

Prace Instytutu im. Nenckiego.

Travaux de l'Institut Nencki.

Vol. V.



Z zasiłku Wydziału Nauki
Ministerstwa Wyznań Religijnych i Oświecenia Publicznego

WARSZAWA
INSTYTUT IM. NENCKIEGO T. N. W., ŚNIADECKICH 8.
1929

<http://rcin.org.pl>

Acta Biologiae Experimentalis

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

Wydawnictwo to ukazuje się w liczbie około dwu tomów rocznie.

Tom III, 1929, zawiera następujące rozprawy:

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

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

Zgłoszenie do prenumeraty przyjmuje:

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

Skład główny:

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

Prace Instytutu im. Nenckiego.

Travaux de l'Institut Nencki.

Vol. V.



Z zasiłku Wydziału Nauki
Ministerstwa Wyznań Religijnych i Oświecenia Publicznego

WARSZAWA
INSTYTUT IM. NENCKIEGO T. N. W., ŚNIADECKICH 8.

1929

Prace Instytutu

im. Henckies

Travaux de l'Institut Henckies

Vol. V



TREŚĆ TOMU PIĄTEGO.

- W. R. Witanowski.** O działaniu aldehydu mrówkowego na lecytynę. Przyczynek do kwestji powstawania w organizmach związków metylowanych. (*Über die Wirkung des Formaldehyds auf das Lecithin. Ein Beitrag zur Frage der Entstehungsweise der im Organismus vorkommenden methylierten Verbindungen*). Acta Biol. Exper., 2, № 4, 1928 (61—72).
- M. Chejfec.** Przebieg reorganizacji jądrowej u *Paramecium caudatum*. (*On the nuclear reorganisation in Paramecium caudatum*). Acta Biol. Exper., 2, № 6, 1928 (89—121).
- Leonia Papierbuch.** Zmysł i pamięć kierunków przedmiotu u żab. Różnicowanie i uogólnianie nalogu. Formy wygaszania i ich skutki. Zaburzenia. Wyzwalanie i hamowanie reakcyj nabytych. (*Le sens et la mémoire des directions d'un objet, chez les Anoures. Differentiation et généralisation de l'habitude. Déclenchement et inhibition des associations contractées*). Acta Biol. Exper., 2, № 8, 1928 (165—210).
- J. Dembowski.** Ruchy pionowe *Paramecium caudatum*. I. Względne położenie środka ciężkości w ciele wymoczka. (*Vertikalbewegungen von Paramecium caudatum. I. Die relative Lage des Gleichgewichtszentrums im Körper des Infusors*). Acta Biol. Exper., 3, № 2, 1928 (19—47).
- St. Kuczkowski.** Badania nad zjawiskami wydzielniczo-chłonnymi w jelicie cienkim. I. Wydzielanie elektrolitów. (*Untersuchungen über die Absonderungs- und Aufsaugungserscheinungen im Dünndarm. I. Absonderung der Elektrolyte*). Acta Biol. Exper., 3, № 4, 1928 (57—80).
- Z. Krasieńska.** Przyczynek do energetyki kiełkowania słonecznika. (*Contribution à l'étude du métabolisme énergétique de la germination [Helianthus annuus]*). Acta Biol. Exper., 3, № 6, 1928 (101—141).
- K. Białaszewicz.** *Recherches sur la répartition des électrolytes dans le protoplasme des cellules ovulaires.* „Protoplasma”, 6, № 1, 1929 (1—50).
- J. Neyman.** *The theoretical basis of different methods of testing cereals. Part II. The method of parabolic curves.* Scientific Publications of K. Buszczyński & Sons Ltd., Pedigree seed cultures, № 4, 1929 (1—48).

- M. Bogucki.** Wpływ ciśnienia osmotycznego na powstawanie periwitelinu w zapłodnionych jajach jeźwońców (*Paracentrotus lividus* L.). (*L'influence de la pression osmotique du milieu sur la formation du périvitellin dans les oeufs fécondés d'Oursin*). Acta Biol. Exper., 3, № 12, 1929 (255—269).
- R. Minkiewicz.** Les lois du polibolisme nerveux et la définition physiologique des névroses hystériques et psychasténiques. Recueil de Travaux offert à Édouard Flatau, Varsovie, 1929 (1—22).
- Wł. Niemierko.** Wpływ pracy na zawartość tłuszczów w mięśni żaby. (*Einfluss der Muskeltätigkeit auf den Fettgehalt des Froschmuskels*). Acta Biol. Exper., 3, № 7, 1929 (143—164).

[„Prace Instytutu im. Nenckiego“ № 65*]

W. R. Witkowski.

O działaniu aldehydu mrówkowego na lecytynę. Przyczynę do kwestji powstawania w organizmach związków metylowanych.

Über die Wirkung des Formaldehyds auf das Lecithin. Ein Beitrag zur Frage der Entstehungsweise der im Organismus vorkommenden methylierten Verbindungen.

Rękopis nadesłany w dniu 5.V.1928 r.

Die gewöhnlich als Lecithin bezeichnete im Handel vorkommende Substanz ist ein Gemisch von Lecithin und Kephalin. Beide Substanzen stehen miteinander, nach TRIER ('12), in genetischer Beziehung, da das Colaminlecithin (Kephalin) durch Methylierung im Organismus in das Cholinlecithin übergehen kann.

Die durch den Verfasser aufgestellte Frage, ob diese Reaktion auch „in vitro“ verlaufen kann, wird durch seine Versuche bestätigt. Als methylierendes Agens wurde Formaldehyd gebraucht. Diese Verbindung ist vor kurzem im Blute der Wirbeltiere durch ABELOUS und DELAS ('26) nachgewiesen; sonst kommt sie nach KLEIN und WERNER ('26) auch in den Pflanzen vor. Der Formaldehyd methyliert das dem Lecithin beigemengte Kephalin in verhältnissmässig so hohen Grade, dass die Menge des gebundenen Cholins bis 52% des ursprünglichen Wertes steigt (bei 38° C). Die Analysen des Cholins waren nach der Methode von SHARPE ('23) ausgeführt.

Die Methylierung geht auch bei gewöhnlicher Temperatur, in gut gepufferter Lösung und bei gewöhnlichem Atmosphärendruck vor sich, was für den Biochemiker von Wichtigkeit sein kann. Das Reaktionsoptimum soll zwischen pH 5 und 7 liegen. Niemals ist eine vollständige Methylierung gelungen, — beurteilt

* Z Zakładu Fizjologii Instytutu im. Nenckiego.

nach den maximalen Cholinwerten. Vielleicht ist das Vorkommen anderer Substanzen mit freien Aminogruppen, ausser des Colamins, daran Schuld.

Die Versuche, die Methylierung auf fermentativen Wege zu beeinflussen, haben bisjetzt zu keinem entscheidenden Resultate geführt. Die Reaktion kann jedoch — nach den von mir „in vitro“ ausgeführten Versuchen — auch ohne Eingreifen eines hypotetischen Fermentes im Organismus ablaufen.

W ekstraktach eterowych z tkanek stale obok lecytyny występuje kefalina. Sądząc z podobnej budowy tych ciał, przypuszczamy, że są one w związku genetycznym z sobą, mianowicie, że lecytyna powstaje w organizmie przez metylowanie kefaliny (TRIER '12). Metylowanie mogłoby się odbywać w czasie procesów, wytwarzających aldehyd mrówkowy lub alkohol metylowy.

Alkohol metylowy występuje jako taki w liściach, pozatem stanowi część składową ciał pektynowych; aldehyd mrówkowy powstaje według KLEINA i WERNERA ('26) w procesie asymilacji dwutlenku węgla przez rośliny, prócz tego może się łatwo tworzyć z różnych związków organicznych. MAURER ('26) wykazał obecność jego w procesach fermentacyjnych. ABELOUS i DELAS ('26) stwierdzili, że występuje on we krwi kręgowców: we krwi tętniczej w stężeniu 1 : 10⁷, w żylniej 1 : 400.000; w moczu — 1 : 500.000.

Naturalnie, te znikome ilości, jakie wykryć możemy, nie mówią nam o ilościach aldehydu, powstających rzeczywiście w ustroju, ze względu na łatwość wiązania aldehydu z innymi związkami. W świecie zwierzęcym kefalina stanowi zapewne główny czynnik, usuwający szkodliwy aldehyd mrówkowy, wiążąc go w formie grup metylowych.

Zadaniem mojej pracy było zbadanie warunków, w jakich reakcja metylowania kefaliny „in vitro“ przebiega, zwłaszcza, czy zachodzi może w warunkach fizjologicznych: w niskiej temperaturze, w zmoderowanym neutralnym środowisku oraz pod zwykłym ciśnieniem; pozatem — czy wyciągi zwierzęce katalizują tę reakcję.

Metoda.

Jako materiał wyjściowy służyła lecytyna „Lécithine pure—Gedeon Richter, Budapest“, zawierająca kefalinę i lecytynę. Oznaczenia choliny w hydrolizacie tej lecytyny powinny dać wierny obraz tego, co się dzieje w cząsteczce kefaliny pod wpływem aldehydu mrówkowego, ponieważ w miarę metylowania kefaliny ilość związanej choliny będzie wzrastać.

Do dziś istnieją tylko 2 metody ilościowego oznaczania choliny metodą chemiczną: STANEKA ('06) i SHARPE'GO ('23). Z nich metoda SHARPE'GO, jako jodometryczna, operując tą samą ilością substancji, daje rezultaty ściślejsze, niż acydymetryczna metoda STANEKA.

Wybrałem zatem metodę SHARPE'GO, ponieważ jednak oryginalna praca tego autora nie była mi dostępna, podaję szczegółowo bieg analizy, której zasady można znaleźć w książce GUGGENHEIMA: „Die biogenen Amine“, 1924, str. 88.

1. Metoda oznaczania choliny.

1 gram lecytyny rozciera się z 5 cm³ wody, aż do równomiernego rozproszczenia jej w całym płynie; dodaje się 60 cm³ nasyconego na zimno wodorotlenku baru i gotuje się z chłodnicą zwrotną przez 1.5 godziny. Gorący płyn sączy się, przemywa, bar strąca się kwasem siarkowym, nadmiar kwasu wiąże się węglanem baru i całość bez filtrowania odparowuje na łaźni wodnej do suchości. Pozostałość rozciera się z 20—30 cm³ alkoholu 96% i pozostawia na 20 minut, poczem znów się rozciera, wreszcie filtruje i przemywa 96% alkoholem. Przesączyć po odparowaniu na łaźni rozpuszcza się w wodzie, filtruje w razie potrzeby i dopełnia do 20 cm³ w kolbce miarowej. Odmierza się po 1 cm³ płynu badanego do 2 probówek wirówkowych i prowadzi się następnie 2 równoległe oznaczenia, dodając po 8 cm³ odczynnika, mającego skład następujący: 6g KJ + 6g J₂ + 200 cm³ H₂O.

Wytrącony osad perjodytu wirujemy bezpośrednio potem przez 1 minutę, poczem płyn z nad osadu sączymy przez mikrosączek azbestowy PREGLA. Nie naruszając osadu w probówce wirówkowej, przemywamy go dwukrotnie wodą, wodę sącząc potem przez mikrosączek, rozpuszczamy, mieszając ją pałeczka szklaną z chloroformem i rozcieńczonym kwasem azotowym w stosunku 1:1 (kwas azotowy c. wł. 1.4, 100 cm³ na 100 cm³ wody), poczem otrzymany roztwór jodu w chloroformie przesączamy do próbówki wirówkowej z resztą osadu. Do próbówki tej dolewamy następnie tyle kwasu azotowego, by ilość jego wyniosła około 5 cm³, oraz taką samą ilość chloroformu, poczem mieszamy pałeczka do chwili całkowitego rozpuszczenia się osadu. Warstwę chloroformową oddzielamy w rozdzielaczu, przemywamy dwukrotnie wodą, wodę tą ekstrahując za każdym razem chloroformem i dołączając ten chloroform do głównej porcji, by uniknąć strat w wodzie. Dodajemy wody i miareczkujemy jod 0.1 n tiosiarczanem z mikrobiurety, dodając pod koniec miareczkowania skrobi. Na 1 gram lecytyny, zależnie od preparatu, zużywa się przeciętnie od 1.8 do 3 cm³ 0.1 n tiosiarczanu. Chcąc otrzymać ilość choliny w mg, mnożymy

otrzymaną cyfrę przez 1.345 (dla chlorku choliny mnożnik wynosi 1.551). Mnożnik ten obliczony jest z wzoru dla perjodytu choliny $C_5H_{14}NOJ_5$.

2. Hydroliza lecytyny w obecności aldehydu mrówkowego.

Przy zestawieniu doświadczenia nasuwało się pytanie, czy jednorazowe godzinne ogrzewanie lecytyny z formaliną w obecności stężonego roztworu wodorotlenku baru samo przez się nie doprowadza do zmetylowania aminoalkoholu w takim stopniu, że bez uprzedniego usunięcia aldehydu zapomocą środków wiążących go hydrolizować nie będzie można — przyczem ze względu na znaczną wrażliwość grup metylowych choliny na środki, utleniające aldehyd mrówkowy, sprawa byłaby trudna metodycznie do przeprowadzenia.

Okazało się jednak, że hydroliza w obecności aldehydu mrówkowego na ilość choliny nie wpływa w większym stopniu. Dwie próbki lecytyny były hydrolizowane, jedna w obecności aldehydu, druga — bez aldehydu:

- 1) 0.05 g lecytyny: 2.678; 2.723 cm^3 0.1 n tiosiarczanu
średnio 2.700 cm^3
- 2) 0.05 g lecytyny + 0.05 cm^3 40% HCHO:
: 2.727; 2.692 cm^3 0.1 n tiosiarczanu
średnio 2.709 cm^3

Być może, że aldehyd mrówkowy w silnie alkalicznym gorącym roztworze zaraz się polimeryzuje, co przerywa reakcję. Opierając się na tych wynikach, nie usuwałem aldehydu, a roztwór wodorotlenku baru, nasycony na zimno, ogrzewałem przed dodaniem do roztworu badanego lecytyny.

3. Ilość wodorotlenku baru potrzebna do hydrolizy.

Używając tę samą ilość wodorotlenku barowego (60 cm^3) do hydrolizy 1 grama i 3 gramów lecytyny, stwierdziłem, że ta ilość wodorotlenku oraz czas hydrolizy — 1.5 godziny — wystarczają, gdy hydrolizujemy 1 gram lecytyny, a prawie wystarczają, gdy mamy lecytyny 3 razy więcej:

Hydroliza 1 g lecytyny: 1.793; 1.838 cm^3 tiosiarczanu
1.784; 1.731

średnio 1.786 cm^3 tios. na 0.05 cz. hydrolizatu.

Hydroliza 3 g lecytyny 3×1.682 ; 3×1.658

średnio 3×1.670 cm^3 tios. na 0.05 cz. hydrolizatu.

4. Hydroliza kwasem solnym.

1 g lecytyny gotowałem przez 1.5 godziny z 50 cm^3 10% HCl. Po odparowaniu plynu do suchości na łaźni wodnej, dodałem 10 cm^3 wody barytowej i nadmiar węglanu baru. Po odsączeniu od mydeł barowych, plyn zakwasilem kw. siarkowym, po dodaniu węglanu baru odparowałem, ekstrahowałem i dalej postępowałem, jak przy hydrolizie wodorotlenkiem baru.

1 g lecytyny. Hydroliza wodą barytową

2.450 ; 2.427

2.567 ; 2.528

średnio 2.430 cm³ 0.1 n tiosiarczynu
na 0.05 cz. hydrolizatu.

1 g lecytyny. Hydroliza kwasem solnym

2.479 ; 2.411

2.479 ; 2.400

średnio 2.430 cm³ 0.1 n tiosiarczynu
na 0.05 cz. hydrolizatu.

Część eksperymentalna.

Doświadczenie № 1.

Cheąc zorientować się co do ilości kefaliny, która mogłaby być zmetylowana w warunkach doświadczenia, oznaczyłem azot grup aminowych w mikroaparacie VAN SLYKE'A. 3 g lecytyny hydrolizowałem 10% kwasem solnym przez 1.5 godziny, kwas odparowałem na łaźni, wreszcie po usunięciu kwasów tłuszczowych wodorotlenkiem baru i przefiltrowaniu, płyn dopełniłem do 20 cm³ i 2.5 cm³ tego roztworu wprowadziłem do aparatu. Równolegle oznaczyłem metodą KJELDAHLA azot całkowity oraz azot choliny metodą SHARPE'GO.

1 g lecytyny zawierał 18—20 mg całkowitego azotu

5.4 mg azotu choliny

14.5 mg azotu wydzielonego kwasem
azotawym.

W doświadczeniu z aldehydem mrówkowym stwierdziłem, że po 4 dniach działania aldehydu mrówkowego na lecytynę w 38—40° C ilość choliny w środowisku silnie kwaśnym (kwas mrówkowy) nie zmieniła się, natomiast w płynie zmoderowanym fosforanami KH₂PO₄ i Na₂HPO₄ oraz w płynach, zawierających NaHCO₃ lub Na₂CO₃, ilość choliny wzrosła od 27 do 52% w stosunku do zawartości w lecytynie analizowanej przed doświadczeniem. Lecytyna, która stała przez 4 dni w temperaturze 38—40° z dodatkiem toluolu lecz bez formaliny, nie wykazała większych zmian zawartości choliny.

Ilości związków, dodawanych do roztworów 1 g lecytyny w 5 cm³ wody, były następujące:

- 1^o, kwas mrówkowy: 0.5 cm³ stęż. kwasu + 10 cm³ wody;
 2^o, fosforany: 4 cm³ roztworu KH₂PO₄ + 6 cm³ roztworu Na₂HPO₄,
 przygotowanych podług SÖRENSENA (patrz CLARK '23);
 3^o, NaHCO₃: 0.25 g w 10 cm³ wody;
 4^o, Na₂CO₃ suchy: 0.25 g w 10 cm³ wody.

Tabela I.

Oznaczenia choliny w lecytynie, poddanej w 38° C działaniu formaliny przez 4 dni. Wzrost choliny w procentach wartości początkowej. Każda analiza odpowiada 1/20 g lecytyny. Objętość całkowita pojedynczej próbki — około 28 cm³.
Cholinanalysen der Lecithinproben, welche bei 38° C. im Laufe von 4 Tagen mit Formalin digeriert wurden. Zuwachs des Cholins in Prozenten der urspr. Substanzmenge. Jeder Analyse entspricht 1/20 g des Lecithins. Gesamtvolumen einer Probe ca 28 ccm.

	Cholina w mg <i>Cholin in mg</i>		Cholina w mg <i>Cholin in mg</i>
Lecytyna sama	2.39	Lecytyna, węgiel sodu i formalina, po 4 dniach	2.80
	2.33		2.93
<i>Lecithin allein</i>	2.41	<i>Lecithin, Natriumcarbonat und Formalin; nach 4 Tagen</i>	3.08
	2.33		3.12
	2.26		2.89
	2.23		3.04
	2.35		2.98
Lecytyna z toluolem bez formaliny, po 4 dniach	2.24		Przyrost <i>Zuwachs</i>
	2.24		
<i>Lecithin mit Toluol ohne Formalin; nach 4 Tagen</i>	2.24		+ 26.8%
Lecytyna, kwas mrówkowy i formalina, po 4 dniach	2.27	Lecytyna, dwuwęgiel sodu i formalina, po 4 dniach	3.80
	2.19		3.78
	<i>Lecithin mit Ameisensäure und Formalin; nach 4 Tagen</i>		2.23
			3.31
Lecytyna, fosforany, formalina, po 4 dniach pH = 7.3	3.34	<i>Lecithin, Natriumbicarbonat und Formalin; nach 4 Tagen</i>	3.58
	3.34		
	3.34		
<i>Lecithin, Phosphatpuffer, Formalin; nach 4 Tagen</i> pH = 7.3	Przyrost <i>Zuwachs</i>		
	+ 42.1%		+ 52.3%

Doświadczenie № 2.

Wiedząc już, że w środowisku silnie kwaśnym reakcja nie zachodzi, a w lekko alkalicznym przebiega lepiej, niż w silnie alkalicznym, przeprowadziłem szereg prób z płynami o znanym pH, szukając optimum. Płyny przygotowałem podług SÖRENSENA. Ponieważ część roztworów SÖRENSENA nie posiada w tablicach podanych u CLARKA ('23) danych dla różnych temperatur, ozna-
 czałem pH w 38° kolorymetrycznie podług MICHAELISA (wska-
 zniki: m- i p-nitrofenol, γ i α dwunitrofenol).

Roztwór Nr. 1:	5 cm ³ boranu	+ 5 cm ³ NaOH	; pH = 10.6 w 38° C
" "	2:3 cm ³ KH ₂ PO ₄	+ 6 cm ³ Na ₂ HPO ₄	; pH = 7.3 "
" "	3:9.5 cm ³ cytrynianu	+ 0.5 cm ³ NaOH	; pH = 5.1 "
" "	4:4 cm ³ cytrynianu	+ 6 cm ³ HCl	; pH = 3.3 "
" "	5:10 cm ³ HCl		; pH = 1.0 "

W każdym z tych roztworów rozpuściłem po 1 g lecytyny, dodałem po 1 cm³ 40% formaliny i analizowałem po okresie stania w temp. 37—39° przez 48 godzin. Wyniki podaje tabela II.

Tabela II.

Oznaczenia choliny w lecytynie, poddanej w 38° C działaniu formaliny przez 4 dni przy różnych pH. Każda analiza odpowiada $\frac{1}{30}$ g lecytyny. Objętość całkowita pojedynczej próbki około 28 cm³.

Cholinanalysen der Lecithinproben, welche bei 38° C im Laufe von 4 Tagen bei verschiedenen pH digeriert wurden. Jeder Analyse entspricht $\frac{1}{30}$ g des Lecithins. Gesamtvolumen einer Probe ca. 28 cm³.

Roztwory lecytyny <i>Lösungen des Lecithins</i>	Cholina w mg <i>Cholin in mg</i>	Przyrost choliny <i>Zuwachs d. Cholinmenge</i>
Nr. 1 pH = 10.6	3.90	+ 10.1%
	3.90	+ 10.1%
Nr. 2 pH = 7.3	4.05	+ 14.4%
	4.12	+ 16.6%
Nr. 3 pH = 5.1	4.21	+ 18.9%
	4.24	+ 19.8%
Nr. 4 pH = 3.3	3.65	+ 3.1%
	—	—
Nr. 5 pH = 1.0	3.44	— 3.1%
	3.40	— 2.8%
Kontrola. <i>Kontrolle.</i>	3.59	—
	3.50	—

W roztworze słabo kwaśnym, którego pH przed dodaniem lecytyny wynosiło 5.1, przyrost ilości choliny po 48 godzinach był największy, wynosząc 19% wartości początkowej. Dla płynów bardziej alkalicznych wartości są nieco niższe, przyrosty wynoszą: dla pH 7.3—15%, dla pH 10.6—10%. Silniejsza kwasota, niż pH 5, wpływa ujemnie na wydajność reakcji: dla pH 3 i 1 wartości przyrostów leżą już w granicach błędu doświadczenia (pH 3.3: przyrost + 3%; pH 1: ubytek — 3%). Z danych powyższych wynika, że optimum metylowania kefaliny w 38° leży między pH 5 i 7, t. j. po stronie alkalicznej od punktu izoelektrycznego lecytyny, który leży, według danych z literatury (BETHE '27), między pH 2 i 4. W płynie № 3 lecytyna pozostała

w roztworze, wydzielając się w kwaśniejszych płynach. W ciągu trwania doświadczenia woń formaliny znikła zupełnie w płynie najbardziej alkalicznym, utrzymując się w innych płynach. Zjawisko to tłumaczę sobie przemianą aldehydu mrówkowego w alkohol metylowy i kwas mrówkowy w środowisku alkalicznym (EULER '28). Przyrost choliny w doświadczeniu opisywanem jest mniejszy, niż w poprzednim. Zauważyłem wogóle, że im wyższa zawartość choliny w produkcie wyjściowym, tem mniejszy jest przyrost procentowy po traktowaniu formaliną. Należy nadmienić, że zawartość choliny waha się znacznie w różnych kupnych preparatach lecytyny; w moich doświadczeniach znajdowałem od 46 do 72 mg choliny na gram lecytyny.

Tabela III.

Oznaczenia choliny w lecytynie, poddanej w 38° C działaniu formaliny w ciągu różnych okresów czasu. Każdej analizie odpowiada $\frac{1}{20}$ g lecytyny. Objętość całkowita pojedynczej próbki około 28 cm³.

Cholinanalysen der Lecithinproben, welche bei 38° C mit Formalin verschieden lang digeriert wurden. Jeder Analyse entspricht $\frac{1}{20}$ g des Lecithins. Gesamtvolumen einer Probe ca. 28 ccm.

Lecytyna z formaliną i fosforanami <i>Lecithin mit Formalin und Phosphatpuffer</i> pH = 7.3	Cholina w mg <i>Cholin in mg</i>	Przyrost choliny <i>Zuwachs d. Cholinmenge</i>
Po 52 godzinach <i>Nach 52 Stunden</i>	4.14 4.10	+ 16.9% + 15.8%
Po 48 godzinach <i>Nach 48 Stunden</i>	4.05 —	+ 14.4% —
Po 24 godzinach <i>Nach 24 Stunden</i>	3.89 3.93	+ 9.8% + 11.0%
Bezpośrednio analizowana <i>Sofort analysiert</i>	3.59 3.50	— —

Z tym samym preparatem lecytyny, który użyłem do doświadczenia nad wpływem odczynu środowiska na intensywność metylowania, przeprowadziłem doświadczenie nad przebiegiem reakcji w czasie, analizując próbki lecytyny z formaliną po 1, 2, 3 dniach trzymania ich w temperaturze 38°. Wyniki podane są w tabeli III. Z danych analiz wynika, że przyrost choliny w trzecim dniu doświadczenia był już znacznie mniejszy, niż w pierwszym i w drugim, leżąc już w granicach błędu doświadczenia.

Doświadczenie № 3.

W doświadczeniu tem, dodając 1 cm³, albo 0.1 cm³ 40% formaliny na gram lecytyny, otrzymuję po 3 tygodniach prawie

ten sam przyrost choliny—od 11 do 16.4%. Poza tem porównywuję wyniki doświadczenia, prowadzonego w temperaturze pokojowej i w 38°. Maksymalny przyrost choliny nie przekracza tu 17% nawet po 3 tygodniach. Wynosi on 16.4, 11.0, 11.0% średnio 12.8% po 3 tygodniach, gdy po 2 dniach w 38° przyrost wyraża się już cyfrą 10.4%.

Wyniki szczegółowe w tabeli IV.

Tabela IV.

Oznaczenia choliny w próbkach lecytyny, poddanych działaniu różnych koncentracji formaliny, w 38° C i w temperaturze pokojowej. Każdej analizie odpowiada $\frac{1}{20}$ g lecytyny. Objętość całkowita pojedynczej próbki około 28 cm³.

Cholinanalysen der Lecithinproben, welche bei verschiedenen Temperaturen und mit verschiedenen Konzentrationen des Formaldehyds digeriert wurden. Jeder Analyse entspricht $\frac{1}{20}$ g des Lecithins. Gesamtvolumen einer Probe ca. 28 ccm.

	Cholina w mg Cholin in mg		Cholina w mg Cholin in mg
Lecytyna sama	3.29	1 g lecytyny + 2 cm ³ 40% form. 3 tygodnie. Temperatura poko- jowa. pH = 7.1	3.79
	3.27		3.85
Lecithin allein	3.46	1 g des Lecithins + 2 ccm. d. 40% Formaldehyds. Nach 3 Wochen. Zimmertemperatur. pH = 7.1	4.02
	3.41		3.99
	3.36		3.91 Przyrost Zuwachs + 16.4%
1 g lecytyny + 2 cm ³ 40% HCHO; 38°C; pH = 7.3. Po 48 godzinach	3.58	1 g lecytyny z 0.1 cm ³ 40% for- maliny. 3 tygodnie. Temp. poko- jowa. pH = 7.1	3.85
	3.79		3.79
	3.71		3.63
	3.78		3.68
1 g des Lecithins + 2 ccm. 40% HCHO: 38°C; pH = 7.3. Nach 48 Stunden.	3.71		3.74
	Przyrost Zuwachs + 10.4%		Przyrost Zuwachs + 11.0%
1 g lecytyny + 1 cm ³ 40% HCHO; Temp. pokojowa. 3 tygodnie; pH = 7.1	3.74	1 g des Lecithins + 0.1 ccm. d. 40% Formaldehyds. Zimmer- temperatur. Nach 3 Wochen. pH = 7.1	
	3.75		
	3.74		
1 g des Lecithins + 1 ccm. 40% HCHO. Zimmertemp.. Nach 3 Wochen. pH = 7.1	Przyrost Zuwachs + 11.0%		

Doświadczenie № 4.

Przechodząc do zagadnienia, czy wyciągi zwierzęce posiadają widoczny wpływ na opisany tu proces metylowania, przeprowadziłem doświadczenia w następujący sposób. Szereg jednogramowych próbek lecytyny rozdzieliłem na 2 serje. Każdą próbkę rozpuściłem w 5 cm³ wody i dodałem do każdej określoną ilość formaliny i wyciągu wodnego z wątroby cielej. Następnie jedną

z seryj poddałem ogrzewaniu w 100° w ciągu 15 minut, drugiej—nie ogrzewałem. Po 4 dniach trzymania w temperaturze pokojowej obie serje analizowałem. Dwie takie serje analiz wykonałem dla wyciągu z każdego poszczególnego narządu. Zbadałem trzy ekstrakty wodne z wątroby cielęcej. Dwa wyciągi zachowały się biernie, to jest przyrost choline w lecytynie pod wpływem aldehydu był jednakowy w roztworach ogrzanych do 100° i nie ogrzewanych; jeden wyciąg natomiast posiadał wyraźny wpływ na końcową wydajność choline.

Przyrost choline jednak i w tym przypadku nie przekraczał wartości, otrzymanych w wyżej opisanych doświadczeniach №№ 1 — 3, w których nie stosowałem ekstraktów. Trudność znalezienia warunków optymalnych w doświadczeniach z fermentami jest wielka, tak że doświadczenie to, jako pozytywne, opisuję.

Tabela V.

Analizy choline w lecytynie, która po dodaniu wyciągu wodnego z wątroby cielęcej była poddana 4-dniowemu działaniu formaliny w temperaturze zwykłej. Każdej analizie odpowiada $\frac{1}{20}$ g lecytyny. Objętość całkowita pojedynczej próbki około 18 cm³.

Cholinanalysen der Lecithinproben, welche nach dem Zusatz des wässrigen Leberextraktes des Kalbes mit Formalin bei gewöhnlicher Temperatur 4 Tagen lang digeriert wurden. Jeder Analyse entspricht $\frac{1}{20}$ g des Lecithins. Gesamtvolumen einer Probe ca. 18 cm.

	Cholina w mg Cholin mg		Cholina w mg Cholin in mg	Przyrost choline Zuwachs der Cholinmenge
Lecytyna + wyciąg wodny z wątroby + 1 cm ³ toluolu. Bez formaliny.		Lecytyna + wyciąg z wą- troby + 1 cm ³ 40% formaliny		
<i>Lecithin + wässriger Leber- extrakt + 1 cm. des To- luols. Ohne Formalin</i>	2.72	<i>Lecithin + wässriger Lebe- rextrakt + 1cm. des 40% Formaldehyds</i>	3.35	+ 23.4%
	2.69		3.43	+ 26.9%
	2.70		3.39	+ 25.6%
Lecytyna sama <i>Lecithin allein</i>	2.54			+ 25.3%
Wyciąg z wątroby z forma- liną bez lecytyny. <i>Leberextrakt mit Formalin, ohne Lecithin</i>	0.19	Lecytyna, wyciąg z wątroby, zdenaturowany ogrzaniem.	2.85 2.92 2.99 2.87 2.97 3.11	+ 5.6% + 7.9% + 10.4% + 6.5% + 9.9% + 14.9%
Sam wyciąg z wątroby, od- razu analizowany <i>Leberextrakt allein, sofort analysiert</i>	0.08	<i>Lecithin. In der Hitze koagu- liertes Leberextrakt. Formalin</i>		+ 9.2%

100 g wątroby cielęcej roztarłem z wodą, i po perkolacji plyn dopełniłem do 100 cm³. Odważyłem szereg jednogramowych próbek lecytyny, dodając do każdej po 5 cm³ wody, 10 cm³ ekstraktu i 2 cm³ 40% formaliny. Jedną serję ogrzałem do 100°, drugiej nie ogrzewałem. Analizy po 4 dniach. Wyniki podane są w tabeli V.

Ilość choliny w użytym preparacie lecytyny wynosiła 2.54 mg na 0.05 g preparatu. Po dodaniu wyciągu ilość choliny wrosła do 2.70 mg. Różnica ta wywołana jest obecnością choliny w wyciągu. Według analizy, ilość ekstraktu, dodana do 1 g lecytyny, zawierała 0.08 mg choliny.

Po 48 godzinach reagowania lecytyny z formaliną, ilość choliny wzrosła. Przyrost wyniósł średnio 25.3%, gdy dodany wyciąg z wątroby nie był skoagulowany. W obecności skoagulowanego wyciągu przyrost był mniejszy i wynosił od 5.6 do 15%.

Wnioski.

1°. Działając aldehydem mrówkowym na lecytynę handlową, zawierającą kefalinę, w warunkach normalnych ciśnienia, odczynu i temperatury, stwierdziłem tworzenie się nowych ilości choliny. Fakt ten tłumaczę sobie częściowem przejściem kefaliny w lecytynę wskutek zmetylowania wolnych grup aminowych kefaliny.

Przyrost choliny dochodzi w 38° do 53% początkowej wartości; zwykle wynosi od 10 do 29%. Optyimum metylowania leży prawdopodobnie między pH 5 i 7.

2°. Ilość tworzącej się choliny nie odpowiada ilości wolnych grup aminowych, stwierdzonych w lecytynie metodą VAN SLYKE'A. Należy więc przypuszczać, że albo w lecytynie handlowej prócz aminoalkoholu znajdują się inne ciała azotowe o wolnych grupach aminowych, albo że reakcja nie przebiega ilościowo do końca. Istnieje też możliwość reakcyj ubocznych.

3°. Przez dodanie wyciągu wodnego z wątroby cielęcej nie osiągamy większej wydajności choliny, niż bez dodawania wyciągów.

Piśmiennictwo.

Abelous J. E. et R. Delas. 1926. Inactivation de l'adrenaline par le formol. Presence dans le sang normal de formol en quantité suffisante pour inactiver l'adrenaline excrétée par les surrenales. C. R. Soc. de Biol. **94** (999).
Bethe A., G. Bergmann, G. Embden, A. Ellinger. 1927. Handbuch der norm. u. path. Physiol. Berlin. **3** (174).
Clark W. M. 1923. The determination of hydrogen ions. Baltimore. (109—114).
Euler H., K. Myrbäck und R. Nilsson. 1928. Neuere Forschungen über den enzymatischen Kohlenhydratabbau. Erg. d. Physiol. **26** (536).
Guggenheim M. 1924. Die biogenen Amine. Berlin (88).
Klein G. und O. Werner. 1926. Formaldehyd als Zwischenprodukt bei der Kohlensäureassimilation. Bloch. Zeitschr. **168** (361).
Maurer K. 1936. Nach-

weis u. Bestimmung von Formaldehyd bei Gärungen. *Bioch. Zeitschr.* **173** (201).
Sharpe J. S. 1923. A method for the quantitative estimation of cholin in blood. *Bioch. Journ.* **27** (41). **Staněk V.** 1906. Über die quantitative Bestimmung von Cholin und Betain in pflanzlichen Stoffen und einige Bemerkungen über Lecithine. *Zeitschr. f. physiol. Chem.* **48** (334). **Trier G.** 1912. Über einfache Pflanzenbasen und ihre Beziehungen zum Aufbau der Eiweisstoffe und Lecithine. Berlin. Bornträger. (47).

[„Prace Instytutu im. Nenckiego”. № 66*]

M. Chejfec.

Przebieg reorganizacji jądrowej u *Paramecium caudatum*.

*On the nuclear reorganization in *Paramecium caudatum*.*

Rękopis nadesłany w dniu 11. V. 1928 r.

The present paper is dealing with the course of nuclear reorganization in *Paramecium caudatum*, in individuals as well as in mass cultures, with the rhythmicity of reorganization and its dependence on external factors, finally with the necessity of endomixis for the organism and its connection with depressions.

The cultures of infusoria were fed with a suspension of *Bacterium Coli* the concentration of which has been 75.000 bacteria in 1 mm³. Only pure cultures of bacteria were used. Table I (p. 96) demonstrates the degree of uniformity of the feeding conditions. It contains the numbers of individuals, obtained from 25 individuals each, in the course of 2, 4 and 6 days. For every concentration of bacteria the corresponding numbers of infusoria are very similar.

The investigation concerned particularly one culture of *Paramecium* in which in every period of its life there were at least 1 — 5% of individuals with reorganizing nuclear apparatus. During 5 months of observation the culture proved to be normal in every respect: the quantity of food vacuoles, the pulsation of the contractile vacuoles, the microscopical appearance of protoplasm, the rapidity of movement, the number and the appearance of phosphate crystals, all this did not change even in periods of increased reorganization processes, when the culture contained nearly 80% of endomictic individuals. Among 411 protozoa which divided during the 24 hours, 33% had an endomictic nuclear ap-

* Z Zakładu Morfologii Doświadczalnej Instytutu im. Nenckiego.

paratus. Among 248 individuals which did not divide during the same time there were 50% reorganizing *Paramaecia*. It seems to follow from this that the endomictic processes hinder the division to a certain extent. However this hindrance is very insignificant one and in numerous cases it was not existent at all. Thus the endomictic periods of the culture were not connected with any depression.

Table II (p. 101) contains the percentage of reorganizing protozoa of the mass culture for five days periods during 5 months of observation. The curves (p. 102) correspond to the data of the table. Curve I is drawn for the reorganization rate in temperature 15 — 20° C and for culture fed with *B. Coli*, curve II—temperature 22.5° C, *B. Coli*. Curve III — 15 — 20° C, hay infusion, curve IV — 22, 5° C, hay infusion. Marked rhythms are to be seen, but in *B. Coli* the percentage of endomictic individuals never falls to 0. In hay infusion the percentage of reorganizing protozoa is lower. In all cultures the maxima of reorganization occurred nearly at the same time. Transferring of the protozoa from *B. Coli* into hay infusion reduces markedly the percentage of endomixis but it does not influence its rhythmicity. Reversely passing from hay infusion to bacteria increases the reorganization — the rate of endomixis is then above 80% — but again it does not change the rhythmicity. The rhythm is thus a constant peculiarity of the culture and only in a slight degree it depends on external conditions.

Observations in separate lines, in which after every division one individual of each line has been preserved and stained in order to relate the state of the nuclear apparatus of its division partner, proved that the reorganization may be repeated in 1 to 5 successive generations. Table IV. (p. 108) shows the result of one of such series of observations. Letters above mark different pure lines. The upper number of each square means the number of individuals at the beginning of a day, the lower one corresponds to the individuals which remained for further divisions. Letter N. means that the preserved individual possessed a normal nuclear apparatus, the letter R. — that it has been a reorganizing one. A number beside N or R means that there were preserved more than one individual.

As during endomixis there occurs in *Paramaecium cauda-*

tum only one division, the reorganization process must appear several times, as in lines A, B, C, D, E etc.

After preserving with picric acid and staining with Methylgrün + Boraxcarmin (Zweibaum) it has been possible to trace the cytological course of the reorganization. Statistics of different stages of the reorganization in mass cultures proved to be very useful in establishing the exact succession of stages (tab. V, p. 111). Fig. 2 shows the course of endomixis in *Paramaecium caudatum*. The same is very similar to the reorganization process known for *P. aurelia*.

There is no exact synchronism of endomixis in a culture. Fig. 3 (p. 112) shows 10 separate lines of infusoria observed daily during 70 days. The reorganization occurs in every line at regular time intervals but in different lines the moment of endomixis may be very different. Endomixis is a periodical process but it is regularly periodic only in pure lines not necessarily in a mass culture.

Endomixis depends on internal factors but it may be influenced by external stimuli also, especially by the quality of food and the properties of the outer medium. There is nothing pathological in it as the observed culture proved to be perfectly normal in every respect.

There exists a morphological and a physiological side of the reorganization process. If reorganization means the liberating of the organism from the accumulated products of metabolism, then this process is necessary and it must occur regularly in every culture of each species of infusoria. But there may exist several ways of such liberating and the morphological reorganization or endomixis means only one of many different possibilities. Therefore it may be avoided. Endomixis seems to be a process which is not so much connected with a definite species of protozoa, as with the culture and with the conditions of breeding. Among numerous cultures of *P. caudatum* the author succeeded to find endomixis only in one particular culture, never in others.

W hodowlach wymoczków: *Blepharisma undulans*, *Histrio complanatus*, *Gastrostyla steinii*, *Paramaecium aurelia*, *P. caudatum*, *P. calkinsi*, *Oxytricha fallax*, *Spathidium spathula*, *Stylonychia mytilus* występują okresowo obniżenia podzielności oraz daleko posunięte zmiany fizjologiczno-morfologiczne prowadzące wreszcie do wymierania, które oznaczono szeregami terminów, jak to: „dégénérescence sénile“ (MAUPAS '89), „physiologischer Tod“ (R. HERTWIG '04), „depression periods“ (CALKINS '02, '04). W okresach tych praca rzęsek jest zwolniona, liczne osobniki padają na dno naczyń, obserwacja mikroskopowa wykazuje, obok patologicznych częstokroć zmian kształtu ciała, zmiany wyglądu plazmatycznego: występowanie silnych ziarnistości, ściemnienie, zwakuolizowanie, zmiany jądra, ilości wodniczków i t. d.

We wczesnych swych pracach MAUPAS ('88, '89), R. HERTWIG ('00, '04) i CALKINS ('02, '03) stwierdzają zgodnie, że o ile w okresie depresji nie wystąpi konjugacja, kultura ostatecznie musi zginąć. Jednak CALKINS ('03) wyhodował 724 pokolenia *Paramaecium aurelia* i chociaż w ciągu piętnastomiesięcznej hodowli cztery razy zauważył wystąpienie opisywanych powyżej zjawisk degeneracji, za każdym razem sztucznymi środkami udawało mu się kultury ożywić i pobudzić do dalszego rozwoju. Po raz pierwszy przez silne mechaniczne wstrząsy i mieszanie środowiska kultury, w drugim i trzecim przypadku przez zamianę pożywki sianowej na buljon mięsny, wreszcie w czwartym przypadku przez podniesienie temperatury. Na uwagę zasługuje fakt, że między okresami daleko posuniętej depresji, którą zwalczał wymienionymi środkami, występowały okresowo zmiany mniej wyraźne, związane zawsze z obniżeniem podzielności, jednak regulujące się automatycznie. Wkrótce potem ENRIQUES ('03) wykazał dla *Glaucoma scintillans*, że degeneracja kultur może być wywołana szkodliwym wpływem pewnych bakterij, opanowujących środowisko, i zaznaczył, że możliwe jest wyłączenie tego czynnika przez oczyszczenie i zmianę pożywki. Degeneracja jest więc jego zdaniem funkcją szkodliwych wpływów środowiska.

Istotnie, udało się WOODRUFFOWI ('07) przez odpowiedni dobór środowiska wyhodować kultury, w których po 4500 pokoleniach żadnych śladów depresji starszej nie było, chociaż okresowe występowanie zmniejszonej podzielności nie zostało z owych hodowli wyłączone.

WOODRUFF i BAITSSELL ('11) zbadali następnie wpływ temperatury na podzielność i stwierdzili, że jakkolwiek podzielność wzrasta się ze wzrostem temperatury w sposób właściwy dla reakcyj chemicznych, to nie da się tego powiedzieć o okresach obniżonego podziału, gdzie podniesienie temperatury nie wywoływało odpowiedniego wzmoczenia podzielności.

W ten sposób dowiedziono, że można uniknąć ostatecznej degeneracji w kulturach, że konjugacja nie jest wyłączną drogą do ożywienia hodowli, gdyż mogą ją zastąpić sztuczne środki pobudzające, że jednak w normalnej hodowli występują niezależne od warunków zewnętrznych zahamowania rozwoju, związane z obniżeniem podzielności.

W dalszym ciągu WOODRUFF ('11, '12, '13), prowadząc wieloletnie hodowle pojedynczych pierwotniaków w warunkach uniemożliwiających zupełnie konjugację, stwierdził, że *Paramaecium aurelia* co pewien czas dzieli się rzadziej, przyczem zjawisko to powtarza się w regularnych odstępach czasu, wynoszących od 4 do 6 tygodni, i po okresie obniżonej podzielnosci, obejmującym 5—10 pokoleń, podzielnosc wraca do normy. Nie ulegało wątpliwości, że w normalnej hodowli występują pewne rytmy rozwojowe, niezależne naogół, jak sądzi WOODRUFF, od warunków zewnętrznych.

W swej obszernej pracy WOODRUFF i ERDMANN ('14) stwierdzili u *Paramaecium aurelia*, że okresy zwolnionych podziałów wiążą się z reorganizacją całego aparatu jądrowego, przyczem zmiany zachodzące tutaj są powtórzeniem tego, co zachodzi w wymoczkach konjugujących. Jądro większe rozpada się na szereg fragmentów i stopniowo zanika. Jądra małe dzielą się każde na dwa, z pozostałych czterech jąder mniejszych trzy zanikają, a pozostałe dzieli się trzykrotnie, wobec czego występuje osiem jąder małych, z których cztery wyrastają i przekształcają się w jądra duże, cztery zaś pozostają jako jądra małe. Po dwukrotnym podziale wymoczka, gdy z jednego osobnika powstają cztery, każdy posiada normalny aparat jądrowy, ale zawierający tylko 1/32 część pierwotnego jądra małego. Cały proces nazwali autorowie *endomixis*; występuje w nim, zarówno jak w konjugacji, zupełna redukcja jądra dużego i wielkiej części jąder mniejszych, niema tylko wymiany i zlewania się jąder dwóch osobników sprzężonych. W przeciwieństwie do konjugacji proces ten nazwał R. HERTWIG ('14) partenogeneza.

R. HERTWIG ('14), CALKINS ('15, '16), WOODRUFF ('16, '17) potwierdzili, że rytmy zachodzą pomimo najlepszych warunków życiowych. Co pewien czas występuje zmniejszona podzielnosc, związana z całkowitą reorganizacją aparatu jądrowego i reorganizacja ta odgrywa prawdopodobnie jakąś bardzo ważną rolę życiową, być może o wiele ważniejszą od konjugacji. R. HERTWIG ('14) wskazuje, że konjugacja jest raczej pierwszym stopniem reorganizacji jądrowej, bowiem istnieje możliwość uniknięcia jej (rozdzielenie osobników, bodźce fizyko-chemiczne), podczas gdy zwykła reorganizacja, bez sprzężenia osobników, czyli *endomixis* jest koniecznością organizmu, zmuszonego do wyzbycia się nadmiaru produktów zaburzeń funkcjonalnych, nagromadzonych prawdopodobnie w jądrze. O ile to zjawisko nie nastąpi, wymoczki muszą zginąć. Analogiczny pogląd dla konjugacji wypowiedział już LOISEL ('03).

R. HERTWIG wraz z DOFLEINEM ('19) dopatrują się w tym procesie zjawiska śmierci częściowej (Partialtod), przy którym zamiera i zostaje wchłonięta przez organizm ogromna ilość substancji jądrowej. Dalsze badania WOODRUFFA i ERDMANN ('16) wykazały, że osobniki *Paramaecium*, pochodzące z różnych miejscowości Ameryki, umieszczone w jednakowych warunkach lub też hodowane w warunkach rozmaitych, np. w niejednakowym środowisku pokarmowym lub w naczyniach różnej wielkości, wykazywały występowanie rytmów mniej więcej w tym samym czasie; o ile nawet rozmnażanie się pewnej hodowli dzięki sprzyjającym warunkom było szybsze niż innej, to pomimo rozmaitej liczby pokoleń w między-

czasie, reorganizacja wystąpiła w tym samym terminie. Okresowość reorganizacji byłaby więc wyrazem rytmiki wewnętrznej, niezależnej od liczby pokoleń, lub warunków otoczenia. Jednak JOLLOSOWI ('16) udało się wywołać rozpad jądrowy przez odpowiednio dobrane zmiany chemiczne środowiska, temperatury, wielkości naczyń i t. p. Np. zaniedbanie kultury, dodanie słabego roztworu amonjaku może wywołać przyspieszenie rytmu; za pomocą tej ostatniej metody zmuszał nawet pierwotniaki do reorganizacji aparatu jądrowego co trzy dni. Odwrotnie, stosując dogodne warunki hodowli, zwłaszcza dużą stosunkowo ilość cieczy hodowlanej, osiągnął JOLLOS odsunięcie reorganizacji jądrowej o 168 pokoleń w krańcowym przypadku. Ciekawe jednak, że u *Paramecium aurelia* w żadnym razie nie udało mu się endomiksji uniknąć.

Wreszcie YOUNG ('17, '18), powołując się na własne obserwacje, związane z analizą materiałów, które operuje WOODRUFF, przytaczając jednocześnie argumenty POPOFFA ('09) i SUNA ('12), wskazuje, że nie zawsze najniższa podzielność wiąże się z reorganizacją jądrową, podkreśla, że może ona być związana raczej ze wzrostem podziałów. Sama *endomixis*, z którym to terminem zresztą nie zgadza się JOLLOS ('16), ze względu na brak mieszania się substancji jądrowej, jak przy konjugacji, nie koniecznie musi być związana z odmłodzeniem, może ona mieć zupełnie swoiste znaczenie. Zdaniem jego prace dotychczasowe nie rozwiązały, ani ostatecznie nie wyjaśniły tego niezwykle ciekawego procesu.

Zjawisko jest tembardziej zagadkowe, że u blisko sobie pokrewnych gatunków mogą pod tym względem panować zupełnie różne stosunki. Np. *Paramecium calkinsi*, w trzynastomiesięcznej hodowli SPENCERA ('24), wykazuje wprawdzie okresowe wahania podzielności, ale nie endomiksję lub konjugację. Podobnie *Histrio complanatus* według DAWSONA ('26) nie wykazuje endomiksji, jakkolwiek podzielność tego wymoczka waha się okresowo. Z drugiej strony brak wszelkiej rytmiki u całego szeregu gatunków zdaje się zaprzeczać ważnemu życiowemu znaczeniu endomiksji.

Wszystkie te fakty można streścić w kilku punktach:

- 1^o. W hodowlach niektórych wymoczków istnieją samorzutne niezależne od warunków zewnętrznych okresy depresyjne, związane z reorganizacją aparatu jądrowego.
- 2^o. Reorganizacja jądrowa jest koniecznością organizmu, jej brak powoduje śmierć kultury.
- 3^o. Proces reorganizacji występuje w regularnych odstępach czasu i ogarnia zawsze całą kulturę.
- 4^o. Przebieg procesu rozpadu poznany został szczegółowo tylko dla *Paramecium aurelia* i odpowiada ściśle reorganizacji jądrowej podczas konjugacji.

Obserwując przeszło od roku kultury *Paramecium caudatum*, poczyniłem szereg spostrzeżeń, co do których nie znalazłem danych w literaturze, a rzucających pewne światło na powyższe zagadnienia.

W szczególności praca niniejsza dotyczy:

1°. Przebiegu rozpadu jądrowego u *Paramaecium caudatum* zarówno w pojedynczych osobnikach, jak w kulturach masowych.

2°. Sprawy rytmiki rozpadu i jej zależności od czynników zewnętrznych.

3°. Związku procesów rozpadowych z depresjami oraz ich konieczności dla ustroju.

M e t o d y k a.

Czyste kultury *Paramaecium caudatum* założyłem w listopadzie 1926 r. biorąc pojedynczego pierwotniaka ze starych kultur laboratoryjnych. Hodowlę masową prowadziłem początkowo na zwykłym wywarze sianowym, przegotowywanym od 5-ciu do 15-tu minut. Dopiero w kwietniu 1927 r., dla ujednostajnienia środowiska pokarmowego, przeszedłem do pożywki bakteryjnej czystej. Założyłem w tym celu czyste kultury *Bacterium Coli*, które hodowałem na mięsno-peptonowym agarze. Probówki z kulturami trzymałem 48 godzin w termostacie w 37° C, następnie, po godzinnym wystudzeniu w temperaturze pokojowej do 18° C, zmywałem bakterje zwykłą wodą wodociągową i tę zawiesinę dodawałem wprost do czystej wody wodociągowej, w której znajdowały się wycieczki. Uprzednio szereg doświadczeń z zawiesinami bakteryjnymi o rozmaitem stężeniu wskazał, jakie stężenia są najkorzystniejsze. Zawiesiny, w których przy pomocy kamery THOMA-ZEISSA obliczałem zawartość bakteryj w 1 mm³, można było dość ściśle kontrolować. W ten sposób operowałem w moich kulturach stosunkowo znaczną jednorodnością warunków pokarmowych. Dla uplastycznienia, jak daleko można posunąć w ten sposób jednorodność warunków, posłużył szereg liczb podanych w tabeli I. Wyjściową ilością pierwotniaków we wszystkich tych próbach było 25 osobników, wydobytych z pierścienia geotropijnego w rurze napełnionej wodą. Wszystkie porcje osobników umieszczałem w jednakowych 15 cm³ naczyniach w 1 cm³ wody + 1 cm³ pożywki o określonym stężeniu bakteryjnym. Naczynka zamykałem korkami z waty i umieszczałem w termostacie w 22 — 23° C. Po 2, 4, 6 dobach otwierałem dwa naczynia każdej serji, utrzymywałem pierwotniaki i dokładnie je obliczałem. W tabeli I podaję dla każdego stężenia zawiesiny bakteryjnej liczbę pierwotniaków w 2 cm³ cieczy, w dwóch naczyniach serji. Stosunkowo znaczna zgodność ilości osobników każdej pary naczyń jest miarą jednorodności warunków, zaś podzielność dla każdego stężenia wskazuje nie tylko stopień skuteczności stosowania danego stężenia, ale także kiedy i w jakim stopniu należało środowisko odświeżać, aby utrzymać jednorodność warunków. Ostatecznie używałem do hodowli słoików o objętości 200 cm³, zawierających 150 cm³ kultury o stężeniu 75000 bakteryj w 1 mm³. Jakkolwiek stężenie to nie daje maksymalnej liczby osobników w porównaniu z innymi, to jednak mnożenie się wycieczek jest w niem najbardziej równomierne.

Środowisko kultury odświeżałem co dwa dni. W tych warunkach, o ile nie zaniedbywać słoików, kultury prosperują bardzo dobrze przez czas nieograniczony. O hodowli pojedynczych pierwotniaków będę mówił później, poprzestaną tu jedynie na stwierdzeniu, iż hodowanie pojedynczych osobników w środowisku *B. Coli* na szkiełkach wydrążonych jest o wiele łatwiejsze, niż w pożywece sianowej.

Tabela I.

Ilość osobników w środowisku *B. Coli* o rozmaitem stężeniu po 2, 4, 6 dniach.
Number of individuals in suspensions of B. Coli of different concentration after 2, 4, 6 days.

Czas w dobach <i>Days</i>		Zawartość bakterij w 1 mm ³ <i>Number of bacteria in 1 mm³</i>							
		25000		75000		125000		175000	
		1	2	1	2	1	2	1	2
2	Ilość osobników <i>Number of individuals</i>	366	390	224	262	197	168	127	179
4		583	567	1396	1665	1872	2039	2428	2786
6		486	519	1686	1620	3476	4000	6680	6770

Preparaty stałe utrwaląłem kwasem pikrynowym, barwiłem sposobem stosowanym przez ZWEIBAUMA (12): Boraxcarmin + Methylgrün w stosunku 1:2, i 1:4. Dokonałem uprzednio szeregu prób z barwikami jądrowymi i utrwalaczami; dla wczesnych stadijów rozpadu Boraxcarmin po utrwaleniu w kwasie pikrynowym, po bardzo silnem przebarwieniu (48 godzin), a następnie długotrwałem różnicowaniu zakwaszonym alkoholem, daje naogół zadawalające wyniki¹⁾. Jednak w dalszych stadiach metoda ta nie da się zastosować. W okresie *climax* najlepiej barwi stosowana przez ZWEIBAUMA mieszanina Boraxcarmin i Methylgrün, bowiem różnicuje jądra małe, szczególnie te, które są przeznaczone do wytworzenia jąder dużych. Należy jednak utrwalac materiał kwasem pikrynowym, nie zaś sublimatem, jak czynił ZWEIBAUM. Metoda ta ma jednak poważny brak, bowiem alkohole wymywają znacznie Methylgrün i dlatego najlepiej jest po jednorazowym krótkim przemyciu wodą destylowaną przenosić pierwotniaki do 70% alkoholu, poczem oglądać preparaty w glicerynie: intensywne zróżnicowanie zabarwienia jest łatwo na pierwszy rzut oka uchwytne, preparaty takie jednak po kilku tygodniach blakną.

W obserwacjach dorywczych stosowałem Methylgrün w 10% kwasie octowym.

Charakterystyka badanej kultury.

W ciągu moich badań miałem do czynienia z wieloma kulturami, hodowanymi w rozmaitych warunkach pokarmu i temperatury. Z nich jedną w sierpniu 1927 r. poddałem bardzo szcze-

¹⁾ Tę metodę zawdzięczam p. dr. PRZESMYCKIEMU.

gółowej obserwacji w celu ustalenia figur normalnego podziału i oznaczenia dokładnego czasu trwania tego zjawiska. Stwierdziłem wówczas, że w poszczególnych osobnikach aparat jądrowy ulega całemu szeregowi przeobrażeń, które przypominały znane z literatury zjawisko reorganizacji jądrowej. Sądząc, że mam do czynienia z jednym z rytmów, oczekiwałem, że po szeregu pokoleń nastąpi unormalizowanie aparatu jądrowego. Jednak w ciągu sierpnia przy każdej obserwacji utrwalonych preparatów znajdowałem pewien procent pierwotniaków z jądrem rozpadowem. Pozatem hodowla nie wykazywała jakichkolwiek anomalij, jak to wynika z poniższej charakterystyki.

Wymoczki wskazanej kultury są dość drobne: wielkość ich nie przekracza nigdy 200 mikronów, przeciętnie wynosi 170 mikronów. Wymoczki innych kultur, które wymierzyłem dla porównania, miały 230 do 260 mikronów. Przeciętna szybkość ruchu w środowisku bakteryjnym w temperaturze 18 — 20° C wynosi 0.9 — 1.1 mm/sek., w środowisku sianowem 0.5 — 0.9 mm/sek. Szybkość ruchu innych kultur, w których nigdy nie widziałem rozpadu, wynosi średnio 1.2 mm/sek. Stosunkowo mniejsza szybkość ruchu osobników kultury rozpadowej zależy prawdopodobnie od ich mniejszych wymiarów. Rzeczywiście wymoczki duże, 260 — 270 mikronowe, w kulturze normalnej wykazują szybkość 1.5 mm/sek., podczas gdy wymoczki mniejsze 230 — 250 mikronowe z tego samego środowiska wykazują już szybkość tylko 1.2 mm/sek. Wymoczki kultur rozpadowych, których wielkość nie przekracza 200 mikronów, wykazują też odpowiednio mniejszą szybkość. Szybkość ruchu w okresie rozpadu aparatu jądrowego pozostaje niezmienną. Gdy natychmiast po wymierzeniu szybkości poszczególnych osobników utrwaliałem je, aparat jądrowy w wielu razach okazywał się w stanie rozpadu, a jednak przeciętna szybkość ruchu tych osobników odpowiadała najzupełniej średniej szybkości osobników z jądrami normalnymi.

W małych kroplach wody ruchy pierwotniaków we wszystkich okresach badania kultury, niezależnie od obecności mniejszego lub większego procentu osobników o jądrze rozpadowem, odpowiadają ściśle prawom odbicia, opisywanym przez DEMBOWSKIEGO ('23).

Obserwacja mikroskopowa „in vivo“ wskazuje równomierne zabarwienie przezroczystej protoplazmy. Stopień przezroczystości

jest w środowisku *B. Coli* nieco większy, niż w sianowym, co w znacznym stopniu zależy od zabarwienia własnego wodniczki pokarmowych. Cechy mikroskopowe protoplazmy pierwotniaków mojej kultury rozpadowej nie różniły się od wyglądu protoplazmy osobników innych kultur.

Pulsowanie wodniczków tętniących w środowisku sianowym jest powolniejsze, niż w środowisku *B. Coli*. Przeciętny okres skurczu wodniczki przedniego w środowisku sianowym w temperaturze pokojowej 18 — 20° C wynosi od 7 do 9 sek., tylnego od 7.3 do 9.5 sek., w środowisku *B. Coli* w tej samej temperaturze okres przedniego wodniczki trwa 5.5 — 6.5 sek. tylnego 6.2 — 6.8 sek. W kulturach, w których nigdy rozpadu nie obserwowałem, przeciętny czas trwania skurczu wodniczków przedniego i tylnego jest większy. Tak więc w środowisku *B. Coli* wodniczek przedni wykonywa jeden skurcz na 8.5—9 sek., wodniczek tylny na 8.7—9.4 sek. W pożywce zaś sianowej wodniczek przedni wykonywa jeden skurcz średnio na 9.0—9.2 sek., tylny na 9.2—9.6 sekund. W okresie rozpadowym zmian w tętnie wodniczków, któreby przekroczyły podane granice, nie spostrzegłem. W kilkudziesięciu jednak przypadkach zaobserwowałem przyspieszenie tętna, gdzie tętno wodniczki przedniego wynosiło 1 skurcz na 5 sek., tylnego 1 skurcz na 6.2 sek. W całym szeregu obserwacji wymoczek po wymierzeniu tętna jego wodniczków, został utrwalony i zabarwiony. Mogłem stwierdzić w ten sposób, iż jakiegokolwiek wyraźnej różnicy tętna u osobników normalnych i o jądrze rozpadowym niema.

W celu oznaczenia liczby tworzących się wodniczków pokarmowych w rozmaitych okresach hodowli, przedsięwziąłem cały szereg doświadczeń. Karmiłem pierwotniaki stężoną zawiesiną *B. Coli*, pożywką sianową, zawiesiną tuszu i karminu. Przytaczam tu otrzymane wyniki dla dwóch stanów kultury rozpadowej. Gdy kultura zawierała 3% osobników o jądrze rozpadowym, po 15 minutowym pobycie w tuszu pierwotniaki utworzyły przeciętnie 7 wodniczków (kultura kontrolna normalna 6.6 wodniczków). Po 30 minutach w tuszu — 7 (kontrolna 7.1). W karminie po 15 minutach utworzyły 10 — 15 (kontrolne 16), po 30 minutach było 17 — 22 (kontrolne 19 — 20). Ta sama kultura w okresie silnie wzmożonego rozpadu, gdy około 70% osobników miało aparat jądrowy w stanie reorganizacji, dała ten sam wynik. Po 30 minutach wymoczki utworzyły: w tuszu 6 wodniczków (kon-

trolne 5.3), w karminie 21.5 (kontrolne 19). W środowisku *B. Coli* liczby wodniczków wypełnionych bakteriami zarówno w okresie rozpadowym, jak normalnym są prawie dokładnie te same. Poszczególne osobniki utworzyły od 8 do 11, przeciętnie 9.6 wodniczków. Kultury, z którymi pracuję, charakteryzują się, na co kładę nacisk, we wszystkich okresach równomierną zdolnością do tworzenia wodniczków, których ilość jest, zresztą w jednakowej mierze dla wszystkich, zależna od jakości podawanej substancji, co ilustruje ilość wodniczków w tuszu i w karminie.

Wymoczki zawierają znaczną ilość kryształów fosforanu wapnia, rozpuszczalnych w słabych roztworach kwasu octowego. Pomiędzy mniejszymi kryształkami, rozrzuconymi w plazmie, widnieją duże, umieszczone w otoczkach. W każdym osobniku można widzieć od 3 do 7 większych kryształów, ilość ich jednak, zarówno jak wielkość, ulega nieznacznym, trudno dającym się ustalić wahaniom, w każdym razie wahania te nie stoją w żadnym związku ze stanem normalnym czy rozpadowym kultury. Duża ilość kryształów jednakowo często występuje w osobnikach normalnych, jak w osobnikach o jądrze rozpadowym. Pierwotniaki, umieszczone w wysokich wąskich naczyniach, szybko tworzą charakterystyczne skupienia geotropijne. W słoikach na pożywce *B. Coli* bakterje opadają ku dołowi i wymoczki podążają za nimi; o ile słoiki z termostatu (temp. 22°) przenosiłem na okno, gdzie temperatura wahała się od 8 do 10° C, obserwowałem charakterystyczny pierścień z pierwotniaków, obsiadających ścianki naczynia tuż koło dna, nie zaś pod powierzchnią cieczy, jak to obserwujemy w środowisku wywaru sianowego. Po przeniesieniu słoika do termostatu, pierścień ten znikał już po 30 — 60 minutach. Wszystkie te szczegóły najzupełniej odpowiadają zachowaniu się pierwotniaków normalnych kultur w tych samych warunkach. W okresach wzmożonego rozpadu jądrowego nie ulegają one żadnej zmianie.

Pojedyncze pierwotniaki w kropli pożywki na szkiełkach wydrążonych, trzymanyh w komorze wilgotnej, dzielą się raz w ciągu doby w temperaturze 15 — 18° C. Nieliczne wyjątki z tej reguły zostaną omówione specjalnie (str. 106).

Podniesienie temperatury zwiększa podzielnosc. Już w granicach od 20 do 24° C występują w ciągu doby dwa podziały, co stwierdziłem w 70% przypadków. W okresach wzmożonego

rozpadu stosunki są te same, jakkolwiek pewne nikle zahamowanie podzielności zanotowałem kilkakrotnie.

W kulturze masowej, nawet bardzo dobrze prosperującej, niema mowy o 100 procentowym podziale w ciągu doby. Liczne doświadczenia i kilkakrotne przez całą dobę trwające obserwacje wskazują, iż podzielność w ciągu doby nie przekracza 25%, co dotyczy w tym samym stopniu kultury zarówno normalnej, jak i rozpadowej.

Przebieg rozpadu w kulturach masowych.

Obserwacje poniższe dotyczyły kultur, które stale odznaczały się obecnością pewnego procentu pierwotniaków, posiadających aparat jądrowy w stanie rozpadu. Liczba osobników rozpadowych wahała się w szerokich granicach, zależnie od okresu rozwoju kultury, od rodzaju pokarmu i temperatury. W celu zbadania wahań w procencie rozpadu oraz zależności jego od czynników zewnętrznych, wybrałem cztery jednakowe naczynia o pojemności 200 cm³, zawierające 150 cm³ kultury; z nich dwa pozostawiłem w temperaturze pokojowej, wahającej się w ciągu doświadczeń od 15 do 20° C, dwa zaś umieściłem w termostacie w temperaturze stałej 22° C. W jednym słoiku danej pary pożywką był wywar sianowy, w drugim *B. Coli*.

Codziennie z każdego naczynia, po lekkim zamieszanu, odlewałem do rurek wirówki próbkę kultury, zawierającą 150—300 osobników i po odwirowaniu pierwotniaków obliczałem procent osobników rozpadowych w każdej próbce. Obserwacje te prowadziłem codziennie od 20 listopada 1927 r. do 20 marca 1928 r. Wyniki otrzymane podaję w tabeli II, która zawiera przeciętny procent rozpadu dla okresów pięciodniowych (zestawienie szczegółowe podaję w końcu pracy na str. 120).

Jak widać z liczb, mamy do czynienia z procesem o zmiennym natężeniu: rozpad osiąga pewne minima i maksyma, dające się ująć w okresy, powtarzające się co 25—35 dni. Liczby podane w tej tabelce są średnimi arytmetycznymi obserwacji pięciodniowych, największy jednak procent jąder rozpadowych, jaki w tej serii miałem, był 80% (26 grudnia w kulturach pokojowych w środowisku *B. Coli*). Najniższa wartość w kilku przypadkach wyniosła 1% lub nieco poniżej. Naogół jednak w środowisku *B. Coli* w kulturach zawsze można znaleźć 1 do 5% osobników

z jądrami rozpadowemi. Cechę tę, jako wyróżniającą daną hodowlę pierwotniaków, podkreślam specjalnie.

Natomiast w środowisku wywaru sianowego procent pierwotniaków z jądrami rozpadowemi po każdym okresie wzmożonego rozpadu spada do zera. Jednak w okresie odpowiadającym wielkiemu przyrostowi osobników rozpadowych w hodowlach na

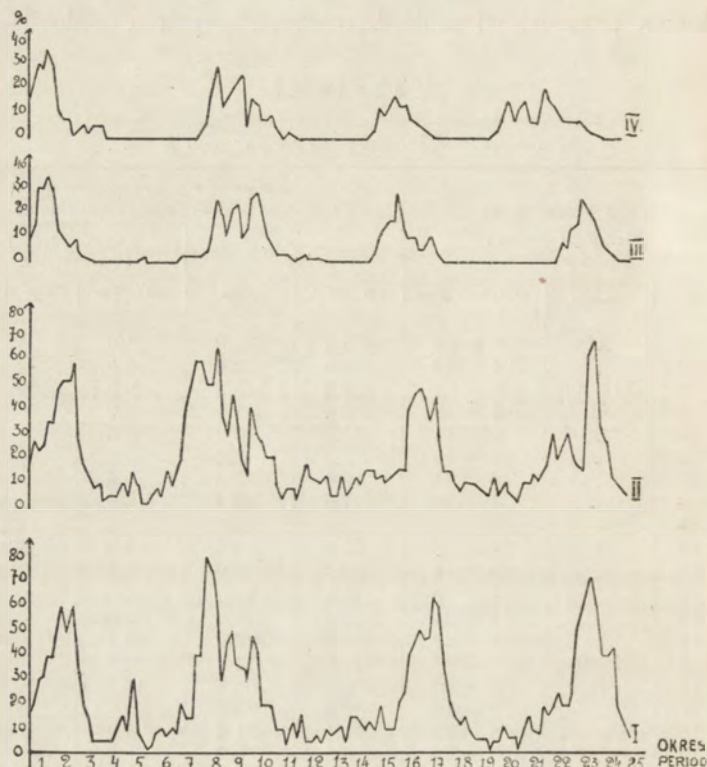
Tabela II.

Przeciętny procent rozpadu dla okresów pięciodniowych.
The average reorganization-rate for five days periods.

Okres pięciodniowy <i>Five days periods</i>			% osobników rozpadowych <i>Percentage of reorganizing individuals</i>			
			<i>B. Coli</i>		Wywar sianowy <i>Hay infusion</i>	
№	Miesiąc <i>Month</i>	Dzień --- Day	15° — 20°	22.5°	15° — 20°	22.5°
1	XI	20 — 24	25.6	25.0	25.0	24.3
2	"	24 — 29	52.0	49.0	11.0	12.5
3	XI—XII	29 — 4	16.0	14.2	3.0	5.0
4	XII	4 — 9	8.0	7.4	0.0	0.0
5	"	9 — 14	11.0	5.2	0.6	1.3
6	"	14 — 19	7.2	8.6	0.0	0.0
7	"	19 — 24	19.6	37.0	0.6	0.0
8	"	24 — 29	57.0	53.4	14.0	14.6
9	XII—I	29 — 4	39.0	28.0	17.6	15.2
10	I	4 — 9	35.0	28.0	18.0	17.0
11	"	9 — 14	9.0	5.0	2.4	1.2
15	"	14 — 19	6.4	12.0	0.0	0.0
13	"	19 — 24	9.0	8.8	1.9	0.0
14	"	24 — 29	13.0	12.0	0.4	0.0
15	I—II	29 — 3	12.4	11.4	0.0	0.0
16	II	3 — 8	36.4	35.0	16.0	10.8
17	"	8 — 13	50.2	38.2	9.2	9.0
18	"	13 — 18	14.4	11.0	4.8	1.8
19	"	18 — 23	6.0	8.2	0.0	0.9
20	"	23 — 28	6.2	6.0	0.0	1.2
21	II—III	28 — 4	12.0	12.2	0.0	8.0
22	III	4 — 9	20.0	21.2	0.0	12.0
23	"	9 — 14	53.0	41.3	5.4	8.0
24	"	14 — 19	56.0	48.0	—	—

B. Coli wzrasta także liczba pierwotniaków rozpadowych w kulturach sianowych, lecz tu procent rozpadu nie jest tak wysoki, jak w pożywkach *B. Coli*. We wszystkich hodowlach maksimum rozpadu zachodzi mniej więcej jednocześnie. Z porównania kultur pokojowych (wahania temperatury $\pm 5^\circ$) i termostatowych (temperatura 22.5°) wynika, że zmiany temperatury w tych granicach nie wpływają na procent rozpadu w sposób wyraźny.

Do pewnego stopnia, stała temperatura obniża procent rozpadu, ale rytmika zmian w kulturach termostatowych jest zupełnie niemal identyczna ze zmianami w kulturach pokojowych. Stosunki te występują wyraźnie na załączonych krzywych, wykre-



Rys. 1. Na osi x — kolejne okresy 5-dniowe, na osi y — procent osobników rozpadowych. I — pożywka *Bacterium Coli*, temperatura 15—20°, II — *B. Coli*, 22.5°, III — wywar sianowy, 15—20°, IV — wywar sianowy, 22.5°

Horizontal numbers correspond to 5-days periods, vertical ones to the percentage of reorganizing individuals. I — culture fed on *B. Coli*, temperature 15—20°, II — *B. Coli*, 22.5°, III — hay infusion, 15—20°, IV — hay infusion 22.5°.

ślonych na zasadzie przytoczonych w końcu pracy (str. 120) obliczeń codziennych. Krzywa I przedstawia procent rozpadu w temperaturze 15—20° C w pożywce *B. Coli*. Krzywa II odpowiada temperaturze 22.5° C w pożywce *B. Coli*. Krzywa III w temperaturze 15—20° C w wywarze sianowym. Krzywa IV w temperaturze 22.5° C w wywarze sianowym.

W przeciwieństwie do niewielkich wahań temperatury, zmiana pokarmu wpływa całkowicie na charakter kultury, czynnik pokarmu stosowanego w hodowli jest decydujący. Pożywka *B. Coli* podnosi i wzmacnia tendencję rozpadu, środowisko zaś sianowe ją tłumi. Wielokrotnie stwierdziłem, że o ile w okresie wzmoczonego rozpadu przenosiłem pierwotniaki ze środowiska *B. Coli* do sianowego, procent osobników rozpadowych malał bardzo szybko. Tabela III ilustruje wahania liczby pierwotniaków rozpadowych bezpośrednio po przeniesieniu z pożywki *B. Coli* do pożywki sianowej. W styczniu procent pierwotniaków rozpadowych w środowisku *B. Coli* i sianowem maleje, ale spadek jest o wiele szybszy w pożywce sianowej. W lutym, w pełni okresu rozpadowego, pierwotniaki przeniesione ze środowiska *B. Coli* do wywaru sianowego bardzo szybko przywracały normalny stan jądra, jakkolwiek procent osobników rozpadowych w *B. Coli* wzrastał.

Tabela III.

Wahania % pierwotniaków rozpadowych po przeniesieniu ze środowiska *B. Coli* do pożywki sianowej.
Fluctuation of the percentage of reorganizing individuals after the transportation from B. Coli into hay infusion.

<i>D a t a</i>	<i>Day</i>	5	6	7	8	9	6	7	8	9	10	11
<i>D a t e</i>	<i>Month</i>	I	I	I	I	I	II	II	II	II	II	II
% osobników rozpadowych	<i>B. Coli</i>	48	42	30	30	22	40	46	49	47	58	35
<i>Percentage of reorganizing individuals</i>	Wywar siana <i>Hay infusion</i>	48	30	24	10	5	40	35	20	16	10	7

Gdy zaś 28 lutego, odwrotnie, z kultury sianowej przeniosłem pierwotniaki do środowiska *B. Coli*, w ciągu następujących po sobie dni procent osobników rozpadowych wynosił: 0, 0, 5, 9, 17, 19, 30, 48 i 80. Przyrost liczby pierwotniaków z jądrami rozpadowymi był bardzo szybki, i w czasie odpowiadającym normalnemu okresowi rozpadowemu było już 80% pierwotniaków o jądrami rozpadowymi, czyli nawet więcej, niż w innych kulturach z *B. Coli*. Przejście powtórne do siana znowu poczęło obniżać procent jąder rozpadowych. Powiedziałbym, że wywar sianowy normalizuje stan jądrowy pierwotniaków, jednak nie niszczy bynajmniej dążenia do rozpadu. Rozpad zostaje tylko zahamowany, aby powrócić samorzutnie w okresie wzmoczonego

rozpadu w równoległych kulturach na *B. Coli*, oraz powrócił w szybkim tempie przy przeniesieniu do *B. Coli*. W tym ostatnim przypadku procent rozpadu staje się nawet wyższy niż kiedykolwiek.

W drugim przypadku, podanym w tabeli III widzimy (dane z miesiąca lutego), iż przeniesienie pierwotniaków ze środowiska *B. Coli* do wywaru sianowego powoduje zmniejszenie się procentu pierwotniaków rozpadowych, gdy pozostawienie ich w tym środowisku prowadzi do wzrostu procentu. Nie zaprzecza to danym tabeli II, w której maksimum rozpadu w środowisku *B. Coli* i w pożywce sianowej występuje prawie jednocześnie.

Bowiem wymoczki tabeli drugiej stale przebywały w pożywce sianowej, która jakkolwiek tłumi rozpad, nie może zniszczyć całkowicie okresowości zjawiska. W danym razie natomiast chodziło o przeniesienie wymoczków do środowiska pożywki sianowej, co stanowi tak silny bodziec, że przewyżcza on nawet dążność kultury do wznowienia rozpadu.

Jeżeli pożywka *B. Coli* wpływa na zwiększenie procentu jąder rozpadowych, to albo złożyć to muszę na karb pewnych toksycznych właściwości pożywki (chemizmy wzmagające rozpad, JOLLOS) dzięki bakterjom w niej zawartym, albo też odwrotnie—na karb tego, że stały charakter środowiska i jednolitość pokarmu wpływa na wzmoczenie rozpadu. Przypuszczenie pierwsze ma za sobą tę okoliczność, że specjalnie *B. Coli* są bardzo toksynotwórcze.

Przedsięwzięte w celu wyjaśnienia znaczenia pożywki *B. Coli* próby kontrolne nie potwierdziły jednak ani jednej, ani drugiej możliwości. Starałem się wywołać rozpad w świeżo założonych kulturach sianowych pierwotniaków normalnych, w których nigdy dotąd nie obserwowałem procesów rozpadowych, przez przeniesienie z nich osobników do środowiska kultur rozpadowych na *B. Coli*. Pomimo, iż teraz pierwotniaki znajdowały się w warunkach, powodujących w myśl przypuszczenia rozpad jądrowy, ich aparat jądrowy pozostał normalny. *B. Coli* w ciągu trzech tygodni nie przyczyniły się do wywołania rozpadu.

Wogóle muszę zaznaczyć, iż z wielu kultur *Paramaecium caudatum* różnego pochodzenia i hodowanych w różnych warunkach, w tej liczbie i na *B. Coli*, tylko kultura opisywana wykazywała stałą obecność osobników rozpadowych. W żadnej innej procesów endomiktycznych nigdy nie widziałem. Natomiast pier-

wotniaki opisywanej kultury zawsze i we wszystkich warunkach wykazywały wyraźną dążność do rozpadu i nigdy nie udało mi się zniszczyć jej całkowicie. Wobec tego pozostaje przypisać zjawisko rytmice wewnętrznej, którą warunki zewnętrzne mogą wzmacniać lub osłabiać, ale której nie mogą zniszczyć i która jest przywiązana do określonej kultury pierwotniaków.

Obok tych faktów należy zanotować, że we wszystkich okresach kultury rozpadowe różnią się od innych jedynie obecnością osobników o jądrach w stanie rozpadu, ale pozatem całe zachowanie się pierwotniaków jest najzupełniej normalne. Ruchliwość, wygląd plazmy, tętno wodniczków wydzielniczych, ilość wodniczków pokarmowych, kryształów fosforanu wapnia, wszystko to zmienia się w granicach, opisanych szczegółowo w ogólnej charakterystyce kultur, ale żadna z tych cech czy ich zmiana nie da się wyodrębnić jako specjalnie charakterystyczna dla danego okresu. W normalnym rozwoju kultury nie mamy więc do czynienia z jakimś spadkiem potencji życiowej. O wystąpieniu wzmożonego rozpadu świadczą tylko utrwalone i zabarwione preparaty, nie ponadto.

Jedynie sprawa podzielności wymaga specjalnego omówienia.

Aby zbadać zależność pomiędzy rozpadem a podzielnością w okresach wzmożonego rozpadu, umieszczałem na szkiełkach wydrążonych pojedyncze pierwotniaki w kropli środowiska *B. Coli*. Po upływie doby obliczałem osobniki podzielone i niepodzielone, a przez utrwalać i barwienie konstatowałem stan jądra. W ten sposób zbadałem ogółem 659 osobników, z których w ciągu doby podzieliło się 411, dając 830 pierwotniaków. Pomędzy niemi znajdowało się 272 z rozpadowym aparatem jądrowym, co w stosunku do ogólnej liczby osobników podzielonych daje 33% zaś 558 osobników miało aparat jądrowy normalny. Nie podzieliło się 248, z nich 123 z jądrami rozpadowymi, co odpowiada 50%, i 125 normalnych. Wynikałoby stąd, że rozpad aparatu jądrowego wpływa hamująco na podzielność, albowiem wśród tych osobników, które się podzieliły, procent osobników rozpadowych jest wyraźnie mniejszy. Istotnie, 50% osobników niepodzielonych miało jądro rozpadowe, gdy wśród podzielonych procent ten wynosił tylko 33. Jednakże szereg doświadczeń (tabela IV), dokonanych z oddzielnymi linjami pierwotniaków, o czym szczegółowo będę mówił w następnym rozdziale, wska-

zuje, iż mamy częstokroć 100 procent podzielności w ciągu doby przy 100 procentach rozpadu aparatu jądrowego. W ciągu doby pierwotniaki dzielą się, chociaż mają aparat rozpadowy, przyczem osobnik rodzicielski, zarówno jak osobniki potomne, mają aparat jądrowy zdeorganizowany. Niejednokrotnie powtarza się to w ciągu pięciu kolejnych pokoleń, z których każde wykazuje 100 procentową podzielność i 100 procentowy rozpadowy aparat jądrowy.

Wobec tego otrzymana powyżej 17 procentowa różnica liczby osobników rozpadowych w pewnym stopniu przynajmniej może zależeć od niezupełnej równomierności warunków hodowli. Jeśli reorganizacja aparatu jądrowego hamuje do pewnego stopnia podzielność, co wydaje się prawdopodobne, to jednak ta przeszkoda u *Paramaecium caudatum* jest o wiele mniejsza, niż u *P. aurelia*, gdzie podzielność zostaje zahamowana od 1.75 podziałów na 24 godziny w warunkach normalnych do 1 podziału w ciągu 36 godzin w okresie rozpadowym.

W wyniku, moja kultura rozpadowa wykazuje istnienie wyraźnych rytmów okresowych, związanych z rozpadem i reorganizacją aparatu jądrowego, nie wykazuje natomiast żadnych oznak depresji.

Jedynie podzielność w okresach wzmożonego rozpadu jest może nieznacznie osłabiona. Pod tym względem kultura posiada własności wręcz odwrotne do kultur *Histrio complanatus* i *Paramaecium calkinsi*, gdzie spadek podzielności jest wyraźny, zaś brak procesów endomiktycznych.

Przebieg rozpadu jądrowego w pojedynczych wymoczkach.

W okresie rozpadowym, gdy procent rozpadu wynosi od 60 do 80, pojedyncze pierwotniaki, po wyjęciu z kultury, były umieszczane na szkiełkach wydrążonych, w kropli środowiska *B. Coli*, odświeżanego codziennie. Po podzieleniu się osobnika, jednego potomnego utrwaląłem i notowałem stan jądra, drugiego pozostawiałem do nowego podziału, poczem znowu jednego utrwaląłem i t. d. Innymi słowy, pierwotniaki wyjściowe posłużyły mi do szeregu linii, z których w każdej natychmiast po podziale jeden osobnik zostawał utrwalony. Ponieważ uprzednio we wszystkich obserwacjach stwierdziłem, iż zawsze obydwaj osobniki podziałowe posiadają jądra w jednakowym stanie, albo oba normalne

albo oba rozpadowe, pierwotniak utrwalony dawał mi obraz stanu jądra swojego partnera podziałowego. Wyniki z poszczególnych okresów są bardzo zgodne, wystarczy więc dla ilustracji podać jakąkolwiek jedną serję doświadczeń. Ogółem w okresach rozpadowych przerobiłem cztery serje doświadczeń, obejmujących od 20 do 25 linii każda. W tabeli IV podaję jedną serję, w której wystąpił typ rozpadu oznaczony literami „V, Z“, nie obserwowany ani razu w innych serjach.

Kolumny pionowe, oznaczone u góry literami, przedstawiają linie osobników, wyhodowanych z jednego osobnika każda. Liczba górna każdej kratki wskazuje, ile pierwotniaków znajdowało się na szkiełku na początku doby, litera N lub R oznacza, że jeden z osobników pary utrwalony i zabarwiony okazywał jądro normalne — N, lub rozpadowe — R, liczba dolna oznacza osobnika, który z danej pary pozostał do dalszych doświadczeń. Brak litery wskazuje, że podział nie zaszedł, żadnego więc osobnika nie utrwalono, liczba obok litery N lub R, że utrwalono więcej, niż jednego pierwotniaka.

W ciągu pierwszej doby po przeniesieniu na szkiełka dzieli się najwyżej 60% pierwotniaków. Odnosi się to, jak wykazały bardzo liczne doświadczenia, zarówno do pierwotniaków normalnych jak i rozpadowych, występuje także u pierwotniaków wziętych z kultury, w której nigdy rozpadu nie widziałem. Dopiero w następnych przenosinach pierwotniaki dzielą się coraz lepiej, jak gdyby wyraźnie przystosowywały się do warunków kropli.

W przytoczonej tabeli mamy do czynienia z rozpadem jądrowym, obejmującym od jednego do pięciu kolejnych pokoleń *Paramaecium*. Jak wynika z podanego poniżej przebiegu reorganizacji jądrowej, ten sam proces rozpadowy może rozciągać się na całe trwanie pokolenia *Paramaecium*. Podział zachodzi w trakcie samego rozpadu jądrowego. W rzadkich przypadkach wydaje się, że regulacja aparatu jądrowego może obejmować nawet dwa pokolenia, jak to normalnie zachodzi u *Paramaecium aurelia*. Jednak istnienia większej ilości pokoleń z jądrami rozpadowymi nie możemy wytłumaczyć inaczej, jak stwierdzeniem, że w danej linii pierwotniaków kilkakrotnie następuje reorganizacja aparatu jądrowego, to znaczy, że po kompletnym zreorganizowaniu jądra występuje natychmiast nowa reorganizacja, która może się powtarzać w ciągu kilku pokoleń, poczem do-

piero następuje ostateczna normalizacja jądra. Tabela IV wskazuje, że w ciągu danego okresu rozpadowego nie wszystkie pierwotniaki i w niejednakowy sposób reorganizują swój aparat jądrowy. Mielibyśmy tu do zanotowania kilka typów rozpadu:

1°. Po szeregu pokoleń z jądrami normalnymi zjawia się pokolenie z jądrem rozpadowym (I, R, Y.), po pierwszym podziale aparat jądrowy wraca do normy i w dalszym ciągu linja obserwowana charakteryzuje się aparatem jądrowym normalnym.

Tabela IV.

Występowanie reorganizacji w czystych liniach.
The appearance of the reorganization process in pure lines.

Doby Days	A	B	C	D	E	F	G	H	I	K	L	M	N	O	P	R	S	T	V	Z	Y
2	2 R 1	2 N 1	1	1	1	1	2 R 1	1	2 N 1	1	1	2 R 1	2 R 1	2 R 1	2 R 1	2 N 1	2 N 1	2 N 1	2 N 1	2 R 1	2 N 1
3	2 R 1	2 R 1	1	2 R 1	1	1	2 R 1	2 R 1	2 N 1	2 R 1	2 R 1	1	2 R 1	2 R 1	2 R 1	2 N 1	2 N 1	1	2 R 1	2 N 1	2 N 1
4	2 R 1	2 R 1	2 R 1	4 2R 2	2 N 1	2 N 1	2 R 1	2 N 1	2 R 1	2 R 1	4 2R 1	2 R 1	1	2 N 1	2 N 1	2 R 1	2 N 1	2 N 1	2 N 1	2 N 1	2 N 1
5	2 R 1	2 R 1	2 R 1	3 4N 4	2 N 1	2 N 1	1	2 N 1	2 N 1	1	4 2N 2	2 N 1	2 N 1	2 N 1	4 2N 2	2 N 1	2 N 1	2 N 1	2 N 1	2 N 1	2 N 1
6	2 R 1	2 R 1	2 R 1	6 3N 3	2 N 1	2 N 1	1	2 N 1	2 N 1	2 R 1	4 2N 2	2 N 1	2 N 1	1	4 2N 1	2 N 1	2 N 1	2 N 1	2 N 1	2 N 1	2 R 1
7	2 R 1	2 R 1	2 R 1	6 4N 2	2 N 1	2 N 1	2 N 1	2 N 1	2 R 1	2 R 1	2 N 1	2 N 1	2 N 1	2 N 1	2 N 3N 1	2 N 1	2 N 1	2 N 1	2 N 1	2 N 1	2 N 1
8	2 R 1	2 N 1	2 R 1	4 2N 2	2 N 1	4 2N 2	2 N 1	2 N 1	2 R 1	2 R 1	2 N 1	2 N 1	2 N 1	2 N 1	1	2 N 1	2 N 1	2 N 1	2 N 1	2 N 1	2 N 1
9	2 N 1	2 N 1	2 R 1	4 3N 1	2 N 1	4 2N 1	2 N 1	2 N 1	2 N 1	2 R 1	4 2N 2	2 N 1	2 N 1	2 N 1	2 N 1	2 N 1	2 N 1	2 N 1	2 N 1	2 N 1	2 N 1
10	2 N 1	2 N 1	4 2N 2	2 N 1	2 N 1	2 N 1	1	2 N 1	2 N 1	4 2N 1	2 N 1	2N	4 2N 2	2 N 1	2 N 1	2 N 1	2 N 1	2 N 1	2 N 1	2 N 1	2 N 1

2°. Po szeregu pokoleń z jądrami normalnymi występuje od 1 do 5 pokoleń z jądrami rozpadowymi (A, B, C, D, ...) poczem aparat jądrowy w następnych pokoleniach jest już zupełnie normalny.

3°. Wreszcie możliwy jest jeszcze trzeci przypadek (V, Z), który obserwowałem tylko w jednej serji doświadczeń w dwóch liniach. Widzimy tutaj, że po szeregu pokoleń z jądrami normalnymi występuje jedno pokolenie rozpadowe, poczem mamy

dwadzieścia pokolenia z jądrami normalnymi, po których znowu występuje jedno pokolenie rozpadowe, wreszcie dopiero następne pokolenia wykazują aparat jądrowy normalny.

Czy występowanie tych różnych typów dałoby się ująć w karby jakiejś regularności, orzec na podstawie dotychczasowych doświadczeń nie mogę. Raczej skłaniam się do uznania pewnej przypadkowości zmian w następstwie aparatu normalnego i rozpadowego w okresie wzmożonego rozpadu. Ogólnie rzecz można, że w okresie tym *Paramaecium caudatum* wykazuje tendencję do kilkakrotnego powtórzenia rozpadu.

Reorganizacja aparatu jądrowego, figury rozpadowe.

Szczegółowa, opatrzona barwnymi tablicami praca WOODRUFFA i ERDMANN ('14) dotyczy rozpadu jądrowego *Paramaecium aurelia*. Dla *Paramaecium caudatum* R. HERTWIG ('89), CALKINS ('04), POPOFF ('09) i DOFLEIN ('07) w swych pracach przytaczają pojedyncze stadia rozpadu, których jednak ani nie badają szczegółowo, ani też dokładnie nie omawiają ich znaczenia, częstokroć poprzestając na stwierdzeniu, iż mają do czynienia z patologicznym stanem aparatu jądrowego. WOODRUFF i ERDMANN podkreślają wielkie trudności metodyczne, związane z ustaleniem kolejności stadij rozpadu, utrwaleniem i barwieniem. Zróznicowanie barwne jądra dużego i jąder małych jest ogromnie utrudnione. W pierwszych stadiach rozpadu odróżnienie jest dosyć łatwe, ale w stadium kulminacyjnym, nazwanym przez autorów amerykańskich *climax*, rozpoznanie jąder mikro między rozkawałkowaną pozostałością makro jest prawie niemożliwe.

WOODRUFF i ERDMANN nie zdołali też wyświetlić w sposób niewątpliwy dokładnego przebiegu przemian rozpadowych w okresie *climax*. Podają oni dla *Paramaecium aurelia* kilka różnych możliwych wersji, nie decydując, czy sam proces może przebiegać niejednakowo, czy też trudności metodyczne doprowadziły do wyników niezgodnych. Trudności te wskazują, że tylko przez dobór odpowiedniej metody utrwalania i barwienia materiałów uda się je przynajmniej częściowo przezwyciężyć. Jednak nie tylko niewyróżna różnica zabarwienia mikro i makro stanowi trudność; największa trudność leży w braku dokładnego synchronizmu procesu w poszczególnych osobnikach. Na wymoczkach żywych figur rozpadowych dostrzec niepodobna, o utrwalonym zaś bardzo trudno jest powiedzieć, czy znajduje się we wcześniejszym, czy późniejszym stadium rozpadu, niż inne osobniki.

Początkowo usiłowałem ustalić kolejność stadij rozpadowych przez utrwalanie w odstępach 30 minutowych pojedynczych osobników, pochodzących z podziału jednego. W tym celu po podziale rozsadzałem wymoczki do małych kropli na oddzielne szkiełka i w okresie rozpadowym

utrwaląłem je kolejno. Jednak, wskutek braku synchronizmu w początku i przebiegu procesu rozpadowego, ta żmudna metoda nie dała pozytywnych wyników. Uciekłem się więc do preparatów masowych: w ciągu pierwszej doby rozpoczynającego się wzmózonego rozpadu utrwaląłem w odstępach dwugodzinnych większe porcje pierwotniaków, liczące od 100 do 300 osobników. Po wyrysowaniu różniących się od siebie typów figur rozpadowych, wyodrębniłem z nich pięć. Następnie, po obliczeniu wszystkich osobników rozpadowych w danej próbie, obliczałem procent poszczególnych typów w następujących po sobie preparatach. Z przewagi procentowej jednego typu w stosunku do drugiego mogłem wnioskować nie tylko o przypuszczalnej kolejności występowania stadjów po sobie, ale w miarę zmniejszania się procentu lub braku jednych, a trwania drugich w kolejnych preparatach mogłem określać porównawczo względny czas trwania poszczególnych typów. Załączona tabela V ilustruje wynik obliczeń z dziesięciu doświadczeń w ciągu doby. Rzędy poziome tabeli zawierają procent osobników rozpadowych, przypadających na każdy typ w jednej obserwacji. Przesuwanie się maksimum w czasie w kierunku od I-go typu do V-go wskazuje, iż typy te występują kolejno po sobie. Ogółem zbadałem 50 preparatów w czterech okresach wzmózonego rozpadu. Porównanie wyników z kilku okresów wzmózonego rozpadu pozwoliło z wielkim prawdopodobieństwem, popartem zróżnicowanymi barwnymi preparatami, ustalić kolejność występowania po sobie poszczególnych stadjów (rys. 2).

Proces rozpadowy rozpoczyna się w chwili, gdy jądro małe, tkwiące tuż obok dużego, często w zakłębieniu tegoż, odsuwa się odeń wyraźnie (1), poczem dzieli się początkowo na dwa, z których każde niejednocześnie dzieli się powtórnie (2). Zamiast więc jednego jądra małego widzimy dwa, trzy, ostatecznie cztery kuliste regularne jądra małe (3, 4). W tym czasie jądro duże pęcznieje dosyć znacznie i stopniowo rozpada się na płyty, tkwiące początkowo w błonie jądrowej, lecz następnie po jej pęknięciu rozpadające się stopniowo na coraz większą ilość nieregularnych płatowatych fragmentów (1—4). Z czterech powstałych na nowo jąder małych trzy zatracają wyrazistość konturów — degenerują, rozpadają się i mieszają z coraz mniejszymi fragmentami wciąż rozdrabniającego się jądra dużego (5). Stadjum oznaczone cyfrą 5 nazwałbym fazą wielkiego rozproszenia. Jest to przejście do owego kulminacyjnego punktu rozpadu — *climax* WOODRUFFA i ERDMANN, gdy materiał jądra dużego rozproszony jest w 18 — 25 fragmentach, miesza się i przysłania jądra małe. Żadna metoda barwienia nie pozwala w tem stadjum (6, 7) na orzeczenie z pewnością, który fragment jest częścią

makro, a który degenerującym, czy też świeżo tworzącym się mikro. O ile jednak u *Paramaecium aurelia* jeszcze w następnych stadjach nic dokładnego o dalszych losach mikro nie można powiedzieć, wobec czego WOODRUFF i ERDMANN zmuszeni byli do podania czterech możliwych wersji dalszego przebiegu rozpadu, o tyle u *Paramaecium caudatum*, dzięki zróżnicowanej metodzie barwienia, już w stadium 8 sprawa się wyjaśnia, gdyż w stadium 6 i 7 musiało się podzielić jedyne pozostałe jądro małe dwukrotnie. W stadium bowiem 8 mamy już wyraźnie zróżnicowane jądra małe, szczególnie przeznaczone na utworzenie jąder dużych w otoczeniu krańcowo rozkawałkowanego, składającego się

Tabela V.

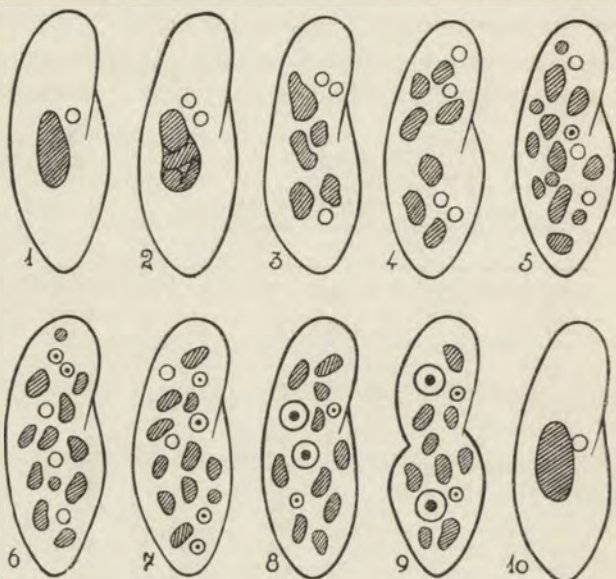
Procent typów w preparatach masowych i kolejność występowania w ciągu doby.

The percentage of types in mass preparations and their successive appearance during 24 hours.

Godz. Hour	T y p — T y p e				
	I	II	III	IV	V
9	51	23	21	5	—
11	48	30	12	10	—
13	30	30	9	25	6
15	15	28	30	21	3
17	3	17	22	41	15
19	12	17	24	37	10
21	3	10	39	36	18
23	—	—	21	64	5
1	2	—	38	48	12
3	1	12	10	70	5

z eliptycznych płatów, jądra większego. Okres ten, jak wynika z zestawień masowych preparatów, trwa najdłużej i kończy go rekonstrukcja jąder dużych, tworzących się na nowo z dwóch jąder małych, które pęcznieją i przybierają regularny kształt kuli, bardzo równomiernie zabarwionej na różowo. W tym stanie pierwotniaki trwają czas jakiś, poczem następuje podział na dwa osobniki (9), z których każdy posiada nowe jądro duże i małe obok niezupełnie zresorbowanych części starego jądra dużego, poczynających dopiero teraz zanikać ostatecznie. W poszczególnych osobnikach dopiero po nowym normalnym podziale resztki starego jądra znikają zupełnie i dla tej przyczyny przy obserwacjach oderwanych stadjów można wziąć osobnika ze zreorganizowanym już aparatem jądrowym za takiego, w którym

właśnie rozpoczyna się reorganizacja. Okoliczność ta tłumaczy, dlaczego preparaty masowe niekiedy sprawiają wrażenie, iż ten sam proces rozpadu trwa przez całe dwa pokolenia. Jednak proces resorpcji fragmentów makro nie może rozciągać się na okres dłuższy, jak dwa kolejne pokolenia. Dlatego też występowanie figur rozpadowych w ciągu 3–5 pokoleń, jak w tabeli IV, dowodzi, że reorganizacja może być kilkakrotna. Gdy więc



Rys. 2. Jądro duże jest zakreskowane. Krążki oznaczają *micronuclei* krążki z kropką odpowiadają tym *micro*, które są przeznaczone na wytworzenie nowego całkowitego aparatu jądrowego, krążki większe z kropką — nowo tworzące się jądro duże.

