

PRACE INSTYTUTU im. NENCKIEGO
TRAVAUX DE L'INSTITUT NENCKI

Tom IV, zes. 2.

Z Zakładu Fizjologii Instytutu
i Stacji Zoologicznej w Neapolu.

K. BIAŁASZEWICZ.

O zastosowaniu ultrafiltracji w badaniach nad rozmieszczeniem elektrolitów w cytoplazmie¹⁾.

Sur l'emploi de l'ultrafiltration pour l'étude de la répartition des électrolytes dans le cytoplasme.

Rzecz zgłoszona dn. 15. I. 1927.

En étudiant la répartition des électrolytes dans le cytoplasme, au moyen de la méthode de l'ultrafiltration, on a à surmonter de grandes difficultés pour séparer les colloïdes de la phase aqueuse. A cause de la grande quantité de colloïdes dans le cytoplasme, on n'obtient des résultats satisfaisants avec cette méthode que lorsqu'on travaille avec du cytoplasme dilué. Il en est de même pour la méthode de dialyse avec compensation.

En conséquence, la nécessité s'est imposée d'éclaircir en premier lieu le comportement des électrolytes anorganiques dans le cytoplasme dilué à divers degrés. Nous nous sommes servi, comme matériel d'expérience, du cytoplasme d'oeufs de divers animaux (surtout *Gallus domesticus* L., *Salmo fontinalis* L., *Labrax lupus* Cuv. et *Torpedo ocellata* Raf.). Pour la dilution de l'ooplasme, des solutions isosmotiques des sels neutres (Li_2SO_4 , $LiNO_3$, $NaNO_3$) ont été employées, ou bien, dans des cas exceptionnels (*Torpedo Labrax*), de l'eau distillée.

¹⁾ Komunikat przedstawiony na posiedzeniu III Wydz. Tow. Nauk. Warsz. w dniu 3 marca 1927 r.

Après avoir préparé une série de mélanges de l'ooplasme avec le liquide diluant, on filtrait ces mélanges par les ultrafiltres et on dosait dans les ultrafiltrats d'une part, et dans les cendres des mélanges de l'autre, les constituants suivants: le potassium, le sodium, le calcium, le magnésium, le phosphore et le chlore. Sur les tableaux, le contenu de ces composés est évalué en milligrammes par 1 cm³ de liquide. Dans les expériences exécutées avec les oeufs de *Torpedo*, on déterminait le point de congélation de l'ooplasme et des mélanges de l'ooplasme avec de l'eau distillée.

Nos expériences ont tous d'abord démontré (tabl. I) que le pourcent du chlore, lié à la phase disperse, est presque indépendant du degré de dilution de l'ooplasme (n). Ce comportement du chlore permet de déterminer (tab. I) le volume du liquide intermicellaire dans 1 cm³ de l'ooplasme (d_0), en s'appuyant sur les déterminations de la concentration du chlore dans les ultrafiltrats ($u_1 \dots u_x$) de l'ooplasme dilué (v. équation 5). Nous nous sommes basés sur le même principe pour calculer la valeur de d_0 dans le jaune des oeufs de *Torpedo* (tab. II), où la concentration de la phase aqueuse de l'ooplasme et de ses mélanges a été déterminée par la méthode cryoscopique (v. éq. 4).

La valeur de d_0 une fois établie permet de définir plus exactement la répartition des électrolytes dans les divers mélanges du cytoplasme. Cette répartition est caractérisée par le quotient δ , qui exprime le rapport entre la quantité d'un composé dans le liquide intermicellaire (ud) et sa quantité totale (c) dans le mélange respectif (v. éq. 4).

Les valeurs de δ (calculées pour les différents composés et pour des mélanges d'ooplasme de différente dilution) démontrent (tab. III, IV et V) que les ions du potassium se comportent, dans les mélanges dilués, à peu près comme ceux du chlore, en ce que leur quantité relative dans le liquide intermicellaire change fort peu avec la dilution. Par contre, les cations des métaux bivalents (*Ca*, *Mg*) et les anions des phosphates (v. le diagramme sur la p. 19) se comportent tout

¹⁾ D'après les méthodes microanalytiques, décrites dans notre précédent travail ('26).

différemment. Ils forment avec la phase disperse de la cellule des liaisons moins stables et, en conséquence, dans les mélanges plus dilués, ils passent en grandes quantités dans le liquide intermicélaire.

L'analyse quantitative de ces phénomènes a démontré en plus, que la valeur du quotient δ est sensiblement une fonction rectiligne du degré de dilution de l'ooplasme (n). Cette relation permet de calculer par extrapolation les valeurs initiales de δ pour l'ooplasme non dilué (v. éq. 7).

Nous avons donc évalué la concentration des électrolytes dans le liquide intermicélaire du cytoplasme non dilué (u_0), en nous basant sur les données suivantes: la valeur moyenne de la concentration globale des composés minéraux dans le cytoplasme, qui ont été dosés dans les cendres (c_0); la valeur des quotients δ_0 , calculés d'après la répartition de ces composés dans les mélanges du cytoplasme dilué; le volume de la phase aqueuse du cytoplasme (d_0), déterminé d'après le degré de dilution des mélanges (n) et d'après la concentration, dans les ultrafiltrats, du composé non adsorbable.

* * *

Treść: 1) Uwagi wstępne. 2) Materiał, technika doświadczeń i metody mikroanalityczne. 3) „Przestrzeń rozpuszczająca” cytoplazmy. 4) Rozmieszczenie elektrolitów w cytoplazmie. 5) Stężenie elektrolitów w obu fazach cytoplazmy. 6) Streszczenie wyników.

1. Uwagi wstępne.

Badanie lat ostatnich, przeprowadzone z pomocą ultrafiltracji i dializy kompensacyjnej, w znacznym stopniu przyczyniły się do wyświetlenia stosunku elektrolitów do substancyj koloidalnych w cieczach ciała. Prace odnośne¹⁾ stwierdziły, że

¹⁾ Literatura zagadnienia jest podana w sposób wyczerpujący w referacie A u s' b e r g e r a ('25).

dzięki wiązaniu się soli nieorganicznych z koloidami tylko część ich znajduje się we krwi w roztworze wodnym. Fakt ten posiada doniosłe znaczenie dla interpretacji zjawisk wymiany materji, które zachodzą między osoczem a elementami komórkowymi, z jednej strony, a środowiskiem zewnętrznym organizmu — z drugiej.

O ile stan obecny wiadomości o rozmieszczeniu elektrolitów w cieczach ciała można uważać za zadawalający, to o stosunku składników nieorganicznych do fazy koloidalnej w komórkach i w tkankach zwierzęcych jesteśmy poinformowani w sposób zgoła niedostateczny. Wszystko, co wiemy o składnikach mineralnych cytoplazmy, sprowadza się niemal wyłącznie do analiz popiołu¹⁾, które dają pojęcie jedynie o ryczałtowej zawartości tych substancyj, będących produktem doszczętniej destrukcji fazy rozdrobionej komórki.

Tymczasem sprawa podziału składników popiołu pomiędzy fazą wodną i rozdrobioną komórki posiada niemałą doniosłość dla szeregu zagadnień fizjologicznych, z pośród których na pierwsze, bez wątpienia, miejsce wysuwają się procesy wymiany elektrolitów ze środowiskiem otaczającym. Wyświetlenie mechanizmu tego zjawiska jest nieosiągalne bez dokładnej znajomości składu chemicznego cieczy międzycielarnej w obu układach koloidalnych, t. j. nie tylko w osoczu, lecz również w cytoplazmie.

Jedną z głównych przyczyn obecnego stanu wiadomości o komórce są niezawodnie trudności, jakie następują się w oddzielaniu fazy wodnej od fazy rozdrobionej. W pracy niniejszej trudności te usiłowaliśmy usunąć pośrednio, badając zachowanie się elektrolitów w mieszaninach cytoplazmy rozcieńczonej, z łatwością dającej się cedzić przez błony ultrafiltracyjne. Analizy tych mieszanin oraz ich ultraprzesączów pozwalają wnioskować o rozmieszczeniu elektrolitów w materiale wyjściowym, t. j. w samej cytoplazmie.

Poniżej podajemy opis doświadczeń, mających na celu ustalenie wartości t. zw. „przestrzeni rozpuszczającej“ oraz — rozmieszczenia i stężenia niektórych elektrolitów w obu fazach cytoplazmy.

¹⁾ Por. artykuł Arona i Gralki ('24).

2. Materiał, technika doświadczeń i metody mikroanalizy.

W badaniach nad rozmieszczeniem elektrolitów w komórce nie mniejsze znaczenie od metody posiada wybór odpowiedniego obiektu. Powinien on, przede wszystkim, zapewniać możliwość rozporządzania dostatecznymi ilościami materiału wyjściowego, niezbędnymi dla przeprowadzenia szeregu analiz chemicznych, a następnie — winien ujawniać pewne właściwości, umożliwiające otrzymanie cytoplazmy w stanie zupełnie czystym, pozbawionym domieszek obcych. Ostatni względ ogranicza w znacznym stopniu wybór obiektu wśród tkanek ustroju zwierzęcego, które przeważnie są obficie unaczynione: zupełne usunięcie krwi z naczyń włosowatych oraz limfy z przestrzeni międzykomórkowych nastęca, jak wiemy z badań Fahra ('08), Urano ('08) i innych autorów, bardzo poważne trudności.

Względ powyższy skierował uwagę na komórki jajowe, jako na materiał najodpowiedniejszy. Ten typ komórek daje się bowiem z łatwością uwolnić od zanieczyszczeń (głównie — resztek cieczy ciała, „białka“ lub wody morskiej, przylegających do powierzchni jaj) oraz można go mieć w dużych ilościach do dyspozycji. W doświadczeniach, opisanych poniżej, posługiwaliśmy się, jako materiałem wyjściowym, jajami następujących zwierząt: *Gallus domesticus* L., *Salmo fontinalis* L., *Labrax lupus* Cuv. i *Torpedo ocellata* Raf.

W tej części pracy podajemy wskazówki, którymi kierowaliśmy się w doświadczeniach: dotyczą one przygotowywania materiału, mierzenia objętości cytoplazmy, postępowania przy rozcieńczaniu cytoplazmy i sporządzaniu ultraprzesączców oraz — metod spoielenia i oznaczania niektórych składników w popiele i w ultraprzesączkach.

Oczyszczanie materiału uskutecziano w ten sposób, że jaja oplukiwano kilkakrotnie małymi porcjami izosmotycznych roztworów azotanu litu, odcinając naprzód cienką pipetą, a potem — bibułą, resztki cieczy, przylegającej do powierzchni jaj.

Pozbawione domieszek obcych jaja ścierano następnie w móżdżerze, uwalniano od błon, cedząc miążgę przez muslin, dzielono na porcje i ważono.

Jedna z porcji cytoplazmy służyła do pomiarów objętości właściwej, które wykonywano przy pomocy piknometru.

Z masy i objętości właściwej obliczano objętości pozostałych porcyj ooplazmy, przeznaczonych do przygotowania mieszanin.

Do rozcieńczania miazgi używano bądź wody destylowanej (w doświadczeniach nad jajami *Torpedo* i *Labrax*), bądź też — co miało miejsce w większości przypadków — roztworów wodnych (obojętnych na lakmus) Li_2SO_4 , $LiNO_3$ i $NaNO_3$ o stężeniu, izosmotycznym w stosunku do jaj badanych. Najodpowiedniejszą cieczą okazał się, jak wynika z odnośnych doświadczeń, roztwór azotanu litu. Mieszaniny o znanym stopniu rozcieńczenia sporządzano przez dodanie do określonej ilości ooplazmy ściśle odmierzonych objętości odpowiednich roztworów. Po dokładnym wymieszaniu przystępowano niezwłocznie do sączenia.

Do sporządzenia ultraprzesączów posługiwano się wyłącznie aparaturą Zsigmondy'ego ('18), używając lejków brązowych (*WB*) lub porcelanowych (*PA*) o średnicy 9 cm oraz błon ultrafiltracyjnych de Häena o tychże wymiarach¹⁾. Stopień przepuszczalności błon sprawdzano, przepuszczając przez nie, naprzód—roztwór czerwieni kongo, a następnie — rozcieńczony roztwór białka kurzego i emulsję z żółtka. Przesącz badano na obecność białka i do doświadczeń używano tylko te sączki, które dawały przesącze, nie wykazujące reakcji biuretowej i nie dające straty z odczynnikiem Johannisiana.

Sączenie odbywało się pod zwiększonym ciśnieniem, nie przekraczającym jednej atmosfery (Burian '09, '10). W celu przyspieszenia tego procesu, odbywającego się w razie sączenia cytoplazmy mało rozcieńczonej bardzo powoli (3—5 cm³ na godzinę), ciecz znajdującą się w lejku mieszano bez przerwy, uzyskując dzięki temu przyspieszenie kilkakrotne. Dla zmniejszenia do minimum t. zw. „błędu sączka“, wynikającego z obecności wody w błonie i jej własności adsorbcyjnych, tę ostatnią przed użyciem osuszano bibułą oraz usuwano pierwszą porcję (3—6 cm³) przesącza. Otrzymywano w ten sposób szereg przesączów zupełnie klarownych i pozbawionych białka, przeważnie zlekka zabarwionych na kolor szmaragdowy. Przed użyciem przesącze te rozcieńczano wodą destylowaną do jednakowego mniej więcej

¹⁾ „Vereinigung Göttinger Werke“.

stężenia składników, które oznaczano metodami mikroanalitycznymi.

Spopielenie pozostałości stałej mieszanin przeprowadzałem ściśle według metody, którą opisałem w pracy poprzedniej ('26) nad składnikami mineralnymi komórek jajowych.

W popiele mieszanin i w ultraprzesączach były oznaczane następujące składniki: *K*, *Na*, *Ca*, *Mg*, *P* i *Cl*. Posługiwałem się w tym celu metodami mikroanalitycznymi według wskazówek, podanych we wspomnianej pracy. Były to metody: Kramera i Tisdalla ('21 b)—na potas, Bálinta ('24), i Kramera-Tisdalla ('21 a, c, d) — na sól, de Waarda ('19) — na wapń, Kramera i Tisdalla ('21 d), Bella i Doisy'ego ('20) oraz Briggisa ('22) — na magnez, Briggisa ('22) — na fosfor i Whitehorna ('20) — na chlor.

3. „Przestrzeń rozpuszczająca“ cytoplazmy.

Wpływ, wywierany przez fazę rozdrobnioną na stężenie elektrolitów w roztworach niejednorodnych, został na materiale biologicznym poraz pierwszy zauważony przez Fredericę ('01, '02). Autor ten stwierdził, że u niektórych morskich zwierząt pojkilosmotycznych stężenie soli nieorganicznych we krwi jest wyraźnie mniejsze, niż w wodzie morskiej, względem której zwierzęta te są izosmotyczne. Na podstawie specjalnie w tym kierunku przeprowadzonych poszukiwań Fredericę wykazał, że różnica ta ma swe uzasadnienie w fakcie, iż przestrzeń, w której są rozpuszczone sole, jest w rzeczywistości mniejsza od objętości krwi o objętość, jaką zajmują w niej substancje koloidalne.

Znaczenie tego faktu dla zjawisk, związanych z rozmieszczeniem i wymianą elektrolitów w cieczach ciała, było brane w rachubę w pracach późniejszych autorów, którzy zajmowali się sprawą stosunku składników nieorganicznych do substancji koloidalnych (Hamburger '02, Rona '10, Rona i György '13, Sörensen '15, Fridericia '20, Collip '20, Polányi '20, Ege '20, '21, Warburg '22, Ausberger '25, van Slyke '22, '23, Władimiroff '26, Lundsgard i Holböll '26). Na szczególną pod tym względem uwagę zasługują prace Polányi'ego ('20) i Ausbergera ('25), w których znajdu-

jemy teoretyczne ugruntowanie zasad mierzenia t. zw. „przestrzeni nierozpuszczającej“ w roztworach białka.

Z pośród dwu sposobów jej mierzenia, mianowicie — metody stężania (Fredericq '02) i rozcieńczania (Polányi '20) krystaloidów w ośrodku dyspersyjnym, w poszukiwaniach niniejszych oparliśmy się na tej ostatniej: pozwala ona bowiem wnioskować nie tylko o stosunku wzajemnym obu faz, ale również — o zmianach, jakie zachodzą w rozmieszczeniu elektrolitów pod wpływem rozcieńczania.

Stężenie ośrodka dyspersyjnego w mieszaninach cytoplazmy mierzyliśmy w dwojaki sposób: albo oznaczając obniżenie punktu ich zamarzania, lub też analizując ultraprzesącze, sporządzone z tych mieszanin. Na podstawie tych pomiarów obliczaliśmy objętość ośrodka dyspersyjnego w materiale wyjściowym, t. j. w cytoplazmie.

W wyliczeniach tych wyszliśmy z dowolnego narazie założenia, że bezwzględna ilość ciał badanych, rozpuszczona w ośrodku dyspersyjnym cytoplazmy, nie ulega zmianie pod wpływem rozcieńczania. Założenie to możemy przedstawić w postaci szeregu równań

$$u_0 d_0 = u_1 d_1 n_1 \dots = u_x d_x n_x, \quad (1)$$

w których symbole $d_0, d_1 \dots d_x$ oznaczają objętość ośrodka dyspersyjnego („przestrzeni rozpuszczającej“, fazy wodnej) w 1 cm³ cytoplazmy, wzgl. szeregu mieszanin o wzrastającym stopniu rozcieńczenia, $u_0, u_1 \dots u_x$ — zawartość jakiegoś ciała w 1 cm³ ośrodka dyspersyjnego cytoplazmy i mieszanin, zaś $n_1 \dots n_x$ — stopień rozcieńczenia cytoplazmy w danej mieszaninie, t. j. stosunek objętości mieszaniny ($v_1 \dots v_x$) do objętości zawartej w niej cytoplazmy ($p_1 \dots p_x$), czyli

$$n_1 = v_1/p_1; \quad n_x = v_x/p_x$$

Z równań tych wynika, że obchodzącą nas tutaj wartość d_0 można obliczyć, znając stężenie ośrodka dyspersyjnego przynajmniej w dwu mieszaninach, oraz stopień ich rozcieńczenia i wartości liczbowe przestrzeni rozpuszczającej w 1 cm³ mieszanin ($d_1 \dots d_x$). Zależność tych ostatnich wartości od wielkości przestrzeni rozpuszczającej w cytoplazmie (d_0) i od stopnia jej rozcieńczenia ($n_1 \dots n_x$) możemy wyrazić za pomocą równań:

$$d_1 = \frac{d_0 + n_1 - 1}{n_1} \quad (2)$$

$$d_x = \frac{d_0 + n_x - 1}{n_x} \quad (3)$$

Podstawiając znaczenia d_1 i d_x do odpowiedniej pary iloczynów w szeregu równań (1), rozwiążemy je w stosunku do d_0 .

W przypadku, jeżeli wykonanie pomiaru u_0 nie przedstawia specjalnych trudności, wtedy objętość ośrodka dyspersyjnego w 1 cm³ cytoplazmy (d_0) obliczamy ze wzoru

$$d_0 = \frac{(n_1 - 1) u_1}{u_0 - u_1}, \quad (4)$$

w którym u_0 i u_1 oznaczają stężenie ciał w ośrodku dyspersyjnym cytoplazmy i w jakimkolwiek bądź jej rozcieńczeniu, zaś n_1 — stopień tego rozcieńczenia.

W większości jednak doświadczeń, z powodu trudności następujących się przy sączeniu, mierzono stężenie ośrodka dyspersyjnego tylko w mieszaninach (u_1 , u_x); w tym przypadku, wychodząc z równania

$$u_1 d_1 n_1 = u_x d_x n_x$$

otrzymujemy wzór

$$d_0 = \frac{(n_x - 1) u_x - (n_1 - 1) u_1}{u_1 - u_x}, \quad (5)$$

przeważnie stosowany w pracy niniejszej. Ze wzoru tego możemy obliczyć objętość ośrodka dyspersyjnego w 1 cm³ cytoplazmy, jeżeli wiadoma jest zawartość ciała badanego w ultraprzesączach z dwu mieszanin (u_1 , u_x) oraz stopień rozcieńczenia tych ostatnich (n_1 , n_x).

Jak wynika z powyższych rozważań, wzory (4) i (5) mogą być stosowane jedynie wtedy, jeżeli równania (1), (2) i (3) są słuszne, t. j. jeżeli ilość bezwzględna ciał, rozpuszczonych w ośrodku dyspersyjnym cytoplazmy, i objętość fazy rozdrobnionej nie zmieniają się pod wpływem rozcieńczania. Tymczasem nie jest zgóry wyłączone, że zmiana własności ośrodka

dyspersyjnego, wywołana wprowadzeniem cieczy rozcieńczającej, nie powoduje zmiany zarówno objętości fazy rozdrobnionej, jak i jej własności adsorbcyjnych. Jest rzeczą jasną, że zmiany te mogą zależeć zarówno od własności cieczy rozcieńczającej, jak i własności ciał, których stężenie mierzymy.

Co się tyczy wody destylowanej, jako cieczy rozcieńczającej, to, jak przekonały nas o tem specjalnie w tym celu przeprowadzone doświadczenia, może być ona stosowana jedynie w tych razach, jeżeli jaja nie zawierają większych ilości białek, wytrącających się po dodaniu wody. Należy tutaj zaliczyć jaja ryb spodoustych (*Scyllium*, *Torpedo*), głowonogów (*Sepia*, *Loligo*) i jeżowców (*Arbacia*, *Paracentrotus*), których ooplazma, po znacznem nawet rozcieńczeniu, nie wykazuje widocznych śladów koagulacji.

W doświadczeniach mieliśmy jednak przeważnie do czynienia z materiałem, zawierającym znaczne ilości białek, bardzo wrażliwych na skład chemiczny ośrodka dyspersyjnego i na stężenie w nim soli (*Salmo*, *Gallus*). W celu uniknięcia zmian, zachodzących wskutek wytrącania się globulin, stosowaliśmy w tych razach roztwory soli obojętnych.

Szereg prób, przeprowadzonych w tym kierunku, wykazał, że najlepiej odpowiadają celowi izosmotyczne z ooplazmą roztwory soli litowych, w pierwszym zaś rzędzie — siarczan i azotan litu. Używając roztworów tych soli, jako płynów rozcieńczających, i oznaczając w przesączach chlor, który okazał się jednym z najmniej zmiennych składników ośrodka dyspersyjnego, możemy z dużym stopniem dokładności ustalić wielkość przestrzeni rozpuszczającej ooplazmy.

Tak np. w jednym z doświadczeń, szczegółowo omawianych poniżej (tab. III), użyto, jako materiału wyjściowego, żółtka jaja kurzego (obj. właściwa = 0.9), rozcieńczając go 0.7% roztworem Li_2SO_4 . Z pięciu mieszanin żółtka o różnym stopniu rozcieńczenia (od $n = 2.08$ do $n = 10.4$) sporządzono takąż ilość ultra-przesączów, w których oznaczono stężenie chloru miareczkową metodą Whitehorna (21). Z analiz chloru (tab. I) wynika, że stężenie tego anjonu w przesączach zmniejsza się w stopniu większym, niż należałoby się tego spodziewać ze stopnia rozcieńczenia ooplazmy.

Różnica ta daje możność, jak już wiemy, obliczenia objętości ośrodka dyspersyjnego cytoplazmy: znajdując jej wartość ze wzoru

(5), otrzymujemy (tabl. I, kolumna ostatnia) liczby, które nie ujawniają wyraźnej zależności od n , t. j. od stopnia rozcieńczenia, i które są — z wyjątkiem ostatniej — dosyć z sobą zgodne. Z tabeli tej wynika, że średnia wielkość przestrzeni rozpuszczającej w 1 cm³ żółtka jaja kurzego wynosi w danym przypadku zaledwie 0.549 cm³, czyli prawie 45% objętości ooplazmy wypełniają substancje koloidalne oraz zawiesiny grubo-ziarniste o charakterze deutoplazmatycznym.

T a b e l a I.

Pomiary przestrzeni rozpuszczającej w żółtku jaj *Gallus domesticus* L. Objętość właściwa żółtka = 0.9.

Détermination du volume du liquide intermicellaire dans le jaune d'oeuf de *Gallus domesticus* L. Volume spécifique du jaune d'oeuf = 0.9.

№ mieszaniny N° du mélange	O b j ę t o ś ć V o l u m e			Stopień roz- cieńczenia żółtka Degré de dilu- tion du li- quide jaune d'oeuf $n = \frac{v}{p}$	Stężenie chloru w 1 cm ³ ultra- przesączu Concentra- tion du chlo- re dans 1 cm ³ de l'ultrafil- trat u	Obliczona objętość przestrzeni rozpusz- czającej w 1 cm ³ żółtka Volume calculé du liqui- de intermicellaire dans 1 cm ³ du jaune d'oeuf $d_0 =$ $(n_x - 1) u_x - (n - 1) u_1$
	żółtka du jaune d'oeuf	0.7% roz- tworu Li ₂ SO ₄ de la solu- tion 0.7% de Li ₂ SO ₄	mieszaniny po rozcień- czeniu du liquide après la dilution v			
	p	$v-p$	v			
	cm ³	cm ³	cm ³			
1	4.8	5.2	10	2.08	1.080	—
2	4.8	15.2	20	4.17	0.472	0.541
3	4.8	25.2	30	6.25	0.306	0.569
4	4.8	35.2	40	8.33	0.222	0.537
5	4.8	45.2	50	10.4	0.195	(0.754)
						0.549

Doświadczenie to, jedno z wielu w tym kierunku przeprowadzonych, dowodzi, że rozcieńczenie ooplazmy wodnym roztworem soli obojętnej (siarczanu litu) nie spowodza zmian ani w objętości fazy rozdrobnionej, ani w rozmieszczeniu chloru; w przeciwnym bowiem razie obliczone wartości d_0 zmieniałyby się wraz i z ilością wprowadzonego roztworu. Zmiany te występują dopiero w większych rozcieńczeniach ooplazmy, lub też — przy użyciu słabszych wzgl. mocniejszych roztworów soli litowych.

Dalsze próby wykazały ponadto, że poszczególne jony wspomnianych soli litu (Li⁺, SO₄²⁻, NO₃⁻) nie są pod tym względem specyficzne i nie wywierają widocznego wpływu na obliczoną wielkość przestrzeni rozpuszczającej. Dowodzą tego doświadczenia, w których do rozcieńczania używano jednakowo

stężonych roztworów różnych soli obojętnych. W jednym z takich doświadczeń, przeprowadzonych na dojrzałych jajach pstrąga (*Salmo fontinalis*, tab. V), ooplazmę, uwolnioną z błon jajowych, czterokrotnie rozcieńczono 0·7% roztworami Li_2SO_4 , $LiNO_3$ i $NaNO_3$; analizy ultraprzesączów wykazały prawie jednakowe stężenia chloru, które odpowiednio wynosiły 0·619, 0·608 i 0·619 mg w 1 cm³ cieczy.

W przypadkach, w których do rozcieńczania można było użyć wody destylowanej, objętość przestrzeni rozpuszczającej obliczano z pomiarów obniżenia punktu zamarzania ooplazmy i szeregu jej rozcieńczeń. Wyniki jednej takiej serii pomiarów, wykonanych na jajach *Torpedo ocellata*, przytaczamy w tabeli II.

T a b e l a II.

Pomiary przestrzeni rozpuszczającej w żółtku jaj *Torpedo ocellata* Raf. Objętość właściwa żółtka = 0·897.

Détermination du volume du liquide intermicélaire dans le jaune d'oeuf de Torpedo ocellata Raf.
Volume spécifique du jaune d'oeuf = 0·898.

№ mieszaniny № du mélange	O b j ę t o ś ć V o l u m e		Stopień rozcieńczenia żółtka Degré de dilu- tion du jaune d'oeuf $n = \frac{v}{p}$	Obniżenie punktu zamar- zania mieszanin Abaissement du point de congé- lation des mé- langes u	Obliczona objętość przestrzeni rozpu- szczającej w 1 cm ³ żółtka Volume calculé du liquide intermicé- laire dans 1 cm ³ du jaune d'oeuf $d_0 = \frac{(n_1 - 1) u_1}{u_0 - u_1}$
	żółtka <i>du jaune d'oeuf</i>	dodanej wody destylowanej <i>de l'eau distillée additionnée</i>			
	p	v - p			
	cm ³	cm ³		C ^o	cm ³
1	8·00	0	1·00	2·204 ⁰	—
2	8·23	4·58	1·56	0·987 ⁰	0·453
3	8·22	9·16	2·11	0·657 ⁰	0·471
4	7·92	13·24	2·67	0·473 ⁰	0·456
5	7·90	22·02	3·79	0·346 ⁰	0·519
6	5·97	33·25	6·57	0·185 ⁰	0·510

Podobnie jak w doświadczeniach poprzednio omawianych, w których stężenie wolnego ośrodka dyspersyjnego mierzono zawartością chloru, również i tutaj notujemy niewspółmierne z rozcieńczeniem żółtka zmniejszanie się Δ , świadczące o dużej zawartości substancyj koloidalnych. W samej rzeczy, obliczona według wzoru (4) objętość ośrodka dyspersyjnego wynosi średnio zaledwie 0·482 cm³ w 1 cm³ żółtka, wahając się w poszczególnych obliczeniach w granicach od 0·453 do 0·519 cm³. Znacz-

niejsze odchylenia występują dopiero w większych rozcieńczeniach (począwszy od 3-krotnych), w których zaczyna zapewne uwidaczniać się wpływ dysocjacji elektrolitów, zawartych w ooplazmie.

4. Rozmieszczenie elektrolitów w cytoplazmie.

Jak wynika z prac Ausbergera ('25) i innych autorów, przestrzeń rozpuszczająca posiada znaczenie zasadnicze w analizie rozmieszczenia ciał w roztworach niejednorodnych. Pomiary tej przestrzeni dają bowiem możliwość ustalenia wartości liczbowej podziału tych ciał pomiędzy dwie fazy, jeżeli znane są ich stężenia w mieszaninie i ultraprzesączu.

Jeżeli za wskaźnik rozmieszczenia ciała badanego (związku chemicznego, pierwiastka) w układzie, przyjmiemy stosunek między ilością tego ciała, znajdującą się w ośrodku dyspersyjnym, t. j. w stanie właściwego roztworu (ud), a całkowitą jego ilością w mieszaninie, to stosunek ten możemy wyrazić równaniem

$$\delta = \frac{ud}{c}, \quad (6)$$

w którym c przedstawia średnie stężenie ciała badanego w pełnej mieszaninie (w mg na 1 cm^3), u — stężenie jego w wolnym ośrodku dyspersyjnym, t. j. w ultraprzesączu (również w mg na 1 cm^3 cieczy), d — wielkość przestrzeni rozpuszczającej (w cm^3) w 1 cm^3 mieszaniny, zaś δ będziemy nazywali ilorazem rozmieszczenia.

