

3

Z BADAŃ NAD WZROSTEM ZARODKÓW PŁAZÓW

PRZEZ

KAZIMIERZA BIAŁASZEWICZA



KRAKÓW
NAKŁADEM AKADEMII UMIEJĘTNOŚCI
SKŁAD GŁÓWNY W KSIĘGARNI SPÓŁKI WYDAWNICZEJ POLSKIEJ
1909.

Z BADAŃ NAD WZROSTEM
ZARODKÓW PŁAZÓW

KAZIMIERZ BIAŁY

Osobne odbicie z Rozpraw Wydziału mat.-przyr. T. XLVIII. Serya B.

Z badań nad wzrostem zarodków płazów

przez

Kazimierza Białaszewicza.

Rzecz przedstawiona przez członków E. Godlewskiego i K. Kostaneckiego na posiedzeniu Wydz. mat.-przyr. dnia 6 lipca 1908.

W fizyologii zwierzęcej pojęcie wzrostu jest znacznie ściślej określone niż w fizyologii roślinnej. Większość zoologów przyjmuje za probierz wzrostu powiększanie się objętości ustroju. Najpoprawniejszą definicyę podał ostatnimi czasy Schaper (02), który za wzrost uważa „normalne zjawisko życiowe, które polega na trwałem powiększaniu się objętości organizmu... w czasie jego rozwoju postępowego“.

W zakresie literatury zoologicznej roztrząsania teoretyczne znacznie wyprzedziły zapoczątkowanie badań opisowych i eksperymentalnych. Takie też znaczenie posiadają dawniejsze prace Hisa (74), Rouxa i Driescha (94), w których spotykamy analizę samego zjawiska wzrostu.

Badania doświadczalne nad zagadnieniem wzrostu zwierzęcego rozpoczęte zostały przez Loeba. Tak jak w wielu działach biologii współczesnej, tak też i w tym kierunku prace jego mają zasadnicze znaczenie. Jego rozprawa p. t. „*Untersuchungen zur physiologischen Morphologie der Tiere*“ pojawiła się w czasie (91—92), gdy w fizyologii roślinnej sformułowana już została osmotyczna teoria wzrostu, gdy natomiast w ówczesnych podręcznikach fizyologii zwierząt istniała nieraz, według słów jego, tylko nazwa fizyologii wzrostu zwierzęcego. W poszukiwaniach tych, dokonanych pod wpływem poglądów i badań głównie Sachsa (87) na wzrost ko-

mórki roślinnej, badał Loeb wpływ zmiany zawartości wody w ustroju *Tubularii* na szybkość wzrostu podczas procesów regeneracyjnych. Zawartość wody w tym organizmie zmieniał on, powiększając lub zmniejszając stężenie wody morskiej, w której zwierzęta te były hodowane. Doświadczenia wykazały, że wzrost postępuje szybciej, jeżeli zawartość wody w ustroju zostanie powiększona do pewnych granic, powolniej zaś wtedy, jeśli się ją zmniejszy lub poza granicę optymalną powiększy.

W zapatrywaniach swoich na mechanizm pobierania wody przez rosnące organizmy zwierzęce Loeb stanął na stanowisku procesów osmotycznych. Uzasadnienie poglądów Loeba w tym względzie spotykamy, oprócz w pracy, omawianej powyżej, w szeregu innych, np. przy objaśnianiu hipertrofii czynnościowej mięśni, w pracach nad sztuczną partenogenezą i nad wpływem ciśnienia osmotycznego na procesy bródkowania.

Te poglądy Loeba, sprowadzające zjawisko pobierania wody do osmotycznych właściwości organizmów zwierzęcych, zyskały wybitne znaczenie dla fizjologii wzrostu embryonalnego dzięki wynikom badań Davenporta (97) nad udziałem ilościowym wody w procesach wzrostu. W badaniach, obejmujących 84 dni rozwoju żab od chwili wyklucia, autor ten oznaczał co pewien czas wagę zarodków za życia i wagę po wysuszeniu; różnica wagi odpowiada ilości wody zawartej w zarodkach. Na podstawie wyników tych ważeń Davenport stwierdził, że w rozwoju zarodków płazów występuje okres, w ciągu którego organizm rośnie głównie kosztem pobieranej z otoczenia wody. Okres ten autor paralelizuje z „wielkim okresem wzrostu“ u roślin.

Rozpoczęte przez Davenporta badania nad udziałem wody we wzroście żab zostały ponownie podjęte przez Schapera (02). Poszukiwania autora tego zostały wykonane bardziej szczegółowo i obejmują obszerniejszy okres rozwojowy niż badania Davenporta. Rozpoczynają się one od stadyów nieco wcześniejszych, mianowicie na dwa dni przed wykluciem, i tyczą się niebadanego przez Davenporta okresu przemian metamorfotycznych i dalszego ciągu rozwoju aż do dojścia żab do dojrzałości. Metody Schapera były po części te same, któremi posługiwał się Davenport; nadto określał Schaper w substancji suchej zarodków zawartość substancji organicznych i popiołu i przeprowadzał pomiary objętościowe zarodków za życia. W oznaczeniach objętościowych posłu-

giwał się on kalibrowaną biuretą, napełnioną częściowo wodą destyloowaną. Do biurety tej z pomocą specjalnej płytki blaszanej, której objętość była znana, pograżał badane larwy, możliwie dokładnie pozbawione przylegającej do ich powierzchni wody. Po odczytaniu stanu wody w biurecie przed i po wprowadzeniu zarodków wraz z płytką, z różnicy między obydwoma poziomami wyliczał następnie, po uwzględnieniu objętości płytki, objętość wprowadzonych do biurety larw.

Z tablic, które na podstawie swych badań zestawił Schaper wynika potwierdzenie w całej rozciągłości obserwacji Davenporta, zgodnie z którą w początkowych okresach rozwojowych zarodków żaby wzrost odbywa się głównie przez pobieranie ze środowiska wody.

Dalszą część pracy Schapera stanowią rozważania analityczno-teoretyczne. W części tej zasługą Schapera było wykazanie, że wyróżniane przez Davenporta kategorie morfologicznych składników wzrostu („plasma“, „cellsap“, „formed substance“) nie wyczerpują wszystkich części składowych organizmu, których powiększanie się może powodować wzrost całego ciała. Schaper udowadnia, że przez tego autora zostało przeoczone niezmiernie ważne znaczenie, które posiadają w tym względzie nieuformowane substancje międzykomórkowe. W myśl tego autor odróżnia z punktu widzenia lokalizacji dwa rodzaje wzrostu: wewnątrz- i międzykomórkowy.

W dalszym ciągu swej pracy Schaper drogą porównywania zdjęć fotograficznych z przekrojów przez zarodki, utrwalane w różnym czasie po zapłodnieniu, stara się udowodnić, że znaczna część pobieranej przez zarodki wody zostaje zlokalizowana w przestrzeniach międzykomórkowych. Wyrazem powiększania się ilości tej cieczy międzykomórkowej ma być z jednej strony stopniowe rozluźnianie się tkanki mezenchymatycznej, z drugiej zaś powiększanie się pojemności już istniejących jam i powstawanie nowych.

