

ACTA
BIOLOGIAE
EXPERIMENTALIS
VOL. V, 1930.

K. BIAŁASZEWICZ.

RECHERCHES SUR LA RÉGULATION DE LA COMPOSITION
MINÉRALE DANS LES LIQUIDES ORGANIQUES. I. EXPÉ-
RIENCES EXÉCUTÉES SUR LE CRABE, MAJA SQUINADO L.

[LABORATOIRE DE PHYSIOLOGIE DE L'INSTITUT NENCKI À VARSOVIE ET STA-
TION ZOOLOGIQUE DE NAPLES].

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

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 IV, 1930, zawiera następujące rozprawy:

M. LASKOWSKI (Warszawa): O pobieraniu tlenu przez skórę u żaby.—
Z KOEHLER † (Kraków): Rozpuszczalność związków fosforowych zarodków żyta. — J. DMOCHOWSKI (Warszawa): O purynach mięśni. — M. CHEJFEC (Warszawa): Długość życia *Paramecium caudatum* w związku z odżywianiem. —
BR. ZAWADZKI (Warszawa): Badania nad rozmieszczeniem niektórych kryształoidów w układach koloidalnych, zbliżonych do cytoplazmy. — Z. CZERNIEWSKI (Warszawa): *Spirostomum ambiguum* Ehrbg. Studja biologiczne. Cz. I. — D. ASSENHAJM (Warszawa): O ilościowym oznaczaniu puryn w kwasie nukleinowym drożdżowym metodą Steudela. — O. KRAUZE (Warszawa): Przyczynek do poznania zachowania się cządzownicy. — T. CYGOWA (Warszawa): Studja anatomiczno-ekologiczne nad liśćmi storczyków krajowych. —
J. M. ZDUNKIEWICZ (Warszawa): O rozkładzie puryn w różnych warunkach autolizy. — E. EISENBERG-HAMBURG (Warszawa): Wpływ soli strontu na poruszenie się wymoczka *Paramecium caudatum*. — J. V. SUPNIEWSKI (Kraków): Nowy przyrząd do określania gazowej przemiany materji małych zwierząt. — L. MAZURKIEWICZ and H. BUKOWIECKI (Warszawa): Photomicrography in the dark. — BIBLIOGRAPHIA POLONICA.

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
(Warszawa, ul. Śniadeckich 8, tel. 536-31).

Skład główny:

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

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

K. Białaszewicz.

Badania nad zjawiskami regulowania składu mineralnego cieczy ciała. I. Doświadczenia nad krabem *Maja squinado* L.
*Recherches sur la régulation de la composition minérale dans les liquides organiques. I. Expériences exécutées sur le Crabe, *Maja squinado* L.*

Rękopis nadesłany w dniu 17.V.1930 r.

La tâche de nos recherches a été un essai de constater, si et jusqu'à quel degré les animaux poikilosmotiques vivant dans l'eau de mer seraient pourvus de la faculté de régler la composition minérale altérée du plasma sanguin et, puis, en quoi consisterait le mécanisme de ce phénomène. Dans ce but nous avons exécuté une série d'expériences sur le Crabe, *Maja squinado* L., consistant dans l'injection dans l'appareil circulatoire de ces animaux, qui ont été laissés dans l'eau de mer, des sels suivants: KCl, CaCl₂, MgCl₂, MgSO₄ et Na₂SO₄. Les constatations comparatives au sujet des concentrations en ions, se manifestant, d'un côté, dans l'hémolymphe et, de l'autre, dans l'urine, chez les animaux en expérience, nous ont amené aux conclusions suivantes:

1^o. Le *Maja squinado*, chez qui la composition et la concentration globale des électrolytes dans les liquides du corps sont très proches de celles de l'eau de mer (tabl. X), rend manifeste une faculté fortement accentuée de régler la composition minérale de ces liquides, et notamment: les sels, composants normaux de l'hémolymphe, introduits dans l'appareil circulatoire, disparaissent — après un temps plus ou moins prolongé — complètement du sérum (tabl. II—VIII, fig. 1).

2^o. La faculté d'éliminer du plasma sanguin des composés minéraux n'est pas la même par rapport à chaque sel, et notamment: le chlorure de potassium, composé fortement toxique, est

éliminé le plus rapidement (tabl. II), par contre, le sulfate de sodium — le plus lentement (tabl. VI).

3°. Les résultats des expériences, où on avait injecté à l'animal un mélange de deux ou de plusieurs sels, en quantité augmentant leurs concentrations dans l'hémolymphe à un degré approximativement égal (tabl. VII, VIII, IX et fig. 2), ont démontré que ces sels se rangent, au point de vue de la vitesse de leurs disparitions, dans la série suivante: $KCl > CaCl_2 > MgCl_2 > MgSO_4$.

4°. Les glandes antennaires ont la faculté d'éliminer du plasma sanguin le surplus d'électrolytes: ce fait a été prouvé par les expériences, dans lesquelles nous avons analysé les échantillons de l'urine et de l'hémolymphe, recueillis simultanément (tabl. VII et VIII).

5°. Les cations de calcium, de magnésium et les anions des sulfates apparaissent dans l'urine — aussi bien chez les animaux-témoins que chez les animaux en expérience — en concentrations plus fortes que dans l'hémolymphe (tabl. VII et VIII).

6°. Par suite du peu de vitesse du passage d'eau à travers la glande antennaire, — vitesse ne comportant que 3% du poids du corps par 24 h. (tabl. XI), et comme les animaux ne disposent que d'une faculté insignifiante de concentrer certains électrolytes dans l'urine, le dit organe manifeste des traits caractéristiques de l'appareil excréteur qui travaille très lentement. Donc, la glande antennaire chez le *Maja* paraît ne prendre qu'une part très peu importante dans le phénomène d'élimination d'hémolymphe des grandes quantités d'électrolytes, et cela — surtout dans les premiers moments après l'injection.

7°. Il y a des données nous indiquant, que le rôle principal, dans les dits phénomènes, est joué par les tissus du corps, qui saisissent le surplus des composés minéraux introduits dans l'appareil circulatoire et les absorbent.

Jest rzeczą wiadomą, że zwierzęta homojosmotyczne posiadają zdolność sprawnego regulowania nie tylko stężenia, lecz i składu mineralnego cieczy ciała. W zjawiskach przywracania normalnie lub eksperymentalnie zakłóconej równowagi bierze udział cały szereg narządów (nerki, przewód pokarmowy, skóra, płuca, mięśnie), które usuwają z osocza lub dostarczają mu wody i elektrolitów, niezbędnych dla zachowania normalnego składu chemicznego.

Pytanie, czy i w jakim stopniu zwierzęta pojkilosmotyczne, pozbawione mechanizmów regulujących stężenie elektrolitów we krwi, posiadają pomimo to własności chemo-regulacyjne, pozostaje do dnia dzisiejszego niewyjaśnione.

Zagadnieniem tem zajmowano się tylko ubocznie, w związku ze sprawą przepuszczalności dla elektrolitów powierzchni ciała zwierząt niższych. Że i ta kwestja nastęrcza wiele trudności — zarówno w sprecyzowaniu samego pytania, jak i w doświadczalnym jego rozwiązaniu i interpretowaniu wyników — dowodem tego są sprzeczności w poglądach autorów, którzy w tym kierunku prowadzili badania. Gdy mianowicie jedna część badaczy jest zdania, że powierzchnia ciała bezkręgowców morskich w warunkach zwykłych jest zupełnie nieprzepuszczalna dla soli osocza i wody morskiej (BOTTAZZI i ENRIQUES '01, HENRI i LALOU '04, FREDERICQ '04, '22, MACALLUM '04, DEKHUYSEN '21, DUVAL '25), to inni znów interpretują wyniki swoich doświadczeń w znaczeniu całkowitej i w obu kierunkach zaznaczającej się przepuszczalności pokrycia ciała tych zwierząt zarówno dla wody, jak i dla soli (QUINTON '00, '04, BETHE '08, '27). Na stanowisku ostatnio wymienionej ewentualności stoi BETHE w jednej z ostatnich swoich publikacyj ('28), dotyczącej kraba *Carcinus Maenas* i mięczaka *Aplysia punctata*: autor ten stwierdził, że zwierzęta te, trzymane w sztucznej wodzie morskiej, w której jeden z jonów (Ca, K, Mg, Cl, SO₄) był nieobecny lub znajdował się w nadmiarze, ujawniają zmiany zawartości tego jonu we krwi, zachodzące w tym samym co w środowisku kierunku. BETHE ('30, str. 444) jest zdania, że pokrycie ciała bezkręgowców morskich pełni rolę barjery, zapobiegającej utracie jedynie zawartych w ciele koloidów.

W doświadczeniach niniejszych, przeprowadzonych na krabie *Maja squinado* L. postępowano w sposób odmienny: zachowując bez zmiany skład mineralny wody morskiej, w której zwierzęta

stałe przebywały, zmieniano drogą zastrzyku skład elektrolitów hemolimfy; porównanie stężeń badanych jonów we krwi i w moczu dało możliwość wyjaśnienia zachowania się niektórych elektrolitów w cieczach ciała i wyświetlenia roli, jaką w usuwaniu tych składników z krwiobiegu pełnią nerki i tkanki ciała.

Metodyka i technika doświadczeń.

Objekt naszych doświadczeń, *Maja squinado*, jest zwierzęciem, doskonale nadającym się do tego typu badań, zarówno ze względu na wielką odporność na nienaturalne bądź co bądź warunki życia w akwarjach, w których kraby te mogą przebywać całymi miesiącami, jak również ze względu na rozmiary ciała, pozwalające na upust — bez widocznej szkody dla organizmu — znacznych ilości hemolimfy, i z powodu łatwości, z jaką można oddzielić w stanie zupełnie czystym mocz — produkt czynności gruczołów czułkowych.

Zasada doświadczeń polegała na wprowadzeniu do krwiobiegu zwierzęcia określonych ilości soli, będących normalnymi składnikami hemolimfy, i — na jednoczesnym oznaczaniu w różnych odstępach czasu ich stężenia we krwi i w moczu. Poniżej podajemy opis sposobu przygotowywania roztworów i wykonywania iniekcji, ponadto — wskazówki, jakimi kierowaliśmy się przy braniu próbek hemolimfy i moczu oraz przy oznaczaniu w tych cieczach stężenia składników badanych.