Równanie (6) w zupełności charakteryzuje rozmieszczenie ciała badanego w danej mieszaninie, ponieważ pozwala wyznaczyć zarówno podział jego pomiędzy ośrodkiem dyspersyjnym [ud/c] a fazę rozdrobnioną [$(c - ud)/c$], jak i właściwe stężenie tego ciała w obu fazach mieszaniny [odpowiednio — $c \delta/d$ i $c(1 - \delta)/(1 - d)$].

Jak łatwo zrozumieć, zakres zastosowania wzoru (6) ogranicza się w naszych doświadczeniach tylko do ooplazmy rozcieńczonej, łatwo dającej się sączyć. Okoliczność ta wysunęła potrzebę wyjaśnienia kwestji wpływu rozcieńczenia na rozmieszczenie elektrolitów w cytoplazmie. Stwierdzone bowiem w rozdziale poprzednim zachowanie się chloru, którego ilość bezwzględna w ośrodku dyspersyjnym nie ulega wskutek rozcieńczenia zmianie, nie wyklucza zgóry możliwości przemieszczeń innych jonów, które mogą przechodzić zarówno z wiązania ko-

loidalnego do ośrodka dyspersyjnego, jak i — w kierunku odwrotnym. W rezultacie tych zmian—stosunek, w jakim poszczególne jony występują w ośrodku dyspersyjnym cytoplazmy, może przy jej rozcieńczaniu ulec znacznym przesunięciom.

W poszukiwaniach, podanych w rozdziale niniejszym, wyszliśmy, jak już wspomniano, z założenia, że badanie kierunku i wielkości tych zmian da możliwość poznania składu mineralnego obu faz cytoplazmy. Dlatego postawiliśmy sobie jako najbliższe zadanie ustalenie zależności liczbowej między stopniem rozcieńczenia cytoplazmy (n) a znaną dla poszczególnych jonów wartością ilorazu δ .

Doświadczenia odnośnie przeprowadzono na jajach szeregu gatunków zwierzęcych, główne jednak wyniki, omawiane poniżej, dotyczą tylko trzech gatunków: *Gallus domesticus* (tab. III i IV) *Salmo fontinalis* (tab. V) i *Labrax lupus* (p. odnośnik na str. 20). W doświadczeniach tych badaliśmy zachowanie się sześciu składników mineralnych cytoplazmy, a mianowicie: potasu, sodu, wapnia, magnezu, fosforu i chloru, stosując podane powyżej metody mikroanalizy.

Doświadczenia prowadzono w ten sposób, że przedewszystkiem przygotowywano z ooplazmy szereg mieszanin o różnym stopniu rozcieńczenia, dodając do niej, podobnie jak w pomiarach przestrzeni rozpuszczającej, roztworów następujących trzech soli obojętnych: Li_2SO_4 (dośw. XII, tab. III i dośw. XIV, tab. V), $LiNO_3$ (dośw. XIII, tab. IV i dośw. XIV, tab. V) i $NaNO_3$ (dośw. XIV, tab. V). Następnie—z mieszaniny najmniej (zwykle dwukrotnie) rozcieńczonej odmierzano dwie próbki, z których jedna była przeznaczona do oznaczenia chloru całkowitego, drugą zaś spopielano (w celu oznaczenia reszty składników mineralnych) na drodze mokrej w obecności stężonego HNO_3 . Wyniki tych analiz służyły do wyznaczania średnich stężeń składników w mieszaninie badanej (c_1) i w mieszaninach bardziej rozcieńczonych ($c_2, c_3 \dots c_x$)¹⁾. Natychmiast po wzięciu próbek, przystępowano do sporządzenia odpowiedniej liczby i ilości ultraprzesączów, w których oznaczano zawartość tych samych co w popiele składników. W ten sposób otrzymywano wartości stężeń ($u_1, u_2 \dots u_x$) tych składników w wolnym ośrodku dyspersyjnym dla szeregu mieszanin o wzrastającym stopniu rozcieńczenia. Wreszcie z analiz chloru w przesączach obliczano

¹⁾ W tablicach te ostatnio wymienione wartości znajdują się w nawiasach.

według równania (5) objętość przestrzeni rozpuszczającej w cytoplazmie (d_0), względnie w szeregu badanych mieszanin ($d_1, d_2 \dots d_x$)¹⁾.

Wyniki trzech doświadczeń tego typu, zostały zestawione w tabelach III-ciej, IV-tej i V-iej w ten sposób, że kolumny

T a b e l a III.

Wpływ rozcieńczenia na rozmieszczenie elektrolitów w żółtku jaj *Gallus domesticus* L. Doświadczenie XII. Ciecz rozcieńczająca — 0,7% Li_2SO_4 . Objętość właściwa cytoplazmy = 0,9. Znaczenie symbolów: p — objętość cytoplazmy (cm^3); v — objętość cytoplazmy rozcieńczonej (cm^3); n — stopień rozcieńczenia cytoplazmy; d — objętość przestrzeni rozpuszczającej w 1 cm^3 mieszaniny (cm^3); c — średnie stężenie składników analizowanych w mieszaninach ($mgr/l\ cm^3$); u — stężenie ich w ultrafiltratach ($mgr/l\ cm^3$); $\delta = u/c$ — iloraz rozmieszczenia.

№ mieszaniny <i>№ du mélange</i>		1	2	3	4	5
p		61·8	4·8	4·8	4·8	4·8
v		128·8	20·0	30·0	40·0	50·0
$n = \frac{v}{p}$		2·08	4·17	6·25	8·33	10·41
$d = 1 - \frac{1 - d_0}{n}$		0·783	0·892	0·928	0·946	0·957
K	c	1·080	(0·540)	(0·360)	(0·270)	(0·216)
	u	0·869	0·356	0·235	0·180	0·134
	δ	0·629	0·588	0·606	0·631	0·593
Na	c	0·120	—	—	—	—
	u	0·146	—	—	—	—
	δ	0·953	—	—	—	—
Ca	c	0·645	(0·322)	(0·215)	(0·161)	(0·129)
	u	0·144	0·088	0·088	0·069	0·068
	δ	0·174	0·244	0·379	0·405	0·504
Mg	c	0·102	(0·051)	(0·034)	(0·025)	—
	u	0·070	0·028	0·026	0·019	—
	δ	0·537	0·493	0·709	0·719	—
P	c	2·058	(1·029)	(0·686)	—	(0·413)
	u	0·079	0·044	0·032	—	0·017
	δ	0·030	0·038	0·043	—	0·039
Cl	c	—	—	—	—	—
	u	1·080	0·472	0·306	0·222	—
	δ	—	—	—	—	—

Influence de la dilution sur la répartition des électrolytes dans le jaune d'oeuf de Gallus domesticus L. Expérience № XII. Liquide diluant — 0,7% Li_2SO_4 . Volume spécifique = 0,9. Symboles: p — volume du cytoplasme (cm^3); v — volume du cytoplasme dilué (cm^3); n — degré de dilution du cytoplasme; d — volume du liquide intermicellaire dans 1 cm^3 de mélange (cm^3); c — concentration moyenne des composés analysés dans les mélanges ($mgr/l\ cm^3$); u — leur concentration dans les ultrafiltrats ($mgr/l\ cm^3$); $\delta = u/c$ — quotient de la répartition.

1) Z równania

$$d = 1 - \frac{1 - d_0}{n},$$

w którym d oznacza objętość przestrzeni rozpuszczającej w 1 cm^3 , zaś n — stopień rozcieńczenia danej mieszaniny (por. równ. 2 i 3).

pionowe zawierają wyniki, dotyczące oddzielnych mieszanin. W kolumnach tych znajdują się przede wszystkim rezultaty pomiarów objętości ooplazmy (p), którą wzięto do rozcieńczenia, oraz jej objętości po dodaniu cieczy rozcieńczającej (v); następnie — obliczony stopień rozcieńczenia mieszaniny (n) i objętość przestrzeni rozpuszczającej (d); wreszcie — w szeregach dolnych odnośnych kolumn — zestawiono dla każdego z sześciu składników analizowanych wyniki oznaczeń ich stężenia w mieszaninie (c) i w przesączu (u), oraz podano obliczone według wzoru (6) wartości ilorazu δ .

Porównywując wartości tego ilorazu w szeregach poziomych naszych tabel, możemy w ogólnym wyniku poszukiwać stwierdzić, że rozcieńczenie nie pozostaje bez wpływu na skład chemiczny obu faz. Istotnie, doświadczenia nasze dowodzą ponad wszelką wątpliwość, że rozcieńczanie ośrodka dyspersyjnego pociąga za sobą przesunięcie w rozmieszczeniu niektórych elektrolitów, wyrażające się bądź w zmniejszaniu się, bądź też w powiększaniu się ilorazu δ .

Do pierwszej kategorii składników należy zaliczyć jedynie potas, który w ooplazmie rozcieńczonej ujawnia w pewnych razach (tab. III i IV, odnoszące się do żółtka kurzego) nieznaczną lecz wyraźną tendencję do wiązania się z koloidami. Wszystkie natomiast inne katjony przechodzą pod wpływem rozcieńczenia ooplazmy z wiązania koloidalnego do fazy wodnej, przyczem wpływ rozcieńczenia na poszczególne jony nie jest jednakowy.

Widzimy prócz tego, że potas wraz z chlorem (którego analizy w przesączach służyły do obliczania przestrzeni rozpuszczającej) należą do rzędu składników, ujawniających najmniejsze pod tym względem zmiany. Wynika to zgodnie ze wszystkich trzech doświadczeń, w których wartości δ dla potasu zmieniają się w granicach 0·629—0·593 (tab. III), 0·710—0·674 (tab. IV) i 0·896 — 0·911 (tab. V). Liczby te prócz tego dowodzą, że przeważna część potasu znajduje się w ooplazmie tych zwierząt w stanie wolnym, nie związanym w fazę koloidalną.

Inaczej natomiast zachowują się inne dwa katjony, t. j. wapń i magnez, oraz fosfor. Różnią się one od potasu (i ewentualnie — od sodu) nie tylko co do stopnia wiązania się z fazą rozdrobnioną,

z którą tworzą połączenia koloidalne w znacznie większej ilości, ale również co do kierunku i wielkości zmian ilorazu δ , zachodzących pod wpływem rozcieńczenia.

Tabela IV.

Wpływ rozcieńczenia na rozmieszczenie elektrolitów w żółtku jaj *Gallus domesticus* L. Doświadczenie XIII. Ciecz rozcieńczająca — 0,7% LiNO_3 . Objętość właściwa cytoplazmy = 0,9. Znaczenie symbolów jak w tab. III.

Influence de la dilution sur la répartition des électrolytes dans le jaune d'oeuf de Gallus domesticus L. Expérience № XIII. Liquide diluant — 0,7% LiNO_3 . Volume spécifique du cytoplasme = 0,9. Symboles comme dans le tableau III.

№ mieszaniny № du mélange		1	2	3	4
p		5	5	5	5
v		10	20	30	50
$n = \frac{v}{p}$		2	4	6	10
$d = l - \frac{l - d_0}{n}$		0·645	0·822	0·882	0·929
K	c	0·790	(0·395)	(0·263)	—
	u	0·870	0·327	0·201	—
	δ	0·710	0·680	0·674	—
Na	c	0·100	—	—	—
	u	0·146	—	—	—
	δ	0·942	—	—	—
Ca	c	0·861	(0·430)	(0·287)	(0·172)
	u	0·152	0·088	0·061	0·048
	δ	0·114	0·168	0·187	0·259
Mg	c	0·108	(0·054)	(0·036)	—
	u	0·058	0·029	0·023	—
	δ	0·346	0·442	0·563	—
P	c	1·885	(0·942)	(0·628)	(0·377)
	u	0·078	0·034	0·023	0·013
	δ	0·027	0·030	0·032	0·032
Cl	c	1·422	(0·711)	(0·477)	(0·284)
	u	1·225	0·493	0·296	0·165
	δ	0·556	0·570	0·543	0·539

Istotnie, w miarę dodawania płynu rozcieńczającego coraz to większe ilości kationów dwuwartościowych i fosforu przechodzą z fazy rozdrobnionej do ośrodka dyspersyjnego, przyczem stopień dysocjacji połączeń koloidalnych wapnia i magnezu w rozcieńczeniach większych jest bardzo znaczny. Duży przyrost tych metali w ośrodku dyspersyjnym mogliśmy stwierdzić we wszystkich doświadczeniach, również i w tych, które były przeprowadzone na ooplazmie innych zwierząt. Z odnośnych tabel pracy

niniejszej widzimy, że w granicach rozcieńczenia od $n = 2$ do $n = 8$ stosunek wapnia wolnego do wapnia całkowitego wzrasta; δ obliczona z analiz żółtka kurzego zwiększa się z 0·174 do 0·405 (tab. III), t. j. 2·3 razy, i z 0·114 do 0·223 (tab. IV, ostatnia wartość — interpolowana), czyli 1·9 razy; w jajach

Tabela V.

Wpływ rozcieńczenia roztworami Li_2SO_4 , $LiNO_3$ i $NaNO_3$ na rozmieszczenie elektrolitów w cytoplazmie jaj *Salmo fontinalis* L. Doświadczenie XIV, Objętość właściwa cytoplazmy = 0·921. Znaczenie symbolów, jak w tab. III.

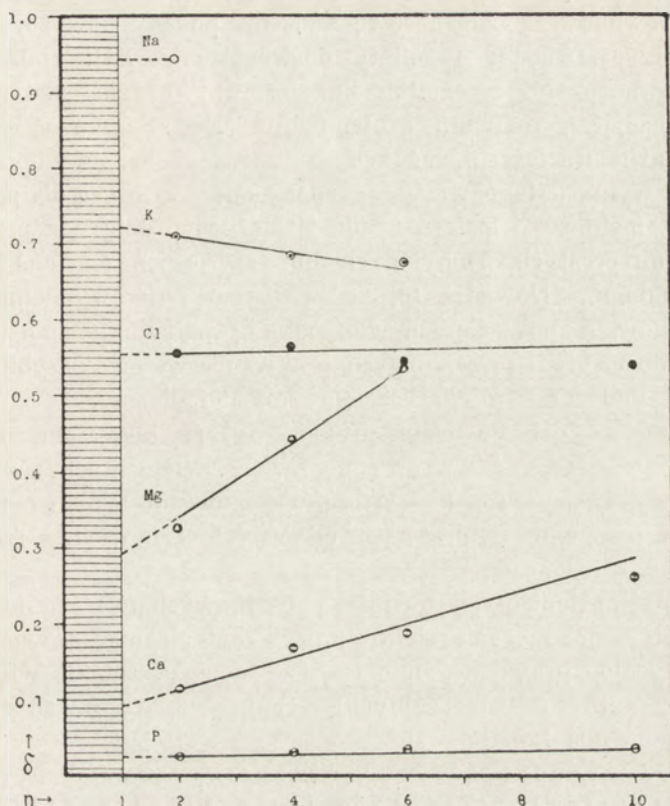
*Influence de la dilution avec les solutions de Li_2SO_4 , $LiNO_3$ et $NaNO_3$ sur la répartition des électrolytes dans le jaune d'oeuf de *Salmo fontinalis* L. Expérience № XIII. Volume spécifique du cytoplasme = 0·921. Symboles comme dans le tableau III.*

№ mieszaniny № du mélange		1	2	3	4	5
Roztwór rozcieńczający Solution diluante (0·7%)		$LiNO_3$	Li_2SO_4	$LiNO_3$	$NaNO_3$	$LiNO_3$
$n = \frac{v}{p}$		2	4	4	4	8
$d = 1 - \frac{1 - d_0}{n}$		0·896	(0·948)	0·948	(0·948)	0·974
K	c	1·424	(0·712)	(0·712)	(0·712)	(0·356)
	u	1·436	0·692	0·686	0·680	0·333
	δ	0·896	0·921	0·913	0·905	0·911
Na	c	0·345	—	—	—	—
	u	0·196	—	—	—	—
	δ	0·509	—	—	—	—
Ca	c	0·275	(0·137)	(0·137)	(0·137)	(0·068)
	u	0·095	0·070	0·055	0·053	0·036
	δ	0·309	0·484	0·381	0·367	0·515
Mg	c	0·390	(0·195)	—	(0·195)	(0·097)
	u	0·142	0·089	—	0·079	0·042
	δ	0·326	0·433	—	0·384	0·422
P	c	1·674	(0·837)	(0·837)	(0·837)	(0·418)
	u	0·194	0·111	0·098	0·107	0·052
	δ	0·104	0·125	0·111	0·121	0·121
Cl	c	1·136	(0·568)	(0·568)	(0·568)	(0·284)
	u	1·290	0·619	0·608	0·619	0·298
	δ	1·02	1·03	1·01	1·03	1·02

prąga wartość ta zmienia się od 0·309 do 0·515 (tab. V), t. z. wzrasta 1·7 razy. W podobny sposób zachowuje się również magnez, którego δ w tych samych rozcieńczeniach zwiększa się odpowiednio 1·3, 1·9 i 1·3 razy. Dla fosforu odnośne liczby wynoszą 1·4, 1·2 i 1·2.

Co do wpływu poszczególnych soli, znajdujących się w cieczach rozcieńczających, na stopień rozszczepiania połączeń koi-

dalnych obu metali ziem alkalicznych, to należy stwierdzić, że najsilniej działa w tym kierunku siarczan litu. Wpływ ten szczególnie wybitnie zaznacza się na wapniu, jak to wynika z po-



Wykres, przedstawiający zależność między stopniem rozcieńczenia (n) żółtka jaja *Gallus domesticus* L. a iloczynem rozmieszczenia δ sodu, potasu, wapnia, magnezu, fosforu, i chloru w mieszaninach. Według danych doświadczenia XIII.

Diagramme représentant le rapport entre le degré de dilution (n) du jaune d'oeuf de *Gallus domesticus* (l'expérience XIII) et le quotient de répartition (δ) du sodium, potassium, calcium, magnésium, phosphore et chlore dans les mélanges de l'ooplasme.

równania doświadczeń XII i XIII, przeprowadzonych na żółtku kurczem: w pierwszym był użyty do rozcieńczenia roztwór Li_2SO_4 , w drugim zaś — roztwór $LiNO_3$. Natomiast, jak to widać w doświadczeniach nad pstrągiem (tab. V), w działaniu $LiNO_3$ i $NaNO_3$ nie zdołaliśmy wykryć żadnej wyraźniejszej różnicy.

Dalsza analiza wyników, mająca na celu wyświetlenie zależności omawianych zmian od ilości wprowadzonych do cytoplazmy roztworów, wykazuje, że między stopniem rozcieńczenia (n) a wartością ilorazu rozmieszczania (δ) zachodzi naogół zależność prawidłowa. Zależność tę wyjaśnia podany powyżej rysunek, przedstawiający rezultaty doświadczenia XIII (tab. IV), przeprowadzonego na żółtku kurczem przy użyciu, jako cieczy rozcieńczającej, roztworu azotanu litu. Na rysunku oś odcięta przedstawia wartości n , zaś rzędna — znaczenia liczbowe ilorazu δ .

Z wykresu tego widać, że znalezione wartości δ dla potasu, wapnia, magnezu i fosforu zgadzają się dosyć dobrze z przebiegiem linii prostych, nachylonych do osi rozcieńczeń pod pewnymi kątami. Dowodzi to, że względna ilość wymienionych składników, rozpuszczonych w ośrodku dyspersyjnym, zmienia się w sposób ciągly i prawidłowy i jest w pierwszym przybliżeniu proporcjonalna do stopnia rozcieńczenia cytoplazmy.

Jeżeli w dalszym ciągu przyjmiemy, że taka sama zależność istnieje również i w obrębie rozcieńczeń małych¹⁾, zbliżających się do jedności, to wartości wyjściowe ilorazów δ możemy uważać jako punkty przecięcia odnośnych krzywych z rzędną, przy $n_0 = 1$.

Ekstrapolację tych wartości początkowych (δ_0), charakteryzujących rozmieszczenie elektrolitów w cytoplazmie, przeprowadziliśmy albo graficznie, lub też (w razie posiadania większej liczby punktów doświadczalnych) rachunkowo, wyprowadzając δ_0 z równania dla linii prostej:

$$\frac{n_1 - 1}{\delta_1 - \delta_0} = \frac{n_x - n_1}{\delta_x - \delta_1}$$

¹⁾ W jednym tylko przypadku mieliśmy możność sporządzenia ultraprzęsaczów z nierozcieńczonej miazgi jaj. Doświadczenie to zostało przeprowadzone na znajdujących się w początkowych stadiach brózdowania jajach morskiej ryby kostnoszkieletowej — *Labrax lupus* Cuv. Przytoczone wartości δ dla wapnia i magnezu w ooplazmie ($n_0 = 1$) i w mieszaninie podwójnie rozcieńczonej ooplazmy ($n_1 = 2$):

	$n_0 = 1$	$n_1 = 2$
	δ_0	δ_1
Ca	0·169	0·216
Mg	0·380	0·422

dowodzą, że i w obrębie małych rozcieńczeń ooplazmy występuje ten sam charakter zmian w rozmieszczeniu elektrolitów.

skąd, przekształcając odpowiednio to równanie, otrzymujemy

$$\delta_0 = \frac{(n_x - 1) \delta_1 - (n_1 - 1) \delta_x}{n_x - n_1} \quad (7)$$

Wzór ten pozwala na podstawie znalezionych wartości ilorazów rozmieszczenia jakiegoś ciała w mieszaninach mniej (δ_1) i więcej (δ_x) rozcieńczonych, oraz — wiadomych rozcieńczeń tych mieszanin (n_1 i n_x), obliczyć (ewent. jako średnią z szeregu mieszanin) wartości δ_0 , t. j. stosunek liczbowy między ilością tego ciała, rozpuszczoną w ośrodku dyspersyjnym, a całkowitą jego zawartością w cytoplazmie.

W doświadczeniu XIII (tab. IV i rysunek), dotyczącem żółtka jaj kurzych, obliczone według wzoru (7) δ_0 dla sześciu analizowanych składników dały następujące wartości

<i>K</i>	0·722	<i>Mg</i>	0·295
<i>Na</i>	0·942	<i>Cl</i>	0·555
<i>Ca</i>	0·093	<i>P</i>	0·025

które wskazują na różny stopień wiązania się tych pierwiastków z fazą rozdrobnioną cytoplazmy.

5. Stężenie elektrolitów w obu fazach cytoplazmy.

W rozdziałach poprzednich uzasadniliśmy sposób postępowania doświadczalnego, dającego możność wymierzenia dwu ważnych wielkości, charakteryzujących stan rozmieszczenia elektrolitów w cytoplazmie, a mianowicie: objętości przestrzeni rozpuszczającej (d_0) i wartości ilorazu rozmieszczenia (δ_0). Znajomość tych dwu parametrów pozwala obliczyć stężenie ciał badanych w obu fazach, jeżeli ponadto jest wiadome średnie stężenie tych ciał w cytoplazmie, ustalone na podstawie analiz popiołu ($c_0 = c_x n_x$).

Wtedy — stężenie w fazie wodnej cytoplazmy (u_0) wyrowadzamy ze wzoru

$$u_0 = \frac{c_0 \delta_0}{d_0}, \quad (8)$$

zaś stężenie w fazie rozdrobnionej (k_0) możemy obliczyć z równania

$$k_0 = \frac{c_0 (1 - \delta_0)}{1 - d_0}, \quad (9)$$

wyrażając u_0 , k_0 i c_0 w miligramach w 1 cm³ fazy lub cieczy, oraz d_0 — w ułamkach centymetra sześciennego.

Tabela VI.

Stężenie elektrolitów w ośrodku dyspersyjnym żółtka jaj *Gallus domesticus* L. Znaczenie symbolów: c_0 — średnie stężenie składników w ooplazmie (mg/1 cm³); δ_0 — iloraz ich rozmieszczenia; u_0 — stężenie w ośrodku dyspersyjnym ooplazmy (mg/1 cm³).

Concentration des électrolytes dans le liquide intermicellaire (u_0) du jaune d'oeuf de Gallus domesticus L. Symboles: c_0 — concentration moyenne des composés dans l'ooplasmе (mgr/1 cm³); δ_0 — quotient de la répartition des électrolytes dans l'ooplasmе (mgr/1 cm³).

G a l l u s d o m e s t i c u s L.						
№ doświadczenia	XII			XIII		
d_0	0·549 cm ³			0·289 cm ³		
	c_0	δ_0	u_0	c_0	δ_0	u_0
	mg		mg	mg		mg
K	2·246	0·637	2·606	1·580	0·722	3·947
Na	0·249	0·953	0·432	0·200	0·942	0·655
Ca	1·342	0·131	0·320	1·722	0·093	0·554
Mg	0·212	0·519	0·201	0·216	0·295	0·220
Cl	—	—	—	2·844	0·555	5·461
P	4·281	0·027	0·212	3·770	0·025	0·331

Stopień zgodności pomiarów u_0 , osiągnięty tą drogą, ilustruje tabela VI: zestawiono w niej wyniki dwu omawianych powyżej seryj (dośw. XII i XIII), przeprowadzonych w różnym czasie na żółtku jaja kurzego.

W tabeli tej zostały podane stężenia potasu, sodu, wapnia, magnezu, chloru i fosforu w ośrodku dyspersyjnym jaj (u_0), obliczone ze wzoru (8) na podstawie wartości d_0 , c_0 i δ_0 .

Oдноśne szeregi liczb dowodzą, że wyniki obu seryj różnią się jedynie pod względem ogólnego stężenia elektrolitów, które jest w ośrodku dyspersyjnym jaj z doświadczenia XIII o jakieś 50% większe: pozostaje to zapewne w związku z odpowiednio mniejszą wartością d_0 , wynoszącą w danym przypadku zaledwie 0·289 cm³. Natomiast, aczkolwiek analizy chemiczne wykazują w obu serjach bardzo znaczne różnice zarówno pod względem składu popiołu ooplazmy (c_0), jak i — stopnia łączenia się posz-

czególnych elektrolitów z fazą rozdrobnioną (δ_0), to jednak skład mineralny ośrodka dyspersyjnego w obu przypadkach jest bardzo do siebie zbliżony.

Wypływa to z dwu następujących szeregów liczb

	<i>K</i>	<i>Na</i>	<i>Ca</i>	<i>Mg</i>	<i>P</i>	<i>Cl</i>
XII	100	16	12	8	8	—
XIII	100	17	14	6	8	138

które wyrażają obliczone w stosunku do potasu ilości względne sześciu składników, rozpuszczonych w fazie wodnej żółtka kurzego.

Jak widzimy, zgodność tych liczb jest wystarczająca.

6. Streszczenie wyników.

Punktem wyjścia powyższych poszukiwań były trudności, jakie następczą się przy oddzielaniu ośrodka dyspersyjnego cytoplazmy od jej fazy rozdrobnionej. Znaczna zawartość substancji koloidalnych sprawia, że metoda sączenia przez błony ultrafiltracyjne nie zawsze prowadzi do celu: wyniki zadawalające daje ona dopiero po rozcieńczeniu cytoplazmy wodnymi roztworami soli obojętnych. Również i metoda dializy kompensacyjnej prowadzi do rezultatów, słusznych tylko dla cytoplazmy rozcieńczonej.

Okoliczność ta, w związku z zamiarem wyświetlenia sprawy rozmieszczenia elektrolitów w cytoplazmie, spowodowała konieczność zbadania wpływu rozcieńczenia na stosunek elektrolitów do obu faz komórki. W poszukiwaniach tych kierowaliśmy się przypuszczeniem, że stwierdzenie zależności między rozcieńczeniem a stopniem adsorpcji elektrolitów przez fazę rozdrobnioną umożliwi ustalenie składu mineralnego fazy wodnej i rozdrobnionej w materiale wyjściowym, t. j. w cytoplazmie.

W tym celu przeprowadziliśmy szereg doświadczeń, w których oznaczaliśmy stężenie niektórych kationów i anionów (*K*, *Na*, *Ca*, *Mg*, *Cl*, *P*) w ultraprzesączach i w popiele mieszanin, sporządzonych przez rozcieńczanie ooplazmy kilku gatunków zwierząt izosmotycznymi roztworami soli obojętnych (*LiNO₃*, *Li₂SO₄*, *NaNO₃*).

Już pierwsze próby wykazały, że chlor jest tym składnikiem ooplazmy, którego ilość względna w cieczy międzycząstko-

wej, obliczona w stosunku do całkowitej jego zawartości w mieszaninie, jest prawie niezależna od rozcieńczenia. Na tym fakcie oparliśmy wyliczanie objętości przestrzeni rozpuszczającej w cytoplazmie (równ. 5), wychodząc z założenia, że stężenie chloru w ultraprzesączkach jest odwrotnie proporcjonalne do objętości fazy wodnej mieszanin. Z tego samego założenia wyszliśmy w obliczeniach przestrzeni rozpuszczającej jaj *Torpedo*, opartych na pomiarach krjoskopowych (równ. 4).

W sposób podobny do chloru zachowują się jony potasu, którego stosunek do obu faz mieszanin zmienia się bardzo nieznacznie. Inaczej natomiast zachowują się katjony dwuwartościowe (wapń i magnez) i anjony fosforanów: tworząc z kolidami komórki połączenia mniej stałe i łatwo ulegające rozczepieniu, przechodzą one w znacznych ilościach z fazy rozdrobionej do ośrodka dyspersyjnego mieszanin. Bliższa analiza ilościowa tych zjawisk ujawniła zależność proporcjonalną między stopniem rozcieńczenia ooplazmy a zmianami w rozmieszczeniu ciał badanych: daje to możliwość znalezienia, drogę ekstrapolacji, wartości początkowych, charakterystycznych dla rozmieszczenia elektrolitów w cytoplazmie (równ. 7), oraz ustalenia stężeń, w jakich znajdują się one w fazie wodnej (równ. 8) i koloidalnej (równ. 9) komórki.

PIŚMIENNICTWO.

- Aron H. und R. Gralka. 1924. Die anorganische Bestandteile des Tierkörpers. Handbuch der Biochemie des Menschen und der Tiere. II Aufl. 1 (1).
- Ausberger A. 1925. Ultrafiltration und Kompensationsdialyse. Ein Beitrag zur Frage der Ionenbindung in Blutserum. Erg. d. Physiol. 24 (618).
- Bálint M. 1924. Jodometrische Mikrobestimmung des Natriums. Bioch. Zeitschr. 150 (424).
- Białaszewicz K. 1926. O składzie mineralnym komórek jajowych (Sur la composition minérale des oeufs). Travaux de l'Institut Nencki. 3 (№ 52).