Fig. 2. The macronucleus is lined, the small circles mark the micronuclei, the same with a point correspond to the micronuclei destined to produce a new complete nuclear apparatus. The larger circles with a point mark a forming new macronucleus.

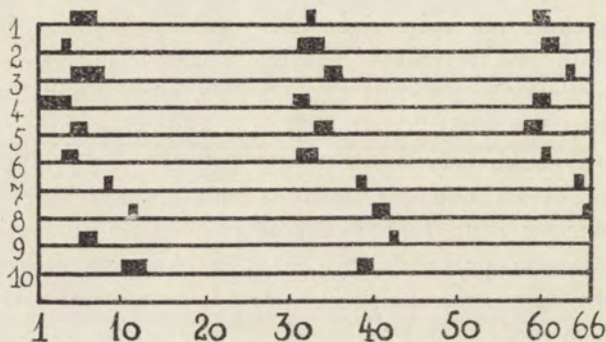
reorganizacja aparatu jądrowego jest dokonana, cały nowy aparat jądrowy zawiera $\frac{1}{4}$ pierwotnego mikro. Jeśli jednak natychmiast występuje nowa reorganizacja, świeżo powstający aparat jądrowy zawiera tylko $\frac{1}{16}$ część jądra pierwotnego, w miarę zaś nowych podziałów, średnio czterokrotnych, piąte pokolenie otrzymuje $(\frac{1}{4})^4$ część małego jądra pierwotnego. Fakt ten wskazuje na intensywność przemian, zachodzących w okresie reorganizacyjnym w pierwotniaku, i na ogromną potencję rozwojową, tkwiącą w jądrze małym.

Proces rozpadu w *Paramaecium caudatum* przebiega w analogiczny sposób jak u *P. aurelia*, zachodzące różnice związane są tylko z organizacją pierwotniaków. *P. aurelia*, obok jądra dużego, posiada dwa małe, gdy *P. caudatum* tylko jedno, stąd różnice w przebiegu rozpadu są raczej natury ilościowej, niż jakościowej. Jedyne okres *climax* u *P. aurelia* nasuwa cały szereg wątpliwości, szczegółowo omówionych przez WOODRUFFA i ERDMANN. W okresie tym, jak przypuszczają ci autorowie, z ośmiu jąder małych, rozrzuconych między licznymi fragmentami jądra dużego, albo siedem, albo sześć musi degenerować. O ile pozostaje tylko jedno jądro małe z ośmiu stadjum *climax*, byłoby ono tylko częścią jednego z pierwotnych mikro. Drugie zaś mikro, podobnie jak jądro duże, nie brałoby żadnego materialnego udziału w tworzeniu nowego aparatu jądrowego. Jeśli w okresie *climax* degeneruje sześć mikro, istnieje możliwość, że każde z dwu pozostałych jest częścią innego pierwotnego mikro. W tym przypadku cały nowy aparat jądrowy zawierałby w równej mierze części obu pierwotnych mikro. Przebieg rozpadu u *Paramaecium caudatum* wykazuje największe analogie z tym właśnie ostatnim przypadkiem. Stadjum *climax* u *P. caudatum* nie nasuwa tylu ewentualności, przedewszystkiem dlatego, że reorganizacja kończy się zawsze po pierwszym podziale osobnika. Stadjum 5 jest oczywiste i nie nasuwa żadnych wątpliwości, podobnie stadjum 8. Przejście zaś od 5 do 8 da się tylko w ten sposób pomyśleć, iż jedyne pozostałe w stadjum 5 jądro małe dzieli się dwukrotnie, dając cztery jądra, zróżnicowane w stadjum 8 na dwa przyszłe mikro i dwa makro. Po podziale wymocзка, jego aparat jądrowy dochodzi do normy.

Część ogólna.

Jak wynika z tabeli II (str. 101), pomiędzy okresami wzmożonego rozpadu jądrowego i wogóle w każdej chwili życia moich kultur rozpadowych zawsze można wykazać istnienie 1—5% osobników o jądrze w stanie reorganizacji. Maksymalny procent pierwotniaków rozpadowych w kulturach masowych wynosił około 80, nigdy jednak nie dochodził do 100. Zatem, okresowość zjawiska nie jest bezwzględnie dokładna i nigdy proces endomityczny nie ogarnia całej kultury naraz. Jeśli jednak zsumo-

wać wartości procentowe dla osobników rozpadowych w ciągu całego rytmu, a więc od jednego maksimum do drugiego (tab. II), to suma tych wartości jest zawsze większa od 100, co dotyczy zresztą tylko kultur na *B. Coli*. Wynika stąd, iż w ciągu jednego rytmu prawdopodobnie wszystkie osobniki kultury conajmniej raz jeden przechodzą reorganizację, ale proces ten nie zachodzi dokładnie synchronicznie. Należy odróżnić okresowość endomiksji w kulturach masowych a w liniach indywidualnych. Istnieje możliwość, że w poszczególnych liniach proces rozpadu zachodzi w prawidłowych odstępach czasu, ale momenty reorganizacji dla różnych linii nie są jednoczesne.



Rys. 3. Występowanie reorganizacji w 10 czystych liniach w ciągu 66 dni.

Fig. 3. The appearance of the reorganization proces in 10 pure lines during 66 days.

W celu wyjaśnienia tej sprawy obserwowałem przebieg rozpadu jądrowego w 36 równoległych liniach *Paramecium* w ciągu przeszło dwóch miesięcy. Wymoczki były hodowane na szkiełkach wydrążonych w zawieszynie *B. Coli*. Po każdym podziale jeden z osobników pary zostawał utrwalony i zabarwiony, dając obraz stanu jądrowego swego partnera. Na rys. 3 linie poziome odpowiadają dziesięciu wybranym liniom *Paramecium*, zgrubienia przedstawiają trwanie procesu endomiktycznego. Poniżej podana jest skala w dobach. W 8 liniach obserwowano w ciągu tego czasu dwa całkowite okresy endomiktyczne, w 2 tylko jeden. Dla poszczególnych linii trwanie okresu reorganizacyjnego jest wielkością dosyć stałą, ale długość okresu różni się dla różnych linii.

W linii 1-ej pierwszy okres reorganizacyjny trwał 29 dni, drugi 27 dni, dla linii 2 wartości te wynoszą 28 i 29, dla linii 3—30 i 31 dni, dla linii 4—26 i 33 dni, dla linii 5—29 i 26 dni, dla linii 6—28 i 29 dni, dla linii 7—30 i 28 dni, dla linii 10—28 i 27 dni. Najkrótszy okres endomiktyczny wynosił 26 dni (linja 4), najdłuższy zaś aż 38 (linja 9). Rys. 3 dobrze ilustruje niejednoczesność występowania endomiksji w różnych liniach indywidualnych i nie ulega wątpliwości, że przy uwzględnieniu większej liczby linii, w każdej dobie rozwoju kultury w którejkolwiek linii będzie zachodziła reorganizacja. Kulturę masową należy uważać za zbiorowisko olbrzymiej liczby linii indywidualnych, z których każda zachowuje swój własny rytm procesów rozpadowych. Przez sztuczną kombinację odpowiednich linii udałoby się zapewne zupełnie zniszczyć okresowość endomiksji w odniesieniu do kultury masowej, przy jednoczesnym zachowaniu jej prawidłowej okresowości w poszczególnych liniach.

Ponieważ wszystkie indywidualne linie danej kultury żyją w tem samym środowisku i ulegają wpływowi tych samych warunków zewnętrznych, należałoby wnosić o znacznym stopniu uniezależnienia terminów rozpadu od środowiska zewnętrznego. Jednak pewne zależności występowania reorganizacji od warunków zewnętrznych istnieją na pewno. Specjalne obserwacje, dokonane w liniach indywidualnych, wykazały, że częstokroć w dwóch liniach równoległych, pochodzących z jednego i tego samego osobnika, reorganizacja nie jest jednoczesna. Pewien synchronizm istnieje w osobnikach, pochodzących z pierwszego lub drugiego podziału, ale później, w miarę narastania różnic indywidualnych, jednoczesność staje się coraz mniej wyraźna, nie tylko w samym przebiegu reorganizacji, ale i w terminie wystąpienia reorganizacji. Niejednokrotnie stwierdziłem, że w kulturach młodych, pochodzących z jednego osobnika, w okresie wzmożonego rozpadu procent pierwotniaków rozpadowych wzrasta do 90, zaś w okresach międzyrozpadowych spada do drobnego ułamka. Jednak w kulturach starszych synchronizm zawsze jest mniej wyraźny.

Zależność występowania reorganizacji jądrowej od warunków zewnętrznych wynika następnie z decydującego wpływu jakości pokarmu, względnie—środowiska bakteryjnego. W środowisku pożywki sianowej (tab. II) procent osobników endomik-

tycznych jest znacznie niższy, niż w środowisku *B. Coli*, i w okresach międzyrozpadowych spada do zera. Ponadto, suma procentów wszystkich osobników rozpadowych w czasie całkowitego rytmu jest zawsze znacznie niższa od 100, czyli nie wszystkie linje kultury ulegają reorganizacji. W moich doświadczeniach wpływ pożywki sianowej, wybitnie zmniejszający procent osobników rozpadowych, okazał się odwracalny, gdyż ponowne przeniesienie do *B. Coli* przywracało pierwotny procent rozpadu. Oznacza to, że pożywka sianowa tłumi w znacznym stopniu procesy rozpadowe, jednak nie zmienia tendencji wymoczków do reorganizacji jądrowej. Uważam za możliwe, iż moja kultura rozpadowa nabrała swoich cech charakterystycznych pod wpływem długotrwałej hodowli w wysoko toksycznym środowisku *B. Coli*. Zdecydowanie, czy stała hodowla w pożywce sianowej zniszczy ostatecznie samą tendencję rozpadową, wymagałoby nader długotrwałych, być może wieloletnich obserwacji. Gdyby jednak takie zniszczenie miało miejsce, kultura podpadłaby pod kategorię „Dauermodifikation“ JOLLOSA.

Regularność występowania reorganizacji nie ma charakteru patologicznego. Endomiksja jest w danej kulturze zjawiskiem równie normalnym, jak podział raz na dobę lub regularne pulsowanie wodniczków tętniących. Szybkość ruchu, wygląd plazmy, tętno wodniczków kureczliwych, liczba wodniczków pokarmowych, zawartość kryształków fosforanu wapnia, wszystko to w okresach wzmożonego rozpadu nie ulega jakimkolwiek wyraźnym zmianom. Zahamowanie podzielności w okresach endomiktycznych jest minimalne i, zwłaszcza w linjach indywidualnych, bardzo często wogóle nie da się wykazać.

Reasumując dane z dotychczasowej literatury, możnaby podzielić wszystkie wymoczki na 3 kategorie:

1°. Wymoczki, przechodzące okresową konjugację, ale pozbawione procesów endomiktycznych (*Dileptus*, *Urostylia grandis*).

2°. Wymoczki, podlegające endomiksji w warunkach uniemożliwiających konjugację (*Paramaecium aurelia*).

W tych dwóch typach endomiksja i konjugacja wiążą się z depresją i zahamowaniem podzielności.

3°. Wymoczki, ulegające depresjom i okresowemu obniżeniu podzielności, ale bez konjugacji i reorganizacji jądrowej (*Histrio complanatus*, *Paramaecium calkinsi*).

Do tych trzech kategorii badania moje pozwalają dołączyć 4°. Wymoczki, które przechodzą endomiksję w kulturach masowych, a więc w warunkach umożliwiających konjugację, lecz nie konjugują i nie ulegają ani depresjom, ani wyraźnemu zahamowaniu podzielności.

Nasuwa się wreszcie zagadnienie konieczności życiowej endomiksji. U bardzo wielu wymoczków endomiksja wogóle nie występuje, a nieraz u odmian i ras tego samego gatunku stosunki pod tym względem mogą być całkowicie różne. Reorganizacja nie jest nawet charakterystyczna dla wszystkich kultur danej odmiany wymoczków. Podkreślam, iż z wielu różnorodnych kultur, z którymi miałem do czynienia, procesy rozpadowe wystąpiły tylko w jednej, ale nawet w tej jedynej kulturze, po przeniesieniu jej do pożywki sianowej, nie wszystkie linie reorganizują aparat jądrowy. Gdyby słuszny był pogląd R. HERTWIGA i LOISELA, że co pewien czas wymoczki muszą pozbyć się nadmiaru produktów rozpadu, skupionych w jądrze większym, i że czynią to na drodze reorganizacji endomiktycznej, względnie — konjugacyjnej, to konjugacja i endomiksja byłyby nieuniknioną fizjologiczną potrzebą organizmu. Tak ogólna zależność, jak gromadzenie się w ustroju produktów rozpadu i ich usuwanie, musiałoby być zjawiskiem powszechnym dla wszystkich wymoczków. Tymczasem tak bynajmniej nie jest. Wydaje mi się, iż sprzeczności te można w łatwy sposób pogodzić. Istotnie, bardzo wiele faktów dowodzi, iż w organizmie wymoczka odbywa się gromadzenie produktów rozpadu. Ich usunięcie z ustroju jest na pewno koniecznością życiową. Ale nie jest nią czysto morfologiczna strona procesów endomiktycznych czy konjugacyjnych. W środowisku pożywki sianowej znaczna część linii obywa się bez morfologicznej strony endomiksji, regulując stosunki jądrowe w jakiś inny, niewidoczny sposób. Być może w niektórych specjalnych warunkach ustrój jest zmuszony do regulacji radykalnej, jaką jest rozkawałkowanie i resorbcja całego jądra większego i znacznej części mniejszego, ale w olbrzymiej większości kultur sprawy te odbywają się mniej gwałtownie, prawdopodobnie na drodze wymiany plazmo-jądrowej. Brak endomiksji i konjugacji w kulturach *Histrio complanatus* i *Paramaecium calkinsi*, obok istnienia okresów obniżonej podzielności, nie zaprzecza temu przypuszczeniu, albowiem intensywna wymiana plazmo-jądrowa może wpły-

nąć hamująco na podzielność. Zjawiska te muszą zachodzić w nader różnym stopniu. Jeśli natężenie wymiany jest tak znaczne, że zwykła droga osmotyczna nie wystarcza, wymoczek ulega reorganizacji endomiktycznej lub konjugacyjnej. Ale w normalnej, dobrze odżywianej kulturze wymoczki obywają się bez reorganizacji.

W wyniku, reorganizacja jądrowa byłaby tylko jednym z wielu sposobów przywrócenia równowagi jądrowej, ale w normalnych dobrze prosperujących hodowlach morfologiczna strona regulacji nie stanowi bezwzględnej konieczności życiowej.

Streszczenie.

1°. W obserwowanych w niniejszej pracy kulturach, hodowanych na pożywce *B. Coli* oraz w środowisku sianowem, obserwujemy w odstępach 25 — 35 dniowych wzmoczony proces reorganizacji jądrowej — rozpadu jądrowego, obejmujący w pożywce *B. Coli* do 80% pierwotniaków. Pomiedzy okresami wzmoczonego rozpadu kultura zawiera 1 — 5% pierwotniaków z rozpadowym aparatem jądrowym.

2°. W środowisku wywaru sianowego, w okresach wzmoczonego rozpadu, równoległych do okresów rozpadu w kulturach na *B. Coli*, występuje niższy procent rozpadu, w okresach zaś międzyrozpadowych procent rozpadu w tem środowisku spada do zera.

3°. Stała temperatura termostatu 22.5° C nie wpływa na przebieg rozpadu, który zachodzi podobnie jakościowo i ilościowo, jak w temperaturze pokojowej 15° do 20° C. Najwyższy rozpad przypada w tym samym okresie. Maksyma rozpadu w rozmaitych środowiskach występują w tym samym czasie.

4°. Podzielność w okresie rozpadu nie jest wyraźnie zahamowana.

5°. W okresie wzmoczonego rozpadu zachowanie się kultury jest zupełnie normalne, wszelkich objawów depresji brak, o wzmoczonego rozpadzie świadczą jedynie utrwalone i zabarwione preparaty, nic ponadto.

6°. Zmiana pokarmu wpływa na rozpad. *B. Coli* podnosi intensywność rozpadu, pożywka sianowa hamuje, ale nie niszczy zdolności rozpadowych.

7°. Próba wywołania rozpadu w kulturach, gdzie nigdy rozpadu nie obserwowałem, nie udała się, aparat jądrowy pierwotniaków po czterech tygodniach pobytu w środowisku *B. Coli* pozostał normalny.

8°. Rozpad jest więc związany z pewnemi tylko kulturami pierwotniaków. Charakteryzuje go rytmika wewnętrzna, którą warunki zewnętrzne mogą wzmacniać lub osłabiać, ale której w wskazanej kulturze pierwotniaków nie mogłem zniszczyć.

9°. W poszczególnych czystych liniach rozpad nie zaczyna się jednocześnie i obejmuje niejednakową ilość pokoleń. W dwóch liniach wystąpił dwukrotnie, pomiędzy pokoleniami rozpadowemi wystąpiły dwa pokolenia normalne.

10°. Występowanie poszczególnych typów rozpadu trudno jest ująć w karby regularności, naogół wymoczki w okresie wzmożonego rozpadu wykazują tendencję do kilkakrotnego powtórzenia reorganizacji.

11°. Rozpad jądrowy przebiega jak następuje: jądro małe dzieli się dwukrotnie, podczas gdy duże pęcznieje i rozpada się na fragmenty. Z 4 mikro 3 degenerują, czwarte po dwukrotnym podziale daje nowe 4 mikro, z których dwa są predestynowane na makro, przechodzące po podziale do osobników potomnych; w trakcie tego fragmenty jądra dużego degenerują ostatecznie i zanikają. W reorganizacji więc nowego aparatu jądrowego bierze udział $\frac{1}{4}$ pierwotnego jądra małego.

12°. W wyniku reorganizacji powstają dwa pierwotniaki, nie cztery, jak to się dzieje przy analogicznym procesie u *Paramecium aurelia*.

13°. Wymoczki wskazanych kultur przechodzą endomiksję w kulturach masowych, a więc w warunkach umożliwiających konjugację, lecz nie konjugują i nie ulegają ani depresjom, ani wyraźnemu zahamowaniu podzielności.

14°. Reorganizacja jądrowa jako proces morfologiczny jest tylko jednym ze sposobów przywrócenia równowagi jądrowej, nie stanowi jednak bezwzględnej konieczności życiowej.

Codzienny procent osobników z jądrami zreorganizowanemi.
The daily percentage of reorganizing individuals.

<i>B. Coli</i> 15° ₁ —20° C	5	15	30	33	40	40	50	60	50	60	35	25	15	5	5	5	5	10				
	15	10	30	10	5	1	3	7	10	7	10	8	20	15	15	40	40	80	75			
	60	30	45	50	36	35	30	48	42	20	20	20	10	10	5	12	7	15				
	5	5	7	5	10	8	10	12	5	15	15	13	10	12	10	20	10	12	10			
	10	20	26	40	46	50	47	48	64	60	35	22	15	12	15	10	8	8				
	7	3	5	5	10	7	7	3	8	15	10	8	19	16	18	27	20	25	49	56		
	66	72	56	36	40	22	10															
	22.5° C	15	27	23	25	35	35	47	52	52	59	31	18	12	9	9	3	4	5	5		
		10	15	13	2	1	5	8	5	15	10	15	20	40	50	60	60	50	50	65		
		42	30	45	33	20	12	40	30	28	21	21	10	5	8	7	4	10	18	12		
	10	10	12	5	5	12	10	8	12	10	15	15	15	9	12	11	10	12	15			
	15	40	46	49	45	36	55	40	15	15	10	8	11	10	10	8	7	6	12			
	5	10	6	8	2	10	10	14	12	15	19	29	20	25	30	22	18	48	60			
	68	32	30	27	14	6																
Wywar siana 15—20° C <i>Hay infusion</i>	12	18	30	30	35	27	13	10	8	7	5	4	4	2	11	0	0	0	0	3		
	0	0	0	0	0	0	0	0	1	4	10	25	20	11	20	20	22	10	15			
	25	26	22	10	7	4	4	2	2	0	0	0	0	0	3	2	2	1	1	0	0	
	0	0	0	0	0	5	10	17	17	31	16	10	10	5	5	8	5	10	4	1	0	
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8	7	12	15
	22	20																				
	22.5° C	12	15	28	29	37	30	12	9	9	2	4	5	4	5	2	0	0	0	0	3	
		0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	4	8	17	28	13	15	20	17	25	5	
		21	20	25	9	9	5	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		0	0	0	0	4	8	12	10	16	14	11	9	6	5	3	4	2	0	0	1	1
	0	0	0	0	1	5	7	15	8	12	14	10	7	8	21	14	12	6	7	8	3	10
	7	5	4																			

Piśmiennictwo.

Baitsell A. G. 1914. Experiments on the reproduction of the hypotrichous Infusoria. Journ. exp. Zool. **16** (21). Calkins G. N. 1902. Studies on the life history of Protozoa. I. The life cycle of *Paramecium caudatum*. Arch. f. Entw.-Mech. **15** (139). Calkins G. N. 1902. The six hundred and twentieth generation of *Paramecium caudatum*. Biol. Bull. **3** (192). Calkins G. N. 1905. The protozoan life cycle. Biol. Bull. **11** (229). Calkins G. N. 1915. Cycles and rhythms and the problem of immortality in *Paramecium*. Amer. Natur. **49** (65). Dembowski J. 1923. Obserwacje nad ruchem *Paramecium caudatum* w kroplach różnego kształtu geometrycznego. Trav. de l'Inst. M. Neneki, Varsovie. **1** (1). Dawson J. A. 1926. The life cycle of *Histrio complanatus*. Journ. exp. Zool. **46** (345). Doflein F. 1919. Problem des Todes und der Unsterblichkeit bei den Pflanzen und Tieren. Jena. 1919. Enriques P. 1907. La coniugazione e il differenziamento sessuale negli Infusori. Arch. Protistenk. **9** (195). Enriques P. 1924. La riproduzione nei Protozoi. Milano. 1924. Erd-

mann R. und L. L. Woodruff. 1914. Vollständige periodische Erneuerung des Kernapparates ohne Zellverschmelzung bei reinlinigen *Parameecien*. Biol. Centralbl. **34** (484). Gregory L. H. 1909. Observations on the life history of *Tillina magna*. Journ. exp. Zool. **6** (383). Hertwig R. 1902. Die Protozoen und die Zelltheorie. Arch. Protistenk. **1** (11). Hertwig R. 1914. Über Parthenogenesis der Infusorien und die Depressionszustände der Protozoen. Biol. Centralbl. **34** (557). Jollos V. 1913. Über die Bedeutung der Konjugation bei Infusorien. Arch. Protistenk. **30** (328). Jollos V. 1913. Experimentelle Untersuchungen an Infusorien. Biol. Zentralbl. **33** (222). Jollos V. 1916. Die Fortpflanzung der Infusorien und die potentielle Unsterblichkeit der Einzelligen. Biol. Zentralbl. **36** (497). Jollos V. 1921. Untersuchungen über Variabilität und Vererbung bei Infusorien. Arch. Protistenk. **43** (1). Loisel G. 1903. Sur la sénescence et la conjugaison des Protozoaires. Zool. Anzeig. **26** (484). Maupas E. 1886. Sur la conjugaison des Infusoires Ciliés. C. R. Acad. Sc. Paris. **102** (1569). Maupas E. 1888. Recherches expérimentales sur la multiplication des Infusoires Ciliés. Arch. Zool. Expér. **6** (165). Popoff M. 1908. Experimentelle Zellstudien. Arch. Zellforschung. **1** (245). Popoff M. 1909. Über einige Ursachen der physiologischen Depression der Zelle. Arch. Zellforschung. **4** (1). Schmalhausen und Syngajewskaja. 1925. Die individuelle Wachstumskurve von *Paramecium caudatum*. Arch. Entw.-Mech. R. A. E. M. **105** (711). Spencer H. 1924. Studies of a pedigree culture of *Paramecium calkinsi*. Journ. of Morphol. **39** (543). Sun A. 1912. Experimentelle Studien über Infusorien. Arch. Protistenk. **27** (207). Woodruff L. L. 1905. An experimental study on the life history of hypotrichous infusoria. Journ. exp. Zool. **2** (585). Woodruff L. L. 1908. The life cycle of *Paramecium* when subjected to a varied environment. Amer. Nat. **42** (520). Woodruff L. L. 1911. Two thousand generations of *Paramecium*. Arch. Protistenk. **21** (263). Woodruff L. L. 1912. A five year pedigreed race of *Paramecium* without conjugation. Proc. Soc. exper. Biol. Med. **9** (121). Woodruff L. L. 1913. Dreitausend und dreihundert Generationen von *Paramecium* ohne Konjugation oder künstliche Reizung. Biol. Zentralbl. **33** (34). Woodruff L. L. 1914. On so-called conjugating and non conjugating races of *Paramecium*. Journ. exp. Zool. **16** (237). Woodruff L. L. 1917. Rhythms and endomixis in various races of *Paramecium aurelia*. Biol. Bull. **33** (51). Woodruff L. L. 1917. The influence of general environmental conditions on the periodicity of endomixis in *Paramecium aurelia*. Biol. Bull. **33** (437). Woodruff L. L. and G. A. Baitzell. 1911. The temperature coefficient of the rate of reproduction of *Paramecium aurelia*. Amer. Journ. Physiol. **29** (147). Woodruff L. L. and R. Erdmann. 1914. A normal periodic reorganization process without cell fusion in *Paramecium aurelia*. Journ. exp. Zool. **17** (425). Woodruff L. L. and R. Erdmann. 1916. The periodic reorganization process in *Paramecium caudatum*. Journ. exp. Zool. **20** (59). Young R. T. 1917. Experimental induction of endomixis in *Paramecium aurelia*. Journ. exp. Zool. **24** (35). Young R. T. 1918. The relation of rhythms and endomixis their periodicity and synchronism in *Paramecium aurelia*. Biol. Bull. **35** (38). Zweibaum J. 1912. Les conditions nécessaires et suffisantes pour la conjugaison du *Paramecium caudatum*. Arch. Protistenk. **26** (275).

[„Prace Instytutu im. Nenckiego“. № 67*]

Leonja Papierbuch.

Zmysł i pamięć kierunków przedmiotu u żab. Różnicowanie i uogólnianie nałogu. Formy wygaszania i ich skutki. Zaburzenia. Wyzwalanie i hamowanie reakcyj nabytych. (Doświadczenie wzrokowe płazów — Cz. IV).

Le sens et la mémoire des directions d'un objet, chez les Anoures. Différenciation et généralisation de l'habitude. Formes d'amortissement et leurs résultats. Perturbations. Déclenchement et inhibition des associations contractées. (L'expérience optique des Batraciens. IV-e mémoire).

Rękopis nadesłany w dniu 7. III. 1928 r.

La plupart de nos expériences ont été exécutées à l'aide de la méthode du couple d'objets (voir: R. MINKIEWICZ '13 et '26, SALOMÉ BIEDERMAN '27, S. RAZWIŁOWSKA '27), les deux „figures“ en bristol ne différant que par leur direction planimétrique, rapportée soit à l'axe vertical soit à l'axe horizontal (fig. 1). Les animaux étudiés appartenaient aux espèces: *Rana temporaria* L., *Hyla arborea* L., *Bombinator igneus* LAUR et *Bufo viridis* LAUR.

Ce n'est que dans une série d'expériences, comprenant à peine plusieurs individus de *Rana temporaria* (N^{os} 9, 10, 11, et 12 de la fig. 9), qu'on eut recours à la méthode d'un seul objet, analogue à celle dont s'était servie SALOMÉ RAZWIŁOWSKA ('27, fig. 3), dans son travail sur la mémoire des dimensions d'un objet, chez les mêmes animaux.

Enfin, dans la série dite de „généralisation“ (c'est-à-dire, dans les expériences, où l'on voulait se rendre compte, si les habitudes contractées par les Batraciens à l'égard de deux figures

*) Z Zakładu Biologii Ogólnej Instytutu im. Nenckiego.

en bristol, ne seraient pas généralisées à d'autres figures, on se servait quelquefois d'un dispositif comprenant trois figures, comme nous l'avons représenté sur la partie droite de la fig. 2 (la partie gauche montre notre dispositif habituel du couple d'objets).

Il est, peut être, superflu d'insister sur la circonstance que, dans toutes les séries, lors de l'amortissement de l'habitude (quelle que fût la modalité de celui-ci) l'animal n'était pas alimenté sur l'appareil pourvu de figures, mais au moyen d'un simple fil auquel était attaché l'insecte (une *Phyllodromia germanica*).

Les graphiques joints au présent travail (fig. 3—21), indiquent la marche des expériences les plus importantes, que nous avons représentées chacune séparément. On trouvera dans ces graphiques l'explication de tous les détails, ainsi que les indications nécessaires.

L'analyse minutieuse de ces graphiques, ainsi que de tous ceux qu'il nous a été impossible de reproduire ici, nous autorise— il nous semble— à en tirer les conclusions suivantes:

1. Les Anoures distinguent bien les directions dans lesquelles s'étend un objet dans l'espace optique. Il s'agit notamment des directions planimétriques des figures en bristol, dont la forme, la couleur et les dimensions sont exactement pareilles.

Le sens de direction s'étend également aux rapports de l'objet avec la normale (direction horizontale, verticale ou inclinée), ainsi qu'à ceux de son asymétrie (dirigée à droite, à gauche, en haut, en bas).

2. Les espèces étudiées — à l'exception de *Bufo* qui, activement, ne manifeste rien — sont en général capables d'associer l'impression de la direction d'objet, à l'action consistant à chercher leur nourriture; ainsi, l'apparition d'un tel objet provoque maintenant un déclenchement de toute une série des réactions motrices bien définies, comme: le tour du corps, le „garde à vous“, l'approche, le saut brusque, la projection de la langue et la préhension avec les mâchoires.

3. La réceptivité et la faculté d'association des Anoures sont si bien développées, que le résultat de leur action devient manifeste déjà après une seule expérience. Et la persistance des traces d'une seule coïncidence d'association est si grande, que la formation d'une habitude durable ne se trouve pas empêchée non seulement par un intervalle habituel de 24 heures, mais par

des intervalles de plusieurs jours. Et, bien plus, une augmentation des intervalles entre les expériences ne semble pas faire augmenter le temps absolu, nécessaire à l'établissement d'une habitude différenciée (confirmation d'une conclusion de SALOMÉ RAZWIŁOWSKA '27, p. 4, que cet auteur a formulée concernant la mémoire des dimensions).

4. Le temps nécessaire à l'établissement d'une habitude différenciée (l'intervalle étant de 24 heures) est variable, non seulement chez les différents individus de la même espèce des Batraciens, mais chez le même individu. En général, 2—4 semaines (c'est-à-dire, 15—30 répétitions) suffisent pleinement, et même moins.

Il nous a été impossible d'y établir des différences constantes entre les différentes espèces ou genres d'Anoures¹⁾ (en dehors du *Bufo* qui ne veut rien manifester activement). Ce que l'on peut clairement constater, ce sont les différences individuelles, d'une part, et, de l'autre, la dépendance de la saison (de l'état physiologique général).

5. Non moins variable est la forme d'établissement d'une habitude. A l'égard des directions d'un objet visé, on y constate les mêmes quatre types individuels que l'on a constatés, au laboratoire du prof. R. MINKIEWICZ, à l'égard des dimensions (S. RAZWIŁOWSKA, p. 3).

Nous tenons à leur donner une terminologie rationnelle et, ce qui s'ensuit, une symbolique rationnelle (tirée des initiaux de leurs termes), à savoir:

Type *O* (zéro)—ne manifestant point d'habitude (sous une forme active).

Type *M* (mixte)—ne manifestant pas de différenciation de l'habitude.

Type *N* (normal)—différenciant l'habitude après une période mixte.

Type *P* (positif)—différenciant ses habitudes d'emblée.²⁾

¹⁾ Quant à la vitesse de leur réaction à un objet, les espèces étudiées peuvent être rangées en une série descendante, comme il suit: 1 — *Bombinator*, 2 — *Hyla*, 3 — *Rana temporaria*, 4 — *Bufo*. (Voir à cet effet une conclusion de SALOMÉ BIEDERMAN '27, p. 5).

²⁾ Nos types *O*, *M*, *N*, *P* correspondent aux types *D*, *C*, *B*, *A* de S. RAZWIŁOWSKA (p. 3).

Dans nos expériences, le *Bufo* se trouve représenté par des types individuels *O* et *M* (S. BIEDERMAN n'en a trouvé que celui de *O*); les autres espèces d'Anoures ont eu ses représentants dans chacun de trois types *M*, *N* et *P*.

Un individu garde en général son type d'établissement individuel, dans des séries d'expériences succédanées.

6. Les associations contractées ont un potentiel de déclenchement fort considérable, ce qui leur permet souvent de dominer une tendance naturelle (instinctive) de l'animal qui le porte à se jeter sur sa nourriture, une fois que celle-ci se trouvera subitement attachée à une figure de direction non associée. Souvent même, l'animal continue à tirer sur la figure associée, lors des périodes où il refuse toute nourriture.

7. La méthode d'un objet (d'une figure) donne des résultats positifs dans peu de jours. L'objet est associé d'emblée, avec ses caractères optiques strictement définis, donc comme un objet à direction spatiale déterminée. Cependant, la méthode du couple d'objets (de figures) permet de constater et d'étudier certaines choses, qui, autrement, n'auraient pas été trouvées.

8. La capacité associative des Anoures, vis-à-vis des directions possibles d'une figure planimétrique¹⁾, ne se trouve pas épuisée par la formation d'une seule habitude. L'animal qui a différencié une direction de l'objet, peut le faire ensuite à l'égard d'une autre, puis d'une troisième etc. Même dans les limites d'un couple des directions donné, l'habitude différenciée envers une direction n'empêche point une différenciation ultérieure envers la seconde direction (c'est ce que nous désignons comme une „inversion de l'habitude“, soit directe, soit précédée d'une période d'amortissement).

Quant aux résultats de l'établissement de ces habitudes succédanées, ils dépendent beaucoup du passé expérimental de l'individu, à savoir: du nombre et du caractère des différenciations précédentes, ainsi que de la forme de leur amortissement.

Une réinversion de l'habitude (dans les limites d'un couple d'objets) ne réussit point. C'est que, certainement, une habitude autrefois „fondamentale“ et ensuite artificiellement affaiblie (inhibée,

¹⁾ Et plus généralement, vis-à-vis des modalités d'un caractère optique quelconque de la figure (de l'objet).

amortisée), met une forte résistance à son réactivation. (C'est la réaction dite de „déception“).

9. L'alimentation confirmative une fois suspendue, la différenciation d'une habitude, visant une direction déterminée de l'objet, disparaît peu à peu. Mais, il y demeure encore l'habitude indifférenciée, vis-à-vis de ce couple des figures dont les valeurs évocatrices (de déclenchement) s'égalisent graduellement entre elles.

La durée d'une habitude différenciée dépend beaucoup de la forme d'amortissement.

L'amortissement „continu“ (non interrompu par des essais de contrôle), après trois mois, ne permet plus d'y révéler directement des traces d'habitude différenciée, à l'aide de la méthode habituelle du couple de figures. L'amortissement „troublé“ par des essais de contrôle permet de suivre pas à pas la disparition de la différenciation. Les essais fréquents (sans confirmation par une alimentation ultérieure, bien entendu) affaiblissent la différenciation d'une habitude, accélérant son passage de la période des réactions positives à celle des mixtes („période mixte secondaire“). Les essais rares permettent de constater une différenciation encore persistante après 2—3 mois. L'amortissement par une inversion directe des valeurs attractives des deux directions de l'objet, fait voir un intéressant tableau des perturbations momentanées dans le comportement de l'animal, ainsi que celui de l'inhibition successive d'une des deux réactions, avec l'établissement simultané de la prévalence successive de l'autre, en passant par une période mixte.

10. Le fait que, même après une période d'amortissement „troublé“ fort longue, l'habitude ne s'amortit pas complètement, mais perd seulement sa différenciation entre les deux directions de l'objet (et, d'une manière plus générale, entre les deux objets d'un couple), — ce fait trouve probablement son explication dans cette circonstance, que l'animal, après chaque essai, était alimenté sur un fil (comme il l'était, d'ailleurs, les jours sans essais), ce qui — malgré nous — servait de confirmation à l'habitude, bien que de confirmation vague, ne différenciant pas les valeurs attractives des deux figures. La confirmation y était ainsi toujours retardée, et dépourvue de tout rapport spatial direct avec les figures. Mais ces retards, ont-ils trouvé une expression quelconque dans l'habitude persistante (à l'instar des „réflexes retardants“ chez

les chiens de I. P. PAWLOW?) c'est ce que nous ignorons, faute d'essais y relatifs.

11. La méthode du couple d'objets peut, de par sa nature, ¹⁾ mener (soit d'emblée soit après une période de différenciation) à une égalisation (équilibration) des valeurs associatives des deux partenaires du couple (en l'espèce, des deux directions de la figure). Cet équilibre peut y être complet ou—ce qui est plus souvent—incomplet, avec prédominance de l'un de deux partenaires (duquel? cela dépend, et l'on ne saurait dire d'avance que c'est la figure fondamentale qui y prendra nécessairement le dessus).

Cette formation d'une habitude accessoire (parasite), visant la figure additionnelle du couple, est d'autant plus remarquable que la figure en question ne se trouve point en continuité spatiale avec l'invocateur (le blatte). Ainsi, une simple coïncidence dans le temps suffit pleinement pour qu'une durable et active association — entre la réaction motrice et l'agent optique — se soit formée.

12. L'habitude différenciée, bien qu'ordinairement fort durable, demeure néanmoins très plastique. La réceptivité associative ne perd pas sa labilité. Tout changement brusque dans le dispositif optique de l'expérience (que ce soit l'introduction d'une figure „étrangère“ à la place d'une des connues, ou bien l'addition d'une figure nouvelle: d'une seconde, dans la méthode d'un objet, d'une troisième, dans celle du couple; que ce soit, enfin, l'inversion des valeurs attractives des deux partenaires) provoque instantanément un trouble dans le comportement de l'animal. Ce trouble, qui se manifeste, ordinairement, par une inhibition temporaire de la réaction habituelle (ce qui donne une série de zéros, chez les animaux qui, jusque-là, n'en donnaient jamais) et, parfois par un assaut inattendu contre la figure „étrangère“, peut, par la suite, amener un changement dans la différenciation de l'habitude, dans les rapports entre les processus de déclenchement et ceux d'inhibition des réactions.

13. Par ailleurs, l'introduction d'un objet „étranger“ nous fournit un moyen parfait pour mettre au jour les différentes

¹⁾ Voir à cet effet le travail de SALOMÉ RAZWIŁOWSKA (p. 4—5) qui y a porté une attention toute spéciale. Cependant, notre étude nous a permis d'en approfondir l'analyse.

choses, jusque-là latentes, et ceci tant dans la méthode du couple que dans celle d'un objet.

L'introduction d'une figure „étrangère“ à la place de „l'accessoire“, fait de suite ressortir la différenciation de l'habitude à l'égard de la figure „fondamentale“. L'introduction de la figure „étrangère“ à la place de la „fondamentale“, démontre l'existence simultanée de l'habitude visant la figure „accessoire“, et qui n'y est pas moins différenciée que l'autre. L'introduction alternante de la figure „étrangère“, une fois à la place de la figure „accessoire“, une autre à la place de la figure „fondamentale“ (série dite de „généralisation“), nous sert à apprécier la valeur relative du potentiel de déclenchement des deux associations coëxistantes, ainsi qu'à constater le rapport mutuel entre le processus d'inhibition et celui de déclenchement. Le potentiel de déclenchement des deux partenaires d'un couple fixe d'objets, peut y être soit égal soit différent, et ce n'est pas nécessairement l'objet „fondamental“ qui y prendra toujours dessus. Ceci dépend beaucoup du passé des deux habitudes, du caractère des expériences, de la forme et de la phase de l'amortissement.

Les cas en apparence paradoxaux, que nous n'avons pas réussi à élucider pour le moment, où, en présence d'une des deux figures „connues“ (et surtout de la „fondamentale“), l'animal attaque l'„étrangère“, — ces cas coïncident avec une prédominance préalable de l'habitude „accessoire“ sur la „fondamentale“, resp. avec une forte inhibition de l'habitude autrefois „fondamentale“.

On a l'impression, que l'association s'y était généralisée, d'une façon générique, à tout un groupe d'objets optiques (figures en bristol), dont cependant un seul s'en trouva ultérieurement éliminé, et c'est précisément celui qui, autrefois, y était fondamental, qui, autrefois, y avait eu le plus haut pouvoir de déclenchement, et qui, maintenant, y a le plus haut pouvoir d'inhibition (intéressant changement d'un excitant en un frein¹⁾.

¹⁾ Pour une meilleure compréhension de la dernière partie de nos conclusions concernant les problèmes de „généralisation“, d'inhibition etc., il sera de toute utilité de consulter aussi nos trois tableaux et une dizaine de petites tabelles insérées dans le texte polonais, mais munies toutes d'inscriptions françaises.

I. Uwagi wstępne.

Zadania.

W pracy niniejszej, czwartej z cyklu ¹⁾, traktującego metodą nałogu zmysł i pamięć wzrokowej orientacji żab w świecie przedmiotów drobnych, przeprowadzony jest szereg doświadczeń, zmierzających do wyjaśnienia 1^o, czy ta grupa zwierząt zdolna jest różnicować dwie identyczne figurki geometryczne płaskie (t. j. jednakowej wielkości, kształtu i barwy) — umieszczone jednak inaczej na płaszczyźnie (różnica kierunku) i ustalić nałóg do jednej z tych figurek; 2^o, jak długo u osobników, które dany nałóg ustaliły, trwa to skojarzenie nabyte i w jaki sposób zanika w rozmaitych warunkach doświadczalnych; 3^o, jaki jest stosunek żaby do figurki „dodatkowej“ oraz do bodźców ubocznych, nieuniknionych w doświadczeniu; 4^o, jakie będzie zachowanie się żab o skojarzeniach nabytych, wobec zupełnie nowych figurek („obcych“).

Materiał.

Jako materiał posłużyły następujące gatunki żab: *Rana temporaria*—17 osobników, *Hyla arborea*—8, *Bombinator igneus*—5, *Bufo viridis*—3, razem 33 osobniki.

Z tej ogólnej liczby 9 żab dało rezultaty stwierdzające niezbycie istnienie zmysłu i pamięci położenia przedmiotu, reszta zaś, która w trakcie doświadczeń uciekła (7 osobników) lub zdechła (17 osobników), dawała rezultaty rozmaite, co do których trudno przewidzieć, w jakie formy mogłyby się były rozwinać.

Metodyka.

1^o. Ogólna (ustalenie nałogu).

Żaby są umieszczane pojedynczo w oddzielnych, dostatecznie obszernych (18×12×18 cm), prostopadłościennych akwarjach, osłoniętych papierem nieprzezroczystym. Gatunki *R. temporaria* i *Bombinator* są w wodzie (1 cm), *Hyla* w zielonym mchu (do

¹⁾ 1) S. BIEDERMAN — stosunek do kształtów, 2) FR. GUTGLAS — do barw (w druku), 3) S. RAZWIŁOWSKA — do wymiarów. Patrz także R. MIN-KIEWICZ: Wstęp ogólny.

połowy wysokości naczynia), *Bufo* w akwariach dostatecznie zwilżanych wodą. Jako pokarm służą owad *Blatta s. Phyllodromia germanica*, nader rzadko dżdżownica.

Figurki używane do doświadczeń, wycinane z białego sztywnego bristolu, były następujące: trójkąty prostokątne, kwadraty oraz prostokąty. Wymiary były nieco większe dla osobników dużych, mniejsze zaś dla małych hyl i kumek, mianowicie:

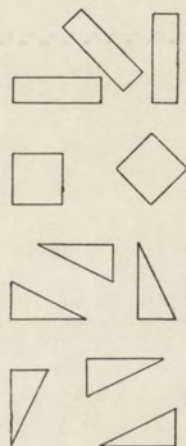
Trójkąty prostokątne (ostrym kątem wwyż, wódł, wprawo, wlewo)	3 cm × 1.5 cm	
Kwadraty (zwykły lub sztorcem)	2 cm	oraz 1.5 cm
Prostokąty (poziomy, pion. i skośny)	3.5 cm × 1 cm	, 3 cm × 0.75 cm

Figurki jednakowego kształtu umieszczane były po parze na aparaciku z jasnego drutu, o dwóch ramionach równoległych połączonych poprzeczką, warunkującą stałą odległość między nimi oraz służącą do zawieszania na krawędzi akwarjum.

Figurki każdej parki umieszczane są inaczej w stosunku do swych osi, przyczem dla każdej parki konstruowane są dwa aparaciki, dla ułatwienia wymiany prawo-lewej figurek (eliminacja czynnika przestrzennego). Podczas karmienia aparacik znajduje się na jednej ze ścianek naczynia, nigdy stale na tej samej, dla uniknięcia przyzwyczajenia do danego miejsca (ścianki) akwarjum. Akwarjum oświetlone jest z góry oraz z boku, od strony dwóch mniejszych, nieosłoniętych ścianek.

Każda żaba otrzymuje raz dziennie pokarm w postaci jednego owada (*Phyllodromia germanica*), przyczepionego nitką do jednej figurki — zasadniczej, do której ma wytworzyć nałóg i którą winna odróżnić od drugiej figurki — dodatkowej, takiej samej, ale inaczej ustawionej.

Po pewnym okresie karmień, wprowadzone zostają do doświadczeń „próby“, polegające na tem, że w porze normal-



Rys. 1. „Figurki“ z bristolu użyte w doświadczeniach: prostokąty — pionowy, poziomy i skośny; kwadraty — zwykły i sztorcem; trójkąty w sześciu pozycjach. $\frac{1}{2}$ wielkości naturalnej.

Fig. 1. „Figures“ en bristol employés dans la présente série d'expériences: rectangles — vertical, horizontal et incliné; carrés — normal et incliné; triangles en six directions (positions). $\frac{1}{2}$ de la grand. natur.

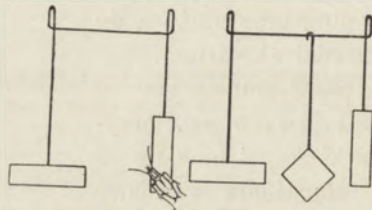
nego karmienia wstawiany jest do akwarjum aparacik pusty, pozbawiony inwokatora (jadła).

Żaba o nałogu utrwalonym reaguje w postaci rzucenia się na jedną z figurek. Reakcję do figurki zasadniczej określamy jako dodatnią (+), do dodatkowej zaś jako ujemną (-).

Często żaba rzutem nie reaguje—będzie to reakcja zerowa (0).

Czas próby wynosi do 10 minut, poczem bez względu na jej wynik żaba jest natychmiast karmiona normalnie, t. j. na zwykłej parce, na figurce zasadniczej.

Niekiedy (*R. temporaria* № 9, 10, 11, 12) metoda ustalania nałogu ulegała zmianie: karmienie prowadzono na figurce pojedynczej (zamiast na parce).



Rys. 2. Aparaciki z drutu z przyczepionymi figurkami: zlewa — dwufigurkowy zwykły, z owadem; zprawa — trójjfigurkowy z serji „generalizacji”.
 $\frac{1}{3}$ wielkości naturalnej.

Fig. 2. Appareils utilisés avec des figures en bristol y attachées: à gauche — l'appareil ordinaire à couple des figures (avec un blatte); à droite — l'appareil à trois figures, employé dans une série d'expériences dites de „généralisation”.
 $\frac{1}{3}$ de la grand. naturelle.

2^o. Wygaszanie (amortyzacja) nałogu.

Doświadczenia amortyzacyjne polegają na tem, że żaby o nałogu ustalonym i utrwalonym w szeregu doświadczeń obecnie karmione są nie na aparaciku, ale na nitce, a więc z usunięciem poprzedniego układu doświadczeń. Co pewien czas odbywają się natomiast próby, jak wyżej, po próbach zaś karmienie amortyzacyjne na nitce. Jedynie w amortyzacji z jednoczesnym utwaleniem nowego nałogu (w t. zw. bezpośrednim odwracaniu nałogu) karmienie z konieczności odbywa się na aparaciku, na nowej figurce zasadniczej, a więc tak jak w normalnem ustalaniu nałogu (np. wykres 24c, figura 20).

3^o. Uogólnianie (generalizacja) nałogu.

Dla wyświetlenia stosunku żaby do figurki dodatkowej oraz dla zanalizowania spraw amortyzacyjnych wprowadzone

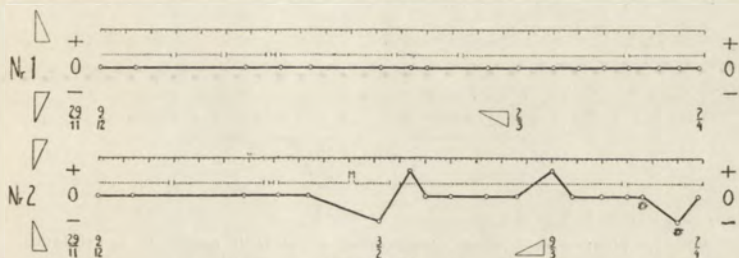
były w rozmaitych stadjach amortyzacji lub ustalania nałogu zmiany w doświadczeniu, polegające na zastąpieniu podczas prób figurki zasadniczej lub dodatkowej, bądź stale bądź naprzemian — figurką zupełnie obcą, o odmiennym kształcie geometrycznym. Próby kontrolne odbywały się na zwykłej parze figuerek. Karmienie zaś — natychmiast po próbie, na nitce (jeśli serję rozpoczęto w stadjum amortyzacji), lub na zwykłej parze (jeśli w stadjum ustalania nałogu).

II. Przebieg doświadczeń.

1. *Bufo viridis*.

Dwa osobniki tego gatunku były w doświadczeniu od 29. XI. 24 r. do 8. IV. 25 r.

Karmione na trójkątach, w ciągu tego czasu nałogu nie ujawniły, zdradzając bardzo ciekawe zachowanie, różniące je od pozostałych



Rys. 3. Wykres № 1. *Bufo viridis*. Ustalanie nałogu. Typ reagowania 0 (zerowy — wszystkie próby zerowe). Wykres № 2. *Bufo viridis*. Ustalanie nałogu. Typ reagowania M (mieszany).

Skala nad wykresem znaczy dni i okresy pięciodniowe. Linja punktowana w środku wykresu znaczy ciągłość, wzgl. przerwy w zjadaniu owada. Znaki: $\frac{+}{0}$ oznaczają trzy osie poziome, na których kółka wskazują wyniki prób. Figurki przed wykresem wskazują metodę doświadczeń. Wszelka zmiana metody znaczonej figurkami (przy odpowiedniej dacie): figurki w dole znaczą zmianę dodatkowej na inną. Gwiazdki oznaczają jednorazową próbę metodą pierwotną. Data przed wykresem oznacza początek karmień (doświadczeń). Pierwsza data wykresu oznacza początek „prób”.

Fig. 3. *Bufo viridis*, deux individus. Graphique № 1. Expérience sur l'établissement de l'habitude. Type réactionnel 0 (tous les essais nuls = zéro). Graphique № 2. Expérience sur l'établissement d'une habitude. Type réactionnel M (mixte).

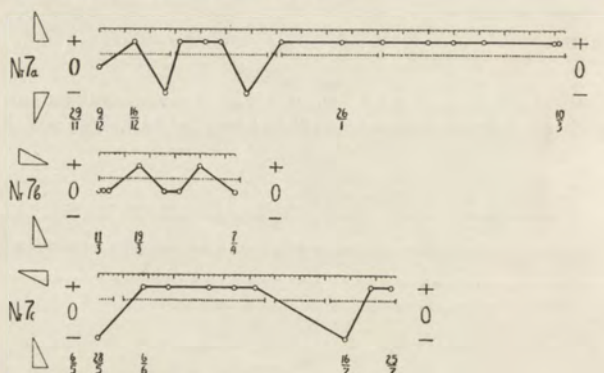
L'échelle en dessus marque les jours et les périodes de 5 jours. Le pointillé au milieu du graphique indique la continuité (resp. les intervalles) dans l'alimentation de l'animal. Les signes: $\frac{+}{0}$ indiquent les trois axes horizontaux du graphique, où les petits ronds marquent les résultats des essais. Les figures qui précèdent le graphique, définissent la méthode employée. Tout changement de méthode est marqué, à la date relative, par des figures respectives: celles d'en bas — indiquent une substitution de la figure „accessoire” du couple, par une „étrangère”. Les astérisques signifient un essai (unique) sur le couple ordinaire des figures. La date d'avant le graphique, indique le commencement de l'expérience (de l'alimentation). La première date du graphique indique le commencement des essais.

gatunków. Naogół bardzo czujne (szczególnie № 2), zwracają natychmiast uwagę na wstawiony aparat, reagują ruchem całego ciała, głowy, drganiem gwałtownym kończyn i t. p. Oglądają aparat ze wszystkich stron,

байд podłażąc, bądź z miejsca. Czas od chwili wstawienia aparatu do chwili zjedzenia owada względnie bardzo długi — przeciętnie 15 minut. Podczas prób zachowanie podobne, przytem *Bufo* № 1 nie reaguje nigdy rzutem na figurkę, zaś № 2 po dwóch miesiącach reaguje parokrotnie, dając reakcje mieszane (Rys. 3, wykresy 1 i 2). Nałogu nie ustaliły.

2. *Rana temporaria*.

17 osobników tego gatunku było w doświadczeniu od 29.XI.24 r. do lipca 1927 r. w rozmaitych porach roku i rozmaicie długo. Reagują naogół szybko i czujnie, zdradzając w zachowaniu indywidualne sposoby chwytania, szybkości reagowania i innych cech.



Rys. 4. Wykres № 7. *Rana temporaria*. a) ustalanie nałogu I; b) ustalanie nałogu II; c) ustalanie nałogu III.

NB. Po b) był miesięczny okres amortyzacji ciągłej. Typ reagowania N normalny).

Fig. 4. *Rana temporaria*. Graphique № 7. a) établissement de l'habitude I; b) établissement de l'habitude II; c) établissement de l'habitude III.

NB. La série b fut suivie d'une période d'amortissement continu durant un mois. Type réactionnel N (normal).

Grupa A. Ustalanie na parze figurek.

Z tej grupy ujawniły nałóg doskonale zróżnicowany żaby № 7, 14, 15 i 17. Inne (№ 3, 4, 5, 6, 16) dawały reakcje mieszane.

Rana t. № 7. 22.XI.24 r. do 16.VII.25 r. Trójkąty: wwyż (+) i wdół (-).

a) Ustalanie nałogu: czujna, żywa, chwytą najczęściej z energicznego, pewnego doskoku. W próbach chwytą figurkę mocno szczękami. Nałóg ustala (rys. 4, wykres 7a).

b) Ustalanie nałogu do nowej figurki, przy pozostawieniu starej, znałogowanej, jako dodatkowej. Trójkąty: wprawo (+) i wwyż (-) (rys. 4, wykres 7b).

Początkowo ruchy powolne, ostrożne, potem wraca do normy. Doświadczenia po 28 dniach przerwane. Próby dodatnie lub zerowe.

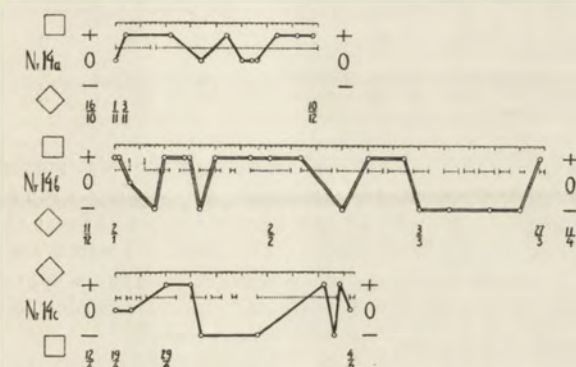
c) Po 28 dniach przerwy doświadczenia zostały wznowione w układzie trójkątów: w lewo (+) i wwyż (-).

Po 22-dniowym okresie karmienia pierwsza reakcja wypadła ujemnie, poczem żaba nowy nałóg ustaliła. Zachowanie jej jednak

uległo zmianie (wiosna?). Rzuty często chybiane, a przeto parokrotne. Ruchy straciły pewność i precyzję. Często niespokojna, obtłukuje się o ścianki, lub przeciwnie senna i powolna. Reaguje jednak szybko (rys. 4, wykres 7c).

Rana № 14. 16.X.25 r. do 9.VII.26 r. Kwadraty: zwykły (+) i sztorcem (—).

a) Ustalenie nałogu: spokojna, reaguje szybko, jednym, pewnym rzutem. Czas w karmieniu 5 s. — 5 m.; w próbach 2 m. — 10 m. Przypatruje się spokojnie. Czasem kręci się w kierunku pałeczki lub badacza. Po okresie wstępnym odrazu pozytywny. Nałóg ustala (rys. 5, wykres 14a).



Rys. 5. Wykres № 14. *Rana temporaria*. a) ustalenie nałogu; typ reagowania P (pozytywny); b) amortyzacja (znaczona linią podwójną) ciągła, potem próby rzadkie; c) odwracanie nałogu.

Fig. 5. *Rana temporaria*. Graphique № 14. a) établissement de l'habitude; type réactionnel P (= positif); b) amortissement continu (marqué au trait double), puis les rares essais; c) inversion de l'habitude.

b) Amortyzacja. Po 22-dniowej amortyzacji ciągłej¹⁾, wprowadzone zostają próby co parę dni. Pierwsza próba ujemna następuje po miesiącu amortyzacji. Początkowo przewaga prób dodatnich, potem ujemnych. W miarę czasu próby coraz niepewniejsze (rys. 5, wykres 14b).

c) W tem stadium przystąpiłam do ustalenia nowego nałogu, odwracając układ *a*, mianowicie kwadraty sztorcem (+) i zwykły (—). Okres karmień krótki — 7 dni. Żaba wpada w reakcje mieszane i nałogu nie ustala. Występują minusy w karmieniu i uderzenia w ściankę, przedtem nigdy nie obserwowane (rys. 5, wykres 14c).

d) Generalizacja. Dla wyjaśnienia tego odmiennego zachowania w serjach *a* i *c* wprowadzona zostaje zmiana w doświadczeniu: figurka dodatkowa jest podczas prób zamieniana na figurkę obcą, mianowicie trójkąt. W tym układzie żaba bije w figurkę zasadniczą, do której

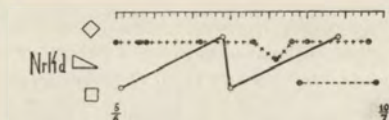
¹⁾ T. j. dłuższym okresie karmienia na nitce bez prób (przeciętnie 3 tygodnie).

chcieliśmy właśnie ustalić nałóg. Karmienie odbywa się na zwykłej parce. Dla kontroli odbywają się także próby na zwykłej parce oraz w układzie figurek: dodatkowej i obcej.

Rezultat jest następujący:

Układ figurek Système des figures	Ilość reakcyj (prób) Nombre des réactions (des essais)				
	ogólna total	na zasadniczą à la fondamentale	na dodat. à l'accessoire	zerowych nulles	na obcą à l'étrangère
zasadnicza — obca fondamentale — étrangère	12	9	—	2	1
Dodatkowa — obca accessoire — étrangère	5	—	2	3	0
zasadnicza — dodatkowa fondamentale — accessoire	9	2	2	5	—

Z powyższego widać, że typ reakcji na zwykły poprzedni zespół nie uległ zmianie. Ujawniło się natomiast, że obie dawne figurki są utrwalone i dobrze odróżniane od trzeciej, obcej (raz tylko uderzonej po dość licznych próbach). Wyjaśnia się także, dlaczego w serji *c* nowy nałóg się nie ustalił: amortyzacja doprowadziła do zgeneralizowania nałogu na obie figurki, to też odwrócenie poprzednio ustalonego nałogu nie udało się (rys. 6, wykres 14).

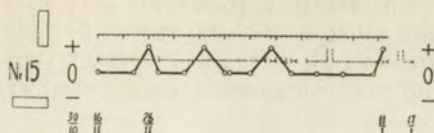


Rys. 6. Wykres № 14 d. *Rana temporaria* (ta sama, co na rys. 5). Serja t. zw. „generalizacji”. Wykres budowany inaczej, niż w serjach poprzednich. Linja ciągła (—) oznacza próby na zwykłej parze figurek. Linja krzyżkowa (+++++) na zespole dwóch figurek: zasadnicza-obca. Linja przerywana (---) na zespole: dodatkowa-obca. Próby nad generalizacją rozpoczęte w stadium odwracania nałogu po uprzedniej długiej amortyzacji.

Fig. 6. *Rana temporaria*, la même que sur la fig. 5. Graphique № 14d. Série dite de „généralisation”. Ce graphique diffère, comme construction, de ceux qui précèdent. Au trait continu (—) sont marqués les essais sur un couple ordinaire des figures. Aux petites croix (+++++) ceux sur un couple: „fondamentale-étrangère”. Aux trait discontinu (---) ceux sur un couple: „accessoire-étrangère”. Les essais de généralisation furent commencés au stade d'inversion après un long amortissement préalable.

Rana t. № 15. 30.10.25 r. do 8.1.26 r. Prostokąty: pionowy (+) i poziomy (—).

Spokojna. Czas reakcji 30 s.—3 m. Po dwóch miesiącach chora: powolna, klapnięta, nie jada. Reaguje dodatnio lub zerowo. Czas prób 3 m.—12 m. W próbach zerowych patrzy cały czas, w dodatnich chwytła mocno szczękami parokrotnie figurkę. Nałóg ustala. Zdycha w trakcie doświadczeń. (rys. 7, wykres 15).



Rys. 7. Wykres № 15. *Rana temporaria*. Ustalenie nałogu. Typ reagowania P (pozytywny).

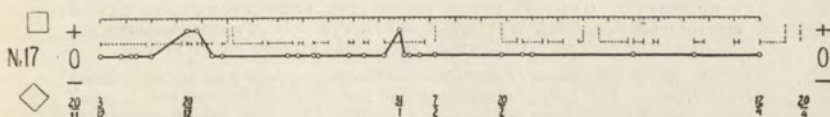
Fig. 7. *Rana temporaria*. Graphique № 15. Etablissement de l'habitude. Type réactionnel P (positif).

Rana t. № 17. 30.10.25 r. do 28.3.26 r. Kwadraty zwykły (+) i sztorcem (—).

Ciekawa ze względu na zachowanie, zbliżone do *Bufo*. Reaguje nader wolno, leniwie. Nieruchawa, siedzi przeważnie pod ścianką. Podczas karmienia i prób spokojna, patrzy nieruchomie, robi wrażenie niedostrzegania, względnie absolutnej obojętności. Jada normalnie. Często kłapnięta, skulona. Ożywia się czasem, gdy owad ukryty za figurką: bije wtedy gwałtownie, wielokrotnie, aż go wyciągnie, potem wraca do swej martwoty.

Podczas prób patrzy uważnie i albo odwraca się, albo podłazi do ścianki pod aparat, jakby nie istniał wcale. Czas prób: 2 m. — 10 m. Czas reakcji podczas karmienia: 1 m. — 10 m.

W ciągu tych 5 miesięcy 3 próby dodatnie — wszystkie inne zerowe. Zdycha podczas doświadczeń (rys. 8, wykres 17).



Rys. 8. Wykres № 17. *Rana temporaria*. Typ reagowania podobny do *Bufo*: O/P.

Fig. 8. *Rana temporaria*. Graphique № 17. Type réactionnel analogue à celui de *Bufo*: O/P.

Grupa B. Ustalenie nałogu do pojedynczej figurki.

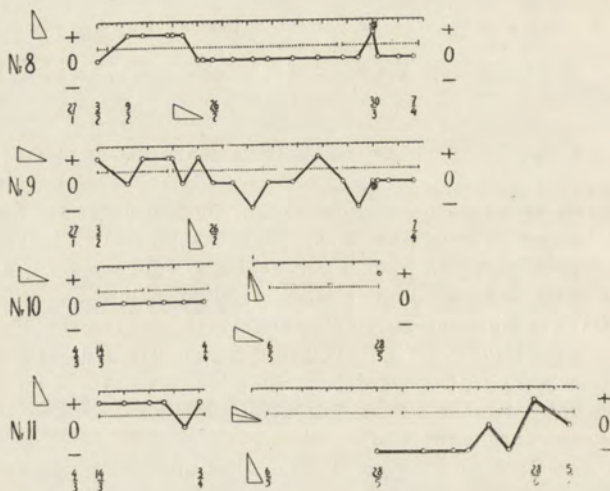
Do czterech *R. temporaria* została zastosowana odmienna metoda ustalania nałogu i badania zdolności różnicowania figurek.

Mianowicie, karmienie i próby odbywały się początkowo na pojedynczej figurce, zaś po ustaleniu do tejże nałogu zostaje wprowadzony podczas prób aparat zwykły o dwóch figurkach: znałogowanej oraz dodatkowej (jak wyżej). Karmienie — i po próbach w dalszym ciągu na pojedynczej figurce.

Rana № 8. Trójkąt wzwwyż.

Po 8-dniowym okresie karmienia już wali podczas próby w figurkę. Reaguje bardzo szybko: 10 s. — 20 s. W próbach rzut pewny, chwyt szczękami. Nałóg w ciągu 4 tygodni ustala, poczem rozpoczynają się próby na aparacie dwufigurkowym: trójkąty wzwwyż (+) i wprawo (—). Żaba przestaje reagować. Kontrolna próba z pojedynczą figurką wypada dodatnio, 30.3 (rys. 9, wykres 8).

Rana № 9, jednocześnie i jednakowo z № 8 traktowana, ustaliła w tym samym czasie nałóg do trójkąta wprawo (+). Przy wprowadzeniu do prób układu: wprawo (+), wwyż (—) dawała reakcje mieszane lub zerowe. W zachowaniu często niespokojna, bardzo ruchliwa (rys. 9, wykres 9).



Rys. 9. *Rana temporaria* (4 osobniki). Wykresy № 8 i 9. Metoda pojedynczej figurki. W miejscach, oznaczonych figurką w dole, początek prób na aparacie dwufigurkowym. Gwiazdki znaczą jednorazowe próby kontrolne na figurce pojedynczej (pierwotnej). Wykresy № 10 i 11. Przejście od metody pojedynczej figurki do metody pary figurek z miesięczną przerwą amortyzacyjną.

Fig. 9. *Rana temporaria* (4 individus). Graphiques № 8 i 9. Méthode d'une seule figure. Aux endroits marqués par une figure en bas, on voit le commencement des essais sur un couple de figures. Les astérisques indiquent les essais sporadiques de contrôle sur une seule figure (initiale). Graphiques № 10 et 11. Passage de la méthode d'une figure à celle du couple, après un intervalle d'un mois d'amortissement.

Rana № 10 (4.III. do 5.VI.25 r.) i № 11 (4.III. do 8.VII.25 r.) podlegały w ciągu czterech tygodni ustalaniu nałogu do pojedynczych figurek (jak wyżej). № 10 dawała stale w próbach na pojedynczej figurce odpowiedzi zerowe, № 11 zaś — dodatnie. Dalszy ciąg doświadczeń z tą parką został poprowadzony nieco inaczej: mianowicie po 4-tygodniowej amortyzacji ciąglej rozpoczęłam doświadczenia na parze figurek, czyli ustalenie nowego nałogu do nowej figurki, przy pozostawieniu jako dodatkowej — figurki z pierwszej części doświadczenia, mianowicie:

dla № 10 wwyż (+) i wprawo (—).

dla № 11 wprawo (+) i wwyż (—).

Po 22-dniowym okresie karmień pierwsza próba dla № 10 wypadła dodatnio; niestety, w parę dni potem żaba zdechła.

Natomiast № 11 reagowała w próbach ujemnie przez 4 tygodnie, poczem dopiero dała pierwszy i ostatni plus, gdyż także wkrótce zdechła.

Ten ostatni przypadek wskazywałby na to, że ustalony w pierwszej części doświadczenia nałóg do pojedynczej figurki trwał przez 8 tygodni, pomimo 4-tygodniowej amortyzacji ciągłej i parotygodniowego karmienia na nowej figurce (rys. 9, wykresy 10 i 11).

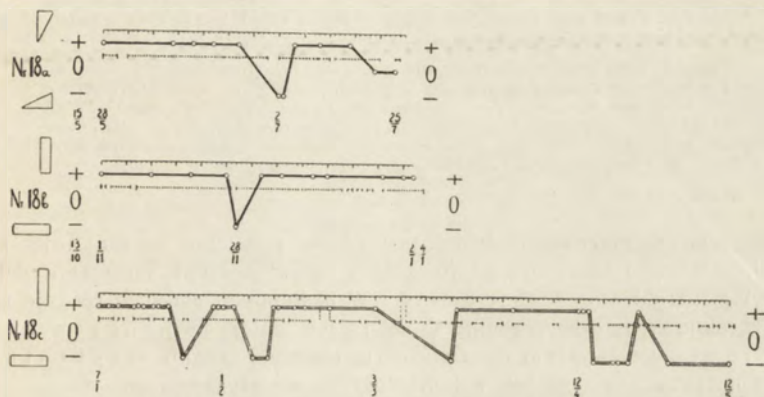
3. *Hyla arborea*.

Z ogólnej liczby 8, cztery osobniki były w doświadczeniu dłuższy czas — od maja 1925 r. do lipca 1926 r. — przechodząc kolejno wszystkie serie, a więc ustalanie (parokrotne), amortyzację i generalizację nałogu.

Hyla № 18.

a) Ustalanie nałogu. Od 15. V. do 25. VII. 1925 r. Trójkąty: wdół (+) i wlewo (—).

Bardzo ruchliwa. Reaguje coraz szybciej. Do owada podłazi kroczkami drobnymi, chwytą pewnym rzutem. W próbach reaguje wolno, uważnie. Nałóg ustala, przechodząc od razu po 13-dniowym okresie karmień do okresu pozytywnego (rys. 10, wykres 18a).



Rys. 10. *Hyla arborea*. Wykres № 18. a) Ustalanie nałogu I; typ reagowania P; b) ustalanie nałogu II po wakacjach; typ reagowania P; c) amortyzacja z częstymi próbami.

Fig. 10. *Hyla arborea*. Graphique 18. a) établissement de l'habitude I; type réactionnel P; b) établissement de l'habitude II; type réactionnel P; c) amortissement à essais fréquents.

b) Powtórne ustalanie nałogu (po 3-miesięcznej przerwie letniej). 13.X.25 r. do 4.I.26 r. Prostokąty pionowy (+) i poziomy (—).

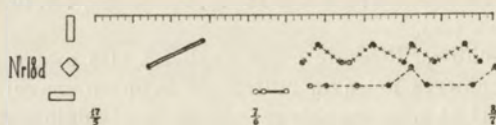
Nałóg ustala. Przebieg doświadczeń analogiczny w obu seriach: brak okresów mieszanych, zakłócenie okresów pozytywnych pojedynczymi próbami ujemnymi (rys. 10, wykres 18b).

c) Amortyzacja nałogu z próbami: 8.I. do 12.V.26 r. Próby codzienne, względnie bardzo częste. W ciągu szesnastu dni stałe odpowiedzi dodatnie, poczem rozpoczynają się także ujemne, z dużą przewagą po stronie plusów, które po trzech miesiącach ustępują coraz częstszym minusom. W miarę posuwania się amortyzacji, próby coraz niepewniejsze, częste także uderzenia w ściankę, obok lub między figurki.

W okresie luty—marzec tak niespokojna, że próby wogóle niemożliwe, lub bardzo utrudnione (rys. 10, wykres 18c).

d) Generalizacja. 17.V. do 8.VII.26 r.

Doświadczenie, rozpoczęte bezpośrednio po amortyzacji w stadium przewagi minusów, skonstruowane zostało w sposób następujący (karmienie na nitce, próby na zespole trójfigurkowym codzienne): między dotychczasowe figurki wprowadzona zostaje nowa, obca figurka — kwadrat sztorcem (p. rys. 2c).



Rys. 11. *Hyla arborea* (ta sama co na rys. 10). Wykres 18d. Generalizacja rozpoczęta po długotrwałej amortyzacji, w stadium przewagi minusów. Budowa wykresu jak na rys. 6, z tym dodatkiem, że linia podwójna ciągła (====) oznacza wyniki prób na zespole trójfigurkowym: zasadnicza — obca — dodatkowa. (NB. Zahamowanie reakcji przy wprowadzeniu tego zespołu).

Fig. 11. *Hyla arborea* (la même que sur la fig. 10). Graphique 18d. Série de généralisation commencée après un long amortissement, au stade de prévalence des réactions „négatives“ (—). Construction du graphique tout comme celle de la fig. 6, y ajouté le trait double (====) représentant les résultats des essais sur le dispositif trifigural: „fondamentale — étrangère — accessoire“. (Remarquez l'inhibition des réactions après l'introduction de ce dispositif).

Podczas pierwszych dwóch prób żaba spokojnie ogląda nowy zespół, podążając i przypatrując się każdej figurce z osobna; podczas trzeciej zaś bije parokrotnie w obcą figurkę. W następnych czterech reaguje raz uderzeniem w figurkę zasadniczą. W trzech dalszych próbach kontrolnych na zwykłym dwufigurowym aparacie reaguje trzykrotnie ujemnie, a więc tak jak w końcu okresu amortyzacyjnego.

Układ figurek Système des figures	Ilość reakcyj (prób) Nombre des réactions (des essais)				
	ogólna total	na zasadniczą à la fondamentale	na dodatki. à l'accessoire	zerowych nulles	na obcą à l'étrangère
zasadnicza — obca — dodatkowa fondamentale — étrangère — accessoire	8	1	0	6	1
zasadnicza — dodatkowa fondamentale — accessoire	3	0	3	0	—

Zmieniam doświadczenie: wycofuję zespół trójfigurkowy, stosując natomiast kolejno zamiarę, w zwykłej parce, figurki zasadniczej lub dodatkowej na obcą. Wynik prób:

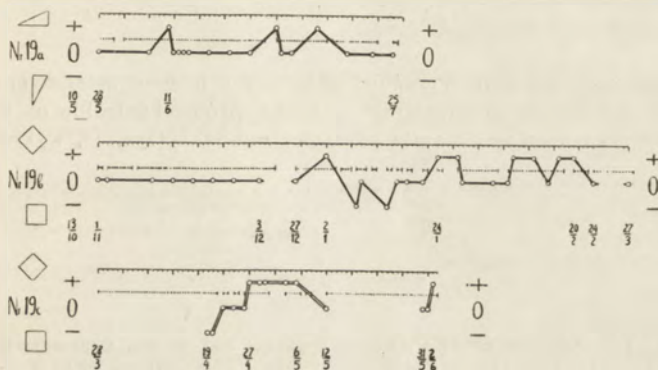
Układ figurek <i>Système des figures</i>	Ilość reakcyj (prób) <i>Nombre des réactions (des essais)</i>				
	ogółu <i>total</i>	na zasadniczą <i>à la fondamentale</i>	na dodatk. <i>à l'accessoire</i>	zerowych <i>nulles</i>	na obcą <i>à l'étrangère</i>
zasadnicza — obca <i>fundamentale — étrangère</i>	10	4	—	0	6
dodatkowa — obca <i>accessoire — étrangère</i>	9	—	6	1	2

W pierwszej części doświadczenia (zespół trójfigurkowy) wprowadzona obca figurka nie wpływa na zmianę wyboru figurki na korzyść uprzednio znałogowanej: trzy próby kontrolne wypadają ujemnie. W dalszym układzie (dwufigurkowym) wszystkie trzy figurki są uderzane przez żabę. Wyraźne jest jednak faworyzowanie figurki dodatkowej na niekorzyść zasadniczej, która jest traktowana gorzej od figurki obcej (rys. 11, wykres 18d).

Hyla № 19.

a) Ustalanie nałogu. 10.V. do 25.VII.25 r. Trójkąty: wlewo (+) i wdół (—).

Naogół spokojna. Gdy daleko od aparatu, przysuwa się wolno, ostrzeźnie, wyciągając się na łapkach. Chwył zblizka. Często—drżanie kończyn w trakcie przygotowywania się do chwytu. Podczas prób spokojna, uważna. Długi okres wstępny. Reaguje rzadko (np. w porównaniu z № 18)—zawsze dodatnio. (rys. 12, wykres 19a).



Rys. 12. *Hyla arborea*. 19. a) Ustalanie nałogu I; typ reagowania P; b) ustalanie nałogu II p. w; typ reagowania N; c) amortyzacja ciągła naprzemian z próbami.

Fig. 12. *Hyla arborea*. Graphique 19. a) établissement de l'habitude I—type réactionnel P; b) établissement de l'habitude II—type réactionnel N; c) amortissement continu, alternant avec les essais.

b) Powtórne ustalanie nałogu (po wakacjach letnich). 13.10.25 r. do 27.3.26 r. Kwadraty: sztorcem (+) i zwykły (—). Zachowanie zmienione: reaguje powoli, podczas miesięcy zimowych leniwa, nieruchawa, ukryta w mchu. Je codziennie, ale bardzo niechętnie. Ożywia się w końcu lutego. Czas reakcji 1 m.—15 m. Podobne zachowanie w próbach. Niezmier-

nie długi (81 dni) okres wstępny, po którym zaczyna reagować. Ciekawe, czy odegrało tu rolę zastosowanie głodówek przed próbami (p. linję jadań, rys. 23). Nałóg ustala, poczem znówu wpada w okres zerowy. W tem też stadjum rozpoczęto (rys. 12, wykres 19b)

c) amortyzację (28.3 do 2.6.26 r.) w następującej formie: zastosowane zostały kolejno trzytygodniowe okresy amortyzacji ciągłej, przerywane okresami amortyzacji z próbami częstymi. Po dwóch miesiącach nałóg trwa (rys. 12, wykres 19 c). W tem stadjum pozytywnem rozpoczęłam doświadczenia

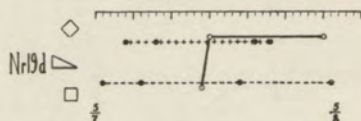
d) generalizacyjne, by stwierdzić, czy mimo stałych pozytywnych reakcyj utrwalony jest także obraz figurki dodatkowej.

A więc w zwykłej parze jest kolejno zamieniana bądź figurka dodatkowa, bądź zasadnicza na figurkę obcą — trójkąt wprawo.

Wynik prób:

Układ figurek <i>Système des figures</i>	Ilość reakcyj (prób) <i>Nombre des réactions (des essais)</i>				
	ogólna <i>total</i>	na zasadniczą <i>à la fondamentale</i>	na dodat. <i>à l'accessoire</i>	zerowych <i>nulles</i>	na obcą <i>à l'étrangère</i>
zasadnicza — obca <i>fundamentale — étrangère</i>	11	4	—	7	0
dodatkowa — obca <i>accessoire — étrangère</i>	10	—	4	6	0
zasadnicza — dodatkowa <i>fundamentale — accessoire</i>	4	2	1	1	—

Powyższy rezultat wyraźnie świadczy o mocno ustalonym nałogu do obu figurek, co potwierdzają także próby kontrolne na zwykłej parze. Figurka obca nie zostaje uderzona ani razu (rys. 13, wykres 19d).



Rys. 13. *Hyla arborea* (ta sama co na rys. 12). Wykres 19 d. Generalizacja rozpoczęta po amortyzacji w stadjum pozytywnem. Budowa wykresu jak na rys. 6.
Fig. 13. *Hyla arborea* (celle de la fig 12). Graphique 19 d. Généralisation commencée après amortissement, au stade des réactions positives. Structure du graphique comme celle de la fig 6.

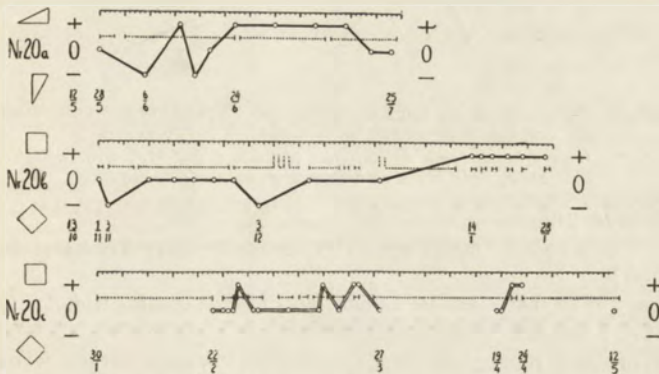
Hyla № 20.

a) Ustalenie nałogu. 12.5 do 25.7.25 r. Trójkąty: wlewo (+) i wdół (—).

Ruchy pewne, gwałtowne. Rzuty i chwytys owada często zdaleka, ze skoku. Czas reakcji długi: 1—10 m. Podczas prób spokojna. Czas w próbach 0,5—2 m. Nałóg ustala (rys. 14, wykres 20a).

b) Powtórne ustalanie nałogu (po przerwie letniej).
13.10.25 r. do 28.1.26 r. Kwadraty: zwykły (+) i sztorcem (—).

Zachowanie naogół jak wyżej. W miesiącach zimowych leniwa (por. z № 19), nie chce reagować. W połowie stycznia dopiero (systematyczne stosowanie głodówek — p. linja jądania fig. 14) zaczyna reagować po zwytywnie i nałóg ustala (rys. 14, wykres 20b).



Rys. 14. *Hyla arborea*. Wykres 20. a) Ustalanie nałogu I; typ reagowania N; b) ustalanie nałogu II po wak.; typ reagowania N; c) amortyzacja ciągła naprzemiennie z próbami.

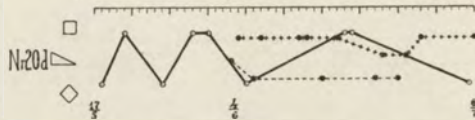
Fig. 14. *Hyla arborea*. Graphique 20. a) établissement de l'habitude I — type réactionnel N; b) établissement de l'habitude II — type réactionnel N; c) amortissement continu, alternant avec les essais.

c) Amortyzacja, jak z № 19c, na zmianę ciągła (trzytygodniowa) i przerywana. W ciągu trzech miesięcy nałóg trwa niezakłócony żadną reakcją ujemną (rys 14 wykres 20c).

d) Generalizacja. Dla wyjaśnienia stosunku do figurki dodatkowej stosujemy w próbach układ: dodatkowa — obca, z wyeliminowaniem zasadniczej. W pierwszych dwóch próbach żaba reaguje tylko uważnym przypatrywaniem się. Ciekawe natomiast, że w następnej próbie kontrolnej (na zwykłej parce) bije po raz pierwszy w figurkę dodatkową. Trzecia próba w zmienionym zespole znowu zerowa — żaba bardzo niepokojna. Dalszy ciąg doświadczeń z następującym rezultatem:

Układ figurek <i>Système des figures</i>	Ilość reakcyj (prób) <i>Nombre des réactions (des essais)</i>				
	ogólna <i>total</i>	na zasadniczą <i>à la fondamentale</i>	na dodatk. <i>à l'accessoire</i>	zerowych <i>nulles</i>	na obcą <i>à l'étrangère</i>
zasadnicza — obca <i>fundamentale — étrangère</i>	9	7	—	1	1
dodatkowa — obca <i>accessoire — étrangère</i>	14	—	4	9	1
zasadnicza — dodatkowa <i>fundamentale — accessoire</i>	17	5	4	8	—

Wskazuje to na utrwalenie pamięciowe obu figurek. Widać jednak, zarówno w zespołach zmienionych jak zwykłych, przewagę na korzyść figurki zasadniczej. Tu więc wprowadzenie figurki nowej, obcej, wydobyło i uzewnętrzniło utrwalony również nałóg do figurki dodatkowej (rys. 15, wykres 20d).



Rys. 15. *Hyla arborea* (ta sama co na rys. 14). Wykres 20 d. Generalizacja rozpoczęta po amortyzacji w stadium pozytywnym.

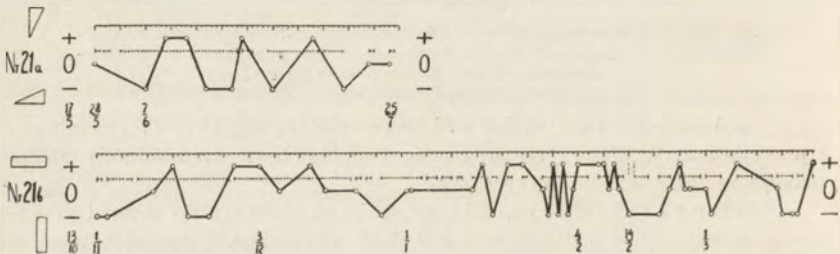
Fig. 15. *Hyla arborea* (celle de la figure 14). Graphique 20 d. Généralisation commencée après amortissement, au stade positif.

Hyla № 21.

a) Ustalenie nałogu. 17.V. do 25.VII.25 r. Trójkąty: wdół (+) i wlewo (-).

Reaguje szybko. Po 10 dniach występują często wielokrotne chybione rzuty i minusy w karmieniach.

W próbach reaguje szybko, gwałtownie. Wpada odrazu w okres reakcyj mieszanych i nałogu zróżnicowanego nie ustala (rys. 16, wykres 21a).



Rys. 16. *Hyla arborea*. Wykres 21. a) Ustalenie nałogu I; typ reagowania M; b) ustalenie nałogu II po wakac; typ reagowania M.

Fig. 16. *Hyla arborea*. Graphique 21. a) établissement de l'habitude I — type réactionnel M; b) établissement de l'habitude II — type réactionnel M.

b) Powtórne ustalenie nałogu (po przerwie letniej). 13.X. 25 r. do 13.IV.26 r. Prostokąty: poziomy (+) i pionowy (-).

Zachowanie jak w a, brak koordynacji ruchów. Rzuca się na wszelkie przedmioty, będące w ruchu. Wpada odrazu i bez wyjścia w typ reakcyj mieszanych, z równą ilością plusów i minusów (17+, 17-, 17-0). Nałogu nie ustala. Dalsze badanie zostało uniemożliwione przez ucieczkę żaby (rys. 16, wykres 21b).

4. *Bombinator igneus*.

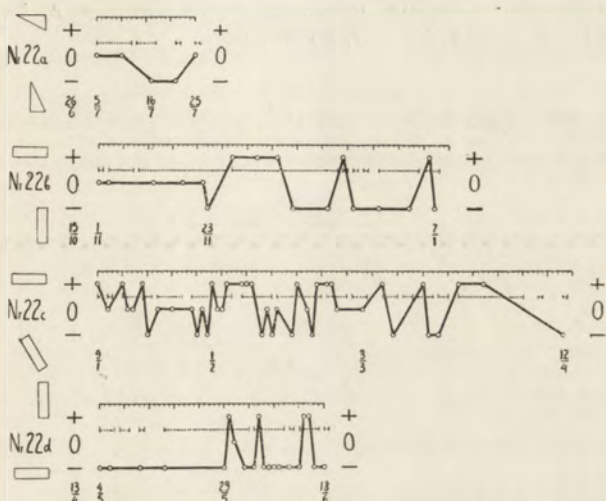
Z nielicznej grupki 5 osobników — 3 były w doświadczeniu czas dłuższy: od 26.VI.25 r. do lipca 26 r., przechodząc (podobnie jak grupa *Hyl*) wszystkie serie doświadczeń.

Bombinator № 22. Charakterem zachowania odpowiada *Hyla* № 21.

a) Ustalanie nałogu: 26. VI. 25 r. do 25. VII. 25 r. Trójkąty: wlewo (+) i wwyż (-).

Reaguje szybko. Zjada gwałtownie. W karmieniach częste rzuty wielokrotne chybiane oraz minusy. Ze względu na krótki okres doświadczeń i znikomą ilość reakcyj — żadnych wniosków wyciągnąć nie można (rys. 17, wykres 22a).

b) Powtórne ustalanie nałogu (po ferjach letnich). 15. X. 25 r. do 7. I. 26 r. Prostokąty: poziomy (+) i pionowy (-).



Rys. 17. *Bombinator igneus*. Wykres 22. a) Ustalanie nałogu I; b) ustalanie nałogu II (po wak.); typ reagowania M; c) ustalanie nałogu II z pochyleniem figurki dodatkowej; typ reagowania bez zmiany; d) odwracanie nałogu; ujawnienie nałogu do figurki zasadniczej z poprzedniej serii.

Fig. 17. *Bombinator igneus*. Graphique 22. a) établissement de l'habitude I; b) établissement de l'habitude II—type réactionnel M; c) établissement de l'habitude II (figure „accessoire“ inclinée)—type réactionnel M; d) inversion de l'habitude. (L'inversion de la valeur attractive des figures fait se manifester l'habitude contractée pour la fig. „fondamentale“ des séries précédentes).

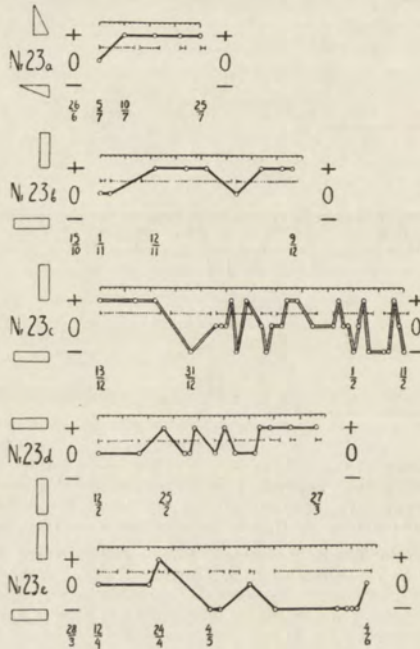
Zachowanie jak w *a*. Po długim okresie wstępnym wpada w reakcje mieszane, waląc z równą zaciętością, często wielokrotnie, zarówno figurkę zasadniczą jak dodatkową (rys. 17, wykres 22b).

c) By zanalizować to zachowanie, wprowadzam zmianę: prostokąt dodatkowy (pionowy) — zostaje pochyłony. Początkowo żaba reaguje parę razy (kolejno) dodatnio, wkrótce jednak plusy i minusy wyrównują się znowu. Jeśli przytem zwrócić uwagę nie tylko na stronę liczbową, ale i na sposób reagowania, to należy stwierdzić, że żaba z wielką pasją i jakby ze specjalnem upodobaniem wali w figurkę dodatkową, podczas gdy uderzenia w zasadniczą są słabe i jakby przypadkowe (to samo *Hyla* № 21) (rys. 17, wykres 22c).

Po dwóch miesiącach takich doświadczeń

d) układ został odwrócony, w stosunku do układu b, t. j. prostokąty pionowy (+) i poziomy (-), czyli nastąpiło ustalanie nałogu do figurki, do której podejrzewałam większą inklinację. Po 21 dniach karmień żaba zaczęła reagować w sposób zgoła nieoczekiwany, tak jak w normalnym przebiegu amortyzacji z odwracaniem ustalonego nałogu. W ciągu 26 dni dawała próby wyłącznie ujemne (bijąc obecnie dodatkową, a w poprzednich serjach niewyróżnicowaną pozornie figurkę zasadniczą), potem zaś nastąpiły reakcje mieszane z dużą jednak przewagą minusów (10 minusów na 4 plusy).

W tym więc układzie nastąpiło ujawnienie zatajonego uprzednio nałogu (rys. 17, wykres 22d).



Rys. 18. *Bombinator igneus*. Wykres 23. a) ustalanie nałogu I; typ reagowania P (pozytywny); b) ustalanie nałogu (po wak.); typ reagowania P (pozytywny); c) amortyzacja z próbami; d) odwracanie nałogu; typ reagowania P; e) amortyzacja przez powtórne bezpośrednio odwracanie nałogu (nie udaje się!).

Fig. 18. *Bombinator igneus*. Graphique 23. a) établissement de l'habitude I — type réactionnel P; b) établissement de l'habitude II — type réactionnel P; c) amortissement avec essais (dit discontinu); d) inversion de l'habitude II — type réactionnel P; e) amortissement par réinversion immédiate (essai de retour à l'habitude II, qui ne réussit pas).

Bombinator № 23.

a) Ustalanie nałogu. 26.VI. do 25.VII.25 r. Trójkąt wwyż (+) i w lewo (-).

Reaguje bardzo szybko: 2—30 s. Ruchliwa. W ciągu tak krótkiego

czasu 4 próby dodatnie — wyraźna tendencja do ustalenia nałogu (rys. 18, wykres 23a).

b) Powtórne ustalanie nałogu (po przerwie letniej). 15.X. do 9.XII.25 r. Prostokąty: pionowy (+) i poziomy (—).

Bardzo ruchliwa. Ruchy pewne. Po chwyceniu owada odskakuje wtył, ucieka lub ciska się gwałtownie wraz z łupem (często padając na grzbiet).

Próby pewne, stale dodatnie. Brak okresu mieszanego. Nałóg ustala (rys. 18, wykres 23b).

c) Amortyzacja z próbami. 13.12.25 r. do 11.2.26 r.

Próby co parę dni, potem częściej. 20 dni próby dodatnie, potem mieszane w równym stosunku ilościowym. W miarę czasu reakcja coraz mniej pewna. Zdarzają się, przedtem nieobserwowane, uderzenia w ściankę (rys. 18, wykres 23c).

d) Odwracanie nałogu po amortyzacji poprzedniego (bezpośrednio po c). 12.2 do 27.3.26 r. Prostokąty: poziomy (+) i pionowy (—).

Okresu mieszanego brak. Nałóg w krótkim czasie ustala. Próby piękne, wyraźne (rys. 18, wykres 23d).

e) Ponowne odwracanie nałogu (bez uprzedniej amortyzacji). 28.3 do 4.6.26 r. Prostokąty: pionowy (+) i poziomy (—). Po 28 dniach reaguje poraz pierwszy plusem, poczem daje stale reakcje ujemne, nie wygasza więc ustalonego w *d* nałogu i nowego nie tworzy. Występują ponadto dotąd nigdy nie obserwowane minusy w karmieniu (rys. 18, wykres 23e).

f) Generalizacja. 5.6 do 9.7.26 r. Fig. obca: kwadrat sztorcem. Próby zmierzają do ujawnienia stosunku do figurki zasadniczej, na której jest w dalszym ciągu karmiona, a którą stale w próbach pomija. Stosunek ten jednak po wprowadzeniu obcej figurki nie uległ zmianie: bita jest figurka obca, nie zasadnicza, i częściej dodatkowa, niż zasadnicza.

Układ figurek <i>Système des figures</i>	Ilość reakcyj (prób) <i>Nombre des réactions (des essais)</i>				
	ogólna <i>total</i>	na zasadniczą <i>à la fondamentale</i>	na dodat. <i>à l'accessoire</i>	zerowych <i>nulles</i>	na obcą <i>à l'étrangère</i>
zasadnicza — obca <i>fondamentale — étrangère</i>	9	1	—	2	6
dodatkowa — obca <i>accessoire — étrangère</i>	8	—	5	0	3
zasadnicza — dodatkowa <i>fondamentale — accessoire</i>	7	1	5	1	—

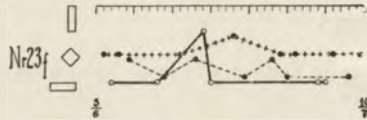
Próby kontrolne potwierdzają wielką przewagę figurki dodatkowej nad zasadniczą — czyli niewygaszenie nałogu drugiego *d* (rys. 19, wykres 23f).

Bombinator № 24.

a) Ustalanie nałogu. 26.6 do 25.7.25 r. Trójkąty: wzwyż (+) i wlewo (—).

Reaguje szybko: 5 s.—1 m. Chwyty gwałtowne. Rezultat niewyraźny (rys. 20, wykres 24a).

b) Powtórne ustalanie nałogu (po przerwie letniej). 15.10 do 13.12.25 r. Prostokąty: pionowy (+) i poziomy (—).

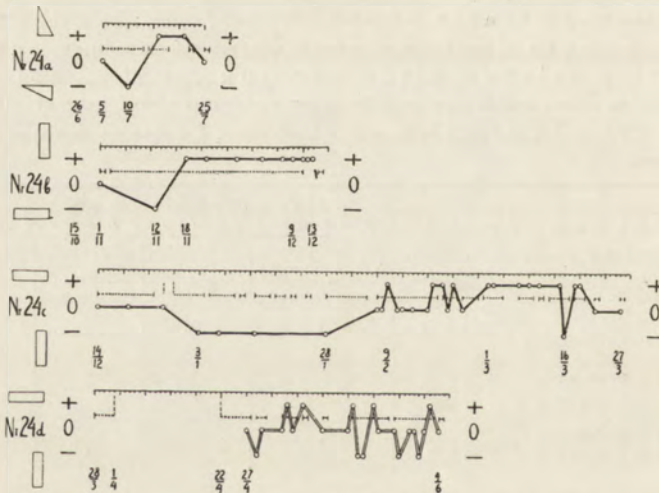


Rys. 19. *Bombinator igneus* (ta sama co na rys. 18). Wykres № 23 f. Generalizacja rozpoczęta w stadium ponownego odwracania nałogu, przy przewadze figurki dodatkowej.

Fig. 19. *Bombinator igneus* (celui de la fig. 18). Graphique 23 f. Généralisation commencée au stade de réinversion, à la phase de prévalence de la figure „accessoire“.

Reaguje szybko i pewnie. Często rzuty wielokrotne, czasem minusy w karmieniu. Nałóg ustala (rys. 20, wykres 24b).

c) Amortyzacja z bezpośrednim odwracaniem nałogu: 14.12.25 r. do 27.3.26 r. Prostokąty pionowy (+) i poziomy (—). Początkowo reaguje wogóle wolniej — próby zerowe. Potem próby ujemne — także w karmieniu dość częste minusy. Wreszcie okres negatywny (amortyzacyjny) ustępuje okresowi pozytywnemu — minusy w karmieniu także znikają — nowy nałóg ustaliła (rys. 20, wykres 24c).



Rys. 20. *Bombinator igneus*. Wykres 24a. a) Ustalanie nałogu I; b) ustalanie nałogu II (po wak.); typ reagowania N; c) amortyzacja z bezpośrednim odwracaniem nałogu; d) amortyzacja ciągła, potem z próbami.

Fig. 20. *Bombinator igneus*. Graphique 24 a. a) établissement de l'habitude I; b) établissement de l'habitude II — type réactionnel N. c) amortissement par inversion immédiate de l'habitude; d) amortissement continu, ensuite celui à essais.

d) Amortyzacja ciągła. 28.4 do 4.6.26 r.

Nastąpiły komplikacje natury chorobowej, uniemożliwiające normalny bieg doświadczeń.

Przebieg choroby: jeszcze w okresie końcowym ustalania ostatniego nałogu (odwracania c), występowały niekiedy podczas zmiany wody w akwarjum przypadki całkowitego zeszywnienia i bezwładu, trwające do dwóch minut, poczem żaba wracała do stanu normalnego. W parę dni po rozpoczęciu amortyzacji (mianowicie 1.4) przestała jeść, stała się powolna, nieruchawa, apatyczna, słabiutka. Dopiero po 22 dniach zaczyna się ożywiać i przyjmować pokarm, uprzednio bowiem za zbliżeniem owada kureczyła się cała, zaciskała oczy i chowała łebek. Ruchy słabe, nie skoordynowane, chybiające kierunku, niepewne. Ataki bezwładu nadal występują od czasu do czasu. Przy powrocie do normy ożywiają się najpierw kończyny tylne, oczy, wreszcie przednie łapki. Wogóle, pozostaje lekki niedowład prawostronny.

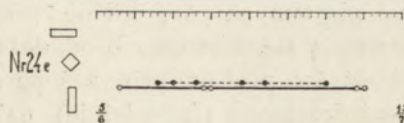
Gdy żaba zaczęła jeść i ożywiła się nieco — wznowione zostały próby amortyzacyjne i, aczkolwiek ruchy były bardzo niezgrabne i słabe, to jednak reagowała często, dając wyniki mieszane, świadczące wyraźnie o trwającym mimo choroby nałogu (rys. 20, wykres 24d).

Dla bliższego jego zanalizowania wprowadzono i tu doświadczenia, ujawniające:

e) generalizację nałogu, przez kolejne próby w trzech układach, z wprowadzeniem figurki obcej, kwadratu sztorcem.

Układ figurek <i>Système des figures</i>	Ilość reakcyj (prób) <i>Nombre des réactions (des essais)</i>				
	ogólna <i>total</i>	na zasadniczą <i>à la fondamentale</i>	na dodatki <i>à l'accessoire</i>	zerowych <i>nulles</i>	na obcą <i>à l'étrangère</i>
zasadnicza — obca <i>fondamentale — étrangère</i>	10	1	—	9	0
dodatkowa — obca <i>accessoire — étrangère</i>	11	—	6	5	0
zasadnicza — dodatkowa <i>fondamentale — accessoire</i>	5	0	5	0	—

W powyższem widać wyraźnie negatywny stosunek do figurki obcej oraz olbrzymią przewagę figurki dodatkowej (rys. 21, wykres 24e).



Rys. 21. *Bombinator igneus* (ta sama co na rys. 20). Wykres 24e. Generalizacja rozpoczęta po amortyzacji i chorobie, w stadium niewielkiej przewagi minusów.

