, że od pobrania do pobrania upływa niejednokrotnie do 10-ciu i więcej minut, gdyż każdą następną próbkę krwi mogłem pobrać do koagulometru dopiero wtedy, gdy skrzepła już poprzednia i obserwacja jej była ukończona. Aby ominąć tę przeszkodę, zacząłem używać naraz 2 koagulometry i 2 mikroskopy, dzięki czemu mogłem oznaczać czas krzepnięcia w odstępach dwa razy krótszych. Pozatem technika doświadczeń była takąż, jak w doświadczeniach z drażnieniem szyjnego nerwu współczulnego.

Drażniąc obwodowy koniec nerwu błędnego w 8-miu przypadkach, w 7-miu z nich zaobserwowałem zmniejszenie krzepliwości krwi, występujące bezpośrednio po zadrażnieniu nerwu. W jednym zaledwie doświadczeniu drażnienie końca obwodowego prawego nerwu błędnego pozostało bez wyraźnego wpływu na czas krzepnięcia krwi.

Charakter zmian krzepliwości, występujących w tej serii doświadczeń, ilustrują dane cyfrowe, zestawione w tabeli IV, oraz krzywe, przedstawione na rys. 3.



Rys. 3. Graficznie przedstawione zmiany czasu krzepnięcia krwi po zadrażnieniu nerwu błędnego w całości (krzywa 5) oraz jego końca obwodowego (krzywe 1, 2, 3, 4). (Por. tab. IV) (Oznaczenia — jak w rys. 1 i 2).

Fig. 3. Courbe représentant les changements survenants dans la coagulation du sang après l'irritation u nerf vague total (courbe 5) ainsi que de son bout périphérique (courbe 1, 2, 3, 4) (comparez le tableau IV.)

Tabela IV.

1.			4.		
Czas krzepn. <i>Le temps de la coagulation</i>			Czas krzepn. <i>Le temps de la coagulation</i>		
Norma <i>En norme</i>	6'45"	*	Norma <i>En norme</i>	7'40"	*
	I*	Drażnienie końca obwod. praw. n. błędn. <i>Excit. de bout peripherique d. n. vague d.</i>	po <i>après</i>	I*	Drażnienie końca obwod. lew. n. błędn. <i>Excit. de bout peripherique d. n. vague g.</i>
po <i>après</i>	1' 9'57"	przez <i>pendant</i>	5' 13'55"		przez <i>pendant</i>
po <i>après</i>	15' 5'50"	30"	7½' 10'00"		1'
po <i>après</i>	25' 7'1"	cewki <i>bobine</i>	8½' 6'30"		9 cm
		10 cm	po <i>après</i>	24' 7'7"	
			po <i>après</i>	30' 8'00"	
			po <i>après</i>	40' 9'00"	*
2.	Czas krzepn. <i>Le temps de la coagulation</i>		po <i>après</i>	48' II*	Drażnienie końca obwod. lew. n. błędn. <i>Excit. de bout peripherique d. n. vague g.</i>
Norma <i>En norme</i>	5'22"	*	po <i>après</i>	8' 13'00"	przez <i>pendant</i>
	I*	Drażnienie końca obwod. praw. n. błędn. <i>Excit. de bout peripherique d. n. vague d.</i>	po <i>après</i>	13' 12'00"	1'
po <i>après</i>	2' 6'45"	przez <i>pendant</i>	po <i>après</i>	19' 10'05"	cewki
po <i>après</i>	10' 6'11"	1'	po <i>après</i>	24' III*	9 cm
po <i>après</i>	15' 5'25"	cewki <i>bobine</i>	po <i>après</i>	2' 18'00"	*
		10 cm	po <i>après</i>	12' 15'15"	Drażnienie końca obwod. lew. n. błędn. <i>Excit. de bout peripherique d. n. vague g.</i>
			po <i>après</i>	22' 10'55"	przez <i>pendant</i>
po <i>après</i>	1' 6'59"	*	po <i>après</i>	31' 9'13"	1'30"
po <i>après</i>	7' 6'30"	Drażnienie końca obwod. praw. n. błędn. <i>Excit. de bout peripherique d. n. vague d.</i>	po <i>après</i>	38' 10'20"	cewki
po <i>après</i>	14' 5'45"	przez <i>pendant</i>			9 cm
		2'			
		cewki <i>bobine</i>			
		10 cm			
3.	Czas krzepn. <i>Le temps de la coagulation</i>		5.	Czas krzepn. <i>Le temps de la coagulation</i>	
Norma <i>En norme</i>	6'15"	*	Norma <i>En norme</i>	10'45"	*
	I*	Drażnienie końca obwod. praw. n. błędn. <i>Excit. de bout peripherique d. n. vague d.</i>	po <i>après</i>	I*	Drażnienie całego praw. n. błędn. <i>Excit. d. n. vague d. total</i>
po <i>après</i>	3' 8'3"	przez <i>pendant</i>	2' 6'00"		przez <i>pendant</i>
po <i>après</i>	14' 7'13"	1'	po <i>après</i>	4' 6'20"	1'
po <i>après</i>	24' 4'15"	cewki <i>bobine</i>	po <i>après</i>	12' 5'15"	cewki
po <i>après</i>	29' 6'31"	8 cm	po <i>après</i>	14' 7'5"	10 cm
			po <i>après</i>	18' 7'37"	
			po <i>après</i>	26' 9'03"	

Widzimy z powyższych danych, że zadrażnienie obwodowego końca nerwu błędnego powoduje wybitne zmniejszenie krzepliwości krwi.

Przedłużenie czasu krzepnięcia krwi występuje bezpośrednio po zadrażnieniu nerwu błędnego, nie spostrzegamy tu okresu utajonego — tak, że pierwsze pobranie krwi po skończonem drażnieniu wykazuje już wybitne przedłużenie czasu krzepnięcia nawet wtedy, gdy pobieramy krew już po 1 minucie od końca drażnienia nerwu (tab. IV, dośw. 1 i 2).

Na to pierwsze pobranie przypada też we wszystkich doświadczeniach szczyt przedłużenia czasu krzepnięcia, co występuje w okresie pierwszych 5-ciu minut po zadrażnieniu.

Wielkość przedłużenia czasu krzepnięcia jest niekiedy tak znaczna, że czas ten prawie się podwaja (tab. IV, dośw. 4, drażnienie III), w innych przypadkach przedłuża się o ca. 30% uprzedniej wartości. W dalszych próbach krwi te odchylenia od normy stopniowo maleją, przyczem występuje niekiedy spadek nawet poniżej wartości normalnego czasu krzepnięcia, kiedy krew staje się bardziej krzepliwa, niż w normie (tab. IV, w dośw. 1, 3, 4 — na 15-tej, 24-tej i 18½ minucie po zadrażnieniu nerwu).

W dalszych pobraniach czas krzepnięcia wraca wreszcie do wartości zbliżonych do normy, co zachodzi po upływie około 30' po skończonym drażnieniu.

Na podstawie powyższych danych przebieg zmian krzepliwości, po zadrażnieniu obwodowego końca nerwu błędnego da się podzielić na trzy fazy:

1-sza z nich, to szybkie zmniejszenie się krzepliwości natychmiast po zadrażnieniu;

2-ga, stopniowy wzrost krzepliwości, aż do wystąpienia niekiedy pewnej nadkrzepliwości, w porównaniu z normą;

3-cia, powrót krzepliwości do poziomu bliskiego początkowej normy.

Całokształt opisywanego zjawiska rozgrywa się w czasie 20—30 minut.

Wpływ na krzepliwość krwi wykazuje zarówno pobudzenie końca obwodowego prawego, jak i lewego nerwu błędnego.

Zmiany krzepliwości dają się wykazać zarówno przy pobraniach krwi z ucha po stronie drażnionego nerwu, jak i po stronie przeciwległej.

Ostatnie doświadczenie (tab. IV, dośw. 4) poucza, że przemijające zmniejszenie krzepliwości, po zadrażnieniu końca obwodowego nerwu błędnego, daje się wywołać kilka razy z rzędu w odstępach 30—40', na tem samym zwierzęciu doświadczalnym.

Jedno wreszcie doświadczenie dotyczyło wpływu na krzepnięcie podrażnienia całego, t. j. nieprzeciętego nerwu błędnego. Należało tu się liczyć ze skutkami pobudzenia nie tylko włókien odśrodkowych tego nerwu, jak w poprzednich doświadczeniach, lecz także i włókien dośrodkowych, dającego w efekcie szereg odruchów narządu oddechowego i krążenia i będącego zarazem silnym bodźcem bólowym.

Wynik doświadczenia przedstawia nam tab. IV, dośw. 5.

Mamy tu do czynienia z wyraźnym skróceniem czasu krzepnięcia krwi pobranej po zadrażnieniu całego nerwu błędnego, i ta zwiększona krzepliwość trwa przeszło 20 minut, poczem czas krzepnięcia zaczyna zbliżać się do początkowej normy.

Widzimy więc, że podrażnienie nerwu błędnego nieprzeciętego odbija się również wyraźnie na krzepliwości krwi, przyczem kierunek tych zmian jest wręcz przeciwny, niż po zadrażnieniu samego końca obwodowego.

Jak wykazały prace Cannon'a i Mendenhall'a (14), silny bodziec bólowy (w pracy tych autorów podrażnienie elektryczne pnia dużego nerwu czuciowego) może być przyczyną okresowego wzrostu krzepliwości krwi, możliwym więc jest, że ten właśnie moment odgrywa tu rolę, przechylając krzepliwość w kierunku jej zwiększenia i maskując przez to uprzednio stwierdzany efekt pobudzenia końca obwodowego włókien odśrodkowych.

Trudno narazie ustalić coś więcej, gdyż pobudzenie całego pnia nerwu błędnego w obu kierunkach jest bodźcem zbyt złożonym i skomplikowanym w skutkach, by móc już teraz, na podstawie posiadanego materiału, dyskutować nad mechanizmem jego działania na krzepliwość krwi.

D y s k u s j a.

Zanim przystąpię do rozważań nad prawdopodobnymi mechanizmami, zapomocą których pobudzenie nerwu współczulnego, względnie błędnego, może powodować zmiany krzepliwości krwi, postaram się bliżej sprecyzować charakter stosowanych w moich doświadczeniach bodźców nerwowych, wywołujących te zmiany, pozatem zorientować się co do możliwych dróg ich przebiegu

w obrębie układu autonomicznego i co do terytorjum tkankowego, na jakie działają.

W przypadku podrażnienia nerwu błędnego na szyi mamy do czynienia, przy drażnieniu jego końca obwodowego, ze zmniejszeniem krzepliwości krwi, jako wyrazem bezpośredniego zadziałania tego nerwu na unerwione przezeń terytorjum.

Przy drażnieniu całego nerwu błędnego na szyi, do efektu podrażnienia włókien odśrodkowych dołącza się efekt pobudzenia włókien dośrodkowych — charakteru odruchowego. Efekt działania tego odruchu na krzepliwość krwi jest identyczny z działaniem pobudzenia nerwu sympatycznego, przypuścić nawet można, że droga odśrodkowa w tym odruchu mogłaby biec poprzez układ sympatyczny.

Jako przedstawiciela układu sympatycznego drażniliśmy szyjny nerw sympatyczny, jedyny nerw współczulny technicznie stosunkowo łatwo dostępny, którego wyszukanie i odpreparowanie stanowi zabieg lekki w porównaniu z wyszukaniem i odpreparowaniem jakiegokolwiek innego nerwu z układu współczulnego. Wpływy zatem uboczne zabiegu ciężkiego dla zwierzęcia doświadczalnego, z ich działaniem na krzepliwość krwi, były redukowane do możliwego w tego rodzaju doświadczeniach ostrych, minimum.

Zwiększenie krzepliwości krwi występowało po drażnieniu końca dolnego szyjnego nerwu współczulnego.

Koniec dogłowy szyjnego nerwu współczulnego, prowadzący włókienka naczynioruchowe do naczyń głowy, włókienka do mięśnia rozszerzającego źrenicę, do gładkich mięśni oczodołu, mięśni przywłosnych, włókienka wydzielnicze do ślinianek, gruczołów potnych i łzowych — słowem zespół włókien o skończonym i znanym zakresie działania — nie wykazuje wyraźnego wpływu na krzepliwość krwi.

Jak więc możnaby tłumaczyć działania na krzepliwość pobudzenia właśnie dolnego końca tego nerwu?

Istnieje pogląd, że szyjny nerw współczulny prowadzi włókienka tylko odśrodkowe, że włókien dośrodkowych w szyjnym nerwie współczulnym brak i że „drażnienie końca dolnego tego nerwu nie daje żadnego odruchu” (A. B e e k. Fizjologia człowieka 1915 r., str. 383).

Tymczasem w powyżej przytoczonych doświadczeniach mamy do czynienia z wyraźnym wpływem na krzepliwość pobudzenia właśnie dolnego końca szyjnego nerwu współczulnego.

Niewiadomo, którądy dalej biegnie ten bodziec, czy do ośrodków, położonych obwodowo w zwojach sympatycznych, bądź ośrodków w rdzeniu, czy rdzeniu przedłużonym, czy we wzgórkach wzrokowych i tam gdzieś przeskakuje z drogi dośrodkowej na odśrodkową i, jeśli jest tak, to wzrost krzepliwości krwi jest „odruchem” z pobudzenia szyjnego nerwu współczulnego, biegnącym poprzez krótki bądź długi łuk, odruchem w ścisłym słowa tego znaczeniu; może być także zjawiskiem odruchu osiowego — t. zw. „Axonreflex”, biegnącego przez kolaterale drażnionych w szyjnym nerwie współczulnym włókienek.

Tak czy inaczej, jedynym wytłumaczeniem spostrzeżanego faktu jest przyjęcie możności przenoszenia się dośrodkowego bodźców nerwowych w szyjnym nerwie współczulnym i prawdopodobieństwa przenoszenia się podrażnienia szyjnego nerwu współczulnego tą właśnie drogą ku mechanizmom, wpływającym na krzepliwość krwi.

Za tem, że istnieją takie drogi dośrodkowe w szyjnym nerwie współczulnym, łączące ten nerw z całym pasmem współczulnym, przemawiają dane histologiczne, przytaczane przez Funak'a (27). Autor ten wycinał u kotów kawałek pasma współczulnego, długości blisko 2 cm., tuż ponad dolnym zwojem szyjnym nerwu współczulnego (*ggl. cervic. inf.*) i po 7 — 21 dniach znajdował zmiany degeneracyjne nie tylko w gałązkach obwodowych szyjnego nerwu współczulnego, lecz także w niżej położonych odcinkach całego pasma współczulnego.

Możliwe, że takimi właśnie drogami przerzuca się zadrażnienie końca dolnego szyjnego nerwu współczulnego, na niżej położone części układu sympatycznego, choć trudno narazie powiedzieć, o jakie dokładnie części układu współczulnego tu chodzi i którądy dalej biegnie nasz bodziec nerwowy, wyzwalający zmiany krzepliwości krwi.

W toku pracy niniejszej, starałem się zaznajomić z badaniami z tej dziedziny, i w dostępnej mi literaturze obcej znalazłem dwie prace, poruszające zagadnienia b. zbliżone do tematu pracy niniejszej.

Pierwsza z nich to, praca autorów angielskich Cannon i Mendenhall'a ('14), którzy uzyskiwali u kotów zwiększenie krzepliwości krwi pobieranej z *art. femoralis*, przez drażnienie końców dobrzusznych nerwów trzewnych¹⁾ (*n. n. splanchnici*).

Zwiększenie krzepliwości nie występowało po usunięciu nadnerczy, stąd tłumaczą oni zmiany krzepliwości po drażnieniu nerwów trzewnych wydzielaniem się adrenaliny, która według innej pracy tychże autorów ma w pewnych warunkach dawać zwiększenie krzepliwości krwi. Ponieważ te z kolei zmiany zależne są od czynności wątroby i nie występują w razie jej usunięcia, zaś drażnienie bezpośrednio nerwów, zaopatrujących wątrobę i jelita, nie przyspiesza krzepnięcia, tłumaczą autorowie obserwowane przez nich skrócenie czasu krzepnięcia po zadrażnieniu nerwów trzewnych ostatecznie przez działanie „wydzieliny nadnercza” na „wątrobę, a może i jelita” w sensie wytwarzania w tych narządach jakichś czynników, wpływających na krzepnięcie.

O ile sprawą wpływu nerwów trzewnych (sympatycznych) zajmowali się Cannon i Mendenhall, dwaj inni autorzy Plattner i Koderer ('28), drażnili nerw błędny, i znajdowali zmniejszenie krzepliwości krwi, pobieranej z *art. carotis* lub przedsiionków, które wyrażało się przedłużeniem czasu krzepnięcia krwi, oznaczanego metodą Bürkera, o $\frac{1}{2}$ do 1 minuty, w porównaniu z normą. Wpływ ten sprowadzają Plattner i Koderer do antagonistycznego oddziaływania nerwu błędnego w stosunku do działania nerwu trzewnego, powołując się na pracę Cannon'a i Mendenhall'a.

Pomimo zastrzeżeń, co do słuszności stanowiska, jakie zajmują Cannon i Mendenhall oraz Plattner i Koderer w tłumaczeniu swoich spostrzeżeń, widzimy, że autorzy ci, którzy przeprowadzili podobne do naszych doświadczenia, z zastosowaniem innej metodyki, uzyskiwali wyniki jakościowo zgodne z wynikami doświadczeń naszych odnośnie działania drażnienia nerwu sympatycznego lub błędnego na krzepliwość.

¹⁾ Należy zaznaczyć, że te zmiany krzepliwości występowały również niekiedy dopiero „po krótkiej zwłoce” (dosł.), a więc też jakby po pewnym okresie utajonym, jaki się dawał spostrzegać, odnośnie nerwu współczulnego, w moich doświadczeniach.

Ponadto zaznaczyć jeszcze należy, że pierwszy, który obserwował zmniejszenie krzepliwości wskutek zadrażnienia prądem elektrycznym obwodowego końca nerwu parasympatycznego (struny bębenkowej), był Popielski ('13).

Co się tyczy teorii Cannon'a i Mendenhall'a to możliwe, że faktycznie odtwarza ona jedną z dróg, jaką stany czynne układu wegetatywnego działają na właściwości krwi; możliwe, że nie pozbawioną jest słuszności, pomimo, że jeśli chodzi o działanie adrenaliny na krzepliwość krwi, nie jest rzeczą pewną, iż wzrost jej zawartości w krwiobiegu faktycznie ma powodować zwiększenie krzepliwości, jak twierdzą Cannon i Mendenhall, szereg bowiem innych autorów (Wiggers '09, Dalle, Laidlow '12), takiego działania adrenaliny stwierdzić nie mogli, zaś Howell i Hirayama ('25) znajdowali nawet powstawanie pewnej niedokrzepliwości po wprowadzeniu zwierzętom adrenaliny ¹⁾.

Dane, przytoczone przez Cannon'a i Mendenhall'a, nie mogą w każdym razie bez zastrzeżeń wytłumaczyć całokształtu działania podrażnienia nerwów autonomicznych na krzepliwość, skoro mamy przed sobą fakt, że przez drażnienie szyjnego nerwu współczulnego, anatomicznie i czynnościowo tak odległego od nadnerczy, udaje się wywołać wybitne zmiany krzepliwości, jakie widzieliśmy w powyżej przytoczonych naszych doświadczeniach.

Istnieją zatem prawdopodobnie także mechanizmy zachodzące na innej drodze niż działanie drogą:

ukł. symp. —> *splanchnicus* —> adrenalina — $\begin{matrix} \nearrow \text{wątrobą} \\ \searrow \text{jelita} \end{matrix}$

Zdawać sobie jasno sprawę ze wszystkich tych czynników narazie oczywiście niepodobna, ze znanych jednak już teraz zwrócić należy uwagę na zmiany właściwości fizyczno-chemicznych i morfologicznych krwi, powodowane przez stan czynny nerwów autonomicznych.

¹⁾ Bardziej szczegółowo nad tą sprawą nie będę się zastanawiał, postaram się wyczerpująco ją zreferować w dalszej pracy w związku z wykonaniem już częściowo, badaniami nad działaniem adrenaliny na krzepliwość krwi „in vivo” i „in vitro”.

Wymienię tu chociażby fakt zatrzymania płytek Bizzozero w sieci najdrobniejszych naczyń po zadrażnieniu nerwu błędnego (Czubalski), co się w zupełności pokrywa z występującym w doświadczeniach spadkiem krzepliwości krwi po zadrażnieniu tego nerwu, możliwe, że częściowo właśnie wskutek zubożenia krwi żyłnej w te elementy skrzepotwórcze.

Drugim czynnikiem, jaki wskazać należy, są zmiany pH krwi, występującej przy drażnieniu nerwów autonomicznych (Czubalski), a mianowicie przesunięcie wartości pH krwi ku górze, po drażnieniu nerwu błędnego, czyli zwiększenie się wtedy zasadowości krwi, oraz jej zmniejszenie wskutek podrażnienia nerwu współczulnego. Jak wykazały badania Funka ('21), Wöhlischa ('24) i innych autorów, łatwość wypadania fibrynogeny z roztworu zależy w dużej mierze od pH środowiska, przy czem granice, w których najłatwiej się ścina, leżą między $\text{pH} = 4,0$ a $\text{pH} = 9,0$ przy optimum $\text{pH} = 4,7$ (Funk). Także strącanie fibryny przez trombinę pozostaje w zależności od pH środowiska, przy czem różni autorzy przytaczają zbliżone wartości optymalnego dla działania trombiny pH środowiska, które według Schulza ('29) wynosi 6,48, Kugelmasa ('23) 7,0, Kuwashimy ('29) 6,6, Tsunoo ('29) 6,4—6,6.

Biorąc pod uwagę, że przeciętne wartości pH krwi królika wahają się dookoła wartości 7,4—7,6, widzimy, że każde przesunięcie tych wartości w kierunku zmniejszenia po drażnieniu nerwu sympatycznego zbliża wartość pH krwi zwierzęcia do wartości optymalnych dla strącania się fibrynogeny i działania trombiny, zaś po zadrażnieniu nerwu błędnego, pH krwi oddala się jeszcze bardziej od tych wartości optymalnych, przesuwając się ku cyfrom wyższym. Zatem i na tej drodze mogą zachodzić zmiany właściwości skrzepotwórczych krwi, po zadrażnieniu nerwu współczulnego względnie błędnego.

Poszukując dalszych mechanizmów oddziaływania nerwów autonomicznych na krzepliwość krwi, pamiętać należy także o możliwości zmian poziomu jonów Ca^{++} we krwi, pod wpływem regulacji układu autonomicznego. Zagadnienie to, do ostatniej chwili konkretnie nie rozwiązane, usiłowałem badać przez

zastosowanie elektrody wapniowej, celem potencjometrycznego oznaczania zawartości wolnych jonów wapniowych w próbkach krwi, pobranej po zadrażnieniu nerwu współczulnego i nerwu błędnego, ze względu jednak na trudności metodyczne, spowodowane brakiem odpowiedniej elektrody wapniowej, wypadło rzec się dalszych doświadczeń w tym kierunku. Prace ostatniej doby, jakie można znaleźć w piśmiennictwie (Leites '27, Jendrassik '27, Tsuda '30, Lamelas '30), także nie dają jeszcze rozwiązania tego zagadnienia, trudno więc narazie konkretnie mówić o roli wapnia w przenoszeniu pobudzenia nerwów autonomicznych na właściwości skrzepotwórcze krwi — zagadnienie to stoi otworem.

Co się tyczy kwestji wywiązywania się z różnych narządów ciał sprzyjających krzepnieniu wskutek pobudzenia nerwów współczulnych, możliwości tu są bardzo szerokie. Obok wysuwanej przez Cannon'a i Mendenhall'a teorii oddziaływania na krzepliwość drogą *splanchnicus* → adrenalina → wątroba i jelita, możnaby tłumaczyć zmiany krzepliwości pod wpływem pobudzenia nerwów współczulnych powstawaniem ciał, sprzyjających krzepnieniu także w innych tkankach, naprzykład w samym łożysku krwionośnym. Za możliwością tego przemawiają badania Popielskiego i Czubalskiego ('17), które ustalały zależność krzepliwości krwi od śródbłonek naczyń krwionośnych jamy brzusznej. Znanym jest także fakt, że płyny, uzyskiwane z najrozmaitszych tkanek, zmacerowanych w roztworze fizjologicznym, posiadają silne działanie skrzepotwórcze. Jak wykazują badania Arthusa ('30) bardzo silne działanie skrzepotwórcze posiadają płyny, uzyskane ze zmacerowanych ścian wszelkich naczyń krwionośnych, przyczem ściany tętnie zawierają jakoby większą ilość ciał sprzyjających krzepnieniu, niż ściany naczyń żylnych. Biorąc pod uwagę reakcję naczynioruchową, występującą przy pobudzeniu nerwów współczulnych, możnaby myśleć o mechanicznem niejako wytłaczaniu tych ciał sprzyjających krzepnieniu z kurczących się ścian łożyska tętniczego.

Rzecz oczywista, że jest to tylko hipoteza, wymagająca dowodów doświadczalnych.

Na ostatku zaznaczyć pragnę, że co się tyczy prób ścisłego ograniczania i umiejscawiania w narządach mechanizmów oddzia-

lywania nerwów autonomicznych na krzepliwość krwi, sędzę, że wpiery wyświelić i zlokalizować należy mechanizmy zmian fizyczno-chemicznych i morfologicznych krwi, jakie występują przy drażnieniu nerwów autonomicznych, a także nigdy nie sprowadzać całokształtu zmian krzepliwości do jakiegoś jednego mechanizmu, pamiętając, że krzepliwość jest właściwością sumaryczną krwi, mogącą zależeć od wielu naraz czynników, których miejscę powstania mogą być też rozlokowane w wielu naraz narządach i tkankach.

Streszczenie wyników.

1°. Drażnienie nerwu współczulnego na szyi powoduje szybki wzrost krzepliwości krwi z następującym powolnym powrotem krzepliwości do normy.

Wzrost krzepliwości występuje niekiedy po krótkim okresie utajonym, cechującym się niezmiennym czasem krzepnięcia krwi. Okres trwania nadkrzepliwości wynosi od 10' do 1 godziny po zadrażnieniu nerwu.

Szczyt nadkrzepliwości przypada na okres pierwszych kilku lub kilkunastu minut po zadrażnieniu, przyczem czas krzepnięcia krwi zmniejsza się przeciętnie o 30% swej wielkości w normie.

Wpływ taki wykazuje drażnienie nerwu w całości, a po przecięciu drażnienie jego końca dolnego, dośrodkowego, podczas gdy drażnienie końca dogłowego nie wykazuje tak wyraźnego wpływu na krzepliwość krwi.

2°. Drażnienie obwodowego końca nerwu błędnego powoduje natychmiastowe zmniejszenie się krzepliwości krwi z następnym powrotem krzepliwości do poprzedniego poziomu, czyto bezpośrednio, czy też niekiedy po krótkotrwałem zwiększeniu krzepliwości.

Czas trwania niedokrzepliwości wynosi około 20'—30' po zadrażnieniu nerwu.

Szczyt niedokrzepliwości przypada na okres pierwszych pięciu minut po zadrażnieniu, przyczem czas krzepnięcia krwi przedłuża się niekiedy aż dwukrotnie w porównaniu z normą.

3°. Drażnienie nerwu błędnego w całości, nieprzeciętego, powoduje wręcz przeciwnie wzrost krzepliwości krwi, trwający przez blisko 20' po zadrażnieniu.

4°. Przy kilkakrotnem drażnieniu zarówno nerwu współczulnego jak i błędnego opisane zmiany krzepliwości można wywołać kilkakrotnie na tem samym zwierzęciu doświadczalnym.

5°. Zmiany krzepliwości krwi, wywołane przez drażnienie nerwów współczulnego i błędnego, pozostają zapewne w związku ze zmianami w rozmieszczeniu płytek Bizzozero w krwiobiegu (Czubalski '30) oraz zmianami pH krwi, wpływającymi na łatwość wypadania włóknika, możliwe, że i ze zmianami poziomu Ca⁺⁺ we krwi. Prawdopodobnem jest także wywiązywanie się pewnych ciał czynnych z wątroby i jelit (Cannon i Mendenhall '14)) oraz wytłaczanie podobnych ciał, sprzyjających krzepnięciu, ze ścian naczyń krwionośnych w trakcie reakcji naczynioruchowej.

Piśmiennictwo.

Arthus. 1930. De l'action coagulante des tissus vasculaires. C. R. Soc. Biol. 103 (1067). Brinkman und v. d. Velde. 1924. Nachweis einer momentanen Zunahme der kapillaractiven Substanzen des Kaninchenblutes unmittelbar nach directer oder reflektorischer Vagusreizung. Pflug. Arch. 207 (492). Cannon and Mendenhall W. L. 1914. Factors affecting the coagulation time of blood. Amer. J. of Physiol. 34 (225). Czubalski Fr. 1917. Wyciągi z narządów, a wydzielanie wewnętrzne. Gaz. Lekarska 1. Czubalski Fr. 193. Les modifications de la coagulation et de la constitution du sang pendant la digestion. C. R. d. Soc. Biol. 90 (301). Czubalski Fr. 1928. Zmiany właściwości i składu krwi pod wpływem bodźców nerwowych. Vestnik VI Sjezdu Cesko-Slov. prir. lekaru a inż. w Praze. Czubalski Fr. 1928. Zmiany właściwości i składu krwi pod wpływem czynników fizjologicznych. Lijecnicki Vjesnik. 11. Czubalski Fr. 1930. Wpływ podrażnień nerwu błędnego i współczulnego na liczbę płytek Bizzozero i ciałek białych, stężenie jonów wodorowych krwi, jej krzepliwość i współczynnik refraktometryczny. Med. Dośw. i Społ. 11 (45). Dale H. and Laidlaw, wedł. E. Wöhlischa. Dresel. 1924. Zur Pathogenese und Differentialdiagnose vegetativer Störungen. Klin. Wochschrft. (311). Funaoka. 1927. Ueber den Verlauf der markhaltigen Nervenfasern im Halssympathicus bei der Katze. Ber. ü. ges. Phys. 42 (716). Funk, wedł. E. Wöhlischa. Hirayama. 1925. On the influence of the intravenous injection of adrenalin on the coagulation time of blood in the rabbit. Ber. ü. ges. Phys. 33 (568). Howell, wedł. E. Wöhlischa. Jendrasik. 1927. Wirkt Adrenalin durch Vermittlung von Calcium? Ber. ü. ges. Phys. 46 (143). Krause W. 1884. Die Anatomie des Kaninchens. Leipzig. Kugelmass. 1923. Contribution physico-chemique au mécanisme de la coagulation du sang. Arch. internat. Physiol. 21 (139). Kuwashima, wedł. E. Wöhlischa. La-

melas. 1930. Blood calcium after sympathectomy, adrenin injection and sham rage. Ber. ü. ges. Phys. 56 (730). Leites. 1927. Ueber die Beziehung zwischen dem vegetativen Nervensystem und den Electrolyten (K, Ca) des Serums. Ber. ü. ges. Phys. 41 (235). Plattner F. und Koderer J. 1928. Die Einflüsse der Vagusreizung auf die Gerinnungszeit des Blutes. Pflüg. Arch. 219 (564). Popielski. 1911. Niekrzepliwość krwi w odruchowej czynności wydzielniczej ślinianek i gruczołu trzustkowego. Roczn. Krak. Akad. Um. S. III, 11, Dz. B. (281). Riccitelli. 1928. Sull meccanismo della trasmissione umorale dell'azione del rago secondo il Loewy. Ber. ü. ges. Phys. 51 (97). Schulz F., wedl. E. Wöhlisch'a. Tsuda. 1930. Ueber die Beziehung der vegetativen Nerven zu dem Kalium- und Calciumgehalt des Blutes. Ber. ü. ges. Phys. 56 (540). Tsukiji Yoshinobu. 1927. Ueber das Wesen des sogenannten Vagusstoffes. Ber. ü. ges. Phys. 45 (517). Tsunoo, wedl. E. Wöhlisch'a. Wiggers, wedl. E. Wöhlisch'a. Wöhlisch E. 1924. Die Physiologie und Pathologie der Blutgerinnung. Ergebnisse der Physiol. 28 (553). Zondek S. G. 1927. Die Elektrolyte. Berlin.

[Zakład Fizjologii i Nauki Żywnienia Zwierząt w Uniwersytecie Jagiellońskim].

F. Rogoziński i J. Ciecchanowska.

O krzywicy doświadczalnej. IV. Pszenica jako pokarm wywołujący krzywicę.

Sur le rachitisme expérimental. IV. Le blé comme aliment rachitigène.

Rękopis nadesłany w dniu 7.V.1932 r.

Les résultats de nos expériences exécutées sur des rats blancs et sur des poussins peuvent être résumés de la manière suivante:

1°. L'alimentation exclusive ou presque exclusive avec du blé provoque de graves troubles dans le développement du squelette; ces troubles présentent le caractère typique de rachitisme.

2°. On peut prévenir l'apparition de ces troubles en ajoutant au blé des sels de calcium en quantité suffisante pour assurer un rapport convenable du calcium au phosphore dans le régime entier.

3°. L'irradiation systématique des animaux par les rayons d'une lampe à vapeur de mercure peut exercer une action préventive analogue.

4°. L'addition du bicarbonate de sodium à un régime composé de blé et déficient en calcium n'exerce aucune influence favorable sur la croissance et sur le développement des os.

W pracy poprzedniej (Rogoziński '31) jeden z nas mógł stwierdzić, że znana djeta Shermana i Pappenheimera (20/21) traci zdolność wywoływania krzywicy u szczurów

białych, jeżeli zastąpić w niej mąkę pszenną przez mieloną pszenicę. Zamiana taka wywołuje przede wszystkim przesunięcie w karmie zawartości wapnia i fosforu oraz zmianę wzajemnego stosunku obu tych pierwiastków.

W djeście *Shermana* i *Pappenheimera*, zawierającej obok soli mineralnych 95% mąki białej pszennej, znaleźliśmy 0.4188% Ca oraz 0.1054% P; stosunek wapnia do fosforu wynosił tu 3.98. W karmie naszej, złożonej obok tychże soli w 95% z mielonej pszenicy, było 0.5076% Ca oraz 0.3237% P; stosunek Ca : P był tu równy 1.57. Różnica polegała zatem na trzykrotnem powiększeniu zawartości fosforu i nieznacznem zwiększeniu zawartości wapnia; stosunek wapnia do fosforu zbliżył się przez to do optymalnego, jak go podaje *McCollum* (22). Szczury żywione przez pięć tygodni tą karmą rosły doskonale, nie ustępując prawie wcale wzrostem zwierzętom kontrolnym, żywionym obfitą karmą mieszaną. Po ukończeniu doświadczenia nie wykazywały one, w przeciwieństwie do szczurów żywionych według *Shermana* i *Pappenheimera*, żadnych zmian krzywicznych w kościach; stwierdzono to zarówno zapomocą prześwietlania (rys. 1 i 7 l. c.), jak i na podstawie analizy mineralnej kości udowych: zawartość popiołu w substancji suchej kości oraz stosunek popiołu do substancji organicznej w kościach odpowiadał wartościom, znalezionym u szczurów kontrolnych.

Z powyższego zdaje się zatem wynikać, że przemiana, uzupełniona przez dodatek organicznej soli wapniowej, nie wywołuje objawów krzywicy u szczurów. W niniejszej pracy postanowiliśmy zbadać, czy pszenica sama, nieuzupełniona, może krzywicę wywoływać. Wykonaliśmy w tym celu serję doświadczeń, trzy na szczurach białych, jedno na kureczkach.

Opiszemy przede wszystkim sposób przeprowadzenia doświadczeń i uzyskane w nich wyniki; w dalszym ciągu zajmujemy się ich interpretacją.

Doświadczenie 1.

Do doświadczenia tego użyto 16 szczurów białych z dwu miotów. Doświadczenie rozpoczęto, gdy szczury miały 32, względnie 30 dni. Podzielono je na cztery grupy; waga każdej grupy w początku doświadczenia była jednakowa, waga osobników wahała się w granicach od 38 g do 48 g.

Pożywienie różnych grup unormowane było w następujący sposób:

	Grupa 1.	Grupa 2.	Grupa 3.
Pszenica	95%	97%	98%
Mlekan wapniowy	3.0	—	—
Węglan wapniowy	—	1.0	—
Chlorek sodowy	1.9	1.9	1.9
Cytrynjan żelazowy	0.1	0.1	0.1
	100.0	100.0	100.0

Jak widać, różnica w żywieniu polegała na tem, że w grupie pierwszej dodawano do pożywienia wapń w postaci soli organicznej, w drugiej w postaci soli nieorganicznej, wreszcie w grupie trzeciej nie dodawano wapnia wcale. Dodatek wapnia w grupach 1. i 2. był jednakowy; wynika to z analizy użytych przez nas preparatów. Oznaczenia wykonywaliśmy zarówno wagowo w postaci tlenku wapnia, jak i objętościowo, metodą nadmanganową. Oto niektóre wyniki:

Dla mlekanu wapniowego uzyskaliśmy w 200 mg soli metodą nadmanganową 26.49 mg Ca; 26.49 mg Ca; przeciętnie 26.49 mg Ca. Metodą wagową: 0.0370 g CaO = 26.45 mg Ca; 0.0368 g CaO = 26.31 mg Ca; przeciętnie 26.38 mg Ca. Na podstawie ogólnej przeciętnej z czterech oznaczeń oblicza się zawartość 132.2 mg Ca w 1 g soli.

Podobnie dla węglanu wapniowego: metodą objętościową znaleziono w 200 mg soli: 78.22 mg Ca; 78.53 mg Ca; przeciętnie 78.36 mg Ca. Metodą wagową: 0.1106 g CaO = 79.07 mg Ca; 0.1106 g CaO = 79.07 mg Ca; przeciętnie 79.07 mg Ca. Wypada zatem przeciętnie w jednym gramie 393.6 g Ca. Przyjęty więc przez nas stosunek 3 g mlekanu zamiast 1 g węglanu odpowiada prawie dokładnie rzeczywistości.

Poddaliśmy dalej analizie używaną przez nas pszenicę i znaleźliśmy w niej na podstawie zgodnych oznaczeń podwójnych 0.0682% wapnia, oraz 0.3656% P.

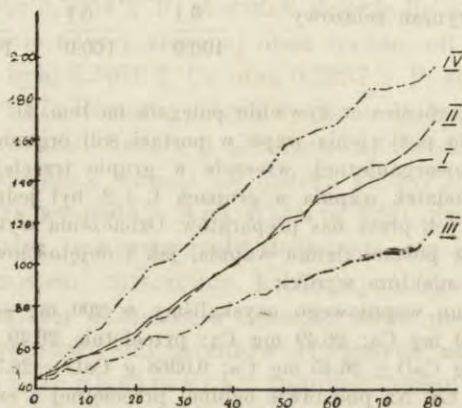
Zawartość wapnia i fosforu w karmie szczerów trzech pierwszych grup oraz wzajemny stosunek tych obu pierwiastków przedstawia się wobec tego, jak następuje:

	Grupa 1.	Grupa 2.	Grupa 3.
w 100 g pożywienia	461.4 mg Ca	459.8 mg Ca	66.9 mg Ca
	347.3 mg P	354.6 mg P	358.3 mg P
Stosunek [Ca : P	1.33	1.30	0.19

Ponadto zwierzęta otrzymywały codziennie w niewielkiej ilości na przemiany raz ziemniaki pieczone, raz marchew czerwoną. Dawano wreszcie wodę zwykłą wodociągową ad libitum. Przez cały czas doświadczenia trzymano szczerzy w rozproszonym świetle dziennem, w pokoju o podwójnych oknach, wychodzących na północ.

Szczury zaliczone do grupy czwartej, kontrolnej, dostawały obfite pożywienie mieszane, jakie dajemy w naszym Zakładzie zwierzętom przeznaczonym do chowu.

Doświadczenie trwało dziesięć tygodni; w ciągu tego czasu ważono szczury co trzy dni, każdego z osobna. W wykresie uzyskanym na podstawie tych wagań podane są przeciętne wagi dla wszystkich szczurów danej grupy.



Rys. 1. Fig. 1.

Jak można było przewidywać, szczury kontrolne z grupy czwartej wykazywały wzrost doskonały, przewyższający przeciętne podane przez Greenman i Duhring ('23). Wzrost w obu grupach (1. i 2.), które otrzymywały taki sam dodatek wapnia, był mniej więcej jednakowy: obie krzywe w znacznej części swego przebiegu zlewają się ze sobą. Tylko w ostatnich dniach doświadczenia grupa 2., która otrzymywała węgiel wapniowy, wykazywała wzrost nieco lepszy. Ta zgodność świadczy, że w danym razie było rzeczą obojętną, czy dodawano wapń w postaci soli organicznej, czy też nieorganicznej; powrócimy do tego, mówiąc o mineralizacji kości zwierząt z rozmaitych grup. Wreszcie zwierzęta z grupy 3., jakkolwiek rosły przez cały czas doświadczenia, wykazywały znaczne opóźnienie wzrostu i wagę końcową znacznie niższą od pozostałych.

W trzech pierwszych grupach oznaczono ogólne spożycie pszenicy w ciągu pierwszych 9 tygodni doświadczenia; wynosiło ono: w grupie 1. — 1903 g ogółem, czyli 7.6 g na dzień i sztukę; w grupie 2., odpowiednio 2186 g i 8.7 g; wreszcie w grupie 3. —

Tabela I.

Nr.	Waga <i>Poids</i> gr	P ł e ć <i>S è x e</i>	Wiek <i>Age</i> dni <i>jours</i>	Kość udo- wa sucha <i>Fémur sec</i> gr	Popiół <i>Cendre</i> gr	Popiół w % sub. such. <i>Cendre en</i> % <i>de sub.</i> <i>sèche</i>	Prze- ciętnie <i>Moy-</i> <i>enne</i>	P:O C:O	P:O C:O Przeciętnie <i>Moyenne</i>
Grupa 1. z miekaniem wapniowym. <i>Groupe 1. au lactate de calcium.</i>									
120	148	Samiec	100	0.2494 0.2462	0.1340 0.1328	53.73 53.94	53.84	1.16 1.17	1.17
121	146	Samiec	100	0.2377 0.2416	0.1290 0.1296	54.27 53.64	53.96	1.19 1.16	1.18
124	157	Samiec	100	0.2585 0.2539	0.1356 0.1356	52.46 53.41	52.94	1.10 1.15	1.13
128	156	Samica	102	0.2828 0.2772	0.1624 0.1584	57.43 57.14	57.29	1.35 1.33	1.34
Grupa 2. z węglanem wapniowym. <i>Groupe 2. au carbonate de calcium.</i>									
122	158	Samiec	101	0.2520 0.2443	0.1404 0.1362	55.72 55.75	55.74	1.26 1.26	1.26
125	182	Samiec	101	0.2828 0.2848	0.1600 0.1600	56.58 56.18	56.38	1.30 1.28	1.29
126	170	Samiec	101	0.2630 0.2553	0.1514 0.1464	57.57 57.34	57.46	1.36 1.34	1.35
129	172	Samica	103	0.2741 0.2712	0.1580 0.1536	57.64 56.64	57.14	1.36 1.31	1.34
Grupa 3. bez dodatku wapnia. <i>Groupe 3. sans addition de calcium.</i>									
118	97	Samica	102	0.1396 0.1413	0.0570 0.0586	40.83 41.47	41.15	0.69 0.71	0.70
123	121	Samiec	102	0.1606 0.1540	0.0648 0.0620	40.35 40.26	40.31	0.68 0.67	0.68
127	131	Samiec	102	0.1786 0.1819	0.0772 0.0794	43.23 43.65	43.44	0.76 0.77	0.77
131	122	Samica	104	0.1611 0.1610	0.0652 0.0654	40.47 40.62	40.55	0.68 0.68	0.68
Grupa 4. normalna. <i>Groupe 4. normal.</i>									
119	164	Samica	103	0.2868 0.2879	0.1704 0.1742	59.41 60.51	59.96	1.46 1.53	1.50
130	170	Samica	105	0.2838 0.2772	0.1614 0.1572	56.87 56.71	56.79	1.32 1.31	1.32
132	232	Samiec	105	0.3462 0.3525	0.1968 0.1990	56.85 56.45	56.65	1.32 1.30	1.31
133	219	Samiec	105	0.3277 0.3388	0.1788 0.1854	54.56 54.72	54.64	1.20 1.21	1.21

1263 g i 5.0 g. Jak widać, słabszy wzrost tych ostatnich zwierząt był przynajmniej częściowo wywołany przez gorszy apetyt.

Po ukończeniu doświadczenia szeszury zabito, wypreparowano starannie ich kości udowe, wysuszono je do stałej wagi i spopieleno w piecu elektrycznym w niskiej o ile możliwości temperaturze. Obliczono zawartość popiołu w substancji suchej oraz stosunek popiołu do substancji organicznej (P : O). Uzyskane wyniki podane są w tabeli I.

Z tabeli powyższej widać, że pomiędzy szeszurami grupy pierwszej, które otrzymywały mlekan wapniowy, a szeszurami grupy drugiej, którym podawano równoważną ilość wapnia w postaci węglanu, niema wyraźnej różnicy. Przeciętna zawartość popiołu w substancji suchej wynosiła w pierwszym przypadku od 53 do 57%, w drugim zaś od 55 do 57%; w obu razach była zatem zbliżona do normalnej. Odpowiednio do tego stosunek popiołu do substancji organicznej (P : O) wahał się w grupie 1. od 1.30 do 1.34, w grupie zaś 2. od 1.26 do 1.35. O objawach krzywiczych nie było tu mowy.

Z porównania składu chemicznego kości szeszurów, należących do tych dwu grup, można więc wyprowadzić dwa wnioski: po pierwsze, że wapń w warunkach naszego doświadczenia był użytkowany na budowę kości jednakowo, bez względu na to, czy go podawano w postaci soli organicznej, czy też nieorganicznej. Nie wdając się w rozbiór dawniejszej literatury w tym przedmiocie, stwierdzić należy, że rezultaty nasze zgadzają się doskonale z wynikami *Steenbocka* ('23) i współpracowników, uzyskanymi w badaniach nad przydatnością soli wapniowych. Badacze ci stwierdzili w doświadczeniach na młodych szeszurach, że nie było różnicy w przydatności mlekanu, węglanu, fosforanu, krzemianu i siarkanu wapniowego, o ile te sole podawane były w obfitości.

Z drugiej strony wyniki nasze dowodzą, że pszenica jest pożywieniem wybitnie wywołującym krzywicę; dodatek wapnia w ilości potrzebnej na to, aby podnieść stosunek wapnia do fosforu do wartości optymalnej, objawom krzywiczym w zupełności zapobiega. Wynikałoby stąd, że istotnie, w myśl dawno już wypowiedzianego poglądu *McColluma* ('21), właściwym czynnikiem, wywołującym krzywicę doświadczalną, jest nietyle bezwzględny brak wapnia lub fosforu w pożywieniu, ile niewłaściwy wzajemny stosunek obu tych składników

Aby stwierdzić, czy wyłączone żywienie pszenicą wywołuje objawy zbliżone do krzywicy także u zwierząt innych gatunków, przeprowadziliśmy dalsze doświadczenie na kureczkach.

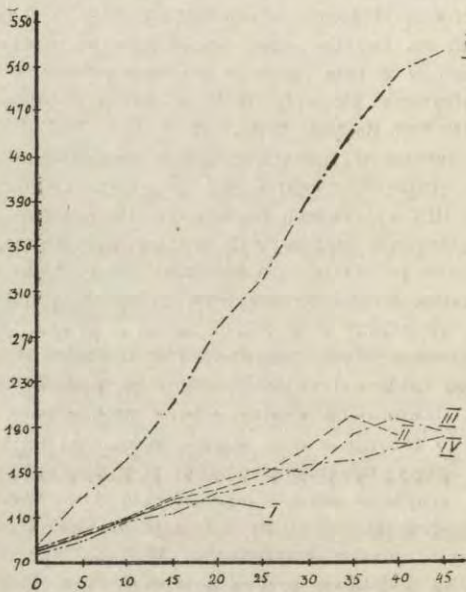
Doświadczenie 2.

Do doświadczenia użyto 26 piskląt krajowej rasy zielononózek kuropatwiaków. Pisklęta, doskonale wyrównane, sprowadzono do laboratorium w dwa dni po wylęgu sztucznym i żywiono je przez 19 dni mieszanym pożywieniem, złożonym z mieszaniny kasz, ziarna oraz siekanych jaj, ugotowanych na twardo. Jako napój dawano mleko niezberane ad libitum. Trzymano je w tym czasie w widnym pokoju, w sztucznej matce, ogrzewanej elektrycznie. Po upływie tego okresu wstępnego trzytygodniowe pisklęta podzielono na pięć grup.

Zywienie kurecząt w różnych grupach unormowane było w następujący sposób: w grupie 1. dawano 98% pszenicy mielonej, 1.90% chlorku sodowego oraz 0.10% cytrynianu żelozowego. Do mieszaniny dodawano ponadto 3% oliwy. Grupa 2. otrzymywała to samo pożywienie, lecz kureczka nasświetlano codziennie po 10 minut promieniami lampy kwarcowej w odległości 1 metra od palnika. Grupa 3. otrzymywała tę samą mieszaninę pszenicy i soli, lecz do mieszaniny dodawano, zamiast oliwy, 3% tranu rybiego. W grupie 4. dawano 97.0% pszenicy, 1% węgla wapniowego, 1.90% chlorku sodowego i 0.10 cytrynianu żelazowego, ponadto 3% oliwy. Wreszcie w grupie 5. dawano dla kontroli obfite urozmaicone pożywienie, złożone z rozmaitego rodzaju ziarna, kaszy, mięsa, jaj na twardo dawanych ze skorupkami, sałaty, mleka. Jako napój w grupach 1.—4. dawano wodę destylowaną, w grupie 5. obok mleka zwykłą wodę wodociągową. Przez cały czas doświadczenia wszystkie kureczka trzymane były na czystym, często zmienianym, piasku kwarcowym. Ważono kureczka co pięć dni, każde z osobna. Na podstawie przeciętnej wagi wszystkich sztuk w każdej grupie uzyskano następujący wykres.