Do iniekcji używano następujących soli: KCl , $CaCl_2$, $MgCl_2$, $MgSO_4$, i Na_2SO_4 . Roztwory iniekcyjne tych substancji przygotowywano w stężeniu prawie izosmotycznym w stosunku do hemolimfy kraba. W przypadkach, gdy chodziło o jednoczesne wprowadzenie dwu lub więcej soli, przygotowywano z roztworów wyjściowych mieszaniny, w których kationy znajdowały się w tym samym w przybliżeniu stosunku, co w hemolimfie normalnej; miało to na celu uzyskanie w pierwszym momencie po zastrzyku jednakowego przyrostu względnego stężeń tych jonów w hemolimfie.

Do doświadczeń brano kraby, od dłuższego czasu — przynajmniej od dwu tygodni — znajdujące się w stanie głodu. Przed zastrzykiem zwierzęta unieruchamiano, kładąc je nawznak: najodpowiedniejszym okazał się sposób opierania pancerza grzbietowego o brzegi odpowiednio wysokich cylindrów szklanych, tak aby zwierzę nie mogło dotykać się końcami odnóży o powierzchnię stołu.

Iniekcję wykonywano zapomocą strzykawki, połączonej cienką, grubościenną i dostatecznie elastyczną rurką gumową z nasadką, na którą nakładano igłę iniekcyjną. Nakłócie robiono u podstawy pierwszego człona jednej z ostatnich par odnóży, przekłówszy cienką błonę chitynową stawu i wprowadzając igłę głęboko do ciała. Roztwór wprowadzano możliwie powoli (5 — 10 min.), naciskając zlekka ruchem obrotowym tłok strzykawki i obserwując uważnie zachowanie się zwierzęcia. Zwykle krab zachowuje się w czasie iniekcji bardzo niespokojnie, poruszając gwałtownie odnóżami

i niejednokrotnie autotomizując kończynę nakłótą lub nawet kilka kończyn. Utrata odnoży nie przeszkadza jednak dalszemu prowadzeniu doświadczenia, albowiem dzięki znanemu mechanizmowi mięśniowemu następuje w kikucie zwanie się rany, które zapobiega dalszemu upływowi krwi.

Po iniekcji zwierzę przenoszono do akwarjum z przepływającą wodą morską, w której pozostawało ono przez cały czas doświadczenia; wyjmowano go stamtąd tylko na czas brania próbek hemolimfy i zbierania moczu.

Hemolimfę brano początkowo zapomocą strzykawki, nakłówszy w różnych miejscach części miękkie ciała. Sposób ten okazał się trudny i niepraktyczny z tego powodu, że igły często zatykały się, zwierzę zaś po pewnym czasie wpadało w stan silnego rozdrażnienia, łamiąc niejednokrotnie igły i autotomizując odnoża. Najprostszym i najprędzej prowadzącym do celu okazał się następujący zabieg, do którego stale uciekał się w późniejszych doświadczeniach.

Kraba umieszczano na brzegu stołu, unieruchamiając go łokciem lewej ręki; w jednym ze zwisających tylnych odnoży szybko odcinano nożyczkami wierzchołek ostatniego człona, odnoże to unieruchomiano w pozycji ku dołowi i podstawiano probówkę, do której spływała z powierzchni rany potrzebna ilość hemolimfy (5—10 cm³). W celu wstrzymania dalszego upływu, odnoże odchyłano ku górze, tak ażeby miejsce zranione znalazło się powyżej poziomu ciała; dla zamknięcia rany do miejsca przeciętego wkładano dobrze dopasowany tampon z plastycznego wosku białego, który na brzegach, w miejscach zetknięcia się z chityną, szczelnie obtapiano małym płomieniem. Po stwardnieniu wosku zwierzę z powrotem przenoszono do akwarjum. Następną próbkę hemolimfy brano z tego samego miejsca, wyjmując szybkim ruchem, z pomocą cienko zakończonych pincetki, tampon woskowy, i postępując za każdym razem w sposób powyżej opisany. Zabieg ten kraby znoszą bardzo dobrze, autotomizując uszkodzoną kończynę czasami dopiero po paru tygodniach, po wzięciu nieraz kilkunastu próbek krwi.

Zbieranie moczu odbywało się według wskazówek ¹⁾, podanych przez MARCHALA ('92), któremu poraz pierwszy udało się obserwować u *Maja squinado* wyrzucanie moczu z aparatu przykrywkowego („operculum“) oraz powiodło się oddzielić mocz w stanie zupełnie czystym, zdatnym do analizy chemicznej. Sam zabieg, w zasadzie mało skomplikowany, wymaga jednak przestrzegania pewnych ostrożności, mających na celu zachowanie w stanie nienaruszonym wewnętrznej bardzo delikatnej błony aparatu przykrywkowego, w której mieści się otwór moczowy: w razie bowiem uszkodzenia jej mocz może zawierać domieszkę hemolimfy, która nieraz bardzo obficie wypływa ze zranionego miejsca. Postępowaliśmy w ten sposób, że unieruchamialiśmy zwierzę położone na grzbiecie i podnosiliśmy powoli płytkę przykrywkową, chwytając ją ostrożnie lecz mocno rozplą-

¹⁾ „Pour extraire le liquide excrémental du *Maja*, il suffit de soulever l'opercule avec une pince, et d'aspirer le liquide avec un compte-gouttes dont l'extrémité étirée à la lampe sera placée au niveau de l'orifice“. MARCHAL, l. c., str. 217.

szezonami końcami pincetki w dwu najbardziej zgrubiałych miejscach: przy podnoszeniu płytki trzeba było nieraz przewyciężyć silny opór, stawiany przez mięsień wciągający przykrywkę. Mocz w miarę wypływania z otworu wciągano do tępo zakończzonej pipetki i po napełnieniu jej, przykrywkę za każdym razem opuszczano i wciskano na dawne miejsce, zaś mocz przenoszono do cylindra mierniczego. Zabieg ten, kolejno wykonywany na obu przykrywkach, powtarzano aż do chwili zupełnego ustania wypływu cieczy. Mocz zebrany jest zupełnie przezroczysty i zwykle bezbarwny, posiada jednak czasami kolor zlekką żółtawy, który po pewnym czasie przybiera odcień ceglasty. Przeznaczony do analizy mocz przechowywano, dodając doń kilka kropli chloroformu.

Mocz bezpośrednio po zebraniu mógł być użyty do analizy chemicznej, próbki natomiast hemolimfy należało odbiałczyć. Najodpowiedniejszym odczynnikiem okazał się kwas trójchlorooctowy (12%), który (1:1) wlewano kroplami do hemolimfy, ciągle mieszając; po upływie kilku godzin osad białka odwirowywano, zaś ciecz klarowną zlewano do probówek, w których przechowywano ją do analizy.

Ponieważ w badaniach niniejszych chodziło nam o porównanie stężeń elektrolitów, znajdujących się w stanie zjonizowanym w hemolimfie i w moczu, przeto było rzeczą ważną przekonanie się, jakie zmiany w rozmieszczeniu elektrolitów w między fazą koloidalną i wodną hemolimfy powoduje odczynnik, używany do odbiałczania.

Tab. I przedstawia wynik jednego z doświadczeń, w których zmiany te usiłowano ustalić. W tym celu większą ilość świeżo zebranej hemolimfy, pochodzącej od normalnego zwierzęcia, rozdzielano na trzy porcje: w części pierwszej porcji oznaczano chlor metodą VOLHARDTA, resztę zaś po spopieleniu kwasem azotowym na gorąco (BIAŁASZEWICZ '26, 27a) rozpuszczano w objętości wody, równej wziętej do spopielenia objętości hemolimfy; z drugiej porcji przygotowywano odpowiednią ilość ultraprzesączu, trzecią natomiast porcję odbiałczano kwasem trójchlorooctowym w sposób opisany powyżej. W trzech tych roztworach analizę badanych składników mineralnych wykonywano jednocześnie, w jednej serji oznaczeń. Objętość fazy koloidalnej w hemolimfie (na podstawie stężenia chloru) i procentową ilość związanych koloidalnie składników obliczono według wskazówek, podanych w jednej z prac poprzednich (BIAŁASZEWICZ '27 b, 28 a).

Wyniki, podane w tabeli, wskazują wyraźnie na fakt wiązania się z białkami hemolimfy znacznie większych ilości magnezu (12.8%) i wapnia (16.4%), mniejszych natomiast — potasu (3.8%). Ciekawem jest, że całkowita ilość siarki, której około 88% występuje pod postacią związków mineralnych, znajduje się w cieczy międzycząstkowej w stanie niezwiązanym.

Jak należało przewidywać, pod wpływem kwaśnego odczynnika odbiałczającego znaczna część katjonów, związanych z białkami hemolimfy, przechodzi do roztworu, zwiększając ich koncentrację w płynie, odwirowanym po odbiałczeniu. W doświadczeniu omawianem stężenie to wzrosło o 12.4% dla wapnia i o 6.7% dla magnezu, wobec prawie niezmienionego stężenia potasu. Wypływa stąd ważny dla krytycznej oceny naszych wyników fakt, że znajduwane w płynie odbiałczonym stężenie

nia wapnia, i magnezu są wyższe od rzeczywistych, tj. od stężeń, w jakich te jony występują w cieczy międzycząstkowej hemolimfy.

Tabela I.

Roźmieszczenie elektrolitów w hemolimfie *Maja squinado* i wpływ odbiciażania kw. trórchloroocetowym na skład mineralny cieczy odwirowanej.

Répartition des électrolytes dans l'hémolymphe de Maja squinado et influence de la précipitation des protéines avec l'acide trichloreacétique sur la composition du liquide centrifugé.