Fig. 21. *Bombinator igneus* (le même que sur la fig. 20). Graphique 24e. Essai de généralisation commencée après amortissement et maladie, au stade d'une faible prévalence des réactions négatives (visant la fig. „accessoire“).

Dla uzupełnienia obrazu przebiegu doświadczeń należy dodać, że po długotrwałej amortyzacji letniej (2,5 miesiąca), przed rozpoczęciem w październiku 1926 r. nowej serii doświadczeń zrobiono parę prób kontrolnych na zespołach dawanych do feryj letnich — wszystkie próby spotkały się jednak z absolutną obojętnością: żaby nie tylko nie zareagowały rzutem na figurki, ale zachowały się tak, jakby wogóle aparacików w akwarjum nie było. Próby te były jednak robione tylko na zwykłej parce — a więc niewykorzystane zostały wszystkie środki sprzyjające ujawnieniu śladów pamięci (nałogu).

Ciekawy przebieg miały zastosowane w dwóch przypadkach próby przejściowe, potwierdzające niezbitcie mocno utrwalone nałogi; mianowicie:

Rana № 7. Bezpośrednio przed przystąpieniem do serii b (rys. 4, wykres 7a, próba z 10.7) karmię żabę na trójkącie dodatkowym; figurka zasadnicza, na której stale jadła, jest pusta. Żaba natychmiast bije figurkę zasadniczą pustą, potem dopiero zjada owad, przyczepiony do figurki dodatkowej.

Bombinator № 24. Już 9.12 (rys. 20, wykres 24b) po próbie żaba jest celowo karmiona na figurce dodatkowej — pierwsze uderzenie jest w figurkę zasadniczą, potem dopiero owad zostaje zjedzony. Czas długi: 1 m. Następny dzień bez próby — karmienie na dodatkowej — zjada bez przeszkód. W ciągu dalszych trzech dni głodówka, ale kolejne próby wszystkie trzy dodatnie. Następna serja potwierdziła istnienie mocnego nałogu (rys. 20, wykres 24c).

III. Analiza wyników.

A. Sprawy ustalania nałogu.

Przed przystąpieniem do wyciągania jakichkolwiek wniosków, musimy zwrócić uwagę na niektóre zjawiska, zaobserwowane w toku doświadczeń.

1. Oswajanie się.

Żaby przyniesione do pracowni i rozmieszczone w akwarjach są początkowo bardzo niespokojne: rzucają się, obtłukują o ścianki, uderzają gwałtownymi ruchami, usiłują uciec przy każdej okazji, przez pierwszych parę dni nie przyjmują pokarmu. W miarę czasu oswiają się, niezależnie od doświadczeń reagują na cały szereg bodźców postronnych, zaś po dłuższej amortyzacji nałogów doświadczalnych (ferje letnie) najbardziej „czułe“ osobniki zdradzają zupełną obojętność w stosunku do bodźców, na które uprzednio nader żywo reagowały. Gdy żaba jest już dostatecznie oswojona i zaczyna normalnie jeść — rozpoczynamy doświadczenia.

Ciekawą ilustracją stosunku żaby do aparatu, potwierdzającą istnienie nałogu wogóle, jest zachowanie się niektórych osobników z natury bardzo niespokojnych, bądź też znajdujących się w okresie wzmożonej pobudliwości (№ 18—wiosną). Żaby te, biegające i rzucające się gwałtownie po akwarjum, z chwilą wstawienia aparatu pustego (tembardziej, oczywiście, z owadem)—uspakajają się natychmiast i zajmują pozycję obserwacyjną. Po próbie wracają do poprzedniego stanu.

2. Postawa „na baczność“ (odruchy baczenia).

Naogół wszystkie będące w doświadczeniu żaby okazały się bardzo czujne, t. j. już po paru dniach wstawienie aparatu wywoływało pewną reakcję, pozwalającą stwierdzić, że żaba aparat zauważyła. Reakcja ta polega na przybraniu charakterystycznej postawy, którą można określić jako „baczność“, a która jest dość rozmaita i specyficzna dla danego osobnika. Składa się na nią charakterystyczne ustawienie tułowia, głowy, kończyn (występuje czasem gwałtowne drganie łapek), sprawiające wrażenie napięcia, czajenia się, przygotowania do skoku i t. d.

3. Okres przygotowawczy do chwytu.

Od zauważenia aparatu i owada do pochwycenia tegoż upływa pewien czas: jest to jakby okres przygotowawczy. Zachowanie się żab w tym okresie jest bardzo charakterystyczne i stałe dla danego osobnika. Niektóre np. chwytają zdaleka czy też zbliżają się gwałtownego doskoku (7, 20, 23, 24), inne zbliżają się powoli, drobnymi skokami (18), lub wyciągają się w cichych powolnych ruchach (19), to znowu obserwują spokojnie i chwytają pewnie z miejsca (14, 15); zdarzają się osobniki o ruchach gwałtownych, szybkich, wykazujących brak koordynacji (21, 22) i wreszcie takie, które podążają, oglądają ze wszystkich stron, przypatrują się, zbliżają, cofają i t. d., poczem dopiero zjadają (1, 2).

Nie dały się zaobserwować wyraźne różnice gatunkowe w zachowaniu się żab. Jeżeli wyłączymy *Bufo*, to niemal wszystkie sposoby reagowania właściwe były rozmaitym osobnikom tego samego gatunku. Można jedynie ustalić pewną gradację w szybkości i żywości reagowania wogóle, mianowicie w porządku zstępującym: *Bombinator*, *Hyla*, *R. temporaria* i *Bufo*.

4. Czas reakcji w karmieniu.

Czas od wstawienia aparatu do wyraźnej reakcji zauważe-

nia go przez żabę jest naogół bardzo krótki i waha się w granicach sekundowych, niezależnie od położenia żaby względem aparatu. Natomiast czas od zauważenia do rzucenia się i pochwylenia owada waha się od jednej sekundy do pół godziny, najczęściej jednak w granicach od dziesięciu sekund do dwóch minut. Zdarza się, że moment „ustawienia się“ żaby „na baczność“ wcale nie występuje (a może tylko wymyka się z pod obserwacji badacza): żaba, zdawałoby się, wcale aparatu nie widzi— tymczasem w pewnym momencie następuje mniej lub więcej dokładne pochwylenie jada.

Znaczną rolę w szybkości reakcji odgrywa ruchliwość owada, wpływająca naogół pobudzająco. Jednakowoż, na niektóre żaby, w szczególności zaś na *Bufo*— najgwałtowniejszy ruch owada nie wywierał wpływu widocznego.

5. Ukrywanie owada i głodówka.

Dla tych żab, które podczas prób reagowały rzadko lub wcale, wprowadzone zostało pewne utrudnienie w karmieniach, polegające na ukryciu owada pod figurką, co zmuszało żabę do szukania. Okazało się, że wszystkie żaby, nawet najoporniejsze w próbach, w tych wypadkach prędzej lub wolniej reagowały i wyciągały owada z pod figurki. Oczywiście, że osobniki reagujące wogóle lepiej i tu reagowały szybko i pewnie, gorsze zaś „szukały“ dłużej, uderzając często parokrotnie w figurkę zasadniczą, nie dając jednak nigdy minusów. Niewątpliwie, odgrywał tu pewną rolę ruch (bodźce słuchowe?) ukrytego owada.

W niektórych wypadkach u żab rzadko reagujących, a jadających normalnie, wprowadzone zostały przed próbami mniej lub więcej systematyczne głodówki. Dało to szczególnie dobre rezultaty u rzekotek № 20 i 19 (patrz linje jadań — wykresy 19 i 20).

6. Dodatkowe uderzenia i minusy w karmieniu.

Niejednokrotnie obserwowane były już po zjedzeniu wtórne, czasem parokrotne uderzenia w figurkę zasadniczą bądź dodatkową. Wobec tego, że naogół natychmiast po ściągnięciu owada przez żabę aparat był usuwany, zjawisko to można było obserwować rzadko u bardzo szybko reagujących osobników (*Bombinator*). Natomiast bliżej obserwowane były minusy, występujące podczas karmienia, kiedy żaba — mimo obecność jada na figurce zasadniczej — wali początkowo w pustą figurkę dodatkową.

Zdarzały się też często dodatkowe uderzenia w szkło, obok figurek, między figurki, w drut nad figurkami i t. p., nim owad nie został trafiony językiem lub wraz z częścią figurki ujęty mocno szczękami. To samo występuje zresztą podczas prób.

Podkreślić jednak należy, że te wielokrotne rzuty dodatkowe w szkło, szczególnie zaś minusy w karmieniu spotykały się przeważnie u żab o mniej pewnym sposobie reagowania (21, 22) oraz w okresach amortyzacyjnych i po-amortyzacyjnych (24e i in.).

7. Czas reagowania w próbach.

Podczas prób naogół zachowanie żab jest takie jak podczas karmień. Czas trwania poszczególnych prób był uzależniany od przeciętnego czasu reagowania żaby podczas karmienia, i wahał się od jednej sekundy do dwunastu minut. Po tym maksymalnym czasie, bez względu na to, czy żaba zareagowała, czy nie — aparat był usuwany. Natychmiast po próbie następowało karmienie i jest charakterystyczne, że w większości wypadków, nawet u żab reagujących nader wolno (np. *Bufo* i *R. temporaria* 17), reakcja zjadania osiągała w końcu maksimum szybkości — owad był pożerany natychmiast.

8. Stosunek do bodźców postronnych.

W toku doświadczeń okazało się, że żaby reagują i na bodźce postronne, często występujące obok bodźca głównego.

a) Wszystkie żaby reagują ruchem chwytania na widok pałeczki szklanej (podczas prób, karmienia, a nawet po karmieniu).

b) Niektóre reagują wyraźnie na ruchy badacza, szczególnie *Bombinator* № 23 i *Rana* № 14, która np. przy podnoszeniu pokrywy, bądź opuszczaniu aparatu skacze do ręki, chwyta palec, zaś podczas doświadczenia niejednokrotnie odwraca się od aparatu (pustego, czy też z inwokatorem), śledząc i naśladowując kierunek poruszeń badacza. Jej uwaga zostaje zwrócona w kierunku właściwym częstokroć dopiero po dokładnem osłonięciu całego akwarjum (oprócz góry); jeśli zostawić przezroczysty szlak wysoko na ścianie — wspina się i patrzy. Obserwacje te były robione specjalnie i niejednokrotnie, potwierdzając każdorazowo, że kierunek ruchu badacza, dowolnie zmieniany, jest przez żabę dokładnie naśladowany.

c) Sprawa reagowania podczas prób na poruszenie apa-

ratem musi być ujęta indywidualnie: niektóre żaby przyspieszały rzucenie się na figurkę, na inne zaś nie wywierało to żadnego wpływu.

d) Także położenie żaby w akwarjum w chwili rozpoczęcia doświadczenia nie odgrywa żadnej roli.

Żaba reagująca pewnie, z każdej pozycji uderzy w figurkę zasadniczą, zaś żaba o niewyróżnicowanym nałogu, nawet z najdogodniejszej pozycji może uderzyć mylnie.

e) Wszystkie żaby reagują naogół szybciej, chętniej w dnie pogodne.

f) W doświadczeniach robionych w porze odmiennej niż normalnie (np. wieczorem, przy sztucznym świetle) nie zaobserwowano widocznej zmiany w zachowaniu się żab.

9. Typy ustalania nałogu.

Jak z powyższego wynika, a także opierając się na materiale żab, które z różnych względów (śmierć, ucieczka) krótko były w doświadczeniu, wnosić można, że niema takiej żaby z gatunków badanych w pracy niniejszej, któraby nie reagowała wogóle na wprowadzony do doświadczeń w postaci aparatu z figurkami zespół bodźców.

Żaby ten zespół znają: rozpoznają wśród szeregu innych i żywo reagują na jego widok. Jest kwestją tylko, jak daleko sięga ich zdolność różnicowania.

Na 33 osobniki tylko jedna żaba (*Bufo* № 1) dała same próby zerowe; nie można tego traktować jednak jako odpowiedź negatywną, gdyż widać z całego zachowania żaby, że układ nie jest jej obcy i każdorazowo wywołuje, często dość gwałtowną (drgawki kończyn), wyraźną reakcję całego organizmu oraz szybkie zjedzenie po próbie¹⁾.

Wszystkie inne żaby rzadziej lub częściej reagują podczas prób chwytem lub uderzeniem figurki. I tu, w zależności od jasności utrwalonego obrazu i zdolności różnicowania, wyniki są bardzo rozmaite i przebieg doświadczeń niniejszych wskazuje, że sprawy te należy traktować, uwzględniając przede wszystkim właściwości osobnicze żab, a w bardziej słabym tylko stopniu właściwości gatunkowe.

Zaobserwowane typy przebiegu procesu ustalania (względ-

¹⁾ Por. pracę SALOMEI BIEDERMAN (wykres 14).

nie niestabilności) zróżnicowanego nałogu, zestawzić można w cztery następujące kategorie:¹⁾

1. Reakcje zerowe (O) typ O (zerowy).
2. Reakcje mieszane (O±) . . typ M (mieszany).
3. Żaba przechodzi kolejno okresy zerowy, reakcyj mieszanych i pozytywnych (O±+). . . typ N (normalny).
4. Po okresie wstępnym następuje od razu okres pozytywny (O±) typ P (pozytywny).

Przedstawiciele *Bufo* znajdują się tylko w kategorii zerowej i reakcyj mieszanych²⁾. Inne trzy gatunki mają swych reprezentantów we wszystkich kategoriach czynnych, a więc w typach: reakcyj mieszanych (M), przebiegu normalnego (N) i pozytywnego (P). Podkreślić przytem należy, że te osobniki, które ustalały nałóg parokrotnie, zachowywały stale ten sam typ reagowania (21a, b, 22a, b, c, 18a, b, 20a, b, d, 24a, b).

10. Czas ustalania nałogu a przeszłość nałogowa żaby.

Czas niezbędny dla wyróżnicowania się nałogu dość trudno określić ściśle ze względu na niejednakową długość okresu karmień w różnych wypadkach. W tych grupach, gdzie jest on równy (*Bombinator* i *Hyla*), widać wyraźne różnice: gdy jedne zaczynają już reagować, inne są jeszcze w okresie wstępnym (por. wykresy № 18b, 19b, 20b, 21b, 22a, 23a, 24a i 22b, 23b, 24b, oraz tabl. II).

(Wypadanie okresów reakcyj mieszanych należy być może uzależnić również od momentu rozpoczęcia prób: być może, wcześniejsze rozpoczęcie prób mogłoby ujawnić okresy reakcyj mieszanych także w kategorii nazwanej „pozytywną“).

Naogół widzimy, że przeciętny czas ustalania nałogu waha się od dwóch do czterech tygodni, a odchylenia zależą od własności indywidualnych żab i w niektórych wypadkach od pory roku (19b, 20b). Wielce jest ciekawe, że wyraźne różnice gatunkowe nie dają się stwierdzić, natomiast jaskrawe różnice indywidualne uwidocznione są w tabeli II.

¹⁾ Typy O, N, M, P odpowiadają w pracy RAZWIŁOWSKIEJ typom D, C, B, A.

²⁾ BIEDERMAN otrzymała wyłącznie zerowe wyniki.

Niestety, z materiału niniejszego nie da się wywnioskować ściśle, jaki wpływ na długość okresu ustalania się nałogu i na bieg tworzenia dalszych nałogów wywiera przeszłość nałogowa żaby (specjalnie forma ustalania nałogu). Materiał nasz jest za mało obfity. Skoro jednak zestawimy rezultaty, otrzymane przez BIEDERMANÓWNĘ z naszymi, i sięgniemy w przeszłość nałogową tych żab, u których otrzymaliśmy wyniki pozornie sprzeczne — skonstatujemy zupełnie wyraźny wpływ tej przeszłości na dalszy bieg doświadczeń.

Tabela I.

Typy ustalania nałogu.
Types d'établissement de l'habitude.

Typ przebiegu ustalania nałogu <i>Type de la marche de l'établissement</i>	Gatunki i numery porządkowe — <i>Espèces et numéros d'ordre</i>				
	<i>Bufo viridis</i>	<i>Rana temporaria</i>	<i>Hyla arborea</i>	<i>Bombinator igneus</i>	Typy Razwiłowskiej <i>Types corresp. de Razwiłowska</i>
0 = reakcje zerowe (0) <i>0 = réactions nulles (0)</i>	1				D.
M = reakcje mieszane (0 ⁺) <i>M = réactions mixtes (0⁺)</i>	2	3, 4, 5, 6, 14c, 16	21a, 21b	22a, 22b, 22c	C.
N = żaba przechodzi kolejno okres zerowy, reakcyj mieszanych i pozytywny (0 ⁺⁺) <i>N = périodes succédanées des zéros, des réactions mixtes et des réactions positives (0⁺⁺)</i>		7a	19b, 20a, 20b	24a, 24b	B.
P = brak okresu reakcyj mieszanych — po okresie wstępnym następuje od razu pozytywny (0 ⁺) <i>P = la période mixte manque: les réactions positives s'établissent d'emblée (0⁺)</i>		14a, 15, 17	18a, 18b, 19a	23a, 23b, 23d	A.

Np. odwrócenie nałogu po amortyzacji udaje się u *Bombinator* 23d, nie udaje się u *Rana* 14c. Zdawałoby się, że warunki doświadczalne są tu niemal jednakowe: ustalanie poprzedniego nałogu (pierwszego — dla 14a, zaś drugiego — dla 23d do nowej pary po przerwie letniej) odbywało się w tym samym czasie (por. wykresy 14c i 23d); nałogi ustaliły się według typu

Tabela II.

Czas ustalania natogu. — Temps d'établissement de l'habitude.

Gatunek Espèce	Ustalenie I natogu Etablissement de la première habitude				Ustalenie II natogu Etablissement de la deuxième habitude				Odwrocenie natogu po amotyacji poprzedniej Inversion de l'habitude après amortissement préalable				Bezpośrednie odwrócenie natogu Inversion immédiate (sans amortissement)				Uwagi Remarques			
	№ wykresu № du graphique	Dates	Wynik Résultat	Ilość dni ¹⁾ Nombre d. jours ¹⁾	Ilość minusów ²⁾ N. d. r. négatives ²⁾	Type reakowania Type réactionnel	№ wykresu № du graphique	Dates	Wynik Résultat	Ilość dni Nombre des jours	Ilość minusów N. des r. négatives	Type reakowania Type réactionnel	№ wykresu № du graphique	Dates	Wynik Résultat	Ilość dni Nombre des jours		Ilość minusów N. des r. négatives	Type reakowania Type réactionnel	
Rana temporaria	7a	29 10 11 3	+	46	9	N														
	"	16 10 14a 10 12	+	18	0	P														
"	"	30 17 15 10 1	+	27	0	P														
"	"	20 20 17 11 4	+	30	0	P														
Hyla arborea	18a	15 25 5 7	+	13	1	P	13 4 10 1	+	19	0	P									
	"	10 25 19a 5 7	+	32	3	P	13 27 10 3	+	103	8	N									
	"	12 25 20a 5 7	+	43	0	N	13 28 10 1	+	93	0	N									
	"	17 25 21a 5 7	-	-	2	M	13 13 10 4	-	16	M										
Bombinator igneus	22a	26 25 6 7	-	-	1	M	15 12 10 4	-	14	M										
	"	26 25 6 7	+	14	2	P	15 9 10 12	+	28	0	P									
	"	26 25 6 7	+	20	2	N	15 13 10 12	+	34	2	N									
	"	26 25 6 7	(?)	(?)																

1) Rubryka: „Ilość dni“ oznacza czas od chwili rozpoczęcia karmień, do rozpoczęcia okresu pozytywnego.

2) Rubryka: „Ilość minusów“ oznacza ilość uderzeń w fig. „dodatkową“ podczas karmień w trakcie całego okresu ustalania natogu.

3) Ujawnia się tu uprzednio ustalony natogu.

4) La rubr.: „nombre des jours“ indique le temps écoulé à partir du moment d'inauguration jusqu'au commencement de la période positive.

5) La rubr.: „n. des réact. négatives“ indique le nombre des tirs sur la fig. „accessoire“ lors d. alimentations, pendant toute la période de formation de l'habitude.

6) Ce résultat négatif, c'est, précisément, l'extériorisation de l'habitude précédemment établie.

pozytywnego. Amortyzacja (z próbami) odbywała się jednocześnie i trwała u *Bombinator* 2 miesiące, u *Rana* zaś przeszło 3 miesiące. *Bombinator* nałóg odwróciła — *Rana* nie. Czy ten długi okres amortyzacji u *Rana* 14 nie wpłynął na zanik zróżnicowania (na zgeneralizowanie nałogu na obie figurki)? Wszakże po próbie, — bez względu na to, która figurka była uderzana — żaba otrzymywała swoją porcję jadła, więc reakcja na obie figurki była jednakowo potwierdzana. Bardzo krótki okres karmienia był niewystarczający wobec tego dla odwrócenia nałogu (wykres 14c).

Ze nie chodzi tu o różnice gatunkowe *Bombinator* - *Rana*, dowodem cały nasz materiał wykresów i tabel I i II.

Drugi wypadek: bezpośrednie odwrócenie nałogu udaje się u *Bombinator* 24c, nie udaje się u *Bombinator* 23e. U żaby 24 jest to pierwsze bezpośrednie odwrócenie nałogu — udaje się klasycznie. Dla żaby 23 jest to powtórne odwrócenie nałogu w obrębie tej samej parki, do której już dwukrotnie nałóg się ustalał. Po amortyzacji pierwszego nałogu — odwrócenie go udało się znakomicie, powrót jednak do pierwszego nałogu nie udaje się (jak u BIEDERMANÓWNY). Okres amortyzacji i ustalania drugiego nałogu wywołał silne zahamowanie pierwszego; zahamowania tego obecnie nie udaje się przełamać. Sprawę przełamania takich zahamowań (oporów) należałoby wyjaśnić na obszerniejszym materiale.

11. Wynik globalny.

Z 18 badanych żab — 9 osobników (4 *Rana temporaria*, 3 *Hyla arborea*, 2 *Bombinator igneus*) ustaliło nałóg bezspornie i od pierwszego razu, 10-y zaś (*Bombinator*) ujawnił nałóg dopiero w toku dalszych doświadczeń.

Wybitną różnicę w ilości wyników pozytywnych otrzymanych w pierwszym a drugim roku pracy (w pierwszym roku na 7 osobników otrzymałam jeden tylko wynik dodatni, № 7, gdy w drugim roku na 11 osobników — 9 dodatnich), przypisać należy zapewne brakowi wprawy i błędom technicznym w pierwotnym ustawieniu doświadczeń, które też traktuję jedynie jako próbne¹⁾.

¹⁾ Prace BIEDERMANÓWNY i RAZWIŁOWSKIEJ w tym przedmiocie, jako wówczas nieogłoszone, nie były mi znane aż do ukończenia części eksperymentalnej pracy niniejszej.

Przytem, należy odliczyć dwa osobniki gatunku *Bufo v.*, u którego nikomu z pracowników Instytutu nie udało się ujawnić nałogu zróżnicowanego w formie czynnej.

Nieujawnienie nałogu u żab № 16 i 21 nie uważam za ostateczne, skoro z powodu śmierci czy też ucieczki nie zostały one poddane dalszym doświadczeniom, zmiierzającym do ujawnienia nałogu.

B. Sprawy wygasania i uogólniania nałogu (amortyzacji i generalizacji).

1. Wygasanie nałogu.

Doświadczenia amortyzacyjne możemy podzielić na kilka grup, według różnego układu prób (w okresie wygaszania nałogu), wprowadzonego dla przekonania się, czy ma to wpływ na trwałość pamięci i nałogu.

Układy prób były następujące:

- a) próby rzadkie (co cztery i więcej dni);
- b) próby częste (co jeden — dwa dni);
- c) trzy tygodnie amortyzacji ciągłej (bez prób), potem próby co kilka dni;
- d) okresy trzytygodniowej amortyzacji ciągłej naprzemian z okresami prób co kilka dni;
- e) amortyzacja z jednoczesnym ustalaniem nowego nałogu do figurki dodatkowej (t. zw. bezpośrednio odwracanie nałogu).

W przebiegu amortyzacji wyróżnić można następujące fazy:

I. Faza trwania nałogu zróżnicowanego (faza pozytywna) — żaba wali wyłącznie w figurkę zasadniczą.

II. Faza zaniku zróżnicowania (faza reakcyj mieszanych) — żaba wali naprzemian w figurkę zasadniczą i dodatkową:

- a) z przewagą figurki zasadniczej,
- b) z równowagą obu figurek,
- c) z przewagą figurki dodatkowej.

III. Faza zaniku wzgl. nieujawniania nałogu wogóle (faza zerowa).

Jeżeli uwzględnimy tylko pierwszą fazę trwania nałogu zróżnicowanego (wyłącznie plusy), to widzimy, że w stosunku do czasu jego utrwalania — trwa on niezakłócony bardzo długo.

Tabela III.

Amortyzacja i próby nad generalizacją natogu. — Amortissement et essais sur la généralisation de l'habitude.

№ wykresu <i>№ du graphique</i>	Amortyzacja — Amortissement.										Próby nad generalizacją natogu <i>Essais sur la généralisation de l'habitude</i>			Uwagi <i>Remarques</i>		
	Czas utrwal. natogu <i>Periode d'établi.</i>	Ilość dni w fazie pozytywnej <i>N. d. jours positifs</i>	Ilość dni w fazie negatywnej <i>N. d. jours négatifs</i>	Ilość dni w fazie mieszanej <i>N. d. jours mixtes</i>	Okres wygaszania natogu <i>Periode d'amortiss. la phase</i>		Ilość dni w fazie mieszanej <i>N. d. jours mixtes</i>	Ilość dni w fazie negatywnej <i>N. d. jours négatifs</i>	Ilość dni w fazie pozytywnej <i>N. d. jours positifs</i>	Ilość dni w fazie mieszanej <i>N. d. jours mixtes</i>	Stosunek czasu trwania na- togu w fazach, wyraz. w % <i>Rapport du temps de l'éta- blissement à celui de l'éta- blissement</i>	№ wykresu <i>№ du graphique</i>	Rozpoczęte w stadium <i>Commencés au stade</i>		Wynik <i>Résultat</i>	Stosunek do fig. obcej <i>Rapport à la fig. étrang.</i>
					przewagi + <i>de la préval. d. +</i>	przewagi — <i>de la préval. d. —</i>										
23c	Przeszłość natogowa <i>Passé expérimental de Zaby</i>	56	3	18	43	61	32	18d	amort. w fazie prze- wagi minusów <i>dans la phase de prévalence des —</i>	amort. w fazie prze- wagi minusów <i>dans la phase de prévalence des —</i>	+					
18c	Przeszłość natogowa <i>Passé expérimental de Zaby</i>	84	8	17	81	27	20	14b	odwracania natogu po drugiej amortyz. <i>d'invers. après long amortissement</i>	Współistn. obu nai. Uboyczny silniejszy <i>Coexist. des deux ha- bitudes: l'accessoire</i>	+					
14b	Przeszłość natogowa <i>Passé expérimental de Zaby</i>	56	1	30	52	25	53	24e	odwracania natogu po drugiej amortyz. <i>d'invers. après long amortissement</i>	Współistnienie obu natogów <i>Coexistence des</i>	—					
24d	Przeszłość natogowa <i>Passé expérimental de Zaby</i>	104	32	32	70	34	70	19d	amortyzacji w fazie pozytywnej <i>d'amortiss. dans la</i>	Współistn. obu nai. Uboyczny silniejszy <i>Coexist. des deux ha- bitudes: l'accessoire</i>	—					
19c	Przeszłość natogowa <i>Passé expérimental de Zaby</i>	147	25	67	67	45	45	20d	amortyzacji w fazie pozytywnej <i>d'amortiss. dans la</i>	Współistn. równo- ważne obu natogów <i>Coexist. des deux ha- bitudes équilibrées</i>	—					
20c	Przeszłość natogowa <i>Passé expérimental de Zaby</i>	108	26	102	102	100	100	25f	ustalania IV nato- gu = II-mu <i>d'établissement de la</i>	Współistn. równo- ważne obu natogów <i>Coexist. des deux ha- bitudes équilibrées</i>	—					
23e	Przeszłość natogowa <i>Passé expérimental de Zaby</i>	44	16	69 ¹⁾	69	156	156	25f	ustalania IV nato- gu = II-mu <i>d'établissement de la</i>	Współistn. obu nai. Uboyczny silniejszy <i>Coexist. des deux ha- bitudes: l'accessoire</i>	+					
24e	Przeszłość natogowa <i>Passé expérimental de Zaby</i>	60	4	57 ¹⁾	57	95	95	25f	ustalania IV nato- gu = II-mu <i>d'établissement de la</i>	Współistnienie (égale à la II-e) <i>à la II-e</i>	+					

1) W tej formie amortyzacji stosunków odwracania się; faza pozytywna staje się u negatywna.

2) Dans cette modalité d'amortissement, les rapports s'invertissent, la phase positive y devenant négative.

Przechodzi on szybciej w fazę reakcyj mieszanych w wypadku stosowania częstych prób w czasie amortyzacji, natomiast przy stosowaniu amortyzacji ciągłej (o próbach co trzy tygodnie), oraz przy bezpośrednim odwracaniu nałogu (bez specjalnej amortyzacji) trwa jeszcze o wiele dłużej (tabl. III). Wskazywałoby to, że próby amortyzacyjne osłabiają nałóg zasadniczy (zróznicowany), sprzyjając szybkiej generalizacji. Tłumaczy się to tem, że nałóg do figurki, która dotychczas wywoływała reakcję ruchową, słabnie wskutek niepotwierdzenia go karmieniem na niej. Natomiast wzmagają się nałóg do figurki dodatkowej, będącej dotychczas bodźcem względnie obojętnym, ponieważ uderzenie podczas próby bądź jednej figurki, bądź drugiej wywołuje ten sam efekt: ukazanie się po próbie jadła na nitce. Czy jest to jednak zanik zróznicowania, czy równoległe istnienie dwóch niezależnych nałogów?—sprawa ta wyjaśnia się w grupie doświadczeń, objętych przez nas nazwą „generalizacja“.

2. Uogólnianie nałogu (generalizacja).

Są to właściwie doświadczenia kontrolne w całej rozciągłości. W badanych sześciu przypadkach dowiodły one wszędzie współlistnienia nałogów do obu figurek: zasadniczej i dodatkowej, a więc trwania nałogu zróznicowanego dłużej, niż to amortyzacja wykazać mogła.

Zupełnego zaniku nałogu (do figurek wogóle) nigdzie w warunkach naszych nie zaobserwowano.

Doświadczenia te rozwiązują sprawę powstawania i rozwoju równoległego nałogów ubocznych tylko częściowo. Brak nam doświadczeń robionych w okresie pozytywnym ustalania pierwszego nałogu, a któreby zmierzały do stwierdzenia już w tych wczesnych okresach zaczątków nałogu ubocznego (do figurki dodatkowej).

Doświadczenia generalizacyjne, wprowadzone natomiast w rozmaitych okresach późniejszych—bądź w fazie amortyzacji bądź też ustalania dalszych nałogów — rzucają jednak światło na tworzenie się i wygasanie nałogu, na stosunek obu nałogów do siebie: wydobywają z ukrycia nałóg uboczny, ujawniając go wtedy, gdy bieg samej amortyzacji, ze stale dodatnimi wynikami, wcale na taką możliwość nie wskazuje (№ 19 i 20).

Stosunek do figurki nowej („obcej“) pozwala nam przy-

puszczać, że mamy tu do czynienia raczej z współlistnieniem obu niezależnych nałogów zróżnicowanych, do każdej z figurek stałej pary. Ma to miejsce przedewszystkiem tam, gdzie figurka „obca“ jest traktowana ujemnie, mianowicie przez żaby № 14, 19, 20 i 24.

Są to siłą rzeczy osobniki o silnie utrwalonych obu nałogach (t. j. tak do figurki zasadniczej, jak do figurki dodatkowej), które w zależności znowu od przeszłości nałogowej bądź są równoważne, bądź też jeden z nich przeważa. (Tablica III, część prawa).

U żab № 19 i 20 stosowana była uprzednio amortyzacja ciągła naprzemian z okresami prób; nałogu nie odwracano: oba współlistniejące nałogi są równorzędne.

Wypadek żaby № 14 potwierdza nasze dotychczasowe przypuszczenia: długa amortyzacja z próbami doprowadziła do uogólnienia nałogu—z jednej bowiem strony nie udało się po niej ustalenie nałogu do figurki dodatkowej („odwrócenie“), rozpoczęte w fazie amortyzacji z przewagą minusów, z drugiej zaś—wprowadzenie nowej, „obcej“ figurki ujawnia współlistnienie nałogów do każdej z figurek stałej parki, przyczem, jak się tego należało spodziewać, silniejszym okazał się nałóg do figurki dodatkowej (z pierwszej serji ustalania nałogu).

Także żaba № 24, mimo choroby w okresie amortyzacji, wykazuje oba współlistniejące nałogi, z silną przewagą ubocznego.

Nieco inaczej przedstawia się sprawa z osobnikami № 18 i 23, które mają pozytywny stosunek do nowej, „obcej“ figurki oraz do figurki dodatkowej, wyraźnie negatywny natomiast do figurki zasadniczej. Nie świadczy to jednak bynajmniej o zaniku zróżnicowania. Przeciwnie, umacnia nas tylko w przypuszczeniu o zahamowaniu uprzedniego nałogu, wywołanem u № 18 długotrwałą amortyzacją, zakłócaną bardzo częstymi próbami, zaś u № 23 powtórnem odwróceniem nałogu w obrębie tejże parki.

Jeżeli wszakże sprawy te wyjaśniają nam stosunek żaby do stałej pary oraz przesunięcia w nasileniu nałogów: zasadniczego i ubocznego, — to pozostaje nadal niewyjaśniony stosunek żaby do figurki „obcej“. Zagadnienie to postaramy się rozwinąć i wyświecić w dalszych pracach.

W n i o s k i.

1°. Żaby mają doskonale rozwinięty zmysł kierunku przedmiotu w przestrzeni optycznej (w danym przypadku, zmysł kierunku płaszczyznowego identycznych co do kształtu, barwy i wielkości figurek z bristolu). Zmysł ten dotyczy nie tylko ustawienia przedmiotu względem pionu (poziomego, pionowego, lub skośnego), lecz i układu asymetrii przedmiotu (wprawo, wlewo, w górę, w dół).

2°. Badane gatunki żab (prócz czynnie nie ujawniającego *Bufo*) zdolne są kojarzyć trwale określony kierunek przedmiotu z aktem szukania pokarmu. Ukazanie się takiego przedmiotu—dawniej obojętnego—obecnie wywołuje (wyzwała) cały szereg określonych reakcyj ruchowych, jak zwrot, ustawienie się na baczność, zbliżanie się, skok, wyrzucanie języka, chwyt szczękami.

3°. Pobudliwość i chwytność kojarzeniowa żab są tak wielkie, że rezultat ujawnia się już po jednorazowym doświadczeniu. Trwałość zaś śladu poszczególnego powiązania (zbiegu) jest tak wielka, że utworzeniu się trwałego nałogu do określonego kierunku przedmiotu nie przeszkadza nie tylko zwykły 24-godzinny interwał między poszczególnymi doświadczeniami, ale i interwale kilkudobowe.

Zwiększanie interwału ponad 24 godziny nie zdłuża czasu absolutnego, niezbędnego do utworzenia nałogu zróżnicowanego (potwierdzenie wniosku RAZWIŁOWSKIEJ).

4°. Czas niezbędny do utworzenia nałogu zróżnicowanego do kierunku przedmiotu — przy doświadczeniach raz na dobę — jest zmienny w obrębie tegoż gatunku, a nawet u tegoż osobnika. Zazwyczaj wystarczają 2—4 tygodnie (to znaczy, 15—30 powtarzań) i mniej nawet.

Stałych w tym względzie różnic gatunkowych lub rodzajowych (poza nieprzejawiającym się czynnie *Bufo*) nie dało się stwierdzić¹⁾. Wyraźnie natomiast występują różnice osobnicze oraz zależność od pory roku (od ogólnego stanu zwierzęcia).

¹⁾ Natomiast co do szybkości reagowania na przedmioty, gatunki badane można ułożyć w następujący szereg zstępny: 1) — *Bombinator*, 2) — *Hyla*, 3) — *Rana temporaria*, 4) — *Bufo*.

5°. Forma ustalania nałogu jest zmienna. Uderzające są różnice osobnicze, które w zakresie kierunku przedmiotu, tak samo jak w zakresie innych cech (p. pracę RAZWIŁOWSKIEJ) dają się ułożyć w cztery typy:

Typ *O* (zerowy) — nałogu w formie czynnej, nie ujawnia.

Typ *M* (reakcyj mieszanych) — nie ujawnia zróżnicowania nałogu.

Typ *N* (normalny) — wyróżnicowuje nałóg po pewnym okresie mieszanym.

Typ *P* (pozytywny) — wyróżnicowuje nałóg odrazu¹⁾.

Bufo jest reprezentowany, jak dotąd, tylko w typach *O* i *M* (u S. BIEDERMAN tylko w *O*); pozostałe gatunki mają każdy swych przedstawicieli w trzech typach czynnych — *M*, *N* i *P*.

Naogół, dany osobnik zachowuje w kolejnych doświadczeniach swój typ przebiegu ustalania.

6°. Skojarzenia nabyte są bardzo potężne i nieraz biorą górę nad instynktownym rzucaniem się na jadło. Żaba bije w utrwaloną figurkę określonego kierunku, mimo obecność owada na innej, tuż obok. Bić też w nią może nawet w okresach, gdy pokarmu wogóle brać nie chce.

7°. Metoda pojedynczego przedmiotu (pojedynczej figurki) daje wyniki pozytywne już po kilku dniach. Przedmiot zostaje skojarzony odrazu jako przedmiot o cechach optycznych ściśle określonych, o kierunku przestrzennym sprecyzowanym.

Metoda pary przedmiotów (pary figurek) pozwala jednak na stwierdzanie i badanie pewnych rzeczy, które inaczej nie zostałyby ujawnione.

8°. Zdolność kojarzeniowa żab nie wyczerpuje się utworzeniem jednego nałogu w zakresie możliwych kierunków przedmiotu (i ogólniej, w zakresie różnic jakiegobądź jednej cechy przedmiotu).

Żaba, która wyróżnicowała jeden kierunek, może następnie wyróżnicować inny i t. d. Tak samo w obrębie danej pary kierunków, wyróżnicowanie nałogu do jednego z nich nie prze-

¹⁾ Typy te odpowiadają porządkowo typom *D*, *C*, *B* i *A* RAZWIŁOWSKIEJ. Uznaliśmy jednak za stosowne dać im racjonalną terminologję i płynące stąd racjonalne symbole (pierwszą literę typu reakcji), zamiast prostych liter alfabetu.

szkadza bynajmniej następnemu wyróżnicowaniu nałogu do drugiego (t. zw. odwróceniu nałogu, bezpośredniemu lub po specjalnym okresie wygaszania).

Wynik jednak ustalania dalszych nałogów zależy w bardzo znacznym stopniu od przeszłości doświadczalnej osobnika: od liczby i charakteru poprzednich wyróżnicowań oraz od sposobu ich wygaszania.

Ponowne (powtórne) odwrócenie nałogu w obrębie tejże pary figurek nie udaje się. Widocznie nałóg niegdyś „zasadniczy“, a później sztucznie osłabiony (zahamowany, przygaszony) stawia silny opór ponownemu ożywieniu (t. zw. reakcje „zawodu“ czy „zniechęcenia“).

9°. Zróżnicowanie nałogu do danego kierunku przedmiotu po przerwaniu potwierdzających go karmień — wygasa powoli.

Pozostaje jednak zachowany nałóg niezróżnicowany w zakresie danej pary figurek, których wartość wyzwalająca zostaje powoli mniej-więcej zrównana.

Długość trwania nałogu zróżnicowanego zależy w znacznym stopniu od formy wygaszania.

Wygaszanie „ciągle“ (nieprzerywane próbami kontrolnymi) nie pozwala już po trzech miesiącach na bezpośrednie ujawnienie śladów nałogu zróżnicowanego, metodą zwykłej próby na parze figurek.

Wygaszanie „zakłócanie“ kontrolnymi próbami daje możliwość śledzenia stopniowego zaniku zróżnicowania.

Częste próby kontrolne (oczywista, bez potwierdzania karmieniem po nich) osłabiają zróżnicowanie nałogu, przyspieszając przejście z okresu pozytywnego do okresu reakcyj mieszanych (wtórny). Próby rzadkie pozwalają stwierdzić zróżnicowanie nałogu jeszcze po upływie 2—3 miesięcy.

Wygaszanie drogą bezpośredniego odwrócenia wartości porównawczej kierunków danej pary figurek daje ciekawy obraz chwilowych zaburzeń w zachowaniu się zwierzęcia, tudzież obraz stopniowego hamowania jednej reakcji, a równoczesnego ustalania się przewagi innej, więc poprzez okres mieszany (wtórny).

10°. Niezupełne wygaszenie nałogu, a tylko zanik zróżnicowania między obu kierunkami przedmiotu (i ogólniej, między obu przedmiotami danej pary) po bardzo nawet długim okresie amortyzacji z próbami, pochodzi zapewne stąd, że zwierzę jest prze-

cie karmione po próbie (jak i bez niej), wprowadzie bez figurek (na nitce), ale jest, i to karmienie było — wbrew naszej woli — potwierdzeniem nałogu do danej pary, potwierdzeniem ogólnikowym, bez zróżnicowania wartości pociągającej figurek. Potwierdzenie to jest stale opóźnione w czasie i pozbawione bezpośredniego związku przestrzennego z figurkami; czy się to jakoś ujawniło w postaci nałogu (naksztalt „opóźnianych odruchów“ u psów, w pracach szkoły I. PAWŁOWA), nie wiemy, nie badaliśmy.

11^o. Metoda pary figurek może sama przez się (odrazu lub po dłuższym czasie zróżnicowania) prowadzić do zrównania wartości nałogowej (skojarzeniowej) obu członów pary¹⁾, obu kierunków przedmiotu. Zrównanie to może być zupełne, lub częścięc niezupełne, z przewagą wartości wyzwalającej jednego człon (którego? to zależy, i nieda się przewidzieć, że będzie to koniecznie figurka „zasadnicza“).

To tworzenie się nałogu ubocznego (do figurki dodatkowej) zasługuje na tem większą uwagę, że figurka ta nie jest w ciągłości przestrzennej z inwokatorem (owadem), nie styka się z nim bezpośrednio. Do utworzenia więc trwałego i czynnego skojarzenia reakcji ruchowej z bodźcem optycznym wystarcza prosty zbieg w czasie.

12^o. Ustalony nałóg zróżnicowany, mimo swą trwałość zwykłą, pozostaje niemniej wysoce plastycznym. Chwytność skojarzeniowa nie traci ruchliwości. Wszelka nagła zmiana w układzie optycznym doświadczenia (czy to wprowadzenie figurki „obcej“ na miejsce jednej ze znanych, czy to dodanie nowej figurki do dawnych: drugiej w metodzie pojedynczego przedmiotu, trzeciej w metodzie pary, czy to wreszcie odwrócenie wartości pociągającej figurek) powoduje natychmiastowe zaburzenie w zachowaniu się zwierzęcia. Zaburzenie to zazwyczaj wyraża się w czasowym zupełnym zahamowaniu reakcji nałogowej (szereg zer u żab, które nigdy dotąd zer nie dawały), zaś niekiedy w niespodzianem atakowaniu figurki „obcej“, a w następstwie może prowadzić do zmiany w zróżnicowaniu nałogu, w stosunkach między procesami wyzwiania i hamowania reakcji.

13^o. Wprowadzenie „obcego“ przedmiotu jest pozatem do-

¹⁾ Porównaj w tej sprawie specjalne studjum RAZWIŁOWSKIEJ.

skonałym środkiem ujawnienia rozmaitych rzeczy dotąd utajonych, tak w metodzie pary, jak w metodzie pojedynczego przedmiotu.

Wprowadzenie „obcej“ figurki na miejsce „dodatkowej“ natychmiast uwydatnia różnicowanie nałogu do figurki „zasadniczej“. Wprowadzenie „obcej“ na miejsce „zasadniczej“ ujawnia współistnienie z tamtym nałogu ubocznego do figurki „dodatkowej“, również, jak tamten, doskonale zróżnicowanego. Kolejne wprowadzanie figurki „obcej“, raz na miejsce dodatkowej, to znowu na miejsce „zasadniczej“ (t. zw. serja „generalizacji nałogu“) służy ku określeniu względnej siły wyzwalającej obu współbytujących skojarzeń oraz ku stwierdzeniu stosunku wzajemnego procesów wyzwalań i hamowania. Siła wyzwalająca obu przedmiotów pary stałej może być przytem jednakowa lub różna, i niekoniecznie o przewadze przedmiotu w danym okresie „zasadniczego“. Zależy to w wysokiej mierze od przeszłości obu nałogów, od metody doświadczeń, od formy i stadjum wygaszania.

Niewyjaśnione dotąd, paradoksalne napozór przypadki, gdzie atakowany jest przedmiot „obcy“ w obecności jednego ze znanych, zwłaszcza „zasadniczego“, zbiegają się z uprzednią przewagą nałogu „ubocznego“ nad zasadniczym (minusy), względnie z silnem zahamowaniem nałogu niegdys „zasadniczego“.

Niekiedy wygląda to tak, jakgdyby skojarzenie zostało uogólnione rodzajowo, na całą grupę przedmiotów optycznych (figurek z bristolu), z której jednak został wtórnie wyłączony jeden tylko, właśnie przedmiot niegdys „zasadniczy“, niegdys najsilniej reakcję wyzwalający, a obecnie ją hamujący. (Ciekawe przeistoczenie się bodźca w hamulec).

Piśmiennictwo.

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. (L'expérience optique des Batraciens. II-e mémoire). (Zmysł i pamięć kształtów przedmiotu u żab. Odwracanie nałogu z wygaszaniem i bez wygaszania. Doświadczenie wzrokowe płazów. Część II). Trav. Institut. Nencki, 4, № 56. **Claparède E.** 1913. Die Methoden der tierpsychologischen Beobachtungen und Versuche. Gaupp-Ecker-Wiedersheim. Der Frosch. **Hoyer H., Kowalski, Mierzejewski, Niezabitowski, Udziela.** 1910. Klucz do oznaczania zwierząt kręgowych ziem polskich. Kraków. (Détermination des Vertébrés

de la Pologne). **Loeb J.** 1906. Wstęp do fizjologii porównawczej mózgu i psychologii porównawczej. Warszawa. (Introduction to compar. psychol. etc.). **Minkiewicz R.** 1907/8. Próba analizy instynktu metodą obiektywną, porównawczą i doświadczalną. Warszawa. (Versuch einer Analyse des Instinkts etc. Übersetzung von 1909, Jena). **Minkiewicz R.** 1913. Recherches sur la formation des habitudes et la mémoire chez les poissons. *Annal. Instit. Océan. Monaco.* 5, f. 4. **Minkiewicz R.** 1914 — 17. Podstawy doświadczalne i teoretyczne nowego pojmowania zjawisk nerwowych. Warszawa. (Théorie du polybolisme nerveux fondamental). **Minkiewicz R.** 1926. L'expérience optique des Batraciens. I. Introduction générale. (Doświadczenie wzrokowe płazów. I. Wstęp ogólny). *Trav. Instit. Nencki.* 4, № 55. **Lloyd Morgan C.** 1896. Habit and instinct (w tłumaczeniu z r. 1899). **Pawłow I. P.** 1927. Lekcje o rabotie bolszich poluszarij gołownowo mozga. (Leçons sur le travail des grands hémisphères du cerveau II-e éd.). Wydanie II. Moskwa — Leningrad. **Piéron H.** 1910. L'évolution de la mémoire. Paris. **Razwiłowska S.** 1927. 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 memoire). (Zmysł i pamięć wymiarów przedmiotu u żab. Typy reagowania osobnicze. Współbytność kilku niezależnych procesów skojarzeniowych. Doświadczenie wzrokowe płazów. Część III). *Trav. Instit. Nencki.* 4, № 60. **Révész G.** 1924. Experiments of animal space perception. *Brit. Journ. of Psychol.* 14 (147). **Tirala L. G.** 1923. Die Form als Reiz. *Zool. Jahrbüch. Abt. f. allg. Zool.* 39 (395) **Yerkes R. M.** 1903. The instincts, habits and reactions of the frog. *Harward Psychol. Stud.* 1.

[„Prace Instytutu im. Nenckiego“. № 68*]

J. Dembowski.

Ruchy pionowe *Paramecium caudatum*. I. Względne położenie środka ciężkości w ciele wyciszka.

Vertikalbewegungen von Paramecium caudatum. I. Die relative Lage des Gleichgewichtszentrums im Körper des Infusors.

Rękopis nadesłany w dniu 22. VI. 1928 r.

Von den vier klassischen Theorien des Geotropismus können die Drucktheorie JENSEN'S und die Widerstandstheorie DAVENPORT'S als endgültig widerlegt gelten. Die Entscheidung über die mechanische Theorie konnte nicht gefällt werden, da es bis jetzt nicht gelungen ist, die relative Lage des Gleichgewichtszentrums von *Paramecium* eindeutig zu bestimmen. In der vorliegenden Arbeit wird zunächst über Versuche mit Plastilinmodellen berichtet. Die Modelle, nach photographischen Aufnahmen lebender Tiere angefertigt (ca 13 mm Länge) fallen in einem mit Wasser gefüllten Trichter, in 40%, mit dem Vorderende nach unten (Tab. I, S. 27 und Fig. 1); dieselben Modelle im Glycerin kehren aber ausnahmslos ihre Hinterenden nach unten, was das Überwiegen des Hinterendes beweist. Sämtlichen Zentrifugierungsexperimenten in Kapillarröhrchen liegt die Fehlerquelle zugrunde, dass das Zentrifugieren ein zu geschwindes war. Die mit grosser Geschwindigkeit geschleuderten Tiere stossen mit einem Ende auf die schiefe Wand des Röhrchens, wobei dieses Ende in seiner Bewegung gehemmt wird, wogegen das entgegengesetzte Ende sich weiter bewegt. Auch grössere Modelle (ca 7 cm Länge) zeigen dasselbe Verhalten (in dicken Gelatinelösungen).

Phosphatkrystalle liegen gewöhnlich gleichmässig im Protoplasma zerstreut (Fig. 2), doch werden sie durch das Zentrifugieren meist nach hinten abgeschleudert (Tab. II, S. 29 und Fig. 3).

*) Z Zakładu Morfologii Doświadczalnej Instytutu im. Nenckiego.

Werden *Paramaecien* mit BaCrO_4 gefüttert und dann geschleudert, so sammeln sich die ziemlich gleichmäßig verteilten Ba-Vakuolen (Fig. 4) vorwiegend am hinteren Ende des Körpers an (Tab. III, S. 30 und Fig. 5). Solche Infusorien zeigen eine sehr starke negativ-geotropische Reaktion, wobei allerdings einige Individuen unten bleiben. Werden in einem Vertikalrohr zwei Portionen von Infusorien fixiert: eine von oben und eine von unten, so weist die überwiegende Mehrzahl der ersteren Portion die Ba-Vakuolen im hinteren die der zweiten dagegen im vorderen Teile des Körpers auf (Tab. IV, S. 33).

Werden die mit BaCrO_4 gefütterten Tiere anfangs langsam, dann immer schneller geschleudert, so treten die Vakuolen fast in allen Tieren am hinteren Ende des Körpers auf, wogegen von denjenigen Infusorien, welche vom Anfang an rasch zentrifugiert waren, besitzt ein gewisser Prozentsatz die Vakuolen im vorderen Teile des Körpers angesammelt (Tab. V, S. 31).

Kühlung der *Paramaecien* (-1^0) verursacht eine Verdickung des vorderen Endes (Fig. 6), wobei die Vakuolen nach vorne geschleudert werden (Tab. VI, S. 34) und die Infusorien selbst eine positive geotropische Reaktion aufweisen. Analog wirkt die Lösung von NaOH (Tab. VII, S. 34 und Fig. 7).

Die Fettvakuolen werden nach vorne abgeschleudert (Fig. 8), wobei der negative Geotropismus verstärkt wird.

Im Propylalkohol (BILLS '22) erfolgt eine Längskontraktion und eine Lähmung des Cilienschlages. Bei den meisten dieser Tiere werden die Vakuolen nach der Körperseite abgeschleudert (Fig. 9 und Tab. VIII, S. 36), was der symmetrisch gewordenen Form des Infusors zugeschrieben wird.

Alle vorstehenden Tatsachen beweisen das Überwiegen des Hinterendes.

Die Erscheinung der Centrotaxis könnte in der von KOEHLER angegebenen Form nicht beobachtet werden. Wird das Rohr nach dem Schleudern verkehrt senkrecht gestellt, so bleiben die Tiere oben. Im horizontalen Rohre zerstreuen sie sich allmählich, ohne eine gerichtete Bewegung zu zeigen. Hat sich einmal im vertikal stehenden Rohr die negativ geotropische Bewegung eingestellt und wird das Rohr dann horizontal gelegt, so verfolgen die Tiere ihre Bahn bis zum zentralen Rohrende weiter, zugleich aber schwimmen sie stets in der Nähe der oberen Rohrwand. Ihre

Bahn weist eine Reihe regelmässiger Kurven auf (Fig. 10), welche zeigen, dass die Tiere eine geotropische Reaktion ausführen, jedoch in ihren Bestrebungen durch die obere Rohrwand immer aufgehalten werden.

Die Statocystentheorie in der von KOEHLER vorgeschlagenen Fassung ist wenig wahrscheinlich. Es ist zwischen der Richtung, in welcher die Statoliten einen Druck auf das Plasma ausüben, und der Schwimmrichtung der Infusorien scharf zu unterscheiden. Bei einer zufälligen Lage der Tiere im Schleuderröhrchen ist auch die Druckrichtung der Statolite eine zufällige, und somit könnten die Tiere eine gleichsinnige Reaktion nicht ausführen. Dieselben Schwierigkeiten haften den KOEHLER'schen Versuchen mit Elektromagneten an.

Die mechanische Theorie wird angenommen, jedoch nur insoweit, als das Überwiegen des hinteren Körperteiles, welches bei einem normalen Tiere sehr unbedeutend ist, nur ein Mittel der Unterscheidung zwischen Oben und Unten bildet. Dasselbe stellt aber keinesfalls die alleinige Ursache der Richtungsänderungen dar. Neben der physikalischen, müssen biologische Faktoren berücksichtigt werden, was in einer späteren Arbeit diskutiert werden soll.

Zagadnienie geotropizmu pierwotniaków posiada już swoją pokaźną literaturę. SCHWARZ ('84), ADERHOLD ('88) i MASSART ('91) sądzili, iż u glonów jednokomórkowych grawitacja jest bezpośrednią przyczyną ujemnych skupień geotropicznych, powodując ruch w kierunku przeciwnym do swego działania. VERWORN ('89) był zdania, iż środek ciężkości pierwotniaka jest przesunięty ku tyłowi, dzięki czemu zachodzi bierna orientacja zwierzęcia w przestrzeni. W przeciwieństwie do poprzednich autorów, grawitacja według VERWORNA nie jest bodźcem, lecz przyczyną natury fizycznej. Teoria VERWORNA otrzymała nazwę mechanicznej. JENSEN ('93a) zaprzeczył teorii VERWORNA. Zabijał *Euglena* alkoholowym roztworem jodu i obserwował, iż komórka opada przednim końcem ku dołowi, a więc cięższy jest koniec przedni i geotropizm jest reakcją aktywną. Według JENSENA *Paramaecium* odczuwa różnice ciśnienia hydrostatycznego w poszczególnych punktach

ciała. Ciśnienie większe pobudza rzęski do silniejszego ruchu, co powoduje zwracanie się ku górze wycoczka, płynącego poziomo. Wirowanie przyspiesza geotropizm, ponieważ wzrasta przytem ciśnienie wody w obwodowym końcu wirowanej rurki, co wzmagą działalność rzęsek. DAVENPORT ('97), JENNINGS ('04) i LYON ('05a) poddali krytyce teorię JENSENA. JENNINGS obliczył, iż przy poziomem położeniu wycoczka, różnica ciśnienia na górnej i dolnej jego powierzchni nie przekracza 1/1.000.000. LYON otrzymał wielkość 1/1.040.000, podnosząc nieprawdopodobieństwo odczuwania przez wycoczka różnic tak minimalnych. Pod ciśnieniem 2 atmosfer (JENSEN), a nawet 3 atmosfer (LYON), zachodzi normalna reakcja geotropiczna, co tem bardziej przemawia przeciwko teorii ciśnienia. DAVENPORT ('97) był autorem teorii oporu. Płynąc w górę, *Paramaecium* musi pokonać większy opór, niż płynąc w dół, gdyż przewycięża ciężar własnego ciała. Dlatego zachodzi orientacja ujemnie-geotropiczna, że wycomek płynie zawsze w kierunku największego oporu. Miss PLATT ('99) podała metodę sprawdzenia słuszności teorii oporu: w środowisku gęstszym od ciała *Paramaecium* kierunek geotropizmu powinien się odwrócić. Powstało zagadnienie oznaczenia ciężaru właściwego *Paramaecium*. JENSEN ('93b) zabijał *Paramaecium* roztworem K_2CO_3 , poczem zawieszał je w roztworach o znanej gęstości. Otrzymał dla ciężaru właściwego wartość 1.25. Miss PLATT zabijała wycoczki kwasem octowym, lub parą kwasu osmowego, zawieszając je w roztworach gumy arabskiej. Otrzymała przez nią wielkość wynosi 1.017. Autorka nie zdołała jednak sprawdzić słuszności teorii oporu, gdyż nie rozporządzała wycoczkami o zdecydowanej reakcji geotropicznej. SOSNOWSKI ('99) pierwszy wskazał na zmienność reakcji geotropicznej. *Paramaecia*, zebrane u góry rurki, opadają na dół przy wszelkich podrażnieniach mechanicznych. Wynik ten został potwierdzony przez Miss MOORE ('03), która podała jednocześnie wpływ różnych warunków na geotropizm *Paramaecium*. Przy 26—28° geotropizm jest ujemny, przy 2° — dodatni. W roztworach gumy arabskiej, gęstszych od *Paramaecium*, wycoczki jednak zbierają się u góry, co zaprzecza teorii DAVENPORTA. W roztworach soli (n/32 NaCl) wycoczki skupiają się na dole, również tropizm dodatni wykazują osobniki głodzone. Grawitacja nie działa bezpośrednio, lecz poprzez organizację wycoczka, w charakterze bodźca. LYON ('05b) wirował *Paramaecia* w rurkach, zewężających się ku peryferji w rurkę kapilarną, w której wycoczki nie mogły się obrócić. Wszystkie wtłoczone do kapilarki przez siłę odśrodkową osobniki miały koniec przedni skierowany na zewnątrz. Przedni koniec wycoczka jest cięższy od tylnego, wobec czego zgodnie z JENSENEM, geotropizm jest reakcją aktywną i teoria mechaniczna upada. LYON zarzucił swoim poprzednikom nieściśłość metody oznaczania ciężaru właściwego wycoczka: JENSEN i Miss PLATT wirowali wycoczki zabite, o zmienionych kształtach ciała i bardzo zwiększonej przepuszczalności powierzchni. Poddawał więc *Paramaecia* żywe szybkiemu wirowaniu (10—12.000 obrotów na minutę) w roztworach gumy arabskiej o znanej gęstości, otrzymując dla ciężaru właściwego wycoczka wartość 1.048—1.049. LYON jest autorem teorii statocystów, poddanej jeszcze zresztą przez LOEBA ('97). Cała komórka pierwotniaka jest statocystą.

Wewnątrz komórki istnieją ciała o różnym ciężarze właściwym i przy jednostronnem działaniu grawitacji lub siły odśrodkowej ciała te będą się przesuwały, wywierając na protoplazmę ciśnienie, lub też pociągając ją za sobą. Powstałe stąd bodźce powodują nierównomierny ruch rzęsek i zwrot w sensie geotropizmu. Mc. CLENDON ('09) wykonał wiele doświadczeń nad wirowaniem *Paramecium* w roztworach gumy arabskiej, wykazując, iż pod wpływem silnego lub długotrwałego (niekiedy do 2—3 dni) wirowania różne zawarte w protoplazmie ciała (pokarm, kryształ, jądra) zostają odrzucone na zewnątrz, potwierdzając tem poniekąd teorię LYONA.

Wszyscy wspomniani autorowie zaprzeczyli tak czy inaczej mechanicznej teorii VERWORNA. HARPER ('11) karmił *Paramecia* proszkiem żelaza w ciągu 1—5 minut. Pierwsze utworzone wodniczki pokarmowe z żelazem obciążyły tylny koniec wymocзка, co spowodowało znaczne przyspieszenie geotropizmu ujemnego. Odwrotnie, karmienie zawiesiną parafiny, lżejszej od protoplazmy, pociągnęło za sobą skupienie się wymoczków na dole. Sztuczne obciążenie tylnego końca wzmagą wyraźnie normalną reakcję, skąd wniosek, iż *Paramecia* normalne również posiadają tylny koniec ciała cięższy od przedniego. Wyniki LYONA tłumaczy HARPER reotropizmem: odrzućiany przez siłę odśrodkową wymoczek porusza się względem wody, jak w przypadku reotropizmu woda porusza się względem niego. W obu razach istnieje ten sam ruch względny, a więc skierowanie przedniego końca na zewnątrz przy wirowaniu zależy od aktywnego ustawiania się wymocзка „pod prąd“, nie zaś od przewagi końca przedniego. Następnie HARPER ('12a i b) zastosował do *Paramecium* metodę KREIDLA ('93) i PRENTISSA ('01) (umieszczenie opilek żelaznych w dołkach słuchowych skorupiaków, połączone z działaniem pola magnetycznego). Naogół karmione żelazem *Paramecia* w pobliżu bieguna elektromagnesu płynęły w górę, wynik jednak nie był zbyt jasny.

Uczeń LYONA, KANDA SAKYO ('14) wirował *Paramecia* w kapilarach, otwartych na peryferji, w których podczas wirowania wymocзки poruszały się razem z wodą i można było wyłączyć reotropizm. Mimo to wymocзки skierowywały swój przedni koniec na zewnątrz. *Paramecia*, karmione żelazem, o wiele szybciej zbierają się u góry rurki, przyczem reakcja nie ulega zmianie nawet po 3 godzinach, gdy wodniczki żelazowe rozproszyły się równomiernie w cieple wymocзка. Wynik HARPERA nie zależy więc od obciążenia tylnego końca i teorię mechaniczną należy odrzucić. KANDA SAKYO oznaczył ciężar gatunkowy *Paramecium* na 1.039—1.040, posługując się ulepszoną metodą LYONA. W roztworach gumy arabskiej o ciężarze właściwym 1.034 do 1.044 *Paramecia* zawsze idą w górę, wobec czego teoria DAVENPORTA musi być odrzucona. Geotropizm zależy od przyczyn wewnętrznych. W późniejszej pracy KANDA SAKYO ('18) oznaczył ostatecznie ciężar właściwy *Paramecium* na 1.0382 do 1.0393. Najnowsze oznaczenia tej wielkości dokonała Miss FETTER ('26), wirując żywe *Paramecia* w roztworach cukru. Otrzymała tę samą wartość 1.038. Wreszcie podnosi KANDA SAKYO, iż odwrócenie kierunku geotropizmu przez działanie temperatury i soli (SOSNOWSKI, MOORE) jest nader nieprawdopodobne, we wszystkich przypadkach wstrząs stanowi wystarczająco

jące tłumaczenie. LYON ('18) uzupełnił swe eksperymenty, wirując *Paramaecia* ochłodzone do 0°, co prawie wyłączyło własne ruchy wymoczków. Jednak i w tych warunkach wymoczki zostały odrzucone przednim końcem na zewnątrz. SCHAEFER ('22) oznaczył szybkość ruchu *Paramaecium* na różnych poziomach tego samego naczynia. Stwierdził, iż szybkość ruchu jest dla danych warunków wielkością stałą, niezależną od ciśnienia hydrostatycznego. Stanowi to ostateczny argument przeciwko teorii JENSENA. Autor skłania się ku teorii oporu, jak się zdaje nie zna jednak prac KANDA SAKYO.

Praca KOEHLERA ('22) jest bezsprzecznie najgruntowniejsza w całej tej dziedzinie. Powtarzając próby wirowania *Paramaecium* w kapilarkach, odkrył KOEHLER dwa ważne źródła błędów: wymoczki mogą wychodzić z kapilarnej części rurki, odwracać się i wchodzić z powrotem, następnie zaś mogą aktywnie przedostawać się do kapilarki jeszcze przed rozpoczęciem wirowania. Osłabia to bardzo wartość wyników LYONA i jego następców. Po wyłączeniu tych źródeł błędów, otrzymał KOEHLER wynik dość niejasny, gdyż z 72 osobników, których położenie w kapilarce udało mu się ustalić, 30 miało przedni koniec zwrócony na zewnątrz, 42 zaś na wewnątrz, co odpowiada 42, względnie — 58%. Wnioskuje stąd, iż położenie środka ciężkości nie jest specyficzne: niektóre osobniki mają cięższą przednią połowę, niektóre zaś tylną. KOEHLER wskazał następnie na ważny fakt, iż pojedyncze wymoczki w rurkach pionowych nie wykazują żadnego geotropizmu. Reakcja wymaga koniecznie obecności dość znacznej liczby wymoczków w rurce. Ważną rolę odgrywa przytem CO₂. W wodzie, nasyconej CO₂, wszystkie bez wyjątku wymoczki, zawarte w rurce, zwartą masą unoszą się w górę i szybko tworzą ostro odgraniczone skupienie geotropiczne, pomimo iż absolutna szybkość ruchu jest przytem zmniejszona. W tych samych warunkach wymoczki pojedyncze również skierowują się w górę. Wirując *Paramaecia* w wąskich rurkach odkrył KOEHLER zjawisko „centrotaksji”: po zaprzestaniu wirowania ruch wymoczków jest silnie wzmożony, a jednocześnie, niezależnie od położenia rurki w przestrzeni, *Paramaecia* zgodnie skierowują się ku końcowi rurki, który podczas wirowania był zwrócony ku osi wirówki. Pojedyncze osobniki nie wykazują centrotaksji, natomiast reakcja ta występuje po nasyceciu wody CO₂. Dwutlenek węgla jest rodzajem bodźca dodatkowego, lub sensybilizatora. Reakcja centrotaktyczna trwa bardzo krótko, zaraz po niej zachodzi normalny geotropizm. *Paramaecia*, nakarmione zredukowanym żelazem, poddawał KOEHLER działaniu silnego elektromagnesu, zmuszając wymoczki do ruchu wzdłuż linii sił pola magnetycznego. Przy położeniu magnesu powyżej i poniżej rurki pionowej, lub poziomem w przypadku rurki poziomej, zawsze wymoczki szybko skupiały się na końcu rurki, odwróconym od magnesu. Czyniły to także wówczas, gdy wodniczki żelazowe były równomiernie rozproszone w cieple, nie obciążając specjalnie którejkolwiek połowy. Wynik ten zaprzecza teorii mechanicznej. Autor przyjmuje teorię statocystów. Nie sądzi jednak, aby istniały jakieś specjalne statolity. Raczej wszelkie zawarte w komórce ciała, o ile są cięższe od protoplazmy, mogą pełnić rolę statolitów.

Wreszcie BOZLER ('26) wykazuje w krótkiej pracy, iż wzmożony kierunkowy geotropizm może być wywołany nie tylko przez działanie CO_2 , ale i przez podniety mechaniczne, faradyczne i chemiczne. Jeżeli podczas ruchu wymoczków ku górze rurkę nagle odwrócić o 180° , to ruch w poprzednim względem rurki kierunku trwa przez czas jakiś, i dopiero po przebyciu 5—6 cm wymoczki ponownie zwracają ku górze. Zgodnie z wynikami Miss MOORE ('03), niska temperatura powoduje geotropizm dodatni, wysoka — ujemny.

Posiadamy zatem cztery klasyczne teorie geotropizmu: teorię mechaniczną, teorię oporu, teorię ciśnienia i teorię statocystów. Dzięki pracom KANDA SAKYO i SCHAEFERA teorie ciśnienia i oporu można uważać za obalone ostatecznie. Wszyscy autorowie, prócz HARPERA, wypowiedzieli się przeciwko teorii mechanicznej, przyjmując w zasadzie teorię statocystów. Ta ostatnia jest w chwili obecnej poglądem panującym.

Ze względów czysto teoretycznych, o których będę mówił w związku ze zjawiskiem centrotaksji, uważam jednak teorię statocystów za nieudowodnioną i nader nieprawdopodobną. Teoria mechaniczna również nie dała się w niewątpliwy sposób potwierdzić, gdyż nie znaleziono metody oznaczenia położenia środka ciężkości *Paramecium*. Teoria ta istotnie mogłaby się przyczynić do wyjaśnienia istoty geotropizmu, brak jej wszakże podstaw faktycznych. W pracy niniejszej usiłuję dostarczyć tych właśnie podstaw a zarazem stwierdzić, gdzie w zachowaniu się wymoczka kończą się czynniki fizyczne, a gdzie zaczynają się biologiczne.

Metodyka.

Paramecium caudatum hodowałem w 2-litrowych słojach, do których wrzucałem wygotowane w ciągu 3 minut woreczki muślinowe z sałatą, zmieniane raz na tydzień.

W wielu doświadczeniach karmiłem wymoczki ciężką zawiesiną chromianu baru. Jest ona jednak dość słabo pobierana przez *Paramecia*, wobec czego musiałem zastosować metodę karmienia, podaną w jednej z moich poprzednich prac (DEMBOWSKI '21). Do suchego BaCrO_4 dodawałem około 10% żółtka jaja kurzego, wysuszonego w 100° , poczem rozcierałem wszystko w moździerzu, początkowo na sucho, później z dodatkiem małej ilości wody. Kilka kropli otrzymanej zawiesiny dodawałem do zgęszczonej kultury wymoczków, które już po 1 godzinie tworzą 20—30 dużych wodniczków barowych.

Z wielu wypróbowanych metod utrwalania tylko metoda GELEI ('26) istotnie dobrze zachowuje kształt zewnętrzny wymoczka. Metoda po-

lega na zastosowaniu mieszaniny 10 części 1% kwasu osmowego i 1 części 40% formaldehydu. Po paruminutowym pobycie w cieczy utrwalającej, przenosiłem wymoczki na wirówce do alkoholi 7, 15, 30, 50, 70 i 90%, potem obserwowałem je w glicerynie.

Dalsze szczegóły metodyki, jako zbyt różnorodne, podam przy opisie doświadczeń.

Zachowanie się modeli.

Z prób wirowania *Paramaecium* w rurkach zwięzających się wnioskował KOEHLER ('22), iż wśród jego wymoczków 42% miało cięższą przednią połowę, 58% zaś cięższą tylną połowę ciała, czyli że przeważanie tylnego końca ku dołowi (VERWORN) nie może wytłumaczyć geotropizmu. Mimo to już sam kształt zewnętrzny *Paramaecium*, którego tylna połowa jest bardzo wyraźnie grubsza od przedniej, posiadającej ponadto głębokie wcięcie peristomalne, nasuwa przypuszczenie, iż przy zawieszonej działalności rzęsek, gdy wymoczek zachowuje się jako ciało fizyczne tylko, połowa tylna powinna przeważać. Nie mamy żadnych powodów przypuszczać, aby ciężar właściwy obu połów był różny. Pelmicula i ektoplazma są wszędzie jednostajnej grubości, endoplazma zaś, jak to podnosi KOEHLER, jest substancją półpłynną, ulegającą ciągłej rotacji. Ciężkie wodniczki pokarmowe oczywiście mogłyby przesunąć środek ciężkości w każdym kierunku, ale jest to czynnik najzupełniej przypadkowy. Wobec rotacji endoplazmy, wszystkie odchylenia środka ciężkości, spowodowane przez przesunięcia wodniczków, są jednakowo prawdopodobne, a więc w masie nie powinny wcale wpłynąć na wynik wirowania.

Zakładając, iż gęstość wymoczka jest równomierna, podjąłem próbę rozstrzygnięcia sprawy na modelach. Z plastyliny sporządziłem kilkadziesiąt modeli *Paramaecium*, starając się możliwie wiernie naśladować jego kształt, zresztą z pominięciem wgłębienia peristomalnego. Modele moje miały 13 mm długości i 4 mm grubości w miejscu najszerszym. Modele takie wrzucałem do dużego lejka z wodą. Rurka lejka miała 6 mm średnicy wewnętrznej, wysokość słupa cieczy w samym lejku wynosiła 5 cm. Warunki doświadczenia były bardzo podobne do tych, w jakich znajdują się wymoczki przy wirowaniu w rurkach zwięzających się. Wynik trzech prób podaje tabela I. Jest to prawie dokładnie ten sam wynik, jaki otrzymał KOEHLER. Należało wnioskować, iż część moich modeli miała cięższy koniec przedni, część zaś tylny.

Jednak, plastylina jest o wiele cięższa od wody i modele opadają w niej szybko. W tych warunkach ewentualna przewaga tylnego końca nie zdąży jeszcze wpłynąć wyraźnie na położenie podłużnej osi modelu względem płaszczyzny poziomej, gdy model już wpada do rurki, gdzie może zająć tylko położenie pionowe. Wynik powinien być mniej więcej przypadkowy, jak to widzimy w rzeczywistości. Ale wynik zmienia się zasadniczo, gdy modele opadają w gęstej glicerynie, gdzie szybkość opadania nie przekracza 1 cm/sek. Jakkolwiek modele nie posiadały wgłębienia peristomalnego, co zmniejszyło jeszcze przewagę tylnego końca, wszystkie

bez wyjątku wpadły do rurki lejka tylnym końcem naprzód. Tylna połowa modeli na pewno przeważała, a jednak w wodzie aż 40% ich opadło przednim końcem ku dołowi.

Próba powyższa wskazuje na jeszcze dalsze źródło błędów w doświadczeniach nad wirowaniem wymoczków w rurkach zwięzających się. Wszyscy autorzy stosowali wirowanie szybkie, co najmniej 2000 obrotów na minutę. Wymoczki zostają przytem tak szybko odrzucone ku peryferji, iż przewaga tylnego końca nie zdąży się jeszcze uzewnętrznic, gdy już wymoczek wpada do rurki kapilarnej, utrwalającej jego przypadkowe położenie. Wynik KOEHLERA jest najwyraźniej przypadkowy, ale nie dowodzi bynajmniej, aby przypadkowe było położenie środka ciężkości w ciecie *Paramaecium*.

I jeszcze jedno ważne źródło błędów istniało w doświadczeniach KOEHLERA. Wskazuje na nie uważniejsza obserwacja opadania modeli plastylinowych w wodzie. Gdy model opada w położeniu poziomem, z reguły niezupełnie symetrycznie względem podłużnej osi lejka, w pewnej chwili uderza jednym końcem w jego pochyłą ściankę. Uderzenie wstrzymuje lub zwalnia na chwilę opadanie tego końca, gdy wolny koniec przeciwnie opada w dalszym ciągu. Wystarcza to najzupełniej, aby model zwrócił się wolnym końcem ku dołowi. Nie dlatego, aby koniec wolny był cięższy, lecz dlatego, iż koniec przeciwny został po-

Tabela I.

Opadanie modeli plastylinowych w wodzie.
Herabsinken der Plastilinmodellen im Wasser.

№	Opadło przodem <i>Vorderende nach unten</i>	Opadło tyłem <i>Hinterende nach unten</i>
1	56	84
2	34	46
3	30	50
	120 40%	180 60%

wstrzymany w swoim ruchu. W tych warunkach nawet wyraźna i stała przewaga tylnego końca do pewnego tylko stopnia może wpłynąć na wynik opadania. Dlatego właśnie otrzymał KOEHLER tylko 58% wymoczków, zwróconych tylnym końcem na zewnątrz, co prawie nie różni się od zwykłej przypadkowości.

Do tych względów należy jeszcze dołączyć ogromną trudność dokładnego oznaczenia położenia wymoczków, słoczonych w kapilarce. Wykonałem wiele prób wirowania *Paramaecium* w kapilarkach, ich wyniki były jednak tak kapryśne i niepewne, że musiałem metodę zarzucić. Warunki zjawiska są zbyt skomplikowane i z trudnością ulegają kontroli.

Próby na modelach powtórzyłem, stosując metodę ściślejszą. Nie polegając nawet na najlepszych metodach utrwalania, które zawsze w pewnej mierze zmieniają proporcje wymoczek (por. rys. 1, a rys. 2 — 5 tablicy), fotografowałem pierwotniaki żywe, skupione tigmotropicznie koło włożonych do preparatu włókienek waty. Kliszę powiększałem za pomocą kamery rysunkowej, otrzymując prawidłowe kontury wymoczków, w powiększeniu około 350 razy. Na rys. 1 tablicy (p. str. 47) podaję kilka takich konturów. Według konturów modelowałem starannie wymoczki z plastyliny, naśladowując także wgłębienie peristomalne. Ogółem wykonałem 20 takich modeli. W położeniu poziomem wkładałem je do gęstego roztworu żelatyny, gdzie szybkość opadania nie przekraczała 2 — 3 mm/sek. Wszystkie modele bez wyjątku skierowały swój koniec tylny ku dołowi.

Nie ulega wątpliwości, iż o ile gęstość wymoczek jest równomierna we wszystkich częściach jego ciała, koniec tylny przeważa. Kształt ciała *Paramaecium* najwyraźniej przemawia za teorią mechaniczną.

Próby wirowania.

1^o. Krysztaly Szewiakowa. Wymoczki, karmione sałatą, zawierają stosunkowo znaczną liczbę kryształów fosforanu wapnia, rozsianych w endoplazmie. Kryształy są wyraźnie cięższe od otaczającej plazmy: jak wiemy z prac Mc Clendona ('09), KOEHLERA ('22) i innych, wirowanie odrzuca je na zewnątrz. U około 1000 osobników oznaczyłem położenie kryształów w całości komórki. Są one mniej więcej równomiernie rozproszone, ale u niektórych osobników można zauważyć lekką przewagę

kryształów bliżej jednego z końców ciała. Wobec małej masy kryształów w stosunku do masy całego wymocзка, jest nader wątpliwe, aby tak drobne różnice mogły wyraźnie wpłynąć na położenie środka ciężkości. Mimo to podzieliłem wymocзки na trzy kategorie: takie, które mają kryształy fosforanu bliżej przedniego, lub nieco bliżej tylnego końca, lub wreszcie rozproszone równomiernie. Jak małe są te różnice, wskazuje rys. 2 (p. tablica). Następnie porcję tych samych wymoczków poddałem silnemu wirowaniu w zwykłej próbówce wirówkowej, w ciągu 1 minuty, poczem natychmiast je utrwaliłem. Doświadczenie wykonano dwukrotnie, na różnych wymoczkach. Wynik ilustruje tabela II oraz rys. 3. Jeśli przed wirowaniem najwyżej 39% osobników wykazywało lekką przewagę liczby kryształów w tylnej połowie ciała, to po wirowaniu aż u 88% wymoczków kryształy skupiły się w tylnym końcu, wskazując, iż tylnym końcem na zewnątrz zwrócił się wymoczek podczas wirowania. Tylko 6,4% wszystkich osobników zwróciło na zewnątrz koniec przedni. Zgodnie z wynikiem poprzednich prób z modelami, tylny koniec *Paramaecium* przeważa.

Tabela II.

Wpływ wirowania na położenie kryształów fosforanu. We wszystkich tabelkach P oznacza, iż kryształy lub wodniczki są skupione w przednim końcu, T — w tylnym końcu i R — wodniczki rozproszone.

Einfluss des Zentrifugierens auf die Lage der Phosphatkrystalle. In sämtlichen Tabellen bedeutet P, dass die Krystalle bzw. Vakuolen nach dem Vorderende, T— nach dem Hinterende abgeschleudert worden sind, R— dass sie zerstreut liegen.

№	Przed wirowaniem <i>Vor dem Zentrifugieren</i>			Po wirowaniu <i>Nach dem Zentrifugieren</i>		
	P	T	R	P	T	R
1	60	141	106	25	163	18
2	28	243	414	13	361	15
	88	384	520	38	524	33
	8,9%	38,7%	52,4%	6,4%	88,1%	5,5%

2°. Karmienie $BaCrO_4$. Podanym powyżej sposobem karmiłem *Paramaecia* zawiesiną chromianu baru w ciągu 1 godziny. Wymocзки utworzyły od kilkunastu do kilkudziesięciu dużych wodniczków barowych, rozsianych mniej więcej równomiernie w całej komórce, jak to ilustruje rys. 4. $BaCrO_4$ jest o wiele cięższy od fosforanu wapnia, ponadto wymoczek zawiera

go setki razy więcej. Jakkolwiek rola kryształów fosforanu w sprawie obciążenia komórki niknie zupełnie wobec obecności wodniczków barowych. Wykonano trzy próby, uwzględniając w nich dużą liczbę wymoczków. Po 1-minutowem wirowaniu, rozkład wodniczków barowych przedstawił się jak w tabeli III.

Tabela III.

Położenie wodniczków barowych po wirowaniu.
Die Lage der $BaCrO_4$ - Vakuolen nach dem Zentrifugieren.

№	P	T	R
1	65	765	64
2	24	1.398	46
3	16	585	34
	105 3.5%	2.748 91.7%	144 4.8%

Tym razem aż 91.7% wszystkich osobników wirowanych zwróciło na zewnątrz koniec tylny. Typowy wygląd wymoczka wirowanego podaje rys. 5. Przewaga tylnego końca jest bardzo wyraźna, jakkolwiek położenie wodniczków barowych jest zupełnie przypadkowe.

3°. Geotropizm wymoczków wirowanych.

Paramecia, w ten sam sposób karmione $BaCrO_4$ i wirowane, umieszczałem w pionowej rurce szklanej, o średnicy wewnętrznej 5 mm i długości 20 cm, otwartej u góry. We wszystkich przypadkach wymoczki wykazały bardzo silnie wzmożony ruch ku górze. Już po kilkunastu sekundach powstało wyraźne skupienie górne, przyczem wymoczki w całej rurce płyną dokładnie pionowo. Obraz jest bardzo wyraźnie różny od zwykłej reakcji geotropicznej, gdy *Paramecia* pływają we wszystkich kierunkach, wciąż uderzając o ścianki, płynąc poziomo lub zawracając ku dołowi. Jak wykażę w pracy następnej, w przypadku normalnego geotropizmu wymoczki pływają jednakowo w górę i w dół, górne zaś skupienie powstaje tylko dzięki temu, iż u góry wymoczki zatrzymują się przez kilka sekund, gdy od dna rurki odbijają się odrazu. Natomiast wymoczki wirowane wykazują jednolity, równoległy ruch ku górze, bez uderzenia o ścianki rurki. Takie jest w każdym razie zachowanie się ogromnej większości. Jednak zawsze pewna część wymoczków pozostaje rozproszona, lub skierowuje się ku dołowi.

Wykonałem 8 porównawczych prób kontrolnych (tabela IV). Po wirowaniu umieszczałem *Paramecia* w rurce pionowej, której dolny koniec był wyciągnięty w kapilarę i zalutowany. Po 1 minucie, gdy znaczna większość osobników skupiła się na górze, utrwaląłem porcję wymoczków ze skupienia górnego, poczem na-

tychmiast ułamywałem kapilarę dolną i utrwaląłem porcję (zawsze znacznie mniej liczną) z dolnej części rurki. Wynik podaje tabela IV. Różny % osobników o wodniczkach rozproszonych w poszczególnych doświadczeniach tłumaczy się prawdopodobnie niejednakową szybkością wirowania: do prób tych używałem wyłącznie wirówki ręcznej. Poza to wynik jest bardzo jednolity. W górnej części rurki 79.2% osobników miało wodniczki barowe skupione w tylnym końcu i tylko 1.2% w przednim. W części dolnej stosunek ten się odwraca, gdyż tylko 8.9% wymoczków miało obciążony tylny koniec, zaś 58.4% — przedni.

Tabela IV.

Położenie wodniczków barowych w wymoczkach wirowanych, pochodzących z górnej i dolnej części rurki, w której utworzyły skupienie ujemnie geotropiczne.

Die Lage der BaCrO₃-Vakuolen in zentrifugierten Infusorien, die von dem oberen bzw. unteren Teile des Röhrchens, im welchen sie eine negativ-geotropische Ansammlung gebildet hatten stammen.

№	Górna część rurki Oberer Rohrteil			Dolna część rurki Unterer Rohrteil		
	P	T	R	P	T	R
1	1	268	12	13	4	69
2	4	264	25	20	22	8
3	0	378	5	38	17	3
4	1	237	1	44	7	2
5	3	35	93	48	8	65
6	7	144	103	—	—	—
7	4	171	20	209	4	86
8	4	160	51	76	6	18
	24 1.2%	1657 79.2%	410 19.6%	448 58.4%	68 8.9%	251 32.7%

Sprawa jest zupełnie jasna. W czasie wirowania zwrócenie tylnego końca na zewnątrz zależy od jego przewagi i stanowi regułę powszechną. Wodniczki rozproszone oznaczają prawdopodobnie, iż wirowanie nie było dość szybkie, względnie — że pod wpływem jakichś bliżej nieznaných czynników zaszło chwilowe zgęszczenie protoplazmy, co wybitnie zmiejszyło wirowalność wodniczków. Wogóle lepkość protoplazmy *Paramecium* jest bardzo wysoka (Miss FETTER '26), zaś według VAN HERWERDEN ('26) różne bodźce, jak słabe kwasy, ogrzanie, bodźce mechaniczne i t. d. powodują odwracalną żelatynizację protoplazmy. Nie jest wykluczone, iż przy wirowaniu, połączeniem zawsze ze stłaczaniem pierwotniaków,

zjawiska podobne grają rolę. Wreszcie wymocзки, których przedni koniec został odrzucony na zewnątrz, a których liczba odpowiada przy karmieniu BaCrO_4 3.5%, (tab. III) znalazły się w tem położeniu czysto przypadkowo. Na małej przestrzeni (koniec próbówki wirówki miał około 8 mm średnicy wewnętrznej) wirowanie stłacza dziesiątki tysięcy wymoczków. Muszą więc zachodzić przypadki, gdy wymoczek, wtłoczony między inne, nie zdąży się odwrócić. Gdy te trzy kategorie wymoczków wstępują do rurki pionowej, do góry skierowują się przede wszystkim te, których tylny koniec jest obciążony. U wymoczków normalnych tylny koniec przeważa i to stanowi jedną z przyczyn ruchu geotropicznego. Sztuczne zwiększenie tej przewagi powinno odpowiednio wzmacniać ruch ku górze. Natomiast sztuczne i znaczne obciążenie przedniego końca powinno odwrócić kierunek geotropizmu. Istotnie, w górnej części rurki stosunek osobników o obciążonej przedniej połowie, do liczby osobników o obciążonej tylnej wynosi 0.04, zaś w dolnej części rurki ten sam stosunek wynosi 6.6, czyli jest około 471 razy większy.

W ten prosty sposób tłumaczy się obserwowany jeszcze przez JENSENA ('93a) fakt, że wirowanie wzmacnia geotropizm. Każde *Paramaecium* zawiera w endoplazmie jakies ziarenka, cięższe od otaczającej plazmy. Pod wpływem wirowania ziarenka te zostają odrzucone ku tyłowi ciała, przesuwając w tym kierunku środek ciężkości.

4°. Wpływ szybkości wirowania. Próby na modelach pozwoliły wnioskować, iż szybkość opadania może zdecydować o zwróceniu przedniego lub tylnego końca ku dołowi. Wymocзки karmione zawiesiną BaCrO_4 dobrze nadają się do przeprowadzenia kontroli w tym względzie. Wykonałem dwie równoległe serie prób, do których użyłem tych samych wymoczków, w jednakowy sposób karmionych ciężką zawiesiną. W jednej serii wymocзки były wirowane początkowo wolno, później stopniowo coraz prędzej, aż do możliwego maksimum. W drugiej serii usiłowałem uruchomić wirówkę od razu całą siłą. Wymocзки pierwszej kategorii są oznaczone w tabeli V jako „wirowane wolno“, serii drugiej, jako „wirowane prędko“. We wszystkich bez wyjątku próbach % osobników, których koniec przedni był zwrócony na zewnątrz, był większy w przypadku wirowania prędkiego. Ogółem było takich wymoczków 1.2% przy wirowaniu

wolnem i 6.3% przy szybkim, co stanowi różnicę przeszło pięciokrotną. Wobec znacznej liczby uwzględnionych osobników, oraz wobec jednolitości całego wyniku, jest rzeczą pewną, iż w niejakiem stopniu zbyt szybkie wirowanie może stanowić źródło błędów doświadczalnych.

Tabela V.

Wpływ szybkości wirowania na położenie wodniczów barowych.
Der Einfluss der Zentrifugierungsgeschwindigkeit auf die Lage der BaCrO₄-Vakuolen.

№	Wirowanie wolne <i>Langsames Zentrifugieren</i>			Wirowanie szybkie <i>Schnelles Zentrifugieren</i>		
	P	T	R	P	T	R
1	9	101	13	16	62	5
2	4	469	12	61	296	52
3	3	590	10	11	522	17
4	—	—	—	10	286	19
5	2	206	6	14	379	28
	18 1.2%	1366 95.9%	41 2.9%	112 6.3%	1545 86.9%	121 6.8%

5°. Chłodzenie. LYON ('18) ochładzał *Paramecia* do 0° w celu możliwego wyłączenia ruchów rzęsek, poczem wirował je w kapilarkach. Wszystkie skierowały przód ciała na zewnątrz. W moich doświadczeniach chłodzenie do 0° nie zawieszało całkowicie ruchu postępowego. Dopiero przy — 1° *Paramecia* nie ruszają się z miejsca, wykonywują jednak powolną rotację dookoła osi podłużnej, opadając jednocześnie na dół. Olbrzymia większość opada w położeniu pionowym, skierowując grubszą połowę ciała ku dołowi. Utrwalając wymoczki metodą GELEI mogłem stwierdzić, iż chłodzenie pociąga za sobą silną kontrakcję ciała, całkowicie zmieniając jego normalne proporcje. Przednia połowa wymoczka chłodzonego jest grubsza od tylnej (rys. 6). Skurecz ciała powoduje przesunięcie się masy plazmatycznej, a wraz z nią i środka ciężkości ku przodowi.

Można było tego udowodnić metodą wirowania. *Paramecia* karmilem BaCrO₄ w ciągu 1 godziny, chłodziłem do — 1° w mieszaninie stężonego roztworu NH₄Cl i lodu (— 12°), i silnie wirowałem na wirówce elektrycznej (2000 obrotów na minutę) w ciągu 3 minut. Natychmiast po wirowaniu wymoczki zostawały utrwa-

lane. Kształt ich niewiele różnił się od normy, gdyż w ciągu 3 minut próbówka z wymoczkami znacznie się ogrzała. Ważny jest jednak kształt ciała jedynie na samym początku wirowania, gdy wymocзки ustawiają się pod wpływem siły odśrodkowej. Z chwilą odrzucenia ku peryferji, wymocзки absolutnie nie są w stanie przezwyciężyć siły odśrodkowej, która w doświadczeniach tych 578 razy przewyższała normalną grawitację. Wynik wirowania podaje tabela VI. Uderza w niej znaczny % osobników o wodniczki rozproszonych. Zależy to od silnego zgęszczenia plazmy pod wpływem chłodzenia. U tych jednak, gdzie wirowanie przesunęło wodniczki, 50% miało obciążony koniec przedni i tylko 7.2% tylny. Stosunek obu jest wręcz odwrotny do stosunku u wymoczków niechłodzonych.

Tabela VI.

Wirowanie wymoczków, karmionych $BaCrO_4$ i chłodzonych.

Zentrifugierung der mit $BaCrO_4$ gefütterten und gekühlten Infusorien.

№	P	T	R
1	231	18	328
2	241	50	177
	472	68	405
	50%	7.2%	42.8%

Tabela VII.

Wirowanie wymoczków barowych w roztworze NaOH.

Zentrifugierung der $BaCrO_4$ -Paramacien in NaOH.

№	P	T	R
1	230	70	28
2	368	48	25
	598	118	53
	77.8%	15.3%	6.9%

Znaczna większość takich wymoczków wykazała w rurce pionowej wyraźny geotropizm dodatni, skupienie górne wogóle się nie utworzyło. Faktu nie można tłumaczyć tylko osłabieniem rzęsek przez chłodzenie lub wirowanie, gdyż wynik prób kontrolnych był zupełnie inny. Wymocзки chłodzone-niewirowane i wirowane-niechłodzone wykazały zwykłą wzmożoną reakcję ujemną, jakkolwiek chłodzono je i wirowano dokładnie w ten sam sposób.

Wobec tych faktów, powyższy wynik LYONA traci swoją moc dowodową. Być może w analogiczny sposób można interpretować obserwację Miss MOORE ('03) i BOZLERA ('26), iż w niskiej temperaturze kierunek geotropizmu *Paramacium* zostaje odwrócony. Przewaga przedniej połowy ciała może tu odgrywać pewną rolę, chociaż prawdopodobnie głównie idzie o zwolnienie ruchu rzęsek.

6°. Wirowanie w roztworach NaOH. Oddawna jest znane dla *Paramaecium*, iż pod wpływem roztworów zasadowych tylny koniec ciała ulega poprzecznemu skurczowi i tworzy się charakterystyczny ogonek („Zipfel“ autorów niemieckich). Masa plazmatyczna zostaje przytem przesunięta ku przodowi. Nakarmione BaCrO_4 wymocзки umieszczałem na przeciąg 1 — 3 minut w 0.005 — 0.01% roztworze NaOH, poczem je wirowałem i utrwaliałem. Wynik, podany w tabeli VII, najzupełniej odpowiadał spodziewanemu, gdyż 77.8% osobników miało wodniczki skupione na przodzie i tylko 15.3% w tyle (p. rys. 7).

7°. Karmienie tłuszczem. Zwykle masło jadalne wstrząsałem z ciepłą wodą w próbówce, aż do zupełnego ostygnięcia. Otrzymałem bardzo subtelną emulsję, obficie pobieraną przez *Paramaecia*. W ciągu 1 godziny wymocзки tworzą 20 — 30 wodniczków masłowych. Metoda GELEI (kwas osmowy) zabarwia tłuszcz, bardzo dobrze uwydatniając wodniczki. Wymocзки poddano szybkiemu wirowaniu na wirówce elektrycznej w ciągu 3 minut. Przed wirowaniem kryształły fosforanu wapnia i wodniczki masłowe były u znacznej większości wymoczków rozproszone równomiernie w całej komórce. Po wirowaniu około 85% miało wodniczki masłowe skupione na przodzie, zaś kryształły w tyle, jak na rys. 8. Wymocзки podobne wykazywały wyraźny geotropizm ujemny, gdyż do obciążenia tylnego końca dołączyły się działające w tym samym kierunku zmniejszenie wagi końca przedniego. Maksimum tego działania otrzymałem, stosując mieszaninę masła i BaCrO_4 .

9°. Wirowanie w alkoholu propylowym. BILLS ('22) podaje, iż alkohol propylowy, normalny i izo-, w stężeniu 1 — 3.5% jest doskonałym anestetykiem dla *Paramaecium*. Unieruchamia całkowicie rzęski, ale pozostawia bez zmiany procesy wewnętrzne, jak wydzielanie, trawienie, cyklozę i t. p. W moich doświadczeniach stosowałem 2% roztwór (wagowo) alkoholu propylowego normalnego (Kahlbaum). Już po upływie kilku minut wymocзки nieruchomieją prawie zupełnie, najwyżej pozostaje słaba rotacja w miejscu, potem zaś wolno opadają ku dołowi w jakimkolwiek dowolnem położeniu. Jednocześnie ciało wymocзка zostaje silnie zniekształcone: zachodzi kontrakcja podłużna, wymoczek grubieje, oba jego końce zaokrąglają się. Z jego kształtu nie można teraz wnosić, który koniec powinien przewa-

żyć. Nakarmione $BaCrO_4$ wymocзки umieściłem w 2% alkoholu propylowym na 3 — 5 minut, odwirowałem i utrwaliłem. Wynik obliczenia był dość niespodziewany. Do poprzednich trzech kategorii wymoczków należało dołączyć czwartą: takie, których wodniczki barowe zostały odrzucone ku jednemu z boków ciała (rys. 9). Liczba podobnych osobników, oznaczonych w tabeli VIII literą B, znacznie przewyższa liczbę wszystkich innych. Interpretacja tego zjawiska wydaje mi się dość prosta. W żadnej z poprzednich prób nie zauważyłem wymoczków o wodniczkach odrzuconych ku bokowi ciała, chyba kilka osobników, nie wpływających zupełnie na wynik obliczenia. We wszystkich bowiem poprzednich doświadczeniach istniała wyraźna przewaga jednego

T a b e l a VIII.

Wirowanie wymoczków barowych w alkoholu propylowym. B oznacza, iż wodniczki leżą wzdłuż boku ciała.

Zentrifugierung der $BaCrO_4$ -Tiere im Propylalkohol. B bedeutet, dass die Vakuolen längs der Körperseite liegen (vgl. Fig. 9).

№	P	T	R	B
1	19	45	46	403
2	22	64	5	317
3	11	150	2	202
	52	259	53	922
	4.1%	20.1%	4.1%	71.7%

końca nad drugim. W przypadku alkoholu propylowego ciało wymocзка staje się mniej więcej symetryczne i krótkie, i niema specjalnego powodu, aby wymoczek zwrócił się na zewnątrz raczej jednym końcem, niż drugim. Może jednak powstać przypuszczenie, iż w alkoholu propylowym narkotyzowane *Paramaecium* zachowuje się jak ciało fizyczne tylko. Natomiast w poprzednich próbach rzęski pozostawały czynne i *Paramaecium* mogło ustawić się aktywnie względem działającej nań siły odśrodkowej. Nie sądzę, aby tak było istotnie. Wymocзки przechłodzone conajmniej w równym stopniu posiadały rzęski nieczynne, a mimo to ustawiały się pionowo. Nie wydaje się również możliwe, aby wymoczek zdołał oprzeć się sile, 578 razy przewyższającej normalne ciężenie. Najwyżej w pierwszej chwili wirowania, w ciągu 1 — 2 sekund, gdy wirownica nie nabrała jeszcze roz-

pędu, mogło istnieć podobne ustawianie się. Potem wszakże własna siła rzęsek staje się znikoma wobec działającej siły odśrodkowej. Aktywnego ustawienia się w tem czy innem położeniu wymoczek nie zdołałby zachować, gdyby położenie jego nie było zgodne ze stanem równowagi stałej.

Centrotaksja.

Opisane zjawiska centrotaksji interpretuje KOEHLER w myśl teorii statocystów. Różne zawarte w komórce ciała („Einschlusskörper“) pod wpływem siły odśrodkowej ulegają przesunięciu, wywierając na protoplazmę ciśnienie lub pociągając ją za sobą. Po ustaniu wirowania *Paramecium* ma dążność poruszania się w kierunku wprost przeciwnym temu, w jakim jego ziarenka („statolity“) zostały przesunięte. Jeśli rurkę z wymoczkami po zaprzestaniu wirowania położymy poziomo, to wymoczki ze wzmoczoną szybkością skierują się wszystkie ku końcowi byłemu dośrodkowemu, a więc będą płynęły poziomo. Gdy rurka stoi pionowo, końcem dośrodkowym ku dołowi, wymoczki skierują się na dół. Położenie wymoczków w rurce podczas wirowania jest przypadkowe i statolity mogą zostać pociągnięte ku któremukolwiek końcowi, lub też ku bokowi ciała. Podrażniona kierunkowo plazma reaguje w kierunku odwrotnym, a więc niezależnie od położenia rurki w przestrzeni wymoczki muszą skierować się w stronę, przeciwną działaniu siły odśrodkowej.

Pogląd powyższy, jakkolwiek ogólnikowo zadawałający, nie da się jednak przeprowadzić w szczegółach. Wyobraźmy sobie wymoczkę, którego siła odśrodkowa odrzuciła końcem tylnym na zewnątrz. Jego statolity zostały pociągnięte ku tyłowi i po zaprzestaniu wirowania plazma będzie reagowała w przeciwnym kierunku, a więc wymoczek popłynie ku końcowi dośrodkowemu rurki. Inaczej jednak przedstawi się sprawa, gdy wymoczek został odrzucony przednim końcem na zewnątrz. Statolity uciskają w kierunku ku przodowi i jeśli plazma ma reagować odwrotnie, to wymoczek powinien skierować się ku dośrodkowemu końcowi rurki, ale płynąc tyłem. Obydwa wymoczki jednakowo wykonywują reakcję centrotaktyczną, czy statolity uciskały na przedni, czy też na tylny koniec ciała. Oba płyną w tem samym położeniu i w tym samym kierunku. A jednak kierunek działania siły

odśrodkowej na statolity obu był wręcz przeciwny. Jeszcze większą trudność nastroczają przypadki, gdy statolity zostały pociągnięte ku bokowi ciała. W myśl teorii statocystów wymoczki takie musiałyby płynąć bokiem ku wylotowi rurki. Jednak pomimo całej przypadkowości położenia wymoczków na wirówce, wszystkie osobniki równolegle i jednakowo wykonywują reakcję centrotaktyczną. KOEHLER zupełnie nie bierze pod uwagę względności całego zjawiska. Siła odśrodkowa przesuwca statolity w tym czy innym kierunku względem ciała wymoczka. Wymoczek zaś płynie w określonym kierunku względem ścianek rurki. Wszystko jedno, jak przesunęły się statolity w komórce, *Paramecium* zawsze płynie przednim końcem naprzód, a więc przy reakcji centrotaktycznej niezależnie od swego położenia na wirówce musi odwrócić się i ustawić się równolegle do podłużnej osi rurki. Nie widzę możliwości wytłumaczenia tych zjawisk na zasadzie teorii statocystów.