Ogólny przebieg doświadczenia był następujący: z 26 piskląt zdechło jedno w grupie 1. po 10 dniach, jedno zaś w grupie 4. po 15 dniach. Przyczyna śmierci w obu tych wypadkach nie została ustalona, żadnych charakterystycznych objawów nie obserwowano. Natomiast u wszystkich pozostałych przy życiu kurecząt z grupy 1. zaczęła poczynając od 15. dnia po rozpoczęciu doświadczenia występować w bardzo typowy sposób słabość nóg („*leg weakness*” autorów amerykańskich). Zwierzęta zaczynały stopniowo tracić władzę w nogach, przewracały się w ruchu, dalej wogóle przestawały wstawać i spędzały cały dzień, leżąc na brzuchu z wyciągniętymi nogami. Typowy obraz zaburzeń daje fotografia (tabl

I, rys. 1), wykonana w trzy tygodnie po rozpoczęciu doświadczenia, a na dwa dni przed śmiercią zwierzęcia. Apetyt, zrazu przynajmniej, pozostawał w niektórych przypadkach niezmięszony: obezwładnione zwierzę czołgało się na brzuchu do pożywienia i wody i jadło chciwie. W dalszym ciągu zaczął się zmniejszać apetyt. W rezultacie, pomiędzy 24. a 28. dniem od chwili rozpoczęcia doświadczenia wszystkie kurczęta z grupy 1., wśród zupełnie podobnych objawów, zginęły. W tym czasie dokonano



Rys. 2. Fig. 2.

prześwietlenia promieniami Roentgena szeregu kurcząt, wybierając po typowym przedstawicielu z każdej grupy. Zdjęcia podane są na tabl. I. Podajemy tu dla porównania tylko zdjęcie ciężko chorego kurczęcia Nr. 1179 z grupy 1. (rys. 2), oraz normalnego kurczęcia Nr. 1181 z grupy 5. (rys. 3). Na szczególną uwagę zasługuje fakt, że w pozostałych grupach ani jedno kurczę nie zapadło wśród podobnych objawów. Zdaje się to przemawiać za tem, że u kurcząt pszenica nieuzupełniona dodatkiem wapnia wywołuje objawy słabości nóg, oraz że zapobiec występowaniu tych objawów, przynajmniej na pewien czas, można przez dodatek do pszenicy bądź tranu, jak w grupie 3., bądź węglanu wap-

niowego, jak w grupie 4., bądź wreszcie przez naświetlanie zwierząt, jak w grupie 2.

W czasie, gdy ginęły wszystkie kureczęta z grupy 1., zabito po jednym przedstawicielu ze wszystkich dalszych grup, aby uzyskać kości dla badania porównawczego. Pozostałe kureczęta pozostawiono dalej przy życiu, aż do sześciu tygodni od chwili rozpoczęcia doświadczenia. Nie wykazywały one w tym czasie żadnych objawów zbliżonych do słabości nóg. Wzrost, zwłaszcza w grupach 2. i 4., które były pozbawione witaminy A, zaczął wyraźnie słabnąć, jednak objawy kseroftalmji mogliśmy obserwować, i to przemijająco, tylko u jednego kureczęcia z grupy 4. Po upływie sześciu tygodni zabito znowu przedstawicieli rozmaitych grup dla celów analizy kości i na tem doświadczenie zakończono.

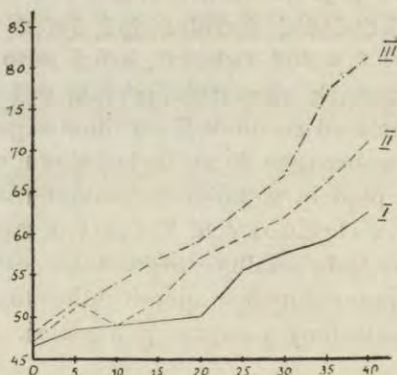
Jak wiadomo, jednym z najpewniejszych kryterjów objawów krzywicy w krzywicy doświadczalnej u szczurów białych jest obniżenie procentowej zawartości popiołu w kościach udowych chorych zwierząt. Wielokrotnie mieliśmy sposobność posługiwania się tą metodą w naszych badaniach i zawsze otrzymywaliśmy jaknajlepsze wyniki. Ponieważ według licznych prac amerykańskich badaczy (Hart i współpracownicy '29, Russell i współpracownicy '28, Massengale i współpracownicy '30) oznaczanie popiołu w kościach udowych względnie piszczelowych kurecząt chorych na słabość nóg ma dawać również cenne wskazówki co do natężenia stanu chorobowego, podjęliśmy zbadanie kości dwudziestu ptaków, użytych w naszym doświadczeniu. Zbadaliśmy ponadto jedno zwierzę tej samej rasy, wychowane na wsi, w pełnej swobodzie, w zupełnie normalnych warunkach. Wbrew wszelkim oczekiwaniom, badane kości wykazywały w zawartości popiołu bardzo znaczne różnice, które tylko wahaniem indywidualnemi wytłumaczyć można. I tak, w obrębie grupy 2., a więc wśród zwierząt, które pozostawały w ściśle jednakowych warunkach, zawartość popiołu w kościach udowych wykazywała wahania od 20 do 38%; w obrębie grupy 3., od 25 do 35%. Jasnym jest wobec tego, że nie można w tym przypadku oprzeć się na zawartości popiołu w kościach piskląt różnych grup, jako na kryterjum zmian chorobowych. Nie przytaczamy też z tego powodu obfitego materiału analitycznego. Jaka jest przyczyna tych znacznych, a na pozór zupełnie nieprawidłowych wahań indywidualnych — nie potrafimy na razie powiedzieć. Materiał, którym

rozporządzamy, jest zbyt szczupły, abyśmy mogli zaryzykować twierdzenie, że chodzi tu o cechę rasową badanych zwierząt. Tymczasem możemy tylko stwierdzić, że w naszych warunkach doświadczenia nie udało się uchwycić zależności pomiędzy zmianami chorobowymi w kościach kureząt a zawartością popiołu w substancji suchej ich kości.

Doświadczenie 3.

W doświadczeniu tem powróciliśmy do badań nad szczurami białymi. Użyto do niego dziesięciu zwierząt z dwu miotów, które podzielono na trzy grupy, zaliczając do pierwszej cztery sztuki, do drugiej i trzeciej po trzy.

Grupa 1. dostawała pożywienie, złożone z 98% pszenicy, 1.9% chloru sodowego oraz 0.1 cytrynjanu żelazowego. Grupa 2. dostawała takie samo pożywienie, lecz ponadto naświetlano ją codziennie promieniami lampy kwarcowej, po 10 minut, w odległości 1 metra od palnika. Grupie 3. wreszcie dawano pożywienie złożone z 97% pszenicy, 1% węglanu wapniowego, 1.9% chlorku sodowego oraz 0.1% cytrynjanu żelazowego. Warunki doświadczenia były surowsze, niż w doświadczeniu pierwszym: trzymano zwierzęta stale w zupełnej ciemności, jako napój dawano wyłącznie wodę destylowaną. Przytem w chwili rozpoczęcia zwierzęta były młodsze, niż w doświadczeniu pierwszym. Wreszcie doświadczenie trwało krócej, niż doświadczenia pierwsze i czwarte. Dlatego wyników tu uzyskanych nie można porównywać bezpośrednio z wynikami tamtych doświadczeń. Podobnie jak w doświadczeniu pierwszym dawano codziennie na zmianę drobne ilości czerwonej marchwi lub gotowanych ziemniaków. Już po 5 dniach zginął jeden szczur z grupy 1., po 20 dniach drugi z tejże grupy; do końca doświadczenia, które trwało sześć tygodni, doprowadzono w ten sposób osiem zwierząt, dwa w grupie pierwszej, oraz po trzy w drugiej i trzeciej. Ważono szczury co pięć dni, każdego z osobna. Na podstawie przeciętnej wagi zwierząt w każdej grupie uzyskano następujący wykres.



Jak widać, najlepiej rosły zwierzęta w grupie 3., najgorzej w grupie 1., bez wapnia; zwierzęta grupy 2. zajmowały stanowisko pośrednie. Przeciętne spożycie dzienne na szczura wynosiło w grupie 1. — 3.7 g, w grupie 2. — 5.6 g, wreszcie w grupie 3. — 6.2 g. W 24 dni po rozpoczęciu doświadczenia poddano prześwietleniu promieniami Roentgena po jednym szczurze z każdej grupy.

Po 45 dniach doświadczenia zabito wszystkie osiem szczurów, wypreparowano ich kości udowe i poddano je badaniu w zwykły sposób. Uzyskane wyniki zestawione są w następującej tabeli II.

Tabela II.

Nr.	Waga <i>Poids</i> gr	P ł e ć <i>Sexe</i>	Wiek <i>Age</i> dni <i>jours</i>	Kość udo- wa sucha <i>Fémur sec</i> gr	Popiół <i>Cendre</i> gr	Popiół w % sub. such. <i>Cendre en</i> % <i>de sub.</i> <i>sèche</i>	Prze- ciętnie <i>Moyenne</i>	P:O C:O	P:O C:O Przeciętnie <i>Moyenne</i>
Grupa 1. pszenica sama. <i>Groupe 1. blé seul.</i>									
134	72	Samiec	48	0.0946 0.0920	0.0356 0.0344	37.63 37.39	37.51	0.60 0.60	0.60
139	65	Samiec	43	0.0947 0.0925	0.0316 0.0312	33.37 33.73	33.55	0.50 0.51	0.51
Grupa 2. naświetlana. <i>Groupe 2. irradié.</i>									
135	110	Samiec	48	0.1399 0.1442	0.0744 0.0764	53.18 52.98	53.08	1.14 1.13	1.14
141	61	Samica	43	0.0943 0.0924	0.0428 0.0432	45.39 46.75	46.07	0.83 0.88	0.86
138	59	Samiec	43	0.0912 0.0940	0.0410 0.0412	44.96 43.83	44.40	0.82 0.78	0.80
Grupa 3. z dodatkiem węgla wapnia. <i>Groupe 3. au carbonate de calcium.</i>									
136	104	Samica	48	0.1417 0.1455	0.0728 0.0730	51.38 50.17	50.78	1.06 1.01	1.04
137	90	Samiec	43	0.1218 0.1224	0.0538 0.0538	44.17 43.95	44.06	0.79 0.78	0.79
142	70	Samica	43	0.1029 0.1047	0.0504 0.0496	48.98 47.97	48.18	0.96 0.90	0.93

Jak widać z powyższej tabeli, w surowych warunkach doświadczenia (ciemność zupełna, woda destylowana), żywienie sa-

mą pszenicą wywołało głębokie zaburzenia w składzie kości zwierząt grupy 1. Zawartość popiołu w substancji suchej kości spadła do 33—37%, stosunek P : O obniżył się do 0.5—0.6. Dodatek do pszenicy węglanu wapniowego w grupie 3. przyniósł bardzo znaczną poprawę, zupełnie tak samo, jak w obu poprzednich doświadczeniach. Podobną poprawę stwierdzić było można u szczurów grupy 2., które nie dostawały dodatku wapnia, lecz były codziennie naświetlane. Mamy tu analogję do zachowania się kurcząt w doświadczeniu poprzednim: tam także zarówno dodatek wapnia do karmy, jak i naświetlanie zwierząt, zapobiegały występowaniu objawów słabości nóg. Ponieważ działanie promieni ultrafioletowych uchodzi za środek swoisty w zaburzeniach wymiany kostnej o charakterze krzywicznym, ten argument *ex iuvantibus* zdaje się silnie przemawiać za tem, że żywienie samą pszenicą istotnie wywołuje krzywicę. Mamy tu w ten sposób potwierdzenie wniosków, wyprowadzonych poprzednio na podstawie analizy mineralnej kości oraz wyników prześwietlania promieniami Roentgena.

Doświadczenie 4.

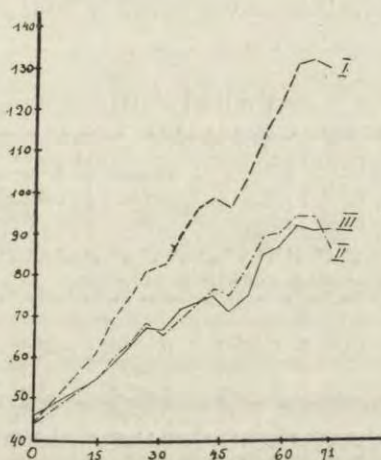
Dodatek węglanu wapniowego do pszenicy w poprzednio opisanych doświadczeniach zmienił pożywienie w dwu kierunkach: z jednej strony dostarczał zwierzęciu brakującego wapnia, z drugiej zaś zmienił w karmie równowagę kwasowo-zasadową, przesuując ją na korzyść składników zasadowych. W obecnie omawianem doświadczeniu chodziło nam o stwierdzenie, czy samo podniesienie w dziecie składników zasadowych, bez dodatku wapnia, wywrze wpływ korzystny na wzrost i na rozwój kości badanych zwierząt. Dodawaliśmy w tym celu do pożywienia, złożonego z pszenicy oraz drobnych ilości marchwi i gotowanych ziemniaków, zamiast węglanu wapniowego równoważną ilość dwuwęglanu sodowego.

Do doświadczenia użyto dziewięciu szczurów z jednego miotu, w wieku pięciu tygodni, które podzielono na trzy grupy. Trzymano zwierzęta w świetle rozproszonem, jako napój dawano wodę wodociągową.

Pożywienie różnych grup ułożone było w następujący sposób:

	Grupa 1.	Grupa 2.	Grupa 3.
Pszenica	97.0%	96.32%	98.0%
Węglan wapniowy	1.0	—	—
Dwuwęglan sodowy	—	1.68	—
Chlorek sodowy	1.9	1.90	1.9
Cytrynjan żelazowy	0.1	0.10	0.1

Przeciętne spożycie tego pożywienia wyniosło w ciągu doświadczenia na dzień i szczura: w grupie 1. — 8.5 g, w 2. — 5.6 g, w 3. — 5.3 g. Ważono zwierzęta co dni cztery; na podstawie przeciętnej wagi uzyskano następujący wykres 4. Należy zaznaczyć, że jeden ze szczurów w grupie 2. zginął po 55 dniach doświadczenia; w wykresie uwzględniono w tej grupie tylko dwa szczury, które utrzymały się przy życiu do końca doświadczenia, czyli do dziesięciu tygodni.



Rys. 4. Fig. 4.

Jak widać, wzrost szczurów, które otrzymywały pszenicę uzupełnioną przez węglan wapniowy, zbliżał się do wzrostu podobnie żywionych zwierząt w doświadczeniu pierwszym i trzecim. Szczury w grupach drugiej i trzeciej rosły znacznie gorzej, wzrost był w obu przypadkach bardzo podobny, tak, że odnośne krzywe w znacznej części swego przebiegu nakładają się na siebie. Świadczy to wyraźnie, że dodatek dwuwęglanu sodowego do pszenicy i zwiększona przez to zasadowość pożywienia w niczem nie wpłynęły dodatnio na poprawę zdolności wzrostu.

Po upływie siedemdziesięciu dni, gdy wzrost zaczął już wyraźnie słabnąć, przerwano doświadczenie i zabito szczury. Wypreparowano ich kości udowe i w zwykły sposób poddano je spopieleniu. Równocześnie wypreparowano kości piszczelowe i na przekrojach zbadano ich końce bliższe. Dla zobrazowania różnicy podajemy w tabl. I dwa zdjęcia fotograficzne¹⁾.

¹⁾ Sporządzenie przekrojów i fotografii zawdzięczamy p. Dr. Śliżyńskiemu, któremu i na tem miejscu wyrażamy podziękowanie.

Rys. 4 przedstawia przekrój bliższego końca piszczeli szczura z grupy 1. (z dodatkiem węglanu wapniowego), rys. zaś 5 także przekrój zwierzęcia z grupy 2. (z dodatkiem dwuwęglanu sodowego). W tym drugim przypadku widać wyraźnie odbiegający od normy przebieg kostnienia.

Wyniki analizy mineralnej kości udowych podane są w tabeli III, która odpowiada swym układem tablicom w poprzednich doświadczeniach.

Tabela III.

Nr.	Waga <i>Poids</i> gr	P ł e ć <i>Sexe</i>	Wiek <i>Age</i> dni <i>jours</i>	Kość udo- wa sucha <i>Fémur sec</i> gr	Popiół <i>Cendre</i> gr	Popiół w % sub such. <i>Cendre en</i> % <i>de sub.</i> <i>sèche</i>	Prze- ciętnie <i>Moy-</i> <i>enne</i>	P:O C:O	P: O C: O Przeciętnie <i>Moyenne</i>
Grupa 1. z dodatkiem węglanu wapnia. <i>Groupe 1. au carbonate de calcium.</i>									
154	163	Samiec	106	0.2640 0.2555	0.1546 0.1492	58.56 58.39	58.48	1.41 1.40	1.41
152	104	Samica	106	0.1768 0.1727	0.0954 0.0946	53.96 54.78	54.37	1.17 1.21	1.19
146	127	Samiec	106	0.2047 0.2005	0.1148 0.1122	56.08 55.96	56.02	1.28 1.27	1.28
Grupa 2. z dodatkiem dwuwęglanu sodu. <i>Groupe 2. au bicarbonate de sodium.</i>									
149	89	Samica	106	0.1163 0.1136	0.0466 0.0450	40.07 39.61	39.84	0.68 0.66	0.67
144	87	Samiec	106	0.1107 0.1041	0.0414 0.0384	37.40 36.89	37.15	0.60 0.58	0.59
Grupa 3. pszenica sama. <i>Groupe 3. blé seul.</i>									
150	80	Samica	105	0.1151 0.1143	0.0498 0.0496	43.27 43.39	43.33	0.76 0.77	0.77
147	92	Samiec	105	0.1080 0.1119	0.0415 0.0426	38.43 38.07	38.25	0.62 0.61	0.62
148	105	Samica	105	0.1190 0.1234	0.0498 0.0504	41.85 40.84	41.35	0.72 0.69	0.71

Wyniki powyższe stwierdzają raz jeszcze, jak się zdaje w niewątpliwy sposób, fakt, że pszenica uzupełniona przez dodatek węglanu wapniowego wystarcza do zapewnienia normalnego rozwoju kości. Zawartość procentowa popiołu w substancji suchej kości udowych szczurów grupy 1., wahająca się od 54 do 58%,

odpowiada zupełnie wartościom znajdującym w kościach szczurów normalnych. Z drugiej strony w kościach szczurów obu pozostałych grup analiza mineralna wskazuje na wyraźne objawy krzywicy. Odnosi się to z jednej strony do szczurów żywionych samą pszenicą; pod tym względem wyniki ostatniego naszego doświadczenia w zupełności potwierdzają i dopełniają wyniki trzech doświadczeń poprzednich. Z drugiej strony z tabeli widać wyraźnie, że dodatek dwuwęglanu sodowego do pszenicy nie wywarł żadnego dodatniego wpływu: procentowa zawartość popiołu w kościach szczurów tak żywionych jest raczej niższa, niż w kościach szczurów żywionych samą pszenicą.

Praca nasza jest przyczynkiem do ustalenia wartości odżywczej ziarna pszenicy. Wobec wielkiej roli, jaką pszenica i otrzymywane z niej przetwory odgrywają zarówno w odżywianiu człowieka jak i zwierząt domowych, należyta ocena tej wartości, wykazanie ewentualnych braków i stwierdzenie sposobów zapobiegania tym brakom są rzeczą pierwszorzędną doniosłości. To też poświęcono temu zagadnieniu bardzo wiele pracy. Nie wdając się tu w szczegóły, przedstawimy tylko w ogólnym zarysie panujące poglądy, aby nawiązać do nich nasze spostrzeżenia. Dzięki licznym i wybitnym pracom Osborn'a i Mendla, Mellanby'ego, McColluma i współpracowników oraz Steenbocka, Harta i współpracowników możemy uważać za stwierdzone dwa fakty: po pierwsze, że składniki białkowe całego ziarna pszenicznego wystarczają jako źródło azotu dla utrzymania zwierzęcia dorosłego lub też dla zapewnienia umiarkowanego wzrostu zwierzęcia rosnącego; po drugie, że ziarno pszenicy, wbrew dawniej wypowiedzianym przypuszczeniom, nie zawiera żadnych trujących składników, mogących ujemnie wpływać na wzrost i rozwój zwierząt. Jeżeli zwierzęta żywione wyłącznie lub prawie wyłącznie pszenicą wykazują ciężkie zaburzenia i po pewnym czasie giną, pochodzi to stąd, że ziarno pszenicy jest pożywieniem niekompletnym, w którym brak pewnych potrzebnych dla podtrzymania życia i rozwoju składników. Braki te są dwojakiego rodzaju: z jednej strony dotyczą one składu popielnego. Obok wielkiego nadmiaru kwasu fosforowego i magnezu pszenica zawiera w zupełności niedostatecznej ilości wapń, sól i chlor. Druga kategoria braków odnosi się do witamin. Podobnie jak inne rodzaje ziarna

zbóż, pszenica zawiera w dostatecznej ilości witaminę B, natomiast nie zawiera wcale lub prawie wcale witamin A, D i C.

W naszych doświadczeniach na szczurach chodziło o stwierdzenie zależności pomiędzy żywieniem pszenicą, a występowaniem objawów krzywicy. W tym celu żywiono szczury pszenicą z dodatkiem chlorku sodowego; dodawano nadto do pożywienia nieco marchwi czerwonej, jako źródła witaminy A. W takiej racji karmowej, w myśl poprzednich wywodów, brak było wapnia oraz witaminy D; witamina C w doświadczeniach na szczurach jak wiadomo w grę nie wchodzi. Szczury w ten sposób żywione, zarówno trzymane w ciemności, jak i w świetle rozproszonym, wykazywały głębokie zaburzenia w rozwoju kości. Zarówno wyniki analizy mineralnej kości, jak prześwietlania promieniami Roentgena, jak wreszcie wygląd mikroskopowy kości przemawiają za tem, że chodziło tu o zaburzenia o charakterze krzywicy. Gdy w doświadczeniu trzecim poddano grupę żywionych w ten sposób szczurów systematycznemu naświetlaniu promieniami lampy kwarcowej, uzyskano bardzo poważną poprawę w składzie mineralnym kości. Ten także argument przemawia za tem, że istotnie chodziło o objawy krzywicy.

Wydaje się więc uprawnionym wniosek, że żywienie pszenicą wywołuje u szczurów krzywicę doświadczalną.

Obok szczurów tak żywionych, w każdym doświadczeniu badano dalej grupę zwierząt, które otrzymywały w pożywieniu dodatek wapnia w postaci soli mineralnej lub organicznej, w ilości wystarczającej, aby doprowadzić stosunek wapnia do fosforu w całej djece do wartości optymalnej. Ten dodatek wapnia wywierał wpływ bardzo wybitny. U zwierząt, które go otrzymywały, nie można było stwierdzić krzywicy przy pomocy stosowanych metod badania. Zdaje się więc stąd wynikać drugi wniosek, mianowicie, że przez dodatek wapnia w odpowiedniej ilości można pozbawić pszenicę jej właściwości wywołujących krzywicę, pomimo braku w djece witaminy D. Ten wniosek, jak już zaznaczyliśmy powyżej, wiąże się ściśle z dawno wypowiedzianym poglądem McColluma, że w sprawach krzywicy doświadczalnej decydującą rolę gra nietyle absolutna ilość wapnia czy fosforu, co odpowiedni stosunek tych pierwiastków; krzywica występuje, gdy ten stosunek ulegnie zaburzeniu. Dalej, spostrzeżenia nasze zgadzają się zupełnie z wnioskami Greena i Mellanby'ego

(28), którzy mówią: *It has been found possible to show that raising the calcium of the diet either by adding calcium carbonate or calcium phosphate minimises the anticaleifying action of cereals*". Natomiast wyniki nasze nie dały dowodów na potwierdzenie poglądów Mellanby'ego, w myśl których pszenica, jak i inne ziarna zbożowe, ma zawierać czynniki swoiste, wywierające ujemny wpływ na zjawiska kostnienia.

W doświadczeniu naszym na kurczętach, które ma charakter tymczasowego, stworzyliśmy świadomie surowsze warunki dla grupy zwierząt żywionych wyłącznie pszenicą. Cierpiały one nie tylko na brak wapnia i witaminy D, jak odpowiednie szczury, ale również na brak witaminy A, która dla piskląt jest jak wiadomo niezbędnie potrzebna do rozwoju. Wszystkie zwierzęta w tej grupie, jak było podane powyżej, zginęły w ciągu 25 dni po rozpoczęciu doświadczenia, wśród typowych objawów słabości nóg. Ta choroba, wbrew dawniej wypowiedzianym zastrzeżeniom (Pappenheimer i Dunn '25), uchodzi obecnie, zdaje się ogólnie, za krzywicę kurcząt. I w tym więc przypadku mogliśmy stwierdzić, że żywienie pszenicą wywołuje zaburzenia o charakterze krzywiczym. Zapobiec objawom chorobowym oraz przedłużyć życie przynajmniej dwukrotnie można było bądź przez zastosowanie naswietlania promieniami lampy kwarcowej, bądź przez dodatek tranu rybiego do diety, bądź wreszcie przez dodatek soli wapniowej. Charakter tych środków zapobiegawczych przemawia silnie za tem, że chodziło istotnie o krzywicę. Fakt, że przez dodatek do karmy węglanu wapniowego można było uchronić kurczęta przed wystąpieniem słabości nóg, stoi w zupełnej zgodzie z opisaniami poprzednio obserwacjami nad zachowaniem się szczurów.

W n i o s k i.

Wyniki doświadczeń naszych, przeprowadzonych na szczurach białych i na kurczętach, streścić można w następujący sposób:

1°. Żywienie wyłączne lub prawie wyłączne pszenicą wywołuje głębokie zaburzenia w rozwoju szkieletu o typowym charakterze krzywiczym.

2°. Zapobiec można wystąpieniu tych objawów chorobowych przez dodatek do pszenicy soli wapniowych w takiej ilości,

aby zapewniony był odpowiedni stosunek wapnia do fosforu w całym pożywieniu.

3°. Podobną rolę zapobiegawczą spełniać może systematyczne naświetlanie zwierząt promieniami lampy kwarcowej.

4°. Dodatek dwuwęglanu sodowego do pożywienia złożonego z pszenicy i ubogiego w wapń nie wywiera żadnego korzystnego wpływu na wzrost i rozwój kości.

Piśmiennictwo.

- Green H. N. and E. Mellanby. 1928. A rat technique demonstrating the interfering effect of cereals on bone calcification. *Biochem. J.* 22 (102). Greenman M. J. and F. L. Duhring. 1923. Breeding and care of the albino rat for research purposes. Philadelphia. Hart E. B., H. Steenbock and E. C. Teut and G. C. Humphrey. 1929. Dietary factors influencing calcium assimilation. XI. The influence of cod liver oil upon calcium metabolism of milking cows. *J. of Biol. Chem.* 84 (359). Massengale O. N. and M. Nussmeier. 1930. The action of activated ergosterol in the chicken. II. The prevention of leg weakness. *J. of Biol. Chem.* 87 (423). McCollum E. V. and N. Simmonds, P. G. Shipley and E. A. Park. 1921. Studies on experimental rickets. VIII. The production of rickets by diets low in phosphorus and fat — soluble. *J. of Biol. Chem.* 47 (507). McCollum E. V. and N. Simmonds, P. G. Shipley and E. A. Park. 1922. Studies on experimental rickets. XVI. A delicate biological test for calcium — depositing substances. *J. of Biol. Chem.* 51 (41). Pappenheimer A. M. and L. C. Dunn. 1925. The relation of leg weakness in growing chicks to mammalian rickets. *J. of Biol. Chem.* 66 (717). Rogoziński F. 1931. Sur le rachitisme expérimental. II. Comparaison de quelques régimes rachitigènes. *Bull. de l'Ac. Pol. d. Sc. et d. L. Série B. II.* Russell W. C., O. N. Massengale and C. H. Howard. The duration of the effect of ultra-violet radiation on chickens. *J. of Biol. Chem.* 80 (155). Sherman H. C. and A. M. Pappenheimer. 1920/21. A dietetic production of rickets in rats and its prevention by an inorganic salt. *Proc. of the Soc. for exp. Biol. and Med.* 18 (193). Steenbock H., E. B. Hart, M. T. Sell and J. H. Jones. 1923. The availability of calcium salts. *J. of Biol. Chem.* 56 (375).

[Zakład Chemji Fizjologicznej Uniwersytetu Warszawskiego].

Ernest A. Sym.

Kataliza kwaso-zasadowa a działanie esterazy¹⁾.
Säure-Basen-Katalyse und Esterasewirkung.

Rękopis nadesłany w dniu 23 IV.1932 r.

Die Esterasewirkung wurde mit der Katalyse eines Säure-Basen-Systems (im Sinne von Broenstedt und Lowry) verglichen.

Das kinetische Verhalten der Alkohole, Säuren, Ester und Wasser bei der Esterasewirkung im Vergleich zur HCl-Katalyse gibt die Möglichkeit der Annahme, dass das ampholytische Wasser als ein Säure-Basen-System die enzymatische Katalyse auf der Kontaktfläche der Esterase hervorrufen kann.

Dieser wahrscheinliche Katalysemechanismus wurde als Arbeitshypothese angenommen.

A. Wstęp.

Porównywając z sobą różne katalizatory przyspieszające jedne i te same reakcje, szczególnie ich sposoby działania na określone reakcje, można odnaleźć pewne ich cechy, odróżniające jedne od drugich. Z innym podkładem materjalnym danego katalizatora jest nieraz związany inny mechanizm czynności katalitycznej dla pewnej reakcji.

Z drugiej strony spotyka się często wiele podobieństw w działaniu takich katalizatorów. Nieraz katalizatory różnego pochodzenia, np. enzymy i układy katalityczne nieenzymatyczne, wykazują pewne wspólne cechy tak w przebiegu skatalizowanej

¹⁾ Praca wydana częściowo z zapomogi Wydziału Weterynarij U. W.

reakcji, jak i w zachowaniu się pod wpływem różnych czynników, jak np. względem inaktywatorów.

Jako przykłady takich porównań, wykazujących mniej lub więcej podobne cechy, można przytoczyć badania *Warburga*¹⁾ nad fermentami utleniającymi — z jednej strony i nad modelem węglowym, zawierającym żelazo — z drugiej strony; dalej, doświadczenia *Truszkowskiego*²⁾, wykonane na uryzynie i na aktywowanym węglu; następnie — badania *nasze*³⁾ nad utlenianiem hydrochinonu w obecności manganu, wykonane w celu porównania powyższej katalizy z działaniem lakkazy. Doświadczenia *Dietza i Bodensteina*⁴⁾, wykonane z esterazą i z kwasem pikrynowym jako katalizatorem nieenzymatycznym, mają najwięcej łączności z naszą pracą. Wreszcie najnowsze badania *Kisch'a*⁵⁾ na o-chinonach, jako na modelach enzymu desaminazy.

Porównania takie mogą mieć znaczenie i przynieść pewną korzyść szczególnie wtedy, gdy mechanizm jednego z porównanych katalizatorów jest dobrze poznany. Wtedy może podobne lub różne zachowanie się drugiego, jeszcze mało zbadanego katalizatora, nasuwać pewne przypuszczenia co do jego mechanizmu działania.

W niniejszej pracy porównujemy katalizę kwasową estryfikacji i hydrolizy estrów, której mechanizm działania został w ostatnich czasach w dużej mierze wyświełtony, z działaniem enzymu esterazy.

Na wstępie przedstawimy w krótkości dzisiejsze zapatrywania na katalizę kwaso-zasadową, aby móc później zrozumieć tok prowadzonych doświadczeń i z nich wyprowadzone wnioski.

Goldschmidt i jego szkoła w badaniach nad kwasową katalizą estryfikacji różnych kwasów i alkoholów, prowadzonych przez przeszło 30 lat, używali jako rozczynnika odpowiednie alkohole podlegające estryfikacji, a jako katalizatora różne kwasy nieestryfikujące się lub kwasy-substraty, biorące w reakcji udział (jest to t. zw. samoestryfikowanie się).

¹⁾ Katalytische Wirkungen d. lebendigen Substanz. 1928. Berlin. Springer.

²⁾ Biochem. Journ. 1930, 24 (1340, 1349, 1359).

³⁾ Ann. d. Chemie. 1931, 174 (487).

⁴⁾ Zeitschr. f. physiol. Chem., 1907, 279 (52).

⁵⁾ Bioch. Zeitschr. 1932, 244 (440).

jak np. kwas trójchlorooctowy. Na podstawie hamowania tych reakcyj przez wodę, udowodniono istnienie w reakcji pośredniczącego związku: katalizator-substrat; jest nim związek: jon wodorowy-alkohol¹⁾. Nieuwodniony jon wodorowy będziemy nazywali protonem, uwodniony zaś hydroksonium. (są to terminy dziś ogólnie używane). Przejdziemy do omówienia przyczyny hamującego działania wody. Otóż woda tworzy z protonem kwasu katalizującego hydroksonium H_3O^+ (Hantzsch)²⁾. przyczem współzawodniczy z alkoholem o proton i dlatego wywołuje hamowanie reakcji estryfikacji.

Szkoła Brediga³⁾ znalazła podobne stosunki przy alkoholizacji estru etylowego kwasu diazoctowego. I w tym przypadku udowodniono, że związek proton-alkohol pośredniczy w reakcji skatalizowanej.

Badania Goldschmidta, Brediga³⁾, Hantzscha⁴⁾, i Sneathlaga⁵⁾, Taylora⁶⁾, wykazały, że nie tylko proton działa katalizująco przy estryfikacji, alkoholizacji i inwersji, ale że czyni to i cząstka niezdisocjowana kwasu (kataliza cząstkowa).

Doświadczenia Dawsona⁷⁾ nad enolizacją acetonu i Lowrye'ego⁸⁾ nad mutarotacją glukozy udowodniły wreszcie, że i anjon kwasu („zasada” w sensie Broenstedta) działa katalitycznie (kataliza anjonowa). Wprawdzie katalityczne działanie tych dwu ostatnich ciał zaznacza się zwykle w mniejszym stopniu aniżeli protonu, jednak w pewnych układach są odchylenia bardzo znaczne przy zwracaniu uwagi tylko na H-katalizę. Goldschmidt i Bredig stwierdzili w swoich doświadczeniach nad estryfikacją i alkoholizacją, że kataliza cząstkowa jest niezależna od stężenia wody.

Sneathlaga⁵⁾, zauważył, że niezdisocjowana część kwasu tem jest silniejsza w swem działaniu katalitycznym, im silniejszy jest kwas. Dla anjonów, jako katalizatorów, istnieją też pewne zależności od siły kwasu.

Stosunek stałej szybkości reakcji, wywołanej przez katalizę cząstkową (k_c), do takiej stałej dla katalizy, wywołanej przez H^+ danego kwasu (k_h), jest funkcją stałej powinowactwa (K) danego kwasu⁶⁾. Taylor przedstawił tę funkcję w następującem równaniu empirycznym:

$$\frac{k_c}{k_h} \propto \sqrt{K}.$$

Funkcja ta jest do pewnego stopnia niezależna od skatalizowanej reakcji (hydroliza estrów, inwersja, enolizacja acetonu) i od ośrodka.

¹⁾ Zeitschr. f. physik. Chem. 1907, 60 (728).

²⁾ Ber. d. Deutsch. Chem. G. 1925, 58 (612).

³⁾ Z. Elektrochemie. 1912, 18 (535).

⁴⁾ Ber. Deutsch. Chem. Ges. 1925, 58 (612).

⁵⁾ Z. physik. Chem. 1913, 85 (211).

⁶⁾ Z. Elektrochemie. 1914, 20 (201).

⁷⁾ Trans. Faraday Soc. 1928, 28 (641).

⁸⁾ J. Chem. Soc. 1927, 129 (2539).

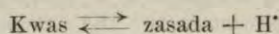
Wzór powyższy został teoretycznie wyprowadzony przez Broenstedta¹⁾ z jego poglądów na układy kwaso-zasadowe. Znalazł on związek między siłą kwasu (zasady) w jego pojęciu a katalitycznym zachowaniem się danego układu kwaso-zasadowego. Trzeba zaznaczyć, że tak jak w teorii elektrolitycznej dysocjacji Arrheniusa badania kinetyczne poparły jego pogląd, tak i w tym przypadku kinetyka, rozszerzona na układy niewodne, potwierdza w zupełności nową koncepcję funkcji kwaso-zasadowej.

Dla zrozumienia współczesnych poglądów na mechanizm protonowy katalizy w układach kwaso-zasadowych należy zaznajomić się z pojęciem układów kwaso-zasadowych, tembardziej, że nasze doświadczenia są wykonane na układach niewodnych.

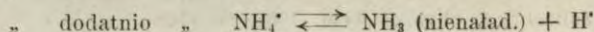
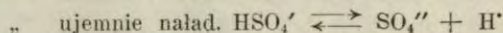
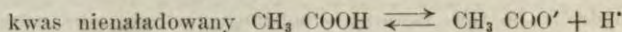
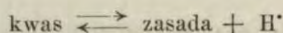
Ale nietylko z tych powodów warto się nad tą sprawą zatrzymać. W przyrodzie żywej spotykamy na każdym kroku wielofazowość układów, dlatego zaznajomienie się fizjologów z temi rozszerzonymi na wszelkie układy (wodne i niewodne) pojęciami kwasów i zasad uważamy za wskazane i pożyteczne.

Klasyczne pojęcia kwasu i zasady rozwinęły się na podstawie roztworów wodnych i dlatego są jednostronnie przystosowane tylko do tego typu roztworów. Definicje kwasów i zasad, oparte na elektrolitycznej dysocjacji roztworów wodnych⁴⁾, nie nadają się do roztworów niewodnych. Broenstedt²⁾ i Lowry³⁾ są twórcami nowych definicji, które rozszerzają zakres pojęcia kwasu i zasady na wszelkiego typu roztwory. Według nich kwasem (donatorem protonowym) nazwiemy taki związek, który może oddać proton (H'), a zasadą (akceptorem protonowym) taki, który może przyjąć proton.

Przychem jest obojętne, czy dany związek (ciało) jest jonem, czy ciałem nienaładowanem. Schematycznie można tę zależność przedstawić następująco:



Jako przykłady mogą służyć następujące trzy przypadki:



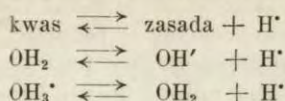
1) Trans. Faraday Soc. 1928, 24 (630).

2) Ber. d. dtsh. Chem. Ges. 1928, 61, II B. (2049).

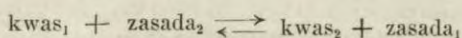
3) Trans. Faraday Soc. 1930, 26 (45—46).

4) Zob. Mich a e l i s a: Die Wasserstoffionenkonzentr. 1922, str. 16

Woda, jako związek amfoteryczny, daje nam odpowiednio następujące zależności:

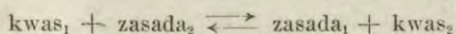


Jak widać, w tem ujęciu jon wodorotlenowy traci na swoim ogólnem znaczeniu jako charakterystyce zasad. Kwasy i zasady, związane ze sobą powyższemi zależnościami, nazywają się wg. Bronsted'ta korespondującemi, a układ zawierający takie ciała *układem pojedynczym kwaso-zasadowym*. Jednak musimy przyjąć wg. Bronsted'ta¹⁾, że wolny proton nie może jako taki w roztworze istnieć, że musi być obecne w systemie inne ciało, inny akceptor protonu (zasada), któryby był w stanie ten uwolniony proton ze sobą związać, i tylko wtedy może objawić się własność kwasowa donatora protonu. Tak musi się powyższy schemat rozszerzyć na dwa układy kwaso-zasadowe. W formie równania równowagi można ten schemat następująco podać:

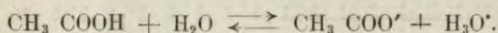


Posuwając się z lewej strony ku prawej mamy: proton z kwasu 1 przeszedł na zasadę 2, tworząc kwas 2, przyczem kwas 1 zamienił się na zasadę 1. Taki układ nazwano *podwójnym układem kwaso-zasadowym*.

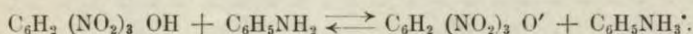
Podamy następujące dwa przykłady takich układów:



dla roztworu wodnego.



Woda zastępuje w tym przypadku jako amfolit jeden z układów kwaso-zasadowych. Dla roztworu kwasu pikrynowego i aniliny w benzenie mamy:



Jest to przykład układu kwaso-zasadowego bez współdziałania wody. Sam kwas pikrynowy, rozpuszczony w benzenie, nie może objawić swoich cech kwasowych, dopóki nie ma akceptora (zasady) dla swego protonu (aniliny). W tym przypadku nie mamy przed sobą ani H⁻-jonu, ani też hydroksonium. Z tego widać, że także H⁻-jon (a więc i oznaczenie pH jako ogólna

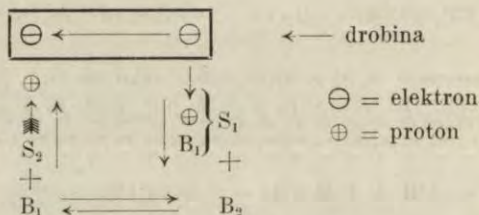
¹⁾ Trans. Faraday Soc. 1928, 24 (630).

funkcję kwasów) stracił na ogólnem znaczeniu, gdyż jego obecność w układzie nie jest jedynym warunkiem powstawania cech kwasu.

Otóż kataliza kwaso-zasadowa może się tylko wtedy odbyć, gdy taki układ podwójny kwaso-zasadowy (nosiciel protonu) jest obecny w ośrodku. Udowodnili to doświadczalnie Lowry¹⁾ i jego szkoła w swoich pracach nad mutarotacją nitrokamfory i pochodnych glukozy w niewodnych roztworach, jak w benzenie, chloroformie, octanie etylu i w pirydynie. Układ pojedynczy nie jest zdolny do objawiania działań katalitycznych. Wspólność, łącząca cały układ podwójny, musi być powodem tego, aby mogły objawiać się efekty katalityczne; dowodzą tego i te badania, które wykazują, że nie tylko H-jon, ale anjon, i cząstka niedysocjowana mają udział w katalizie globalnej kwasu.

Dalej wykazanie, że silne kwasy (w sensie Broenstedta cząstki, które mogą łatwo oddać proton) a więc dobre donatory protonów i dobre akceptory (zasady, anjony słabych kwasów) dają silne zjawiska katalityczne, wskazuje na to, że i od ruchliwości protonu w układzie musi być zależna działalność katalityczna.

Na tej właśnie zasadzie, że ruch protonu jest podstawą zjawiska katalizy, stworzył Lowry²⁾ t. zw. elektrolityczną teorię katalizy kwaso-zasadowej. Mechanizm tej katalizy przedstawia się następująco: odjęcie w jednym miejscu drobin, ulegającej reakcji katalitycznej, a oddanie w drugim protonu wykonywa układ podwójny kwaso-zasadowy poza cząstką, przez ośrodek, przyczem w drobinie następują odpowiednie przesunięcia ładunków. Mechanizm ten ma taki wygląd, jakby kwas i zasada tworzyły elektrody, a drobina ulegała śródcząsteczkowo elektrolizie. Elektrody wartościowości (Lewis-Langmuira) zmieniają przytem swoje położenie, tworząc czasowo „zwitterjon” (dwujon) z cząstki przedtem nienaladowanej. W ten sposób interpretuje Lowry²⁾ katalizę ketyzacji enolu, hydrolizy estrów, inwersję i mutarotację. Przesunięciom elektronów odpowiadają zmiany w wiązaniach. Ogólnie obrazowo można tę sprawę przedstawić następująco:



n. p. $\text{S} = \text{H}_3\text{O}^+$, $\text{B}_1 = \text{H}_2\text{O}$, $\text{B}_2 = \text{Cl}^-$, $\text{S}_2 = \text{HCl}$.

S_1 jest słabym kwasem np. H_3O^+ , ale zato gdy pozbędzie się protonu — dobrym akceptorem tegoż — B_1 (H_2O). Przy odjęciu protonu dro-

¹⁾ J. Chem. Soc. 1925, 127 (1985), 1925, 127 (1883). Proc. roy Soc. A. 1928, 118 (505).

²⁾ J. Chem. Soc. 1927, 129 (2554).

binie, trzeba wykonać dużą pracę jonizacji. Proton dalej przechodzi do B_2 dając S_2 , który jest silnym kwasem, a więc dobrym donatorem protonu, np. HCl. Kwas ten może z łatwością oddać proton w innym miejscu cząstki. Jednocześnie występuje w drobinie przesunięcie elektronu wartościowości, jak to strzałka wskazuje.

Jak widzimy, w tym mechanizmie protonowym bierze udział cały układ kwaso-zasadowy, i dlatego każda część jego musi wpływać na zjawisko katalizy; szczególnie jest to widoczne, gdy zmieniają się warunki katalizy (np. przez dodanie soli o jonach występujących w układzie katalizującym). Różne części powyższego podwójnego układu kwaso-zasadowego, biorącego w tym mechanizmie katalizy udział, mogą stanowić o szybkości reakcji, dlatego poczęści jest i to zrozumiałe, że jedne reakcje lepiej są katalizowane silnymi zasadami, inne silnymi kwasami (np. hydrolyza kwasowa ortoocetanu etylowego i rozkład nitramidu zasadami).

Do pewnego stopnia stoi w łączności z wyłożonym uprzednio mechanizmem protonowym katalizy teoretyczne wyprowadzenie równania przez Broensted'a, będącego w zgodności z wzorem Taylora.

Autor przytacza wiele przykładów, potwierdzających jego równanie w całej rozciągłości tak dla katalizy zasadowej przez aniony, jak i kwasowej.

Jeszcze kilka dopełnień do tej nowej koncepcji kwasów i zasad. Miarą kwasowości pewnego roztworu jest aktywność protonu, miarą zaś zasadowości, jak to łatwo z nowej definicji zasady wywnioskować — odwrotna wartość kwasowości.

Aktywność protonu może się objawić, jeśli dwa układy korespondujących kwasów i zasad są obecne. W roztworze wodnym może każdy kwas oddać swój proton, bo ma drugi układ — amfoteryczną wodę — przyjmujący jako zasada (akceptor) proton: $H_2O + H^+ \rightarrow H_3O^+$.

Gdy występuje w H_2O silna zasada, wtedy zachowuje się woda jako kwas (donator) i oddaje proton tworząc OH^- , np. (wg. nowej definicji zasady) $NH_3 + H_2O \rightleftharpoons NH_4^+ + OH^-$. Gdy w roztworze wodnym mamy NaOH, to kation Na^+ , który nie jest zasadą ani kwasem, istnieje obok OH^- bez zmiany protonowej; OH^- (zasada) zaś będąc składnikiem układu wodnego przesuwają w nim wg. wzoru: $K = \frac{OH^- \cdot OH_3^+}{OH_2} = 1.8 \times 10^{-16}$ stężenie OH_3^+ jonów.

Bezwzględnych wartości aktywności protonu nie możemy poznać, dostępne nam jest jedynie zmierzenie wartości względnych w stosunku do obranego za standart układu. W określonym ośrodku mamy dla układu

pojedynczego następujące stałe, stałą kwasową: $K_{kw.} = \frac{c_{zas.} \cdot a^*H}{c_{kw.}}$ i stałą

zasadową $K_{zas.} = \frac{c_{kw.}}{c_{zas.} \cdot a^*H}$, przyczem oznacza: a^*H = aktywność protonu,

$c_{zas.}$ = stęż. zasady, $c_{kw.}$ = stęż. kwasu. $K_{kw.} \cdot K_{zas.} = 1$. Dla podwójnego

1) Tarns. Faraday Soc. 1928, 24 (630).

układu $S_1 + B_2 \rightleftharpoons S_2 + B_1$ mamy: $K_1 = \frac{c_{B_1} \cdot a'H}{e_{S_1}}$ i $K_2 = \frac{c_{B_1} \cdot a'H}{c_{S_2}}$

z czego $\frac{K_2}{K_1} = \frac{c_{B_2} \cdot c_{S_1}}{c_{S_2} \cdot c_{B_1}}$. A więc można ze stosunków koncentracji

obliczyć $\frac{K_2}{K_1}$. (względne wielkości K). Jeśli przyjmiemy jeden z układów

za standartowy, jak to czynimy dla roztworów wodnych, przyjmując układ wodny za standartowy, wtedy możemy podać wzgl. wartości drugiego K. Oznaczmy układ wodny przez 1, wtedy mamy:

$S_2 + H_2O \rightleftharpoons B_2 + H_3O'$, $K_1 = \frac{H_2O \cdot a'H}{H_3O'}$ $K_2 = \frac{B_2 \cdot a'H}{S_2}$. Przyjmując

$\frac{K_1}{H_2O} = 1$, jako dla standartu, mamy $K_2 = \frac{B_2 \cdot H_3O'}{S_2}$. *Jest to klasyczna*

na definicja stałej kwasowej.

Dalej podajemy w dosłownym tłumaczeniu pewne zdania z pracy Broenstedta¹⁾. „Ciekawe jest stwierdzenie różnic między temi poglądami a klasyczną teorią kwaso-zasadową. Gdy dla klasycznej teorii HCl właściwie nie jest kwaśne, ponieważ kwasowość roztworu HCl powstaje dopiero przy dysocjacji przez tworzenie H^+ , albo H_3O^+ + jonów, to wg. naszego zapatrywania tworzy się przez tę „reakcję dysocjacji” jedynie jeden kwas z innego, a mianowicie słabszy kwas H_3O^+ + z silniejszego kwasu HCl. Tak że „dysocjacji” towarzyszy nie wzrost, tylko jak przy każdej dobrowolnej reakcji kwaso-zasadowej, spadek kwasowości”.

Jeszcze nadmienimy, że w cytowanej pracy opisuje autor jakościową metodę oznaczenia siły kwasów w układach nie wodnych zapomożą wskaźników.

Zwracamy (od siebie) uwagę, że zasady powstałe z dysocjacji silnych kwasów są słabymi — (złe akceptory protonu), aniony zaś słabych kwasów, jak OH^- , CH_3COO^- — są silnymi zasadami.

Na tej zasadzie polega też nowy sposób tłumaczenia elektrolitycznej hydrolizy soli.

W przyrodzie żywej występuje pewna grupa enzymów t. zw. hydrolazy, które katalizują wielką ilość reakcyj, jakie i przez systemy kwaso-zasadowe są przyspieszone. Zadajemy sobie pytanie, jak życie rozwiązało problem mechanizmu tych kataliz. Jedno już zasadniczo odróżnia oba typy katalizatorów od siebie — specyficzność. Jednak i przy katalizie kwaso-zasadowej mechanizmy dla różnych reakcyj są różne, np. dla ketyzacji enolu i dla hydrolizy estrów; lecz gdy tu jeden i ten sam katalizator może być stosowany do wielkiej ilości reakcyj, to u poszczególnych hydrolaz mamy w większym lub mniejszym zakresie pewne nastawienie do ograniczonej ilości kataliz pewnej grupy tych reakcyj. Zaczęliśmy nasze badania od hydrolaz (lipazy, esterazy) i, zdaje się, że zapoczątkowaliśmy pewne drogi, któremi trzeba będzie zdążać, aby osiągnąć wyświetlenie tej sprawy.

¹⁾ Ber. d. deutsch. Chem. Ges. 1928, 61 (2059).

W pierwszych pracach ¹⁾ naszych wykonanych na układzie kwas oleinowy, glicerol, woda i lipaza rozpuszczona w fazie wodnej, wykazano, że lipaza działa w formie zaadsorbowanej na granicy faz, wodnej i tłuszczowej. W tym przypadku jest bardzo trudne wyobrażenie sobie mechanizmu katalizy. W strefie międzyfazowej mamy napewno mikroniejnorodny układ, w którym znajduje się działająca lipaza. Można przypuścić, że lipaza musi się stykać tak z fazą wodną, jak i tłuszczową na odległość działania sił molekularnych (może cząstek koloidalnych w sensie S m o l u c h o w s k i e g o), ażeby reakcja estryfikacji mogła się odbyć.