Składniki Composants	Popiół Cendres	Ultrażrzesącz Liquide ultra- filtré	Ilości składników, związane z fazą ko- koloidalną	Ciecz odwirowana. po odbiciażeniu kw trórchloroocetowym <i>Liquide centrifugé après la précipita- tion des protéines par l'acide trichlo- reacétique</i>
			Quantités des com- posants liées à la phase colloïdale	
	mg/cm ³	mg/cm ³	%	mg/cm ³
Cl	19.83	23.22	0	22.32
K	0.508	0.574	3.8	0.568
Ca	0.519	0.507	16.4	0.570
Mg	1.582	1.612	12.8	1.720
S (całkow.) (total)	0.916	1.072	0	—
S (miner.) (minéral)	—	0.939	—	0.929

W cieczach badanych, t. j. w moczu i hemolimfie, oznaczaliśmy następujące składniki: K, Ca, Mg, Cl i S. Pierwsze cztery pierwiastki oznaczaliśmy metodami mikrochemicznymi, biorąc do każdego z równoległych oznaczeń po 0.5 cm³ roztworu nierozcieńczonego, a mianowicie: potas — metodą KRAMERA i TISDALLA ('21), po odpędzeniu śladów amonjaku; wapń — według DE WAARDA ('19) i HECHTA ('23); magnez — metodą BELLA i DOISY'EGO ('21) oraz BRIGGSA ('22), według wskazówek, podanych przeze mnie ('26, '27 a); chlor — według WHITEHORNA ('21). Siarkę oznaczano wagowo jako BaSO₄, biorąc do analizy większe objętości cieczy badanych (od 2.5 do 5.0 cm³). We wszystkich analizach ściśle przestrzegano zasady jednoczesnego oznaczania w płynie badanym i roztworze wzorcowym.

Część doświadczałna.

Poniżej podajemy opis doświadczeń nad zachowaniem się w krwiobiegu oddzielnych soli i ich mieszanin oraz wyniki, dotyczące roli gruczołu czułkowego w regulowaniu składu mineralnego hemolimfy.

1. Wstrzykiwanie oddzielnych soli.

W doświadczeniach tych chodziło przede wszystkim o ustalenie wielkości dawek maksymalnych, które nie wywoływałyby zbyt gwałtownych, nieodwracalnych zaburzeń w organizmie.

Po szeregu prób wstępnych okazało się, że największe ostrożności należy zachowywać w przypadku soli potasowych (KCl), w stosunku do których zwierzęta są szczególnie wrażliwe. Jako maksimum, po którego zastrzyku kraby wracają — wprawdzie po dłuższym czasie — do stanu normalnego, ustaliliśmy dawkę 0.28 g K na kilogram wagi zwierzęcia (por. dośw. № X, tab. II), t. j. ilość, która w pierwszej godzinie po iniekcji powiększa prawie dwukrotnie stężenie jonów potasowych w hemolimfie.

Bardzo daleko posunięta ostrożność przy iniekcji innych soli (CaCl_2 , MgCl_2 , MgSO_4 i Na_2SO_4) okazała się zbyteczna. Stwierdziliśmy np., że zwierzęta zupełnie dobrze znoszą większe ilości soli magnezowych (MgCl_2 , MgSO_4), zwiększające o 200% i więcej stężenie tych katjonów w hemolimfie normalnej; w tym samym stosunku można było osiągnąć przyrost jonów wapniowych, nie wywołując gwałtownych reakcyj ze strony zwierzęcia. W większości jednak doświadczeń unikano zbyt dużych dawek, mogących spowodować śmierć zwierzęcia, i starano się nie przekraczać dwukrotnego zwiększenia stężeń jonów badanych w hemolimfie.

Zachowanie się zwierząt po zastrzyku tych soli jest różne i dosyć charakterystyczne.

Bardzo mało wrażliwe są kraby na iniekcję CaCl_2 , a zwłaszcza — Na_2SO_4 . Reakcja zwierząt w tych razach ogranicza się do ogólnego zaniepokojenia, wyrażającego się wzmożonymi ruchami odnóży. Po zastrzyku CaCl_2 — przynajmniej w ilościach przez nas stosowanych — ogólny stan zwiększonej pobudliwości trwa jeszcze przez pewien czas po zabiegu, lecz już po upływie 2 — 3 godzin zwierzę wraca do normy.

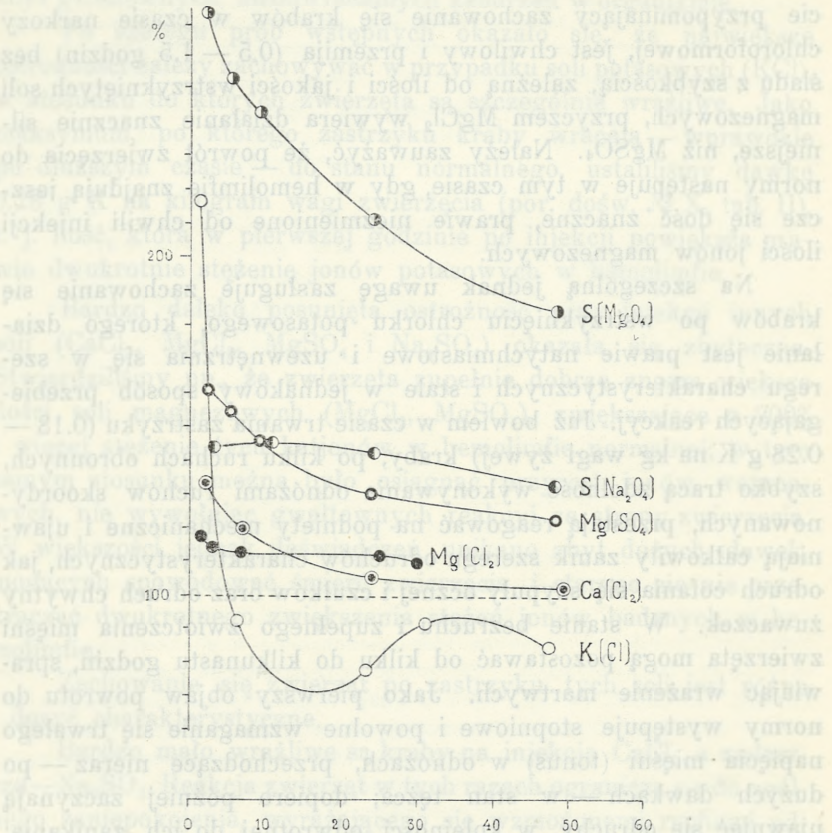
Zgoła odmiennie przedstawia się reakcja krabów na wprowadzenie soli magnezowych. Zwierzę, które w pierwszych chwilach zastrzykiwania wykazuje, jak zwykle, wzmożoną pobudliwość, już po upływie kilku minut uspakaja się, wykonywując

odnóżami coraz to powolniejsze ruchy. Występuje wyraźnie stan ogólnego odurzenia i stopniowego zanikania odruchów na podrażnienia mechaniczne: a więc ustaje przede wszystkim ruch cofania się szypuły ocznej, następnie — odruch cofania się antenul i wreszcie — odruch chwytny żuwaczek, występujący normalnie po zadrażnieniu śluzówki jamy ustnej. Stan ten, całkowicie przypominający zachowanie się krabów w czasie narkozy chloroformowej, jest chwilowy i przemija (0.5 — 1.5 godzin) bez śladu z szybkością, zależną od ilości i jakości wstrzykniętych soli magnezowych, przyczem $MgCl_2$ wywiera działanie znacznie silniejsze, niż $MgSO_4$. Należy zauważyć, że powrót zwierzęcia do normy następuje w tym czasie, gdy w hemolimfie znajdują jeszcze się dość znaczne, prawie niezmienione od chwili iniekcji ilości jonów magnezowych.

Na szczególną jednak uwagę zasługuje zachowanie się krabów po wstrzyknięciu chlorku potasowego, którego działanie jest prawie natychmiastowe i uzewnętrznia się w szeregu charakterystycznych i stale w jednakowy sposób przebiegających reakcyj. Już bowiem w czasie trwania zastrzyku (0.18 — 0.28 g K na kg wagi żywej) kraby, po kilku ruchach obronnych, szybko tracą zdolność wykonywania odnóżami ruchów skoordynowanych, przestają reagować na podniety mechaniczne i ujawniają całkowity zanik szeregu odruchów charakterystycznych, jak odruch cofania się szypuły ocznej i czułków oraz odruch chwytny żuwaczek. W stanie bezruchu i zupełnego zwiotczenia mięśni zwierzęta mogą pozostawać od kilku do kilkunastu godzin, sprawiając wrażenie martwych. Jako pierwszy objaw powrotu do normy występuje stopniowe i powolne wzmaganie się trwałego napięcia mięśni (tonus) w odnóżach, przechodzące nieraz — po dużych dawkach — w stan tężca; dopiero później zaczynają ujawniać się odruchy, w kolejności odwrotnej do ich zanikania: przede wszystkim więc wraca odruch antenul, potem — szypuły ocznej, następnie — ruchy żuwaczek i głaszczek, ruchy oddechowe szczękonoż i wreszcie — ruchy dowolne kończyn tułowiowych. Przez cały szereg dni po iniekcji kraby zachowują się jednak niezupełnie normalnie: wyraża się to w małej ruchliwości zwierząt, powolnem oddziaływaniu na podniety i zupełnem niereagowaniu na podawany pokarm. Jest rzeczą charakterystyczną, że stan obniżonej pobudliwości trwa jeszcze przez długi

czas po osiągnięciu normalnego stężenia jonów potasowych w hemolimfie.

Wyniki najbardziej typowych doświadczeń, w których po iniekcji soli oznaczaliśmy w różnych odstępach czasu stężenia w hemolimfie wprowadzonych w nadmiarze jonów, zostały przed-



Rys. 1. Stężenia składników iniekowanych w hemolimfie, wyrażone w procentach ich wartości początkowych. Według wyników doświadczeń, przedstawionych w tabelach II — VI.

Fig. 1. Concentrations des composants injectés dans l'hémolymphe, exprimées en % de leurs valeurs initiales. D'après les résultats des expériences, présentés aux tableaux II — VI.

stawione w tabelach II — VI. Stężenia te wyrażono w mg w jednym centymetrze sześciennym hemolimfy oraz — dla łatwiejszego porównania szeregów liczb — obliczono je również w procentach stężenia początkowego, t. j. w odsetkach ich stężenia

w hemolimfie przed zastrzykiem. W niektórych tabelach (II, IV i V), oprócz wyników oznaczeń jonów wprowadzonych do krwiobieg, podano również stężenie innych składników nieorganicznych hemolimfy. Ponadto — główne rezultaty tych doświadczeń zostały przedstawione graficznie na rys. 1 w postaci krzywych, wyrażających względne zmiany stężeń poszczególnych jonów w hemolimfie, w różnych odstępach czasu, w przeciągu 48 godzin po iniekcji.

Przebieg tych krzywych ujawnia szereg cech charakterystycznych badanego zjawiska.