Zestawiając wyniki badań powyższych odczuwa się dobitnie szereg luk w opracowaniu problemu wzrostu embryonalnego. Co do zarodków płazów ujawnia się przedewszystkiem zupełny brak badań, dotyczących początkowych okresów rozwojowych. Następnie, szybkość wzrostu nawet w późniejszych stadiach rozwojowych nie została dotychczas wyznaczona. Wreszcie widoczne są luki w badaniach nad wpływem czynników zewnętrznych na wzrost i na zwią-

zane z tem zjawiskiem procesy pobierania wody. Zadaniem pracy niniejszej było więc przedewszystkiem, po opracowaniu odpowiednio ścisłych metod pomiarowych, rozciągnięcie zapoczątkowanych przez Davenporta i Schapera poszukiwań na najwcześniejsze okresy rozwojowe zarodków żaby. W obrębie tych początkowych stadiów staraliśmy się określić znaczenie wody jako składnika wzrostu. Opierając się na wynikach tych oznaczeń, przystąpiliśmy następnie do zbadania szybkości procesów pobierania wody przez rosnące zarodki żabie. Badania te były prowadzone w stałych i normalnych zewnętrznych warunkach rozwoju. Wreszcie chodziło nam o zbadanie wpływu temperatury na wzrost i związane z nim procesy pobierania wody.

Metodyka.

Badania wykonałem na zarodkach żaby *Rana fusca*. Kultury początkowego okresu rozwojowego, kończącego się stadium gastruli, prowadzone były w możliwie normalnych i dokładnie ustalonych zewnętrznych warunkach rozwoju.

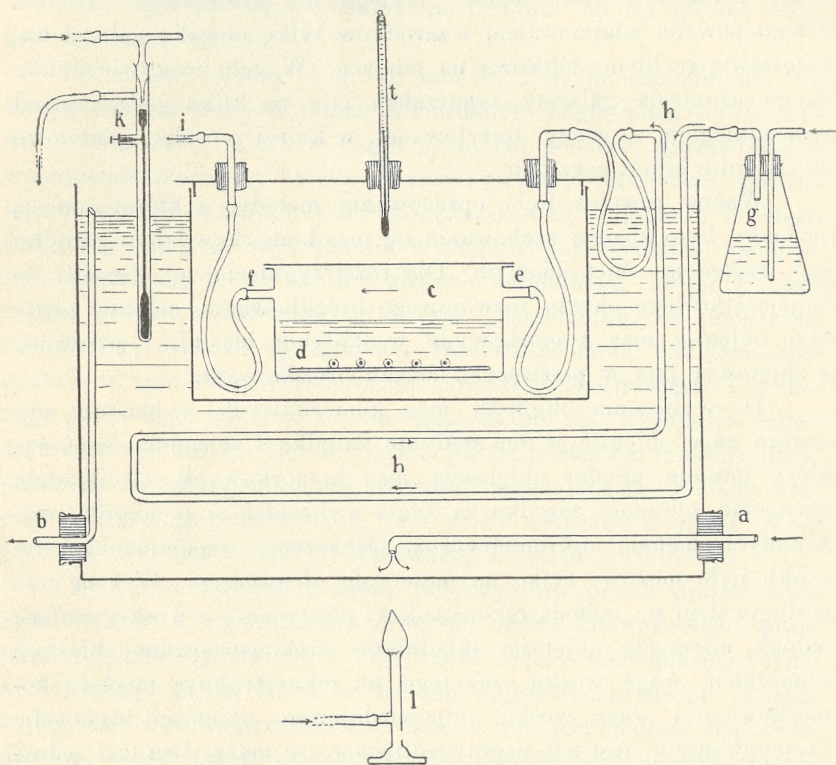
Czynnikiem, wpływającym wybitnie na rozwój jest, jak wiadomo, temperatura. Ponieważ okres składania jaj u badanego gatunku żab przypada na drugą połowę marca i pierwszą kwietnia, bardziej zatem korzystna dla ich rozwoju początkowego jest temperatura niższa, wynosząca około 10° C. Temperaturę tę, niższą od pokojowej, ustalałem z pomocą specjalnie urządzonego termostatu (rys. 1), przez który stale przepływał prąd zimnej wody (*a*, *b*), ogrzewanej do 10° C. płomieniem gazowym (*l*). Dokładnie działający termoregulator (*k*) utrzymywał temperaturę w obrębie 0-5° C. Rozwój zarodków odbywał się w naczyniach szklanych (*c*), zawierających wodę wodociągową. Jaja były przytwierdzone swemi otoczkami galaretowemi do płytek szklanych (*d*), które wraz z jajami mogły być z łatwością wyjmowane ze wspomnianych naczyń.

W celu usuwania powstającego podczas rozwoju dwutlenku węgłowego, który wywiera, jak wiadomo, wpływ hamujący na procesy kształtowania, naczynia te były zaopatrzone w dwie rurki odprowadzające (*f*, *e*) i w szczelnie przyszlifowaną przykrywkę. Powietrze pokojowe, uwolnione od obecności dwutlenku węgłowego (*g*), przechodziło przedewszystkiem przez długą, pogrążoną w wodzie termostatowej, rurkę szklaną (*h*). Stąd dopiero po dojściu do tem-

peratury, panującej w termostacie, wchodziło do naczyń z jajami przez jedną rurkę, przez drugą zaś wychodziło na zewnątrz do aspiratora (*i*).

Badania nad wpływem temperatury na wzrost prowadzone były z pomocą dwu podobnie ustawionych termostatów, wykazujących temperatury 10° i 20° C.

Mierzenia objętości rozwijających się zarodków dokonywałem



Rys. I.

z pomocą dwu metod. W okresach początkowych, gdy zarodek posiada kształt kulisty wzgl. elipsoidalny i wyjęcie go z błony żółtkowej i otoczki galaretowej napotyka na zbyt wielkie trudności, objętość wyliczałem z dwu prostopadłych względem siebie osi równikowych, mierzonych z pomocą śrubowego okularu mikrometrycznego: trzecią oś zarodka przyjmowałem za równą mniejszej osi równikowej. Z chwilą wystąpienia w kształcie kulistym wzgl. eli-

psoidalnym zarodka zmian, które ujawniają się po stadyum gastruli, stosowałem inną metodę. Metoda ta polegała na wyliczaniu objętości ze stosunku masy zarodków za życia do ich ciężaru właściwego. Ciężar właściwy oznaczałem metodą, podaną przez Lyona (07).

Przy oznaczaniu zawartości substancji suchej w zarodkach nasuwają się w początkowych okresach ich rozwoju te same, wspomniane już powyżej trudności techniczne, wpływające z obecności błony żółtkowej, która ściśle przylega do powierzchni zarodka. Z tego powodu zdejmowałem z zarodków tylko otoczkę galaretową, pozostawiając błonę żółtkową na miejscu. W celu możliwie dokładnego usunięcia galarety zanurzałem jaja na kilka godzin przed tym zabiegiem do wody destylowanej, w której otoczka galaretowa niezmiernie silnie pęcznieje.

Ważne również było opracowanie metody, z której pomocą możnaby było zbadać zachowanie się mas komórkowych w zarodku pod względem objętościowym. Dla rozstrzygnięcia tej kwestyi co do początkowego okresu rozwojowego brózdtkowania, należało oznaczyć objętość mas komórkowych w stadyum blastuli i porównać z objętością jaja w pierwszych fazach brózdtkowania.