Mamy tu trzy możliwe powierzchnie międzyfazowe: 1. woda-tłuszcz, 2. woda-lipaza i 3. tłuszcz-lipaza. Ścisłejsze zetknięcie się wszystkich trzech faz może odbyć się tylko na linii tłuszcz-woda-lipaza. Wydaje się nam jednak, że w tej interpretacji działalność lipazy byłaby zredukowana do bardzo małej przestrzeni i to uniemożliwiłoby przyśpieszenie reakcji. Nie wdając się w dalsze możliwości wyłożenia tej katalizy, nasuwa nam się tu pewna analogja między katalizą kontaktową a działaniem lipazy w systemie, gdzie lipaza znajduje się jako ciało kontaktowe na granicy faz.

W dalszych naszych badaniach ²⁾ pracowaliśmy z układami bardziej prostymi. Jako ośrodek obojętny obraliśmy aceton, który ma tę zaletę, że nie inaktywując enzymu, umożliwia zastosowanie całego szeregu kwasów i alkoholów, jako substratów do estryfikacji, które w innych ośrodkach już w bardzo małych stężeniach unieczynnają enzym estryfikujący (esterazę). W tym układzie tworzy esteraza osobną makrofazę, a substraty nie są rozdzielone, jak w systemie wodno-tłuszczowym. Jako katalizatorów nieenzymatycznych używaliśmy HCl i kwas pikrynowy. Porównywaliśmy tu układ makroniejnorodny, kontaktowy, z układem nieenzymatycznym, jednorodnym. Możliwyby zarzucić, że porównywa się zbyt różniące się układy. Wyszliśmy jednak z założenia, że gdyby mechanizm katalizy na powierzchni kontaktowej był podobny do mechanizmu w ośrodku jednorodnym, to musiałyby wyjść na jaw pewne cechy wspólne obu kataliza-

¹⁾ Acta Biol. Exper. 1930, 6 (1—27).

²⁾ Bioch. Zeitschr. 1931, 230 (19).

torom. Przestrzeń reakcyjna jest przy katalizie kontaktowej bardzo mała, ściśnięta w strefę międzyfazową. Między tą strefą a środowiskiem mamy ciągłą wymianę substratów. Reakcje nasze odbywają się bardzo wolno i należy przypuszczać, że równowaga rozdziału między strefą a ośrodkiem zostaje w stosunku do szybkości reakcji bardzo prędko osiągnięta; szczególnie gdy układy ulegają silnemu mieszaniu. Same wyniki doświadczeń, jak to później zobaczymy usprawiedliwiają takie porównanie.

B. Metodyka i wstępne badania nad inaktywacją.

Enzym otrzymano z trzustek świńskich, które po oczyszczeniu mechanicznym z tkanek niegruczołowych, po odwodnieniu i odtłuszczeniu acetonem i eterem zmielono w młynku na proszek. Kwasowość układu oznaczano 1/20n ługiem alkoholowym lub 1/20n wodorotlenkiem baru, używając o-krezoltaleiny jako indykatora. Estry oznaczono przez zmydlenie.

W doświadczeniach wstępnych, opisanych w cytowanej pracy¹⁾, chodziło o znalezienie dozwolonego zasięgu stężeń substratów, aby nie wywołać inaktywacji enzymu i przez to nie uniemożliwić badań kinetycznych własności esterazy.

C. Doświadczenia.

1. Wpływ stężenia alkoholu i kwasu na reakcję estryfikacji.

Badania kinetyczne nad wpływem stężenia alkoholu były wykonane na układzie: n. butanol, kwas masłowy, maślan butylu i woda w ośrodku acetonowym przy 37.5° C.

Do estryfikacji użyto następujących stężeń butanolu: 1.5, 3, 6, 10.3n, przyczem inne substraty posiadały na początku reakcji zawsze te same stężenia, i tak: H₂O = 2.5n, a kwas masłowy 0.3n. Przy próbie z 10.3n butanolem nie dodano do układu acetonu, ponieważ przy tem stężeniu alkohol zajmuje całą objętość układu. Poszczególne próby do badań nad wpływem esterazy wynosiły 50 cm³ objętości, a dodana ilość esterazy do nich = 2 g preparatu II i 4 g preparatu I.

Do każdej reakcji przygotowywano pewną ilość tych prób (najczęściej 4). Przy katalizie kwasowej objętość układu wynosiła 200 cm³,

¹⁾ Bioch. Zeitschr. 1931, 230 (19).

z których co pewien czas pobierano do oznaczeń 10 cm³ pipetą. Stężenie kwasu solnego wynosiło przy wszystkich badaniach 0.1n.

Z wzoru dla reakcji dwucząsteczkowej odwracalnej, obliczono stałe szybkości reakcji. Są one zestawione na tabeli I, przy czym k oznacza stałe szybkości reakcji esterazy, a k' kwasu solnego.

T a b e l a I.

Wpływ stężenia alkoholu na stałe szybkości reakcji przy działaniu esterazy (k) i przy katalizie HCl (k_1).

Einfluss der Alkoholkonz. auf die Reaktionsgeschwoeffizienten bei der Esterasewirkung (k) und HCl-Katalyse (k_1).

Ilość esterazy I: 4 g.

Esterasemenge I: 4 g.

Stężenie alkoholu mol/l <i>Alkoholkonz. Mol/L</i>	$k_1 \cdot 10^5$		$k_2 \cdot 10^5$		k_1/k'_1	k_2/k'_2
	k_1	k'_1	k_2	k'_2		
1.5	1249	34.7	442	8.5	36	52
3.0	906	28.8	393	8.2	31	48
6.0	571	20.9	360	7.5	27	48
10.2	450	17.7	470	10.3	25	46

Ze stosunku k/k' widzimy, że większe odchylenia daje k_1/k'_1 (dla estryfikacji), a nieznaczne k_2/k'_2 (dla hydrolizy). Początkowe szybkości reakcji wzrastają ze wzrostem stężenia alkoholu tak przy działaniu esterazy, jak i przy katalizie kwasowej, a więc można powiedzieć, że nie dochodzimy do takiego stanu, żeby alkohol na kontakcie-esterazie zajął wszystkie miejsca aktywne i przez to zmiana stężeń alkoholu nie wpływała na początkową szybkość reakcji. Nie osiągamy przy wzroście stężenia alkoholu pewnego maksimum początkowej szybkości reakcji.

Zestawienie początkowych szybkości reakcji v_1 mamy na tab. II. Zjawisko tego nienasycecia jest też niezależne od ilości użytej esterazy (1.2 i 4 g.). Podano szybkości dla 2 i 4 g esterazy (różne preparaty).

Zupełnie inaczej przedstawia się obraz kinetyczny przy zmianie stężeń kwasu masłowego. Przy bardzo małych stężeniach wzrasta szybkość reakcji ze wzrostem stężenia tak przy działaniu esterazy, jak i HCl, lecz już przy niewielkiem stężeniu (0.6 n) kwasu w porównaniu do alkoholu, gdzieśmy doszli do 10.3 n i takiego zjawiska nie zaobserwowali, mamy osiągnięcie pewnego maksimum szybkości reakcji. Przy czym działanie katalizy kwa-

sowej jest podobne jak przy zmianie stężeń alkoholu — t. zn. wzrasta — a nawet w tych granicach stężeń ściśle *proporcjonalnie ze stężeniem kwasu*.

Tabela II.

Początkowe szybkości reakcji estryfikacji (v_1) przy różnych stężeniach alkoholu.

V_1 = zmiana steż. estru w milimolach na litr i godzinę.

Anfangsgeschw. der Estrifizierung (v_1) bei verschiedenen Alkoholkonzentrationen.

V_1 = Konzentrationssteigerung des Esters in Millimolen pro Liter und Stunde.

Stężenie alkoholu mol/l Alkoholkonz. Mol/L	Esteraza: 14g Esterase:	Esteraza: 112g Esterase:	HCl 01 n.
1.5	56	11	16
3.0	82	15	26
6.0	102	19	37
10.2	135	24	53

Tabela III.

Początkowe szybkości estryfikacji (v_1) przy zmianie stężenia kwasu masłowego i ilości esterazy.

Stężenie butanolu: 6.0 n. H_2O = 2.0 n. Temp. = 38.8°

Anfangsgeschw. der Estrifizierung (v_1) bei verschiedenen Buttersäurekonz. und

Esterasemengen. Butanolkonz. = 6.0 n. H_2O = 2.0 n. Temp. = 38.8°

Stęż. kwasu mol/l Säurekonz. Mol/L	Ilość esterazy Esterasemengen		
	1 g	2 g	4 g
0.1	3	6	8
0.3	8	15	36
0.6	11	26	52
1.2	10	24	69

Na tab. III. podajemy wyniki doświadczeń, wykonanych z nast. stężeniami kwasów: 0.1, 0.3, 0.6 i 1.2 n, przyczem stężenie początkowe wody wynosiło 2 n, a alkoholu 6.0 n.

Temperatura: 38.8°. Wyższe stężenie kwasów trudno byłoby zastosować, gdyż kwas działa wtedy inaktywująco na esterazę

2. Wpływ rodzaju alkoholu i kwasu na szybkość reakcji estryfikacji.

Porównawcze badania kinetyczne wykonano na układach, w których użyto alkohole i kwasy szeregu homologicznego i alicyfatycznego. Zależność zdolności do reakcji od natury alkoholu i kwasu została zbadana dla roztworów wodnych przez Menszutkina¹⁾ przed 50 laty. Skonstatował on, że w tych samych warunkach alkohole drugorzędowe działają wolniej od pierwszorzędowych

W naszych badaniach znaleziono, że zdolności do reakcji estryfikacji poszczególnych alkoholi szeregu homologicznego i ipropanolu są w małym tylko stopniu zależne od katalizatora (esteraza lub HCl) i od ośrodka (np. dla esterazy użyto zamiast acetonu, eter i kwas oleinowy jako ośrodki). Takie same stopniowanie zdolności do reakcji alkoholi mamy w reakcji termicznej przy 95° C bez dodawania katalizatora. Tu jednak zdaje się, że reakcja pochodzi od „samoestryfikowania się” pod katalitycznym wpływem obecnego kwasu-substratu.

Podajemy wyniki doświadczeń nad estryfikacją kwasów masłowego i stearynowego z alkoholami: metanolem, etanolem, propanolem, i-propanolem i butanolem zapomocą HCl-katalizy i esterazy. Dla zestawienia względnych wielkości, aby cechy kinetyczne alkoholi wyraźniej występowały, użyjemy jako szybkości porównawcze stałe szybkości estryfikacji metanolu i do tych stałych odnosimy osobno estryfikację esterazową i kwasową poszczególnych kwasów-substratów.

W tab. IV. zestawiono względne stałe szybkości reakcji w stosunku do metanolu.

Przy zmianie koncentracji *kwas* pod względem kinetycznym odmiennie się zachowywał przy działaniu esterazy w porównaniu do HCl aniżeli alkohol, tak samo i wpływ poszczególnych *kwasów* szeregu homologicznego na kinetykę estryfikacji, jest przy działaniu esterazy zupełnie innego rodzaju, niż przy HCl-katalizie i czysto termicznej reakcji, przez co i w tym przypadku inaczej się zachowuje, jak alkohol. Dla porównania zacho-

¹⁾ Ann. chim. phys. (5). 1880, 20 (229). 1881, 23 (14). 1883, 30 (81)

Tabela IV.

Względne stałe szybkości reakcji estryfikacji różnych alkoholi z kwasem masłowym i stearynowym w stosunku do metanolu.

Stężenia: Kwas = 0.3 n. Alkohol = 1.0 n. H₂O = 1.0n. HCl = 0.1n. Temp. 38.9°. *Relative Reaktionsgeschwökonstanten der Estrifizierung verschiedener Alkohole mit Butter- und Stearin-säure im Verhältnis zu Methanol.*

Konzentr: Säure = 6.3 n. Alkohol = 1.0 n. H₂O = 1.0 n. HCl = 0.1 n. Temp. 38.9°.

	Kwasy Säuren	Metanol Methanol	Etanol Äthanol	Propanol	Ipropanol	Butanol
Esteraza Esterase	masłowy Butter-	1	0.45	0.43	0.06	0.60
	stearynowy Stearin-	1	0.32	0.47	0.03	0.47
HCl	masłowy Butter-	1	0.58	0.49	0.08	0.48
	stearynowy Stearin-	1	0.48	0.42	0.06	0.48

wania się kinetycznego poszczególnych kwasów zestawiliśmy na tab. V. względne stałe szybkości reakcji w stosunku do kwasu octowego, a nie mrówkowego, ponieważ ten ostatni silnie inaktywuje esterazę. Do reakcji użyto następujących kwasów: octowy, propjonowy, masłowy, walerjanowy, kapronowy, kaprinowy, mi-rystynowy i stearynowy, a z alkoholów: metanol i n-propanol.

Z tab. V. widzimy, że kinetyczne własności kwasów są niezależne od użytego alkoholu, co stwierdzono też i dla alkoholu

Tabela V.

Względne stałe szybkości reakcji estryfikacji różnych kwasów z metanolem i propanolem w stosunku do kwasu octowego.

Stężenia: Kwas = 0.3 n. Alkohol = 1.0 n. H₂O = 1.0 n. HCl = 0.1 n. Temp. 38.5°. *Relative Reaktionsgeschwöeffizienten der Veresterung verschiedener Säuren mit Methanol und Propanol im Verhältnis zur Essigsäure.*

Konzentr: Säure = 0.3 n. Alkohol = 1.0 n. H₂O = 1.0 n. HCl = 0.1 n. Temp. 38.5°.

Katal	Alkohole	Ilość C-atomów w kwasie. Anzahl der C-Atome der Säure.							
		2	3	4	5	6	10	14	18
Esteraza Esterase	Metanol Methanol	1	1.7	2.2	1.6	0.23	3.3	2.1	1.3
	Propanol	1	1.7	2.5	1.6	0.29	2.9	1.9	1.5
HCl	Metanol Methanol	1	0.87	0.59	0.58	0.51	0.59	0.50	0.56
	Propanol	1	0.83	0.83	0.55	0.49		0.43	0.47

amyłowego fermentacyjnego. Zupełnie odmienne zachowanie się kwasu przy działaniu esterazy, aniżeli HCl-katalizy wskazuje na pewną jej specyficzność w stosunku do kwasu-substratu. Może to polegać na pewnym aktywowaniu tego substratu. Bhide i Sudborough¹⁾ znaleźli w swoich badaniach nad katalizą kwasową podobne stosunki jak u nas.

3. Wpływ wody na estryfikację.

Woda nie bierze w estryfikacji jako substrat udziału, a mimo to, ma ona wielki wpływ tak na działanie esterazy, jak i na katalizę kwasową i to na ostatnią — wprost przeciwny, niż na enzymatyczną.

W następnej tabeli VI przedstawiono stałe szybkości reakcji przy różnych stężeniach wody i przy stężeniach: kwasu masłowego 0.3 n, HCl 0.1 n butanolu 6.0 n. Temp. = 38.4° C.

Tabela VI.

Stale szybkości reakcji estryfikacji kwasu masłowego z butanolem przy różnych stężeniach wody.

Stężenia: kwas = 0.3 n. Alkohol = 6.0 n. HCl = 0.1 n. Temp. = 38.4°.

Reaktionsgeschwoeffizienten der Veresterung von Buttersäure mit Butanol bei verschiedenen Wasserkonzentrationen.

Konzentr. Säure = 0.3 n. Alkohol = 6.0 n. HCl = 0.1 n. Temp. = 38.4°.

[H ₂ O]n.	0	0.5	1.0	2.0	3.0
Esteraza <i>Esterase</i>	0.0022	0.0053	0.0111	0.0200	0.0222
HCl		0.0540	0.0366	0.0200	0.0144

Gdy dla esterazy mamy ze wzrostem stężenia wody od 0.0 do 3.0 n 10-krotne przyspieszenie reakcji, to dla HCl-katalizy spada szybkość reakcji od stężenia H₂O = 0.5 do 3.0 n przeszło 4-krotnie. Równocześnie można było stwierdzić, że woda mimo tak odmiennego wpływu na oba katalizatory, nie wpływa znacznie na końcowy stan równowagi tej reakcji odwracalnej. Z tego można było wnioskować, że H₂O musi mieć podobny wpływ na reakcję odwrotną, na hydrolizę

¹⁾ Journ. Indian. Inst. Sci. (A), 1925, 8 (89, 127).

Paraliżujące działanie wody przy HCl-katalizie polega najprawdopodobniej na tem samym mechanizmie jaki Goldschmidt¹⁾ wywnioskował z wyników badań nad estyfikacją w ośrodkach alkoholowych. Przy działaniu katalitycznym kwasu pikrynowego na ten sam układ nie można było znaleźć tego hamującego wpływu wody na szybkość estyfikacji. Według Goldschmidta i Brediga²⁾ katalizujące cząstki niezdysojowane nie podlegają wpływowi H₂O, a więc można przypuszczać, że w naszym przypadku kwas pikrynowy działa w znacznej mierze jako cząstka niezdysojowana. Zrozumiałe to jest, ponieważ jest on słabym kwasem (np. w stosunku do HCl), a w ośrodku niewodnym z pewnością stopień dysojacji nie będzie wielki (akceptorem protonu oprócz H₂O jest i alkohol).

4. Wpływ stężenia estru i wody na szybkość hydrolizy estru.

Jako substratu do hydrolizy użyto maślan etylu w stężeniach 0.625, 1.25 i 2.5 n. Początkowe szybkości reakcji (v_2), wyrażone w milimolach na litr powstałego kwasu na godzinę, są przedstawione na tab. VII

Tabela VII.

Wpływ stężenia estru (maślanu etylu) na początkową szybkość hydrolizy (V_2).
 Stężenia: H₂O = 3 n. HCl = 0,1 n. Esterazy 4 g. na 50 cm³. Temp. 34°.
Einfluss der Esterkonzentr. (buttersaur. Äthyl) auf die Anfangsgeschw. der Hydrolyse (V_2)
 Konzentr.: H₂O = 3 n. HCl = 0,1 n. Esterase 4 g. pro 50 cm³. Temp. = 34°.

Stężenie estru Esterkonz.	Esteraza Esterase	HCl	$V_2 \text{ est} / v_2 \text{ HCl}$
0.625 n.	33.0	11.3	2.9
1.25 n.	53.7	20.7	2.6
2.5 n.	91.7	32.0	2.9

Z ostatniej kolumny tabeli, gdzie są podane stosunki początkowych szybkości reakcji przy działaniu esterazy i HCl/ $v_2 \text{ est} / v_2 \text{ HCl}$ jest widoczne, że zmiany w szybkości hydrolizy przy zwiększeniu stężenia estru są dla obu rodzaju kataliz proporcjo-

¹⁾ loc. cit.

²⁾ loc. cit.

nalne do siebie. Jest to zupełnie zgodne z obserwacją, dokonaną w pierwszych naszych doświadczeniach, gdzie stosunek k_2/k_2' nie ulegał wielkim wahaniom, mimo zmiany w stężeniach alkoholu (zob. tab. I).

Przyjmując, że alkohol nawet przy największych stężeniach nie osiąga granicznej szybkości reakcji odpowiadającej nasyceniu powierzchni kontaktowych substratem alkoholem, a więc że alkohol ma zawsze dla siebie wolne przestrzenie aktywne na kontakcie, trzeba przyjąć, że po reakcji estryfikacji powstałe estry momentalnie zwalniają centra aktywne i przez to umożliwiają zajęcie tych miejsc znów przez kwas. Z tego wynikałoby, że utworzony ester jako produkt reakcji nie może tworzyć z esterazą stałego związku enzym-substrat. Ten wniosek, wyprowadzony z wyników pierwszych doświadczeń, jest w zgodności z powyższymi faktami, zauważonemi przy hydrolizie estru esterazą.

Wpływ stężenia wody na szybkość hydrolizy maślanu etylu zapomocą esterazy i HCl jest przedstawiony w tab. VIII.

Tabela VIII.

Wpływ stężenia wody na początkową szybkość hydrolizy maślanu etylu (v_2).

Stężenia: Ester = 1.25 n. HCl = 0.1 n. Temp. = 35.5°.

Einfluss der Wasserkonz. auf die Anfangsgeschw. der Hydrolyse von buttersaurem Äthyl.

Konzentr: Ester = 1.25 n. HCl = 0.1 n. Temp. = 35.5°.

[H ₂ O]	Esteraza Esterase	HCl	V_2^{est}/V_2^{HCl}
1.0 n	42.5	25	1.7
2.0 n	53.0	25	2.1
3.0 n	60.0	21	2.9
4.0 n	69.0	17	4.0

Z cyfr jest widoczne, że wpływ zwiększenia stężenia wody jest tego samego rodzaju jak przy estryfikacji, t. zn., działa przyspieszająco na esterazę a hamująco na katalizę przez HCl. Lecz wpływ jest o wiele mniejszy, co można sobie wytłumaczyć następująco: przy katalizie kwasowej działanie wody jako substratu, biorącego udział w reakcji, musi być przeciwne, niż jej działanie jako paralizatora; przy działaniu esterazy jest możliwe, że woda osiąga stan nasycenia powierzchni kontaktowej, co by odpowiadało zjawisku nasycenia jej kwasem przy estryfikacji. Oczekiwano, że jeden z substratów hydrolizy również objawi zdolność do

nasylenia kontaktu, gdyż inaczej trudno byłoby sobie wytłumaczyć zbliżone stany równowagi obu kataliz, otrzymane w doświadczeniach. Bardzo możliwe, że hamujący wpływ H_2O na HCl -katalizę przy hydrolizie polega również na konkurencji estru z wodą o proton; szczególnie jeśli sobie uzmysłowymy mechanizm hydrolizy estrów, przyjęty przez L o w r y e g o ¹⁾). Stosunek $v_{2,est}/v_{2,HCl}$ ulega przy zmianie stężenia wody wielkim wahaniom.

5. Wpływ rodzaju użytego estru na szybkość reakcji hydrolizy.

W tab. IX. mamy zestawienie względnych stałych szybkości reakcji hydrolizy estrów kwasu masłowego z alkoholami: metanolem, etanolem i butanolem w stosunku do maślanu metylu. Z tych danych i z przytoczonych zarazem odpowiednich wielkości estryfi-

Tabela IX.

Zestawienie względnych stałych szybkości reakcji hydrolizy estrów maślanu etylu i maślanu butylu w stosunku do maślanu metylu. Celem porównania podano odpowiednie wielkości dla estryfikacji z tab. IV.

Stężenia: ester = 0.3 n. H_2O = 1.0 HCl = 0.1 n. Temp. = 39.0°.

Relative Reaktionsgeschwkonstanten der Hydrolyse von butters. Äthyl und butters. Butyl im Verhältnis zu butters. Methyl. Zu Vergleichszwecken wurden entsprechende Grössen aus Tabelle IV angegeben.

Konzentr.: Ester = 0.3 n. H_2O = 1.0 n. HCl = 0.1 n. Temp. = 39.0°.

	Hydroliza. Hydrolyse.			Estryfikacja. Veresterung.		
	Met.	Et. Äth.	But.	Met.	Et. Äth.	But.
Alkohole						
Esteraza Esterase	1	0.55	0.52	1	0.45	0.60
HCl	1	0.75	0.57	1	0.58	0.48

kacji widoczne jest, że alkohol, jako składnik estru, odgrywa w obu rodzajach kataliz przy hydrolizie tę samą rolę jak przy estryfikacji. W następnej tab. X zestawiono względne stałe szybkości reakcji hydrolizy maślanu etylu do octanu etylu. Tu również w celach porównawczych podano odpowiednie wielkości, otrzymane przy estryfikacji. I w tym przypadku widzimy wyraź-

¹⁾ loc. cit.

nie niezmieniony wpływ składowej estru, mianowicie kwasu, na kinetykę hydrolizy, jaki on w stanie niezwiązanym wykazał przy estryfikacji. Ważne jest tu skonstatowanie, że i przy hydrolizie pod działaniem HCl-katalizy kwasy zupełnie inaczej się zachowują jako składowe estrów, niż przy działaniu esterazy (tab. X), i że mimo braku nasycenia estrem ciała kontaktowego także i w tym przypadku występują *pewne specyficzne właściwości esterazy w stosunku do kwasowej składowej estru.*

Tabela X.

Względne stałe szybkości reakcji hydrolizy maślanu etylu w stosunku do octanu etylu. Celem porównania podano odpowiednie wielkości dla estryfikacji (średnia z tab. V).

Stężenia: ester = 1.0 n., H₂O = 2.0 n. HCl = 0.1 n. Temp. = 38.5°.

Relative Reaktionsgeschwkonstanten der Hydrolyse von butters. Äthyl im Verhältnis zu essigs. Äthyl. Zu Vergleichszwecken wurden entsprechende Grössen für die Estrifizierung angegeben. (Im Mittel aus Tabelle V). Konzent.: Ester = 1.0 n, H₂O = 2.0 n. HCl = 0.1 n. Temp. = 38.5°.

Kwasy. Säuren	Hydroliza. Hydrolyse		Estryfikacja. Veresterung	
	Oct. Essig.	Masł. Butt.	Oct. Essig.	Masł. Butt.
Esteraza <i>Eterase</i>	1	2.70	1	2.30
HCl	1	0.55	1	0.57

6. Wpływ kwasu substratu i alkoholu na szybkość hydrolizy maślanu etylu.

Oba produkty reakcji hydrolizy mają hamujący wpływ, przewyższający w dużej mierze wpływ, jaki mogłyby wynikać z prawa działania mas. Szczególnie silny okazał się ten wpływ kwasu przy większych stężeniach (tab. XI). Hamujące działanie kwasu przy katalizie esterazą jest o wiele większe, aniżeli przy katalizie kwasowej.

Nasuwa się myśl, czy to zjawisko hamowania nie ma łączności z niedochodzeniem do równowagi lipolitycznej reakcji hydrolizy trójoleinjanu glicerolu w układzie wodnym.

Jak doświadczenia, zwłaszcza Willstättera¹⁾, wykazały, nawet w obecności aktywatorów, białka i CaCl₂ i przy b.

¹⁾ Z. physiol. Chem. 1923, 125, 93.

małym stężeniu glicerolu nie można dojść do daleko idącej hydrolizy. Przy tej hydrolizie dochodzi się więc do t. zw. równowagi pozornej. Przytem jednak reakcja odwrotna estryfikacji wykazuje wszelkie cechy dojścia do stanu równowagi, jak to przez zastosowanie wzoru reakcji dwucząsteczkowej odwracalnej i przez wpływ stężenia glicerolu na równowagę¹⁾ wykazać można. Za-

Tabela XI.

Hamujący wpływ kwasu masłowego na hydrolizę maślanu etylu. Stężenia: ester = 1.25 n. Kwas masł. = 0.75 n. H₂O = 1.0 n. HCl = 0.1 n. Temp. = 35.5°. v₂ = millimole powstałego kwasu na l. i godz.

Hemmende Wirkung der Buttersäure auf die Hydrolyse von butters. Äthyl. Konzentr.: Ester = 1.25 n. Buttersäure = 0.75 n, H₂O = 1.0 n. HCl = 0.1 n. Temp. = 35.5°. v₂ = Millimol entstandener Säure in L. und pro Stunde.

	V ₂		% hamowania % Hemmung
	Z kwasem <i>Mit Säure</i>	Bez kwasu <i>Ohne Säure</i>	
Esteraza <i>Esterase</i>	5	41	88
HCl	16	25	36

sadniczo powinien katalizator przy katalizie reakcji odwracalnej w jednakowym stopniu przyśpieszyć obie przeciwne sobie reakcje. Lecz termodynamika wymaga takiego jednakowego katalicznego przyśpieszenia reakcji tylko w pobliżu stanu równowagi, w odległości pewnej od tego stanu mogą katalizatory różnie przyśpieszać przeciwne sobie reakcje — nie przeciwna to się zupełnie prawom termodynamicznym.

D. Rozważania i hipotezy pracy.

W naszych układach całkowitych mamy *trzy układy kwasowe* (donatory protonów), mianowicie: kwas-katalizator przy katalizie HCl, kwas-substrat i woda, dalej *2 układy zasadowe* (akceptory protonów), t. j. woda jako amfolit i alkohole. Podwójny układ kwaso-zasadowy potrzebny dla katalizy jest w naszych układach przy estryfikacji obecny i bez katalizatora, a jego funkcja występuje najprawdopodobniej w wyższych temperaturach przy samoestryfikowaniu się układu. Z doświadczeń Gold-

¹⁾ Acta biol. exp. 1930, 6. N. 1

s c h m i d t a ¹⁾ wiemy, że i samoestryfikowanie się bywa hamowane przez H₂O; gdyby się jednak przyjęło, że w danym przypadku działa słaby kwas cząstkami niezdysonowanymi, to woda nie miałaby wpływu na katalizę enzymatyczną. Wiemy jednak z doświadczeń, że esteraza potrzebuje do swego działania wody, z czego wynika, że *estryfikacyjne działanie esterazy w naszych układach nie polega na przyspieszeniu reakcji samoestryfikowania się.*

Jest to zrozumiałe, bo i samohydrolizowanie się przy 95 C ²⁾ odbywa się (bez katalizatorów) bardzo trudno, niepomieranie wolniej, jak samoestryfikowanie się termiczne, ponieważ brak tu, z wyjątkiem wody, specjalnego układu kwaso-zasadowego; a mimo to, w tych warunkach esteraza działa bardzo dobrze.

Ponieważ pod wieloma względami (zmiany stężeń i rodzajów) alkoholu zachowują się przy biochemicznej reakcji tak jak przy katalizie HCl, można przypuszczać, że są one tu jak i tam w jednakowy sposób aktywowane, t. zn. wg. G o l d s c h m i d t a ³⁾, przez związek proton-alkohol. Gdyby się w całości przyjęło dla katalizy z esterazą mechanizm protonowy w sensie L o w r y e g o ⁴⁾, wtedy musiałoby się przyjąć wodę, jako donator protonu tak dla alkoholu przy estryfikacji, jak dla estru przy hydrolyzie. *Woda odgrywałaby tu rolę podwójnego układu kwaso-zasadowego, potrzebnego do tego rodzaju kataliz.*

Z wyżej podanych przyczyn musieliśmy tu wykluczyć inne układy kwaso-zasadowe, obecne w naszych systemach jako układy działające katalitycznie. Zrozumiałem wtedy się staję, że woda tak niezmiernie silnie przyspiesza reakcję syntezy estrów przez esterazę, mimo to, że jest właściwie substratem reakcji przeciwnej, a więc powinna wprost przeciwnie działać, hamować. Ciekawe jest to, że *te substraty, którym przypisujemy łączenie się z protonem przy katalizie kwasowej (alkohol i ester), zachowują się kinetycznie podobnie przy zmianie ich stężeń, tak przy działaniu esterazy, jak i katalizie HCl.* Rozpatrzmy teraz całkowity mechanizm katalizy w powyższej formie przedstawiony z uwzględ-

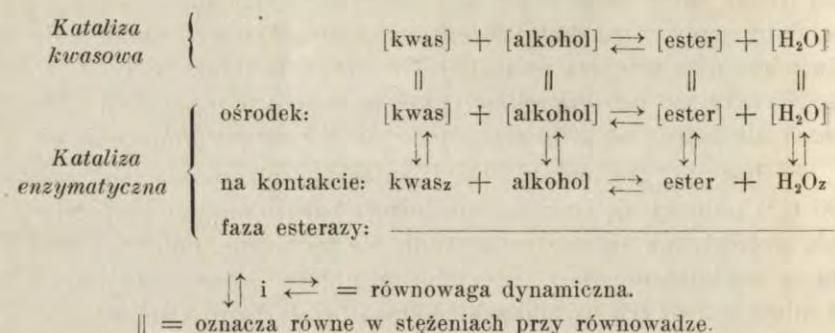
¹⁾ loc. cit.

²⁾ Bioch. Zeitschr. 1931, 230 (47).

³⁾ loc. cit.

⁴⁾ loc. cit.

nieniem jego umiejscowienia. Przedstawimy tę sprawę schematycznie następująco:



Alkohol i ester w strefie międzyfazowej (na kontakcie) przy zmianie stężeń w ośrodku nie osiągają nasycenia. Kwas-substrat przeciwnie, już w małych stężeniach zajmuje maksymalnie tę strefę, przyczem zmienia się specyficznie, co się objawia w kinetycznej jego właściwości. Ten zmieniony kwas oznaczyliśmy przez kwas. z. Alkohol aktywny jest prawdopodobnie związkiem alkohol-proton. Woda wg. naszych przypuszczeń, tworząc układ kwaso-zasadowy potrzebny dla katalizy, musi być również w jakiś sposób zaktywowana, stając się powiedzmy *ulepszonym donatorem (czy i akceptorem) protonu przez orientację, deformację*. Właściwie powinna H₂O również występować z lewej strony równania chemicznego w strefie międzyfazowej, ale trudno byłoby wyrazić jej wpływ nie tylko na alkohol, lecz i na kwas. Prawdopodobnie posiada woda, jak można ocenić z doświadczeń, zdolność nasycenia kontaktu, jak to czyni również zmieniony kwas. Równowaga rozdziału substratów między strefą międzyfazową a ośrodkiem z jednej strony i równowaga chemiczna w strefie międzyfazowej z drugiej strony, muszą tak się układać, aby termodynamicznie były dozwolone. Zbadane stałe równowag chemicznych w ośrodku tak przy HCl-katalizie, jak i przy działaniu esterazy są bardzo zbliżone do siebie. Niewielkie odchylenia ¹⁾ (7% przeciętnie), jakie zauważono, pochodzą prawdopodobnie z pewnych błędów metodycznych. Mamy nadzieję, że dalsze doświadczenia wyświecą tę

¹⁾ Bioch. Zeitschr. 1931, 230 (28).

sprawę. W każdym razie inny układ w katalizie przez obecność kwasu HCl może być (do pewnego stopnia) przyczyną innej równowagi kwasu solnego niż enzymatycznej; mamy jednak pewne dane, że przy małych stężeniach HCl uda nam się obie równowagi doprowadzić do znacznego zbliżenia. Dla wytłumaczenia hamującego działania kwasu przy hydrolizie przyjęto chwilowo koncepcję: kwas wzmacnia hydratację międzyfazową i przez to zmniejsza rozpuszczalność estru. Dalsze prace oparte na podstawie tych rozważań są w toku.

Za udzielone rady i wskazówki, będące w łączności z powyższą pracą, składam Panu Profesorowi Stanisławowi Przyłęckiemu najserdeczniejsze podziękowania.

[Zakład Fizjologii Instytutu im. Nenckiego T. N. W. i Stacja Zoologiczna
w Neapolu].

K. Białaszewicz.

Przyczynek do znajomości składu mineralnego krwi u zwierząt morskich.

Contribution à l'étude de la composition minérale du sang chez les animaux marins.

Rękopis nadesłany w dniu 10.IV.1932 r.

L'auteur présente les résultats de l'analyse du sang de 12 espèces d'Invertébrés marins appartenant aux différents groupes systématiques: Annélidés, Echinodermes, Mollusques, Crustacées, Tuniciers. Les analyses envisagent la composition minérale des liquides du corps et en particulier la teneur en chlore, potassium, calcium, magnésium et en soufre inorganique (tabl. II, fig. 1).

Il résulte des ces analyses que la teneur en composés minéraux du sang des animaux examinés se distingue d'une manière plus ou moins marquée de celle de l'eau de mer. C'est le magnésium et le soufre dont la concentration dans le sang et dans l'eau de mer montre les différences les plus prononcées: la teneur relative des ces derniers composants dans le sang de la majorité des Invertébrés examinées est inférieure à celle de l'eau de mer.

La valeur des rapports atomiques Mg/Cl et S/Cl que l'on trouve dans les liquides nourriciers est, dans les cas extrêmes de 41% (Mg/Cl) et de 55% (S/Cl) inférieure à la valeur caractéristique pour le sel marin. Chez certains Invertébrés la teneur en S du sang subit une diminution plus grande que la teneur en Mg. Ce fait nous permet de considérer le sulfate de magnésium comme l'élément le plus inconstant parmi les sels minéraux du sang.

La teneur en potassium est généralement un peu supérieure à celle de l'eau de mer et dans la plupart des cas la différence du

rapport atomique K/Cl que l'on trouve dans le milieu intérieur et extérieur de l'animal n'excède pas 10%.

La valeur du rapport atomique Ca/Cl du sang se distingue par contre par sa constance. En outre, elle est de la même grandeur que celle trouvée dans l'eau de mer.

Le phénomène d'une compensation du déficit des sels de magnésium par les sels de potassium dans le sang des animaux invertébrés, a été observé par *Bethe* et *Barger* ('31). Dans nos recherches, par contre, les premières traces de ce phénomène, si caractéristique pour les Vertébrés supérieurs, a été constaté chez les Plagiostomes (*Torpedo*, *Acanthias*, *Scyllium*). Chez ces poissons la teneur relative en K du sérum devient supérieure à celle de l'eau de mer et celle de l'hémolymphe des Invertébrés, en même temps la teneur en magnésium diminue considérablement, comme le démontrent les valeurs des rapports atomiques K/Cl et Mg/Cl, présentées dans le tableau III.

Wiadomości nasze o składzie mineralnym cieczy ciała zwierząt morskich są w chwili obecnej niewystarczające. Od czasu zjawienia się prac *Griffithsa* ('92, '93), z których przez długi czas czerpano dane o właściwościach chemicznych hemolimfy zwierząt bezkręgowych, a których wyniki zostały ze strony autoritatywnej poważnie zakwestjonowane (*Macallum* '03), pojawiały się w literaturze luźne obserwacje, osiągnięte z pomocą różnych metod analitycznych, i z tego powodu nie zawsze porównywalne. Dopiero badania *Macalluma* ('09, '10), przeprowadzone niestety na nielicznych przedstawicielach zwierząt morskich, oraz ostatnio ogłoszona publikacja *Bethego* i *Bergera* ('31), zawierająca wyniki większej liczby analiz, wniósł nowe dane, pozwalające ogólnie scharakteryzować ciecze odżywcze tych zwierząt pod względem ich składu mineralnego.

Wyniki analiz przytoczonych poniżej stanowią dalszy przyczynek, rozszerzający wiadomości, istniejące w tym kierunku. Zostały one osiągnięte w związku z poprzednimi moimi badaniami (*Białaśzewicz* '30, '31), w których fakt występowa-

nia różnic w składzie mineralnym hemolimfy w porównaniu z wodą oceaniczną, stanowił punkt wyjścia do doświadczeń nad zdolnościami chemoregulacyjnymi bezkręgowców morskich.

Materiał do analiz chemicznych zbierano z kilku lub w razie potrzeby z większej liczby osobników, wyciągając pipetką hemolimfę wprost z naczyń krwionośnych lub z jam ciała, i oddzielając następnie składniki morfologiczne na wirownicy. Do chwili rozpoczęcia analiz materiał w powyższy sposób zebrany przechowywano w szczelnie zamkniętych z wewnątrz wyparafinowanych fiolkach, dodając do każdej porcji po kilka kropeł chloroformu.

W celu ujednostajnienia warunków analizy, do wszystkich badanych próbek dodawano następnie równą objętość względną 12% kwasu trójchlorooctowego, jako odczynnika odbiałczającego. Wytrącony osad po upływie około 12-godzin silnie odwirowywano, roztwór zaś, który służył następnie do oznaczeń składników mineralnych, starannie oddekantowywano.

Poszczególne składniki mineralne oznaczano metodami następującymi.

Chlor — zwykłą metodą Volhardta, biorąc do każdego oznaczenia po 1 cm³ roztworu (= 0.5 cm³ hemolimfy).

Siarke nieorganiczną oznaczono wagowo jako BaSO₄, używając do analiz większych ilości roztworów (5—10 cm³) i ważąc osad do stałej wagi w tygielku platynowym na mikrowadze analitycznej Bungego.

W oznaczeniach potasu, wykonywanych metodą Kramera i Tisdalla (21), szczególną uwagę zwracano na usunięcie śladów amoniaku, zwykle obecnego w cieczach ciała. W tym celu, po stwierdzeniu jego obecności odczynnikiem Nesslera, określoną objętość roztworu przenoszono do parowniczkii pyrexowej, alkalizowano małym nadmiarem czystego ługu sodowego, niezawierającego potasu, odparowywano do sucha na łaźni wodnej, po ostygnięciu rozpuszczano pozostałość w słabym kwasie octowym do objętości, równej objętości roztworu, wziętego do oznaczenia. Do równoległych analiz potasu brano zwykle po 1 cm³ hemolimfy odbiałczonej.

Wapń oznaczano metodą de Waarda (19), z uwzględnieniem uzupełnień, podanych przez Hechta (23). Ponieważ oznaczenia magnezu, na których możliwie dokładne wykonanie kładziono szczególny nacisk, przeprowadzano w tych samych próbkach roztworu, co oznaczenia wapnia, przeto poniżej podajemy bardziej szczegółowy opis postępowania przy wykonywaniu oznaczeń obu tych składników hemolimfy.

W dwu próbkach de Waarda (19) umieszczono po 1 cm³ roztworu odbiałczonego i równocześnie do dwu innych wlewano po takiej samej objętości roztworu wzorcowego, zawierającego wapń i magnez w stosunku, w jakim te jony znajdują się w wodzie morskiej, lecz w stężeniu o połowę mniejszem. Ze wszystkimi czterema próbkami postępowano w dalszym ciągu w sposób jednakowy.

Przedewszystkiem więc, w celu wytrącenia wapnia dodawano do próbek po jednej kropli alkoholowego roztworu czerwieni metylowej i stężonego roztworu kwasu cytrynowego, który zapobiega wytrąceniu się szczawianu magnezowego; następnie zawartość próbek alkalizowano nadmiarem stężonego amoniaku, próbki umieszczano w gotującej się wodzie i do każdej dodawano po 1 cm³ nasyconego roztworu szczawianu amonu. W dwie godziny po ostudzeniu próbek osad szczawianu wapniowego odwirowywano, ciecz zaś, która służyła w dalszym ciągu do oznaczeń magnezu, przenoszono pipetką ilościowo do nowych próbek de Waarda. Z osadem postępowano w dalszym ciągu ściśle według wskazówek Kramera i Tisdalla ('21), t. j. trzykrotnie przemywano rozcieńczonym amoniakiem, kłócąc go za każdym razem, rozpuszczano w 4n roztworze kwasu siarkowego i miareczkowego na gorąco ca. n/200 nadmanganianem potasu. Ilość wapnia obliczano ze stosunku objętości nadmanganianu, zużytego do miareczkowania osadu w próbach badanych i wzorcowych, mnożąc przez ten iloraz ilość wapnia, znajdującego się we wziętym do analizy roztworze wzorcowym.

Do próbek, zawierających ciecz, odciągniętą po wytrąceniu szczawianu wapnia, dodawano, zgodnie ze wskazówkami Kramera i Tisdalla ('21), odpowiednie ilości stężonego amoniaku i roztworu fosforanu amonowego i po wymieszaniu pozostawiono je na 24 godz. Po odciągnięciu cieczy rozpoczynano przemywanie lekkiego, powoli opadającego na dno osadu fosforanu amono-magnezowego, używając z dobrym skutkiem jako cieczy przemywającej 2% roztworu amoniaku (c. wł. = 0.91) w 80% alkoholu. Przemywania osadu na wirownicy uskuteczniano trzykrotnie, skłócąc go za każdym razem i zwracając uwagę na możliwe straty w czasie odciągania płynu przemywającego. Przemyty osad rozpuszczano następnie w 0.1n kwasie solnym, roztwór przenoszono ilościowo do kolb miarowych (50 cm³), do których dodawano odczynników, wywołujących niebieskie zabarwienie w ilościach i w kolejności, podanej przez Briggsa ('22) w opisie metody oznaczania małych ilości fosforu; w końcu — kolby uzupełniano do znaku wodą destylowaną. Roztworem porównawczym w pomiarach kolorymetrycznych był roztwór fosforanu amonowo-magnezowego, otrzymany z roztworu wzorcowego: postępowanie to daje możliwość ograniczenia w znacznym stopniu błędu, wynikającego ze strat osadu, które powstają wskutek rozpuszczalności i jego przylegania do wolnej powierzchni cieczy przemywającej.

Z oznaczeń sodu w hemolimfie byliśmy zmuszeni zrezygnować, gdyż żadna z istniejących metod mikroanalitycznych nie daje pożądanego stopnia dokładności.

W celu stwierdzenia stopnia zgodności naszych analiz, przeprowadzonych wyżej podanymi metodami, z wynikami poprzednich autorów, podajemy w tab. I odnośne dane. Porównanie liczb, dotyczących hemolimfy tych samych gatunków zwierzęcych.

ujawnia bardzo znaczną i nie dającą się objaśnić rozbieżność wyników Griffithsa ('92, '93), którego analizy wykazują kilkakrotnie większą zawartość względną potasu (do 3—5 razy) i wapnia (2—3 razy) oraz naogół znacznie mniejsze ilości magnezu. Natomiast między liczbami Bethego i Bergera ('31) a moimi istnieje znaczna naogół zgodność, zwłaszcza w analizach chloru i wapnia (wyj. *Carcinus moenas*); większe różnice zachodzą głównie w oznaczeniach magnezu, które występuje również, jeżeli są porównane analizy wody morskiej, wykonane przez tych autorów oraz przez Forschhammera.

Tabela I.

Składniki <i>Composants</i>	<i>Arenicola Claparedii</i>		<i>Sipunculus nudus</i>			<i>Carcinus moenas</i>			<i>Maja squinado</i>		Woda morska <i>Eau de mer</i>		
	Griffiths	Białaszewicz	Griffiths	Beth i Berger	Białaszewicz	Griffiths	Beth i Berger	Białaszewicz	Beth i Berger	Białaszewicz	Beth i Berger (Hølgoland)	Forschhammer (Méditerranée)	Białaszewicz (Napies-Aquarium)
Cl (mg/cm ³)	15.03	22.27	12.56	22.6	22.91	—	21.60	22.98	22.0	22.26	18.86	21.16	22.27
K { Stosunek atomowy (Cl=100)	8.60	2.75	10.90	1.88	2.05	0.73	2.35	—	5.63	2.13	2.10	1.76	1.97
Ca { <i>Rapport atomique</i>	6.63	2.39	5.59	1.76	1.92	6.90	2.31	2.31	4.38	1.96	1.95	1.98	2.04
Mg { (Cl=100)	1.92	9.76	2.61	6.2	2.62	3.08	4.35	7.55	7.10	9.76	8.65	9.30	9.85

Wyniki wszystkich naszych analiz zostały przedstawione w tab. II, w której zawartość oznaczonych składników podano w mg na cm³ cieczy badanej oraz w ciężarach atomowych w stosunku do chloru, jako do 100. W celu ułatwienia przeglądu tych danych oraz porównania składu mineralnego cieczy ciała ze składem wody morskiej, przedstawiono je w diagramacie (rys. 1) w postaci punktów, odpowiadających ilościom poszczególnych składników w hemolimfie w stosunku do ich zawartości w soli morskiej. Odległość tych punktów od linii przerywanej, oznaczonej liczbą 100, wyraża w procentach stopień odchylenia względnej zawartości (w stosunku do chloru) danego składnika mineralnego w hemolimfie od jego zawartości w wodzie morskiej. W diagramacie tym dane, dotyczące badanych zwierząt, umieszczono w szeregu zmniejszającej się względnej ilości magnezu, łącząc punkty, odpowiadające temu składnikowi, linią ciągłą:

Tabela II.

Gatunek zwierzęcia <i>Espèce de l'animal</i>	Stężenie składników mineralnych <i>Concentration des composants minéraux</i>					Stosunki atomowe (Cl=100) <i>Rapport atomiques (Cl=100)</i>			
	Cl mg/cm ³	K mg/cm ³	Ca mg/cm ³	Mg mg/cm ³	S mg/cm ³	K	Ca	Mg	S
Woda morska — <i>Eau de mer</i>	22.27	0.484	0.513	1.505	1.004	1.97	2.04	9.85	5.99
<i>Arenicola Claparedii</i>	22.27	0.676	0.601	1.491	0.922	2.75	2.39	9.76	4.58
<i>Aphrodite aculeata</i>	20.07	0.492	0.453	1.396	0.861	2.22	2.00	10.14	4.74
<i>Sipunculus nudus</i>	22.91	0.518	0.486	0.925	0.542	2.05	1.92	5.89	2.62
<i>Astropecten aurantiacus</i>	23.40	0.566	0.570	1.313	1.046	2.19	2.15	8.18	4.94
<i>Paracentrotus lividus</i>	21.98	0.496	0.520	1.267	1.033	2.05	2.09	8.40	5.23
<i>Sphaerechinus granularis</i>	21.95	0.496	0.512	1.298	0.977	2.05	2.08	8.62	4.92
<i>Holothuria tubulosa</i>	23.05	0.534	0.558	1.456	1.019	2.10	2.14	9.21	4.89
<i>Pinna nobilis</i>	22.59	0.643	0.608	1.440	0.975	2.58	2.38	9.29	4.77
<i>Maja squinado</i>	22.26	0.523	0.493	1.490	0.835	2.13	1.96	9.76	4.15
<i>Carcinus moenas</i>	22.98	—	0.601	1.190	0.930	—	2.31	7.55	4.47
<i>Phallusia mamillata</i>	24.47	0.554	0.570	1.458	0.998	2.05	2.06	8.69	4.51
<i>Ciona intestinalis</i>	23.54	0.504	0.520	1.316	0.734	1.94	1.95	8.15	3.72
<i>Scyllium canicula</i>	11.20	0.463	0.182	0.163	0.121	3.75	1.44	2.12	1.19

w ten sposób uwidoczniiono zależność między zawartością magnezu a ilością innych składników mineralnych w cieczach ciała.

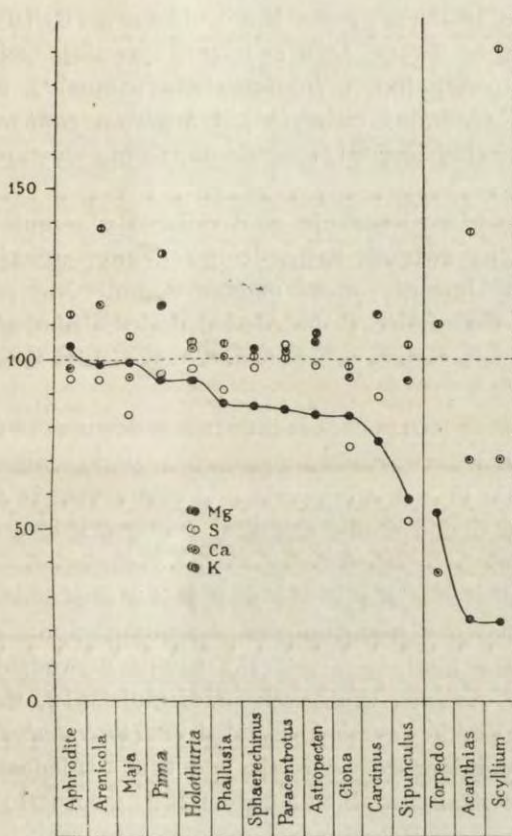
Biorąc pod uwagę wyłącznie zwierzęta bezkręgowce, znajdujemy w naszych analizach potwierdzenie i znaczne rozszerzenie poprzednich obserwacji (Macallum '09/'10, Bethe i Berger '31), dotyczących zawartości magnezu w cieczach ciała. Z przeglądu danych tab. II oraz z układu punktów w diagramacie, wynika, że magnez jest istotnie tą zasadą mineralną, której zawartość względna w cieczach ciała ulega stosunkowo największym wahaniom, idącym w porównaniu z wodą morską w kierunku ujemnym. Należy podkreślić, że gdy w badaniach dotychczasowych niedobór magnezu w hemolimfie bezkręgowców morskich notowano jako zjawisko wyjątkowe, to nasze analizy stwierdzają prawie we wszystkich przypadkach mniejszą lub większą redukcję ilości względnej magnezu. Niedobór ten zwykle obraca się w granicach około 20% normalnego stosunku Mg/Cl w wodzie morskiej, jedynie u *Sipunculus* przekracza wartość 40%. O ile mi wiadomo, jeszcze większe odchylenia obserwowano jedynie u niektórych skorupiaków morskich, zwłaszcza zaś u *Homarus americanus*, w którego hemolimfie — według analiz Macalluma — na 100 atomów chloru przypada zaledwie 1.47 atomów magnezu, t. j. ilość, zbliżona do tej, w jakiej ten katjon występuje w surowicy zwierząt ssących (100 : 0.88).