Przedewszystkiem — ze wszystkich w tym kierunku przeprowadzonych doświadczeń wynika zgodnie, że eksperymentalnie zmieniony normalny stosunek elektrolitów w hemolimfie zostaje całkowicie przywrócony po krótszym lub dłuższym przeciągu czasu.

Na podstawie doświadczeń, w których — oprócz jonów wprowadzonych — oznaczaliśmy również inne składniki elektrolityczne hemolimfy, możemy ponadto twierdzić, że zwiększenie koncentracji jednego ze składników nie wpływa w sposób bardziej wybitny na ilościowe ustosunkowanie się składników pozostałych. Zmiany, te o ile zachodzą, nie przekraczają kilku lub kilkunastu procentów stężenia normalnego. Tak np. po iniekcji KCl (tab. II), MgCl₂ (tab. IV) i MgSO₄ (tab. V i VIII) stale stwierdzamy przyrósł stężenia wapnia, który w przypadku krańcowym nie przekracza 34%; iniekcja MgSO₄ (tab. V) lub mieszaniny tej soli z MgCl₂ (tab. VIII) spowodowała w dwu przypadkach ubytek jonów potasowych, wynoszący odpowiednio 12 i 20% stężeń początkowych.

Wyrównywanie zmian w składzie mineralnym hemolimfy zachodzi więc głównie dzięki eliminowaniu z krwiobieg tych jonów, które zostały wprowadzone w nadmiarze: stężenie bowiem wszystkich bez wyjątku soli (KCl, CaCl₂, MgCl₂, MgSO₄, Na₂SO₄) wykazuje najwyższą wartość w pierwszych momentach po iniekcji, następnie — stopniowo i prawidłowo zmniejsza się i po pewnym, charakterystycznym dla każdej soli przeciągu czasu, dochodzi do wartości początkowej, właściwej stężeniu tej soli w hemolimfie normalnej. Prawidłowość w przebiegu krzywych, odnoszących się do poszczególnych soli, — z wyjątkiem może krzywej Na₂SO₄ —

Tabela II.

Stężenie w hemolimfie składników po wstrzyknięciu roztworu KCl (5.5 cm³), zawierającego 216 mg K. Ciężar ciała zwierzęcia (№ 4) = 766 g. Początek dośw. 7. I. 1929. Dośw. № X.

Concentration de l'hémolymphe en composants minéraux après l'injection de la solution de KCl (5.5 cm³), contenant 216 mg de K. Poids du corps de l'animal (№ 4) = 766 gr. Début de l'expérience (№ X): 7. I. 1929.

№ próbki hemolimfy № d'échantillons de l'hémolymphe	Czas od chwili wstrzyknięcia Temps écoulé après l'injection h	K		Ca mg/cm ³	Mg mg/cm ³
		mg/cm ³	w procentach stężenia począt. en % de la concentrat. initiale		
			%		
1	0	0.618	100	0.459	1.480
2	1	1.336	216	0.521	1.414
3	6.2	0.578	93	0.520	1.393
4	23.5	0.491	79	0.548	1.378
5	31	0.570	92	—	—
6	47.5	0.525	85	—	—
7	73	0.484	78	—	—

wskazywałyby na istnienie — w pewnym oczywiście przybliżeniu — zależności prostej między szybkością znikania tych soli z krwiobiegu a ich aktualną w hemolimfie nadwyżką.

Tabela III.

Stężenie wapnia w hemolimfie po wstrzyknięciu roztworu CaCl₂ (5.5 cm³), zawierającego 109 mg Ca. Ciężar ciała zwierzęcia (№ 2) = 766 g. Początek dośw. 4. I. 1929, 11⁰⁰h. Dośw. № IX.

Concentration de l'hémolymphe en calcium après l'injection de la solution de CaCl₂, contenant 109 mgr. de Ca. Poids du corps de l'animal (№ 2) = 766 gr. Début de l'expérience (№ IX): 4. I. 1929, 11⁰⁰h.

№ próbki hemolimfy № d'échantillons de l'hémolymphe	Czas od chwili wstrzyknięcia Temps écoulé après l'injection h	Ca	
		mg/cm ³	w proc. stężenia początkowego en % de la concentrat. initiale
			%
1	0	0.415	100
2	1.7	0.557	134
3	7	0.497	120
4	23.7	0.443	107
5	49	0.430	103
6	72	0.457	110

Poza temi prawidłowościami ogólnymi, proces eliminowania poszczególnych soli z krwiobiegu ujawnia jednak pewne cechy swoiste.

Jak już wspomnieliśmy, Na₂SO₄ zachowuje się w hemolimfie w sposób pod pewnemi względami odmienny. Sól ta, nie wy-

wołując w zwierzęciu żadnych zmian anormalnych, przez bardzo długi czas pozostaje w krwiobieg w ilości prawie niezmięnionej. W doświadczeniu № 6 (tab. VI) po wstrzyknięciu krabowi, ważącemu 1411 g, ilości siarczanu sodowego, zawierającej 287 mg S, w ciągu pierwszej doby po iniekcji stwierdzono przyrost siarki nieorganicznej, wynoszący 45% po upływie 3.5 godzin, 48% — po 9 godz. i 42% — po 24 godz., czyli wartości prawie identyczne; po upływie 120 godz. nadwyżka siarki w hemolimfie wynosiła jeszcze 34% ¹⁾).

Tabela IV.

Stężenie w hemolimfie magnezu i wapnia po wstrzyknięciu roztworu $MgCl_2$ (11 cm^3), zawierającego 211 mg Mg. Ciężar ciała zwierzęcia (№ 3) — 2090 g. Początek doświadczenia 31. XII. 1928, 10⁰⁰ h. Doświadczenie № VIII.

Concentration de l'hémolymphé en magnésium et en calcium, après l'injection de la solution de $MgCl_2$ (11 cm^3), contenant 211 mgr. de Mg. Poids du corps de l'animal (№ 3) = 2090 gr. Début de l'expérience (№ VIII): 31.XII.1928, 10⁰⁰ h.

№ próbki hemolimfy <i>№ d'échantillons de l'hémolymphé</i>	Czas od chwili wstrzyknięcia <i>Temps écoulé après l'injection</i>	Mg		Ca mg/cm ³
		mg/cm ³	w procentach stężenia początkowego <i>en % de la concentration initiale</i>	
	h		%	
1	0	1.361	100	0.411
2	1.2	1.618	119	0.418
3	3.2	1.572	115	0.422
4	7	1.554	114	0.429
5	23.5	1.538	113	0.422
6	30	1.505	110	0.428

Znacznie szybciej, aczkolwiek dosyć jeszcze powoli w porównaniu z innymi wstrzykiwaniami solami (KCl , $CaCl_2$), następuje regulacja normalnego składu hemolimfy po iniekcji soli magnezowych ($MgCl_2$ i $MgSO_4$). W obu przypadkach stężenie zarówno kationów Mg^{++} , jak i anionów SO_4^{--} ujawnia już od pierwszych momentów po iniekcji tendencję wyraźnie niższą, aczkolwiek intensywność znikania tych jonów z krwiobieg jest dosyć niewielka. Tak np. w ciągu pierwszej doby po wstrzyknięciu $MgCl_2$ (tab. IV) nadwyżka stężenia magnezu zmniejszyła się z 19 do 13%, zaś po wprowadzeniu $MgSO_4$ (tab. V) — z 61 do 31%, natomiast nadwyżka siarki mineralnej uległa zmniejszeniu — z 174 do 111%.

¹⁾ Fakt ten mógłby posłużyć jako punkt wyjścia do opracowania metody oznaczania ilości hemolimfy w ciele krabów.

O wiele sprawniej radzi sobie organizm kraba z nadmiarem jonów wapniowych i potasowych, które zwykle już w ciągu pierwszego dnia doświadczenia całkowicie znikają z hemolimfy. Na szczególną jednak uwagę pod tym względem zasługują sole potasowe ze względu na ich natychmiastowe i niezmiernie silnie trujące działanie na organizm. Wprowadzając małe ilości tych soli (do 0.05 g K na kg wagi żywej), w hemolimfie, wziętej wkrótce po iniekcji, albo wcale nie stwierdzamy zmian lub też obserwujemy bardzo nieznaczny i szybko przemijający przyrost stężenia jonów potasowych, pomimo że objawy zatrucia zwierzęcia wy-

Tabela V.

Stężenie w hemolimfie składników mineralnych po zastrzyknięciu roztworu $MgSO_4$ (8.4 cm³), zawierającego 291 mg Mg i 383 mg S. Ciężar ciała zwierzęcia (№ 7) = 921 g. Początek dośw. 14.1.1929, 11⁰⁰ h. Dośw. № XII.

Concentration de l'hémolymphé en composants minéraux après l'injection de la solution de $MgSO_4$ (8.4 cm³), contenant 291 mgr. de Mg et 383 mgr. de S. Poids du corps de l'animal (№ 7) = 921 gr. Début de l'expérience (№ XII) 14.1.1929, 11⁰⁰ h.

№ próbki hemolimfy <i>№ d'échantillons de l'hémolymphé</i>	Czas od chwili wstrzyknięcia <i>Temps écoulé après l'injection</i>	Mg		S		Ca	K
		mg/cm ³	w procentach stężenia początkowego <i>en % de la concentration initiale</i>	mg/cm ³	w procentach stężenia początkowego <i>en % de la concentration initiale</i>		
			h		%		
1	0	1.434	100	0.714	100	0.454	0.522
2	2	2.314	161	1.960	274	0.486	0.493
3	5	2.232	156	1.801	252	0.487	0.487
4	9	2.222	146	1.746	244	0.492	0.460
5	24	1.880	131	1.508	211	0.515	0.587
6	48	1.766	123	1.304	183	0.522	0.539

stępują dosyć intensywnie. Znaczniejsze przyrosty stwierdzamy dopiero wtedy, gdy ilość wprowadzonego KCl jest odpowiednio duża i gdy pierwsza próbka hemolimfy została wzięta możliwie szybko po iniekcji. Zachowując odpowiednie warunki doświadczenia i pobierając próbki hemolimfy w krótkich odstępach czasu, możemy zauważyć, że jony potasowe należą do tych składników mineralnych hemolimfy, które — działając niezmiernie trująco na organizm — zostają w najkrótszym czasie usuwane z krwiobiegu. W doświadczeniu, podanem w tab. II (por. rys. № 1), widzimy, że po upływie 6.2 godz. od chwili zastrzyku, zwiększającego w momencie pobierania pierwszej próbki (1 godz.) zawartość potasu w hemolimfie do 216%, został elimi-

nowany nie tylko cały nadmiar tego jonu, ale nawet prócz tego pewna ilość, powodująca obniżenie stężenia potasu w hemolimfie do 93% początkowej wartości.