Do wyliczenia objętości mas komórkowych w blastuli wystarczy znać objętość w tem stadyum zarodka i stosunek ilościowy, który istnieje między objętością mas komórkowych a objętością blastocelu. Objętość zarodka za życia wyliczałem z pomiarów, wykonanych metodą mikrometryczną. Oznaczenie wspomnianego stosunku było możliwe tylko na materiale utrwalonym. W tym celu posługiwałem się metodą rekonstrukcyi plastycznej z wosku, zamiast jednak mierzenia objętości składników zrekonstruowanej blastuli, oznaczałem wagę wosku, zużytego na rekonstrukcyę miąższu komórkowego i wagę wosku, odpowiadającego objętości blastocelu. Postępowanie to jest tem usprawiedliwione, że masy dwa ciała jednolitych i jakościowo jednakich mają się do siebie jak ich objętości.

I. Wzrost w stałych i normalnych zewnętrznych warunkach rozwoju.

Opisane powyżej metody pomiarów objętościowych umożliwiły dokonanie dokładnych badań nad zmianami objętościowymi zarodków żab w najwcześniejszych stadyach ich rozwoju. Otrzymane

przezemnie wyniki tyczą się trzech następujących okresów rozwojowych: 1) od zapłodnienia do stadyum dwu blastomerów; 2) stadya brózdowania i gastrulacyi i 3) okresy późniejsze — od piątego do piętnastego dnia rozwoju.

1. Objętość jaj od zapłodnienia do stadyum dwu blastomerów. Pomiary, dokonywane przed wystąpieniem stadyum dwu blastomerów, wykazują następujące zmiany objętości.

W ciągu pierwszej godziny po dodaniu do jaj spermy objętość ich stale wzrasta.

W czasie między 1 g. 20 min. a 2 g. po zapłodnieniu we wszystkich mierzonych jajach stwierdziłem nagle zmniejszanie się objętości, które w ciągu następnej godziny, poprzedzającej wystąpienie pierwszej brózdki, wyrównywa się całkowicie, poczem jaja ponownie okazują trwale powiększanie się objętości. W ciągu drugiej godziny po zapłodnieniu występuje, jak wiadomo, zjawisko spłaszczenia się jaj w okolicy bieguna animalnego, któremu towarzyszy proces wydzielania się z jaja „perivitelinu“ w przestrzeń, ograniczoną przez błonę żółtkową. Obserwacye moje, dokonane specjalnie w tym celu, potwierdzają powyższe spostrzeżenie i wykazują prócz tego, że wspomniane spłaszczenie się występuje jednocześnie z redukcją objętości jajka. Na tej podstawie możemy przypuszczać, że zmniejszanie się objętości, zjawiające się w ciągu drugiej godziny po zapłodnieniu, jest ściśle związane z utratą przez jajko pewnej ilości cieczy, wchodzącej w skład perivitelinu.

Niektórzy autorowie łączą przyczynowo proces powstawania „perivitelinu“ z wydzielaniem drugiego ciała kierunkowego, przypuszczając, że „perivitelin“ odpowiada cieczy karyoplazmatycznej niedojrzałego jajka, która w trakcie dojrzewania zostaje przezeń wydzielona nazewnątrz. Tłómaczenie to nie jest jednak usprawiedliwione wobec faktu, że wydzielanie „perivitelinu“ po zapłodnieniu występuje i w tych jajach, które normalnie przechodzą procesy dojrzewania przed wniknięciem plemnika. Do tej kategorii należą jaja jeżowców.

Wykonałem dodatkowo szereg pomiarów jaj jednego z przedstawicieli wspomnianej rodziny szkarłupni (*Strongylocentrotus lividus*) przed i po zapłodnieniu. Wyniki, otrzymane z tych pomiarów dowodzą, że i tutaj, podobnie jak u płazów, objętość jaj po wydzieleniu „perivitelinu“ zmniejsza się.

W celu przekonania się, że powyżej omawiane zmiany obję-

tościowe jaj żaby pozostają istotnie w związku ze zmianami, wywołanymi przez zapłodnienie, mierzyłem porównawczo jaja zapłodnione i niezapłodnione, które pochodziły w każdej obserwacji od jednej samicy. Stwierdziłem, że wspomniana redukcja objętości występuje rzeczywiście tylko w tych jajach, które uległy zapłodnieniu.

Co do jaj niezapłodnionych, objętość ich po zanurzeniu do wody stale wzrasta. Ostatnie pomiary wykazały prócz tego, że szybkość powiększania się objętości tych jaj jest wybitnie większa, niż jaj zapłodnionych. W dalszym ciągu tej pracy przekonamy się, że powiększanie się objętości jaj jest uwarunkowane wyłącznie przez pobieranie wody. Stwierdzona zatem różnica jest spowodowana przez różną szybkość pobierania wody przez jaja zapłodnione i niezapłodnione.

Możemy przypuszczać, że przyczyną tego zjawiska jest wydzielanie przez jajko zapłodnione „perivitelinu“. Bezpośrednia obserwacja wykazuje, że przestrzeń, którą zajmuje pierwotnie „perivitelin“, w miarę rozwoju zarodków powiększa się tak, że zawartość błony żółtkowej w chwili wykluwania się zarodków jest kilkakrotnie większa od zawartości pierwotnej. W tym czasie błona żółtkowa stanowi pęcherzyk o silnie napiętych sprężystości ścianach. Zjawisko powiększania się objętości tego pęcherzyka przez pobieranie wody z zewnątrz staje się zrozumiałe, jeżeli się przyjmie, że zarodki żabie produkują i wydzielają ze swego ciała substancje osmotycznie czynne, względem których błona żółtkowa jest nieprzepuszczalna. Tak więc procesy powstawania „perivitelinu“ po zapłodnieniu jaj byłyby zapoczątkowaniem produkcji i wydzielania substancji, których zadanie polega na wytworzeniu w obrębie błony żółtkowej środowiska o podniesionem ciśnieniu osmotycznym.

2. Zmiany objętości w okresie brózdowania i gastrulacji. Pomiary mikrometryczne, odnoszące się do powyższych dwu procesów kształtowania, były dokonywane w stadyach: dwu blastomerów, blastuli i gastruli. Rozwój odbywał się we wszystkich obserwacjach w temp. 10—10·5° C.

Za stadyum końcowe brózdowania przyjmowałem ostatnie chwile blastuli, w których zaczynają się pojawiać na granicy półkuli pigmentowej ślady pierwszego dostrzegalnego wgłębienia gastrulacyjnego. Gastrule mierzyłem w stadyum, w którym wargę

grzbietna nie jest jeszcze całkowicie zamknięta, w którym jednak widać już wyraźnie zaznaczoną smugę ciemniejszą, zamykającą kolisto jasny czop żółtkowy. We wszystkich obserwacjach notowałem ściśle czas występowania powyższych stadyów.

Po wyliczeniu objętości wszystkich mierzonych jaj wyprowadzałem przeciętną objętość jednego jajka w kolejnie mierzonych stadyach, a następnie przeciętny przyrost jednego jajka w czasie brózdtkowania i gastrulacji.