- Bell R. D. and E. A. Doisy. 1920. Rapid colorimetric methods for the determination of phosphorus in urine and blood. *Journ. biol. Chem.* **44** (55).
- Briggs A. P. 1922. A modification of the Bell-Doisy phosphate method. *Journ. biol. Chem.* **53** (13).
- Burian R. 1909. Über Ultrafiltration von Eiweissalz-Gemischen. *Arch. di Fisiol.* **7** (421).
- 1910. Function der Nierenglomeruli und Ultrafiltration. *Arch. f. ges. Physiol.* **136** (741).
- Collip J. B. 1920. Effect of dilution on the osmotic pressure and the electrical conductivity of whole blood, blood serum and corpuscles. *Journ. biol. Chem.* **42** (213).
- Ege R. 1920. Die Verteilung der Glucose zwischen Plasma und roten Blutkörperchen. *Bioch. Zeitschr.* **111** (189).
- 1921. Wie ist die Verteilung der Glucose zwischen den vollen Blutkörperchen und der äusseren Flüssigkeit zu erklären? *Bioch. Zeitschr.* **114** (88).
- 1921. Untersuchungen über das Volumen der Blutkörperchen in gegenseitig osmotischen Lösungen. *Bioch. Zeitschr.* **115** (109).
- 1921. Der osmotische Druck in Blutkörperchen und Plasma. *Bioch. Zeitschr.* **115** (175).
- Fahr G. 1908. Über den Natriumgehalt der Skelettmuskeln des Frosches. *Zeitschr. f. Biol.* **52** (72).
- Fredericq L. 1901. Sur la concentration moléculaire du sang et des tissus chez les animaux aquatiques. *Acad. Roy. de Belgique. Bull. de la Classe des Sc.* (428).
- 1902. Sur la concentration moléculaire des solutions d'albumine et des sels. *Acad. Roy. de Belgique. Bull. de la Classe des Sc.* (437).
- Fridericia L. S. 1920. Exchange of chloride ions and carbon dioxide between blood corpuscles and blood plasma. *Journ. biol. Chem.* **42** (245).
- Hamburger H. J. 1902. Osmotischer Druck und Ionenlehre. Bd. 1. Wiesbaden.
- Hecht G. 1923. Bestimmung des Organkalkes nach de Waard. *Bioch. Zeitschr.* **143** (342).
- Joffe J. and E. P. Poulton. 1920. The partition of CO_2 between plasma and corpuscles in oxygenated and reduced blood. *Journ. of Physiol.* **54** (129).
- Kramer B. and F. F. Tisdall. 1921 a. A simple method for the direct quantitative determination of sodium in small amounts of serum. *Journ. of biol. Chem.* **46** (467).
- 1921 b. A clinical method for the quantitative determination of potassium in small amounts of serum. *Journ. of biol. Chem.* **46** (339).

- Kramer B. and F. F. Tisdall. 1921 c. The direct quantitative determination of sodium, potassium, calcium and magnesium in small amounts of blood. *Journ. of biol. Chem.* **48** (223).
- 1921 d. A simple technique for the determination of calcium and magnesium in small amounts of serum. *Journ. of biol. Chem.* **47** (475).
- Lundsgard Ch. und S. A. Holböll. 1926. Untersuchungen über die Verteilung einiger Nicht-Elektrolyte auf Blutkörperchen und Plasma des Menschenblutes. *Bioch Zeitschr.* **173** (269).
- Polányi M. 1920. Studien über Leitfähigkeitserniedrigung und Adsorption durch lyophile Kolloide. *Bioch. Zeitschr.* **104** (237).
- Rona P. 1910. Über das Verhalten des Chlors im Serum. *Bioch. Zeitschr.* **29** (501).
- Rona P. und P. György. 1913. Über das Natrium — und Carbonation im Serum. Beitrag zur Frage des „nichtdiffusiblen Alkalis“ im Serum. *Bioch. Zeitschr.* **48** (278).
- Van Slyke D. D., A. B. Hastings, M. Heidelberger and J. Neill. 1922. Studies of gas and electrolyte equilibria in the blood. III. The alkali-binding values of oxyhaemoglobin and reduced haemoglobin. *Journ. of biol. Chem.* **54** (481).
- Van Slyke D. D., A. B. Hastings and J. Neill. 1922. IV. The effect of oxygenation and reduction on the bicarbonate content and buffer value of blood. *Journ. of biol. Chem.* **54** (507).
- Van Slyke D. D., H. Wu and F. C. Mc. Lean. 1923. V. Factors controlling the electrolyte and water distribution in the blood. *Journ. of biol. Chem.* **56** (765).
- Sörensen S. P. L. 1915—1917. Studies on proteins. *Compt. Rend. Labor. Carlsberg.* **12**.
- Tisdall F. F. and B. Kramer. 1921. Methods for the direct quantitative determination of sodium, potassium, calcium and magnesium in urine and stools. *Journ. of biol. Chem.* **48** (1).
- Urano F. 1908. Neue Versuche über die Salze des Muskels. *Zeitschr. f. Biol.* **50** (212).
- de Waard D. J. 1919. Eine Mikrobestimmung des Calciums in Blut, Serum und anderen organischen Substanzen. *Bioch. Zeitschr.* **97** (176).
- Warburg E. 1922. Theory of the Henderson-Hasselbalch-Equation. *Bioch. Journ.* **16** (153).
- Whitehorn J. C. 1921. A system of blood analysis. Supplement II. Simplified method for the determination of chlorides in blood plasma. *Journ. of biol. Chem.* **45** (449).
- Wladimiroff G. E. 1926. Beiträge zur Embryochemie und Embryophysiologie. I Mitt Einige physikalisch-chemische Veränderungen des Eiereiweißes der sich entwickelnder Hühnereier. *Bioch. Zeitschr.* **177** (280).
- Zsigmondy R. u. W. Bachmann. 1918. Über neue Filter. *Zeitschr. f. anorg. u. allg. Chem.* **103** (1).

PRACE INSTYTUTU im. NENCKIEGO
TRAVAUX DE L'INSTITUT NENCKI

Tom IV, zesz. 2.

Z Zakładu Fizjologii

A. WOJTCZAK.

Badania nad przepuszczalnością mięśni dla elektro-
litów w stanie pracy i spoczynku.

*Recherches sur la perméabilité des muscles pour les
électrolytes pendant le travail et le repos.*

Ces recherches ont pour objet l'étude de la perméabilité des muscles pour les électrolytes sous l'influence de l'état physiologique du tissu, notamment: du repos avant le travail, du travail et du repos après le travail. On a, en outre, étudié l'influence du glucose sur l'intensité de l'échange des électrolytes entre les muscles et le milieu ambiant. Il était à prévoir, que cet échange varierait avec les conditions physiologiques mentionnées.

Les expériences furent exécutées sur la grenouille (*Rana esculenta*); après décapitation de l'animal on préparait les muscles du mollet (musc. gastrocnemii). Les muscles soigneusement lavés et pesés, étaient placés dans un récipient (fig. 1, page 5) qu'on remplissait d'une solution voulue. Cette solution avait généralement la composition suivante: pour 1 litre de solution— 6.5 gr. de $NaCl$, 100 mgr. de KCl , 200 mgr. de $CaCl_2$ sic., 20 mgr. de $MgCl_2$ sic., 200 mgr. de $NaHCO_3$ et 5 cm³ du mélange composé de 100 cm³ de $\frac{1}{3}$ mol. Na_2HPO_4 , 15 cm³ de $\frac{1}{3}$ mol. NaH_2PO_4 et 135 cm³ d'eau distillée. Dans certains cas on ajou-

tait 0,2% de glucose ou de fructose. En été, on changeait la composition de la solution en prenant 7 gr. de $NaCl$, 50 mgr. de KCl et 250 mgr de $CaCl_2$.

On faisait passer, à travers la solution, un vif courant d'oxygène.

Après 15 à 60 minutes on changeait la solution et on abordait l'expérience qui comprenait trois phases: repos avant le travail, travail et repos après le travail du muscle. Pendant la phase de travail on excitait les muscles par un courant d'induction toutes les 5 à 30 secondes, de manière à ne pas fatiguer les muscles. On changeait la solution au commencement de chaque phase de l'expérience. L'expérience terminée, on pesait les muscles et, après avoir constaté leur vitalité, on analysait les solutions dans lesquelles les muscles avaient été immergés durant l'expérience, ainsi que la solution initiale. Les analyses étaient effectuées d'après les méthodes suivantes: de Kramer et Tisdall ('21) pour le sodium, potassium, calcium et magnesium, de de Waard ('19) pour le calcium, de Briggs ('22) pour le phosphore et de Whitehorn ('24) pour le chlore.

Les résultats des premières analyses ont démontré la difficulté de déterminer les changements de la teneur en magnésium à cause de sa petite quantité dans la solution, et ont aussi prouvé qu'il fallait négliger la détermination du sodium et du chlore, la quantité de ces ions changeant durant les expériences d'une façon extrêmement faible (tab. I). Dans les expériences suivantes on n'a donc analysé que le potassium, le calcium et le phosphore.

1. L'influence du travail sur la perméabilité fut l'objet de deux séries d'expériences, l'une exécutée dans une solution à glucose, l'autre sans glucose. Voici les résultats de ces expériences (tab. II):

a) les muscles, immergés dans la solution physiologique de Ringer sans glucose, perdent du potassium à l'état de repos et à celui de travail, mais l'intensité des pertes est considérablement augmentée pendant les périodes de travail;

b) les muscles absorbent du calcium et éliminent du phosphore;

c) on n'a pas constaté l'influence secondaire du travail sur la période de repos y succédant.

2. Les expériences sur l'influence du sucre ont été exécutées de deux manières: pour l'étude de l'échange durant l'état de repos, un plus grand nombre de muscles était employé; pour l'étude de l'échange à l'état de travail, on employait deux muscles du même animal. Les muscles étaient d'abord placés dans une solution sans sucre et après un certain temps ils étaient transportés dans une solution additionnée de glucose ou de fructose (tab. III et IV, V et VI).

Ces expériences ont démontré que l'intensité de l'échange des électrolytes diminue en présence du glucose, durant les périodes de repos ainsi que durant celles de travail.

* * *

Wiadomo, że tkanka mięśniowa różni się znacznie od cieczy ciała zwierzęcia pod względem zawartości składników mineralnych. W środowisku zewnętrznym przeważa sód i chlor, we włóknach mięśniowych natomiast dominuje potas i fosfor. Podług badań Katza ('96) skład mineralny mięśni żaby przedstawia się następująco: 0,3% potasu, 0,12% fosforu, 0,05% sodu i żelaza, 0,02% wapnia i magnezu oraz 0,04% chloru.

Pomimo tej różnicy organizm żywy zachowuje sobie właściwy skład mineralny tkanek. Zachowanie tej równowagi przypisywane jest własnościom regulacyjnym otoczki plazmatycznej komórki mięśniowej.

Badania nad mięśniami stwierdziły, że są one w znacznym stopniu przepuszczalne dla elektrolitów. Przez warstwę graniczną włókien mięśniowych może odbywać się wymiana składników mineralnych, zawartych w mięśniach i w cieczy zewnętrznej, t. j. w cieczy ciała lub w roztworze zastępczym. Stan czynnościowy mięśni oraz zmiana normalnych warunków zewnętrznych spowodzić mogą naruszenie równowagi fizjologicznej, co ujawnia się w zmianie przepuszczalności.

Znaczenie różnych soli dla mięśni oraz przepuszczalność tkanki dla tych soli były tematem licznych badań doświadczalnych, w których poruszano też sprawę zależności natężenia

nia procesów wymiany od stanu fizjologicznego mięśnia. Embden i Adler ('22) stwierdzili, że mięśnie żaby, znajdujące się w roztworze Ringera, wydają znaczne ilości fosforu oraz, że wydalanie to jest intensywniejsze w przypadku kiedy mięśnie są drażnione i wykonywują pracę. Poza tem Embden i Lange ('23) wykazali, że istnieje zależność pomiędzy wydalaniem jonów fosforu i pobieraniem równocześnie jonów *Cl*. Abderhalden i Gellhorn ('22) przeprowadzili badania nad przepuszczalnością mięśni dla wapnia i stwierdzili, że pobierają one wapń z roztworu, przyczem pobranie tego składnika w okresie skurczu jest intensywniejsze. Mitchell i Wilson ('22), analizując mięśnie, które uprzednio przemywali przez aortę bezpotasowym roztworem Ringera, wykazali, że tracą one 8 do 15% pierwotnej zawartości potasu, przyczem mięśnie drażnione i zmęczone wydawały większe ilości tego składnika. Neuschlosz i Trelles ('24) w doświadczeniach nad mięśniami królika i ropuchy znaleźli, że część potasu z łatwością dyfunduje z mięśni do cieczy zewnętrznej, podczas gdy pozostała ilość związana jest koloidalnie. Ilość tego związanego potasu i jego dyfuzja zależy od zachowania łączności z ośrodkiem nerwowym, który wpływa na dyfuzję hamująco. Lokalny tężec jednej z kończyn ropuchy wywoływał zwiększenie się zawartości „związanego“ potasu w porównaniu z ilością *K*, znaną w mięśniu kończyny, pozostawionej w spoczynku.

Badania powyższe dowodzą zatem, że skurcz mięśni wywiera wpływ na własności warstwy granicznej włókien, czyniąc ją bardziej przepuszczalną dla składników mineralnych mięśni. Brak tlenu w otoczeniu mięśnia wywiera wpływ podobny do tego jaki wywołuje zmęczenie. Zaznaczają to w badaniach swoich Lock ('00) oraz Simon ('22); ostatni stwierdził, że w atmosferze wodoru przepuszczalność warstwy granicznej włókien jest większa, niż w atmosferze tlenu. Wreszcie prace Locka ('00) oraz Locka i Rosenheima ('07/08) wykazały, że wybitny wpływ na działalność mięśnia sercowego wywiera obecność glukozy w roztworze Ringera. Obecność w roztworze potasu i wapnia zwiększa intensywność pobierania glukozy.

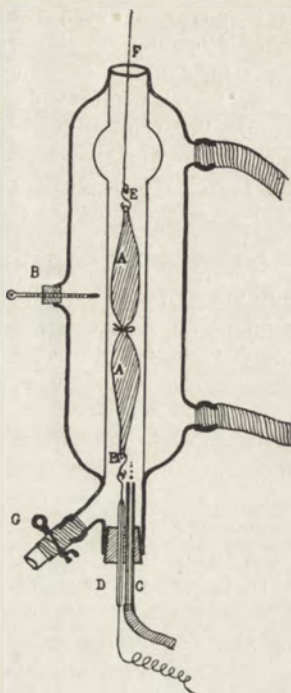
Wspomniane wyżej badania nie uwzględniają jednak dostatecznie zagadnienia wpływu pracy na wymianę elektrolitów. Zadaniem poszukiwań niniejszych było zbadanie natężenia wymiany

niektórych składników mineralnych w różnych stanach fizjologicznych mięśnia oraz wyswietlenia wpływu, jaki na te procesy wywiera obecność glukozy w cieczy zastępczej.

1. Metodyka.

Doświadczenia opisane poniżej przeprowadzono na świeżo odpreparowanych mięśniach żab wodnych (*Rana esculenta* L.), trzymanyh przez pewien czas po schwytaniu w basenie. Używano wyłącznie mięśni łydkowych (*m. gastrocnemii*) ze względu na ich wielkość i łatwość odpreparowania bez uszkodzeń.

Bieg doświadczeń był następujący: duże zwierzę zabijano przez ucięcie głowy i zniszczenie rdzenia pacierzowego. Z kończyn tylnych ściągano skórę i możliwie szybko bez uszkodzeń odpreparowywano oba mięśnie łydkowe, przenosząc je niezwłocznie do roztworu zastępczego. Oba mięśnie łączono nicią jedwabną. Następnie przez ścięgna Achillesa przeciągano haczyki platynowe (patrz rys. 1 E), zapomoć których zawieszano mięśnie na elektrodach, również platynowych, w specjalnym naczyniu, które zaraz napełniano roztworem zastępczym. Przez roztwór przepuszczano szybki strumień tlenu. Załączony obok rysunek uwidacznia budowę naczynia i sposób umieszczenia w nim mięśni. Naczynko to, jak widać, jest zwykłą małą chłodnicą z wlotową rurką wewnętrzną. Pojemność tej rurki wynosi około 35 cm³. Od dołu zamyka ją korek gumowy, przez który przechodzą dwie kapilary szklane. W jedną z nich, umieszczoną pośrodku (D), wtopiony jest drut platynowy, który wewnątrz naczynka jest połączony z jednym końcem związanych mięśni (E), nazewnątrz zaś łączy się z biegunem cewki indukcyjnej. Druga kapilara o średnicy wewnętrznej 0,1 do 0,2 mm (C) doprowadza tlen, który rozpyla się w cieczy. Górny koniec mięśni był połączony z miografem izometrycznym zapomoć drucika, który pełnił jednocześnie rolę drugiego bieguna cewki indukcyjnej. Przez umieszczony na dole tuż nad korkiem wylot (G) można



Rys. 1. A — mięśnie, B — termometr, C — kapilara, doprowadzająca tlen, D i E — elektrody platynowe, F — nitka, odchodząca do miografu, G — rurka, odprowadzająca ciecz.

Fig. 1. A — muscles, B — thermomètre, C — tube capillaire afferant pour l'oxygène, D et E — électrodes en platine, F — fil conduisant du myographe, G — tube pour vider le récipient.

było w każdej chwili usunąć z naczynka roztwór zastępczy. W czasie doświadczenia przez chłodnicę stale przepływał prąd zimnej wody, utrzymując temperaturę w granicach 10 — 15° C. Chłodzenie i nasycanie cieczy tlenem miało na celu opóźnienie procesów gnilnych, które w mięśni izolowanym zachodzą dość szybko.

Mięśnie pozostawały w roztworze od 15 do 60 minut. Miało to na celu danie tkance możliwości wypoczynku po zabiegach operacyjnych i wyłączenie wpływu tych ostatnich na bieg i wyniki doświadczeń. Po tym okresie zmieniano w naczynku roztwór i przystępowano do właściwych doświadczeń. Należy wyróżnić w nich trzy okresy: 1) okres spoczynku mięśni, 2) okres pracy, po którym następował — 3) okres wypoczynku. W końcu każdego okresu i przed rozpoczęciem nowego zmieniano roztwór zastępczy, zachowując ciecz zebraną do analiz. Pracę mięśni wywoływano przez drażnienie ich prądem indukcyjnym. Drażnienia odbywały się automatycznie, pojedynczemi podnieceniami prądu otwarcia w odstępach czasu od 5 do 30 sek. W doświadczeniach tych starano się o to, aby mięśni nie doprowadzić do zupełnego zmęczenia i utrzymać wysokość skurczów na jednakowym poziomie przy możliwie niezmiennym natężeniu podniety. Wychylenia, odpowiadające skurczom mięśni, notowane były przez chorągiewkę miógrafu na zakopconym papierze, umieszczonym na walcu kimografu. Wyłączanie automatyczne działania prądu zamknięcia oraz automatyzm drażeń osiągnięto zapomocą „wyłącznika“, wstawionego w obwód. Czas trwania doświadczeń był różny nietylko dla poszczególnych doświadczeń, ale nawet dla okresów. Wynosił on dla całego doświadczenia od 12 do 60 godzin, a dla pojedynczego okresu spoczynku lub pracy od 3 do 30 godzin. (Szczegóły są bliżej omówione w odnośnych rozdziałach).

Po zakończeniu doświadczeń sprawdzano żywotność mięśni, poddając je drażnieniom słabego prądu elektrycznego, osuszano je bibułą i powtórnie ważono. Uwzględniano tylko te doświadczenia, w których mięśnie zachowały pobudliwość.

Od schematu powyższego odbiegały doświadczenia masowe, prowadzone na większej ilości mięśni, których szczegółowy opis podany jest w odpowiednim miejscu.

Roztwory zastępcze, zebrane z różnych okresów czynności fizjologicznej mięśni oraz roztwór wyjściowy analizowano na zawartość składników mineralnych. Zawsze przeprowadzano przynajmniej dwa równoległe oznaczenia. W ten sposób z różnic w zawartości elektrolitów w cieczy przed i po doświadczeniu można było wnioskować o zmianie przepuszczalności włókien mięśniowych. W specjalnej serji doświadczeń przekonano się, że obecność białka nie wpływa na wynik analiz.

W analizach posługiwano się metodami następującemi: chlor oznaczono metodą Whitehorna ('21), fosfor — Briggsa ('22), sód i potas — Kramera ('20) oraz Kramera i Tisdalla ('21) wapń i magnez — Kramera i Tisdalla ('21) i wapń — de Waarda ('19). Cukier oznaczano metodą Michaelisa ('14), a stężenie jonów wodorowych metodą elektromotoryczną.

Pozostaje jeszcze do omówienia roztwór zastępczy, stosowany w doświadczeniach. Używano roztworu Ringera o składzie podanym przez Zwaardemakera ('18). Skład tego roztworu uzupełniono przez dodanie chlorku magnezu i fosforanów, w czym wzorowano się na wskazówkach, podanych w pracy Barkana, Broemsera i Hahna ('22). W pewnych przypadkach dodawano jeszcze cukru, opierając się na pracach Locka ('00) oraz Locka i Rosenheima ('07/08).

Roztwór zastępczy, stosowany w doświadczeniach, miał wobec tego skład następujący:

na 1 litr roztworu	6,5 g $NaCl$
	100 mg KCl
	200 mg $CaCl_2$ sic.
	20 mg $MgCl_2$ sic.
	200 mg $NaHCO_3$,

do tego dodawano 5 cm^3 mieszaniny, przygotowanej z następujących roztworów: 100 cm^3 $\frac{1}{3}$ mol. Na_2HPO_4 , 15 cm^3 $\frac{1}{3}$ mol. NaH_2PO_4 i 135 cm^3 wody destylowanej i wreszcie 2 gramy glukozy lub fruktozy; wlecie skład roztworu ulegał zmianie w ten sposób, że brano 7 g $NaCl$, 50 mg KCl i 250 mg $CaCl_2$ (Zwaardemaker ('18). W sporządzonej w sposób opisany cieczy stosunek poszczególnych katjonów przedstawiał się jak następuje:

$$Na : K : Ca : Mg = 100 : 2 : 2,8 : 0,2.$$

Jak wykazały pomiary bezpośrednie, obniżenie punktu zamarzania tego roztworu $\Delta = 0,425$, a $pH = 7,5$.

O fizjologicznej wartości cieczy można było wnioskować z doświadczeń, w których umieszczone w niej mięśnie zachowywały pobudliwość nawet przez cztery doby.

2. Przepuszczalność mięśni dla elektrolitów.

Przed przystąpieniem do właściwych badań, starałem się bliżej ustalić warunki, w jakich należało prowadzić doświadczenia: w szczególności zaś ważnem było zorientowanie się w wielkości zmian, jakie pod wpływem mięśnia zachodzą w składzie cieczy zastępczej. W tym celu przeprowadzono szereg doświadczeń nad mięśniami w stanie pracy. Użyte były oba mięśnie łydkowe, których ciężar w poszczególnych doświadczeniach nieraz znacznie się różnił: najmniej wynosił 1,22 g, najwyżej 2,10 g. Po zastosowaniu wszystkich wstępnych zabiegów, opisanych w części metodycznej, mięśnie umieszczano w naczynku, które niezwłocznie wypełniano roztworem Ringera, nie zawierającym cukru; ilość użytej cieczy w poszczególnych przypadkach wynosiła 23,25 i 30 cm^3 . Czas trwania doświadczeń był różny:

Tabela I.

Wymiana elektrolitów między mięśniami żaby a środowiskiem w okresie pracy. Dwa mięśnie umieszczone w roztworze zastępczym Ringera, nie zawierającym glukozy.

Échange des électrolytes entre les muscles de grenouille et la solution environnante durant la période de travail. Deux muscles ont été placés dans une solution de Ringer sans glucose.

Numer doświadczalny Numero de l'expérience	Data doświadczenia Date de l'expérience	Ciężar mięśni Poids des muscles	Czas trwania doświadczenia Durée de l'expérience	Objętość roztworu Ringera Volume de la solution de Ringer	Na		Cl		Ca		K		P	
					Zawartość w roztworze przed doświadczeniem Teneur de la solution initiale	Zmiana zawartości po okresie pracy mg	Zmiana zawartości po okresie pracy mg	Zmiana zawartości po okresie pracy mg	Zawartość w roztworze przed doświadczeniem Teneur de la solution initiale	Zmiana zawartości po okresie pracy mg	Zawartość w roztworze przed doświadczeniem Teneur de la solution initiale	Zmiana zawartości po okresie pracy mg	Zawartość w roztworze przed doświadczeniem Teneur de la solution initiale	Zmiana zawartości po okresie pracy mg
				Zmiana zawartości po okresie pracy mg		Zmiana zawartości po okresie pracy mg		Zmiana zawartości po okresie pracy mg		Zmiana zawartości po okresie pracy mg		Zmiana zawartości po okresie pracy mg		
				w % początkowej		w % początkowej		w % początkowej		w % początkowej		w % początkowej		
				Changement de la teneur après la période de travail		Changement de la teneur après la période de travail		Changement de la teneur après la période de travail		Changement de la teneur après la période de travail		Changement de la teneur après la période de travail		
				de la teneur initiale		de la teneur initiale		de la teneur initiale		de la teneur initiale		de la teneur initiale		
				mgr.		mgr.		mgr.		mgr.		mgr.		
3	1925 16-17.VI	1.78	10 ^{1/2}	23	—	-1.1	2.300	-0.541	-23.5	0.644	+0.828	+128.5	0.704	-0.037
4	18-19.VI	1.66	12 ^{1/2}	30	-2.6	-1.1	2.496	+0.318	+12.3	0.996	+1.053	+105.7	0.807	+0.213
5	24-25.VI	2.10	10	25	108.6	-1.6	2.800	-0.013	-0.5	0.975	+0.567	+58.1	0.630	+0.045
7	4-7.VII	1.22	27 ^{1/4}	25	57.30	-2.0	2.343	+0.252	+10.7	0.967	+0.683	+70.6	0.550	—
9	15-16.VII	1.26	11 ^{1/4}	25	52.97	-2.1	2.912	-0.076	-2.6	0.885	+0.642	+72.5	0.557	+0.125
10	19-20.VII	1.92	7	25	52.65	+0.8	3.357	0	0	—	—	—	—	+0.218

+ oznacza zwiększenie zawartości, — zmniejszenie
+ indique l'augmentation de la teneur en électrolytes, — sa diminution

od 7-miu do 27-miu godzin. Skurecz mięśni wywoływano przez drażnienie pojedynczymi podniećami prądu indukcyjnego z częstotnością około 30 sek.

Roztwory wyjściowy i zebrany po zakończeniu doświadczenia analizowałem jednocześnie. Wyniki tych analiz, zestawione w tabeli I, pozwalają na ustalenie faktów następujących:

Przedewszystkiem stwierdzono, że wielkości zmian stężenia niektórych składników w cieczy znajdują się w granicach błędu analizy. Do kategorii tych składników zaliczyć należy w pierwszym rzędzie magnez, znajdujący się w bardzo nieznacznych ilościach. Pozatem chlor i sód, które znajdują się w cieczy w bardzo dużych ilościach: największe nawet zmiany ich zawartości leżą w granicach błędu analizy. Zmiany te wyrażają się w liczbach następujących: dla chloru -1.1 , -1.4 , -1.9 -2.0 i $+0.7$ dla sodu -2.6 , $+9.0$, -1.2 i ± 0 w procentach ich zawartości początkowej. (Znak $-$ oznacza zmniejszenie się, $+$ zwiększenie się zawartości w roztworze po doświadczeniu).

Co się tyczy składników pozostałych to, jak widać z tabeli I, analizy wapnia, wykonane metodą Kramera i Tisdalla, dały wyniki bardzo rozbieżne; w trzech przypadkach otrzymano zmniejszenie się zawartości *Ca* w cieczy o 0.5, 2.6 i 23.5%; w dwóch — zwiększenie o 10.7 i 12.3% zawartości początkowej; w jednej zaś nie stwierdzono żadnych zmian. Wyraźne natomiast zmiany znaleziono w zawartości fosforu, a szczególnie potasu. Analizy porównawcze, przeprowadzone w pięciu doświadczeniach wykazały w czterech przypadkach zwiększenie się fosforu o 25, 7, 23 i 37%, w jednym tylko zmniejszenie się jego zawartości o 5%.

Co do potasu to we wszystkich roztworach po doświadczeniu znaleziono go więcej, niż było w roztworze kontrolnym; przyrost ilości tego składnika w oddzielnych doświadczeniach wynosił 128, 106, 58, 71 i 72% ilości początkowej.

Z powyższego wynika, że w warunkach przeprowadzonych doświadczeń jedynie analizy potasu, fosforu i wapnia mogą dać wyniki, dokładnie charakteryzujące natężenie wymiany elektrolitów w mięśniach.

3. Wpływ pracy na wymianę elektrolitów w mięśniach, umieszczonych w roztworze zastępczym, nie zawierającym glukozy.

Punktem wyjścia moich doświadczeń nad wpływem pracy na przepuszczalność włókien mięśniowych dla elektrolitów były wspomniane już prace Embdena i jego współpracowników ('22 i '23), dotyczące wymiany jonów fosforu, Abderhaldena i Gellhorna ('22), nad zachowaniem się tkanki mięśniowej w roztworach kombinowanych chlorku wapnia oraz Mitchela i Wilsona ('22), a także Neuschlosza i Trellesa ('23, '24 i '25) o potasie w mięśniu.

W doświadczeniach, podanych niżej, mięśnie umieszczano w roztworze Ringera (o składzie podanym na str. 7), nie zawierającym jednak glukozy. Przeprowadzono je na samcach i samicach w różnych porach roku. W każdym doświadczeniu uwzględniono przynajmniej dwa okresy: spoczynek i pracę, lub pracę i wypoczynek; w większości przypadków mięśnie badane były we wszystkich trzech okresach czynności fizjologicznej t. j. w stanie spoczynku, pracy i wypoczynku. Objętość cieczy w różnych doświadczeniach była różna, lecz jednakowa w każdym okresie tego samego doświadczenia. Doświadczenia prowadzone były przez 12 do 40 godz., ale czas trwania poszczególnych okresów w tem samym doświadczeniu był jednakowy. W okresie pracy starano się stosować zawsze tę samą częstość i natężenie podniet.