Zjawisko bardzo szybkiego znikania soli potasowych z hemolimfy, jakó procesu o charakterze regulacyjnym, jest tem ciekawsze, że przez organizm krabów, będących zwierzętami mięsożernymi, w normalnych warunkach odżywiania przepływają znaczne ilości soli potasowych, pobieranych wraz z pokarmem.

Tabela VI.

Stężenie w hemolimfie siarki nieorganicznej po wstrzyknięciu roztworu Na_2SO_4 (11 cm^3), zawierającego 287 mg S. Ciężar ciała zwierzęcia (№ 1) = 1411 g. Początek doświadczenia 28.XII. 1928, 11⁰⁰ h. Doświadczenie № VI.

Concentration de l'hémolymphé en soufre inorganique après l'injection de la solution de Na_2SO_4 (11 cm^3), contenant 287 mgr. de S. Poids du corps de l'animal (№ 1) = 1411 gr. Début de l'expérience: 28.XII.1928. Expérience № VI.

№ próbki hemolimfy № d'échantillons de l'hémolymphé	Czas od chwili wstrzyknięcia Temps écoulé après l'injection h	S	
		mg/ cm^3	w proc. stężenia początkowego en % de la concentration initiale %
1	0	0.820	100
2	3.5	1.191	145
3	9	1.215	148
4	24	1.167	142
5	48	1.194	146
6	120	1.094	134

Doświadczenia typu omawianego w niniejszym rozdziale dają również możliwość zorientowania się we względnej szybkości eliminowania z krwiobiegu nadmiaru poszczególnych jonów. Jeżeli mianowicie za miarę tej szybkości przyjmujemy czas, w ciągu którego $\frac{1}{3}$ część nadwyżki znika z hemolimfy, to interpolując poszukiwane wartości z przebiegu krzywych rys. 1, otrzymamy liczby następujące:

KCl	ca 1.5 godz.
CaCl_2	" 15 "
MgSO_4	" 22 "
MgCl_2	" 23 "
Na_2SO_4	> 120 "

Na dwu krańcach tego szeregu znajduje się, z jednej strony, chlorek potasu, jako związek, ulegający stosunkowo najszybszej

eliminacji, z drugiej zaś — siarczan sodowy, który najdłużej z pośród badanych soli pozostaje w cieczach krążących kraba-

2. Wstrzykiwanie mieszanin soli.

Doświadczenia powyższe nad zachowaniem się oddzielnych soli w cieczach ciała nie dają dostatecznie pewnej podstawy do wyprowadzenia wniosków wiążących, dotyczących szybkości względnej regulowania zmienionego składu mineralnego. Doświadczenia te bowiem były prowadzone na różnych osobnikach niejednakowej płci i masy ciała, znajdujących się w różnych okresach głodu, przyczem zwierzętom wprowadzono do krwiobiegu niejednakowe ilości soli, w różnym stopniu zwiększające początkowe stężenie badanych jonów w hemolimfie.

W celu usunięcia różnic indywidualnych i ujednostajnienia innych warunków eksperymentu postępowaliśmy w dalszych naszych poszukiwaniach w sposób następujący:

W każdym doświadczeniu wprowadzano do krwiobiegu mieszaninę kilku soli, wstrzykując ich roztwór stężony, który zawierał katjony w tym samym w przybliżeniu stosunku, w jakim one występują w normalnej hemolimfie kraba. W ten sposób osiągnano w pierwszych chwilach po iniekcji jednakowy przyrost procentowy stężenia badanych jonów w hemolimfie. W razie jednakowej szybkości eliminowania wprowadzonych jonów, krzywe, wyrażające procentowe zwiększanie ich stężenia w zależności od czasu, powinnyby się nawzajem przykrywać. W przeciwnym razie z wielkości wzajemnego odchylenia tych krzywych od siebie, spodziewaliśmy się osiągnąć dokładniejsze wskazówki, odnoszące się do względnej szybkości, z jaką jony wprowadzone znikają z krwiobiegu. Wstrzykując w szeregu doświadczeń, prowadzonych na różnych osobnikach, mieszaniny soli o jednym wspólnym jonie, można było ustalić szereg, wyrażający względną szybkość, z jaką te sole są eliminowane z hemolimfy.

Doświadczeń o typie powyżej opisanym przeprowadziliśmy kilka, z których podajemy dwa najbardziej kompletne i udatne. W obu doświadczeniach wspólnym jonem mieszanin iniekowanych był magnez, wprowadzony jako $MgCl_2$.

W pierwszym doświadczeniu do iniekcji użyto roztwór $KCl + CaCl_2 + MgCl_2$, zawierający następujące ilości katjonów:

Mg	12.69 mg/cm ³
Ca	4.12 " "
K	4.89 " "

czyli w stosunku 1 : 0.32 : 0.39, gdy w hemolimfie zwierzęcia przed iniekcją (tab. VII) znaleziono następujące ilości tych jonów:

Mg	1.471 mg/cm ³
Ca	0.523 " "
K	0.704 " "

t. j. w stosunku wzajemnym, jak 1 : 0.35 : 0.48, różniącym się w porównaniu z roztworem iniekcyjnym głównie większą (o ca. 24%) zawartością jonów potasowych.

Tabela VII.

Stężenie potasu, wapnia, magnezu i chloru w hemolimfie po wstrzyknięciu roztworu KCl + CaCl₂ + MgCl₂ (40 cm³), zawierającego 196 mg K, 165 mg Ca i 508 mg Mg. Ciężar ciała zwierzęcia (№ 9) = 1498 g. Początek doświadczenia 25. I. 1929, 10³⁰ h. Doświadczenie № XV. *Concentration de l'hémolymphe en potassium, en calcium, en magnésium et en chlore, après l'injection de la solution de KCl + CaCl₂ + MgCl₂ (40 cm³), contenant 196 mgr. de K, 165 mgr. de Ca et 508 mgr. de Mg. Poids du corps de l'animal (№ 9) = 1498 gr. Début de l'expérience (№ XV): 25. I. 1929, 10³⁰ h.*

№ obserwacji № d'observation	Czas od chwili wstrzyknięcia Temps écoulé après l'injection	H (hemolimfa — hémolymphe) M (mocz — urine)	K		Ca		Mg		Cl
			w procentach stężenia początkowego en % de la concentration initiale		w procentach stężenia początkowego en % de la concentration initiale		w procentach stężenia początkowego en % de la concentration initiale		
			mg/cm ³	%	mg/cm ³	%	mg/cm ³	%	
1	0	H	0.704	100	0.523	100	1.471	100	22.44
		M	0.562	—	0.626	—	1.933	—	21.60
2	1	H	0.910	129	0.776	148	2.523	172	23.91
		M	0.562	—	0.738	—	2.405	—	—
3	4.5	H	0.506	72	0.542	104	2.340	159	23.06
		M	0.473	—	0.592	—	2.216	—	—
4	8.5	H	0.478	63	0.480	92	2.164	147	23.52
		M	0.481	—	0.507	—	2.314	—	—
5	23.5	H	0.548	78	0.480	92	2.119	144	22.44
		M	0.451	—	0.507	—	2.038	—	22.63
6	32.5	H	0.537	76	0.476	91	2.016	137	22.75
		M	0.451	—	0.496	—	2.064	—	22.75
7	71.5	H	0.495	70	0.472	90	1.896	129	22.48
		M	0.501	—	0.503	—	2.022	—	21.97

W drugim z przytoczonych doświadczeń (tab. VIII) wstrzyknięto roztwór MgCl₂ + MgSO₄, który zawierał:

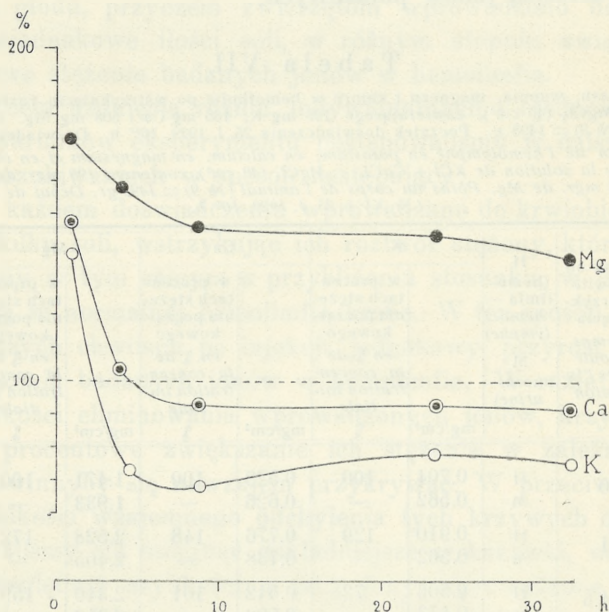
Mg 24.52 mg/cm³
 S 16.14 „ „ ,

zatem w stosunku Mg do S, jak 1:0.65, gdy normalna hemolimfa kraba eksperymentalnego wykazała zawartość tych jonów:

Mg 1.424 mg/cm³
 S 0.840 „ „

o stosunku magnezu do siarki, jak 1:0.59.

W doświadczeniu, w którym roztworem iniekcyjnym była mieszanina chlorków (tab. VII, rys. 2), analiza już pierwszej próbki hemolimfy, wziętej po upływie jednej godziny po zastrzyku,



Rys. 2. Stężenie potasu, wapnia i magnezu w hemolimfie, wyrażone w procentach ich wartości początkowych, po iniekcji roztworu KCl + CaCl₂ + MgCl₂. Według danych tabeli VII.