Wyniki pięciu seryj pomiarów dla brózdtkowania i czterech dla gastrulacji, wykonanych na jajach od tyłuż samiec i obejmujących około stu ogółem mierzonych jaj wykazały, że przeciętny przyrost objętości jednego jajka podczas brózdtkowania wynosi około 0.36 cm., w czasie zaś gastrulacji 0.22 cm.

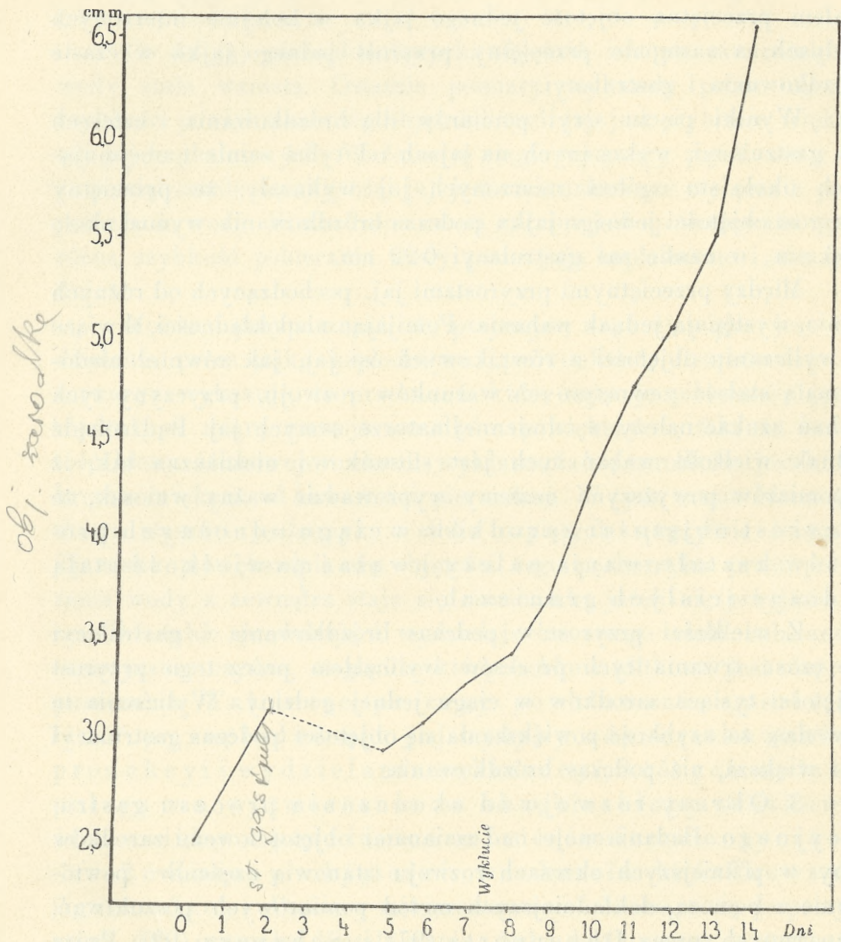
Między przeciętnymi przyrostami jaj, pochodzących od różnych samiec, występują jednak wahania. Pomijając niedokładności, tkwiące w wyliczaniu objętości z równikowych osi jaj, jak również niedoskonałą stałość zewnętrznych warunków rozwoju, przyczyny tych wahań szukać należy w odmiennej naturze samych jaj. Bądźco bądź jednak wielkość wahań tych jest stosunkowo nieznaczna tak, iż z pomiarów powyższych możemy wyprowadzić ważny wniosek, że przyrost objętości zarodków w ciągu odnośnych procesów kształtowania należy uważać na wielkość stałą w dosyć ścisłych granicach.

Z wielkości przyrostów podczas brózdtkowania i gastrulacji i z czasu trwania tych procesów wyliczałem prócz tego przyrost objętości tysiąca zarodków w ciągu jednej godziny. Wyliczenia te dowodzą, że szybkość powiększania się objętości podczas gastrulacji jest większa, niż podczas brózdtkowania.

3. Okresy rozwoju od ukończenia procesu gastrulacyjnego. Badania moje nad zmianami objętościowymi zarodków żaby w późniejszych okresach rozwoju stanowią częściowo powtórzenie z pomocą dokładniejszych metod pomiarowych poszukiwań, rozpoczętych przez Davenporta (97) i Schapera (02). Prócz tego chodziło mi również o wyznaczenie szybkości wzrostu dla tych okresów i o porównanie jej z szybkością wzrostu w początkowych stadyach rozwoju.

W tym celu dokonałem szeregu pomiarów objętościowych na zarodkach, które pochodziły od jednej samicy. Rozwój odbywał się w dużym, płaskim naczyniu szklanym, w temperaturze pokojowej.

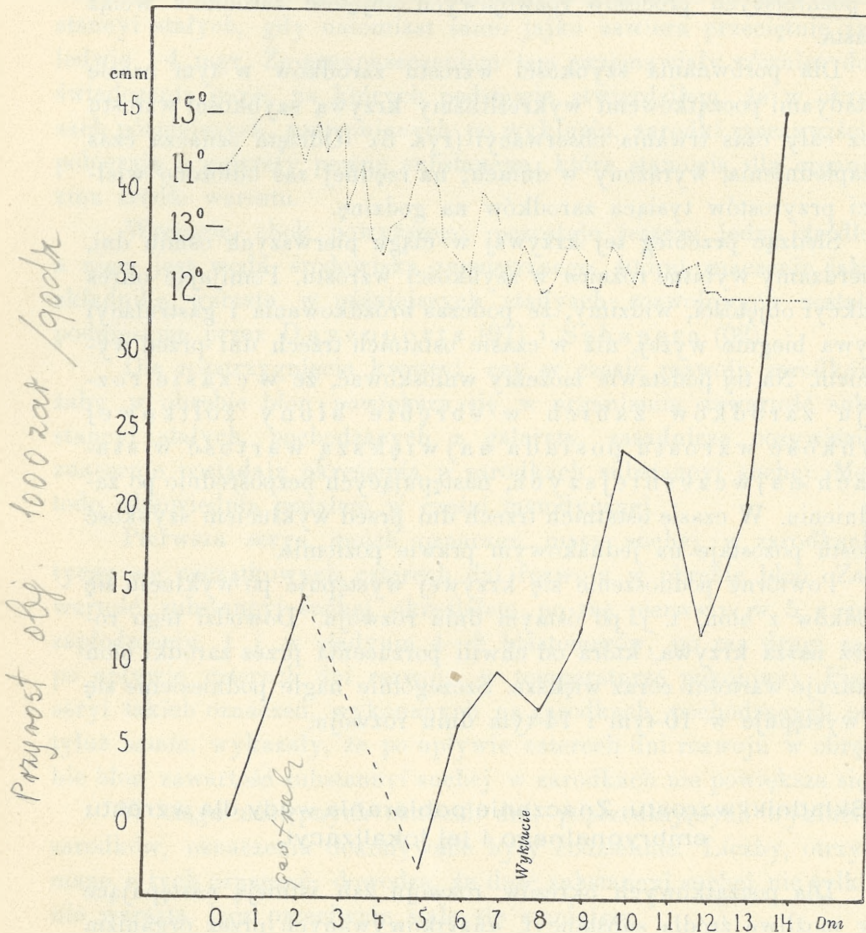
Wysokość temperatury była notowana codziennie w różnych porach dnia. Przebieg wahań temperatury przez cały czas trwania obserwacji został przedstawiony na rys. 3 (str. 429) w postaci przerywanej krzywej.