Jak tego dowodzą nasze analizy, zmiany analogiczne do magnezu ujawnia jeszcze jeden składnik mineralny cieczy ciała, który w badaniach dotychczasowych niedostatecznie brany był w rachubę¹⁾, mianowicie — siarka nieorganiczna. Składnik ten, podobnie jak i magnez, występuje w większości przypadków w ilościach stosunkowo mniejszych, niż w wodzie morskiej: tak np., gdy w tej ostatniej stosunek ilości atomowych siarki do chloru wynosi 0.0499, to w cieczach ciała w jednym tylko przypadku przekracza tę wartość (*Paracentrotus*), dochodząc np. u *Sipunculus* zaledwie do 0.0262. Można ogólnie powiedzieć, że istnieje wyraźna zależność między ilościami siarki i magnezu, ujawniająca się w tem, że hemolimfy, zawierające mniej magnezu, zawierają również mniejsze ilości siarki nieorganicznej; zjawisko to wystę-

¹⁾ Wyjątek stanowi praca Macalluma ('09/'10), który podaje oznaczenia siarki nieorganicznej w hemolimfie dwu bezkręgowców morskich, mianowicie: *Limulus polyphemus* i *Homarus americanus*.

puje szczególnie wyraźnie u tych zwierząt, u których znajdujemy największy niedobór magnezu (np. *Ciona* i *Sipunculus*).

Zależność między ilościami tych dwu składników w hemolimfach zaznacza się bardziej wybitnie, jeżeli będziemy brali pod uwagę stosunek do magnezu nie całkowitej siarki mineralnej, lecz



Diagramat, przedstawiający różnice w składzie mineralnym cieczy ciała zwierząt badanych i wody morskiej.

Diagramme, représentant les différences entre la composition minérale des liquides nourriciers et celle de l'eau de mer.

siarki, pozostałej po nasyceniu powinowactwa jonów wapniowych. Przyjmując, że ilość siarki, wchodzącej w skład siarczanu magnezu, odpowiada różnicy między całkowitą siarką nieorganiczną a siarką, tworzącą siarczan wapnia, stwierdzamy, że stosunek magnezu, znajdującego się pod postacią siarczanu, do cał-

kowej ilości magnezu, jest w cieczach ciała naogół mniejszy, niż w wodzie morskiej: tak np. gdy w ostatnim przypadku wynosi on średnio 0.299, to u *Arenicola*, *Maja* i *Ciona* waha się w granicach 0.217—0.225, u *Sipunculus* zaś równa się tylko 0.119. Zbliżoną wartość, według naszych obliczeń, posiada ten stosunek u *Limulus polyphemus*, badanego przez Macalluma ('09/10). Jest rzeczą zasługującą na uwagę, że u zwierząt, ujawniających niedobór magnezu w surowicy (np. u *Homarus americanus*)¹⁾, oraz u ryb spodoustnych: *Acanthias vulgaris*¹⁾, i *Scyllium canicula*²⁾, ilość siarki nieorganicznej jest tak nieznaczna, że nie wystarcza na pokrycie wapnia.

Fakty powyższe wskazują na specjalne znaczenie siarczanu magnezu, jako na związek najbardziej zmienny, znikający z cieczy ciała przed innymi solami magnezowymi. Nie pozbawiona znaczenia jest okoliczność, że proces ten daje się zauważyć u zwierząt bezkręgowych, stojących na stosunkowo niskim szczeblu organizacji (*Annelides*).

O ile wyniki naszych poszukiwań wskazują wyraźnie na znaczne różnice w zawartości magnezu i siarki nieorganicznej w cieczach ciała, to z drugiej strony dowodzą one, że te ostatnie bardzo zbliżają się do wody morskiej pod względem zawartości wapnia i potasu.

Szczególne rzucającą się w oczy jest stałość, niemal tożsamość w porównaniu z wodą morską, stosunku wapnia do chloru. Wartość tego stosunku (por. tab. II), równa w wodzie morskiej 2.04, wynosi w cieczach krążących przeciętnie 2.12, wahając się w granicach stosunkowo wąskich od 1.92 (*Sipunculus*) do 2.39 (*Arenicola*). Wyniki nasze pozostają pod tym względem w zupełnej zgodności z analizami Bethego i Bergera ('31), wykonanymi w Neapolu i na Helgolandzie również i na innych przedstawicielach bezkręgowców morskich.

W przeciwstawieniu do względnej zawartości wapnia w cieczach ciała, wartość stosunku K/Cl ulega znacznie większym i naogół nieprawidłowym wahaniom (tab. II i rys. 1). W brew poglądowi Bethego i Bergera ('31), którzy fakt ten również stwierdzili, różnicom w zawartości potasu w hemolimfie nie przypisuje-

¹⁾ Według analiz Macalluma ('09/10).

²⁾ Por. tab. III pracy niniejszej.

my szczególnego znaczenia i nie uważamy ich za gatunkowo lub grupowo swoiste. Skłonni jesteśmy raczej je uważać za wyraz zmian funkcyjnych ustroju, zależnych bądź od stanu odżywiania, bądź też od czasu i warunków przechowywania zwierzęcia od chwili połowu. Przekonywującymi w tym kierunku są przede wszystkim nasze obserwacje nad indywidualną zmiennością potasu w hemolimfie krabów *Maja squinado*, znajdujących się w stanie głodu, a następnie — nasze doświadczenia (Białaszewicz '30, '31) nad regulowaniem składu mineralnego w hemolimfie krabów, którym wprowadzono do krwiobiegu nadmiar soli potasowych.

Pomijając te wahania o charakterze indywidualnym i czynnościowym, których bezpośrednich przyczyn nie jesteśmy w możności wyjaśnić, diagramat nasz wskazuje na fakt istnienia nieznacznej nadwyżki potasu w hemolimfie w większości badanych zwierząt: nadwyżka ta wynosi średnio około 10% wartości K/Cl w wodzie morskiej, aczkolwiek w niektórych przypadkach (np. *Phallusia*, *Sphaerechinus*, *Paracentrotus*, *Ciona*) wartość liczbowa tego stosunku jest w obu cieczach prawie identyczna.

W każdym razie w wynikach naszych nie znajdujemy potwierdzenia poglądu, wypowiedzianego przez Bethego i Berger ('31), którzy upatrują tendencje do zwiększania się w cieczach ciała stężenia potasu w związku ze zmniejszeniem się w nich zawartości magnezu. Badania nasze wcale nie ujawniają tego rodzaju zależności, któraaby świadczyła o istnieniu wśród zwierząt bezkręgowych zjawiska kompensacji niedoboru jonów magnezowych przez jony potasowe. Natomiast bardzo ciekawe pod tym względem stosunki występują u ryb spodoustnych, u których hipotonja mineralna surowicy jest skompensowana przez duże ilości mocznika (Fredericq, Bottazzi). O ile sądzić można na podstawie przytoczonych analiz (tab. III, rys. 1), widzimy tutaj, w porównaniu ze składem mineralnym wody morskiej, znaczne przesunięcie się stosunku K/Cl na korzyść potasu, przy jednocześnie bardzo wybitnym zmniejszeniu się ilorazu Mg/Cl, nie dochodzącem jednak do wartości, charakterystycznej dla surowicy wyższych zwierząt ssących.

Dalsze badania nad ewolucją składu mineralnego cieczy ciała u zwierząt kręgowych winny zwrócić specjalną uwagę na ciekawą pod wieloma względami grupę ryb spodoustnych.

Tabela III.

Gatunek zwierzęcia <i>Espèce de l'animal</i>	Cl mg/cm ³	Stosunek atomowy <i>Rapport atomique</i> (Cl = 100)		
		K	Ca	Mg
Woda morska. — <i>Eau de mer.</i>	22.27	1.97	2.04	9.85
<i>Selachia</i>				
<i>Torpedo ocellata</i>	5.07	2.16	0.77	5.58
<i>Scyllium canicula</i>	11.20	3.75	1.44	2.13
<i>Acanthias vulgaris</i> *)	9.82	2.71	1.44	2.17
<i>Teleostei</i>				
<i>Gadus callaris</i> *)	6.22	5.76	2.32	1.38
<i>Salmo fontinalis</i>	4.13	5.02	3.60	0.81

*) Według analiz Macalluma (1910).

Wnioski.

1°. Ciecze ciała morskich zwierząt bezkręgowych ujawniają naogół znaczną rozbieżność pod względem składu mineralnego w porównaniu z wodą morską. Największe różnice występują w zawartości względnej magnezu, siarki nieorganicznej i w pewnych przypadkach — potasu.

2°. Największy stosunkowo niedobór magnezu występuje w cieczach ciała niektórych przedstawicieli pierścienie i skorupiaków, aczkolwiek prawie wszystkie badane bezkręgowce posiadają mniejszą zawartość magnezu od wody morskiej.

3°. Istnienie prostej zależności między stężeniem magnezu i siarki nieorganicznej wskazuje na siarczan magnezu, jako na najbardziej zmienny składnik mineralny cieczy ciała.

4°. Największą stałość ujawnia stosunek Ca/Cl, którego wartość jest stale zbliżona do stosunku, w jakim te składniki występują w wodzie morskiej.

5°. Stężenie potasu w stosunku do chloru jest w hemolimfie większości badanych bezkręgowców nie o wiele większe, niż w wodzie morskiej.

6°. Znaczną wartość stosunku K/Cl ujawnia surowica rybospodoustnych przy jednoczesnym znacznym zmniejszeniu się względnej zawartości magnezu. Jeszcze wyraźniej to zjawisko zaznacza się w surowicach ryb kostnoszkieletowych.

Piśmiennictwo.

Bethe A. u. E. Berger. 1931. Variationen im Mineralbestand verschiedener Blutarten. Arch. f. d. ges. Physiol. 227 (571). Białaszewicz K. 1926. O składzie mineralnym komórek jajowych. Prace Inst. im. Nenckiego. 3, Nr. 52. Białaszewicz K. 1927. Sur la composition minérale des cellules-oeufs. Public. della Stazione Zool. di Napoli. 8 (355). Białaszewicz K. 1930. Badania nad zjawiskami regulowania składu mineralnego cieczy ciała. Acta Biol. Exper. 5 (57). Białaszewicz K. 1931. Sur la régulation de la composition minérale de l'hémolymphe chez le Crabe. Arch. intern. de Physiol. 35 (98). Bottazzi F. 1897. La pression osmotique du sang des animaux marins. Arch. ital. de Biol. 28 (72). Briggs A. 1922. A modification of the Bell-Doisy phosphate method. Journ. of biol. Chem. 53 (13). Forschhammer. G. 1865. On the composition of sea-water in the different parts of the ocean. Philos. Trans. 155 (203). Fredericq Léon. 1904. Sur la concentration moléculaire du sang et des tissus chez les animaux aquatiques. Arch. de Biol. 20 (709). Griffiths A. B. 1892. On the blood of Invertebrata. Proceed. of the Roy. Soc. of Edinburgh. 18 (288). Griffiths A. B. 1893. On the blood of the Invertebrata. Proceed. of the Roy. Soc. of Edinburgh. 19 (116). Hecht G. 1923. Bestimmung des Organkalkes nach de Waard. Bioch. Zeitschr. 143 (324). Kramer B. a. F. F. Tisdall. 1921. The direct quantitative determination of sodium, potassium, calcium and magnesium in small amounts of blood. Journ. of biol. Chem. 48 (223). Kramer B. a. F. F. Tisdall. 1921. A clinical method for the quantitative determination of potassium in small amounts of serum. Journ. of biol. Chem. 46 (339). Macallum A. B. 1903. On the inorganic composition of the medusae, *Aurelia flavidula* and *Caynea arctica*. Journ. of Physiol. 29 (213). Macallum A. B. 1909/1910. The inorganic composition of the blood in Vertebrates and Invertebrates, and its origin. Proc. Roy. Soc., B. 82 (602). De Waard. J. C. 1919. Eine Mikrobestimmung des Calcium in Blut, Serum und anderen organischen Substanzen. Bioch. Zeitschr. 97 (176)

W. A. Adolph.

Studja nad rytmem podziału pierwotniaków. I. Rytm dobowy w rozrodzie *Paramecium caudatum*.

Studien über Rhythmik der Protistenteilungen. I. Über tagesperiodischen Rhythmus in der Fortpflanzung von Paramecium caudatum.

Rękopis nadesłany w dniu 20.VI.1932 r.

Im Zusammenhange mit Angaben von Strassburger ('75), Lauterborn ('95), Kaufmann ('14), u. a. über den nächtlichen Verlauf der Teilungen der Pflanzenzellen, habe ich die Untersuchungen über diesbezügliche Verhältnisse bei *Paramecium caudatum* angestellt.

Dazu beobachtete ich 96 einzelne Paramecienindividuen, von denen ein jedes in 4 Tropfen Heuinfusion auf ausgehöhlten Objektträgern untergebracht war; die Nährflüssigkeit wurde jede 24 Stunden gewechselt. Die Kontrolle der ganzen Kultur erfolgte alle 3 Stunden, nämlich in den Stunden 9, 12, 15, 18, 21, 24, 3, 6, 9. Die Untersuchungen sind anfänglich (Versuch I) in 2 Serien durchgeführt worden; eine jede dauerte 3 volle Tage, ohne Unterbrechung (Fig. 1, Kurven I, II, III; Fig. 2, Kurven I, II, III; die Kurve IV auf Fig. 1 stellt die Totalergebnisse des Versuchs I dar; Zahlenangaben finden sich in der Tab. I). Aus dem Versuche I ergibt sich, dass in der Nacht die Teilungen ungefähr zweimal öfter stattfinden, als beim Tage, und dass es einen Kulminationspunkt der entsprechenden Kurve gibt, der auf die 21 Stunde fällt. Ferner habe ich festgestellt (Versuch III, Serie I, II, III, auf Fig. 3 und Tab. II), dass das zeitliche Verschieben des Anfangs der Versuche keinen Einfluss auf das Bild des täglichen Verlaufs der Kurven hat.

Bei sukzessiver Uebertragung der Paramecien auf die Versuchsgläschen in den Stunden 12, 15, 18 (Die Kurven I, II, III,

auf der Fig. 3, Totalergebnisse — Kurve IV auf Fig. 2, Zahlenangaben in der Tab. II) habe ich keine Veränderung im Verhalten der Protisten festgestellt. Ebenso wenig bewirkte der viermalige Wechsel des Nährmediums an einem Tage, der je 6 Stunden ausgeführt wurde (Versuch III, Serie IV; Kurve II auf der Fig. 3) eine Veränderung der vorher festgestellten Regelmässigkeit.

Die Ergebnisse bestätigen also die Unabhängigkeit der Kurvengestalt von den Veränderungen des Nährmediums, die die Funktion der Zeit im allgemeinen sind. Das teilweise Verdunkeln der Tiere (Versuch IV) im Laufe von 6 Stunden (Serie I; Kurve III, auf Fig. 4; Tab. IV), wie auch der permanente Aufenthalt im Finstern im Laufe von 3 Tagen hat keine Modifikationen der erhaltenen Ergebnisse hervorgerufen. Dieselben lassen sich folgendermassen zusammenfassen:

1°. Die Teilungen von *Paramecium caudatum* gehen nicht während der 24 Stunden ungeordnet vor sich, sondern sie weisen eine Regelmässigkeit auf, indem sie in bestimmten Stunden häufiger sind. Im Laufe von 24 Stunden kann man eine Nachtperiode unterscheiden (18—3, genauer — 18—1), wo die Teilungen zweimal so oft als in den anderen Stunden stattfinden, und eine Tagesperiode mit verminderter Teilungshäufigkeit. Der Nachtskulminationspunkt fällt ungefähr in die Stunden 20—22; in der Tagesperiode kann man ausserdem eine leichte Depression in den Stunden 12—15 wahrnehmen. Auf Grund dessen kann man von der täglichen Teilungsrhythmik der Protisten sprechen, die sich in dem wellenförmigen Verlauf der Teilungen mit einem konstanten Kulminationspunkt offenbart.

2°. Die Gestalt des Tageskurve ist nicht vom unmittelbaren Wechsel des Lichtes und der Dunkelheit, sowie der Zahl der Teilungen, die das einzelne Individuum während des Tages durchgemacht hat, abhängig. Diese letztere Zahl schwankt zwischen den Grenzwerten 0.65—2.1 Teilungen pro 24 Stunden.

3°. Die Tag- und Nachtrhythmik ist — wie es scheint vom Tag- und Nachtwechsel abhängig, da sie bei ununterbrochener Verdunkelung während 3-mal 24 Stunden zum Vorschein tritt.

4°. Die Individualkulturen von Paramecien, als Ganzheit betrachtet, liefern im Zusammenhange mit verstärkten nächtlichen Teilungsprozessen eine Analogie zum nächtlichen verstärkten Wachstum der Pflanzen.

5°. Die beobachtete Rhythmik verläuft prinzipiell in gleicher Weise bei einzelligen- und wahrscheinlich auch bei höheren Pflanzen (K a r s t e n). Die Störungen, die die künstliche Belichtung hervorruft, können durch ihre allgemeine, nicht spezifische Wirkung auf den Pflanzenorganismus erklärt werden.

6°. Der ähnliche Charakter der Tag- und Nachtrhythmik bei *Paramecium* und den Pflanzen, trotz des verschiedenen Stoffwechsels in der tierischen und pflanzlichen Zelle, lässt die bisherigen genetischen Erklärungen der Erscheinung ablehnen; alle oben erwähnten Tatsachen dagegen veranlassen den Verfasser einen hypothetischen Faktor anzunehmen, der rhythmisch im Tageszeitraume den Teilungsverlauf der Protistenzellen mit tierischem und pflanzlichem Stoffwechsel beeinflusst.

W czasach ostatnich zwrócono uwagę na zjawisko synchronicznego występowania podziałów komórkowych w organach i tkankach jednego i tego samego osobnika; ze strony botanicznej dane w tej kwestji zawierają prace Palma ('16), Kniepa ('17), Dahlgrena ('20), z zoologicznej Gurwitscha ('10, '11), Sorokinej ('13), Kornfelda ('22); w szczególności Kornfeld, badając rytm podziałów, zachodzących w nabłonku rogówki oczu salamandry, obserwował daleko posuniętą zgodność nie tylko w ilościowym stosunku podziałów w obu nabłonkach, lecz nawet w synchronicznym występowaniu odpowiednich stadiów podziałowych. Gurwitsch badał pod tym względem podziały spermatogonjalne w jądrze płazów; Sorokina wreszcie — synchronizm podziałów w blastomerach *Paracentrotus lividus*, potwierdzając zdanie Gurwitscha, że zupełna identyczność komórek nie jest warunkiem wystarczającym dla objaśnienia synchronizmu ich podziałów.

We wszystkich tych przypadkach rozpatrywano komórkę na tle skomplikowanego organizmu tkankowca; układem zamkniętym był organizm jako całość i rytm podziałów komórkowych ograniczony ramami rozwoju powyższego układu. Mielibyśmy tu do czynienia nie z problematem rytmu jako takim, lecz właściwie wybór materiału decydował zgóry o celu zagadnienia, leżącego w płaszczyźnie oddziaływań organizmu na proces podziałów. Można jednak rozprytać ten problemat w płaszczyźnie innej, zadając pytanie, czy komórka jako samodzielny organizm nie wykazuje w swych podziałach rytmiki, nie będącej wynikiem jej podrzędnej roli w stosunku do całości, i czy rytmika ewentualna nie zachodzi równolegle do innych procesów o charakterze ogólnym.

Najodpowiedniejszym do tego celu materiałem badawczym są pierwotniaki, jako wolno żyjące organizmy jednokomórkowe, nie połączone wzajemnymi zależnościami; ponieważ u większości z nich podziały zachodzą stosunkowo szybko, bo raz lub więcej na dobę, przedstawiają możliwość zastosowania tej koncepcji do sprawy rozmieszczenia podziałów w czasie doby, jako okresu, stanowiącego dzięki rytmowi słonecznemu określoną całość.

W pracy niniejszej chodzić będzie o rozstrzygnięcie pytania, czy i w jakim stopniu podziały wolnożyjącego, jednokomórkowego organizmu zwierzęcego, *Paramecium*, odbywają się regularnie na odcinku doby — czy też odbywają się bezładnie, zależąc jedynie od przypadkowych kształtowań się warunków środowiska, i czy w związku z tem można stwierdzić związek pomiędzy rytmem podziałowym pierwotniaka a rytmem słonecznym, ściślej — dobowym.

Mimo, że literatura o podziałach pierwotniaków jest olbrzymia, i rytmika ich jest przedmiotem wielu prac, lecz pojęta jest w znaczeniu innym, przede wszystkim w związku ze zjawiskami t. zw. depresji fizjologicznej, występującej w rozrodzie pierwotniaków, oraz z zagadnieniem nieśmiertelności komórek pierwotniaczych, że wymienimy Woodruffa ('17 a i b), Younga ('16), Calkinsa ('19 i '20), Botsforda ('22). Podobnie jak poprzednicy, Calkins ('15) również nie daje materiału do sprawy, rozpatrując cykl życiowy *Didinium nasutum* — jak i Woodruff i Baitsell ('11) oraz Dawson ('26), opisujący dłużej prowadzoną kulturę *Histrio complanatus*, również jednak z punktu widzenia cykliczności — występowania okresów konjugacji i endomiksji; Richards i Dawson ('27), zestawiając wyniki trzyletnich hodowli *Blepharisma undulans*, *Histrio complanatus* i *Paramecium aurelia*, dochodzą do wniosku o istnieniu sezonowego rytmu o największym nasileniu podziałów w lipcu, jednak nierówność temperatury oraz brak ścisłych danych o składzie i różnicach w pożywce, każą przypuszczać bezpośredni wpływ tych czynników w powstaniu wahań krzywej podziałów.

Żadnych danych w naszej sprawie nie zawiera praca Austina ('27), tycząca się zagadnień długowieczności i konjugacji u *Uroleptus mobilis*; również Dale Beers ('28) w pracy nad rytmiką rozrodu *Didinium nasutum* zajmuje się okresowymi wahaniami tempa podziałów, nie wiążąc ich jednak z czasem.

Zarówno prace Buetschli'ego jak i Dofleina ('29) nie zawierają żadnych danych w tej sprawie w zastosowaniu do pierwotniaków o wyraźnie zwierzęcej przemianie materji. Z nieokreślonych jednak wzmianek, których źródła nie jestem w stanie ustalić, wynika, że istnieją obserwacje, stwierdzające nocny, względnie we wczesnych godzinach rannych, tryb podziałów pierwotniaków (Korenfeld '22); nie mogłem też zdać sobie sprawy, czy wzmianki te nie opierają się na faktach, obserwowanych u pierwotniaków o charakterze raczej roślinnym, o czem do pewnego stopnia świadczyłaby wzmianka w Lühe (Lang '21, str. 323), wymieniająca wśród pierwotniaków o nocnym trybie podziału *Haematococcus*, *Ceratium* — lecz i *Trichosphaerium*, *Arcella*, *Euglypha*.

W literaturze bowiem botanicznej zjawisko rytmiki dobowej odnotowane zostało dość dawno, a w nowszej spotykamy dość liczne o niem wzmianki. Już Thuret w 1850 i Braun (1851) podają noc, jako czas wytwarzania gamet przez pewne glony, fakt potwierdzony przez Gerasimowa ('92) i Strassburgera ('80) w odniesieniu do *Spirogyra*, u której podziały zachodzą prawie wyłącznie około północy. Blochman ('94) i Lauterborn ('95), mówią o nocnych podziałach *Euglena*, *Ceratium* i *Diatomeae*; Oltmanns ('04/05) przytacza obserwacje, z których wnosić można o nocnym natężeniu procesów podziałowych, prowadzących do wytworzenia produktów płciowych u licznych alg morskich. Merri-man i następnie Escoyez ('07) stwierdzają wyłącznie nocny tryb podziałów *Zygnema* i to przeważnie w czasie 21—24 godz.; identyczne stosunki obserwował Lutmann ('11) u *Closterium*, jakkolwiek podziały występują tu aż do godziny 5-ej. Kaufmann ('14) podaje, że podziały wegetatywne *Cylindrocystis Brebissonii* zachodzą zarówno w dzień, jak w nocy, jednak intensywność ich w nocy jest znacznie większa; maksimum leży w godz. 23³⁰—1³⁰. Podobne stosunki mają zachodzić u *Penium* i *Tetmemorus*.

Liczbowo ujęte dane oraz odpowiednie doświadczenia zawiera praca Karstena ('18). Hodowle *Spirogyra* zostały poddane przez kilka dni działaniu światła elektrycznego, którego wpływ wyraził się w stłumieniu aktów podziałowych. W tych samych kulturach naświetlanych w nocy i zaciemnianych w dzień zachodzą podziały w czasie dziennego zaciemnienia; w związku z tem autor wnioskuje, że w sprawie normalnego rytmu *Spirogyra* chodzi nie tyle o bezpośredni wpływ ciemności, ile o dziedziczne przywiązanie podziału do oznaczonej godziny.

U alg z grupy *Desmidiaceae* panują stosunki podobne — podziały jednak odbywają się na przestrzeni całej doby; dla *Cosmarium* i *Botrytis* istnieje wyraźne maksimum w godzinach nocnych 21—24, oraz popołudniowe minimum w godz. 13—15. W tym samym mniej więcej czasie przypada ono dla *Closterium moniliferum* i *Mesotaenium Emdlicherianum*. Okres wzmożonych podziałów przypada odpowiednio na godz. 22—4 i 20—2. z wierzchołkami o 24-ej i 22-iej.

W tejsze pracy przytoczone są dane, stwierdzające nocne natężenie procesów podziałowych w stożku wzrostu *Pinus austriaca*; w godzinach mianowicie 24—4 mitozy spotykają się najczęściej.

W stosunku do roślin wyższych fakt perjodyczności dobowej wzrostu znany był oddawna; w nocy proces ten jest intensywniejszy, niż w dzień. Sachs już w 1863 roku omawia tę sprawę, przypisując główną rolę światłu. Roślina, według niego, przystosowała się do okresowych zmian oświetlenia w ten sposób, że orjentuje swe organy asymilacyjne na światło, partje zaś, gdzie zachodzą podziały w większej ilości, usuwa od jego hamującego wpływu; gdzie nie jest to możliwe — przesuwa podziały na noc.

W pracy z 1915 r. Karsten stwierdził, że i u roślin wyższych zaznacza się również okresowość dobową w ilościowym występowaniu podziałów komórkowych w tkance embrjonalnej; maksimum ich przypada na okres nocny. Okresowość tę wiąże ze zmianą oświetlenia i upatruje

w niej przyczynę zjawiska, opierając się z jednej strony na braku rytmu w podziemnych częściach rośliny, z drugiej zaś na możliwości przesunięcia punktów kulminacyjnych przez odpowiednią zmianę naturalnych stosunków fotezycznych.

Ponieważ zaś rytm podziałów zachowuje się u kielkujących roślin mimo zupełnie jednostajnych warunków (ciemności), ponieważ wykazuje dość wyraźną „bezwładność”, trwając przez czas pewien po diametralnej zmianie warunków, które hipotetycznie go wywołują, przyjmuje Karsten, że jest dziedziczny.

Sumując przytoczone, stwierdzimy, że perjodyczność dobową w podziałach komórkowych niższych roślin jest bardzo rozpowszechniona; znane są fakty, że i rośliny wyższe podlegają tej regule. Przyczynę zjawiska upatrywano w działaniu światła, hamującego podziały dzienne, dzięki nastawieniu metabolizmu komórki roślinnej w tym okresie w kierunku asymilacji CO₂.

W tych warunkach poszukiwanie analogicznych zjawisk w świecie zwierzęcym jest o tyle ważne, że w razie ich stwierdzenia rozszerzyłaby się ogromnie podstawa zagadnienia i w związku z zupełnie różną przemianą materji w komórce zwierzęcej kazaloby to doszukiwać się przyczyn innych, mających już charakter ogólnobiologiczny i odnoszących się do warunków podziału komórki wogóle.

Metoda i technika.

Postawienie zagadnienia określało zgóry metodę pracy; w odróżnieniu od autorów amerykańskich uwzględnić ona musiała potrzebę operowania możliwie dużymi liczbami podziałów w jednym okresie dobowym. Metoda Karstena (18), przeglądającego dużą ilość osobników z masowej hodowli przy każdorazowej kontroli, nie wydała się odpowiednia w danym przypadku ze względu na bardzo krótki czas trwania procesu podziału u *Paramecium*.

Wobec tego zastosowałem metodę hodowli indywidualnych na szkiełkach wydrążonych. Ponieważ okresem doświadczalnym była tylko jedna doba, w ciągu której warunki w całej hodowli ulegały mniej więcej jednokowym wahaniom, zatrzymałem się na pożywce sianowej, przygotowanej przez 10-cio minutowe gotowanie 2.5 g siana w 300 cm³ wody wodociągowej i przesączenie wywaru. W pewnych razach wywar był przed użyciem rozcieńczany; do doświadczeń używałem pożywkę w różnym „wieku” — od 2 dni do tygodnia.

Temperatura (Woodruff i Baitsell '11) w poszczególnych doświadczeniach — jak nawet w ciągu poszczególnych okresów dobowych ulegała wahaniom parustopniowym; z powodu konieczności zachowania

naturalnych warunków oświetlenia i dość dużej przestrzeni zajmowanej przez hodowlę, nie można było zastosować termostatu.

Wielkość przestrzeni odżywczej, której znaczenie podkreśla Greenleaf (26), Myers (27), Ludwig (28) i inni, każe obracać takie jej quantum, które umożliwi przejście do porządku nad zmianami w rozrodzie, wywołanymi przez jej niedostateczność — a które, zgodnie z wynikami tych prac, ustaliłem na 4 krople dla każdego pierwotniaka.

Wpływ produktów przemiany materji, wątpliwy czynnik allelokatalityczny Robertson'a, i t. p. zostały usunięte przez umieszczenie na szkiełku jednego osobnika, odseparowywanie odeń powstałych przez podział, oraz zmianę co 24 g. pożywki i przenoszenie pierwotniaków do świeżego środowiska.

Ponieważ chodziło o operowanie możliwie dużymi liczbami, do każdej serji doświadczeń użyte było 96 szkiełek, umieszczonych w 8 komorach wilgotnych i rozlokowanych w jednakowych warunkach oświetlenia.

Obserwacje, oznaczone jako kontrole, przeprowadzane były zasadniczo 8 razy na dobę — co 3 godziny, stale o godz. 9, 12, 15, 18, 21, 24, 3, 6, przyczem podczas kontroli nocnych przedsięwzięto zasłonięcie od światła lampy klosza, służącego za komorę dla 12 szkieł — obserwacja zaś pojedynczego szkła trwała tak krótko, że wpływ działania światła można zupełnie pominąć. Wszystkie doświadczenia wykonane zostały w miesiącach wiosennych — kwietniu, maju i czerwcu 1931 roku.

Materiał hodowlany pochodził z kultury „dzikiej”, wziętej z jednego z basenów Uniwersyteckich w marcu 1931, i należał do gatunku *Paramecium caudatum*; wymoczki, pochodzące z podziałów odseparowanego stąd osobnika, były prowadzone nadal w probówkach, jako kultury masowe, ze zmianą normalnej pożywki sianowej co 3—5 dni, przez co utrzymywała się stale wysoka zdolność podziałowa. One to dostarczały materiału do każdej serji doświadczeń, przyczem dla przyzwyczajenia zwierząt do nowego środowiska, jakim była kropla na szkiełku, rozpocząłem pierwszą kontrolę dokładnie w 24 godziny od momentu rozlokowania *Paramecium* na poszczególne szkiełka, po przeniesieniu pojedynczych osobników do świeżej pożywki.

Ponieważ wyniki poszczególnych okresów dobowych wykazywały zgodność w określonych odcinkach, upoważniło to do sumowania wyników (zestawienia), choć zdawałem sobie sprawę z różnic w każdorazowym środowisku odżywcem. Wahania ilościowe podziałów w różnych odcinkach nazywam przypadkowymi o ile noszą charakter sporadyczny, pozostawiając otwartą kwestję wywołujących je przyczyn. Niektóre wahania krzywych łączę z przebiegiem temperatury — oczywiście mając na myśli jej wpływ pośredni, więc te nieokreślone bliżej zmiany w chemizmie pożywki, które oddziałują na metabolizm pierwotniaków. Podobnie, łącząc nagle zmiany w podzielnosci kultur z pożywką, chcę jedynie podkreślić ich odrębność od zauważonej prawidłowości noc — dzień.

Opis doświadczeń.

Doświadczenie I.

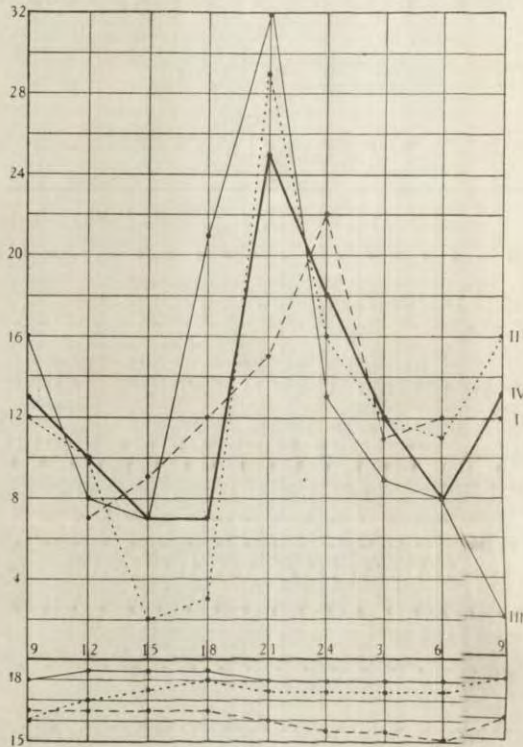
W doświadczeniu tem chodzi o ustalenie normalnego trybu podziałów *Paramecium* na przestrzeni doby; przeprowadzone ono zostało w 2 serjach, z których każda trwała 3 pełne doby. Pożywka, zmieniana codziennie o 9-ej, była używana w 48 g. od przygotowania.

Tabela I.

Kontrola Kontrolle	1	2	3	4	5	6	7	8	Suma Totalzahl	4+5+6	1+2+3 +7+8	
Czas Zeit	12	15	18	21	24	3	6	9	24	18—3	3—18	
Podziały — Teilungen	I Serja, doba 1 I Serie, Tag 1	7%	5%	14%	17%	22%	11%	12%	12%	138=100%	50%	50%
	" doba 2 " Tag 2	19%	10%	7%	9%	20%	16%	9%	10%	164=100%	45%	55%
	" doba 3 " Tag 3	13%	10%	10%	25%	13%	14%	11%	4%	135=100%	52%	48%
	II Serja, doba 1 II Serie, Tag 1	7%	9%	12%	15%	22%	11%	12%	12%	101=100%	48%	52%
	" doba 2 " Tag 2	10%	2%	3%	29%	16%	12%	11%	16%	122=100%	57%	43%
	" doba 3 " Tag 3	8%	7%	21%	32%	13%	9%	8%	2%	112=100%	54%	46%
	Ogółem Totalzahl	11%	7%	11%	21%	18%	12%	11%	9%	773=100%	51%	49%

Wszystkie 3 krzywe dobowe pierwszej serji (rys. 1, krzywa I, II, III) wykazują wyraźne wzniesienia i depresje, świadczące o nierównomiernym przebiegu podziałów w ciągu doby. Ogólnie biorąc, między godz. 12 i 15 zaznacza się tendencja spadkowa, od 15—18 lekki, a od 18 bystry wzrost krzywych; punkty kulminacyjne zgodnie przypadają na noc, na 21 i 24 godz., poczem następuje spadek i nieregularne wahania. Ogólne ilości podziałów w poszczególnych dobach (tab. I) wyniosły 138 (1.44 na osobnika), 164 (1.7) i 135 (1.4). Wierzchołki krzywych osiągają wartości

22%, 20% i 25%, punkty najniższe — 5%, 7% i 4%. Największe ilości podziałów przypadają na godziny wieczorne i nocne, co pozwala rozbić dobę na okres dzienny, trwający od 3—18 godz., i nocny 18—3. W ciągu pierwszej doby na okres nocny wypada 50% podziałów, wobec czego średnia 3 godzinna wynosi 17%, przy 10% w okresie dziennym. W drugiej dobie wartości te wy-

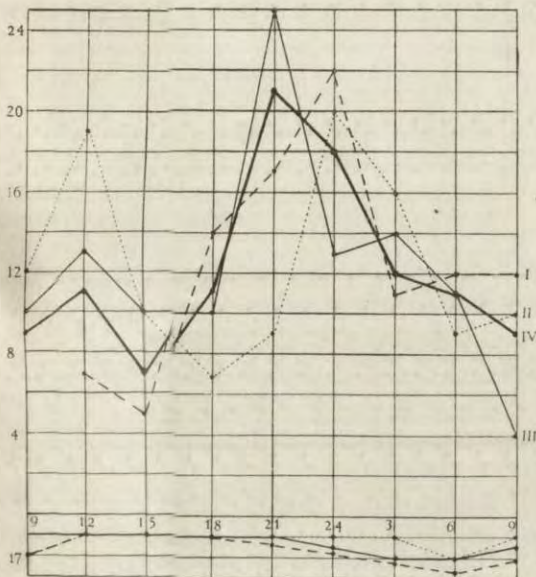


Rys. 1. Doświadczenie I; Serja I, doba I, II i III; krzywa IV daje zestawienie seryj I i II. Na osi rzędnych podziały w % sumy dobowej, \square osi odciętych godziny, w których dokonano kontroli. U dołu odpowiednie krzywe temp. Fig. 1. I Versuch; I Serie, I, II und III Tag; IV Kurve stellt Totalergebnisse der beiden Serien des I Versuchs dar. Auf Abszisse — die Zeit der Kontrolle, auf Ordinate — die Zahl der Teilungen in % der Tagessumme dargestellt. Unten — Temperaturkurven.

noszą 15% i 11%, w trzeciej 17% i 10%. Powodem najmniej wyraźnego wyniku drugiej doby jest wysoka liczba podziałów o godz. 12-ej, wynosząca 19%; ponieważ zwiększenie liczby podziałów nastąpiło bezpośrednio po zmianie pożywki, nasuwa się przypuszczenie o jego przypadkowym charakterze. Ten „nadetatowy” wydatek energii podziałowej nie pozostał zapewne bez wpływu

na wolniejszy wzrost krzywej w godzinach wieczornych i położenie nocnego wierzchołka. Jednak i tutaj niema zasadniczej różnicy w stosunku do I i III doby. Nocny spadek temperatury idzie w parze ze wzrostem ilości podziałów.

Zgodność krzywych co do istnienia maksimum nocnego i okresu wzmózonych podziałów w godz. 18—21—24 jest oczywista. Natomiast niestalenie w czasie wierzchołków (21 czy 24 godz.?) i kwestja zaznaczającej się depresji w godz. 12—18, odpowiadającej swem położeniem nocnemu grzbietowi fali podziałowej nie dadzą się ustalić na zasadzie dotychczasowego materiału.



Rys. 2. Doświadczenie I; Serja II, doba I, II i III; krzywa IV daje zestawienie trzech pierwszych serji doświadczenia III. Oznaczenia jak na rys. 1.

Fig. 2. I Versuch, II Serie, II, II und III Tag. Die Kurve IV stellt Totalergebnisse der drei ersten Serien des III Versuchs dar. Bezeichnungen wie auf Fig. 1.

Serja druga (rys. 2, krzywa I, II i III) przeprowadzona została w identyczny sposób z pierwszą. Mimo tego różne liczby podziałów (tab. I) świadczą o różnicach w pożywce. Krzywe dobowe noszą ten sam charakter co poprzednie; ponieważ nie występują tutaj zniekształcające wpływy przypadkowe, są one jeszcze bardziej instruktywne, choć bezwzględne ilości podziałów są mniejsze, niż w pierwszej serji, wynosząc 101 (1.04 na osobnika), 122 (1.27) i 112 (1.17). Szczególniej krzywa II i III z wyraźnie zaznaczoną depresją popołudniową — nagłym wzrostem, krótkotrwałym okre-

sem nocnym wzmożonych podziałów — potwierdzają dane pierwszej serji. Wierzchołki krzywych wypadają na 21 i 24 godz. i są znacznie wyższe, osiągając 22%, 29% i 32%, wobec 7%, 2% i 2% minimów. Popołudniowa tendencja depresyjna utrzymuje się, od 15-ej następuje wzrost przebiegający bardzo gwałtownie od 18—21, punkt odpowiadający godz. 24-ej, leży już znacznie niżej, o 3-ej krzywe znajdują się już mniej więcej na poziomie stałym. Okresami wzmożonych podziałów są odcinki 18—21—24; okres 24—3 należy właściwie do normalnych; średnie nocne (dla 3 godzin) wynoszą 16%—19%—18%, dzienne zaś 10%—9%—9%. Naogół więc noc odznacza się prawie dwukrotną przewagą podziałów; krzywe temperatury nie wykazują koincydencji z ich przebiegiem.

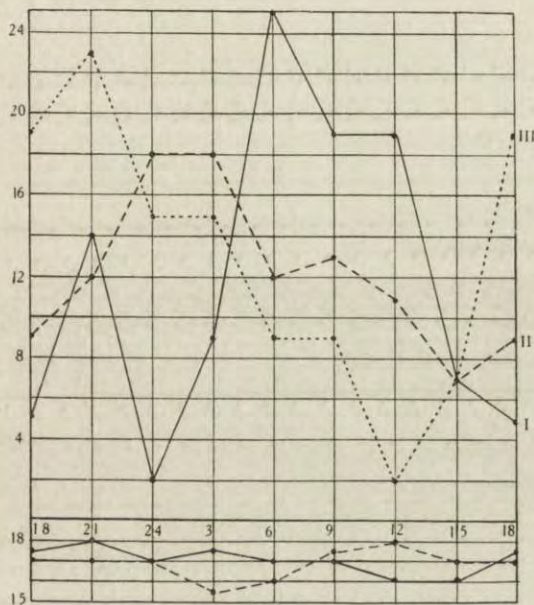
Jaśniejszy obraz uzyskanych rezultatów przedstawia zestawienie ogólne doświadczenia I (krzywa IV na rys. 1), obejmujące 6 dni i 773 podziały; prawidłowości, występujące w poszczególnych dobach, nie zostały w niczem zatarte; znajdujemy bowiem depresję popołudniową (minimum o 15-ej), wyraźny wierzchołek o 21, spadek po 24-ej; ilości podziałów w kontrolach poszczególnych są dość równe; 7% minimum daje druga (godz. 15), na szóstej (godz. 3) odbija się jeszcze (12%) nocny okres, zaznaczony wysokimi liczbami 21% i 18% w godz. 21 i 24. Średnia nocna wynosi 17%, dzienna zaś 10%. Ograniczenie „nocy” do 24-ej godz. podniosłoby jeszcze te liczby na jej korzyść.

Rezultaty powyższe uprawniają do wniosku, że przebieg krzywych jest wynikiem określonej prawidłowości w przebiegu podziałów; pytaniem, które się metodycznie nasuwa, było, czy sama technika doświadczenia nie kryje odpowiedzi na stwierdzoną prawidłowość. Wchodzą tu w grę przede wszystkim ewentualne zmiany w środowisku odżywczem. Co do temperatury, należy podnieść, że wykazuje wahania stosunkowo nieznaczne i spadek jej występuje przeważnie w godzinach nocnych, podczas wzmożonej działalności podziałowej hodowli. Jeśli chodzi o pożywkę, to schematycznie wyobrazić sobie możemy, że np. rozwój ilościowy bakteryj w kropli jest na razie nie tak silny, by umożliwić akty podziałowe pierwotniaków w znaczniejszym stopniu; okres ten reprezentowałaby depresja popołudniowa. Po pewnym czasie, wynoszącym ca. 9 godzin, rozwój bakteryj może osiągnąć stopień odpowiadający optymalnym warunkom dla podziałów *Paramecium* — i dalej przekracza go, pociągając za sobą zmianę tych optymalnych warunków, wyrażającą się w spadku liczby podziałów. Na krzywej zaznacza się to odcinkiem od 24-ej godz. na

prawo. Oczywiście tłumaczenie, uwzględniające liczbę bakterij, służy wyłącznie za schemat. W tym przypadku — dla wyniku miarodajnym byłby jedynie odcinek czasu od początku doświadczenia do wystąpienia wierzchołka, więc ca. 12 godzin. Przesuwając chwilę wyboru, osiągnąć powinniśmy przesunięcie wierzchołka.

Doświadczenie II.

W tym celu przeprowadzone zostało doświadczenie II, z wyborem pierwotniaków z hodowli masowych, przesuniętym w stosunku do poprzednich o 9 godzin — na godz. 18-g. Rezultaty przedstawia krzywa I na rys. 3; zdają się one potwierdzać wypowiedziane przypuszczenia. Ogólna ilość



Rys. 3. Krzywa pierwsza daje rezultat doświadczenia II, krzywa II — rezultat serji IV dośw. III, krzywa III — rezultat serji I dośw. IV. Oznaczenia jak na rys. 1.
 Fig. 3. Die I Kurve stellt die Ergebnisse des II Versuchs, Kurve II — die Ergebnisse der IV Serie des III Versuchs, Kurve III — die Ergebnisse der I Serie des IV Versuchs dar. Bezeichnungen wie auf Fig. 1.

podziałów 109 (1.13 na osobnika); krzywa o 21-ej osiąga poziom 14%, o 24-ej obniża się aż do 2%, od tego punktu wzrasta stromo, osiągając o 6-ej punkt szczytowy (25%); potem następuje spadek. Średnia dzienna (tab. II) wynosi 15% — nocna tylko 9%, z czego wynika, że tym razem okres dzienny zaznacza się znaczną przewagą podziałów. Z punktu widzenia jednak wy-

luszczonego wyżej, dane te są typowe; jeżeli bowiem rozpatrzemy je pod kątem tylko kolejności kontroli od początku doświadczenia, nie wiążąc ich z określonymi godzinami, zauważymy, że depresja kontroli 2 odpowiada depresji popołudniowej, zaś najbardziej intensywny okres podziałów — jak i poprzednio — przypada na kontrole 4 i 5 oraz 6, co również nie odbiega od stosunków obserwowanych uprzednio. Punkt kulminacyjny leży na 4-ej kontroli, więc tak samo w 12 godzin od początku i 12 od końca. I stosunki liczbowe są beżmała zachowane. Wprawdzie wygląd krzywej może nasuwać podejrzenie co do jej normalności, jednak rezultat ten spowodował podjęcie szeregu doświadczeń kontrolnych.

Doświadczenie III.

Myślą przewodnią jego było przesunięcie czasu wyboru pierwotniaków z hodowli masowych, któreby doprowadziło do wyraźnych modyfikacyj krzywych. Dane liczbowe zawiera tabela II. Zostało ono przeprowadzone w 4 serjach; w pierwszej wyboru dokonano o godz. 12-ej, w drugiej o 15-ej, w trzeciej o 18-ej. W razie słuszności wyżej wypowiedzianych przypuszczeń, krzywe poszczególnych seryj winny wykazać odpowiednie przesunięcie w czasie charakterystycznych odcinków. Zestawiając wyniki wszystkich seryj, otrzymać winniśmy krzywą zniwelowaną na odcinku godzin 21—24—3 na poziomie, odpowiadającym wysokości punktów maksymalnych w każdej dobie. Ponieważ niektóre z otrzymanych wyników nasuwały wątpliwości, niektóre z seryj obejmują więcej niż jedną dobę. Sprawie oddziaływania samej pożywki na przebieg krzywej poświęcona jest serja czwarta doświadczenia.

Ponieważ poszczególne krzywe dobowe są bardzo jednostajne, omówimy tylko zestawienia sumaryczne każdej serji (rys. 4). Serja I (krzywa I), z wyborem o 12-ej, obejmuje 2 doby i 337 podziałów; w ciągu pierwszej doby zaszło 189 podz. (1.97 na osobnika), w drugiej 148 (1.54). Krzywa wygląda najzupełniej typowo; punkt kulminacyjny leży na wysokości 25% na godz. 21-ej; średnie nocne i dzienne wynoszą tu 17% i 10%, dla ściślej-szego zaś okresu nocnego (18—24) 21.5% i 10.5%. Pojawienie się grzbietu w godz. 9—12 stoi zapewne w związku z podwyższeniem się temperatury z 20° na 23° w pierwszej dobie w czasie 6—9 godz. Równie typowy przebieg wykazuje krzywa II (rezultat II serji); w ciągu jednej doby miało tu miejsce 136 podz. (1.42). Wyboru dokonano o 15-ej. Wysoko położony wierzchołek (27%) leży na 24-ej godz.; jednak trudno tu mówić o przesunięciu, gdyż znajduje się w granicach obserwowanych wahań. Poza

krzywa nie przedstawia szczególnych cech: średnia nocna wynosi aż 21%, dzienna — tylko 7%. Na zmniejszenie ilości podziałów w czasie 3—15 poniżej zwykłej normy zapewne wpłynęło obniżenie się temperatury z 22° na 20° i utrzymanie się jej na tym poziomie od godz. 3. W serji III dokonane były obserwacje 3 okresów dobowych; w pierwszym zaszło 253

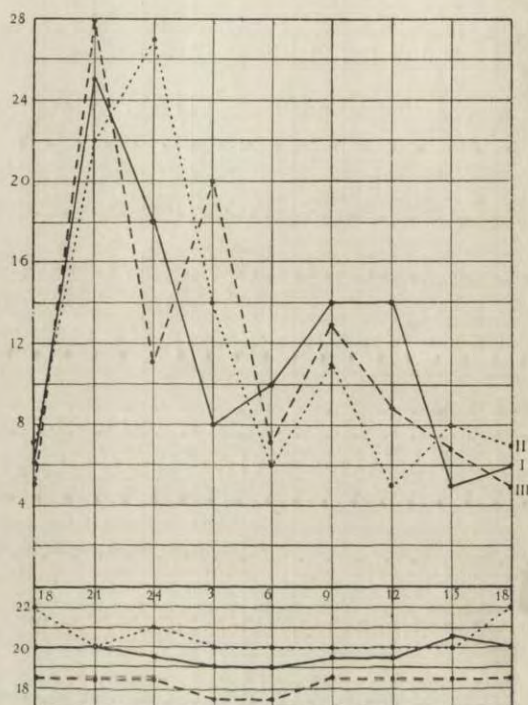
Tabela II.