Fig. 2. Concentrations de potassium, de calcium et de magnésium dans l'hémolymph (exprimées en % de leurs valeurs initiales), après l'injection de la solution des KCl + CaCl₂ + MgCl₂. D'après les données du tableau VII.

ujawniła znacznie odbiegający od normy stosunek ilościowy wprowadzonych katjonów: mianowicie, zamiast spodziewanego prawie jednakowego przyrostu stężenia tych jonów, zwiększanie się koncentracji magnezu wynosiło 72%, wapnia — 48%, zaś potasu — zaledwie 29%. Różnice te jeszcze mocniej zaznaczyły się

w następnych godzinach: gdy po upływie 8.5 godzin w hemolimfie stwierdzono jeszcze znaczny nadmiar (47%) magnezu, to zawartość dwu innych jonów spadła w tym czasie poniżej wartości początkowej, wynosząc dla wapnia 92%, zaś dla potasu — zaledwie 68% stężenia tych jonów przed zastrzykiem.

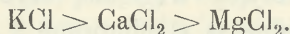
Tabela VIII.

Stężenie składników mineralnych w hemolimfie po wstrzyknięciu roztworu $MgCl_2 + MgSO_4$ (25.7 cm^3), zawierającego 620 mg Mg i 415 mg S. Ciężar ciała zwierzęcia (№ 7a) = 1217 g. Początek doświadczenia (№ XIII) 17.I.1929, 11¹⁵ h.

Concentration de l'hémolymphe en composants minéraux après l'injection de la solution de $MgCl_2 + MgSO_4$ (25.7 cm^3), contenant 620 mgr. de Mg et 415 mgr. de S. Poids du corps de l'animal (№ 7a) = 1217 gr. Début de l'expérience (№ XIII): 17.I.1929, 11¹⁵ h.

№ obserwacji № d'observation	Czas od chwili wstrzyknięcia Temps écoulé après l'injection	H (hemolimfa — hémolymphe) M (mocz — urine)	Mg		S		K	Ca	Cl
			mg/ cm^3	w procentach stężenia początkowego en % de la concentration initiale	mg/ cm^3	w procentach stężenia początkowego en % de la concentration initiale			
				%		%			
h									
1	0	H	1.424	100	0.840	100	0.668	0.550	22.20
		M	1.725	—	1.222	—	0.529	0.561	22.20
2	1.7	H	3.366	238	2.065	246	0.542	0.504	23.43
		M	3.388	—	2.215	—	0.509	0.496	—
3	3.2	H	2.990	211	1.834	218	0.626	0.527	22.04
		M	3.144	—	2.197	—	0.507	0.546	—
4	10.7	H	2.544	179	1.552	188	0.628	0.552	21.90
		M	2.748	—	1.832	—	0.537	0.561	—
5	23.5	H	2.180	153	1.368	163	0.618	0.546	22.30
		M	2.458	—	1.521	—	0.558	0.561	22.66
6	144.0	H	1.596	112	0.961	114	0.735	0.538	19.34
		M	1.598	—	1.117	—	0.571	0.542	19.49

Przebieg znikania z hemolimfy tych trzech katyonów ilustruje rys. 2, przedstawiający w różnych odstępach czasu ilości Mg^{++} , Ca^{++} i K^+ , wyrażone w procentach ich stężeń w hemolimfie normalnego kraba. Stosunek wzajemny tych krzywych dowodzi, że szybkość eliminowania injekowanych soli zmniejsza się w następującym porządku:



W drugim doświadczeniu tego samego typu (tabl. VIII), w którym injekowano jednocześnie $MgCl_2$ i $MgSO_4$, w próbce hemolimfy, pobranej po 1.7 godzinach, znaleziono 3.366 mg Mg i 2.065 mg S

w jednym cm^3 , wobec 1.424 mg Mg i 0.840 mg S w tej samej objętości hemolimfy, wziętej przed iniekcją. Stężenie tych jonów w jednym cm^3 hemolimfy zwiększyło się zatem o 1.942 mg Mg i 1.225 mg S, czyli w stosunku 1 : 0.63. Wobec tego, że jony te znajdowały się w płynie iniekcyjnym prawie w tym samym stosunku (1 : 0.65), możemy już na podstawie tych oznaczeń przypuszczać, że różnice w eliminowaniu tych dwu soli magnezowych są znacznie mniejsze, niż soli, iniekowanych w doświadczeniu poprzednim.

Tabela IX.

Obliczone na podstawie danych tabeli VIII ilości magnezu i siarki, pozostające w różnych odstępach czasu w krwiobieg po iniekcji roztworu MgCl_2 i MgSO_4 .

Quantités de magnésium et de soufre inorganique, qui restent dans le système circulatoire de Crabe dans les divers délais de temps, après l'injection de la solution de MgCl_2 et de MgSO_4 . Ces quantités ont été calculées d'après les données du tableau VIII.

Czas od chwili wstrzyknięcia Temps écoulé après l'injection h	Mg całkowity total mg/cm ³	S całkowita total mg/cm ³	Mg		Stosunek: Rapport: Mg [MgCl_2] Mg [MgSO_4]
			jako comme MgSO_4 mg/cm ³	jako comme MgCl_2 mg/cm ³	
1.7	1.942	1.225	0.928	1.014	1.09
3.2	1.566	0.994	0.753	0.813	1.08
10.7	1.120	0.712	0.540	0.580	1.01
23.5	0.756	0.528	0.400	0.356	0.89
144.0	0.172	0.121	0.092	0.080	0.87

W celu ustalenia kierunku i wielkości tej różnicy, podajemy w tab. IX obliczone ilości jonów magnezowych, związanych z Cl^- i SO_4^{2-} , które w kolejnych momentach doświadczenia (tab. X) jeszcze pozostawały w hemolimfie. Z wartości stosunku ilościowego tych jonów (ostatnia kolumna tab. IX), stale zmniejszającego się w miarę trwania doświadczenia, wnioskujemy, że MgCl_2 jest wydalany z hemolimfy z większą szybkością, niż MgSO_4 .

Na podstawie więc obu doświadczeń możemy ustalić następujący szereg, wyrażający względną szybkość, z jaką badane przez nas sole mineralne są eliminowane z krwiobieg kraba:



3. Rola gruczołu czułkowego.

Wychodząc z założenia, że o roli gruczołu czułkowego w wydalaniu elektrolitów może dać pierwsze orjentacyjne pojęcie porównanie składu mineralnego moczu i hemolimfy u zwierząt normalnych (głodzonych), wykonaliśmy kilka seryj oznaczeń niektórych jonów w obu cieczach. W tabeli podajemy wyniki dwu seryj takich oznaczeń, w których stężenie jonów w moczu możemy porównać ze składem mineralnym cieczy międzycząstkowej hemolimfy.

Tabela X.

Porównanie składu mineralnego hemolimfy, wody morskiej i moczu.

Mise en parallèle de la composition minérale de l'hémolymph avec celle de l'eau de mer et de l'urine.

Składniki <i>Composants</i>	Doświadczenie № XIII. Zwierzę № 7a. <i>№ de l'expérience: XIII. № 7a de l'animal</i>		Doświadc. № XV. Zwierzę № 9 <i>№ de l'exp.: XV. № 9 de l'animal</i>		
	Woda morska <i>Eau de mer</i>	Ultraprzesącz z hemolimfy <i>Liquide ultra- filtré de l'hé- molymphe</i>	Mocz <i>Urine</i>	Ultraprzesącz z hemolimfy <i>Liquide ultra- filtré de l'hé- molymphe</i>	Mocz <i>Urine</i>
	mg/cm ³	mg/cm ³	mg/cm ³	mg/cm ³	mg/cm ³
Cl	22.62	22.20	22.20	22.44	21.60
S	1.071	0.840	1.220	—	—
K	0.534	0.643	0.528	0.677	0.562
Ca	0.517	0.460	0.561	0.436	0.626
Mg	1.702	1.242	1.725	1.283	1.933

Przeglądając liczby tej tabeli, widzimy, że skład mineralny moczu kraba głodzonego jest naogół dosyć zbliżony do składu hemolimfy. Gdy jednak pewne jony znajdują się w obu cieczach w stężeniach prawie identycznych (Cl), to stężenia innych ujawniają bardzo charakterystyczne różnice. Dotyczy to przede wszystkim niedającego się na razie wyjaśnić faktu, że potas znajduje się w moczu w stężeniu znacznie mniejszym (o 17.9 i 17.0%), niż w hemolimfie. Inne natomiast składniki, a więc wapń, magnez i siarka nieorganiczna, są stale bardziej stężone w moczu, niż w cieczy międzycząstkowej hemolimfy, i to — w znacznym stopniu, gdyż w obu przypadkach w moczu znajdujemy wapnia o 22 i 44%, magnezu o 39 i 51% i siarki prawie o tyleż, bo — o 45% więcej, niż w hemolimfie.

Interpretacja wyników doświadczeń, w których krabom wstrzykiwano sole, jest o wiele trudniejsza. Przedewszystkiem z tego powodu, że nie byliśmy w możności ilościowego oddzielenia moczu, przypadającego na dany okres doświadczalny, a następnie — ze względu na zmiany, jakie wprowadza odbiałczenie w rozmieszczeniu elektrolitów między fazą rozdrobnioną i wodną hemolimfy. Pierwsza okoliczność może sprawić, że znalezione stężenie w moczu będzie większe od tego, w jakim jon badany został wydany z hemolimfy, druga zaś — może być przyczyną, iż oznaczone stężenie danego składnika mineralnego w hemolimfie jest mniejsze od rzeczywistego, t. j. od stężenia, w jakim on występuje w cieczy międzycząstkowej hemolimfy, przepływającej przez gruczoł czułkowy. Biorąc pod uwagę powyższe zastrzeżenia, możemy jednak na podstawie wyników, podanych w tabelach VII i VIII, dojść do następujących wniosków ogólnych.

W większości doświadczeń krzywe, wyrażające stężenia w moczu i w hemolimfie jonów, wprowadzonych do krwioobiegu, biegną prawie równoległe do siebie. Podobnie, jak u zwierząt normalnych, i tutaj również potas stanowi wyjątek, gdyż po iniekcji stosunkowo znacznych ilości KCl (tab. VII) stężenie jonów potasowych w moczu w pierwszych godzinach doświadczenia wcale się nie zwiększa, a nawet przeciwnie — ulega wyraźnemu zmniejszeniu, pomimo że w hemolimfie stwierdzono znaczny przyrost stężenia potasu.