Rys. 2.

Zarodki w stadium dwu blastomerów i w stadium gastruli, które wystąpiło po 50 g. rozwoju, były mierzone mikrometrycznie. Ze względu na wspomiane w części metodycznej trudności w wyjmowaniu zarodków z błon żółtkowych, następnego pomiaru dokonałem dopiero po upływie 118 g. od zapłodnienia. Poczynając od

tego stadium objętość zarodków wyliczałem według drugiej metody — ze stosunku masy zarodków za życia do ich ciężaru właściwego. Następne pomiary były zdejmowane codziennie, ostatni zaś — w końcu czternastego dnia rozwoju.



Rys. 3.

Otrzymane z tych pomiarów wyniki są przedstawione w postaci krzywych na rys. 2 i 3.

Przeoglądając przebieg krzywej wzrostu absolutnego (rys. 2) stwierdzamy przede wszystkim, że w czasie między 50-tą a 118-tą godziną po zapłodnieniu nastąpiło zmniejszenie się objętości zarod-

ków o 0.2 cm. Możemy przypuszczać, że ta utrata objętości, występująca jednocześnie z bocznem spłaszczaniem się zarodków, jest związana z omawianem powyżej (str. 426) wydzielaniem się z ciała substancji osmotycznie czynnych. Od tego stadyum przez cały szereg późniejszych procesów rozwojowych objętość zarodków wciąż wzrasta.

Dla porównania szybkości wzrostu zarodków w tym czasie ze stadyami początkowymi wykreśliliśmy krzywą szybkości wzrostu przez cały czas trwania obserwacji (rys. 3). Odcięta oznacza czas od zapłodnienia, wyrażony w dniach; na rzędnej zaś odłożono wielkości przyrostów tysiąca zarodków na godzinę.

Śledząc przebieg tej krzywej w ciągu pierwszych ośmiu dni, stwierdzamy wybitne różnice w szybkości wzrostu. Pomijając okres redukcji objętości, widzimy, że podczas bródkowania i gastrulacji krzywa biegnie wyżej, niż w czasie ostatnich trzech dni przed wykluciem. Na tej podstawie możemy wnioskować, że w czasie rozwoju zarodków żabich w obrębie błony żółtkowej szybkość wzrostu posiada największą wartość w stadyach najwcześniejszych, następujących bezpośrednio po zapłodnieniu. W czasie ostatnich trzech dni przed wykluciem szybkość wzrostu pozostaje na jednakowym prawie poziomie.

Powtórne podnoszenie się krzywej występuje po wykluciu się zarodków z błon, t. j. po ósmym dniu rozwoju. Dowodzi tego również nasza krzywa, która od chwili porzucenia przez zarodki błon wykazuje wartości coraz większe. Szczególnie nagłe podniesienie się jej występuje w 10-tym i 14-tym dniu rozwoju.

II. Składniki wzrostu. Znaczenie pobierania wody dla wzrostu embryonalnego i jej lokalizacji.

Dla początkowych okresów rozwoju żab istnieją następujące trzy możliwe źródła substancji, zużytkowywanych przez organizm na sprawy wzrostu: woda otaczająca, sole w niej rozpuszczone i substancje zawarte w otoczce galaretowej. Na zasadzie analizy apriorystycznej, musimy przedewszystkiem wykluczyć przypuszczenie, że powiększanie się objętości zarodków zachodzi wskutek pobierania soli, rozpuszczonych w wodzie. Przeciwno temu przemawia fakt, że rozwój i wzrost zarodków żaby przebiega zupełnie normalnie w wodzie destylowanej.

Bardziej prawdopodobna wydaje się możliwość, że źródłem, z którego zarodki czerpią w początkowych zwłaszcza okresach rozwoju pewne substancje odżywcze, jest otoczka galaretowa. Uskutecznione przezemnie oznaczenia wykazały mianowicie, że w galarecie otaczającej jedno jajko znajduje się około 0.95 mgr. substancji stałych, gdy natomiast samo jajko zawiera przeciętnie zaledwie 1.4 mgr. Za przypuszczeniem tem przemawiały również doświadczenia moje, na których podstawie stwierdziłem, że w okresach późniejszych, następujących po wykluciu, zarodki rzeczywiście pobierają z galarety pewne substancje, które stanowią dla organizmu źródło wzrostu.

Wreszcie, obok powyższego, pozostaje jeszcze jedno źródło, a niem jest woda środowiska zewnętrznego, której znaczenie jako składnika wzrostu w późniejszych stadiach rozwojowych zostało podniesione przez Davenporta (97) i Schapera (02).

Dla rozstrzygnięcia kwestyi, czy w czasie rozwoju zarodków żaby w obrębie błon powiększa się w organizmie zawartość substancji stałych, pochodzących z galarety, zasadnicze oczywiście znaczenie posiadają określenia w zarodkach substancji suchej. Metodę odpowiednią podałem w części metodycznej.

Pierwsza serya moich oznaczeń masy suchej w zarodkach tyczy się początkowych czterech dni rozwoju w obrębie błon. Zawartość substancji suchej określałem po raz pierwszy w 5 g. po zapłodnieniu, t. j. w stadyum 4—8 blastomerów, po raz drugi zaś po upływie czterech dni rozwoju w temperaturze pokojowej. Pięć seryi takich oznaczeń, wykonanych na zarodkach, pochodzących od tyluż samic, wykazały, że po upływie czterech dni rozwoju w obrębie błon zawartość substancji suchej w zarodkach nie powiększa się.

W ciągu następnych czterech dni, poprzedzających wyklucie zarodków, oznaczenia dokonywane były codziennie. Liczby, otrzymane z tych oznaczeń, dowodzą, że ilość substancji suchej nie tylko nie wzrasta, lecz przeciwnie stale się zmniejsza.

Wyniki powyższe wykazują zatem, że poczynając od pierwszych stadyów bródkowania aż do momentu wyklucia się, zawartość substancji suchej w zarodkach nie pomnaża się. Z drugiej strony w poszukiwaniach naszych nad wzrostem w normalnych warunkach zewnętrznych stwierdziliśmy, że w ciągu tego czasu objętość zarodków prawie stale powiększa się. Z zestawienia tych faktów wynika wniosek, dla naszego zagadnienia ważny, iż wzrost

zarodków żaby w czasie rozwoju w obrębie błon polega na wyłącznym pomnażaniu się w organizmie wody, pobieranej z otoczenia.

Z wniosku powyższego wypływa dalsza konsekwencja, że wielkość przyrostu organizmu jako całości uważać należy za miarę pomnażania się w jego obrębie wody. Fakt ten ma ważne znaczenie metodyczne. Jeżeli bowiem przyrost całego organizmu jest równy przyrostowi w nim wody, to unikając uciążliwej metodyki suszeń, ilość tej wody możemy mierzyć wprost wielkością przyrostu całego organizmu. Ponieważ zaś, z drugiej strony, przyrost odbywa się kosztem wody, możemy w badaniach nad wzrostem początkowym stosować zamiast oznaczeń masy metodykę pomiarów objętościowych i odwrotnie.