Z drugiej strony otrzymane przeze mnie wyniki również nie tłumaczą zjawiska centrotaksji. Przewaga tylnego końca wyjaśnia bardzo dobrze powstawanie skupień ujemno-geotropicznych, ale nie może stanowić przyczyny dośrodkowego ruchu poziomego, tem bardziej zaś ruchu ku dołowi.

Powtarzając doświadczenia KOEHLERA, doszedłem do wniosku, iż zjawisko przebiega nieco inaczej, niż opisuje ten autor. Wymoczki karmiłem $BaCrO_4$, dostarczając im ciężkich i łatwo przesuwających się statolitów. Następnie wirowałem je silnie w otwartej rurce o wymiarach 2.5 mm średnicy wewnętrznej i 110 mm długości. Mniej więcej takich samych rurek używał KOEHLER.

a) Po wirowaniu rurka ustawiona pionowo, wylotem, zwróconym podczas wirowania ku osi wirówki, ku górze. Wirowanie skupiło wszystkie osobniki na dnie rurki. W ciągu 5—20 sekund *Paramecia* pływają w różnych kierunkach, trzymając się blisko dna. Stopniowo jednak coraz więcej osobników ustawia się pionowo, przednim końcem ku górze i skierowuje się wprost do wylotu. Po 20—30 sekundach wszystkie lub prawie wszystkie osobniki płyną dokładnie równolegle w górę, ze znacznie w stosunku do normalnej zwiększoną szybkością ruchu. Po upływie jednej minuty lub nieco więcej wszystkie wymoczki znajdują się u powierzchni wody. Później wiele z nich skierowuje się w dół, jednak wkrótce zawraca. Przez dłuższy czas dolne 2/3 rurki pozostaje prawie wolne od wymoczków.

b) Po wirowaniu rurka ustawiona pionowo, ale wylotem na dół. Przez dłuższy czas wymoczki pływają blisko dna rurki, a więc u góry.

Reakcji centrotaktycznej nie widziałem zupełnie, pomimo iż powtarzałem doświadczenie wiele razy z rzędu.

c) Po wirowaniu rurka położona poziomo. Wymoczki stopniowo skierowują się w stronę wylotu, jednak reakcja nie ma wcale charakteru jednolitego. Ruchy są dość nieprawidłowe, ogromna większość trzyma się górnej ścianki rurki, i wogóle całe zachowanie się niczem nie przypomina wyraźnej kierunkowej reakcji próby a). Zwyczajnie zachodzi stopniowe rozproszenie się wymoczków, skupionych w jednym punkcie rurki.

d) Po wirowaniu rurka ustawiona pionowo, wylotem do góry, jak w a). Gdy ustalili się ruch kierunkowy ku górze (20—30 sekund), rurkę położono poziomo. *Paramaecia* płyną dalej ku wylotowi, a więc poziomo, koło wylotu tworzą dość krótkotrwałe skupienie. Później następuje rozproszenie po całej rurce. Jeśli w chwili utworzenia się skupienia w pobliżu wylotu rurkę znowu ustawić pionowo, ale wylotem na dół, to raz jeszcze zachodzi jednolita reakcja geotropiczna i powstaje dość trwałe skupienie u góry, w pobliżu dna.

e) Po wirowaniu rurka stoi pionowo, wylotem ku górze. Po ustaleniu się reakcji geotropicznej rurka zostaje szybko odwrócona o 180°, wylotem na dół. Przez krótką chwilę *Paramaecia* płyną ku dołowi, w poprzednim względem rurki kierunku, ale już po 5 sekundach kierunkowość zanika: coraz więcej osobników zwraca ku górze i po dalszych kilku sekundach reakcja zostaje odwrócona. Fakt jest zgodny z obserwacją BOZLERA.

Opisane zachowanie się wymoczków zawiera niektóre interesujące szczegóły. W próbie d) raz nadany kierunek ruchu względem rurki zostaje zachowany po odwróceniu rurki o 90°. Jednak, natychmiast *Paramaecia* zwracają się ukośnie w górę i płyną w pobliżu ścianki górnej. Wymoczek uderza o ściankę, odbija się od niej i płynie chwilę ukośnie w dół. Dosięga jednak najwyżej połowy szerokości rurki, gdy występuje wyraźny wpływ przewagi tylnego końca, powodując ponowne skierowanie się przodu ciała ku górze i zderzenie ze ścianką rurki. Droga wymocзка jest szeregiem prawidłowych krzywych, jak na rys. 10. Fakt ten dowodzi jasno, iż w istocie *Paramaecium* wykonywa reakcję geotropiczną, nie centrotaktyczną. Gdyby w punkcie zderzenia wymocзка ze ścianką ta ostatnia posiadała otwór, prowadzący w górę, oczywiście *Paramaecium* skierowałoby się w górę. Ścianka powoduje odbicie, poczem natychmiast wchodzi w grę mechanizm geotropiczny i przedni koniec wymocзка ponownie zwraca się ku ściance górnej. Zwracam uwagę, iż ten ruch *Paramaecium* jest czemś zupełnie różnym od ruchów normalnych. Jak opisałem poprzednio (DEMBOWSKI '25) *Paramaecium* normalne

w czystej wodzie i po podrażnieniach mechanicznych, a więc w warunkach powyższych eksperymentów, pływa wyłącznie wzdłuż linii prostych. Jego droga w rurce powinna stanowić szereg zygzaków od jednej ścianki do drugiej, ale nigdy nie będzie szeregiem krzywych, zaledwie dosięgających połowy grubości rurki.

Zachowanie przez *Paramaecium* raz obranego kierunku ruchu przy odwracaniu rurki o 90° jest zupełnie zrozumiałe. Nie ma bowiem żadnych powodów, aby w rurce poziomej, napełnionej czystą wodą, wymoczek miał zawrócić. W próbie d) zaszła reakcja geotropiczna i wymoczkom został nadany ogólny kierunek ruchu. Gdy rurkę odwrócono o 90° , własny kierunek ruchu *Paramaecium* zmienił się natychmiast, gdyż wymocзки, które płynęły dotąd równoległe do podłużnej osi rurki, skierowały się ukośnie w górę. Ich dalszy ruch ku wylotowi stanowi tylko wypadkową ustawicznych uśiłowañ zwierzęcia skierować się w górę i oporu ścianki. Kierunek wypadkowej jest nadany przez ściankę, gdyż pozostawiony samemu sobie wymoczek popłynąłby wprost ku górze. Widzimy to zresztą z próby e). Gdy po ustaleniu się ruchu geotropicznego rurkę odwrócić o 180° , już po niewielu sekundach *Paramaecia* odwracają kierunek swego ruchu względem rurki, powracają zaś do kierunku ruchu względem ciężenia. Że odwrócenie następuje nie natychmiast, jest rzeczą zupełnie naturalną. Wymoczek, który zajął położenie pionowe, obciążonym tylnym końcem ku górze, znajduje się w położeniu równowagi niestalej. Zwłaszcza wobec jego ruchu trzeba pewnego czasu na odwrócenie ciała i ustalenie równowagi, Właśnie istnienie takiego okresu wskazuje, iż przy odwróceniach rurki główną rolę w stosunku do efektu odgrywa nie zmieniony bodziec, gdyż na ten *Paramaecia* reagowałyby natychmiastowo, lecz przyczyny natury fizycznej. Interpretacja KOEHLERA do zjawisk centrotaktycznych z pewnością nie da się zastosować.

Uwagi ogólne.

Powracając do czterech klasycznych teorii geotropizmu, mamy właściwie do zdecydowania pomiędzy dwiema: teorią statocystów i teorią mechaniczną. Teoria statocystów została oczywiście stworzona przez analogję z ustrojami wyższymi, ale na jej poparcie nie mamy żadnych przekonujących dowodów. Należy

zgodzić się z KOEHLEREM, iż niema powodu zakładać istnienia w komórce *Paramaecium* stałych statolitów o niezmiennem położeniu. Przypuszczenie to przeczy faktom mikroskopowym. Znamy nader szczegółowo budowę wewnętrzną *Paramaecium* i nie w niej nie wskazuje na istnienie podobnych urządzeń. Z dowodów pośrednich, zjawiska centrotaksji zostały omówione powyżej i nie sądzę, aby przyniosły one coś nowego. Pozostają jeszcze analogiczne dane KOEHLERA o ruchach wymoczków, karmionych żelazem, w polu magnetycznem. Wymoczki zbierały się zawsze na końcu rurki, przeciwległym do magnezu, niezależnie od położenia rurki w przestrzeni i niezależnie od tego, czy wodniczki żelazowe obciążały tylko koniec tylny, czy też były rozproszone równomiernie. Interpretacja tego zjawiska napotyka jednak dokładnie te same trudności, co uzgodnienie ruchów centrotaktycznych z teorią statocystów. W tym również przypadku należy odróżnić ruch statolitów względem ciała wymoczka od ruchu wymoczka względem ścianek rurki. W doświadczeniach KOEHLERA pierwotniaki nigdy nie pływały tyłem lub bokiem, lecz wszystkie zgodnie skierowywały się wprost od magnezu. Interpretacja wówczas tylko byłaby słuszna, gdyby w chwili zamknięcia obwodu elektromagnezu wszystkie pierwotniaki znajdowały się w jednakowem położeniu: końcem tylnym zwrócone ku magnesowi. W rzeczywistości ich położenie było czysto przypadkowe i pozostaje niezrozumiałe, dlaczego pomimo zupełnie różnego kierunku ucisku statolitów na protoplazmę, wszystkie osobniki wykonywują jednakową reakcję. Nie mam w tym względzie własnego doświadczenia, wydaje mi się wszakże, iż fakty podobne raczej zaprzeczają teorii statocystów, niż ją potwierdzają.

W przypadku normalnego geotropizmu trudności, ściśle mówiąc, pozostają te same. Grawitacja działa na wszystkie osobniki, znajdujące się w najrozmaitszych przypadkowych położeniach względem pionu, i powoduje ucisk statolitów na protoplazmę we wszystkich możliwych kierunkach. Mimo to wymoczki wykonywują jednakową reakcję. Gdy idzie o statocysty ustroju wyższego, przy zmianie położenia ciała w przestrzeni statolit podrażnia coraz to inne zakończenie czuciowe, powodując powstanie bodźców tak czy inaczej zróżnicowanych. Musielibyśmy założyć w komórce *Paramaecium* istnienie nader zawiłego splotu punktów wrażliwych, zróżnicowanego przewodnictwa i ośrodka rozdzielczego, skiero-

wującego różne podrażnienia do poszczególnych rzęsek. Nie jest wykluczone, że urządzenia podobne istnieją u pierwotniaków, skoro jednak nawet istnienie statolitów nie zostało w żaden sposób udowodnione, lokalizacja skomplikowanego aparatu odbiorczo-rozdzielczego jest stanowczo przedwczesna. Trudności te przewiduje zresztą i KOEHLER. Z trudnością da się również pomyśleć, aby rolę statolitów mogły spełniać zawarte w endoplazmie ziarenka, wodniczki i kryształki. Wobec ustawicznej rotacji półpłynnej endoplazmy i najzupełniej przypadkowego położenia tych wszystkich ciał w komórce, wniosek powyższy raczej komplikowałby sprawę, niż ją upraszczał. W wyniku, teoria statocystów pozostaje nieuzasadniona.

Na korzyść teorii mechanicznej natomiast można przytoczyć wiele argumentów. Wszystkie opisane poprzednio próby zgodnie przemawiają za przewagą tylnej połowy ciała. Karmienie ciężką zawiesiną chromianu baru, połączone z silnym wirowaniem, wyolbrzymia subtelne różnice, istniejące w wymoczkach normalnym, pozwala obserwować je poniekąd w znacznym powiększeniu. Dlatego właśnie fakty są tak jaskrawe. Jednak i bez wszelkich zabiegów eksperymentalnych można w pewnych warunkach obserwować opadanie tylnej połowy ciała *Paramaecium*. Obserwując wymoczki w próbówce, w środowisku kultury, przy powiększeniu 30 — 50-krotnym, można przy zastosowaniu ciemnego tła tak dobrać oświetlenie boczne, iż ruch rzęsek będzie wyraźnie widoczny w postaci niezwykle subtelnej iryzacji. Zdarza się niekiedy, iż wymoczek na przeciąg 1 — 2 sekund zawiesza ruch swoich rzęsek. O ile w chwili tej zajmował położenie poziome, można widzieć, że jego tylny koniec zaczyna opadać. Ustaje to natychmiast, gdy rzęski wznowią swą działalność.

W doświadczeniach powyższych wymoczek okazał się materiałem nader plastycznym. Można dowolnie pogrubić jego przednią połowę, spowodować zwężenie tylnego końca, spowodować kontrakcję podłużną różnego stopnia, można wpędzić wodniczki do przedniego końca, lub do tylnego, lub też spowodować ich rozproszenie. Równoległe z temi zmianami zmienia się i znak geotropizmu. U wymoczków normalnych, zwłaszcza w środowisku kultury, gdzie ruchy są powolne, geotropizm jest bardzo słaby, bowiem przewaga tylnego końca jest wogóle minimalna. Sztuczne obciążenie tylnej połowy pociąga za sobą wzmoczoną

reakcję ujemną, obciążenie przedniego zmienia ją w dodatnią. Geotropizm podąża równolegle za zmianami położenia środka ciężkości wymocзка. Wszystkie te fakty potwierdzają teorię mechaniczną.

Sprawę należy jednak ująć ściślej. Teoria mechaniczna twierdzi, iż orientacja *Paramecium* względem pionu jest całkowicie bierna i grawitacja nie działa jako bodziec. Pogląd ten można uznać za słuszny w stosunku do osobników, których jeden lub drugi koniec został obciążony niepomiarowo. W tych warunkach wymoczek nie ma możliwości oprzeć się przeważaniu jednego z końców ciała i sztucznie mu narzuconej kierunkowości ruchu. Ale zupełnie inaczej przedstawia się sprawa, gdy idzie o osobniki normalne. Tu przewaga tylnego końca stanowi tylko subtelny środek rozpoznawczy, daje wymoczkowi możliwość odróżnić górę od dołu. Ale *Paramecium* może z łatwością oprzeć się tej przewadze, może obrać każdy dowolny kierunek ruchu. Jak wynika z obserwacji KOEHLERA, pojedynczy wymoczek w rurce z wodą pływa bezustanku, skierowując się to w górę, to w dół, to płynąc poziomo lub ukośnie. Przewaga tylnego końca ciała jest jego stałą właściwością, reakcja zaś jest zmienna w najwyższym stopniu. Teoria mechaniczna wskazuje tylko na jeden z wielu środków orientacji przestrzennej *Paramecium*, ale w swej pierwotnej postaci, jako teoria wyłącznie biernego ustawiania się wymocзка pionowo, na podobieństwo areometru, jest błędna. Istnieje cały szereg środków orientacji, o wiele bardziej skutecznych. Ich opis będzie stanowił treść pracy następnej.

Streszczenie.

1°. Plastylinowe modele *Paramecium*, wykonane na zasadzie fotografii żywych wymoczków, w cieczy lepkiej opadają tylnym końcem ku dołowi.

2°. Wirowanie wymoczków w rurkach zwężających się w celu ustalenia przewagi jednego z końców ciała jest metodą niedokładną, ze względu na zderzenia wymoczków z ukośnymi ściankami rurki.

3°. Kryształy fosforanu wapnia, dość równomiernie rozrzucone w endoplazmie, po silnym wirowaniu skupiają się w tylnym końcu ciała.

4°. Wymoczki, karmione zawiesiną $BaCrO_4$ i wirowane, mają wodniczki pokarmowe odrzucone ku tylnemu końcowi. Osobniki takie wykazują wzmożony geotropizm ujemny, jakkolwiek część zawsze pozostaje na dole. Utrwalanie próbek z górnej i dolnej części rurki wykazało, iż osobniki ujemnie geotropiczne mają wodniczki barowe w tylnym końcu, dodatnio geotropiczne w przednim lub rozproszone.

5°. Chłodzenie do -1° powoduje znaczne zgrubienie przedniego końca. Wirowanie wymoczków karmionych $BaCrO_4$ i przeschłodzonych odrzuca wodniczki naprzód i pociąga za sobą geotropizm dodatni.

6°. W roztworach NaOH koniec tylny ulega zwężeniu, co wpływa na odrzucenie wodniczków barowych ku przodowi.

7°. Wirowanie wymoczków karmionych tłuszczem odrzuca wodniczki tłuszczowe naprzód i wzmacnia ujemny geotropizm.

8°. W alkoholu propylowym 2% zachodzi kontrakcja podłużna. Po wirowaniu większość osobników ma wodniczki barowe wzdłuż boku ciała.

9°. Opisane przez KOEHLERA zjawiska centrotaksji zachodzą nieco inaczej, niż podaje ten autor. We wszystkich próbach wystąpił tylko geotropizm.

10°. Teoria statocystów napotyka poważne trudności i nie może być uważana za uzasadnioną.

11°. Teoria mechaniczna zostaje potwierdzona, jednak tylko w tem znaczeniu, że przewaga tylnego końca ciała stanowi jeden z wielu środków orientacji *Paramecium* w przestrzeni.

Piśmiennictwo.

- Aderhold R. 1888. Beiträge zur Kenntnis richtender Kräfte bei der Bewegung niederer Organismen. Jena. Zeitschr. 22 (310). Bills E. E. 1922. Inhibition of locomotion in *Paramecium* and observations on certain structures and internal activities. Biol. Bull. 42 (7). Bozler E. 1926. Reizphysiologische Untersuchungen an *Paramecium*. Zool. Anz. Suppl. 2. (124). Davenport C. B. 1897. Experimental Morphology. Pt. 1. N. Y. Macmillan. Dembowski J. 1921. Dalsze studja nad wyborem pokarmu u *Paramecium caudatum*. Trav. Inst. Nencki. 1 (1). Dembowski J. 1922. Obserwacje nad ruchem *Paramecium caudatum* w kroplach różnego kształtu geometrycznego. Ibid (1). Fetter D. 1926. Determination of the protoplasmic viscosity of *Paramecium* by the centrifuge method. Journ. exper. Zool. 44 (279). Gelei v. I. 1926. Zilienstruktur und Zilienbewegung. Zool. Anz. Suppl. 2 (202).

Harper E. H. 1911. The geotropism of *Paramoecium*. Journ. of Morphol. **22** (933). Harper E. H. 1912. Magnetic control of the movements of *Paramoecia* which have ingested iron. Science N. S. **35** (939). Harper E. H. 1912. Magnetic control of geotropism in *paramoecium*. Journ. anim. Behav. **2** (181). Herwerden v. M. A. 1926. Umkehrbare Gelbildung und Fixation. Nederl. tijdschr. geneesk. **70** (245). Jennings H. S. 1904. The behavior of *Paramoecium*. Journ. comp. Neurol. Psychol. **14** (441). Jennings H. S. 1914. Das Verhalten der niederen Organismen. Teubner. Leipzig. Jensen P. 1893a. Über den Geotropismus niederer Organismen. Pflüg. Arch. ges. Physiol. **53** (428). Jensen P. 1893b. Die absolute Kraft einer Flimmerzelle. Ibid. **54** (337). Kanda Sakyō. 1914. On the geotropism of *Paramoecium* and *Spirostomum*. Biol. Bull. **26** (1). Kanda Sakyō. 1918. Further studies on the geotropism of *Paramoecium caudatum*. Ibid. **34** (108). Koehler O. 1922. Über die Geotaxis von *Paramoecium*. Arch. f. Protistenkunde **45** (1). Kreidl A. 1893. Weitere Beiträge zur Physiologie des Ohrlabyrinthes. 11 Mitt. Sitzungsber. Akad. Wiss. Wien **102**, Abt. 3 (149). Loeb J. 1897. Zur Theorie der physiologischen Licht- und Schwerkraftwirkungen. Pflüg. Arch. ges. Physiol. **66** (439). Lyon E. P. 1905a. On Jensen's theory of geotropism in *Paramoecium*. Proceed. Americ. Physiol. Soc. Americ. Journ. Physiol. **13** (XV). Lyon E. P. 1905b. On the theory of geotropism in *Paramoecium*. Ibid. **14** (421). Lyon E. P. 1918. Note on the geotropism of *Paramoecium*. Biol. Bull. **34** (120). Massart J. 1891. Recherches sur les organismes inférieurs. La sensibilité à la gravitation. Bull. Acad. Roy. Sc. Belg. **22** (158). Mc Clendon J. F. 1909. Protozoan Studies. Journ. Exper. Zool. **6** (265). Moore A. 1903. Some facts concerning the geotropic gathering of *Paramoecium*. Americ. Journ. Physiol. **9** (238). Platt J. B. 1899. On the specific gravity of *Spirostomum*, *Paramoecium*, and the Tadpole in relation to the problem of geotaxis. Americ. Natur. **33** (31). Prentiss C. W. 1901. The otocyst of Decapod Crustacea: its structure, development and function. Bull. Mus. Comp. Zool. **36** (161). Schaefer G. 1922. Studien über den Geotropismus von *Paramoecium aurelia*. Pflüg. Arch. ges. Physiol. **195** (227). Schwarz F. 1884. Der Einfluss der Schwerkraft auf die Bewegungsrichtung von *Chlamydomonas* und *Euglena*. Sitzungsber. Deutsch. Bot. Ges. **2** (51). Sosnowski J. 1899. Untersuchungen über die Veränderungen des Geotropismus bei *Paramoecium aurelia*. Bull. Intern. Acad. Sc. Cracovie (130). Verworn M. 1889. Psychophysiologische Protistenstudien. Jena (Fischer).

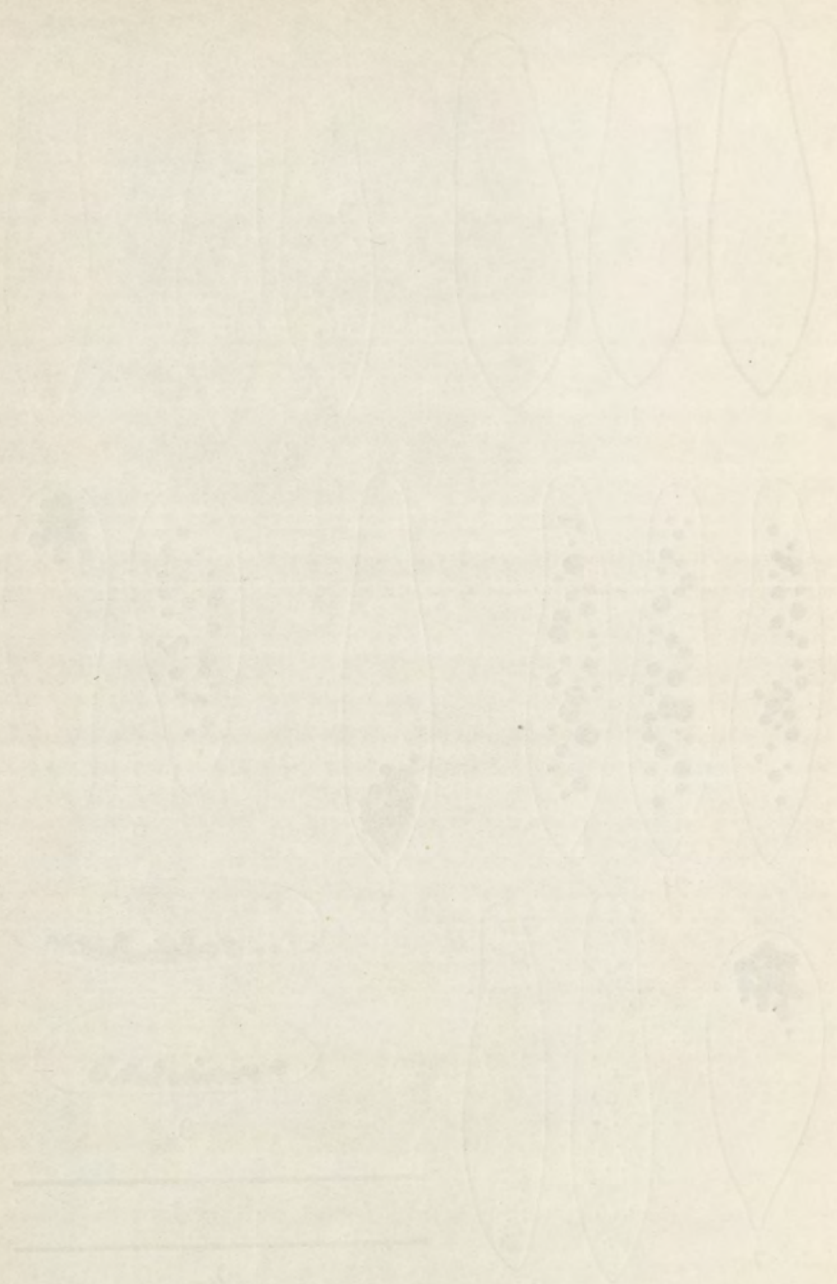
Objaśnienie rysunków.

- Rys. 1. Normalny kształt *Paramecium caudatum*.
 Rys. 2. Położenie kryształów fosforanu wapnia.
 Rys. 3. Kryształy fosforanu wapnia po wirowaniu.
 Rys. 4. Wymoczki karmione BaCrO_4 .
 Rys. 5. Wodniczki barowe, odrzucone przez wirowanie.
 Rys. 6. Wymoczki przechłodzone, karmione BaCrO_4 . Przed i po wirowaniu.
 Rys. 7. Wynik wirowania w roztworze NaOH .
 Rys. 8. Wymoczki karmione tłuszczem. Przed i po wirowaniu.
 Rys. 9. Wynik wirowania w roztworze alkoholu propylowego.
 Rys. 10. Droga wymoczka wirowanego, w rurce poziomej.

Erklärung der Abbildungen.

- Fig. 1. Die normale *Paramecium*form.
 Fig. 2. Die Lage der Phosphatkrystalle.
 Fig. 3. Dieselben nach dem Zentrifugieren.
 Fig. 4. Die Lage der Nahrungsvakuolen mit BaCrO_4 .
 Fig. 5. Dieselben nach dem Zentrifugieren.
 Fig. 6. Mit BaCrO_4 gefütterte, gekühlte *Paramecien*, vor und nach dem Zentrifugieren.
 Fig. 7. Die Lage der BaCrO_4 — Vakuolen nach dem Zentrifugieren in NaOH .
 Fig. 8. Fettvakuolen vor und nach dem Zentrifugieren.
 Fig. 9. Zentrifugieren im Propylalkohol.
 Fig. 10. Die Bahn eines *Paramecium* im Horizontalrohr, nach dem Zentrifugieren.





[„Prace Instytutu im. Nenckiego“ № 69*]

St. Kuczkowski.

**Badania nad zjawiskami wydzielniczo-chłonnymi w jelicie cien-
kiem. I. Wydzielanie elektrolitów.**

*Untersuchungen über die Absonderungs- und Aufsaugungs-
erscheinungen im Dünndarm. I. Absonderung der Elektrolyte*

Manuskrypt nadesłany w dniu 25. VI. 1928 r.

Die Untersuchungen über die Resorptionserscheinungen wurden grösstenteils am Dünndarm der Säugetiere ausgeführt; bei diesen aber berücksichtigte man im ungenügenden Grade oder auch gar nicht die Tatsache, dass der Dünndarm ausser den Eigenschaften, die jede resorptive Oberfläche charakterisieren, auch die der Sekretionsfähigkeit besitzt. Man berechnete das Endresultat des Versuches aus der Differenz zwischen der eingeführten und zurückerhaltenen Menge. Einige Forscher versuchten zwar die vom Darm ausgeschiedenen Mengen zu bestimmen, ihre Methode aber kann leider kaum als zweifellos betrachtet werden.

Meine Aufgabe ging dahin, den Ausscheidungsprozess der Elektrolyte nach dem Darmlumen, welcher bei der Einführung der von verschiedenen Substanzen bereiteten Lösungen in die Darmschlinge statt hat, quantitativ zu bestimmen. Bei den Analysen der zurückerhaltenen Flüssigkeit versuchte man Einsicht in die Frage zu bekommen, ob der Ausscheidungsprozess lediglich eine Folge der Drüsentätigkeit des Dünndarms sei, oder mit der letzteren auch die Diffusion vom Blute mitwirke. Man konnte voraussehen, dass es nötig sein wird, die Art der quantitativen Bestimmung des Sekretionsproduktes zu bearbeiten, weil das von den Forschern angewandte Verfahren, wie es oben schon erwähnt wurde, mir nicht genügend überzeugend schien.

*) Z Zakładu Fizjologii Instytutu im. Nenckiego.

Ich habe meine Untersuchungen hauptsächlich an den mit Temporärfistel belasteten Hunden angestellt. Nach dem Operationsanriff an dem narkotisierten Hunde wurde die Darmschlinge isoliert, mit Wasser durchgespült und dann führte man in dieselbe eine streng bestimmte Menge Wassers oder sonst einer betreffenden Lösung (NaCl, Glukose, Säuren, Laugen) mit der Pipette hinein.

Nach einer bestimmten Zeit wurde die zurückerhaltene Flüssigkeit vollständig beseitigt und ihr Volumen gemessen. Gleich nachher spülte man die Darmschlinge durch und nach einigen Minuten führte man von neuem eine Lösung in dieselbe hinein; dabei verwendete man meistens ein und dieselbe Schlinge und benutzte sie höchstens dreimal. Nach Beendigung des Versuches wurde das Tier getötet. In der zurückerhaltenen Flüssigkeit bestimmte man die Cl-Konzentration, den Kohlensäuregehalt und die Na-, K-, Ca-, Mg-, P-Konzentrationen nach den Methoden, die an der Seite 63 angegeben sind.

Der Darmsaft wurde von den mit der Thiry-Vellaschen Dauerfistel belasteten Hunden gewonnen. Der Kontrolle halber analysierte man den Darmsaft, der auf die von CLEMENTI beschriebene Weise angesammelt worden war. Nachdem die Zusammensetzung des Darmsaftes an mineralischen Bestandteilen festgestellt worden war, stellte man die künstliche Lösung von annäherndem (mineralischen) Gehalt her. Dieselbe Lösung führte man in die Darmschlinge ein, um uns von der Intensität, mit der einzelne Bestandteile resorbiert werden, Rechenschaft geben zu können. Die Zusammensetzung dieser Lösungen ist auf der Seite 64 angegeben.

Die ausgeführten Versuche haben gezeigt, dass man bei der Einführung des Wassers oder der Lösungen des Neutralsalzes, der Glukose, einer Säure und einer Lauge in die Schlinge die Anwesenheit von Na, K, Ca, Mg, Cl und P in der zurückerhaltenen Flüssigkeit feststellen kann. Aus den Analysen dieser Flüssigkeit kann man ersehen, dass das Verhältnis zwischen den einzelnen Ionen in derselben keiner wesentlichen Änderung unterliege, gleichviel ob in den Darm Wasser, Säure oder Lauge eingeführt wurde. Es folgt daraus, dass die Proportion, in der die einzelnen mineralischen Bestandteile in dem Darmlumen erscheinen, weder von der Wasserstoffionenkonzentration noch von dem chemischen Charakter der eingeführten Lösung abhängig

sei. Dasselbe kann man auch bezüglich der absoluten Mengen der in dem Darmlumen abgesonderten Ionen feststellen (S. 65, 66, 68).

Da in der existierenden Literatur die den Gehalt an mineralischen Bestandteilen in dem Darmsafte betreffenden Angaben fehlen, wurden entsprechende Analysen ausgeführt. Aus denselben ergibt sich, dass 100 ccm. des Darmsaftes enthalten: Na—325 mg K—24 mg Ca—11 mg Mg—1.5 mg Cl—267 mg und P—3 mg. Der Vergleich des Verhältnisses der einzelnen Bestandteile in der zurückerhaltenen Flüssigkeit mit dem in dem Darmsafte statthabenden berechtigt uns zu dem Schlusse, dass die in dem Darmlumen auftretenden Mineralbestandteile als Produkt der Drüsenthätigkeit des Dünndarms zu betrachten seien. Aus den Versuchen, in welchen die mineralische Mischung von der dem Darmsafte ähnlichen Zusammensetzung eingeführt worden war, folgt, dass Na, K, P in demselben Verhältnisse aufgesaugt werden, in welchem man sie eingeführt hatte; dagegen werden Ca und Mg langsamer resorbiert, als die obenerwähnten Ionen. Daraus folgt es ferner, dass die in die Schlinge eingeführte Menge des Ca und Mg nur etwas grösser sein kann als die entleerte und in manchen Fällen sogar kleiner. Bei Anwesenheit von Eiweiss in der zur Einführung bereiteten Mischung stellt man immer den Zuwachs der eingeführten Menge des Stickstoffs fest (S. 72, 73). Die speziell angestellten Versuche zwecks Feststellung des Verhaltens von Natriumbicarbonat im Dünndarm haben gezeigt, dass NaHCO_3 intensiv resorbiert werde (S. 75). Angesichts dieser Tatsache fühlen wir uns berechtigt, die Brauchbarkeit des von einigen Forschern bei der Berechnung der Intensität der Dünndarmsekretion benutzten Verfahrens zu bezweifeln.

I. Wstęp.

Badania nad zjawiskami fizjologicznego chłonięcia były prowadzone przeważnie na jelicie cienkim. Wiadomo jednak, że ściana jelita jest powierzchnią nie tylko chłonną, jednocześnie bowiem ze zjawiskiem resorpcji obserwujemy w tym odcinku przewodu pokarmowego wydzielanie pewnych składników częściowo mineralnych, częściowo organicznych. Okoliczność ta wysuwa potrzebę bliższego zbadania stosunku, w jakim owe dwa współczesne i w odwrotnym kierunku biegnące zjawiska występują w eksperymencie.

Jeśli ilość jakiegoś ciała, wprowadzonego do jelita, oznaczymy przez $q_{pod.}$, przez $q_{pozost.}$ — ilość pozostałą, przez $q_{wydz.}$ ilość wydzieloną, wówczas $q_{res.}$ — ilość wchłoniętą obliczymy z równania następującego

$$q_{res.} = q_{pod.} + q_{wydz.} - q_{pozost.}$$

Z powyższego wynika, że dla ustalenia ilości zresorbowanej niezbędna jest znajomość nie tylko ilości podanej i pozostałej, lecz również ilości ciał, które zostały wydzielone przez organizm do światła jelita. Zastrzeżenie to ma oczywiście znaczenie tylko w tym przypadku, jeżeli badamy resorpcję substancyj, będących normalnymi składnikami cieczy wydzielanej przez jelito.

Większość badaczy w poszukiwaniach swych nad chłonięciem zadawała się ustaleniem składu roztworu podawanego do pętli oraz pozostałego. Jednym słowem z różnicy stanu początkowego i końcowego sądzono o intensywności resorpcji, czyli jeśli byśmy użyli tu wyżej zastosowanego znakowania, okazałoby się wówczas, iż ilość wchłoniętą obliczano z równania

$$q_{res.} = q_{pod.} - q_{pozost.}$$

Tak przeprowadzał obliczenia HEIDENHAIN ('94) w badaniach swych nad chłonięciem NaCl: jeszcze dalej poszli HÖBER ('98, '99, '01) oraz WALLACE i CUSHNY ('99), którzy zadawali się oznaczaniem objętości roztworu podanego i pozostałego, i na podstawie różnicy objętości sądzili o szybkości resorbowania ciała, podanego w roztworze. Próbę częściowego przynajmniej oddzielenia zjawisk chłonięcia od procesów wydzielania mamy u COHNHEIMA ('97, '98), który w doświadczeniach swoich wprowadzał do jelita roztwory glukozy.

Znacznie szerzej starali się uwzględnić ten moment GUMILEWSKI ('86), a potem RÖHMANN ('87). Badając intensywność chłonięcia, brali jednocześnie pod uwagę ilość wydzielonego do światła jelita soku, wychodząc z założenia, iż wydzielana przez ścianę jelita w czasie resorbowania podanego roztworu zleka alkaliczna, zawierająca pewną ilość białka ciecz jest pochodzenia gruczołowego. Czy tylko sekrecja gruczołów jelita jest przyczyną wydzielania do jego światła pewnych składników, to znaczy—czy obok sekrecji gruczołowej nie odgrywa tu pewnej roli dyfuzja z krwioobiegu do światła jelita—trudno odpowiedzieć, opierając się na badaniach GUMILEWSKINGO i RÖHMANN.

W obliczeniach ilości wydzielanego soku autorowie ci brali pod uwagę zawartą w cieczy pozostałej ilość Na_2CO_3 (?), oznaczaną drogą miareczkowania kwasem siarkowym. Metoda ta jest o tyle tylko słuszna, o ile prawdziwe jest założenie, iż Na_2CO_3 , będący składnikiem soku, a powodujący jego alkalizację, wydzielany jest nieodwracalnie, t. zn. nie ulega resorpcji wtórnej.

W nowszych czasach zjawisko sekrecji jelitowej uwzględnił w swych badaniach nad resorbacją RABINOWITSCH ('27). Autor ten nawiązuje do badań GUMILEWSKIEGO i wyniki uzyskane traktuje jako wypadkową zjawisk resorpcji i sekrecji. Sposób obliczania ilości wydzielonego soku przejął autor ten również od GUMILEWSKIEGO, z tą jedynie zmianą, iż za składnik soku, warunkujący jego alkalizację, uważa nie sodę, lecz dwuwęglan sodowy. A zatem wątpliwości poprzednio wysunięte całkowicie można powtórzyć w stosunku do pracy RABINOWITSCHA. Gdyby się okazało, iż są one słuszne, krytycznie należałoby się ustosunkować do bardzo ciekawych zresztą wyników, osiągniętych przez tego autora.

Pozatem i z innych względów wydzielanie do światła jelita oddawna zajmowało badaczy, zwłaszcza w związku z teorjami o działaniu środków przeczyszczających. Wpływ ich interpretowano różnie: widziano w nim występowanie sił osmotycznych (LIEBIG '39, POISEUILLE '20, '44), albo też działanie tych środków tłumaczono procesami zapalnymi (VULPIAN '73), to znowu—sekrecją soku jelitowego. Ten ostatni punkt widzenia reprezentowali HAY ('84) i MAC CALLUM ('03—'04, '04). Stanowisko HAYA i MAC CALLUMA zostało poważnie poparte w ostatnim dziesiętlatku lat przez prace COBETA ('21), CLEMENTIEGO ('24) oraz KNAFFL-LENZA i NOGAKI ('25).

Według COBETA po podaniu do jelita hipertonicznego roztworu $\text{MgSO}_4 + 0.6\% \text{NaCl}$ następuje bardzo znaczne zwiększenie ilości cieczy, powodowane, jak ten autor sądzi, wydzielaniem do pętli soku jelitowego. Autor odrzuca możliwość występowania w tym przypadku działania sił osmotycznych, tem bardziej, iż w niektórych doświadczeniach nie tylko zwiększała się objętość podanej do pętli cieczy, lecz wykazywała również przyrost ilość wprowadzonego w roztworze NaCl . Sposób obliczania ilości wydzielonego soku w doświadczeniach COBETA następuje z wątpliwością: autor znajduje ją poprostu z różnicy objętości znalezionej w końcu doświadczenia i wprowadzonej.

Z prac HAYA, MAC CALLUMA i inn. wyszły badania CLEMENTIEGO, który, stosując nowe metody, poddał analizie wyniki dawniejszych autorów

Badanie właściwości cieczy, wydzielanej przez wyizolowany odcinek jelita, uwzględniające zawartość Cl, białka, wreszcie obecność charakterystycznych fermentów, doprowadziło autora do wniosku, iż cieczą, wydzielaną przez jelito pod wpływem wprowadzenia do jego światła mocno hipertonicznego roztworu, jest sok jelitowy.

Że mocno hipertoniczny roztwór jest dla jelita bodźcem do wydzielania dużych ilości soku jelitowego, wynika również z pracy KNAFFL-LENZA i NOGAKI. Po wprowadzeniu do pętli 2%-go roztworu NaCl nastąpił przyrost objętości cieczy w jelicie, wynoszący 38%, przy jednoczesnym zmniejszeniu stężenia, lecz zwiększeniu absolutnej ilości NaCl w pętli. Podobne wyniki otrzymywano po wprowadzeniu kalomelu oraz oleinjanu sodowego.

Sprawa wydzielania elektrolitów do światła jelita była przedmiotem pracy MALKIEWICZA ('24). Po podaniu do pętli chlorku jednego z 3-ch katjonów (Na, K, Ca), stwierdza autor w cieczy pozostałej obecność dwu innych katjonów i uważa za rzecz prawdopodobną, iż zjawisko to jest wyrazem „regulacyjnych” czynności jelita.

W pracy niniejszej postawiłem sobie za zadanie ilościowe zbadanie procesu wydzielania elektrolitów do światła jelita, występującego po wprowadzeniu do pętli roztworów różnych substancyj. Analizy takie choćby z tego względu mogą posiadać znaczenie, iż w większości prac nad chłoniemieniem zupełnie nie brano pod uwagę strony ilościowej i jakościowej tego zjawiska. Analizy cieczy pozostałej w pętli powinny prócz tego wskazać, czy wydzielanie jest tu wynikiem wyłącznie sekrecji gruczołowej, czy też współdziała z nią i dyfuzja z krwiobiegu. Zgóry można było przewidzieć, iż stanie się aktualnem opracowanie odpowiedniego sposobu oznaczania ilości wydzielonego soku. Sposób bowiem zastosowany przez GUMILEWSKIEGO i RÖHMANNĄ, a przyjęty również i przez RABINOWITSCHĄ, nie wydawał mi się dostatecznie przekonujący. Należało zatem wątpliwości te wyjaśnić w odpowiednich doświadczeniach.

II. Metodyka.

Badania niniejsze zostały wykonane na psach w doświadczeniach przeważnie ostrych. Metodyka tych doświadczeń była niejednokrotnie opisywana (HEIDENHAIN '94, COHNHEIM '98 i inn.), co zwalnia od omawiania szczegółów. Wybrałem doświadczenie ostre ze względu na to, iż w stałej przetoce THIRY-VELLA tkanka pętli ulega pewnym zmianom (por. HÖBER '07), co niechybnie musi wpływać na charakter i intensywność właściwych jelitu procesów resorbcyjno-sekrecyjnych. Dołączał się jeszcze i względ na

to, iż, eksperymentując na większej ilości osobników, łatwiej jest wyeliminować wpływ czynników indywidualnych.

Po wykonaniu zabiegu operacyjnego na psie, pozostającym pod narkozą eterowo-chloroformową lub eterową, któremu uprzednio wprowadzono podskórnie morfinę, wyizolowaną pętlę jelita cienkiego przepłókiwano wodą, poczem po upływie 5 minut wprowadzano pipetą ściśle oznaczoną ilość wody lub odpowiedniego roztworu (NaCl, glukoza, kwasy, ługi). Po pewnym czasie usuwano pozostałość i mierzono jej ilość w cm^3 . Następnie jelito przepłókiwano wodą i, wyczekawszy kilka minut, wprowadzano ponownie roztwór. Do tej samej pętli wprowadzano płyny zazwyczaj trzykrotnie. W rzadkich tylko przypadkach wyizolowywano u tegoż samego psa drugą pętlę i postępowano dalej w sposób poprzednio podany. Po skończonem doświadczeniu, trwającym 2—4 godzin, psa zabijano.

W roztworach pozostałych oznaczano chlor metodą WHITEHORNA ('21), w niektórych przypadkach CO_2 metodą i w aparacie VAN SLYKE'A, poczem ściśle odmierzoną objętość odparowywano do sucha. W pierwszych doświadczeniach suchą pozostałość zadawano kwasem octowym, następnie solnym, przesączano, poczem odparowywano kilkakrotnie, dodając po 1—2 cm^3 wody. Później stosowano inną metodę, zapewniającą dokładne spalanie składników organicznych. W tym przypadku suchą pozostałość zadawano 15—20 cm^3 HNO_3 stęż. i spalano na mokro. Postępowanie to opisane jest w pracy BIAŁASZEWICZA ('27). W jednym i drugim przypadku zlekką kwaśną pozostałość, kilkakrotnie odparowaną, przelewano do kolbki miarowej na 20 cm^3 , dopełniając wodą do kreski. W roztworze tym oznaczano Na, K, Ca, Mg i P następującymi metodami mikrochemicznymi:

Na — metoda KRAMERA i TISDALLA ('20, '21), później BÁLINTA ('24).

K — metoda KRAMERA i TISDALLA ('21).

Ca — metoda KRAMERA i TISDALLA ('21), później de WAARDA ('19).

Mg — metoda kombinowana, opisana w pracy BIAŁASZEWICZA ('27).

P — metoda kombinowana — BELL i DOISY ('20), BRIGGS ('22).

Z ilości znalezionych jonów w tym roztworze obliczano całkowitą ich ilość w cieczy pozostałej w pętli po skończonem doświadczeniu, pozatem uwzględniano niekiedy stężenie (zawartość w 1 cm^3) oraz przeliczenia na mg %.

Sok jelitowy, analizowany na składniki mineralne, uzyskiwano od psów ze stałą przetoką THIRY-VELLA. Ogółem miałem do dyspozycji trzy psy. Analizy wykonano na soku, pochodzącym od dwu z nich. Założenie przetoki we wszystkich trzech przypadkach zostało uszczelnione w pozostającym pod kierownictwem prof. J. Modrakowskiego Zakładzie Farmakologii Uniw. Warsz. przez p.p. dr-ów E. Leykę, H. Sikorskiego oraz S. Kroszczyńskiego, którym na tem miejscu gorące składam podziękowanie.

W czasie zbierania soku psa umieszczano w stojaku, a pod otwory przetoki podstawiano kolbki z włożonemi do nich lejkami. Uzyskiwanie soku jest dość łatwe niedługo po operacji, z biegiem czasu bowiem otwory przetoki stopniowo zwięzają się, wskutek czego utrudnione zostaje ściekanie

soku. Poza to jest możliwe, że zmiany tkanki pętli izolowanej jelita również wywierają wpływ.

Dla porównania wykonano również analizę soku jelitowego, zbieranego w sposób, podany przez CLEMENTIEGO (25). Polega on na tem, że do pętli izolowanej psa z przetoką stałą wprowadzamy hipertoniczny roztwór elektrolitu lub mocznika. Po paru minutach usuwamy wprowadzony roztwór możliwie ilościowo, poczem zbieramy sok, wydzielający się dość intensywnie. W mojem doświadczeniu użyłem mocznika celem uniknięcia wprowadzania jonów, występujących jako normalne składniki soku.

Po ustaleniu składu mineralnego soku jelitowego próbowałem przygotować roztwór sztuczny o podobnym składzie. Tu nasunęła się jednak trudność stąd wynikająca, iż jakkolwiek CaCl_2 dodawałem naostatku bardzo małemi porcjami, to jednakże po upływie pewnego czasu tworzył się osad, a wskutek tego ilość wapnia w roztworze zmniejszała się bardzo znacznie. Wobec tego, wychodząc z założenia, iż składnikiem, utrzymującym wapń w cieczy mimo obecności jonów HCO_3' , jest białko, przygotowałem roztwór, do którego przed wprowadzeniem CaCl_2 dodawałem białka jaja kurzego. Istotnie analizy wykazały, iż z obu roztworów, a więc nie zawierającego białka i białkowego, które uprzednio były odwirowane, roztwór białkowy zawierał więcej wapnia.

Roztwory te przygotowałem przez rozpuszczenie w litrze wody następujących ilości poszczególnych soli:

	I (roztwór bez białka)	II (roztwór białkowy)
NaCl	4.5 g	5.3 g
NaHCO_3	3.0 g	3.65 g
KCl	0.48 g	0.6 g
CaCl_2	0.222 g	0.222 g
MgCl_2	0.144 g	0.235 g

Ponadto do roztworu II dodawano białka około 0.15% oraz fosforanów sodowych (pierwszo- i drugorzędowego) w takim stosunku, jaki odpowiada $\text{pH} = 8.2$. Ilość tych fosforanów była tak dobrana, iż zawartość P w roztworze wynosiła 7% mg.

III. Część doświadczalna.

1. Składniki mineralne, wydzielane do jelita podczas chłonicenia podanego roztworu.

Celem zorientowania się w przybliżeniu co do ilości i jakości elektrolitów, wydzielanych do światła jelita po wprowadzeniu do jego pętli różnych cieczy, użyto wodę, roztwory 6.25% glukozy, 0.9% NaCl, 0.01n HCl oraz 0.01n NaOH. Sądziliśmy, iż jeśli proces wydzielania do światła jelita składników mineralnych jest zależny od fizyko-chemicznych właściwości roztworu wprowadzonego, to analizy reszt usuwanych z pętli winny to wykazać.

W tabeli I podano wyniki analiz cieczy pozostałej po wprowadzeniu do pętli jelita wody, glukozy, NaCl, kwasu i ługu. Liczby arabskie oznaczają numery protokółów, z których każdy obejmuje serję doświadczeń (przeważnie trzy), wykonanych na tym samym psie, zabijanym po ostatniem doświadczeniu. Przedstawienie tej tabeli ma na celu ogólne zilustrowanie wpływu pozostawiania w pętli różnych roztworów na proces wydzielenia do jej światła składników mineralnych. Dane, dotyczące wprowadzania wody i glukozy, są wyrazem jedynie wydzielenia; w cieczy podanej nie było bowiem żadnego z oznaczanych w pozostałości składników mineralnych. Inaczej jest w przypadku wprowadzania do pętli roztworów NaCl, NaOH i HCl; tu bowiem podawano do pętli jony, które następnie obok innych były oznaczane w reszcie, usuwanej po skończonem doświadczeniu. Zwracam na to uwagę przez umieszczenie odpowiednich liczb w nawiasach.

Tabela I.

Zawartość składników mineralnych w niezresorbowanej pozostałości cieczy, wprowadzonej do pętli jelita.

Gehalt an mineralischen Bestandteilen in der zurückerhaltenen Flüssigkeit.

№ protokołu № d. Protokolls	Data Datum	Ciecz wprowadzona Eingeführte Flüssigkeit	Czas pozosta- wania w pętli Dauer des Ver- suches	Objętość cieczy Volumen		Zawartość całkowita składników mineralnych w cieczy pozostałej Total-Gehalt an mineralischen Bestandteilen in der zurücker- haltenen Flüssigkeit			
				wprowadz. d. eingef. Flüssigkeit	pozostałej d. zurückerh. Flüssigkeit	Na	K	Ca	Cl
2	7. XII. 25	Woda. Wasser	10	100	47	32.0	4.0	4.16	42.7
3	11. XII. 25	Gluk. Glucose 6,25%	20	75	62.5	10.6	2.56	2.25	15.5
2	7. XII. 25	NaCl 0.9%	20	100	62	(203.4)	5.77	2.45	(18 i.5)
5	8. I. 26	HCl 0.01 n	20	100	66	63.7	5.28	0.66	(92.4)
6	3. II. 26	NaOH 0.01 n	20	100	43.5	(50.5)	6.22	0.65	50.46

Jakkolwiek liczby uzyskane na pierwszy rzut oka są dość rozbieżne, to jednakże daje się ustalić pewną prawidłowość, przemawiająca za stałym składem mieszaniny mineralnej, wydzielanej przez jelito. Stosunek Na:K wyraża się w przybliżeniu jak 100:12, stosunek Na:Cl waha się w granicach od 100:150 do 100:100. Wapnia nie biorę tu pod uwagę wobec dużych różnic, spowodowanych, jak myślę, zmienną intensywnością powrotnego chłonięcia tego jonu.

Na podstawie tabeli I można wnioskować, iż w warunkach naszych doświadczeń poszczególne składniki nie wykazują dużych różnic w ustosunkowaniu. Poza to i ogólna ilość elektrolitów, wydzielana przez jelito po podaniu różnych cieczy (woda, obojętny elektrolit, obojętny nieelektrolit, kwas, ług), waha się w granicach dość wąskich. Najlepiej ilustrują to wyniki oznaczeń potasu. Pomijając niską wartość dla glukozy (K — 2.56 mg), pozostałe zawarte są pomiędzy 4.00 i 6.22 mg.

Tabela II.

Zawartość składników mineralnych w niezresorbowanej pozostałości cieczy, wprowadzonej do pętli jelita.

Gehalt an mineralischen Bestandteilen in der zurückerhaltenen Flüssigkeit.

№ protokółu № des Protokolls	Data Datum	Ciecz wprowadzona Eingeführte Flüssigkeit	Czas pozostawiania w pętli Dauer des Versuches	Objętość Volumen		Zawartość całkowita składników mineralnych w cieczy pozostałej					
				cieczy wprowadzonej d. eingef. Flüssigkeit	cieczy pozostałej d. zurückerh. Flüssigkeit	<i>Total-Gehalt an mineralischen Bestandteilen in der zurückerhaltenen Flüssigkeit</i>					
						Na	K	Ca	Mg	Cl	P
				min	cm ³	mg	mg	mg	mg	mg	mg
7	3.II.26	H ₂ SO ₄ 0.01 n	20	100	27	35.8	4.18	0.76	0.14	45.1	0.98
						133.0	15.5	2.8	0.52	167.0	3.6
15	22.V.26	CH ₃ COOH 0.02 n	30	100	81	51.0	8.42	2.43	0.41	73.1	2.35
						65.0	10.4	3.0	0.50	90.0	2.9
5	8.I.26	HCl 0.01 n	20	100	66	63.7	5.28	0.86	—	(92.4)	1.72
						96.5	8.0	1.3	—	(140.0)	2.6
10	12.III.26	HCl 0.02 n	30	100	73	73.0	6.42	1.39	0.24	(119.0)	1.89
						100.0	8.8	1.9	0.33	(163.0)	2.6
10	12.III.26	HCl 0.05 n	20	100	83	81.3	13.0	2.24	0.52	(166.8)	2.17
						98.0	15.6	2.7	0.63	(201.0)	2.6
7	3.II.26	NaOH 0.01 n	20	100	43.5	(50.5)	6.22	0.65	0.15	50.5	1.36
						(116.0)	14.2	1.5	0.35	116.0	3.1
8	12.I.26	KOH 0.01 n	20	100	86	2.5	—	1.38	0.52	41.3	4.99
						32.0	—	1.6	0.60	48.0	5.8
14	17.V.26	LiOH 0.02 n	30	97	59	52.2	7.73	1.36	0.59	72.6	2.65
						88.0	13.1	2.3	1.00	123.0	4.5
7	3.II.26	H ₂ O	10	100	71.5	42.9	5.72	—	0.46	50.0	—
						60.0	8.0	—	0.64	70.0	—
8	12.II.26	H ₂ O	15	100	50	31.5	5.77	—	0.50	36.0	1.75
						63.0	11.5	—	1.00	72.0	3.5

Po tych doświadczeniach, wykonanych dla ogólnego zorientowania się w porządku wielkości obecnych w reszcie, wyprowadzonej z pętli, ilości składników mineralnych, przeprowadzono

szereg innych doświadczeń, w których specjalnie badano wpływ stężenia jonów wodorowych na zjawiska wydzielania jelitowego. W tym celu wprowadzano do pętli roztwory kwasów (HCl, H₂SO₄, CH₃COOH) i ługów (NaOH, KOH, LiOH) o różnym stężeniu (0.001 — 0.05 n) oraz wodę.

Doświadczenia oznaczone temi samymi liczbami (№ protokółu) zostały przeprowadzone na tych samych osobnikach. Pomimo różnego czasu trwania poszczególnych doświadczeń zarówno ustosunkowanie składników mineralnych w cieczy pozostałej, jak i znalezione całkowite ilości elektrolitów wahają się w granicach dość wąskich. W niektórych tylko przypadkach obserwujemy znaczniejsze odchylenia, występujące sporadycznie. Najbardziej pod tym względem rzucającymi się w oczy są wyniki, otrzymane po wprowadzeniu do pętli 0.01 n KOH. Obok nieznacznego ubytku objętości podanej cieczy stwierdzamy małą naogół ilość wydzielonych jonów (Na, Cl). Nie dotyczy to jednak fosforu, ilość którego jest w tem doświadczeniu wyjątkowo wysoka.

W przypadkach podania HCl i NaOH przytoczone w tabeli wartości Na i Cl oznaczają całkowitą ilość tych jonów w pozostałej cieczy. Jeśli porównamy stężenie poszczególnych składników, obliczone w odniesieniu do 100 cm³ cieczy pozostałej, wówczas stwierdzamy jeszcze mniejsze różnice. A mianowicie z tabeli II (liczby drugiego wiersza — kursywa) wynika, że ilości te wahają się w następujących granicach (pomijamy tu wspomniane już wprowadzenie 0.01 n KOH):

Na	60.0 mg	133.0 mg
K	8.0	15.6
Ca	1.3	3.0
Mg	0.3	1.0
Cl	69.0	201.0
P	2.6	4.5

Celem uniknięcia trudności w interpretowaniu doświadczeń, w których wprowadzano do pętli jony oznaczane w pozostałości, w następnych serjach użyto roztwory LiOH, CH₃COOH oraz wodę. Wykonano trzy serje doświadczeń (protokoły Nr. 13, 14, 16). W każdej serji wprowadzano zawsze w tej samej kolejności początkowo LiOH 0.02 n, następnie wodę, wreszcie CH₃COOH 0.02 n. Roztwory te pozostawały w pętli po 30 minut. Wyniki omawianych tu trzech seryj doświadczeń są w ten sposób zesta-

wione w tabeli III, że podano w niej objętość wprowadzonej i pozostałej cieczy, a dalej—całkowite ilości poszczególnych jonów, znalezione w pozostałości danej cieczy z trzech seryj. Liczby tabeli III potwierdzają wyniki poprzednio uzyskane. Skala wahań jest nawet znacznie węższa, na co w dużej mierze wpłynęły jednakowe warunki, w jakich prowadzono doświadczenia. Największy ubytek objętości mamy w przypadku podania wody (36%), mniejszy po wprowadzeniu LiOH (30%), najmniejszy po—

Tabela III.

Zawartość sumaryczna składników mineralnych w niezresorbowanej pozostałości cieczy, wprowadzonych do pętli jelita w 3-ch oddzielnych doświadczeniach (protokoły №№ 13, 14, 16 z dn. 11.V, 17.V, 19.VI.26).

Gesamt-Gehalt an den in der zurückerhaltenen Flüssigkeit gefundenen mineralischen Bestandteilen (Drei Experimente Protok. №№: 13, 14, 16).

Wprowadzono <i>Eingeführt</i>	LiOH	285 cm ³	pozostało	197 cm ³	ubyło	30%
	H ₂ O	295 cm ³	zurückerhalten	139 cm ³	Abnahme	36%
	CH ₃ COOH	300 cm ³		218 cm ³		27%

Składniki <i>Bestandteile</i>	Całkowita zawartość <i>Gesamt-Gehalt</i>			Stężenie <i>Konzentration</i>			W przeliczeniu na 100 g Na <i>Auf 100 g Na berechnet</i>		
	LiOH	H ₂ O	CH ₃ COOH	LiOH	H ₂ O	CH ₃ COOH	LiOH	H ₂ O	CH ₃ COOH
	mg	mg	mg	mg%	mg%	mg%	g	g	g
Na	149.2	101.0	136.8	76.0	53.0	63.0	100	100	100
K	19.9	13.5	20.0	10.1	7.1	9.1	13	13	15
Ca	2.6	—	6.7	1.3	—	3.1	2	—	5
Mg	1.0	2.2	0.9	0.5	1.2	0.4	1	2	1
Cl	224.8	160.5	195.0	114.0	85.0	90.0	151	159	143
P	6.6	4.9	5.2	3.4	2.6	2.4	4	4	4

CH₃COOH (27%). Obliczono również stężenie poszczególnych jonów, podane w tabeli w % mg (w mg na 100 cm³ pozostałości). Stężenia zachowują się podobnie, jak ilości bezwzględne, co wynika stąd, iż objętości cieczy pozostałych są bardzo zbliżone (197 cm³, 189 cm³, 218 cm³). Pozatem podano przeliczenie ilości poszczególnych jonów na 100 g sodu. Większe wahania dotyczą wapnia i magnezu, dla innych jonów liczby są zgodne. Na 100 g sodu przypada średnio 14 g potasu, 150 g chloru oraz 4 g fosforu. Wapnia przypada 1.7 g (LiOH) i 4.9 g (CH₃COOH); magnezu 0.7 g (LiOH), 2.1 g (H₂O), 0.7 g (CH₃COOH). Z przytoczonych doświadczeń wynika, iż stosunek składników mineralnych w po-

zostałości cieczy wprowadzanej do pętli jelita jest prawie stały i niezależny od charakteru podanego roztworu.

Powstawało zatem przypuszczenie, iż składniki mineralne, wykrywane w pozostałości podanego do pętli roztworu, są produktem sekrecji gruczołów jelita. Do wykazania słuszności tego przypuszczenia niezbędne były dane, dotyczące składu mineralnego soku jelitowego.

2. Skład mineralny soku jelitowego.

Całkowitych analiz składu mineralnego soku, na których mógłbym się oprzeć w interpretowaniu wyników przedstawionych doświadczeń, nie znalazłem w literaturze. Dane dotychczasowe są fragmentaryczne, zresztą bardzo skąpe. Dane te dla przejrzystości zestawiam w tabeli IV.

Tabela IV.

Właściwości fizyko-chemiczne soku jelitowego psa na podstawie danych, zawartych w piśmiennictwie.

Physikalisch-chemische Eigenschaften des Darmsaftes des Hundes gemäss Literaturangaben.

Woda Wasser	Substancja sucha Trochensubstanz	Białko Eiweiss	NaCl	Na_2CO_3	[H]	Autor Forscher	Uwagi Bemerkungen
g %	g %	g %	g %	g %			
98.64	1.36	0.47	0.48	0.44	—	Gumilewski ('86)	} przetoka Thiry-Vella
98.32	1.68	0.64	0.50	0.54	—	Gumilewski ('86)	
98.55	1.45	0.136	0.507	0.423	—	Mendel ('96)	sok porażeniowy
—	—	—	—	0.11	—	Szepowalnikow ('99)	przetoka
—	—	—	—	0.22	—	Szepowalnikow ('99)	Thiry-Vella
98.50	1.50	—	0.716	0.20 ¹⁾	1.1 ⁰⁻³	Auerbach i Pick ('12)	.
98.48	1.52	—	0.805	0.23 ¹⁾	met. elektromotor.	Auerbach i Pick ('12)	.
98.60	1.40	—	0.739	0.24 ¹⁾	—	Auerbach i Pick ('12)	.
—	—	—	—	—	1.1 ⁰⁻²⁻²⁻ 1.10 ⁻⁹ czerwień obojętna	Amberg i Lawyer ('26)	.

¹⁾ Wartość dla NaHCO_3 . Als NaHCO_3 bestimmt.

Wobec braku odpowiednich analiz, uwzględniających całkowity skład mineralny, a jednocześnie ze względu na dość znaczną rozbieżność tych danych, jakie udało mi się znaleźć

w piśmiennictwie, przystąpiłem do oznaczenia składników mineralnych soku jelitowego. Wyniki tych analiz, jako średnie wartości z kilku oznaczeń, przedstawiają się, jak następuje:

	Na	K	Ca	Mg	Cl	P
w 100 g soku	325.0	24.0	11.0	1.5	267.0	3.0 mg
na 100 g Na	100.0	7.4	3.4	0.5	82.1	1.0

W poszczególnych analizach bardzo nieznaczne wahania wykazywały stężenia Na, K, Ca, Cl, większa zmienność charakteryzowała pozostałe pierwiastki, a mianowicie Mg i P.

Podobne wyniki uzyskałem w analizach soku, który był zbierany w sposób podany przez CLEMENTIEGO (część metodyczna str. 8), a mianowicie:

	Na	K	Ca	Mg	Cl	P
w 100 g soku	292.0	39.2	6.7	5.6	329.0	4.0 mg
na 100 g Na	100.0	13.4	2.3	1.9	112.7	1.4

Liczby powyższe wykazują pewne różnice w porównaniu z poprzednio podanymi, otrzymanymi z analiz soku w pierwszych tygodniach po operacji. Stężenie sodu jest prawie takie same, znacznie większą wartość wykazuje stężenie K i Mg, nieco wyższa jest wartość dla chloru i fosforu, natomiast niższa dla wapnia. Jaśniej ten wniosek wynika z porównania stosunku Na:K:Ca: :Mg:Cl:P, podanego w drugim wierszu dwu powyższych zestawień¹⁾.

¹⁾ Podczas kończenia tych analiz znalazłem wśród streszczeń referatów, wygłoszonych na 38-mym Zjeździe Ameryk. Tow. Fizjologicznego, notatkę AMBERGA i LAWYERA pod tytułem: „Studies on Thiry-Vella fistula in dogs“.

Autorowie analizowali sok jelitowy na zawartość składników mineralnych. Sposób otrzymywania soku i metody stosowane nie są podane, a przeto wyniki autorów dadzą się ująć w podaniu liczb, wyrażających w mg ilości poszczególnych jonów w 100 g soku. Autorowie podają oddzielnie wartości dla części ciekłej (fluid-secretion), oddzielnie dla śluzu (flakes).

	Na	K	Ca	Mg	Cl	P
w 100 g części ciekłej	315	35	7.4	6.2	267	9
w 100 g śluzu	321	35	27	9.5	376	19

Różnice pomiędzy wartościami podanymi przez AMBERGA i LAWYERA a naszymi trudno wyjaśnić, opierając się jedynie na tej krótkiej notatce.

Porównyując te liczby, uzyskane dla soku w różnych odstępach czasu od założenia przetoki (bezpośrednio po operacji zbierano sok w zwykły sposób, po upływie paru miesięcy metodą CLEMENTIEGO), można dojść do wniosku, iż sok jelitowy wydzielany wkrótce po operacji zawiera pewną ilość związków zasadowych, która z biegiem czasu obniża się; wskutek tego zwiększa się wartość stosunku Cl/Na. Obserwacja ta nie jest odosobniona; i inni autorowie notowali zmniejszanie się z biegiem czasu zawartości zasad w soku, otrzymywanym ze stałej przetoki THIRY-VELLA.

Porównanie składu mineralnego cieczy, pozostałej po wprowadzeniu do pętli różnych roztworów, ze składem soku jelitowego przemawia za tem, iż elektrolity, wykrywane w doświadczeniach poprzednich w cieczy pozostałej, są składnikami soku jelitowego. Sądzę bowiem, że w innym razie skład mieszaniny mineralnej, znajdującej w pozostałości, winienby wykazywać zależność od charakteru fizyko-chemicznego i składu wprowadzonego roztworu.

3. Zachowanie się w pętli jelita mieszaniny elektrolitów o składzie zbliżonym do składu soku jelitowego.

Znaczenie faktu ustalania się w jelicie pewnego stężenia i stosunku składników mineralnych dla procesu chłonięcia nie jest wyświetlone. Badania dotychczasowe sprowadzały się do oznaczania intensywności, z jaką resorbowane są poszczególne związki, bez uwzględniania przeważnie roli jednoczesnej obecności różnych jonów w pętli i wzajemnego ich oddziaływania na przebieg chłonięcia. REID ('02) zwrócił uwagę, iż obecność NaCl w roztworze wzmaga chłonięcie glukozy. GOLDSCHMIDT i BINGER ('19) stwierdzili wpływ mleczanu wapniowego na intensywność chłonięcia NaCl. Według innych autorów, jak podaje GOLDSCHMIDT ('21), daje się ustalić wpływ chlorku sodowego na przebieg chłonięcia białka, peptonu i żelatyny.

Sprawa nie jest łatwa do traktowania, a to z tego względu choćby, iż trudno ustalić, na czem polegają optymalne dla funkcji jelita warunki — czy mianowicie chłonięcie winno się odbywać w możliwie szybkim tempie, czy też raczej powolne

przechodzenie roztworu z jelita do środowiska wewnętrznego organizmu bardziej odpowiada roli tego narządu.

Z tych więc względów było rzeczą ciekawą zbadanie zachowania się w pętli poszczególnych jonów z mieszaniny elektrolitów, pod względem składu odpowiadającej sokowi jelitowemu. Chodziło więc o zdanie sobie sprawy, czy ściana jelita wobec takiej mieszaniny elektrolitów wykazuje pewną wybiórczość w stosunku do poszczególnych jonów, przejawiającą się w intensywniejszem chłonięciu niektórych z pośród nich, czy też pobiera je równomiernie. Jednocześnie należało wyjaśnić, czy roztwór ten resorbowany jest w stężeniu podanem, czy też różna jest intensywność chłonięcia wody i elektrolitów.

Tabela V.

Chłonięcie mieszaniny mineralnej o składzie soku jelitowego, wprowadzonej do pętli jelita.
№ protok. 36, 22.X.27 czas trwania dośw. 30 min.

Aufsaugung der Mineralmischung von der Zusammensetzung des Darmsaftes nach Einführung in die Darmschlinge.

№ d. Protok. 36, 22.X.27 Dauer d. Versuches 30 Min.

Składniki <i>Bestandteile</i>	Roztwór wprowadzony <i>Eingeführte Lösung</i>	Roztwór pozostały <i>Zurückerkhaltene Lösung</i>	Zmiany w roztworze wprowadz. <i>Änderungen in der eingeführt. Lösung</i>	
			bezwzględne absolut	w odsetkach ilości wprowadzonej in den % der eingeführt. Menge
H ₂ O	90.0 cm ³	50.0 cm ³	- 40.0 cm ³	- 44
Na	235.7 mg	150.0 mg	- 86.7 mg	- 37
K	22.8	15.1	- 7.7	- 34
Ca	1.26	1.45	+ 0.19	+ 15
Mg	3.24	3.0	- 0.24	- 7
Cl	287.0	213.0	- 74.0	- 26
P	0	0.8	+ 0.8	-
CO ₂	135.9	56.5	- 79.4	- 58

W tym celu więc wykonano doświadczenia z wprowadzaniem do pętli izolowanej roztworów możliwie zbliżonych do soku pod względem zawartości odpowiednich jonów. Tabele V i VI streszczają wyniki, uzyskane po podaniu do pętli roztworu oznaczonego w części metodycznej cyfrą I. Roztwór ten nie zawierał jonu fosforanowego i białka. Jak z tabel wynika, woda jest chłonięta nieco szybciej, niż składniki mineralne. Z pośród tych ostatnich sód i potas znikają z roztworu dość równomiernie (Na — 31 i 37%, K — 30 i 34%). Odmienne zachowują się jony

Tabela VI.

Chłonicie mieszaniny mineralnej o składzie soku jelitowego, wprowadzonej do petli jelita.
№ protok. 36, 22.X.27 czas trwania dośw. 30 min.

Aufsaugung der Mineralmischung von der Zusammensetzung des Darmsaftes nach Einführung in die Darmschlinge.

№ des Protok. 36, 22.X.27 Dauer d. Versuches 36 Min.

Składniki <i>Bestandteile</i>	Roztwór wprowadzony <i>Eingeführte Lösung</i>	Roztwór pozostały <i>Zurückhaltene Lösung</i>	Zmiany w roztworze wprowadz. <i>Änderungen in der eingeführt. Lösung</i>	
			bezwzględne absolut	w odsetkach ilości wprowadzonej in den % der eingeführt. Menge
H ₂ O	95.0 cm ³	54.0 cm ³	- 41.0 cm ³	- 43
Na	249.8 mg	172.8 mg	- 77.0 mg	- 31
K	24.0	16.8	- 7.2	- 30
Ca	1.33	1.51	+ 0.18	+ 14
Mg	3.61	3.46	- 0.15	- 4
Cl	303.0	232.0	- 71.0	- 23
P	0	0.76	+ 0.76	-
CO ₂	143.5	62.6	- 80.9	- 56

dwuwartościowe. Magnez chłonięty był w tych doświadczeniach w stopniu bardzo słabym (4 i 7%), wapń nie tylko nie uległ resorpcji, lecz nawet wykazuje przyrost wynoszący 14, wzgl. 15%. Wreszcie, co się tyczy Cl i CO₂, to tu stwierdza się, iż pierwszy znacznie wolniej znika z roztworu, niż ostatni (23% wobec 56 albo 26% wobec 58). To wzmożone chłonicie jonu HCO₃' w porównaniu z jonem Cl' wyjaśnia, według nas, dosta-

Tabela VII.

Chłonicie mieszaniny mineralnej o składzie soku jelitowego, wprowadzonej do petli jelita.
№ protok. 37, 1.XII.27 czas trwania dośw. 30 min.

Aufsaugung der Mineralmischung von der Zusammensetzung des Darmsaftes nach Einführung in die Darmschlinge.

№ d. Protok. 37, 1.XII.27. Dauer d. Versuches 30 Min.

Składniki <i>Bestandteile</i>	Roztwór wprowadzony <i>Eingeführte Lösung</i>	Roztwór pozostały <i>Zurückhaltene Lösung</i>	Zmiany w roztworze wprowadz. <i>Änderungen in der eingeführt. Lösung</i>	
			bezwzględne absolut	w odsetkach ilości wprowadzonej in den % der eingeführt. Menge
H ₂ O	100.0 cm ³	57.0 cm ³	- 43.0 cm ³	- 43
Na	314.0 mg	171.0 mg	- 143.0 mg	- 46
Kj	36.5	20.18	- 16.32	- 45
Ca	10.0	6.5	- 3.5	- 35
Mg	5.4	4.6	- 0.8	- 15
Cl	382.0	211.0	- 171.0	- 45
P	7.1	4.3	- 2.8	- 40
N	20.65	31.27	+ 10.62	+ 51

tecznie ustosunkowanie Na i Cl w pozostałości po wprowadzeniu do pętli wody lub roztworów, niezawierających tych jonów.

Podobne wyniki otrzymano, wprowadzając roztwór II (tabela VII). W tym przypadku odsetek zresorbowanych składników mineralnych (Na, K, Cl) jest cokolwiek wyższy, niż wchłoniętej wody. Pozatem okazało się, iż Na, K, Cl, P znikają z jelita równomiernie. Jony dwuwartościowe naogół były chłonięte, jakkolwiek znacznie powolniej, niż poprzednio wspomniane. Dodatek białka jaja kurzego do roztworu wprowadzonego pozwolił stwierdzić, iż ilość azotu znacznie wzrasta, co prawdopodobnie spowodowane jest okolicznością, iż białko podane nie ulega chłonięciu, przybywa natomiast trudno lub zupełnie nieresorbowane białko, występujące w soku jelitowym. Tak więc, gdy woda i jony jednowartościowe wraz z fosforem pobrane zostały przez jelito w ilości około 50%, obserwujemy przyrost azotu wynoszący 51% ilości wprowadzonej. Fakt ten podkreślamy ze względu na to, iż może on stanowić punkt wyjściowy dla sposobu oznaczania ilości wydzielonego do pętli soku jelitowego w czasie trwania doświadczenia.

4. Krytyka sposobu mierzenia sekrecji jelitowej w czasie chłonięcia.

Wyniki przytoczonych doświadczeń wskazują, że pojawianie się w pętli jelita związków mineralnych, nie wprowadzonych z roztworem podanym, związane jest z sekrecją soku jelitowego i, jak sądzę, może być całkowicie tłumaczone tym procesem. To też przy badaniu intensywności chłonięcia wysuwa się sprawa oznaczania składnika $q_{wydz.}$ z równania

$$q_{res.} = q_{pod.} + q_{wydz.} - q_{pozost.}$$

GUMILEWSKI był pierwszym z autorów, ilościowo oznaczających wydzielony do pętli sok jelitowy. Sposób przez niego podany przedstawia się jak następuje: autor miareczkuje czysty sok kwasem siarkowym 0.1 n i oznacza jego alkaliczność w cm^3 0.1 n NaOH, przeliczoną na 100 cm^3 soku. Celem określenia ilości soku wydzielonego do pętli po podaniu do niej odpowiedniego roztworu, miareczkuje pozostałość i z porównania jej alkaliczności z alkalicznością czystego soku znajduje w cm^3 ilość wydzieloną soku. Podany przez GUMILEWSKIEGO ('86) sposób przejął

bez zmiany RÖHMANN ('87), a w ostatnich czasach zastosował go znowu RABINOWITSCH ('27). Metoda ta, jak już wspomniano, w tym tylko przypadku jest słuszna, jeśli składnik soku, powodujący jego alkaliczność (Na_2CO_3 — według GUMILEWSKIEGO i RÖHMANNNA, NaHCO_3 — według RABINOWITSCHA) nie ulega wtórnie resorpcji, lecz cała wydzielona ilość jego znajduje się w reszcie, usuwanej z pętli w końcu doświadczenia. Założenie takie budzi wątpliwości, które poparte zostały zresztą pośrednio przez wyniki analizy na składniki mineralne reszty, usuwanej z pętli po wprowadzeniu do niej wody. A mianowicie stwierdzono, że stosunek Na/Cl w pozostałości ma mniejszą wartość, niż dla czystego soku, co może być uwarunkowane przez szybsze chłonicie NaHCO_3 , niż NaCl .

Tabela VIII.

Chłonicie NaHCO_3 w jelicie cienkiem psa.
Aufsaugung von NaHCO_3 — Lösungen in dem Dünndarm des Hundes.

№ protokółu <i>d. Protokolls</i>	Data <i>Datum</i>	Czas pozostawienia roztworu w pętli <i>Dauer d. Versuches min</i>	Ilość wprowadzona Na <i>Na - Gehalt in d. eingeführten Lösung mg</i>	Ilość Na w roztworze pozostałym <i>Na - Gehalt in der zurückher. Lösung mg</i>	Ilość wprowadzonego CO_2 <i>CO_2 - Gehalt in d. eingeführten Lösung mg</i>	Ilość CO_2 w roztworze pozostałym <i>CO_2 - Gehalt in d. zurückher. Lösung mg</i>
18	24.XI.26	30	126	64.3	—	—
21	26.III.27	10	118	74.4	232	126

Specjalnie w celu bezpośredniego wyjaśnienia sprawy zachowania się NaHCO_3 w jelicie wykonano doświadczenia, w których wprowadzano do pętli 0.5% roztwór tej soli. Z doświadczeń tych (tab. VIII) wynika, iż mimo zachodzącego jednocześnie procesu sekrecji, o czym wnioskowano z występowania w pozostałości jonów, nie wprowadzonych z roztworem podanym, ilość zarówno Na jak i CO_2 ulegała wydatnemu zmniejszeniu.

Stwierdzone fakty dostatecznie przeczą słuszności stosowanej przez wspomnianych autorów metody i wskazują na aktualność wysiłków, zmierzających do ilościowego ujęcia procesu sekrecji, przebiegającego współcześnie z chłonicie po wprowadzeniu do pętli roztworu.

IV. Omówienie wyników.

Zbliżyliśmy się nieznacznie do ostatecznego celu; dążenie do niego będzie zresztą przedmiotem dalszych naszych poszukiwań.

Celem tym jest ujęcie ilościowe intensywności współcześnie biegnących procesów sekrecji i resorpcji. W doświadczeniach wykonanych stwierdzano tylko ostateczny stan, który jest wypadkową tych dwu zjawisk. Z ilości składników mineralnych, wykrywanych w pozostałości, usuwanej z pętli, nie można sądzić bynajmniej o intensywności tych dwu rozważanych tu procesów. Stanie się to dopiero wówczas możliwe, gdy uzyskamy sposób oznaczania objętości soku wydzielonego przez okres czasu, w ciągu którego wprowadzony roztwór pozostaje w pętli.

Z badań dotychczasowych wynika, iż stężenie elektrolitów w pozostałości jest dość stałe, a mianowicie waha się w granicach od 0.2 do 0.33 stężenia, odpowiadającego sokowi jelitowemu. Jeśli wyrazimy to jako obniżenie punktu zamarzania, przyjmując Δ soku za równe 0.60, to otrzymamy wartość $\Delta = = 0.12 - 0.20$, dotąd nieuwzględnianą przeważnie w badaniach nad zjawiskiem resorpcji.

Natomiast podkreślić wypada, iż wyniki badań GUMILEWSKIEGO skłoniły tego autora do wniosku, iż woda jest wolniej resorbowana, niż roztwór NaCl w stężeniu 0.125—0.25%, co właściwie odpowiadałoby w pierwszym przybliżeniu koncentracji elektrolitów, ustalonej dla pozostałości. O znaczeniu tego faktu snuć można tylko hipotezy. Nasuwa się przede wszystkim myśl, iż takie stężenie soli wytwarza warunki optymalne dla procesów resorbcyjnych, a pozatem nie jest wykluczone, iż jest ono związane z działaniem występujących w soku fermentów.

W rozważaniu procesów fizyko-chemicznych, odbywających się w przewodzie pokarmowym, jako też w badaniach nad przemianą mineralną w organizmie może być użyteczne porównanie składu mineralnego różnych soków trawiennych. Z danych tabeli IX-ej widzimy, że im bardziej zbliżamy się do miejsca, w którym strawiony pokarm ulega chłonięciu, tem bardziej skład mineralny soku trawiennego upodabnia się do składu surowicy. Wyraźnie występuje to, jeśli porównamy skład śliny i soku żołądkowego z jednej strony ze składem reszty soków trawiennych, a więc żółci, soku trzustkowego oraz jelitowego z drugiej. Gdy dwie pierwsze cieczki zawierają stosunkowo dość dużo potasu w ilości, zbliżonej do sodu, dla trzech ostatnich obserwujemy ustosunkowanie poszczególnych jonów bardzo zbliżone do ustosunkowania tychże w osoczu krwi lub w limfie. Zlokalizowanie śliny i soku

żołądkowego w przedniej części przewodu pokarmowego można tłumaczyć brakiem resorpcji w tym odcinku: chodzi jakoby o to, by treść chłonięta pod względem swego składu była jak najbliższa do wewnętrznego środowiska organizmu. Takie rozmieszczenie soków trawiennych, być może, tłumaczy się również występowaniem różnych fermentów, dla których optymalne warunki działania osiągnane są przy różnym ustosunkowaniu składników mineralnych.

Tabela IX.

Skład mineralny soków trawiennych, surowicy i limfy (mg/100 cm³).

Gehalt an mineralischen Bestandteilen in den Verdauungssäften, auch im Serum und in der Lymphe (mg/100 cm³).

Wydzielny i ciecie ciała <i>Sekrete und Körperflüssigkeiten</i>	Na	K	Ca	Mg	Cl	P
Ślina. <i>Speichel</i> . Hammerbacher ¹⁾	15.4	80.3	7.8	0.2	31.2	26.0
Sok żołądkowy. <i>Magensaft</i> . Rosemann ²⁾	25.0	30.7	0.2	0.5	67.1	0.3
Sok trzustkowy. <i>Pankreassaft</i> . Schumm; Bidder u. Schmidt ³⁾	330.0	24.9	15.9	3.0	180.0	10.0
Żółć. <i>Galle</i> . Klinke ⁴⁾	331.2	20.6	14.0	—	346.4	14.6
Sok jelitowy. <i>Darmsaft</i> .	325.0	24.0	11.0	1.5	267.0	3.0
Surowica. <i>Serum</i> . Abderhalden ⁵⁾	320.0	19.0	8.1	2.4	402.0	3.5
Limfa. <i>Lymphe</i> . Meyer-Bisch, Gorup-Besanez ⁶⁾	283—360	16—27	9.6—13.4	2.7	295.0	2.7—12.7

¹⁾ Hammerbacher. 1881. Z. f. physiol. Ch. 5, cyt. wg: Oppenheimer, Handb. d. Bioch. 4 (476).

²⁾ Rosemann. 1907. Pflüg. Arch. 118, cyt. wg: Oppenheimer, Handb. d. Bioch. 4 (539).

³⁾ Schumm. 1902. Z. f. physiol. Ch. 36, cyt. wg: Oppenheimer, Handb. d. Bioch. 4 (580); Bidder u. Schmidt. 1852. Die Verdauungssäfte u. d. Stoffwechsel, cyt. wg: Auerbach u. Pick (12).

⁴⁾ Klinke. 1928. Neue Ergebnisse d. Calciumforschung. Ergebn. d. Physiol. 26 (dane udzielenie przez Tschopp'a).

⁵⁾ Abderhalden. 1898. Z. f. physiol. Ch. 25, cyt. wg: Zondek. 1927. Die Elektrolyte.

⁶⁾ R. Meyer-Bisch. 1926. Physiologie u. Pathologie d. Lymphbildung. Ergebn. d. Physiol. 25; Gorup-Besanez. 1878. Lehrb. d. physiol. Chemie (381).

W omawianej tabeli rzuca się w oczy stężenie sodu, które pozostaje niemal identyczne dla żółci oraz soków trzustkowego i jelitowego. Wartość ta wynosi średnio 320% mg. Być może, iż z tą koncentracją, która charakteryzuje zresztą również krew i limfę, związane są pewne właściwości soków. Odmienne zachowuje się chlor — występują tu wahania dość znaczne. Prawdo-

podobne jest, iż stała zawsze ilość sodu pokryta jest częściowo przez jon Cl' , częściowo przez — HCO'_3 .

Z odpowiednich doświadczeń wynika, iż dwuwęglan sodowy, zawarty w soku, jest intensywniej resorbowany, niż inne składniki. Mówiłoby to o pewnem oszczędzaniu zasad przez organizm, co tak mocno zostało podkreślone przez CUSHNY'EGO ('17) w jego monografji o sekrecji moczu. Fakt ten stałby również w zgodzie z wynikami badań HELZERA ('25), który doszedł do wniosku, iż ściana jelita czynny przyjmuje udział w regulowaniu stężenia jonów wodorowych w organizmie przez usuwanie ich nadmiaru. Zgadza się to wreszcie z wynikami GUMILEWSKIEGO i RABINOWITSCHA, którzy przy określaniu ilości wydzielonego soku drogą miareczkowania pozostałości kwasem siarkowym znajdowali nadmierną ilość chloru. Autorowie ci starają się wytłumaczyć tę niezgodność, przyjmując, iż chlorek sodowy, poza ilością wydzielaną jako składnik soku, dostaje się do światła jelita drogą dyfuzji z krwiobiegu. Założenie takie, całkiem dowolne, okaże się zbyt czyste, skoro przyjmujemy fakt intensywniejszego odciągania przez ścianę jelita dwuwęglanu, niż innych składników soku.

V. Streszczenie wyników.

1°. Po wprowadzeniu do pętli jelita wody stwierdzamy w cieczy pozostałej obecność Na, K, Ca, Mg, Cl i P. To samo ustalono w przypadku podania do pętli wodnych roztworów glukozy, soli obojętnej, oraz kwasów i ługów.

2°. Analizy cieczy, pozostałej po wprowadzeniu do pętli wymienionych wyżej roztworów, wykazały, iż stosunek poszczególnych jonów w tej cieczy jest stale ten sam, niezależnie od tego, czy do jelita podano wodę, kwas lub ług. Wynika z tego, iż proporcja, w jakiej zjawiają się w cieczy pozostałej składniki mineralne, nie jest zależna ani od stężenia jonów wodorowych wprowadzonego roztworu, ani też od jego chemicznych właściwości.

3°. Przeciętny skład mineralny soku jelitowego, wyrażony w $\frac{\%}{\%}$ mg jest następujący: 325 Na, 24 K, 11 Ca, 1.5 Mg, 267 Cl i 3 P.

4°. Porównanie ustosunkowania poszczególnych jonów w pozostałości podanego do pętli jelita roztworu ze składem mineralnym soku jelitowego doprowadza do wniosku, iż zjawiające się

w treści jelita składniki mineralne są produktem li tylko czynności wydzielniczej gruczołów jelita.

5°. Z mieszaniny mineralnej o składzie soku jelitowego, wprowadzonej do pętli, Na, K, P chłonięte są w tym stosunku, w jakim zostały podane, Ca i Mg natomiast ulegają resorpcji powolniej, niż jony poprzednio wymienione. Stąd ilość podanego do pętli Ca i Mg albo tylko nieznacznie się zmniejsza, albo nawet ilość znajdująca w cieczy pozostałej jest wyższa od wprowadzonej. W razie obecności białka w roztworze podanym, stale znajdujemy zwiększenie ilości azotu.

6°. Specjalnie przeprowadzone serje doświadczeń nad zachowaniem się dwuwęglanu w jelicie cienkim wykazały, że NaHCO_3 jest intensywnie pobierany przez powierzchnię chłonną jelita. Stwierdzenie tego faktu podważa zasadę stosowanego przez niektórych autorów (GUMILEWSKI, RÖHMANN i RABINOWITSCH) sposobu obliczania natężenia sekrecji jelitowej, opartego na oznaczeniach węglanów w cieczy pozostałej.

7°. W zestawieniu, podanem w tabeli IX ej, zwrócono uwagę na wybitną różnicę składu mineralnego śliny i soku żołądkowego z jednej strony, pozostałych soków trawiennych z drugiej. Pierwsze charakteryzują się dużą zawartością potasu, ostatnie — składem bardzo zbliżonym do składu osocza krwi i limfy. Podobieństwo składu soków z odcinka przewodu pokarmowego, przede wszystkim sprawie chłonięcia służącego, ze składem środowiska wewnętrznego ustroju nasuwa myśl, iż taki skład właśnie odpowiada warunkom optymalnym dla funkcji jelita cienkiego.

Piśmiennictwo.

- Amberg S. and G. Lawyer. 1926. Studies on Thiry-Vella fistula in dogs. *Americ. Journ. of Physiol.* **76**. Bálint M. 1924. Jodometrische Mikrobestimmung des Natriums. *Bioch. Zeitschr.* **150**. Bell R. D. and E. A. Doisy. 1920. Rapid colorimetric methods for the determination of phosphorus in urine and blood. *Journ. biol. Chem.* **44**. Białaszewicz K. 1927. O składzie mineralnym komórek jajowych. *Prace Inst. im. Nenckiego.* **3**. Briggs A. P. 1922. A modification of the Bell-Doisy phosphate method. *Journ. biol. Chem.* **53**. Clementi A. 1924. Recherches sur le mécanisme de la stimulation de la sécrétion de l'anse de Vella par l'introduction de solution de cristaalloïdes dans sa lumière. *Arch. internat. de Physiol.* **23**. Cobet R. 1921. Über Kochsalzresorption im unteren Dünndarm. *Bioch. Zeitschr.* **114**. Cushny A. R. 1917. The secretion of urine. *Goldschmidt and Binger C.*

1919. *Americ. Journ. of Physiol.* **58**. Cytowane według Goldschmidta ('21). **Goldschmidt S.** 1921. On the mechanism of absorption from the intestine. *Physiol. Reviews.* **1**, Nr. 3. **Gumilewski.** 1886. Über Resorption im Dünndarm. *Arch. f. d. ges. Physiol.* **39**. **Hay M.** 1884. An experimental investigation of the physiological action of saline cathartics. *Journ. of Anat. a. Physiol.* Cytowane według Clementiego ('24). **Heidenhain R.** 1894. Neue Versuche über die Aufsaugung im Dünndarm. *Arch. f. d. ges. Physiol.* **56**. **Helzer J.** '1925. Regulierung der H-Jonenkonzentration durch die Darmwand. *Bioch. Zeitschr.* **166**. **Höber R.** 1898, 1899, 1901. Über Resorption im Dünndarm. *Arch. f. d. ges. Physiol.* **70**, **74**, **86**. **Höber R.** 1908. Artykuł w Handbuch: Die physikalische Chemie und Medizin Korányi'ego i Richtera. **Knaffl-Lenz E.** und **S. Nogaki.** 1925. Über die Resorption aus ausgeschalteten Darmschlingen. *Arch. f. d. exp. Pathol. u. Pharmacol.* **105**. **Kramer B.** and **F. F. Tisdall.** 1921. A simple method for the direct quantitative determination of sodium in small amounts of serum. *Journ. biol. Chem.* **46**. **Kramer B.** and **F. F. Tisdall.** 1921. A clinical method for the quantitative determination of potassium in small amounts of serum. *Journ. biol. Chem.* **46**. **Kramer B.** and **F. F. Tisdall.** 1921. The direct quantitative determination of sodium, potassium, calcium and magnesium in small amounts of blood. *Journ. biol. Chem.* **48**. **Kramer B.** and **F. F. Tisdall.** 1921. A simple technique for the determination of calcium and magnesium in small amounts of serum. *Journ. biol. Chem.* **47**. **Liebig.** 1839. Untersuchungen üb. die Mineralquellen und Bemerkungen üb. die Wirkung der Salze auf den Organismus. Wiesbaden. Cytowane według Clementiego ('24). **Mac Callum.** 1903-4. On the action of saline purgatives on rabbits and contraction of their effect by calcium. *Amer. Journ. of Physiol.* **10**. **Mac Callum.** 1903-4. On the application of solutions of saline purgatives to the peritoneal surfaces on the intestine. *Amer. Journ. of Physiol.* **10**. **Mac Callum.** 1904. Über die Wirkung der Abführmittel und die Hemmung ihrer Wirkung durch Calciumsalze. *Arch. f. d. ges. Physiol.* **104**. **Malikiewicz Z.** 1924. O chłonienu niektórych soli nieorganicznych w jelicie cienkim. *Prace Instytutu im. Nenckiego.* **2**. **Poiseuille.** Rech. exper. sur les mouvements des liquides dans les tubes de petit diamètre. Paris 1820. C. R. XIX, 1844. Cytowane według Clementiego ('24). **Rabinowitsch J.** 1927. Factors influencing the absorption of water and chlorides from the intestine. *Americ. Journ. of Physiol.* **82**. **Reid-Waymouth E.** 1902. On the intestinal absorption of solutions. *Journ. of Physiol.* **28**. **Röhmnn F.** 1887. Über Secretion und Resorption im Dünndarm. *Arch. f. d. ges. Physiol.* **41**. **de Waard D. J.** 1919. Eine Mikrobestimmung des Calciums in Blut, Serum und anderen organischen Substanzen. *Bioch. Zeitschr.* **97**. **Wallace and Cushny.** 1899. Über Darmresorption und die salinischen Abführmittel. *Arch. f. d. ges. Physiologie.* **77**. **Vulpian.** 1873. Leçons sur l'appareil vasomoteur. *Gazette Medicale.* Cytowane według Clementiego ('24).

[Prace Instytutu im. Nenckiego. № 70 *]

Z. Krasieńska.

Przyczynek do energetyki kiełkowania słonecznika.

Contribution à l'étude du métabolisme énergétique de la germination (Helianthus annuus).

Rękopis nadestany w dniu 12.VI.1928 r.

Ce travail a pour but l'étude des rapports quantitatifs entre l'échange gazeux, les transformations chimiques et les pertes énergétiques, au cours de la germination de *Helianthus annuus*.

On a déterminé la quantité d'acides gras, d'azote et de cendres, dans les graines et les plantules. Les méthodes analytiques pour la détermination des celluloses, hémicelluloses et pentosanes, n'étant pas suffisamment exactes, on a négligé la détermination des hydrocarbonés. Les combustions dans la bombe de BORTHELOT ont servi à déterminer la valeur énergétique des graines et des plantules. Pour étudier l'échange gazeux on a exécuté des expériences respiratoires de longue durée, en appareil clos.

Nous donnons ci-dessous un résumé des principaux résultats de nos recherches.

1°. Les cultures se développaient dans une obscurité complète à la temp. de 25°C. Les courbes régulières du poids frais (fig. 1 et 2) démontrent leur développement normal. On a trouvé, que les plantules de même âge et cultivées dans les mêmes conditions contiennent le même pourcentage de substance sèche, de graisses etc, si leur poids frais est le même. Toute variation du poids frais indique une anomalie dans le développement.

2°. Les graines contiennent (en % de leur poids sec) 55,6% d'acides gras, ce qui équivaut à 58,2% de graisses. Au bout de

*) Z Zakładu Fizjologii Instytutu im. M. Nenckiego i Zakładu Fizjologii Roślin Uniwersytetu Warszawskiego.

6 jours de germination la quantité de graisses a diminué jusqu'à 22%, tandis que la quantité de substance organique a légèrement augmenté (1.96%). Il y a donc perte de 36.2% de graisses, qui ont été remplacées par d'autres substances, formées à leur dépens (tabl. I, p. 113).

3°. La chaleur de combustion d'un gramme de substance sèche des graines est de 7330 cal. et décroît pendant 6 jours de germination jusqu'à 5275 cal. La perte de 2055 cal. constitue 28% de la chaleur de combustion initiale. Correspondant à une perte de 0,362 gr. de graisses, elle ne comporte que 60% de la valeur calorique de celles-ci. Environ 40% de l'énergie potentielle des graisses disparues a donc été retenue par les plantules, sous forme d'autres substances, de poids à peu près égal, mais de moindre valeur calorique (tabl. II, p. 117).

4°. Les plantules (par gramme de poids sec des graines) absorbent pendant 6 jours de germination 437 cm³ (625 mgr.) de O₂ et dégagent 228.9 cm³ (449 mgr.) de CO₂. Le quotient respiratoire pour cette période (0.523), est inférieur au quotient de la combustion des graisses, — il y a donc retention d'oxygène par l'organisme (tabl. III, p. 125).

5°. Pendant la première journée de la germination, les plantules absorbent 0.299 cm³ de O₂ et dégagent 0.277 cm³ de CO₂ par gramme de poids sec et heure. L'intensité de la respiration augmente ensuite considérablement, pour atteindre son maximum le quatrième jour. Au cours de la quatrième journée l'absorption de O₂ atteint 5.388 cm³ par gramme-heure, le dégagement de CO₂ 2.629 cm³. L'absorption d'oxygène a donc augmenté 18 fois, le dégagement de CO₂ 9.5 fois seulement. A partir du quatrième jour l'intensité de l'échange gazeux diminue progressivement, la quantité de O₂ absorbé diminuant plus vite, que la quantité de CO₂ dégagé. Il s'en suit, que le quotient respiratoire change de valeur pendant toute la durée de la germination: de 0.928 le premier jour, il baisse jusqu'à 0.488 le quatrième, pour remonter jusqu'à 0.644 le septième jour (tabl. III).

6°. Si l'on admet, que les substances formées au dépens des graisses sont des hydrocarbonés, il est facile de calculer d'après la quantité de graisses disparues et les pertes énergétiques — les quantités de O₂ et de CO₂ correspondantes. De même, d'après l'échange gazeux on peut calculer les pertes en graisses

et en énergie. L'accord des chiffres calculés avec les données expérimentales est suffisant (tabl. V, p. 133) pour nous permettre d'arriver aux conclusions suivantes:

a) environ 94% de l'énergie libérée pendant 6 six jours de germination proviennent des réactions des graisses et 6% seulement ont été dégagés par d'autres réactions, probablement au moins en partie par l'hydrolyse des substances protéiques (FRANKFURT et MILLER);

b) à peu près 56% des graisses disparues ont servi à élaborer des hydrocarbonés, à peu près 44% ont été brûlés.

c) la tonation calorique des deux réactions des graisses, combustion et transformation en hydrocarbonés, est si différente (9400 et 2152 cal) que 77% de l'énergie libérée par ces réactions revient à la combustion des graisses et 23% seulement à leur transformation en hydrocarbonés.

7°. Les variations du quotient respiratoire au cours de la germination, indiquent qu'il y a variation parallèle du rapport quantitatif entre les graisses brûlées et les graisses transformées en hydrocarbonés. Par exemple, au début de la germination les combustions seules ont lieu (Q. R. = 0.928 et 0.721), au moment ou le maximum de l'intensité respiratoire est atteint jusqu'à 66% des graisses peuvent être transformées en hydrocarbonés (Q. R. = 0.380).

W s t ę p.

Wszystkie zagadnienia, dotyczące metabolizmu chemiczno-energetycznego kiełkujących nasion tłuszczowych, związane są mniej lub więcej z przemianą tłuszczowo-węglowodanową. Tłuszcze, będące głównym, a niekiedy prawie wyłącznym, materiałem zapasowym tych nasion, nie tylko pokrywać muszą zapotrzebowania energetyczne rozwijających się organizmów, ale i dostarczyć węglowodanów na budowę ścianek komórkowych. Stąd

łuszcze, substancje ubogie w tlen i posiadające znaczną energię potencjalną, są nie tylko spalane, ale i przerabiane na węglowodany, czyli — na substancje bardziej utlenione a energetycznie mniej wartościowe. Te dwojakie reakcje tłuszczów nadają swoiste cechy nie tylko procesom chemicznym odbywającym się podczas kiełkowania nasion tłuszczowych, ale także wymianie gazowej i przemianie energetycznej.

Zainteresowanie fizjologów wzbudzała oddawna przeróbka tłuszczów na węglowodany, reakcja, niedająca się przeprowadzić w laboratorium. Większa część badań nad metabolizmem kiełkowania nasion tłuszczowych miała na celu zbadanie przebiegu tej reakcji w organizmie: stąd przewaga prac chemicznych w literaturze przedmiotu.