Co się tyczy sprawy stosunku ilościowego stężeń, to pomijając potas, którego ilość w moczu jest w przebiegu doświadczenia przeważnie mniejsza, niż w hemolimfie, wszystkie inne składniki — wapń, magnez i siarka nieorganiczna są, podobnie jak i u zwierząt normalnych, wydane w moczu w większym stężeniu. Szczególnie wyraźne rezultaty osiągnięto w doświadczeniach, w których wstrzykiwano CaCl_2 (tab. VII) i MgSO_4 (tab. VIII): w pierwszym przypadku nadwyżka wapnia w moczu dochodziła do 9% (nie biorąc pod uwagę faktu, iż w surowicy odbiałczonej stężenie jego jest o ca. 12% większe, niż w ultraprzesączce), w drugim zaś — intensywnie (w 13%) wiążący się w hemolimfie magnez i siarka mineralna występowały w moczu w stężeniach znacznie większych, dochodzących do 13% (tab. VIII, obserw. № 5) wzgl. do 20% (obserw. № 3), niż w hemolimfie odbiałczonej.

Na podstawie więc faktów powyższych i uwzględniając zastrzeżenia, wyrażone na początku tego rozdziału, możemy uważać za uzasadniony pogląd na gruczoł czułkowy, jako na narząd wydalniczy, stężający znajdujące się w hemolimfie sole wapniowe i magnezowe.

W celu stwierdzenia, jaka rola w procesie usuwania elektrolitów z krwiobiegu przypada w udziale nerce, niezbędna jest prócz składu mineralnego moczu znajomość szybkości jego prze-

Tabela XI.

Szybkość wydalania moczu przez *Maja squinado*. Ciężar ciała zwierzęcia = 2190 g. Przed rozpoczęciem obserwacji wyciągnięto 31 cm³ moczu.

Vitesse de l'excrétion de l'urine chez Maja squinado. Poids du corps de l'animal = 2190 gr. Avant le commencement de l'observation on a recueilli ca. 31 cm³ d'urine.

Okresy zbierania moczu <i>Périodes dans lesquelles l'urine a été recueillie</i>	Czas trwania każdego okresu <i>Durée de chaque période</i>	Wydalona ilość moczu <i>Quantités de l'urine excrétées</i>			
		w czasie każdego okresu <i>pendant chaque période</i>	w obliczeniu na jedną godzinę <i>pendant une heure</i>	przeciętnie na jedną godzinę <i>moyenne par heure</i>	przeciętnie na jedną dobę <i>moyenne par 24 h.</i>
	h	cm ³	cm ³	cm ³	cm ³
16. II. 11 ³⁰ — 16. II. 19 ⁰⁰	7.5	18	2.41	} 1.96	} 47.0
" " 19 ⁰⁰ — " " 22 ⁵⁵	3.9	12	3.07		
" " 22 ⁵⁵ — 17. II. 12 ⁰⁰	13.1	18	1.37		
17. II. 12 ⁰⁰ — 17. II. 16 ⁰⁰	4.0	19	4.75	} 2.54	} 61.0
" " 16 ⁰⁰ — " " 22 ³⁰	6.5	17	2.61		
" " 22 ³⁰ — 18. II. 11 ⁰⁰	12.7	23	1.81		
18. II. 11 ⁰⁰ — 18. II. 13 ³⁵	2.5	12	4.80	} 2.65	} 63.6
" " 13 ³⁵ — " " 21 ³⁰	7.9	24	3.04		
" " 21 ³⁰ — 19. II. 12 ⁰⁰	14.5	30	2.07		

plywu przez gruczoł wydalniczy kraba. Pomiary tego rodzaju natrafiają jednak — jak już wspomnieliśmy — na znaczne trudności z powodu niemożności ilościowego oddzielenia moczu. Dlatego też liczby nasze mogą mieć znaczenie tylko wartości przybliżonych.

Wyniki jednej z takich obserwacji, trwającej trzy doby, wykonanej na wyjątkowo dużym zwierzęciu (2190 g), zostały umieszczone w tab. XI. Zwierzę stałe znajdowało się w akwarjum, z którego wyjmowano go tylko na czas zbierania moczu. Zabieg ten, po możliwie dokładnym opróżnieniu pęche-

rzów moczowych na początku, powtarzano co pewien czas (co 4 — 14 g.), wyciągając ciecz z obu otworów moczowych i notując za każdym razem jej objętość. Jak widzimy, obliczona szybkość produkcji moczu na godzinę waha się w dużych granicach ($1.37 — 4.80 \text{ cm}^3$), i jest naogół mniejsza w godzinach nocnych, gdy zwierzę pozostawało bez kontroli. W obliczeniu na dobę liczby te mniej odbiegają od siebie ($47.0 — 63.6 \text{ cm}^3$), średnia zaś szybkość z trzech dni wynosi 57.3 cm^3 . Stanowi to w obliczeniu na kilogram masy zwierzęcia i na dobę zaledwie 26.1 cm^3 , czyli innymi słowy, ilość przepływającej na dobę wody przez nerki kraba w warunkach normalnych jest zapewne nie o wiele większa od wartości, wynoszącej 3% masy ciała kraba.

Wobec tego faktu i wobec okoliczności, że w warunkach doświadczalnych stężenie poszczególnych soli w moczu tylko nieznacznie różni się od stężenia tych składników w hemolimfie, dochodzimy do wniosku, że udział gruczołu czułkowego w usuwaniu nadmiaru elektrolitów z krwiobiegu jest bardzo nieznaczny.

Dla zorientowania się w wartości liczbowej tego udziału, na podstawie jednego z doświadczeń przeprowadziliśmy obliczenie ilości absolutnych składnika injekowanego, które w przeciągu danego czasu znikają z krwiobiegu i zjawiają się w moczu. Za podstawę obliczeń wzięliśmy doświadczenie (tab. VIII), w którym wstrzyknięto duży nadmiar jonów magnezowych, znikających — jak wiadomo — dosyć powoli z krwiobiegu i wydalanych w moczu w stężeniu większym od tego, w jakim znajdują się one w hemolimfie.

Biorąc pod uwagę np. okres czasu między drugą a piątą obserwacją (tab. VIII) oraz średnią szybkość wydalania moczu przez kraba (31.8 cm^3 na 24 godz.) i prócz tego — przeciętne stężenie magnezu w moczu (2.923 mg/cm^3) i w wodzie morskiej (1.702 mg/cm^3), resorbowanej na miejsce wydalanego moczu, otrzymamy ilość magnezu, która zostaje usuwana drogą nerkową, równą 35 mg. Ilość magnezu, która w tym samym czasie, t. j. w ciągu 21.8 godz., znika z krwiobiegu, obliczamy z różnicy między jego ilością w hemolimfie na początku (3.366 mg/cm^3) i w końcu (2.180 mg/cm^3), znając objętość hemolimfy w zwierzęciu. Przyjmując, że ilość hemolimfy w ciele kraba wynosi

około 40% wagi żywej¹⁾, t. j. za równą około 500 cm³, dochodzimy do wartości, wynoszącej około 590 mg magnezu, eliminowanych z krwiobiegu, wobec 35 mg, które zostały usunięte drogą nerkową.

W omawianem więc doświadczeniu zwierzęta wydalily wraz z moczem zaledwie 6% tej ilości magnezu, która zniknęła z hemolimfy. W jeszcze mniejszym stopniu gruczoł czułkowy współdziała w usuwaniu innych katjonów.

Fakty te wskazują na to, iż w przypadku gwałtownego zakłócenia normalnego składu elektrolitów w hemolimfie, wchodzi w grę znacznie potężniejsze i sprawniej od gruczołów czułkowych działające mechanizmy, szybko usuwające nadmiar wprowadzonych jonów.

Dyskusja.

Doświadczenia nasze, w których wprowadzaliśmy do krwiobiegu sole i badaliśmy ich zachowanie się, dowodzą, że kraby posiadają zdolność usuwania z hemolimfy nadmiaru elektrolitów, naruszających normalne stosunki międzyjonowe. Proces eliminowania składników zbędnych i powrót do stosunków normalnych trwa różnie długo, zależnie od ilości i jakości soli, wprowadzonych do cieczy ciała zwierzęcia.

Ze zwierzęta pojkilosmotyczne, żyjące w wodzie morskiej, są organizmami *h o m o j o c h e m i c z n e m i*, wydaje się a priori koniecznością fizjologiczną. Niewyjaśniony bowiem pozostałby fakt, że większość bezkręgowców w tym kierunku zbadanych, ujawniając identyczne z wodą morską stężenie osmolarne elektrolitów i poddając się biernie zmianom ciśnienia osmotycznego w środowisku zewnętrznym, posiada pomimo to skład mineralny osocza, wykazujący — w porównaniu z wodą morską — znaczne różnice stężeń poszczególnych składników mineralnych (MACAL-

¹⁾ U kraba № 6 (602 g), którego użyliśmy do tego oznaczenia, znaleźliśmy drogę bezpośrednią, t. j. drogą upustu, 40.6% hemolimfy w stosunku do ciężaru ciała. Zwierzę to było poprzednio użyte do doświadczenia, w którym wstrzykiwano do krwiobiegu MgSO₄: obliczenie objętości hemolimfy, przeprowadzone na podstawie znajomości stężenia siarki nieorganicznej przed iniekcją (0.875 mg/cm³) i wkrótce po niej (2.736 mg/cm³), doprowadziło do liczby 44.7%, zbliżonej do znalezionej bezpośrednio.

LUM 10). W przypadku np. *Maja squinado* (tab. X) stężenie wapnia, magnezu i siarki nieorganicznej w hemolimfie zwierzęcia głodzonego są odpowiednio o 11%, 27% i 22% mniejsze, niż w wodzie morskiej.

Również niezrozumiałymi byłyby fakt stałości składu mineralnego cieczy ciała tych zwierząt, czy to w stanie głodu, w czasie którego z tkanek, ulegających zużyciu, przechodzą do krwiobiegu elektrolity w odmiennym niż w osoczu stosunku, czy też w warunkach odżywiania, gdy powierzchnia chłonna jelit wprowadza do hemolimfy wraz z pokarmem zmienne ilości soli, w innej niż w hemolimfie proporcji.

Zagadnieniem, które wymaga specjalnego wyjaśnienia jest kwestja mechanizmu tego zjawiska, niedostatecznie jasna w świetle bezpośrednich wyników naszych poszukiwań. Wykazały one bowiem, że gruczoł czułkowy jest narządem wydalniczym, pracującym niezmiernie powoli: mogąc w zwykłych warunkach życia krabów, w których zapewne zachodzą niewielkie zmiany w stosunkach jonowych hemolimfy, sprostać zadaniu, nerka krabów nie jest w możności eliminowanie całego nadmiaru składników, doświadczalnie wprowadzonych do krwiobiegu.