Wobec powyżej stwierdzonego znaczenia wody jako wyłącznego składnika wzrostu początkowego, kwestya lokalizacji wzrostu sprowadza się do kwestyi zlokalizowanego pobierania przez organizm zarodkowy wody. Z punktu widzenia lokalizacji odróżniamy zaś dwa rodzaje wzrostu: wewnątrz- i międzykomórkowy. Dlatego zbadanie zachowania się podczas rozwoju zarodków objętości dwu składników organizmu: mas komórkowych i przestrzeni międzykomórkowych powinno mieć zasadnicze znaczenie dla kwestyi umiejscowienia w organizmie zarodkowym procesów pobierania wody.

Badania moje w tym kierunku, dotyczące się wyłącznie okresu brózdowania zarodków żaby, zostały wykonane z pomocą wzmiankowanej powyżej (w części metodycznej) metody rekonstrukcji plastycznej. Z porównania objętości mas komórkowo zorganizowanych w blastuli z objętością zarodka w stadium dwu blastomerów wynika, że w ciągu brózdowania objętość mas komórkowych nie tylko nie wzrasta, lecz ulega nawet do syć znacznej redukcji. Zjawisko to należy tłumaczyć w ten sposób, że masy komórkowe tracą część swej objętości na korzyść powstającego blastocelu. Przyczynę tego zjawiska trudno w tej chwili wyjaśnić; okoliczność jednak, że ciecz blastocelu zawiera strącające się podczas utrwalania zarodków ciała białkowe, każe przypuszczać, że utrata objętości mas komórkowych jest związana z produkcją tych rozpuszczonych w wodzie blastocelarnej substancji. Dla nas szczególnie ważny jest fakt, że pomnażanie się

cieczy w blastocelu stanowi wyłączny czynnik wzrostu zarodka.

Na podstawie powyższego wyniku badań nie można zasadniczo wykluczyć przypuszczenia, że komórki mogą pobierać pewną ilość wody, która wchodzi na miejsce substancji, wydzielanych z nich do cieczy blastocelarnej. Przypuszczać jednak możemy, że w razie pobierania wody przez masy komórkowe ilość tej wody w porównaniu z jej zawartością w blastocelu jest znikomo mała.

Nie ulega natomiast wątpliwości, że masy komórkowe pełnią doniosłą rolę w procesach pobierania wody przez całość organizmu, stanowiąc ścianę, przez którą przepływa z otoczenia cała ilość wody, gromadzącej się w blastocelu, resp. w jamach ciała. Prócz tego bardzo prawdopodobne wydaje się, że obwodowe, stykające się bezpośrednio z otoczeniem, warstwy komórkowe posiadają pewien stopień sprężystości.

Fakty i uwagi powyższe nasuwają porównanie całości zarodków, przynajmniej w początkowych, najmniej złożonych stadiach rozwojowych z pojedynczą komórką roślinną: ciecz, mieszcząca się w jamach ciała, odpowiadałaby sokowi komórki roślinnej, rolę zaś otoczki plazmatycznej i błony komórkowej pełniłyby obwodowe, półprzepuszczalne i sprężyste, stanowiące pokrycie ciała zarodków, warstwy elementów komórkowych.

Przechodząc do samego procesu pobierania wody i porównując całość organizmu zarodkowego z pojedynczą komórką roślinną, możemy twierdzić, że stan spoczynkowy może tylko wtedy wystąpić, kiedy ciśnienie, wywierane przez sprężyste napiętą ścianę, zrównoważy ciśnienie wewnętrzne w zarodku. Powiększanie się objętości wskutek pobrania wody ujawni się, gdy ciśnienie wewnętrzne przewyższy opór, stawiany przez ścianę.

Z góry można sądzić, że w urzeczywistnieniu się tej nadwyżki ciśnienia wewnętrznego biorą udział zarówno zmiany w bezwzględnej rozciągliwości sprężystych ścian zarodka, jak też zmiany w wartości ciśnienia wewnętrznego. Zwiększanie się rozciągliwości ściany i podnoszenie się ciśnienia wewnętrznego są momentami, które kombinując się rozmaicie, mogą warunkować procesy pobierania wody.

O zmianach w rozciągliwości świadczą np. zmiany morfogenetyczne w zarodku brózdającym, które prowadzą do powiększania się powierzchni ściany ciała i do zmniejszania się jej grubości.

Co do ciśnienia wewnętrznego, badania Loeba (92—06) i stanowisko innych autorów [Driesch (93—06), Herbst (92, 93) Davenport (97), Schaper (02)], zajmujących się kwestyą wzrostu zwierzęcego, uzasadniają przypuszczenie, iż ciśnienie to jest natury osmotycznej. Czy obok ciśnienia osmotycznego pewne znaczenie posiada również ciśnienie, wywierane przez pęczniejące substancje międzykomórkowe [Pfeffer (04), Pantanelli (04)], nie możemy na razie tego przesądzać. Luki w wiadomościach naszych w tym względzie wypływają z braku w literaturze zoologicznej danych, dotyczących się zachowania się wartości ciśnienia osmotycznego w rosnących zarodkach zwierzęcych.

Obeenie, gdy poznaliśmy znaczenie wody jako składnika wzrostu w pierwszych okresach rozwoju, należy jeszcze z tego punktu widzenia rozpatrzeć wyniki, które otrzymaliśmy z badań nad wzrostem zarodków żabich w stałych i normalnych warunkach zewnętrznych. Biorąc za podstawę rozważań materiał faktyczny, zdobyty w rozdziale poprzednim, dochodzimy do następujących wniosków:

1. Proces pobierania wody rozpoczyna się natychmiast po dokonaniu zapłodnienia (str. 425).

2. Ujawniający się w ciągu drugiej godziny po zapłodnieniu spadek objętości jajka (str. 425) można związać w znacznym stopniu z utratą wody, która stanowi główną część składową „perivitelinu“. Proces wydzielania perivitelinu po zapłodnieniu wywiera wpływ na szybkość dalszego pobierania wody (str. 426). Wpływ ten sprowadza się do działania substancji osmotycznych czynnych, zawartych w perivitelinie. Dowodem istnienia w perivitelinie tych substancji jest omawiane poprzednio (str. 426) powiększanie się w miarę postępu rozwoju przestrzeni perivitelinarnej.

3. Biorąc pod uwagę okres rozwoju od chwili wystąpienia pierwszej brózdki aż do wyklucia się zarodków, stwierdzamy, że proces pobierania wody przebiega najintensywniej w stadiach początkowych, mianowicie bródkowania i gastrulacji (str. 430).

4. Uwzględniwszy okoliczność, że w początkowych okresach rozwoju przyrosty objętościowe są w dosyć ścisłych granicach wielkościami stałymi, dochodzimy do wniosku, że procesom kształtowania odpowiada stała ilość pobranej z otoczenia wody (str. 427).

5. Co do okresów rozwojowych od chwili wyklucia, to z badań moich, które potwierdzają dane płynące z prac Davenporta i Schapera, wynika, że intensywność procesów pobierania wody wzrasta w miarę rozwoju.