Już SAUSSURE (1822) ustalił podstawowe fakty charakteryzujące przemianę kiełkujących nasion tłuszczowych: znikanie tłuszczów, przyrost ilości węglowodanów, oraz zatrzymywanie znacznych ilości tlenu w organizmie. Następuje długi szereg prac, których głównym wątkiem jest stosunek ilościowy zużytych tłuszczów do wytworzonych węglowodanów: HELLRIEGEL ('55), FLEURY ('65), PETERS ('65), LASKOWSKY ('74), DETMER ('75), LECLERC DU SABLON ('93, '95, '97).¹⁾ Wszyscy ci autorowie stwierdzili znikanie wielkich ilości tłuszczów podczas kiełkowania. Niedokładne metody oznaczania celulozy oraz pomijanie hemiceluloz i pentozanów w analizach sprawiły jednak, że wszędzie ilości znalezionych węglowodanów były nieproporcjonalnie małe. Albo zaznaczała się rażąca niewspółmierność między ilością tłuszczów, węglowodanów i substancji suchej, albo nieliczni autorowie, którzy przeprowadzali całkowite analizy roślinek, jak np. HELLRIEGEL ('55) i DETMER ('80), stwierdzali znaczny przyrost ilości substancji nieoznaczonych. Dopiero FRANKFURT ('94) i JEGOROW ('04), którzy oznaczali hemicelulozy i pentozany, otrzymali zgodne bilanse tłuszczów, węglowodanów i substancji suchej. Na tych dwóch pracach można wyłącznie się opierać, jeśli chodzi o ilość węglowodanów, wytworzonych z tłuszczów.

Równoczesne poszukiwania pośrednich produktów przemiany tłuszczowo-węglowodanowej dały całkiem ujemne rezultaty. Pierwszy MÜNTZ ('71) znalazł w kiełkujących nasionach rzepaku wolne kwasy tłuszczowe i stwierdził, że hydroliza tłuszczów wzmaga się znacznie w ciągu kiełkowania. Wszystkie późniejsze prace potwierdziły te wyniki. Żadnych innych produktów pośrednich odkryć nie zdołano, i nie znaleziono nawet wolnej gliceryny.

Nierozstrzygnięte pozostaje zagadnienie, jakie węglowodany pierwsze powstają z tłuszczów. Ani wnioski SACHS'A ('59) o powstawaniu skrobi

¹⁾ Literatura przedmiotu jest szczegółowo omówiona u MILLER'A ('10) i u F. TERROINE'A ('20).

ani wnioski LECLERC DU SABLON ('95) o powstawaniu cukru trzcinowego nie są wystarczająco uzasadnione. Zajmujące z punktu widzenia chemicznego pytanie, jakie kwasy tłuszczowe zostają przerabiane na węglowodany, pierwszy postawił MAQUENNE ('93). Na zasadzie badań nad kiełkowaniem *Arachis* i *Ricinus*a (kwasy tłuszczowe *Arachis*: $C_{20}H_{40}O_2$; *Ricinus*a: $C_{18}H_{30}O_2$) doszedł on do wniosku, że tylko gliceryna i kwasy tłuszczowe nienasycone mogą być przerabiane na węglowodany. Kwasy nasycone albo zostają spalane, albo pozostają nienaruszone. Zupełnie inaczej ujmuje IVANOW ('12) rolę nasyconych i nienasyconych kwasów tłuszczowych. Opierając się na wynikach licznych i dokładnych analiz kiełkujących nasion tłuszczowych, doszedł on do przekonania, że chodzi tu o różnice ilościowe a nie jakościowe. Kwasy tłuszczowe nienasycone utleniają się o wiele szybciej i prędzej zostają zużywane. Stąd nasiona, zawierające większe ilości tych kwasów, odznaczają się o wiele intensywniejszą przemianą, której skutkiem jest większe nagromadzenie węglowodanów.

IVANOW ('12), jak poprzednio JEGOROW ('04), znalazł, że wskaźnik jodowy ekstraktu eterowego spada podczas kiełkowania. Inni autorowie są co do tego niezgodni: specjalnie co do oleju słonecznikowego, z wyników v. FÜRTHA ('03) i MILLERA ('12), naogół niezgodnych z sobą, wnioskowaćby raczej można, że wskaźnik jodowy podczas kiełkowania nie zmienia się, że więc w tym przypadku kwasy nienasycone i nasycone zostają zużywane równomiernie. Metody, używane przez tych dwóch autorów, nie wykluczają jednak utleniania tłuszczów podczas suszenia i przygotowania materiału.

Przegląd tych licznych prac wykazuje nadzwyczaj skąpe ich wyniki. Stwierdzono hydrolizę tłuszczów podczas kiełkowania i większą intensywność metabolizmu nasion, zawierających nienasycone kwasy tłuszczowe. W pojedynczych tylko przypadkach znany nam jest dokładniej stosunek ilościowy zużytych tłuszczów do wytworzonych węglowodanów. Pozatem zagadnienie stoi mniej więcej na tym samym punkcie, na którym je zostawił SAUSSURE (1822). O przebiegu przemiany tłuszczowo-węglowodanowej nie wiemy dotąd nic prawie.

Jednostronne zainteresowanie przemianą tłuszczową pociągnęło za sobą pominięcie w większości prac innych procesów chemicznych, zachodzących podczas kiełkowania nasion tłuszczowych. Całością metabolizmu tych nasion zajmowało się zaledwie paru autorów; do nich należą FRANKFURT ('94), JEGOROW¹⁾ ('04) i MILLER ('10). Cenne zwłaszcza są badania FRANKFURTA nad przemianą białkową. Do prac MILLERA i FRANKFURTA, które robione były na słonecznikach, powrócimy na innym miejscu.

Jakkolwiek wymiana gazowa mogłaby rzucić pewne światło na procesy chemiczne, zachodzące podczas kiełkowania, zajmowano się stosunkowo mało doświadczeniami oddechowymi. Jeśli pominiemy analizy pierwiastkowe dawniejszych autorów, które stwierdziły zatrzymywanie dużych ilości tlenu przez kiełkujące nasiona tłuszczowe, oraz niewiele mówiące

¹⁾ Praca JEGOROWA znana mi jest tylko z referatu w Biologisches Centralblatt ('06), gdzie podane są wyciągi liczbowe z jego tabel.

prace, w których oznaczany był tylko dwutlenek węgla, to wymienić tu należy przedewszystkiem wyczerpujące badania GODLEWSKIEGO ('82) oraz BONNIERA i MANGINA ('84). GODLEWSKI zajmował się porównaniem wymiany gazowej nasion tłuszczowych i skrobiowych i ustalił charakterystyczne cechy oddychania tych dwóch typów nasion. U nasion tłuszczowych stwierdził zatrzymywanie dużych ilości tlenu w organizmie, niskie ilorazy oddechowe oraz zmiany wartości tych ilorazów w różnych okresach kiełkowania. GODLEWSKI jest jedynym autorem, który z wyników doświadczeń oddechowych wyciąga wnioski co do procesów chemicznych, zachodzących podczas kiełkowania. Z ilości O_2 pobranego i CO_2 wydzielonego oblicza ilości zużytych tłuszczów i wytworzonych węglowodanów i obliczone ilości zestawia z wynikami analiz DETMERA ('80). BONNIER i MANGIN ('84) zajmują się głównie ilorazami oddechowymi oraz przebiegiem procesów oddechowych podczas kiełkowania. Co do ilościowego przebiegu wymiany gazowej, stwierdzili oni wzrost intensywności oddychania w pierwszych okresach kiełkowania, istnienie bardzo wyraźnego maksimum intensywności, po którym następuje obniżenie natężenia wymiany gazowej. Co do jakościowego przebiegu, autorowie ci stwierdzili, zmienność wartości ilorazów oddechowych nasion tłuszczowych, przy czem najniższe ilorazy oddechowe schodzą się z największym natężeniem procesów oddechowych.

Badania nad przemianą energetyczną były w fizjologii roślin do niedawna bardzo zaniedbane. Klasycznymi pozostają dotąd prace G. BONNIERA ('93), który z nadzwyczajną precyzją i jasnością ujął zagadnienia, jakie energetyka kiełkowania ma do rozwiązania. Posługując się kalorymetrem BERTHELOTA, stwierdził wydzielanie się ciepła podczas kiełkowania grochu i owsa. Ustalił przytem, że ilość ciepła wzrasta przez pierwsze okresy kiełkowania aby po osiągnięciu pewnego maksimum wyraźnie się zmniejszać. Krzywe wydzielania ciepła są według BONNIERA krzywymi jednowierzchołkowymi.

Wyniki późniejszych badaczy: PIERCE'A ('12) i LUCIE C. DOYER ('15), są tak niezgodne z sobą i tak niezgodne z wynikami BONNIERA, że wymagają kontroli. DOYER wykonywała równoległe spalania, pomiary kalometryczne bezpośrednie i doświadczenia oddechowe dla zbadania przemiany energetycznej u pszenicy kiełkującej. Wyniki tej pracy są nadzwyczaj rozbieżne. Przedewszystkiem autorka znalazła, że ilość ciepła wydzielonego jest o wiele mniejsza od strat energetycznych, stwierdzonych drogą spalań, a także od ilości ciepła, obliczonego z doświadczeń oddechowych. Wyniki autorki są zupełnie sprzeczne z wynikami BONNIERA ('93), który właśnie dla kiełkujących nasion znalazł ilości ciepła większe od tych, które odpowiadały ilości O_2 pobranego i wydzielonego CO_2 . Bardzo bogaty materiał do energetyki kiełkowania znajdujemy w pracach TERROINE'A i jego współpracowników ('23, '26). Między innymi autor ten oznaczał ciepło spalania kilku gatunków nasion tłuszczowych przed kiełkowaniem i po dłuższych lub krótszych okresach kiełkowania. Niestety, nadzwyczaj skąpe dane o metodzie prowadzenia kultur i przygotowywania materiału, jakie autor podaje, nie pozwalają na wytłumaczenie pozornie rażącej sprzeczności wyników (o czem poniżej będzie mowa), ani na wyprowadzenie jakichkolwiek wniosków o przebiegu procesów ener-

getycznych podczas kiełkowania. Dyskusja nad zagadnieniem „wydajności energetycznej” trzech kategorii substancyj zapasowych nasion: tłuszczów, węglowodanów i białek, które autor stara się rozwiązać wyłącznie metodą oznaczenia ciepła spalania, oraz dyskusja nad wnioskami, które ze swoich doświadczeń wyprowadza („loi bioénergétique quantitative”), odbiegająby za daleko od tematu pracy niniejszej.

Jak z powyższego omówienia literatury wynika, posiadamy sporo wiadomości o metabolizmie chemicznym, wymianie gazowej i przemianie energetycznej kiełkujących nasion tłuszczowych, są to jednak wiadomości niepowiązane z sobą. O całości metabolizmu chemiczno-energetycznego wiadomości te należytego pojęcia nie dają.

Pierwotnem zadaniem niniejszej pracy było przeprowadzenie bilansu chemiczno-energetycznego kiełkowania słoneczników, z uwzględnieniem tak całego procesu kiełkowania, jak i poszczególnych jego okresów. Do tego celu służyć miały: oznaczania strat energetycznych, przeprowadzone dwiema metodami (metodą spalań i bezpośrednimi pomiarami kalorymetrycznymi), analizy chemiczne, uwzględniające w pierwszym rzędzie tłuszcze i wszelkie rodzaje węglowodanów, i wreszcie — doświadczenia oddechowe. Cel ten tylko częściowo został urzeczywistniony. Co do kalorymetrii nie udało mi się przezwyciężyć trudności, związanych z zastosowaniem metody kalorymetrii bezpośredniej do roślin. Zrezygnowałam także z oznaczeń węglowodanów, bo metody, któremi rozporządzamy do ich oznaczenia, nie dają gwarancji wystarczającej ścisłości. Praca niniejsza obejmuje więc tylko oznaczenia ciepła spalania, doświadczenia oddechowe, analizy tłuszczów oraz kontrolne oznaczania popiołu i azotu.

Jeśli decyduję się na ogłoszenie tak niekompletnych poszukiwań, których braków jestem w pełni świadoma, to dlatego, że zgodność otrzymanych tak różnymi metodami wyników jest wystarczająca. Ta ułamkowa próba przeprowadzenia bilansu chemiczno-energetycznego kiełkowania jest więc dowodem, że możliwe jest taki bilans i w całości przeprowadzić.

K u l t u r y.

Jedyną metodą ustalenia zmian chemicznych, czy też — zmian wartości energetycznej kiełkujących nasion, jest analizowanie i spalanie nasion i roślinek w różnych okresach rozwoju. Ścisłość i dokładność wyników jest więc w pierwszym rzędzie zależna od jednolitości kultur.

Osiągnięcie tej jednolitości jest w praktyce bardzo trudne. Prowadzenie kultur masowych wyrównyduje w zasadzie indywidualne różnice między nasionami. Ale pewna ilość nasion zwykle nie kiełkuje, zaś w sztucznych warunkach laboratoryjnych duży procent roślinek rozwija się nienormalnie. Nierówna waga lub niejednakowy skład chemiczny nasion mogą przytem spowodować znaczne błędy, fałszując wyniki doświadczeń.

W całym szeregu prac nad kiełkowaniem nasion tłuszczowych nieprawidłowe krzywe suchej wagi¹⁾ wykazują, że autorowie nie potrafili opanować trudności, związanych z prowadzeniem kultur. Metoda wybierania z masowych kultur pozornie jednakowo rozwiniętych roślin, daje bodaj najgorsze wyniki²⁾.

Dla otrzymania jednolitego materiału starałam się przede wszystkim o tak staranny dobór nasion, żeby błąd biologiczny, powodowany odrzucaniem roślinek, można było wyeliminować, przytem odrzucałam tylko roślinki rozwinięte nienormalnie.

U słoneczników dobór nasion przedstawia specjalne trudności. Nasiona wyluskane, nawet gdy pochodzą z jednego kwiatostanu, różnią się znacznie wielkością (100% i więcej), a co ważniejsze i zawartością tłuszczów. Nasiona w łupinach segregowano naprzód według wielkości, następnie po wylusowaniu dobierano na miarę (1 mm różnicy długości), a w niektórych przypadkach (spalania) — na wagę. Mimo tych starań nie osiągnięto całkowicie jednakowej wagi nasion. Średnia waga 100 nasion wynosiła $5.4241 \text{ g} \pm 0.0183$, przyczem na 19 porcyj nasion użytych do kultur największe odchylenia od średniej wynosiły — 3.67% (nasiona, azot) i + 3.26% (4-dniowe roślinki, azot).

1) Świeża waga prawie nigdzie nie jest podana.

2) Za przykład służyć tu może tak bardzo skądinąd ciekawa praca MILLERA (10) nad kiełkowaniem słonecznika. Autor w pierwszym trzydniowym okresie kiełkowania znalazł stratę 15.5% substancji suchej, 15% azotu, 15.6% tłuszczów i nieco większą stratę węglowodanów, gdy w następnych okresach ilość substancji suchej nieco wzrasta, ilość azotu pozostaje niezmienną a tylko ilość tłuszczów stale się zmniejsza. Nietylko więc straty substancji byłyby największe w pierwszym okresie, ale dotyczyłyby w równej prawie mierze wszystkich składników nasion, wbrew wszystkiemu, co o przebiegu kiełkowania nasion tłuszczowych wiemy. Te nieprawdopodobne wyniki przypisać można temu, że autor wybierał systematycznie mniejsze roślinki do analiz. O bezwzględnych zmianach ilościowych, zachodzących podczas kiełkowania, nie na zasadzie wyników tej pracy powiedzieć więc nie można, daje ona tylko pojęcie o składzie procentowym roślinek.

Uśiłowano pozatem stworzyć możliwie najlepsze warunki rozwoju kultur, uważając za optymalne te warunki, w których przyrost świeżej wagi był największy. Woda destylowana działała wybitnie szkodliwie na roślinki, nie można więc było unikać pobierania składników mineralnych. Ponieważ przytem kultury wodne dawały zawsze gorsze rezultaty od piaskowych, więc zdecydowano się na hodowanie roślinek w piasku i podlewanie wodą wodociągową.

60 wyluskanych i dobranych w omówiony powyżej sposób nasion sadzono w wielkich krystalizatorach do grubego, przesianego, wyżarzonego i przemytego piasku. Z założenia niniejszej pracy wynika, że chodziło przede wszystkim o wykluczenie asymilacji. Krystalizatory z kulturami umieszczano w ciemni w dużym powietrznym termostacie. Termostat ten ogrzewany elektrycznie i zaopatrzony w termoregulator nastawiony był na temperaturę 25°C, a największe wahania temperatury nie dochodziły do 1°C. Ciemność była zupełna i asymilacja całkowicie wykluczona. Starano się, aby oprócz temperatury i inne warunki zewnętrzne, jak wilgotność atmosfery (70—80% pełnego nasycenia parą wodną), ilość piasku, ilość wody używana do podlewania i t. p., były dla wszystkich kultur ściśle jednakowe.

Kultury rozwijały się nadzwyczaj równo. Zawierały wprawdzie dużą ilość nienormalnie rozwiniętych roślinek, tak że przeciętnie około 30% trzeba było odrzucać¹⁾, ale pozostałe roślinki wykazywały bardzo równy przyrost świeżej wagi.

Przeciętne świeżej wagi z czterech seryj kultur, użytych do spalań i do analiz chemicznych, podane są poniżej. Zawartość wody obliczona jest dokładnie na podstawie oznaczeń suchej wagi.

	Świeża waga g	% wody
Nasiona	1.00 ± 0.04	3.7
2-dniowe roślinki	2.18 ± 0.07	57.1
4-dniowe roślinki	5.89 ± 0.16	83.5
6-dniowe roślinki	11.85 ± 0.24	91.5

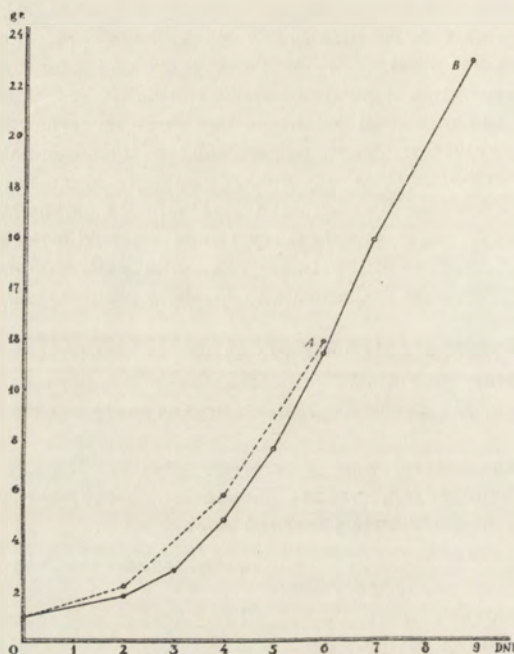
Wyniki te przedstawione są graficznie na rys. 1 i 2 (A); obok dla zilustrowania przyrostu świeżej wagi w późniejszych okresach kiełkowania, podane są wyniki wzorowej próbnej kultury 8a(B). Przyrost świeżej wagi w tej kulturze był nieco niższy, ponieważ wilgotność atmosfery w termostacie była mniejsza aniżeli w późniejszych kulturach.

Z rys. 1 widzimy, że krzywa przyrostu świeżej wagi jest krzywą zbliżoną do eksponencjalnej. Dobowy przyrost świeżej wagi stale wzrasta, i dopiero między 7 a 9-tym dniem kiełkowania szybkość przyrostu zaczyna się zmniejszać. 1 g nasion produkuje przez 6 dni kiełkowania 11.3 g (względnie 11.85 g) świeżej wagi, a przez 9 dni — 22.8 g.

¹⁾ Głównie z powodu wewnętrznego zakażenia nasion jakimś grzybkiem, zabarwiającym hypokotyle na różowo. Wszystkie gatunki nasion jakich używałam, były po części zakażone tym pasorzytem.

MARY E. REID ('26) znalazła, że 1 g suchej wagi kiełkujących w ciemności nasion, słoneczników wyprodukować może do 32.5 g świeżej wagi. Wynikałoby z tego, że moje 9-cio dniowe roślinki nie osiągnęły jeszcze maksimum swego wzrostu.

Zawartość wody w nasionach jest nadzwyczaj stała. Średni procent wody wynosił $3.70 \pm 0.025\%$, najniższy i najwyższy znalezione procenty wody wynosiły 3.62 i 3.77%.



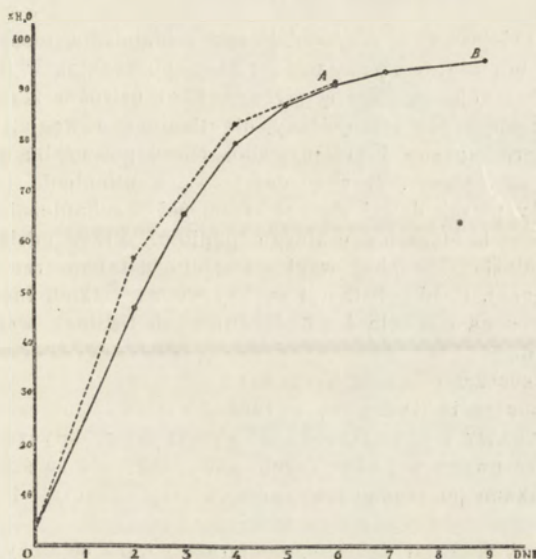
Rys. 1. Świeża waga kiełkujących nasion słonecznika.

Fig. 1. Poids frais des plantules.

Jak widzimy z rys. 2, procent wody w roślinkach wzrasta najprędzej na samym początku kiełkowania, i w czterodniowych roślinkach (ważących 5.89 g) wynosi już 83.5%. Zobaczymy później, że ten procent wody odpowiada pewnemu przełomowi w intensywności i charakterze metabolizmu kiełkowania.

Jeśli tyle miejsca poświęcałam tutaj świeżej wadze roślinek, to dlatego, że stanowi ona najlepszy i najłatwiej dostępny sprawdzian normalnego rozwoju kultur. Te kultury, w których przyrost świeżej wagi jest zupełnie prawidłowy (jak na rys. 1), wykazują także prawidłowy przebieg krzywych suchej wagi, składu chemicznego i ciepła spalania. Twierdzić więc można, że roślinki w tym samym wieku, hodowane w jednakowych warunkach, znajdują się w tem samym stadium rozwoju, jeśli mają tę samą świeżą wagę.

Po zebraniu roślinek i starannem oplókanu korzonków z piasku suszono je przez 1½ godziny na łaźni wodnej, następnie rozdrabniano, doprowadzono do stałej wagi w suszarce próżniowej w temp. 40° C i przechowywano w próżniowym eksykatorze. Przygotowany w ten sposób materiał używano następnie do analiz chemicznych i spalań.



Rys. 2. Zawartość wody w % świeżej wagi.

Fig. 2. Teneur en eau, en % du poids frais.

Nasiona słoneczników zawierają wielką ilość tłuszczów i skutkiem tego niepodobna rozetrzeć substancji suchej. Ponieważ przytem kotyledony różnią się znacznie składem chemicznym od rosnących części roślinek, więc ma się do czynienia z bardzo niejednorodnym materiałem. Dla uniknięcia błędów, jakie ze złego wymieszania substancji wynikaćby mogły, analizowano na jeden składnik, względnie spalano, cały zebrany z jednej kultury materiał, t. j. dla każdej analizy i każdego spalania prowadzono osobną kulturę.

Skład chemiczny.

Oprócz kwasów tłuszczowych, będących głównym materiałem zapasowym nasion słoneczników, oznaczano azot dla sprawdzenia, czy ilość jego podczas badanych okresów kiełkowania nie zmienia się, oraz popiół — dla ustalenia ilości składników mineralnych, pobranych z wody wodociągowej. W analizach

popiołu oznaczano także ilość piasku, zawartego w substancji suchej. W kulturach piaskowych niepodobna bowiem oczyścić całkowicie korzonków roślinek z przylegających do nich ziarenek piasku, i substancja sucha, zwłaszcza starszych roślinek, nie raz zawiera znaczny jego procent.

Dla łatwiejszego i dokładniejszego oddzielenia piasku, oznaczano dwie frakcje popiołu: rozpuszczalną i nierozpuszczalną w HCl. Najpierw utleniało substancję organiczną przez bardzo ostrożne żarzenie, poczem popiół, zawierający już tylko ślady nieutlenionego węgla, rozpuszczano w 10% HCl, przesączano i przemywano. Nierozpuszczalną część popiołu, zawierającą cały piasek, żarzone dalej — dla utlenienia resztek węgla. Gruboziarnisty piasek dawał się bez trudności mechanicznie oddzielić od niewielkich ilości nierozpuszczalnego popiołu. Przez odciążenie wagi piasku od znalezionej suchej wagi materiału ustalono rzeczywistą ilość substancji suchej. Ilość substancji suchej we wszystkich innych doświadczeniach obliczona jest dla 4 i 6-cio dniowych roślinek według wyników tych oznaczeń.

Azot oznaczano metodą KJEHLDALA.

Dla oznaczenia tłuszczów, a raczej kwasów tłuszczowych, użyłam metody KUMAGAWY i SUTO ('08). Stąd wyniki moje, dotyczące zawartości kwasów tłuszczowych w kiełkujących nasionach, nie są ściśle porównywalne z wynikami poprzednich autorów, którzy oznaczali ilość ekstraktu eterowego.

Ponieważ materiał roślinny, zawierający dużo celulozy, źle się zmydla, więc ekstrahowano najpród tłuszcze wrzącym alkoholem w zmodyfikowanym przez KUMAGAWĘ aparacie SOXLETA i następnie wyciąg alkoholowy zmydlało. Przy użyciu metody KUMAGAWY do eteru naftowego oprócz kwasów tłuszczowych przechodzi cholesteryna i drobne ilości niezmydlonych substancyj. Oznaczałam je metodą tegoż autora, polegającą na ponownem zmydleniu kwasów tłuszczowych alkoholowym roztworem KOH i oddzieleniu alkoholowo-wodnego roztworu mydeł od roztworu cholesteryny i niezmydlonych substancyj w eterze naftowym. Ilości tych substancyj w nasionach i roślinkach słonecznika są bardzo nieznaczne i mało zmieniają się podczas kiełkowania. W nasionach wynosiły one 0.23%, w 6-cio dniowych roślinkach 0.18% substancji suchej nasion¹⁾. Pomijam je więc zupełnie w moich tabelach, zaliczając te substancje* do kwasów tłuszczowych.

Wyniki analiz chemicznych, obliczone w procentach substancji suchej nasion, podane są w tab. I. Ten sposób obliczania wyników pozwala od razu ocenić zmiany zawartości poszczególnych składników podczas kiełkowania. Przy każdej liczbie, bę-

¹⁾ Według KÖNIGA ('26) ilość niezmydlonych substancyj w ekstrakcie eterowym wynosi 0.30%.

danej średnią z kilku analiz, podany jest przeciętny błąd tej średniej. Wyniki są naogół wystarczająco zgodne. Największy przeciętny błąd wykazują oznaczenia azotu w 2-dniowych roślinkach, bo z powodu zepsucia paru analiz nie cały zebrany z danej kultury materiał został tu zanalizowany.

Dane, dotyczące substancji suchej, popiołu i substancji organicznej, zebrane są w trzech pierwszych kolumnach tab. I. Przez

Tabela I.

Skład chemiczny. — *Composition chimique.*

Materiał <i>Matiériel</i>	W % substancji suchej nasion: <i>En % de la substance sèche des graines:</i>				
	1 Substancja sucha <i>Substance sèche</i>	2 Popiół <i>Cendres</i>	3 Substancja organiczna <i>Substance organique</i>	4 Azot <i>Azote</i>	5 Kwasy tłuszczowe <i>Acides gras</i>
Nasiona <i>Graines</i>	100.00	3.93 ± 0.021	96.07	3.67 ± 0.053	55.6 ± 0.311
2 dniowe roślinki <i>Plantules de 2 jours</i>	98.76	4.05 ± 0.062	94.71	3.6 ± 0.203	—
4 dniowe roślinki <i>Plantules de 4 jours</i>	101.57	4.57 ± 0.022	97.00	3.69 ± 0.090	—
6 dniowe roślinki <i>Plantules de 6 jours</i>	103.42	5.39 ± 0.073	98.03	3.68 ± 0.023	21.0 ± 0.172

pierwszy dwudniowy okres kiełkowania roślinki tracą 1.24% suchej wagi, natomiast przez następne dwudniowe okresy ilość substancji suchej wzrasta. Ogólny przyrost suchej wagi przez 6 dni kiełkowania wynosi 3.42%. Ten przyrost wagi jest po części spowodowany pobraniami przez roślinki substancjami mineralnymi. Zawartość popiołu wzrasta bowiem bardzo znacznie z 3.93% w nasionach do 5.39% w roślinkach 6-cio dniowych, czyli o 1.46% substancji suchej nasion.

Niemniej, na 3.42% przyrostu wagi, 1.96% przypada na substancję organiczną. Zawartość jej ulega podczas kiełkowania podobnym wahaniom jak substancja sucha: zmniejsza się przez pierwsze dwa dni kiełkowania, a wzrasta przez 4 dni następne. W nasionach substancja organiczna wynosi 96,07%, w 2-dniowych roślinkach 94.71%, natomiast w 6-cio dniowych roślinkach 98.03% substancji suchej nasion.

Ilość azotu w nasionach wynosi 3.67% substancji suchej i nie zmienia się zupełnie przez 6 dni kiełkowania. Liczby, znalezione dla nasion i roślinek w różnym wieku, są prawie identyczne. W badanych więc przeze mnie okresach kiełkowania i w danych warunkach hodowli, azot nie był pobierany z zewnątrz, ani też na zewnątrz wydalaný¹⁾.

Ogromne zmiany stwierdzamy natomiast w zawartości k w a s ó w t ł u s z c z o w y c h. Nasiona zawierają 55.6% kwasów tłuszczowych, 6-cio dniowe roślinki już tylko 21%. Jeśli kwasy tłuszczowe przeliczymy na tłuszcze, mnożąc przez współczynnik 1.046, to się okaże, że zawartość tłuszczów w nasionach wynosi 58.2%, zaś w 6-cio dniowych roślinkach 22% suchej wagi nasion. Przez 6 dni kiełkowania znikło więc 36.2% tłuszczów. Wynosi to 62.2% tłuszczów pierwotnie zawartych w nasionach, czyli blisko 2/3.

Wobec równoczesnego przyrostu ilości substancji organicznej o 1.96% (tab. I) wynika, że przez 6 dni kiełkowania w temp. 25°C roślinki wytworzyły 38.16% innych substancyj, prawdopodobnie węglowodanów, na miejsce zużytych tłuszczów. Ilość nowowytworzonych węglowodanów stanowiłaby wobec tego 105.4% ilości zużytych tłuszczów.

Wyniki moje są co do ilości zużytych tłuszczów i przyrostu ilości substancji suchej zgodne z wynikami innych autorów. Wszyscy stwierdzili znikanie znacznych ilości tłuszczów podczas kiełkowania. Przyrost suchej wagi we wczesnych okresach kiełkowania jest także zjawiskiem znanem oddawna. Już HELLRIEGEL (55) znalazł u kiełkującego w ciemności rzepaku 1.15% przyrostu suchej wagi, największy przyrost — bo aż 4.76% — znalazł JEGOROW ('04) u *Cucurbita*.

Natomiast ilość wytworzonych węglowodanów, obliczona z moich wyników, wydać się może niezwykle duża w porównaniu z ilościami znalezionymi przez większość autorów. Tylko FRANKFURT ('97) i JEGOROW ('04), którzy obok celulozy i cukrów oznaczali hemicelulozy i pentozany, znaleźli przyrost ilości węglowodanów, zbliżony do obliczonego przeze mnie.

Przybliżona chociaż znajomość składu chemicznego nasion i roślinek służyć może po pierwsze, za sprawdzian wyników spalań, bowiem ciepło, spalania 1 g substancji suchej powinno być równe sumie ciepła spalania poszczególnych składników, po drugie zaś — dla należytej interpretacji wyników doświadczeń oddechowych, mających wykazać, czy obok prze-

¹⁾ Skontrolowałam także dane MILLERA ('10) o zawartości cukrów i skrobi w nasionach. Moje nasiona zawierały 4% cukru trzcinowego, skrobi nie było wcale, tak samo jak w nasionach MILLERA. Śladów cukrów redukujących, o których wspomina MILLER, nie zdołałam wykryć.

kształceń tłuszczów zachodzą inne jeszcze reakcje, związane z pobieraniem tlenu i wydzielaniem dwutlenku węgla.

Poniżej więc na zasadzie własnych oznaczeń kwasów tłuszczowych i azotu oraz—oznaczeń węglowodanów FRANKFURTA ('94), próbuję dać orientacyjne zestawienie składu chemicznego nasion i roślinek słonecznika. W tym celu dla obliczenia ilości białek i tłuszczów mnożę ilość znalezionych kwasów tłuszczowych przez odpowiedni współczynnik (1.046), a ilość znalezionej azotu (tab. I) — przez współczynnik azotowy 5.5, ustalony dla białek nasion słonecznika przez OSBORNE'A i CAMPBELLA ('97) ¹⁾.

Skład chemiczny nasion słonecznika
w % substancji suchej nasion: -

Białka (3.67×5.5)	20.2%
Tłuszcze (55.6×1.046)	58.2%
Popiół	3.9%
	82.3%
Węglowodany (FRANKFURT)	9.0%
Substancje nieoznaczone	8.7%
	100.0%

Skład chemiczny 6-cio dniowych roślinek da się obliczyć ze znacznie mniejszą jeszcze dokładnością. Nie znamy bowiem wystarczająco procesów chemicznych, które obok przemiany tłuszczowej i tłuszczowo-węglowodanowej, zachodzą podczas kiełkowania słoneczników; wiemy tylko, że są one ilościowo nieznaczące. Dokładne jakościowe i ilościowe analizy, które wykonał FRANKFURT ('94), wykazały raz jeszcze, że oprócz węglowodanów, żadne inne związki nie powstają w znaczniejszych ilościach a ogólna ilość tych związków prawie żadnej nie ulega zmianie. Natomiast według zgodnych danych FRANKFURTA ('94) i MILLERA ('10), 37% białek ulega hydrolizie, co pociągnąć za sobą musi pewne zmiany w ogólnej ilości związków azotowych. Nie uwzględniając tych zmian, popełnia się niewątpliwie pewien błąd, nie dający się oszacować.

Skład chemiczny 6-cio dniowych roślinek
w % substancji suchej nasion:

Białka (3.67×5.5)	20.2
Tłuszcze (21×1.046)	22.0
Popiół	5.4
	47.6
Węglowodany (obliczone $38.2 + 9$)	47.2
Substancje nieoznaczone	8.6
	103.4

¹⁾ Cytuję według MILLERA ('10), bo wspomnianej pracy nie udało mi się dostać.

Według tych zestawień, podczas sześciu dni kiełkowania skład chemiczny nasion uległ bardzo gruntownej przemianie: w nasionach tłuszcze stanowią 58.2% suchej wagi, w roślinkach pierwsze miejsce ilościowo zajmują węglowodany, wynosząc około 47% suchej wagi nasion, a blisko 44% substancji suchej roślinek.

Tym chemicznym zmianom powinno odpowiadać w dziedzinie energetyki znaczne obniżenie ciepła spalania, a w wymianie gazowej — zatrzymywanie dużych ilości tlenu w organizmie.

Ciepło spalania.

Dla poznania przemiany energetycznej kiełkujących nasion słoneczników rozporządzamy dwiema metodami: bezpośrednimi pomiarami kalorymetrycznymi i oznaczaniem ciepła spalania.

Pierwsza z tych metod nadaje się najlepiej dla poznania natężenia i przebiegu przemian energetycznych w poszczególnych okresach kiełkowania. Niestety, nie udało mi się, jak już wspomniałam, przezwyciężyć trudności związanych z zastosowaniem jej do roślin¹⁾. Podaję więc poniżej tylko wyniki spalań.

Spalania wykonywano w bombie kalorymetrycznej BERTHELOTA systemu MAHLERA. Materiał spalał się gładko, tak że nie trzeba było dodawać żadnych substancyj, ułatwiających spalanie, prócz nitki łączącej drucik platynowy między elektrodami z substancją, umieszczoną na dnie platynowego tygielka.

Do kultur brano po 40 nasion najstaranniej dobranych na wagę (największa różnica między pojedynczemi nasionami wynosiła 5 mg, t. j. < 10% wagi pojedynczego nasienia). Przeciętna waga przeliczona na 100 nasion wynosiła $5.2141 \text{ g} \pm 0.0138$, a największe odchylenia od przeciętnej wagi wyniosły < 1% (tab. II). Równolegle prowadzono kultury, przeznaczone do oznaczania tłuszczów, ponieważ ścisłe porównanie wyników spalań i oznaczeń tłuszczów ma dla tej pracy podstawowe znaczenie.

Materiał przeznaczony do spalań rozdrabniano i suszono w powyżej opisany sposób (str. 111), nie wykluczający całkowicie utleniania tłuszczów. Znalezione ciepła spalania mogłyby więc być ewentualnie nieco mniejsze od rzeczywistych. O ile jednak się przyjmie, według v. FÜRTHA ('03) i MILLERA ('12, por. str. 105), że wskaźnik jodowy podczas badanych przeze mnie okresów kiełkowania mało się zmienia, czyli że ilość nienasyconych kwasów tłuszczowych pozostaje mniej więcej ta sama, to błąd, pochodzący z utleniania tłuszczów, jednakowo obciąża wszystkie spalania.

¹⁾ Kiełkujące nasiona są nadzwyczaj wrażliwe na brak wody, o ile korzonki nie są należycie zanurzone w wodzie, przemiany chemiczne przebiegają całkiem nieprawidłowo. Tymczasem dodanie większej ilości wody do kalorymetru zmniejsza jego czułość.

Wyniki spalań przedstawione są na tabeli II. Spalano nasiona i 2, 4 i 6-cio dniowe roślinki. W pierwszych dwóch kolumnach tabeli podana jest sucha waga 100 nasion (waga świeżych nasion, mniej 3,7% wody) i sucha waga 100 roślinek. W następnych kolumnach tabeli (3—7) podane są szczegółowe dane, dotyczące spalań. W ostatnich dwóch kolumnach znajdujemy ciepło spalania przeliczone na 100 roślin i na 1 g suchej wagi nasion.

Tabela II.

Serja spalań № IV. — *Série de combustions* № IV.

Materiał <i>Matiériel</i>	1 Sucha waga 100 nasion <i>Poids sec de 100 graines</i> g	2 Sucha waga 100 roślin <i>Poids sec de 100 plantules</i> g	3 Ilość spalań <i>Nombre de combustions</i>	20 Ilość roślinek spalonych <i>Nombre de plantules brûlées</i>	5 Sucha waga roślinek spalonych <i>Substance sèche brûlée</i> g	6 Ciepło spalania substancji <i>Chaleur de combustion de la substance</i> g. kal	7 Ciepło spalania 1 g substancji <i>Chaleur de combustion par gramme de substance sèche</i> g. kal	8 Ciepło spalania 100 roślinek <i>Chaleur de combustion de 100 plantules</i> g. kal	9 Ciepło spalania obliczone na 1 g substancji suchej nasion <i>Chaleur de comb. par gram. de poids sec des graines</i> g. kal
Nasiona <i>Graines</i>	5.2206	—	4	32	1.6706	12246	7330 ± 0.09%	38269	7330
2-dniowe roślinki <i>Plantules de 2 jours</i>	5.1713	5.1072	4	26	1.3278	9568	7206 ± 2.44%	36800	7116
4-dniowe roślinki <i>Plantules de 4 jours</i>	5.2017	5.2843	4	27	1.4236	8767	6158 ± 0.57%	32470	6243
6-dniowe roślinki <i>Plantules de 6 jours</i>	5.2628	5.4428	4	21	1.1430	5830	5101 ± 2.51%	27762	5275

Podane w tab. I ciepło spalania 1 g substancji suchej jest średnią z 4 spalań. Przeciętny błąd tej średniej obliczony z odchyłek w poszczególnych spalaniach, wynosi dla nasion mniej niż 0.1% i jest miarą zarówno błędu pomiarowego, jak i wahań wartości energetycznej nasion (spalane były całe nasiona). Znacznie większe przeciętne błędy średniej w innych spalaniach (do 2.5%), przypisać należy złemu wymieszanemu materiałowi.

Widzimy z danych tabeli II, że ciepło spalania 1 g substancji suchej nasion wynosi 7330 g. kal. Tak wysokie ciepło spalania jest spowodowane zawartością 58.2% tłuszczów w nasionach (tabl. I). Strata energii podczas pierwszych dwóch dni kiełkowania jest

niewielka, bo ciepło spalania 1 g substancji suchej 2-dniowych roślinek wynosi 7206 g. kal. Natomiast od 2-go dnia kiełkowania począwszy straty energii znacznie wzrastają: 1 g subst. suchej 6-cio dniowych roślinek ma ciepło spalania, wynoszące już tylko 5101 g. kal. Odpowiada ono, jak widzieliśmy, zawartości tłuszczów 22.0% (tabl. I).

Dla ściślejszej oceny strat energetycznych najdogodniejsze jest przeliczenie wyników na 1 g substancji suchej nasion, przy którym eliminuje się tak zmiany wagi roślinek podczas kiełkowania, jak i błędy, wynikające z nierównej wagi nasion. Przeliczenie to podane jest w ostatniej kolumnie tabl. II. Ciepła spalania 1 g nasion, wynoszącemu 7330 g. kal., odpowiada 5275 g. kal. u 6-cio dniowych roślinek. Strata energii wynosi więc 2055 g. kal., co w procentach równa się 28.01% pierwotnej energii nasion. Na poszczególne dwudniowe okresy kiełkowania straty energii rozłożone są jak następuje:

0—2 dni	214 g. kal.	2.92%
2—4 „	873 „ „	11.92%
4—6 „	968 „ „	13.19%

W drugim okresie ilość kaloryj straconych jest przeszło 4 razy, w trzecim $4\frac{1}{2}$ razy większa, aniżeli w pierwszym. Z liczb podanych wnosiliby można, że przez całe 6 dni kiełkowania natężenie przemian energetycznych stale wzrasta. Zbyt długie bo 2-dniowe odstępy czasu między spaleniami sprawiają, że nie dają one dokładnego obrazu przebiegu procesów energetycznych. Przebieg doświadczeń oddechowych wykaże, że maksimum natężenia metabolizmu przypada na 4-ty dzień kiełkowania. Straty energetyczne między 2 a 4-tym dniem leżą więc na podnoszącym się, między 4-tym a 6-tym dniem — na opadającym ramieniu krzywej intensywności.

Spalania wykazały bardzo dużą zmienność ciepła spalania nasion. Ogromne różnice wykazują przedewszystkiem różne gatunki nasion (np. nasiona małych ogrodowych słoneczników w serji I). Różnice między ciepłem spalania jednego gatunku nasion pochodzących z różnych zbiorów, mogą też być dosyć znaczne, jak np. ciepła spalania w serji II, a III i IV.

	Sucha waga 100 nasion	Ciepło spalania 1 g. subst. such.
Jeden gatunek,	Serja IV	5.2206 g
jeden zbiór:	Serja III	5.446 „
Inny zbiór:	Serja II	5.770 „
Inny gatunek:	Serja I	2.3597 „
		7330 g. kal.
		7439 „
		6954 „
		6352 „

Najważniejszą jest jednak zmienność nasion tego samego gatunku i zbioru, z którą trzeba nieustannie liczyć się przy doświadczeniach. Naogół im większe, t. j. im bliżej brzegu tarczy wyrosłe, i im dojrzsze nasiona — tem wyższe mają ciepła spalania. Np. różnica wagi 4.4% między nasionami z serji III i IV powoduje już różnicę 1.5% w ciepłe spalania substancji suchej nasion. Wykazuje to najlepiej, jak wielkie znaczenie ma dobór nasion dla zgodności wyników.

Wyniki próbnych seryj spalań, do których używałam trzech gatunków nasion, wypróbowując przytem różne metody prowadzenia kultur, nie są ściśle porównywalne z wynikami serji IV, dlatego nie podaję szczegółowych ich wyników. Straty energii były wszędzie mniej więcej tej samej wielkości. Największe straty energii wykazała serja III: po 4 dniach kiełkowania roślinki straciły 17% pierwotnej energii,¹⁾ wobec 14.8% w serji IV-tej. W serji II-giej, przez 6 dni kiełkowania, roślinki straciły 27% energii, a przez ten sam czas w serji IV-ej — 28%. Zgodność tych dwóch ostatnich wyników jest ważna, ponieważ nasiona z innego zbioru, użyte do II serji spalań, służyły także do doświadczeń oddechowych.

Zgodność wyników spalań i analiz chemicznych sprawdzić można przez przybliżone obliczenie wartości kalorycznej związków, wchodzących w skład nasion słoneczników (str. 115).

W tym celu posługiwać się musimy ciepłem spalania, ustalonym przez różnych badaczy dla poszczególnych związków organicznych. Ścisłość tych oznaczeń, zwłaszcza gdy chodzi o białka roślinne²⁾, wiele nieraz pozostawia do życzenia. Nie oznaczałam, niestety, ciepła spalania kwasów tłuszczowych wyizolowanych z nasion i roślinek słoneczników, więc i tutaj posługiwać się muszę wynikami innych badaczy³⁾, w tym przypadku o wiele ściślej. Przyjmuję następujące ciepła spalania dla 1 g substancji:

¹⁾ W serji tej spalano zbyt małe ilości substancji, dlatego wyniki jej nie są całkiem pewne.

²⁾ Ciepło spalania białek słoneczników nie było, o ile wiem, nigdy oznaczane. Ciepła spalania innych białek roślinnych wahają się od 5.48 do 5.99 kg. kal. Przyjmuję wartość średnią: 5.70 kg. kal.

³⁾ Ciepło spalania tłuszczów roślinnych waha się od 9.40 do 9.45 kg. kal. Ciepła spalania kwasów tłuszczowych i gliceryny, wchodzących w skład tłuszczów słonecznikowych:

1 g. mol kw. palmitynowego	2374.2 kg. kal
1 " " " oleinowego	2684.5 " "
1 " " " linolenowego	2631.2 " "
1 " " " gliceryny	397.3 " "
	8087.2 kg. kal.

Białka	5700 g. kal
Tłuszcze	9400 „ „
Glukoza	3760 „ „
Cukier trzcinowy	3962 „ „
Celuloza	4185 — 4200 „ „

Na zasadzie tych liczb i tego, co wiemy o składzie chemicznym nasion (str. 115), wartość energetyczna nasion wynosząca 7330 g. kal. byłaby rozdzielona, jak następuje, między poszczególne składniki:

Białka	0.202 g (× 5700)	= 1151 g. kal
Tłuszcze	0.582 „ (× 9400)	= 5471 „ „
Popiół	0.039 „	—
	0.823 g	= 6622 g. kal
Węglowodany i nie- oznaczone substancje	0.177 g	= 708 g. kal
	1.000 g	7330 g. kal

Ciepło spalania węglowodanów i nieoznaczonych substancyj wynosiłoby według tego zestawienia 4000 g. kal. Jest to wartość pośrednia między ciepłem spalania cukru trzcinowego i celulozy, dwóch głównych składników węglowodanowych nasion. Zgodność wyników spalań ze składem chemicznym nasion można wobec tego uznać za wystarczającą.

Porównanie ciepła spalania i składu chemicznego 6-ciu dniowych roślinek, jest o wiele mniej dokładne, ponieważ niepodobna ocenić wydajności kalorycznej wszystkich reakcyj, jakie podczas kiełkowania zachodzą.

O wydajności takich np. reakcyj, jak przechodzenie azotu białkowego w nukleinowy (FRANKFURT '94), nie wiadomo nic zgoła. Efekt kaloryczny hydrolizy białek jest, o ile wiadomo, bardzo słaby. Ponieważ jednak przyjąć możemy (FRANKFURT '94, MILLER '10), że podczas 6-ciu dni kiełkowania 37% azotu białkowego przechodzi w azot niebiałkowy, więc pewną choć niewielką część ciepła wydzielonego przypisać można hydrolizie białek. Pewien wpływ na ciepło spalania tłuszczów mogłoby mieć utlenianie nienasyconych kwasów tłuszczowych podczas kiełkowania. O ile sądzić można z niezbyt zgodnych wyników v. FÜRTHA ('03) i MILLERA ('12), wskaźnik jodowy kwasów tłuszczowych słonecznika podczas badanych przeze mnie okresów kiełkowania prawie się nie zmienia.

Dzieląc przez ciężar molarny cząsteczki tłuszczowej = 856, otrzymujemy $\frac{8087.2}{856} = 9.448$ kg. kal.

Jak z oznaczeń ciepła spalania myrystyny, lauriny oraz kwasu myrystynowego i laurynowego wynika, suma ciepła spalania składników jest tylko o jakie 0.1% wyższa od ciepła spalania tłuszczów. Zaokrąglając otrzymaną liczbę do 9.40 kg. kal. popełniam błąd < 0.5%.

Powyższe dane wzięte są z: LANDOLT-BÖRNSTEIN, Physikalisch-chemische Tabellen ('12) i z prac cytowanych przez niego autorów.

Pomijając te wszystkie reakcje (por. str. 105), obliczam ciepło spalania roślinek, tak jakgdyby żadne inne reakcje prócz reakcyj tłuszczów podczas kiełkowania nie zachodziły.

Ciepło spalania 6-cio dniowych roślinek
na 1 g suchej wagi nasion:

Białka	0.202 g	(× 5700)	1151 g. kal
Tłuszcze	0.220 "	(× 9400)	2068 "
Popiół	0.054 "		— "
	<hr/>		
	0.476 g		3219 g. kal
Węglowodany i nie- oznaczone substancje	0.558 "		2056 g. kal
	<hr/>		
	1.034 g		5275 g. kal

Ciepło, spalania 1 g substancyj nieoznaczonych i węglowodanów wynosi tutaj 3684 g. kal., jest więc cokolwiek za niskie.

Z zestawień tych wynika, że wartość energetyczna zużytych tłuszczów ($0.362 \text{ g} \times 9400 \text{ g. kal} = 3403 \text{ g. kal}$) jest o wiele większa od ogólnych strat energetycznych (2055 g. kal). Prawie 40% energii tłuszczów zostają zatrzymane w organizmie, w formie nowowytworzonych substancyj. Ilościowo substancje te przewyższają ciężar zużytych tłuszczów, jak wynika z przyrostu ilości substancji organicznej, o 1.96% (tab. I), energetycznie są o wiele mniej wartościowe. Stąd pochodzi obniżenie ciepła spalania substancji suchej podczas kiełkowania z 7330 g. kal na 5101 g. kal, przy równoczesnej gruntownej zmianie w rozkładzie wartości energetycznej między poszczególne składniki. W nasionach 74.6% energii przypada na tłuszcze, a tylko około 9.7% na węglowodany, natomiast w 6-cio dniowych roślinkach wartość energetyczna tłuszczów stanowi już tylko 39%, wartość energetyczna węglowodanów i nieoznaczonych substancyj także około 39% całej energii potencjalnej roślinek.

Z porównania ubytku tłuszczów z ciepłem spalania widzimy więc (tab. I i II), że obok dominującej roli tłuszczów charakterystyczną cechą metabolizmu chemiczno-energetycznego kiełkujących słoneczników jest strata dużych ilości energii, połączona z przyrostem substancji organicznej. Straty energetyczne wyrażają się tu przede wszystkim w obniżeniu ciepła spalania substancji suchej, procesy zaś chemiczne są nie tylko spalaniem, ale w dużej mierze przekształceniem tłuszczów na węglowodany.

Jedynie dane, dotyczące ciepła spalania nasion tłuszczowych, jakie znajdujemy w literaturze, zawdzięczamy F. TERROINE'owi i jego współpracownikom¹⁾. Ciepła spalania nasion tłuszczowych oznaczone przez tego badacza są naogół zbliżone do moich. Ciepło spalania nasion *Arachis* wynosi 6756 do 7441 g. kal., a nasion lnu 6400 g. kal. Dla słoneczników TERROINE znalazł z małymi odchyleniami około 6740 g. kal., a więc niższą ode mnie wartość kaloryczną. Wobec wspomnianych (str. 118) różnic między ciepłem spalania różnych gatunków nasion słonecznika, ta odmiennosc wyników jest zupełnie zrozumiała.

TERROINE spalał roślinki zwykle tylko w dwóch lub trzech odległych od siebie stadiach rozwoju: słoneczniki zaś — tylko po 5 i 11 dniach kiełkowania. Ponieważ spalał osobno kotyledony, a osobno hypokotyle i korzenie, więc liczby jego wymagają zsumowania dla porównania z mojami. Okazuje się wtedy, że 5-dniowe roślinki od początku kiełkowania straciły przeciętnie 2.5% początkowej wagi suchej i 21.7% energii, 11-to dniowe od początku kiełkowania — 1.85% suchej wagi i 19.8% energii. Ponieważ temperatura, w której hodowane były roślinki, nie jest podana, wolno przypuszczać, że powodem zwolnienia tempa rozwoju 11-dniowych roślinek była niższa temperatura. Wobec tego niepodobna z liczb autora wyciągać jakichkolwiek wniosków co do intensywności i przebiegu procesów energetycznych.

Doświadczenia oddechowe.

Dla badania wymiany gazowej wybrano metodę długotrwałych doświadczeń. Poszczególne doświadczenia trwały około 24 godzin, a serje obejmowały cały badany okres kiełkowania. Jedne i te same roślinki przez cały czas doświadczenia rosły i rozwijały się w aparacie oddechowym. Stanowi to jedną z głównych zalet tej metody, wyklucza bowiem wszelkie błędy, pochodzące z indywidualnych różnic między roślinkami. Unika się przytem także drugiego, jeszcze poważniejszego źródła błędu, mianowicie zmiany warunków zewnętrznych w chwili rozpoczynania doświadczeń. Na zmiany takie, zwłaszcza na zmiany wilgotności, rośliny są nadzwyczaj wrażliwe²⁾.

Do doświadczeń używano aparatu oddechowego BIALASZEWICZA ('16). Ponieważ w tym aparacie doświadczenia odbywają się w zbiorniku zamkniętym, brano do doświadczeń taką ilość roślinek, aby zmiany składu atmosfery nie wpływały szkodliwie na procesy oddechowe.

Według zgodnych wyników STICHA ('91) i POURIEWITCZA ('05), wpływ składu atmosfery na iloraz oddechowy kiełkujących nasion zaznacza się

¹⁾ TERROINE, BONNET i JOESEL ('24), TERROINE, TRAUTMANN i BONNET ('26).

²⁾ Wobec tej wrażliwości roślin nie mogą porównywać ze swoimi wyników niektórych autorów, np. KIDDA, WESTA i BRIGGSA ('21), którzy odchylen spowodowanych brakiem wody nie uwzględniali.

dopiero wtedy, gdy zawartość tlenu w atmosferze spada do 4—5%. Według POURIEWITCHA przy 5.8% tlenu ilaraz oddechowy młodych roślinek słonecznika jest zupełnie taki sam, jak w normalnej atmosferze. Natomiast według GODLEWSKIEGO ('82, dośw. IV) ilość tlenu, pobieranego przez kiełkujące nasiona tłuszczowe, zaczyna się zmniejszać, gdy zawartość jego w aparacie wynosi 9—10%.

W większości moich doświadczeń ilości tlenu i dwutlenku węgla w aparacie były dalekie od szkodliwych koncentracji. W serji I (tab. II) tylko w doświadczeniach 4 i 5-tem ilości O_2 pobranego wynosiły blisko 13%, ilości CO_2 wydzielonego około 7% pierwotnej ilości powietrza w aparacie. Tylko w tych dwóch przypadkach możnaby podejrzewać, że skład atmosfery pod koniec doświadczeń wywarł jakiś szkodliwy wpływ na wymianę gazową.

Doświadczenia nie były prowadzone aseptycznie. Pleśni nigdy nie zauważono. Rozwój innych mikroorganizmów nie był jednak wykluczony, a udział ich w wymianie gazowej nie daje się oszacować. Dla zorientowania się w wielkości tego źródła błędu po skończeniu drugiej serji doświadczeń wyjęłam roślinki z aparatu bez usuwania drobnych korzonków z piasku, poczem aparat zamknęłam z powrotem. Po 48 godz. zmierzyłam zmiany zaszele w składzie powietrza. Mimo pomyślnych dla rozwoju mikroorganizmów warunków, ilość wydzielonego CO_2 stanowiła 2%, ilość pobranego O_2 — 1.4%, ilości gazów znalezionych w czasie ostatniego 20-godzinnego doświadczenia. W czasie samego doświadczenia udział mikroorganizmów w wymianie gazowej był więc prawdopodobnie nieznaczny. Jeśli chodzi o porównalność wyników doświadczeń oddechowych z wynikami innych doświadczeń, to zaznaczyć należy, że warunki zewnętrzne w aparacie oddechowym nie były identyczne z warunkami rozwoju w innych kulturach. Atmosfera w aparacie była całkowicie nasycona parą wodną, zaś w termostacie nasycenie wynosiło 70 do 80%. Temperatura była średnio o jaki 1° niższa. Dalej, serja I doświadczeń oddechowych robiona była na nasionach z innego zbioru; sprawdzono jednak, że strata energii tych nasion była prawie taka sama jak w IV-tej serji spalań (27% wobec 28%, por. str. 119).

Podaję tutaj wyniki I serji doświadczeń oddechowych (tab. III i rys. 3), jako najkompletniejszej z wszystkich i ze wszechmiar typowej. W serji tej użyto do doświadczeń 10 wyluskanych nasion słonecznika, czwartego dnia wyjęło 3 nasiona z powodu wzmoczonej intensywności oddychania. Nie wpłynęło to na poprawność wyników, ponieważ przy tak małej ilości nasion możliwy jest bardzo staranny ich dobór. Prawdopodobny błąd pomiarowy (0.15 cm^3) zaważyć może tylko na wynikach pierwszego dnia doświadczenia, podczas którego ilości gazów są najmniejsze. Błąd ten wynosiłby tu bowiem 4.0% względnie 3.7%. Serja I zawiera, niestety, jeden niepewny pomiar 6-go dnia kiełkowania. Ilości CO_2 znalezione tego dnia są stanowczo za małe (na tab. III ujęte w klamry), skutkiem czego i ilaraz oddechowy jest tego dnia wyjątkowo niski. Ponieważ we wszystkich innych doświadczeniach w tym okresie kiełkowania ilość CO_2 z dnia na dzień bardzo powoli i równomiernie się zmniejszała, przypisuję zbyt małą ilość

znalezonego CO_2 przypadkowemu błędowi pomiarowemu i nie uwzględniam ani na rys. 3, ani w moich rozumowaniach.

Przeglądając liczby podane na tab. III i ich graficzne przedstawienie na rys. 3, widzimy, że krzywa wymiany gazowej jest krzywą jednowierzchołkową z maksimum, przypadającym na 4-ty dzień kiełkowania. Intensywność wymiany gazowej wzrasta przez pierwsze cztery dni kiełkowania, aby następnie powolniej opadać. Jeśli za miarę intensywności oddychania weźmiemy O_2 pobrany, to twierdzić możemy, że intensywność ta przez 4 dni wzrasta 18-krotnie. Ilość tlenu pobranego przez 100 roślin na godzinę wynosi pierwszego dnia 1.72 cm^3 , a czwartego 31.09 cm^3 ; siódmego dnia ilość ta wynosi już tylko 20.11 cm^3 .

Ilość CO_2 wydzielonego również wzrasta przez pierwsze 4 dni, ale wolniej bo z 1.60 cm^3 na 15.17 cm^3 , czyli mniej niż 10-krotnie. Skutkiem tego czwarty dzień kiełkowania jest dniem przełomowym nie tylko dla intensywności, ale i dla jakości wymiany gazowej. Dnia tego stosunek CO_2 wydzielonego do O_2 pobranego jest najniższy. Ilustrują to najlepiej ilorazy oddechowe: pierwszego dnia RQ jest bliski jedności, bo wynosi 0.928, spada już drugiego dnia na 0.721, a czwartego do 0.488, poczem zaczyna się podnosić i siódmego dnia osiąga wartość 0.644. Inne serje doświadczeń wykazały, że następnym dniem wartość ilorazu oddechowego dalej powoli wzrasta.

Z tab. II i rys. 3 wynika więc, że tak intensywność jak i charakter wymiany gazowej przez cały czas kiełkowania nieustannie zmieniają się. Tę samą zmienność, co 24-godzinne doświadczenia, wykazały i krótsze pomiary, uważać ją więc można za typową dla procesów oddechowych kiełkujących słoneczników. We wszystkich serjach doświadczeń oddechowych tak, jak w serji I, najniższy iloraz oddechowy schodził się zawsze z maksimum intensywności.

W serji I ten najniższy iloraz oddechowy wynosił 4-go dnia 0.488. W II serji w okresie maksimum wykonałam krótszy 6-godzinny pomiar i znalazłam iloraz oddechowy 0.380, najniższy, jaki mi się udało stwierdzić.

Porównanie znalezionych ilorazów oddechowych z teoretycznymi, prowadzi do ich interpretacji. Iloraz, znaleziony pierwszego dnia kiełkowania (0.928), wskazywałby na spalanie przede wszystkim cukrów obok niewielkiej ilości tłuszczów; prawdo-

Tabela III.

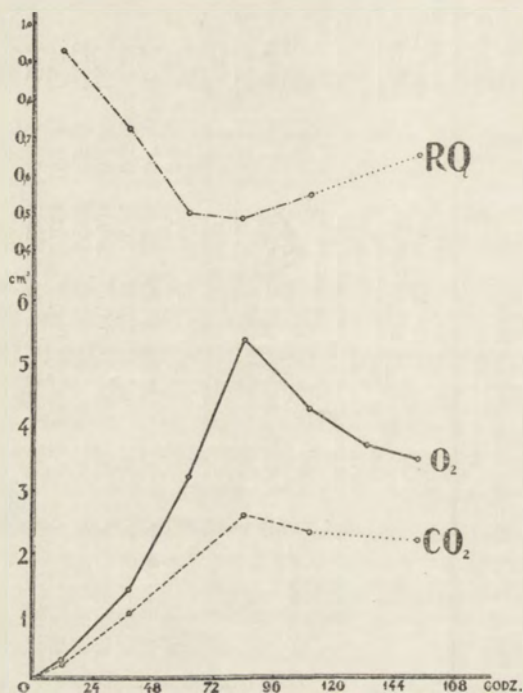
Świeża waga 100 nasion = 6.09 g.
Poids frais de 100 graines = 6.09 gr.

Doświadczenie oddtechowe. Serja I.
Exchange gazeux. Série I.

Sucha waga 100 nasion = 5.77 g.
Poids sec de 100 graines = 5.77 gr.

№ do- świad- czenia N° de l'expé- rience	Ilość roślinek Nombre de plant.	Tempe- ratura Tempe- rature °C	Początek doświadczenia Commencement de l'expérience	Koniec doświadczenia Fin de l'expérience	Czas trwania do- świad- czenia Durée de l'ex- périence	Czas średni od po- czątku kiefko- wania Temps moyen	Produkt- cja CO ₂ dégagé		Zużycie O ₂ absorbé		RQ.	Produkt- cja CO ₂ dégagé		Zużycie O ₂ absorbé	
							cm ³	cm ³	cm ³	cm ³		cm ³	cm ³	cm ³	cm ³
1	10	24.1 ⁰	9.III. 14h 50'	10.III. 14h 15'	23.5	11.7	3.76	4.05	0.928	1.60	1.72	0.277	0.299		
2	10	23.4 ⁰	10.III. 15h 12'	11.III. 18h 52'	27.7	38.3	16.75	23.23	0.721	6.05	8.39	1.048	1.454		
3	10	23.4 ⁰	11.III. 19h 15'	12.III. 14h 22'	19.1	62.0	17.92	35.62	0.503	9.38	18.65	1.626	3.232		
4	7	24.4 ⁰	12.III. 15h 30'	13.III. 14h 30'	23.0	84.2	24.43	50.05	0.488	15.17	31.09	2.629	5.388		
5	7	24.2 ⁰	13.III. 14h 50'	14.III. 18h 35'	27.7	110.1	26.44	48.50	0.545	13.63	25.00	2.362	4.333		
6	7	24.4 ⁰	14.III. 19h 35'	15.III. 13h 50'	18.2	133.9	(11.16)	27.34	(0.408)	(8.76)	21.46	(1.518)	3.719		
7	7	24.5 ⁰	15.III. 15h 5'	16.III. 14h 5'	23.0	153.7	20.86	32.37	0.644	12.95	20.10	2.244	3.483		

podobnie na pierwsze potrzeby energetyczne roślina zużywa część małego zapasu cukru trzcinowego (4%), który zawierają nasiona. Znaleziony drugiego dnia kiełkowania iloraz oddechowy (0.721) odpowiada prawie zupełnie teoretycznemu ilorazowi spalania tłuszczów. W ciągu następnych pięciu dni kiełkowania odbywają się widocznie obok spalania tłuszczów inne reakcje, po-



Rys. 3. Doświadczenia oddechowe. Serja I. CO₂ wydzielone i O₂ pobrane przez 1 g suchej wagi nasion na godzinę.

Fig. 3. Expériences respiratoires. Série I. O₂ et CO₂ par gramme de poids sec et heure.

legające na wiaźaniu tlenu, ilość bowiem tego ostatniego znacznie przewyższa ilość CO₂ wydzielonego (RQ = 0.488 — 0.644). Wielkie ilości tłuszczów, jakie znikają podczas kiełkowania (tab. II i str. 114) doprowadziły nas do wniosku, że tłuszcze w znacznej mierze przerabiane są na węglowodany. Pobieranie nadmiaru tlenu, stwierdzone w doświadczeniach oddechowych, jest w zupełnej zgodzie z tym wnioskiem, ponieważ przemiana tłuszczów na węglowodany musi być połączona z zatrzymywaniem tlenu w organizmie.

Dla porównania wyników spalań, robionych co 48 godz., z wynikami doświadczeń oddechowych, obliczamy ilości O_2 i CO_2 pobrane i wydzielone w ciągu 48 godzin oraz w ciągu całych 6 dni kiełkowania.

Przez 6-cio dniowy okres kiełkowania, czyli przez 144 godzin, doświadczenia trwały 139.2 godz., a przerwy między nimi 4.8 godz. (tab. III), co stanowi 3.3% całego czasu. Obliczając więc za pomocą interpolacji ilości gazów pobrane i wydzielone podczas przerw, popełnia się błąd minimalny. Większy błąd w interpolacji popełnia się, obliczając ilości gazów w pierwszym i drugim dwudniowym okresie kiełkowania, bo doświadczenie drugiego dnia skończyło się po 52, a nie po 48 godz. (tab. III).

Obliczone na 1 g suchej wagi nasion ilości O_2 i CO_2 wydzielone przez 48 godz. wynoszą:

	O_2		CO_2		RQ
	cm ³	mg	cm ³	mg	
0 — 48 godz.	38.7	55.3	30.8	57.5	0.795
48 — 96 „	202.8	289.8	100.8	199.3	0.497
96 — 144 „	196.1	280.2	97.3	192.4	0.496
przez 6 dni	437.6	625.3	228.9	449.2	0.523

Jak widzimy, charakter krzywej O_2 i CO_2 (rys. 3) zaciera się zupełnie po przeliczeniu wyników na 48-godzinne okresy: maksimum intensywności oddychania dopatrzeć się tu nie można. Natomiast wyniki doświadczeń oddechowych okazują się bardzo zbliżone do wyników spalań (por. tab. II i str. 36). Zbliżone, ale nie całkiem równoległe. W drugim dwudniowym okresie są np. ilości O_2 5.24 razy, w trzecim — 5.06 razy większe aniżeli w pierwszym. Ilość kaloryj wydzielonych wzrasta w tych okresach 4.08 i 4.52 razy, czyli nieco mniej niż ilości O_2 (por. str. 118). Pomijając nawet niedokładności w obliczaniu ilości O_2 i CO_2 , zupełna równoległość jest niemożliwa z teoretycznych względów. Według doświadczeń oddechowych w pierwszym okresie odbywają się tylko spalania, reakcje o wyższym współczynniku kalorycznym tlenu¹⁾, w dwóch następujących okresach także prze-

¹⁾ Dla spalania tłuszczów: g. kal/mg O_2 = 3.26; g. kal/mg CO_2 = 3.32. Dla przerabiania tłuszczów na węglowodany: g. kal/mg O_2 = 2.61. Uzasadnienie tych współczynników poniżej na str. 59. Porównać także BERTHELOT, Chaleur animale.

kształcanie tłuszczów na węglowodany, reakcja o współczynniku niższym. Stąd wzrost ilości wydzielonych kaloryj jest mniejszy od wzrostu ilości pobranego tlenu.

Ogólnym stratom energetycznym, które na 1 g substancji suchej nasion wynoszą 2055 g. kal., odpowiada 625 mg. O₂ pobranego i 449 mg. CO₂ wydzielonego. Dla całego 6-cio dniowego okresu kiełkowania współczynnik kaloryczny CO₂ wynosi więc 4.58, współczynnik kaloryczny O₂ — 3.28. Pierwszy, bardzo wysoki, wskazuje, że znaczna część energii straconej pochodzi z reakcyj, nie połączonych z wydzielaniem CO₂, czyli — z przerabiania tłuszczów na węglowodany. Drugi, powinien więc być pośredni między współczynnikami dla spalania i przerabiania tłuszczów, jest tymczasem za wysoki. To odchylenie od teoretycznego współczynnika wskazuje, że część strat energetycznych przypisać trzeba jakimś innym beztlenowym reakcjom, zachodzącym w organizmie, po części może hydrolizie białek.

Wyniki moich doświadczeń oddechowych są naogół podobne do wyników dawniejszych autorów. Wymienić tu należy przede wszystkim GODLEWSKIEGO ('82) oraz BONNIERA i MANGINA ('84), którzy bardzo gruntownie i wszechstronnie badali wymianę gazową kiełkujących nasion; GODLEWSKI znalazł dla nasion tłuszczowych ilorazy oddechowe wyższe od moich (dla *Linum* najniższy 0.557), BONNIER i MANGIN znacznie niższe (dla *Linum* najniższy 0.30). Różnice między wynikami tych autorów tłumaczyć można różnymi metodami oznaczania ilości gazów: błędy tych metod w przeciwnych kierunkach wpływały na wyniki ¹⁾. BONNIER i MANGIN stwierdzili istnienie maksimum intensywności oddychania podczas kiełkowania nasion tłuszczowych. Krzywa współczynników oddechowych podana przez tych autorów dla *Linum*, jest zupełnie podobna do krzywej podanej przeze mnie na rys. 3. I tu i tam najniższy współczynnik oddechowy przypada na maksimum intensywności oddychania.

GODLEWSKI nie zajmuje się sprawą zmian intensywności oddychania podczas kiełkowania, których ocenę zresztą utrudnia niestała temperatura, w której robione były doświadczenia. Niemniej w trzech doświadczeniach, które sam autor wyróżnia jako najlepsze (dośw. VII, VIII, III), maksimum to występuje wyraźnie, jak również typowe zmiany wartości ilorazu oddechowego. Autor, interpretując swoje wyniki, odróżnia 3 okresy kiełkowania: I okres — to okres spalania węglowodanów, II okres — przy

¹⁾ Pomijam tu wyniki POURIEWITCHA ('05), według którego niskie temperatury wpływają na obniżenie współczynników oddechowych. Dla *Helianthus* w temp. 4 — 5° C znalazł on RQ = 0.15. FERNANDEZ ('23) na zasadzie bardzo licznych i metodycznie poprawnych doświadczeń przeczy bowiem wpływowi temperatury na ilorazy oddechowe.

$CO_2/O_2 = 0.55 - 0.66$, to okres głównie przerabiania tłuszczów na węglowodany, III okres przy wzrastających ilorazach oddechowych, to okres tworzenia celulozy z cukrów oraz spalania tychże na potrzeby energetyczne organizmu. Wyniki moje dają się łatwo podciągnąć pod ten szemat z wyrażnym jednak zastrzeżeniem, że te trzy okresy kiełkowania przechodzą stopniowo jeden w drugi.

Istnienie maksimum intensywności oddychania podczas kiełkowania uważać można za fakt całkowicie ustalony już od czasu badań BONNIER i MANGIN ('84). W ostatnich latach stwierdził jego istnienie dla nasion skrobiowych raz jeszcze FERNANDEZ ('23). Przebieg podobny do wymiany gazowej mieć musi i cały metabolizm chemiczno-energetyczny kiełkowania. Tymczasem w nielicznych tylko pracach chemicznych nad kiełkowaniem nasion tłuszczowych np. u MAQUENNE'A ('00) i DETMERA ('80) stwierdzić możemy istnienie maksimum intensywności przemian chemicznych. Z pomiarów zaś ciepła wydzielonego, czy ciepła spalania, jedynie w doświadczeniach BONNIERA ('93) występuje maksimum intensywności u wszystkich nasion, których wydzielanie ciepła autor mierzył. Jednym z powodów tego stanu rzeczy są niewątpliwie nieregularne lub zbyt duże odstępy czasu między doświadczeniami, czy analizami. Podczas kiełkowania słoneczników w temp. $25^{\circ}C$ odstępy dwudniowe, jak widzieliśmy, zacierają już istotny przebieg procesów metabolicznych. Odstępy czterodniowe mogłyby prawdopodobnie doprowadzić do zupełnie błędnego wniosku, że intensywność procesów chemiczno-energetycznych przez dłuższy czas pozostaje niezmienną.

Omówienie wyników.

Główne wyniki doświadczeń, podane już w poprzednich rozdziałach, są zestawione w tab. IV. Widzimy z danych tej tabeli, że ilość tłuszczów na 1 g substancji suchej, zmniejsza się przez 6 dni kiełkowania z 582 mg na 220 mg, a ilość substancji organicznej nieco wzrasta (19.6 mg). Równocześnie ciepło spalania substancji suchej spada z 7330 g. kal na 5275 g. kal, zaś wymiana gazowa wykazuje znaczną przewyżkę tlenu pobranego nad wydzielonym dwutlenkiem węgla: $437.6 \text{ cm}^3 O_2$ na $228.9 \text{ cm}^3 CO_2$ (względnie 625 mg O_2 na 449 mg CO_2). Samo porównanie ilości substancji organicznej z ilością tłuszczów wykazuje, że na miejsce zużytych tłuszczów powstać musiały inne jakieś substancje. Strata energii, równa 2055 g. kal na 362 mg tłuszczów, znacznie mniejsza od ich wartości energetycznej, dowodzi również, że część energii, zawartej w tłuszczach, została zatrzymana w organizmie w formie innych związków organicznych. Z dużego nadmiaru pobranego O_2 wypływa, że nowo wytworzone substancje są o wiele bogatsze w tlen od tłuszczów.

Ze wszystkich tych faktów wyprowadzamy wniosek, że podczas kiełkowania słoneczników powstają węglowodany w ilościach bardzo znacznych, bo przewyższających ilości zużytych tłuszczów. Z drugiej strony, ilości wydzielonego CO_2 wskazują, że część tłuszczów zostaje spalona. Mielibyśmy więc do czynienia podczas kiełkowania słoneczników z dwiema reakcjami: spalaniem tłuszczów i przerabianiem tłuszczów na węglowodany.

Tabela IV.

Streszczenie wyników. — *Résumé des résultats obtenus.*

Na 1 g suchej wagi nasion:

Par gramme de poids sec des graines:

Materiał <i>Matériel</i>	Tab. I. Substancja organiczna <i>Substance organique</i> g	Tab. I. Tłuszcze (kw. tłuszczowe) $\times 1.046$ <i>Graisses</i> g	Tab. II. Ciepło spalania <i>Chaleur de combustion</i> g. kal.	Tab. III. O_2 pobrane O_2 <i>absorbé</i> cm^3	Tab. III. CO_2 wydzielone CO_2 <i>dégagé</i> cm^3	RQ.
Nasiona <i>Graines</i>	0.9607	0.582	7330			
2-dniowe roślinki <i>Plantules de 2 jours</i>	0.9471	—	7116	38.7	30.8	0.796
4-dniowe roślinki <i>Plantules de 4 jours</i>	0.9700	—	6243	202.8	100.8	0.497
6-dniowe roślinki <i>Plantules de 6 jours</i>	0.9803	0.220	5275	196.1	97.3	0.496
				437.6	228.9	

Rozumowania te są oparte na dowolnym założeniu, że, po pierwsze, inne substancje prócz węglowodanów nie powstają z tłuszczów, po drugie, że wszystkie inne reakcje, jakie poza reakcjami tłuszczów podczas kiełkowania zachodzą, są ilościowo nieznaczne.

W literaturze kiełkowania nasion tłuszczowych liczne do tej pory prowadzone poszukiwania pośrednich i pobocznych produktów przemiany tłuszczowo-węglowodanowej wykazują istotnie, że żadne substancje, prócz węglowodanów z tłuszczów, nie powstają i żadne nie ulegają znacznieszym ilościowym zmianom. To samo dla słoneczników znalazł FRANKFURT ('94). Autor ten, później zaś MILLER ('10), znaleźli jednak, że ciała białkowe ulegają gruntownej przemianie, bo 37% białek ulega podczas kiełkowania hydrolizie. Hydroliza ta, jakkolwiek małą jest jej wydajność kaloryczna, może być źródłem pewnej małej części wydzielonego ciepła.

Z drugiej strony, utlenianie nienasyconych kwasów tłuszczowych podczas kiełkowania mogłoby pochłaniać pewną ilość tlenu. Według KÖNIGA ('21) olej słonecznikowy zawiera trzy kwasy tłuszczowe: palmitynowy $\text{C}_{16}\text{H}_{32}\text{O}_2$, oleinowy $\text{C}_{18}\text{H}_{34}\text{O}_2$ i linolenowy $\text{C}_{18}\text{H}_{32}\text{O}_2$, a więc dwa kwasy tłuszcz-

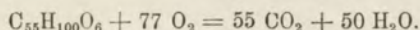
czowe nienasycone. O losie tych kwasów podczas kiełkowania trudno coś całkiem pewnego powiedzieć wobec niezbyt zgodnych wyników różnych autorów. Jak już było wspomniane, z prac v. FÜRTHA ('03) i MILLERA ('12) wynika, że podczas badanych okresów kiełkowania wskaźnik jodowy prawie się nie zmienia.

Z powyższego wypływa, że popelnia się niewielki stosunkowo błąd, opierając dalsze rozumowanie na przypuszczeniu, że inne reakcje prócz reakcyj tłuszczów nie zachodziły podczas kiełkowania.

Dla sformułowania chemicznego tych dwóch reakcyj (spalania tłuszczów i przerabiania tłuszczów na węglowodany) potrzebna jest znajomość składu chemicznego tłuszczów i węglowodanów słonecznikowych. Jeśli przyjmiemy (KÖNIG '21), że w tłuszczach nasion słonecznika wspomniane trzy kwasy tłuszczowe wchodzi w skład każdej cząsteczki, czyli że tłuszcze te są glicerydem palmityno-oleino-linolenowym, to ich skład atomowy byłby: $C_{55}H_{100}O_6$, a ich ciężar cząsteczkowy wynosiłby 856. Co do węglowodanów, to z prac FRANKFURTA ('94) nad słonecznikiem i IVANOWA ('12) nad *Cucurbita* wiemy, że podczas kiełkowania nasion tłuszczowych powstają: celulozy, hemi-celulozy, pentozany, cukry redukujące i małe ilości cukru trzcinowego. W poniżej podanych formułach obliczam schematycznie wszystkie węglowodany jako glukozę, ciepła spalania wyższych węglowodanów są bowiem zanadto niepewne, aby się nimi posługiwać. Popelniam jednak tem samem dosyć znaczny błąd w obliczeniach¹⁾.

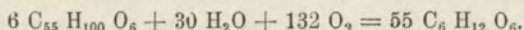
Biorąc pod uwagę tylko skład atomowy tłuszczów i glukozy oraz znane ciepła spalania tych substancyj, spalanie tłuszczów i przerabianie tłuszczów na węglowodany dadzą się sformułować w następujący sposób:

I. Spalanie tłuszczów.



Na 1 g tłuszczów wypada: 2.878 g O_2 ; 2.827 g CO_2 ; 9400 g. kal.

II. Przerabianie tłuszczów na glukozę.



Na 1 g tłuszczów wypada: 0.105 g H_2O ; 0.822 g O_2 ; 1.9276 g glukozy; 2152 g. kal.

$(1.9276 \times [3760 \text{ g. kal} = 7248 \text{ g. kal}; 9400 - 7248 = 2152 \text{ g. kal}])$.

Znając ilości tłuszczów zużytych, energii straconej, O_2 pobranego i CO_2 wydzielonego podczas kiełkowania, można na zasadzie powyższych równań wyliczyć: 1^o, z ilości tłuszczów zużytych i energii straconej — ilości O_2 i CO_2 , jakie im odpowiadają, 2^o, z wymiany gazowej naodwrot — ilości tłuszczów zużytych i energii straconej. Obliczenia te są kontrolą zgodności wyników, otrzymanych w doświadczeniach różnego typu. Jeśli bowiem wyniki uzyskane są porównywalne, a wnioski z nich wyprowadzone słuszne, to ilości znalezione i obliczone powinny być do siebie zbli-

¹⁾ Błąd ten dotyczy przedewszystkiem ilości wytworzonych węglowodanów, ciepło hydrolizy węglowodanów jest bowiem bardzo niewielkie.

żone. Całkiem zgodne być one nie mogą, wobec pominięcia wszystkich innych reakcyj, które zachodzą w organizmie podczas kiełkowania.

A. Obliczenie ilości O_2 pobranego i CO_2 wydzielonego, z ilości tłuszczów zużytych i energii straconej.

Na 1 g suchej wagi nasion, przez 6 dni kiełkowania, znaleziono stratę 0.362 g tłuszczów i 2055 g. kal.

Znając ciepło spalania tłuszczów i ciepło przerabiania tłuszczów na glukozę (równanie I i II), łatwo z tych danych obliczyć stosunek ilościowy tłuszczów spalonych do tłuszczów przerobionych na węglowodany, a także odpowiadające tym reakcjom ilości O_2 pobranego i wydzielonego CO_2 , oraz glukozy wytworzonej.

(I) Tłuszcze spalone	176 mg ($\times 9400$) = 1654 g. kal			
(II) Tłuszcze przerobione na glukozę	186 mg ($\times 2152$) = 400 g. kal			
	362 mg		2054 g. kal	
Czemu odpowiada:	O_2 mg	CO_2 mg	Glukoza mg	Subst. org. mg
(I) Na 176 mg tłuszczów spalonych	506	497	—	—176
(II) Na 186 mg tłuszczów przerob.	153	—	358	+172
Razem obliczono:	659 mg	497 mg	358 mg	— 4 mg
Znaleziono w doświadczeniach oddech.	625 mg	449 mg	—	+20 mg
Różnica	+34 mg	+48 mg		—24 mg
Różnica w % ilości znalezionych	+5.4%	+10.8%		

Obliczone ilości gazów są więc większe od znalezionych: O_2 o +5.4%, CO_2 o +10.8%. Według obliczenia ilość substancji organicznej zmniejszyła się o 4 mg, gdy w rzeczywistości wzrosła o 20 mg. Ta ostatnia różnica wynosi aż 2.4% całej ilości substancji suchej. Niezgodność ta tłumaczy się tem, że (według równań I i II) każdy miligram tłuszczów zaliczony do spalonych albo przerobionych, powoduje około dwóch miligramów różnicy w ilości glukozy i substancji organicznej.

B. Obliczenie ilości tłuszczów zużytych i ciepła wydzielonego z ilości O_2 pobranego i wydzielonego CO_2 .

Na 1 g substancji suchej nasion, przez 6 dni kiełkowania, znaleziono: 625 mg O_2 pobranego i 449 mg CO_2 wydzielonego.

Ponieważ przyjęliśmy, że cała wymiana gazowa pochodzi z przemiany tłuszczowej, więc z ilości CO_2 wydzielonego (równ. I) obliczyć można ilość tłuszczów spalonych i O_2 na to spalanie zużytego oraz ilość ciepła wydzielonego; z nadmiaru zaś O_2 pobranego — ilość tłuszczów przerobionych na węglowodany, ilość wytworzonej glukozy i ciepło wydzielone przez tę reakcję.

Przyjmujemy, że cała wymiana gazowa pochodzi z reakcji tłuszczów.

(I) Tłuszcze spalone	458 mg O ₂	449 mg CO ₂		
(II) Tłuszcze przerobione na węglowodany	167 mg O ₂	—		
	625 mg O ₂	449 mg CO ₂		
Czemu odpowiada:	g. kal:	tłuszcz:	glukozy:	subst. suchej:
	mg	mg	mg	mg
(I) Spalanie tłuszczów	1495	159	—	—159
(II) Przerabianie tłuszczów	437	203	+391	+188
Razem obliczono	1932	362	+391	+29
Znaleziono	2055	362	—	+20
Różnica	-123	0	—	+9
Różnica w % ilości znaleź.	-6%	0		

Różnice między liczbami znalezionymi a obliczonymi są tu mniejsze, aniżeli w obliczeniu A. Liczby dotyczące ilości tłuszczów są identyczne, obliczone ilości kaloryj o 6% mniejsze od znalezionych. Co do substancji organicznej, obliczony przyrost jest o 9 mg, czyli o 0.9%, mniejszy od znalezionej ilości substancji organicznej.

Tabela V.

Zmiany chemiczne i energetyczne podczas kiełkowania.

Variations de la composition chimique et de la chaleur de combustion au cours de la germination.

- A. Obliczone z tłuszczów zużytych i ciepła spalania (str. 132).
 A. *Calculé d'après la quantité de graisses disparues et les pertes énergétiques.*
 C. Obliczone z wymiany gazowej (str. 133).
 C. *Calculé d'après l'échange gazeux.*

Godziny od początku kiełkowania	Substancja organiczna. <i>Substance organique</i>			Tłuszcze <i>Graisses</i>		Straty energet. <i>Pertes énergé- tiques</i>		O ₂ pobrane <i>O₂ absorbé</i>		CO ₂ wydzielone <i>CO₂ dégagé</i>	
	Znale- ziono <i>Trouvé</i>	Obli- czono (B) <i>Calculé</i>	Obli- czono (A) <i>Calculé</i>	Znale- ziono <i>Trouvé</i>	Obli- czono (B) <i>Calculé</i>	Znale- ziono <i>Trouvé</i>	Obli- czono (B) <i>Calculé</i>	Znale- ziono <i>Trouvé</i>	Obli- czono (A) <i>Calculé</i>	Znale- ziono <i>Trouvé</i>	Obli- czono (A) <i>Calculé</i>
h.	mg	mg	mg	mg	mg	g. kal	g. kal	mg	mg	mg	mg
0 — 48	-13.6	-24				214	183	55.3		57.5	
48 — 96	+22.9	+27	-4	-362.0	-362	873	889	289.8	659	199.3	497
96 — 144	+10.3	+26				968	860	280.2		192.4	
0 — 144	+19.6	+29	-4	-362.0	-362	2055	1932	625.3	659	449.2	497

Na tabeli V-tej zestawione są liczby znalezione i obliczone. Naogół zgodność osiągnięta uważana być może za wystarczającą. Jeśli pominiemy przyrost substancji organicznej, to największe odchylenia między liczbami znalezionymi wynoszą: +10.8% dla CO₂ w obliczeniu A, i -6.0% w obliczeniu B, dla energii straconej.

Na te różnice składają się dwa szeregi przyczyn: po pierwsze, wszystkie błędy eksperymentalne i obliczeniowe, po drugie, pominięcie w obliczeniach wszystkich innych reakcyj prócz reakcyj tłuszczów. Wobec niemożności oceny wielkości błędów, należy być bardzo ostrożnym w wyciąganiu jakichkolwiek wniosków co do udziału innych reakcyj w wymianie gazowej i przemianie energetycznej. Kierunek odchyłań: za duże ilości O_2 i CO_2 obliczone ze strat tłuszczów i energii, oraz za małe ilości ciepła wydzielonego obliczone z doświadczeń oddechowych, wskazują jednak, że jakieś reakcje, niemające wpływu na wymianę gazową, są źródłem pewnej, małej zresztą, części ciepła wydzielonego.

Pomijając w dalszych rozumowaniach i wnioskach, tak jak do tej pory, wszystkie inne reakcje, prócz reakcyj tłuszczów, możemy posługiwać się otrzymanymi w naszych obliczeniach liczbami, z wyraźnym tylko zastrzeżeniem, że są one obciążone błędem $\pm 10.8\%$, równym największemu odchyleniu między znalezionymi a obliczonymi liczbami.

Rozpatrzmy przedewszystkiem stosunek ilościowy tłuszczów spalonych do tłuszczów przerobionych na węglowodany¹⁾. Na 0.362 g tłuszczów zużytych około 56% (51%) zostało przerobionych na węglowodany, a około 44% spalonych. Ilościowo przerabianie tłuszczów dominuje więc nad spalaniem. Ponieważ 1 g tłuszczów przerobionych daje 1.9276 g glukozy (form. II), więc ilość wytworzonych węglowodanów przewyższa ilość zużytych tłuszczów. Stąd tak wybitna zmiana składu chemicznego w ciągu 6-ciu dni kiełkowania.

Spalanie tłuszczów jest reakcją, pochłaniającą o wiele więcej tlenu. Jakkolwiek więc mniej niż połowa tłuszczów ulega spalaniu, większa część pobranego O_2 , bo jakie 73% (77%) idzie na spalanie tłuszczów, a tylko około 27% na wytwarzanie węglowodanów.

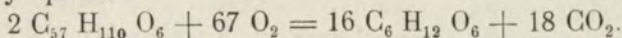
Jeszcze większa jest różnica między wydajnością energetyczną obu reakcyj. Spalanie 1 g tłuszczów daje 9400 g. kal, przerabianie na węglowodany tylko 2152 g. kal. Wobec tego na

¹⁾ Poniżej posługuję się liczbami z zestawienia B, t. j. obliczonymi z wymiany gazowej, ponieważ zestawienie to dało najmniejsze odchylenia od liczb eksperymentalnych. Obok podaję w nawiasach liczby z zestawienia A, obliczone ze strat tłuszczów i energii.

44% tłuszczów spalonych przypadająby aż 77% całej energii wyzwolonej przez reakcje tłuszczowe, zaś tylko 23% (20%) pochodziłoby z przerabiania tłuszczów na węglowodany.

Wszystko, co było dotąd powiedziane, odnosi się do sumy reakcyj chemicznych, jakie się odbywają kolejno w kiełkujących w temperaturze 25° C słonecznikach, przez 6-cio dniowy okres kiełkowania. Doświadczenia oddechowe (tab. III) wykazały jednak nieustanną zmienność tak intensywności, jak charakteru metabolizmu podczas kiełkowania. Kiełkowanie zaczyna się od spalania węglowodanów i tłuszczów, dopiero trzeciego dnia rozpoczyna się w znaczniejszej mierze przerabianie tłuszczów na węglowodany, a czwartego dnia, w chwili gdy metabolizm osiąga maksimum swego natężenia, największy procent tłuszczów zostaje przerabiany, najmniejszy — spalany. W serji I doświadczeń oddechowych RQ wynosi dnia tego 0.488. W innej serji najniższy przeze mnie znaleziony iloraz wynosił 0.380. Obliczywszy stosunek tłuszczów spalonych do tłuszczów przerobionych, jaki temu stosunkowi wydzielonego CO₂ do pobranego O₂ odpowiada, zabaczymy, że tutaj aż 66% tłuszczów było przerobionych na węglowodany, a tylko 34% spalonych. Efekt cieplny tych dwu reakcyj jest jednak tak różny, że nawet w tym krańcowym przypadku tylko 30% wyzwolonej energii pochodziłoby z przerabiania tłuszczów, 70% zaś z ich spalania.

Rozpatrzmy, czy otrzymane wyniki rzucić mogą jakiegokolwiek światło na przebieg reakcji, prowadzącej od tłuszczów do węglowodanów. Znamy tylko wyjściowe i końcowe jej produkty, a hipotezy fizjologiczne, dotyczące tej przemiany, są oparte na ilościach tłuszczów zużytych i wytworzonych węglowodanów, oraz O₂ pobranego i wydzielonego CO₂. Równania chemiczne, wyrażające te hipotezy, są skutkiem tego sumarycznymi wzorami i różnią się między sobą tylko ilością atomów węgla, przypisywanych wytworzonym węglowodanom i wydzielonemu CO₂. Ostatnio TERROINE (26) dwie z tych hipotez, hipotezy ZUNTZA i CHAUVÉAU, dyskutuje w związku z kiełkowaniem nasion tłuszczowych. CHAUVÉAU przemianę tłuszczowo-węglowodanową formuluje w następujący sposób:



Formule tej odpowiada iloraz oddechowy 0.262. Na 57 atomów C, 48 przechodzi do węglowodanów, a 9 do CO₂. Według ZUNTZA

natomiast cały węgiel z tłuszczów przechodzi do węglowodanów. O ile więc w organizmie odbywa się równocześnie spalanie i przerabianie tłuszczów, to według formuły ZUNTZA byłyby to reakcje, przebiegające niezależnie od siebie, bo dotyczące dwóch różnych cząsteczek tłuszczów. Natomiast według formuły CHAUVEAU, o ile ją uważamy za formułę chemiczną, przerabianie na węglowodany i spalanie odbywają się kosztem jednej i tej samej cząsteczki tłuszczów.

Podczas kiełkowania nasion tłuszczowych spotykamy się z nieustanną zmiennością stosunku ilościowego tłuszczów spalanych do tłuszczów przerabianych. Skłania to do przypuszczenia, że chodzi tu o dwie równocześnie przebiegające ale niezależne od siebie reakcje. Ponieważ jednak znalezione ilorazy oddechowe są wyższe od ilorazów, odpowiadających formule CHAUVEAU, więc wyniki nasze nie pozwalają na żadne wnioski co do wzoru chemicznego, według którego odbywa się przeróbka tłuszczów na węglowodany. Mogłaby się ona odbywać według formuły CHAUVEAU, czy według formuły ZUNTZA: w pierwszym przypadku większa, w drugim mniejsza ilość tłuszczów byłaby równocześnie spalana.

Istnieją poszlaki, że w kiełkujących słonecznikach reakcje te odbywają się w odmiennych częściach roślinek, że są miejscowo od siebie oddzielone. Mianowicie RHINE ('26) znalazł dla kotyledonów ilorazy oddechowe niższe (od 0.33 do 0.58), dla hipokotylów i korzeni — wyższe (od 0.70 do 0.90). Mówię tylko o poszlakach, bo doświadczenia, wykonane na częściach roślin, nie zawsze są miarodajne. Jednak wyniki MILLERA ('12), który znalazł, że kwasy tłuszczowe w hipokotylach i korzonkach mają zupełnie inne właściwości od kwasów tłuszczowych w kotyledonach, między innymi — o wiele niższy wskaźnik jodowy, wskazują także na możliwość innych reakcyj tych kwasów.

Czynnikiem, który mógłby normować stosunek tłuszczów spalanych do tłuszczów przerabianych na węglowodany jest natura chemiczna kwasów tłuszczowych. W myśl hipotezy MAQUENNA ('98), tylko nienasycone kwasy tłuszczowe mogą być przerabiane na węglowodany. Ponieważ przy najniższym znalezionym w naszych doświadczeniach ilorazie oddechowym (0.380), około $\frac{2}{3}$ tłuszczów zostaje przerobionych na węglowodany — według KÖNIGA zaś w skład oleju słonecznikowego wchodzi dwa

kwasy tłuszczowe nienasycone $C_{18}H_{34}O_2$ i $C_{18}H_{32}O_2$ i jeden nasycony $C_{16}H_{32}O_2$, — nie znajdujemy w naszych wynikach nic, co przeczyłoby hipotezie MAQUENNE'A. Dla potwierdzenia tej hipotezy potrzebna byłaby dokładna znajomość tak stosunku ilościowego tych kwasów w tłuszczach słonecznikowych, jak i zmian, którym tłuszcze podlegają podczas kiełkowania. Jak widzieliśmy, co do obu punktów panuje całkowita niejasność.

Mówiąc o czynnikach, mogących wpływać na stosunek ilościowy tłuszczów spalanych do przerabianych w różnych okresach kiełkowania, pamiętać należy o tak różnej energetycznej wydajności tych dwóch reakcyj. Reakcja, prowadząca od tłuszczów do węglowodanów, a więc czyniąca zadość budulcowym zapotrzebowaniom organizmu, jest energetycznie bardzo mało wydajna. Widzieliśmy, że w chwili, kiedy najbardziej dominuje, jest w stanie dostarczyć zaledwie 30% ogólnej ilości wyprodukowanej energii. Nasuwa się więc pytanie, czy zapotrzebowania energetyczne rozwijającego się organizmu nie są czynnikiem, regulującym stosunek tłuszczów spalanych do tłuszczów przerabianych. Pytanie to wychodzi z założenia, że energia wyzwolona podczas kiełkowania jest kiełkującym nasionom potrzebna na procesy wzrostowe i utrzymanie życia, a nie jest bezużytecznym produktem pobocznym. Tymczasem jedyny autor, który zajmuje się w ostatnich latach zagadnieniami energetyki kiełkowania, TERROINE ('26) doszedł do wniosku, że tylko energia powstałej z tłuszczów glukozy może być przez kiełkujące nasiona zużytkowana, reszta stanowi produkt odpadowy.

Kiełkujące nasiona tłuszczowe odznaczają się bardzo znaczną intensywnością metabolizmu chemiczno-energetycznego. Wyraża się to przede wszystkim stratą 28% pierwotnej energii w ciągu 6-ciu dni kiełkowania. Jeśli za miarę intensywności weźmiemy tlen pobrany, to w chwili największego natężenia przemian roślinki pobierają $5.4 \text{ cm}^3 \text{ O}_2$ na 1 g suchej wagi nasion. Inne warunki doświadczalne, przede wszystkim inna temperatura, nie pozwalają na dokładne porównanie moich wyników z wynikami innych autorów, przede wszystkim z wynikami GODLEWSKIEGO.

Sprawa intensywności metabolizmu kiełkujących nasion, łączy się z dwoma innymi zagadnieniami. Według GODLEWSKIEGO ('82), natężenie wymiany gazowej jest zależne od natury substancji zapasowych nasion: najintensywniej oddychają nasiona

tłuszczowe, dużo słabiej skrobiowe, najslabiej białkowe. Tę samą zależność znalazł IVANOW ('12) w obrębie nasion tłuszczowych: tutaj intensywność przemian chemicznych zależna jest od natury kwasów tłuszczowych. Wyniki dawniejszych autorów (np. FLEURY'EGO '65) zdają się całkowicie potwierdzać zapatrywania IVANOWA. Z porównania zaś wyników GODLEWSKIEGO z wynikami badań MAZE'GO ('00) nad wydajnością substancyj zapasowych różnych nasion, wynikałoby, że wydajność jest równoległa do intensywności metabolizmu i w taki sam sposób zależna od natury substancyj zapasowych. Chodzi tu o wydajność materjalną; MAZE oznaczał bowiem przyrost substancji suchej w rosnących częściach roślinek i straty tejeż w kotyledonach i bielmie. Inaczej według TERROINE'A ('26) rzecz miałaby się z wydajnością energetyczną. Według jego doświadczeń największą wydajność energetyczną wykazują nasiona skrobiowe, mniejszą tłuszczowe, najmniejszą białkowe.

Jakkolwiek istnienie maksimum intensywności procesów oddechowych i wydzielania ciepła (BONNIER) jest zjawiskiem znanem oddawna, mało zajmowano się jego interpretacją. Prawdopodobnie uważano wyczerpywanie się substancyj zapasowych za powód osłabienia procesów chemiczno-energetycznych.

W świetle, jakie na tę sprawę rzuca tak ciekawa, a tak przez autora niewyzyskana praca MILLERA ('10), zapatrywania takie okazują się niesłuszne. MILLER analizował osobno kotyledony a osobno hipokotyle i korzonki kiełkujących nasion słoneczników w pięciu stadjach kiełkowania. Stadją rozwoju, badane przez niego, dosyć dokładnie odpowiadają stadjom badanym przeze mnie, tak że możliwe jest porównanie wyników ¹⁾. Otóż z analiz MILLERA wynika przede wszystkim, że substancje zapasowe nasion w chwili, kiedy następuje przełom tak w intensywności, jak i w charakterze metabolizmu, dalekie są jeszcze od wyczerpania. Np. zawartość tłuszczów wynosi jeszcze trzydzieści parę procentów, choć w późniejszych okresach spada do dwunastu. Jeśli się bierze pod uwagę skład chemiczny całych roślinek, stadjum to_n niczem specjalnem nie odznacza się. Inaczej jest ze składem chemicznym hipokotylów i korzonków, czyli rosnących części

¹⁾ Z jednym wszakże zastrzeżeniem: MILLER hodował swoje roślinki na świetle w atmosferze pozbawionej CO₂, ja zaś w ciemności.

organizmu. Ogromna większość zapasów znajduje się jeszcze w kotyledonach, w hipokotylach i korzonkach, natomiast zawartość ekstraktu eterowego, który początkowo wynosił 47% suchej wagi, spada w tym momencie do 9.3%, aby potem mało się już zmieniać, a procent cukrów, który od początku kiełkowania wzrósł z 4.1% do 22.5%, od tego momentu zaczyna dość szybko spadać, w dwa dni później wynosi już tylko 18.6%. Załamaniu się krzywych wymiany gazowej w moich doświadczeniach (rys 3) odpowiada więc w doświadczeniach MILLERA załamanie krzywych procentowej zawartości ekstraktu eterowego i cukrów w rosnących częściach organizmu.