Analizy wszystkich roztworów z każdego doświadczenia przeprowadzono jednocześnie po zakończeniu ostatniego okresu. Dla wykazania wpływu pracy porównywano ze sobą wyniki analiz z okresów pracy i spoczynku lub wypoczynku, co dawało możliwość zorientowania się w zmianach, zachodzących podczas skurczu i w czasie spoczynku.

Wyniki znacznej większości analiz zgodne są co do kierunku wymiany i natężenia w poszczególnych okresach czynności fizjologicznej. Ilustruje to tabela II.

Rozpatrzmy natężenie wymiany elektrolitów w okresie pracy i spoczynku. Dla przykładu weźmy doświadczenie № 10. Poszczególne okresy w tem doświadczeniu trwały po 7 godzin, ciężar mięśni wynosił 1.93 g. Mięśnie straciły, wydalając do cieczy, 0.452 mg potasu w stanie spoczynku, oraz 0.642 mg podczas

Tabela II.

Wymiana elektrolitów w mięśniach, znajdujących się w roztworze zastępczym Ringera bez glukozy, w różnych stanach fizjologicznych.

Échange des électrolytes dans les muscles, placés dans une solution de Ringer sans glucose, pendant le travail et le repos.

Numer doświadczenia Numero de l'expérience	Data doświadczenia Date de l'expérience	Ciężar mięśni Poids des muscles	Czas trwania każdego okresu doświadczenia Durée de chaque période de l'expérience	Objętość roztworu Ringera w każdym okresie doświadczenia Volume de la solution de Ringer pour chaque période de l'expérience	K				P				Ca										
					Zawartość w roztworze przed doświadczeniem Teneur de la solution initiale en K	Zmiana zawartości po okresie spoczynku pracy Changement de la teneur après la période	de repos avant le travail	mg	de travail	mg	de repos après le travail	mg	Zawartość w roztworze przed doświadczeniem Teneur de la solution initiale en P	Zmiana zawartości po okresie spoczynku pracy Changement de la teneur après la période	de repos avant le travail	mg	de travail	mg	de repos après le travail	mg	Zawartość w roztworze przed doświadczeniem Teneur de la solution initiale en Ca	Zmiana zawartości po okresie spoczynku pracy Changement de la teneur après la période	de repos avant le travail
3	1925	1.78	10	23	0.644	—	+0.787	+0.785	0.704	—	—0.035	—0.058	2.300	—	—0.515	—0.337							
4	16-17.VI	1.66	12½	30	0.996	+0.951	+1.053	—	0.807	+0.123	+0.213	+0.058	2.496	+0.060	+0.318	—							
5	18-19.VI	2.10	10	25	0.975	—	+0.567	+0.324	0.630	—	+0.045	+0.043	2.880	—	+0.013	+0.077							
9	24-25.VI	1.26	12	25	0.967	+0.456	+0.728	+0.449	0.550	+0.025	+0.133	—	2.912	—0.286	—0.081	—0.155							
10	15-16.VII	1.93	7	25	0.885	+0.452	+0.642	+0.507	0.557	+0.050	+0.218	+0.058	3.357	0	0	0							
11	19-20.VII	1.65	5	17	0.976	+0.191	+0.221	+0.074	0.238	+0.102	+0.168	+0.040	1.207	—0.612	—0.408	—0.007							
12	22.IX	1.21	4	15	1.083	+0.081	+0.095	—	0.210	+0.120	+0.105	0	1.086	—0.174	—0.507	—0.167							
16	25.IX	1.66	4	15	1.207	+0.177	+0.230	+0.039	0.285	+0.060	+0.015	+0.030	0.600	—0.210	—0.240	—0.270							
17	16.X	1.97	4	15	0.945	+0.252	+0.453	+0.243	0.270	+0.060	+0.075	+0.045	0.628	—0.136	0	0							
19	21.X	1.41	5	15	0.859	+0.773	+0.561	+0.480	0.255	+0.180	+0.135	+0.045	1.027	+0.606	—0.122	—0.165							
20	28.X	2.16	5	15	0.978	+0.240	+0.160	+0.160	0.270	+0.090	+0.300	+0.015	1.173	+0.137	—0.329	—0.273							

+ oznacza zwiększenie zawartości, — zmniejszenie

+ indique l'augmentation de la teneur en électrolytes, — sa diminution

skurezu. Widać, że w okresie pracy tkanka straciła o 0.190 mg potasu więcej, niż w okresie spoczynku. Innemi słowy, straty potasu podczas pracy wyrażają się liczbą 142% strat zachodzących w stanie spoczynku. W innych doświadczeniach straty potasu w czasie drażnienia mięśni wynosiły od 115 do 180% strat spoczynkowych. W dwóch przypadkach (p. dośw. № 19 i 20) stwierdzono, że w okresie pracy wydalanie było mniej intensywne, niż w okresie spoczynku i równało się 67 i 73% strat spoczynkowych. Z powyższego wynika, że w obydwóch badanych stanach fizjologicznych mięśnie wydają potas i że w znacznej większości przypadków w czasie pracy wzrasta intensywność wymiany tego składnika. Zawartość fosforu po doświadczeniu ulega również dalego idącym zmianom. W przytoczonym powyżej doświadczeniu 10-tem mięśnie traciły fosfor w ilościach 0.050 mg w stanie spoczynku i 0,218 mg w stanie skurezu. Naogół, pomijając doświadczenie № 3, w którym znaleziono pobranie fosforu, oraz okres wypoczynkowy w dośw. № 12, gdzie zmian w zawartości nie było, stwierdzono, że fosfor jest wydany do roztworu zastępczego tak w stanie pracy, jak i w stanie spoczynku, przyczem w większości doświadczeń w okresie skurezu wymiana jest intensywniejsza, niż w okresie spoczynku i wynosi od 125 do 532% wymiany spoczynkowej. Jednak w trzech przypadkach (p. dośw. № 12, 16 i 19) straty w czasie pracy były mniejsze — od 25 do 87% strat spoczynkowych. Wreszcie co do wapnia, to opierając się na wynikach większości analiz, należy sądzić, że jest on przez mięśnie pobierany w obydwóch stanach fizjologicznych, ale nie można twierdzić, aby wyniki otrzymane dawały możność wnioskowania o większej intensywności wymiany w jednym z tych stanów.

Jeżeli porównać okres wypoczynku z okresem pracy, to okazuje się, że wydalanie potasu i fosforu, zachodzące w okresie pracy, jest i w tym przypadku większe, straty *K* wynoszą 100—587%, *P* 105—2000% wartości wypoczynkowych (pomijając dośw. № 12 i 16 dla fosforu). Porównywując zaś okres wypoczynku z okresem spoczynku, widać, że wymiana wypoczynkowa jest mniej intensywna i wynosi dla potasu 21 do 112%, dla fosforu od 0 do

116% wymiany spoczynkowej. Wapń w okresie wypoczynku jest pobierany przez mięśnie, jak w okresach poprzednich.

Zestawiając wyniki podane wyżej, można powiedzieć, że izolowane mięśnie żaby, umieszczone w roztworze fizjologicznym Ringera, o kompletnym składzie mineralnym, ale nie zawierającym cukru, wydalają pewną ilość potasu i fosforu do środowiska zewnętrznego. W okresie pracy, wywołanej przez drażnienie mięśni pojedynczymi podnieťami prądu indukcyjnego, w większości doświadczeń straty tych składników są intensywniejsze, niż w okresie spoczynku lub wypoczynku. W większości również przypadków stwierdzono pobieranie wapnia przez tkankę, lecz natężenia tego procesu w zależności od stanu czynności fizjologicznej ustalić nie zdołano. Wreszcie, biorąc pod uwagę czas trwania poszczególnych okresów doświadczenia oraz ciężar mięśni w poszczególnych doświadczeniach, nie stwierdzono, aby istniała zależność między intensywnością wymiany składników mineralnych a czasem trwania doświadczenia i ciężarem mięśni.

Wyniki powyższe potwierdzają rezultaty, otrzymane przez innych autorów, zwłaszcza wyniki prac Embdena ('22 i '23) i współpracowników, stwierdzające wymianę fosforu, oraz badania Abderhaldena i Gellhorna ('22), dotyczące zachowania się mięśni w stosunku do wapnia. Co do potasu to wyniki opisanych wyżej doświadczeń różnią się znacznie od wyników, otrzymanych przez Mitchela i Wilsona ('22), którzy stwierdzili, że tylko mięśnie zmęczone tracą pewną ilość potasu; normalna praca mięśni nie wywołuje wydalania tego składnika, przeciwnie, przypuszczają oni, że skurcz nawet sprzyja pobieraniu potasu. Zaznaczyć jednak należy, że Mitchell i Wilson przeprowadzili badania na mięśniach niez izolowanych, w których zachowane zostało połączenie z ośrodkiem nerwowym. Można by przypuszczać, że straty elektrolitów przez mięśnie w warunkach moich doświadczeń powstawały bądź wskutek przerwania połączeń z ośrodkiem nerwowym, co było nieuniknione przy izolowaniu mięśni z organizmu, bądź też dzięki temu, że mięśnie znajdowały się w cieczy, która zawierała tylko sole nieorganiczne, a więc znacznie różniła się od naturalnej cieczy ciała zwierzęcia.

4. Wpływ glukozy na intensywność wymiany elektrolitów.

Nasuwało się więc przypuszczenie, że jedną z przyczyn dyfuzji potasu i fosforu z tkanki do cieczy Ringera jest skład chemiczny roztworu, mianowicie — brak w nim substancyj organicznych. Już Lock ('00), badając działalność serca królika, przez które przepuszczał roztwór Ringera, stwierdził, że dodanie do tego roztworu pewnej ilości glukozy może znacznie przedłużyć okres działalności serca. Podobny skutek, aczkolwiek w stopniu mniejszym, wywiera fruktoza. Lock i Rosenheim ('07/08) wykazali pozatem, że glukoza ma znaczenie odżywcze i jest przez mięsień sercowy pobierana. Można stąd przypuszczać, że dodanie glukozy do stosowanego w moich doświadczeniach roztworu zastępczego, może podnieść jego wartość fizjologiczną. Gdyby to okazało się słusznem, należałoby oczekiwać, że, skutkiem uzupełnienia cieczy cukrem, nastąpi znaczne ograniczenie dyfuzji składników nieorganicznych w kierunku od mięśnia do środowiska otaczającego. Doświadczenia, mające na celu sprawdzenie powyższego przypuszczenia, przeprowadziłem na mięśniach, znajdujących się w stanie spoczynku oraz pracy. Mięśnie umieszczano w pierwszym okresie doświadczenia w roztworze Ringera, nie zawierającym cukru; w drugim okresie doświadczenia przenoszono je do roztworu, zawierającego glukozę lub fruktozę. Ciecz analizowano równocześnie ze wszystkich okresów tego samego doświadczenia na zawartość potasu, fosforu i wapnia, przeprowadzając wyliczenia w sposób już opisany.

A. *Wymiana elektrolitów w mięśniach w stanie spoczynku.*

Doświadczenia tej serii zostały przeprowadzone na większej liczbie mięśni, odpreparowanych z kilku zwierząt. Zabiegi operacyjne, ważenie i przemywanie stosowane były jak poprzednio, z tą jednak różnicą, że wszystkie mięśnie umieszczano w małych zlewkach (zamiast w chłodnicze). Zlewki te wstawiano do słoja, przez który przepływał stale strumień zimnej wody. Tlen doprowadzano bezpośrednio przez kapilary szklane, zanurzone w roztworze, wypełniającym zlewki. Wyniki doświadczeń są podane w tabeli III. Doświadczenia te trwały od 8 do 20 godzin tak, że każdy okres liczył od 4 do 10 go-

Tabela III.

Wymiana elektrolitów w mięśniach (8—10), pozostających w stanie spoczynku, umieszczonych w roztworze zastępczym Ringera bez glukozy i z glukozą.

Échange des électrolytes dans les muscles (8—10) à l'état de repos placés dans la solution de Ringer sans glucose et avec glucose.

Numer doświadczenia Nombro de l'expérience	Data doświadczenia Date de l'expérience	Ciężar mięśni Poids des muscles	Czas trwania każdego okresu doświadczenia Durée de chaque période de l'expérience	Objętość roztworu Ringera w każdym okresie doświadczenia Volume de la solution de Ringer pour chaque période de l'expérience	K			P			Ca			
					Zawartość w roztworze przed doświadczeniem Teneur de la solution initiale en K	Zmiana po okresie przebywania w roztworze Ringera bez glukozy glukoza Changement de la teneur après un séjour dans la solution sans avec glucose glucose	Zawartość w roztworze przed doświadczeniem Teneur de la solution initiale en P	Zmiana po okresie przebywania w roztworze Ringera bez glukozy glukoza Changement de la teneur après un séjour dans la solution sans avec glucose glucose	Zawartość w roztworze przed doświadczeniem Teneur de la solution initiale en Ca	Zmiana po okresie przebywania w roztworze Ringera bez glukozy glukoza Changement de la teneur après un séjour dans la solution sans avec glucose glucose				
27	2.XII.25	5.00	10	10	0.397	+0.683	+0.193	—	—	0.475	+0.147	—0.113	+	oznacza zwie-
28	5.XII	4.67	5	10	0.688	+0.327	+0.202	0.270	+0.170	0.475	-0.211	-0.273	-	kszenie zawar-
29	21.I.26	4.52	4	15	0.682	+0.386	+0.324	0.045	+0.006	0.705	+0.060	-0.253	-	tości.
30	25.1	4.25	4	16	0.591	+0.217	+0.161	0.420	+0.060	0.750	+0.114	-0.214	-	— zmniejszenie.
31	3.11	2.92	4	10	0.432	+0.028	+0.004	0.288	+0.032	0.585	-0.109	-0.109	+	indique l'aug-
32	1.111	3.97	4½	15	0.467	+0.544	+0.298	0.420	+0.255	0.867	-0.147	-0.015	+	mentation de
33	8.111	3.92	5	15	0.619	+0.038	+0.016	0.375	+0.090	0.876	-0.124	-0.005	-	la teneur en
34	11.111	2.94	6	15	0.496	-0.175	-0.111	0.435	+0.075	0.975	-0.210	-0.110	-	électrolytes.
35	17.111	2.94	6	15	0.612	+0.115	+0.150	0.435	+0.045	0.886	-0.267	-0.306	-	sa diminution.
36	17.111	3.11	6	15	0.612	+0.217	+0.160	0.435	+0.060	0.886	-0.267	-0.267	-	
37	20.111	3.73	5	15	0.696	+0.063	-0.015	0.420	+0.030	0.969	-0.020	-0.072	-	
38	20.111	3.37	5	15	0.696	-0.229	-0.109	0.420	-0.035	0.969	-0.012	-0.012	-	

dzin. Ogólny ciężar mięśni wziętych do doświadczenia był znacznie większy, niż w doświadczeniach, opisanych w rozdziale poprzednim, wynosił bowiem od 2.9 do 5.0 g.

Zmiany zawartości składników mineralnych, obliczone z analiz roztworów po obydwóch okresach doświadczenia, przedstawiają się w sposób następujący:

W roztworze z glukozą mięśnie tracą znacznie mniejsze ilości potasu, niż podczas przebywania w roztworze, pozbawionym glukozy. W pierwszym przypadku ilość wydalanego *K* wynosi 14—85% ilości tego składnika, wydalanego w drugim przypadku. Są to dane z dużej większości doświadczeń. W jednym przypadku (p. dośw. № 33) stwierdzono nawet bardzo nieznaczne pobranie potasu. Tylko w dwóch doświadczeniach (p. № 34 i 38) analizy wykazały pobranie *K* i to w ilościach większych przez mięśnie, umieszczone w roztworze bez glukozy, wreszcie w jednym doświadczeniu (p. № 35) znaleziono wymianę intensywniejszą w środowisku, zawierającym glukozę. Zawartość fosforu ulega zmianie podobnej, w większości bowiem doświadczeń straty fosforu zmniejszają się w okresie przebywania w środowisku, zawierającym glukozę, i wynoszą od 6 do 84% strat, znalezionych w okresie przebywania w cieczy bez glukozy. W trzech przypadkach otrzymano wynik, który dowodziłby zupełnego ograniczenia strat (p. dośw. № 29, 30 i 31). W trzech doświadczeniach (№ 35, 36 i 37) znaleziono jednak w roztworze z glukozą zwiększenie intensywności wymiany od 100 do 250% strat w roztworze bez glukozy. A więc, w znacznej większości przypadków w roztworze, zawierającym glukozę, tkanka mięśniowa ogranicza lub znosi wydalanie fosforu do środowiska. Natomiast analizy roztworów na zawartość wapnia dały bardzo rozbieżne rezultaty; naogół powiedziec można tylko tyle, że wykazują one pobieranie *Ca* przez mięsień.

Ponieważ, jak zaznaczono wyżej, Lock ('00) stwierdził, że fruktoza wywiera działanie podobne do glukozy, przedłużając działalność serca w roztworze Ringera, przeto usiłowałem sprawdzić, jaki wpływ może wywierać fruktoza na intensywność wymiany elektrolitów. W tym celu w pewnej ilości wyżej opisanych doświadczeń przeprowadzono następujące zmiany: mięśnie z prawych i z lewych kończyn żaby umieszczano w dwóch

Tabela IV.

Wymiana elektrolitów w mięśniach, pozostających w stanie spoczynku, umieszczonych w roztworze zastępczym Ringera bez fruktozy i z fruktozą.
Echange des électrolytes dans les muscles à l'état de repos, placés dans la solution de Ringer sans ou avec fructose.

Numer doświadczenia Numero de l'expérience	Data doświadczenia Date de l'expérience	Ciężar mięśni Poids des muscles	Czas trwania każdego okresu doświadczenia Durée de chaque période de l'expérience	Objętość roztworu Ringera w każdym okresie doświadczenia Volume de la solution de Ringer pour chaque période de l'expérience	K			P			Ca			U w a g i R e m a r q u e s	
					Zawartość w roztworze przed doświadczeniem Teneur de la solution initiale en K	Zmiana po okresie przebywania w roztworze Ringera z fruktozą	Zmiana po okresie przebywania w roztworze Ringera z fruktozą	Zawartość w roztworze przed doświadczeniem Teneur de la solution initiale en P	Zmiana po okresie przebywania w roztworze Ringera z fruktozą	Zawartość w roztworze przed doświadczeniem Teneur de la solution initiale en Ca	Zmiana po okresie przebywania w roztworze Ringera z fruktozą				
		g	h	cm ³	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	
29	1926	4.52	4	15	0.682	+0.453	+0.384	0.045	+0.012	0.705	-0.165	-0.245			+ oznacza zwiększe- nie zawartości, - zmniejszenie.
30	21.1	4.25	4	16	0.591	-0.145	+0.302	0.420	-0.004	0.750	+0.105	+0.008			
31	25.1	2.92	4	10	0.432	-0.039	+0.109	0.288	-0.032	0.885	-0.097	-0.133			
32	3.11	3.97	4 ¹ / ₂	15	0.467	+0.389	-0.377	0.420	+0.165	0.867	-0.320	+0.030			+ indique l'augmen- tation de la teneur en électrolytes,
33	8.111	3.92	5	15	0.619	-0.067	+0.209	0.375	+0.165	0.876	-0.233	-0.381			- sa diminution.
34	11.111	2.94	6	15	0.496	-0.066	+0.052	0.435	+0.075	0.975	+0.112	-0.120			

oddzielnych zlewkach, w roztworze bez cukru, a po pewnym czasie przenoszono je do innych zlewek z roztworem, który zawierał w jednej dodatek glukozy, w drugiej dodatek fruktozy. Wyniki analiz tej serii doświadczeń, zebrane w tab. IV, w większości przypadków stwierdziły, że obecność fruktozy w roztworze zastępczym zmniejsza intensywność wymiany potasu i fosforu.

Wypada również wspomnieć o jednym doświadczeniu, które wykonane zostało na mięśniach niezolowanych, bez uszkodzenia systemu nerwowego i krwiobiegu. Po 6 godzinach, przebywania, obnażonych tylnych kończyn żaby, jednej w cieczy Ringera z glukozą, drugiej w cieczy bez glukozy, stwierdzono, że w środowisku, zawierającym cukier mięśnie tracą mniejsze ilości potasu.

B. *Wymiana elektrolitów w mięśniach drażnionych.*

Doświadczenia na mięśniach drażnionych miały na celu sprawdzenie wyników, otrzymanych w stanie spoczynku, a oprócz tego wykazanie zmian przepuszczalności mięśni w okresie po usunięciu działania glukozy. Oba mięśnie tego samego zwierzęcia umieszczano w chłodnicy (Rys. 1) i przez cały czas trwania doświadczenia drażniono z częstością co 5 sekund. W każdym doświadczeniu uwzględniano trzy po sobie następujące okresy czynności: w roztworze bez glukozy, w roztworze, zawierającym 0,2% glukozy, i powtórnie — w roztworze, pozbawionym cukru.

Poniżej podane są wyniki z okresów pracy mięśni w roztworze nie zawierającym cukru i po przeniesieniu ich do roztworu z glukozą (Tab. V). Oba okresy trwały po 4 godziny. Okazało się, że glukoza wywiera wpływ w tym samym kierunku, co w okresie spoczynkowym, mianowicie straty potasu w okresie przebywania w cieczy z cukrem wynosiły od 45 do 73% strat, zachodzących w okresie przebywania w środowisku bez cukru; w jednym przypadku (p. dośw. № 22) znaleziono w obu okresach pobranie K i to intensywniejsze w środowisku z cukrem. Straty fosforu w okresie przebywania w roztworze z cukrem wynosiły od 60 do 89% strat, ujawnionych w okresie bez glukozy lub, jak w dośw. № 22 i 25, wymiana była zupełnie ograniczona. Wyniki dotyczące wapnia otrzymano i w tej serii zmienne.

Tabela V.

Wymiana elektrolitów w mięśniach pracujących, umieszczonych w roztworze zastępczym Ringera bez glukozy, przeniesionych następnie do roztworu, zawierającego glukozę.

Échange des électrolytes dans les muscles à l'état de travail. Les muscles sont d'abord placés dans une solution de Ringer et, après un séjour de quelque temps, ils sont transportés dans celle avec glucose.

Numéro de l'expérience	Date de l'expérience	CieŜar mięsny g	Czas trwania kaŜdego okresu doœwiadczenia h	Długość roztworu Ringera de l'expérience	Objętość roztworu Ringera w kaŜdym okresie doœwiad. cm ³	K		P		Ca		U w a g i R e m a r q u e s		
						Zawartość w roztworze przed doœwiadczeniem initiale en K mg.	Zmiana po okresie przebywania w roztworze Ringera bez glukozy glukozy z glukozy Changement de la teneur après un séjour dans la solution sans glucose avec glucose mg	Zawartość w roztworze przed doœwiadczeniem initiale en K mg	Zmiana po okresie przebywania w roztworze Ringera bez glukozy glukozy z glukozy Changement de la teneur après un séjour dans la solution sans glucose avec glucose mg	Zawartość w roztworze przed doœwiadczeniem initiale en Ca mg	Zmiana po okresie przebywania w roztworze Ringera bez glukozy glukozy z glukozy Changement de la teneur après un séjour dans la solution sans glucose avec glucose mg			
21	1925 4.XI	2,25	4	15	15	0,969	+0,321	+0,144	0,285	+0,075	+0,045	+0,030	+0,009	+ oznacza zwiększe- nie zawartości - zmniejszenie + indique l'augmen- tation de la teneur en électrolytes, - sa diminution
22	6.XI	1,22	4	15	15	1,018	-0,177	-0,273	0,375	+0,045	0	-0,062	-0,012	
23	9.XI	1,75	4	15	15	0,963	+0,207	+0,151	0,315	+0,060	+0,043	-0,012	-0,115	
24	11.XI	2,45	4	15	15	0,999	+0,577	+0,308	0,315	+0,210	+0,187	-0,402	-0,559	
25	14.XI	2,28	4	15	15	0,903	+0,379	+0,247	0,300	+0,075	0	-0,378	-0,683	
26	19.XI	2,71	4	15	15	0,972	+1,065	+0,520	0,360	+0,240	+0,206	—	—	

Tabela VI.

Wymiana elektrolitów w mięśniach pracujących, umieszczonych w roztworze zastępczym Ringera bez glukozy w okresie, poprzedzającym przebywanie w roztworze z glukozą i po przebywaniu w tymże.

Échange des électrolytes dans les muscles à l'état de travail. Les muscles sont d'abord placés dans une solution de Ringer sans glucose, et après un séjour de quelque temps dans celle avec glucose, ils sont de nouveau transportés dans une solution sans glucose.

Numer doświadczenia	Date doświadczenia	Ciężar mięśni	Czas trwania każdego okresu doświadczenia	h	Długość rozworu Ringera w każdym okresie doświadczenia	cm ³	K		P		Ca	
							Zawartość w roztworze przed doświadczeniem	Tętno w początkowej części	Zawartość w roztworze przed doświadczeniem	Tętno w początkowej części	Zawartość w roztworze przed doświadczeniem	Tętno w początkowej części
21	1925	2.25	4	4	15	0.969	+0.321	+0.214	+0.075	0	0.873	+0.030
22	4.XI	1.22	4	4	15	1.018	-0.177	-0.445	-0.045	-0.015	0.945	-0.062
23	6.XI	1.75	4	4	15	0.963	+0.207	+0.050	-0.060	+0.045	0.912	-0.012
24	9.XI	2.45	4	4	15	0.999	+0.577	-0.072	+0.210	+0.075	1.275	-0.402
25	11.XI	2.28	1 ³ / ₄	4	15	0.903	-0.166	0	+0.033	+0.015	1.749	-0.165
26	14.XI	2.71	4	4	15	0.972	+1.065	+0.525	+0.240	0	1.039	-0.141

U w a g i

R e m a r q u e s

+ oznacza zwiększenie zawartości,
 - zmniejszenie
 + indique l'augmentation de la teneur en électrolytes,
 - en diminution.

C. *Wpływ następczy glukozy na intensywność wymiany.*

W serji doświadczeń, których wyniki ilustruje tab. VI, starano się zbadać, czy glukoza wywiera działanie tylko bezpośrednio, czy też oddziałuje jeszcze na mięsień po przeniesieniu go do środowiska nie zawierającego cukru. Doświadczenia przeprowadzono na mięśniach drażnionych, umieszczonych w roztworach: *a*) bez glukozy, *b*) z glukozą i *c*) powtórnie przeniesionych do roztworu bez glukozy. Porównano w tym przypadku analizy roztworów z okresów „*a*” i „*c*”.

Z większości doświadczeń wynika, że intensywność wydania potasu zmniejsza się, a nawet wydalanie zupełnie ustaje (p. dośw. № 25) i wynosi od 0 do 67% strat w pierwszym okresie przebywania w roztworze bez glukozy (wyjątek stanowi dośw. № 22); intensywność strat fosforu zmniejsza się od 0 do 75%, a nawet jedna analiza wykazuje pobranie fosforu (p. dośw. № 22). Z powyższego wynika, że glukoza wywiera również działanie w okresie późniejszym, zmniejszając intensywność strat potasu i fosforu przez pewien czas po przeniesieniu mięśnia do roztworu Ringera, pozbawionego cukru.

5. Streszczenie.

Doświadczenia przeprowadzone na izolowanych mięśniach żaby, mające na celu zbadanie przepuszczalności włókien mięśniowych dla elektrolitów w zależności od stanu fizjologicznego mięśni (spoczynek lub wypoczynek i praca) oraz składu chemicznego roztworu zastępczego Ringera, wykazały, że w roztworze zastępczym o składzie chemicznym podanym na str. 7, nie zawierającym glukozy, mięśnie tracą potas i fosfor we wszystkich badanych stanach fizjologicznych, t. j. w stanie spoczynku, pracy i wypoczynku. W okresie skurczu składniki te przenikają z mięśnia do środowiska w ilościach większych, niż w okresie spoczynku i wypoczynku. Większa część doświadczeń przemawia za tem, że wapń jest przez mięśnie pobierany. Dodatek glukozy do roztworu zastępczego w znacznym stopniu zmniej-

sza straty potasu i fosforu, aczkolwiek nie ogranicza ich całkowicie, przyczem glukoza wywiera wpływ następczy, trwający jeszcze przez pewien czas po przeniesieniu mięśni do środowiska, pozbawionego cukru.

PIŚMIENNICTWO.

- Abderhalden E. und E. Gellhorn. 1922. Studien über die Quellbarkeit von Muskeln und ihre Permeabilität unter verschiedenen Bedingungen. Arch. f. ges. Physiol. **196**. (584).
- Barkan J., Ph. Broemser und A. Hahn. 1922. Eine gepufferte Durchströmungsfüssigkeit für die überlebende Froschniere. Zeitschr. f. Biol. **74** (1).
- Briggs A. P. 1922. A modification on the Bell-Doisy phosphate methods. Journ. of biol. Chem. **57** (13).
- Embden G. und E. Adler. 1922. Über die physiologische Bedeutung des Wechsels des Permeabilitätszustandes von Muskelfaserngrenzschichten. Zeitschr. f. physiol. Chem. **141** (196).
- Embden G. und H. Lange. 1923. Der Eintritt von Cl-Ionen in der arbeitenden Muskel. Ibidem. **130** (350).
- Katz J. 1895. Die mineralische Bestandteile des Muskelfleisches. Arch. f. ges. Physiol. **63** (1).
- Kramer B. 1920. Direct quantitative determination of potassium and sodium in small quantities of blood. Journ. of biol. Chem. **41** (263).
- Kramer B. and F. F. Tisdall 1921. A simple method for the direct quantitative determination of sodium in small amounts of serum. Ibidem. **46** (369).
- 1921. A clinical method for the quantitative determination of potassium in small amounts of serum Ibidem. **46** (369).
- 1921. A simple technique for the determination of calcium and magnesium in small amounts of serum. Ibidem. **47** (475).
- Lock F. S. 1900. Die Wirkung der Metalle des Blutplasmas und verschiedener Zucker auf das isolirte Säugethierherz. Zentralblatt f. Physiol. **14** (670).
- Lock F. S. and B. Rosenheim 1907-08. Contribution to the physiology of the isolated heart. The consumption of dextrose by mammalian cardiac muscle. Journ. of Physiol. **36** (205).
- Michaelis L. 1914. Mikroanalyse des Zuckers im Blut. Bioch. Zeitschr. **59** (166).
- 1914. Die Wasserstoffionenkonzentration. Berlin.