6. Powyższa zależność procesów pobierania wody od stopnia rozwoju zarodków żabich rzuca światło na naturę samych procesów pobierania wody. Z poszukiwań Godlewskiego (01) wiemy, że w miarę rozwoju zarodków z płazów energia oddychania wzrasta. Z drugiej strony Hasselbalch i Bohr (00), badając oddechową przemianę materii u ptaków, stwierdzili, że produkcja dwutlenku węgłowego jest zależna w wysokim stopniu od stopnia rozwoju, specjalnie zaś od wagi zarodków; zależność ta jest do tego stopnia ścisłą, iż z intensywności produkcji tego gazu można określić wagę samych zarodków. Zestawienie tych faktów z powyżej omawianem zachowaniem się podczas rozwoju procesów pobierania wody każe przypuszczać, że między pobieraniem wody a procesami przemiany materii w zarodku istnieje ścisła zależność.

III. Wpływ temperatury na proces pobierania wody przez rosnące zarodki i na przepuszczalność plazmy dla wody.

1. Badania moje nad wpływem temperatury na procesy pobierania wody przez rosnące zarodki żabie rozciągają się wyłącznie do okresu bródkowania. Rozwój odbywał się w dwu temperaturach 10° i 20° C., które, jak wiadomo, leżą w fizjologicznych granicach warunków rozwoju badanego gatunku żab. Objętość zarodków była mierzona w dwu stadiach: po wystąpieniu pierwszej brózdki i w stadium początkowym procesu gastrulacyjnego. We wszystkich doświadczeniach był notowany ściśle czas trwania bródkowania w odnośnych temperaturach.

Wyniki tych doświadczeń, dotyczące się szybkości samego procesu bródkowania, uwzględniłem tylko jako moment pomocniczy, ponieważ w tym kierunku istnieją już obszernie i ważne wyniki, osiągnięte przez O. Hertwiga (97). Co do procesu bródkowania, nieuwzględnionego w badaniach tego autora, przeciętna, wyprowadzona z czterech moich doświadczeń, wykazuje, że szybkość bródkowania w temperaturze 20° C. jest około 2-4 razy większa niż w temperaturze 10° C., co potwierdza

prócz tego zasadniczą regułą, według której szybkość procesów kształtowania zależy od temperatury w równym stopniu, jak i szybkość reakcji chemicznych [A begg (05), Peter (05)].

W doświadczeniach nad wpływem temperatury na wzrost w okresie bródkowania porównywałem przyrosty objętości zarodków, rozwijających się w tych dwu temperaturach 10 i 20° C. Zestawienie wyników czterech doświadczeń wykazuje, że różnice w przyrostach objętości są tak nieznaczne, iż za rezultat tych doświadczeń możemy uważać stwierdzenie faktu, że wielkość przyrostu, wzgl. ilość pobranej wody w okresie rozwoju od stadyum dwu blastomerów do blastuli jest stała bez względu na to, czy skrócimy, czy przedłużymy czas trwania tego okresu rozwojowego przez podniesienie lub obniżenie temperatury. Ilość więc pobranej wody zależy nie od długości czasu, przez który odbywał się ten proces, lecz od stadyum rozwojowego. Z faktów tych wypływa prócz tego ważny wniosek, że podniesienie temperatury przyspiesza procesy wzrostu wzgl. pobierania wody przez zarodki rosnące w tym samym stopniu, jak i procesy kształtowania.

Jeżeli obecnie uwzględnimy wnioski, do których doszliśmy w końcu poprzedniego rozdziału i w których stwierdziliśmy, że z procesami kształtowania pierwszych okresów rozwoju pozostaje w ścisłym związku stała ilość pobranej z otoczenia wody, a następnie, że między ilością pobranej wody a procesami przemiany materii istnieje bliska zależność, to rezultaty powyższych badań są, zdaniem mojem, potwierdzeniem poprzednich wniosków. Temperatura wywiera wpływ pośredni na wzrost, przyspieszając przede wszystkim przemianę materii w organizmie, a dopiero ten dział zjawisk normuje szybkość pobierania wody wzgl. szybkość procesów wzrostu.

2. Wpływ temperatury na przepuszczalność protoplazmy dla wody. Badania fizylogiczno-botaniczne Krabbe'go (96) i van Rysselberghe'go (02) stwierdziły, że czynnikiem, wpływającym wybitnie na stopień przepuszczalności plasm komórki roślinnych, jest temperatura. Wyniki, otrzymane przez tych autorów, dowodzą, że w 20—25° C. komórki plasmolizowane dochodzą do stanu turgescencji 5—8 razy szybciej niż w 0—5° C.

W moich badaniach chodziło o wyświetlenie kwestyi, czy sto-

pień przepuszczalności komórkowej ściany jaja brózdkiującego wpływa na szybkość pobierania przez nie wody. Ze względu na brak w literaturze zoologicznej odnośnych poszukiwań, wykonałem przedewszystkiem szereg doświadczeń w celu stwierdzenia, czy przepuszczalność plazmy komórek zwierzęcych jest w równym stopniu zależna od temperatury, jak to wykazane zostało przez wspomnianych autorów dla komórek roślinnych.

Jako materyałem do doświadczeń posługiwałem się świeżo wyjętymi z jajnika, niezaplodnionymi jajami żabiemi, które po zmierzeniu objętości zanurzałem w dwu porcyach do wody destylowanej, okazującej temperaturę 10 i 20° C. Po upływie 3–4 godzin jaja mierzyłem powtórnie, a różnica między objętością ostateczną a początkową stanowiła przyrost objętości wzgl. ilość pobranej przez jaja wody w ciągu trwania doświadczenia. W doświadczeniach tych wyszedłem z założenia, że jeżeli temperatura wpływa na stopień przepuszczalności plazmy, to szybkość pobierania wody przez jaja niezaplodnione powinna być w temperaturze niższej mniejsza, niż w temperaturze wyższej.

I rzeczywiście, z zestawienia wyników tych doświadczeń wypada, że ilość wody, którą pobierają jaja w ciągu jednakowego czasu w różnych temperaturach jest wybitnie odmienna. Biorąc przeciętne, możemy powiedzieć, że w obrębie temperatur od 10 do 20° C. szybkość pobierania wody przez jaja niezaplodnione powiększa się prawie pięciokrotnie (4·8 razy).

Ponieważ w pojedynczych doświadczeniach badane były jaja, pochodzące od jednej samicy, przeto mało prawdopodobne wydaje się, ażeby stwierdzona różnica w szybkości pobierania wody mogła być spowodowana przez wahania ciśnienia osmotycznego w porcyach branych do doświadczeń jaj. Zmiany te mogłyby mianowicie powodować intensywniejszą w temperaturze wyższej produkcję substancji osmotycznie czynnych, a wskutek tego szybsze pobieranie wody. Wobec tego jednak, że reakcje chemiczne ulegają w granicach 10-ciu stopni przyspieszeniu najwyżej trzykrotnemu, moglibyśmy tu, gdzie blisko pięciokrotnie stwierdziliśmy przyspieszenie, wytłumaczyć zaledwie część tej różnicy zmianami natury chemicznej. Głównie działającą przyczyną są tu bez wątpienia zmiany w stopniu przepuszczalności plazmy, i dlatego wyniki doświadczeń naszych tłumaczyć możemy w ten sposób, że po podniesieniu

temperatury z 10° do 20° C. przepuszczalność dla wody protoplazmy jaj żabich wzrasta około pięciu razy.

Według wyników, otrzymanych przez van Rysselberghego (02), w granicach tych samych temperatur przepuszczalność plazmy komórek roślinnych wzrasta około 2·07 razy, wpływ więc temperatury w naszych doświadczeniach jest znacznie większy.