Nie ogólna więc ilość substancji zapasowych w kiełkujących nasionach słonecznika, ale ich zawartość w rosnących częściach roślinek, zapewne decyduje o przełomie w intensywności i charakterze metabolizmu 4-go dnia kiełkowania (rys. 3).

W n i o s k i.

1°. Nasiona słonecznika, kiełkujące w ciemności w temperaturze 25° C, tracą na 1 g suchej wagi nasion, w ciągu 6 dni kiełkowania 0.362 g tłuszczów z ogólnej ilości 0.582 g, które zawierały początkowo. Ilość substancji organicznej wzrasta przytem nieznacznie (1.96%): stąd wynika, że zużyte tłuszcze zastąpione zostały przez inne nowowytworzone substancje (tab. I).

2°. Straty energetyczne, oznaczane drogą spalań, wynoszą w tym czasie 28% energii potencjalnej nasion. Ciepło spalania 1 g substancji suchej nasion spada bowiem z 7330 na 5275 g. kal. Straty te stanowią tylko około 60% wartości energetycznej zużytych tłuszczów (tab. II).

3°. Doświadczenia oddechowe wykazują, że w ciągu tego samego okresu kiełkowania 1 g suchej wagi nasion pobiera 437 cm³ O₂ i wydziela 288.9 cm³ CO₂. Iloraz oddechowy wynosi dla 6-cio dniowego okresu 0.523, znaczna więc ilość pobranego tlenu zostaje zatrzymana w organizmie (tab. III).

4°. Jeśli przyjmiemy, że podczas kiełkowania z tłuszczów powstają węglowodany, to porównanie ubytku tłuszczów i strat energetycznych z natężeniem wymiany gazowej, doprowadza nas do następujących wniosków:

a) około 93% energii straconej pochodzi z reakcyj, jakim

ulegają tłuszczem, około 7% z innych procesów chemicznych (częściowo — z przemian białkowych);

b) około 44% zużytych tłuszczów ulega całkowitemu spalaniu, a około 56% przekształceniu na węglowodany;

c) efekt energetyczny tych dwóch reakcyj jest jednak tak różny (2152 i 9400 g. kal), że tylko 23% wyzwolonej przez nie energii pochodzi z przerabiania tłuszczów na węglowodany, a 77% ze spalania tłuszczów.

5°. Intensywność i jakość wymiany gazowej zmienia się nieustannie przez czas trwania kiełkowania, wykazując maksimum natężenia oraz najniższe ilorazy oddechowe 4-go dnia kiełkowania. Ilość O_2 pobieranego na godzinę wzrasta przez pierwsze 4 dni 18-krotnie, ilość CO_2 9.5-krotnie, następnie zaś oba procesy powoli słabną. Iloraz oddechowy, wynoszący 0.928 pierwszego dnia kiełkowania, spada do 0.488 czwartego, aby wzrosnąć 7-go dnia do 0.644. Zmienna wartość stosunku CO_2/O_2 wskazuje, że i stosunek ilościowy dwóch reakcyj tłuszczów, t. j. spalania i przerabiania na węglowodany, nie jest stały, lecz ulega podczas kiełkowania słoneczników ciągłym zmianom.

Piśmiennictwo.

Białaszewicz K. 1916. Przynrząd do badania wymiany gazowej u zwierząt niższych. Sprawozd. Tow. Nauk. Warsz. 9. **Bonnier et Mangin.** 1884. Recherches sur la respiration des tissus sans chlorophylle. Ann. d. sc. nat. Botanique. VI série. 18 (293). **Bonnier G.** 1893. Recherches sur la chaleur animale. Ann. d. sc. nat. Botanique. VII série. 18 (1). **Detmer W.** 1880. Vergleichende Physiologie des Keimungsprozesses. Jena. **Doyer L. C.** 1915. Energie-Umsetzungen während der Keimung von Weizenkörnern. Recueil d. trav. bot. néerl. 12 (372). **Fernandes D. S.** 1923. Aërobe und anaërobe Atmung bei Keimlingen von *Pisum sativum*. Recueil des trav. bot. néerl. 20 (107). **Fleury G.** 1865. Recherches chimiques sur la germination. Ann. de Chimie et de Physique. 4 (38). **Frankfurt S.** 1894. Über die Zusammensetzung der Samen von *Cannabis sativa* und *Helianthus annuus*. Land. Versuchs-Stationen. 43 (143). **Fürth O. v.** 1904. Über das Verhalten des Fettes bei der Keimung ölhaltiger Samen. Beitr. chem. Physiol. u. Path. 4 (431). **Godlewski E.** 1882. Beiträge zur Kenntnis der Pflanzenatmung. Jahrb. f. wiss. Bot. 13 (491). **Hellriegel H.** 1855. Beitrag zur Keimungsgeschichte der ölgebenden Samen. Journ. f. prakt. Chemie. 64 (944). **Ivanow S.** 1912. Über die Umwandlung des Oels in der Pflanze. Jahrb. f. wiss. Bot. 50 (395). **Jegorow U.** 1904. Über Stoffmetamorphose von *Cucurbita maxima*. Ann. de l'Inst. agron. Moscou, 10 und Bot. Centr. (06) 1011

- (597) **Kidd F., G. West and G. E. Briggs.** 1921. A quantitative analysis of the growth of *Helianthus annuus*. Part I. The respiration of the plant and of its parts through the life cycle. Proc. of the Roy. Soc. London. Sér. B. **92** (368). **König J.** 1921. Chemische Zusammensetzung der menschlichen Nahrungs- und Genussmittel. Berlin. **König J.** 1923. Die Untersuchung landwirtschaftlich wichtiger Stoffe. Berlin. **Kumagawa M. and K. Suto.** 1908. Ein neues Verfahren zur quantitativen Bestimmung des Fettes und der unverseifbaren Substanzen. Bioch. Zeitschr. **8** (212). **Laskowsky N.** 1874. Über einige chemische Vorgänge bei der Keimung der Kürbissamen. Landw. Versuchsst. **17** (219). **Leclerc du Sablon.** 1893. Sur la germination des graines oléagineuses. C. R. Acad. Sc. **117** (524). **Leclerc du Sablon.** 1894. Sur la germination de graines oléagineuses. C. R. Acad. Sc. **119** (610). **Leclerc du Sablon.** 1895. Recherches sur la germination des graines oléagineuses. Revue gén. de bot. **7** (145, 205, 253). **Leclerc du Sablon.** 1897. Sur la germination des amandes. Revue gén. de bot. **9** (1). **Maquenne A.** 1898. Sur les changements de composition qu'éprouvent les graines oléagineuses au cours de la germination. C. R. Acad. Sc. **127** (625). **Mazé P.** 1900. Recherches sur la digestion des réserves dans les graines et leur assimilation par les plantules. C. R. Acad. Sc. **130** (424). **Mazé P.** 1902. Sur la transformation des matières grasses en sucres dans les graines oléagineuses en voie de germination. C. R. Acad. Sc. **124** (309). **Miller E. C.** 1910. A physiological study of the germination of *Helianthus annuus*. Annals of Botany. **24** (693). **Miller E. C.** 1912. A physiological study of the germination of *Helianthus annuus*. II. The oily reserve. Annals of Botany. **26** (895). **Müntz A.** 1871. Sur la germination des graines oléagineuses. Ann. de Chimie et de Physique. **22** (472). **Peters E.** 1861. Zur Keimungsgeschichte der Kürbissamen. Landw. Versuchsst. **3** (1). **Pouriewitch K.** 1905. Influence de la température sur la respiration des plantes. Ann. d. sc. nat. Bot. IX Série. **1** (1). **Reid M. E.** 1926. Growth of seedling in relation to composition of seed. Botanical Gazette. **81**. **Rhine J. B.** 1926. Translocation of fats as such in germinating fatty seeds. Botanical Gazette. **82**. (155). **Sachs J.** 1859. Über das Auftreten der Stärke bei der Keimung oelhaltiger Samen. Bot. Zeitung. (177, 185). **Saussure T. de.** 1882. Über das Keimen der Oelsamereien. Forrieps Notizen. **24** (24). **Schmidt R. H.** 1891. Über die Aufnahme und Verarbeitung von fetten Oelen in den Pflanzen. Flora. **74** (300). **Stich C.** 1891. Die Athmung der Pflanzen bei verminderter Sauerstoffspannung und bei Verletzungen. Flora. (1). **Terroine E. F.** 1920. Sur la formation des graisses au cours de la maturation des graines et des fruits oléagineux et sur l'utilisation des graisses au cours de la germination. Paris, Masson. **Terroine E. F., R. Bonnet et P. H. Joessel.** 1924. L'énergie de croissance. II. La germination. Bull. de la Soc. de Chimie Biol. **6** (357). **Terroine E. F., S. Trautmann et R. Bonnet.** 1926. Loi bioénergétique quantitative de la formation des hydrates de carbone aux dépens des graisses et des protéiques chez les végétaux. Ann. de Physiol. **4** (172).

RECHERCHES SUR LA RÉPARTITION DES ÉLECTROLYTES DANS LE PROTOPLASME DES CELLULES OVULAIRES

par **K. BIAŁASZEWICZ**

[Laboratoire de Physiologie de l'Institut Nencki à Varsovie et
Station Zoologique de Naples]

Avec 3 figures dans le texte

Reçu le 16. octobre 1928

Le travail que j'avais publié précédemment sur la composition minérale des cellules-œufs (1927 b), a été le point de départ des recherches qui font l'objet de la présente étude. Les résultats des analyses que j'ai donnés dans ce mémoire, m'ont fait supposer, que les différences observées dans la composition des cendres d'œufs provenant des espèces animales étudiées, pouvaient s'expliquer par les différentes proportions dans lesquelles les composants inorganiques se combinent avec les colloïdes; ils m'ont fait admettre également que la composition minérale du liquide intermicellaire de l'ooplasmе animal est par conséquent en principe la même, indépendamment du degré de l'organisation qu'atteint l'organisme maternel. — Le but principal de nos recherches décrites ci-dessous, se réduisait par conséquent à connaître la composition de la solution aqueuse des cristalloïdes, qui joue le rôle de milieu de dispersion par rapport aux substances dispersées de la cellule.

Ce problème se combine cependant avec toute une série de questions, sur lesquelles nous avons voulu également jeter de la lumière. Il s'agissait donc aussi bien de connaître la composition minérale ou, pour parler plus exactement, d'établir la proportion dans laquelle les ions des composés inorganiques se trouvent dans la phase aqueuse de l'ooplasmе, que de fixer le rôle de la phase dispersée dans la répartition des électrolytes et de résoudre la question relative à la participation des cristalloïdes organiques à la concentration moléculaire totale des cellules ovulaires.

Le choix de l'objet de nos recherches, a été dicté par le but que nous nous proposons d'atteindre. Nous nous sommes donc laissés guider surtout par les rapports entre la question étudiée et certains problèmes intéressant la physiologie de la fécondation, du développement et de la croissance de l'organisme. Ce furent cependant d'importantes considérations d'ordre pratique qui prévalurent et finirent par déterminer notre choix; il importait en effet de se procurer un matériel facilement accessible pour servir aux analyses chimiques et il fallait que celui-ci fût absolument pur, c'est-à-dire absolument libre d'électrolytes étrangers, provenant des liquides intercellulaires.

Dans nos précédentes publications (1927 a et 1928 a), dans laquelle nous avons traité de l'application de l'ultrafiltration aux recherches sur la répartition des électrolytes dans le cytoplasme, nous avons déjà indiqué les moyens de vaincre les difficultés auxquelles on se heurte, en voulant séparer le liquide intermicellaire des substances colloïdales dans les cellules ovulaires.

LA MÉTHODE

En présence des difficultés sur lesquelles nous avons déjà attiré l'attention, nous ne pouvions tirer que des conclusions indirectes, concernant la composition chimique du liquide intermicellaire et de la phase dispersée des cellules-œufs. — La méthode appliquée dans nos recherches, consistait en principe à extrapoler l'état de répartition des électrolytes dans le système colloïdal initial, c'est à dire dans l'ooplasme, en tenant compte de la façon dont se comportent ces substances envers les deux phases dans les solutions diluées de l'ooplasme, qu'il était possible de passer facilement à travers des membranes à ultrafiltration.

Comme mesure de la répartition d'une substance donnée, nous avons considéré le rapport entre sa quantité en solution dans le liquide intermicellaire et la quantité globale de cette substance dans le système colloïdal. — Cette fraction qui exprime la quantité relative filtrable de la substance dans une solution hétérogène, a été appelée « quotient de la répartition » (δ). On peut se rendre compte de la valeur de ce quotient d'après le rapport

$$\delta = \frac{ud}{c}, \quad (1)$$

où u correspond à la concentration du corps étudié dans un volume déterminé (1 cm^3) de liquide ultrafiltré; où c indique la concentration globale de ce corps (calculée d'après l'analyse des cendres) dans le même

volume de solution hétérogène; enfin où d exprime le volume du liquide intermicellaire, respectivement de « l'espace dissolvant », dans 1 cm^3 de la même solution hétérogène. — Le produit ud indique par conséquent la quantité absolue de la substance étudiée à état d'une solution vraie.

En calculant la valeur initiale de ce quotient, qui caractérise l'état de la répartition dans le cytoplasme non dilué, nous partons du fait constaté dans notre étude précédente (1928a), à savoir que les changements observés dans la répartition des électrolytes dans les mélanges, sont une fonction linéaire du degré de dilution du cytoplasme. — Nous appuyant sur cette constatation et connaissant la valeur du quotient de répartition d'une substance donnée pour deux ou plusieurs mélanges ($\delta_1, \delta_2 \dots$) de cytoplasme, dont le degré de dilution va en croissant ($n^1, n_2 \dots$), nous pouvons calculer la valeur initiale du quotient de la répartition (δ_0) d'après la formule:

$$\delta_0 = \frac{(n_2 - 1) \delta_1 - (n_1 - 1) \delta_2}{n_2 - n_1}, \quad (2)$$

dans laquelle le degré de dilution ($n_1, n_2 \dots$) indique le rapport entre volume du mélange après la dilution et le volume de l'ooplasmе, ayant servi à le préparer.

La détermination de la concentration de la substance étudiée dans le liquide intermicellaire de l'œuf (u_0), d'après l'équation

$$u_0 = \frac{c_0 \delta_0}{d_0}, \quad (3)$$

ne saurait offrir de difficulté, lorsqu'on connaît la concentration globale de cette substance dans le cytoplasme (c_0), ainsi que le volume occupé dans celui-ci par le liquide intermicellaire (d_0 — « espace dissolvant » des auteurs¹).

Cette dernière valeur (d_0) a été calculée, soit d'après la concentration du chlore dans les liquides ultrafiltrés, obtenus de deux ou de plusieurs mélanges (u'_1, u'_2), soit d'après l'abaissement du point de congélation (A_1, A_2) des solutions aqueuses² de l'ooplasmе:

$$d_0 = \frac{(n_2 - 1) u'_2 - (n_1 - 1) u'_1}{u'_1 - u'_2}. \quad (4)$$

On s'est aperçu en effet (BIAŁASZEWICZ 1928b), que la répartition des chlorures dans les mélanges, ne varie pas sous l'influence de la dilution de l'ooplasmе. La valeur d_0 a donc continué à être le point de

¹ Comp. POLÁNYI (1920) ainsi qu'AUSBERGER (1925).

² BIAŁASZEWICZ (1928a, p. 10 et 11).

départ des calculs, en vue d'établir les dimensions de l'espace dissolvant dans les solutions diluées ($d_1, d_2 \dots$).

Comme nous avons déjà décrit ailleurs dans les détails les procédés expérimentaux concernant cette question, nous nous bornons à donner ici certaines indications d'une plus grande importance.

Pour éliminer les électrolytes du liquide intercellulaire adhérent à la surface des œufs, nous rincions ceux-ci dans une solution isotonique d'azotate de lithium, ou bien nous les soumettions à la centrifugation dans cette solution. — On procédait à la préparation des mélanges destinés à être ultrafiltrés, en ajoutant des quantités strictement déterminées de dissolvant à une certaine quantité d'ooplasmе écrasé et bien mélangé. Dans la plupart des expériences, on employait comme dissolvant une solution isotonique neutre d'azotate ou de sulfate de lithium, ou bien, lorsque c'était possible (en cas d'absence de globulines précipitables), on se servait à cet effet d'eau distillée.

Les composants minéraux dont on voulait connaître la répartition, étaient dosés, soit dans les cendres restées après la combustion du résidu sec des mélanges (en appliquant de l'acide azotique concentré¹), soit dans le milieu de dispersion libre de ces mélanges. — On se servait de la méthode de l'ultrafiltration (comp. ZSIGMONDY et BACHMANN, 1918), pour séparer ce milieu de la phase colloïdale.

Voici les méthodes microanalytiques appliquées en vue de déterminer les composants dans les cendres et dans les liquides ultrafiltrés: sodium—méthode de KRAMER et TISDALL (1921 a), modifiée par BÁLINT (1924); potassium—méthode de KRAMER et TISDALL (1921 b); calcium—méthode de DE WAARD (1919) et de HECHT (1923); magnésium et phosphore—méthodes combinées² de KRAMER et TISDALL (1921 d), de BELL et DOISY (1920) et de BRIGGS (1922); chlore—microméthode de WHITEHORN (1921).

Dans les tableaux résumant les protocoles de nos analyses (tabl. XII—XV) qui suivent le texte, nous avons exprimé en milligrammes pour 1 cm³ de liquide, la concentration des composants mentionnés dans les mélanges (c_1) et dans les ultrafiltrats ($u_1, u_2 \dots$). Dans le tableau XI qui donne un aperçu général, nous avons réuni les valeurs principales qui caractérisent la répartition des électrolytes dans l'ooplasmе des animaux étudiés. Elles ont été calculées d'après les données qu'on trouve dans les protocoles (tabl. XII—XV) et d'après les formules indiquées ci-dessus; les voici: d_0 —volume du liquide intermicellaire dans

¹ Voir BIAŁASZEWICZ, 1928 a, p. 357—358.

² Voir BIAŁASZEWICZ, 1928 a, p. 359.

1 cm³ d'ooplasme; δ_0 —valeurs des quotients de répartition des composants: K, Na, Ca, Mg, P et Cl; e_0 —concentration totale de ces composants dans 1 cm³ d'ooplasme (mgr.); u_0 —concentration de ceux-ci dans le liquide intermicellaire (mgr./1 cm³).

Nous donnons ci-dessous la liste des espèces animales, dont nous avons analysés les cellules ovulaires:

Oiseaux: *Gallus domesticus* L.

Batraciens: *Rana temporaria* L.

Poissons: *Salmo salar* L., *Salmo fontinalis* L., *Labrax lupus* Cuv., *Torpedo ocellata* Raf., *Scyllium canicula* L.

Crustacés: *Maja verrucosa* M. Edw., *Maja squinado* Latr.

Mollusques: *Sepia officinalis* L., *Loligo vulgaris* Lm.

Echinodermes: *Arbacia pustulosa* Gray, *Paracentrotus lividus* Lm.

Annélides: *Arenicola Claparedii* Lev., *Sipunculus nudus* L.

LES RÉSULTATS

L'analyse du problème dont nous nous occupons, réclamait avant tout la connaissance de certaines propriétés des substances qui constituent la phase dispersée de l'ooplasme, parce que c'est d'elles que dépend l'état de la répartition des électrolytes dans les cellules-œufs. C'est pour cette raison qu'au commencement de ce mémoire, nous donnons une caractéristique générale des substances dispersées, dont nous examinons les propriétés d'adsorption par rapport aux composants dialysables minéraux et dont nous étudions l'influence sur le volume de l'espace dissolvant dans le cytoplasme. Ces deux facteurs sont d'une importance capitale pour la répartition des cristalloïdes: en effet, si la composition chimique du liquide intermicellaire dépend surtout de la faculté des substances dispersées de se combiner avec les cristalloïdes, les dimensions de l'espace non dissolvant du cytoplasme exercent une influence directe sur la concentration actuelle des substances dialysables qu'il contient.

L'explication du rôle qui revient aux substances dispersées dans la répartition des électrolytes, est le point de départ pour connaître les propriétés chimiques du liquide intermicellaire des systèmes colloïdaux étudiés. — En effet, une fois que nous connaissons ce rôle, nous sommes en mesure d'établir aussi bien la composition minérale, que la concentration globale des composés inorganiques filtrables de la cellule. — Enfin, par le fait de connaître la proportion dans laquelle les différents composants minéraux sont représentés dans les deux solutions aqueuses, notamment dans le milieu de dispersion du cytoplasme et dans le liquide

intercellulaire, nous pouvons nous rendre compte de l'état de la répartition des électrolytes, de l'un et de l'autre côté de la membrane cellulaire semipermeable et juger du rôle que jouent les autres composés diffusibles dans la réalisation de la pression osmotique de la cellule.

I. LA PHASE DISPERSÉE

1. Le volume de « l'espace non dissolvant »

Nous avons réuni dans le tableau I, les résultats des déterminations entreprises sur les œufs de dix espèces animales qui appartenaient à différents groupes zoologiques. Le volume de « l'espace non dissolvant » (POLÁNYI 1920), autrement dit de la phase dispersée, a été calculé d'après les concentrations du chlore dans les liquides ultrafiltrés, obtenus avec les mélanges d'ooplasme dilué (v. l'équation 4) et exprimé en pour-cents du volume $[100 (1 - d_0)]$. Les données numériques ont été rangées dans le tableau, suivant l'ordre de l'accroissement progressif de l'espace en question dans les œufs examinés. — Elles nous renseignent sur le rôle que jouent les substances non filtrables de la cellule dans la répartition des électrolytes.

Dans les cas extrêmes (*Maja*), le volume de l'espace occupé par les substances dispersées, peut effectivement atteindre 63% du volume entier de la cellule, de sorte qu'à peine un tiers de ce volume correspond à la solution aqueuse des substances dialysables, qui occupe l'espace intermicellaire. Les autres chiffres du tableau, nous apprennent également, qu'il faut ranger les cellules en question dans la catégorie des éléments cellulaires, qui se distinguent dans l'organisme par un contenu exceptionnellement élevé de substances réfractaires à l'ultrafiltration. — Comparé avec le plasma sanguin qui contient, comme on sait (AUSBERGER et d'autres auteurs), à peine 7% de substances colloïdales, le volume de la phase dispersée atteint une valeur plusieurs fois plus élevée, même dans les œufs qui renferment relativement peu de composés de réserve (Oursins).

Dans les œufs à segmentation superficielle (*Maja*, *Sepia*, *Torpedo*, *Gallus*), qui contiennent d'habitude de fortes réserves de substances deutoplasmiques, le rapport entre le volume des deux phases en question, est en général modifié au détriment du liquide intermicellaire. — Les œufs de *Salmo*, de même que les jeunes oocytes de *Scyllium*, dans lesquels le volume de la phase colloïdale est relativement petit, dérogent cependant à cette règle.

Tableau I
Volume de la phase dispersée dans les œufs

No. de l'expérience	Espèce animale	Volume		Teneur des œufs en substance sèche exprimée en pour-cents de leur poids. (Données d'après les analyses des auteurs)
		du liquide intermicellaire dans 1 cm ³ d'ooplasmе d_0 cm ³	de la phase dispersée exprimé en % du volume de l'ooplasmе 100 (1 - d_0) %	
21	<i>Scyllium canicula</i> L. . . .	0.830	17.0	—
41	<i>Arbacia pustulosa</i> Gray .	0.822	17.8	—
34	<i>Paracentrotus lividus</i> L. .	0.793	20.7	22.6% (WETZEL 1907)
15	<i>Salmo fontinalis</i> L.	0.792	20.8	41.5% pour <i>Trutta fario</i> (FAURÉ - FRÉMIET et GARRAULT 1922)
16	<i>Rana temporaria</i> L.	0.601	39.9	42.6% (KOLB 1901, TERROINE et BARTHÉ- LEMY 1923)
12	<i>Gallus domesticus</i> L.	0.549	45.1	50.3% (KOJO 1911)
24	<i>Sepia officinalis</i> L.	0.500	50.0	47.3% (WETZEL 1907)
43	<i>Torpedo ocellata</i> Raf.	0.410	59.0	47.3% pour <i>Acanthias</i> (ZDAREK 1904)
37	<i>Maja verrucosa</i> M. Edw. . .	0.368	63.2	43.6% (WETZEL 1907)

Il n'est pas possible de découvrir un rapport plus étroit, entre le volume de l'espace non dissolvant et le taux de la substance sèche de la cellule. Il est vrai que dans la majorité des cas, on observe entre ces deux valeurs un certain parallélisme, par le fait que dans les œufs caractérisés par un fort contenu de parties solides, le volume de la phase dispersée est plus considérable, néanmoins, les écarts sont parfois assez sensibles et ils se produisent dans des sens diamétralement opposés. — A titre d'exemples, nous pouvons citer d'une part les œufs de *Salmo*, dans lesquels l'espace dissolvant est réduit à à peine 20.8% du volume de l'ooplasmе, tandis que leur teneur en substances sèches s'élève à 43.6%; de l'autre, les cellules ovulaires de *Maja*, qui contiennent 43.6% de ces substances, pour 63.2% de leur volume occupé par les substances dispersées. — Les faits mentionnés paraissent indiquer que les substances colloïdales des œufs de différentes espèces animales diffèrent entre elles au point de vue de leurs propriétés d'hydratation, qui

peuvent dépendre de leur côté de la composition chimique spécifique du milieu de dispersion.

En résumé, nous pouvons caractériser dans les grands traits l'ooplasme animal en le considérant comme une solution hétérogène contenant des quantités en général considérables, quoique variables, de substances dispersées (colloïdes, émulsions et suspensions deutoplasmiques), qui occupent un grand espace dans la cellule.

2. Le taux des composants des cendres, liés à la phase dispersée

Nous avons réuni dans le tableau II, les résultats les plus caractéristiques concernant la répartition des métaux monovalents et bivalents, ainsi que la distribution du chlore et du phosphore. Les chiffres qu'on trouve dans ce tableau, indiquent les taux des différents composants minéraux décelés dans les cendres et liés dans l'ooplasme à des substances non filtrables. Ces quantités ont été calculées d'après les quotients de la répartition des corps en question $[100(1 - \delta_0)]$, dans les œufs des huit espèces étudiées.

Tableau II

Quantités des composants minéraux, exprimées en pour-cents, liées aux substances dispersées dans les œufs de différentes espèces animales

No. de l'expérience	Espèce animale	Pour-cent des composants lié à la phase dispersée $100(1 - \delta_0)$					
		K	Na	Cl	Ca	Mg	P
13	<i>Gallus d.</i>	28	6	45	91	70	97
16	<i>Rana t.</i>	0	43	9	61	54	76
14	<i>Salmo f.</i>	11	49	0	73	68	90
43	<i>Torpedo o.</i>	0	(95)	6	68	84	100
21	<i>Seyllium c.</i>	13	—	0	24	59	100
37	<i>Maja v.</i>	3	(92)	3	53	29	96
34	<i>Paracentrotus l.</i>	5	0	0	50	73	81
24	<i>Sepia o.</i>	20	0	23	0	51	100

Ces valeurs nous apprennent que les composants des cendres ne se trouvent dans l'ooplasme qu'en partie sous forme de composés minéraux dialysables; au contraire, on trouve des quantités assez considérables de ces corps à l'état de composés non filtrables, caractérisés par un degré

plus ou moins élevé de stabilité. Malgré les différences que dans des cas divers on observe à ce point de vue, il est cependant possible de discerner deux groupes assez distincts, sous le rapport de la façon de se comporter des composants minéraux à l'égard de la phase dispersée du cytoplasme.

Il faut ranger dans le premier groupe, les éléments monovalents, tels que le potassium, le sodium et le chlore, qui se distinguent par une tendance peu prononcée et en général peu constante, à former des composés colloïdaux. Sans parler du sodium dont les œufs contiennent généralement des quantités minimales (par suite de quoi nos dosages de ce métal ne sauraient prétendre à une exactitude suffisante), les deux autres composants mentionnés se combinent avec les substances dispersées dans des proportions, qui dans la majorité des cas, ne dépassent pas environ 30% de leur contenu global dans l'œuf. D'habitude, les quantités de ces composants liés aux colloïdes cellulaires, sont cependant bien inférieures à ce taux, de sorte que l'on peut pratiquement les considérer comme tout à fait étrangers à la phase dispersée.

Les composants qui constituent le second groupe, comprenant les métaux des terres alcalines et le phosphore, se comportent au contraire d'une façon différente et très caractéristique. — Seules de petites quantités de ces corps se trouvent à l'état libre, tandis que leur plus grande partie se présente dans l'ooplasmе sous la forme de composés non diffusibles. Il s'ensuit que sur les quatre bases qui entrent dans la composition des cendres, ce n'est que le calcium et le magnésium qui forment de plus grandes quantités de composés colloïdaux. Comme nous l'apprennent des recherches antérieures (BIAŁASZEWICZ, 1926, 1927b), le premier de ces métaux est un des composants les plus variables des cendres des cellules-œufs.

Nous ne pouvons nous empêcher d'attirer l'attention sur l'analogie, qu'en ce qui concerne le rapport entre les composés minéraux et les colloïdes, on observe entre les cellules ovulaires d'une part et certaines liquides nourriciers de l'organisme, de l'autre.

Les recherches entreprises dans le courant des dernières années sur la répartition des électrolytes dans le sang, s'accordent toutes à indiquer les différences qu'offrent sous ce rapport les métaux des alcalis et les métaux des terres alcalines. Ces travaux nous permettent de considérer comme certain que le sérum des animaux supérieurs ne contient qu'une très petite quantité de sodium sous une forme non dialysable. En effet, cette quantité ne dépasse pas 10% de la concentration

globale¹. — Comme c'était les cas dans nos analyses, le taux du potassium colloïdal du sérum était très variable: d'après les travaux publiés², il est même inférieur à celui du sodium. — Signalons les recherches de RINGER (1923, 1925) importantes à cet égard; elles nous apprennent en effet qu'une série de substances protéiques, dissoutes dans des solutions peu concentrées de KCl, n'exercent presque pas d'influence sur l'activité du potassium.

En revanche, toutes les études publiées sur ce sujet, constatent que les colloïdes du sérum se combinent très énergiquement avec les métaux des terres alcalines: il résulte de ces données que la quantité de calcium non filtrable varie de 30 à 70%³ et celle de magnésium de de 20 à 27%⁴ de la teneur globale du sérum en ces métaux.

Les analyses du lait (WHA, 1924) suggèrent également des analogies fort intéressantes. En effet, 50 à 60% du calcium et du phosphore se trouvent ici sous la forme colloïdale, tandis que presque tout le potassium et le chlore que contient le lait, sont filtrables.

Les faits cités ci-dessus, indiquent à notre avis, que le phénomène étudié mérite d'être considéré comme important au point de vue de la physiologie générale. L'affinité de certaines substances protéiques pour les ions bivalents n'est pas seulement intéressante au point de vue des conditions dans lesquelles se produisent les réactions entre les corps mentionnés dans le protoplasma vivant, car elle attire également notre attention comme un phénomène important pour les processus d'échange minéral, qui se produisent dans l'organisme. Il est très probable que certaines protéines qui entrent dans la composition aussi bien des cellules que des liquides circulant dans l'organisme, jouent le rôle de régulateurs, qui maintiennent la concentration constante des cations bivalents dans les solutions aqueuses de ces deux systèmes colloïdaux de l'organisme.

¹ Comp. les travaux des auteurs suivants: LOEWY et ZUNTZ (1894), LIEBERMANN et BUGARSKY (1898), ASHER et ROSENFELD (1907), MICHAELIS et RONA (1908), HENDERSON (1908), RONA et GYÖRGY (1913), NEUHAUSEN (1922), NEUHAUSEN et DINDUS (1923), RONA et PETOW (1922), TSCHIMBLER (1924), MICHAELIS et KAWAI (1925).

² V. NEUHAUSEN et PINCUS (1923), RONA et PETOW (1923), RICHTER-QUITTNER (1924), RONA, HAUROWITZ et PETOW (1924).

³ V. RONA et TAKAHASHI (1911, 1913), CUSHNY (1920), NEUHAUSEN et MARSHALL (1922), RICHTER-QUITTNER (1921, 1922), NEUHAUSEN et PINCUS (1923), CSAPO et FAUBL (1924), RONA, PETOW et WITTKOWER (1924), TSCHIMBLER (1924), NITSCHKE (1925), RONA et MELLI (1925), NITSCHKE et FREYSCHMIDT (1926).

⁴ V. HIRTH et TSCHIMBLER (1924).

3. Les concentrations des composants minéraux dans les deux phases de l'ooplasmе

Les faits dont nous venons de nous entretenir tout dernièrement, intéressaient exclusivement la distribution globale des composants minéraux entre la phase dispersée et le liquide de dispersion de la cellule; néanmoins, ils ne caractérisent pas suffisamment la faculté des substances dispersées d'entrer en combinaison avec les électrolytes étudiés. Nous pouvons considérer les quantités relatives des électrolytes contenus dans une unité de poids ou de volume des substances dispersées, comme la mesure approximative de cette faculté. Les quantités en question ne dépendent pas seulement du taux global de la substance donnée dans le cytoplasme et de la valeur de leur quotient de répartition, mais avant tout du rapport entre les volumes des deux phases dans la solution colloïdale. — Lorsque par conséquent, on désire connaître les phénomènes d'adsorption, attribuables aux substances dispersées, il importe de se rendre compte de la composition minérale de ces substances.

Tableau III

Concentrations des composants minéraux dans la phase dispersée (k_0) et dans le liquide intermicellaire (u_0) de l'ooplasmе, calculées en mgr. pour 1 cm³ de la phase correspondante

No. de l'ex- périence	Espèce animale	K		Ca		Mg		P	
		k_0	u_0	k_0	u_0	k_0	u_0	k_0	u_0
12	<i>Gallus</i>	1.81	2.61	2.59	0.32	0.21	0.20	9.66	0.33
16	<i>Rana</i>	0	4.21	0.32	0.14	0.97	0.55	11.97	2.57
15	<i>Salmo</i>	1.51	3.20	1.92	0.19	2.60	0.32	19.29	0.42
32	<i>Labrax</i>	2.76	3.41	0.67	0.05	0.20	0.05	3.06	0.44
43	<i>Torpedo</i>	0	5.61	0.38	0.26	0.10	0.03	8.59	0
34	<i>Paracentrotus</i>	2.11	9.45	1.12	0.30	1.99	0.19	13.19	0.79
24	<i>Sepia</i>	0.12	0.48	0	0.32	0.10	0.10	7.09	0

On trouvera dans le tableau III les concentrations calculées pour quatre composants (K, Ca, Mg, P) dans la phase colloïdale [$k_0 = c_0(1 - \delta_0) / (1 - d_0)$]. Pour permettre d'établir une comparaison, nous avons donné également dans ce tableau, la concentration de mêmes

composants dans le liquide intermicellaire [$u_0 = c_0 \delta_0 / d_0$]. — Les concentrations ont été exprimées en milligrammes pour 1 cm³, pour l'une et l'autre phase.

Les très fortes différences observées dans la composition minérale de la phase dispersée des espèces d'œufs étudiés, sont le premier fait qui se dégage de la comparaison des valeurs k_0 , calculées pour les différentes substances. — Il ne saurait être question dans ce cas de n'importe quelle régularité dans les rapports entre les composants liés aux colloïdes. Nous constatons en particulier que, p. ex. le potassium, fait ou bien complètement défaut dans la phase dispersée (*Rana*, *Torpedo*) ou bien on n'en décèle que des quantités en général très variables (0.12—2.76 mgr. par cm³). On peut en dire autant en principe des métaux bivalents, dont la concentration est sujette à des variations très irrégulières. Les différences relativement moins fortes qu'on observe dans la concentration du phosphore, s'expliquent par la circonstance que cet élément est un composant constitutif des substances colloïdales deutoplasmiques de réserve de l'œuf, lesquelles se distinguent par une composition élémentaire semblable dans la série animale.

Nous aboutissons à des résultats absolument différents qui permettent d'établir certains traits généraux concernant la distribution des électrolytes, lorsque nous comparons la concentration de ces composants dans l'une et dans l'autre phase de l'ooplasme. Lorsque nous tenons compte des valeurs k_0 et u_0 pour des composants différents, nous sommes en droit d'affirmer que les substances minérales ne sont pas réparties d'une manière uniforme dans tout l'ooplasme, car à ce point de vue, celui-ci constitue au contraire une solution hétérogène, dans laquelle à la surface de séparation des deux phases, il existe des différences constantes et caractéristiques des concentrations partielles pour les différents électrolytes.

Nous pouvons attribuer la valeur d'un phénomène général au fait que les ions dont un pour-cent peu élevé se combine avec la fraction non filtrable de l'ooplasme (K, Na, Cl), sont moins concentrés dans l'espace non dissolvant que dans le liquide intermicellaire et qu'à l'inverse, les substances qui s'unissent le plus énergiquement aux colloïdes des cellules (Ca, Mg, P), se distinguent par le plus fort abaissement de leur concentration par rapport à la phase aqueuse.

On voit ainsi se poser la question de savoir, si entre ces deux groupes de ions, il existe également une différence, en ce qui concerne la stabilité de leur état colloïdal.

4. La distribution des composants minéraux dans les solutions diluées d'ooplasme

Désirant jeter de la lumière sur la question que nous venons de nous poser, nous avons exécuté une série d'expériences dans le but de connaître l'influence qu'exerce la concentration de certains composants dans le liquide intermicellaire sur la teneur en ces corps de la phase dispersée. — Au cours de ces épreuves, que nous avons décrites en partie dans notre travail précédent, nous avons préparé des solutions d'ooplasme, diluées dans différentes proportions (n), avec des solutions isotoniques de sels de lithium (LiNO_3 , Li_2SO_4), après quoi nous avons dosé les composants minéraux dans les liquides ultrafiltrés et dans les cendres obtenues par la combustion du résidu sec des mélanges. Nous appuyant sur les résultats de ces analyses, nous avons calculé la concentration des composants étudiés (en mgr. pour 1 cm^3) dans les deux phases des mélanges (u , k).

Tableau IV

Concentrations des composants minéraux (en mgr. pour 1 cm^3) du liquide intermicellaire (u) et de la phase colloïdale (k), dans des solutions diluées de jaune d'œuf de poule. D'après l'expérience No. 13, voir le tabl. XII.

n	K		Cl		Ca		Mg		P	
	u	k	u	k	u	k	u	k	u	k
10	—	—	0.165	1.883	0.048	1.795	—	—	0.013	5.140
6	0.201	0.726	0.296	1.984	0.061	1.977	0.023	0.133	0.023	5.150
4	0.327	0.710	0.493	1.717	0.088	2.010	0.029	0.169	0.034	5.134
2	0.870	0.617	1.225	1.778	0.152	2.149	0.058	0.199	0.078	5.166
1	3.947	0.618	5.461	1.780	0.554	2.196	0.220	0.214	0.331	5.168

Dans l'expérience dont on trouve les résultats réunis dans le tableau IV, on s'est servi de jaune d'œuf de poule pour préparer quatre mélanges. Le jaune était étendu (2, 4, 6 et 10 fois) d'une solution peu concentrée (à 0.7%) d'azotate de lithium. Les concentrations de K, Cl, Ca, Mg et P, ont été calculées d'après les données du tableau XII (expérience n° 13); pour extrapoler la valeur δ_0 , nous avons procédé d'après les indications qu'on trouve dans la partie méthodologique (v. l'équation 2).

Les données réunies dans le tableau ci-dessus nous font conclure avant tout que les changements de la concentration du potassium et du chlore dans le liquide intermicellaire (u), n'exercent pas d'influence appréciable sur la concentration de ces composants dans la phase colloïdale des mélanges (k). On peut observer très nettement l'indépendance par rapport aux changements en question, en étudiant la façon

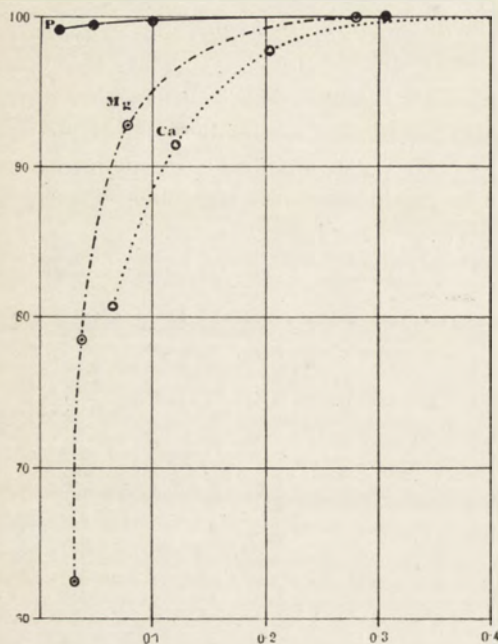


Fig. 1. Rapport entre la teneur en calcium, en magnésium et en phosphore (exprimés en pour-cents de leur quantités initiales) de la phase dispersée du jaune d'œuf de poule et la concentration de ces substances dans le liquide intermicellaire (en mgr. pour 1 cm³).

D'après les données du tableau IV.

Pour mettre en évidence cet état de choses, nous donnons le diagramme ci-dessus, que nous avons dressé d'après les chiffres du tableau IV; on y trouve indiqué le rapport entre la concentration du Ca, Mg et P dans le liquide intermicellaire et la quantité de ces composants dans la phase dispersée. Cette dernière quantité a été exprimée en pourcents de la saturation initiale, caractéristique pour les substances dispersées de l'ooplasmе non dilué.

dont se comporte le chlore, dont la distribution entre les deux phases des mélanges, reste invariable sous l'influence de la dilution de l'ooplasmе. Nous savons déjà que grâce à cette attitude des ions du chlore, il est possible de déterminer le volume de l'espace non dissolvant dans l'ooplasmе et dans les mélanges.

Les ions bivalents se comportent au contraire d'une façon toute différente à cet égard; en effet la concentration du liquide intermicellaire, n'est pas sans exercer de l'influence sur la quantité de ces composants qui se combinent avec la fraction non filtrable. On s'aperçoit qu'à mesure que la concentration du calcium, du magnésium et des anions des phosphates diminue dans le milieu de dispersion des mélanges, le contenu de ces composants baisse également dans l'espace non dissolvant.

Le trajet des courbes nous apprend que les quantités des ions liés par les substances non filtrables varient bien plus rapidement dans les solutions diluées que dans les solutions plus concentrées, qui se rapprochent des concentrations caractéristiques pour le jaune d'œuf à l'état naturel; néanmoins les chiffres exprimant ce rapport ne sont pas identiques pour chaque composant. Dans les mélanges dilués dans les mêmes proportions, les composés colloïdaux du calcium et du magnésium, sont bien plus fortement dissociés que les composés phosphorés. On trouve ceux-ci dans les œufs, surtout sous la forme de composés organiques de réserve résistant à la dissociation.

Il faut observer que ces courbes qui représentent l'état de la répartition des électrolytes à différents degrés de concentration du liquide intermicellaire, rappellent à première approximation les isothermes d'adsorption par les secteurs qui correspondent aux concentrations plus fortes.

En résumant les faits précédemment exposés, nous pouvons distinguer dans les cellules-œufs deux groupes de composants minéraux, caractérisés par une façon différente de se comporter à l'égard de la phase dispersée.

Les métaux des terres alcalines et les radicaux acides des phosphates (respectivement les phosphates de ces cations) se distinguent par une tendance prononcée à s'unir aux particules de la phase dispersée, dans lesquelles leur concentration est plus forte que dans le dissolvant. Comme ils forment des composés peu stables avec les granules en suspension, ils sont facilement dissociés. Ils sont probablement des composés minéraux de réserve du cytoplasme qui peuvent passer dans la solution, sous l'influence des changements fonctionnels se produisant dans la cellule.

Si ces ions sont des composants caractéristiques de la phase colloïdale, nous pouvons appeler groupe de composants minéraux du milieu de dispersion du cytoplasme les éléments monovalents, parmi lesquels nous comptons dans le cas présent, le chlore et les métaux alcalins. Presque toutes les quantités de ces éléments, se trouvent en effet dans la cellule sous forme de composés diffusibles, où leur concentration est bien plus élevée que dans l'espace occupé par des substances dispersées.

II. LE LIQUIDE INTERMICELLAIRE

1. Composition minérale

Par le fait de connaître le rapport entre les substances dispersées et les composants des cendres, nous sommes en mesure de nous renseigner plus exactement sur certaines propriétés du liquide intermicellaire, en premier lieu, sur la composition minérale de celui-ci.

Nous savons que la composition minérale du liquide intermicellaire ou, plus exactement, la proportion des composés inorganiques dialysables dans le cytoplasme, dépend de deux propriétés de celui-ci. Elle dépend d'abord de la composition minérale de la cellule prise comme ensemble, puis des propriétés particulières dont disposent les substances dispersées, de se combiner à divers degrés avec les divers composants minéraux. Comme aussi bien les cellules ovulaires entières, que les substances dispersées de celles-ci, se distinguent par des différences spécifiques au point de vue de leur composition minérale, la concentration des différents électrolytes dans le liquide intermicellaire de ces cellules, doit, dans chaque cas particulier, être la résultante des deux facteurs mentionnés.

Tableau V

Concentration (en pour-cents) des composés minéraux dans le liquide intermicellaire d'œufs de différentes espèces animales

No. de l'expérience	Espèce animale	K %	Na %	Ca %	Mg %	Cl %	P %
13	<i>Gallus</i>	0.395	0.065	0.055	0.022	0.546	0.033
16	<i>Rana</i>	0.421	0.044	0.014	0.055	0.264	0.257
14	<i>Salmo</i>	0.320	0.044	0.019	0.032	0.287	0.042
32	<i>Labrax</i>	0.341	—	0.005	0.005	0.201	0.044
43	<i>Torpedo</i>	0.561	0.017	0.026	0.003	0.733	0
37	<i>Maja</i>	0.441	0.014	0.051	0.034	0.407	0.072
34	<i>Paracentrotus</i>	0.945	0.059	0.030	0.019	1.375	0.079
24	<i>Sepia</i>	0.048	0.012	0.032	0.010	0.359	0

On trouvera dans le tableau V, les données numériques relatives à la concentration de six composants (K, Na, Ca, Mg, Cl, P), dans le liquide intermicellaire d'une série d'œufs d'animaux, appartenant à différents groupes zoologiques (Oiseaux, Batraciens, Poissons, Crustacés, Mollusques, Echinodermes). — Nous trouvons parmi ces espèces, aussi bien des représentants d'animaux terrestres (*Gallus*, *Rana*, *Salmo*), que d'animaux marins (*Labrax*, *Torpedo*, *Paracentrotus*, *Maja*, *Sepia*), de sorte qu'au point de vue des fonctions osmorégulatrices, nous sommes en présence de deux groupes d'organismes différents (animaux poïkilosmotiques et animaux homéosmotiques). La concentration des composants dosés, a été calculée d'après la formule: $u_0 = 100 c_0 d_0 / d_0$ (v. l'équation 3) et exprimée en pour-cents (grammes).

Si nous pour le moment, nous nous bornons à analyser les données du tableau, relatives aux quatre premiers éléments (K, Na, Ca, Mg), notre attention se porte avant tout sur un fait significatif et important au point de vue général, qui découle dans une certaine mesure des considérations auxquelles nous nous sommes livrés dans les chapitres précé-

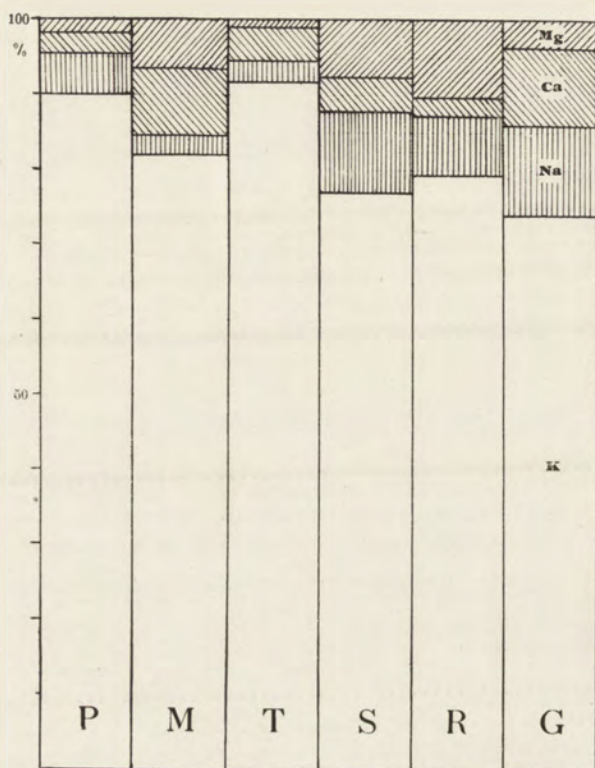


Fig. 2. Diagramme, représentant les quantités relatives des radicaux basiques des composés minéraux (K, Na, Ca, Mg), calculées en pour-cents de leur quantité globale dans le liquide intermicellaire des œufs des espèces animales suivantes: P-*Paracentrotus lividus* LM.; M-*Maja verrucosa* M. EDW.; T-*Torpedo ocellata* RAF.; S-*Salmo fontinalis* L.; R-*Rana temporaria* L.; G-*Gallus domesticus* L.

dents. Le potassium, que nous avons caractérisé auparavant comme le cation le plus constant de l'ooplasmе, ne manifestant qu'une faible tendance à se combiner avec les colloïdes, représente la base minérale

principale du liquide intermicellaire des cellules étudiées¹. — Si nous passons sur la quantité exceptionnellement petite dans les œufs de la Seiche, sujet sur lequel nous reviendrons bientôt, nous pouvons établir que dans les autres cas le potassium constitue 74 (*Gallus*) à 92% (*Torpedo*) de la quantité globale des bases minérales diffusibles de l'ooplasme (v. fig. 2).

Quant aux autres bases dont la quantité totale s'élève à peine à 8—26%, elles correspondent aux trois autres cations, c'est-à-dire au sodium, au calcium et au magnésium, cations, dont les quantités sont assez rapprochées dans le liquide intermicellaire, quoique le calcium soit sensiblement plus abondant que le magnésium, surtout dans les œufs des animaux marins.

La fig. 2, dans laquelle nous avons indiqué les quantités relatives des quatre métaux mentionnés et où nous les avons exprimées en pour-cents de leur poids global dans le milieu de dispersion des œufs, montre le rôle que joue le potassium qui, en ce qui concerne la quantité, représente la base la plus importante des composés diffusibles.

Ce diagramme permet de constater la très forte ressemblance qu'offre la composition minérale du liquide intermicellaire de l'ooplasme d'animaux qui appartiennent, comme nous le voyons, à des groupes zoologiques très éloignés et très différents au point de vue écologique. Il suffit de comparer les œufs de *Salmo* et ceux de *Maja*, pour se rendre compte que dans la composition exprimée en pour-cents des radicaux basiques, la part du potassium est presque la même dans les deux cas (77 et 82%) et que la part du magnésium (8%) est identique.

Le tableau ci-dessous (VI) montre clairement le rapport entre les quantités des trois autres cations et le potassium. Les différences qu'on observe à cet égard n'ont cependant rien de caractéristique au point de vue comparé et sont trop irrégulières, pour qu'il soit possible d'en tirer n'importe quelles conclusions relatives à un rapport quelconque entre la composition minérale du milieu de dispersion et les propriétés chimiques du milieu aquatique dans lequel vivent les animaux produisant les cellules ovulaires. Nous pouvons considérer par conséquent ces écarts comme peu importants et accidentels, aussi nous est-il permis d'affirmer qu'à 100 unités de poids de potassium, correspondent environ 10 unités de sodium, et à peu près 7 unités de calcium et de magnésium.

¹ D'après RUNNSTRÖM (1925), les œufs des Oursins renferment de fortes quantités de potassium dialysable, de sorte que la concentration de ce cation est presque huit fois supérieure à sa concentration dans l'eau de mer.

Tableau VI

Rapports quantitatifs entre les bases minérales du liquide intermicellaire des œufs

Espèce animale	K gr.	Na gr.	Ca gr.	Mg gr.
<i>Gallus</i>	100	16	14	5
<i>Rana</i>	100	10	3	13
<i>Salmo</i>	100	14	6	10
<i>Labrax</i>	100	—	2	2
<i>Torpedo</i>	100	3	5	1
<i>Maja</i>	100	3	11	8
<i>Paracentrotus</i>	100	6	3	2

D'entre les deux anions dosés dans les liquides ultrafiltrés, c'est le chlore qui est le radical acide le plus constant et le plus abondant des composés inorganiques du milieu de dispersion où l'on en trouve des quantités presque équivalentes à celle du potassium. Le phosphore inorganique est au contraire un composant très peu constant; dans les œufs de certaines espèces il est en effet extrêmement peu concentré, de sorte qu'il n'est pas possible de l'y doser (*Torpedo*, *Scillium*, *Sepia*), tandis que dans les autres, il est un composant normal et dosable du liquide intermicellaire, où la concentration de cet élément se rapproche parfois (p. ex. les oocytes en voie de croissance de *Rana*) de celle du chlore.

Dans le tableau VIII, nous donnons à part les concentrations des radicaux acides et celles des radicaux basiques que nous avons dosés; elles ont été calculées en grammes-équivalents pour 1 litre de liquide intermicellaire des œufs étudiés. — Il résulte de ce tableau que dans certaines analyses (*Gallus*, *Maja*), les totaux des anions et des cations s'accordent assez bien entre eux, tandis que dans d'autres, on trouve soit un excédent des bases (*Salmo*), soit un surplus de radicaux acides (*Rana*, *Torpedo*, *Paracentrotus*, *Sepia*). Sans vouloir préciser ces différences, faute de dosages des autres anions (de HCO_3' en particulier) qui pourraient modifier le résultat de ces calculs, nous pouvons considérer comme très probable qu'en dehors des quatre bases dosées (Na, K, Ca et Mg), il ne faut pas s'attendre à découvrir des quantités plus considérables d'autres cations inorganiques dans le liquide intermicellaire des œufs.

Tableau VII

Concentration des composants minéraux du liquide intermicellaire de l'ooplasmе, calculée par litre en grammes-équivalents

No. de l'ex- périence	13	16	14	43	37	34	24
Composants du liquide intermicellaire de l'ooplasmе	<i>Gallus</i> gr.-éq./l.	<i>Rana</i> gr.-éq./l.	<i>Salmo</i> gr.-éq./l.	<i>Torpedo</i> gr.-éq./l.	<i>Maja</i> gr.-éq./l.	<i>Paracen- trotus</i> gr.-éq./l.	<i>Sepia</i> gr.-éq./l.
K·	0.101	0.108	0.082	0.143	0.113	0.242	0.012
Na·	0.028	0.019	0.019	0.007	0.003	0.011	0.005
Ca·	0.027	0.007	0.009	0.013	0.025	0.015	0.016
Mg·	0.018	0.045	0.026	0.002	0.028	0.016	0.008
Radicauх basiques :	0.174	0.179	0.136	0.165	0.169	0.284	0.041
Cl'	0.154	0.074	0.081	0.206	0.115	0.387	0.101
P'' ¹	0.019	0.159	0.023	0	0.042	0.046	0
Radicauх acides :	0.173	0.223	0.104	0.206	0.157	0.433	0.101

Nous ne pouvons pas cependant passer sous silence le gros déficit de bases dans les œufs de la Seiche. Nos nombreuses analyses des liquides ultrafiltrés, ont mis hors de doute le déficit constant et très considérable des cations par rapport au chlore, qui étant donné l'absence complète de phosphore inorganique, couvre plus de deux fois le total des bases minérales dosées. On peut supposer que dans le cas étudié nous avons affaire à un cation inconnu dont la concentration est assez considérable (environs 0.06 gr.-éq.) dans le liquide de dispersion. Différentes réactions qualitatives, que nous avons appliquées pour élucider cette question, nous ont appris qu'il ne s'agit pas du cuivre, métal généralement absent dans les œufs d'animaux, dont le sang contient de grandes quantités de cet élément (DUBOIS, 1900; DHÈRE, 1904).

Si à présent nous résumons les résultats décrits dans ce chapitre, nous pouvons définir dans les grandes lignes le liquide intermicellaire de l'ooplasmе, comme une solution aqueuse de sels d'alcalis et de terres alcalines, dans laquelle les composés du potassium, en particulier le chlorure de ce métal, se trouvent en plus grande quantité; à côté du chlore, ce sont

¹ Voir KRAMER et TISDALL (1922).

les anions des phosphates, dont le liquide intermicellaire contient des quantités variables et peu considérables en comparaison avec la teneur en chlore, ainsi que sans doute les anions des carbonates, qui avec les phosphates et les protéines, jouent un rôle important dans l'équilibre acido-basique de l'ooplasme.

2. La composition minérale du liquide intermicellaire des œufs, comparée avec celle du milieu ambiant

Les faits établis dans le chapitre précédent, nous apprennent qu'en ce qui concerne la composition minérale, on observe une différence fondamentale entre le milieu de dispersion de la cellule et le milieu ambiant de celle-ci. — En effet, si toutes les recherches s'accordent à constater¹ que sous le rapport de la quantité, le chlorure de sodium représente le composé inorganique le plus important des liquides nourriciers de l'organisme, il résulte au contraire de nos investigations, que ce rôle échoit au chlorure de potassium dans le milieu de dispersion de l'ooplasme. Les concentrations des autres sels que contiennent les deux solutions aqueuses, offrent également des différences très remarquables.

Pour permettre de se rendre compte de ces relations, nous avons donné dans le tableau VIII, les concentrations du potassium, du sodium, du calcium, du magnésium et du chlore, dans l'un et dans l'autre milieu, c'est-à-dire dans le liquide intermicellaire des œufs et dans le sérum, respectivement dans le plasma sanguin des mêmes espèces animales. — Voulant rendre la comparaison plus claire, nous avons choisi les trois exemples le plus frappants qu'offrent des animaux dont le sérum diffère beaucoup, aussi bien sous le rapport de la concentration totale des électrolytes, qu'au point de vue de leur composition.

Comme exemple caractéristique pour les Invertébrés marins, nous donnons la composition minérale des œufs de *Maja*, ainsi que celle de leur milieu ambiant. Nous savons par les recherches de GRIFFITHS (1892) que le sang de ce Crustacé contient des sels dont la composition et la concentration se rapprochent de celles de l'eau de mer, mais qu'il ne renferme pas de grandes quantités des composés organiques, actifs au point de vue osmotique. — Quant à la seconde espèce dont il est question dans le tableau (*Torpedo marmorata*), elle nous fait connaître les conditions intéressantes qu'on observe à cet égard chez les Sélaciens.

¹ Comp. l'article de PARNAS (1926), où l'on trouvera la littérature complète, relative à cette question.

Le sérum de ces poissons isotonique par rapport à l'eau de mer, contient de fortes quantités de cristalloïdes organiques (surtout d'urée) et se distingue en même temps, comme nous l'avons constaté dans une série d'analyses (v. tableau VIII), par des rapports très différents entre les électrolytes, ainsi que par une concentration globale très réduite de ceux-ci, relativement au groupe précédent d'animaux. — Comme exemple caractéristique pour les Invertébrés homéostotiques, nous avons réunis dans la dernière colonne les résultats de nos analyses relatives aux œufs et au sérum de *Salmo*: les liquides de l'organisme se distinguent dans ce dernier groupe d'animaux par une faible concentration des sels minéraux; cette concentration compense presque entièrement la pression osmotique de ces liquides, dont la composition au point de vue des électrolytes, rappelle beaucoup celle du sérum des Sélaciens.

Tableau VIII

Concentration des composants minéraux dans le liquide intermicellaire des œufs et dans le sérum d'animaux

Composants	<i>Maja verrucosa</i> M. EDW.			<i>Torpedo ocellata</i> RAF.			<i>Salmo fontinalis</i> L.		
	Concentration		Rapport entre ces concentrations	Concentration		Rapport entre ces concentrations	Concentration		Rapport entre ces concentrations
	dans le liquide intermicellaire de l'œoplasme	dans le sérum de l'animal ²		dans le liquide intermicellaire de l'œoplasme	dans le sérum de l'animal ²		dans le liquide intermicellaire de l'œoplasme	dans le sérum de l'animal ²	
Na·	0.142	10.120	1:71	0.168	5.240	1:32	0.443	3.652	1:8
K·	4.407	1.204	4:1	5.610	0.121	46:1	3.200	0.229	14:1
Ca·	0.515	0.763	1:1.5	0.028	0.044	1:1.4	0.190	0.168	1.1:1
Mg·	0.338	0.343	1:1	0.260	0.194	1.5:1	0.316	0.023	14:1
Cl·	4.067	10.323	1:2.5	7.330	5.071	1.4:1	2.868	4.127	1:1.4
Δ	2.18 ⁰	2.18 ⁰	1:1	2.18 ⁰	2.18 ⁰	1:1	0.64 ^{0.1}	0.62 ⁰	1:1

Lorsque nous comparons les chiffres exprimant le rapport des concentrations des différents ions dans la phase aqueuse des cellules-œufs et dans les sérums des animaux étudiés, puis, lorsque nous examinons

¹ D'après BOGUCKI (1927).

² Calculé d'après les analyses de GRIFFITHS (1892, p. 45) pour le sang de *Homarus vulgaris*.

³ D'après les analyses de l'auteur.

le diagramme tracé d'après les données numériques du même tableau (fig. 3), nous constatons certains faits, qui constituent une contribution intéressante à la connaissance de la distribution des électrolytes dans l'organisme.

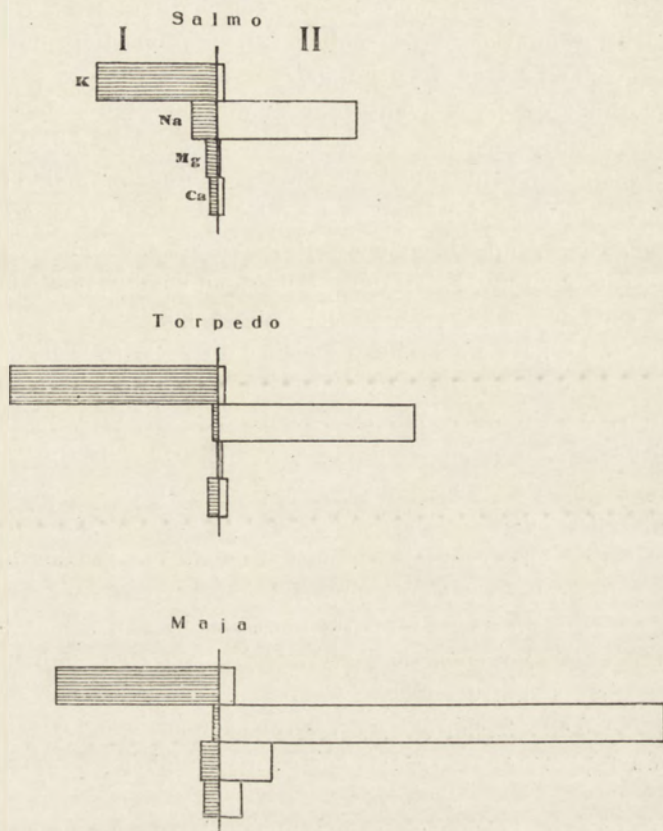


Fig. 3. Diagramme, représentant les concentrations relatives du potassium, du sodium, du magnésium et du calcium dans le liquide intermicellaire des œufs (I) et dans le sérum (II) des trois espèces animales: *Salmo fontinalis* L., *Torpedo ocellata* RAF. et *Maja verrucosa* M. EDW. (D'après le tableau VIII).

Comme c'était à prévoir, les cations monovalents, c'est-à-dire le potassium et le sodium, se comportent de la façon la plus uniforme à cet égard; le premier en qualité de composant principal du liquide intermicellaire des cellules, le second comme composant le plus important du liquide intercellulaire. — En dépit des différences sensibles qu'offre la composition minérale des sérums de ces animaux, la direction que

suit la baisse de la concentration des ions est la même dans les trois cas étudiés. La concentration de ces deux bases est en effet en raison inverse dans l'une et dans l'autre solution, toutefois la concentration des composés du potassium est plusieurs fois plus forte dans le liquide intermicellaire de l'ooplasmе que dans le liquide ambiant, tandis que la concentration des sels de sodium est en proportion plusieurs fois plus faible qu'elle l'est dans ce liquide.

Il nous faut observer avant tout quant au sodium, que la différence des concentrations de ce cation dans les deux milieux aqueux, atteint les valeurs les plus élevées chez les animaux poïkilosmotiques marins. Nous notons effectivement la plus grande différence de cette concentration chez *Maja*: la concentration du sodium dans les œufs de ce Crustacé est environ 71 fois plus faible que dans le sang de l'animal, tandis que chez les deux autres espèces, notamment chez *Torpedo* et chez *Salmo*, ce rapport s'exprime par des chiffres relativement plus bas (par 1 : 32 et par 1 : 8). — Au contraire, les différences qu'offre la concentration de l'autre cation monovalent, soit celle du potassium, sont en général bien plus faibles: en effet, si nous faisons abstraction de l'exemple que constitue *Torpedo*, qui s'écarte des autres, nous constatons que les différences des concentrations de ce ion sont en général plus petites que celles concernant le sodium et qu'elles se produisent en sens inverse dans les solutions mentionnées.

Quoique sous un autre rapport, la façon de se comporter du calcium est, elle aussi, caractéristique. Contrairement à ce que nous voyons pour les alcalis, la distribution du Ca est presque uniforme de l'un et de l'autre côté de la membrane cellulaire, phénomène qui se traduit par la valeur du rapport entre ces concentrations, laquelle se rapproche de l'unité.

Les deux autres composants, notamment le magnésium et le chlore, se distinguent en revanche par une répartition assez variable. La concentration du magnésium dans le milieu de dispersion des œufs, peut tantôt être supérieure (*Salmo*, *Torpedo*), tantôt égale (*Maja*) à la concentration de ce cation dans le sérum. — On observe une façon de se comporter analogue pour le chlore filtrable dont la concentration dans la cellule peut aussi bien être inférieure (*Maja*, *Salmo*), que supérieure (*Torpedo*) à celle qu'on trouve dans les liquides circulant dans l'organisme.

Nous sommes en droit d'affirmer en résumé que, comme c'est le cas à la surface de contact de la phase colloïdale avec le milieu de dispersion à l'intérieur de l'ooplasmе, de même des deux côtés de la

membrane vivante de l'œuf qui sépare le liquide intermicellaire du liquide intercellulaire, il existe des différences constantes et caractéristiques des concentrations électrolytiques.

Nos recherches nous ont appris entre autres, qu'à l'exception du calcium dont la concentration est presque la même dans les deux phases aqueuses, les autres bases minérales sont réparties d'une façon tout à fait particulière. Ce mode de répartition témoigne de l'isolation et de l'indépendance du milieu électrolytique de la cellule par rapport à la composition et à la concentration des sels du milieu interne de l'organisme. On observe très nettement ce phénomène même chez les représentants des groupes inférieurs d'animaux, chez lesquels le milieu en question manifeste, comme nous le savons, de fortes différences au point de vue de la composition minérale.

La mise en lumière de la façon dont se produit ce phénomène, est certainement une des questions les plus importantes, en rapport avec le problème de la perméabilité des membranes vivantes.

3. La concentration totale des composés minéraux dans le liquide intermicellaire de l'ooplasmе

Comme chez la plupart des animaux marins les liquides de l'organisme sont environ quatre fois plus concentrés que le sérum des Vertébrés supérieurs en ce qui concerne les électrolytes, et comme d'autre part les tissus animaux sont en général presque isotoniques par rapport aux liquides intercellulaires (JAPPELLI, 1906; BOTTAZZI et QUAGLIARIELLO, 1912; COLLIP, 1920), — on pourrait s'attendre à trouver la même différence relative à la concentration des composants minéraux, également dans les tissus de ces deux groupes d'animaux.

Il suffit toutefois de jeter un coup d'œil sur les données que nous avons réunies dans le tableau V et surtout d'analyser les valeurs qu'on trouve dans le tableau VII, pour se rendre compte que cette supposition est loin d'être fondée, du moins en ce qui concerne les cellules ovulaires.

Effectivement, si nous tenons compte de la concentration totale des composés minéraux, dont nous pouvons considérer comme mesure la concentration d'une seule espèce de radicaux, p. ex. celle des bases, exprimée en grammes-équivalents pour un litre de liquide intermicellaire (comp. le tableau VIII), nous ne tardons pas à nous apercevoir que la quantité des composés inorganiques en solution dans les mêmes volumes de liquide intermicellaire des œufs n'est en général pas en rapport avec

la concentration totale des électrolytes dans les liquides circulant dans l'organisme des animaux étudiés. — Par le fait de citer à l'appui de cette conclusion l'exemple le plus instructif, nous constatons que la concentration des bases minérales dans le milieu de dispersion des œufs du Crustacé marin *Maja*, est à peu près la même (0.169 gr.-équivalents par litre), que dans le jaune de l'œuf de la poule (0.174 gr.-équivalents par litre), dont le sérum (SOBKIEWITCH, 1913) contient à peine 25 % de la quantité de sels, qu'on trouve dans l'hémolymphe d'Invertébrés marins (GRIFFITHS, 1892; BOTTAZZI, 1897; DUVAL, 1924).

Les autres données numériques qu'on trouve dans le tableau VII (abstraction faite de celles en rapport avec la Seiche), fournissent également la preuve, que les différences entre les concentrations des électrolytes dans le milieu de dispersion des cellules ovulaires examinées, sont bien inférieures à celles qu'offrent les concentrations des mêmes substances dans le plasma sanguin des espèces animales étudiées.

Il résulte de ce qui précède que le liquide intermicellaire de l'ooplasme se distingue non seulement par une composition minérale analogue, mais qu'il est caractérisé de plus par une concentration totale des composés inorganiques, très rapprochée dans les cellules ovulaires de différents animaux. Cette concentration est généralement inférieure à celle de ces composants dans les liquides circulant dans l'organisme.

Les conclusions précédentes s'appuient sur la comparaison de la composition minérale du liquide intermicellaire des cellules étudiées, avec la composition des liquides circulant dans l'organisme des espèces animales dont nous nous occupons. Ces conclusions n'expliquent cependant pas suffisamment les rapports dans les cellules-même, comme elles ne rendent pas compte directement du rôle, qu'en dehors des composants minéraux, on voit jouer par d'autres composés filtrables dans la pression osmotique de l'ooplasme.

Nous avons tâché d'examiner cette question de plus près dans une série d'expériences spéciales. Il s'agissait d'établir avant tout quelle est la fraction de la concentration osmolaire globale de l'ooplasme que constituent les composés minéraux dialysables. Pour exécuter ces expériences, nous nous sommes servis exclusivement d'œufs d'animaux marins poïkilosmotiques, dont les tissus se distinguent, comme on sait, par une très forte concentration des substances actives au point de vue osmotique (*Torpedo*, *Maja*, *Sepia*, *Arbacia*).

Dans ces épreuves, nous nous sommes proposé surtout d'établir le rapport quantitatif entre la pression osmotique correspondant aux com-

posés minéraux dosés dans les liquides ultrafiltrés d'une part, et la pression osmotique totale des mélanges de l'ooplasme, de l'autre.

A cet effet, nous avons étendu l'ooplasme d'une quantité deux ou trois fois plus forte d'eau distillée, après quoi nous avons déterminé au moyen de l'appareil de BECKMANN, l'abaissement du point de congélation du mélange ainsi obtenu. Le reste du mélange sert à préparer une quantité appropriée de liquide ultrafiltré, dans lequel, en dehors des substances caractéristiques pour les composés organiques (substances dont il sera question dans le chapitre suivant), nous avons dosé les quatre bases inorganiques principales, à savoir: le sodium, le potassium, le calcium et le magnésium. La concentration osmolaire des composés minéraux que contenait le liquide filtré, a été exprimée par le degré de l'abaissement du point de congélation (Δ). Pour calculer cette valeur, nous sommes partis de la supposition, que les mélanges contiennent les sels de ces métaux, exclusivement sous forme de chlorures.

Lorsqu'on compare les valeurs Δ , calculées d'après l'analyse des liquides filtrés, avec les données résultant de la détermination cryoscopique de l'ooplasme dilué, on ne tarde pas à s'apercevoir, d'accord avec les considérations qui précèdent, que les sels inorganiques correspondent à peine à une partie de la concentration osmolaire totale des cellules ovulaires (v. tableau IX). — Ainsi, dans les deux premières séries de déterminations, le rapport entre la concentration osmolaire des substances minérales, calculée d'après les analyses, et la concentration globale, déterminée par la méthode cryoscopique, équivalait à $0.167^{\circ} : 0.726^{\circ}$ (*Torpedo*), respectivement à $0.113^{\circ} : 0.490^{\circ}$ (*Maja*). Dans l'un et dans l'autre cas, les composés inorganiques prennent la même part (23%) à la pression osmotique de l'ooplasme.

Les écarts entre les valeurs sont cependant plus considérables dans les deux autres déterminations. — Ainsi chez la Seiche, la part que prennent les électrolytes, dont nous avons pu établir la présence, à l'abaissement du point de congélation des mélanges d'ooplasme, s'élève à peine à 9%; or, si nous tenons compte du déficit des bases minérales dans les liquide ultrafiltrés, déficit dont il a été déjà question ci-dessus, ce chiffre doit certainement être inférieur à la réalité. — Au contraire chez *Arbacia*, nous sommes en présence d'un écart en sens inverse; en effet, les 61% qui dans ce cas correspondent aux électrolytes, représentent une valeur probablement trop élevée, à cause du mélange inévitable de l'eau de mer, qui pénètre dans le matériel étudié pendant la préparation des œufs.

Tableau IX

Abaissement du point de congélation des solutions d'ooplasme, étendues d'eau distillée, et teneur des liquides ultrafiltrés en substances minérales et organiques

No. de l'expérience		43	38b	42	41	
Espèce animale		<i>Torpedo ocellata</i>	<i>Maja verrucosa</i>	<i>Sepia officinalis</i>	<i>Arbacia pustulosa</i>	
Mélange	Degré de dilution de l'ooplasme	2	3	3	3	
	Volume de la phase dispersée	29.5%	14.2%	14.5%	7.0%	
	Abaissement du point de congélation	0.726°	0.490°	0.471°	0.716°	
Liquide ultrafiltré	Concentration des bases minérales dans les liquides ultrafiltrés, en grammes-molécules par litre	K·	0.0417	0.0214	0.0040	0.0471
		Na·	0.0021	0.0011	0.0021	0.0611
		Ca·	0.0020	0.0035	0.0026	0.0031
		Mg·	0.0005	0.0027	0.0012	0.0076
	Δ calculé des chlorures des cations dosés	en °C	0.167°	0.113°	0.042°	0.435°
		en % du Δ du mélange	23%	23%	9%	61%
	Teneur en grammes par litre de liquide ultrafiltré	Substance sèche	40.0	30.0	28.2	23.6
		N	3.34	3.38	2.24	1.99
		S	1.66	2.08	2.47	0.36
		urée	8.43	0	0	0
Concentration calculée de la taurine (grammes pour un litre)		6.48	8.12	9.64	1.39	
Δ calculé correspondant à la teneur en urée et en taurine	en °C	0.368°	0.120°	0.144°	0.021°	
	en % du Δ du mélange	51%	25%	31%	3%	

Indépendamment de la façon d'interpréter ces écarts, il n'en est pas moins certain à la lumière de ces faits, que dans les cellules ovulaires caractérisées par une forte concentration osmolaire, on voit correspondre aux électrolytes moins de la moitié de l'activité osmotique de ces cellules.

Nous sommes par conséquent en présence d'un phénomène, qu'on pourrait qualifier d'« hypotonie minérale » des éléments cellulaires par rapport au plasma sanguin. Ce déficit de composés minéraux du protoplasma cellulaire, est particulièrement manifeste chez la plupart des animaux marins poïkilosmotiques, chez lesquels la concentration des électrolytes dans les liquides nourriciers de l'organisme, est presque identique à celle de l'eau de mer (FREDERICQ 1884, 1922, BOTTAZZI 1897, 1905, DUVAL 1925) et la teneur en cristoïdes organiques, très réduite (BAGLIONI 1906, 1907).

Tableau X

Concentration totale des bases minérales dans le liquide intermicellaire des œufs et dans les liquides nourriciers des animaux correspondants

Espèce animale	a	b	Rapport entre ces concentrations a/b
	Concentration des bases minérales		
	dans le liquide intermicellaire des œufs gr.-éq./l.	dans les liquides nourriciers des animaux gr.-éq.-l.	
<i>Salmo</i>	0.136	0.175 ¹	0.77
<i>Torpedo</i>	0.165	0.244 ¹	0.68
<i>Paracentrotus</i>	0.284	0.596 ²	0.48
<i>Maja</i>	0.169	0.596 ²	0.28

Quant aux Sélaciens, ils représentent pour ainsi dire un groupe intermédiaire. Il est vrai que le plasma sanguin de ces poissons, est isotonique par rapport à l'eau de mer dans laquelle ils vivent, toutefois il ne contient que presque la moitié de la quantité des sels que renferme celle-ci (FREDERICQ 1884, 1901, QUINTON 1912). Grâce à la forte ré-

¹ D'après les analyses de l'auteur.

² Calculée d'après les analyses de l'eau de la Méditerranée, suivant FORCHHAMMER.

duction de la concentration des électrolytes du sang, l'hypotonie minérale des éléments cellulaires, est bien moins sensible chez ces animaux (comp. le tabl. X).

Chez les Vertébrés supérieurs, où la concentration des sels du plasma sanguin est près de quatre fois inférieure à celle de l'eau de mer, presque toute la pression osmotique de l'ooplasmе est compensée par les composés minéraux du milieu de dispersion de celui-ci.

4. Les composés organiques filtrables de l'ooplasmе

Une autre question s'impose comme conséquence des faits précédemment décrits: dans quelle catégorie de composés faut-il ranger les substances qui compensent la différence des concentrations entre la cellule-œuf et le milieu ambiant? Comme on s'en aperçoit par le tableau IX, la concentration de ces substances peut être très forte dans l'ooplasmе de certains animaux, de sorte qu'elle peut atteindre une valeur équivalant à peu près à $\Delta = 1.6^{\circ}$. Inutile de dire, qu'il ne saurait être question de substances colloïdales (STARLING 1895, SÖRENSEN 1915/1917, 1919, FAHR et SWANSON 1926), quoiqu'elles atteignent ici des concentrations plusieurs fois plus fortes que dans le sérum, car il s'agit de composés filtrables, dont le poids moléculaire est relativement peu élevé et qui se distinguent par leur grande solubilité dans l'eau.

En ce qui concerne les Invertébrés marins, nous trouvons dans la littérature certaines indications, qui nous permettent de supposer que les substances cherchées ne sont autres que des composés azotés d'extraction. — L'urée, la taurine et le glyco-colle, très abondants dans les tissus de certains animaux marins, sont les trois substances qui méritent surtout d'attirer l'attention parmi ces composés.

Autant qu'il est possible d'en juger d'après les recherches sur ce sujet, le rôle de l'urée en qualité de cristalloïde assumant les fonctions osmorégulatrices dans l'organisme, est limité à un seul groupe d'animaux poïkilosmotiques, notamment à celui des Sélaciens (STÄDLER et FRERICHS 1858, VON SCHROEDER 1890, RODIER 1900, BAGLIONI 1905, DELAUNEY 1913, MACALLUM 1910, 1926). Nous savons que la présence de l'urée, a non seulement été constatée dans le sang, où la concentration de cette substance atteint environ 2.6%, car on l'a trouvée également, quoique en plus petite quantité, dans les tissus de ces animaux (1.36% dans le foie et 1.95% dans les muscles, d'après VON SCHROEDER), ainsi que dans le jaune de leurs œufs (dans ceux de *Torpedo*, d'après GORI 1920).

Quant à la seconde substance d'extraction, représentée par la taurine, elle est plus répandue que la première. Nous savons par les recherches d'une série d'auteurs (VALENCIENNES et FRÉMY 1854, 1855, CHITTENDEN 1875, FEDERICQ 1878, KELLY 1904, MENDEL 1904, HENZE 1904, 1905, 1908, BUGLIA et CONSTANTINO 1913, JENSEN 1913, KOSSEL et ELDBACHER 1915, SCHMIDT et WATSON 1918 et d'autres) qu'on trouve d'assez fortes quantités de ce composé dans les tissus (muscles, foie, reins) de nombreux Invertébrés marins (*Octopus*, *Haliotis*, *Sycotypus*, *Fulgur*, *Pecten*, *Mytilus*, *Astropecten*), surtout chez les représentants de deux groupes zoologiques, notamment chez les Mollusques et les Échinodermes. La présence de quantités notables de taurine dans les œufs (*Octopus*, *Astropecten*, *Paracentrotus*) a été constatée par VALENCIENNE et FRÉMY (1854), ainsi que par KOSSEL et ELDBACHER (1915).

Enfin, en ce qui concerne le glycocolle dont le rôle est probablement analogue à celui des composants précédents, ont réussi à le découvrir dans les muscles d'une série de Mollusques marins (d'après CHITTENDEN 1875 et KELLY 1904, les muscles de *Pecten* contiennent environ 0.4 à 0.7% de cette substance), ainsi que dans les ovaires et les testicules d'Échinodermes (chez *Astropecten* et *Paracentrotus*, d'après KOSSEL et ELDBACHER 1915).

Il faut encore attirer l'attention sur une série de substances azotées rappelant les alcaloïdes, dont la présence a été constatée par KUTSCHER et ACKERMANN (1926) dans les tissus de nombreux Invertébrés marins.

Il ne paraît guère probable que les composés non azotés jouent un rôle aussi important. Les recherches concernant uniquement le glucose, nous ont appris que le jaune des œufs d'oiseaux (DIAMARE 1909, 1910, 1911, 1916, SALKOWSKI 1911, GORI 1919, 1920, GADASKIN 1926) et les ovaires du Saumon (GREENE 1921), n'en contiennent que de très petites quantités et qu'il fait complètement défaut dans les œufs des Batraciens et dans le jaune des œufs de *Torpedo ocellata* (GORI 1919).

Quant à mes analyses dont les résultats ont été résumés dans le tableau IX plus d'une fois mentionné, elles se proposaient uniquement de caractériser dans les grandes lignes les composés organiques filtrables que contiennent les œufs de plusieurs espèces marines. Ces analyses ont porté sur la teneur des liquides ultrafiltrés en urée, en azote total, en soufre organique et en substances solides.

Il résulte de ce tableau que les dosages de la substance sèche et les analyses concernant les composants minéraux indiquent la présence

de grandes quantités de composés organiques dialysables. — Ainsi, dans un litre de liquide obtenu par l'ultrafiltration du jaune des œufs de *Torpedo ocellata*, dilué dans la proportion de 1 : 2, nous trouvons environ 40 gr. de substances solides, quantité dans laquelle les composés organiques correspondent à environ 36.3 gr. Dans les mélanges d'ooplasme préparés avec les trois autres espèces d'œufs (dilution 1 : 3), nous trouvons également dans le même volume de liquides ultrafiltrés des quantités de substances organiques, équivalent à 27.4 (*Maja*), à 26.9 (*Sepia*) et à 13.9 gr. (*Arbacia*).

Quant au soufre organique, ce sont les œufs de la Seiche qui en contiennent le plus (0.247 % dans le liquide intermicellaire de l'ooplasme dilué dans la proportion de 1 : 3), tandis que les œufs de *Maja*, de *Torpedo* et d'*Arbacia*, sont déjà sensiblement moins riches en cette substance. Lorsque, d'accord avec les auteurs (KELLY 1904, MENDEL 1904, HENZE 1904, 1905), nous calculons la teneur en taurine d'après la quantité de soufre organique, nous obtenons les valeurs suivantes pour la concentration de cette substance dans le liquide intermicellaire: 4.37 % pour la Seiche, 3.62 % pour *Maja*, 2.23 % pour *Torpedo*, enfin 0.49 % pour *Arbacia*. — Ces résultats s'accordent avec les observations de FREDERICQ (1878) et de HENZE (1904), qui ont trouvé dans différents tissus de Céphalopodes des quantités très fortes de taurine exactement déterminée (d'après HENZE — les muscles en contenaient environ 0.5 % de leur poids frais).

Nous n'avons réussi à déceler de l'urée que dans des œufs de Séla-ciens (*Torpedo*, *Scyllium*). — En ce qui concerne les liquides ultrafiltrés, préparés avec des œufs d'autres espèces, on vit l'épreuve uréasique et la réaction au xanthidrol donner des résultats franchement négatifs. Les dosages dans le jaune des œufs de *Torpedo*, dilué dans la proportion de 1 : 2, que nous avons exécutés en appliquant la méthode de FOSSE (1913, 1914) modifiée par NICLOUX et WALTER (1921), ont décelé environ 8.4 gr. d'urée par litre, quantité qui correspond à 3.04 % de la concentration dans le milieu de dispersion de l'ooplasme¹.

Si par conséquent nous ne tenons compte que des deux substances d'extraction dernièrement examinées et si nous calculons leur concentration en unités de l'abaissement du point de congélation qui leur correspond, nous constatons (v. tabl. IX) que dans les œufs de *Torpedo*, elles équivalent à 51 % de la concentration osmolaire du liquide intermicellaire, par rapport aux 23 %, compensés par les électrolytes, que

¹ Dans le sang du même animal, VON SCHROEDER (1890) a trouvé environ 2.6 % d'urée.

nous avons établis précédemment. La taurine à elle seule, correspond à 31% et à 25% de la pression osmotique totale de l'ooplasme, dans les œufs de *Sepia* et de *Maja*.

Au restant des autres substances d'extraction encore non déterminées, on voit correspondre les valeurs suivantes: 0.191° pour *Torpedo*; 0.257° pour *Maja*; 0.285° pour *Sepia* et 0.260° pour *Arbacia*. — Ces chiffres expriment le déficit de Δ , qui s'élève à 26%, 52%, 61% respectivement à 36%, de la pression osmotique totale de l'ooplasme.

D'après les calculs approximatifs, auxquels on ne peut attribuer qu'une valeur provisoire, permettant de s'orienter dans cette question, calculs dans lesquels nous tenons compte de la concentration, de la teneur en azote et de l'abaissement du point de congélation qui correspond à ce restant organique dans les liquides ultrafiltrés, nous pouvons caractériser celui-ci comme un mélange de composés, dont la teneur en azote varie entre 7 et 16% et dont le poids moléculaire est relativement peu élevé (60—200).

Nous estimons que l'isolation, l'identification, ainsi que l'analyse quantitative de ces substances dans les tissus des représentants de différents groupes d'animaux marins, peuvent constituer un problème aussi intéressant qu'important pour des recherches dirigées dans ce sens.

En résumant ce chapitre, nous pouvons considérer comme un fait bien établi par les recherches des auteurs et par nos analyses, que les tissus et les cellules ovulaires des animaux caractérisés par une forte pression osmotique des liquides nourriciers, renferment de fortes quantités de cristaalloïdes organiques qu'il faut ranger dans la catégorie des composés azotés d'extraction. — Ces composés ne sont pas les mêmes dans les tissus des représentants de différents groupes d'animaux. Ainsi, c'est l'urée qui est caractéristique pour les Sélaciens, tandis que c'est surtout de la taurine qu'on trouve chez les Crustacés et Mollusques. — Parmi les différentes fonctions, surement importantes, cependant jusqu'ici inconnues, que ces substances sont appelées à remplir dans l'organisme, elles assument certainement aussi la tâche de régler la pression osmotique de la cellule.

DISCUSSION DES RESULTATS OBTENUS

Deux questions sur lesquelles nous avons voulu jeter de la lumière dans le présent travail, méritent surtout d'attirer l'attention; l'une concerne la concentration des électrolytes dans les cellules ovulaires, l'autre intéresse la composition chimique du liquide intermicellaire des ces cellules.

La question relative à « l'hypotonie minérale » des tissus chez les groupes inférieurs d'animaux marins, n'est pas un problème absolument nouveau; d'autre part, la faible concentration des composés inorganiques que nous avons constatée dans les cellules-œufs de ces animaux, ne constitue pas un fait isolé, intéressant exclusivement le type histologique en question.

C'est le physiologiste belge FREDERICQ (1884, 1901), qui a eu le mérite d'avoir le premier attiré l'attention sur ce problème et d'avoir entrepris les premières recherches sur ce sujet. Cet auteur est parti du fait que les tissus (surtout les muscles) de nombreux animaux marins (Vers, Mollusques, Crustacés et Sélaciens), contiennent bien moins de composés minéraux solubles que l'eau de mer. S'appuyant sur les analyses concernant la présence de ces composés dans les cendres des tissus et du sang de nombreuses espèces animales, FREDERICQ distingue trois espèces de tissus: 1^o, les tissus dont la concentration des sels inorganiques est identique à celle de l'eau de mer (animaux pélagiques); 2^o, les tissus dans lesquels l'abaissement du point de congélation est le même que pour l'eau de mer, mais dont la teneur en composés minéraux est sensiblement inférieure (la plupart des animaux marins inférieurs); enfin, 3^o, les tissus dont la concentration des substances osmotiques est très réduite en comparaison avec l'eau de mer et la teneur en composés minéraux se rapproche de celle des liquides circulant dans l'organisme (la majorité des Vertébrés, y compris le groupe des Téléostéens).

Nos recherches sont une nouvelle contribution à l'étude de cet intéressant problème, auquel on a prêté si peu d'attention depuis la publication des premiers travaux de FREDERICQ.

Nous avons adopté une méthode de recherches différente. Cette méthode consistait à doser les composés minéraux les plus importants en ce qui concerne la quantité que contient le protoplasma cellulaire à l'état de solution vraie, c'est-à-dire sous la forme où ils développent l'activité osmotique la plus intense. Nous avons obtenu ainsi des données définissant la concentration globale des électrolytes que contient la solution aqueuse de l'ooplasme.

Dans la mesure où il nous est permis de tirer des conclusions, nous pouvons considérer comme règle que la concentration des sels du liquide intermicellaire de l'ooplasme est toujours inférieure à celle du milieu ambiant immédiat de la cellule et que la différence entre ces concentrations est d'autant plus grande, que les composés minéraux de ce milieu sont plus concentrés.

Nous pourrions nous représenter par conséquent la répartition des sels minéraux dans l'organisme, en admettant que dans la série animale, les tissus se distinguent par une certaine concentration des électrolytes qui est à peu près la même chez les différents animaux et que la teneur du protoplasma cellulaire en ces substances est dans une large mesure indépendante de leur quantité dans les liquides intercellulaires.

Chez les animaux marins inférieurs, privés de fonctions osmorégulatrices, la concentration des électrolytes est plusieurs fois moins forte dans les cellules que dans les liquides nourriciers de l'organisme; nous savons que dans ceux-ci la concentration et la composition chimique des électrolytes sont presque les mêmes que dans l'eau de mer. Les tissus de ces animaux se distinguent par de très grandes quantités de composés organiques dialysables, qui sont des produits propres au métabolisme protéique et dont la concentration dans le liquide intermicellaire compense l'isotonie des éléments cellulaires par rapport au plasma sanguin.

Un autre groupe diamétralement opposé au précédent, est représenté par les Vertébrés supérieurs dont le plasma sanguin contient des quantités réduites d'électrolytes et dont les tissus sont caractérisés par une très faible hypotonie minérale par rapport aux liquides intercellulaires. C'est pourquoi, les tissus de ces animaux sont relativement très pauvres en substances azotées d'extraction, qu'on trouve dissoutes dans leur protoplasme.

On devrait supposer que les stades intermédiaires de ce processus, en rapport avec le passage des organismes d'un milieu salé dans l'eau douce, entraîne un appauvrissement progressif des liquides de l'organisme en composés minéraux, est s'accompagne en même temps d'une diminution parallèle de la quantité de cristoïdes organiques que renferment les éléments cellulaires. — A l'inverse, le fait de passer de l'eau douce ou d'un milieu légèrement salé dans un milieu dont la concentration des électrolytes est plus élevée, devrait entraîner dans les éléments cellulaires d'un animal à osmorégulation imparfaite (DAKIN 1908), une augmentation de la quantité de substances qui sont le produit du métabolisme protéique spécifique, déclenché par le stimulus osmotique.

Les Sélaciens marins, privés de pouvoirs osmorégulateurs, chez lesquels nous observons la première fois une réduction de la concentration globale des électrolytes dans les liquides de l'organisme, représentent un groupe intermédiaire très intéressant à cet égard. C'est surtout l'urée (VON SCHROEDER 1890) qui joue chez ces animaux le rôle d'un cristoïde organique assumant la tâche de compenser la différence de la concentration des électrolytes entre l'organisme et le milieu ambiant, aussi

cette substance est-elle répartie d'une façon uniforme entre la phase aqueuse du plasma sanguin et le liquide intermicellaire des tissus.

Nous ne connaissons malheureusement pas les autres stades intermédiaires du phénomène dont nous venons de nous entretenir. Il est constitué d'une part, par la réduction de la concentration des composés minéraux dans les liquides nourriciers de l'organisme et de l'autre, par l'appauvrissement de ces liquides et des tissus en cristaalloïdes organiques.

La question de savoir, si l'hypotonie minérale des cellules est un phénomène primaire et général, également propre aux animaux marins les plus simples, — ou si elle est un phénomène secondaire, qui ne se produit que dans les tissus des Invertébrés marins supérieurs — cette question, n'est toujours pas encore tranchée. Nous savons que FREDERICQ s'est prononcé pour cette dernière opinion; cet auteur admet en effet que la teneur en composés minéraux des tissus des animaux pélagiques est la même que dans l'eau de mer. La première hypothèse prévaut au contraire dans les considérations qui envisagent le rapport causal supposé entre l'hypotonie minérale des tissus chez les animaux vivant actuellement et la faible salinité de l'océan primitif, dans lequel il faudrait chercher l'origine de la vie (comp. MACALLUM 1910, 1926). Nous ne disposons pas cependant de données capables de résoudre ce problème, certainement pas dénué d'intérêt général¹. — Des recherches sur les quantités d'électrolytes filtrables, contenus dans le cytoplasme des animaux marins unicellulaires, pourraient donner des résultats intéressants à cet égard, qui permettraient de résoudre définitivement cette question.

Indépendamment de la solution que trouvera un jour cette question, le fait que la concentration des électrolytes ne dépasse pas une certaine valeur relativement peu élevée dans les tissus de la plupart des animaux, réclame toujours une explication. Quelle signification faut-il attribuer à ce phénomène et quelle rôle peut-il bien jouer dans les processus vitaux de la cellule?

Deux chemins permettent à notre avis de s'approcher de la solution de ce problème. Nous pouvons l'envisager: 1^o, du point de vue de l'influence que la concentration du liquide intermicellaire est capable d'exercer sur la dispersion des colloïdes de la cellule; 2^o, il est possible

¹ Nous avons analysé précédemment (1926, 1927 b) les cendres des œufs de certains Annelides (*Arenicola Claparedii* Lew., *Sipunculus nudus* L.); ces recherches nous ont appris que comme chez d'autres Invertébrés marins, la teneur en composés minéraux était très peu élevée chez ces animaux.

de le traiter en tenant compte du rapport éventuel entre le degré de la dissociation des électrolytes dans le liquide intermicellaire du cytoplasme et la perméabilité à ces électrolytes de la membrane vivante de la cellule.

On pourrait supposer en effet que la concentration des électrolytes observée, qui varie d'habitude entre les limites: $A = 0.5 - 0.8^{\circ}$, est précisément celle où le degré de dispersion des colloïdes protéiques atteint la valeur la plus favorable au développement des processus biochimiques qui se produisent dans la cellule. Parmi les faits qu'on pourrait citer à l'appui de cette supposition, il faut mentionner les observations suivant lesquelles le changement de la concentration des électrolytes dans les cellules, sous l'influence de l'action de liquides anisotoniques, entraîne un ralentissement des processus vitaux (BIAŁASZEWICZ, 1921). Si d'autre part nous tenons compte des recherches d'OSTERHOUT (1925, 1926), suivant lesquelles la membrane cellulaire vivante est imperméable aux sels complètement dissociés, nous pourrions admettre qu'une faible concentration des électrolytes dans la cellule produit les conditions les plus favorables à la rétention de ces composants.

On doit attribuer un importance physiologique au moins égale à la composition minérale du liquide intermicellaire, ce vrai milieu intérieur dans la cellule, dans lequel l'échange des cristalloïdes entre les composés dispersés du cytoplasme et le milieu extérieur, ne cesse jamais d'avoir lieu. — Nos recherches ont montré que le rapport entre les principaux composants minéraux qu'on observe dans la solution aqueuse de la cellule, est partout à peu près le même et que, dans la mesure où il est possible d'en juger par nos analyses, ce rapport ne dépend pas du tout du degré de l'organisation de l'espèce animale donnée ni de la composition et de la concentration globale des électrolytes dans les liquides nourriciers du corps. Parmi les propriétés qui caractérisent la composition chimique du liquide en question, il faut attirer l'attention sur la forte prédominance du chlorure de potassium qui l'emporte de beaucoup sur les autres sels d'alcalis et de terres alcalines. D'entre ces sels, ce sont surtout ceux des terres alcalines qu'on trouve le plus souvent dans les cellules, sous la forme de composés non filtrables. Nous savons que le rapport quantitatif entre ces composants minéraux, est tout à fait différent dans le milieu de dispersion des liquides intercellulaires. — On pourrait supposer par conséquent que la grande quantité de sels de potassium que contiennent les éléments cellulaires de l'organisme, est un facteur de première importance dans les réactions biochimiques dont les cellules sont le siège.

Il paraît probable que les sels de potassium sont également le composant minéral le plus important du milieu de dispersion des autres éléments morphologiques de l'organisme animal. Les recherches de VAN SLYKE, de HASTINGS, de HEIDELBERG et de NEILL (1922) semblent confirmer en effet cette opinion: ces auteurs ont fourni la preuve que lorsque la concentration des ions d'hydrogène dans le sérum est normale (pH = environ 7.4), plus de 50% du potassium des globules rouges est à l'état libre, c'est-à-dire non lié à l'hémoglobine. Il résulte également des recherches de RINGER (1923, 1925) que les sels de potassium ne disposent qu'à un faible degré de la faculté de se combiner à différentes substances protéiques. — Nous trouvons en outre une série de données qui permettent d'inférer que les cellules musculaires contiennent de très fortes quantités de potassium filtrable. Citons en premier lieu à ce propos, les travaux de MITCHEL et WILSON (1922), de STANSON (1923) et de WOJTCZAK (1927), sur la perméabilité des muscles aux sels de potassium, puis les recherches de RAAB (1927), qui en dépit des résultats obtenus par NEUSCHLOSZ (1923—1926), n'a décelé dans les muscles que des quantités minimales de potassium non diffusible. C'est aussi dans ce sens qu'il faut interpréter les résultats des recherches sur la conductibilité électrolytique des cellules et des tissus à l'état de vie (HÖBER, 1912, 1913; HARTREE et HILL, 1921; BROKS, 1923, 1925; GELFAN, 1927).

Il nous faut encore attirer l'attention sur les rapports très étroits entre les résultats de nos recherches et les faits révélés par les analyses portant sur les composés minéraux du suc cellulaire des végétaux. — Les résultats auxquels ont abouti MEYER (1891/1892), HANSEN (1893/1895) et OSTERHOUT (1923, 1925), en étudiant certaines algues marines méritent surtout d'éveiller notre curiosité. Pour permettre d'établir une comparaison, nous reproduisons d'après nos recherches les données relatives à la concentration (calculés pour 100 gr. de potassium) de quatre bases minérales (K, Na, Ca, Mg) dans le liquide intermicellaire de cellules ovulaires animales, puis les résultats auxquels a abouti OSTERHOUT (1923) au cours de ses investigations sur la composition du suc vacuolaire de *Valonia macrophysa*:

	K	Na	Ca	Mg
Liquide intermicellaire des œufs . . .	100	3—16	2—14	1—13
Suc des vacuoles de <i>Valonia</i> . . .	100	10.3	3.4	traces

Ces deux séries concordantes de chiffres pourraient servir de point de départ à d'intéressantes recherches sur la répartition des électrolytes dans le protoplasma des cellules végétales.

RÉSUMÉ

Nous pouvons résumer comme suit les résultats de nos recherches :

1^o Les cendres des œufs provenant des espèces animales étudiées, se distinguent en général par leur taux élevé de potassium, par des quantités plusieurs fois moins forte de sodium, de calcium et de magnésium, puis par une teneur en chlore qui ne compense pas d'une façon équivalente le totale des bases minérales. — Les métaux des terres alcalines, en particulier le calcium, sont les composants les plus variables des cendres¹.

— Les électrolytes sont répartis d'une façon très caractéristique entre la phase dispersée et le milieu de dispersion des cellules ovulaires.