Zachodzi więc pytanie, jakimi drogami ten nadmiar jest usuwany z cieczy ciała zwierzęcia?

Nie jest rzeczą wykluczoną, że część tego nadmiaru jest wydalana przez części miękkie pokrycia ciała: decydującymi w tym kierunku byłyby doświadczenia, w których po iniekcji i po zamknięciu otworów gębowego i odbytowego oraz otworów moczowych umieszczano zwierzę w wodzie morskiej, oznaczając w niej stężenie iniekowanych elektrolitów. W tym sensie należy interpretować badania BETHE'GO (128) nad *Carcinus Maenas*, w których występowała niższa normalnego stężenia niektórych elektrolitów we krwi kraba, umieszczonego w sztucznej, pozbawionej tych elektrolitów wodzie morskiej. Doświadczenia te jednak nie są całkowicie przekonujące z tego powodu, że możliwość resorbowania przez przewód pokarmowy wody morskiej nie była eksperymentalnie wyłączona.

W naszych doświadczeniach czynnik dyfuzji przez powierzchnie ciała odgrywał prawdopodobnie rolę podrzędną. Wskazuje na to szybkość, z jaką niektóre sole iniekowane znikają z krwiobiegu. Np. w doświadczeniu, w którym wstrzykiwano mieszaninę

KCl + CaCl₂ + MgCl₂ (tab. VII i rys. 2), całkowita ilość wprowadzonego potasu (196 mg) zniknęła z hemolimfy już po upływie 2 godz. 16 min., zaś z ogólnej ilości injekowanego wapnia (165 mg) po upływie 4 godz. 20 min. nie znaleziono już ani śladu w osoczu.

Okoliczność ta przemawia za istnieniem w organizmie urządzeń, szybciej działających, niż nerki lub powierzchnie ciała. Przeprowadzając analogję ze zjawiskami regulacji składu mineralnego osocza u zwierząt homojosmotycznych (MAGNUS '00), widzimy wiele przesłanek, przemawiających za tem, że i w danym przypadku mamy do czynienia ze stanem równowagi odwracalnej między osoczem, z jednej strony, a tkankami ciała, z drugiej. Naruszenie równowagi w sensie zmiany koncentracji jednego ze składników mineralnych w hemolimfie powoduje wiązanie lub uwalnianie tego składnika przez tkanki. W naszych doświadczeniach wchodziłoby w grę szczególnie silne powinowactwo w stosunku do tkanek soli potasowych, najszybciej znikających z hemolimfy i wywołujących silne działanie trujące.

Nerki i inne układy wydalnicze pełnią rolę wentylów o wąskim wylocie, wrażliwych na małe zmiany stężeń parcjalnych, które ustawicznie zachodzą w wewnętrznym środowisku ustroju.

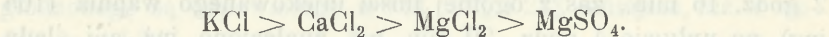
Streszczenie wyników.

1°. *Maja squinado*, posiadająca skład i stężenie elektrolitów, zbliżone do wody morskiej, ujawnia wybitnie wyrażoną zdolność regulowania składu mineralnego cieczy ciała: wprowadzone do krwiobiegu sole, będące normalnymi składnikami hemolimfy, po krótszym lub dłuższym przeciągu czasu całkowicie znikają z osocza.

2°. Zdolność usuwania z cieczy ciała nadmiaru składników mineralnych nie jest jednakowa w stosunku do poszczególnych soli: najszybciej jest eliminowany silnie trujący chlorek potasu, najpowszechniej — siarczan sodu.

3°. Doświadczenia, w których wstrzykiwano zwierzęciu mieszaninę dwu lub więcej soli, w ilościach, w jednakowym stopniu zwiększających ich stężenie w hemolimfie, wykazały, że z punktu

widzenia szybkości znikania z krwiobiegu przedstawiają one następujący szereg:



4°. Gruczoł czulkowy posiada zdolność usuwania z osocza nadmiaru elektrolitów: dowodzą tego doświadczenia, w których analizowano zbierane jednocześnie próbki moczu i hemolimfy.

5°. Jony wapniowe, magnezowe i siarczanowe występują w moczu zwierząt normalnych i doświadczalnych w stężeniach większych, niż w hemolimfie.

6°. Ze względu na małą szybkość przepływu wody przez gruczoł czulkowy (wynoszącą około 3% masy ciała na dobę) oraz ze względu na zdolność nieznaczego tylko zagęszczenia niektórych elektrolitów w moczu, narząd ten posiada cechy układu wydalniczego, pracującego bardzo powoli. W zjawiskach usuwania z hemolimfy dużych ilości elektrolitów, zwłaszcza w pierwszych momentach po iniekcji, narządowi temu przypada bardzo niewielki udział.

7°. Istnieją dane, przemawiające za tem, że główną rolę w tych zjawiskach pełnią tkanki ciała (mięśnie?) zwierzęcia, które wychwytyją i wiążą nadmiar wprowadzonych do krwiobiegu związków mineralnych.

Piśmiennictwo.

- Bell R. D. and E. A. Doisy. 1920. Rapid colorimetric methods for the determination of phosphorus in urine and blood. *Journ. of biol. Chem.* **44** (55).
Bethe A. 1908. Die Bedeutung der Elektrolyten für die rhythmischen Bewegungen der Medusen. I Theil. Die Wirkung der im Seewasser enthaltenen Salze auf die normale Meduse. *Arch. f. d. ges. Physiol.* **124** (541).
Bethe A. 1927. Der Einfluss der Ionen der Seewassers auf rhythmische Bewegungen der Meerestieren. *Arch. f. d. ges. Physiol.* **217** (456).
Bethe A. 1928. Jonendurehlässigkeit der Körperoberfläche von wirbellosen Tieren des Meeres als Ursache der Giftigkeit von Seewasser abnormer Zusammensetzung. *Arch. f. d. ges. Physiol.* **221** (344).
Bethe A. 1930. The permeability of the surface of marine animals. *Journ. of gen. Physiol.* **13** (437).
Białaszewicz K. 1926. O składzie mineralnym komórek jajowych (Sur la composition minérale der oeufs). *Trav. Inst. Nencki (Varsovie)*. **3** (№ 52).
Białaszewicz K. 1927a. Sur la composition minérale des cellules-oeufs. *Public. della Stazione Zool. di Napoli*. **8** (355).
Białaszewicz K. 1927b. O zastosowaniu ultrafiltracji w badaniach nad rozmieszczeniem elektrolitów w cyto-

plazmie. (Sur l'emploi de l'ultrafiltration pour l'étude de la répartition des électrolytes dans le cytoplasme). Trav. Inst. Nencki (Varsovie). 4 (№ 57). **Białaszewicz K.** 1928a. L'ultrafiltration appliquée à l'étude de la répartition des électrolytes dans le cytoplasme. Ann. de Physiol. 4 (1). **Białaszewicz K.** 1928b. Studja porównawcze nad składem cieczy międzycząstkowej komórek jajowych. Acta Biol. Exper. (Varsovie). 1 (№ 11). **Białaszewicz K.** 1929. Recherches sur la répartition des électrolytes dans le protoplasme des cellules ovulaires. „Protoplasma“. 6 (1). **Bottazzi Phil.** und **E. Enriques.** 1901. Über die Bedingungen des osmotischen Gleichgewichts und Gleichgewichtsmangels zwischen den organischen Flüssigkeiten und dem äusseren Medium bei den Wassertieren. Arch. (f. Anat.) und Physiol. Suppl. (109). **Briggs A. P.** 1922. A modification of the Bell-Doisy phosphate method. Journ. of biol. Chem. 53 (13). **Dekhuizen C.** 1921. Sur la semi-perméabilité biologique des parois extérieures des Sipunculides. C. R. Acad. Sc. 172 (238). **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). **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). **Hecht G.** 1923. Bestimmung des Organkalkes nach de Waard. Bioch. Zeitschr. 143 (342). **Henri V.** et **S. Lalou.** 1904. Regulation osmotique des liquides internes chez les Échinodermes. Journ. de Physiol. et Path. gén. 6 (9). **Kramer B.** and **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 *Cyanea arctica*. Journ. of Physiol. 29 (213). **Macallum A. B.** 1910. The inorganic composition of the blood in vertebrates and invertebrates, and its origin. Proc. Roy. Soc. B. 82 (602). **Macallum A. B.** 1926. The paleochemistry of the body fluids and tissues. Physiol. Rev. 6 (316). **Magnus R.** 1900. Über die Veränderungen der Blutzusammensetzung nach Kochsalzinfusion. Arch. f. exp. Path. u. Phamak. 44 (68). **Magnus R.** 1900. Über Diurese. II Mitt.: Vergleich der diuretischen Wirksamkeit isotonischer Salzlösungen. Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 44 (396). **Marchal P.** 1892. Recherches anatomiques et physiologiques sur l'appareil excréteur des Crustacés Décapodes. Arch. Zool. Expér. et Gén. Sér. II. 10 (57). **Quinton R.** 1900. Perméabilité de la paroi extérieure de l'Invertébré marin, non seulement à l'eau, mais encore aux sels. C. R. Acad. Sc. 131 (952). **Quinton R.** 1912. L'eau de mer, milieu organique. 2-me édition. Paris (Masson). **de Waard D. J.** 1919. Eine Mikrobestimmung des Calciums in Blut, Serum und anderen organischen Substanzen. Bioch. Zeitschr. 97 (176). **Whitehorn J. C.** 1921. A system of blood analysis. Simplified method for the determination of chlorides in blood plasma. Journ. of biol. Chem. 45 (449).

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 polskiem) nie powinny w zasadzie przekraczać objętości jednego arkusza druku. Rękopisy winny być pisane możliwie zwięźle, z 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 poważniejsze 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 (*petit tusty*); 2^o, NAZWISKA AUTORÓW w TEKŚCIE — dwiema linjami ciągłymi (kapitałiki); 3^o, ustępy tekstu o charakterze wniosków — jedną linią przerywaną (tekst spacjaowany); 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 tabel pozatekstowych—jedną linią falistą (*kursywa*).

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 $\frac{2}{3}$)—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.: Nencki 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, Kapucyńska 7