Wracając do omawiania procesu brózdkiwania jaj żabich: jeżeli w tym okresie rozwojowym przepuszczalność ściany komórkowej jest czynnikiem, który wpływa na szybkość pobierania przez zarodki wody, ilość wody, pobranej w temperaturze wyższej powinna być większa niż w temperaturze niższej. W obrębie 10—20° C., jak stwierdziliśmy powyżej (str. 435), szybkość brózdkiwania powiększa się około półtrzecia razy (2·4), przepuszczalność zaś plazmy dla wody aż pięciokrotnie. To powiększenie się przepuszczalności w większym stopniu niż szybkości samego procesu brózdkiwania sprawiłoby, iż w końcu brózdkiwania pobrana zostałaby przez zarodki większa ilość wody w temperaturze wyższej. Doświadczenia nasze stwierdziły jednak (str. 436), że podniesienie temperatury nie zmienia ilości wody, pobranej przez zarodki podczas brózdkiwania. Fakt ten wskazuje więc pośrednio, że przepuszczalność dla wody protoplazmy mas komórkowych nie wywiera wpływu na szybkość pobierania wody przez brózdkiujące zarodki.

Z oddziału embryologicznego Zakładu anatomii opisowej Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie.

BULLETIN INTERNATIONAL
DE L'ACADÉMIE DES SCIENCES DE CRACOVIE
CLASSE DES SCIENCES MATHÉMATIQUES ET NATURELLES.

DERNIERS MÉMOIRES PARUS.

(Les titres des Mémoires, sont donnés en abrégé).

A). Mathématiques; Astronomie; Physique; Chimie;
Minéralogie; Géologie etc.

S. Zaremba. Intégration de l'équation biharmonique	Janv. 1908
J. Bielecki. Mesitylen-Trialdehyd	Janv. 1908
Z. Motylewski. Dihydrooxychinoxalin	Janv. 1908
J. Lewiński. La chaîne de Przedborz	Janv. 1908
L. Marchlewski, St. Piasecki. Preparing phylloporphyrine . . .	Mars 1908
Lad. Natanson. Elliptic polarization of light (magn. field) . . .	Mars 1908
T. Koźniewski, L. Marchlewski. Phylloaonine converted into phytorhodines	Avril 1908
L. Hildt, L. Marchlewski, J. Robel. Umwandlung des Chloro- phylls unter dem Einfluss von Säuren	Avril 1908
J. Bielecki, A. Koleniew. Propriétés tinctoriales des colorants basiques dérivés du triphénylméthane	Avril 1908
*K. Olszewski. Die Verflüssigung der Gase	Mai 1908
K. Jabłczyński. Katalyse in heterogenen Systemen	Mai 1908
M. Dziurzyński. Umlagerung des Diphenylhydrazophenyls unter der Einwirkung von HCl	Mai 1908
J. Lewiński. Dépôts jurassiques près Chęciny	Mai 1908
Z. Klemensiewicz. Antimonchlorür als ionisierendes Lösungsmittel	Juin 1908
K. Jabłczyński. Kinetik der Folgereaktionen	Juill. 1908
K. Jabłczyński. Rührgeschwindigkeit und Reaktionsgeschwindigkeit	Juill. 1908
K. Kling. O-, m-, p-Tolyläthylalkohole	Juill. 1908
A. Korczyński. Anormale Salze	Juill. 1908
J. Buraczewski, T. Koźniewski. Jodderivate des Strychnins etc.	Juill. 1908
F. Kamiński. Microphotographie stéréoscopique	Juill. 1908

B). Sciences biologiques.

M. Raciborski. Hemmung d. Beweg. wachst. b. Basidiobolus . . .	Janv. 1908
*VI. Kulezyński. Fragmenta arachnologica VI	Janv. 1908
A. W. Jakubski. Stützgewebe d. Nervensystems etc.	Janv. 1908

* Ce Mémoire se vend aussi séparément.

A. Bochenek. Zentr. Endig. d. Nervus Opticus	Janv. 1908
K. Kostauecki. Mitotische Kernteilung ohne Zellteilung	Févr. 1908
J. Browiński. Proteinsäuren im Blute	Févr. 1908
K. Stołyhwo. Le crâne de Nowosiółka etc.	Févr. 1908
J. Browiński, S. Dąbrowski. Dosage d. t. mat. color. des urines	Mars 1908
H. Zapałowicz. Revue critique de la Flore de la Galicie. XII . . .	Mars 1908
J. Młodowska. Histogenese der Skelett-Muskeln	Mars 1908
Ch. Klecki, A. Wrzosek. Passage de microbes dans les urines . .	Mars 1908
F. Krzyształowicz, M. Siedlecki. Etude exp. de la syphilis . .	Mars 1908
J. Dunin-Borkowski. Sur le phénomène de Gürber	Avril 1908
J. Nowak. Cephalopoden der oberen Kreide in Polen. I.	Avril 1908
H. Wielowieyski. Morphologie und Entwicklungsgeschichte des Insektenovariums. II.	Avril 1908
B. Petschenko. Bacillopsis stylopygae; nov. gen. et nov. spec. .	Avril 1908
H. Krzemieniewska. Ernährung des Azotobacters	Mai 1908
H. Zapałowicz. Revue critique de la flore de la Galicie. XIII . .	Mai 1908
H. Hoyer. Lymphgefäßsystem der Froschlarven. II	Mai 1908
E. Rosenhauch. Flora des physiologischen Bindehautsacks der Neu- geborenen	Mai 1908
J. Dunin-Borkowski. Hämolytische Wirkung von Hg-Salzen . .	Juin 1908
J. Nusbaum. Entwicklungs-Geschichte der Occipitalregion des Schäd- dels etc. bei den Cyprinoiden	Juin 1908
J. Hirschler. Embryonale Entwicklung der Coleopteren	Juin 1908
E. Godlewski jun. Transformation des Protoplasmas in Kernsub- stanz bei Echiniden	Juin 1908
*VI. Kuleczyński. Symbola ad faunam araneorum Javæ et Sumatrae cognoscendam. Pars I	Juin 1908
R. Nitsch. Microbes anticholériques dans l'air	Juin 1908
Ed. Janczewski. Anthères stériles des groseilliers	Juill. 1908
B. Namysłowski. Wawelia regia nov. subfam. gen. sp.	Juill. 1908
H. Zapałowicz. Revue critique de la flore de la Galicie. XIV . .	Juill. 1908
C. Ruppert. Discomycetum species novae tres	Juill. 1908
P. Wiśniewski. Fruchtform bei Zygorhynchus Moelleri Vuill. . . .	Juill. 1908
M. Siedlecki. Der javanische Flugfrosch (Rhacophorus reinw.) . .	Juill. 1908
B. Konopacka. Gestaltungsvorgänge d. zentrifugierten Froschkeime	Juill. 1908
H. Wielowieyski. Morphologie und Entwicklungsgeschichte des In- sektenovariums. Dritte Mitteilung	Juill. 1908

* Ce mémoire se vend aussi séparément.

Les livraisons du Bulletin Int. se vendent séparément. Adresser les demandes à la Librairie »Spółka Wydawnicza Polska«, Rynek gł., Cracovie (Autriche).