Doświadczenie II <i>Versuch II</i>		Czas	21(1)	24(2)	3(3)	6(4)	9(5)	12(6)	15(7)	18(8)	Suma	18-3	3-18
		Podziały									<i>Totalzahl</i>		
		<i>Teilungen</i>	14%	2%	9%	25%	19%	19%	7%	5%	109=100%	25%	75%
Doświadczenie III <i>Versuch III.</i>	Serja I <i>Serie I</i>	Czas	15	18	21	24	3	6	9	12	24	18-3	3-18
	Doba 1 <i>Tag 1</i>	Podziały	7%	9%	26%	10%	7%	12%	15%	14%	189=100%	43%	57%
	Doba 2 <i>Tag 2</i>	<i>Teilungen</i>	3%	3%	24%	26%	9%	7%	14%	14%	148=100%	59%	41%
	Ogółem <i>Totalzahl</i>	Podziały	5%	6%	25%	18%	8%	10%	14%	14%	337=100%	50%	50%
	Serja II <i>Serie II</i>	Czas	18	21	24	3	6	9	12	15	24	18-3	3-18
	Doba 1 <i>Tag 1</i>	Podziały	7%	22%	27%	14%	6%	11%	5%	8%	136=100%	63%	37%
	Serja III <i>Serie III</i>	Czas	21	24	3	6	9	12	15	18	24	18-3	3-18
	Doba 2 <i>Tag 2</i>	Podziały	26%	11%	23%	6%	18%	8%	5%	3%	62=100%	60%	40%
	Doba 3 <i>Tag 3</i>	<i>Teilungen</i>	29%	11%	17%	8%	9%	10%	9%	7%	106=100%	57%	43%
	Ogółem w serji III <i>Totalzahl d. III Serie</i>	Podziały	28%	11%	20%	7%	13%	9%	7%	5%	168=100%	59%	41%
Serja I+II+III <i>Serie I+II+III</i>	Podziały	25%	18%	12%	8%	13%	10%	7%	7%	641=100%	55%	45%	
Serja IV <i>Serie IV</i>	Czas	12	15	18	21	24	3	6	9%	24	18-3	3-18	
	Podziały	11%	7%	9%	12%	18%	18%	12%	13%	117=100%	48%	52%	

podz. (2.63 na osobnika) dzięki wysokiej temperaturze; nagle jednak jej wahania w granicach 24°—20°—25° wpłynęły na bezwartościowość wyników. Krzywa III przeto jest wykreślona na zasadzie 2 pozostałych okresów; rezultaty pierwszej zostały pominięte ze względu na ich wątpliwy charakter przy uchwytnej niestalości warunków zewnętrznych. Trzecia serja (2 okresy, 168 podz.) też nie wnosi nic nowego do znanych stosun-

ków; położenie wierzchołka jest typowe; w pierwszej dobie zaszło tylko 62 podz. (0.65), jednak dane liczbowe szczególnie co do średnich nocnych (20%) i dziennych (8%) są bardzo charakterystyczne. W drugiej dobie zaobserwowałem 106 podz. (1.1) — średnie wynoszą 19% i 9%.

Krzywa sumaryczna wszystkich 3 seryj dośw. III (rys. 2, krzywa IV) jest identyczna z krzywą ogólną dośw. I: wierzchołek leży na 21 godz., między 12 i 18 rozciąga się depresja; na noc przypada średnio 18% na każde 3 godziny, na dzień — 9%, a więc stosunek nieco wyższy na korzyść nocy, niż w dośw. I.



Rys. 4. Doświadczenie III; Serja I, II i III—rezultaty sumaryczne. Oznaczenia jak na rys. 1.

Fig. 4. III Versuch; I, II und III Serie — Totalergebnisse. Bezeichnungen wie auf Fig. 1.

Wyniki te potwierdzają na wszystkich punktach wnioski z przebiegu dośw. I, dając im trwalsze podstawy (11 okresów dobowych, 1414 podziałów); ponieważ zaś w żadnym przypadku nie uzyskałem zmian krzywej, upoważniających do podejrzenia węzła przyczynowego między położeniem jej punktów krytycz-

nych w czasie, a chwilą wyboru — należy uznać za przypadkowy wynik dośw. II oraz brak związku krzywej ze zmianami w samej pożywce w tym sensie, jak to wypowiedzieliśmy uprzednio.

Jak się okazuje, podział doby na okresy przyjęte nie zupełnie odpowiada naturalnym stosunkom; w szczególności okres wzmożonych podziałów nocnych, rozpoczynając się około 18-ej, a prawdopodobnie — między 18—19, trwa aż do 24—1, na co wskazuje wyższa niż w innych dziennych kontrolach wartość kontroli 6-ej. Zwraca też uwagę bystry wzrost ilości podziałów w okresie 18—21, gdy natomiast spadek ich po punkcie kulminacyjnym jest daleko łagodniejszy i odbywa się dwukrotnie wolniej (odcinek 21—24—3 godz.).

Wychodząc z założenia, że po upływie około 9 godzin od początku doświadczenia następuje w pożywce optimum warunków dla rozrodu pierwotniaków, przez zmianę pożywki, uskuteczniąną przed 9 godzinami, np. co 6 godzin, nie dopuścilibyśmy do powstania ani okresu nocnego, ani punktu kulminacyjnego o 21-ej godzinie, ani w żadnej innej.

Rezultaty tak pomyślanego doświadczenia, składającego się na IV serję dośw. III podaje krzywa II, na rys. 3. W trakcie doby pożywka została zmieniona 4 razy, mianowicie o godzinach: 9-tej, 15-tej, 21-szej, 3-ciej. Początek doświadczenia o 9-ej. Niestety, temperatura wykazuje przebieg bardzo nieprawidłowy i dość duże, bo dochodzące do 2^o stopni wahania (18^o—16^o). Podziałów ogółem 117 (1.22) (tab. II). Krzywa uległa na odcinku nocnym pewnej deformacji, wyrażającej się w zatarciu wyraźnego punktu kulminacyjnego, w przesunięciu grzbietu fali podziałowej na czas 24—3 i w niskim jego poziomie 18%, zrekompensowanym jednak długością wysokiego odcinka 24—3, przez co stosunki liczbowe nie uległy zmianie. Średnia nocna w stosunku do dziennej jest dużo większa, wynosząc 16% i 10%. Wynik ten utrzymuje się w granicach dotychczasowych wahań liczbowych. Wprawdzie dla okresu ściślejszego 18—24 otrzymano wartości 15 i 11.5% — lecz i one świadczą wyraźnie o zachowaniu okresu wzmożonych podziałów. Należy też wziąć pod uwagę, że przenosząc pierwotniaki aż 4 razy na dobę do świeżego środowiska, wprowadzamy nieuniknione zaburzenia w ich normalnym trybie życia, a każdorazowa pożywka, choć brana z tej samej próbki i mniej więcej z tego samego poziomu, przy swym nieokreślonym składzie, może zawsze działać hamująco lub przyspieszająco na proces podziałów w okresie, następującym bezpośrednio po zmianie. Uwzględniając powyższe, nie można komentować wyników doświadczenia w sensie dodatnim; nie zaznacza się na krzywej bowiem ani tendencja do wyprostowania, ani też jakakolwiek okresowość, którą możnaby zestawzić z okresową, 4-ro krotną zmianą środowiska odżywczego. Wystę-

puje w niej natomiast normalna okresowość dobową, wyrażoną w depresji popołudniowej, wieczornym wzroście ilości podziałów i nocnym okresie wzmożonej działalności podziałowej.

Wyniki doświadczenia III prowadzą do wniosku, że krzywa dobową nie zależy od szczególnych warunków badań; punkty krytyczne zaznaczają związek z oznaczonymi punktami kalendarza dobowego, a zjawisko rytmu zdaje się nie być funkcją czasu wogóle, lecz funkcją pory doby. Ponieważ rytmiczny przebieg krzywej wykazuje zgodność z rytmiczną zmianą światła i ciemności, przypadającą grzbietem na czas panowania ciemności nocnej, nasuwało się najprostsze przypuszczenie o hamującym działaniu światła, względnie sprzyjającym podziałom działaniu ciemności.

Przypuszczenie to jednak zgóry nie wydawało się prawdopodobne wobec istniejących w literaturze wskazówek, przemawiających wogóle za słabym oddziaływaniem w tej sprawie powyższych czynników (W o o d r u f f '05), w szczególności zaś raczej za hamującym wpływem ciemności (D e m b o w s k a '22).

Celem zbadania tego bezpośredniego wpływu światła, wykonane zostało doświadczenie IV, obejmujące 2 serje; w pierwszej z nich zastosowane zostało częściowe zaciemnienie; w drugiej trwało ono przez czas dłuższy, dla otrzymania wyraźniejszych modyfikacyj krzywych. Wybrałem metodę zaciemnienia nie zaś sztucznego oświetlenia nocnego, ponieważ ostatnie wnosiłoby nowy czynnik — światło — o charakterze aktywniejszym, niż ciemność. Rezultaty liczbowe podaje tabela III.

Doświadczenie IV.

Ponieważ w danej porze roku ciemność nocna trwa około 6 godzin, zaciemnienie w serji I zastosowano w tejże skali i to na odcinku 9—15 godz., gdyż w tym okresie występuje zwykle depresja krzywej, która powinna zniknąć w razie dodatniego oddziaływania ciemności, względnie hamującego wpływu światła. Ze względu następnie na istnienie w ciągu okresu doświadczalnego dwu odcinków poddanych działaniu jednako-owego czynnika (ciemność), spodziewać się należało albo wystąpienia 2 grzbietów, albo nieprawidłowego rozsiania podziałów na przestrzeni doby. (Krzywa III na rys. 3). Temperatura, poza skokiem w godz. 9—12 z 19° na 21°, utrzymuje się do 21-ej na poziomie 21°, by następnie spadać stopniowo do 6-ej do 19.5°. Skok poranny i ustalenie się na dość wysokim poziomie 21° prawdopodobnie nie pozostały bez pewnego wpływu na gwałtowny wzrost

krzywej obserwowany w godz. 15—18, rozpoczynający się już od 12 godz. i powodujący wysoki poziom bezwzględny punktu o 18-ej z jego 19%. Poza to jednak krzywa przedstawia obraz pod każdym względem typowy. Odcinek zaciemniony 9—15 nie zdradza żadnych modyfikacji, co zresztą było do przewidzenia; liczba 7% o godz. 15-ej jest najbardziej typową dla popołudniowej depresji. Wierzchołek z wartością 23% przypada na normalny termin — 21 godz.; podobnie średnie nocne 18% i dzienne 9% są zupełnie typowe. Wynik doświadczenia przemawia więc przeciwko przyjęciu bezpośredniego oddziaływania ciemności, względnie braku światła, na powstanie nocnego grzbietu fali podziałowej.

Aby osiągnąć co do tego większą pewność, w serji drugiej zastosowano zaciemnienie na większą skalę, trwające nieprzerwanie w ciągu trzech okresów dobowych (tabela III).

Ponieważ w danym przypadku chodziło o możliwie pełne wyłączenie wpływu światła, nieuniknionego podczas wykonywania częstych kontroli, ilość tych ostatnich ograniczyłem do 3 na dobę; wykonywane one były o 9-ej, 18-ej i 3-ej.

Przy tem postawieniu sprawy nie mogłem skontrolować zachowania się depresji popołudniowej. Zasadnicza jednak cecha krzywych dobowych leży w wygładzie ich odcinka nocnego 18—3 i w stosunku liczbowym podziałów tego okresu do pozostałego. Ten właśnie moment wybrany został za sprawdzian działania ciemności. Ilość podziałów dość znaczna, wynosi w ciągu I doby 161, drugiej 202 i trzeciej 198; na jednego pierwotniaka przypada więc 1.68—2.1—2.02 podziałów. Temperatura wahała się w granicach tylko 1°. Pierwszego dnia ilości ogólne podziałów dla nocy i dnia wynoszą 51% i 49% (średnio 17% i 10%), drugiego — wyniki są jeszcze bardziej charakterystyczne 55% i 45% (średnio 18% i 8%), trzeciego nieco słabsze 48% i 52% (średnio 16% i 10%). W ciągu pierwszych dwu okresów dobowych nie zaszły najmniejsze zmiany w liczbowym ustosunkowaniu okresów nocnych i dziennych, dopiero trzecia doba zdradza tendencję do wyrównania różnic, co upatrywać można we wzroście liczby podziałów w okresie dziennym do 52%. Wzrost ten tyczy się jednak tylko pierwszego odcinka doby (9—18 godz.), zachowując w trzecim (3—9 godz.) wartość średnią taką samą, jak w poprzednich dniach — 7% — może więc łączyć się ze zmianą pożywki, nosząc charakter przypadkowy. Za tem tłumaczeniem przemawia i ta okoliczność, że stosunek liczbowy 16% do 10% sam przez się nie wykracza zupełnie poza ramy napotykanne w innych razach, a w stosunku do pierwszej doby II wykazuje takie same prawie odchylenie in plus, jak III in minus.

Rezultaty drugiej serji doświadczenia IV stwierdzają, podobnie jak i pierwszej — brak bezpośredniej zależności pomiędzy powstawaniem grzbietu fali podziałowej a nastaniem ciem-

Tabela III.

Kontrola Kontrolle	1	2	3	4	5	6	7	8	Suma Totalzahl	4+5+6	1+2+3+ +7+8
Czas Zeit	12	15	18	21	24	3	6	9	24	18-3	3-18
Serja I, Serie I.	3 = 2%	13 = 7%	33 = 19%	41 = 23%	52 = 30%		34 = 19%		176 = 100%	92 = 53%	85 = 47%
Serja II, doba 1 Serie II, Tag 1		54 = 34%			82 = 51%		25 = 15%		161 = 100%	82 = 51%	79 = 49%
Serja II, doba 2 Serie II, Tag 2		65 = 32%			112 = 55%		25 = 13%		202 = 100%	112 = 55%	90 = 45%
Serja II, doba 3 Serie II, Tag 3		75 = 38%			95 = 48%		28 = 14%		198 = 100%	95 = 48%	103 = 52%
Serja II, ogótem Serie II, To- talzahl		194 = 35%			289 = 51%		78 = 14%		561 = 100%	289 = 51%	272 = 49%

Podziaty - Teilungen

ności; normalny rytm utrzymuje się po wyłączeniu zmian świetlnych w ciągu 3 okresów dobowych. Miarodajną więc jest dlań nie zmiana światła i ciemności, lecz zmiana dnia i nocy. Dla utrzymania przypuszczenia o wpływie światła, wysunięto istnienie dziedzicznej reakcji rytmicznej w tym kierunku u roślin; jednak wyniki doświadczenia IV nie potwierdzają tego objaśnienia w stosunku do *Paramecium*. Jeśli bowiem przypuszczać, że zachowanie normalnego rytmu w ciemności jest spowodowane reakcją dziedziczną, należy wnosić, że działanie światła, które doprowadziło do wytworzenia odpowiedniej jednostki w genotypie zwierzęcia, musi być bardzo wyraźne. W takim jednak razie, niezależnie od normalnie przejawianej dziedzicznej reakcji, uwydatniającej się w powstaniu nocnego wierzchołka krzywej — musiałyby ono w jakikolwiek sposób ten dobitny wpływ zamianifestować na innych odcinkach krzywej, tam, gdzie w warunkach sztucznych zachodzi ku temu sposobność. Nic jednak podobnego w przebiegu obu seryj doświadczenia IV nie miało miejsca.

Dyskusja wyników.

W toku pracy ustaliliśmy, że podziały *Paramecium* w kulturach indywidualnych nie są jednostajnie rozsiiane na wszystkich odcinkach okresu dobowego, lecz wyróżnić tu możemy okres dzienny i nocny. W nocnym, trwającym mniej więcej od godz 18 do 1, częstość podziałów jest średnio 2 razy większa, niż w dziennym; punkt kulminacyjny zagęszczenia leży między 20 i 22 godz. Okres dzienny (3—18 godz.), prócz mniejszej częstości podziałów, wykazuje depresję popołudniową w czasie 12—15. Jak wynika z doświadczeń, obraz ten nie zależy zupełnie od chwili dokonania wyboru z hodowli masowej i od tych zmian w środowisku doświadczałnym, które zająć mogą w ciągu 24 godzin w kropli pożywki; trudno go też wiązać z temperaturą. Nie wskazują też powyższe badania na bezpośredni wpływ w tej sprawie światła. Krzywa bowiem nie wykazała żadnych modyfikacyj pod wpływem wyłączenia wszelkich zmian świetlnych, nie mówiąc o danych, znanych z literatury. Niezależność zjawiska od składu każdorazowej pożywki wynika z faktu zachowania normalnego wyglądu krzywej we wszystkich prawie doświadczeniach, mimo że minimalna

ilość podziałów osobnika w ciągu doby (0.65) i maksymalna (2.1) wykazują trzykrotną rozpiętość.

Wobec powyższego, nie wypowiadając się co do bezpośrednich przyczyn tego zjawiska, ograniczę się do określenia go terminem rytmu dobowego, gdyż przebiegiem, z którym można go związać węzłem koincydencji, jest dobowy rytm słoneczny.

Interesującym jest skonfrontowanie tych wyników ze szczupłymi danymi, jakie dostarcza literatura przedmiotu, oraz z próbami objaśnienia samego zjawiska, wysuniętymi przez Karstena ('15 i '18).

Porównyując przebieg podziałów u obserwowanych przez niego alg i u *Paramecium*, widzimy daleko idącą zgodność: w obydwu przypadkach wyróżniają się okresy o mniejszej (dzienny) i większej (nocny) częstości podziałów oraz wierzchołki, przypadające na godziny prawie jednakowe (21—1) i depresje (12—15). Wierzchołek nocny, aczkolwiek leży w granicach wahań, znalezionych u *Paramecium*, jest jednak jakgdyby przesunięty. W tej sprawie praca cytowana nie daje wyjaśnienia, bowiem operuje tylko jednym okresem dobowym, w którym dokonano wszystkich obserwacji. Stosunki, wykryte przez Karstena u roślin wyższych, są zasadniczo takie same, jak u jednokomórkowych i nie odbiegają od danych co do *Paramecium*.

Jedną z przesłanek o dziedzicznym charakterze zjawiska był dla niego brak rytmu w korzeniach roślin; w roku jednak 1920 Stälfelt doszedł do odmiennych wniosków. Wbrew danym Karstena i własnym z 1919 r. udało mu się stwierdzić istnienie rytmu w podziałach, zachodzących w korzonkach *Pisum sativum* o wierzchołku w godz. 9—11 i odpowiadającym mu minimum w godz. 21—23¹⁾.

Druga z przesłanek opiera się na dowiedzionym fakcie możliwości zmiany okresowości równoległe do zmian oświetlenia. Roślina jednak, jako istota, najściślej związana ze światłem całokształtem swych funkcji życiowych, musi być na działanie jego szczególnie wrażliwa; stosowanie tego bodźca przez czas tak długi, jak to miało miejsce w doświadczeniach Karstena, wy-

¹⁾ Sprawa istnienia rytmiki podziałów w korzeniach nie jest jednak ustalona ostatecznie; Jaburek ('29), polemizując ze Stälfeltem, dowodzi jej braku.

wolało np. w przypadku stałego naświetlenia, ogólne zahamowanie rozwoju roślin i to w stopniu — jak mówi autor — bardzo jaskrawym. Nie jest więc szczególnie charakterystycznym, że i normalny rytm uległ zmianie; nie da się zaprzeczyć wpływu światła na jego przesunięcie — nie mamy jednak danych do twierdzenia, że światło go wywołało. Nasuwa się natomiast przypuszczenie, że poza światłem ukrywa się inny czynnik, nieujawniony dotychczas i działający okresowo; różne nasilenie jego w różnych porach doby stwarza warunki mniej lub więcej sprzyjające aktom podziałowym komórki. Przyjęcie tego czynnika — aczkolwiek hipotetycznego, pozwala na nieuciekanie się do pomocy dziedziczności, o której istnieniu może tylko przekonać eksperyment genetyczny.

Wykrycie rytmiki, zgodnej z dotychczas znaną u roślin w świecie zwierzęcym, rozszerza zakres zjawiska i dodaje wagi tej argumentacji; trudno jest bowiem wiązać bezpośrednio wpływ światła z procesem podziałowym komórki zwierzęcej w sensie, w jakim to robią botanicy dla komórki roślinnej; *Paramecium*, odżywiający się bakteriami, nie posiada nastawienia metabolizmu na okresowe działanie światła słonecznego, jak to ma miejsce u roślin. Dla niego nie istnieje żadna okresowość, żadna zmiana w nastawieniu fizjologicznym, umożliwiającą dopuszczenie tłumaczenia S a c h s a o gromadzeniu energii w dzień, a wydatkowaniu w nocy; mamy zresztą w pracach D e m b o w s k i e j ('22) i W o o d r u f f a ('05) bezpośrednie dane, przemawiające za istnieniem hamującego wpływu nie światła, lecz odwrotnie, ciemności na sprawę podziałów pierwotniaków; w najgorszym zaś razie — za brakiem dodatniego z jej strony oddziaływania.

Wszystko to przemawia za istnieniem czynnika, posiadającego wpływ na procesy podziału komórki, niezależnie od jej roślinnego czy zwierzęcego metabolizmu, o działaniu rytmicznym, zgodnym z rytmem dnia i nocy. Ogromna różnorodność środowisk i warunków, wśród których przejawia swe działanie, przemawia za jego bardzo ogólnym charakterem. U roślin czynnik ten jest przykryty innym — światłem, którego działanie jest silne i wszechstronne; dobitnie o tem świadczy doświadczenie K a r s t e n a ze stale oświetlonymi kulturami *Zea Mays*.

Możliwość istnienia czynnika o postulowanym charakterze potwierdzają pewne dane faktyczne; w ostatnich czasach zwrócono uwagę na procesy elektryczne, odbywające się w środowisku atmosfery i wody, związane z jonizacją — i przebiegające okresowo. Tak np. Legendre ('22) stwierdził okresowe wahania w stężeniu jonów wodorowych w przeciągu doby w wodzie litoralnej morskiej; wahania wartości pH z 8.0 o godz. 7 rano do 8.19 w godz. 15—16 odpowiadają prawie dwukrotnej różnicy w alkalicyzacji środowiska, które te zjawisko może odegrywać pewną rolę w procesach biologicznych.

W świecie roślinnym zjawiskiem z wielu względów przypominającym rytm podziałowy — są ruchy nyktynastyczne; w szczególności ruchy „senne” liści *Phaseolus*, zachodzące prawidłowo w rytmie zgodnym ze zmianą dnia i nocy. Podobieństwo tych na pozór różnych faktów tkwi w ich „autonomicznym” charakterze; ruchy liści *Phaseolus* mają bowiem zachodzić w zupełnej ciemności z wykluczeniem bezpośredniego wpływu światła. Wprawdzie Semon ('05) komentuje to zjawisko jako poparcie swej mnemonicznej teorii, upatrując w niem skutek czynników dziedzicznych, jednak nie brak i innego tłumaczenia, mającego bezpośredni związek z naszym zagadnieniem. Stoppel ('16) mianowicie, wykazuje istnienie zgodności krzywych zachowania się poszczególnych roślin na pułkcie czasowego położenia najgłębszej depresji w położeniu liści, między 2 a 4 godz. w nocy; niezależność tych ruchów od parastopniowego obniżenia temperatury; zgodność z normalnym rytmem roślin, pochodzących z nasion, przywiezionych z Ameryki i Jawy (co nie mogłoby mieć miejsca w przypadku dziedziczenia) — wreszcie zestawia przebieg odnośnej krzywej z przebiegiem krzywej przewodnictwa elektrycznego atmosfery. W pracy Stoppel ('20), poświęconej stosunkom pomiędzy rośliną i atmosferyczną elektrycznością, znajdujemy, że okresowe zmiany w przewodnictwie i jonizacji atmosfery osiągają maksymalne wartości w godzinach 2—4 w nocy; ponieważ zaś wiele procesów fizjologicznych wykazuje w tym czasie charakterystyczny przebieg, wnosi autorka o istnieniu między temi faktami przyczynowego związku. Jednak wiązanie tak różnych zjawisk, jak oddychanie i ruchy nyktynastyczne liści lub podział komórki z przewodnictwem atmosfery, jest wobec braku dowodów eksperymentalnych czysto werbalne.

Daleko więcej prawdopodobieństwa posiada druga z wysuwanych przez Stoppel możliwości, że poza procesami biologicznymi zjawiska rytmiczne (dobowe) mają miejsce i w świecie fizycznym i że dla obu tych dziedzin należy przyjąć wspólną przyczynę.

W sprawie udziału przewodnictwa elektrycznego w procesie podziału komórki nie mamy żadnych danych pozytywnych, przeciwnie Sperlich ('22) podał w wątpliwość dane Stoppel o tyle, że pomijając samą sporną sprawę synchroniczności ruchów liści różnych osobni-

ków — stwierdził, że rośliny nie reagowały zupełnie na silniejsze niż normalnie mające miejsce — sztuczne zmiany przewodnictwa elektrycznego.

Zagadnienie rytmiki dobowej podziałów komórkowych może być ujęte z innego jeszcze punktu widzenia — z punktu widzenia rytmiki wzrostu. Rytmika ta, w odniesieniu do okresu dobowego, znana jest oddawna w świecie roślin; noc jest okresem wzmózonego wzrostu rośliny na długość — po wschodzie słońca intensywność jego gwałtownie maleje. Jak się przekonaliśmy, w osnowie tego zjawiska leży również nocny tryb podziałów komórkowych. Podobne stosunki zachodzą u zwierząt — pierwotniaków; według *Schmalhausen i Syngajewskiej* ('25) najbardziej intensywny wzrost *Paramecium* zaznacza się w ciągu ca. 3 godzin po akcie podziału. Ponieważ zaś w okresie nocnym 21—24 godz. fala podziałów osiąga swój punkt szczytowy — okres wzmózonego wzrostu substancji gatunkowej *Paramecium* — o ile się tak można wyrazić — przypadając w 3 godziny po nim, również — jak i u roślin — ma miejsce w nocy.

Przyczyny tej koincydencji nie są znane; czy jest to tylko przypadek, czy też skutek specjalnych przyczyn i wpływów — rozstrzygnąć mogą tylko przyszłe badania; w każdym bądź razie zjawisko rytmiki dobowej podziałów komórkowych jest jeszcze jednym dowodem, że rytm słoneczny przenika głęboko w stosunki życiowe organizmów, a pojęcie doby znajduje swój odpowiednik w procesach biologicznych nawet tak napozór odeń niezależnych, jak to miało miejsce w rozpatrywanym przypadku.

Streszczenie.

1°. Podziały *Paramecium caudatum* w warunkach, zakreślonych metodą pracy, nie są bezładnie rozsiane na przestrzeni doby, lecz wykazują prawidłowość w tym względzie, skupiając się w określonych godzinach.

2°. W ciągu okresu 24-ro godzinnego można wyróżnić podokres nocny, trwający od ca. 18-ej do 3 godziny (ściślej 18—1), w którym podziały zachodzą dwukrotnie częściej, niż w odpowiednim okresie czasu w innym porach doby, oraz — podokres dzienny, obejmujący czas ca. 2—18 godz., o mniejszej częstości podziałów; punkt kulminacyjny zagęszczenia nocnego przypada

na godz. ca. 20—22. W okresie dziennym w godz. ca. 12—15 zaznacza się ponadto depresja.

3°. W związku z powyższym, można mówić o rytmice dobowej podziałów pierwotniaków, manifestującej się w falowym przebiegu podziałów w ciągu doby, o stałym położeniu grzbietu fali.

4°. Rytm dobowy *Paramecium* nie jest bezpośrednio zależny od zmiany światła i ciemności, jak również od parustopniowych wahań temperatury, oraz specyficznych warunków hodowli, pojętych jako ew. zmiany w kropli pożywki, będących funkcją czasu wogóle.

5°. Jest on niezależny, przynajmniej w pewnym stopniu, od ilości podziałów, dokonanych w ciągu doby przez jednego osobnika, a co za tem idzie — od tych ogólnych warunków środowiska, które powodują nierównomierność tempa podziałów. Niezależność powyższa została stwierdzona w granicach 0.65—2.1 podziałów w ciągu doby.

6°. Rytmika dobowa podziałów zależna jest, jak się zdaje, od zmiany dnia i nocy, występując w warunkach nieprzerwanego, 3 dobowego zaciemnienia.

7°. Zjawisko to zasadniczo przebiega analogicznie u roślin jednokomórkowych — i jak się zdaje — tkankowych (K a r s t e n i inni).

8°. Hodowle indywidualne *Paramecium*, rozpatrywane jako całość, w związku z nocnym nasileniem procesów podziałowych, przedstawiają analogję do roślin w sprawie nocnego trybu wzmożonego wzrostu.

9°. Fakty powyższe czynią prawdopodobnem istnienie hipotetycznego czynnika, nie wykrytego dotychczas, oddziaływającego rytmicznie na przestrzeni doby na proces podziału komórek pierwotniaków o roślinnej i zwierzęcej przemianie materji; większe nasilenie jego nocą stwarza warunki, sprzyjające aktom podziałowym.

Piśmiennictwo *).

Austin M. 1927. Studies on *Uroleptus mobilis*. Journ. of exp. Zool. 49. Beers C. Dale. 1928. Rhythmus in Infusoria, with special reference *Didinium nasutum*. Journ. of exp. Zool. 51. Blochmann F. 1894. Ueber die Kernteilung bei *Euglena*. Biol. Zentralbl. 14. Botsford E. 1922. Rhythmus in the rate of reproduction of *Amoeba bigemma*. Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 19. Buetschli O. 1889. Bronn's Klassen und Ordnungen Tierreichs. I. B. Protozoa. Leipzig. Calkins G. 1915. *Didinium nasutum* — the life history. Journ. of exp. Zool. 19. Calkins G. 1919. *Uroleptus mobilis*. II. Renewal of vitality through conjugation. Journ. of exp. Zool. 29. Calkins G. 1920. *Uroleptus mobilis*. III. Study in vitality. Journ. of exp. Zool. 31. Chejfec M. 1928. Przebieg reorganizacji jądrowej u *Paramecium caudatum*. Acta Biol. Exper. 2. Chejfec M. 1930. Długość życia *Paramecium caudatum* w związku z odżywianiem. Acta Biol. Exper. 4. Dahlgren O. 1920. Zur Embryologie der Kompositen. Zeitschr. für Bot. 12. Dawson J. 1926. The life cycle of *Histrio complanatus*. Journ. of exp. Zool. 46. Dembowska S. 1922. Wpływ światła barwnego na tempo mnożenia się *Paramecium caudatum*. Prace Zakł. Biol. Ogólnej Instyt. im. Nenckiego. 1. Doflein F. und Reichenow E. 1929. Lehrbuch der Protozoenkunde. Jena 5 Aufl. Greenleaf W. 1926. The influence of volume of culture medium and cell proximity on the rate of reproduction of Infusoria. Journ. of Exp. Zool. 46. Gurvitsch A. 1911. Untersuchungen über den zeitlichen Faktor der Zellteilungen. Archiv. f. Entw.-mech. 32. Hargitt G. and Fray W. 1917. The growth of *Paramecium* in pure cultures of bacteria. Journ. of Exp. Zool. 22. Jaburek. 1929. Ueber die zeitlichen Verhältnisse der Mitosen im wachsenden Gewebe. Acta Biol. Exper. 3. Jost L. und Benecke W. 1923. Vorlesungen über Pflanzenphysiologie. 2. Jena, 4 Aufl. Junker H. 1925. Ueber d. Wirksamkeit verdünnten Substanzen auf *Paramecium*. Biol. Zentralbl. 45. Karsten G. 1915. Ueber die Tagesperiode der Kern- und Zellteilungen. Zeitschr. f. Bot. 7. Karsten G. 1918. Ueber die Tagesperiode des Kern- und Zellteilungen. Zeitsch. f. Bot. 10. Kaufmann. 1914. Ueber den Entwicklungsgang von *Cylindrocystis*. Zeitschr. f. Bot. 6. Kniep H. 1917. Beiträge zur Kenntnis der *Hymenomyces*. Zeitschr. f. Bot. 9. Kornfeld W. 1922. Ueber Zellteilungsrythmus. Archiv. f. Entw.-mech. 50. Lang A. 1921. Handbuch der Morphologie der wirbellosen Tiere. I Band. Protozoa. Jena. Lauterborn. R. 1895. Kern- und Zellteilung von *Ceratium hirundinella*. Zeitschr. f. wiss. Zool. 59. Legendre. 1922. Variations diurnes de la concentration en ions hydrogène de l'eau de mer littorale. C. R. Acad. Sc. 175. Ludwig W. 1928. Ueber den funktionellen Zusammenhang zwischen Populationsdichte, Nahrungsdichte und Teilungsrate bei Protisten. Biol. Gen. 4. *) Lutmann

*) Prace oznaczone gwiazdką znane są tylko z referatów.

B. 1911. Cell and Nuclear division in *Closterium*. Bot. Gaz. 51. Munk M. 1928. Theoretische Betrachtungen über die Ursachen der Periodizität. Biol. Zentralbl. 34. Myers E. 1927. Relation of density of population and certain other factor to survival and reproduction in different biotypes of *Paramecium caudatum*. Journ. of exp. Zool. 49. Philipps R. 1922. The growth of *Paramecium* in infusions of known bacterial content. Journ. of exper. Zool. 36. Richards O. and Dawson J. 1927. The analysis of the division rates of Ciliates. Journ. of Gen. Physiol. 10. Schmalhausen und Syngajewskaja. 1925. Studien über Wachstum und Differenzierung. Die Individualwachstumskurve von *Paramecium*. Arch. f. Entw.-mech. 55. Semon R. 1905. Ueber die Erbllichkeit der Tagesperiode. Biol. Zentralbl. 25. Sorokina M. 1925. Ueber Synchronismus der Zellteilungen. Arch. f. Entw.-mech. 35. *) Stalfelt M. 1920. Ein neuer Fall von Tagesperiodischen Rhythmus. Svensk. bot. Tidsk. 14. Stoppel R. 1916. Die Abhängigkeit der Schlafbewegungen von *Phaseolus multiflorus* von verschiedenen Aussenfaktoren. Zeitschr. f. Bot. 8. Stoppel R. 1920. Die Pflanze in ihrer Beziehung zur atmosphärischen Elektrizität. Zeitschr. f. Bot. 12. Strassburger. 1875. Zellbildung und Zellteilung. Jena. Woodruff L. 1905. An experimental study on the life-history of Hypotrichous Infusoria. Journ. of Exper. Zool. 2. Woodruff L. 1917. The influence of general environmental conditions on the periodicity of endomixis in *Paramecium aurelia*. Biol. Bull. 31. Woodruff L. 1917. Rhythms and endomixis in various races of *Paramecium aurelia*. Biol. Bull. 33. Woodruff L. and Baitsell G. 1911. The reproduction of *Paramecium aurelia* in a constant culture medium of beef extract. Journ. of exp. Zool. 11. Woodruff L. and Baitsell G. 1911. The temperature coefficient of the rate of reproduction of *Paramecium aurelia*. Amer. Journ. of Physiol. 29. Woodruff L. and Erdmann. 1914. A normal periodic reorganisation process without cell fusion in *Paramecium*. Journ. of exp. Zool. 17. Young R. 1918. The relation of rhythms and endomixis their periodicity and synchronisms in *Paramecium aurelia*. Biol. Bull. 35.

Wilno, dn. 15.VI.1932 r.

[Zakład Fizjologii Uniwersytetu Lwowskiego].

E. Falik.

Wpływ antagonizmu jonów na hemolizę.
Einfluss des Ionenantagonismus auf die Hämolyse.

Rękopis nadesłany w dniu 29.V.1932 r.

In meinen Untersuchungen wurde die antagonistische Beeinflussung der Hämolyse durch folgende Ionenkombinationen bewiesen: Ca : Ba, Ca : Sr, Ca : Mg, Ba : Sr, Ba : Mg, Sr : Mg. Unter den genannten Ionenmischungen wurde die antagonistische Wirkung der Kombinationen Ca : Ba und Ba : Sr bisher an keinen Objekten festgestellt. Diese antagonistische Wirkung der Erdalkalimetalle liesse sich nicht durch eine gegenseitige Aufhebung der spezifischen Wirkung, vielmehr aber durch eine Dispersitätsänderung der Zellhautkolloide der roten Blutkörperchen deuten. Die einzelnen Salze verringern die Dispersität der Erythrocytenzellhautkolloide, wodurch eine Herabsetzung der Zähigkeit der Zellhaut und der Resistenz gegen osmotische Einflüsse verursacht wird. In Gegenwart von Elektrolytkombinationen aber unterliegt der Dispersitätszustand der Zellhautkolloide einem geringeren Einfluss — das rote Blutkörperchen wird osmotischen Einflüssen gegenüber widerstandsfähiger.

Die Anionen ergaben in allen Kombinationen ausschliesslich additive Resultate.

Już Linder i Picton ('95) stwierdzili, że wysalające działanie mieszanin soli, zawierających jedno- i wielowartościowe katjony, na sól trójsiarczku arsenu, nie sumuje się, lecz raczej wzajem się hamuje. Jednak dopiero doświadczenia Loeba ('01) nad rozwojem jaj zapłodnionych u *Fundulus heteroclitus* dały powód do całego szeregu badań nad istotą

t. zw. antagonizmu jonów. Loeb ('11 i '12) usiłował wytłumaczyć wzajemne hamowanie się jonów. W myśl jego teorii antagonistyczne działanie jonów polegałoby na tem, że katjony, użyte w odpowiednim stosunku ilościowym, czynią powierzchnię komórek nieprzepuszczalną dla tych jonów, podczas gdy otoczki komórek, zawieszonych in vitro w roztworze pojedynczych soli, stają się w tych roztworach przepuszczalnymi dla danego jonu. Badania Neuschlosza ('23) nad wpływem antagonizmu jonów na napięcie powierzchniowe lecytyny i na działanie inwertazy drożdżowej, przyczyniły się do wyjaśnienia tej kwestji. Badania te wykazały mianowicie, że NaCl i KCl, użyte osobno, powodują zwiększenie napięcia powierzchniowego lecytyny, użyte zaś razem w odpowiedniej kombinacji, wzajemnie znoszą swe działanie do tego stopnia, że napięcie powierzchniowe pozostaje takie, jak w czystym roztworze wodnym; przytem — według Neuschlosza — największe wzajemne hamowanie okazują roztwory jonów, zmieszane w stosunku 1:1/20 i 1/20:1. Podobne stosunki stwierdził Neuschlosz i w działaniu mieszaniny jonów na inwertazę drożdżową. Pojedyncze sole zmniejszają jej zdolność rozszczepiania cukru, gdy natomiast użyte razem w odpowiednim stosunku, prawie nie wpływają na inwersję cukru. Wyjaśnił to Schürmeyer ('25), podając, że antagonistyczne działanie katjonów na inwertazę polega na koloidalnych domieszkach, towarzyszących zwykle preparatom enzymowym. Inwertaza bowiem zupełnie oczyszczona nie ulega tego rodzaju wpływowi jonów; antagonizm jonów ukazuje się jednak z powrotem, gdy do oczyszczonej inwertazy dodajemy koloidy, jak lecytynę, paraglobulinę i globulinę surowiczą. Badania te wskazywałyby więc, że antagonizm jonów jest związany z obecnością pewnych substancji koloidalnych, których stan rozprószenia zajmuje miejsce pośrednie pomiędzy zawiesiną a roztworem. Neuschlosz starał się badaniami swemi wykazać, że antagonizm jonów może być wytłumaczony antagonistycznym fizykochemicznym działaniem jonów na koloidy plazmy komórki. Według niego, antagonizm jonów polega na zdolności katjonów wzajemnego wypierania się ze swoich połączeń adsorbcyjnych, w tym przypadku — z powierzchni cząstek lecytyny, z tem, że jon wypierający nie wchodzi w miejsce wypartego, temsamem sól zachowuje się tak, jakby był roztworzony w wodzie przekroplonej. Również na ciałkach czerwonych wykazał Neuschlosz, że pewne kombinacje jonów mogą hemolizę optymalnie zahamować w płynach hipotonicznych. W badaniach tych nad hemolizą używał Neuschlosz mieszanin jonów jednowartościowych oraz jedno — z dwuwartościowymi.

W związku ze stwierdzonym przez Neuschlosza hamowaniem hemolizy przez mieszaniny jonów, nasunęło mi się pytanie, czy także mieszaniny wapniowców oraz szeregu anjonów wywierają również hamujący wpływ na hemolizę ciałek czerwonych w roztworach hipotonicznych. Badania swe przeprowadziłem w sposób następujący:

Odwlóknioną zapomocą miotelki krew wieprzową wirowałem przez 30 minut na elektrycznej wirownicy o 3,000 obrotów. Odwirowane krwinki umieszczałem w roztworach soli słabo hipotonicznych, odpowiadających 0.7%-mu roztworowi NaCl. Doświadczenia swe przeprowadzałem na następujących katjonach przy stałym anionie Cl: Ca, Ba, Sr, Mg — oraz na następujących anionach przy stałym katjonie K: Cl, SO₄, J, SCN, Br, NO₃. Do 10 cm³ każdego roztworu dodawałem 0.2 cm³ odwirowanych ciałek czerwonych i po kilkakrotnem wstrząśnieniu i wymieszaniu krwinek z roztworem, zostawiałem je na 24 godziny w ciepłocie pokojowej. Po upływie 24 godzin odwirowywałem pozostałe ciała, które nie uległy hemolizie, i oznaczałem kolorymetrycznie hemoglobinę, która przeszła do roztworu. W tym celu posługiwałem się kolorymetrem Autenrietha - Königsbergera. Jako płynu wzorcowego używałem roztworu hemoglobiny, otrzymanego przez dodanie 0.2 cm³ odwirowanych krwinek do 10 cm³ wody przekroplonej. Przytem roztwór hemoglobiny przeprowadzałem w hematynę kwaśną, przez dodanie kropli stężonego kwasu solnego; oparłem się bowiem na twierdzeniu Neuschlosza, że przy oznaczaniu hemoglobiny tą drogą uzyskał większą dokładność. Mieszaniny roztworów katjonów przeprowadzałem w ten sposób, że suma roztworów wynosiła 10 cm³; a więc dwa roztwory zostały wymieszane w stosunku 9:1, 8:2, 7:3 cm³ i t. d. W każdej serji starałem się zbadać, o ile na zahamowanie jonów wpływa podany przez Neuschlosza stosunek: 1:1/20 i 1/20:1. Do każdej serji użyto świeżej próby krwi wieprzowej — każdą serję nastawiałem z szeregiem kontrolnym celem przekonania się, jak wielki zachodzi błąd w oznaczeniu stężenia hemoglobiny, która przeszła do roztworu. Jak z tabel widać, błąd w odczytywaniu nie przekraczał 1% Hb.

Na podstawie tabel liczbowych wykreślono krzywe, które przedstawiają wzajemny wpływ hamujący jonów na hemolizę. Na rys. 1 najsilniejsze obniżenie wykazuje krzywa Ca: Sr — najłagodniejsze — Ba: Sr. Największe zahamowanie hemolizy wykazują mieszaniny Ca: Ba, Ca: Sr, Ba: Sr, w stosunkach 1:9, 2:8, 1/20:1. Na rys. 2 bardzo znaczne obniżenie cechuje krzywe Ca: Mg i Ba: Mg — gdy natomiast wykres Sr: Mg ulega tu łagodnemu stosunkowo wychyleniu wdół. Również i na tych krzywych stwierdzamy najsilniejsze zahamowanie hemolizy przez grupy jonów Ca: Mg, Sr: Mg, Ba: Mg, w stosunku 1:9, 2:8, 1/20:1. Wszystkie zaś krzywe, z wyjątkiem Sr: Mg i Ba: Mg, wykazują w swym przebiegu wyraźne załamanie, odpowiadające mieszaninie jonów w stosunku 1:1/20. Przemawiałoby to więc za tem, że dodanie drobnych stosunkowo ilości drugiej soli działa najbardziej hamująco. Jak z załączonych wykresów i tabel wynika, udało mi się stwierdzić wyraźne zahamowanie hemolizy w mieszaninach Ca: Ba, Ca: Sr, Ca: Mg, Ba: Sr, Ba: Mg, Sr: Mg.

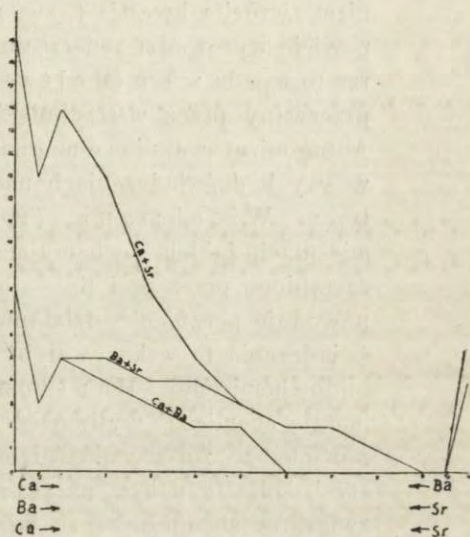
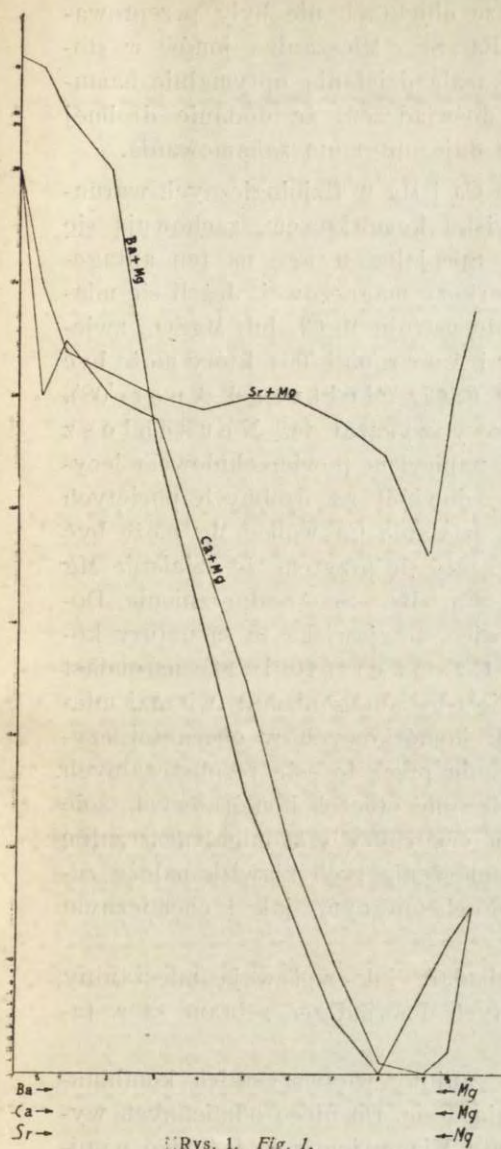
Tabela I.

Cyfry podają stos. roztw. w części.	9:1	8:2	7:3	6:4	5:5	4:6	3:7	2:8	1:9	1:1/20	1/20:1	Ca	Ba	Sr	Mg
Ca : Ba	5.4	4.3	2.2	2.2	2.2	0	0	0	0	3.3	0	6.5	8.8		
Ca : Sr	16.16	13.13	8.7	5.5	3.3	2.2	2.2	1.1	0	13.14	1.1	4.4		17.18	
Ca : Mg	65.64	60.60	58.58	45.46	33.34	20.20	10.9	1.1	0	60.60	3.2	15.15			80.80
Sr : Ba	1.0	1.1	2.1	2.2	3.3	4.4	4.4	5.5	5.5	0	2.3		4.4	8.8	
Sr : Mg	64.65	62.62	59.60	59.59	60.59	60.60	58.59	55.55	46.47	70.70	60.60			68.68	80.80
Ba : Mg	85.85	80.80	56.56	41.40	25.25	15.16	5.5	0.1	7.8	88.89	12.12		15.15		90.90

Cyfry podają procent hemoglobiny, który w mieszaninie roztworów kationów wystąpił do roztworu.

Druza cyfra w każdej kratce jest wynikiem kontrolnym.

Die Zahlen drücken in Prozenten die Hämoglobinmengen aus, welche im Gemisch der Kationenlösungen ausgetreten sind.
Die zweite Zahl ist die Kontrollziffer.



Rys. 1 i 2. Odcięte podają w cm^3 ilość roztworów pojedynczych soli, wchodzących w skład 10 cm^3 mieszaniny dwóch soli. Rzędne oznaczają procent Hb.

Fig. 1 und 2. Abszissen: In cm^3 ausgedrückte Mengen einzelner Salzlösungen die in 10 cm^3 des Gemisches zweier Salze enthalten sind. Ordinaten: Ausgetretene Hämoglobinmengen in Prozenten.

Z tych grup na żadnych jeszcze obiektach nie były przeprowadzane kombinacje: Ca : Ba, Ba : Sr. Mieszanina jonów w stosunku 1 : 1/20 i 1/20 : 1 nie okazała działania optymalnie hamującego, wynikałoby raczej z doświadczeń, że dodanie drobnej ilości roztworów drugiego jonu daje optimum zahamowania.

Już dawno znane było, że Ca i Mg w fizjologicznych warunkach znajdujące się w środowisku komórkowym, zachowują się wobec siebie antagonistycznie. Specjalną uwagę na ten antagonizm zwróciła kwestja t. zw. narkozy magnezowej. Jeżeli się mianowicie wprowadzi zwierzęciu do ustroju $MgCl_2$ lub $MgSO_4$, zwierzę to wpada w sen (Meltzer i Auer '05 i '06), który może być przerwany przez wstrzyknięcie $CaCl_2$ (Meltzer i Auer '08). Antagonizm wapniowo-magnezowy wykazał też Neuschlosz w swych doświadczeniach nad napięciem powierzchniowym lecytyny. Wiechmann ('20) dowiódł na drobnych pociętych mięśniach żabich, że hamujące działanie Ca wobec Mg może być zastąpione przez Sr i Ba — okazało się przytem, że działanie Mg powoduje pęcznienie, działanie Ca, Ba, Sr — odpęcznienie. Doświadczenia te wskazywałyby więc, że zjawiska te są natury koloido-chemicznej. Hansten Cranner ('10 i '14) natomiast podaje chemiczne wytłumaczenie tego antagonizmu; twierdzi mianowicie, że zniszczenie ścianek komórkowych w obecności czystych soli Mg polega na tworzeniu przez te sole rozpuszczalnych związków chemicznych ze składowemi otoczek komórkowych, sole te jednak w obecności soli Ca tworzą związki nierozpuszczalne ze składnikami otoczek. Wytłumaczenia tych zjawisk należy zatem szukać zarówno w koloido-chemicznym, jak i chemicznym kierunku.

Z kolei postanowiłem zbadać, jak wpływają mieszaniny anjonów na hemolizę. Wyniki tych doświadczeń zebrane są w tabeli II.

Jak z zestawień wynika, anjony we wszystkich kombinacjach wykazują działanie sumujące się. Do nieco odmiennych wyników doszedł Gellhorn ('20). Mianowicie z badań jego wynika, że chlorowce w swem działaniu na plemniki żabie, są hamowane przez fosforany, winjany, octany i siarczany sodu, przytem łatwiej ulegają odtruciu Br i Cl od J. Do odtrucia J — wedle niego — nadawałby się specjalnie Na_2HPO_4 . Gellhorn zastrzega się jednak przed nazwaniem tego zjawiska antagonizmem

Tabela II.