- Mitchel Ph. and W. Wilson. 1922. The selective absorption of potassium by animal cells. I. Condition controlling absorption and retention of potassium. *Journ. of gen. Physiol.* **4** (45).
- Neuschlosz S. M. 1923. Über die Bedeutung der K-Ionen für den Tonus des quergestreiften Skelletmuskels. *Arch. f. ges. Physiol.* **199** (410).
- Neuschlosz S. M. und R. A. Trelles. 1924. Über die Bedeutung der K-Ionen für den Tonus des quergestreiften Skelletmuskels. II. Über die Menge und die Bindungsweise des quergestreiften Muskeln unter normalen und pathologischen Bedingungen. *Ibidem.* **204** (374)
- Neuschlosz S. M. 1925. Über die Bedeutung der K-Ionen . . . III. Die Beziehungen der Erregungscontractur zum Gehalte der Muskeln an gebundenem Kalium. *Ibidem.* **207** (27).
- 1925. Über die Bedeuuug der K-Ionen . . . IV. Die chemische Vorgänge bei Kalicontractur des isolierten Kaltblütermuskels. *Ibidem.* **207** (37).
- Simon M. 1922. Über den Einfluss der Erstickung auf der Permeabilitätszustand von Muskelfaserngrenzsichten. *Zeitschr. f. physiol. Chem.* **118** (96).
- de Waard D. J. 1919. Eine Mikrobestimmung des Calciums in Blut, Serum und anderen organischen Substanzen. *Bioch. Zeitschr.* **97** (176).
- Whitehorn J. C. 1920. A system of blood analysis. Supplement II. Simplified method for the determination of chlorides in blood or plasma. *Journ. of biol. Chem.* **45** (449).
- Zwaardemaker H. 1918. Die Bedeutung des Kaliums im Organismus. *Arch. f. ges. Physiol.* **173** (28).

The following is a list of the names of the members of the Society for the year 1914. The names are arranged in alphabetical order of their surnames. The names of the members who have died since the last meeting are marked with a dagger (†). The names of the members who have been elected since the last meeting are marked with an asterisk (*).

A. B. C. D. E. F. G. H. I. J. K. L. M. N. O. P. Q. R. S. T. U. V. W. X. Y. Z.

The names of the members who have been elected since the last meeting are marked with an asterisk (*). The names of the members who have died since the last meeting are marked with a dagger (†).

PRACE INSTYTUTU im. NENCKIEGO.
TRAVAUX DE L'INSTITUT NENCKI.

Tom IV, zesz. 2.

Z Zakładu Fizjologii.

H. TARGOŃSKI.

O przemianie azotowej zarodków ptaków.

*Contribution à l'étude du métabolisme azoté des
embryons des oiseaux.*

Rzecz zgłoszona dn. 15.III.1927.

Les produits du métabolisme azoté des oiseaux ont été étudiés par Fridericia ('12), Sznerówna ('21) et Needham ('26). Fridericia ('12) le premier a déterminé la quantité totale d'acide urique produite pendant le développement embryonnaire. Il analysait les liquides de l'amnios et de l'allantoïde réunis et employait plusieurs embryons pour ses analyses. En se basant sur les résultats obtenus, il a établi la quantité d'acide urique produite par les embryons à divers stades de leur développement. Needham ('26) a dosé l'ammoniaque, l'urée et l'acide urique dans les embryons avec leurs membranes et les liquides qu'elles contiennent. Dans le travail de Sznerówna ('21) nous trouvons pour la première fois des données sur la quantité d'azote excrété par l'embryon et accumulé dans l'allantoïde.

Notre travail a pour objet l'étude du caractère et de l'intensité du métabolisme azoté, pendant le développement embryonnaire du poulet. Nous avons analysé séparément les liquides de l'amnios et de l'allantoïde à diverses périodes du développement.

Dans le liquide de l'amnios nous avons dosé l'azote total, et pendant les périodes plus avancées du développement, l'azote protéique et non protéique. Quant au liquide de l'allantoïde, on

déterminait, dans un volume donné du liquide, la quantité d'acide urique, d'urée, d'acides aminés, de phosphore et de soufre. On calculait ensuite le rapport entre l'azote de ces composés et l'azote total du liquide. Pour le dosage de l'acide urique et du phosphore on recueillait le contenu de l'allantoïde d'un seul embryon, pour les autres analyses celui de plusieurs embryons.

Les analyses ont été exécutées d'après les méthodes des auteurs suivants: le dosage du phosphore d'après Briggs ('22), du soufre d'après Raiziss et Dubin ('14), des acides aminés d'après Van Slyke ('12), des purines — d'après Krüger et Schmid ('05): l'urée a été dosée par la méthode uréasique.

Le rapport entre la quantité de phosphore et de soufre et la quantité d'azote total dans le liquide de l'allantoïde, nous permet de tirer quelques conclusions sur la nature des composés organiques désassimilés pendant le développement. Il résulte de nos analyses, que le quotient P/N (tab. II, fig. 1) diminue pendant le développement: il comporte 0.43 le 10-ème jour et 0.12 le 18-ème, mais demeure néanmoins toujours supérieur au rapport de ces principes dans la vitelline (0.057). Par contre le quotient S/N augmente de 0.068 le 14-ème jour jusqu'à 0.11 le 17-ème. On peut conclure en conséquence, qu'outre la vitelline, des composés riches en phosphore (probablement des phosphatides) sont désassimilés au cours du développement. Dans les stades plus avancés de l'incubation, la désassimilation de composés azotés riches en soufre devient plus intense.

Les analyses du liquide de l'amnios ont donné les résultats suivants. Entre le 8-ème et le 12-ème jour du développement, les produits de la désassimilation protéique, parmi lesquels on a décelé l'ammoniaque s'amassent dans l'amnios. Comme il résulte des données numériques de la tab. III — entre le 14-ème et le 16-ème jour, la quantité totale de l'azote dans l'amnios est centuplée. En même temps de grandes quantités de protéines apparaissent dans le liquide de l'amnios: le 16-ème jour l'azote protéique comporte 96.5% de l'azote total.

Le rapport de l'azote de l'amnios à l'azote assimilé par l'embryon, d'une part, et l'azote de l'allantoïde — d'autre part,

change en conséquence complètement, comme nous le prouvent les données numériques de IV-ème tableau et le diagramme № 2.

L'analyse du liquide de l'allantoïde a donné les résultats suivants. Le 8-ème jour du développement l'azote de l'acide urique comporte 26.9% de l'azote total et sa teneur augmente progressivement pour atteindre 68.1% le 16-ème jour, après quoi elle baisse de nouveau jusqu'à 38.6% le 18-ème jour (tab. VI).

L'azote de l'urée comporte en moyenne 7.4%, l'azote des acides aminés 8% de l'azote total de l'allantoïde du 14-ème au 18-ème jour du développement (tab. VII). Ces données nous apprennent que pendant la période du développement étudié, l'azote de l'acide urique (26.9 à 68.1%) et l'azote des acides aminés et de l'urée (environ 15%) comportent ensemble 41.3% à 83.1% de l'azote total de l'allantoïde. Une partie notable de l'azote de l'allantoïde (58.% à 16.9%) appartient donc à des composés azotés inconnus.

D'après Schalagai et Kriwuscha ('14) chez l'animal adulte, l'azote des composés non déterminés comporte 7.4% de l'azote total.

Dans un intéressant travail Le Breton et Schaeffer ('23) ont constaté, que le taux des constituants du noyau de la cellule — les nucleoprotéïdes — est très élevé dans l'embryon pendant les premiers stades et baisse progressivement durant le développement.

Pour se rendre compte des relations entre les processus d'assimilation et de désassimilation, il est intéressant de calculer le rapport de l'azote des purines assimilées à l'azote de l'acide urique dans l'allantoïde. Nous nous sommes basés dans ces calculs sur nos propres données et sur les données de Sznernówna ('21) relatives à l'azote total excrété, que nous trouvons dans l'allantoïde (tab. VI). On voit que ce rapport varie fort peu pendant le développement — le 16-ème jour excepté — il comporte environ 2 (tab. VIII). Cela prouverait, que sur la quantité totale des purines formées par l'embryon au cours du développement 30% environ sont oxydées jusqu'à l'acide urique.

* * *

Wśród badań nad przemianą azotową zarodków ptaków najwięcej prac poświęcono procesom anabolicznym. Literatura,

dotycząca syntezy związków azotowych w czasie rozwoju, jest dość wyczerpująca.

Mendel i Lewenworth ('08) badali przebieg powstawania puryn i stwierdzili przyrost tych związków w miarę rozwoju. Z badań Fridericia ('12) wynika, że przyrost puryn w zarodkach kur ma miejsce tylko do 16 dnia: w dalszym okresie rozwoju ilość puryn, przypadająca na jeden zarodek, jest stała (około 16 mg. azotu).

Pozatem sprawą zasad purynowych zajmowali się Le Breton i Schaeffer ('23), lecz z zupełnie innego punktu widzenia, niż ich poprzednicy. Autorowie ci doszli do wniosku, że miarą procesów metabolicznych rozwijającego się organizmu jest „czynna masa protoplazmatyczna“, której fizjologicznym odpowiednikiem jest stosunek azotu purynowego do azotu pozostałego. Stosunek ten oznaczyli oni mianem „stosunku nukleoplazmatycznego“. Z badań ich wynika, że iloraz ten maleje w miarę rozwoju, czyli, że im zarodek jest młodszy, tem bardziej zasobny w substancje jądrowe — nukleoproteidy. Mellamby ('07) badał powstawanie kreatyny i na podstawie otrzymanych wyników twierdzi, że poczynając od 12 dnia rozwoju przyrost tego związku odbywa się prawie równolegle do przyrostu wagi zarodka. Sprawę nie tylko syntezy ale i rozpadu związków azotowych poruszyła Sznierówna ('21): wykazała ona poraz pierwszy, że stosunek azotu przyswojonego do azotu rozpadowego jest stały poczynając od 10 dnia życia zarodka i równy jest około 17. Drugim ciekawym wynikiem jej pracy jest stwierdzenie faktu, że procesy rozpadu białka odbywają się głównie kosztem dwóch frakcyj azotowych: kwasów jednoaminowych i amonjaku.

Znacznie mniej danych posiadamy odnośnie przemiany katabolicznej zarodków ptaków. Od chwili ogłoszenia cytowanej już pracy Fridericia ('12), który uważał za fakt nie ulegający wątpliwości, że kwas moczowy (około 90% całkowitego azotu) i mocznik (nieznaczne ilości) są jedynymi produktami przemiany białkowej, sprawę tę uważano za rozstrzygniętą całkowicie. Dopiero w ostatnich czasach kwestję tę poruszył znowu Needham ('26). Oznaczał on produkty metabolizmu białkowego u zarodków kur w okresie od 4 do 21 dni. Otrzymane wyniki skłoniły go do postawienia t. zw. teorii rekapitulacji,

w myśl której w stadjach początkowych rozwoju embrjonalnego przeważają procesy charakterystyczne dla zwierząt niższych. W zastosowaniu do metabolizmu białkowego oznacza to, że w stadjach początkowych wśród produktów rozpadu azotowego przeważają związki o budowie najprostszej — amonjak: w miarę rozwoju przeważają kolejno związki o budowie coraz bardziej skomplikowanej — mocznik i kwas moczowy. Wymieniony autor stwierdził, że do 4 dnia najważniejszym ilościowo produktem przemiany azotowej jest amonjak, potem do 9 dnia mocznik i wreszcie w ostatnim okresie rozwoju kwas moczowy (90 - 93%).

Jednakże zarówno wyniki Fridericia ('12), jak i Needhama ('26) nastrożają wątpliwości, a to z następujących powodów. Fridericia ('12) nie analizował oddzielnie cieczy owodni i omoczni, ponadto przy oznaczeniach kwasu moczowego posługiwał się metodą Salkowskiego ('13). Ponieważ metoda ta do oznaczeń kwasu moczowego, szczególnie w małych ilościach, zupełnie się nie nadaje (podług Le Breton i Schaeffera ('23) błąd przy oznaczeniu tą metodą dochodzi do kilkudziesięciu procentów), przeto i wnioski dotyczące ilości kwasu moczowego są wątpliwe. Również i w stosunku do niektórych wniosków Needhama ('26) możemy mieć pewne zastrzeżenia. Przypuszczenie jego, że kwas moczowy, mocznik i amonjak są jedynymi produktami rozpadu białka, nie jest odpowiednio ugruntowane. Oznaczał on bowiem tylko wymienione produkty rozpadu białka w zarodku wraz z błonami i cieczą w nich zawartą, a innych związków nie poszukiwał. Tymczasem nie jest wykluczone, że wśród produktów przemiany białkowej zarodków kur w znacznej nawet ilości występują inne związki. Według Schalagai i Kriwuscha ('14) związki azotowe nieznanego pochodzenia w moczu kur dorosłych stanowią 7.4% całkowitego azotu rozpadowego.

To krótkie zestawienie literatury dostatecznie uwypukla trudności, nastrożające się przy wysnuwaniu wniosków ogólniejszych o przemianie azotowej. Przyczyną tych trudności jest nieznanomość materiału wyjściowego przemiany azotowej oraz niedostateczna znajomość produktów tej przemiany.

Praca niniejsza została podjęta celem zbadania charakteru i intensywności procesów przemiany azotowej w czasie rozwoju embrjonalnego.

1. Metodyka.

Praca niniejsza oparta jest na analizach cieczy owodni i omoczni, zbieranych z zarodków kur w kolejnych stadiach rozwoju. Analizy cieczy owodni i omoczni przeprowadzałem oddzielnie. Otrzymywanie wymienionych cieczy odbywało się w następujący sposób. Po przecięciu omoczni w miejscu jaknajmniej unaczynionem, wsuwałem do otworu pipetę zgiętą łukowato na końcu i szybko wciągałem taką ilość płynu, jaką dało się uzyskać bez domieszki krwi, sączącej się z przeciętych naczyń. Zakrzywienie końca pipety okazało się celowe, gdyż uniemożliwia ono zatkanie jej otworu przez ścianę omoczni. Aby otrzymać ciecz owodni, usuwałem naprzód omocznę, po opłukaniu ściany owodni wodą destylowaną, przecinałem tę błonę, zlewając następnie jej zawartość przez lejek do naczynia. W cieczy owodni pojedynczych zarodków oznaczałem azot całkowity oraz w okresie końcowym rozwoju (16 dni) azot białkowy i niebiałkowy, po zadaniu kwasem trójchlorooctowym.

W celu zorientowania się w przybliżeniu, jakie związki azotowe (oprócz kwasu moczowego) znajdują się w cieczy omoczni, zadawałem ją kwasem fosforo-wolframowym i oznaczałem azot w osadzie i w przesączu oraz azot całkowity. Azot osadu oraz przesączu obliczałem w procentach azotu całkowitego. Analizy te były wykonywane (w cieczy omoczni) poczynając od 12-go dnia rozwoju, w okresie wcześniejszym bowiem ciecz ta zawiera zbyt mało azotu, aby tego rodzaju analizy mogły być wykonane. W cieczy omoczni oznaczałem prócz tego fosfor, siarkę, kwas moczowy, moczniak, aminokwasy oraz dokonałem prób jakościowych na amonjak, allantoinę, kreatyninę i kwasy oksyproteinowe. Przytem obliczenia ilości wymienionych związków były przeprowadzone w odniesieniu do azotu całkowitego omoczni.

Za pomocą prób wstępnych przekonałem się, że analizy ilościowe kwasu moczowego można wykonać (metodą podaną niżej) nie wcześniej, niż w ósmym dniu rozwoju. Obecność kwasu moczowego stwierdziłem już w 6-ym dniu wylęgu, a więc wówczas, kiedy wątroba jest już organem dobrze rozwiniętym i omocznia obrasta owodnię. Dzień 18-ty jest ostatnim, w którym jest jeszcze możliwa analiza cieczy błon płodowych. W następnym dniu ilość płynu w owodni i omoczni jest bardzo nieznaczna.

Ponieważ do całkowitej analizy na azot i kwas moczowy potrzeba około 5-ciu cm^3 cieczy, a w omoczni pojedynczego zarodka w stadiach początkowych (8 do 10 dni) znajduje się tylko 2—3 cm^3 , przeto należało do każdej analizy brać ciecz z 2—4 zarodków. W stadiach późniejszych każde oznaczenie było wykonywane w cieczy, wziętej z jednego zarodka. Ilość płynu potrzebna do pojedynczej analizy na kwas moczowy zmniejsza się mniejwięcej dwukrotnie w dwudniowych odstępach czasu: np. w 8-ym dniu potrzeba około 2.0 cm^3 cieczy, w 10-ym dniu 1—0.5 cm^3 , a w 16-ym dniu zaledwie 0.1 cm^3 . To też w miarę rozwoju należało ciecz tę odpowiednio rozcieńczać.

Kwas moczowy określany był kolorymetryczną metodą Morrisa, Luciena i Macleoda ('22), która pozwala oznaczyć 0.1 — 0.2 mg tego związku szybko i z dość dużą dokładnością. Wypróbowaną przedtem ilość cieczy, zawierającej około 0.1—0.3 mg kwasu moczowego, rozcieńczyłem 10 cm³ wody i postępując nadal, jak zaleca metoda, dodawałem 1.0 cm³ Na₂CO₃ (10%) oraz 1.0 cm³ ZnCl₂ (10%). Po wymieszaniu oddzielałem osad przez wirowanie w ciągu dwóch minut. Osad rozpuszcza się w 2—3 kroplach HCl (1:4), rozcieńcza wodą, poczem dodaje 5.0 cm³ NaCN (10%) oraz 1 cm³ odczynnika sporządzonego w sposób następujący: gotuje się 100 g Na₂WO₄ · 2 H₂O + 125 g As₂O₅ + Br w ciągu trzech

Tabela I.

№ analizy № de l'analyse	Ilość moczu <i>Quantité d'urine</i>	Dodana ilość kwasu moczowego <i>Quantité d'acide urique additionnée</i>	Ilość kwasu moczowego <i>Quantité d'acide urique</i>		Procent błędu <i>Deviation</i>
			znalezione <i>trouvée</i>	obliczone <i>calculée</i>	
	cm ³	mg	mg	mg	%
1	1,0	—	0,49	—	— 3,3
	0,5	0,2	0,43	0,445	
2	1,0	—	0,45	—	+ 0,7
	0,5	0,2	0,428	0,425	
3	0,4	—	0,222	—	+ 1,8
	0,2	0,05	0,164	0,161	
4	1,0	—	0,355	—	— 2,9
	0,5	0,1	0,269	0,277	

godzin, a po ostudzeniu dopełnia się do 1 litra. Całość uzupełnia się do 50 cm³ w kolbie miarowej. Roztwór ten o barwie intensywnie niebieskiej porównywano z roztworem wzorcowym, zawierającym 0.2 mg kwasu moczowego w 1.0 cm³.

Przed przystąpieniem do właściwych analiz sprawdziłem dokładność wymienionej metody. W tym celu oznaczałem naprzód kwas moczowy w 0.5 — 1 cm³ moczu ludzkiego. Potem brałem mniejszą ilość tegoż moczu i dodawałem do niego określoną ilość kwasu moczowego. Ilości oznaczonego w ten sposób związku wynosiły od 0.49 do 0.16 mg. Ścisłość metody ilustruje tab. I.

Jak wynika z tej tabeli, dokładność metody jest wystarczająca.

Mocznik oznaczałem metodą ureazową¹⁾. Aminokwasy oznaczałem metodą objętościową van Slyka ('10), puryny zaś w cieple zarodków metodą Krügera i Schmidta ('05), — stosując podwójne strącanie siarczanem miedzi.

¹⁾ Patrz Fränkel ('21).

Przy oznaczaniu fosforu zarówno całkowitego jak i nieorganicznego posługiwałem się kolorymetryczną metodą Briggsa ('22). Polega ona na tem, że po dodaniu do badanego roztworu, zawierającego fosfor, kolejno 2.0 cm^3 $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$ oraz po 1.0 cm^3 roztworu Na_2SO_3 i hydrochinonu powstaje intensywne niebieskie zabarwienie. Roztwór ten po rozcieńczeniu do 25 cm^3 w kolbie miarowej porównywałem w kolorymetrze z roztworem wzorcowym Na_2HPO_4 zawierającym 0.1 mg fosforu w 1.0 cm^3 . Przy oznaczaniu fosforu całkowitego naprzód odparowywałem powoli ciecz omocznia ($1.0 - 2.0 \text{ cm}^3$) w tyglu platynowym, a potem spalałem z mieszaniną utleniającą (1 cz. KNO_3 + 1 cz. Na_2CO_3). Po rozpuszczeniu stopionej masy w wodzie destylowanej, zakwaszonej 2—3 kroplami HNO_3 stęż., postępowałem podobnie jak z fosforem nieorganicznym.

W analizach na siarkę posługiwałem się miareczkową metodą Raizissa i Dubina ('14). Metoda ta oparta jest na tem, że roztwór chlorowodoru benzydnyne zadany roztworem siarczanu wytrąca siarczan benzydny. Benzydyna zaś redukuje ilościowo KMnO_4 w środowisku kwaśnym. W ten sposób drogą pośrednią z ilości zużytego KMnO_4 obliczamy ilość siarki. Ponieważ oznaczano tylko siarkę całkowitą, przeto należało ją naprzód utlenić, co uskuteczniłem, zadając badaną ciecz odczynnikiem Benedicta ($200 \text{ g Cu}(\text{NO}_3)_2 + 50 \text{ g NaCl} + 1 \text{ litr wody dest.}$); pozostałość, po odparowaniu w tyglu porcelanowym, prażono przez 2—3 min. Do analizy na siarkę potrzeba dużej ilości cieczy omocznia, najmniej 5.0 cm^3 , dlatego też wykonałem zaledwie kilka oznaczeń siarki.

2. Składniki azotowe, biorące udział w przemianie materji.

Stosunek fosforu i siarki do azotu w moczu zwierząt przy karmieniu pokarmem jednostajnym pozostaje prawie stały i odpowiada ilościowo stosunkowi wymienionych pierwiastków w białku. Oznaczając więc fosfor i siarkę i odnosząc ilości tych składników do azotu całkowitego w produktach przemiany zarodków, można w przybliżeniu wnioskować o tem, jakie związki ulegają rozpadowi w czasie rozwoju. W tym celu właśnie oznaczałem w cieczy omocznia zawartość fosforu, siarki i azotu. Wyniki ilustruje tab. II i rys. 1.

W kolumnach 9 i 11 podane są wartości dwóch ilorazów P/N i S/N . Widzimy, że stosunek fosforu całkowitego do azotu całkowitego maleje w miarę rozwoju zarodka; w 10 dniu wartość ilorazu P/N wynosi 0.43 zaś w 18 dniu tylko 0.12. W kolumnie ostatniej znajduje się stosunek S/N . Wynosi on w 14 dniu 0.067 — poczem w 18 dniu wzrasta do 0.11 czyli prawie dwukrotnie.

Ponieważ w witelinie stosunek fosforu do azotu wynosi 0.057 (w owalbuminie fosforu jest 8 razy mniej), widzimy, że

w produktach przemiany materji stosunek ten jest znacznie większy: w 10 dniu — 8-mio krotnie (0.43), a w 18 dniu — 2-u krotnie (0.12). W miarę więc rozwoju wartość tego sto-

T a b e l a II.

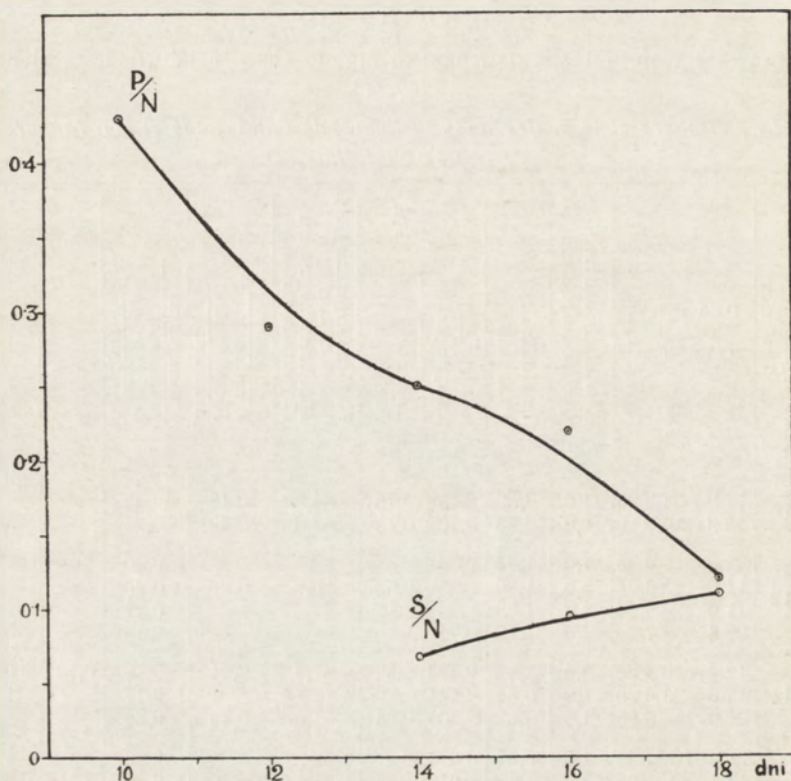
Zawartość fosforu i siarki w odniesieniu do azotu całkowitego w cieczy omocznii.

Le phosphore et le soufre dans le liquide de l'allantotide et leur rapport à l'azote total.

Dni wylęgu <i>Jour de l'incubation</i>	Data wylęgu <i>Date de l'incubation</i>	Ilość cieczy omocznii <i>Quantité de liquide analysée</i>		Azot całkowity <i>Azote total</i>		Fosfor <i>Phosphore</i>		Fosfor nieorganiczny w % fosforu całkowitego <i>Phosphore inorganique en % du phosphore total</i>	P całkowity N całkowity <i>Phosphore total Azote total</i>	P nieorganiczny N całkowity <i>P inorganique N — total</i>	Siarka <i>Soufre</i>	S/N <i>Soufre/Azote total</i>			
		cm ³	mg	mg	mg	%	mg						mg	mg	mg
10	14.9—24.9.26	1,0	0,39	0,158	0,187	84,5	0,48	0,41	—	—	—	—			
	30.8—10.9.26	1,0	0,33	0,109	0,130	83,8	0,39	0,33	—	—	—	—			
12	24.8— 5.9.26	4,0	1,85	0,366	—	—	—	0,20	—	—	—	—			
	11.6—23.6.36	5,0	1,90	0,450	0,556	80,9	0,29	0,23	—	—	—	—			
	11.6—23.6.26	3,0	1,63	0,348	—	—	—	0,21	—	—	—	—			
	26.6— 8.7.26	2,0	1,13	0,21	—	—	—	0,18	—	—	—	—			
14	12.4—26.4.26	3,0	2,41	0,461	0,528	87,3	0,21	0,19	0,162	0,067	—	—			
	11.6—25.6.26	1,0	0,83	0,141	—	—	—	0,17	—	—	—	—			
	30.9—14.10.26	1,0	0,82	0,204	0,241	84,6	0,29	0,24	—	—	—	—			
16	30.10—15.11.25	1,0	0,33	0,074	—	—	—	0,22	—	—	—	—			
	11.4—27.4.26	5,0	4,59	0,61	—	—	—	0,13	0,363	0,078	—	0,078			
	24.4—10.5.25	1,0	0,89	0,218	0,241	90,4	0,27	0,24	0,078	0,087	—	—			
	22.6— 8.7.25	1,0	1,17	0,123	0,141	87,2	0,12	0,10	0,148	0,12	—	—			
	2.9—18.9.25	1,0	1,09	0,122	—	—	—	0,11	—	—	—	—			
	2.9—18.9.25	1,0	0,95	0,196	0,248	79,0	0,26	0,20	—	—	—	—			
18	1.5—19.5.26	1,0	1,56	—	0,422	—	0,27	—	0,172	0,11	—	—			
	17.3— 3.4.26	1,0	1,31	0,108	—	—	—	0,08	0,138	0,10	—	—			
	2.9—20.9.26	1,0	1,64	0,142	0,211	67,3	0,13	0,09	—	—	—	—			
	6.3—24.3.26	3,0	3,81	0,438	—	—	—	0,11	—	—	—	—			
	6.3—24.3.26	5,0	7,59	0,73	0,92	79,3	0,12	0,09	—	—	—	—			

sunku zbliża się coraz bardziej do wartości liczbowej w wite-
linie. Wynikałoby z tego, że w czasie rozwoju zarodków kur
oprócz witelinu ulegają rozpadowi związki o znacznej zawartości

fosforu (prawdopodobnie fosfatydy), przyczem, jak to wynika z naszych analiz, te ostatnie w stadjach wcześniejszych zużywane są w większej ilości, niż w stadjach późniejszych.



Rys. 1. Wykres ilustrujący stosunek fosforu i siarki do azotu w omocni zarodków kur w różnych stadjach rozwoju.

Fig. 1. Diagramme illustrant le rapport du soufre et du phosphore à l'azote dans l'allantoïde des embryons de poules à diverses périodes du développement.

Z badań Plimmera i Scotta ('08) wynika, że około 15 dnia rozwoju wskutek osyfifikacji następuje głębokie przemieszczenie fosforu w całej zawartości jaja, mianowicie: fosfor lipoidalny ulega czterokrotnemu zmniejszeniu, zaś ilość fosforu nieorganicznego zwiększa się znacznie.

W produktach przemiany jednakże stosunek fosforu organicznego do nieorganicznego jest mniej więcej stały. W kolum-

nie 7-ej znajdujemy, że fosfor nieorganiczny stanowi w okresie 10—18 dni od 79 do 90.4% fosforu całkowitego (w jednym tylko przypadku 67.3% — w 18 dniu).

Odmienne przedstawia się stosunek siarki do azotu. Wielkość ilorazu S/N wynosi 0.067 w 14 dniu rozwoju, czyli jest prawie taka sama jak w witelinie (0.062). W okresie późniejszym następuje zwiększenie się tego stosunku do 0.11 w 18 dniu. Z tego wynika, że w okresie końcowym (około 18 dnia) ulegają rozpadowi związki o znacznej zawartości siarki (prawdopodobnie mukoid). Ponieważ w tym czasie powstaje upierzenie, więc zdawałoby się, że powinna się odbywać retencja siarki w ustroju. Tymczasem widzimy zjawisko wprost przeciwne: w miarę większego zapotrzebowania siarki przez organizm zachodzi coraz bardziej intensywne wydalanie jej.

3. Produkty przemiany azotowej.

A. *Ciecz owodni.*

Sprawa dróg wydalania produktów przemiany materji zarodków ptaków nie została dotychczas całkowicie wysświetlona. Podczas gdy jedni autorowie (np. Fridericia) są zdania, że wszystkie produkty przemiany materji gromadzą się wyłącznie w omocznici, inni, jak Aggazzotti ('13), sądzą, że około 13—14 dnia część związków wydzielanych przez nerki zbiera się w owodni.