2^o Les substances organiques qui constituent la phase dispersée des cellules et qu'on trouve sous la forme d'un mélange de colloïdes, de gouttelettes d'émulsion et de suspensions deutoplasmiques, occupent une partie considérable (20—63 %) du volume de l'ooplasmе, de sorte qu'elles réduisent sensiblement l'espace intermicellaire occupé par la solution aqueuse des substances dialysables.

3^o Les composants des cendres des cellules-œufs ne sont pas tous liés au même degré aux substances de la phase dispersée. La plus grande partie des métaux alcalins et du chlore se présente dans l'ooplasmе sous la forme de composés diffusibles.

4^o Lorsqu'on tient compte des différences spécifiques, relatives aussi bien à la composition des cendres qu'au rapport entre les composants de celles-ci et les quantités variables de substances dispersées dans les œufs de différentes espèces animales, on ne tarde pas à constater une régularité manifeste, en ce qui concerne la répartition des composés minéraux de l'ooplasmе. — Cette régularité se traduit par le fait que les divers composants manifestent des différences caractéristiques de leur concentration à la surface de séparation entre les particules dispersées et le milieu de dispersion. Les éléments monovalents (le potassium, le sodium et le chlore), c'est-à-dire les composants typiques du liquide intermicellaire, se distinguent par une différence négative de leur concentration par rapport au dissolvant, tandis que les ions bivalents (le calcium, le magnésium), qu'on trouve dans les cellules ovulaires, surtout sous la forme de composés non filtrables, sont caractérisés par une différence positive.

5^o Ce dernier groupe de substances minérales (Ca, Mg), se distingue du premier (K, Na, Cl), également par la circonstance que leur composés non diffusibles sont plus facilement sujets à la dissociation sous

¹ Voir : BIAŁASZEWCZ (1926, 1927). <http://rcin.org.pl>

l'action de la dilution du liquide intermicellaire de l'ooplasme. Les courbes qui expriment dans quelle mesure le degré de la combinaison de ces substances avec la phase dispersée dépend de leur concentration dans le milieu de dispersion des mélanges d'ooplasme, rappellent à première approximation les isothermes d'adsorption.

6° On ne peut qu'être frappé de voir qu'en dépit de la diversité des facteurs agissant sur la distribution des électrolytes, la composition minérale du liquide intermicellaire de l'ooplasme est presque identique, même dans les œufs d'animaux qui appartiennent à des groupes zoologiques très différents. — Le liquide intermicellaire des cellules ovulaires est en général une solution de sels d'alcalis et de sels de terres alcalines, dans laquelle le chlorure de potassium l'emporte de beaucoup sur les composés du sodium, du calcium et du magnésium, dont les quantités sont très rapprochées dans la solution. A 100 unités de poids de potassium dans le liquide intermicellaire, nous voyons correspondre en moyenne 10 unités de sodium, 7 unités de calcium et autant de magnésium.

7° Le liquide intermicellaire de l'ooplasme est par conséquent une solution caractérisée par une composition minérale spécifique, qui diffère éminemment de celle des liquides circulant dans l'organisme. Comparé à ceux-ci, il se distingue par une concentration bien plus forte des sels de potassium et par une concentration plusieurs fois plus faible des composés du sodium. Quant aux sels de calcium, leur concentration est à peu près la même dans les deux solutions aqueuses.

8° L'émancipation du milieu de dispersion des cellules par rapport au milieu extérieur, se traduit également par la concentration globale des composés minéraux. — En effet, la concentration de ces composés dans les cellules des animaux terrestres supérieurs ne s'écarte pas sensiblement de la concentration des mêmes substances dans les tissus des organismes marins inférieurs. C'est pour cette raison que dans les cellules des animaux, chez lesquels la concentration des substances osmotiques est élevée, on ne voit correspondre aux composés minéraux qu'une faible partie de la concentration osmolaire globale de l'ooplasme, partie qui atteint à peine 25%.

9° La différence entre la concentration osmolaire totale des œufs et la concentration des composés inorganiques diffusibles qu'ils contiennent, est compensée par des substances organiques, produits du métabolisme protéique (urée, taurine, glycolle). — Les produits en question sont particulièrement concentrés dans les œufs des animaux poïkilotiques marins, qui se distinguent par une forte pression osmotique de leurs tissus et des liquides nourriciers de l'organisme.

10^o Ces substances assument les fonctions de composés, destinés à régler la pression osmotique de l'ooplasmе, par rapport aux liquides intercellulaires.

Nous profitons de cette occasion pour exprimer nos meilleurs remerciements au Professeur R. DOHRN, directeur de la Station Zoologique de Naples, aussi qu'au Professeur E. SERENI, qui ont bien voulu faciliter notre tâche.

Tableau XI

Tableau général des données, concernant le volume (en cm³) du liquide intermicellaire dans les œufs (d_0), le quotient de la répartition des composants minéraux (δ_0) et leur concentration (mgr./1 cm³) dans le liquide intermicellaire (u_0) et dans l'ooplasmе (c_0) des diverses espèces animales. — Les valeurs ont été calculées d'après les données des tableaux-protocoles XII—XIV

No. de l'expérience		12	13	16	15	32	43	21/22	37	41	34	24
Espèces animales		<i>Gallus domesticus</i> L.	<i>Gallus domesticus</i> L.	<i>Rana temporaria</i> L.	<i>Salmo fontinalis</i> L.	<i>Labrax lupus</i> CUV.	<i>Torpedo ocellata</i> RAF.	<i>Seyllium conicula</i> L.	<i>Maja verrucosa</i> M.EDW.	<i>Arbacia pustulosa</i> GRAY.	<i>Paracentrotus lividus</i> L.M.	<i>Sepia officinalis</i> L.
d_0		0.549	0.289	0.601	0.792	0.728	0.410	0.830	0.368	0.822	0.793	0.500
K	c_0	2.246	1.580	2.528	2.848	3.232	2.300	2.466	1.677	5.235	7.928	0.299
	δ_0	0.637	0.722	1.100	0.890	0.768	1.000	0.870	0.967	1.000	0.945	0.800
	u_0	2.606	3.947	4.206	3.200	3.411	5.610	2.585	4.407	6.368	9.448	0.478
Na	c_0	0.249	0.200	0.468	0.690	0.055	1.352	0.383	0.655	5.329	0.469	0.059
	δ_0	0.953	0.942	0.567	0.509	0.331	0.051	—	0.080	0.728	1.000	1.000
	u_0	0.432	0.655	0.441	0.443	0.025	0.168	—	0.142	4.719	0.591	0.118
Ca	c_0	1.342	1.722	0.212	0.550	0.219	0.332	0.327	0.400	0.518	0.468	0.160
	δ_0	0.131	0.093	0.391	0.274	0.169	0.321	0.760	0.474	0.696	0.505	1.000
	u_0	0.320	0.554	0.136	0.190	0.051	0.260	0.299	0.515	0.438	0.296	0.320
Mg	c_0	0.212	0.216	0.720	0.780	0.090	0.073	0.176	0.176	0.816	0.568	0.101
	δ_0	0.519	0.295	0.460	0.321	0.380	0.157	0.410	0.707	0.631	0.272	0.491
	u_0	0.201	0.220	0.551	0.316	0.047	0.028	0.087	0.338	0.626	0.195	0.099
P	c_0	4.281	3.770	6.334	3.348	1.148	5.070	3.471	6.610	3.118	3.355	3.545
	δ_0	0.027	0.025	0.244	0.100	0.275	—	0	0.040	0.318	0.186	0
	u_0	0.212	0.331	2.572	0.423	0.436	—	0	0.716	1.207	0.787	0
Cl	c_0	—	2.844	1.752	2.272	2.574	3.190	3.010	1.543	11.292	10.91	2.346
	δ_0	—	0.555	0.905	1.000	0.567	0.943	1.000	0.970	1.000	1.000	0.766
	u_0	—	5.461	2.641	2.868	2.006	7.330	3.626	4.067	13.73	13.75	3.594

Tableau XII—XIV. *Protocoles d'expériences*

Signification des symboles:

- u_1, u_2 . . . concentrations des composants dans les liquides ultrafiltrés de solutions diluées de l'ooplasme (mgr. dans 1 cm³);
 n_1, n_2 . . . degré de dilution de l'ooplasme dans ces solutions;
 c . . . concentration totale des composants dans la solution la moins diluée (mgr. dans 1 cm³).

Tableau XII

Espèce animale et caractéristique du matériel	<i>Gallus domesticus</i> L. Jaune d'œufs pondus										
	No. 12. — 21. XII. 1925					No. 13. — 30. XII. 1925					
Liquide employé à la dilution	0.7% Li ₂ SO ₄					0.7% LiNO ₃					
Degré de dilution de l'ooplasme	n_1 = 2.08	n_2 = 4.17	n_3 = 6.25	n_4 = 8.33	n_5 = 10.4	n_1 = 2	n_2 = 4	n_3 = 6	n_4 = 10		
Concentration des composants dans les mélanges et dans les liquides ultrafiltrés	c_1	u_1	u_2	u_3	u_4	u_5	c_1	u_1	u_2	u_3	u_4
K	1.080	0.869	0.356	0.235	0.180	0.134	0.790	0.870	0.327	0.201	—
Na	0.120	0.146	—	—	—	—	0.100	0.146	—	—	—
Ca	0.645	0.144	0.088	0.088	0.069	0.068	0.861	0.152	0.088	0.061	0.048
Mg	0.102	0.070	0.028	0.026	0.019	—	0.108	0.058	0.029	0.023	—
P	2.058	0.079	0.044	0.032	—	0.017	0.885	0.078	0.034	0.023	0.013
Cl	—	1.080	0.472	0.306	0.222	—	1.422	1.225	0.493	0.296	0.165

Tableau XIII

Composants dosés	<i>Rana temporaria</i> L. Oeufs ovariens, broyés			<i>Salmo fontinalis</i> L. Oeufs mûrs, tirés de la cavité du corps				
	No. 16. — 13. I. 1926			No. 15. — 5. I. 1926				
	0.7% LiNO ₃			0.7% LiNO ₃				
	$n_1 = 2$		$n_2 = 4$	$n_1 = 2$		$n_2 = 4$	$n_3 = 8$	
	c_1	u_1	u_2	c_1	u_1	u_2	u_3	
K	1.264	1.940	0.786	1.424	1.436	0.686	0.333	
Na	0.234	0.165	0.072	0.345	0.196	—	—	
Ca	0.106	—	0.042	0.275	0.095	0.055	0.036	
Mg	0.360	—	0.138	0.390	0.142	—	0.042	
P	3.167	—	0.508	1.674	0.194	0.098	0.052	
Cl	0.877	0.992	0.441	1.186	1.290	0.608	0.298	

Tableau XIV

Composants dosés	<i>Labrax lupus</i> CUV. Oeufs au stade de 2-8 blastomères			<i>Torpedo ocellata</i> RAF. Oeufs tirés de l'utérus			<i>Maja verrucosa</i> M. EDW. Oeufs tirés de l'abdomen, premiers stades		
	No. 32. — 10. III. 1926			No. 43. — 25. IV. 1926			No. 37. — 26. III. 1926		
	1% LiNO ₃			H ₂ O			1% LiNO ₃		
	n ₀ = 1		n ₂ = 2	n ₁ = 2		n ₂ = 4	n ₁ = 3		n ₂ = 6
	c ₀	u ₀	u ₁	c ₁	u ₁	u ₂	c ₁	u ₁	u ₂
K	3.232	3.411	1.438	1.150	—	0.676	0.559	0.703	0.316
Na	0.055	0.025	0.007	0.675	0.863	—	0.218	0.022	—
Ca	0.219	0.051	0.027	0.166	0.081	0.038	0.133	0.110	0.064
Mg	0.090	0.047	0.022	0.036	0.012	0.009	0.059	0.056	0.025
P	1.148	0.434	0.163	2.535	0	0	2.203	0.149	0.085
Cl	2.574	2.006	0.976	1.595	2.099	0.838	0.771	0.569	0.251

Tableau XV

Composants dosés	<i>Paracentrotus lividus</i> LM. Oeufs mûrs, non fécondés			<i>Arbacia pustulosa</i> GRAY Oeufs mûrs, non fécondés			<i>Sepia officinalis</i> L. Oeufs de l'oviducte		
	No. 34. — 13. III. 1926			No. 41. — 9. IV. 1926			No. 24. — 22. II. 1926		
	H ₂ O			H ₂ O			1% LiNO ₃		
	n ₁ = 5		n ₂ = 10	n ₁ = 3		n ₂ = 6	n ₁ = 5		n ₂ = 10
	c ₁	u ₁	u ₂	c ₁	u ₁	u ₂	c ₁	u ₁	u ₂
K	1.585	1.563	0.706	1.745	1.842	0.871	0.060	0.053	0.025
Na	0.094	—	—	1.815	1.405	—	0.018	0.019	0.009
Ca	0.094	0.057	0.033	0.176	0.124	0.055	0.045	0.049	0.023
Mg	0.114	0.057	0.043	0.277	0.186	0.089	0.020	0.016	0.010
P	0.671	0.199	0.139	1.060	0.423	—	0.709	0	0
Cl	2.334	2.276	1.218	3.764	3.610	1.750	0.469	0.399	0.189

BIBLIOGRAPHIE

- ASHER, L. und ROSENFELD, R. 1907. Über die physikalisch-chemischen Bindungsverhältnisse verschiedener Stoffe im Blute. Biochem. Zeitschr. III, 335.
- AUSBERGER, A. 1925. Ultrafiltration und Kompensationsdialyse. Ein Beitrag zur Frage der Ionenbindung im Blutserum. Erg. d. Physiol. XXIV, 618.
- BACKMAN, L. und RUNNSTRÖM, J. 1909. Physikalisch-chemische Faktoren bei Embryonalentwicklung. Der osmotische Druck bei der Entwicklung von *Rana temporaria*. Biochem. Zeitschr. XXII.
- BAGLIONI, S. 1905. Die Bedeutung des Harnstoffs bei den Selachiern. Zentr. f. Physiol. XIX, 385.

- BAGLIONI, S., 1906. Zur Kenntnis des N-Stoffwechsels der Fische. *Zentr. f. Physiol.* XX, 105.
 — 1906—07. Einige Daten zur Kenntnis der quantitativen Zusammensetzung verschiedener Flüssigkeiten von Seetieren (Fischen und einigen Wirbellosen). *Hofmeister's Beiträge.* IX, 50.
- BÁLINT, M. 1924. Jodometrische Mikrobestimmung des Natriums. *Biochem. Zeitschr.* CL, 424.
- BELL, R. D. and DOISY, E. A. 1920. Rapid colorimetric methods for the determination of phosphorus in urine and blood. *Journ. of biol. Chem.* XLIV, 55.
- BIAŁASZEWICZ, K. 1908. Beiträge zur Kenntnis der Wachstumsvorgänge bei Amphibienembryonen. *Bull. Acad. des Sc. de Cracovie.*
- 1912. Untersuchungen über die osmotischen Verhältnisse bei der Entwicklung der Frosch- und Hühnerembryonen. *Bull. Acad. des Sc. de Cracovie.* 1.
- 1912. Über das Verhalten des osmotischen Druckes während der Entwicklung der Wirbeltierembryonen. *Arch. f. Entw.-Mech.* XXXIV, 489.
- 1921. O wpływie ciśnienia osmotycznego na szybkość rozwoju zarodków. (Influence de la pression osmotique sur la vitesse du développement des embryons.) *Trav. Inst. Nencki (Varsovie).* I.
- 1926. O składzie mineralnym komórek jajowych. (Sur la composition minérale des œufs.) *Trav. Inst. Nencki (Varsovie)* III, No. 52.
- 1927a. O zastosowaniu ultrafiltracji w badaniach nad rozmieszczeniem elektrolitów w cytoplazmie. (Sur l'emploi de l'ultrafiltration pour l'étude de la répartition des électrolytes dans le cytoplasme.) *Trav. Inst. Nencki (Varsovie).* IV, No. 57.
- 1927b. Contributions à l'étude de la composition minérale des cellules-œufs. *Publicaz. della Stazione Zool. di Napoli.* VIII, 355.
- 1928a. L'ultrafiltration appliquée à l'étude de la répartition des électrolytes dans le cytoplasme. *Ann. de Physiologie* IV, 190.
- 1928b. Studja porównawcze nad składem cieczy międzycząstkowej komórek jajowych. (Études comparées sur la composition du liquide intermicellaire des œufs.) *Acta Biol. Exper. (Varsovie).* I, No. 11, 1—58.
- BOTTAZZI, F. 1897. La pression osmotique du sang des animaux marins. *Arch. ital. de Biol.* XXVIII, 72.
- 1905. Sulla regolazione della pressione osmotica negli organismi animali. *Arch. di Fisiol.* II, 420.
- et QUAGLIARIELLO, G. 1912. Recherches sur la constitution physique et les propriétés chimico-physiques du suc des muscles lisses et des muscles striés. *Arch. intern. de Physiol.* XII, 305.
- BOGUCKI, M. 1926. Z badań nad dzieworódtwem doświadczalnym. (Recherches sur la parthénogénèse expérimentale). *Trav. Inst. Nencki (Varsovie).* III, 1—25.
- 1928. Badania nad przepuszczalnością błon oraz ciśnieniem osmotycznym jaj ryb łososiowatych. (Recherches sur la perméabilité des membranes et sur la pression osmotique des œufs des Salmonides.) *Acta Biol. Experim. (Varsovie).* II, 19.
- BRIGGS, A. P. 1922. A modification of the Bell-Doisy phosphate method. *Journ. of biol. Chem.* LIII, 13.
- BROOKS, S. C. 1923. Conductivity as a mesure of vitality and death. *Journ. of gen. Physiol.* V, 365.
- 1925. The electrical conductivity of pure protoplasme. *Journ. of gen. Physiol.* VII, 327.
- BUNGE, G. 1885. Analyse der organischen Bestandteile des Muskels. *Zeitschr. f. physiol. Chem.* IX, 60.

- CHITTENDEN, R. H. 1875. Über Glykogen und Glykokol im Muskelgewebe von *Pecten irradians*. Ann. d. Chem. u. Pharm. CLXXVIII, 266.
- COLLIP, J. B. 1920. Osmotic pressure of serum and erythrocytes in various vertebrate types as determined by the cryoscopic method. Journ. of biol. Chem. XLII, 209.
- 1920a. Osmotic pressure of tissue as determined by the cryoscopic method. Journ. of biol. Chem. XLII, 221.
- 1920b. Maintenance of osmotic pressure within the nucleus. Journ. of biol. Chem. XLII, 227.
- CONSTANTINO, A. 1911. Über den Gehalt der (weißen und roten) quergestreiften und glatten Muskeln verschiedener Tiere an Kalium, Natrium und Chlor. Biochem. Zeitschr. XXXVII, 52.
- CSÁPO, J. and FAUBL, J. 1924. Kalziumgehalt der Serumweißfraktionen. Biochem. Zeitschr. CL, 509.
- CUHSNY, A. R. 1920. The colloid-free filtrate of serum. Journ. of Physiol. LIII, 391.
- DAKIN, H. D. 1908. Variations in the osmotic concentration of the blood and coelomic fluids of aquatic animals, caused by changes in the external medium. Biochem. Journ. III, 473.
- DHÈRE, CH. 1904. Présence de cuivre et de fer dans l'œuf de la Seiche. Compt. Rend. Soc. Biol. LVII, 209.
- DIAMARE, V. 1909. Sulla composizione dell'uovo in rapporto a questioni biologiche. Rend. R. Accad. di Scienze fis. e matem. Napoli. Fasc. 8—12.
- 1910. Ulteriori ricerche sul glucosio dell'uovo ed il suo significato biologico. Rend. R. Accad. di Scienze fis. e matem. Napoli. Fasc. 7—9.
- 1911. Die Biologie des Eies, als eine chemisch-anatomische Koordination. Anat. Anz. XL, 205.
- 1916. Ancora sul glucosio nell'uovo. Comportamento nel corso dello sviluppo embrionale. Rend. R. Accad. di Scienze fis. e matem. Napoli. Fasc. 3—4.
- DUBOIS, R. 1900. Sur le cuivre normal dans la série animale. C. R. Soc. Biol. LII, 392.
- DUVAL, M. 1924. Relation entre la concentration moléculaire du sang des Crustacés et celle du milieu extérieur. C. R. Accad. Sc. CLXXVIII, 1754.
- 1925. Recherches physico-chimiques et physiologiques sur le milieu intérieur des animaux aquatiques. Ann. Inst. Oceanogr. II, 233.
- et PORTIER, P. 1922. Variation de la pression osmotique du sang des Sélaciens sous l'influence de la modification de la salinité d'eau de mer environnante. C. R. Acad. Sc. CLXXIV, No. 23.
- — 1923. Imperméabilité à l'urée de divers tissus des poissons Sélaciens. C. R. Acad. Sc. CLXXVI, 920.
- FAHR, G. 1908. Über den Natriumgehalt der Skelettmuskeln des Frosches. Zeitschr. f. Biol. LII, 72.
- FAHR, G. F. and SWANSON, W. W. 1926. The "effective" osmotic pressure of the plasma proteins. Amer. Journ. of Physiol. LXXVI, 201.
- FAURÉ-FREMIET, E. 1925. La cinétique du développement. Multiplication cellulaire et croissance. Paris.
- et GARRAULT, H. 1922. Constitution de l'œuf de Truite (*Trutta fario*). C. R. Acad. Sc. CLXXIV, 1375.
- — 1922. Étude des substances grasses et lipoides de la Truite. Bull. Soc. Chem. Biol. IV, 378.
- FORCHHAMMER, G. 1865. On the composition of sea-water in the different parts of the ocean. Philos. Trans. CLV, 203.

- FOSSE, R. 1913. Sur l'identification de l'urée et sa précipitation des solutions extrêmement diluées. C. R. Acad. Sc. CLVII, 948.
- 1914a. Analyse quantitative gravimétrique de l'urée. C. R. Acad. Sc. CLVIII, 1076.
- 1914b. Analyse quantitative gravimétrique de l'urée dans l'urine. C. R. Acad. Sc. CLVIII, 1588.
- FREDERICQ, L. 1878. Recherches sur la physiologie du poulpe commun. Arch. Zool. expér. et gén. VII, 533.
- 1884. Composition saline du sang et des tissus des animaux marins. Liv. jubil. Soc. Med. Gand, 271. Cité d'après DUVAL, 1925.
- 1885. Influence du milieu ambiant sur la composition du sang des animaux aquatiques. Arch. Zool. expér. et gén. (II. sér.) III, 34.
- 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.
- 1911. Sur la concentration moléculaire des tissus solides chez les animaux aquatiques. Arch. intern. Physiol. XI, 24.
- 1922. Action du milieu marin sur les Invertébrés. Arch. intern. Physiol. XIX, 309.
- GADASKIN, J. D. 1926. Über den Gehalt an ungebundenem Zucker in dem Weißen und Dotter der Hühnereier bei Ontogenese. Biochem. Zeitschr. CLXXII, 447.
- GELFAN, S. 1927. The electrical conductivity of protoplasm and a new method of its determination. Univ. of California Publ. in Zoology. XXIX, No. 17, 453.
- GORI, G. 1919. Sulla questione del glucosio e il suo stato nelle uova dei vertebrati. R. Accad. dei Fisiocritici in Siena.
- 1920. Ricerche ulteriori sul glucosio nelle uova dei vertebrati. R. Accad. dei Fisiocritici in Siena.
- GREENE, CH. W. 1904. Physiological studies of the chinook salmon. Bull. of the Bur. of Fisheries. XXIV, 431.
- 1921a. Chemical development of the ovaries of the king salmon during the spawning migration. Journ. of biol. Chem. XLVIII, 59.
- 1921b. Carbohydrate content of the king salmon during the spawning migration. Journ. of biol. Chem. XLVIII, 429.
- GRIFFITHS, A. B. 1892. The physiology of the Invertebrata. London.
- 1892. On the blood of Invertebrata. Proc. Roy. Soc. Edingb. XIX, 117.
- GUEYLARD, F. 1922. Variations de poids de l'Épinoche passant de l'eau douce dans les solutions de chlorure de sodium à différentes concentrations. C. R. Soc. Biol. LXXXVII, 869.
- 1922. Résistance des Épinoches aux variations de salinité. C. R. Soc. Biol. LXXXIX, 78.
- HANSEN, A. 1893—95. Über Stoffbildung bei den Meeresalgen. Mitt. Zool. Stat. Neapel. XI, 255.
- HARTREE, W. and HILL, A. V. 1921. The specific electrical resistance of frog's muscle. Biochem. Journ. XV, 379.
- HECHT, G. 1923. Bestimmung des Organkalkes nach de Waard. Biochem. Zeitschr. CXLIII, 342.
- HENDERSON, J. L. 1908. A note of the union of the proteins of serum with alkali. Amer. Journ. of Physiol. XXI, 169.
- HENZE, M. 1904—05. Beiträge zur Muskelchemie der Octopoden. Zeitschr. f. physiol. Chem. XLIII, 477.
- 1908. Chemische Untersuchungen an Octopoden. Zeitschr. f. physiol. Chem. LV, 433.

- HIRTH et TSCHIMBLER, C. 1924. Technique de l'ultrafiltration; détermination du pH et du calcium, du magnésium, du sodium et du phosphore dans l'ultrafiltrat. C. R. Soc. Biol. XCI, 592.
- HÖBER, R. 1912. Ein zweites Verfahren, die Leitfähigkeit im Innern von Zellen zu messen. Arch. f. ges. Physiol. CXLVIII, 189.
- JANSEN, B. C. P. 1913. Extraktivstoffe aus den Schließmuskeln von *Mytilus edulis*. Zeitschr. f. physiol. Chem. LXXXV, 231.
- JAPPELLI, A. 1906. Rôle du tissu musculaire dans la régulation de la pression osmotique du sang. Arch. intern. Physiol. IV, 369.
- KATZ, J. 1896. Die mineralischen Bestandteile des Muskelfleisches. Arch. f. ges. Physiol. LXIII, 1.
- KELLY, A. 1904. Beobachtungen über das Vorkommen von Ätherschwefelsäuren, von Taurin und Glycin bei niederen Tieren. Hofmeister's Beitr. V, 377.
- KOJO, K. 1911. Zur Chemie des Hühnereies. Zeitschr. f. physiol. Chem. LXXXV, 1.
- KOLB, H. 1901. Chemische Untersuchungen der Eier von *Rana temporaria* und ihrer Entwicklung. Inaug.-Diss. Zürich.
- KOSSEL, A. und EDELBACHER, S. 1915. Beiträge zur chemischen Kenntnis der Echinodermen. Zeitschr. f. physiol. Chem. XCIV, 264.
- KRAMER, B. and TISDALL, F. F. 1921a. A simple method for the direct quantitative determination of sodium in small amounts of serum. Journ. of biol. Chem. XLVI, 467.
- — 1921b. A clinical method for the quantitative determination of potassium in small amounts of serum. Journ. of biol. Chem. XLVI, 339.
- — 1921c. The direct quantitative determination of sodium, potassium, calcium and magnesium in small amounts of blood. Journ. of biol. Chem. XLVIII, 223.
- — 1921d. A simple technique for the determination of calcium and magnesium in small amounts of serum. Journ. of biol. Chem. XLVII, 475.
- — 1922. The distribution of sodium, potassium, calcium and magnesium between the corpuscles and serum of human blood. Journ. of biol. Chem. LIII, 241.
- KRÜGER, F. v. 1925. Die Chemie des Blutes. Handb. d. vergl. Physiol., Bd. 1, Th. 1, 1117.
- KUTSCHER, FR. und ACKERMANN, D. 1926. Vergleichend-physiologische Untersuchungen von Extrakten verschiedener Tierklassen auf tierische Alkaloide, eine Zusammenfassung. Zeitschr. f. Biol. LXXXIV, 180.
- LIBERMANN, L. und BUGARSKY, S. 1898. Über das Bindungsvermögen eiweißartiger Körper für Salzsäure, Natriumhydroxyd und Kochsalz. Arch. f. ges. Physiol. LXXII, 51.
- LOEB, J. 1913. Artificial parthenogenesis and fertilisation.
- 1920. Influence of the concentration of electrolytes on some physical properties of colloids and crystalloids. Journ. of gen. Physiol. II, 273.
- LOEWY, A. und ZUNTZ, N. 1894. Über die Bindung der Alkalien in Serum und Blutkörperchen. Ein Beitrag zur Theorie der Atmung. Arch. f. ges. Physiol. LVIII, 511.
- MACALLUM, A. B. 1910. The inorganic composition of the blood in vertebrates and invertebrates, and its origin. Proc. Roy. Soc. B. LXXXII, 602.
- 1926. The paleochemistry of the body fluids and tissues. Physiol. Rev. VI, 316.
- MENDEL, L. B. 1904. Über das Vorkommen von Taurin in den Muskeln von Weichtieren. Hofmeister's Beitr. V, 582.
- MEYER, A. 1891—92. Notiz über die Zusammensetzung des Zellsaftes von *Valonia utricularis*. Ber. d. deutsch. bot. Ges. IX, 77.

- MICHAELIS, L. und KAWAI, S. 1925. Die Aktivität des Natriums im Blutserum. *Biochem. Zeitschr.* CLXIII, 1.
- und RONA, P. 1908. Untersuchungen über den Blutzucker. IV. Die Methode der osmotischen Kompensation. *Biochem. Zeitschr.* XIV, 476.
- MITCHEL, PH. und WILSON, W. 1922. The selective absorption of potassium by animal cells. I. Condition controlling absorption and retention of potassium. *Journ. of gen. Physiol.* IV, 45.
- NEUHAUSEN, B. S. 1922. Free and bound water in the blood. *Journ. of biol. Chem.* LI, 435.
- and MARSHALL, E. K., 1922. An electrochemical study of the concentration of several electrolytes in the blood. *Journ. of biol. Chem.* LIII, 365.
- and PINCUS, J. B. 1923. A study of the condition of several inorganic constituents of serum by means of ultrafiltration. *Journ. of biol. Chem.* LVII, 99.
- NEUSCHLOSZ, S. M. 1923. Über die Bedeutung der K-Ionen für den Tonus der quergestreiften Skelettmuskulatur. *Arch. f. ges. Physiol.* CIC, 410.
- 1925. Die Beziehungen der Erregungskontraktur zum Gehalte der Muskeln an gebundenem Kalium. *Arch. f. ges. Physiol.* CCVII, 27.
- 1926a. Über den Einfluß der Elektrolyten der Spülflüssigkeit auf den Gehalt der Muskeln an gebundenem Kalium. *Arch. f. ges. Physiol.* CCXIII, 47.
- 1926b. Über die physiko-chemischen Bedingungen der Ionenbindung an hydrophile Gele. *Arch. f. ges. Physiol.* CCXIII, 58.
- 1926c. Untersuchungen über die Kaliumbindung in der Kammermuskulatur und ihre Bedeutung für die Herzfunktion. *Arch. f. ges. Physiol.* CCXIII, 19.
- und TRELLES, R. A. 1924. Über die Menge und die Bindungsweise des Kaliums in quergestreiften Muskeln unter normalen und pathologischen Bedingungen. *Arch. f. ges. Physiol.* CCIV, 374.
- NICLOUX, N. et WELTER, G. 1921. Micro-analyse quantitative gravimétrique de l'urée. Application au dosage de l'urée dans 1 cm³ de sang. *C. R. Acad. Sc.* CLXXIII, 1490.
- NITSCKE, A. 1925. Über die Zustandsform des Kalziums im Serum. *Biochem. Zeitschr.* CLXV, 229.
- und FREYSCHMIDT, H. J. 1926. Über die Zustandsform des Kalziums im Serum. *Biochem. Zeitschr.* CLXXIV, 287.
- OSTERHOUT, W. J. V. 1923. Some aspects of selective absorption. *Journ. of gen. Physiol.* V, 225.
- 1925. On the importance of maintaining certain differences between cell sap and external medium. *Journ. of gen. Physiol.* VII, 561; *Stud. Rockefeller Inst.* VII, 311.
- 1926. Is living protoplasm permeable to ions? *Journ. of gen. Physiol.* VIII, 131.
- PARNAS, J. K. 1926. Allgemeines und Vergleichendes des Wasserhaushaltes. *Handb. d. norm. u. path. Physiol.* XVII, 137.
- POLÁNYI, M. 1920. Studien über Leitfähigkeitserniedrigung und Adsorption durch lyophile Kolloide. *Biochem. Zeitschr.* CIV, 237.
- PRZYŁĘCKI, ST. J. 1921. Zmiany ciśnienia osmotycznego w czasie rozwoju dzieworodnego zaroków rozwielitek. (Recherches sur la pression osmotique chez les embryons de Cladocères, provenant des œufs parthénogénétiques.) *Trav. Inst. Nencki.* I, 1—31.
- 1921. Zmiany ciśnienia osmotycznego w czasie rozwoju zapłodnionych jaj rozwielitek. (Recherches sur la pression osmotique chez les embryons de Cladocères, provenant des œufs fécondés.) *Trav. Inst. Nencki.* I, 1—16.

- QUINTON, R. 1912. L'eau de mer, milieu organique. Constance du milieu marin original, comme milieu vital des cellules, à travers la série animale. 2-me édition. Paris.
- RAAB, E. 1927. Über die Bindung des Kaliums im Muskel. Arch. f. ges. Physiol. CCXVI, 540.
- RICHTER-QUITNER, M. 1924. Le potassium dans l'ultrafiltration du sérum sanguin. C. R. Soc. Biol. XCI, 594.
- RINGER, W. E. 1923. Eiweiß und Natrium- und Kaliumionen. Zeitschr. f. physiol. Chem. CXXX, 270.
- 1925. Eiweiß und Kaliumionen. Zeitschr. f. physiol. Chem. CXLIV, 85.
- RODIER, R. 1900. Sur la pression osmotique du sang et des liquides internes des poissons Sélaciens. C. R. Acad. Sc. 1008.
- RONA, P. and GYÖRGY, P. 1913. Beitrag zur Frage der Ionenverteilung im Blutserum. Biochem. Zeitschr. LVI, 416.
- , HAUROWITZ, F. and PETOW, H. 1924. Beitrag zur Frage der Ionenverteilung im Blutserum. Biochem. Zeitschr. CIL, 393.
- und MELLI, G. 1925. Beitrag zur Frage der Ionenverteilung im Blutserum. Biochem. Zeitschr. CLXVI, 242.
- und PETOW, H. 1923. Beitrag zur Frage der Ionenverteilung im Blutserum. Biochem. Zeitschr. CXXXVII, 356.
- — und WITTKOWER, E. 1924. Beitrag zur Ionenverteilung im Blut. Biochem. Zeitschr. CL, 468.
- und TAKAHASHI, D. 1911. Über das Verhalten des Kalziums im Serum und über den Gehalt der Blutkörperchen an Kalzium. Biochem. Zeitschr. XXXI, 336.
- — 1913. Beitrag zur Frage nach dem Verhalten des Kalziums im Serum. Biochem. Zeitschr. XLIX, 370.
- RUNNSTRÖM, J. 1920. Über osmotischen Druck und Eimembranfunktion bei den Lachs-fischen. Acta Zoologica.
- 1925. Über den Einfluß des Kaliummangels auf das Seeigelei. Publ. della Staz. Zool. di Napoli. VI, 1.
- SALKOWSKI, E. 1911. Über das Vorkommen von Traubenzucker und Kreatinin im Hühnerei. Biochem. Zeitschr.
- SCHMIDT, C. L. A. and WATSON, T. 1918. A method for the preparation of taurin in large quantities. Journ. biol. Chem. XXXIII, 499.
- SCHROEDER, W. VON. 1890. Über die Harnstoffbildung der Haifische. Zeitschr. f. physiol. Chem. XIV, 576.
- SLYKE, D. D. VAN, HASTINGS, A. B., HEIDELBERGER, M. and NEILL, J. M. 1922. The alkali-binding and buffer values of oxyhemoglobin and reduced hemoglobin. Journ. of biol. Chem. LIV, 481.
- , WU, H. and LEAN, F. C. MC. 1923. Factors controlling the electrolytes and water distribution in the blood. Journ. of biol. Chem. LVI, 765.
- 1926. Factors affecting the distribution of electrolytes, water and gases in the animal body. Philadelphia-London.
- SØRENSEN, S. P. L. 1915—17. Studies on proteins. Compt. Rend. Labor. Carlsberg. XII.
- 1919. Proteinstudien. V. Über den osmotischen Druck der Eieralbuminlösungen. Zeitschr. f. physiol. Chem. CVI, 1.
- SJOBKIEWITSCH, A. J. 1913. Analysen des Vogelblutes. Arb. aus d. med.-chem. Labor. d. Univ. Tomsk II, 111. Cité d'après KRÜGER, 1925.

- STAEDLER, G. und FRERICHS, FR. TH. 1858. Über das Vorkommen von Harnstoff, Taurin und Seylit in den Organen der Plagiostomen. Journ. f. prakt. Chem. LXXIII, 48.
- STANSON, R. E. 1923. The selective absorption of potassium by animal cells. Journ. of gen. Physiol. V, 461.
- STARLING, E. H. 1895. On the absorption of fluids from the connective tissue spaces. Journ. of Physiol. XIX, 312.
- TERROINE, E. et BARTHÉLEMY, H. 1923. La composition des œufs et des organismes producteurs au cours de l'ovogénèse chez la grenouille rousse (*Rana fusca*). Arch. intern. Physiol. XXI, 250.
- TISDALL, F. F. and KRAMER, B. 1921. Methods for the direct quantitative determination of sodium, potassium, calcium and magnesium in urine and stools. Journ. of biol. Chem. XLVIII, 1.
- TSCHIMBLER, H. et C. 1923. Technique de l'ultrafiltration du plasma; détermination du pH et du calcium, du magnésium, du sodium et du phosphore dans l'ultrafiltrat. C. R. Soc. Biol. XCI, 592.
- URANO, F. 1907. Neue Versuche über Salze des Muskels. Zeitschr. f. Biol. L, 217.
- VALENCIENNES, A. et FRÉMY. 1854. Recherches sur la composition des œufs dans la série des animaux. C. R. Acad. Sc. XXXVIII, 469, 525, 570.
- — 1855. Recherches sur la composition des muscles dans la série animale. C. R. Acad. Sc. XLI, 735.
- WAARD, D. J. DE. 1919. Eine Mikrobestimmung des Kalziums in Blut, Serum und anderen organischen Substanzen. Biochem. Zeitschr. XCVII, 176.
- WARBURG, O. 1908. Beobachtungen über die Oxydationsvorgänge im Seeigeli. Zeitschr. f. physiol. Chem. LVII, 1.
- WETZEL, G. 1907. Die chemische Zusammensetzung der Eier des Seeigels, der Seespinne, des Tintenfisches und des Hundhaies. Arch. f. (Anat. u.) Physiol., 507.
- WHA, CH. 1924. Beitrag zum Verhalten von Kalzium, Kalium, Chlor und Phosphor in der Milch und zur Technik der Ultrafiltration. Biochem. Zeitschr. CXLIV, 278.
- WHITEHORN, J. C. 1921. A system of blood analysis. Simplified method for the determination of chlorides in blood plasma. Journ. of biol. Chem. XLV, 449.
- WOJTCZAK, A. 1927. Badanie nad przepuszczalnością mięśni dla elektrolitów w stanie pracy i spoczynku. (Recherches sur la perméabilité des muscles pour les électrolytes pendant le travail et le repos.) Trav. Inst. Nencki. IV, No. 58 et Bull. de l'Acad. Polonaise des Sc.
- ZDAREK, E. 1904. Untersuchung der Eier von *Acanthias vulgaris* Risso. Zeitschr. f. physiol. Chem. XLI, 524.
- ZSIGMONDY, R. 1926. Über feinporige Filter und neue Ultrafilter. Biochem. Zeitschr. CLXXI, 198.
- und BACHMANN, W. 1918. Über neue Filter. Zeitschr. f. anorg. u. allg. Chem. CIII, 1.

The Theoretical Basis of Different Methods of Testing Cereals.

Part II. The Method of Parabolic Curves.

By J. NEYMAN Ph, D.

(Biometric Laboratory, Nencki Institute. Warsaw).

As it has been pointed out in Part I of the present series, all methods of calculating the results of agricultural trials have the common purpose of eliminating the effect of differences in soil fertility and that of random experimental error. This is done by estimating what I call the fertility level corresponding to each plot used for the trials. The differences in the methods of calculation consist in different hypotheses concerning the fertility level and in different resulting estimates of the same.

Besides there are very different kinds of errors in estimating the variances of the final results ¹⁾.

Our assumptions about the fertility level will be as follows. If the plots are arranged in a single row and x denotes the abscissa of the middle of each plot as shown on the Diagram I, we shall assume that the fertility level, say $L(x)$, may be represented by a smooth curve with several extrema (about

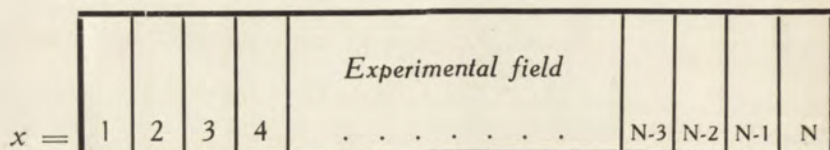
¹⁾ This of course is comprehensible as some authors are not very familiar with the theory of statistics. Two such authors published recently a book on agricultural trials in which they consider and discuss various methods of calculation. Among others they discuss the method of „Student“ (Biometrika Vol XV) and that of R. A. Fisher (Statistical Methods for Researchworkers, Oliver and Boyd, 1925), the only perfectly correct methods mentioned in that book. Both methods are rather disapproved of, as compared with some others, which highly underestimate the standard errors of the final results.

three if the field is not too long) and that it corresponds to the equation

$$L(x) = A_1 x + A_2 x^2 + A_3 x^3 + A_4 x^4 + \dots + A_n x^n \quad (1)$$

where the A 's are some constants. The order n of this equation cannot be too high: it must be chosen to exceed by one unit the number of extrema of the fertility level, which number it is always possible to determine having a diagrammatic representation of results of any actual trial.

Diagram 1.



It has been found that for ordinary trials this number exceeds three only in quite exceptional cases. Thus, though the theory below is valid for any value of n , to simplify the calculations, which further are used for computing of tables, we shall assume that $n = 4$.

Further assumptions are: if we could obtain the yields (or any character of them), say Y_{ix} , of compared varieties without any experimental error, they would be equal for any i -th variety and for any x -th plot to

$$Y_{ix} = B_i + A_1 x + A_2 x^2 + A_3 x^3 + A_4 x^4 \quad (2)$$

B_i being a constant, quite independent of the position of the plot under consideration, and characteristic of the i -th variety. Call Y_{ix} the true potential yield of the i -th variety, if this were sown on the x -th plot of the field.

It follows from our assumptions that the true potential yields of compared varieties on different plots of the field could be represented by parallel fourth order parabolae.

Our purpose is to determine suitable estimates of the differences $B_i - B_j$, between the true potential yields of varieties the i -th and the j -th on the same plots.

Doing so we shall follow the general ideas of A. Markoff exposed in his book, *Wahrscheinlichkeitsrechnung* (Teubner 1912).

It will be necessary to alter slightly the notations. Suppose that we compare s varieties and that the i -th variety is repeated n_i times on the field. Suppose that the plots sown by each variety are numbered from one end of the field to the other and let x_{ik} denote the abscissa of the k -th plot ($k = 1, 2, \dots, n_i$) sown by the i -th variety ($i = 1, 2, \dots, s$).

Further on we shall have to consider several kinds of sums of different expressions. We shall write

$\Sigma \Sigma$ —for the sum extended over all plots of the experimental field,

Σ_i —for the sum extended over all plots sown by the i -th variety, and

$\Sigma_{ij} \Sigma$ —for the sum extended over all plots of the field excepting those sown by the i -th and the j -th varieties.

Further let y_{ik} denote the observed yield on plot x_{ik} . It will be equal to the true potential yield

$$Y_{ik} = B_i + A_1 x_{ik} + A_2 x_{ik}^2 + A_3 x_{ik}^3 + A_4 x_{ik}^4 \quad (3)$$

plus an experimental error, ε , which — this is a further assumption — will be 1) normally distributed over its mean, equal to zero, with a constant variance σ^2 , and 2) will be quite independent of similar errors on other plots.

As we know, any linear function of observed numbers y_{ik}

$$F = \Sigma \Sigma \lambda y \quad (4)$$

where λ 's are some constants, may be used for the estimation of $B_i - B_j$, provided the mean of F in repeated samples (trials) be equal to $B_i - B_j$. The accuracy of the estimate will be measured by the value of respective standard deviation σ_F or by the variance σ_F^2 . Obviously, if there are two or more estimates, say F_1 and F_2 , of the same unknown difference $B_i - B_j$, we should choose that, which corresponds to a smaller value of the variance σ_F^2 . Therefore we shall set out the following problem:

To find a linear function F , satisfying the two conditions:
 1) the mean of F is equal to the difference $B_l - B_j$, and
 2) the variance σ^2_F is minimum.

Denote by $\{X\}$ the mean of every variate X . We should have:

$$\{F\} = \Sigma \Sigma \lambda \{y\} = B_l - B_j \quad (5)$$

and

$$\sigma^2_F = \{(\Sigma \Sigma \lambda y - B_l + B_j)^2\} = \text{minimum} \quad (6)$$

Owing to our assumptions about the experimental error we have

$$\{y_{ek}\} = B_e + A_1 x_{ek} + A_2 x^2_{ek} + A_3 x^3_{ek} + A_4 x^4_{ek} \quad (7)$$

and thus

$$B_l (\Sigma_t \lambda - 1) + B_j (\Sigma_j \lambda + 1) + \Sigma_{lj} B_r \Sigma_r \lambda + \\ + \sum_{t=1}^4 A_t \Sigma \Sigma \lambda x^t = 0 \quad (8)$$

This equation must be satisfied by λ 's identically, that is to say for any values of B 's and of A 's. It follows that

$$\Sigma_t \lambda = 1 \quad (9)$$

$$\Sigma_j \lambda = -1 \quad (10)$$

$$\Sigma_\gamma \lambda = 0 \quad (\gamma \neq l, j) \quad (11)$$

and

$$\Sigma \Sigma \lambda x^t = 0 \quad \text{for } t = 1, 2, 3, 4 \quad (12)$$

Let us now find the expression of the variance, σ^2_F , as a function of λ 's. Using (5) and (6) we have

$$\sigma^2_F = \{(\Sigma \Sigma \lambda (y - Y))^2\} \quad (13)$$

Owing to our assumptions concerning the experimental errors $y - Y$, we shall easily come to the result

$$\sigma^2_F = \sigma^2 \Sigma \Sigma \lambda^2 \quad (14)$$

Our purpose is thus to find the minimum value of

$$\Sigma \Sigma \lambda^2 \tag{15}$$

on condition that the λ 's satisfy the equations (9), (10), (11) and (12). Following the method of Lagrange, we differentiate the function

$$\frac{1}{2} \Sigma \Sigma \lambda^2 - \Sigma_{k=1}^s \alpha_k \Sigma_k \lambda - \Sigma_{t=1}^4 \beta_t \Sigma \Sigma \lambda x^t \tag{16}$$

with regard to every λ_{rk} and put the derivatives to zero. We have

$$\lambda_{rk} = \alpha_r + \Sigma_{t=1}^4 \beta_t x_{rk}^t \tag{17}$$

for $r = 1, 2 \dots s, k = 1, 2 \dots n_r$.

Now the constants α and β must be determined from the conditions (9), (10), (11) and (12). Summing (17) for $r=i$ and $k = 1, 2 \dots n_i$ we have

$$\alpha_i n_i + \beta_1 \Sigma_i x + \beta_2 \Sigma_i x^2 + \beta_3 \Sigma_i x^3 + \beta_4 \Sigma_i x^4 = 1 \tag{18}$$

Similarly

$$\alpha_j n_j + \beta_1 \Sigma_j x + \beta_2 \Sigma_j x^2 + \beta_3 \Sigma_j x^3 + \beta_4 \Sigma_j x^4 = -1 \tag{19}$$

and

$$\alpha_r n_r + \beta_1 \Sigma_r x + \beta_2 \Sigma_r x^2 + \beta_3 \Sigma_r x^3 + \beta_4 \Sigma_r x^4 = 0 \tag{20}$$

for $r \neq i, j$.

Finally, multiplying each equation (17) into the respective value of x^t ($t = 1, 2, 3, 4$) and summing we get [owing to (12)]

$$\Sigma_{r=1}^s \alpha_r \Sigma_r x + \beta_1 \Sigma \Sigma x^2 + \beta_2 \Sigma \Sigma x^3 + \beta_3 \Sigma \Sigma x^4 + \beta_4 \Sigma \Sigma x^5 = 0$$

$$\Sigma_{r=1}^s \alpha_r \Sigma_r x^2 + \beta_1 \Sigma \Sigma x^3 + \beta_2 \Sigma \Sigma x^4 + \beta_3 \Sigma \Sigma x^5 + \beta_4 \Sigma \Sigma x^6 = 0$$

$$\sum_{r=1}^s \alpha_r \Sigma_r x^3 + \beta_1 \Sigma \Sigma x^4 + \beta_2 \Sigma \Sigma x^5 + \beta_3 \Sigma \Sigma x^6 + \beta_4 \Sigma \Sigma x^7 = 0 \quad (21)$$

$$\sum_{r=1}^s \alpha_r \Sigma_r x^4 + \beta_1 \Sigma \Sigma x^5 + \beta_2 \Sigma \Sigma x^6 + \beta_3 \Sigma \Sigma x^7 + \beta_4 \Sigma \Sigma x^8 = 0$$

We have now to solve the system of $s + 4$ linear equations (18), (19), (20) and (21) with regard to unknown constants α and β and to substitute the respective values into (17). The determinant of the system is

$$\Delta = \begin{vmatrix} n_1, & 0 & \dots & 0, & \Sigma_1 x, & \Sigma_1 x^2, & \Sigma_1 x^3, & \Sigma_1 x^4 \\ 0, & n_2, & \dots & 0, & \Sigma_2 x, & \Sigma_2 x^2, & \Sigma_2 x^3, & \Sigma_2 x^4 \\ \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots \\ 0, & 0, & \dots & n_s, & \Sigma_s x, & \Sigma_s x^2, & \Sigma_s x^3, & \Sigma_s x^4 \\ \Sigma_1 x & \Sigma_2 x & \dots & \Sigma_s x & \Sigma \Sigma x^2 & \Sigma \Sigma x^3 & \Sigma \Sigma x^4 & \Sigma \Sigma x^5 \\ \Sigma_1 x^2 & \Sigma_2 x^2 & \dots & \Sigma_s x^2 & \Sigma \Sigma x^3 & \Sigma \Sigma x^4 & \Sigma \Sigma x^5 & \Sigma \Sigma x^6 \\ \Sigma_1 x^3 & \Sigma_2 x^3 & \dots & \Sigma_s x^3 & \Sigma \Sigma x^4 & \Sigma \Sigma x^5 & \Sigma \Sigma x^6 & \Sigma \Sigma x^7 \\ \Sigma_1 x^4 & \Sigma_2 x^4 & \dots & \Sigma_s x^4 & \Sigma \Sigma x^5 & \Sigma \Sigma x^6 & \Sigma \Sigma x^7 & \Sigma \Sigma x^8 \end{vmatrix} \quad (22)$$

It is easy to see that the determinant Δ is not equal to zero. In fact it is equal to the square of the matrix:

$$\left\{ \begin{array}{c} \text{S rows} \\ \left[\begin{array}{ccc} \underbrace{n_1 \text{ columns}} & \underbrace{n_2 \text{ columns}} & \underbrace{n_s \text{ columns}} \\ 1 & 1 & \dots & 1 & 0 & 0 & \dots & 0 & \dots & 0 & 0 & \dots & 0 \\ 0 & 0 & \dots & 0 & 1 & 1 & \dots & 1 & \dots & 0 & 0 & \dots & 0 \\ \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots \\ 0 & 0 & \dots & 0 & 0 & 0 & \dots & 0 & \dots & 1 & 1 & \dots & 1 \\ x_{11} & x_{12} & \dots & x_{1n_1} & x_{21} & x_{22} & \dots & x_{2n_2} & \dots & x_{s1} & x_{s2} & \dots & x_{sn_s} \\ x_{11}^2 & x_{12}^2 & \dots & x_{1n_1}^2 & x_{21}^2 & x_{22}^2 & \dots & x_{2n_2}^2 & \dots & x_{s1}^2 & x_{s2}^2 & \dots & x_{sn_s}^2 \\ x_{11}^3 & x_{12}^3 & \dots & x_{1n_1}^3 & x_{21}^3 & x_{22}^3 & \dots & x_{2n_2}^3 & \dots & x_{s1}^3 & x_{s2}^3 & \dots & x_{sn_s}^3 \\ x_{11}^4 & x_{12}^4 & \dots & x_{1n_1}^4 & x_{21}^4 & x_{22}^4 & \dots & x_{2n_2}^4 & \dots & x_{s1}^4 & x_{s2}^4 & \dots & x_{sn_s}^4 \end{array} \right] \end{array} \right. \quad (23)$$

that is to say to the sum of squares of all determinants of that matrix of order $(s + 4)$, and it is easy to give examples of such of them as are not equal to zero. Such is f. i. the determinant which we get taking the first $s + 4$ columns of the matrix. Subtracting the terms of the first column of this determinant from respective terms of following $n_1 - 1$ columns, doing the same with terms of the $n_1 + 1$ -st column and the following $n_2 - 1$ columns and so on, we get finally a determinant in which each of the first s rows consists in zeros and one unit. Consequently this last determinant is equal to the fourth order determinant of the form

$$+ \begin{vmatrix} x_{12} - x_{11} & x_{13} - x_{11} & x_{22} - x_{21} & x_{21} - x_{21} \\ x_{12}^2 - x_{11}^2 & x_{13}^2 - x_{11}^2 & x_{22}^2 - x_{21}^2 & x_{23}^2 - x_{21}^2 \\ x_{12}^3 - x_{11}^3 & x_{13}^3 - x_{11}^3 & x_{22}^3 - x_{21}^3 & x_{23}^3 - x_{21}^3 \\ x_{12}^4 - x_{11}^4 & x_{13}^4 - x_{11}^4 & x_{22}^4 - x_{21}^4 & x_{21}^4 - x_{21}^4 \end{vmatrix} \quad (24)$$

which is known to be different from zero as far as the x 's are different. The above example assumes that $n_1 = n_2 = 3$. It is plain however that in other cases similar examples are easy to give.

We see that there exists only one system of λ 's for which the sum $\Sigma \Sigma \lambda^2$ may be maximum or minimum. As this sum cannot be negative but may have as large values as desired, we conclude that the values of λ given by our system of equations correspond to the minimum value of $\Sigma \Sigma \lambda^2$. The corresponding value of F will be given by the determinant (26*).

Considering this solution we see that it is identical with the solution of the system of $s + 4$ linear equations in a 's and b 's which we should get solving a different problem, i. e. calculating the minimum value of the sum of squares,

$$S = \Sigma \Sigma (y_{ik} - b_l - a_1 x_{ik} - a_2 x_{ik}^2 - a_3 x_{ik}^3 - a_4 x_{ik}^4)^2 \quad (25)$$

and then subtracting $b_l - b_j$. This is a special case of the general results given by Markoff (loc. cit.), showing that searching for a linear function F , having 1) its mean equal, to

*) See next page

b_i under the assumption that all observed values of y 's are equal to 1. In that case the minimum value of S would be zero and it would correspond to $a_k = 0$ ($k = 1, 2, 3, 4$) and to $b_i = 1$ ($i = 1, 2 \dots s$). Similarly, substituting in (27) x^k for y 's we are calculating a_k , under the assumption that

$$y = x^k \quad (31)$$

In this case the minimum of S is again zero and corresponds to $b_i = 0$ ($i = 1, 2 \dots s$) to $a_k = 1$ and to all remaining a 's equal to zero.

Further, owing to the above theory which could be easily applied to determine the estimates of A 's,

$$\{a_k\} = \Sigma \Sigma \alpha^{(k)} Y = A_k \quad k = 1, 2, 3, 4 \quad (32)$$

$$\{b_i\} = \Sigma \Sigma \lambda^{(i)} Y = B_i \quad i = 1, 2 \dots s \quad (33)$$

Therefore the minimum value of S , say S_1 , could be written

$$S_1 = \Sigma \Sigma [b_i - B_i + (a_1 - A_1) x_{ik} + (a_2 - A_2) x_{ik}^2 + (a_3 - A_3) x_{ik}^3 + (a_4 - A_4) x_{ik}^4 - (y_{ik} - Y_{ik})]^2 \quad (34)$$

or, using Euler's theorem concerning the homogeneous functions and remembering that the derivatives of S with regard to a 's and b 's are zeros

$$S_1 = \Sigma \Sigma (y - Y)^2 - \sum_{i=1}^s (b_i - B_i) \Sigma_t (y - Y) - \sum_{t=1}^4 (a_t - A_t) \Sigma \Sigma x^t (y - Y) \quad (35)$$

and, using (27), (28) and (32), (33),

$$S_1 = \Sigma \Sigma (y - Y)^2 - \sum_{i=1}^s [\Sigma \Sigma \lambda^{(i)} (y - Y)] \Sigma_t (y - Y) - \sum_{t=1}^4 [\Sigma \Sigma \alpha^{(t)} (y - Y)] \Sigma \Sigma x^t (y - Y) \quad (36)$$

It is now easy to calculate the mean of S_1 in repeated samples. Owing to our assumption that the experimental errors on different plots are independent, we shall have

$$\{(y_{lk} - Y_{lk})(y_{jl} - Y_{jl})\} = 0 \quad (37)$$

except for $i = j$ and $k = l$ when

$$\{(y_{lk} - Y_{lk})^2\} = \sigma^2 \quad (38)$$

We have therefore

$$\{S_1\} = \sigma^2 \left[\sum_{t=1}^s n_t - \sum_{t=1}^s (\Sigma \Sigma \lambda^{(t)}) - \sum_{t=1}^4 (\Sigma \Sigma \alpha^{(t)} x^t) \right] \quad (39)$$

and, owing to (29) and (30):

$$\{S_1\} = \sigma^2 \left[\sum_{t=1}^s n_t - s - 4 \right] \quad (40)$$

Thus the ratio

$$\frac{S_1}{\sum_{t=1}^s n_t - s - 4} \quad (41)$$

can be considered as an estimate of the variance of the experimental errors σ^2 .

It is worth noting that the above formula (41) is in complete accordance with Fisher's principle of „degrees of freedom“, which in this case is rigorously proved. Obviously if we tried to use higher order parabolae, say of order N , we would find in the denominator of (41)

$$\sum_{t=1}^s n_t - s - N \quad (42)$$

Turning to to the formula (14) we find that the estimate of the variance of the difference $b_i - b_j$ is

$$\frac{S_1}{\sum_{t=1}^s n_t - s - 4} \Sigma \Sigma \lambda^2 \quad (43)$$

Before we proceed to the practical applications of previous general results we shall make some remarks concerning frequent errors contained in various methods of calculations of results of agricultural experiments.

As we have already mentioned, all of them consist in estimating in one way or another the level of fertility L_{ik} . Such estimates, say l_{ik} , are always some functions of observed yields, very frequently—linear functions. To have an estimate of relative yield of the i -th variety we calculate the mean excess:

$$\frac{1}{n_i} \sum_{k=1}^{n_i} (y_{ik} - l_{ik}) = \frac{1}{n_i} \sum_{k=1}^{n_i} Z_{ik} = Z_{i0} \text{ (say)} \quad (44)$$

the variance of which is estimated by the expression

$$\frac{1}{n_i (n_i - 1)} \sum_l (Z_{ik} - Z_{i0})^2 \quad (45)$$

which frequently is very small, owing to a high degree of dependency of the level l_{ik} upon the observed yield y_{ik} on the respective plot.

It is plain that the estimate (45) of the variance of Z_{i0} is wrong. It would be correct if l_{ik} were constants independent of y 's. Otherwise, even accepting the hypothesis that the mean value of l_{ik} is equal to the correct level of fertility, we should have for the variance of Z_{i0} a different expression. Assuming that l_{ik} (as is often the case) is a linear function of y 's the mean

$$\frac{1}{n_i} \sum_l l \quad (46)$$

would be also a linear function of y 's, say

$$\Sigma \Sigma a y \quad (47)$$

where, eventually, certain a 's could be equal to zero. For Z_{i0} we would have the expression

$$Z_{i0} = \frac{1}{n_i} \Sigma_l y - \Sigma \Sigma a y \quad (48)$$

and owing to the familiar theorems from the theory of probabilities, for the variance of Z_{i0} , say σ_z^2 , the expression

$$\sigma_z^2 = \left(\Sigma_l \left(\frac{1}{n_i} - a \right)^2 + \Sigma \Sigma a^2 - \Sigma_l a^2 \right) \sigma^2 \quad (49)$$

where σ^2 is the variance of experimental errors in y 's. As to the correct estimate of σ^2 , it is given by

$$\frac{\Sigma \Sigma (Z_{ik} - Z_{io})^2}{m} \quad (50)$$

where m is the number of degrees of freedom by fitting the estimate of the fertility level.

We see therefore that the correct estimate of the variance of

$$Z_{io} = \frac{1}{n_i} \Sigma_i (y_{ik} - l_{ik}) \quad (51)$$

may sometimes be considerably larger than that published frequently in agricultural journals.

The expression (45) is now computed for different methods of calculating applied to the same results of actual experiments and then the obtained values are used as a measure of goodness of respective methods of calculation: — the method giving to (45) a smaller value being considered better.

From this point of view it is easy to invent methods giving „ideal“ results, that is to say such for which the expression (45) would be rigorously zero. For this purpose we could propose to estimate the fertility level on the k -th plot sown by the i -th variety by the difference

$$l_{ik} = y_{ik} - b_i \quad (52)$$

The b 's are here arbitrary, and we can choose them in order to satisfy some further conditions. For instance we could ask that the sum

$$\Sigma \Sigma (y_{ik} - b_i)^2 \quad (53)$$

be minimum under the condition that $\sum_{i=1}^s n_i b_i = 0$.

This would be the mathematical expression of the hypothesis that the level varies but slightly about the mean yield on all plots. If y_{oo} and y_{io} denote the observed mean

yields on all plots and on plots sown by the i -th variety respectively, we should have

$$b_i = y_{i0} - y_{00} \tag{54}$$

The conditions concerning the b 's could be modified in order to make the level as smooth as desired. If we wish the level to differ but slightly from a straight line we can minimise the sum of squares

$$\Sigma \Sigma (y_{ik} - b_i - \alpha - \beta x_{ik})^2 \tag{55}$$

with regard to different values of b 's, α and β . We should easily obtain the following result

$$b_i = y_{i0} - \alpha - \beta X_i \tag{56}$$

where

$$X_i = \frac{1}{n_i} \Sigma_i x \tag{57}$$

$$\alpha = y_{00} - \beta X_0 \tag{58}$$

$$X_0 = \frac{\Sigma \Sigma x}{\Sigma_{i=1}^s n_i} \tag{59}$$

$$\beta = \frac{\Sigma \Sigma x_{ik} (y_{ik} - y_{i0})}{\Sigma_{i=1}^s (\Sigma_i x^2 - n_i X_i^2)} \tag{60}$$

These methods, leading to formulae analogous to those following from our assumptions that the fertility level can be represented by an n -th order parabola, may be interesting, but it would be absurd to affirm on the strength of

$$\frac{1}{n_i(n_i - 1)} \Sigma (Z_{ik} - Z_{i0})^2 = 0 \tag{61}$$

where

$$Z_{ik} = y_{ik} - l_{ik} = b_i \tag{62}$$

and

$$Z_{i0} = \frac{1}{n_i} \Sigma_i Z_{ik} = b_i \tag{63}$$

that the variance of Z_{i0} is equal to zero.

Similarly I cannot agree that the comparative goodness of different other methods of calculating experimental results can be measured by the sum (61), as very often it underestimates the value of the variance of the experimental error.

We now turn to the method of parabolic curves. The calculation of the determinants (22) and (25) is extremely tedious. Of course it could be greatly simplified by a suitable choice of the origin of coordinates.

We shall suppose that the trials are arranged (as has been described in Part I of the present series) so that all varieties are repeated on the same number of plots situated close together in one row, with one exception. The variety chosen as standard variety is repeated on one plot more. If we denote the compared varieties $V_1, V_2 \dots V_s$, we should have

$$V_1, V_2, \dots V_s, V_1, V_2, \dots V_s, \dots V_s, V_1, V_2 \dots V_s, V_1 \quad (64)$$

so that $n_i = n$ for $i = 2, 3 \dots s$, and $n_1 = n + 1$.

The number of all plots will be

$$\sum_{i=1}^s n_i = sn + 1 \quad (65)$$

which may be odd or even. In the first case we place the origin of x 's in the centre of the middle plot and the x 's will run over the following values

$$-\frac{sn}{2}, -\frac{sn}{2} + 1, -\frac{sn}{2} + 2, \dots -2, -1, \quad (66)$$

$$0, 1, 2 \dots \frac{sn}{2} - 2, \frac{sn}{2} - 1, \frac{sn}{2}$$

If the number of experimental plots is even, then the origin of x 's is again in the middle of the field on the border line between two neighbouring plots. The coordinates of middle points on each plot will be

$$-sn, -sn + 2, -sn + 4, \dots -3, -1, \quad (67)$$

$$1, 3, \dots sn - 4, sn - 2, sn$$

In both cases the sums of odd powers of x 's extendent over all plots will be zero. Moreover it is easy to see that

$$A_{rt} = 0 \tag{68}$$

if $r + t$ is an odd number, where

$$A_{rt} = \Sigma \Sigma x^{r+t} - \sum_{l=1}^s \frac{1}{n_l} (\Sigma_l x^r) (\Sigma_l x^t) = A_{tr} \tag{69}$$

Wishing to minimise the sum of squares S , we have to solve the following system of equations:

$$b_l = y_{l0} - a_1 X_{l1} - a_2 X_{l2} - a_3 X_{l3} - a_4 X_{l4} \tag{70}$$

where

$$X_{lk} = \frac{1}{n_l} \Sigma_l x^k \quad i = 1, 2, \dots, s$$

and

$$\left\{ \begin{array}{l} \sum_{l=1}^s b_l \Sigma_l x + a_1 \Sigma \Sigma x^2 + a_3 \Sigma \Sigma x^4 = \Sigma \Sigma x y \\ \sum_{l=1}^s b_l \Sigma_l x^3 + a_1 \Sigma \Sigma x^4 + a_3 \Sigma \Sigma x^6 = \Sigma \Sigma x^3 y \end{array} \right. \tag{71}$$

$$\left\{ \begin{array}{l} \sum_{l=1}^s b_l \Sigma_l x^2 + a_2 \Sigma \Sigma x^4 + a_4 \Sigma \Sigma x^6 = \Sigma \Sigma x^2 y \\ \sum_{l=1}^s b_l \Sigma_l x^4 + a_2 \Sigma \Sigma x^6 + a_4 \Sigma \Sigma x^8 = \Sigma \Sigma x^4 y \end{array} \right. \tag{72}$$

which we get equating the derivatives of S with regard to b 's and a 's to zero. Using (70) and eliminating b 's from (71) and (72) we have two systems of linear equations:

$$a_1 A_{11} + a_3 A_{13} = \Sigma \Sigma x y - \sum_{l=1}^s y_{l0} \Sigma_l x = C_1 \text{ (say)} \tag{73}$$

$$a_1 A_{13} + a_3 A_{33} = \Sigma \Sigma x^3 y - \sum_{l=1}^s y_{l0} \Sigma_l x^3 = C_3 \text{ (say)}$$

$$a_2 A_{22} + a_4 A_{24} = \Sigma \Sigma x^2 y - \sum_{i=1}^s y_{i0} \Sigma_i x^2 = C_2 \text{ (say)} \quad (74)$$

$$a_2 A_{24} + a_4 A_{44} = \Sigma \Sigma x^4 y - \sum_{i=1}^s y_{i0} \Sigma_i x^4 = C_4 \text{ (say)}$$

which are comparatively simple to solve with regard to a 's. The solutions are linear and homogeneous functions of y 's. Substituting them into (70) we have similar solutions for b 's. The final result is given by a difference of two expressions $b_i - b_j$.

Obviously these results would be useless if the calculation of results of a given trial would require the actual solving of the above equations. Therefore we have computed some few tables of coefficients of linear functions giving an immediate solution of the problem. Of course for any system of values of s and n a special set of tables is needed. Having such a table and wishing to obtain the estimate of the difference $B_i - B_j$, we have only to multiply the coefficients given in the respective column of the table into the observed yields and to sum the products. To have the estimate of the difference $B_i - B_j$, we calculate $b_i - b_1$ and $b_j - b_1$ and subtract

$$b_i - b_1 - (b_j - b_1) \quad (75)$$

In this way to calculate the estimates of $s - 1$ differences, $b_i - b_1$, of true potential yields on the same plots we have to multiply the obtained y 's into the respective coefficients and to sum. In all we have $(s - 1)(ns + 1)$ multiplications and $(s - 1)$ summations. With a good machine it is no particularly laborious problem.

Besides the coefficients of the expressions $b_i - b_1$ the tables give those facilitating the calculation of the fertility level, that is to say the estimates of coefficients A_1, A_2, A_3 and A_4 in (3). To have an estimate of A_i we have only to multiply the coefficients in the respective column of the table into observed y 's and to sum.

There remains the question of the estimate of the var-

variance of the final results. As we have seen it is the product of the estimate of the variance of the experimental error

$$\frac{S_1}{ns - s - 3} \tag{76}$$

into the sum of squares,

$$\Sigma \Sigma \lambda^2$$

of coefficients of the respective difference $b_i - b_j$. The tables facilitate the calculation of the sum S_1 and give the values of, say

$$M_{ij} = \sqrt{\frac{\Sigma \Sigma \lambda^2}{ns - s - 3}} \tag{77}$$

To get the estimate of the standard error of a given difference

$$B_i - B_j \tag{78}$$

we have to calculate $\sqrt{S_1}$ and to multiply it into the respective number M_{ij} , given in the tables.

The calculation of S_1 is simplified by the following considerations.

Using Euler's theorem we can write

$$\begin{aligned} S'_1 &= \Sigma \Sigma (C y_{ik} - b_j - a_1 x_{ik} - a_2 x_{ik}^2 - a_3 x_{ik}^3 - a_4 x_{ik}^4)^2 = \\ &= \frac{1}{2} \left[C \frac{\partial S'_1}{\partial c} + \sum_{t=1}^s b_t \frac{\partial S'_1}{\partial b_t} + \sum_{t=1}^4 a_t \frac{\partial S'_1}{\partial a_t} \right] \end{aligned} \tag{79}$$

To identify S'_1 and S_1 it is sufficient to substitute $C = 1$ in the former. As further the a 's and b 's in S_1 satisfy the equations

$$\frac{\partial S_1}{\partial b_t} = \frac{\partial S_1}{\partial a_t} = 0, \text{ for } i = 1, 2 \dots s; t = 1, 2, 3, 4 \tag{80}$$

we have

$$S_1 = \frac{1}{2} \frac{\partial S'_1}{\partial c} \Big|_{c=1} = \Sigma \Sigma y_{in}^2 - \sum_{t=1}^s b_t \Sigma_i y - \sum_{t=1}^4 a_t \Sigma \Sigma x^t y \tag{81}$$

Eliminating b 's by means of (70), (73) and (74) we have

$$S_1 = \Sigma \Sigma y^2 - \sum_{i=1}^s n_i y_{i0}^2 - a_1 C_1 - a_2 C_2 - a_3 C_3 - a_4 C_4 \quad (82)$$

But obviously

$$\begin{aligned} a_1 C_1 + a_3 C_3 &= \left[\frac{A_{33} C_1 - A_{31} C_3}{\sqrt{A_{33} (A_{11} A_{33} - A_{13}^2)}} \right]^2 + \\ &+ \left(\frac{C_3}{\sqrt{A_{33}}} \right)^2 = \varphi_1^2 + \varphi_3^2 \text{ (say)} \end{aligned} \quad (83)$$

and similarly

$$\begin{aligned} a_2 C_2 + a_4 C_4 &= \left(\frac{A_{44} C_2 - A_{24} C_4}{\sqrt{A_{44} (A_{22} A_{44} - A_{24}^2)}} \right)^2 + \\ &+ \left(\frac{C_4}{\sqrt{A_{44}}} \right)^2 = \varphi_2^2 + \varphi_4^2 \text{ (say)} \end{aligned} \quad (84)$$

we see that

$$\varphi_1 = a_1 \sqrt{\frac{A_{11} A_{33} - A_{13}^2}{A_{33}}} \quad (85)$$

$$\varphi_2 = a_2 \sqrt{\frac{A_{22} A_{44} - A_{24}^2}{A_{44}}} \quad (86)$$

and so all φ 's are linear and homogeneous functions in y 's. The tables give coefficients for the calculation of two last φ 's. Besides, calculating a_1 and a_2 , multiplying into, say

$$R_1 = \sqrt{\frac{A_{11} A_{33} - A_{13}^2}{A_{33}}} \quad (87)$$

and

$$R_2 = \sqrt{\frac{A_{22} A_{44} - A_{24}^2}{A_{44}}} \quad (88)$$

and squaring we get φ_1^2 , and φ_2^2 . Thus to calculate S_1 we have 1) to find

$$\Sigma \Sigma y_{ik}^2 - \sum_{i=1}^s n_i y_{i0}^2 \quad (89)$$

(without using any tables)

2) to calculate a_1 and a_2 (using tables),

- 3) to multiply a_1 , and a_2 into R_1 and R_2 respectively and to square the products,
- 4) to calculate φ_3 and φ_4 (using tables),
- 5) to square φ_3 and, φ_4
- 6) to subtract

$$S_1 = \Sigma y^2_{tk} - \Sigma_{t=1}^s n_t y^2_{to} - (a_1 R_1)^2 - (a_2 R_2)^2 - \varphi_3^2 - \varphi_4^2 \quad (90)$$

As we are interested in standard errors, not in variances, we have now to find $\sqrt{S_1}$.

Multiplying it into M_{ij} we get the estimate of the standard error of the difference $b_i - b_j$.

Description of the Tables.

The tables I and II correspond to two different arrangements of trials.

The tables under I are computed for trials comparing four varieties, V_2, V_3, V_4 and V_5 with a fifth, V_1 , and thus for $s = 5$. The standard variety V_1 is repeated on $n + 1 = 11$ plots and other varieties on $n = 10$ plots. The order of plots is a usual one

V_1	V_2	V_4	V_3	V_5	V_1	V_2	V_3	V_4	V_5	...	V_1	V_2	V_3	V_4	V_5	V_1
I					II						X					XI

The arrangement of trials corresponding to the tables under II is a different one. Here $s = 2$ and both compared varieties are repeated the same number of times, namely $n = 20$. The order is

$V_1 V_2$	$V_1 V_2$...	$V_1 V_2$
I	II		XX

The tables I-a and II-a contain six columns each. The first column specifies the variety sown on the respective plot. The second column (x) gives the middle point abscissae

of these plots. Further columns, $(a_1 10^{k_1})$, $(a_2 10^{k_2})$, $(a_3 10^{k_3})$, $(a_4 10^{k_4})$ give the coefficients of four functions

$$a_1 10^{k_1} = \Sigma \Sigma \alpha^{(i)} y$$

$$a_2 10^{k_2} = \Sigma \Sigma \alpha^{(i)} y$$

$$a_3 10^{k_3} = \Sigma \Sigma \alpha^{(i)} y$$

$$a_4 10^{k_4} = \Sigma \Sigma \alpha^{(i)} y$$

and serve for the calculation of the a 's. To do so, f. i. to calculate a_1 , It is sufficient to multiply the observed yields y into the respective coefficients of the third column ($a_1 10^0$), to sum the products and to divide over 10^0 (in both tables I-a and II-a $k_1 = 0$).

The tables I-b and II-b serve for the calculation of difference $b_i - b_1$ where i runs over all values from 2 to s . To calculate a given difference $b_i - b_1$ we have to multiply the figures in the column entitled $b_i - b_1$ into respective observed yields and to sum. The tables I-c and II-c serve to facilitate the calculation of φ_3 and φ_1 , which is done in a similar way as above.

The tables I-d and II-d give the values of M_{ij} and R_i .

All tables give a large number of decimal places which may be sometimes of importance. In most cases however only some few first figures may be used without any sensible loss in accuracy. For that purpose it is necessary to express the observed yields (or the character of them in which we are interested) in as few figures as possible. To do so we can 1) subtract from all observed y 's a certain constant, say A , and use the differences $y - A$ instead of y 's themselves, and 2) we can also introduce a new unit measuring these differences. The procedure is identical with that used for the calculation of the mean or standard deviation of a large number of figures. Assume for instance that we have to calculate the results of an experiment with sugar beet comparing four varieties with the fifth standard variety. The sugar contents in beet on subsequent 51 plots are given in

TABLE A.

Variety	abscissae x	Sug. Cont. y %	$y - 18$
I	— 25	17,4	— 0,6
II	— 24	17,2	— 0,8
III	— 23	17,8	— 0,2
IV	— 22	18,0	0,0
V	— 21	18,2	0,2
I	— 20	18,6	0,6
II	— 19	18,0	0,0
III	— 18	18,8	0,8
IV	— 17	18,7	0,7
V	— 16	18,9	0,9
I	— 15	18,8	0,8
II	— 14	17,8	— 0,2
III	— 13	18,8	0,8
IV	— 12	18,6	0,6
V	— 11	18,5	0,5
I	— 10	18,6	0,6
II	— 9	18,1	0,1
III	— 8	18,7	0,7
IV	— 7	18,1	0,1
V	— 6	18,2	0,2
I	— 5	18,4	0,4
II	— 4	17,6	— 0,4
III	— 3	18,3	0,3
IV	— 2	17,8	— 0,2
V	— 1	18,0	0,0
I	0	17,6	— 0,4
II	1	17,4	— 0,6
III	2	17,8	— 0,2
IV	3	17,4	— 0,6
V	4	17,6	— 0,4
I	5	17,7	— 0,3
II	6	17,1	— 0,9
III	7	17,7	— 0,3
IV	8	17,6	— 0,4
V	9	17,5	— 0,5
I	10	17,8	— 0,2
II	11	17,2	— 0,8
III	12	18,2	0,2
IV	13	17,8	— 0,2
V	14	18,0	0,0
I	15	18,1	0,1
II	16	17,8	— 0,2
III	16	18,8	0,8
IV	18	18,5	0,5
V	19	18,4	0,4
I	20	18,4	0,4
II	21	17,6	— 0,4
III	22	18,3	0,3
IV	23	18,1	0,1
V	24	18,0	0,0
I	25	18,1	0,1

the third column of table A and they can be directly used for all calculations as described. But the calculations will be considerably simplified if we subtract from all y 's the same number $A = 18$ and use for calculations the differences given in the fourth column. Besides saving time such a change will influence the accuracy of the final results. The accuracy will be increased, and it will be possible to take a smaller number of decimal places in the tables. In such cases as described above all calculations may be done by means of a logarithmic line. The result of such a calculation will be given below and compared with an accurate one executed by means of a calculating machine.

The increase of accuracy mentioned is the only effect of using $y - A$ instead of y 's. As the differences $y - A$ above are all expressed by means of a single figure, it is not necessary to simplify them any further by introducing a new unit. Such would be the case when we have to compare the weight of roots of different varieties, the weights being expressed in grammes. Obviously a gramme is too small a unit for the weight of some 100 or so roots of sugar beet from one plot and the introduction of a larger unit, equal to some 50 gr., 75 gr. and even more is easily justified.

The most convenient way of using our tables is the following. It is necessary to fix a certain degree of accuracy which will be required. If the experiments with sugar beet are concerned four decimal places of all tables will be sufficient. We copy these four or more figures from the tables on a strip of pasteboard in one column. It is important to remember to increase the last figure by one unit in cases when the first rejected figure is 5 or larger. On the top of the strip should be written the title of the table. To calculate any given experiments we write the observed results in a column and, using clasps, we adjust the table on the pasteboard and the results to have the corresponding figures in the same lines close together and then proceed to multiplications with the help of a logarithmic line. All this is done in order to avoid possible errors 1) in copying the figures from the table and 2) in multiplying the observed

y 's not with corresponding coefficients. Besides, copying the table takes time and it is better to do it once for a long time.

Example.

We shall now illustrate the proposed method on an example using the results of an actual experiment given in the above Table A. In most cases the experimenter will be interested in differences $b_i - b_j$. Often, when these differences are comparatively small, he will be interested in their standard errors. The shape of the curve giving the fertility level will interest him probably only in exceptional cases, mainly when methodological questions are concerned. We shall calculate the differences $b_i - b_j$ and their standard errors and shall give also the coefficients and the diagram of the fertility level.

Multiplying the figures of the last column in the Table A into the corresponding figures of successive columns of table I-a, respectively, summing and dividing over 10^9 , 10^{10} , 10^{12} and 10^{13} we find

$$a_1 = -0,044\ 046\ 3; \quad a_2 = 0,004\ 790\ 66; \quad a_3 = 0,000\ 098\ 046\ 7; \\ a_4 = -0,000\ 008\ 095\ 54$$

Using these figures and substituting all integer values of x from -25 to $+25$ into the equation

$$L = a_1 x + a_2 x^2 + a_3 x^3 + a_4 x^4$$

we find the ordinates of the fertility level, given in table B. Diagram II represents the level (the continued curve) and the original observed sugar contents (dots). Larger dots represent the sugar content of the standard variety. The working origin is in 18% . The level—this is to be noted—does not represent the sugar content of any of compared varieties on different plots, which, as is easy to see, is lower than the level.

We proceed now to the calculation of differences $b_i - b_j$. Multiplying the differences $y - 18,0$ into the respective

TABLE B.

x	$L_{(x)}$	x	$L_{(x)}$
— 25	— 0,598·932	0	0,000·000
— 24	— 0,224·731	1	— 0,039·165
— 23	0,088·962	2	— 0,068·276
— 22	0,347·300	3	— 0,087·032
— 21	0,555·241	4	— 0,095·331
— 20	0,717·554	5	— 0,093·270
— 19	0,838·807	6	— 0,081·129
— 18	0,923·379	7	— 0,059·390
— 17	0,975·451	8	— 0,028·729
— 16	0,999·014	9	0,009·985
— 15	0,997·860	10	0,055·692
— 14	0,975·587	11	0,107·130
— 13	0,935·605	12	0,162·850
— 12	0,881·122	13	0,221·205
— 11	0,815·156	14	0,280·355
— 10	0,740·530	15	0,338·264
— 9	0,659·871	16	0,392·706
— 8	0,575·615	17	0,441·255
— 7	0,490·000	18	0,481·295
— 6	0,405·073	19	0,510·011
— 5	0,322·684	20	0,524·402
— 4	0,244·489	21	0,521·263
— 3	0,171·952	22	0,497·200
— 2	0,106·342	23	0,448·628
— 1	0,048·731	24	0,371·759
0	0,000·000	25	0,262·618

numbers of successive columns in the Table I-b and summing we find:

$$b_2 \dots b_1 = - 0,598\ 810; \quad b_3 - b_1 = 0,113\ 757;$$

$$b_4 - b_1 = - 0,162\ 885; \quad b_5 - b_1 = - 0,099\ 327.$$

Successive subtractions of these differences give six others:

$$b_3 - b_2 = 0,712\ 567; \quad b_4 - b_2 = 0,435\ 925; \quad b_5 - b_2 = 0,499\ 483.$$

$$b_4 - b_3 = - 0,276\ 642; \quad b_5 - b_3 = - 0,213\ 084.$$

$$b_5 - b_4 = 0,063\ 558.$$

Using a logarithmic line it has been found that the difference $b_2 - b_1$ has the value $- 0,601$ practically identical with the above accurate figure.

It remains to calculate the standard errors. Squaring the differences $y - 18$ and summing we find easily

$$\Sigma \Sigma (y - 18)^2 = 11,44$$

To find the second term in the expression of S_1 , (90) we have to calculate the means of differences $y - 18$ corresponding to every variety. Denoting them by Y with a convenient subscript we have

$$Y_1 = 0,137; \quad Y_2 = -0,42; \quad Y_3 = 0,32; \quad Y_4 = 0,6; \quad Y_5 = 1,3$$

We observe here a curious fact. The difference $Y_i - Y_1$ being equal to the difference between the mean observed sugar content of the i -th variety and that of the first, considering only the values of Y 's we should think that the varieties IV and V are more rich in sugar than the standard variety. However the above calculation of differences $b_i - b_1$ and also the consideration of the diagram II shows that the excess in sugar content of these two varieties is due mainly to exceedingly favourable position of the plots on which they are sown.

Squaring the means, Y , and multiplying them into the number of plots on which the respective variety is sown we find respectively:

$$n_1 Y_1^2 = 0,205; \quad n_2 Y_2^2 = 1,764; \quad n_3 Y_3^2 = 1,024;$$

$$n_4 Y_4^2 = 0,036; \quad n_5 Y_5^2 = 0,169$$

It remains to calculate the φ 's. Multiplying the above values of a_1 and a_2 into R_1 and R_2 of the Table I-d we find

$$\varphi_1 = -1,846\ 508; \quad \varphi_2 = 1,877\ 128$$

Multiplying further the differences $y - 18$ into the numbers of two columns of Table I-c and summing, we find the other two φ 's, namely

$$\varphi_3 = 0,126\ 479; \quad \varphi_4 = -0,122\ 116$$

Squaring the φ 's and subtracting

$$\Sigma \Sigma (y - 18)^2 - \sum_{i=1}^5 n_i Y_i^2 - \sum_{j=1}^4 \varphi_j^2$$

Diagram II

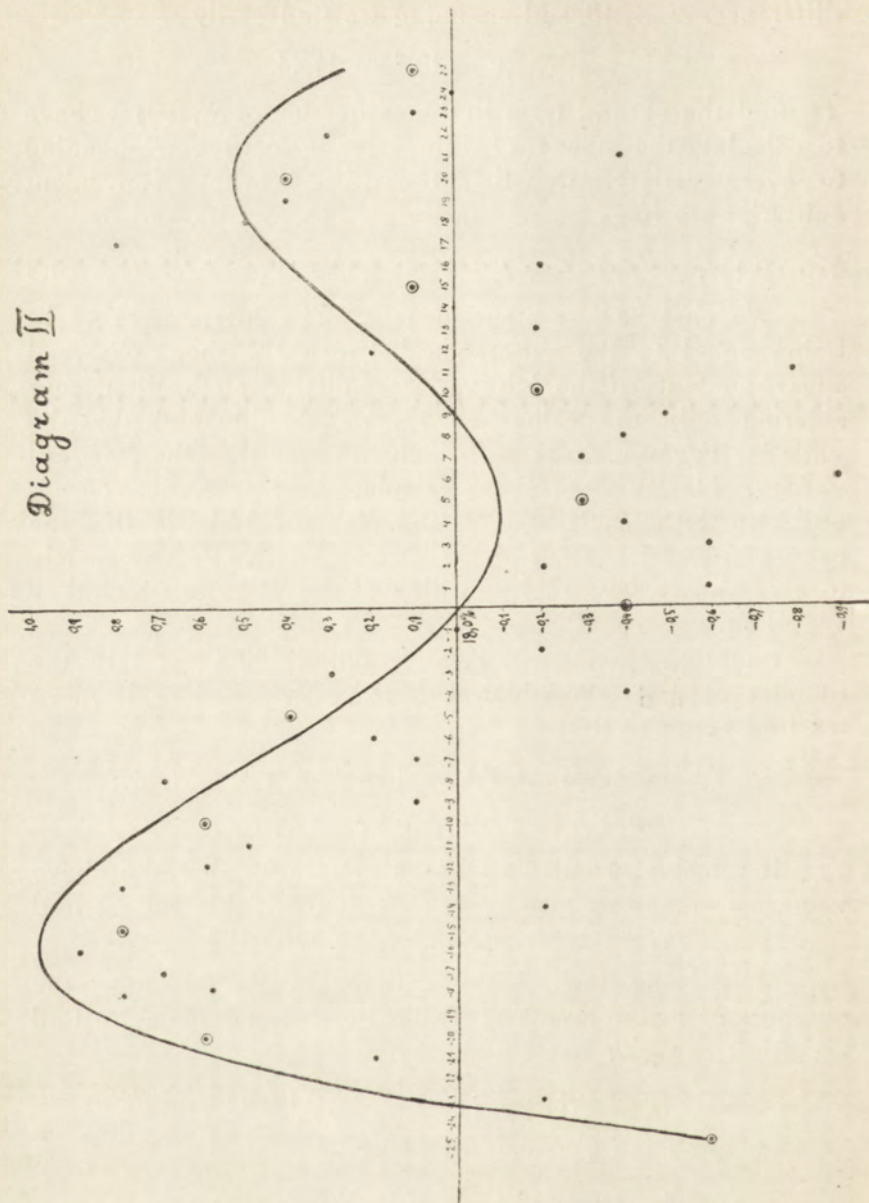
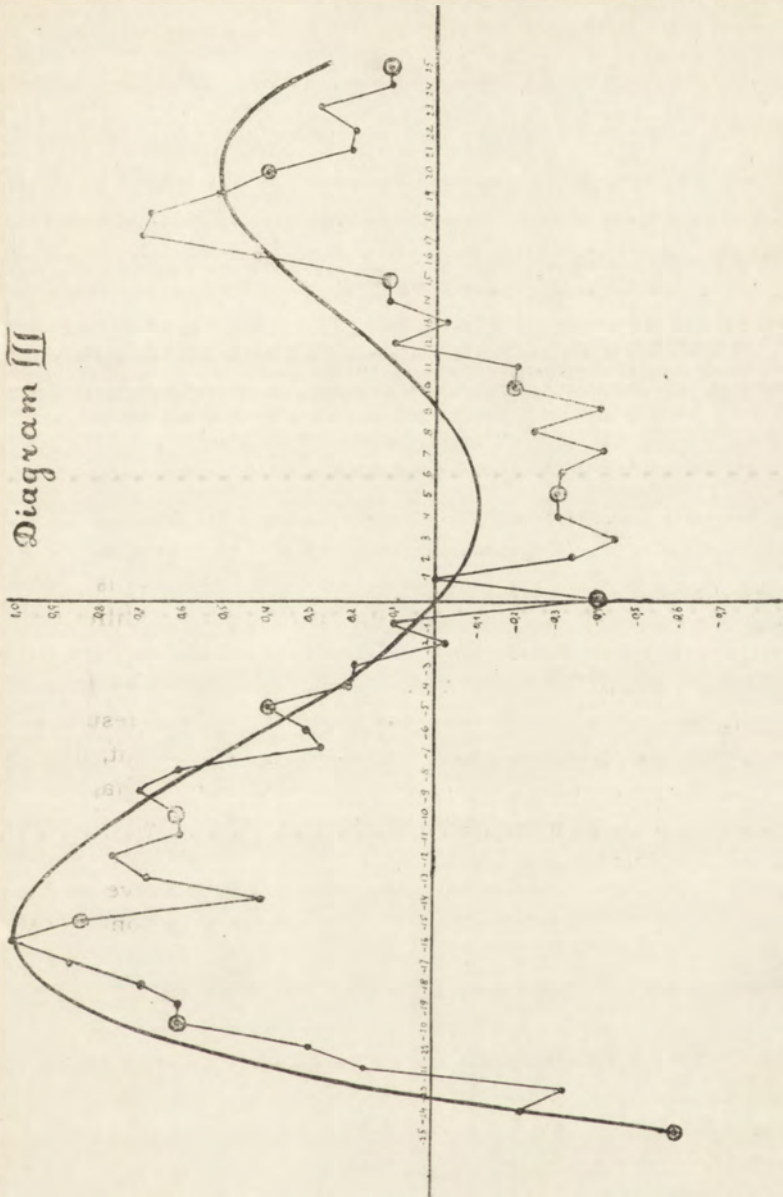


Diagram III



we find finally the value of $S_1 = 1,278$. The square root of S_1 will be

$$\sqrt{S_1} = 1,13$$

It remains to multiply this number into respective M 's. They are slightly different according to the mutual distance of respective varieties on the field: M_{13} is larger than M_{12} as the plots on which the third variety is sown are more distant from the plots with the standard variety than the plots on which the second variety is sown. But the differences are very small and practically we may calculate only a single figure representing the standard error of every difference $b_i - b_j$, multiplying $\sqrt{S_1}$ into 0,069. We find thus

$$\sigma = 0,069 \times \sqrt{S_1} = 0,07797$$

or, approximately, 0,08.

Considering the obtained results we see that most probably the variety II is less rich in sugar than any of remaining ones. Very probably also the third variety is richer in sugar than the fourth and the fifth. Other differences in sugar content are doubtful.

It is interesting to subtract the difference $b_i - b_1$ from the observed y_i 's for every $i = 2, 3, 4, 5$. The result will be, as it were, the probable result of the experiment, if only one variety, the standard, were sown on all plots. Diagram III represents such a hypothetical result of the trial. We see that all empirical points are now fairly close together and one is inclined to believe that their deviations from a curve parallel to that drawn on the diagram are due to random causes

T A B L E 1-a [s = 5; n = 10].

ψ	x	$a_1 \cdot 10^9$	$a_2 \cdot 10^{10}$	$a_3 \cdot 10^{12}$	$a_4 \cdot 10^{13}$
I	-25	4990951	- 5742423	- 18684704	13923070
II	-24	3052956	- 3431224	- 13114890	9682812
III	-23	1780083	- 1021982	- 9840618	4909221
IV	-22	673236	969370	- 6993425	889422
V	-21	- 267583	2601143	- 4573311	- 2481763
I	-20	- 1541470	4505888	- 711798	- 6701823
II	-19	- 2667778	4318590	2770089	- 6340208
III	-18	- 3165859	4507928	4051325	- 7014455
IV	-17	- 3534808	4545011	5000390	- 7414065
V	-16	- 3774625	4475192	5617282	- 7620843
I	-15	- 4384404	4918066	7770464	- 9108905
II	-14	- 4883500	3495659	9638927	- 6424327
III	-13	- 4791262	2663691	9401661	- 5161273
IV	-12	- 4606788	1880315	8927129	- 3985868
V	-11	- 4330076	1177926	8215331	- 2956548
I	-10	- 4460223	1163160	9134744	- 3524053
II	-9	- 4516580	- 554915	9864344	- 211085
III	-8	- 4018498	- 1533535	8583108	1411565
IV	-7	- 3465076	- 2327506	7159511	2701143
V	-6	- 2856310	- 2917392	5593555	3622590
I	-5	- 2691297	- 2709512	5753702	2748538
II	-4	- 2489390	- 4107757	5818943	5579657
III	-3	- 1769940	- 4682322	3968268	6568531
IV	-2	- 1032042	- 5000971	2070139	7095780
V	-1	- 275697	- 5057223	124558	7149716
I	0	0000300	- 4270358	0000000	5326347
II	1	275697	- 5057223	- 124558	7149716
III	2	1032042	- 5000971	- 2070139	7095780
IV	3	1769940	- 4682322	- 3968268	6568531
V	4	2489390	- 4107757	- 5818943	5579657
I	5	2691297	- 2709512	- 5753702	2748538
II	6	2856310	- 2917392	- 5593555	3622590
III	7	3465076	- 2327506	- 7159511	2701143
IV	8	4018498	- 1533535	- 8583108	1411565
V	9	4516580	- 554915	- 9864344	- 211085
I	10	4460223	1163160	- 9134744	- 3524053
II	11	4330076	1177926	- 8215331	- 2956548
III	12	4606788	1880315	- 8927129	- 3985868
IV	13	4791262	2663691	- 9401661	- 5161273
V	14	4883500	3495659	- 9638927	- 6424327
I	15	4384404	4918066	- 7770464	- 9108905
II	16	3774625	4475192	- 5617282	- 7620843
III	17	3534808	4545011	- 5000390	- 7414065
IV	18	3165859	4507928	- 4051325	- 7014455
V	19	2667778	4318590	- 2770089	- 6340208
I	20	1541470	4505888	711798	- 6701823
II	21	267583	2601143	4573311	- 2481763
III	22	- 673236	969370	6993425	889422
IV	23	- 1780083	- 1021982	9840618	4909221
V	24	- 3052956	- 3431224	13114890	9682812
I	25	- 4990951	- 5742423	18684704	13923070

T A B L E I-b.

v	x	$b_2 - b_1$	$b_3 - b_1$	$b_4 - b_1$	$b_5 - b_1$
I	— 25	— 0,078·822	— 0,069·886	— 0,063·311	— 0,058·985
II	— 24	0,110·001	0,016·820	0,021·885	0,025·275
III	— 23	0,005·424	0,110·778	0,015·089	0,018·417
IV	— 22	0,001·446	0,005·538	0,109·193	0,012·456
V	— 21	— 0,002·037	0,000·980	0,004·078	0,107·286
I	— 20	— 0,097·248	— 0,096·025	— 0,094·043	— 0,091·298
II	— 19	0,095·628	— 0,004·136	— 0,003·183	— 0,001·529
III	— 18	— 0,005·360	— 0,094·448	— 0,004·894	— 0,003·410
IV	— 17	— 0,006·191	— 0,006·696	0,093·744	— 0,004·902
V	— 16	— 0,006·946	— 0,007·660	— 0,007·363	0,093·913
I	— 15	— 0,099·825	— 0,101·550	— 0,101·975	— 0,101·149
II	— 14	0,095·011	— 0,006·995	— 0,008·078	— 0,008·296
III	— 13	— 0,004·367	0,093·830	— 0,007·199	— 0,007·508
IV	— 12	— 0,003·913	— 0,005·472	0,093·609	— 0,006·724
V	— 11	— 0,003·688	— 0,004·965	— 0,005·720	0,093·998
I	— 10	— 0,095·865	— 0,097·728	— 0,098·922	— 0,099·502
II	— 9	0,099·416	— 0,002·366	— 0,003·956	— 0,005·412
III	— 8	0,000·250	0,098·973	— 0,002·321	— 0,003·685
IV	— 7	0,000·705	— 0,000·079	0,098·954	— 0,002·238
V	— 6	0,000·745	0,000·437	— 0,000·169	0,098·893
I	— 5	— 0,091·782	— 0,092·530	— 0,093·400	— 0,094·428
II	— 4	0,103·008	0,002·440	0,001·328	— 0,000·364
III	— 3	0,003·234	0,103·229	0,002·542	0,001·151
IV	— 2	0,002·987	0,003·491	0,103·241	0,002·226
V	— 1	0,002·253	0,003·213	0,003·411	0,102·848
I	0	— 0,091·096	— 0,090·629	— 0,090·629	— 0,091·096
II	1	0,102·848	0,003·411	0,003·213	0,002·253
III	2	0,002·226	0,103·241	0,003·491	0,002·987
IV	3	0,001·151	0,002·542	0,103·229	0,003·234
V	4	— 0,000·364	0,001·328	0,002·440	0,103·008
I	5	— 0,094·428	— 0,093·400	— 0,092·530	— 0,091·782
II	6	0,098·893	— 0,000·169	0,000·437	0,000·745
III	7	— 0,002·238	0,098·954	— 0,000·079	0,000·705
IV	8	— 0,003·685	— 0,002·321	0,098·973	0,000·250
V	9	— 0,005·412	— 0,003·956	— 0,002·366	0,099·416
I	10	— 0,099·502	— 0,098·922	— 0,097·728	— 0,095·865
II	11	0,093·998	— 0,005·720	— 0,004·965	— 0,003·688
III	12	— 0,006·724	0,093·609	— 0,005·472	— 0,003·913
IV	13	— 0,007·508	— 0,007·199	0,093·830	— 0,004·367
V	14	— 0,008·296	— 0,008·078	— 0,006·995	— 0,095·011
I	15	— 0,101·149	— 0,101·975	— 0,101·550	— 0,099·825
II	16	0,093·913	— 0,007·363	— 0,007·661	— 0,006·946
III	17	— 0,004·902	0,093·744	— 0,006·696	— 0,006·191
IV	18	— 0,003·410	— 0,004·894	0,094·448	— 0,005·360
V	19	— 0,001·529	— 0,003·183	— 0,004·136	0,095·628
I	20	— 0,091·298	— 0,094·043	— 0,096·025	— 0,097·248
II	21	0,107·286	0,004·078	0,000·980	— 0,002·037
III	22	0,012·456	0,109·193	0,005·538	0,001·446
IV	23	0,018·417	0,015·089	0,110·778	0,005·424
V	24	0,025·275	0,021·885	0,016·820	0,110·001
I	25	— 0,058·985	— 0,063·311	— 0,069·886	— 0,078·822

TABLE I-c.