Cyfry podają stos. roztw. w cm ³	9:1	8:2	7:3	6:4	5:5	4:6	3:7	2:8	1:9	1:1/20	1/20:1	Cl	NO ₃	Br	J	SCN	SO ₄
SO ₄ :Cl	7.7	5.5	4.3	3.3	2.3	2.2	1.1	1.1	1.1	8.8	1.2	7.8					1.1
SO ₄ :NO ₃	1.1	1.1	2.3	3.3	3.4	4.5	5.5	6.6	6.5	6.5	0.1						6.7
SO ₄ :Br	13.14	10.10	7.7	5.6	3.4	3.3	2.2	1.2	1.0	20.20	0			20.20			0
SO ₄ :J	10.9	6.6	6.7	5.5	4.5	5.5	4.4	1.2	1.0	10.11	0				12.11		0.1
SO ₄ :CNS	22.22	18.18	15.16	8.9	6.6	4.5	2.2	1.0	0	25.25	0			10.0		24.25	0
Br:J	9.9	7.7	6.7	6.6	6.6	6.6	6.6	6.7	7.7	8.8	6.6			2.2			
Br:SCN	12.12	12.12	11.11	10.10	5.5	5.6	4.5	3.3	2.2	14.14	2.3						
J:SCN	10.11	9.10	7.8	7.7	6.6	6.7	5.5	6.5	4.5	12.11	4.4						
Cl:SCN	25.25	24.24	18.18	14.13	10.10	8.8	6.6	5.5	5.6	25.24	5.5	6.6		6.7			
Cl:Br	6.5	6.6	6.6	6.6	6.6	7.7	7.8	8.8	8.9	6.7	8.9	8.8					
Cl:J	3.3	3.2	3.3	2.2	2.2	3.2	3.2	3.3	3.3	4.4	4.3	3.2		6.7			
NO ₃ :Br	6.5	4.4	2.2	1.1	1.1	1.2	1.1	1.0	0	8.9	0			10.9			
NO ₃ :SCN	8.8	6.6	4.4	3.4	2.2	2.2	1.0	0	0	8.7	0		0	8.9			
NO ₃ :J	5.4	4.4	3.3	3.2	2.1	1.1	1.0	1.0	0	8.5	0		0				
NO ₃ :Cl	8.7	6.6	4.3	3.3	3.3	2.3	2.3	2.2	1.1	7.7	2.2	9.8	2.1				

Cyfry podają procent hemoglobiny, który w mieszaninie roztworów anionów wystąpił do roztworu.
Druaga cyfra w każdej kratce jest wynikiem kontrolnym.

Die Zahlen drücken in Prozenten die Hämoglobinnengen aus, welche im Gemisch der Anionlösungen ausgetreten sind.
Die zweite Zahl ist die Kontrollziffer.

jonowym, gdyż wymienione sole sodowe równie działają, gdy używamy ich oddzielnie.

Doświadczenia moje wykazały wyraźny wpływ hamujący kombinacji Ca : Ba, Ca : Sr, Ca : Mg, Ba : Sr, Ba : Mg, Sr : Mg na hemolizę; z tych mieszanin Ca : Ba i Ba : Sr dotychczas na żadnych obiektach nie było wypróbowane. To antagonistyczne działanie wapniowców należy tłumaczyć nie wzajemnem znoszeniem swego specyficznego działania, lecz raczej zmianą stanu rozproszenia koloidów otoczki ciałek czerwonych. Poszczególne sole zmniejszają rozproszenie koloidów (Neuschlosz '23) otoczki krwinek, temsamem zmniejsza się spójność otoczki, a z nią i oporność komórki wobec wpływów osmotycznych. W obecności mieszaniny jonów natomiast zmniejsza się ich wpływ na stan rozproszenia koloidów otoczkowych — ciałko czerwone nie podlega w tym stopniu wpływom osmotycznym.

Anjony we wszelkich kombinacjach dają wyłącznie wyniki sumujące się.

Piśmiennictwo.

H. Cranner, cyt. według R. Höber. 1926. *Physikalische Chemie der Zelle und Gewebe*. Wyd. 6. (694). E. Gellhorn. 1920. *Beiträge zur vergleichenden Physiologie der Spermatozoen*. Pflüg. Arch. 193 (576). E. Linder, A. H. Picton. 1895. *Solution and pseudosolution. Some physical properties of arsenious sulphide and other solutions*. Trans. Chem. Soc. 67 (63). J. Loeb. 1901. *Ueber den Einfluss der Wertigkeit und möglicher Weise der elektrischen Ladung von Ionen auf ihre antitoxische Wirkung*. Pflüg. Arch. 88 (68). I. Loeb. 1912. *Untersuchungen über Permeabilität und antagonistische Elektrolytwirkung nach einer neuen Methode*. Bioch. Z. 47 (127). I. Loeb. 1911. *Ueber den Mechanismus der antagonistischen Salzwirkungen*. Bioch. Z. 36 (275). Meltzer and Auer. 1905. *Physiological and pharmacological studies on magnesium salts I. General anaesthesia by subcutaneous injections*. Journ. of Physiol. 14, 4, (366). Melzer and Auer. 1906. *The narcotising effect of magnesium salts upon nerve fibres*. Ibidem. 16, 2, (233). Meltzer and Auer. 1908. *Ueber die Beziehungen des Calcium zu den Hemmungswirkungen des Magnesiums bei Tieren*. Zentrbl. für Physiol. 21 (788). Neuschlosz S. M. 1923. *Die Kolloidchemische Bedeutung des physiologischen Ionenantagonismus und der äquilibrierten Salzlösungen*. Pflüg. Arch. 181. (17). Neuschlosz S. M. II. *Ueber die Bedeutung des Ionenantagonismus für die Hämolyse*. III. *Untersuchungen über den Einfluss der Neutralsalze auf die Fermentwirkung*. Pflüg. Arch. 181 (40, 45). Schürmayer. 1925. *Ueber Ionenantagonismus bei den Systemen: Invertase-Eiweiss und Invertase-Lecithin*. Pflüg. Arch. 208 (595). E. Wiechmann. 1920. *Zur Theorie der Magnesiumnarkose*. Pflüg. Arch. 182 (74).

[Instytut Fizjologii U. J. K. we Lwowie].
Kierownik Instytutu Prof. Dr. A. Beck.

St. Kucharski.

**Drażnienie nerwu kulszowego żaby upadającymi kroplami
pływu Ringera.**

Die Reizung des Nervus ischiadicus beim Frosch durch herabfallende Tropfen einer Ringerlösung.

Rękopis nadesłany w dniu 4.VII.1932 r.

Die Reizung des *Nervus ischiadicus* beim Frosch wurde vom Verfasser auf zweifache Weise ausgeführt: im ersten Fall (der direkten Reizung) durch das Gewicht (ca 0.1 g) des herabfallenden Tropfens einer Ringerlösung, im zweiten Fall (der indirekten Reizung) durch die Flüssigkeitsteilchen, in die sich der, auf die harte Unterlage neben dem Nerven herabfallende Tropfen, zersplitterte. Die Anwendung der ersten Reizungsweise hatte eine minimale Muskelzuckung bei einer Höhe von 40—24 cm zur Folge, bei der Anwendung der zweiten Reizungsweise schon in einer Höhe von 10—7 cm. Die prinzipielle Ursache der Nervenerregung bei der indirekten Reizung liegt, nach der Meinung des Verfassers, in dem Einfluss des elektrischen Feldes, welches durch den Kontakt der Flüssigkeit mit der Glasunterlage entsteht.

U w a g i w s t ę p n e.

C e l b a d a ń.

Z pośród całego szeregu podniet, które w ogólności dzielimy na fizykalne i chemiczne, najmniejsze zastosowanie w naukach doświadczalnych znalazły podniety mechaniczne. Złożyły się na to dwie przyczyny:

1°. Uszkodzanie tkanki przez działającą podniety w stopniu mniej lub bardziej znacznym.

2°. Trudność stopniowania natężenia podniety mechanicznej.

Celem, ku któremu zdążali autorowie¹⁾, zajmujący się metodami mechanicznego drażnienia nerwów, było:

1°. Wynalezienie lub udoskonalenie takiego rodzaju podniety (uciskanie, wstrząsanie, skręcanie, wydłużanie), któraby nie uszkadzała tkanki.

2°. Wynalezienie lub udoskonalenie metody mechanicznego drażnienia nerwów, pozwalającej dowolnie zmieniać natężenie podniety.

Kierowany tą ideą, starałem się, w pierwszym rzędzie, zmniejszyć siłę podniety mechanicznej jako urazu przez to, że drażniłem nerw cząstkami płynu Ringera, na które rozbija się kropla upadająca na twardą podstawę.

Stosowanie podstawek z rozmaitego materiału (szkło, ebonit, marmur i in.) oraz o różnych kształtach powierzchni, na której spoczywał nerw, nie dawało mi w początkowej serji doświadczeń jednakowych wyników. Przez długi czas nie udawało mi się otrzymywać regularnych, każdej podniecie odpowiadających, skurczów mięśni, które pozostawały w związku z drażnionym nerwem, mimo, że używałem rozmaitych podstawek i mimo, że nadawałem powierzchni podstawki, na której leżał nerw, różny kształt. Główną przyczyną ujemnego wyniku początkowych doświadczeń było to, że nerw już po jednorazowym opuszczeniu kropli płynu, otoczony zostawał cienką warstwą płynu, która chroniła go przed każdą następną podniętą.

Ażeby się przekonać, jakie występują różnice, drażniłem nerw w dwojaki sposób: bezpośredni [podobnie jak to czynił Uexküll¹⁾], t. j. ciężarem upadającej kropli, oraz cząstkami

¹⁾ du Bois-Reymond. Cyt. według Nagel'a, Handbuch der Physiol. 4 (817) 1909. Heidenhain. Cyt. według Nagel'a l. c. Tigerstedt R. Cyt. według Jahresbericht über die Leist. u. Fortschr. in der ges. Med. (202). 1881. Hällsten K. Cyt. według Jahresbericht über die Leist. u. Fortschr. in der ges. Med. (179). 1881. Kronecker H. Cyt. według Uexküll'a, Zeitschr. f. Biol. 31 (151). 1895. Piotrowski G. du Bois-Reymond Arch. (205). 1893. Langendorf O. Arch. f. d. ges. Med. 1882. Uexküll J. v. Zeitschr. f. Biol. 31 (148). 1895; tamże 38 (291). 1899. Donieselli C. Pflügers Arch. 96 (624). 1903.

¹⁾ l. c. 1895.

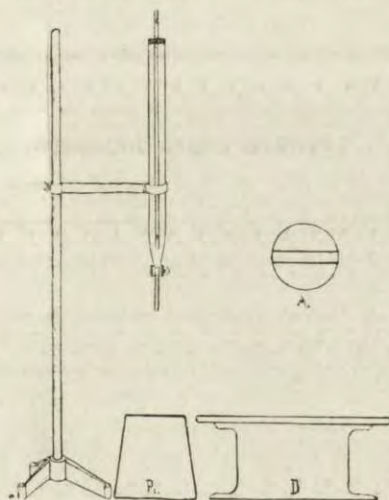
plynu Ringera, na które rozbija się kropla, upadająca na twardą podstawę. Ten ostatni sposób określał jako pośredni.

Właściwe doświadczenia wykonałem w półroczu zimowym 1932 r. Przeprowadzone były w temperaturze pokojowej na żabach (*Rana temporaria*) o wadze 37—60 g.

Bezpośredni sposób drażnienia.

Krople płynu Ringera (dla zmiennocieplnych), wypływające z dolnego otworu biurety, która była zarazem flaską Mariotte'a, upadając, uderzały w nerw, leżący na szklanej podstawie (rys. 1).

Biureta, umieszczona w oprawie metalowej, dawała się przesuwac wzdłuż pionowo ustawionego pręta metalowego. Podnoszenie lub obniżanie biurety pozwalało dowolnie zmieniać wysokość, z której spadały krople, a co zatem idzie — ich siłę działania. Umieszczona obok podziałka centymetrowa (dla uproszczenia na rys. nie zaznaczona), pozwalała odczytywać odległość między górną powierzchnią podstawki P_1 , na której leżał nerw,



Rys. 1. A — schemat górnej powierzchni podstawki P_1 .
Abb. 1. A — das Schema der Oberfläche der Unterlage P_1 .

a otworem biurety, skąd odrywały się krople. Czas odrywania się kropli dawał się regulować przez odpowiednie ustawienie kurka szklanego. Średnica otworu, skąd odrywały się krople, wynosiła 5 mm. Ciężar kropli, odrywających się z tego otworu, wynosił około 0.1 g.

Szklana podstawka, na której spoczywał nerw, miała kształt ściętego stożka 7 cm wysokiego. Na jej górnej poziomej powierzchni A znajdował się płytki rowek szerokości 1 cm. Dno rowka wyścielone warstwą parafiny było równe i gładkie. Obydwa końce rowka wygięte były nieco ku dołowi, co umożliwiała swobodny odpływ płynu, gromadzącego się w rowku. Obok podstawki szklanej znajdowała się podstawka drewniana D, na której spoczywała łapka żaby, będąca w związku z nerwem kulszowym.

Porządek doświadczenia był następujący: po wycięciu kości krzyżowej, podwiązywałem nerw kulszowy w okolicy lędźwiowej nitką lnianą. Po ostrożnem wypreparowaniu nerwu układałem go w rowku szklanej podstawki, łapka zaś będąca z nim w związku spoczywała na obok umieszczonej podstawie drewnianej. Drażniłem nerw najwyżej kilkoma kroplami, i to, ażeby uniknąć skutków sumowania się podnieć, w odstępach czasu co 5—8 sek. Nerw pobudzany był stale w jednym i tem samym miejscu, w odległości 1—2 cm od jego nitką podwiązanego końca.

Przeprowadziwszy próbné doświadczenia, przekonałem się, że tym sposobem można pobudzić nerw, opuszczając nań krople z wysokości około 40 cm. Najmniejsza wysokość, przy jakiej otrzymałem skurcz, wynosiła 24 cm. O skuteczności podniety wnosilem ze skurczu mięśni podudzia lub palców, przyczem podkreślam, że brałem pod uwagę skurcz minimalny.

Na ten sposób drażnienia nie kładę nacisku, gdyż nie zawsze miałem pewność (posługując się jako kontrolą wzrokiem), czy kropla upadała na nerw, czy też obok nerwu, co, jak okazuje się z dalszych doświadczeń, nie jest bez znaczenia.

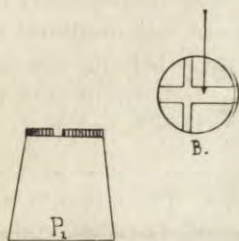
Pośredni sposób drażnienia.

W dalszych doświadczeniach drażniłem nerw w ten sposób, że pozwalałem kroplom upadać nie na nerw, lecz obok nerwu. W tym razie nerw pobudzany był drobnymi cząstkami płynu, powstałymi przy rozbiciu się kropli (rys. 2 i 3).

Wypreparowany nerw kulszowy układałem na górnej powierzchni podstawki szklanej P_2 , która podobnie jak podstawa P_1 miała kształt ściętego stożka, 7 cm wysokiego. Cztery kawałki parafiny, mające kształt wycinków niskiego walca, ograniczające na górnej powierzchni podstawki P_2 dwa rowki, węższy i szerszy, przecinające się ze sobą pod kątem prostym (B). W rowku węższym spoczywał nerw. Szerokość tego rowka wynosiła 2.5 mm. Nerw spoczywał w rowku zupełnie swobodnie. Dno jego pokryte parafiną było poziome, równe i gładkie. Dno rowka szerszego było poziome i równe. W tem zaś miejscu, na które spadały krople, nie było gładko oszlifowane, a to w tym celu, ażeby umożliwić wydatniejsze rozbijanie spadających kropeł. Końcowe ramiona obydwu rowków wygięte były nieco ku dołowi celem ułatwienia odpływu cieczy.

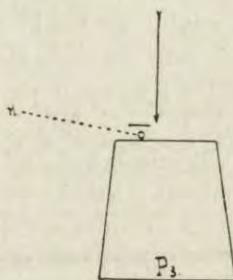
Po ostrożnem wypreparowaniu nerwu kulszowego układałem go w rowku węższym, obok zaś niego w odległości 3—5 mm na dno rowka szerszego upadały krople. Ażeby uchronić się przed zarzutem, że upada-

jąca kropla uderzała w nerw swoją boczną częścią, urządzałem doświadczenie w ten sposób, że kilka milimetrów ponad nerwem, leżącym na szklanej podstawie, umieszczałem czworokątną nakrywkę ebonitową (rys. 3). Nakrywka w żadnym miejscu nie dotykała nerwu, lecz chroniła go przed bezpośrednim urazem upadającej kropli. W tak urządzonej doświadczeniu miałem bezwzględną pewność, że nerw pobudzany był nie upadającą kroplą, lecz powstałymi przy rozbiciu się kropli cząstkami płynu Ringera. W tem doświadczeniu otrzymywałem skurecz przy wysokości 18—24 cm. Jeżeli po usunięciu nakrywki ebonitowej pozwalałem kroplom spadać bliżej nerwu, powstawał skurecz przy wysokości 10—14 cm. Niezbędnym warunkiem do powstania skurczu w powyższych sposobach drażnienia jest niezaleganie płynu w rowkach. Podobne różnice między bezpośrednim a pośrednim sposobem drażnienia otrzymałem również na podstawie szklanej nieposiadającej parafiny¹⁾.



Rys. 2. B — schemat górnej powierzchni podstawki P₂. Strzałka wskazuje miejsce upadania kropli.

Abb. 2. B das Schema der Oberfläche der Unterlage P₂. Die Stelle, wo der Tropfen herabfällt, wird durch den Pfeil angezeigt.



Rys. 3. Strzałka wskazuje kierunek upadania kropli, n — nerw.

Abb. 3. Die Richtung des herabfallenden Tropfens wird durch den Pfeil angezeigt; n der Nerv.

Z doświadczeń powyższych wynika: bezpośrednio pobudzić można nerw, opuszczając na niego krople płynu Ringera, wagi 0.1 g, z wysokości 40—24 cm, przy pośrednim sposobie drażnienia wystarczy wysokość 10—13 cm.

Jeżeliby się traktowało oddziaływanie nerwu kulszowego żaby na działanie podniety mechanicznej tylko z punktu widzenia działania siły urazu, zjawisko powyższe byłoby paradoksalnem.

W działaniu każdej podniety bierzemy pod uwagę: natężenie, czas, sposób działania podniety oraz rodzaj i stan tkanki, na którą działa podnieta. Natężenie podniety w drugim sposobie drażnienia jest bez porównania mniejsze. Nerw jest pobudzany

¹⁾ Parafina pozwalała mi nadawać górnej powierzchni podstawki dowolny kształt, gładką powierzchnię oraz zapobiegała rozpościeraniu się płynu na powierzchni podstawki.

tylko małemi cząstkami płynu, powstałemi przy rozbiciu się kropli, temi cząstkami, które uderzają w obok leżący nerw. Wszystkie inne cząstki, rozbiegające się we wszystkich możliwych kierunkach, w drażnieniu nerwu nie biorą udziału. Nie mniej ważne znaczenie posiada czas działania podniety: powoli przebiegający ucisk nerwu, nawet dość znacznego stopnia, skurczu nie wywołuje, powoduje tylko miejscową zmianę pobudzenia, ograniczającą się do tego miejsca nerwu, na które działa podnieta. Ucisk szybko przebiegający wywołuje pobudzenie, które rozprzestrzeniając się po nerwie z pewną prędkością, dochodzi do narządu końcowego i pobudza go do czynności. Czas działania w pośrednim sposobie drażnienia wchodziłby pod uwagę tylko wtedy, gdyby się miało pewność, że prędkość cząstek płynu powstałych przy rozbiciu się kropli jest większa, niż prędkość kropli w chwili jej upadku na przeszkodę. To jest jednak nie do pomyslenia. W pośrednim sposobie może mieć znaczenie pobudzenie nerwu kilkoma cząstkami płynu, które niejednocześnie, lecz w czasie ułamków sekundy po sobie następujących, uderzają w nerw i powodują sumowanie się skutków podniety. Tłumaczenie to wydaje mi się niewystarczającym. Zanim jednak będę się starał tłumaczyć fakt, że kropla upadająca obok nerwu działa skuteczniej, aniżeli kropla upadająca na nerw, uważam za rzecz konieczną przytoczyć pewne dane z elektrostatyki.

Wiadomo, że wewnątrz wszystkich materjalnych atomów i drobin zawarte są atomy elektryczności czyli elektrony. Dzisiaj stoimy na stanowisku, że atomy elektryczności są jedynemi częściami składowemi materjalnych atomów, że wszelka materja składa się z atomów elektryczności i panujących między niemi pól elektrycznych.

Założenie to ułatwia zrozumienie t. zw. „Reibungselektrizität”. [Pohl¹⁾, Hoffmann²⁾]. Przyczyną tej elektryczności jest powstanie pola elektrycznego na granicznych warstwach dwóch ściśle ze sobą stykających się rozmaitych ciał. Ścisłe zetknięcie się przychodzi do skutku przy pocieraniu się o siebie dwóch ciał stałych, przy zderzeniu się dwóch rozmaitych ciał [Richards³⁾, Tagger⁴⁾], lub też jeżeli np. ciało stałe zanurzymy do ciała płynnego. Jeżeli ściśle stykamy ze sobą dwa rozmaite

1) Pohl R. W. Einführung in die Elektrizitätslehre. 1927.

2) Hoffmann G. Handbuch der Experimentalphysik. 10 (321). 1930.

3) Richards. Cyt. według Tager'a.

4) Tagger J. Phys. Zeitschr. 28 (365). 1927.

ciała A i B, to drobinę ciała A zabierają drobinom ciała B elektrony. Pewna liczba powierzchniowych drobin A staje się ujemnymi jonami. Na powierzchni ciała B pozostaje pewna równa liczba dodatnich jonów. Linje pól elektrycznych, powstających między ciałami A i B, są bardzo krótkie, ich rozmiar równa się odstępowi drobin, a więc 10^{-8} cm. Jeżeli oddzielamy ciało A od B, to przychodzi do wydłużenia linii pól elektrycznych. Napięcie może dochodzić do wielu tysięcy woltów. Do wykazania powstania pola elektrycznego między dwoma stykającymi się ze sobą rozmaitemi ciałami, oraz do wykazania, że drobinę ciała A zabierają drobinom ciała B atomy elektryczności, wreszcie, że pewna liczba powierzchniowych drobin A staje się ujemnymi jonami, a na powierzchni ciała B powstaje pewna równa liczba dodatnich jonów, służy między innymi następujące doświadczenie¹⁾. Kulę parafinową (ciało A) osadzoną na bursztynowym drążku zanurzamy do wody (ciało B), znajdującej się w naczyniu szklanem, następnie wyciągamy ją z wody i wkładamy do klatki Farada'y'a, połączonej z dwunitkowym woltomierzem. Przyrząd wykazuje duże wychylenie. Kula parafinowa jest naładowana ujemnie. W wodzie natomiast pozostaje równa ilość dodatnich ładunków.

Przy stykaniu się gazów z płynami występuje również na powierzchni granicznej pole elektryczne. Jednak nie można było w gazach, mimo bardzo licznych doświadczeń, wykazać jonów gazowych. Całe pole elektryczne musi się mieścić w wodzie. Leonard²⁾ pierwszy odkrył, że przy stykaniu się gazów z płynami całe pole elektryczne ogranicza się do stykającej się z gazem powierzchniowej warstwy drobin płynu. Przez nagłe rozerwanie powierzchni płynu możemy pewną część ładunków, ograniczających powierzchniowe pole, od siebie oddzielić. Takie rozerwanie powierzchni płynu występuje przy rozbiciu się kropli upadającej na pewną przeszkodę.

Przy drażnieniu nerwu kroplami płynu Ringera³⁾ (sposób pośredni) ma się do czynienia z jednej strony z powstaniem pola elektrycznego w miejscu zetknięcia się płynu z podstawą, a z drugiej strony przychodzi, niewątpliwie, do powstania pola elektrycznego w miejscu zetknięcia się cząstek płynu z powierzchnią nerwu.

Możnaby myśleć, że główną przyczynę pobudzenia stanowią, naładowane ujemną elektrycznością, powstałe przy rozbiciu się kropli, cząstki płynu, które z pewną prędkością i w pewnym czasie uderzają w nerw, że pobudzenie zależy od ilości, wielkości

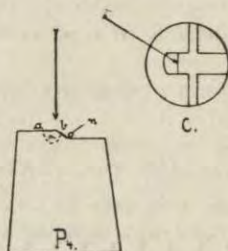
¹⁾ Cyt. według Pohl'a (l. c. s. 48).

²⁾ Leonard P. *Annalen d. Physik* 47 (463). 1915.

³⁾ Podobne różnice między bezpośrednim a pośrednim sposobem otrzymywałem również przy drażnieniu nerwu kroplami wody destylowanej.

i siły uderzenia rozbitych cząstek. To tłumaczenie okazuje się jednak nie uzasadnione. Wielkość, ilość i siła uderzenia cząstek płynu nie posiadają w tym przypadku zasadniczego znaczenia. Dowodzi tego następujące doświadczenie: Krople upadały na brzeg krawędzi szklanej (rys. 4), poniżej której w odległości 2—3 mm leżał nerw.

Na brzegu tym kropla, upadając z małej wysokości (10—7 cm), nie rozbiła się na drobne części lecz „przełamywała się” na dwie części. Jedna część kropli pozostawała na powierzchni a, druga część staczała się po powierzchni b w kierunku nerwu. Skurez powstawał już przy wysokości 7 cm. W tem doświadczeniu udało mi się zmniejszyć do minimum siłę podniety mechanicznej.



Rys. 4. C — schemat górnej powierzchni podstawki P_4 , strzałki wskazują kierunek (miejsce) upadania kropli, n nerw, $\alpha = 145^\circ$.

Abb. 4. C — das Schema der Oberfläche der Unterlage P_4 , Die Richtung des herabfallenden Tropfens wird durch die Pfeile angezeigt, n der Nerv, $\alpha = 145^\circ$.

Jeszcze raz podkreślam, że tłumaczenie powyżej opisanych zjawisk z punktu widzenia działania podniety mechanicznej nie wytrzymuje krytyki. Ma się tutaj do czynienia ze zjawiskami elektrycznymi. Na pytanie, czy w doświadczeniach powyższych nerw jest pobudzany tylko energją pola elektrycznego, powstającego w miejscu zetknięcia się płynu z podstawką, czy też ma tu znaczenie pole elektryczne, powstające w miejscu zetknięcia się płynu z nerwem, nie mogę dać, w tej chwili, pewnej odpowiedzi.

Streszczenie.

Autor drażnił nerw kulszowy żaby kroplami płynu Ringer'a, wagi około 0.1 g, które upadały na nerw z wysokości, dającej się dowolnie zmieniać, w dwojaki sposób: 1^o, ciężarem upa-

dającej kropli (sposób bezpośredni) i 2^o, cząstkami płynu, na które rozbija się kropla upadająca na twardą podstawę (sposób pośredni). Przy zastosowaniu pierwszego sposobu drażnienia występował skurcz minimalny mięśni przy wysokości 40—24 cm; przy zastosowaniu zaś drugiego sposobu przy wysokości 10—7 cm. Zasadnicze znaczenie w pobudzeniu nerwu, przy pośrednim sposobie drażnienia, przypisuje autor polu elektrycznemu, powstającemu w miejscu zetknięcia się płynu z podstawą szklaną. W następnych doświadczeniach autor będzie się starał wykazać, czy, a jeżeli tak, to w jakim stopniu wpływa na pobudliwość nerwu pole elektryczne powstające w miejscu zetknięcia się płynu z nerwem (tkanką nerwową).

Lwów, maj 1932.

[Zakład Fizyki Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Poznańskiego].

J. Konarski.

Pomiar długości fali promieni mitogenetycznych.

Longueur d'onde des rayons mitogénétiques.

Rękopis nadesłany w dniu 7.XII.1932 r.

Gurwitsch et son école, en mesurant la longueur d'onde des rayons mitogénétiques, ont trouvé la valeur de 1950 à 2400 Å, tandis que Reiter et Gabor constatent pour les mêmes rayons une longueur d'onde de 3400 Å environ. Dans le travail présent nous avons mesuré la longueur d'onde de la lumière artificielle qui exerce un effet mitogénétique sur la culture des levures (*Saccharomyces cerevisiae*). Nous nous sommes servis d'une source lumineuse à spectre continu, ce qui permet de varier graduellement la longueur d'onde dont on étudie l'effet. Si on se sert pour le même but d'une étincelle, il faut alors se limiter à quelques ondes déterminées. La fig. 1 représente l'appareil dont nous nous sommes servis pour effectuer le mesurage en question. Il est constitué d'un grand spectrographe à système optique de quartz et d'un tube à hydrogène de Lau (fourni par la Maison Leiss à Berlin), qui donne un spectre continu dans la région de l'ultra-violet. Dans la cassette du spectrographe, au lieu d'une plaque photographique, était placée une plaque de verre (fig. 2) sur la surface de laquelle ont été creusées deux concavités; celles-ci renfermaient la culture des levures, préparée d'après les indications de Gurwitsch. Une de ces cultures était exposée à l'action du spectre continu, provenant du tube à hydrogène tandis que l'autre, conservée dans l'obscurité, servait au contrôle.

La plaque mentionnée, après avoir été exposée à la lumière, était placée dans le thermostat à 25° C pour 105 min. Ensuite on prélevait une certaine quantité de chaque culture (employée

à l'expérience et celle de contrôle) dans leurs parties identiques, et on les étalait sur des lames (les frottis). Les points, d'où l'on prélevait les levures étaient marqués exactement à l'aide du spectre d'émission du fer et de l'aluminium.

Le principe du calcul était le suivant: dans la préparation provenant de la culture soumise à l'irradiation nous avons compté un certain nombre de cellules en enregistrant, parmi elles, le nombre de cellules bourgeonnantes. A chaque centaine de cellules observées correspond un certain nombre de cellules bourgeonnantes (N). De la même manière on a établi le nombre de cellules bourgeonnantes dans la culture de contrôle (n). La différence des nombres mentionnés ($N-n$) exprime la valeur de l'effet mitogénétique. Nous avons étudié de cette façon l'espace compris entre 4020 et 2004 Å. Comme le spectre du tube à hydrogène ne contient pas toutes les ondes mentionnées, nous étions obligés par conséquent, pour les ondes de 3000 à 4020 Å, de nous servir d'un spectre continu provenant d'une lampe de N e r n s t.

Nous avons réglé la quantité de l'énergie utilisée dans nos expériences en variant la durée de l'exposition des cultures, de 10 secondes à 10 minutes (la largeur de la fente du spectrographe était toujours la même et notamment 0.1 mm). Les résultats de la détermination de l'effet mitogénétique, pour les ondes de différentes longueurs sont représentés sur le tableau I, d'où il ressort d'une façon nette, que l'accroissement bien considérable du nombre de cellules bourgeonnantes se manifeste dans les régions de la culture, qui étaient exposées aux ondes de 2038 à 2465 Å du spectre continu.

Nous avons examiné avec une attention spéciale les frottis provenant de ces endroits des cultures, qui étaient soumis à l'action des ondes du spectre continu, échelonnées entre 3000 et 4020 Å, car justement cette région du spectre, d'après R e i t e r et G a b o r exerce un effet mitogénétique positif. Nous avons remarqué seulement des traces d'induction positive dans les limites comprises entre 3140 et 3390 Å. Il faut noter cependant, que cet effet se trouve dans les limites de l'erreur de l'observation.

Wkrótce po odkryciu przez Gurwitscha promieni mitogenetycznych ukazał się cały szereg prac, dotyczących pomiaru długości fali tych promieni¹⁾. Większość dotychczasowych pomiarów przemawia za tem, że długość fali promieni mitogenetycznych znajduje się w granicach między 2000—2500 Å; jedynie odmiennie rezultaty otrzymali Reiter i Gabor²⁾, którzy na podstawie swych doświadczeń stwierdzili, że długość fali wyżej wspomnianych promieni leży rzekomo w okolicy 3400 Å. Ponieważ jednak jest mało prawdopodobne, aby rezultaty, otrzymane przez Reitera i Gabora, były wyłącznie wynikiem błędu subiektywnego, dokonano ponownie pomiarów długości fali promieni mitogenetycznych w odmiennych nieco warunkach.

Poprzedni badacze stosowali zwykle jako źródło światła iskrę pomiędzy metalowemi elektrodami. W niniejszych doświadczeniach posługiwano się rurką wodorową Lau'a (firmy Leiss—Berlin), która daje widmo ciągłe w obrębie ultrafioletu. Dzięki temu można było zbadać w sposób ciągły cały obszar widmowy na przestrzeni 2000—4020 Å.

Podobnie jak w wielu poprzednich badaniach, nie mierzono bezpośrednio długości fali promieni mitogenetycznych, wypromieniowanych przez źródło biologiczne, lecz naświetlano detektor drożdżowy światłem, pochodzącem z rurki wodorowej, zakładając, że działanie jego jest identyczne z działaniem promieni mitogenetycznych.

Metoda badania.

Schemat aparatury, używanej do badania długości fali promieni mitogenetycznych w naszych doświadczeniach, wyobrażony jest na rys. 1.

Jako źródła światła używano rurki wodorowej Lau'a, która, jak wiadomo, daje widmo ciągłe w obrębie ultrafioletu.

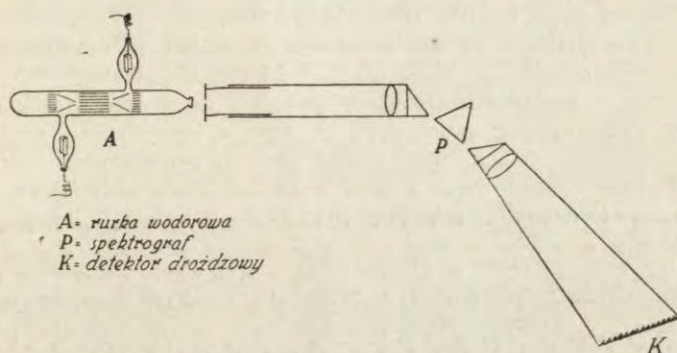
Zasilano ją prądem zmiennym z induktora Ruhmkorffa, połączonego z siecią miejską. Okienko kwarcowe rurki wodorowej, służące do wypuszczania promieni krótkofalowych, umieszczono przed szczeliną dwuprzmatowego spektrografu Steinheila, zaopatrzonego w obiektywy

1) Piśmiennictwo patrz: A. Gurwitsch. Die mitogenetische Strahlung. — Berlin, 1932, p. 376.

2) Reiter und Gabor. a) Zellteilung und Strahlung. Berlin, 1928. b) Die heutige Stand des Problems der Gurwitsch-Strahlen. Ber. über ges. Biologie. A. 18, 1931, p. 608.

o średnicy 4.5 cm, ogniskowej $F=87$, i o dyspersji 15 \AA na 1 mm w obrębie $460 \mu\mu$, oraz 10 \AA na 1 mm w obrębie $350 \mu\mu$.

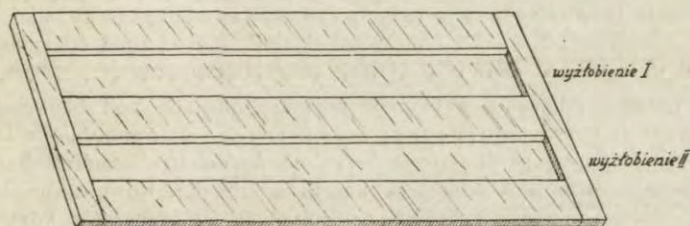
W kasetce spektrograficznej K umieszczano zamiast kliszy fotograficznej płytkę szklaną, na powierzchni której znajdowała się odpowiednia kultura drożdżowa i na nią właśnie bezpośrednio padało widmo ciągłe.



Rys. 1. Fig. 1.

Używano zwykłych drożdży piwnych (*Saccharomyces cerevisiae*), hodowanych na pożywce agarowej z domieszką wyciągu piwnego podług przepisu Gurwitscha³⁾.

Hodowla drożdżowa znajdowała się, jak wyżej wspomniano, na płycie szklanej (rys. 2) o powierzchni $6.5 \times 18 \text{ cm}$ i o grubości 2.5 mm, na



Rys. 2. Fig. 2.

której wryto dwa zagłębienia w postaci pasków, ciągnących się wzdłuż płyty równolegle do siebie. W te zagłębienia nalewano płynnej pożywki agarowej, a następnie po skrzepnięciu jej zasiewano drożdże i wstawiano wszystko razem na przeciąg 12 godzin do cieplarki utrzymującej stale temperaturę 25°C . Aby zabezpieczyć kulturę drożdżową przed wysychaniem, wewnątrz cieplarki umieszczano zbiorniki wody destylowanej o du-

³⁾ Abderhalden, Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden, V, T. 2, H. 13. (1929).

zej powierzchni parującej. Po upływie tego czasu (12 godzin), całą płytkę umieszczano w kasetce spektrografu, orientując ją w ten sposób, by pas widma ciągłego nakładał się dokładnie na hodowlę drożdżową, leżącą w zagłębieniu górnym (I — rys. 2), natomiast w zagłębieniu dolnym (II — rys. 2) znajdowała się identyczna kultura drożdżowa, służąca jako materiał kontrolny. Obecność i położenie widma sprawdzano przed każdorazowym naświetleniem przy pomocy kliszy fotograficznej.

Po naświetleniu, kulturę drożdżową (nazwijmy ją detektorem), ponownie umieszczano w wspomnianej cieplarni na przeciąg 105 minut, pozwalając w ten sposób drożdżom spokojnie pączkować. Następnie pobierano wyjałowionem uszkiem platynowym z identycznych miejsc hodowli naświetlanej i kontrolnej drobne ilości komórek drożdżowych i robiono mazane preparaty. Miejsca, skąd pobierano materiał na preparaty, były dokładnie wycechowane przy pomocy widma linowego żelaza oraz glinu.

Jak doświadczenie wykazało, woda destylowana, służąca do rozprzeczania komórek po powierzchni szkła podstawowego, okazała się w użyciu niepraktyczną, gdyż w miarę wysychania preparatu, poszczególne komórki zbijają się w duże konglomeraty, uniemożliwiając przez to ich liczenie. Wobec tego zastąpiono ją rozcieńczoną lewulozą. Ta drobna inowacja okazała się nadzwyczaj dogodną, albowiem lewuloza, posiadając większą lepkość w porównaniu z wodą, nie dawała zjawiska zbijania się komórek w grupy i przy dobrym rozmazaniu preparatu otrzymywało się poszczególne komórki leżące pojedynczo w pobliżu siebie. Dla lepszego uwidocznienia komórek, barwiono preparaty błękitem metylenowym i następnie po opłókanii i wysuszeniu oglądano je pod mikroskopem zaopatrzonem w obiektyw immersyjny. Robiono dwa preparaty: jeden pobrany z hodowli naświetlanej, a drugi — z możliwie identycznego miejsca hodowli kontrolnej. Na skali umieszczonej obok można było odczytać, jaka długość fali odpowiada miejscu, skąd pobrano preparaty.

Zasada obliczania była następująca: liczono pod mikroskopem w preparacie naświetlanym pewną ilość komórek i notowano, ile w tej liczbie było komórek pączkujących; stąd na każde 100 komórek liczonych przypadła pewna ilość komórek pączkujących (N). Również w ten sam sposób obliczano ilość komórek pączkujących w preparacie kontrolnym (n). Miara efektu mitogenetycznego jest różnica ($N - n$). W ten sposób zbadano całą przestrzeń od 4020 do 2004 Å. Ponieważ widmo rurki wodorowej nie obejmowało całkowicie tego odcinka, przeto na przestrzeni 3000—4020 Å zastąpiono je widmem ciągłym, pochodzącym z lampy Nernsta.

Z prac innych autorów wiadomo, że istnieje pewna optymalna intensywność bodźca drażniącego, przy której efekt mitogenetyczny uwydatnia się najlepiej i po przekroczeniu tej granicy otrzymuje się zjawisko wręcz przeciwne, t. j. działanie hamujące. W doświadczeniach naszych posługiwano się czasem naświetla-

nia, począwszy od 10 sekund do 10 minut. (Szerokość szczeliny spektrografu była zawsze jednakowa = 0.1 mm). Wyniki są zestawione w tab. I.

Tabela I.

λ w Å	Czas naświetlania.					Uwagi.
	10 sek.	20 sek.	1 min.	5 min.	10 min.	
4020	- 0.8	+ 0.22	+ 0.37	- 0.9	+ 1.2	} Ujemny.
3700	- 1.6	+ 0.62	+ 0.73	+ 1.0	- 1.4	
3390	+ 2.1	+ 2.26	- 0.56	- 1.7	- 1.3	} Słabo dodatni
3140	+ 2.9	+ 3.54	- 0.84	- 0.3	+ 1.9	
2950	+ 1.2	+ 1.61	+ 1.32	+ 0.9	- 2.8	} Ujemny.
2850	-	- 1.42	+ 0.82	- 0.5	+ 2.1	
2747	-	+ 1.19	- 1.2	- 1.4	- 0.9	} Ujemny.
2591	-	+ 2.02	+ 1.7	+ 1.1	+ 0.1	
2465	-	+ 11.51	+ 5.4	- 0.9	+ 1.7	} Wybitnie dodatni efekt mitogenetyczny.
2380	-	+ 6.77	+ 8.1	+ 0.7	+ 1.4	
2300	-	+ 17.62	+ 8.2	+ 1.4	+ 0.8	
2220	-	+ 14.38	+ 9.6	+ 2.9	+ 0.5	
2180	-	+ 10.22	+ 10.0	+ 2.8	+ 0.2	
2144	-	+ 6.4	+ 19.1	+ 5.6	- 3.4	
2089	-	+ 2.1	+ 16.2	+ 7.1	+ 3.9	} Ujemny.
2038	-	+ 2.6	+ 9.0	+ 7.0	+ 7.4	
2004	-	- 0.2	- 2.4	+ 0.9	+ 0.3	

Okazuje się, że najwybitniejszy efekt mitogenetyczny otrzymywany był po 20 sekundowym czasie naświetlania, nieco gorszy po 1 minutowym, a prawie żadnego efektu nie było po 10 sekundowym, 5 i 10 minutowym czasie naświetlania, z wyjątkiem odcinka leżącego w pobliżu 2000 Å, gdzie intensywność energii padającej była znacznie słabsza (wykazują to zdjęcia spektrograficzne) i z tego powodu działanie depresyjne ujawniło się w mniejszym stopniu.

Dyskusja pomiarów.

Jak wynika z powyższej tabeli, wybitny przyrost komórek pączkujących pod wpływem naświetlania widmem ciąglem wystąpił na przestrzeni między 2038—2465 Å, co naogół zgadza się z wynikami większości prac, poświęconych temu zagadnieniu. Specjalną uwagę zwrócono na preparaty pobrane z miejsc, na które padało widmo ciągle na przestrzeni 3000—4000 Å, bowiem Reiter i Gabor w tej właśnie części widma otrzymali efekt indukcyjny. Okazało się, że wpływ naświetlania tam jest bardzo nieznaczny — jak gdyby tylko drobne ślady indukcji dodatniej zauważa się w granicach między 3140—3390 Å. Należy jednak

podkreślić, iż efekt ten jest tak słabo dodatni, że leży jeszcze niemal w granicach błędu doświadczenia. Tem nie mniej, fakt, że na odcinku 3140—3390 Å natrafiło się bodaj na drobne ślady efektu mitogenetycznego, na tej właśnie przestrzeni, gdzie Reiter i Gabor otrzymali wyraźnie dodatni wynik, pozwala przypuszczać, że odcinek ten może być również mitogenetycznie czynny, lecz w znacznie słabszym stopniu, niż w głębszej części ultrafioletu (2038—2465 Å). Usiłowania nasze, zmierzające w kierunku wydobycia w tem miejscu lepszego efektu mitogenetycznego, nie dały żadnego rezultatu. Ponieważ jednak Reiter i Gabor w swojej metodzie liczenia posługują się pojęciem t. zw. „reifen Kerne” (dojrzałe jądra), przeto jest rzeczą możliwą, że odmienne kryterjum dało też inne wyniki. Bowiem, podczas gdy Reiter i Gabor biorą pod uwagę subtelne zmiany komórkowe, występujące przed podziałem samej komórki, to my uwzględnialiśmy podział komórki już dokonany, względnie będący in tractu i z tego powodu tam, gdzie wspomniani autorowie otrzymywali efekt wybitnie dodatni, my stwierdziliśmy efekt ledwie dostrzegalny.

W n i o s k i.

Zestawiając wyniki niniejszej pracy, możemy powiedzieć:

1°. Zbadano wpływ widma ciągłego, pochodzącego z rurki wodorowej La u'a (respective z lampy Nernst'a) na agarową hodowlę drożdży.

2°. Wybitnie dodatni efekt mitogenetyczny pod wpływem naświetlania detektora drożdżowego widmem ciągłym wystąpił na przestrzeni między 2038—2465 Å.

3°. W obszarze 3140—3390 Å zauważa się ledwie ślady indukcji dodatniej.

4°. Stwierdzono, że rozcieńczona lewuloza bardziej nadaje się do rozprowadzania komórek drożdżowych po powierzchni szkiełka, niż woda, albowiem nie powoduje zbijania się komórek w grupy w miarę wysychania preparatu.

Panom Profesorom S. Kalandykowi i T. Kurkiewiczowi składam podziękowanie za zainteresowanie się niniejszą pracą. Uprzejmie dziękuję również p. Profesorowi J. Suszko za wypożyczenie spektrografu z Zakładu Chemii Organicznej.

[Instytut Fizjologii Uniwersytetu Jana Kazimierza we Lwowie].

W. Z. Tychowski.

O pobudliwości kory mózdzku ¹⁾.

Sur l'excitabilité de l'écorce du cervelet.

Rękopis nadesłany w dniu 4.VII.1932 r.

L'écorce du cervelet contient, d'après l'opinion d'Edinger sur sa structure, en tant qu'organe récepteur, des terminaisons nerveuses du type récepteur. La question de son excitabilité, envisagée de ce point de vue, se présente donc différemment de celle de l'excitabilité de l'écorce cérébrale. L'écorce du cervelet contient en effet des terminaisons nerveuses, l'écorce du cerveau par contre est caractérisée par la présence de centres nerveux.

En se basant sur cette supposition, l'auteur vérifia expérimentalement sur des chiens, le temps qui s'écoule depuis le moment de l'excitation d'un point de l'écorce du cervelet, jusqu'à l'apparition du courant d'action dans le muscle correspondant; on compara ce temps au temps qui s'écoule depuis l'excitation du noyau du cervelet, jusqu'à l'apparition du courant dans le même muscle. On trouva une différence sensible: le temps qu'on obtenait en excitant l'écorce, était plus long que celui qu'on obtenait en excitant le noyau.

Conclusion: l'état d'activité qu'on produit dans l'écorce, passe avant d'arriver au muscle par un certain nombre de synapses, ce que nécessite un temps de passage plus long que le temps nécessaire pour le passage du noyau au muscle.

¹⁾ Rzecz przedstawiona na posiedzeniu Polskiej Akademji Umiejętności w Krakowie, dnia 10 czerwca 1932 r.

Stosowanie różnorakich podniet na powierzchnię odsłoniętego mózdzku celem stwierdzenia bezpośredniej pobudliwości jego kory dawało w ręku różnych autorów niejednolite wyniki. Nie brak badaczy, którzy zaprzeczają wogóle, jakoby kora mózdzku była pobudliwa, przynajmniej na podstawie wyników, uzyskanych zapomocą tych rodzajów podniet, które w swoich doświadczeniach stosowali; są zaś tacy, którzy nietylko uważają ją za pobudliwą, lecz nawet rozważają bliżej zagadnienie lokalizacji.

W szczególności Beck i Bikeles ('12, '14) znaleźli, że bezskutecznem jest stosowanie na korę mózdzku roztworu strychniny, która jednak jest skutecznym bodźcem dla kory mózgu; Horsley i Clarke ('08), także sam Clarke ('26) w późniejszej swej pracy, uważa korę mózdzku za niepobudliwą w tem rozumieniu, że drażnienie jej nie powoduje w prostej drodze („direct”) pobudzenia żadnych grup mięśniowych, przyczem znajduje różnice między charakterem ruchów mięśni, wywołanych bezpośrednio drażnieniem ich ośrodków ruchowych, a ruchami uzyskanymi drażnieniem kory mózdzku. Te ostatnie są według niego powolniejsze i przychodzą do skutku jako efekt impulsów, przeniesionych wtórnie z kory na niższe ośrodki ruchowe. Druga grupa autorów, jak Rothmann ('10), uważa bodźce elektryczne za zdolne do pobudzenia kory; należy do nich także Hoshino ('21), który starał się dowieść, że owo drażnienie podnietami elektrycznymi nie musi pociągać za sobą — jak to niektórzy zarzucają — równoczesnego pobudzenia głęboko położonych jąder i innych ośrodków nerwowych sąsiedztwa.

Wyniki prac Rothmanna, dowodzące, że przez drażnienie podnietami elektrycznymi można uzyskać z określonych miejsc kory skurcze poszczególnych grup mięśniowych, rzucają pewne światło na zagadnienie lokalizacji, związane ściśle z kwestją pobudliwości. W odniesieniu do kory mózdzku należałoby jednak kwestję lokalizacji postawić nieco odmiennie, aniżeli w odniesieniu do kory mózgu. W korze mózgu istnieje bowiem zgrupowanie topograficzne obok siebie różnych ośrodków nerwowych, mogących wywiązać stan czynny w różnych organach obwodowych, co umożliwione jest bezpośrednią lub pośrednią łącznością czynnościową z obwodem; z tego punktu widzenia rozpatrywana lokalizacja, rzecz jasna, nie może mieć miejsca w mózdzku. Nie mamy bowiem w korze mózdzku ośrodków nerwowych o typie anatomicznie i czynnościowo równych ośrodkom mózgowym. Słusznie też Edinger ('12) uznał korę mózdkową za miejsce, do którego dochodzą bodźce z obwodu, wskazując jednak na to, że z kory prowadzą włókna do jąder mózdzku i że drażnienie pojedynczych obszarów kory może powodować przejście rozwiniętego tutaj — niejako w receptorze — stanu czynnego do jąder, stąd zaś dalej do ośrodków ruchowych. Możliwość zaś uzyskania tą drogą ruchów pewnych określonych grup mięśniowych, stanowiłaby podstawę do przyjęcia lokalizacji w pojęciu jednak odpowiednio do mózdzku zmodyfikowanem.