O ile mi wiadomo, brak dotychczas jakichkolwiek danych, dotyczących istnienia połączenia anatomicznego między omocznia a owodnią. Istnieje natomiast dowód fizjologiczny, który przemawia przeciwko przypuszczeniu Aggazzottiego, mianowicie: nie udało się nikomu wykazać w cieczy owodni obecności kwasu moczowego, chociaż w cieczy omocznici związek ten występuje w okresie między 8—18 dniem rozwoju w znacznych ilościach.

W doświadczeniach niniejszych poszukiwałem w cieczy owodni produktów przemiany azotowej oraz oznaczałem stale azot całkowity, a w końcowych stadiach — azot białkowy i niebiałkowy. W okresie 8—12 dni stwierdziłem z całą pewnością obecność amonjaku (próba odczynnikiem Nesslera). Liczne

próby jakościowe na amonjak dawały zawsze wynik dodatni. Oznaczeń ilościowych tego związku zaniechałem jednak ze względu na bardzo nieznaczne jego ilości.

Wyniki szeregu oznaczeń azotu w owodni ilustruje tabela III.

W kolumnie czwartej znajdujemy, że w 10 dniu azot związków rozpuszczonych w cieczy owodni wynosi średnio 0.34 mg, poczem wzrasta stopniowo do 1.06—1.27 mg w 14 dniu. W 16

Tabela III.

Całkowita ilość azotu w cieczy owodni.

Azote total dans le liquide de l'amnios.

Dni wylęgu <i>Jour de l'incubation</i>	Data wylęgu <i>Date de l'incubation</i>	Ciężar zarodka z błonami <i>Poids de l'embryon avec membranes</i>	Azot całkowity <i>Azote total</i>	Azot białkowy <i>Azote protéique</i>	Azot niebiałkowy <i>Azote non protéique</i>
		<i>g</i>	<i>mg</i>	<i>mg</i>	<i>mg</i>
10	14.9 — 24. 9.26	—	0,35	—	—
	30.9 — 10.10.26	3,2	0,33	—	—
12	16.6 — 28. 6.26	—	0,65	—	—
	14.9 — 26. 9.26	5,5	0,97	—	—
14	30.9 — 14.10.26	—	1,06	—	—
	30.9 — 14.10.26	5,5	1,27	—	—
16	24.3 — 9. 4.26	—	116,97	112,98	3,90
	24.3 — 9. 4.26	—	75,14	72,03	3,11
	18.4 — 4. 5.26	10,5	100,71	—	—
	2.9 — 18. 9.26	13,3	120,32	—	—
	2.9 — 18. 9.26	16,2	136,84	127,94	8,9
18	2.9 — 20. 9.26	20,2	106,36	—	—
	1.5 — 19. 5.26	20,7	107,54	—	—

dniu następuje nagły przyrost azotu do 110 mg (wartość średnia z pięciu liczb podanych w tabeli). Ilość azotu w owodni utrzymuje się mniej więcej na tym poziomie do dnia 18, w którym wynosi 106.36—107.59 mg. Jest to prawie całkowicie azot białka, które ulega koagulacji pod wpływem ogrzewania lub w obecności kwasu octowego. Azot niebiałkowy występuje w ilościach nieznacznych: w 16 dniu rozwoju wynosi zaledwie 3.1—3.9 mg.

Już Preyer ('85) sądził, że gromadzący się w owodni płyn jest pobierany przez zarodek pod koniec życia embrjonalnego jako pokarm. Niedawno Urbitch ('24) dowiódł na za-

rodkach kur i królików, że ciecz owodni może być rezorbowana przez powierzchnię całego ciała. Jeśli do tego dodamy wyniki pracy Hirota ('94), który stwierdził, że poczynając od 12 dnia istnieje łączność anatomiczna pomiędzy cieczą owodni a białkiem jaja, to zdaje się nie ulegać wątpliwości, iż tą drogą poprzez owodnię zarodek odżywia się w trzecim tygodniu życia płodowego. Stąd pochodzi to nagle, stokrotne zwiększenie się ilości azotu w cieczy owodni w dniu 16 w porównaniu z dniem 14-ym.

Tabela IV.

Zawartość azotu w zarodku, omoczni i owodni.

Teneur en azote de l'embryon, de l'allantoïde et de l'amnios.

Dni wylęgu	Azot w zarodku według Sznerówny	Azot w cieczy omoczni i zarodka według Sznerówny	Azot w cieczy owodni i zarodka, według moich analiz	Stosunek: N-zarodka N-owodni	Stosunek: N-owodni N-omoczni
	<i>Azote de l'embryon d'après Sznerówna</i>	<i>Azote du liquide de l'allantoïde dans un embryon d'après Sznerówna</i>	<i>Azote de l'amnios d'après nos analyses</i>	Quotient: N-de l'embryon N-de l'amnios	Quotient: N-de l'amnios N-de l'allantoïde
<i>Jour de l'incubation</i>	mg	mg	mg		
10	17,9	1,2	0,34	52,6	0,28
12	72,9	4,2	0,81	90,0	0,2
14	89,4	5,5	1,16	77,0	0,2
16	216,4	14,1	110,0	1,9	7,0
18	315,8	23,8	106,9	2,9	4,5

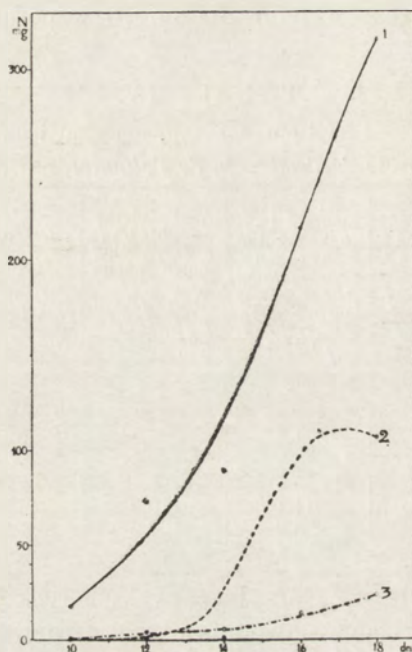
Na podstawie więc przytoczonych danych oraz moich wyników należy przyjąć, że owodnia w czasie rozwoju zarodków kur odgrywa podwójną rolę. W okresie początkowym, który trwa do 12 dnia, zbierają się w cieczy owodni w małych ilościach produkty rozpadu białka (wśród których stwierdzono obecność amonjaku). Natomiast w stadium późniejszym nagromadzone zostają znaczne ilości związków azotowych (przeważnie białka), które są pobierane przez zarodek jako pokarm.

Tabela IV zawiera liczby ilustrujące: po pierwsze — stosunek azotu cieczy owodni do azotu w płynie omoczni, oraz — po drugie, stosunek azotu, znajdującego się w całym zarodku z błonami do azotu w owodni (azot omoczni i azot zarodka według danych Sznerówny).

W kolumnie czwartej znajdujemy, że do 14 dnia azot zasymilowany w zarodku wraz z błonami przewyższa kilkadzie-

siąt razy azot nagromadzony w owodni. Między 14 i 16 dniem następuje nagle zmiana tego stosunku: w 16 dniu azot zarodka przewyższa zaledwie dwukrotnie (1.9) azot w cieczy owodni, a w 18 dniu — trzykrotnie (2.9).

Stosunek azotu owodni do azotu omoczni jest do 14 dnia prawie stały i wynosi około 0.2; poczem wzrasta do 7.0 w 16 dniu,



Rys. 2. Wykres przedstawiający zmiany zawartości azotu w zarodku wraz z błonami (krzywa № 1), w cieczy omoczni (krzywa № 3) i w cieczy owodni (krzywa № 2). Krzywe 1 i 3 zostały wykreślone według danych Sznierówny.

Fig. 2. Diagramme représentant la teneur en azote: № 1 — de l'embryon avec ses membranes; № 2 — du liquide de l'amnios; № 3 — du liquide de l'allantoïde. Les courbes № 1 et 3 sont tracées d'après les données de Sznierówna.

zmniejszając się w 18 dniu do 4.5. Z zestawienia wymienionych stosunków wynika, że około 16 dnia nie tylko bezwzględny przyrost azotu w cieczy owodni, lecz i stosunek tegoż do azotu przyswojonego w zarodku wraz z błonami oraz do azotu w cieczy omoczni dochodzi do maximum.

Szybkość nagromadzania się azotu w zarodku oraz w owodni i omoczni przedstawiają krzywe na rysunku 2. Na osi rzędnych

znajdują się ilości azotu w miligramach, zaś na osi odciętych dni wylęgu.

Widzimy, że podczas gdy ilość azotu w zarodku (krzywa № 1) oraz w omoczni (krzywa № 3) wzrasta stopniowo, azot owodni (krzywa № 2) początkowo wzrasta nieznacznie, a potem między 14—16 dniem — gwałtownie.

Przebieg wymienionych krzywych wskazuje, że do 14 dnia przyrost azotu w owodni odbywa się prawie równoległe z przy-

Tabela V.

Azot cieczy omoczni, ulegający i nieulegający strąceniu przez kwas fosforo-wolframowy.

Azote du liquide de l'allantoïde précipité et non précipité par l'acide phospho-tungstique.

Dni wylęgu <i>Jour de l'incubation</i>	Data wylęgu <i>Date de l'incubation</i>	Ilość cieczy <i>Quantité de liquide</i>	Azot całkowity <i>Azote total</i>	Azot w osadzie kwasu fosforo-wolframowego <i>Azote précipité par l'acide phospho-tungstique</i>		Azot w przesączu po strąceniu kwasem fosforo-wolframowym <i>Azote du filtrat</i>	
				mg	%	mg	%
	cm ³	mg	mg	%	mg	%	
12	24.8 — 5.9.25	4,0	1,85	0,74	40,2	—	59,8
14	18.3 — 1.4.26	15,0	12,75	6,49	51,0	6,43	50,4
16	11.4 — 27.4.26	15,0	13,77	8,97	65,1	4,81	34,9
18	22.6 — 10.7.26	5,0	5,82	2,52	43,2	—	56,8

rostem azotu w omoczni, a między 14—16 dniem azot cieczy owodni wzrasta tak szybko, jak azot przyswojony w całym zarodku z błonami.

B. Ciecz omoczni.

Jak to już zaznaczyłem we wstępie niniejszej pracy, dotychczas nie posiadamy danych, dotyczących poszczególnych produktów przemiany białkowej, nagromadzonych w cieczy omoczni zarodków kur. Skład chemiczny tej cieczy pozostaje dotychczas nieznanym. Praca niniejsza jest pierwszą próbą w tym kierunku.

Wyniki oznaczeń azotu w osadzie i przesączu po zadaniu cieczy omoczni kwasem fosforo-wolframowym ilustruje tabela V.

W dwu przypadkach analizy na azot w przesączu nie udało się, wskutek czego obliczeń tych dokonałem z różnicy między

azotem całkowitym i azotem osadu. W kolumnie 5-ej znajdują się liczby, przedstawiające zawartość azotu w osadzie, zaś w kolumnie 6-ej azot w przesączu po zadaniu kwasem fosforo-wolframowym.

Tabela VI.

Zawartość kwasu moczowego w cieczy omoczni.

Znaczenie symbolów: *NU*—azot kwasu moczowego, *NR*—azot reszty, *NT*—azot całkowity.

Teneur du liquide de l'allantoïde en acide urique.

NT—azote total, NU—azote de l'acide urique, NR—reste de l'azote

Dni wylęgu <i>Jour de l'incubation</i>	Data wylęgu <i>Date de l'incubation</i>	Ilość cieczy <i>Quantité de liquide</i>	Kwas moczowy <i>Acide urique</i>	Azot kwasu moczowego <i>Azote de l'acide urique</i>	Azot całkowity <i>Azote total</i>	$\frac{NU \times 100}{NT}$		$\frac{NR \times 100}{NT}$
						wposzczególnych oznaczeniach <i>dans les analyses particuliers</i>	średnio <i>en moyenne</i>	
		<i>cm³</i>	<i>mg</i>	<i>mg</i>	<i>mg</i>	%	%	%
8	27.6 — 5.7.25	3,5	0,78	0,26	0,94	27,6	26,9	73,1
	24.7 — 2.8.25	4,0	0,92	0,31	1,18	26,3		
10	24.7 — 3.8.25	4,0	2,34	0,75	1,82	41,0	36,8	63,2
	24.7 — 3.8.25	4,0	1,65	0,55	1,57	35,0		
	18.9 — 28.9.25	4,0	1,66	0,55	1,60	34,5		
12	16.6 — 28.6.25	5,0	2,62	0,87	2,40	43,3	43,5	56,5
	16.6 — 28.6.25	4,0	2,29	0,73	1,75	41,7		
	24.8 — 5.9.25	4,0	2,59	0,84	1,85	45,4		
14	16.6 — 30.6.25	2,0	1,71	0,57	1,16	49,6	50,0	50,0
	16.6 — 30.6.25	1,0	0,62	0,28	0,41	50,4		
16	18.4 — 4.5.25	2,0	2,82	0,94	1,41	66,5	68,1	31,9
	16.6 — 2.7.25	2,0	3,63	1,22	1,81	67,4		
	16.6 — 2.7.25	2,0	2,88	0,96	1,33	70,5		
18	27.6 — 15.7. 5	1,0	1,57	0,52	1,40	37,5	38,6	61,4
	27.6 — 15.7.25	1,0	2,82	0,94	2,25	40,8		
	27.6 — 15.7.25	1,0	2,40	0,80	2,15	36,7		

Widzimy, że azot osadu stanowi w 12 dniu — 40.2%, w 14 dniu — 51%, w 16 dniu — 65.1% a wreszcie w 18 dniu 43.2% azotu rozpadowego.

Z tego wynika, że do 16 dnia procentowa zawartość związków azotowych, ulegających strąceniu przez kwas fosforo-wol-

framowy, (zasady purynowe, kwasy dwuaminowe i kreatynina), wzrasta, potem zaś — maleje.

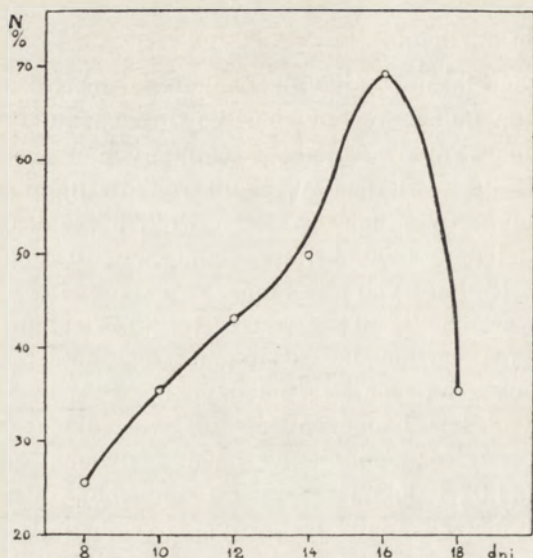
Celem stwierdzenia, które z wymienionych związków znajdują się w osadzie kwasu fosforo-wolframowego, przeprowadziłem szereg oznaczeń azotu całkowitego i kwasu moczowego w omoczni. Wyniki tych analiz, podane w tabeli VI, dają ponadto wyjaśnienie sprawy produkcji kwasu moczowego w różnych stadiach rozwoju embrjonalnego.

W przedostatniej kolumnie podane są ilości kwasu moczowego, obliczonego w procentach całkowitego azotu rozpadowego. Na podstawie wyników analiz, wykonanych w poszczególnych stadiach rozwoju, stwierdzamy, że u zarodków 8-dniowych w jednym przypadku kwas moczowy stanowi 27.6%, w drugim 26.3% — odchylenie między temi oznaczeniami wynosi zaledwie 1.3%. U zarodków 18-dniowych kwas moczowy stanowi w jednym przypadku 37.5%, w drugim 40.8%, w trzecim 36.7% całkowitego azotu. Największa różnica między drugą i trzecią wartością wynosi 4.1%. W tych granicach, t. j. między 1.3—4.1%, wahają się wartości pojedynczych oznaczeń również w stadiach 16 i 14 dni. Największą różnicę znajdujemy między dwoma oznaczeniami w 10 dniu (41.0% i 34.5%) — wynosi ona 6.5%. Zgodność wyników pojedynczych analiz w każdym okresie jest dostateczna, szczególnie jeśli weźmiemy pod uwagę znany fakt, że różnice w rozwoju zarodków pochodzących z jaj, które się znajdowały w zupełnie identycznych warunkach, dochodzą do 2 dni.

W kolumnie następniej podano obliczenie przeciętnej zawartości procentowej kwasu moczowego w poszczególnych okresach rozwoju. Znajdujemy tam, że w stadium 8 dni azot kwasu moczowego stanowi 26.9% całkowitego azotu omoczni. W miarę rozwoju kwas moczowy wzrasta procentowo: w 10 dniu stanowi 36.8%, w 12 dniu — 43.5%, w 14 dniu 50.0%, wreszcie po 16 dniach dochodzi do 68.1% całkowitego azotu. Potem następuje gwałtowne obniżenie się procentowej zawartości kwasu moczowego w cieczy omoczni. W 18 dniu stanowi on już tylko 38.6% całkowitego azotu, a więc wartość zbliżoną do stadium 10 dni.

Procentowy przyrost kwasu moczowego w omoczni ilustruje krzywa na rys. 3.

W produkcji kwasu moczowego zarodków kur należy zatem rozróżnić dwa okresy: pierwszy od 8 do 16 dnia, kiedy odbywa się stałe zwiększanie się procentowej zawartości azotu kwasu moczowego, obliczonej w stosunku do całkowitego azotu rozpaadowego. Przyrost ten wynosi od 26.9 do 68.1%. Następnie drugi okres, między 16—19 dniem, w którym zachodzą głębokie zmiany



Rys. 3. Krzywa zawartości procentowej azotu kwasu moczowego w cieczy omocznii w różnych stadiach rozwoju kurczęcia.

Fig. 3. Liquide de l'allantoïde: azote de l'acide urique (en % de l'azote total) au cours du développement.

w stosunku składników cieczy omocznii. Rezultatem tych zmian jest obniżenie się procentowej zawartości kwasu moczowego do 38.6%.

Jeśli teraz zestawimy dane, dotyczące azotu kwasu moczowego (tab. 6), z azotem, ulegającym strąceniu przez kwas fosforo-wolframowy (tab. VI), to stwierdzimy znaczną zgodność.

dzień	N — kwasu moczowego %	N — w osadzie kwasu fosforo-wolframowego %
12	43.5	40.2
14	50.0	51.0
16	68.1	65.1
18	38.6	43.2

Z zestawienia tego wynika, że związkami azotowymi, ulegającym strąceniu przez kwas fosforo-wolframowy w cieczy omoczni, jest głównie kwas moczowy.

W celu stwierdzenia, jakie, prócz kwasu moczowego, związki azotowe znajdują się w cieczy omoczni, poszukiwałem związków, które pozostają w przesączu po zadaniu kwasem fosforo-wolframowym. Nie zdołałem stwierdzić w płynie omoczni allantoiny ani kreatyny, dokonałem tylko oznaczeń ilościowych mocznika i aminokwasów w okresie 14—18 dni.

T a b e l a VII.

Zawartość mocznika w cieczy omoczni wyrażona w % azotu całkowitego.
Azote de l'urée en % de l'azote total dans le liquide de l'allantoide.

Dni wylęgu <i>Jour de l'incubation</i>	Data wylęgu <i>Date de l'incubation</i>	Ilość cieczy <i>Quantité de liquide</i>	Azot całkowity <i>Azote total</i>		Azot mocznika <i>Azote de l'urée</i>	
			<i>cm³</i>	<i>mg</i>	<i>mg</i>	<i>%</i>
14	11.6—25.6.26	5,0	3,75	0,28	7,7	
14	11.6—25.6.26	5,0	4,17	0,25	6,2	
16	1.5—20.5.26	10,0	10,73	0,56	5,2	
16	6.5—21.5.26	5,0	6,56	0,55	8,4	
18	9.6—27.6.26	5,0	9,51	0,68	7,1	
18	11.6—29.6.26	5,0	5,10	0,43	8,5	
18	22.6—10.7.26	5,0	11,82	1,05	8,8	

Jak wynika z tabeli VII, wahania między pojedynczemi oznaczeniami, odnoszącemi się do jednego okresu, są dość duże: np. w 14 dniu azot mocznika stanowi 7.7% — 6.2% azotu całkowitego, w 16 dniu od 5.2% do 8.4%, a w 18 dniu 7.1% — 8.8%. Znacznie mniejsze odchylenia otrzymamy, porównyując różne okresy. Wypadnie wtedy, że procentowa zawartość mocznika w stosunku do azotu całkowitego zmienia się nieznacznie i wynosi około 7.4%.

Analogiczne rezultaty otrzymałem, oznaczając aminokwasy. Jako średnią kilku analiz, wykonanych w tych samych stadjach co i mocznik, otrzymałem wartość równą około 8% całkowitego azotu. (W pięciu wykonanych analizach otrzymałem następujące liczby: 8% — w 14 dniu, 6% — w 16 dniu i w 18 dniu — 11.7%, 5.8%, 8.4%).

Pozatem znajdowałem w nieznacznych ilościach amonjak; natomiast allantoiny i kwasów oksyproteinowych nie zdołałem wykryć.

Jeżeli weźmiemy pod uwagę wyniki pracy Needhama ('26) i porównamy z naszymi, to stwierdzimy pozorną zgodność liczbową (mocznik stanowi 7.4% azotu całkowitego). Jednakże należy pamiętać o tem, że azot całkowity w obliczeniach Needhama ('26), jak to będzie wyjaśnione poniżej, jest wartością hipotetyczną. Wobec tego wyniki te należy uważać tylko za zbliżone. Natomiast zupełnie odmiennie wypadają wnioski odnośnie kwasu moczowego.

Według Needhama ('26) między 8 i 19 dniem rozwoju azot kwasu moczowego stanowi stale 90.7%—93.2%. Z moich zaś doświadczeń wynika, że wartość ta wzrasta od 26.9% w 8 dniu do 68.1% w 16 dniu, wreszcie w 18 dniu spada do 38.6%. Rozbieżność tę możnaby, zdaniem mojem, wytłumaczyć w sposób następujący. Dane Needhama ('26) dotyczą całkowitej ilości kwasu moczowego w zarodku, obejmują również pewną ilość tego związku, znajdującą się i w narządach, biorących czynny udział w syntezie kwasu moczowego. Pozatem obliczenia procentowe azotu kwasu moczowego były wykonane przez wymienionego autora w założeniu, że mocznik, amonjak i kwas moczowy są jedynymi produktami przemiany białkowej. Tymczasem, jak to wynika z moich analiz (tab. VI), występuje tam jeszcze reszta azotowa, na którą składają się oprócz amonjaku, mocznika i aminokwasów nieznanne związki azotowe.

Ta reszta azotowa stanowi w okresie 8—12 dni najważniejszy ilościowo składnik cieczy omoczni. Azot tej reszty w okresie 8—18 dni wynosi 73.1%—31.9% całkowitego azotu omoczni. Ponieważ na mocznik i aminokwasy przypada z tego w sumie około 15%, przeto pozostaje nadal od 16.9% do 58.1% azotu niewiadomego pochodzenia.

Jak wspominałem już we wstępie, w moczu kur dorosłych według Schalagai i Kriwuscha ('14) związki azotowe nieznanne stanowią 7.4% azotu wydalanego. Ciekawem jest, czy te nieznanne związki u zarodków i ptaków dorosłych są identyczne?

4. Stosunek przemiany purynowej anabolicznej do katabolicznej.

Z badań Sznerówny ('21) wynika, że intensywność procesów syntezy i rozpadu związków azotowych jest w okresie 10—18 dni stała.

W stadjach wcześniejszych według *Needhama* ('26) procesy pierwszego rodzaju przewyższają wielokrotnie procesy rozpadu. Stan równowagi utrwała się około 10 dnia.

W celu przekonania się, w jakim stosunku pozostają względem siebie natężenia procesów anabolicznych do rozpadowych w okresie rozwoju embrjonalnego, porównywałem ilości związków purynowych, znajdujących się w zarodku wraz z błonami, z kwa-

T a b e l a VIII.

Stosunek azotu puryn anabolicznych (*NPA*) i katabolicznych (*NPK*).
Rapport entre l'azote des purines anaboliques (NPA) et l'azote des purines cataboliques (NPK).

Dni wylęgu <i>Jour de l'incuba- tion</i>	Cieężar zarodka z błonami <i>Poids de l'embryon avec membranes</i>	Azot w cieczy omoczni według <i>Sznerówny</i> <i>Azote du liquide de l'allanto- ide (d'après Sznerówna</i>	Azot kwasu moczowego w cieczy omoczni <i>Azote d l'acide urique dans le liquide de l'allantoide</i>	Azot kwasu moczowego omocz- ni przeliczony na 1 g zarodka <i>Azote de l'acide urique dans le liquide de l'allantoide cal- culé pour 1 gr. de poids de l'embryon</i>	Azot purynowy na 1 g wagi zarodków <i>Azote des purines par 1 gr. de poids de l'embryon</i>	Stosunek <i>NPA</i> <i>NPK</i>
	<i>g</i>	<i>mg</i>	<i>mg</i>	<i>mg</i>	<i>mg</i>	<i>Rapport</i> <i>NPA</i> <i>NPK</i>
10	1,75	1,2	0,44	0,28	0,65	2,3
12	6,18	4,2	1,83	0,29	0,69	2,4
14	6,98	5,5	2,75	0,39	0,72	1,8
16	12,32	14,1	9,60	0,78	0,77	1,0
18	20,59	23,8	9,18	0,44	0,85	1,9

sem moczowym omoczni. W tabeli VIII podana jest ilość azotu purynowego na 1 g wagi żywej zarodka (wartość średnia 2—3 analiz). Azot puryn katabolicznych, t. j. kwasu moczowego, obliczałem w następujący sposób. Posiłkując się danymi pracy *Sznerówny* ('21), która podaje bezwzględne ilości azotu w omoczni, i opierając się na wynikach własnych analiz (tab. VI), obliczałem azot kwasu moczowego w omoczni pojedynczego zarodka—poczem przeliczałem na 1 g wagi żywej.

W kolumnie ostatniej tabeli VIII znajdujemy, że stosunek azotu przemiany purynowej anabolicznej do azotu kwasu moczowego jest prawie stały i wynosi przeciętnie 2. Wyjątek stanowi znów 16 dzień, w którym wartość jego równa jest 1.

Z tego wynika, że przeciętnie dwie trzecie powstających w ustroju związków purynowych zostaje zużyte na syntezę nukleoproteidów, pozostała zaś jedna trzecia — ulega utlenieniu na kwas moczowy. Tylko w 16 dniu natężenie przemiany purynowej katabolicznej i anabolicznej jest jednakowe. Proces utleniania puryn na kwas moczowy osiąga maximum w 16 dniu rozwoju.

5. Wnioski.

1. W okresie między 10 a 18 dniem rozwoju oprócz witelinu ulegają rozpadowi związki o dużej zawartości fosforu — prawdopodobnie fosfatydy; w stadjach późniejszych (18 dni) zużywane są związki bogate w siarkę. Wynika to z porównania stosunku fosforu i siarki do azotu w cieczy omoczni, analizowanej w kolejnych stadjach rozwoju.

2. W stadjach początkowych (8—12 dni) gromadzą się w cieczy owodni produkty rozpadu azotowego, z pośród których stwierdzono obecność amonjaku. W okresie późniejszym zbierają się w tej cieczy znaczne ilości azotu, przeważnie białkowego. Zawartość azotu w płynie owodni wzrasta w 16 dniu stokrotnie w porównaniu z dniem 14-m.

3. Przebieg przemiany azotowej zarodków różni się znacznie od tejże zwierząt dorosłych. Kwas moczowy nie jest najważniejszym ilościowo produktem metabolizmu białkowego w okresie między 8—18 dniem rozwoju: tylko w stadjum 14—16 dni stanowi 50%—68% całkowitego azotu rozpadowego.

4. Zarówno w stadjach wcześniejszych (8—12 dni), jak i końcowych (18 dni), nieznaną resztą azotową stanowi 41.5%—58.1% azotu omoczni.

5. Amonjak w nieznacznych ilościach występuje zarówno w owodni jak i omoczni.

6. Mocznik oraz aminokwasy znajdują się w omoczni w okresie 14—18 dni w ilościach stałych: mocznik stanowi 7.4%, zaś aminokwasy—około 8% całkowitego azotu.

7. Stosunek azotu puryn zsyntetyzowanych w ustroju do azotu kwasu moczowego w omoczni jest prawie stały i wynosi przeciętnie 2 (z wyjątkiem 16 dnia).

9. Zarówno z badań Fridericia ('12) jak i Murraya ('26) wynika, że okres 16—17 dni w charakterze przemiany azotowej zarodka jest krytyczny. Gwałtowny przyrost azotu w owodni, procentowa zawartość kwasu moczowego w omocznii w tym czasie oraz stosunek przemiany purynowej anabolicznej do katabolicznej wniosek ten potwierdzają.

Już po ukończeniu niniejszych poszukiwań i rękopisu miałem możność zaznajomienia się z pracą C. Fiskego [Journ. of biol. Chem. 70 (533) 1926], dotyczącą również przemiany azotowej zarodków ptaków. Wymieniony autor oznaczał zawartość poszczególnych związków azotowych w cieczy omocznii oraz azot całkowity w owodni w stadjach od 4 do 14 dnia rozwoju.

Fiske stwierdza również, zgodnie z mojami wynikami, procentowy przyrost kwasu moczowego w stosunku do azotu całkowitego w cieczy omocznii (przyrost ten wynosi od 7% w 4 dniu do 70% w 11 dniu rozwoju). W tejże cieczy wymieniony autor znajduje kreatyninę, której obecności nie udało nam się ustalić. W płynie owodni stwierdza on również znaczny przyrost azotu, najintensywniejszy w 13 dniu rozwoju.

PIŚMIENICTWO.

- Aggazzotti A. 1913. L'influence de l'air raréfié sur l'ontogenèse. Arch. Ital. de Biol. 59 (287).
- Le Breton E. et G. Schaeffer. 1923. Variations biochimiques du rapport nucléoplasmique. Paris.
- Briggs A. P. 1922. A modification on the Bell-Doisy phosphate methode. Journ. of biol. Chem. 53 (13).
- Fridericia L. S. 1912. Untersuchungen über die Harnsäureproduktion und die Nucleoproteidenbildung beim Hühnerembryo. Skand. Arch. f. Physiol. 26 (1).
- Hirota 1894. Journ. Coll. Sci. J. U. Japan 6. 4. Praca cytowana według Needhama. The metabolism of the developping egg. Physiol. Reviews 5. N 1 (18) 1925.
- Krüger und Schmid. 1905. Purinbasenbestimmung. Zeitschr. f. physiol. Chemie. 45 (1).

- Mellamby. 1908. Creatin and creatinin. *Journ. of Physiol.* **36** (447).
- Mendel L. B. and C. S. Lewenworth 1908. Changes in the purine-pentose and cholesterol content of the developping egg. *Amer. Journ. of Physiol.* **21** (77).
- Morris J. L. and A. G. Macleod. 1922. New method for the determination of uric acid and evidence as to its dimorphism. *Journ. of biol. Chem.* **50** (55).
- Murray H. A. 1926. The concentration of the organic constituents and the calorific value as functions of age. *Journ. of gener. Physiol.* **9** (1).
- Needham J. 1926. The energy sources in ontogenesis: 1. The urea content of the developping avian egg. *British Journ. of exp. Biol.* **3** (189).
- The energy sources in ontogenesis: The uric acid content and the general protein metabolism of the developping avian egg. *British Journ. of exper. Biol.* **4** № 2 (114).
 - The ammonia content of the developping avian egg and the theory of recapitulation. *British Journ. of exper. Biol.* **4** № 2 (145).
- Plimmer R. H. A. and F. H. Scott 1909. The transformation in the phosphorus compounds in the hen's egg during development. *Journ. of Physiol.* **38** (247).
- Preyer W. 1885. *Spezielle Physiologie des Embryo.* Leipzig.
- Raiziss G. W and H. Dubin. 1914. An volumetric method of sulphur determination. *Journ. of biol. Chem.* **18** (297).
- Salkowski. 1913 *Quantitative Bestimmung der Purinbasen. Analyse des Harns.* Neubauer-Huppert. **2** (979).
- Schalagai K. und A. Kriwuscha. 1914. Untersuchungen über die chemische Zusammensetzung und die physikalischen Eigenschaften des Enten—und Hühnerharns. *Bioch. Zeitschr.* **66** (122).
- Sznerówna E. 1921. O przyswajaniu i rozpadzie białka w rozwoju kurczęcia. *Prace Instytutu im. M. Nenckiego.* **1** № 3. (Recherches sur l'assimilation et la désassimilation des protéines pendant le développement du poulet. *Travaux de l'Institut Nencki.* **1** № 3).
- Van Slyke Donald D. 1912. The quantitative determination of aliphatic amino-groups. *Journ. of biol. Chem.* **12** (275).
- Urbitch S. 1924. Sur l'absorption du liquide amniotique par l'embryon. *Cpt. Rend. des Séances de la Soc. de Biol.* **91** № 26 (604).
- Fränkel S. 1921. Harnstoffbestimmung nach der Urease-methode. *Praktikum der medizinischen Chemie.* (330).

**PRACE INSTYTUTU im. NENCKIEGO.
TRAVAUX DE L'INSTITUT NENCKI.**

Tom IV, zesz. 2.

Laboratoire de Biologie Générale.

Z zakładu Biologii Ogólnej.

S. RAZWIŁOWSKA.

Le sens et la mémoire des dimensions d'un objet chez les Anoures. Types du comportement individuels. Coëxistence des plusieurs processus d'association indépendant l'un de l'autre. (L'expérience optique des Batraciens — III-e mémoire).

Zmysł i pamięć wymiarów przedmiotu u żab. Typy reagowania osobnicze. Wspólbytność kilku procesów skojarzeniowych niezależnych od siebie. (Doświadczenie wzrokowe płazów. Część III).

Rzecz zgłoszona dnia 23.III 1927

Une partie de mes expériences a été faite à l'aide de la méthode du couple fixe des figures (voir R. Minkiewicz 1913 et 1926), une autre — à l'aide d'une seule figure, sur laquelle l'animal était alimenté avant d'être essayé sur un couple des figures, dont la figure employée jusque-là faisait partie nécessaire (Fig. 2 et 3, page 9).

Les quatres figures employées (en bristol) mesuraient 1 cm^2 , $2\frac{1}{2}\text{ cm}^2$, 4 cm^2 et 9 cm^2 (Fig. 1 page 8), et avaient été présentées aux anoures en combinaisons variées, ce qu'on peut voir sur le tableau synoptique I, colonnes V, VI et XII (page 11).

Comme espèces d'anoures, nous avons eu *Rana temporaria* L., *R. esculenta* L. et *Bombinator igneus* Laur. Comme appât et nourriture — les Blattes (*Phyllodromia germanica*).

Les expériences ont duré quinze mois, en deux séries, dont la première, concernant 17 individus, nous a pris janvier-juillet 1920, la seconde, concernant 19 spécimens, nous a pris septembre—avril suivants.

Les principales conclusions que l'on peut tirer de ces expériences, sont les suivantes:

1. Les batraciens appartenant aux dites espèces voient et distinguent bien les dimensions (planimétriques) des petits objets inertes qui leur sont embiontiquement étrangers (morceaux de bristol), au moins dans les limites des différences de surface étudiées, à savoir: $1\text{cm}^2 - 9\text{cm}^2$, $1\text{cm}^2 - 4\text{cm}^2$, $4\text{cm}^2 - 9\text{cm}^2$ et même $1\text{cm}^2 - 2\frac{1}{2}\text{cm}^2$ et $2\frac{1}{2}\text{cm}^2 - 4\text{cm}^2$.

2. Dans ces limites des dimensions, les batraciens sont capables de contracter des habitudes différenciées visant les dimensions d'objet voulues¹⁾ (les autres facteurs optiques éliminés, bien entendu). Ces habitudes consistent en ce que l'animal forme des associations durables d'une série de ses réactions motrices avec les dimensions d'objet déterminées. Parmi ces réactions motrices, les unes englobent l'appareil moteur du corps (approchement, sauts), les autres — les appareils partiels de la fonction alimentaire (tirs de langue, mouvements des mâchoires) ou de la fonction visuelle (tournement des yeux).

L'habitude différenciée une fois établie, il suffit d'une fixation visuelle de l'objet des dimensions déterminées afin que soit déclenché toute la série précitée des actes moteurs de l'animal, ou au moins une partie de cette série (mouvements d'yeux et de langue, ou bien de langue seule), en rapport direct avec les circonstances topographiques (distance

¹⁾ (On pourrait appeler ces habitudes — des habitudes métrotropiques ou bien, si l'on voudrait préciser ce qu'elles se rapportent aux dimensions d'un objet vu et non pas à sa distance, — des habitudes ikonométrotropiques. Pour les habitudes ikonotropiques, visant la forme de l'objet, voir le travail de Salomé Biederman, 1927. — R. M.)

de l'objet, position de l'animal etc.). La présence simultanée d'autres objets semblables, ne différant que par leurs dimensions, n'a aucune valeur provocatrice manifeste.

3. Dans les limites d'une seule espèce d'anoures, il se révèle des différences individuelles considérables, non seulement dans la vitesse d'établissement d'une habitude différenciée, mais aussi dans la marche de l'établissement (dans les caractéristiques du processus d'établissement), et ceci malgré l'identité des conditions (tables II et III, page 14).

a) En ce qui concerne ces caractéristiques, nous avons pu distinguer jusqu'à présent quatre (4) types d'individus (voir table I, colonne IX):

le type *A*, où l'habitude différenciée s'établit d'emblée (une période des réactions positives stable, dès le commencement d'essais,—graphique de la fig. 4, page 12);

le type *B*, où l'habitude se différencie peu à peu, après une certaine période des réactions mixtes (+—) (graphique de la fig. 5, page 12);

le type *C*, où la période des réactions mixtes (+—) ne finit jamais, et l'habitude différenciée ne se manifeste point (je ne dis pas, que l'association différenciée ne s'y aie été formée, — graphique de la fig. 6, page 13);

le type *D*, ne voulant pas réagir du tout aux essais (en absence de blattes), bien que mangeant constamment.

b) En ce qui concerne la vitesse d'établissement d'une habitude différenciée (c'est-à-dire, la faculté d'association de l'animal), les différences individuelles, dans les conditions d'expérience strictement identiques, se révèlent énormes. Il y a des cas, où l'habitude différenciée se trouve parfaitement établie après huit ou neuf (8—9) répétitions à peine, espacées de l'intervalle de 24 heures (Bombinator 34). Mais, il y a d'autres individus, où aucune trace d'habitude ne se soit manifestée après 90 et même 114 jours et plus (*Bombinator* 14,6; *Ranae esculentae* 29,30. Tabl. III, page 14).

NB. Les caractéristiques du processus d'établissement d'une habitude différenciée ne sont nullement déterminées par l'appétit plus ou moins bon de l'animal, ainsi que le démontrent, d'une façon des plus convaincants, nos graphiques des fig. 7, 8 et 9 (page 15).

4. Ce qui nous semble intéressant à noter, c'est que d'une part, l'augmentation de l'intervalle entre les expériences successives d'alimentation (et d'essai, évidemment, aussi) jusqu'à trois (3) et même jusqu' à cinq (5) jours, n'empêche pas l'établissement de l'habitude et n'augmente pas (en moyenne) le temps nécessaire absolu (voir Tabl. I, *Bombinateurs* 9 et 20, et graphiques des fig. 14 et 15, page 20); d'autre part, la diminution de l'intervalle (deux expériences par jour) ne semble pas diminuer sensiblement le temps nécessaire, à ce que le nombre trop petit d'expériences y relatives nous le permet d'inférer (*R. temporariae* 21 et 22, comparées aux 24 et 25).

5. Les réactions associées une fois établies, leur déclanchement se produit d'une manière si irrésistiblement mécanique, qu'elles arrivent parfois à dominer les tendances instinctives naturelles qui leur avaient servi de point de départ, ce qui leur donne alors un caractère franchement distéléologique (l'animal se jetant, par ex., lors de l'alimentation, sur la figure des dimensions associées, en dépit de la présence d'un blatte vivant sur l'autre figure du couple).

6. En rapport direct avec notre méthode d'essais journaliers sur un couple des figures fixe¹⁾, la période des réactions positives (+) passe ultérieurement, de manière spontanée, à celle des réactions mixtes (+ -), ce qui semble témoigner, apparemment, de la disparition de l'habitude différenciée. Mais ce n'est qu'apparence, la dite habitude pouvant y être révélée instantanément à l'aide d'une simple introduction d'une figure étrangère quelconque (soit plus grande soit plus petite soit, enfin, de forme différente) à la place de la figure „accessoire“ du couple habituel (voir les graphiques de nos fig. 10 et 11, pages 17 et 19).

1) Je dis: „d'essais“, et non pas „d'alimentation“, car entre les deux méthodes d'alimentation employées (celle sur une figure choisie et celle sur un couple des figures) nous n'avons pu constater aucune différence appréciable, ni quant au temps et mode d'établissement d'une habitude différenciée, ni quant à sa stabilité. (Par cette application d'essais journaliers, ou même faits deux fois par jour, le présent travail se distingue de celui de S. Biederman, qui ne les faisait, en général, que de temps en temps. — R. M.).

Ce qui détermine ce phénomène de disparition apparente d'une habitude différenciée, c'est qu' à côté de l'association voulue se forme simultanément une autre, inattendue de l'expérimentateur (donc parasite, de son point de vue), visant la figure „accessoire“ du couple et masquant, par conséquent, la différenciation de l'habitude.

Ces deux processus d'association coexistent dans le système nerveux de l'anoure, s'y établissant et y subsistant des changements chacun pour sa part, tout indépendamment l'un de l'autre (voir nos graphiques y relatifs, fig. 11, 12 et 13, page 19).

7. Le nombre de ces processus associationnels coexistants n'est pas, chez les anoures, limité aux deux, à ce qu'on peut conclure d'après certaines de nos expériences et de nos observations accessoires. Et ils ne touchent pas, non plus, les dimensions seules, ni même les facteurs optiques seuls (forme des figures, l'appareil en fil de fer etc.), mais aussi bien d'autres facteurs qui, accidentalement, entraînent en jeu lors des expériences (l'attouchement de l'animal avec une baguette en verre, le tintement de „l'appareil“ qu'on accrochait à la paroi de l'aquarium etc.).

On trouvera les preuves nécessaires de toutes nos conclusions, en lisant attentivement nos graphiques, figures et tables, insérées dans le texte polonais et dont voici la légende:

Tabl. I (page 11). Tableau synoptique de l'ensemble des données individuelles se rapportant aux 36 anoures. Chacune de 13 colonnes verticales porte son „en-tête“ en deux langues, dont une française. Il ne me reste donc que deux petites explications à ajouter: 1^o, la colonne III énumère 23 spécimens alimentés sur le demi-appareil (de la fig. 3) à une seule figure en bristol, et 13 spécimens alimentés sur l'appareil ordinaire, à couple des figures (fig. 2); 2^o, la colonne IV spécifie la fréquence d'alimentation, c'est-à-dire, la valeur de l'intervalle qui sépare les deux alimentations successives ($\frac{1}{1}$ —une fois par jour, $\frac{1}{3}$ —tous les trois jours, $\frac{1}{5}$ —tous les cinq jours, $\frac{2}{1}$ —deux fois par jour).

Tabl. II. (page 14). Un fragment de la table précédente, destiné à montrer l'indépendance foncière du type réactionnel, des conditions extrinsèques. En l'espèce: deux spécimens de *Rana temporaria* réagissant l'un selon le type A, l'autre selon le type B, malgré l'identité des conditions.

Tabl. III (page 14). Un autre fragment de la table II, montrant la différence du résultat final, en dépit de l'identité des conditions.

Tabl. IV (page 18). Disposition de l'expérience à plusieurs périodes des changements successifs de la figure accessoire, correspondant au graphique de la fig. 11. La table porte toutes les données en deux langues.

Fig. 1 (page 8). Quatre carrés en bristol, employés dans la présente série d'expériences. Grandeur naturelle: 1 cm², 2¹/₂ cm², 4 cm², 9 cm².

Fig. 2 (page 9). L'appareil ordinaire en fil de fer doux, à crochet flexible pour l'élimination du „facteur topographique“ dans la méthode du „couple des figures“. Figure „fondamentale“ (+) plus petite. Figure „accessoire“ (—) plus grande.

Fig. 3 (page 9). L'appareil spécial, pour l'alimentation sur la figure choisie seule. (Les essais, évidemment, sur un couple des figures, dont la figure choisie constituera le chaînon positif).

Fig. 4 (page 12). *Rana temporaria* № 21. Type réactionnel A. Dès le premier essai, les réactions positives seules (+). L'échelle au milieu du graphique marque les intervalles entre les réactions qui ont eu lieu tantôt une fois, tantôt deux fois par jour. En conséquence, au laps d'un jour y correspond soit un simple, soit un double fragment. Les nombres à l'intérieur des carrés indiquent leurs dimensions en cm².

Fig. 5 (page 12). *Rana temporaria* № 23. Type réactionnel B. Au commencement, les réactions mixtes (+ —), ensuite les positives (+). Entre les parenthèses, sur l'échelle des intervalles, un relâche d'essais, de quelques jours. Le reste, comme sur le graphique précédent.

Fig. 6 (page 13). *Rana temporaria*. Type réactionnel C. Graphique „condensé“, sans intervalles réels.

Fig. 7 (page 15). *Bombinator igneus* № 19. Graphiques parallèles de l'appétit (pointillé.....) et des réactions (trait uni—) En haut, sont marquées les réactions positives (+) et négatives (—), également. En bas, les zéros (0). Un seul zéro (manque de réaction) chez l'individu représenté qui non seulement mange toujours, mais réagit toujours.

Fig. 8 (page 15). *Bombinator igneus* № 6. Graphiques parallèles de l'appétit (....) et des réactions (—). Les essais n'ont été commencés qu'après la stabilisation de l'appétit. Néanmoins, l'animal ne montra nulle réaction, ni positive ni négative (rien que des zéros).

Fig. 9. (page 15) *Bombinator igneus* № 1. Graphiques parallèles de l'appétit (.....) et des réactions (—). Très instructifs, en matière de l'indépendance du type réactionnel de l'appétit. I-e période:

appétit excellent, réactions intermittentes, plutôt nulles. II-e période: nul appétit, nulle réaction. III-e période: appétit normal, réactions presque nulles.

Fig. 10 (page 17). *Rana temporaria* № 21. Graphique des deux phases de l'expérience. I-e phase (trait continu) — une période positive (+) est suivie d'une période des réactions mixtes (+ —): disparition apparente de l'habitude différenciée. II-e phase (pointillé) — le simple changement de la figure accessoire (—) révèle l'habitude première dans toute sa force stable.

Fig. 11 (page 19). *Rana temporaria* № 25. Graphique des quatre phases de l'expérience. I-e phase (trait continu) — l'habitude, un temps assez bien différenciée, cesse de l'être (apparemment, au moins). II-e phase (pointillé) — changement de la figure accessoire la révèle stable. III-e phase (trait continu) le retour au couple premier n'y change rien, mais — comme toujours dans notre méthode d'essais journaliers — après un temps, un trouble survient qui masque l'habitude différenciée (nouvelle période mixte). IV-e phase (pointillé) — un nouveau changement, un nouveau retour au deuxième couple des figures révèle de nouveau l'existence de l'habitude première.

Fig. 12 (page 19). *R. temporaria* № 25. L'apposition des phases I-e et III-e du graphique précédant, c'est-à-dire, des résultats des essais (et des alimentations) sur le couple premier des figures.

Fig. 13 (page 19). *R. temporaria* № 25. L'apposition des phases II-e et IV-e du graphique de la fig. 11, afin de souligner l'indépendance du deuxième processus d'association s'ajoutant au premier. (Résultats des essais sur le deuxième couple, avec la même figure fondamentale).

Fig. 14 (page 20). *Bombinator igneus* № 9. Graphique du comportement de l'animal alimenté tous les trois jours. Type réactionnel B. (Le dernier essai, après un intervalle de 25 jours).

Fig. 15 (page 20). *Bombinator igneus* № 20. Graphique des réactions de l'animal alimenté (et essayé, en général) tous les cinq jours. Type réactionnel A.

I. Materiał i metoda doświadczeń.

W doświadczeniu było 36 żab na przeciągu 15 miesięcy: 17 żab w miesiącach styczniu—lipcu, 19 w miesiącach wrześniu—kwietniu. Z pośród nich 4 żaby (№№ 28, 29, 33 i 36) były młode, reszta były to dorosłe osobniki jednego z trzech gatunków, mianowicie: *Bombinator igneus* Laur.— 24 osobniki, *Rana esculenta* L. i *Rana temporaria* L. po 6 (tablica I szereg II).

Żaby, brane ze stawów, umieszczano w naczyniu szklanem zamkniętem, prostopadłościennem, o wymiarach $18 \times 12 \times 18$ cm., i po kilku dniach brano do doświadczeń. Woda w naczyniach dochodziła do wysokości najwyżej 1 cm. Temperatura pokojowa wahała się od 15° do 18° C. W celu usunięcia ubocznych wpływów wzrokowych, naczynia zzewnątrz otaczano czarnym grubym papierem do wysokości 4–5 cm. Wszystkie zwierzęta stałe trzymano w warunkach jednakowych. Żaby będące w doświadczeniu karmiono między godziną 1 a 4 popoł. owadem *Phyllodromia germanica*.

Aby stwierdzić zdolność odróżniania wielkości (ściślej: wymiarów płaszczyznowych), wytwarzano nałóg do przedmiotu określonej wielkości, i żaba miała ten przedmiot wyróżnić z pośród innych podobnych, o wymiarach większych

lub mniejszych. Przedmioty, któremi się posługiwałam, były to kwadraty, wycięte z białego kartonu, o powierzchni różnej wielkości, mianowicie: 1 cm², $2\frac{1}{2}$ cm², 4 cm², 9 cm² (tablica I szeregi V i VI, oraz fig. 1).

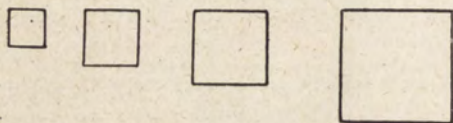


Fig. 1. Cztery figurki kwadratowe z bristolu, używane w tej serii doświadczeń, wielkości naturalnej: 1 cm², $2\frac{1}{2}$ cm², 4 cm², 9 cm².

U 13 żab (tablica I szereg II) otrzymałam nałóg metodą „pary figurek“ prof. R. Minkiewicza, przystosowaną obecnie do badań nad nałogami i pamięcią żab, a ogłoszoną przezeń w r. 1912 w pracy o rybach: „Recherches sur la formation des habitudes etc. chez les Poissons. (Patrz szczegóły nowe w pracy R. Minkiewicza p. t. Doświadczenie wzrokowe płazów, 1926).

Metoda ta w mojem zastosowaniu polegała na tem, że karmiłam żabę raz dziennie owadem przyszytym do określonej „figurki“¹⁾. Figurkę tę nazywać będę „zasadniczą”. Obok

¹⁾ Znaczenie terminów patrz R. Minkiewicza: Doświadczenie wzrokowe płazów. I. Wstęp ogólny (1926 § 6). Tamże rysunki aparatu drutowego wraz z figurkami z bristolu i owadem (fig. 2).

tej figurki była zawsze druga, innej wielkości, bez owada, zwana „dodatkową“. Obie figurki były umieszczane w jednej płaszczyźnie, na drutach zbiegających się w jednym punkcie (t. zw. aparat dwukolankowy). Figurki na drucie wstawiano do akwarjum na takiej wysokości aby żaba musiała po owad skoczyć.

Aby stosunek przestrzenny tej pary figurek nie był czynnikiem, któryby mógł sam przez się utrwalac się w pamięci wzrokowej, zmieniano układ wzajemny figurek w ten sposób, że figurka zasadnicza w kolejności przypadkowej była bądź po prawej, bądź po lewej stronie.

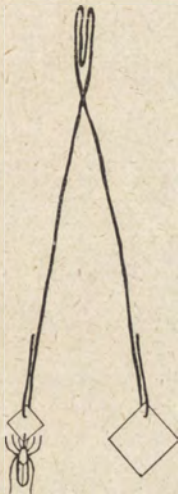


Fig. 2. Aparat zwykły z drutu miękkiego, z figurką „zasadniczą“ (+) mniejszą i „dodatkową“ (—) większą.

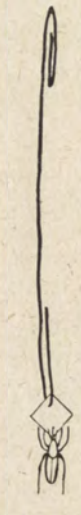


Fig. 3. Aparat specjalny do karmienia na pojedynczej figurce (nie na parzel). Próby, rzecz prosta, na parze, k'órej członem pozytywnym (+) będzie właśnie figurka z karmienia.

U reszty żab (tablica I szereg II) metoda wytwarzania nałogu (karmienia) była nieco uproszczona: podawałam na aparacie jednokolankowym tylko jedną figurkę, na której był owad (fig. 3). Próbę w celu skonstatowania nałogu wykonywałam, podając 2 figurki bez

jadła: figurkę zasadniczą (na której żaba była karmiona) i figurkę dodatkową (którą żaba miała od figurki zasadniczej odróżnić). Przytem zmieniałam w kolejnych próbach układ przestrzenny figurek.

Pierwsze „próby“ odbywały się po 8—10 dniach karmienia. Zależało to, oczywiście, od tego, czy żaba jadła normalnie, czy dosyć chciwie i prędko chwytła pokarm. Opieszalność żaby opóźniała początek „prób“. Po każdej próbie karmiono żabę natychmiast jak zazwyczaj, to znaczy na parze lub na pojedynczej figurce, zależnie od pierwotnej metody stosowanej do danej żaby. Wynik próby uważano za dodatni (pozytywny +), jeśli żaba uderzała w figurkę zasadniczą, za ujemny (negatywny —), jeśli uderzała w figurkę dodatkową.

(NB. Wyniki zerowe, gdy żaba wcale nie reagowała, nie zostały w moich wykresach uwzględnione).

Tak podczas karmienia, jako też przy próbach figurki były nieruchome, chociaż według niektórych autorów (H e m p e l m a n n) żaby jakoby na przedmioty nieruchome nie reagują.

Należało jeszcze usunąć przypuszczenie, że samo wprowadzenie obcego przedmiotu wywołuje reakcję. Wykonano w tym celu doświadczenia kontrolne w ten sposób, że żabom, które nie były jeszcze w doświadczeniu, dawano figurki poruszając niemi. Reakcji w tych warunkach nie otrzymano nigdy.

Sprawą zanikania śladów pamięciowych, to zn. wygasania względnie amortyzacji nałogu nie zajmowałam się wcale.

II. Przebieg doświadczeń i wyniki.

A. Ustalenie się nałogu i typy reagowania żab.

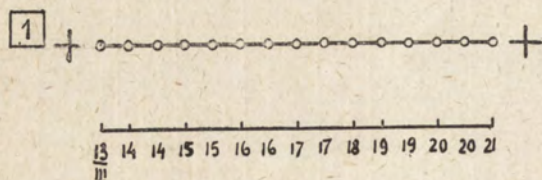
Karmiąc żaby przez szereg dni owadem, przyszytym leciutko, jednorazowem przewleczeniem krótkiej nitki do odpowiedniej figurki, dochodzimy do momentu, kiedy, podając fi-

T a b e l a I.

Tableau synoptique de l'ensemble des données individuelles. Ogół danych indywidualnych.

I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	
Spécimen № zaby	Espèce Gatunek	Méthode d'alimentation sur Sposób karmienia na	Fréquence d'alimentation Częstość karmienia	Forme et dimensions de la figure Kształt i wielkość figurki		Ecoulés jusqu'à la formation de l'habitude Uptynięto do utworzenia nałogu		Type réactionnel Typ reagowania	Date du commencement Początek doświadczeń	Date de la fin Koniec doświadczeń	Forme et dimensions en cm ² de la nouvelle figure Kształt i wielkość nowej figurki	Remarques Uwagi	
				fondamentale zasadniczej	accessoire dodatkowej	Jours dni	aliments karmień					Réagit fort rarement Reaguje rzadko	Ne mange pas Nie jada
1	Bombin. igneus	1 fig.	1/1	△ 4	□ 4	92	92	B	14.IX	25.II	—		
2	"	"	"	"	"	90	90	A	"	15.II	—		
3	"	"	"	"	"	110	110	B	"	"	—		
4	"	"	"	□ 9	□ 1	93	95	B	"	"	—		
5	"	"	"	"	"				"	"			(+)
6	"	"	"	□ 4	□ 1			D	"	20.III			
7	"	"	"	□ 2 1/2	□ 1	74	74	A	"	19.III			
8	"	"	"	□ 4	□ 1	61	61	A	"	18.III	□ 9	—	
9	"	"	1/3	"	"	39	13	B	"	25.III			
10	"	"	"	"	"	61	20	A	"	18.III			+
11	"	"	1/1	"	"			D	26.XI	23.III		—	
12	"	"	1/3	"	"	49	18	B	"	"			
13	"	"	1/5	"	"	49	9	B	"	21.III			
14	"	"	1/1	"	"			D	28.IX	26.I		—	
15	"	"	"	"	"	49	49	B	"	15.II			
16	"	"	"	"	"	35	35	B	"	"			+
17	"	"	"	"	"	38	38	A/C	"	14.III			
18	"	"	"	□ 1	□ 4	68	68	B	10.IX	10.1	□ 9		(+)
19	"	"	"	"	"	61	61	B	14.IX	19.III	□ 2 1/2		
20	"	"	1/5	"	"	67	13	A	8.IV	16.VI			
21	Rana tempor.	"	2/1	□ 1	□ 4	5	10	A	"	"	□ 9		
22	"	"	"	□ 4	□ 1	9	18	B	2.III	"	△ 4		
23	"	"	1/1	□ 4	△ 4	35	35	B	9.IV	23.VI			
24	"	1+1	"	□ 4	□ 1	8	8	C	6.II	3.IV	△ 4		+
25	"	"	"	□ 1	□ 4	8	8	C	"	16.VI	□ 9		
26	Rana esculenta	"	1/2	□ 4	□ 1	28	56	C	24.I	17.V	△ 4		
27	"	"	1/2	□ 1	□ 9	40	40	A	16.II	16.V		—	
28	"	"	"	□ 1	□ 4			D	30.I	30.V			juv.
29	"	"	"	"	"	20	20	A	4.II	15.VI			"
30	"	"	"	□ 1	□ 9	42	42	A	"	2.VI	□ 4		
31	"	"	"	□ 1	□ 4	36	36	B	22.I	17.VI			
32	Bombin. igneus	"	"	"	"	42	42	B	13.IV	23.VI			
33	"	"	"	"	"	16	16	A	22.V	"			"
34	"	"	"	□ 1	□ 9	9	9	B	"	"			"
35	"	"	"	□ 4	□ 1	45	45	B	14.IV	"			"
36	"	"	"	□ 4	△ 4	20	20	A	22.V	"			"

gurki bez jądła („próba“), otrzymujemy ruchy właściwe procesowi chwytania, więc podskok, wyrzucanie języka lub uderzanie w figurkę.



4

Fig. 4. Rana temporaria № 21. Typ reagowania A. Od pierwszej próby same reakcje pozytywne (+). Skala środkowa znaczy równe odstępy (interwale) między poszczególnymi reakcjami, wobec czego jednej dobie czasu może odpowiadać bądź krótszy (1 próba dziennie), bądź dłuższy (2 próby dziennie) odcinek. Liczby w kwadracikach wskazują wymiary tychże w cm^2 .

11 żab (tablica I szereg IX) dały przy każdej próbie reakcję pozytywną, to znaczy uderzały w figurkę zasadniczą.

Jeśli prób wykonanych było kilkanaście, to otrzymujemy szereg reakcji pozytywnych (wykres na rys. 4). Jest to typ reagowania A.

19 żab (tablica I szereg IX) dały również szereg reakcji pozytywnych, ale dopiero po szeregu reakcji mieszanych, gdzie reakcje pozytywne (+) i negatywne (-) były w kolejności przypadkowej (wykres na rys. 5). Jest to typ reagowania B.

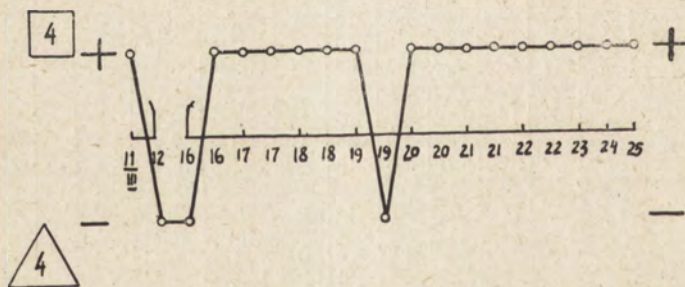


Fig. 5. Rana temporaria № 23. Typ reagowania B. Początek mieszany (+ -), później same (+). Między klamrami na skali odstępów — kilkudniowa przerwa w próbach. Reszta, jak na wykresie poprzednim.