W pracy niniejszej starałem się zbadać słuszność wyżej przytoczonego zapatrywania Edingera; usiłowałem mianowicie w drodze doświadczalnej ustalić, czy zachodzi różnica w cza-

sie, upływającym od zadrażnienia kory do chwili wystąpienia zmiany czynnościowej mięśnia pobudzonego tą podniętą, w porównaniu z czasem, potrzebnym do wystąpienia analogicznej zmiany, wywołanej drażnieniem jądra mózdzku. Gdyby bowiem efekt drażnienia kory był powodowany wyłącznie gałązkami prądu, wnikającymi w głąb półkuli mózdzku aż do jej jąder, wówczas nie należałoby oczekiwać żadnej różnicy w czasie; gdyby jednakowoż, jak mniema E d i n g e r, w korze znajdowały się zakończenia nerwowe o charakterze receptorów, to już z natury rzeczy stan czynny w nich wywiązany miałby na swej drodze do jąder mózdzkowych jedną co najmniej synapsę. Obecność synaps zaś przedłuża bardzo znacznie czas przejścia stanu czynnego w drodze przezeń przebieganej, jak np. występuje to bardzo dobitnie w łuku odruchowym, niemniej i w korze mózgowej. W przypadku zatem drażnienia kory mózdzku winnaby wystąpić różnica w czasie przebiegu wyżej przytoczonych zmian.

Opierając się na tych rozważaniach, przeprowadziłem badania w tym kierunku na psach. Celem ich było zatem wykazanie, czy istnieje różnica w czasie, upływającym między chwilą zadrażnienia w pierwszym przypadku kory mózdzku, w drugim zaś jądra mózdzkowego, a chwilą wystąpienia zmian czynnościowych mięśnia, pobudzonego skutecznie temi podniętami. Początek stanu czynnego określano chwilą wzbudzenia się w mięśniu prądu czynnościowego. Różnicy takiej — o ile wogóle istnieje — należało oczekiwać z natury rzeczy bardzo niewielkiej. Z tego też powodu nie posługiwano się do wykazania skurczu mięśnia miografem, lecz badano jego prąd czynnościowy, wskaźnik zatem możliwie najdokładniejszy. Pozatem do wykazania prądu czynnościowego i jego zapisywania zastosowano galvanometr strunowy E i n t h o v e n a w połączeniu ze spadkownicą C r e m e r a, w której szybkość przesuwania się kliszy jest stosunkowo duża.

Całość urządzenia przedstawiała się jak następuje: w chwili uruchomienia spadkownicy, opadająca wraz z kliszą kasetą uruchamiała automatyczny kontakt do niej przytwierdzony. Kontakt ten zamykał względnie otwierał koło łącznikowe, w które włączone było urządzenie do drażnienia, pozatem także sygnał elektryczny. Przerwanie tego obwodu powodowało powstanie prądu indukcyjnego służącego do drażnienia mózdzku, z równoczesnym zaznaczeniem tego momentu przez ruch sygnału elektrycznego, umieszczonego przed szparą rejestracyjną spadkownicy. Przed szparą znajdowały się widelki strojowe, drgające 100 razy w sekundzie, pobu-

dzane elektrycznie. Prąd czynnościowy powstający wskutek zadrażnienia odprowadzono od mięśnia do nitki galwanometru Einthovena, tak że na zdjęciu zaznaczyła się obok siebie: ruch sygnału, oznaczający chwilę zadrażnienia, sinusoida widełek strojowych, wreszcie wychylenia nitki galwanometru. Ustawienie wspomnianego kontaktu automatycznego zostało dobrane w takiej wysokości, by płyta fotograficzna znalazła się przed szparą rejestracyjną w chwili ruchu sygnału i nitki galwanometru. Szybkość przesuwania się kliszy, wynosząca około 94 do 100 cm/sek, a więc dość znaczną, dobrano w tej wielkości ze względu na bardzo małe różnice w czasie, w jakim przebiegały względem siebie zapisywane zmiany. Do drażnienia jąder mózdzku użyto specjalnie sporządzonych elektrod; przedstawiały się one jako igły pokryte na całej długości masą izolacyjną (tro-litem), posiadały grubość całkowitą 0.8 mm, odsłonięte zaś ostre ich końce wystawały z płaszczki masy izolacyjnej długością około 1 mm. Rozstęp igieł, przebiegających poza miejscem ich osadzenia w trzymadle na całej przestrzeni równoległe, wynosił 2 do 2.5 mm. Wklówiając je w głąb mózdzku, drażniono tkankę prądem, przebiegającym między pozbawionymi izolacji ich końcami. Do drażnienia kory używano zwykłych elektrod ręcznych, zaopatrzonych w delikatne sprężynki i osadzone na nich platynowe łyżeczki; takie umocowanie łyżeczek, dotykających przy drażnieniu kory, pozwalało na bardzo delikatne dotykanie kory i uniemożliwiało silniejszy a niepożądany ucisk.

Przebieg doświadczeń przedstawiał się w sposób następujący: właściwe badanie musiał poprzedzić zabieg operacyjny, który miał na celu udostępnienie mózdzku dla drażnienia oraz odkrycie pewnych z góry oznaczonych mięśni celem odprowadzenia z nich prądu czynnościowego. W czasie operacji zwierzę uśpione było eterem; z początku podawano eter przez wdychanie drogą nozdrzy aż do zupełnego uśpienia, następnie otwierano tchawicę, zakładano rurkę tracheotomijną i łączono ją krótkim przewodem gumowym z flaszka Woolfa, wypełnioną częściowo eterem. Przewód ten opatrzono zaworami, wymagającymi bardzo niewielkich różnic ciśnienia dla ich uruchomienia. Jeden z tych zaworów odprowadzał powietrze wydechowe wprost nazewnątrz, drugi — czynny przy wdechu — wpuszczał odpowiednio dostosowaną mieszaninę powietrza z eterem dla podtrzymania uśpienia w ciągu dalszej operacji; zaś w czasie właściwego badania uwalniano psa z uśpienia, usuwając cały ten aparat i pozwalając oddychać wprost przez rurkę tracheotomijną.

W głębokim uśpieniu odsłaniano wymaganą dla doświadczenia część półkuli mózdzku, w niektórych przypadkach obie półkule wraz z ro-bakiem; w dalszym ciągu operacji odsłaniano na niewielkiej przestrzeni mięśnie kończyny przedniej po stronie adduktorów, niekiedy mięśnie barku lub wreszcie mięsień okrężny oka. Po ukończeniu zabiegu operacyjnego przystępowano do właściwego doświadczenia. Zaprzestawano przedewszystkiem podawania eteru, aż oddech rogówkowy wystąpił wyraźnie, następnie drażniono korę mózdzku szeregiem podniet prądu indukcyjnego, poczynając od bardzo słabych i stopniowo je nasilając, aż do uzyskania ruchów w obserwowanej kończynie z częściowo odsłoniętym umięśnieniem, prze-

chodząc oczywiście kolejno różne okolice odpowiedniego platu kory. Po ustaleniu miejsca na korze, z którego powiodło się uzyskać ruchy w danych mięśniach, wprowadzano do jednego z tych mięśni elektrody, odprowadzające prąd do galvanometru, i po połączeniu przyrządu saneczkowego Du Bois Reymonda do drażnienia pojedynczymi podnietami, uruchamiano całą aparaturę do drażnienia i zapisywania.

Jako przykład przytoczę jeden ze szczegółowych protokółów doświadczenia:

Prot. L. 9. — Pies, wagi 8300 g, ♂.

- 11 h. 50': Głębokie uspienie eterem. Tracheotomia, dalsza narozkoza przez flaszkę Woolfa. Cięcie skórne długości około 6 cm, od końca *Crista sagittalis* w kierunku ku *Tuberculum nuchale*. Osłonięto prawą półkulę mózdzku i robaka. Krwotok nieznaczny. Nacięto skórę na kończynie przedniej prawej w okolicy adduktorów.
- 12 h. 15': Drażnienie *Lobulus ansiformis* Bolka Crus 1 (*Lobulus quadrangularis* Rothmann) po stronie prawej kolejno w różnych miejscach, prądem indukcyjnym (aż do zbliżenia cewek na odległość 4 cm) przy załączonym przerywaczu Wagnera — bez widocznego rezultatu.
- 12 h. 25': Ponowna próba drażnienia tej samej okolicy daje wyraźny ruch przedniej kończyny: addukcję i fleksję (odległość cewek 8 cm). Włączono elektrody do mięśnia. Drażnienie prądem indukcyjnym wywołuje widoczne na tymczasowo ustawionym ekranie wychylenie nitki galvanometru. Przełączono aparat saneczkowy dla drażnienia pojedynczymi podnietami, puszczono w ruch widełki strojowe, ustawiono odpowiednio klucze i uruchomiono spadkownicę.
- 12 h. 32': Podczas spadania kasety z kliszą widoczna reakcja ruchowa w kończynie prawej. Z kolei zmieniono elektrody łyżeczkowe na ostre, wkłóto je ściśle w miejscu poprzedniego drażnienia na głębokość około 8 mm do 10 mm, kierując je nieco ku stronie medialnej. Podczas wkłówania żadnej widocznej reakcji w mięśniach kończyny prawej przedniej, ani też innych okolic ciała nie zauważono. Zdrażnienie próbne (bez fotografowania) pojedynczą podnietą daje wybitny ruch kończyny o charakterze jak wyżej, przy czym jednak widoczny jest także skurcz mięśni barku.
- 12 h. 40': Zrobiono zdjęcie przez uruchomienie spadkownicy. — następnie psa zabito, podając mu do wdechania eter w dużej ilości.

Doświadczeń tego typu wykonano ogółem 15, z liczby tej jednak jedynie 6 wyników drażnienia dodatnich, tak kory jak i jąder, o odpowiedniej lokalizacji udało się zapisać w postaci prądów czynnościowych mięśni. Na rys. 1 (tablica II) widoczne są dwa zdjęcia, w których *A* przedstawia prąd czynnościowy mięśnia po zadrażnieniu jądra, *B* takiż prąd po pobudzeniu kory. (Zamiast oryginalnego zdjęcia sporządzono bardzo dokładną kopję *B*). Zaznacza się, jak widać, wybitna różnica między chwilą zadrażnienia (wychylenie sygnału *S*), a wystąpieniem prądu czynnościowego (*P* — wychylenie nitki galwanometru). Czas ten nie jest jednak w obu przypadkach równy: w pierwszym, przy drażnieniu jądra, wynosi — jak widać — 0.0028 sek., w drugim, przy drażnieniu kory, 0.0125 sek. (odczyt wedle sinusoidy widełek strojowych, drgających 100 razy w sekundzie). Różnica wynosi zatem 0.0097 sek.

W innym doświadczeniu pokuszono się o zdjęcie efektu obydwu podrażnień, kory i jądra, na jednej i tej samej kliszy. Fotografję taką przedstawia rys. 2. Czas od pobudzenia do wystąpienia prądu czynnościowego wynosi dla kory 0.042 sek., dla jądra 0.0125, zatem różnica 0.0295 sek. Wynik ten jest — o ile chodzi o rozpiętość między pobudzeniem a skutkiem, niemniej także o różnicę między korą a jądrem — najwyrazistszym z pozostałych wszystkich uzyskanych w całej serji doświadczeń. Na innych udanych zdjęciach różnica nie zaznaczała się tak wybitnie. Pomiar wykazały różnice średnie od około 0.005 do 0.009 sek.

Z przytoczonych przykładów widać, że zarysowuje się wyraźna różnica w czasie, potrzebnym dla wystąpienia prądu czynnościowego w mięśniu, między pobudzeniem kory a jądra. Jeżeli przyjąć, co zresztą stwierdza mikroskopowa budowa anatomiczna mózdzku, że między korą a jądrem istnieją połączenia neuronowe, to podnieta, stosowana na korę, ma drogę do mięśnia o tyle właśnie dłuższą. Opóźnienie nie jest jednak wynikiem owego przedłużenia drogi, lecz spowodowane jest większą ilością synaps na tej drodze występujących, podobnie jak w łuku odruchowym lub nawet w korze mózgu.

Tłumacząc wyniki pracy niniejszej, należałoby zatem przyjąć, że bezpośrednia pobudliwość kory mózdzku, w rozumieniu *Edingera*, dla bodźców elektrycznych istnieje: że kora zawiera więc zakończenia nerwowe, które zdolne są odpowiedzieć stanem

czynnym na stosowany na nią sztuczny bodziec elektryczny. W zakończeniach tych powstający stan czynny przenosi się wzdłuż włókien do jąder i najprawdopodobniej już na tej drodze napotyka na synapsy, powodujące opóźnienie w jego przejściu; doszedłszy zaś do jąder przechodzi przez dalsze synapsy, by wreszcie po znanych szlakach dojść do aparatów obwodowych.

P i ś m i e n n i c t w o .

Beck u. Bikeles. 1912. Zentrbl. f. Physiol. (225), oraz 1914, Dtto (28). Clarke. 1926. Brain, 49 (557). Edinger. 1912. Zentrbl. f. Physiol. 26. (618). Horsley a. Clarke. 1908. Brain. 31 (45). Hoshino. 1921. Acta otolaryngol. Suppl. 2. Rothmann. 1910. Neurol. Zentrbl. 29 (1084).

BIBLIOGRAPHIA POLONICA.¹⁾

Ze względu na obecne trudności w otrzymywaniu literatury naukowej, zwłaszcza zagranicznej, uprzejmie prosimy wszystkich autorów dla ułatwienia prowadzenia bibliografii o nadsyłanie prac, względnie tytułów (dane wg. niniejszej bibliografii) do redakcji „Acta Biol. Exp.” Śniadeckich 8, Warszawa.

- Alexandrowicz J. 1931. — Quelques expériences sur le fonctionnement du système nerveux du coeur des Crustacés Isopodes. C. R. Soc. de Biol. 108 (1270—1272).
- Andrzejewski H. 1932. — Effect of addition of salts on the isoelectric point of proteins. III. The Biochem. Journ. 26 (1397—1405).
- Apfelbaum E. 1932. — L'acidose expérimentale et la tolérance des hydrates de carbone. Bull. Intern. Acad. Polon. Cracovie. Classe de Médecine. 4—8 (229—238).
- Bartuszek S. 1932. — Untersuchungen über die Bindung der Biokolloide. X. Biochem. Zeitschr. 253 (279—287).
- Bassalik K. 1931. — O pobieraniu anjonów NO_3 i katjonów NH_4 przez kukurydzę w doświadczeniach krótko- i długotrwałych. [Absorption de NO_3 et NH_4 par le maïs (Zea Mays) au cours des expériences de courte et de longue durée]. Sprawozdania z posiedzeń T. N. W. w. IV. 24 (254—256).
- Bassalik K. 1931. — Wpływ mechanicznego układu podłoża na wzrost roślin. (L'influence de la structure mécanique du substratum (du sol) sur la croissance des plantes). Acta Soc. Botan. Polon. 7. (631—650).
- Bassalik K. 1932. — Bilans azotowy w akwarjach. (Le bilan d'azote dans les aquariums). Acta Soc. Botan. Polon. 9 (365—376).
- Bassalik K. et J. Neugebauer. 1930. — Wpływ różnych czynników na działanie *Azotobacter chroococcum* Beij. (Influence des différents facteurs sur l'action de l'*Azotobacter chroococcum* Beij.). Sprawozdania z posiedzeń T. N. W. w. IV. 23 (108—109).
- Becker W. 1930. — Wpływ barwików, stosowanych za życia, na charakter kinezy somatycznej. II. (Influence des colorants vitaux sur le caractère de la cinèse somatique. II.). Acta Soc. Botan. Polon. 7 (275—294).
- Becker W. 1932. — Ueber die Vitalfärbung der Zellplatte. Protoplasma. 15 (478—481).
- Białaszewicz K. 1930. — Badania nad zjawiskami regulowania składu mineralnego cieczy ciała. I. Doświadczenia nad krabem *Maja*

¹⁾ Opracowała S. Dembowska.

- squinado* L. (Recherches sur la régulation de la composition minérale dans les liquides organiques. I. Expériences exécutées sur le Crabe, *Maja squinado* L.). Acta Biologiae Experimentalis. 5 (57—86).
- Białasiewicz K. 1932. — Sur la régulation de la composition minérale de l'hémolymphe chez le Crabe. Arch. Intern. de Physiol. 35 (98—124).
- Blacher L. 1932. — Recherches sur les méthodes d'exploration et sur la morphologie des thrombocytes, ainsi que sur leur importance clinique, en tant que système autonome. Bull. Intern. Acad. Polon. Cracovie. Classe de Médecine. 4—8 (353—358).
- Bogucki M. 1930. — O rzekomo hamującym wpływie cieczy celomatycznej jeżowców na powstawanie błony zapłodnienia i na brózdowanie. (A propos de la prétendue action inhibitrice du liquide coelomique d'Oursin sur la membranogénèse et la segmentation). Acta Biologiae Experimentalis. 5 (47—56).
- Bogucki M. 1930. — A propos de la prétendue action inhibitrice du liquide coelomique sur la membranogénèse et sur la segmentation des oeufs d'Oursin. Protoplasma. 11 (432—439).
- Bogucki M. 1932. — Recherches sur la régulation osmotique chez l'Isopode marin, *Mesidotea entomon* L. Arch. Intern. de Physiol. 35 (197—213).
- Bohdanowiczówna Z. i A. Ławrynowicz. 1932. — O wpływie dysgenetycznym moczu na pałeczkę durową. (L'action disgénétique de l'urine sur le bacille typhique). Medycyna Doświadczalna i Społeczna. 15 (343—357).
- Brokman H. et H. Hirszfild. 1932. — La réaction tuberculinique physiologique. C. R. Soc. de Biol. 111 (1033—1035).
- Carnot P. i E. Libert. 1931. — Przyczynek do badań nad wpływem histaminy na wydzielanie soku żołądkowego i jej zastosowań klinicznych. (Contribution à l'étude de l'action de l'histamine sur la secretion gastrique et de ses applications cliniques). Kosmos. 56 (265—283).
- Chrempińska H. 1931. — Structure and enzyme reactions. X. Action of salts on the systems: amylase — starch — proteins. The Biochem. Journ. 25 (1555—1564).
- Chrząszcz T. 1931. — Eine neue Methode zur Bestimmung des Stärkeverflüssigungsvermögens. Biochem. Zeitschr. 242 (130—136).
- Chrząszcz T. und J. Janicki. 1932. — Das Stärkeverflüssigungsvermögen der Amylase und seine Bestimmungsmethoden. Biochem. Zeitschr. 256 (252—291).
- Chrząszcz T. und D. Tiukow. 1930. — Biochemische Umbildungen der Essigsäure durch Schimmelpilze und über den Chemismus der Citronensäurebildung. Biochem. Zeitschr. 229 (343—357).
- Chrząszcz T. und D. Tiukow. 1931. — Die Abhängigkeit der Citronen- bzw. Oxalsäureanhäufung von der Stickstoffnahrung bei Schimmelpilzen. Biochem. Zeitschr. 242 (137—148).

- Chrząszcz T., D. Tiukow und M. Zakomorny. 1932. — Ueber die biochemische Umwandlung des Äthylalkohols in Citronensäure durch Schimmelpilze. *Biochem. Zeitschr.* 250 (254—269).
- Czubalski F. 1931. — Wpływ niedostatecznie dotąd uwzględnianych czynników fizjologicznych na charakter krzywej wydzielania trzustkowego. (Influence des facteurs physiologiques jusqu'à présent peu considérés sur le caractère de courbe de la sécrétion du suc pancréatique). *Kosmos.* 56. (284—290).
- Cytronberg S. 1930. — Badania doświadczalne nad czynnością wydzielniczą i wchłaniającą jelita cienkiego. (Etudes expérimentales sur la fonction sécrétoire et résorptive de l'intestin grêle). *Polskie Archiwum Medycyny Wewnętrznej.* 8. (593—648).
- Cytronberg S. 1930. — Recherches expérimentales sur la coopération de la muqueuse intestinale dans la régulation de l'équilibre acide-base de l'organisme. *Bull. Intern. Acad. Polon. Classe de Médecine.* 2 (357—366).
- Cytronberg S. 1930. — Recherches expérimentales sur la résorption intestinale de la fructose. *Bull. Intern. Acad. Polon. Classe de Médecine.* 2 (351—356).
- Cytronberg S. 1930. — Recherches expérimentales sur les fonctions sécrétoires de l'intestin grêle. *Bull. Intern. Acad. Polon. Classe de Médecine.* 2 (323—349).
- Dadlez J. et W. Koskowski. 1931. — Action diurétique de l'extrait des poumons chez l'Homme. *C. R. Soc. de Biol.* 108 (160—161).
- Dadlez J. et W. Koskowski. 1931. — Sur une substance active isolée des poumons. *C. R. Soc. de Biol.* 107 (75—77).
- Dadlez J. et W. Koskowski. 1932. — Action inhibitrice de la pepsine, de la pepsine et de l'extrait des muscles striés sur la sécrétion des sucs digestifs. *C. R. Soc. de Biol.* 109 (1028—1033).
- Dadlez J. et W. Koskowski. 1932. — Les échanges gazeux dans la fièvre provoquée par le *Staphylococcus aureus*. *C. R. Soc. de Biol.* 109 (301—302).
- Dąbrowska W. 1932. — Sur la composition chimique de la sécrétion lactée du jabot du Pigeon par rapport au taux d'accroissement des pigeonneaux. *C. R. Soc. de Biol.* 110 (1091—1094).
- Demans P. 1932. — La fonction du rein énérvé après la résection du nerf splanchnique. *C. R. Soc. de Biol.* 110 (1096—1100).
- Dembowski J. 1931. — Dalsze studja nad geotropizmem *Paramecium*. (Weitere Studien über den Geotropismus von *Paramecium*). *Acta Biologiae Experimentalis.* 6 (59—88).
- Dembowski J. 1931. — Die Vertikalbewegungen von *Paramecium caudatum*. III. Polemisches und Experimentelles. *Arch. f. Protistenkunde.* 74 (153—187).
- Doberska-Mayowa I. 1932. — Zastosowanie metody Skara do obliczenia bakterij w mleku. (Valeur pratique de la méthode de Skar

- pour la détermination de nombre de bactéries dans le lait). *Medycyna Doświadczalna i Społeczna*. 15 (246—252).
- Dobrowolska Z. 1932. — Studies on the catalytic oxidation of uric acid. *The Biochem. Journ.* 26 (543—550).
- Dyrdowska M. 1931. — Recherches sur le comportement du glycogène et des graisses dans les oeufs d'*Ascaris megaloccephala* à l'état normal et dans une atmosphère d'azote. *C. R. Soc. de Biol.* 108 (593—596).
- Elmer A. 1932. — Zur Vereinfachung der Mikrojodbestimmung. *Biochem. Zeitschr.* 248 (163—167).
- Falik E. 1932. — Influence de l'antagonisme des ions sur l'hémolyse. *C. R. Soc. de Biol.* 111 (312—315).
- Falik E. 1932. — Influence des solutions des sels minéraux à diverses concentrations sur les dimensions des globules rouges. *C. R. Soc. de Biol.* 109 (1297—1299).
- Falik E. et Z. Bieliński. 1931. — Recherches sur le diamètre des globules rouges. Variations pendant l'inanition. *C. R. Soc. de Biol.* 108 (161—164).
- Fegler J. 1932. — Recherches sur les phénomènes d'excitation et d'inhibition de la respiration pendant l'irritation chimique des voies respiratoires supérieures et inférieures. *Bull. Intern. Acad. Polon. Cracovie. Classe de Médecine.* 1—3 (1—24).
- Fidler A. 1932. — Recherches sur l'insuffisance chronique du système cardio-vasculaire. *Bull. Intern. Acad. Polon. Cracovie. Classe de Médecine.* 1—3 (77—82).
- Fidler A. 1932. — Recherches sur l'insuffisance chronique du système cardio-vasculaire. III. La courbe de dissociation de l'oxygène dans le sang. *Bull. Intern. Acad. Polon. Cracovie. Classe de Médecine.* 4—8 (367—374).
- Fidler A. et J. Dorożyńska. 1932. — Recherches sur l'insuffisance chronique du système cardio-vasculaire. II. Sur les perturbations de l'équilibre acido-basique et sur les variations du chlore dans le sang. *Bull. Intern. Acad. Polon. Cracovie. Classe de Médecine.* 4—8 (359—366).
- Filipowicz B. 1931. — Influence of proteins and protein derivatives on the enzymic hydrolysis of starch by malt diastase. *The Biochem. Journ.* 25. (1874—1884).
- Flancer. 1930. — Wpływ jonów na amylazę roślinną. (Influence des ions sur l'amylase végétale). *Sprawozdania z posiedzeń T. N. W. w. IV.* 23 (69—71).
- Flancerówna G. 1931. — Wpływ jonów na amylazę roślinną. (Influence des ions sur l'amylase végétale). *Acta Soc. Botan. Polon.* 7 (521—552).
- Frajbergerówna S. 1931. — Struktura i reakcje enzymatyczne. Część X. Wpływ lepkości i stanu agregacji fazy rozdrobnionej. (La structure et les réactions enzymatiques. X partie. Influence de la

- viscosité et de l'état d'aggrégation de la phase dispersée). *Acta Biologiae Experimentalis*. 6. (143—172).
- Franke M. 1932. — Influence des extraits d'écorce surrénale sur le métabolisme basal chez les animaux. *C. R. Soc. de Biol.* 109 (1295—1299).
- Frendzłowa J. i Z. Szymanowski. 1931. — Dalsze badania nad zmiennością bakteryj. (Recherches sur la variabilité des microbes). *Medycyna Doświadczalna i Społeczna*. 14 (591—605).
- Gabryelski W. und L. Marchlewski. 1932. — Zur Kenntnis reduzierender Zucker. *Biochem. Zeitschr.* 250 (385—391).
- Gedroyć M. 1931. — Les changements des groupes sanguins provoqués par l'imprégnation des hématies. *C. R. Soc. de Biol.* 107 (871—873).
- Gedroyć M. 1931. — Les phénomènes du choc en relation avec le changement de groupe sanguin par l'imprégnation. *C. R. Soc. de Biol.* 107 (873—876).
- Gedroyć M. 1931. — Wyciągi i rozciery z tkanek zwierzęcych i ich stosunek do wazodilatyny, peptonu, histaminy oraz do zmian grupowego charakteru elementów morfotycznych krwi. (Extraits et émulsions des tissus animales, vasodilatine, peptone et l'histamine et le changement du caractère des groupes sanguins). *Kosmos*. 56 (291—309).
- Gedroyć M. 1932. — Présence des éléments de groupes agglutinogènes autogènes dans les organes de l'organisme animal inactivant ces propres agglutinines. *C. R. Soc. de Biol.* 111 (305—306).
- Gedroyć M. 1932. — De certaines propriétés physiques et biologiques des agglutinines autogènes provenant des hématies et des propriétés des éléments de groupes correspondants. *C. R. Soc. de Biol.* 111 (308—310).
- Gedroyć M. 1932. — Absorption des agglutinines provenant d'un hémolysat par les hématies auto-et hétérogènes. Absorption des éléments de groupes (agglutinogènes) du sérum par son propre stroma. *C. R. Soc. de Biol.* 111 (306—308).
- Gedroyć M. 1932. — Présence dans le sérum, des substances inhibitrices de l'auto-agglutination par les agglutinines renfermées dans les hématies autogènes. *C. R. Soc. de Biol.* 109 (1025—1027).
- Gedroyć M. 1932. — Présence dans le sérum de la mère et de l'embryon des substances inhibitrices pour les agglutinines renfermées dans les hématies. *C. R. Soc. de Biol.* 109 (1022—1025).
- Gedroyć M. 1932. — Le changement des phénomènes du choc apparaissant après l'infusion du sang d'un autre groupe, par l'imprégnation des hématies hétérogènes avec l'hémolysat autogène. *C. R. Soc. de Biol.* 109 (298—300).
- Gedroyć M. 1932. — L'arrêt des phénomènes du choc apparaissant après l'infusion du sang hétérogène, par l'imprégnation des hématies d'un autre groupe par l'hémolysat autogène. *C. R. Soc. de Biol.* 109 (295—297).

- Gedroyé M. et W. Koskowski. 1930. — Les hématies et l'absorption de certaines substances nutritives et hormonales, spécialement de l'adrenaline. C. R. Soc. de Biol. 105 (409—412).
- Gedroyé W. i S. Przyłęcki. 1931. — Wpływ soli na stężenie jonów wodorowych w roztworach amfolitów. (Effect of addition of salts on the pH of solutions of ampholytes). Acta Biologiae Experimentalis. 6 (89—100).
- Gedroyé W. and S. Przyłęcki. 1931. — Effect of the addition of salts on the pH of solutions of ampholytes. The Biochem. Journ. 25 (465—472).
- Glass J. 1931. — Badania nad wpływem naświetlań promieniami pozafioletkowymi na rozmieszczenie chloru we krwi. (L'influence des irradiations ultraviolettes sur la répartition du chlore dans le sang). Medycyna Doświadczalna i Społeczna. 13 (207—217).
- Glass J. 1932. — Luźne badania nad poziomem i rozmieszczeniem chloru we krwi. (Recherches sur la répartition du chlore dans le sang). Medycyna Doświadczalna i Społeczna. 15 (1—26)
- Glimm E. und I. Giżycki. 1932. — Zur Kenntnis der Biolase. Biochem. Zeitschr. 248 (449—473).
- Glimm E. und M. Nitzsche. 1932. — Ueber die Entstehung der Apfelsäure bei der alkoholischen Gärung in Gegenwart von Asparagin und Asparaginsäure, Biochem. Zeitschr. 253 (318—335).
- Godlewski E. jun. 1930. — Ueber die Agglutinationserscheinungen der Echinidensamemfäden unter dem Einfluss der aus fremdartigen Geschlechtselementen gewonnenen Substanzen und deren Fähigkeit die Sistierung des Entwicklungsganges herbeizuführen. Bull. Intern. Acad. Polon. Cracovie. 7—8 B II (577—582).
- Godlewski E. et I. Latinik. 1930. — La croissance ontogénétique et la croissance régénérative chez l'Axolotl. Bull. Intern. Acad. Polon. Cracovie. 1—2 B II (79—106).
- Goebel F. 1932. — Sur les rapports mutuels entre le taux du sucre et celui de la cholestérine dans le sang. C. R. Soc. de Biol. 109 (259—260).
- Goldberżanka C. 1930. — Flora bakteryjna przewodu pokarmowego żaby (*Rana temporaria*). (Le flore bacterienne du tube digestif du crapaud (*Rana temporaria*). Medycyna Doświadczalna i Społeczna. 12 (388—392).
- Goldman M. et S. Cytronberg. 1930. — Recherches sur l'élimination du chlore et des substances azotées par la muqueuse intestinale dans l'azotémie expérimentale. Bull. Intern. Acad. Polon. Classe de Médecine. 2 (367—372).
- Gomolińska M. 1932. — Effect of addition of salts on the isoelectric point of proteins. Biochem. Journ. 26.
- Gorezyński T. 1930. — Dalsze badania nad kleistogamją. II. *Cardamine chenopodifolia* Pers. (Continuation des recherches sur la cléistogamie. II. *Cardamine chenopodifolia* Pers.). Acta Soc. Botan. Polon. 7 (295—310)

- Gorczyński T. 1932. — Z badań nad kleistogamją. III. Dymorfizm kwiatowy u fijołka wonnego pełnokwiatowego. (*Viola odorata fl. pleno hort*). Acta Soc. Botan. Polon. 9 (115—130)
- Gorecki Z. 1930. — Recherches sur l'action de la caféine, de la strychnine, du cardiazol, de la coramine et de l'huile camphrée sur l'appareil circulatoire et respiratoire des cardiaques décompensés. Bull. Intern. Acad. Polon. Classe de Médecine. 2 (317—321).
- Górski F. 1930. — Sur la précision de la méthode de la numération des bulles dans les recherches de photosynthèse. Bull. Intern. Acad. Polon. Cracovie. 1—6 B I (1—38).
- Górski F. 1931. — Sur l'action de faibles courants électriques sur l'assimilation chlorophyllienne chez *Elodea canadensis*. Bull. Intern. Acad. Polon. Cracovie. 1—5 B I (85—102).
- Gross L. 1931. — Ueber den Einfluss der Hormone des Hypophysenvorderlappens, des Schwangerenharns und der Plazenta auf transplantable Sarkome bei Mäusen. Bull. Intern. Acad. Polon. Cracovie. Classe de Médecine. 7—9 (257—275).
- Gross L. 1932. — Ueber die Zeitgrenzen der Uebertragungsfähigkeit von Impfsarkom mittels Blutes und der tumorfreien Organe der Maus. Bull. Intern. Acad. Polon. Cracovie. Classe de Médecine. 4—8 (383—391).—
- Gross L. und Wajda S. 1932. — Ueber den Einfluss der Plazenta auf transplantable Sarkome bei Mäusen. Bull. Intern. Acad. Polon. Cracovie. Classe de Médecine. 4—8 (159—168).
- Grynberg M. 1931. — Kinetik der Urikasewirkung. Biochem. Zeitschr. 236 (138—163).
- Grynberg M. 1931. — Kinetyka działania urikazy. (Kinetik der Urikasewirkung). Acta Biologiae Experimentalis. 6 (211—250).
- Grynberg M. 1932. — Eine jodometrische Methode zur Bestimmung von einigen Purinen und ihren Abkömmlingen. Biochem. Zeitschr. 253 (143—145).
- Grynberg M. und S. Kisiel. 1932. — Untersuchungen über die Bindung der Biokolloide. VIII. Biochem. Zeitschr. 253 (146—151).
- Grzycki S. 1930. — Sur l'élimination de la créatinine dans un cas d'hémoglobulinurie paralytique chez le Cheval. C. R. Soc. de Biol. 105 (419—420).
- Heinrich W. et T. Strzembosz. 1931. — Les fonctions des capillaires et la concentration de l'attention. Bull. Intern. Acad. Polon. Cracovie. 2 B II (321—350).
- Heller J. 1931. — Quantitative Studien über die Erbfaktoren der Stoffwechselgrösse bei den Schmetterlingspuppen. Biol. Zentralbl. 51 (259—269).
- Heller J. 1932. — Ueber den Anteil der Hämolymphe am Stoffwechsel der Schmetterlingspuppen. VIII. Mitteilung: Chemische Untersuchungen über die Metamorphose der Insekten. Biochem. Zeitschr. 255 (205—221)

- Heller J. und A. Klisiecki. 1932. — Untersuchungen über die Amniotikbildung im Blute. *Biochem. Zeitschr.* 253 (300—312).
- Hirszfeld L. 1931. — Badania nad grupami krwi w związku z zagadnieniami serologii konstytucyjnej. (Les groupes sanguins en rapport avec la sérologie constitutionnelle). *Medycyna Doświadczalna i Społeczna.* 13 (239—256).
- Hirszfeld L. et R. Amsel. 1932. — Sur la présence des éléments de groupe de foetus dans le sang rétroplacentaire de la mère. *C. R. Soc. de Biol.* 109 (252—253).
- Hirszfeld L. i W. Halberówna. 1931. — O własnościach serologicznych tkanki embryonalnej i rakowej. (Sur les propriétés sérologiques de tissu embryonnaire et carcinomateux). *Medycyna Doświadczalna i Społeczna.* 14 (810—811).
- Hirszfeld L. und W. Halber. 1932. — Untersuchungen über Verwandtschaftsreaktionen zwischen Embryonal—und Krebsgewebe. (I vorläufige Mitteilung. Rattenembryonen und Menschentumoren). *Bull. Intern. Acad. Polon. Classe de Médecine.* 1—3 (35—52).
- Hirszfeld L. und W. Halber. 1932. — Untersuchungen über Verwandtschaftsreaktionen zwischen Embryonal—und Krebsgewebe. I Mitteilung: Rattenembryonen und Menschentumoren. *Zeitschr. f. Immunitätsforschung.* 75 (193—208).
- Hirszfeld L., W. Halber und J. Rosenblat. 1932. — Untersuchungen über Verwandtschaftsreaktionen zwischen Embryonal—und Krebsgewebe. II vorläufige Mitteilung: Menschenembryo und Menschenkrebs. *Zeitschr. f. Immunitätsforschung.* 75 (209—216).
- Hirszfeld L., W. Halber und J. Rosenblat. 1932. — Untersuchungen über Verwandtschaftsreaktionen zwischen Embryonal—und Krebsgewebe. (II vorläufige Mitteilung. Menschenembryo und Menschenkrebs). *Bull. Intern. Acad. Polon. Classe de Médecine.* 1 — 3 (53—62).
- Hirszler J. 1931. — Zwei Beobachtungen das gegenseitige Verhalten der Insektenlarven betreffend. *Bull. Intern. Acad. Polon.* 6 B II (549—554).
- Hołobut W. 1931. — O wpływie prądu stałego na ośrodki oddechowe, naczynioruchowe i hamujące czynność serca. *Rozprawy Polsk. Akad. Um. (Lek.)* 1 Nr. 10.
- Hołobut W. 1931. — L'influence du courant constant sur les centres respiratoires, les centres vasomoteurs et les centres inhibiteurs du coeur. *Bull. Intern. Acad. Polon. Classe de Médecine.* 3 (105—114).
- Hołyński S. 1929. — Studja z dziedziny procesów fitochemicznych. Cz. I. O prędkości pobierania fosforu i potasu przez kielki i młode rośliny żyta. (Sur l'assimilation du phosphore et du potassium par les germes et par les jeunes plantes du seigle). *Pamiętnik Państw. Inst. Nauk. Gosp. Wiejsk. w Puławach,* 10 (163—174).
- Horowicz Z. 1932. — Untersuchungen über die Bindung der Biokolloide. XIV Mitteilung: Adsorption von Stärke auf verschiedenen Emulsionsoberflächen. *Biochem. Zeitsch.* 257 (344—350).

- Hrom S. 1932. — L'influence de l'acidose et de l'alcalose expérimentales sur les appareils circulatoire et respiratoire chez les sujets sains. Bull. Intern. Acad. Polon. Classe de Médecine. 4—8 (375—382).
- Ingbermanówna L. 1931. — Bakterje przewodu pokarmowego węża. — (Zaskroniec—*Tropidonotus natrix*). La microflore du tube digestif du serpent (*Tropidonotus natrix*). Medycyna Doświadczalna i Społeczna. 13 (73—80).
- Iwaszkiewicz K. and J. Neyman. 1931. — Counting Virulent Bacteria and Particles of Virus. Acta Biologiae Experimentalis. 6 (101—142).
- Jankowski J. 1932. — La libération de l'histamine dans la peau de l'Homme. C. R. Soc. de Biol. 111 (318—320).
- Joszt A. and M. Kuniński. 1930. — Zur Physiologie einiger Syniewski—Dextrine. Zeitschr. f. physiol. Chemie. 191 (65—68).
- Judowicz Z. 1932. — Spostrzeżenia nad drobnoustrojami tlenowemi, rozkładającymi błonnik. (Observations sur les bacilles aérobie décomposants la cellulose). Medycyna Doświadczalna i Społeczna. 15 (82—83).
- Kaniewski K. 1931. — Crossing experiments on tetraploid species of wheat. Bull. Intern. Acad. Polon. 6—7 BI (232—253).
- Kaniewski C. 1932. — Sur l'origine des nouvelles espèces dans les croisement entre les types tétraploïdes du Froment. C. R. Soc. de Biol. 111 (100—103).
- Kaufman L. 1929. — Analiza czynników, kształtujących przebieg wzrostu, na podstawie badań nad wzrostem kur i gołębi. (An analysis of the factors involved in the growth of animals, based on comparative research on the growth of fowls and pigeons). Pamiętnik Państw. Inst. Nauk. Gosp. Wiejsk. w Puławach. 10 (363—421).
- Kaufman L. 1929. — Tempo wzrostu podczas rozwoju embryonalnego kury i gołębia. (On the rate of growth in chick and pigeon embryos). Pamiętnik Państw. Inst. Nauk. Gosp. Wiejsk. w Puławach. 10 (110—125).
- Kaufman L. 1930. Badania nad pochodzeniem różnic wielkości ciała, wraz z opisem nowej metody kultur in vitro jaj kur i gołębi. (Researches on the phaeno-genesis of the differences of body-size, partly grounded on a new method of in vitro cultures of Fowl and Pigeon eggs). Acta Biologiae Experimentalis. 5 (33—46).
- Kaufman L. 1930. — Innere und äussere Wachstumsfaktoren. Untersuchungen an Hühnern und Tauben. Arch. f. Entw.-Mech. 122 (395—431).
- Kaufman L. 1932. — Quelques expériences sur les hormones déterminant la sécrétion lactée du jabot des Pigeons. C. R. Soc. de Biol. 111 (881—883).
- Kaufman L. 1932. — Expériences sur l'effet des injections d'extraits et de sérum d'animaux âgés et d'extraits d'embryons sur la croissance des Souris. C. R. Soc. de Biol. 110 (1094—1096).

- Kaufman L. und M. Laskowski. 1931. — Wachstumsgeschwindigkeit und K:Ca — Quotient. *Biochem. Zeitschr.* 242 (424—435).
- Kaulbersz J. 1932. — Recherches sur la résistance des érythrocytes. *Bull. Intern. Acad. Polon. Classe de Médecine.* 4—8 (261—292).
- Kawecki Z. 1932. — Beobachtungen über das Verhalten und die Sinnesorientierung der Florfliegenlarven. *Bull. Intern. Acad. Polon.* 1—4 B II (90—106).
- Klimek R. und J. Parnas. 1932. — Adenylsäure und Adeninnucleotid. *Biochem. Zeitschr.* 252 (392—396).
- Kmietowicz F. (jun). 1931. — Z farmakodynamji siarkowodoru (O wchłanianiu siarkowodoru z przewodu pokarmowego). [Pharmacodynamie de l'hydrogène sulfuré — sur la resorption de l'hydrogène sulfuré dans le tractus digestif] *Kosmos.* 56 (346—366).
- Kobendza R. 1932. — Jak reaguje system korzeniowy sosny (*Pinus silvestris* L.) na zawiewania przez piasek. (Wie reagiert das Wurzelsystem der Kiefer auf die Verschüttung durch den Sand). *Acta Soc. Botan. Polon.* 9 Suppl. (101—114).
- Kołodziejski Z. 1932. — Untersuchungen über die Regeneration der Fusscheibe bei *Actinia equina* L. *Bull. Intern. Acad. Polon.* 5—6 B II (153—168).
- Kon S. 1931. — The self-selection of food constituents by the rat. *The Biochem. Journ.* 25 (473—481).
- Konopacka B. 1931. — Le comportement de la graisse dans le développement de la poule. *Bull. Intern. Acad. Polon.* 7—10 B II (643—648).
- Konopacka B. 1931. — Sur le comportement des substances grasses au cours du développement du poulet. *C. R. Assoc. des Anatomistes.* R. 26 (306—310).
- Konopacki M. 1931. — L'analyse micromorphologique des modifications dans les oeufs et dans les embryons de la grenouille (*Rana fusca s. temporaria*) soumis à la centrifugation. *Bull. Intern. Acad. Polon.* 3—5 B II (351—390).
- Konopacki M. 1931. — Sur les modifications histochimiques des oeufs et des embryons de la grenouille sous l'action de la force centrifuge. *C. R. Assoc. des Anatomistes.* R. 26 (311—315).
- Konopacki M. et K. Ereciński. 1932. — Sur le rôle du sac vitellin dans le métabolisme chez les embryons de *Syngnathus acus*. *Bull. Intern. Acad. Polon.* 5—6 B II (141—152).
- Kopeć S. 1929. — Dalsze badania nad morfogenetyczną wartością ciężaru noworodka zwierząt ssących. Spostrzeżenia nad myszami. I. Waga noworodków a ciężar ciała rozwijających się z nich zwierząt. (Further studies on the morphogenetical value of the weight of mammals at birth. Observations on mice. I. The body weight of newborn and that of growing animals). *Pamiętnik Państw. Inst. Nauk. Gosp. Wiejsk. w Puławach.* 10 (224—261).
- Kopeć S. 1929. — To samo. II. Waga noworodków a tempo wzrostu rozwijających się z nich zwierząt. Ditto. II. The body weight of new-

- born and the percentage-rate of the postnatal growth). *Pamiętnik Państw. Inst. Nauk. Gosp. Wiejsk. w Puławach. 10* (475—508).
- Kopeć S. 1930. — O dimorfizmie płciowym w ciężarze ciała rosnących myszy, wraz z krytycznymi uwagami o metodyce badań nad wzrostem ssaków. (Sex dimorphism in the body-weight of growing mice). *Pamiętnik Państw. Inst. Nauk. Gosp. Wiejsk. w Puławach. 11* (335—408).
- Kopeć S. 1932. — Untersuchungen über die morphogenetische Bedeutung des Geburtsgewichtes für das Körpergewicht der Mäuse. *Zeitschr. f. ind. Abstamm. u. Vererblehre 63* (94—111).
- Kopeć S. 1932. — Die prozentuelle Wachstumsgeschwindigkeit der Mäuse in Bezug auf das Gewicht der Neugeborenen. *Arch. f. Entwickl. Mech. 126* (575—590).
- Kopeć S. 1932. — Ueber die Geschlechtsunterschiede im Körpergewicht wachsender Mäuse, nebst einiger Bemerkungen über die Methodik der Wachstumsuntersuchungen bei Säugetieren. *Arch. f. Entwickl. Mech. 126* (769—798).
- Kopeć S. i M. Latyszewski. 1930. — Dalsze badania i t. d. Spostrzeżenia nad myszami. IV i V. Waga noworodków a wielkość kości zwierząt dojrzałych. Uwagi i wnioski ogólne. (Further studies. Observations on mice. IV and V. The body weight of new-born and the size of bones in mature animals. General discussion). *Pamiętnik Państw. Inst. Nauk. Gosp. Wiejsk. w Puławach. 11* (299—334).
- Kopeć S. i M. Latyszewski. 1929. — Dalsze badania i t. d.. Spostrzeżenia nad myszami. III. Waga noworodków, a ciężar wewnętrznych narządów zwierząt dojrzałych. (Further studies. Observations on mice. III. The body weight of new-born and the weight of internal organs in mature animals). *Pamiętnik Państw. Inst. Nauk. Gosp. Wiejsk. w Puławach. 10* (509—532).
- Kopeć S. i M. Latyszewski. 1931. — Spostrzeżenia nad ciężarem wewnętrznych narządów i niektórych kości u dojrzałych myszy, ze szczególnem uwzględnieniem różnic płciowych. I. Wielkość i zmienność ciężaru absolutnego (Studies on the weight of internal organs and of bones in mature mice, with special reference to sex dimorphism. I. The absolute weight and its variability). *Pamiętnik Państw. Inst. Nauk. Gosp. Wiejsk. w Puławach 12* (463—491).
- Kopeć S. i M. Latyszewski. 1931. — Doświadczenia nad wpływem przerw w odżywianiu na wzrost myszy. I. Wpływ całkowitych przerw w karmieniu paszą niepełną. (Experiments on the influence of food—intervals upon the growth of mice. I. Effects of alternating total inanition and feeding on qualitatively insufficient food). *Pamiętnik Państw. Inst. Nauk. Gosp. Wiejsk. w Puławach. 12.* (232—268) i *Biologia generalis. 8* (163—178).
- Kopeć S. i M. Latyszewski. 1931. — To samo. II. Wpływ całkowitych przerw w karmieniu paszą pełnowartościową. II. Effects of alternating total inanition and feeding on adequate food). *Pamiętnik*

- nik Państw. Inst. Nauk. Gosp. Wiejsk. w Puławach. 12 (419—462) i *Biologia Generalis*. 8 (489—512).
- Kopeć S. und M. Latyszewski. 1932. — Ueber den morphogenetischen Zusammenhang zwischen dem Körpergewicht der Neugeborenen und dem Organen—und Knochengewicht der reifen Mäuse. *Z. ind. Abstamm. u. Vererb. lehre*. (Berlin). 63 (185—194).
- Korczewski M. 1931. — Phosphoric acid concentration and the growth — rate in Maize. Report of Proceed. V Intern. Botan. Congress in Cambridge 1930. (437—440).
- Korczewski M. i F. Majewski. 1932. — Wpływ dawki magnezu na plon i skład chemiczny owsa. *Roczn. Nauk. Roln. i Leśn.* 28 (145—153).
- Korczewski M. i F. Majewski. 1932. — Wpływ potasu na wzrost roślin w różnych okresach rozwoju. (Ueber den Einfluss des Kaliums auf das Wachstum in verschiedenen Entwicklungsstadien der Pflanzen). *Roczn. Nauk. Roln. i Leśn.* 28 (1—26).
- Koskowski W. 1930. — Właściwości dynamiczne krwi w czasie trawienia. (Les propriétés dynamiques du sang au cours de la digestion). *Kosmos*. 55 (149—218).
- Koskowski W. 1931. — Z badań nad rolą fizjologiczną histaminy w ustroju i zjawisk z nią związanych. (Expériences sur le rôle de l'histamine en rapport avec quelques phénomènes pharmacodynamiques). *Kosmos*. 56 (367—387).
- Koskowski W. et P. Kubikowski. 1932. — Propriétés dynamiques du sang au cours de la digestion et types d'aliments. *C. R. Soc. de Biol.* 109 (1032—1034).
- Koskowski W. et P. Kubikowski. 1932. — Action inhibitrice de la peptone, de la pepsine, du lait, du sang et de la solution colloïdale d'argent sur l'apparition des propriétés dynamiques du sang au cours de la digestion. *C. R. Soc. de Biol.* 109 (1034—1036).
- Kotek F. 1930. — Wpływ symbionta na zdolności wiązania azotu przez *Azotobacter chroococcum* Beij. (L'action du symbionte sur le pouvoir fixateur de l'azote par l'*Azotobacter chroococcum* Beij.). Sprawozdania z posiedzeń T. N. W. w. IV. 23 (107—108).
- Kotkówna F. 1931. — Wpływ symbionta na zdolność wiązania azotu przez *Azotobacter chroococcum* Beij. (L'action du symbionte sur le pouvoir fixateur de l'azote par l'*Azotobacter chroococcum* Beij.). *Acta Soc. Botan. Polon.* 8 (47—72).
- Kowarzyk H. 1931. — Promieniowanie mitogenetyczne a wpływ ciał lotnych ze zmiażdżonych tkanek cebuli na zjawiska koloidalne. (Ueber die Fernwirkung von Zwiebelsohlenbrei auf Kolloide und über den Nachweis mitogenetischer Strahlungen). *Acta Biologiae Experimentalis*. 6 (29—36).
- Kozłowski A. 1930. — Redukcja błękitu metylenowego przez drożdże. I. Wpływ koncentracji jonów wodorowych i temperatury. (On the reduction of methylene blue by yeast. I. The influence of hy-

- drogen ion concentration and of temperature). Acta Soc. Botan. Polon. 7 (157—164).
- Kozłowski A. 1930. — Uproszczona metoda wyizolowania t. zw. glutationu z drożdży. (Eine einfache Methode der Isolierung des sogenannten Glutathions aus Hefen). Acta Soc. Botan. Polon. 7 (87—88).
- Kozłowski A. 1931. — Dalsze studja nad glutationem. Związek miedziowy utlenionego glutationu drożdży. (A copper compound of the oxidised glutathione). Acta Soc. Botan. Polon. 8 (73—80).
- Kozłowski A. 1931. — Eine kristallisierte Kupferverbindung des oxydierten Hefeglutathions. Biochem. Zeitschr. 242 (249—250).
- Kozłowski A. 1931. — Glutathion der Erbse. Biochem. Zeitschr. 241 (407—408).
- Kozłowski A. 1931. — Eine Kupferverbindung des oxydierten Glutathions der Hefe. Biochem. Zeitschr. 241 (403—406).
- Kozłowski A. 1931. — Uproszczona metoda wyizolowania t. zw. glutationu z nasion grochu. (*Pisum sativum*). (A simplified method for the isolation of the so called glutathione from the pea (*Pisum sativum*)). Acta Soc. Botan. Polon. 8 (81—84).
- Krasicki J. 1930. — Minimum azotowe u świni. (Le minimum azoté chez le porc). Sprawozdania z posiedzeń T. N. W. w. IV. 23 (146—147).
- Kryńska H. i W. Witanowski. 1931. — O przepuszczalności mięśnia sercowego dla jonów sodu i potasu. (Sur la perméabilité du coeur aux ions de sodium et de potassium). Acta Biologiae Experimentalis. 6 (53—58).
- Kudrzycka F. 1930. — Mikrochemja ziaren skrobi i amyloplastów w bulwach ziemniaka. (*Solanum tuberosum*). (Mikrochemie der Stärkekörner und der Amyloplasten in Kartoffelknollen—*Solanum tuberosum*). Roczn. Farm. 8 (31—142).
- Kudrzycka-Bieloszabska F. 1932. — Nowa mikrochemiczna reakcja na koniinę. (Sur la réaction nouvelle microchimique de la coniine). Wiadom. farmaceutyczne. 48 (618—621).
- Kulczycki A. 1931. — La dégénérescence physiologique des muscles striés. Bull. Intern. Acad. Polon. 2 B II (251—272).
- Kurkiewicz T. 1931. — Sur la différenciation histogénique et sur les phénomènes d'excrétion du blastoderme chez *Paracentrotus lividus*. C. R. Soc. de Biol. 108 (583—586).
- Kurkiewicz T. 1931. — Sur la différenciation histogénique du blastoderme chez *Sphaerechinus granularis*. C. R. Soc. de Biol. 108 (587—589).—
- Kurzyniec E. und A. Oszacki. 1931. — Blutfarbstoff, Eisen-gehalt und Sauerstoffaufnahme-fähigkeit des Blutes bei Individuen mit und ohne Neubildungen. (Materiały do sprawy barwika krwi, zawartości żelaza i zdolności pobierania tlenu we krwi ludzi z nowotworami i bez nowotworów). Bull. Intern. Acad. Polon. Classe de Médecine. 3 (15—36) i Rozpr. P. A. U. (Lek.). 1, Nr. 8.