Kilka żab wreszcie (tablica I szereg IX) przez cały czas trwania doświadczeń (liczba prób) dawało reakcje mieszane. Jest to typ reagowania *C* (wykres na rys. 6).

Cztery żaby (tablica I szereg IX) przez cały długi ciąg doświadczeń nie dały żadnej reakcji, mimo że jadały stale: typ *D*.

Wszystkie te żaby, które uderzały stale, przez dłuższy szereg prób, w figurkę zasadniczą, odróżniały przez to samo tę figurkę od sąsiedniej dodatkowej, a ponieważ figurki różnią się od siebie jedynie wielkością, żaby więc odróżniają wielkość figurek.

Taki wynik jest najzupełniej oczywisty u żab typu *A* i typu *B*. Reakcje mieszane, u żab typu *B*, na początku doświadczenia świadczą, że nałogu zróżnicowanego w tym czasie jeszcze niema. Można by to tłumaczyć tem, że próby były wykonane u tych żab zawczasie, w momencie kiedy nałóg do określonej wielkości przedmiotu był jeszcze nieskrystalizowany. W przypadkach typu *C* i *D* mogły, być może, odegrać rolę inne czynniki, o których będzie mowa niżej.

Tak więc, żaby badanych gatunków 1) zdolne są do wytwarzania skojarzeń, 2) odróżniają wielkość przedmiotów, o powierzchni badanej w granicach od 1 cm² do 9 cm².

Pomimo faktu odróżniania wielkości przez ogół żab, uderzają znaczne różnice w samym przebiegu reagowania (cztery typy: *A*, *B*, *C* i *D*).

Ponieważ badane były żaby różnych gatunków, różnego wieku, różną metodą (dwojaką), o innej porze roku, można by przypuścić, że to różnice gatunkowe lub różnice warunków doświadczenia wywołują różnice w przebiegu reagowania. Zestawimy tedy żaby tegoż gatunku, badane w warunkach jednakowych.

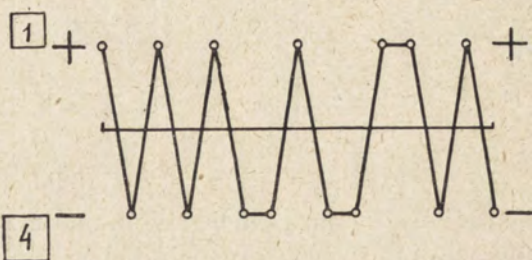


Fig. 6. Rana temporaria. Typ reagowania *C*. Wykres „skrócony”, bez ścisłego oznaczenia odstępów.

T a b e l a II.

Différence des types réactionnels malgré l'identité des conditions.

Odmienność typów reagowania wbrew tożsamości warunków.

<i>Spécimen</i> № żaby	<i>Dimensions des figures</i> Wielkość figurek	<i>Espèce</i> Gatunek	<i>Méthode d'alimentation</i> Sposób karmienia	<i>Date du commencement</i> Początek doświadcz.	<i>Type réactionnel</i> Typ reagowania
21	1 cm ² —4 cm ²	Rana temp.	1 fig.	13/IV	A
23	„ „	„ „	„	„	B

Żaby №№ 21 i 23 są w warunkach identycznych, a mimo to żaba № 21 daje reakcje typu A, żaba № 23 — reakcje typu B.

Te same wyniki da zestawienie żab №№ 29 a 28, lub №№ 20 a 9 (tab. I).

Różnice w przebiegu zachowania się żab nie znikają w warunkach jednakowych. Są od warunków doświadczenia niezależne.

Różnice są jeszcze wyraźniejsze, gdy rozpatrzmy czas potrzebny do wytworzenia nałogu (tablica I szereg III). Jak widzimy z tej tablicy czas ten wahał się od 5 do 110 dni. Wysoka liczba dni u niektórych żab nie da się wytłumaczyć tem, że takie żaby rzadko reagują, a być może przez dłuższy czas nie pobierały wcale pokarmu. Zestawmy żaby, które jadają normalnie, to znaczy bez przerwy, codzień, i są w warunkach jednakowych. Tu, zdawałoby się, czas potrzebny dla otrzymania nałogu powinien być jednakowy. Rozpatrzmy żaby №№ 29 i 28.

T a b e l a III.

Différence des résultats malgré l'identité des conditions.

Odmienność wyniku w jednakowych warunkach u różnych osobników.

<i>Spécimen</i> № żaby	<i>Dimensions des figures</i> Wielkość figurek	<i>Date du commencement</i> Początek doświadcz.	<i>Espèce</i> Gatunek	<i>Age</i> Wiek	<i>Méthode d'alimentation</i> Sposób karmienia	<i>Appétit</i> Apetyt	<i>Résultat</i> Wynik	<i>Après les jours</i> Po dniach
29	1 cm ² —4 cm ²	4.II	R. escul.	juv.	1+1 fig.	++++	+	20
28	„ „	30.I	„	„	„	„	0	114

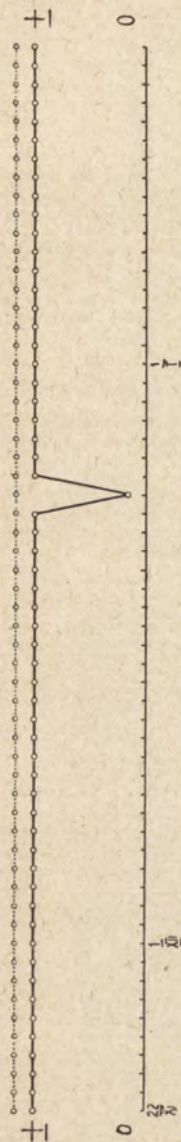


Fig. 7. Bombinator igneus № 19. Równoległy wykres jadania (.....) i reagowania (—). Na krzywej reagowania (linja ciągła) znaczone na osi górnej zarówno reakcje dodatnie (+), jak ujemne (-). Na osi dolnej jedynie u tej żaby zero (0); brak reakcji. Odrębny typ, stale reagujący i stale jadający (Typ B w stosunku do ustalania się natogu).

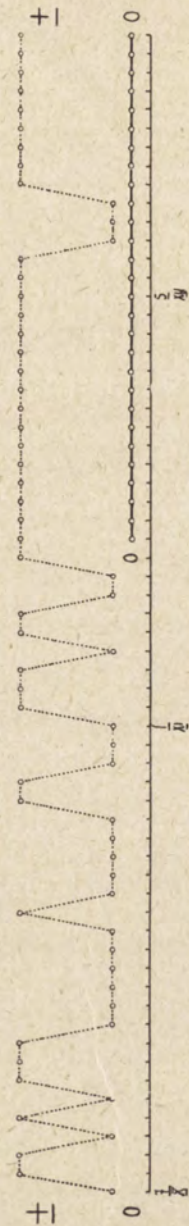


Fig. 8. Bombinator igneus № 6. Wykres równoległy jadania (.....) i reagowania (—). Reagowanie badano dopiero po ustaleniu się normalnego apetytu. Mimo to żaba nie reaguje wcale (same zero). Typ D.

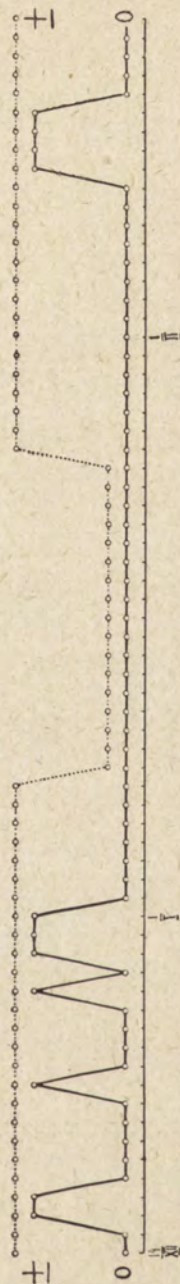


Fig. 9. Bombinator igneus № 1. Wykres równoległy jadania (.....) i reagowania (—), niezmiernie pouczający. W okresie pierwszym kumka jada stale, lecz przeważnie nie reaguje. W okresie drugim nie jada i nie reaguje. W okresie trzecim jada stale i znowu nie reaguje (z małym czterodniowym wyjątkiem). Niezależność wzajemna obu procesów. (W stosunku do ustalania się natogu—typ B, jak i № 19).

Warunki identyczne, apetyt normalny, żaba № 29 po 20 dniach ma już nałóg, podczas gdy żaba № 28 po 114 dniach, po czasie sześciokrotnie dłuższym, jeszcze nie reaguje. Tak samo u żab № 15 a № 14 (tablica I).

Znowu więc, jak wyżej, różnice w przebiegu reagowania pozostają, mimo jednakowych warunków doświadczalnych. Są więc od nich niezależne.

Ten sam fakt podkreślają przypadki, kiedy żaby, będące w jednakowych warunkach badania, jedne reagują rzadko, inne codziennie, niezależnie od apetytu (p. wykresy na rys. 7, 8 i 9).

B. Pozorny zanik nałogu i sposób jego ujawnienia z pod wtórnego procesu skojarzeniowego.

Łącznie jednak ze stwierdzeniem u żab zdolności tworzenia nałogów, skojarzonych z określoną wielkością przedmiotu, ujawniło się coś, co komplikowało dotychczasowe wyniki i wymagało dalszych badań.

Pierwsza serja doświadczeń.

„Próby“ (to znaczy, podawanie pary figurek bez jadła) powtarzałam codziennie.

Po dłuższym czasie szereg reakcyj pozytywnych (okres dodatni) przechodzi w szereg reakcyj mieszanych (wykres na rys. 10). O ile reakcje mieszane na początku doświadczenia wskazują, że nałogu zróżnicowanego jeszcze nie ma, to reakcje mieszane u żab ze stwierdzonym poprzednio nałogiem wskazują, że zróżnicowanego nałogu już nie ma.

W naszej metodzie prób, podawano stale żabom dwie figurki bez jadła do wyboru. Uderzenie w pustą tym razem figurkę „zasadniczą” sprowadzać musi „zawód”, osłabienie nałogu. Wpływ każdorazowego zawodu miało neutralizować w naszej metodzie natychmiastowe po próbie karmienie na figurce zasadniczej, tej samej, na której żaba była karmiona od początku. Nałóg do figurki zasadniczej był wciąż przez to podtrzymywany, należało więc raczej oczekiwać, że im dłużej żaba będzie w doświadczeniu, tym wyraźniej wystąpi już raz stwierdzone rozróżnianie wielkości figurek. Tymczasem,

po wyraźnym okresie reakcyj pozytywnych następuje szereg reakcyj mieszanych (wykres na rys. 10).

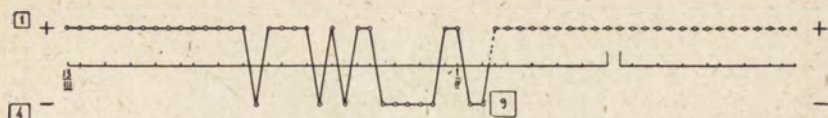


Fig. 10. Rana temporaria № 21. Wykres dwóch faz doświadczenia: w pierwszej fazie (linja ciągła) po okresie pozytywnym (+) następuje okres reakcyj mieszanych (+—), pozorny zanik zróżnicowanego nałogu; w drugiej fazie (linja przerywana) wraz ze zmianą figurki dodatkowej (—) nałóg zróżnicowany ujawnia się jako trwały.

Nasuwa się możliwość, że to właśnie stałe wprowadzanie figurki dodatkowej wywołuje zaburzenie i zanik pierwotnego nałogu. Aby zbadać ewentualny udział figurki dodatkowej w zanikaniu pierwotnego nałogu, zaczęłam usuwać figurkę dodatkową, zamieniając ją na inną, dotąd obcą, większą lub mniejszą, niekiedy nawet innego kształtu (tablica I, szereg XII).

Okazuje się, że natychmiast po zmianie figurki dodatkowej na obcą występuje ponownie szereg reakcyj pozytywnych, to znaczy ujawnia się nałóg w pierwotnej swej formie i sile, pomimo, że przed zmianą figurki dodatkowej nałogu zróżnicowanego do figurki zasadniczej nie można było stwierdzić. Ponieważ nałogu na nowo nie wytwarzałam, poprzedni więc zanik nałogu był tylko pozorny.

Zaburzenie w postaci okresu mieszanego wystąpiło pod wpływem codziennego wprowadzania stałej figurki dodatkowej. Czym są w istocie swej te zaburzenia, jakie jest ich pochodzenie i proces, to kwestja dalszych badań. Fakt, że zaburzenia tak łatwo dają się usunąć (wystarczyło zmienić figurkę dodatkową na inną dodatkową), wskazuje, że nałóg pierwotny do figurki zasadniczej trwał tu nieuszkodzony.

Nałóg pierwotny, wytworzony przez codzienne karmienie na figurce zasadniczej, ma u podstawy pewien proces skojarzeniowy. Pozorny zanik nałogu różniczkowego wywołany równoczesnym, codziennym wprowadzaniem figurki dodatkowej, opiera się na jakimś drugim procesie pamięciowym, zachodzącym w czasie na pierwszy i przykrywającym go.

Mamy więc tu 2 równoczesne procesy: pierwotny, zamierzony przez nas, i jakiś proces skojarzeniowy wtórny, dla nas niespodziany.

Druga serja doświadczeń.

Zanik nałogu różniczkowego okazał się więc tylko pozornym. Prosty zabieg: zmiana figurki dodatkowej, pozwolił wykazać, że nałóg pierwotny do figurki zasadniczej trwa niezależnie od powikłań, wywołanych przez codzienne (w próbach) wprowadzanie figurki dodatkowej. Druga serja doświadczeń moich miała tedy na celu: 1) dalszą analizę przebiegu nałogu pierwotnego, 2) analizę tych powikłań, które w rozdziale poprzednim określiłam, jako proces skojarzeniowy wtórny. Wobec tego, po pierwsze, w czas pewien po zmianie figurki dodatkowej pierwszej na drugą, powracałam do figurki pierwszej (zmiana druga); powtóre zaś, dla analizy przebiegu procesu wtórnego, zmieniałam ponownie figurkę dodatkową pierwszą na figurkę drugą (zmiana trzecia). W ten sposób układ całego doświadczenia rozpadł się na cztery okresy:

T a b e l a I V.

Disposition de l'expérience, correspondant au graphique de la fig. 11.

Układ doświadczenia, którego wyniki podaje wykres rys. 11.

<i>Période</i> Okres	<i>Figure fondamentale (+)</i> Figurka zasadnicza (+)	<i>Figure accessoire (-)</i> Figurka dodatkowa (-)
I		<i>première</i> — pierwsza
II	<i>toujours la même</i>	<i>deuxième</i> — druga
III	ta sama	<i>première</i> — pierwsza
IV		<i>deuxième</i> — druga

Wyniki takiego doświadczenia (*R. Temporarily Nr. 25*) przedstawia wykres na rys. 11.

Figurkę dodatkową zmieniałam w różnych momentach czasu: raz w okresie reakcyj mieszanych, drugim razem w okresie reakcyj pozytywnych, i mimo to zawsze następo-

wał po zmianie szereg reakcji pozytywnych, czyli nałóg ujawniał się wraz z wprowadzeniem tej samej figurki.

Zestawiłam w jedno okres I z III (wykres na rys. 12), to znaczy wynik doświadczenia, wykonanego w takich samych warunkach, z tą samą figurką dodatkową; otrzymałam szereg reakcji typu A. Zestawienie reakcji okresów II i IV (wykres na rys. 13) dało szereg reakcji typu B. Stąd wniosek oczywisty: dwa procesy skojarzeniowe zachowały swą niezależność i odrębność w czasie.

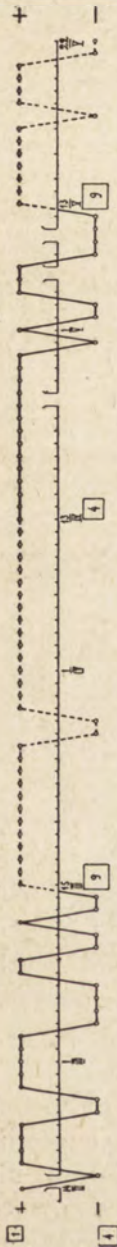


Fig. 11. Rana temporaria № 25. Wykres czterech faz doświadczenia. I-a faza (linja ciągła) — nałóg dość dobrze wyróżnicowany w (typie B) przestaje nim być (przynajmniej pozornie), II-a faza (linja przerywana) — zmiana figurki dodatkowej uwydatnia trwanie nałogu. III-a faza (linja ciągła) — powrót do pierwszej pary nie zmienia trwania nałogu, ale — jak zwykle przy naszej metodzie prób codziennych — po pewnym czasie powstaje coś, co przykrywa istnienie nałogu (nowy okres mieszaný). IV-a faza (linja przerywana) — nowa zmiana figurki dodatkowej, powrót do drugiej pary, ujawnia ponownie trwający nadal nałóg pierwotny.

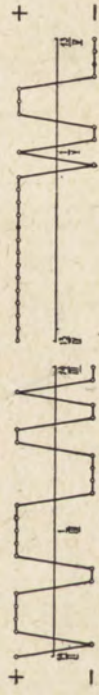


Fig. 12. R. temporaria № 25. Zestawienie w jedno faz pierwszej i trzeciej wykresu poprzedniego, to znaczy, wyników prób (i karmień) na parze pierwotnej figurki.

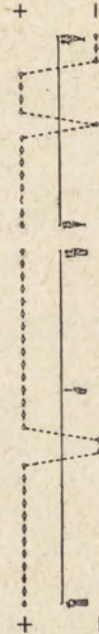


Fig. 13. R. temporaria № 25. Zestawienie w jedno faz drugiej i czwartej wykresu z rys. 11, w celu podkreślenia niezależności wiórnego procesu kojarzenia, zachodzącego na pierwszy. (Wyniki prób na drugiej parze, z pozostającą zawsze tą samą figurką zasadniczą).

C. Czynniki czasu: interwał, liczba powtarzeń i czas absolutny.

Wspomnę o jednej jeszcze serii doświadczeń, chociaż wyniki jej nie są ostateczne.

Warunkiem koniecznym w naszych doświadczeniach był pewien stan głodu, dlatego nie mogłam wprowadzać figurkę z owadem zbyt często. Zwykłą jednostką czasu była doba (interwał = 24 godz.).

Zdawałoby się oczywiście, że ilość otrzymanych pobudeń skojarzeniowych stanowi o ustaleniu nałogu. Czy wpływa tu jednak wielkość odstępów między poszczególnymi pobudzeniami?

Okazało się, że żaby (tablica I szereg IV) karmione raz dziennie (większość), raz na 3 dni (№№ 9, 10, 12) i raz na 5 dni (№№ 13 i 20) dają zróżnicowany nałóg w jednakowym czasie (wykresy rys. 14 i 15).

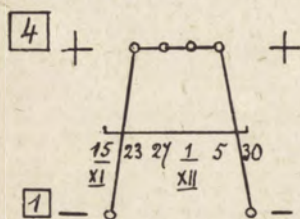


Fig. 14. Bombinator igneus № 9. Wykres zachowania się zwierzęcia, karmionego co trzy dni. (Ostatnia próba po bardzo długim odstępie czasu). Typ. B.

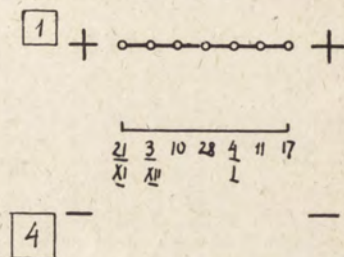


Fig. 15. Bombinator igneus № 20. Wykres reakcji zwierzęcia karmionego co pięć dni. Typ A.

Dały nałóg również żaby №№ 21 i 22, karmione 2 razy dziennie. Czas absolutny, konieczny dla utworzenia nałogu, jest nieokreślony, wobec tego nie wiemy, czy zwiększona ilość pobudeń w tym wypadku nie była zbyt duża.

Ciekawym jest fakt, że nawet pięciodniowy odstęp między kolejnymi pobudzeniami skojarzeniowymi nie przeszkadza ustaleniu się nałogu. Być może, dobrą jest pewna długość odstępów, umożliwiająca dojrzewanie śladu pamięciowego (skojarzeniowego).

Nasuwa się więc wniosek: aby nałóg otrzymać, niezbędne jest obok pewnej minimalnej liczby powtarzań i pewne minimum czasu bezwzględego, poniżej którego nałogu nie wytworzymy. Oznaczywszy stałą stosunku tych dwóch czynników: ilości powtarzań i czasu bezwzględnego, możemy

przy minimalnym nakładzie energii otrzymać pożądaný rezultat. Być może, stała takiego stosunku zależeć będzie nie tylko od gatunku, ale od indywiduum.

Ustalenie takiej stałej miałyby zastosowanie w życiu praktycznym, specjalnie w pedagogice, gdzie bardzo znaczna zazwyczaj liczba powtarzań pobudzeń skojarzeniowych wydawała się dotychczas czynnikiem koniecznym, a tak niewtórczym i praktycznie trudnym. Możliwość sprowadzenia jej do minimum miałyby więc ogromną wagę społeczną.

D. Stosunek nałogu do popędu naturalnego.

Warunkiem koniecznym, na którym ma się nawiązać skojarzenie danego przedmiotu z pewną reakcją ruchową zwierzęcia, jest popęd naturalny do tego przedmiotu, przejawiający się właśnie w wyzwaniu tej reakcji ruchowej przez samo ukazanie się przedmiotu w polu widzenia. W danym wypadku, popędem naturalnym, na którym budujemy formowanie się nałogu, jest poszukiwanie jada. Obiektem konkretnym, wyzwającym reakcję ruchową, jest owad *Phyllostoma germanica*. Współbytność wzrokowa tego owada z figurką określonej wielkości w chwilach wyzwania reakcji ruchowej (rzucania się na owad) jest właśnie momentem skojarzeniowym, formującym nałóg do obranej figurki.

Czy nałóg, którego punktem wyjścia jest popęd naturalny, może stać się silniejszym od tego popędu pierwotnego, dominować nad nim, przynajmniej w pewnych momentach?

Do takiego pytania doprowadza szereg ciekawych obserwacji przypadkowych nad żabami przy wytwarzaniu u nich nałogu. Nieraz np. żaba, której przecie figurka z bristolu nigdy przedtem w życiu nie przyciągała, potrafi w okresie ustalonego nałogu uderzać aż do zmęczenia w figurkę, o b o w a d a do figurki przyszytego. Owad chwyta jakgdyby przypadkowo dopiero, po kilkakrotnem, daremnem, niecelowem uderzaniu w figurkę.

Ścisłejsze zbadanie analityczne takich objawów, wyświetlenie dokładne wzajemnego stosunku nałogu wytworzonego doświadczalnie do popędu naturalnego, będącego punktem wyjścia dla tego nałogu, rzuciłoby nieco światła na zagadnienia związane z wychowaniem człowieka (opanova-

nie instynktów, popędów, odruchów). Ja mogę tu tylko zanotować takie fakty.

E. Uogólnienie nałogu na inne kategorie bodźców (nałogi uboczne).

Na dokładniejszą też analizę zasługują inne zjawiska, zaobserwowane przygodnie.

Żaba z nałogiem już ustalonym reaguje bardzo często podskokiem, wyrzucaniem języka (typowe reakcje nałogu) na wstawienie pałeczki szklanej, na uderzenie palcami w naczynie, lub tym podobne bodźce.

Powstaje pytanie, czy reakcja żaby w tych przypadkach jest uogólnieniem, generalizacją reakcji na bodźce niebyłe w doświadczeniu (jak można przypuszczać), czy też wpływają tu jakieś inne czynniki, nieuwzględnione w toku doświadczeń. Odpowiedź bez dalszych badań trudna. Fakt niemniej jest ciekawy sam przez się.

III. Wnioski ogólne.

1. Żaby gatunków *Bombinator igneus*, *Rana esculenta* i *R. temporaria* rozróżniają doskonale wielkość przedmiotów widzianych (w danym przypadku kwadracików z bristolu) w zakresie różnic powierzchni 1 cm^2 — 9 cm^2 , 1 cm^2 — 4 cm^2 , cm^4 — 9 cm^2 , a nawet 1 cm^2 — $2^{1/2} \text{ cm}^2$ oraz $2^{1/2} \text{ cm}^2$ — 4 cm^2

2. W zakresie tych różnic żaby zdolne są tworzyć trwałe skojarzenia swych reakcyj ruchowych z daną wielkością przedmiotu (tworzyć zróżnicowane nałogi do określonych wymiarów planimetrycznych).

3. W obrębie tegoż gatunku żab ujawniają się znaczne różnice nie tylko w szybkości ustalania nałogu, ale i w przebiegu reakcji ustalania się.

a) Ze względu na przebieg reakcji, mogłam rozróżnić 4 typy żab:

typ A, gdzie odrazu ustala się nałóg zupełnie zróżnicowany (trwały okres reakcyj dodatnich +),

typ B, gdzie zróżnicowanie nałogu ustala się dopiero po dłuższym [lub krótszym] okresie reakcyj mieszanych (+—),

typ C, gdzie zróżnicowany nałóg nie występuje

wcale (przynajmniej w formie ujawnionej bezpośrednio), i trwa wciąż okres reakcyj mieszanych,

typ D, nie chcący wogóle na próby bez jadła reagować.

b) Ze względu na szybkość ustalania się nałogu (zdolność kojarzenia), różnice osobnicze są prosto olbrzymie, w jednakowych warunkach. Nałóg może być ustalony, w najlepszych przypadkach, już po kilku doświadczeniach (8—9), przedzielonych od siebie całą dobą. U innych wszakże osobników, w tychże warunkach doświadczenia, po 90—100 dniach i więcej, żadnego jeszcze śladu ujawnionego obiektywnie nałogu.

4. Ciekawem jest, że z jednej strony, zdłużanie odstępu (interwalu) pomiędzy poszczególnymi doświadczeniami do trzech (3) a nawet do pięciu (5) dni nie przeszkadza utworzeniu się trwałych skojarzeń i nie zdłuża czasu absolutnego, niezbędnego do ich wytworzenia się; z drugiej strony, i skracanie interwalu (dwa doświadczenia dziennie) nie zdaje się skracać znacznie ów niezbędny czas absolutny, o ile pozwalałaby wnosić nazbyt w tej mierze szczupła liczba doświadczeń moich.

5. Reakcje nałogowe żab są tak potężne, że w pewnych momentach mogą dominować nad popędem naturalnym, z którego wyrosły, wręcz mijając się z celowością (chwytywanie figurki z ominięciem owada).

6. W związku z metodą „prób“ na parze figurek¹⁾ okres reakcyj dodatnich (+) przechodzi samorzutnie z czasem w okres reakcyj mieszanych (\pm), stwarzając pozór zaniku nałogu zróżnicowanego. Nałóg ten może być jednak ujawniony każdej chwili przez wprowadzenie jakiejś bądź nowej, „obcej“ figurki „dodatkowej“ (większej, mniejszej, lub innego kształtu), na miejsce dotąd stale ukazywanej.

Wynika stąd, że owo zjawisko pozornego zaniku nałogu zróżnicowanego było spowodowane tu przez to, że obok skojarzenia zamierzonego utworzyło się równocześnie inne, nieoczekiwane dla badacza (więc pasorzytnicze w jego rozumieniu), dotyczące stałej figurki „dodatkowej“, a przez to maskujące zróżnicowanie nałogu.

¹⁾ „Prób“, nie zaś „karmień“. Bowiem dwie stosowane tu przeze mnie metody karmienia: na parze oraz na figurce pojedynczej, nie wykazały żadnych różnic w czasie i sposobie ustalania się nałogu ani jego trwania. Dotyczy to zarówno karmienia wstępnego, jak karmienia podtrzymującego, po próbach.

Oba te procesy skojarzeniowe współbytuja w systemie nerwowym żaby, ustalając się tam i ulegając zmianom każdy we właściwym sobie trybie, zgoła niezależnie jeden od drugiego). Pewne dane nasze mówią, że tych równoczesnych, współbytujących procesów skojarzeniowych, w zakresie pobudzeń wzrokowych, może być znacznie więcej).

7. Rzecz naturalna, że powyższe wnioski moje dotyczą nie tylko zakresu różnic wymiarów przedmiotu, lecz także i kształtów, nad którymi czyniłam doświadczenia równoległe, jak to widać z naszej tablicy synoptycznej (tabl. I szeregi V, VI i XII).

PIŚMIENNICTWO.

1. Biederman S. 1927. Le sens et la mémoire des formes d'un objet chez les Anoures. L'inversion de l'habitude après ou sans amortissement. (Zmysł i pamięć kształtów przedmiotu u żab. Odwracanie nałogu z wygaszaniem i bez wygaszania). Trav. Instit. Nencki 4 № 56.
2. Claparède E. 1913. Die Methoden der tierpsychologischen Beobachtungen u. Versuche.
3. Gaupp-Ecker-Wiedersheim. Der Frosch.
4. Hilzheimer M. u. Haempel O. 1913. Handbuch der Biologie der Wilbertiere. Stuttgart.
5. Hoyer H., Kowalski, Mierzejewski, Niezabitowski, Udziela. 1910. Klucz do oznaczania zwierząt kręgowych ziem polskich. Kraków. (Détermination des Vertébrés de la Pologne).
6. Lloyd Morgan C. 1896. Habit and Instinct (w tłumaczeniu z r. 1899).
7. Loeb J. 1906. Wstęp do fizjologii porównawczej mózgu i psychologii porównawczej. (Introduction to Compar. Psych. etc.).
8. Minkiewicz R. 1907/8. Próba analizy instynktu metodą obiektywną, porównawczą i doświadczalną (Versuch einer Analyse des Instincts etc.).
9. — 1913. Recherches sur la formation des habitudes et la mémoire chez les poissons. Annal. Instit. Océan. Monaco.
10. — 1914-17. Podstawy doświadczalne i teoretyczne nowego pojmowania zjawisk nerwowych. Warszawa (= Théorie du polybolisme nerveux fondamental).
11. — 1926. L'expérience optique des Batraciens. I. Introduction générale (Doświadczenie wzrokowe żab. I. Wstęp ogólny). Trav. Instit. Nencki 4 № 55.
12. Piéron H. 1910. L'évolution de la mémoire. Paris.
13. Szymański J. S. 1920. Ein Versuch über die Disposition der Tiere zum Erfassen der Aenlichkeitsbeziehungen. Z. f. angew. Psychol. 134.