- Kwieciński R. 1929. — Studja nad wpływem dwucyjanodwuamidu i mocznika na aktywność niektórych enzymów. (Recherches sur l'influence exercée par la dicyandiamide et l'urée sur l'action de certaines enzymes). Pamiętnik Państw. Inst. Nauk. Gosp. Wiejsk. w Puławach. *10* (40—52).
- Labendziński F. et A. Sławiński. 1931. — Sur la conductivité électrique des hématies. C. R. Soc. de Biol. *108* (590—592).
- Landau A. i J. Glass. 1930. — Badania nad związkiem wzajemnym, zachodzącym między czynnością wydzielniczą żołądka a gospodarką chlorową i kwasozasadową ustroju. — Doniesienie II. — L'influence de la mobilisation du chlore tissulaire par le novasurol et du régime hypochloruré sur la sécrétion gastrique). Medycyna Doświadczalna i Społeczna. *12* (313—356).
- Laskowski M. 1929. — Kilka doświadczeń nad domniemaną toksycznością krwi zwierząt głodzonych. (Some experiments on the supposed toxicity of the blood of animals subjected to starvation). Pamiętnik Państw. Inst. Nauk. Gosp. Wiejsk. w Puławach. *10* (574—587).
- Laskowski M. 1930. — O rozmieszczeniu wapnia w osoczu kury. (Sur l'état de calcium dans le plasma de la poule). Sprawozdania z posiedzeń T. N. W. w. IV. *23* (147—148).
- Lebenbaum M. 1930. — Wpływ jonów na świecenie bakteryj. (L'influence des ions sur la luminescence bactérienne). Sprawozdania z posiedzeń T. N. W. w. IV. *23* (71—72).
- Lebenbaum M. 1931. — O wiązaniu azotu wolnego w zbiornikach wód naturalnych i czynnikach stymulujących. (La fixation de l'azote libre dans les bassins d'eau naturels et sa stimulation). Sprawozdania z posiedzeń T. N. W. w. IV. *24* (256—258).
- Lebenbaum M. 1932. — O stymulującym działaniu szlamu na wiązanie azotu w wodach naturalnych. (La stimulation de la fixation de l'azote libre dans les bassins d'eaux naturels). Acta Soc. Botan. Polon. *9* (207—236).
- Lewicki S. 1929. — Barwniki jęczmion i owsów. (Pigments in barleys and oats). Pamiętnik Państw. Inst. Nauk. Gosp. Wiejsk. w Puławach. *10* (342—362).
- Lewicki S. 1929. — Barwniki kłosowe i ich fizjologiczne znaczenie u pszenicy i u *Aegilops*. (The problem of pigmentation in the ears of wheat and *Aegilops* and its physiological significance). Pamiętnik Państw. Inst. Nauk. Gosp. Wiejsk. w Puławach. *10* (293 — 341).
- Leyko Z. i T. Łobodziński. 1930. — O składnikach mleka rozpuszczalnych w wodzie i ich stałości (o t. zw. stałej Cornalby) w porównaniu ze stałością suchej masy beztuszczowej. Część II. (Ueber die wasserlöslichen Bestandteile der Milch und deren Konstanz (so genannte Regel Cornalba's). Pamiętnik Państw. Inst. Nauk. Gosp. Wiejsk. w Puławach. *11* (111—158).
- Lipska J. 1929. — Fizjologiczne badania nad śluzowemi bakterjami mlecznymi. (Recherches physiologiques sur les bactéries lactiques

- glaireuses). Pamiętnik Państw. Inst. Nauk. Gosp. Wiejsk. w Puławach. *10* (422—474).
- Lubińska L. 1931. — Contribution à l'étude du clignement réflexe des paupières. C. R. Soc. de Biol. *108* (1060—1062).
- Lubińska L. 1932. — Contribution à l'étude des réflexes non-intératifs. (Le réflexe linguo-maxillaire). Annales de Physiol. et de Physicochimie biol. *8* (1—92).
- Lubińska L. 1932. — L'évolution des chronaxies du réflexe de clignement au cours de l'anesthésie. C. R. Soc. de Biol. *109* (843 — 845).
- Laniewski M. i M. Wierzychowski. 1930. — Przetwarzanie cukrów, wprowadzanych dożylnie ze stałą prędkością. IV. Tworzenie kwasu mlecznego. (Le métabolisme des sucres injectés par la voie intraveineuse à vitesse constante. IV. La production de l'acide lactique). Acta Biologiae Experimentalis. *5* (147—160).
- Malaczyńska - Suchcitz Z. 1931. — La sécrétion et les structures plasmiques des glandes tégumentaires de l'Ecrevisse. C. R. Soc. de Biol. *106* (858—862).
- Malarski H. 1930. — Normy żywienia dla kur rosnących (zielononózek). (Fütterungsnormen für wachsende Hühner). Pamiętnik Inst. Państw. Nauk. Gosp. Wiejsk. w Puławach. *11* (477—495).
- Malczyński S. 1932. — Comportement du taux du cholestérol dans le sang sous l'influence de l'irradiation unique par des rayons infra-rouges et des rayons Roentgen. Variations précoces. C. R. Soc. de Biol. *111* (1019—1022).
- Malczyński S. 1932. — L'influence des rayons X et des rayons analogues sur le taux du cholestérol dans le sang. C. R. Soc. de Biol. *111* (315—318).
- Malczyński S. 1932. — Sur le comportement du taux des éléments minéraux dans le sang sous l'influence de l'irradiation par les rayons infra-rouges. C. R. Soc. de Biol. *110* (805—808).
- Malczyński S. 1932. — Influence des rayons infra-rouges sur le niveau du cholestérol dans le sang. C. R. Soc. de Biol. *110* (808—810).
- Malczyński S., A. Borysiewicz et T. Toczyński. 1931.— Influence de l'énergie rayonnante sur le comportement des éléments minéraux dans le sang. C. R. Soc. de Biol. *108* (165—167).
- Malinowski E. 1932. — Phénomènes de l'accroissement de la vigueur chez les hybrides de *Phaseolus vulgaris* (L.) Savi. C. R. Soc. de Biol. *111* (1035—1037).
- Malinowski E. et A. Smólska. 1931 — Studies on a mosaic strain of *Petunia violacea*. Bull. Intern. Acad. Polon. Cracovie. *6—7 BI* (187—229).
- Mann T. 1931. — O domniemanym udziale azotu amidowego białek krwi i mięśni w przemianach chemicznych mięśnia pracującego. (Ueber den angeblichen Anteil des Amidstickstoffes des Blut- und Muskel-Eiweisses an den chemischen Vorgängen im arbeitenden Muskel). Acta Biologiae Experimentalis. *6* (45—52).

- Marchlewski T. 1930. — Genetic Studies on the domestic Dog. Bull. Intern. Acad. Polon. 1—2 B II (117—145).
- Marchlewski T. and B. Śliżyński. 1930. — The effect of prolonged selection upon the development of a rudimentary organ. A breeding experiment concerning evolution. Bull. Intern. Acad. Polon. 7 8 B II (549—576).
- Marchlewski T. and B. Śliżyński. 1931. — The Effect of X-rays upon mutation frequency in *Drosophila funebris* Fab. Bull. Intern. Acad. Polon. 7—10 B II (653—668).
- Markuze Z. 1932.—Badania nad zawartością witamin grupy B w pszenicy i życie, oczyszczonych metodą Steinmetza, oraz nad wartością odżywczą pieczywa Steinmetza. (Sur le contenu des vitamines du groupe B dans les grains de seigle et de froment préparés d'après la méthode de Steinmetz et sur la valeur nutritive du pain de Steinmetz). Medycyna Doświadczalna i Społeczna. 15 (403—420).
- Mazurkiewicz J. 1932. — Les intégrations nerveuses. Première partie. Position du problème. Bull. Intern. Acad. Polon. Classe de Médecine. 1—3 (95—108).
- Mazurkiewicz J. 1932. — Les intégrations nerveuses. Deuxième partie. L'intégration des fonctions réflexes. Bull. Intern. Acad. Polon. Classe de Médecine. 1—3 (109—124).
- Miczyński K. 1931. — Genetic studies in the genus *Aegilops*. II. The morphology and cytology of the interspecific hybrids. Bull. Intern. Acad. Polon. 1—5 B I (51—84).
- Minkiewicz R. 1931. — L'intéressant comportement des mâles de *Bombex*. Bull. entomol. d. l. Pologne. 10 (8—17).
- Minkiewicz R. 1931. — Prawa kinetotropizmu. (Les lois du kinétotropisme). Bull. entomol. d. l. Pologne. 10 (145—146).
- Minkiewicz R. 1931. — Les lois du Kinétotropisme. Arch. Intern. de Physiol. 34 (9—20).
- Mnich E. 1931. — Sur les composés phosphorés des plantes. VI. Sur la solubilité des composés phosphorés de la farine de féverole et sur la faculté de la phytine de se combiner avec les substances protéiques qu'elle contient. Bull. Intern. Acad. Polon. 6—7 B I (123—148).
- Modrakowski J. 1931. — Kwasy i zasady jako czynniki lecznicze. (Acides et alcalins comme agents thérapeutiques). Kosmos. 56 (425—444).
- Mogilnicki R. 1931. — L'action cumulative des ions sur la durée de l'hémolyse provoquée par l'uréthane ou la saponine. C. R. Soc. de Biol. 108 (597—598).
- Mogilnicki R. et T. Muczij. 1931. — Sur la distribution des leucocytes dans différentes parties du système vasculaire. C. R. Soc. de Biol. 108 (603—604).
- Moraczewski W. und S. Grzycki. 1931. — Ueber die Quellung der Gélatine in Kalksalzlösungen. III. Biochem. Zeitschr. 236 (432—443).

- Moraczewski V. et S. Grzycki. 1931. — Sur la distribution des cations et des anions pendant le gonflement de la gélatine dans des milieux acides et alcalins. C. R. Soc. de Biol. 107 (878—882).
- Moycho W. 1930. — Badania nad *Bacterium prodigiosum*. Warunki rozwoju bakterji i występowanie prodigiozyny. (Recherches sur *Bacterium prodigiosum*. Conditions du développement de la bactérie et la production de la prodigiosine). Acta Soc. Botan. Polon. 7 (337—356).
- Mozołowski W. und T. Mann. 1932. — Die Ammoniakbildung im Schildkrötenblut. Biochem. Zeitschr. 249 (161—175).
- Mozołowski W. und T. Mann. 1932. — Ueber die Ammoniakbildung im Schildkrötenblute. II Mitteilung: Die Bildung eines phenolartigen Körpers, welche die Ammoniakbildung im hämolysierten Schildkrötenblut begleitet. Biochem. Zeitschr. 250 (487—488).
- Mozołowski W., T. Mann und C. Lutwak. 1931. — Ueber den Ammoniakgehalt und die Ammoniakbildung im Muskel und deren Zusammenhang mit Funktions- und Zustandsänderung IX. Mitteilung: Die Stellung der Ammoniakbildung in der Reihenfolge der chemischen Vorgänge im tätigen Muskel. Biochem. Zeitschr. 231 (290—305).
- Mozołowski W., J. Reis und B. Sobczuk. 1932. — Ammoniakbildung und Pyrophosphatzerfall im Muskel. Biochem. Zeitschr. 249 (157—160).
- Mroczkiewicz U. 1931. — Ueber die tierischen Adeninnucleotide. Biochem. Zeitschr. 235 (267—270).
- Mystkowski E. 1932. — Influence of Guanidine and its derivatives on the action of amylase. The Biochem. Journ. 26 (910—914).
- Natanson-Grodziński N. 1932. — Sur la plasticité des instincts chez les larves aquatiques de Cataclyste. Bull. Intern. Acad. Polon. 5—6 BII (123—140).
- Nowiński V. 1931. — Einfluss der Vagusreizung auf die Erregbarkeit der verschiedenen Herzabschnitte. Zeitschr. f. Biologie. 91 (152—158).
- Nowiński V. 1932. — Fortgesetzte Untersuchungen über den Einfluss des Thymocrescins auf das Wachstum. Biochem. Zeitschr. 249 (421—423).
- Ostern P. 1932. — Ueber die Darstellung der Muskeladenyl- und Inosinsäure. Biochem. Zeitschr. 254 (65—70).
- Ostern P. i J. K. Parnas. 1930. — O rzekomej syntezie kwasu moczowego przez miazgę wątrobową. (Ueber die angebliche synthetische Bildung von Harnsäure im Leberbrei). Acta Biologiae Experimentalis. 5 (19—32).
- Ostern P. und J. K. Parnas. 1932.—Ueber die Auswertung von Adenosinderivaten am überlebenden Froschherz. Biochem. Zeitschr. 248 (389—397).
- Ostrouch M. 1932. — Action de l'alcool éthylique sur les structures cytoplasmiques des cellules de l'épithélium superficiel de l'estomac. Arch. de Biologie. 43 (321—341).

- Ostrouch M. 1931. — De l'influence de l'alcool éthylique sur les structures cytoplasmiques. C. R. Assoc. des Anatomistes. R. 26 (441—442).
- Oszacki A. 1930. — Ueber den Sauerstoffgehalt des Blutes bei Sarkomgeschwülsten. Bull. Intern. Acad. Polon. 5—6 BII. (391—403).
- Oszacki A. 1932. — Ueber den Sauerstoffgehalt im arteriellen und venösen Blute der malignen Geschwülste. Oxydationsstörungen und ihre pathogenetische Bedeutung für die Entstehung und das Wachstum der malignen Geschwülste. Bull. Intern. Acad. Polon. Classe de Médecine. 4—8 (169—180).
- Oszacki A., J. Rose und S. Jakus. 1932. — Das Ph, Alkalireserve des Blutes etc., die Kationen und das Erythrozytenvolumen in der Karzinomkrankheit des Menschen. Bull. Intern. Acad. Polon. Classe de Médecine. 4—8 (181—204).
- Pallier A. et M. Wierzuchowski. 1931. — L'injection ondulatoire de glucose par la voie intraveineuse, à vitesse sinusoïdale. C. R. Soc. de Biol. 107 (294—296).
- Parnas J. 1931. — Ueber die Muttersubstanz des im Blut und Muskel entstehenden Ammoniaks. Biochem. Zeitschr. 239 (18—20).
- Parnas J. 1932. — Ueber die postmortale Ammoniakbildung im Muskel. Biochem. Zeitschr. 245 (159—165).
- Parnas J. und P. Ostern. 1932. — Ueber die Ammoniakbildung im Herzen. III Mitteilung: Ueber das Adeninnucleotid im überlebenden Froschherzen. Biochem. Zeitschr. 248 (398—402).
- Parnas J. und P. Ostern. 1931. — Ueber die Ammoniakbildung im isolierten Froschherzen. Biochem. Zeitschr. 234 (307—322).
- Parnas J. K., W. Lewiński, I. Jaworska und B. Umschweif. 1930. — Ueber den Ammoniakgehalt und die Ammoniakbildung im Froschmuskel. VII. Biochem. Zeitschr. 228 (366—400).
- Fawlas P. et S. Skowron. 1930. — De l'action des colorants dérivés de l'acridine sur les cellules sexuelles mâles et sur leur production. Bull. Intern. Acad. Polon. 7—8 BII (433—438).
- Pożerski E. 1931. — O trawieniu skrobi surowej. (Sur la digestion de l'amidon cru). Kosmos. 56 (445—451).
- Proner M. 1930. — Histochemiczne wykrywanie kwasu cetrarowego w *Lichen Islandicus*. (La détermination histochimique de l'acide cétrarique dans le Lichen d'Islande). Wiadom. Farmaceut. 51—52 (745—748).
- Prywer C. 1932. — Genetische Studien über die Bastarde zwischen *Geum urbanum* L. u. *Geum rivale* L. Acta Soc. Botan. Polon. 9 (87—114).
- Przyłęcki S. 1931. — Effect of addition of salts on the isoelectric point of proteins. I. The Biochem. Journ. 25 (713—727).
- Przyłęcki S. 1932. — Ueber die Bindung der Biokolloide. XI Teil: Theoretische Betrachtungen über die Bindung zwischen zwei Proteinen. Biochem. Zeitschr. 255 (393—405).
- Przyłęcki S. 1933. — Ueber synthetische Nucleoproteide. XVI. Teil der Untersuchungen über die Bindung der Biokolloide. Biochem. Zeitschr. 258 (79—93).

- Przylęcki S. und W. Białek. 1932. — Untersuchungen über die Bindung der Biokolloide. X. *Biochem. Zeitschr.* 253 (288—292).
- Przylęcki S. und S. Dobrowolska. 1932. — Untersuchungen über die Bindung der Biokolloide. IV Teil: Bindungen zwischen Amylopektin und Eiweisskörpern oder ihren Abkömmlingen. *Biochem. Zeitschr.* 245 (388—407).
- Przylęcki S. i W. Giedroyć. 1931. — Wpływ soli na punkt izoelektryczny białek. Część II. (Effect of addition of salts on the isoelectric point of proteins II). *Sprawozdania z posiedzeń T. N. W.* w. IV. 24 (88—90).
- Przylęcki S. and W. Giedroyć. 1931. — Effect of addition of salts on the isoelectric point of proteins. *The Biochem. Journ.* 25 (1734—1735).
- Przylęcki S. und M. Grynberg. 1932. — Untersuchungen über die Bindung der Biokolloide. VI Teil: Geronnenes Ovalbumin und verschiedene Kohlenhydrate. *Biochem. Zeitschr.* 248 (16—38).
- Przylęcki S. und M. Grynberg. 1932. — Ueber die Bindung der Biokolloide. IIIV Mitteilung: Eiweiss und Nucleinsäure sowie deren Abbauprodukte. *Biochem. Zeitschr.* 251 (248—265).
- Przylęcki S. und M. Grynberg. 1932. — Ueber die Bindung der Biokolloide. XIII Mitteilung: Untersuchungen über Zwei- und Dreikomponentensysteme. *Biochem. Zeitschr.* 256 (75—99).
- Przylęcki S. und M. Grynberg. 1933. — Untersuchungen über die Bindung der Biokolloide. XV. Mitteilung: Eiweiss und Nuclein sowie dessen Abbauprodukte. *Biochem. Zeitschr.* 258 (389—400).
- Przylęcki S., M. Grynberg und D. Szrajber. 1932. — Untersuchungen über die Bindung der Biokolloide. III Mitteilung: Harnsäure-Eiweisskörper. *Biochem. Zeitschr.* 244 (190—213).
- Przylęcki S. und S. Kisiel. 1932. — Untersuchungen über die Bindung der Biokolloide. V Teil. *Biochem. Zeitschr.* 247 (1—7).
- Przylęcki S. und R. Majmin. 1931. — Untersuchungen über die Bindung der Biokolloide. *Biochem. Zeitschr.* 240 (98—122).
- Przylęcki S. und E. Mystkowski. 1931. — Einfluss der Struktur auf die Kinetik der Desmolasen. System Harnsäure, überlebende Leber. *Biochem. Zeitschr.* 236 (122—130).
- Przylęcki S. und J. Targońska. 1932. — Ueber die Bindung der Biokolloide. XII Teil: Aggregation der Gelatine. *Biochem. Zeitschr.* 255 (406—419).
- Ptaszek L. 1931. — Sur l'absorption de l'oxygène par le sang dans la fièvre non infectieuse chez les animaux. *C. R. Soc. de Biol.* 107 (876—878).
- Ptaszek L. 1931. — Absorption de l'oxygène par le sang au cours de l'infection expérimentale chez les Chiens. *C. R. Soc. de Biol.* 107 (79—82).

- Ptaszek L. 1931. — Absorption de l'oxygène par le sang dans le rhumatisme articulaire infectieux. C. R. Soc. de Biol. 108 (1065—1066).
- Ptaszek L. 1932. — Facteurs compensant la diminution du pouvoir d'absorption de l'hémoglobine pour l'oxygène dans l'infection expérimentale chez les animaux. C. R. Soc. de Biol. 109 (1299—1302).
- Rasolt H. i J. Walawski. 1932. — Zachowanie serca po porażeniu układu współczulnego gynergenem. (Doświadczenie studjum elektrokardjograficzne). (Régulation nerveuse du coeur après l'action de „gynergen” sur le système sympathique). Medycyna Doświadczalna i Społeczna 15 (27—51).
- Raszeja S. 1932. — Sur le microdosage du chlore plasmatique et globulaire dans le sang humain. Bull. Intern. Acad. Polon. Classe de Médecine. 1—3 (129—140).
- Reis K. 1932. — La métamorphose des greffes hétéroplastiques de la peau des Amphibiens néoténiques (*Proteus anguineus*). C. R. Soc. de Biol. 109 (1015—1018).
- Rogosiński F. 1931. — Sur le rachitisme expérimental. II. Comparaison de quelques régimes rachitigènes. Bull. Intern. Acad. Polon. Cracovie. 1 BII (1—20).
- Rogosiński F. 1931. — Sur le rachitisme expérimental. III. L'influence du chlorure d'ammonium sur le métabolisme minéral du rat rachitique. Bull. Intern. Acad. Polon. Cracovie. 6 BII (555—566).
- Rogosiński F. et M. Starzewska. 1930. — Sur le rachitisme expérimental. I. L'influence des rayons ultraviolets sur le métabolisme minéral et sur la composition des os. Bull. Intern. Acad. Polon. 3—4 BII (157—178).
- Rosenblatt J. 1931. — Cięża a wewnętrzna wydzielina. (Grossesse et la sécrétion interne). Medycyna Doświadczalna i Społeczna. 14 (559—569).
- Rosnowski M. i S. Marzewski. 1932. — W sprawie metodyki określania stężenia jonów wodorowych (pH) we krwi zapomocą elektrody wodorowej, ze szczególnem uwzględnieniem elektrody strzykawkowej C. H. Lascha. (Sur la méthode de définition de la concentration des ions d'hydrogène (pH) dans le sang au moyen de l'électrode de C. H. Lasch). Medycyna Doświadczalna i Społeczna. 15 (358—375).
- Rowińska A. 1931. — Badania nad zachowaniem się kwasu moczowego we krwi. (Recherches on the action of blood on uric acid). Acta Biologiae Experimentalis. 6 (37—44).
- Saks S. 1930. — O przemianie mineralnej podczas głodu u psa. (Ueber den Mineralstoffwechsel beim Hunde während des Hungers). Acta Biologiae Experimentalis. 5 (225—256).
- Schusterówna H. 1931. — De l'influence des rayons X sur les éléments réticuloendothéliaux de la rate. C. R. Soc. de Biol. 108 (168—170).

- Seydel J. 1932. — Sur certaines souches de *B. coli* ayant perdu la propriété de faire fermenter le lactose. C. R. Soc. de Biol. *111* (107—108).
- Sierakowski S. i E. Łęczycka. 1932. — Zmiany przewodnictwa elektrycznego w hodowlach bakteryjnych. (Changements de la conductibilité électrique dans les cultures bactériennes). *Medycyna Doświadczalna i Społeczna*. *15* (426—438).
- Sikorski H. 1932. — Działanie pituitryny wprowadzonej do płynu mózgowordzeniowego na czynność nerek. (Influence de la pituitrine introduite dans le liquide céphalo-rachidien sur l'action des reins). *Medycyna Doświadczalna i Społeczna*. *15* (267—295).
- Sikorski H. 1932. — Ueber Nierenwirkung des Pituitrins nach intralumbaler Einführung. *Bull. Intern. Acad. Polon. Classe de Médecine*. *4—8* (307—320).
- Skalińska M. 1930. — Próba określenia roli cytoplazmy u mieszańców matroklinalnych rodzaju *Aquilegia*. (On the significance of the cytoplasm in matroclinous hybrids of *Aquilegia*). *Acta Biologiae Experimentalis*. *5* (1—18).
- Skalińska M. 1932. — Le mécanisme cytologique de la disjonction d'un échantillon allotétraploïde d' *Aquilegia*. C. R. Soc. de Biol. *111* (97—100).
- Skarżyńska - Gutowska M. 1930. — O wpływie doustnego podawania hormonów przedniego płatu przysadki mózgowej na nieśność kur. (Influence du lobe antérieur de l'hypophyse sur la production des oeufs chez la poule). *Sprawozdania z posiedzeń T. N. W. w. IV*. *23* (128—131).
- Skarżyńska - Gutowska M. 1931 — O stosunku ilościowym pomiędzy wielkością grzebienia, a masą jąder u kogutów. (On the relation of comb size and amount of gonads in the domestic fowl). *Sprawozdania z posiedzeń T. N. W. w IV*. *24* (90—107).
- Skarżyński B. 1931. — Zur Kenntnis des Follikelhormons. (Vorläufige Mitteilung). *Zeitschr. f. physiol. Chemie*. *196* (19—22).
- Skowron S. et T. Pawlas. 1931. — Observations relatives à l'action exercée sur l'organisme par la gonacrine. *Bull. Intern. Acad. Polon.* *3—5 BII* (466—474).
- Skowron S. et T. Pawlas. 1932. — Some observations on the effect of gonacrin on the eggs and embryos of the rabbit. *Bull. Intern. Acad. Polon.* *1—4 BII*. (106—111).
- Skowron S. et H. Skowron. 1930. — De l'action de la tripaflavine sur la division karyokinétique de la cellule. *Bull. Intern. Acad. Polon.* *7—8 BII* (419—432).
- Skupieński F. 1930. — Influence de la température sur la fructification de *Didymium nigripes* (Fr). *Acta Soc. Botan. Polon.* *7* (241—249).
- Słotwiński J. 1931. — Sur le caractère de la sécrétion des glandes olfactives de Bowman chez les Mammifères. C. R. Soc. de Biol. *108* (599—602).

- Słoniński P. 1930. — Badania doświadczalne nad genezą krwi u zarodków płazów (*Amphibia*). (Recherches expérimentales sur la genèse du sang chez les embryons des *Amphibiens*). Folia Morphologica. 2 (162—254).
- Słoniński P. 1931. — Sur la genèse des globules rouges chez les Oiseaux. C. R. Assoc. des Anatomistes. R. 26. (478—495).
- Słoniński P. 1931. — Recherches expérimentales sur la genèse du sang chez les Amphibiens. Arch. de Biologie. 42 (415—477).
- Słoniński P. i Z. Łapiński. 1932. Nowa technika histochemicznego ujawniania hemoglobiny. (A new technique for the histochemical detection of haemoglobin). Folia Morphologica. 4 (78—84).
- Słoniński P. und Z. Łapiński. 1932. — Zur Methodik des histochemischen Nachweises von Hämoglobin und dessen Verbindungen. Zeitschr. f. Zellforsch. u. mikr. Anat. 16 (653—658).
- Sosnowski J. 1930. — Obserwacje nad oddychaniem mięśni gładkich. (Observations sur la respiration des muscles lisses). Sprawozdania z posiedzeń T. N. W. w. IV. 23 (144—146).
- Sosnowski J. 1930. — O zastosowaniu piedzokwarcu do badania izometrycznego skurczu mięśnia. (Sur l'application de quartz piézoélectrique au recherche de contraction de muscle). Sprawozdania z posiedzeń T. N. W. w. IV. 23 (148—149).
- Spasowicz T. 1932. — Diminution temporaire de la sensibilité à l'action de la folliculine chez les Rates châtrées. C. R. Soc. de Biol. 111 (105—106).
- Sterling - Okuniewski S. und T. Kawecki. 1931. — Ueber die Einwirkung der α — Strahlen der Emanation auf die Bakterien. Bull. Intern. Acad. Polon. Classe de Médecine 4—6 (171—186).
- Sterling - Okuniewski S. i Z. Pęska. 1931. — O wpływie emanacji radowej na pewne własności biologiczne surowic ludzkich. Rozprawy Polsk. Akad. Um. (Lek.). 1 N. 6.
- Sterling - Okuniewski S. et Z. Pęska. 1930. — L'influence de l'émanation du radium sur certaines propriétés biologiques des sérums humains. Bull. Intern. Acad. Polon. Classe de Médecine 2 (293—294).
- Sterling - Okuniewski S. et Z. Pęska. 1931. — La fluorescence des sérums. C. R. Soc. de Biol. 107 (289—291).
- Supniewski J. 1931. — Własności farmakologiczne bizmutowych pochodnych benzenu. Rozprawy Polsk. Akad. Um. (Lek.). 2 Nr. 3.
- Supniewski J. 1931. — Die pharmakologischen Eigenschaften einiger Wismuthbenzolverbindungen. Bull. Intern. Acad. Polon. Classe de Médecine 4—6 (187—190).
- Supniewski J. 1932. — Untersuchungen über die pharmakologischen Eigenschaften einiger Arsenphenylglykokollharnstoffderivate. Bull. Intern. Acad. Polon. Classe de Médecine. 4—8 (321—326).
- Sym E. 1930. — Lipase and its action. I. The synthetic action of pancreatic lipase in the system: oleic acid-glycerol-water-dissolved lipase. The Biochem. Journ. 24 (1265—1281).

- Sym E. 1931. — Die quantitativen Verhältnisse bei der Bildung und Umwandlung von Methylglyoxal durch Kaltblüter-muskulatur. *Biochem. Zeitschr.* 233 (251—257).
- Sym E. A. 1931. — Kinetik der Esterasewirkung im Vergleich zur Säurekatalyse. *Biochem. Zeitschr.* 230 (19—50).
- Sym E. 1931. — Badania nad syntetycznym działaniem lipazy w układzie: kwas oleinowy, gliceryna, woda i lipaza w stanie rozpuszczonym. (The synthetic action of lipase in the system: oleic acid-glycerol-water-dissolved lipase). *Acta Biologiae Experimentalis.* 6 (1—28).
- Sym E. 1932. — Einfluss des kolloidalen Zustandes der Stärke und der Amylaselösung auf die Geschwindigkeit der Amylolyse. *Biochem. Zeitschr.* 251 (116—132).
- Sym E. 1932. — Eine colorimetrische Methode zur Bestimmung der Amylasewirkung und ihre Anwendung. *Biochem. Zeitschr.* 253 (1—10).
- Sym E. 1933. — Ueber die Esterasewirkung. III. *Biochem. Zeitschr.* 258 (304—324).
- Sym E., R. Nilsson und H. v. Euler. 1930. — Co-Zymasegehalt verschiedener tierischer Gewebe. *Zeitschr. f. physiol. Chemie.* 190 (228—246).
- Synieński W. und S. Ziemiński. 1932. — Ueber das optimale Mengenverhältnis der α — und β — Diastase beim Verzuckern der Kartoffelstärke. *Biochem. Zeitschr.* 253 (266—274).
- Szabuniewicz B. 1931. — Dodatnie spolaryzowanie mięśnia a skurcz mechaniczny. *Rozprawy Polsk. Akad. Um. (Lek.).* 1. N. 3.
- Szabuniewicz B. 1932. — Nowe zasady elektrofizjologii mięśni. (Sur les bases nouvelles d'électrophysiologie des muscles). *Medycyna Doświadczalna i Społeczna.* 15 (107—140).
- Szabuniewicz B. 1930. — Die positive Polarisation des Muskels bei den Tätigkeitszuständen. *Bull. Intern. Acad. Polon. Classe de Médecine.* 2 (195—210).
- Szulec J. 1932. — Wpływ stanu napięcia układu autonomicznego na krzepliwość krwi człowieka. (Influence de tension du système autonome sur la coagulation de sang chez l'homme). *Medycyna Doświadczalna i Społeczna.* 15 (253—266).
- Świder Z. i J. Walański. 1931. — Badania nad antagonizmem trypsyno-insulinowym. (Recherches sur l'antagonisme de la tripsine et de l'insuline). *Medycyna Doświadczalna i Społeczna.* 13 (1—24).
- Świąszkowski T. 1931. — Studja nad bakterjofagami. (Etude sur le bactériophage). *Medycyna Doświadczalna i Społeczna.* 14 (532—543).
- Trawiński A. 1931. — Participation de la peau à la formation des agglutinines. *C. R. Soc. de Biol.* 107 (77—78).
- Truszkowski R. 1930. — Urikaza i jej działanie. (Uricase and its action). *Acta Biologiae Experimentalis.* 5 (257—316).
- Truszkowski R. 1930. — Purinolytic enzymes of the human organism. *The Biochem. Journ.* 24 (1681—1686).

- Truszkowski R. 1930. — Uricase and its action. II. Bacterial nature of the action of uricolytic extracts and dialysates. *The Biochem. Journ.* 24 (1340—1348).
- Truszkowski R. 1930. — Uricase and its action. IV. Preparation and properties of ox-kidney uricase. *The Biochem. Journ.* 24 (1359—1370).
- Truszkowski R. 1932. — Uricase and its action V. Further examination of ox-kidney uricase. *The Biochem. Journ.* 26 (285—291).
- Tychowski W. 1932. — Ueber die Erregbarkeit der Kleinhirnrinde. *Bull. Intern. Acad. Polon. Classe de Médecine.* 4—8 (205—212).
- Venulet F. et F. Goebel. 1932. — Sur l'origine de la vitastérine D dans l'organisme. *C. R. Soc. de Biol.* 111 (1026—1029).
- Vetulani T. 1929. — Wzrost zwierząt ssących w zależności od ilości trzymanyh razem osobników. Cz. I. Spostrzeżenia nad myszami. (Growth of mammals in dependence on the number of specimens reared together. I. Observations on mice). *Pamiętnik Państw. Inst. Nauk. Gosp. Wiejsk. w Puławach.* 10 (202—292).
- Vetulani T. 1930. — Doświadczenia nad dziedziczeniem ciężaru ciała oraz niektórych wymiarów u myszy w stadjum noworodka. (Experiments on the inheritance of bodyweight and of some dimensions in new-born mice). *Pamiętnik Państw. Inst. Nauk. Gosp. Wiejsk. w Puławach* 11 (456—476).
- Walański J. 1931. — Effet de l'adrénaline sur le tracé de la pression sanguine pendant l'asphyxie. *C. R. Soc. de Biol.* 111 (95—97).
- Walański J. 1932. — Badanie odruchu Rossolimo metodą graficzną. (Recherches sur le réflexe Rossolimo par la méthode graphique). *Medycyna Doświadczalna i Społeczna.* 15 (234—242).
- Wensław A. 1931. — Etude expérimentale comparée du pouvoir phagocytaire de l'épithélium pulmonaire. Les phénomènes de phagocytose dans les poumons des Batraciens, des Reptiles et des Oiseaux. *C. R. Soc. de Biol.* 106 (872—876).
- Wensław A. 1931. — Recherches expérimentales sur la métaplasie de l'épithélium pulmonaire. *C. R. Soc. de Biol.* 106 (863—867).
- Węgiérko J. 1932. — Recherches sur la sécrétion de la bile hépatique. *Bull. Intern. Acad. Polon. Classe de Médecine.* 1—3 (83—94).
- Wierzuchoński M. 1930. — Przetwarzanie cukrów, wprowadzanych dożylnie ze stałą prędkością. I. Ogólna technika pracy. (Le métabolisme des sucres injectés par la voie intraveineuse à vitesse constante. I. La technique générale). *Acta Biologiae Experimentalis.* 5 (87—94).
- Wierzuchoński M. 1930. — Przetwarzanie cukrów, wprowadzanych dożylnie ze stałą prędkością. V. Swoisto-dynamiczne działanie i utlenianie glikozy, fruktozy i galaktozy. (Le métabolisme des sucres injectés par la voie intraveineuse à vitesse constante. V. L'action dynamique spécifique et oxydation du glycose, du fructose et du galactose). *Acta Biologiae Experimentalis.* 5 (161—206).

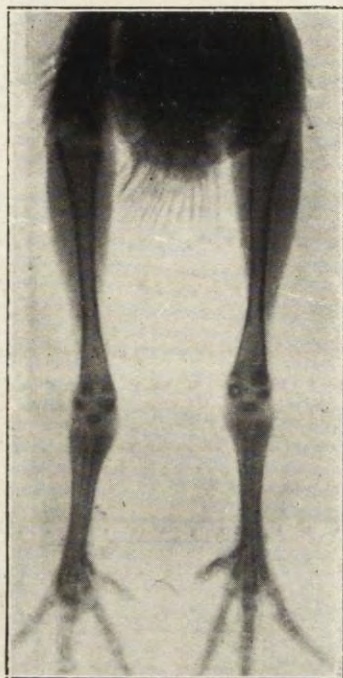
- Wierzuchowski M. 1931. — Przetwarzanie cukrów, wprowadzanych dożylnie ze stałą prędkością. VI. Wpływ hormonów, głodu i czynników pokarmowych na przyswajanie galaktozy i glikozy. (Le métabolisme des sucres injectés par la voie intraveineuse à vitesse constante. VI. L'influence des hormones, du jeûne et des facteurs alimentaires sur l'assimilation du galactose et du glycose). *Acta Biologiae Experimentalis*. 6 (251—321).
- Wierzuchowski M. and M. Laniewski. 1931. — Intermediärer Kohlenhydratstoffwechsel. VII. Mitteilung: Milchsäureproduktion bei intravenöser Dauerinjektion der Glykose, Fructose und Galaktose. *Biochem. Zeitschr.* 230 (173—186).
- Wierzuchowski M. 1931. — Intermediärer Kohlenhydratstoffwechsel. VIII. Respiratorischer Gaswechsel der Glykose, Fructose und Galaktose bei ihrer intravenösen Injektion. *Biochem. Zeitschr.* 239 (187—224).
- Wierzuchowski M. 1931. — Intermediärer Kohlenhydratstoffwechsel. IX. Mitteilung: Intravenöse Galaktoseassimilation unter dem Einfluss der Hormone, des Hungers und der Nahrungsfaktoren. *Biochem. Zeitschr.* 237 (92—102).
- Wierzuchowski M. 1931. — Intermediärer Kohlenhydratstoffwechsel. X. Mitteilung: Ueber die erste Phase der Traubenzuckerassimilation. *Biochem. Zeitschr.* 237 (103—128).
- Wierzuchowski M. i W. Pieskow. 1930. — Przetwarzanie cukrów, wprowadzanych dożylnie ze stałą prędkością. II. Glikoza, fruktoza i galaktoza we krwi. (Le métabolisme des sucres injectés par la voie intraveineuse à vitesse constante. II. Glycose, fructose et galactose dans le sang). *Acta Biologiae Experimentalis*. 5 (95—116).
- Wierzuchowski M. i E. Owsiany. 1930. — Przetwarzanie cukrów, wprowadzanych dożylnie ze stałą prędkością. III. Wydalanie monoheksoz z moczem, obrót fosforu i gospodarka wodna. (Le métabolisme des sucres injectés par la voie intraveineuse à vitesse constante. III. Elimination des mono-hexoses avec l'urine, le métabolisme du phosphore et de l'eau). *Acta Biologiae Experimentalis*. 5 (117—146).
- Wierzuchowski M., W. Pieskow und E. Owsiany. 1931.— Intermediärer Kohlenhydratstoffwechsel. VI. Mitteilung: Zuckerassimilation, Phosphor-und Wasserstoffwechsel bei intravenöser Dauerinjektion der Glykose, Fructose und Galaktose. *Biochem. Zeitschr.* 230 (146—172).
- Witanowski W. 1931. — Sur la teneur des néoplasmes en choline, en colamine et en phosphore lipidique. *Bull. Intern. Acad. Polon. Classe de Médecine*. 4—6 (191—200).
- Witanowski W. R. 1930. — Fosfatydy. I. O fosfatydach wątroby królika. (Phosphatide. I. Ueber die Phosphatide im Leber des Kaninchens). *Acta Biologiae Experimentalis*. 5 (207—216).

- Witanowski W. R. 1930. — Fosfatydy. II. O losie związków cholinowych w organizmie królika, pozbawionego nadnerczy. (Phosphatide. II. Ueber den Schicksal der Cholinverbindungen im Organismus des Kaninchens nach Nebennierenextirpation). *Acta Biologiae Experimentalis*. 5 (217—224).
- Wojtulewski K. 1930. — Wpływ tkanki embrjonalnej na wzrost kurcząt. (Influence du tissu embryonnaire sur la croissance des poulets). *Sprawozdania z posiedzeń T. N. W. w. IV*. 23 (139—143).
- Wojtusiak R. 1930. — Weitere Untersuchungen über die Raumorientierung bei Kohlweisslingraupen. *Bull. Intern. Acad. Polon.* 9—10 (629—656).
- Wolański A. 1931. — Studja nad reakcją Manojłowa i niektórymi innymi reakcjami kolorymetrycznymi na pleć u ludzi, zwierząt i roślin. (Studies on the Manoiloff reactions and some other colorimetric sex-reactions in man, animals and plants). *Acta Biologiae Experimentalis*. 6 (173—210).
- Wóycicki St. 1930. — Mutacje strąków i nasion u fasoli. (Mutations des gousses et des graines chez *Phaseolus vulgaris*). *Acta Soc. Botan. Polon.* 7 (103—114).
- Zakolska Z. 1931. — Wpływ przedniego płatu przysadki mózgowej na jajniki i drogi rodne kur. (Influence du lobe antérieur de l'hypophyse sur l'ovaire et le tractus génital chez la poule). *Sprawozdania z posiedzeń T. N. W. w. IV*. 23 (131—139).
- Ziemia M. 1931. — Blütenbiologische Beobachtungen in den polnischen Ostkarpaten mit Berücksichtigung einiger Pflanzenassoziationen. *Bull. Intern. Acad. Polon.* 1—5 BI (1—18).
- Zweibaum J. et M. Ostrouch. 1931. — Recherches sur l'action du plasma d'animaux sarcomateux sur les fibroblastes du poulet cultivés *in vitro*. *Bull. Intern. Acad. Polon. Classe de Médecine*. 3 (53—60).
- Zweibaum J. et M. Ostrouch. 1931. — Sur la cytologie des cellules cultivées dans le plasma d'animaux sarcomateux. *Bull. Intern. Acad. Polon. Classe de Médecine*. 7—9 (251—256).
- Zweibaum J. et A. Elkner. 1930. — Les structures cytoplasmiques et l'appareil de Golgi dans les cellules cultivées *in vitro*. *Arch. f. experim. Zellforschung*. 9 (419—445).
- Zweibaum J. 1930. — Wpływ wyciągów z gruczołów dokrewnych na wzrost komórek normalnych nowotworowych hodowanych *in vitro*. *Nowotwory*. 5 (1—33).
- Zweibaum J. et M. Ostrouch. 1931. — Sur l'action du plasma sarcomateux sur les fibroblastes cultivés *in vitro*. *C. R. Assoc. des Anatomistes. R.* 26 (552—555).

1.



2.



3.



4.



5.

<http://rcin.org.pl>



Fig. 1.

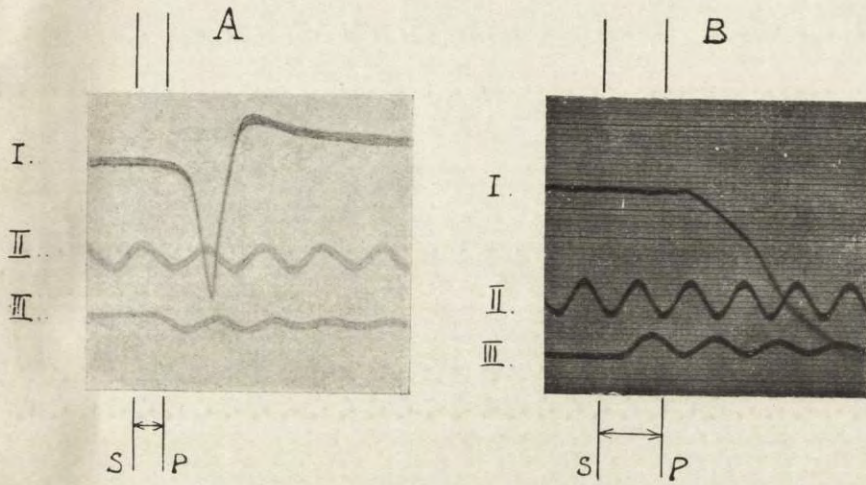
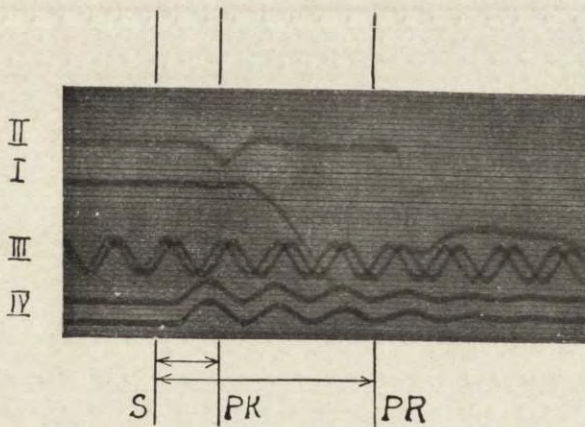


Fig. 2.



W. Z. Tychowski.



Acta Biologiae Experimentalis

Wskazówki dla autorów:

Do druku są przyjmowane nieogłoszone dotychczas w obcych czasopismach naukowych prace, wykonane w polskich lub zagranicznych zakładach badawczych. Rękopisy (pisane po polsku, ze streszczeniem w jednym z czterech języków kongresowych, nie przekraczającym 10% tekstu polskiego, lub też pisane w języku obcym, z odpowiednim streszczeniem polskim) nie powinny w zasadzie przekraczać objętości jednego arkusza druku. Rękopisy winny być pisane możliwie zwięźle, zupełnie czytelnie (lepiej — maszynowo na interlinji, zaś tekst obcojęzyczny obowiązkowo na maszynie), z marginesem, na jednej stronie kartek (jednakowej wielkości), z zakreśleniem ustępów mniej ważnych (historja zagadnienia, kwestje metodyczne i techniczne, protokoły doświadczeń, spis piśmiennictwa), które będą drukowane *petitem*.

Autorowie są proszeni o nadsyłanie rękopisów w redakcji ostatecznej, wyłączającej zmiany lub uzupełnienia tekstu w czasie korekty.

Uprasza się o przestrzeganie w układzie rękopisu następującej kolejności: 1^o, nazwa zakładu, w którym praca została wykonana; 2^o, imię (lub lepiej — tylko inicjały) i nazwisko autora; 3^o, tytuł pracy możliwie krótki i ściśle odpowiadający treści w języku polskim i poniżej — w języku obcym; 4^o, streszczenie w jednym z języków kongresowych (jako wzór — komunikaty w C. R. Soc. de Biol.); 5^o, tekst polski; 6^o, polskie streszczenie głównych wyników, o charakterze obiektywnym i w formie, dającej się bezpośrednio zużytkować w czasopismach bibliograficznych; 7^o, piśmiennictwo; 8^o, objaśnienie rysunków w tablicach pozatekstowych (w dwu językach).

Podkreślenia: 1^o, rozdziały pracy — trzema linjami ciągłymi; 2^o, nazwiska autorów w tekście — dwiema linjami ciągłymi; 3^o, ustępy tekstu o charakterze wniosków — jedną linią przerywaną; 4^o, nazwy łacińskie w tekście (rodzaje i gatunki zwierząt i roślin, nazwy anatomiczne) oraz tekst obcojęzyczny w tabelach liczbowych, w objaśnieniach rysunków w tekście i do tabel pozatekstowych — jedną linią falistą

Cytaty: po nazwisku autora, cytowanego w tekście, należy umieścić w nawiasach dwie ostatnie cyfry roku wydania pracy, poprzedzone przecinkiem u góry; np.: Godlewski ('91).

Tabele liczbowe: na oddzielnych kartkach (tego samego formatu, co rękopis), z nagłówkami ogólnymi i kolumnowymi w dwu językach, ułożone oszczędnie (należy unikać kolumn mało wypełnionych), numeracja rzymska.

Rysunki: reprodukcja wyłącznie cynkofotograficzna (kreskowa lub siatkowa), jednobarwna; liczba rysunków możliwie ograniczona; wielkość nieprzekraczająca — po zmniejszeniu (najlepiej do $\frac{1}{2}$) — 50 cm². Objasnienia do rysunków w tekście (dwujęzyczne) na oddzielnych kartkach — wklejonych w odpowiednie miejsca rękopisu.

Piśmiennictwo, ułożone w porządku alfabetycznym, nazwisk autorów, w formie przyjętej w bibliografji: 1^o, nazwisko i inicjały imion autora (potrójne podkreślenie); 2^o, rok wydania pracy lub książki (cyfra pełna); 3^o, pełny tytuł publikacji; 4^o, skrócony tytuł czasopisma; 5^o, tom (cyfry arabskie, potrójne podkreślenie); 6^o, pierwsza strona pracy (w nawiasie). Np.: Nenecki M. und J. Zaleski. 1901. Über die Bestimmung des Ammoniaks in tierischen Flüssigkeiten und Geweben. Zeitschr. physiol. Chem. 33 (193), Opera Omnia. 2 (806).

Autorowie otrzymują 60 odbitek pracy gratis. Odbitki nadliczbowe można nabyć w cenie kosztu (arkusz druku — ok. 45 gr., okładka — 10 gr.) za uprzednim zamówieniem, które należy nadesłać wraz z pierwszym arkuszem korekty.



Drukarnia i Litografia
JAN COTTY
w Warszawie, Kapocynska 7.