ν	x	φ_3	φ_4
I	— 25	— 0,351·279	0,350·724
II	— 24	— 0 289·848	0,318·175
III	— 23	— 0,266·579	0,256·090
IV	— 22	— 0,246·345	0,198·863
V	— 21	— 0,229·147	0,145·816
I	— 20	— 0,179·855	0,061·200
II	— 19	— 0,133·261	0,065·271
III	— 18	— 0,124·156	0,036·566
IV	— 17	— 0,117·412	0,009·632
V	— 16	— 0,113·028	— 0,016·060
I	— 15	— 0,075·876	— 0,076·108
II	— 14	— 0,040·748	— 0,050·106
III	— 13	— 0,042·435	— 0,059·364
IV	— 12	— 0,045·807	— 0,069·188
V	— 11	— 0,050·865	— 0,079·953
I	— 10	— 0,022·482	— 0,127·108
II	— 9	0,004·553	— 0,090·096
III	— 8	— 0,004·553	— 0,090·077
IV	— 7	— 0,014·669	— 0,092·205
V	— 6	— 0,025·798	— 0,096·706
I	— 5	— 0,002·810	— 0,138·877
II	— 4	— 0,019·503	— 0,098·011
III	— 3	0,006·351	— 0,095·118
IV	— 2	— 0,007·138	— 0,095·199
V	— 1	— 0,020·964	— 0,098·331
I	0	0,000·000	— 0,139·662
II	1	0,020·964	— 0,098·331
III	2	0,007·138	— 0,095·199
IV	3	— 0,006·351	— 0,095·118
V	4	— 0,019·503	— 0,098·011
I	5	0,002·810	— 0,138·377
II	6	0,025·798	— 0,096·706
III	7	0,014·669	— 0,092·205
IV	8	0,004·553	— 0,090·077
V	9	— 0,004·553	— 0,090·096
I	10	0,022·482	— 0,127·108
II	11	0,050·865	— 0,079·953
III	12	0,045·807	— 0,069·188
IV	13	0,042·435	— 0,059·364
V	14	0,040·748	— 0,050·106
I	15	0,075·876	— 0,076·108
II	16	0,113·028	— 0,016·060
III	17	0,117·412	0,009·632
IV	18	0,124·156	0,036·566
V	19	0,133·261	0,065·271
I	20	0,179·855	0,061·200
II	21	0,229·147	0,145·816
III	22	0,246·345	0,198·863
IV	23	0,266·579	0,256·090
V	24	0,289·848	0,318·175
I	25	0,351·279	0,350·724

T A B L E I - d.

$M_{1,2} = 0,068\cdot019\cdot59$	$M_{2,4} = 0,069\cdot192\cdot97$
$M_{1,3} = 0,068\cdot042\cdot68$	$M_{2,5} = 0,069\cdot411\cdot47$
$M_{1,4} = 0,068\cdot042\cdot68$	$M_{3,4} = 0,069\cdot051\cdot16$
$M_{1,5} = 0,068\cdot019\cdot59$	$M_{3,5} = 0,069\cdot192\cdot97$
$M_{2,3} = 0,069\cdot058\cdot59$	$M_{4,5} = 0,069\cdot058\cdot59$
$R_1 = 41,921\cdot990;$	$f_2 = 391,830\cdot520;$

TABLE II-a ($s = 2; n = 20$)

v	x	$a_1 \cdot 10^9$	$a_2 \cdot 10^{10}$	$a_3 \cdot 10^{12}$	$a_4 \cdot 10^{13}$
I	-39	3742·510	- 3'043'546	- 5'774'205	3'021'386
II	-37	2325'017	- 1'091'882	- 4'293'640	1'471'958
I	-35	662'785	366'683	- 2'361'112	289'500
II	-33	- 307'079	1'395'462	- 1'348'094	- 572'275
I	-31	- 1546'550	2'054'240	142'862	- 1'157'075
II	-29	- 2'118'521	2'399'280	740'283	- 1'506'047
I	-27	- 2'984'967	2'483'344	1'841'616	- 1'657'757
II	-25	- 3'208'782	2'355'665	2'075'389	- 1'648'205
I	-23	- 3'751'940	2'061'965	2'839'049	- 1'510'823
II	-21	- 3'677'335	1'644'444	2'761'125	- 1'276'462
I	-19	- 3'946'942	1'141'787	3'239'062	- 973'407
II	-17	- 3'623'654	589'163	2'901'389	- 627'375
I	-15	- 3'669'447	18'228	3'145'552	- 261'507
II	-13	- 3'147'212	542'886	2'600'081	103'621
I	-11	- 3'018'926	- 1'069'562	2'662'420	450'025
II	-9	- 2'347'482	- 1'540'696	1'961'100	762'263
I	-7	- 2'094'854	- 1'938'702	1'893'565	1'027'480
II	-5	- 1'323'937	- 2'249'518	1'088'346	1'235'392
I	-3	- 996'704	- 2'462'589	942'886	1'378'285
II	-1	- 176'050	- 2'570'886	85'717	1'451'020
I	1	176'050	- 2'570'886	- 85'717	1'451'020
II	3	996'704	- 2'462'589	- 942'886	1'378'285
I	5	1'323'937	- 2'249'518	- 1'088'346	1'235'392
II	7	2'094'854	- 1'938'702	- 1'893'565	1'027'480
I	9	2'347'482	- 1'540'696	- 1'961'100	762'263
II	11	3'018'926	- 1'069'562	- 2'662'420	450'025
I	13	3'147'212	- 542'886	- 2'300'081	103'621
II	15	3'669'447	18'228	- 3'145'552	- 261'507
I	17	3'623'654	589'163	- 2'901'389	- 627'375
II	19	3'946'942	1'141'787	- 3'239'062	- 973'407
I	21	3'677'335	1'644'444	- 2'761'125	- 1'276'462
II	23	3'751'940	2'061'965	- 2'839'049	- 1'510'823
I	25	3'208'782	2'355'665	- 2'075'389	- 1'648'205
II	27	2'984'967	2'483'344	- 1'841'616	- 1'657'757
I	29	2'118'521	2'399'280	- 740'283	- 1'506'047
II	31	1'546'550	2'054'240	- 142'862	- 1'157'075
I	33	307'079	1'395'462	1'348'094	- 572'275
II	35	- 632'785	366'683	2'361'112	289'500
I	37	- 2'325'017	- 1'091'882	4'293'640	1'471'958
II	39	- 3'742'510	- 3'043'546	5'774'205	3'021'386

T A B L E II-b.

v	x	$b_1 - b_2$
I	— 39	0,039·042
II	— 37	— 0,059·064
I	— 35	0,043·784
II	— 33	— 0,054·920
I	— 31	0,047·363
II	— 29	— 0,051·873
I	— 27	0,049·912
II	— 25	— 0,049·789
I	— 23	0,051·564
II	— 21	— 0,048·536
I	— 19	0,052·452
II	— 17	— 0,047·980
I	— 15	0,052·708
II	— 13	— 0,047·990
I	— 11	0,052·466
II	— 9	— 0,048·431
I	— 7	0,051·858
II	— 5	— 0,049·172
I	— 3	0,051·018
II	— 1	— 0,050·078
I	1	0,050·078
II	3	— 0,051·018
I	5	0,049·172
II	7	— 0,051·858
I	9	0,048·431
II	11	— 0,052·466
I	13	0,047·990
II	15	— 0,052·708
I	17	0,047·980
II	19	— 0,052·452
I	21	0,048·536
II	23	— 0,051·564
I	25	0,049·789
II	27	— 0,049·912
I	29	0,051·873
II	31	— 0,047·363
I	33	0,054·920
II	35	— 0,043·784
I	37	0,059·064
II	39	— 0,039·042

T A B L E II-c. ($s = 2; n = 20$).

ν	x	φ_3	φ_4
I	— 39	— 0,378·952	0,419·446
II	— 37	— 0,343·027	0,317·225
I	— 35	— 0,270·995	0,230·303
II	— 33	— 0,246·415	0,157·071
I	— 31	— 0,185·097	0,096·010
II	— 29	— 0,170·601	0,045·690
I	— 27	— 0,118·737	0,004·772
II	— 25	— 0,113·064	— 0,027·996
I	— 23	— 0,069·393	— 0,053·776
II	— 21	— 0,071·284	— 0,073·639
I	— 19	— 0,034·546	— 0,088·569
II	— 17	— 0,042·739	— 0,099·460
I	— 15	— 0,011·673	— 0,107·115
II	— 13	— 0,024·908	— 0,112·249
I	— 11	— 0,001·746	— 0,115·488
II	— 9	— 0,015·270	— 0,117·368
I	— 7	— 0,008·233	— 0,118·336
II	— 5	— 0,011·305	— 0,118·750
I	— 3	— 0,010·307	— 0,118·876
II	— 1	— 0,010·491	— 0,118·895
I	1	— 0,010·491	— 0,118·895
II	3	— 0,010·307	— 0,118·876
I	5	— 0,011·305	— 0,118·750
II	7	— 0,008·233	— 0,118·336
I	9	— 0,015·270	— 0,117·368
II	11	— 0,001·746	— 0,115·488
I	13	— 0,024·908	— 0,112·249
II	15	— 0,011·673	— 0,107·115
I	17	— 0,042·739	— 0,099·460
II	19	— 0,034·546	— 0,088·569
I	21	— 0,071·284	— 0,073·639
II	23	— 0,069·393	— 0,053·776
I	25	— 0,113·064	— 0,027·996
II	27	— 0,118·737	0,004·772
I	29	— 0,170·601	0,045·690
II	31	— 0,185·097	0,096·010
I	33	— 0,246·415	0,157·071
II	35	— 0,270·995	0,230·303
I	37	— 0,343·027	0,317·225
II	39	— 0,378·952	0,419·446

T A B L E II-d.

$$M_{1,2} = 0,054·403·37.$$

$$R_1 = 58,222·048.$$

$$R_2 = 856,599·927.$$

Zastosowanie krzywych parabolicznych do obliczania wyników doświadczeń polowych.

(Skrót)

Jak już niejednokrotnie w różnych publikacjach wspominałem, „obliczanie doświadczeń polowych“ ma na celu wyeliminowanie wpływu różnic w wydajności gleby na poszczególnych poletkach.

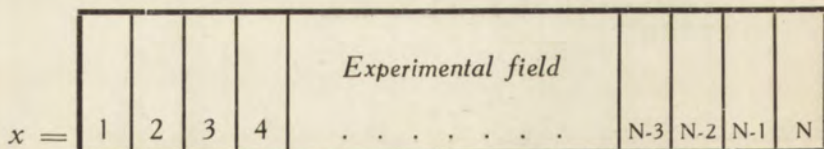
Zakłada się mianowicie, że plon (albo jakaś interesująca nas cecha tego plonu) z każdego poletka zawiera trzy składniki: 1) składnik stały i charakterystyczny dla danej odmiany używanych nawozów i t. p., oznaczmy go literą B ; 2) składnik uzależniony od żyzności gleby na danym poletku—oznaczamy go przez L i nazywamy poziomem wydajności gleby, oraz 3) błąd doświadczalny.

Jeżeli porównujemy dwie odmiany I i II, to chodzi nam o porównanie odpowiadających im wielkości B_I i B_{II} . Aby to było możliwe, trzeba unieść oceniać choć w przybliżeniu wielkości L , do tego znów są niezbędne pewne dotyczące tych liczb założenia a priori.

Istotne różnice pomiędzy znanymi obecnie metodami obliczania doświadczeń polowych polegają na różnicach w hipotezach, dotyczących właśnie tych liczb L , jakkolwiek różni autorowie nie zawsze te hipotezy uwypuklają.

Będziemy poniżej zakładali, że poletka doświadczalne ułożone są w jednym pasie, jak to przedstawia Fig. I. Niech

Diagram I.



x oznacza odcięta środka jakiegoś poletka, a $L(x)$ — poziom wydajności gleby na tem poletku. Przyjmujemy hipotezę, że $L(x)$ daje się przedstawić w postaci

$$L(x) = A_1 x + A_2 x^2 + A_3 x^3 + A_4 x^4. \quad (1)$$

Równaniu temu odpowiada krzywa o najwyżej trzech punktach ekstremalnych — więc dwóch maximach i jednym minimum lub odwrotnie.

Zapewne—nie każda krzywa o trzech ekstremach da się przedstawić powyższem równaniem, jednak z całą pewnością można powiedzieć, że błąd, powstały z zastąpienia każdej trzechekstremalnej krzywej przez krzywą paraboliczną, odpowiadającą równaniu (1), będzie bez znaczenia z punktu widzenia możliwej do osiągnięcia dokładności doświadczeń polowych.

Istotnem natomiast jest ograniczenie, że punktów ekstremalnych jest nie więcej niż trzy. Jednak w ogromnej większości przypadków, gdy pas poletek doświadczalnych nie jest zbyt długi, liczba ta jest zupełnie wystarczająca. Wrazach jednak, gdy graficzne przedstawienie wyników doświadczenia okazuje niezbitcie, że liczba ekstremów jest większa, przytaczane tablice nie nadają się do obliczania doświadczenia, i należałoby do tego ułożyć tablice inne, co specjalnych trudności nie sprawia. Jednak, jak już zaznaczyłem, przypadki takie stanowią niesłychanie rzadkie wyjątki.

Jeśli na x -tem poletku wysiana jest odmiana i -ta, to zaobserwowany plon y_{ix} będzie równy:

$$y_{ix} = B_i + A_1 x + A_2 x^2 + A_3 x^3 + A_4 x^4 + \varepsilon, \quad (2)$$

gdzie ε jest dodatni lub ujemny błąd doświadczalny.

Po przyjęciu powyższych hipotez zagadnienie rolnicze o porównaniu kilku odmian można zidentyfikować z następującem zadaniem matematycznym:

Dane są zaobserwowane na N poletkach plony s porównywanych odmian—odnaleźć prawdopodobne przybliżenie każdej z różnic $B_i - B_j$ oraz ocenić dokładność tego przybliżenia.

Postępując w myśl ogólnych zasad teorii najmniejszych kwadratów, zadanie to rozwiązujemy w sposób następujący:

Szukamy takiej linjowej funkcji F zaobserwowanych plonów y z każdego poletka, której 1) nadzieja matematyczna równałaby się szukanej różnicy $B_l - B_j$ oraz 2) której średni błąd byłby najmniejszy.

Proste rozważania prowadzą do wniosku, że funkcja taka będzie przedstawiała różnicę liczb $b_l - b_j$, otrzymanych przy rozwiązywaniu zadania łatwiejszego: odnaleźć wartości $b_1, b_2 \dots b_s, a_1, a_2, a_3$ i a_4 , które nadają minimalną wartość sumie

$$\sum_{t=1}^s \Sigma_t (y - b_l - a_1 x - a_2 x^2 - a_3 x^3 - a_4 x^4)^2, \quad (3)$$

gdzie Σ_t oznacza sumę, rozciągającą się na poletka obsiane tą odmianą.

Oznaczmy rozwiązanie tego zadania przez

$$F = b_l - b_j = \sum_{k=1}^s \Sigma_k \lambda_k y. \quad (4)$$

Proste rozważania okazują, że kwadrat średniego błędu różnicy $b_l - b_j$ służącej jako prawdopodobne przybliżenie szukanej różnicy $B_l - B_j$, może być oceniony przez wyrażenie

$$\sigma_{lj}^2 = \sum_{k=1}^s \Sigma_k \lambda_k^2 \frac{S}{N - s - 4}, \quad (5)$$

gdzie S jest minimalna wartość sumy (3).

Zaznaczyć tu należy, że prawie wszystkie metody obliczania doświadczeń (z wyjątkiem metody „Studenta“ i R. A. Fishera) oceniają kwadrat średniego błędu ostatecznego wyniku wyrażeniem analogicznym do ilorazu

$$\frac{S}{N(N-1)}, \quad (6)$$

które jest poprawne tylko w tym przypadku, gdy się wcale nie uwzględnia różnic w poziomie wydajności i stosuje się

do obliczania doświadczeń t. z. metoda średniej arytmetycznej. W innych przypadkach, t. j. gdy się w jakikolwiek sposób eliminuje nierówności gleby, czynnik mianownika $(N-1)$ musi być zastąpiony przez mniejszy, równy liczbie „stopni swobody“ *), współczynnik zaś $\frac{1}{N}$, przez sumę $\sum \lambda^2$, gdzie λ są współczynnikami tej linjowej funkcji zaobserwowanych plonów, która służy do oceny średniego plonu danej odmiany. Ostatnia okoliczność wynika ze znanego twierdzenia, że średni błąd funkcji linjowej

$$F = \lambda_1 y_1 + \lambda_2 y_2 \dots + \lambda_N y_N \quad (7)$$

jest równy

$$\sqrt{\sum \lambda^2} \sigma \quad (8)$$

gdzie σ oznacza wspólną wartość średniego błędu y -ków.

Wróćmy jednak do naszego zagadnienia.

Ostatecznie obliczenie doświadczenia polowego sprowadza się do wyznaczenia wartości funkcji (4) i (5), ewentualnie] też do wykreślenia krzywej odpowiadającej równaniu (1) a przedstawiającej poziom wydajności. Zresztą ostatnia ta czynność jest niezbędną tylko przy rozważaniach metodologicznych. Jeśli chodzi o pracę praktyczną, to mamy do czynienia tylko z funkcjami (4) i (5),

Jednak każdorazowe bezpośrednie obliczanie i tych funkcji należy uznać za zadanie niemożliwe do wykonania dla zakładów doświadczalnych, gdyż obliczanie jednego doświadczenia kosztowałoby zbyt wiele pracy.

Pozostała więc droga następująca: Obliczyć raz na zawsze współczynniki funkcji (4), które zależą tylko od sposobu ułożenia doświadczenia, (więc od liczby porównywanych odmian, od liczby powtórzeń, i kolejności odmian na polu) i podać je w tablicach. Dla obliczenia prawdopodobnego przybliżenia różnicy $B^i - B_1$ wystarcza w ten sposób odna-

*) Patrz w tej kwestji: R. A. Fisher, *Statistical Methods for Research Workers*, Oliver and Boyd 1928.

leżć odpowiednią kolumnę w tablicach, pomnożyć przez podane w niej liczby odpowiednio zaobserwowane plony i zsumować iloczyny. Praca nad ułożeniem tablic została już częściowo dokonana i odnośne tablice dla dwu schematów doświadczeń podane są w zeszycie niniejszym. Inne tablice są w przygotowaniu i ukażą się w części trzeciej niniejszej pracy. Prawdopodobne przybliżenia a_1, a_2, a_3 , i a_4 współczynników równania (1) obliczają się w sposób zupełnie podobny.

Obliczenie sumy S nie jest takie proste jak prawdopodobnego przybliżenia różnicy $B_l - B_1$. Daje się udowodnić, że

$$S = \sum_{i=1}^s \sum_i y^2 - \sum_{i=1}^s n_i Y_i^2 - \varphi_1^2 - \varphi_2^2 - \varphi_3^2 - \varphi_4^2, \quad (9)$$

gdzie n_i oznacza liczbę parcelek obsianych i -tą odmianą, Y_i — średnią arytmetyczną plonów tejże odmiany, funkcje zaś φ , są to pewne funkcje plonów y_i . Tak więc φ_1 jest iloczynem współczynnika a_1 przez pewną liczbę R_1 , φ_2 jest analogicznie iloczynem a_2 przez pewną liczbę R_2 , a pozostałe funkcje φ_3 i φ_4 muszą być obliczane niezależnie od innych rachunków.

Tak więc dla obliczenia sumy S należy:

1) podnieść do kwadratu wszystkie zaobserwowane plony y i zsumować; otrzymaną w ten sposób sumę

$$\sum_{i=1}^s \sum_i y^2. \quad (10)$$

2) Należy obliczyć średnie plony każdej odmiany, podnieść je do kwadratu, pomnożyć kwadraty przez liczby n_i parcelek, obsianych daną odmianą, i zsumować. Otrzymamy w ten sposób:

$$\sum_{i=1}^s n_i Y_i^2, \quad (11)$$

3) Pomnożyć zaobserwowane plony przez współczynniki, podane w tablicach a służące do obliczania współczynnika a_1 zsumować iloczyny i wynik pomnożyć przez podaną w tablicach liczbę R_1

4) Analogicznie należy obliczyć φ_2 .

5) Należy obliczyć φ_3 i φ_4 przez pomnożenie zaobserwowanych plonów odpowiednio przez współczynniki, podane w tablicach i zsumowanie iloczynów.

6) Należy podnieść do kwadratu każdy z wyrazów $\varphi_1 \varphi_2 \varphi_3$ i φ_4 .

7) Wreszcie obliczyć S według wzoru (9).

Wobec tego że zazwyczaj interesuje nas wartość średniego błędu różnicy $B_i - B_j$, nie zaś jego kwadratu, należy jeszcze wyciągnąć pierwiastek kwadratowy z S . Wtedy, dla obliczenia σ_{ij} wystarczy pomnożyć \sqrt{S} przez liczbę

$$M_{ij} = \sqrt{\frac{\sum \lambda^2}{N - s - 4}} \quad (12)$$

podaną również w tablicach.

Obliczanie sumy S można sobie ułatwić: przez odjęcie od każdego y pewnej stałej liczby A , takiej by różnice $y - A$ wyrażały się jak najprostszymi liczbami. Różnice $y - A$ mogą dalej być użyte do wszystkich opisanych kalkulacji, przy czym, gdyby można było podać w tablicach dokładne wartości współczynników, wynik byłby identycznie ten sam co przy użyciu liczb y . Ponieważ jednak niema ani możliwości, ani potrzeby używania zupełnie dokładnych współczynników, a są one podane z dokładnością do kilku dziesiętnych znaków, zastąpienie y przez $y - A$ prowadzi do zwiększenia dokładności ostatecznego wyniku rachunku. Jeśli różnice $y - A$ mogą się wyrażać tylko jedną cyfrą, to całe obliczenie może być dokonane zapomocą suwaka logarytmowego oraz, ewentualnie, maszyny sumującej.

Opis Tablic.

Tablice I przewidują doświadczenie, w którym cztery odmiany porównywane są z piątą — wzorcem. Wzorec jest powtarzany jedenaście razy, pozostałe odmiany dziesięć. Porządek odmian na polu doświadczalnym jest

I	II	III	IV	V,	I	II	III	IV	V,	I	. . .	I	II	III	IV	V,	I.
1					2					10					11.		

Tablica II przewiduje doświadczenie, porównywające tylko dwie odmiany, powtarzane każda na 20 parcelkach alternatywnie:

$$\frac{I \text{ II.}}{1} \quad \frac{I \text{ II.}}{2} \quad . . . \quad \frac{I \text{ II.}}{19} \quad \frac{I \text{ II.}}{20}$$

Tablice, oznaczone literą a (więc I-a i II-a) zawierają sześć kolumn. Kolumna pierwsza podaje numer odmiany wysianej na odnośnym poletku, kolumna druga — spółrzedną środka poletka, kolumny zaś następne — spółczynniki przez które należy mnożyć kolejne plony, by po zsumowaniu otrzymać spółczynniki a_1, a_2, a_3, a_4 , pomnożone przez pewną, oznaczoną u góry potęgę dziesięciu. Tak więc, dla obliczenia np. a_1 należy pomnożyć kolejne plony (wzgl. różnice $y-A$) przez spółczynniki, podane w kolumnie trzeciej, zsumować iloczyny i sumę podzielić przez 10^9 .

Tablice, oznaczone literą b podają spółczynniki funkcyj $b_i - b_1$, gdzie i równa się kolejno 2, 3 . . . s . W systemie tablic I tablica b zawiera więc 4 kolumny spółczynników, a w systemie II — jedną. Dla obliczenia różnicy np. $b_2 - b_1$, należy pomnożyć różnice $y-A$ przez kolejne spółczynniki kolumny zatytułowanej $b_2 - b_1$ i zsumować. Gdy wszystkie różnice $b_i - b_1$ (są to ujemne lub dodatnie nadwyżki plonów porównywanych odmian nad wzorcem) są już obliczone; dla porównania odmian między sobą wystarczy zrobić odpowiednie odejmowanie. Np. jeżeli chodzi o różnicę plonów odmiany trzeciej i drugiej, należy odjąć

$$(b_3 - b_1) - (b_2 - b_1).$$

Tablice, oznaczone literą c, podają spółczynniki do obliczania funkcyj φ_3 i φ_4 . Rachunek dokonywa się zupełnie tak jak przy obliczaniu $b_i - b_1$.

Tablica d podaje wartości liczb M_{ij} oraz R_1 i R_2 .

Jeśli w jakimś zakładzie dokonywa się dużo podobnych doświadczeń, zbędnem jest obliczanie sumy S dla każdego doświadczenia, poszczególne bowiem wyniki będą się różniły tylko nieznacznie. Wystarczy obliczyć wartość tej sumy dla

jakich pięciu lub sześciu doświadczeń i dla oceny średniego błędu brać średnią arytmetyczną uzyskanych wartości. Wobec tego obliczanie doświadczenia sprowadzać się będzie najczęściej do opisanych rachunków przy zastosowaniu tablic *b*.

Przy korzystaniu z tablic należy się wystrzegać błędów dwóch rodzajów: 1) pomnożenia jakiegoś plonu y przez nieodpowiedni współczynnik 2) pomnożenia] przez współczynnik odpowiedni, lecz źle odczytany z tablic.

Dla uniknięcia błędu pierwszego rodzaju, najdogodniej jest mieć wypisane obok siebie współczynniki oraz plony w dwóch sąsiednich kolumnach. Ponieważ jednak przepisywanie liczb z tablic bardzo łatwo może pociągnąć za sobą błąd drugiego rodzaju oraz stratę drogiego czasu, przeto najlepiej jest przepisać każdą z kolumn tablic raz na zawsze na pasku tektury, bacząc, by odległość pomiędzy kolejnymi liczbami odpowiadała odległości pomiędzy linjami na używanym stale papierze. Paski takie mogłyby być kolejno przypinane spinaczami do tej samej kolumny kolejnych plonów, tak by odpowiadające sobie plon i współczynnik były na jednej linii. Na jakimś trzecim arkuszu, który również może być dopinany, można potem wpisywać iloczyny i sumować.

Oczywiście, że przepisane na tekturze tablice należy przed użyciem dokładnie sprawdzić.

Przykład.

Tablica A podaje wyniki doświadczenia nad pięciu odmianami buraków cukrowych. Kolumny kolejne zawierają odpowiednio: numer odmiany, numer poletka, cukrowość buraków na tem poletku (y) i różnice $y-18,0$. Te ostatnie wyrażają się liczbami jednocyfrowymi, co doskonale ułatwia rachunek.

Doświadczenie dokonane jest według schematu tablic I. Mnożąc kolejne liczby kolumny czwartej tablicy A przez odpowiednie liczby kolumn trzeciej, czwartej i dalszych ta-

TABLE A.

Variety	abscissae x	Sug. Cont. y %	y — 18
I	— 25	17,4	— 0,6
II	— 24	17,2	— 0,8
III	— 23	17,8	— 0,2
IV	— 22	18,0	0,0
V	— 21	18,2	0,2
I	— 20	18,6	0,6
II	— 19	18,0	0,0
III	— 18	18,8	0,8
IV	— 17	18,7	0,7
V	— 16	18,9	0,9
I	— 15	18,8	0,8
II	— 14	17,8	— 0,2
III	— 13	18,8	0,8
IV	— 12	18,6	0,6
V	— 11	18,5	0,5
I	— 10	18,6	0,6
II	— 9	18,1	0,1
III	— 8	18,7	0,7
IV	— 7	18,1	0,1
V	— 6	18,2	0,2
I	— 5	18,4	0,4
II	— 4	17,6	— 0,4
III	— 3	18,3	0,3
IV	— 2	17,8	— 0,2
V	— 1	18,0	0,0
I	0	17,6	— 0,4
II	1	17,4	— 0,6
III	2	17,8	— 0,2
IV	3	17,4	— 0,6
V	4	17,6	— 0,4
I	5	17,7	— 0,3
II	6	17,1	— 0,9
III	7	17,7	— 0,3
IV	8	17,6	— 0,4
V	9	17,5	— 0,5
I	10	17,8	— 0,2
II	11	17,2	— 0,8
III	12	18,2	0,2
IV	13	17,8	— 0,2
V	14	18,0	0,0
I	15	18,1	0,1
II	16	17,8	— 0,2
III	16	18,8	0,8
IV	18	18,5	0,5
V	19	18,4	0,4
I	20	18,4	0,4
II	21	17,6	— 0,4
III	22	18,3	0,3
IV	23	18,1	0,1
V	24	18,0	0,0
I	25	18,1	0,1

blicy I-a, sumując i dzieląc odpowiednio przez 10^9 , 10^{10} , 10^{12} i 10^{13} , otrzymujemy

$$\begin{aligned} a_1 &= -0,044\,046\,3; & a_2 &= 0,004\,790\,66; \\ a_3 &= 0,000\,098\,046\,7; & a_4 &= -0,000\,008\,095\,54; \end{aligned}$$

Jeśli się nie ma zamiaru wykreślić krzywej poziomu wydajności, a liczby a_1 i a_2 są potrzebne tylko dla wyznaczenia sumy S , rachunek ten (i dalsze) może być dokonany przy pomocy suwaka logarytmowego. Można też wobec tego przepisywać na tekturze tylko pewną nieznaczną liczbę pierwszych cyfr każdego współczynnika. W razie jednak, jeśli liczby a_1 są potrzebne do wykreślenia krzywej poziomu wydajności, niezbędna jest znaczniejsza dokładność, albowiem np. a_4 wypadnie przytem mnożyć przez 25^4 — liczbę bardzo wielką, i już drobny błąd w współczynniku może się dać mocno odczuć. Wobec tego przy tego rodzaju rachunkach wypada korzystać z arytmetru i brać wszystkie cyfry podane w tablicach.

Korzystając z odnalezionych liczb a i podstawiając zamiast x w równaniu

$$L_x = a_1 x + a_2 x^2 + a_3 x^3 + a_4 x^4$$

kolejne liczby całkowite od -25 do $+25$, otrzymamy 51 rzędnych punktów na krzywej poziomu wydajności, podane w tablicy B. Krzywa ta uwidoczniła jest na wykresie II*). Punkty na tym wykresie oznaczają cukrowość, zaobserwowaną na poszczególnych parcelkach, mierzoną od cukrowości 18%. Punktami otoczonymi kółkami oznaczono cukrowość odmiany wtórcowej.

Dla obliczenia nadwyżek cukrowości poszczególnych odmian nad wzorcem mnożymy liczby ostatniej kolumny tablicy A przez odpowiednie liczby tablicy I-b i sumujemy.

W wyniku mamy

$$\begin{aligned} b_2 - b_1 &= -0,598\,810; & b_3 - b_1 &= 0,113\,757; \\ b_4 - b_1 &= -0,162\,885; & b_5 - b_1 &= -0,099\,327. \end{aligned}$$

*) Patrz tekst angielski str. 26.

Biorąc różnice tych liczb parami otrzymujemy w dalszym ciągu:

$$b_3 - b_2 = 0,712567; b_4 - b_2 = 0,435925; b_5 - b_2 = 0,499483$$

$$b_4 - b_3 = -0,279642; b_5 - b_3 = -0,213084$$

$$b_5 - b_4 = 0,063558.$$

Różnica $b_2 - b_1$ była równolegle obliczona przy pomocy suwaka logarytmowego.

Otrzymano przytem wynik $-0,601$, praktycznie nie różniący się od dokładnego.

Przechodzimy do obliczania sumy S . Podnosząc liczby kolumny czwartej tablicy A do kwadratu i sumując mamy

$$\Sigma \Sigma (y - 18)^2 = 11,44.$$

Obliczamy dalej średnie arytmetyczne różnic $y - 18$ odnoszących się do każdej odmiany. Oznaczając te średnie dla krótkości przez Y z odpowiednim znaczkim, mamy

$$Y_1 = 0,137; Y_2 = -0,42; Y_3 = 0,32; Y_4 = 0,6; Y_5 = 1,3.$$

Zaznaczyć tu należy, że, gdybyśmy chcieli zastosować do obliczenia tego doświadczenia metodę zwykłej średniej arytmetycznej, wypadłoby nam uznać, że odmiany IV i V są prawdopodobnie cukrowsze od wzorca, albowiem dodatnie różnice

$$Y_3 - Y_1 \text{ i } Y_5 - Y_1$$

równałyby się różnicom średnich cukrowności tych odmian. Jak to wynika już z graficznego przedstawienia rezultatów doświadczenia (patrz wykres I), nadwyżka średniej cukrowności odmian IV i V ponad wzorzec, uzależniona jest od szczęśliwych warunków glebowych, w jakich się znajdowały obie te odmiany na polu. Wniosek ten znajduje swój dokładny wyraz w obliczonych wyżej różnicach $b_4 - b_1$ i $b_5 - b_1$.

Podnosząc średnie Y do kwadratu i mnożąc przez 11 (dla wzorca) i przez 10 (dla innych odmian), otrzymujemy

$$n_1 Y_1^2 = 0,205; n_2 Y_2^2 = 1,764; n_3 Y_3^2 = 1,024;$$

$$n_4 Y_4^2 = 0,036; n_5 Y_5^2 = 0,169.$$

Pozostaje nam obliczyć liczby φ . Mnożąc a_1 i a_2 przez liczby R_1 i R_2 (tablica Id), otrzymujemy

$$\varphi_1 = -1,846\ 508; \quad \varphi_2 = 1,877\ 128$$

Mnożąc dalej ciągle te same liczby ostatniej kolumny tablicy A przez liczby dwu ostatnich kolumn I-c i sumując, mamy

$$\varphi_3 = 0,126\ 479 \quad \text{i} \quad \varphi_4 = -0,122\ 116.$$

Podnosząc liczby φ do kwadratu i odejmując

$$S = \Sigma \Sigma (y - 18)^2 - \sum_{l=1}^5 n_l Y_l^2 - \sum_{l=1}^4 \varphi_l^2,$$

otrzymujemy

$$S = 1,278$$

Pierwiastek kwadratowy z tej liczby równa się

$$\sqrt{S} = 1,13.$$

Dla obliczenia średniego błędności każdej z różnic $b_l - b_j$ mamy teraz pomnożyć liczbę 1,13 przez odpowiednią liczbę M_{ij} z tablicy I-d.

Liczby M_{ij} są różne. Np. M_{13} jest większe od M_{12} , co jest zrozumiałe, albowiem odmiany I i II wysiane są na sąsiednich polkach, przez co porównanie tych odmian musi być dokładniejsze, niż porównanie odmian I i III. Jednak różnice pomiędzy liczbami M są tak nieznaczne, że z punktu widzenia praktyki zupełnie wystarczy obliczyć jeden tylko średni błąd dla każdej z różnic $b_l - b_j$, mnożąc pierwiastek z S przez 0,069. Otrzymany w ten sposób:

$$\sigma = 0,069 \times 1,13 = 0,07797$$

czyli, w przybliżeniu 0,08.

Tu kończy się matematyczna strona zadania. Pozostaje teraz ustosunkować się do wyników, co jest zależne od ostrożności prowadzącego doświadczenia. — Może on nie wierzyć w możliwość przypadkowego przekroczenia dwu-

krotnego średniego błędu przez błąd doświadczalny. Inny ostrożniejszy będzie powątpiewał o przypadkowości tylko przy trzykrotnem przekroczeniu. Wydaje się jednak niewątpliwem, że odmiana II jest najmniej cukrowa. Prawdopodobnie też odmiana trzecia jest cukrowsza od czwartej i piątej. Pozostałe różnice są raczej wątpliwe.

Uzupełnimy rozważanie powyższego przykładu przez następujące uwagi. Odejmijmy od każdej cukrowości (względnie od odpowiedniej różnicy $(y - 18)$) liczbę $b_i - b_1$ obliczoną nadwyżkę tej cukrowości nad cukrowością wzorca, gdyby on był wysiany na tem samym poletku. Robiąc to dla wszystkich parcelek (prócz oczywiście parcelek obsianych wzorcem), otrzymamy szereg cukrowości, któreby przypuszczalnie okazała odmiana wzorcowa, gdyby ona tylko jedna była wysiewana na wszystkich poletkach.

Wykres III przedstawia graficznie wynik takiego rachunku*). Linja ciągła daje nam tu poziom wydajności. Widzimy, że pomijając drobne stosunkowo skoki, które z łatwością daje się przypisać przypadkowym błędom doświadczalnym, quasi empiryczne punkty układają się według równoległej do obliczonego poziomu, czego też należało oczekiwać.

Druga uwaga dotyczy okoliczności, że liczby M_{ij} bardzo mało się wzajemnie różnią. Wynika z tego, że dążenie do porównywania ze wzorem nie więcej niż dwóch odmian, a to ze względu, że już trzecia odmiana, (nie mówiąc o czwartej) nie będzie mogła być porównana dokładnie, może być uważane za zbytni, że tak powiem, purytanizm.

*) Patrz str. 27.

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

M. Bogucki.

Wpływ ciśnienia osmotycznego środowiska na powstawanie periwitelinu w zapłodnionych jajach jeźowców (*Paracentrotus lividus* L.).

L'influence de la pression osmotique du milieu sur la formation du périvitellin dans les oeufs fécondés d'Oursin.

Rękopis nadestany w dniu 1. I. 1929 r.

Le but du présent travail était d'analyser l'influence qu'exerce le milieu anisotonique sur la formation du périvitellin des oeufs fécondés de l'oursin.

Les milieux hypotoniques ont été préparés par la dilution de l'eau de mer dans de l'eau distillée, et les milieux hypertoniques — par l'addition à l'eau de mer soit de la solution de NaCl 2.6 M, soit de la glucose 2 M, soit de l'eau de mer concentrée deux fois environ ($\Delta = 4.00^0$).

Les oeufs fécondés étaient transportés dans les series de milieux à pression osmotique croissante avant que leur membrane de fécondation et le périvitellin soient formés.

Les volumes des oeufs entiers (la membrane de fécondation comprise) et des cellules ovulaires étaient calculés d'après leurs diamètres, le volume du périvitellin d'après la différence entre le volume de l'oeuf entier et celui de la cellule ovulaire.

Les diamètres ont été mesurés à l'aide de l'oculaire micrométrique de Leitz № 2 et de l'objectif A de Zeiss.

On a constaté que les oeufs inseminés d'oursin transportés quelques secondes plus tard dans un milieu hypertonique, dans lequel les spermatozoïdes perdent instantanément leur motilité, forment le périvitellin, ce qui prouve que le temps de pénétration des spermatozoïdes dans les oeufs ne dépasse pas quelques secondes, conformément aux opinions de FOL et de PÉTERFI.

Les spermatozoïdes sont momentanément paralysés et perdent leur faculté de féconder dans un milieu, dont la pression osmotique, exprimée en abaissement du point de congélation est égale à 2.88° . Cette paralysie est réversible, si l'action de l'hypertonie n'est pas trop prolongée (tabl. IV).

On a constaté en outre que les limites de la pression osmotique du milieu, exprimée en abaissement du point de congélation, dans lesquelles l'oeuf fécondé peut former le périvitellin et la membrane de fécondation, se trouvent renfermées entre Δ égal à 1.70° — 2.87° . Dans ces limites de la pression osmotique du milieu les volumes des oeufs entiers, ainsi que ceux des cellules ovulaires diminuent à mesure que la pression osmotique du milieu va augmenter (tabl. V, VI et fig. 1), tandis que le volume du périvitellin reste constant dans ces conditions (tabl. VI et fig. 2).

Par contre les oeufs fécondés dans le milieu normal et transférés dans le milieu hypertonique après la formation du périvitellin gardent leur volume indépendamment de la pression osmotique, tandis que la cellule ovulaire diminue et le périvitellin augmente de volume à mesure que la pression du milieu augmente.

On suppose que la formation du périvitellin est principalement le résultat de l'absorption de l'eau du milieu par les colloïdes, secretés par l'oeuf fécondé.

Zadaniem pracy niniejszej jest zbadanie wpływu, jaki wywierają środowiska anizotoniczne na proces tworzenia się periwitelinu w zapłodnionych jajach jeźowców.

W celu powyższym poddawałem jaja jeźowców działaniu środowisk o wzrastającym ciśnieniu osmotycznym w okresie powstawania periwitelinu, t. j. bezpośrednio po zaplemnieniu.

Wobec krótkości czasu, jaki dzielił moment zaplemnienia jaj od momentu przeniesienia ich do badanych środowisk, ustalona została przede wszystkim granica stężeń, w których plemniki zachowują zdolność ruchu i zdolność zapładniania.

1. Materiał i metoda.

Wszystkie doświadczenia przeprowadzone były na jajach gatunku *Paracentrotus lividus* L. Objętości jaj obliczane były na podstawie pomiarów ich średnicy, do których wybierane były jaja najwięcej zbliżone swym kształtem do kuli.

W każdym z badanych środowisk mierzono średnicę 10 jaj, z których wartość przeciętną brano za podstawę do obliczania objętości.

Środowiska hipotoniczne były przygotowywane przez rozcieńczenie wody morskiej wodą destylowaną, zaś hipertoniczne—przez dodawanie do wody morskiej glukozy o stężeniu, wynoszącym około 2 M ($\Delta=4.65^\circ$), bądź chlorku sodowego 2.6 M ($\Delta=10.46^\circ$)¹⁾, bądź prawie podwójnie stężonej wody morskiej, w której obniżenie punktu zamarzania wynosiło 4.0° .

Obniżenie punktu zamarzania przygotowanych w ten sposób roztworów obliczane było według wzoru:

$$\Delta = \frac{\Delta' a + \Delta'' b}{a + b},$$

gdzie Δ , Δ' i Δ'' oznaczają obniżenie punktu zamarzania roztworu przygotowanego (Δ), wody morskiej (Δ') i roztworu dodawanego (Δ'') do tej ostatniej, zaś a i b oznaczają liczby jednostek objętości cieczy składowych.

Wartości obliczane według tego wzoru są wyższe nieco, niż wartości otrzymane z pomiarów krjoskopowych, jednak różnica między wartościami obliczonymi i znalezionymi w kilku pomiarach kontrolnych nie przekraczała 5%.

Do pomiarów średnicy jaj używano okularu śrubowego Leitza (ok. 2) i obiektywu Zeissa A.

2. Wpływ hipertoniczności na ruchliwość plemników.

Tabela I wskazuje nam, do jakiego stopnia należy podnieść ciśnienie osmotyczne środowiska, aby wywołać natychmiastowy paraliż umieszczonych w niem plemników. W wodzie morskiej, której ciśnienie osmotyczne zostało zwiększone przez dodanie NaCl o stężeniu 2.6 M, plemniki tracą natychmiast swą ruchliwość, gdy obniżenie punktu zamarzania środowiska dochodzi do 2.95° .

Nadto zaś wyniki, streszczone w tej tabeli, stwierdzają, że jaja, zapłodnione w środowisku hipertonicznym, wytwarzają błony zapłodnienia i brózdki, o ile obniżenie punktu zamarzania środowiska nie dochodzi do powyższej granicy ($\Delta=2.95^\circ$).

¹⁾ Wartość obliczona z tabel LANDOLTA ('26).

Takie same wyniki otrzymane zostały i w tym przypadku, gdy dla podniesienia ciśnienia osmotycznego wody morskiej dodawano do niej zamiast chlorku sodowego roztworu glukozy o stężeniu, wynoszącym około 2 M. I w tym bowiem przypadku ruch plemników ustaje niezwłocznie, jeśli umieścimy je w mieszaninie hipertonicznej (70% wody morskiej + 30% glukozy), której obniżenie punktu zamarzania dochodzi do 2.88°. W środowisku takim jaja zapłodnione nie wytwarzają błon i nie rozwijają się.

Tabela I.

Zapłodnienie w hipertonji.
Fécondation dans les solutions hypertoniques.

kolejny roztworu № de la solution	Skład roztworu <i>Composition de la solution</i>		Δ roz- tworu <i>de la solution</i>	Liczba jaj <i>Nombre d'oeufs</i>		Stan plemników po 12' <i>Etat des spermatozoïdes après 12'</i>
	Woda morska <i>Eau de mer</i>	NaCl 2.6 M		oblo- nionych <i>munis des membranes</i>	brózdku- jących <i>en seg- mentation</i>	
	%	%	°C			
1	100	0	2.12	91	ca 100	} plemniki w ruchu } <i>spermatozoïdes en mouvement</i>
2	98	2	2.29	99	- 100	
3	95	5	2.54	92	87	
4	90	10	2.95	0	0	} ruch ustaje natychmiastowo } <i>mouvement s'arrête instantané- ment.</i>
5	85	15	3.37	0	0	
6	80	20	3.79	0	0	

Nasuwa się przypuszczenie, że przyczyną niepowstania błony zapłodnienia i periwitelinu w tem granicznym stężeniu ($\Delta=2.88-2.95^\circ$) jest zanik ruchliwości plemników. Przypuszczenie to opiera się na doświadczeniach, w których jaja, zapłodnione w wodzie zwykłej, zostały przeniesione do hipertonji po upływie $\frac{1}{2}$ — 1 minuty od chwili zaplemnienia, t. j. w momencie, kiedy periwitelin nie został jeszcze wytworzony. Kontrola, dokonana po upływie 30—45 minut od chwili przeniesienia jaj do hipertonji, stwierdziła wszędzie bardzo duży odsetek błon (tabela II).

Okazało się, że nawet kilkunastosekundowe pozostawanie zaplemnionych jaj w wodzie morskiej jest wystarczające, aby jaja takie, przeniesione do hipertonji, w której plemniki tracą ruch natychmiastowo, wytworzyły periwitelin. Liczby tabeli III są tego dowodem. Wskazują one, że przenikanie plemników do jaja od-

Tabela II.

Jaja zapłodnione w wodzie morskiej i po 1' przeniesione do hipertoni. Kontrola po 30—45'
Oeufs fécondés dans l'eau de mer et après 1 minute transportés dans le milieu hypertonique.

Skład roztworu <i>Composition de la solution</i>		Δ roz- tworu <i>de la solution</i>	Liczba jaj obtonio- nych <i>Nombre d'oeufs munis des membranes</i>	Skład roztworu <i>Composition de la solution</i>		Δ roz- tworu <i>de la solution</i>	Liczba jaj obtonio- nych <i>Nombre d'oeufs munis des membranes</i>
Woda morska <i>Eau de mer</i>	NaCl 2.6 M			Woda morska <i>Eau de mer</i>	Glukoza 2M <i>Glucose 2M</i>		
%	%	°C	%	%	%	°C	%
100	0	2.12	89	100	0	2.12	94
98	2	2.29	99	90	10	2.37	88
95	5	2.54	99	80	20	2.63	62
90	10	2.95	98	70	30	2.88	57
85	15	3.37	98	60	40	3.13	71
80	20	3.79	98	50	50	3.38	64
75	25	4.20	100	40	60	3.64	54

bywać się musi w ciągu najbliższych kilku sekund po zaplemnieniu, zanim zaplemnione jaja zostały przeniesione do hipertoni, w której plemniki tracą niezwłocznie ruchy.

Tabela III.

Jaja zapłodnione w wodzie morskiej i przeniesione po 5—15 sek. do hipertoni, w której ruch plemników ustaje natychmiastowo.

Oeufs fécondés dans l'eau de mer et après 5—15 sec. transférés dans un milieu hypertonique dans lequel le mouvement des spermatozoïdes s'arrête instantanément.

Skład roztworu <i>Composition de la solution</i>		Δ roz- tworu <i>de la solution</i>	% błon w jajach przeniesionych do hipertoni po upływie następującego czasu od chwili zaplemnienia <i>% des membranes formées par les oeufs mis dans le milieu hypertonique après les laps de temps suivants à partir de l'insemination</i>		
Woda morska <i>Eau de mer</i>	Glukoza 2M <i>Glucose 2M</i>		°C	5"	10"
%	%				
75	25	2.75	76	78	75
70	30	2.88	70	78	77
	NaCl 2.6 M				
90	10	2.95			95
85	15	3.37			95
80	20	3.79			63

Wyniki powyższe zgadzają się ze spostrzeżeniami FOLA ('77) i HERTWIGA ('76), opartymi na badaniach mikroskopowych, przeprowadzonych na tym samym materiale. HERTWIG już w 4' po zaplemnieniu znajdował plemniki w obwodowej warstwie ooplazmy, zaś po 10' obserwował zbliżanie się wzajemne obu jąder.

FOL przypuszczał, że przeniknięcie plemnika do jaja jest sprawą kilku sekund. Obserwacje PÉTERFIEGO ('27) potwierdzają całkowicie pogląd FOLA.

Podobnie rzecz się ma u *Asterias*, gdzie, według bardzo szczegółowych danych CHAMBERSA ('23), plemnik przenika do jaja po upływie 2.5 minut od chwili zaplemnienia oraz u *Arbacia* (JUST '29).

Jeżeli plemniki pozostają w hiperttonji, wywołującej natychmiastowy paraliż, niezbyt długo, to przeniesione z powrotem do wody morskiej odzyskują ruchliwość i zdolność zapładniania. Odwracalność paraliżu plemników wywołanego hipotonją stwierdził KONOPACKI ('14).

Tabela IV.

Odwracalność paraliżu plemników, powstającego w hiperttonji, po przeniesieniu ich do wody morskiej.

Reversibilité de la paralysie des spermatozoïdes, provoquée par l'hypertonie, dans l'eau de mer.

Skład roztworu <i>Composition de la solution</i>		Δ roztworu <i>de la solution</i>	Czas pozostawania plemników w hiperttonji <i>Durée de l'action du milieu hypertonique</i>	
Woda morska <i>Eau de mer</i>	NaCl 2.6 M			
%	%	°C	30'	120'
90	10	2.95	Plemniki odzyskują ruchliwość <i>Les spermatozoïdes reprennent leur mouvement</i>	Plemniki odzyskują ruchliwość <i>Sp. reprennent leur mouvement</i>
80	20	3.79		
75	25	4.20		
70	30	4.62		Plemniki pozostają bez ruchu <i>Spermatozoïdes immobiles</i>
60	40	5.46		
50	50	6.29		

W serji płynów o wzrastającym ciśnieniu osmotycznym (woda morska + NaCl 2.6 M) plemniki były umieszczone na $\frac{1}{2}$ godziny i na 2 godziny, poczem zostały przeniesione do wody morskiej.

Tabela IV wyjaśnia zachowanie się plemników, przeniesionych z powrotem do wody morskiej. Jaja zapłodnione spermą, która pozostawała przez 35' w wymienionych w tabeli roztworach hipertonicznych, rozwijają się, dochodząc do stadjum blastuli. Dalszy ich los nie był śledzony.

Przytoczone doświadczenia stwierdzają, że ruchliwość plemników i ich zdolność zapładniania zanika, jeśli ciśnienie osmo-

tyczne środowiska zwiększyć o blisko 40%. W tem też środowisku rozwój jaj nie dochodzi do skutku, aczkolwiek powstanie periwitelinu jest możliwe i przy wyższym ciśnieniu środowiska, jeśli zaplemnione jaja choć przez kilkanaście sekund pozostawały w wodzie morskiej, zanim je przeniesiono do hipertonicznej.

3. Objętość jaj¹⁾ i periwitelinu, tworzącego się w środowisku anizotonicznym.

Uwzględniając wyniki, omówione w rozdziale poprzednim przeprowadzono szereg doświadczeń, zmierzających do ustalenia zależności między objętością jaja i periwitelinu a ciśnieniem osmotycznym środowiska, w którym proces powstawania periwitelinu przebiega.

Tabela V.

Objętość jaja wraz z błoną, powstającą w hipertonicznej, wyrażona w jednostkach dowolnych. Objętość jaja w wodzie morskiej przyjęto za 100. *Volumes des oeufs entiers, dont la membrane se forme dans le milieu hypertonique. Volumes exprimés en unités relatives, celui des oeufs dans l'eau de mer étant pris égal à 100.*

Skład roztworu <i>Composition de la solution</i>		Δ roztworu <i>de la solution</i>	Objętość jaj po 15' dzia- łania hiper- tonji <i>Volume des oeufs après 15' de séjour dans l'hy- pertonie</i>	Stadium po 20 go- dzinach <i>Stade des oeufs après 20 heures</i>
Woda morska <i>Eau de mer</i>	NaCl 2.6 M			
%	%	%		
100	0	2.12	100	Blastule — <i>Blastule s</i>
90	10	2.95	90	Stadium kilkunastu niereg. blastomerów <i>Stade de quelques blastomères irrégu- liers</i>
85	15	3.37	86	} Cytoliza } <i>Cytolise</i>
80	20	3.79	76	
	Glukoza <i>Glucose</i> 2 M			
90	10	2.37	76	} Blastule } <i>Blastules</i>
80	20	2.63	69	
70	30	2.88	64	} Podziału nie było } <i>Il n'y avait pas de segmentation</i>
60	40	3.13	64	
50	50	3.38	54	
40	60	3.64	69	
30	70	3.89	65	

¹⁾ Celem uniknięcia niejasności zaznaczam, że nazwę jaja używam dla oznaczenia zespołu, obejmującego komórkę jajową, periwitelin i błonę zapłodnienia.

W tym celu jaja, zapłodnione w wodzie morskiej, były przenoszone do roztworów o różnym ciśnieniu osmotycznym w 10—20 sekund po zaplemnieniu. Średnice jaj obłonionych mierzone były po 15 minutach działania hipertoni.

Tabela V podaje nam objętości, osiągane przez jaja, których błony powstawały w środowiskach hipertonicznych, otrzymanych przez dodanie do wody morskiej NaCl o stężeniu 2.6 M lub glukozy o stężeniu 2 M.

I w jednym i drugim przypadku powstawały błony zapłodnienia oraz periwitelin we wszystkich użytych do doświadczeń roztworach. Jednakże objętość jaj, jak wskazuje tabela V, maleje w miarę wzrastania ciśnienia osmotycznego środowiska.

Aby wykluczyć możliwość specyficznego oddziaływania na przebieg omawianego zjawiska substancyj dodawanych do wody morskiej, przeprowadzono analogiczne doświadczenia w wodzie morskiej stężonej. Szereg stężeń przygotowany został w ten sposób, że do wody morskiej zwykłej dodawano wzrastające ilości wody morskiej blisko dwukrotnie stężonej ($\Delta = 4.0^\circ$) lub wody destylowanej.

Wyniki tego typu doświadczeń przedstawia tabela VI. I tutaj, jak i w poprzednich doświadczeniach, objętość jaj maleje w miarę wzrostu ciśnienia osmotycznego środowiska. Ponieważ jednocześnie maleje objętość komórki jajowej, przeto objętość periwitelinu nie ulega wybitniejszym zmianom, o ile stężenie środowiska nie przekracza pewnej granicy. Granicę tę stanowi stężenie wody morskiej, której Δ wynosi około 2.87° .

Już w środowisku, którego ciśnienie osmotyczne, wyrażone w obniżeniu punktu zamarzania, wynosi 3.06° , nie tylko objętość jaja ulega wybitniejszemu zmniejszeniu, ale i liczba jaj, które wytwarzają błonę, spada do kilkunastu zaledwie procentów. Objętość zaś periwitelinu zmniejsza się o blisko 30%. Nadto zaznaczyć należy, że w tem stężeniu komórka jajowa nie dzieli się.

Zanik bródkowania następuje przy tem samem mniej więcej ciśnieniu osmotycznym w środowiskach, przygotowanych przez dodanie do wody morskiej NaCl 2.6 M lub glukozy 2 M.

Granicznem stężeniem hipotonicznem, w którym błona już nie powstaje, jest woda morska 70% ($\Delta = 1.48^\circ$), w której jednak jaja dzielą się jeszcze w około 20% przypadków, dochodząc do stadium anormalnej blastuli. W wodzie morskiej 60% ($\Delta = 1.27^\circ$)

podział jaj występuje już tylko wyjątkowo (1%) i jaja w tem środowisku szybko ulegają cytolizie.

W ten sposób granice stężenia środowisk, w którym jajko jeżowca może wytworzyć periwitelin normalnej wielkości, leżą

Tabela VI.

Jaja przeniesione do środowisk anizotonicznych po 10 sek. od chwili zaplemnienia. Objętości, mierzone po 15', wyrażono w jednostkach dowolnych, przyjmując objętość całego jaja w wodzie morskiej = 100.

Oeufs mis dans les milieux anisotoniques 10' après l'insémination. Volumes, mesurés 15' plus tard, sont exprimés en unités relatives. Volume de l'oeuf entier (membrane de fécondation comprise) mis dans l'eau de mer est considéré comme égal à 100.

Skład roztworu <i>Composition de la solution</i>		Δ roz- tworu <i>de la solution</i>	Obję- tość jaj <i>Volume des oeufs</i>	Obję- tość ko- mórek jajo- wych <i>Volume des cellules ovulaires</i>	Obję- tość peri- witeli- nu <i>Volume de péri- vitellin</i>	Liczba jaj <i>Nombre d'oeufs</i>		Stadium rozwoju po 20 godz. <i>Stade du développement après 20 h.</i>
Woda morska <i>Eau de mer</i>	Woda de- stylowana <i>Eau distillée</i>					Obtonio- nych <i>Manis des membran.</i>	Brózdkują- cych <i>En segmentation</i>	
‰	‰	°C				‰	‰	
60	40	1.27				0	1	†
70	30	1.48	Błoniema <i>Pas de membran.</i>			0	18	} Blastule anormalne } Blastules anormales
80	20	1.70	114	64	50	28	60	
90	10	1.91	109	57	52	39	57	} Blastule normales } Blastules normales
100	0	2.12	100	55	45	96	98	
	Woda morska dwukrotnie stężona <i>Eau de mer concentrée 2 fois</i>							
90	10	2.31	98	50	48	99	99	} Blastule normales } Blastules normales
80	20	2.50	91	50	41	82	—	
70	30	2.68	91	47	44	61	} Brózdkują nieregul. } Segment. anormale	†
60	40	2.87	91	45	46	79		
50	50	3.06	73	43	30	15	—	
40	60	3.25	67			—		
30	70	3.44	69			—		
20	80	3.62	55			6		
10	90	3.81	56			—		
0	100	4.00	89	89 (cytoliza)				

między stężeniami, których Δ wynosi 1.48° do 3.06°. W obrębie zbliżonej skali stężeń ($\Delta=1.33$ do 2.63°), jak to stwierdził BIAŁA-SZEWICZ ('21), możliwy jest również rozwój wczesnych zarodków (4 blastomery), jednakże szybkość rozwoju maleje w miarę wzrostu różnicy między ciśnieniem wody morskiej a ciśnieniem badanego środowiska.

VLÈS i DRAGOIU ('21) znaleźli, że ciśnienie osmotyczne środowiska, w którym podział jaja zostaje zahamowany, wynosi 36 atmosfer.

Zachowanie się jaj, zapłodnionych w warunkach normalnych i przeniesionych do hipertonicznej w kilkanaście minut po powstaniu błony zapłodnienia, przedstawione jest w tabeli VII.

Tabela VII.

Objętość jaj zapłodnionych w wodzie morskiej, przeniesionych do hipertonicznej w 15' po wytworzeniu się periwitelinu. Rednice mierzone po 30 min. działania hipertonicznej. Objętości wyrażono w jednostkach dowolnych, przyjmując objętość jaja (wraz z błoną) w wodzie morskiej równą 100.

Volume des oeufs fécondés dans l'eau de mer et transférés dans la solution hypertonique 15 minutes après la formation du périwitellin. Les diamètres ont été mesurés après 30 min. de séjour des oeufs dans le milieu hypertonique. Les volumes sont exprimés en unités relatives; celui des oeufs entiers dans l'eau de mer étant pris égal à 100.

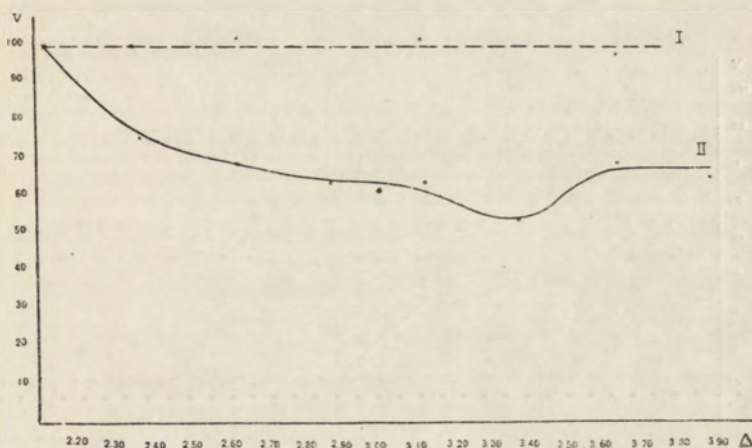
Skład roztworu Composition de la solution		Δ roztworu de la solu- tion	Obję- tość jaj Volume des oeufs	Skład roztworu Composition de la solution		Δ roztworu de la solu- tion	Obję- tość jaj Volume des oeufs	Obję- tość ko- mórek jajo- wych Volume des cellules ozu- laires
Woda morska Eau de mer	NaCl 2,6 M			Woda morska Eau de mer	Glukoza 2 M Glucose 2 M			
%	%	°C		%	%	°C		
100	0	2.12	100	100	0	2.12	100	58
90	10	2.95	100	90	10	2.37	100	58
80	20	3.79	94	80	20	2.63	102	52
70	30	4.62	98	70	30	2.88	98	48
60	40	5.46	96	60	40	3.13	102	48
50	50	6.29	98	50	50	3.38	—	42
40	60	7.12	102	40	60	3.64	98	38

Wskazuje nam ona, że objętość jaj, zgodnie ze spostrzeżeniami LOEBA i in., nie ulega zmianie w miarę zwiększania ciśnienia osmotycznego środowiska, natomiast objętość komórki jajowej maleje.

Wykres 1 daje nam porównanie objętości dwu omawianych kategorii jaj: krzywa I przedstawia objętości jaj, które wytworzyły błony zapłodnienia w warunkach normalnych i dopiero po 15' zostały przeniesione do hipertonicznej, krzywa II — przedstawia objętości jaj, przeniesionych do hipertonicznej w 10–15" po zaplemnieniu.

Wykres 2 ilustruje nam zachowanie się periwitelinu w powyższych dwu przypadkach: periwitelin, powstający w środowiskach o wzrastającym ciśnieniu osmotycznym (krzywa I), nie zmienia swej objętości, zaś periwitelin jaj, które po powstaniu błony zapłodnienia zostały przeniesione do hipertonicznej, zwiększa swą objętość w miarę wzrostu ciśnienia osmotycznego środowiska (krzywa II).

Reasumując powyższe wyniki, stwierdzamy, że periwitelin w zapłodnionych jajach jeźowców powstaje w środowiskach anizotonicznych, o ile Δ tych ostatnich nie przekracza granic 1.70° do 2.87° . W tych granicach ciśnienia osmotycznego objętość komórki jajowej oraz błony zapłodnienia zmniejsza się w miarę wzrostu ciśnienia, periwi-



Rys. 1. Krzywe objętości jaj zapłodnionych: I — objętość jaj, przeniesionych do hipertonii w 15 minut po wytworzeniu się periwitelinu; II — objętość jaj, przeniesionych do hipertonii w 10 — 15 sekund od chwili zaplemnienia.

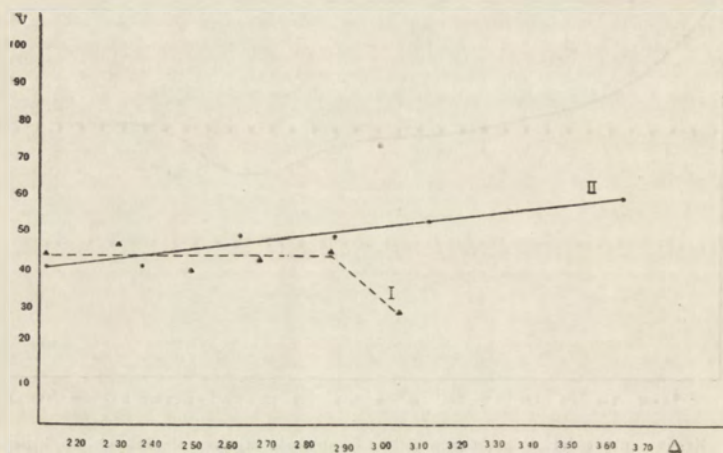
Fig. 1. Courbes des volumes des oeufs fécondés: I — volumes des oeufs transférés dans le milieu hypertonique 15 min. après la formation du périvitellin; II — volumes des oeufs transférés dans le milieu hypertonique 10 — 15 secondes après l'insémination, c. à d. avant la formation du périvitellin.

telin zaś zachowuje swą objętość niezależnie od ciśnienia panującego w środowisku. Stosunek objętości jaja i periwitelinu jest więc w tym przypadku zupełnie inny, niż w jajach, które wytworzyły periwitelin w warunkach normalnych i dopiero następnie zostały przeniesione do środowiska hipertonicznego. W tym ostatnim przypadku bowiem objętość jaja nie ulega zmianie, podczas gdy objętość periwitelinu wzrasta, a objętość komórki jajowej maleje w miarę wzrostu ciśnienia osmotycznego środowiska.

Aby zdać sobie sprawę z natury powyżej podanych faktów, należy zwrócić uwagę na to, że zwiększanie się objętości zapłod-

nionego jaja wskutek wytworzenia się periwitelinu może polegać tylko na pobieraniu przez jajko wody z zewnątrz.

Jeśli proces tworzenia się periwitelinu i błony zapłodnienia przebiega, jak to ma miejsce w przytoczonych doświadczeniach, w środowiskach hipertonicznych, to objętość jaja nie dochodzi do rozmiarów, jakie osiąga ona w wodzie morskiej. Świadczy to, że dopływ wody z zewnątrz maleje w miarę wzrostu ciśnienia osmotycznego środowiska. Jednocześnie jednak z powstawa-



Rys. 2. Krzywe objętości periwitelinu: I — objętość periwitelinu, powstającego w hipertencji (jaja zaplemnione w wodzie morskiej przenoszono po 10 sek. do hipertencji); II — objętość periwitelinu, wytworzonego w wodzie morskiej, po przeniesieniu jaj do hipertencji w 15 min. po powstaniu błon zapłodnienia.

Fig. 2. Courbes des volumes du périvitellin: I — volume du périvitellin se formant dans le milieu hypertonique (les oeufs inséminés dans l'eau normale étaient transférés 10 secondes plus tard dans le milieu hypertonique); II — volumes du périvitellin des oeufs qui ont été transférés dans le milieu hypertonique 15 minutes après la formation de la membrane de fécondation.

niem periwitelinu komórka jajowa pod wpływem hipertencji traci na objętości. W granicach stężeń środowiska, w których normalna reakcja jaja na zapłodnienie daje się jeszcze obserwować, objętość komórki jajowej zmniejsza się o tyleż prawie, co i objętość jaja całego.

Objętość periwitelinu, pozostająca w tych warunkach bez wybitniejszej zmiany, pozwala przypuszczać, że ilość wody dopływająca do periwitelinu jest w granicach wyżej wspomnianych stężeń wielkością stałą.

Jeśli więc w środowisku hipertonicznym komórka jajowa oddaje część swej wody do otaczającego periwitelinu, to dopływ wody, pobieranej z zewnątrz, zmniejszyć się musi o ilość wody pobranej z komórki jajowej.

W jajach, wytwarzających periwitelin w środowiskach hipotonicznych, przesunięcia wody odbywają się inaczej. Komórka jajowa, posiadając wyższe ciśnienie osmotyczne, niż środowisko, pobiera wodę i zwiększa swą objętość. Jednocześnie zaś i periwitelin pobiera wodę w ilościach nieco większych, niż to dzieje się w warunkach normalnych.

Zbytne rozcieńczenie, jak i zbytne stężenie wody morskiej narusza, zapewne, wzajemne ustosunkowanie się koloidów plazmatycznych, jak również ustosunkowanie się ich do składników cieczy międzycząstkowej, i hamuje proces sekrecji przez ooplazmę substancyj, będących podstawą tworzenia się periwitelinu.

Substancje te, zgodnie z poglądem FOLA ('77), HERBSTA ('92) i LOEBA ('08), muszą posiadać własności koloidów, ponieważ w przeciwnym razie przechodziłyby one przez przepuszczalną błonę zapłodnienia nazewnątrż i nie mogłyby powodować dopływu wody, stanowiącego istotę tworzenia się periwitelinu.

PÉTERFI ('27) przedstawia sprawę powstawania periwitelinu w sposób następujący. Zapłodnione jajko bezpośrednio po wniknięciu plemnika pęcznieje, pobierając wodę i w ciągu następnej minuty kurczy się raptownie, wskutek czego z plazmy komórkowej zostaje wyciśnięta ciecz, stanowiąca główny składnik tworzącego się periwitelinu. Wyciśnięta z ektoplazmy ciecz (Quellungswasser) ma posiadać, według PÉTERFIEGO, wyższe ciśnienie osmotyczne, niż woda morska, i dzięki temu następuje wtórny dopływ wody ze środowiska do tworzącego się periwitelinu.

Tłumaczenie powyższe oparte jest na przekonaniu, że ciśnienie osmotyczne jaj jeżowców jest wyższe, niż ciśnienie otaczającego środowiska. Wiadomem jest, że taki właśnie stosunek zachodzi w przypadku jaj zwierząt słodkowodnych. Jednakże dotychczas nie zostało stwierdzone, aby jaja jeżowców lub innych grup zwierząt morskich posiadały, podobnie jak jaja zwierząt słodkowodnych, wyższe ciśnienie osmotyczne, niż ciśnienie otaczającego środowiska.

Przeciwnie, na podstawie zmian objętości niezapłodnionych jaj jeżowców w różnych stężeniach wody morskiej możemy przypuszczać, że są one izotoniczne z wodą morską.

To też wydaje mi się słuszniejszym przyjąć, że głównym czynnikiem, regulującym dopływ wody do periwitelinu, jest wiązanie wody przez substancje koloidalne, wydalone przez komórkę jajową. Czynnikiem ten, jak się zdaje, wchodzi w grę również przy tworzeniu się periwitelinu w jajach zwierząt słodkowodnych (BOGUCKI '27).

Przeciwno osmozie, jako czynnikowi warunkującemu powstawanie periwitelinu, przemawiają wyniki prac JUSTA ('22) i BATAILLONA ('26), które miałem sposobność w zupełności potwierdzić, a według których niezaplodnione jaja jeżowców wytwarzają błonę zapłodnienia i periwitelin w środowiskach wybitnie hipertonicznych (76% wody morskiej + 24% NaCl 2.5 M).

Streszczenie wyników.

1°. Plemniki tracą natychmiastowo zdolność ruchu i zapłodnienia jaj w środowiskach, których Δ wynosi 2.88 — 2.95°.

2°. Paraliż plemników, występujący w hipertonji, jest zjawiskiem odwracalnym, jeśli działanie hipertonji nie jest zbyt długie.

3°. Objętość jaj, których periwitelin powstaje w środowiskach anizotonicznych, maleje w miarę wzrostu ciśnienia osmotycznego środowiska.

4°. Objętość periwitelinu, tworzącego się w środowiskach, których ciśnienie osmotyczne, wyrażone w obniżeniu punktu zamrzania, nie przekracza granic 1.70° — 2.87°, jak się zdaje, jest niezależna od stężenia środowiska.

5°. Autor wyraża przypuszczenie, że głównym czynnikiem, warunkującym tworzenie się periwitelinu, jest wiązanie wody przez substancje koloidalne, wydalone z komórki jajowej do przestrzeni periwitelinowej.

Praca niniejsza została wykonana dzięki zasiłkowi Wydziału Nauki Ministerstwa W. R. i O. P.

Piśmiennictwo.

Bataillon E. 1926. Le processus membranogène et le développement regulier provoqués chez les oeufs vierges d'Echinides par le seul traitement hypertonique. C. R. Acad. Sc. Paris. 182 (1508). Białaszewicz. K. 1921. Wpływ ciśnienia osmotycznego na szybkość rozwoju zarodków. Prace Insty-

tutu im. Nenckiego 1. [L'influence de la pression osmotique sur la vitesse du développement des embryons. Trav. de l'Institut Nencki. 1]. **Bogucki M.** 1927. Badania nad przepuszczalnością błon i ciśnieniem osmotycznym jaj ryb lososiowatych. Acta Biol. Exp. 2 (19). [Recherches sur la perméabilité des membranes et la pression osmotique des oeufs des Salmonides. Acta Biol. Exp. 2 (19)]. **Chambers R.** 1923. The mechanism of the entrance of sperm into the starfish egg. Journ. of Gen. Physiol. 5 (821). **Fol H.** 1877. Sur le commencement de l'hénogénie chez divers animaux. Arch. de Zool. Exp. 6 (145). **Herbst C.** 1893. Über die künstliche Hervorrufung von Dottermembranen an unbefruchteten Seeigeleiern nebst einigen Bemerkungen über die Dotterhautbildung überhaupt. Biol. Centrbl. 13 (14). **Hertwig O.** 1876. Beiträge zur Kenntniss der Bildung und Theilung der thierischen Eier. Morph. Jahrb. 1 (347). **Just E. E.** 1922. Effect of hypertonic seawater in producing membrane separation, cleavage and top-swimming plutei. Biol. Bull. 43 (384). **Just E. E.** 1929. Initiation of development in Arbacia. Protoplasma. 5 (97). **Konopacki M.** 1914. Wpływ płynów hypotonicznych na różne stadja rozwoju jeżowców. Rozpr. Ak. Um. Kraków. 56, ser. B (340). **Loeb J.** 1908. Über die osmotische Eigenschaften und die Entstehung der Befruchtungsmembran beim Seeigel. Arch. f. Entw. Mech. 26 (82). **Péterfi T.** 1927. Die Abhebung der Befruchtungsmembran bei Seeigeleiern. Arch. f. Entw. Mech. 112 (660). **Vlès F. et Dragoiu.** 1921. Sur la pression osmotique d'arrêt de la division cellulaire. C. R. Ac. Sc. Paris 172 (1127).

The first part of the paper is devoted to a general consideration of the subject, and to a discussion of the various theories which have been advanced to explain the phenomena observed. It is shown that the most satisfactory explanation is that which attributes the phenomena to the presence of a certain substance in the atmosphere, which is capable of absorbing the rays of light which are emitted by the sun. This substance is supposed to be a gas, and is called "aërial electricity." The author then proceeds to give a detailed account of the experiments which he has performed, and to show that the results of these experiments are in perfect agreement with the theory which he has advanced. He concludes by stating that the theory which he has advanced is the only one which is capable of explaining all the facts which have been observed.

ROMUALD MINKIEWICZ.

Les lois du polybolisme nerveux et la
définition physiologique des névroses
hystériques et psychasténiques.



EXTRAIT
DU RECUEIL DE TRAVAUX
OFFERT À
ÉDOUARD FLATAU

VARSOVIE
<http://rcin.org.pl>
1929



NEUMAN & TOMASZEWSKI
<http://rcin.org.pl>
ZAKŁADY GRAFICZNE WE WŁOCŁAWKU
ROK ZAŁOŻENIA 1868

LES LOIS DU POLYBOLISME NERVEUX ET LA DÉFINITION PHYSIOLOGIQUE DES NÉVROSES HYSTÉRIQUES ET PSYCHASTÉNIQUES.

Par

ROMUALD MINKIEWICZ.

„On ne s'étonne pas que le tout ne puisse être épuisé par la partie, mais les règles trouvées dans la partie permettront de conjecturer les règles du tout“.

Ernest Mach. La connaissance et l'erreur.

Introduction. Plus de dix ans se sont écoulés depuis que parut, grâce à l'intermédiaire obligeant de M. le dr. Edouard Flatau, mon livre sur le polybolisme du processus nerveux fondamental¹⁾, c'est-à-dire, sur l'excitabilité variable, plurivoque et, ce qui en découle, sur la conductibilité qualitative, variable et plurivoque elle aussi. Depuis lors je n'ai pas cessé de travailler au développement de ma théorie, à son approfondissement, à sa concrétisation et à son extension sur d'autres domaines biologiques qui, alors, ne furent pas pris en considération. Mais avant que ait lieu une nouvelle édition de mon livre (cette fois dans une langue accessible au monde scientifique tout entier), je me hâte de profiter de l'occasion attrayante du jubilé de l'éminent neurologue polonais, afin d'y présenter, dans un court et, par cela même, trop aphoristique résumé, les principes et les lois générales du polybolisme nerveux, avec une possibilité, qui s'en ouvre presque spontanément, de donner enfin une définition physiologique des névroses en général et aussi de chacun de deux grands groupes — celui de l'hystérie et celui de la psychasténie — séparément.

¹⁾ Mis sous presse en juillet 1914, paru en 1917, et en polonais seul. Les conditions pendant et après la guerre m'ont rendu impossible la publication du manuscrit français, vu les fortes dimensions de l'ouvrage, bien qu'il fut fait simultanément en 1914.

Première partie.

Les lois du polybolisme nerveux fondamental.

Principe général. Les qualités phénoménologiques qui se manifestent soit subjectivement — dans l'introspection, soit objectivement — dans le fonctionnement de l'organisme, ne sont pas déterminées seulement par la constitution spécifique des organes effecteurs, centraux (écorce cérébrale) ou périphériques (glandes, chromatophores, système musculaire), mais prennent naissance dans des éléments communs du système nerveux, comme modalités du processus de l'excitabilité fondamentale, plurivoque de par sa nature, c'est-à-dire, capable de donner des résultantes spécifiques multiples de son système dynamique, résultantes variables d'un instant à l'autre suivant les conditions ²⁾.

A. Les lois de l'autonomie primaire des différentes qualités d'excitation.

1. La loi de l'autobolisme différentiel (ou loi du chaos polybolique de repos). A l'état de repos, c'est-à-dire, de la plus parfaite isolation mésologique possible, sans intervention des excitants émanant du milieu ambiant (excepté, bien entendu, les fluctuations indéterminables du flux trophique) surgissent et disparaissent, dans un élément nerveux quelconque (initial ou central), des diverses excitations, tantôt d'une qualité, tantôt d'une autre, à potentiel très bas, surpassant à peine le seuil de l'excitabilité et de conductibilité (potentiel tonique).

2. La loi de l'explosion ou du spectre polybolique. Le caractère total de l'autobolisme différentiel ne se révèle, dans un élément nerveux donné, qu'au moment d'un très fort accroît du potentiel par l'intervention d'un excitant puissant. Le choc, immédiatement suivi d'une isolation mésologique, provoque le dévelo p-

²⁾ Ceci est, d'ailleurs, conforme aux théories physico-chimiques actuelles sur le processus du déséquilibre dans des systèmes complexes, et aux faits établis en photophysique et photochimie (changements de couleur multivoques des photochlorides, phototropies des fulgides, photolyse variable des hydrates de carbone, sensibilité plurivoque des corps phosphorescents etc). En même temps, ceci place le processus nerveux sur une plateforme commune avec le processus biochimique fondamental qui manifeste si puissamment son polybolisme d'une part, dans les potentialités métaplasiques et hétéroplasiques (au cours des régénérations, des transplantations, des restitutions postjeûnales, dans certaines néoplasmes), d'autre part, dans les surprenantes adaptations humorales (positives et négatives, immunisantes et anaphylactisantes) à d'innombrables variétés des antigènes albuminoïdes, adaptations pouvant se développer parallèlement et coexister les unes avec les autres.

pement automatique de toute une série succédanée des qualités d'excitation, qui se déroule dans une succession définie et constante (le spectre polybolique). Cette succession des diverses qualités d'excitation, dans un spectre polybolique, ne dépend que du facteur „temps“, c'est-à-dire, de la forme des courbes d'évolution de chaque qualité d'excitation (donc, des différences spécifiques des leurs temps de latence, d'ascension et de descente), jointe à un rythme spécifique des états actif et passifs (des phases et des pauses réfractaires). Il y faut ajouter un seuil d'excitabilité spécifique³⁾ pour chaque qualité d'excitation (probablement aussi une limite supérieure de l'endurance différentielle), et encore, ce qu'on doit et qu'on peut postuler, une vitesse de conductibilité différentielle, c'est-à-dire une chronaxie polybolique⁴⁾, opposée à la chronaxie fixe, constitutionnelle, de L. Lapicque.

3. La loi de la continuité qualitative de conduction. La conduction d'une qualité d'excitation une fois initiée, se poursuit à l'état invariable le long de tous les chaînons d'un arc réflexe (si l'on veut, d'une chaîne des neurones): d'un initial périphérique à un centre, d'un centre à un autre, de celui-ci à une terminaison nerveuse dans l'organe effecteur périphérique. Ceci n'est, évidemment, qu'une virtualité, qu'une potentialité idéale. (Quant à la potentialité réelle dans chaque cas particulier de conduction, ceci touche à la restriction de la loi de la continuité qualitative et sera traité plus loin).

4. La loi de la diffusion centrale d'une qualité d'excitation, initiée dans un récepteur ou dans un centre, sur toutes les voies nerveuses (si l'on veut, sur diverses chaînes des neurones contigües), ce qui donne une possibilité d'intégration qualitative momentanée de tout le système nerveux. Ceci n'est, encor une fois, qu'une virtualité et non pas une potentialité réelle constante.

³⁾ L'existence, dans un élément nerveux, des seuils d'excitabilité différents pour des diverses qualités d'excitation, se révèle dans la loi de conversion directe (loi de Thomsen), comme on le verra plus loin.

⁴⁾ Les variations de la valeur de la chronaxie, dans des divers états physiologiques et pathologiques d'un nerf, et ce qui me semble être plus important encor, la diffusion des changements, provoqués artificiellement, sur d'autres voies nerveuses par l'intermédiaire des centres, sont suffisamment établies par les travaux de Bourguignon (1923). De même, les études de M^{me} Marcelle Lapicque (1923) ont établi la haute dépendance de la chronaxie, de l'état actif des centres cérébraux.

B. Les lois de la dépendance extrinsèque du polybolisme.

a. dépendance de l'initiation:

5. La loi de la résonance variable avec le milieu (résonance polybolique mésogène). Un excitant spécifique (A) qui intervient à potentiel, ne surpassant pas la résistance limite de l'excitabilité différentielle d'un élément nerveux, établit d'un coup, d'entre toutes les qualités autoboliques possibles, le type d'excitation et de conduction qu'il coordonne avec lui homonymément et, *eo ipso*, polarise (monobolise) momentanément le processus nerveux dans ce type (a). Au moment suivant, un autre excitant, d'une qualité spécifique (B), provoquera une nouvelle résonance de l'excitation et de la conduction, du type qualitatif (b), c'est-à-dire, une nouvelle monobolisation (polarisation) du processus nerveux. Et ainsi de suite.

6. La loi du sassement mécanique des diverses catégories d'excitants extérieurs, à l'aide des différentes structures tissulaires des allonges anatomiques qui entourent et isolent les organes nerveux des sens. L'accès à un initial nerveux n'est donc permis qu'à une catégorie d'excitations privilégiée. Un initial ne peut, par conséquent, révéler son excitabilité polybolique que dans les limites des modalités qualitatives d'une seule catégorie d'excitants, celle qui y a privilège d'accès (catégorie dite adéquate ou élective).

b. dépendance de l'extériorisation:

7. La loi de la limitation constitutionnelle de la réalisation du polybolisme, les potentialités qualitatives du chaque effecteur particulier (muscle, glande, chromatophore etc.) étant limitées de par sa structure.

8. La loi de la compensation par transfert, au moyen d'une transmission d'une qualité d'excitation sur des effecteurs à potentialités polyboliques plus larges (par ex. d'un muscle sur une glande salivaire ou sur un chromatophore), conformément à la loi de la diffusion centrale (§ 4).

9. La loi de la systématisation variable des groupes d'organes effecteurs (p. ex. du système moteur) ou loi de la résonance éthologique (dans les tropismes, les habitudes, le „choix“). C'est une compensation de la limitation qualitative d'un effecteur particulier (un muscle p. ex), par un groupement central variable d'un nombre d'effecteurs analogues, suivant les différentes qualités d'excitation.

C. Les lois de la dépendance intrinsèque de la réalisation du polybolisme.

a. changements de plasticité polybolique:

10. La loi de la limitation fonctionnelle du polybolisme par habitude (loi de la stabilisation progressive par résonance); limitation, déterminée par une répétition prolongée d'un excitant de certaine qualité, qui monobolisait (polarisait) le processus nerveux dans la même résultante du système dynamique polybolique, laissant ainsi une trace spécifique toujours grandissante et qui empêchait de plus en plus une manifestation active des autres qualités d'excitation, c'est-à-dire, qui leur mettait une résistance croissante jusqu'à devenir pratiquement infranchissable, dans le cas limite. On pourrait exprimer cette loi d'une autre manière, comme une loi de la résistance différentielle (resp. du freinage différentiel) en fonction de l'usage et non-usage de la plasticité polybolique.

11. La loi de la restitution de la plasticité polybolique (loi de la labilisation):

aa, — labilisation au moyen de battre en brèche graduellement la résistance d'une habitude monobolique, par application durable d'un excitant spécifique de qualité différente, hétéronyme (loi de la labilisation par résonance);

bb, — labilisation au moyen d'augmenter le potentiel de l'excitabilité, par application des excitants inadéquats puissants, d'un choc émotionnel général ou de l'action des produits d'incrétion (loi de la labilisation énergétique ou loi de Pawlow généralisée);

cc, — labilisation au moyen des changements physicochimiques de l'organisme, par intoxication, par application des facteurs osmotiques etc., comme c'était le cas de mes expériences sur le chromotropisme chez les Lineus et les Pagures (loi de la labilisation physicochimique);

dd, — labilisation au moyen des changements naturels de l'organisme (probablement physicochimiques), dans certaines périodes critiques du développement, p. ex. celle de la puberté, de la métamorphose, de la mue et de son équivalent chez les femmes — la menstruation (loi de la labilisation métamorphotique).

12. La loi des changements irréversibles du polybolisme:

a a, — changements évolutifs du caractère et de l'étendue de la plasticité polybolique, liés aux métamorphoses de l'organisme dans les divers stades larvaires et imaginaires (phénomène du hétérobolisme métagénétique);

b b, — modifications regressives séniles, dépendant de l'abaissement du potentiel de l'excitabilité, ce qui détermine une prédominance des habitudes depuis longtemps acquises et des résistances centrales, sur la résonance actuelle et, par conséquent, sur la fixation et l'emmagasinement des traces nouvelles (loi du hypobolisme involutif);

c c, — insuffisances congénitales de l'étendue de la plasticité polybolique (phénomène du dysbolisme constitutionnel de différents types, comme p. ex. les diverses dischromatopsies, l'achromatopsie etc.);

d d, — modifications pathologiques, innées ou acquises, qui déterminent une trop grande mobilité de la plasticité polybolique, une instabilité de l'équilibre du processus nerveux exagérée, d'où viennent: une trop grande facilité de frayage et de diffusion d'une qualité d'excitation, un automatisme exagéré de la résonance, c'est-à-dire, des trop puissantes et trop englobantes polarisations (monobolisations); c'est la loi de l'hyperbolisme de la résonance;

e e, — perturbations stables, innées ou acquises, qui déterminent un abaissement du potentiel de l'excitabilité ce qui conduit à l'affaiblissement de la résonance, au manque de sa réalisation extérieure, au défaut de fixation et d'emmagasinement des traces des excitations nouvelles et, simultanément, à l'impossibilité de labilisation des habitudes anciennes, en un mot, au désaccord fatal entre la résonance et la résistance (loi de la dissonance hypobolique, expression inverse de la loi de Pawlow du § 11).

b. rencontre des excitations hétéronymes:

12. La loi de l'interférence polybolique des deux ou plusieurs excitations hétéronymes qui se rencontrent, à résultante dépendant du rapport de leurs potentiels et de leurs caractères qualitatifs. Cas special: l'interférence d'une qualité conduite, avec une résistance hétéronyme d'une habitude, ce qui peut donner, entre autres:

a a, — un freinage total, ou bien un drainage de l'excitation sur des voies nerveuses qui n'offrent pas de résistance appréciable;

b b, — une induction hétéronyme, dans le cas, où la qualité conduite serait impuissante de dominer la résistance spécifique, mais suffisante pour provoquer un choc qui amènerait l'élément résistant à une décharge spécifique habituelle: (le contraste y ferait un cas quelque peu différent, comme effet de rencontre d'une excitation actuelle mixte, avec une phase de refraction après l'excitation qui l'avait immédiatement précédée).

c. phénomènes de coïncidence:

1 4. La loi du symbolisme ou de la conversion:

a a, — conversion directe (mécanique) d'un excitant inadéquat en diverses qualités d'excitation, à relation constante de la qualité provoquée, à l'intensité de l'excitant; cette relation étant déterminée par les seuils d'excitabilité différentiels, c'est-à-dire, par les différences énergétiques de mobilisation d'une telle ou autre résultante du système polybolique¹⁾ (loi de Thomsen généralisée);

b b, — conversion d'association (ou de communication), qui se présente sous deux aspects se complétant, d'ailleurs, l'un l'autre:

d'une part (a a a): la substitution réciproque des excitations hétéronymes venant des sources différentes, dans la production d'un certain effet (central ou périphérique); cette substitution étant déterminée par une coïncidence fortuite des dites excitations, répétée au moment de la réalisation de l'une d'elles dans un organe effecteur; en d'autres mots: il s'y produit alors une généralisation d'une certaine réalisation qualitative sur des excitations hétéronymes, étrangères à cette réalisation et incapables à la provoquer, à elles seules. Au lieu des sources d'excitation isolées, y peuvent entrer en jeu des complexes de sources et de voies centripètes très étendus, ce qui déterminerait une substitution réciproque des vastes systèmes, originairement incommensurables et maintenant équivalents entre eux dans la réalisation d'un effet spécifique défini;

d'autre part (b b b): la substitution réciproque des effets de réalisation (centrale ou périphérique) hétéronymes, en réponse à une certaine qualité d'excitation; cette substitution étant déterminée par une coïncidence fortuite répétée des dits effets dont ce n'est qu'un

¹⁾ Ceci n'est point en désaccord avec la loi du sassement mécanique (§ 6) qui conduit nécessairement à l'habitualisation (sit venir verbo), à la limitation secondaire de l'étendue de la plasticité polybolique à une seule catégorie d'excitations privilégiées.

seul qui était directement provoqué par cette qualité d'excitation. En d'autres mots: il s'y produit alors une extension, une généralisation de la potentialité effective d'une excitation qualitative définie sur des réalisations hétéronymes, étrangères à cette excitation et qui, spontanément, ne peuvent être provoquées par elle seule. Au lieu d'effecteurs isolés, y peuvent entrer en jeu des complexes d'organes et de voies centrifuges, ce qui produirait une substitution réciproque des vastes systèmes, originellement incommensurables et maintenant équivalents entre eux dans leur réponse à une qualité d'excitation définie.

Dans ses deux expressions (celle de aaa et celle de bbb), la loi de la conversion associative est précisément une loi du symbolisme, au sens propre du mot, à savoir: une représentation réciproque des phénomènes hétéronymes, déterminée par une coïncidence de ces phénomènes.

Deuxième partie.

Essai d'une définition physiologique des névroses hystériques et psychasténiques.

Bien qu'il y ait plus de quarante ans que Axenfeld et Huchard ont démontré, avec une argumentation irréfutable, que l'ancienne définition anatomique des névroses, comme „des maladies sans lésion“, n'a aucune valeur nosologique, étant purement négative, néanmoins, elle s'est conservée dans la science médicale jusqu'à nos jours, il est vrai, sous une forme modernisée, plus réservée, à savoir: „maladies sans lésion organique appréciable par nos procédés actuels d'investigation“ (Raymond), ce qui ne change guère son caractère négatif et n'augmente nullement sa valeur scientifique.

D'autre part, les brillants résultats analytiques de l'école psychologique des neurologues (avec Breuer et Freud d'une part, et Pierre Janet de l'autre, à la tête) ont conduit à des définitions si belles, si subtiles et pénétrantes qu'elles contiennent dans l'ouvrage synthétique de P. Janet de 1914, mais, même celles-là ne peuvent nous satisfaire non plus, et pour des raisons méthodologiques analogues. C'est qu'elles sont purement psychologiques, un défaut dont P. Janet se rend bien compte, en recourant, à la fin de son livre, à une définition biologique, évolutive¹⁾ (à laquelle, hé-

¹⁾ Voici, en abrégé, cette définition biologique de P. Janet: „Les névroses sont des troubles ou des arrêts dans l'évolution des fonctions de l'organisme... caractérisées par une altération des parties supérieures de ces fonctions, dans leur adaptation au moment présent, sans détérioration de la fonction elle-même“. Or, je ne vois aucune

las! en ma qualité de biologiste, je ne puis adhérer!), ce qui, une fois de plus, n'est pas conforme aux exigences de la méthode.

La pensée médicale scientifique, dans le cas de névroses, tout comme dans celui de toutes autres maladies, doit être physiologique par excellence, et de même, une définition scientifique des névroses doit être physiologique avant tout.

Il y avait, à vrai dire, dans les anciennes définitions (même celle de Sandras) un élément physiologique, manifeste ou latent, qui disait qu'une névrose c'est toujours un „désordre fonctionnel du système nerveux“, mais cet élément physiologique n'y était que bien vague ne précisant point la nature de ce désordre et, par conséquent, ne nous disant rien du tout. C'est que, justement, la science physiologique n'offrait aucune approche à une définition de ce désordre fonctionnel plus précise, vu le défaut cardinal de la neurophysiologie qui, jusqu'en 1914, n'avait pas voulu prêter attention au côté qualitatif de l'excitabilité et de la conductibilité, c'est à-dire, à ce que j'avais nommé „le polybolisme du processus nerveux fondamental“.

Dans les formules des lois du polybolisme, contenues dans la première partie de cet essai (formules nécessairement trop aphoristiques à cause de l'exigüité de place qui m'y fut offerte), un neurologue non prévenu apercevra facilement ces points de départ, d'où la définition des névroses, surtout celle de l'hystérie (mais aussi celle de la psychasténie), semble se développer presque spontanément. Il n'y a là rien d'étonnant, ces formules étant basées sur des études biologiques expérimentales très étendues, portant sur les fonctions nerveuses chez les plus divers groupes d'organismes, en commençant par des vers et des crustacés et jusque chez l'homme inclusivement, sans quitter, toujours, le domaine des adaptations qualitatives¹⁾ soit tissulaires, histochimiques et histophysiques (synchromatisme, résonance conditionnelle des glandes salivaires, adaptations rétinienne), soit motrices, éthologiques (chromotropisme, instinct de déguisement, habitudes), soit, enfin — corticales, psychi-

possibilité à y adhérer, ni au point de vue biologique, l'adaptation au moment présent, aux conditions internes et externes actuelles, étant une fonction aussi ancienne que l'existence des organismes vivants et absolument inséparable de la notion de la vie; ni au point de vue physiologique, parce que, nous parlant des fonctions et non pas des processus, elle donne lieu à supposer que les processus nerveux n'y sont nullement altérés, ce qui ne correspond pas à la réalité, comme nous le verrons plus loin.

<http://rcin.org.pl>

¹⁾ C'est-à-dire, des phénomènes de la résonance polybolique, si l'on adopte notre terminologie et notre manière d'envisager les faits.

ques (images succédanées, contraste, mémoire). Or, ce qui constitue le fond biologique et l'essence des troubles névrotiques, c'est précisément le manque d'adaptation actuelle, la disparition de la faculté de s'adapter à la réalité changeante de la vie, comme l'ont, avec une argumentation irréfutable, démontré les pénétrantes analyses de Pierre Janet.

Si en est ainsi, le problème d'une interprétation physiologique des névroses se confinerà dans le domaine des manifestations de la résonance qualitative et de la plasticité polybolique du processus nerveux (c'est-à-dire, de l'excitabilité et de la conductibilité).

Si, conformément à cette idée, ayant gravé dans notre mémoire les lois du polybolisme, nous ferons une comparaison analytique détaillée des faits cliniques concernant l'hystérie, avec ceux de la psychasténie, en rangeant ces faits selon les catégories des fonctions (séparément, les troubles de la perception, sensoriels et cénesthésiques; séparément, ceux de la sphère motrice; séparément, ceux de la mémoire, de l'attention et de la volonté; enfin, ceux de l'intelligence et de la personnalité consciente), nous nous persuaderons de ce qu'aussi bien le fait surprenant du parallélisme des symptômes et stigmates hystériques avec ceux des psychasténiques, que ce autre fait des différences de nature constantes entre ceux-ci et ceux là, trouvent tous les deux une explication physiologique que voici: 1, l'hystérie et la psychasténie sont des maladies du processus nerveux fondamental concernant les éléments de l'écorce cérébrale, ou bref des perturbations du polybolisme cortical, 2, cependant, c'est un côté différent de ce processus, qui y est atteint dans chacune de ces maladies, notamment, dans l'hystérie, c'est l'accroissement, jusqu'à l'absurde, de la plasticité polybolique (non seulement corticale, mais aussi, probablement, souscorticale), avec tous ses attributs (voir plus haut les §§ 12dd et 14bb) qui est essentiel, tandis que dans la psychasténie, l'essentiel c'est l'abaissement du potentiel de l'excitabilité cortical (exclusivement corticale!) avec toutes ses conséquences dans le domaine de la plasticité et de la réalisation du polybolisme (voir plus haut, le § 12ee et les §§ précédents qui lui servent de base).

Ceci est suffisamment corroboré par la considération de moments étiologiques dans les deux groupes des maladies, relatifs au commencement ou à l'explosion des symptômes caractéristiques, à la réapparition des crises, à l'accroissement ou l'affaiblissement des troubles, et ensuite, par la considération des conditions de la disjon-

ction artificielle et de la disparition des symptômes, de l'amélioration momentanée ou durable de l'état de l'organisme. Surtout, quand nous comparerons ces moments étiologiques aux conditions de l'apparition des changements et des perturbations expérimentales du polybolisme nerveux, soit dans mes études sur les Vers et les Crustacés (perturbations par des agents osmotiques, chez les Lineus, labilisation totale lors de la mue, chez L'Hippolyte, oscillations rythmiques au cours de l'intoxication, chez les Pagures), soit dans celles de mes élèves sur les Batraciens (Françoise Gutglas faisant surmonter l'instinct au moyen d'une résonance, Salomé Biderman et Léonie Papierbuch faisant rompre les résistances d'une habitude contractée, par une nouvelle résonance, S. Razwilowska généralisant et différenciant une résonance), soit enfin, dans les derniers travaux de l'école de I. P. Pawlow sur des chiens (désaccord entre la résonance et la résistance, en conséquence des perturbations expérimentales du potentiel de l'excitabilité corticale).

A. L'hystérie.

Le moment étiologique général, c'est la labilisation de tout l'organisme, y compris le système nerveux, lors des périodes de puberté, de menstruation, de grossesse, d'accouchement avec l'irruption de la lactation, enfin dans certaines maladies infectieuses graves, ou bien la labilisation du système cortical tout seul par l'irruption soudaine d'une masse d'excitants puissants qui provoquent un choc formidable de l'encéphale et le labilisent totalement, grâce à l'accroissement du potentiel d'excitabilité jusqu'aux limites de son endurance.

L'explosion de la maladie est déterminée ordinairement par une coïncidence fatale de ces deux facteurs de labilisation: celui du puissant choc moral, surpassant la résistance nerveuse de l'individu et celui de telle ou telle période critique de la métamorphose. La réapparition des crises, des changements de personnalité, des fugues, des cauchemars de délire, des paralysies et des anesthésies, bref, de l'accroissement des symptômes en général, coïncide toujours avec un nouveau choc émotionnel (plus ou moins fort) ou bien, avec une labilisation périodique de menstruation, chez les femmes. Et c'est, précisément, ce fait-ci (et non pas d'autres faits quelconques!) qui est la cause de ce que les femmes soient un terrain de choix pour le développement de la névrose hystérique qui est une névrose de labilisation. L'organisme de femme passe toutes les quatre semaines, pendant 30 ans en moyenne (ce qui fait le total de 400

fois, au cours de la vie), par des périodes critiques de la mue menstruelle, comme toute mue véritable enveloppant l'organisme d'un puissant processus des perturbations hydrolytiques et osmotiques qui se répercutent dans toutes les catégories des fonctions vitales, ci-inclus les fonctions nerveuses, réflexes et corticales (D. v. Ott, Maitland Ramsay, L. Finkelstein, Icard et tant d'autres).

Et c'est comme ceci que deviennent compréhensibles les faits de la guérison spontanée de l'hystérie ou, du moins, d'une forte diminution des symptômes (comme suggestivité, hypnotisabilité, sensibilité anormale, etc.), à mesure du vieillissement de la femme, après la ménopause.

Un choc moral, survenant dans une période critique et n'étant, au point de vue physiologique, qu'un complexe défini des qualités d'excitation exogènes et endogènes à haut potentiel, produira nécessairement, dans un organisme originairement névrotique, une réalisation du polybolisme totale (centrale et périphérique), rompant toutes les résistances des autres complexes qualitatifs, se frayant passage partout, étendant sa résonance sur tous les groupes d'effecteurs possibles, polarisant dans son orbite tout ce qui peut être polarisé et isolant ainsi (jusqu'à la syncope) le système cortical du milieu ambiant, pour un temps suffisant à la fixation et à l'emménagement (incubation!) des traces durables, traces forcément homonymes aux qualités du complexe émotionnel et qui mettront ensuite une résistance infranchissable à toutes les qualités étrangères, hétéronymes, non-représentées dans le complexe.

Il s'y forme ainsi une espèce de néoplasme cortical, autonome et expansif comme tout néoplasme, et qui, par sa nature, n'est qu'une habitude spécifique puissante et compliquée, toute prête à réaliser, à chaque instant favorable, ses manifestations positives (décharges) et négatives (résistances, freinages) dans toute leur étendue ¹⁾.

J'ai pris un cas limite englobant l'organisme tout entier, les cas des néoplasmes hystériques moins puissants et moins étendus ne différant guère dans ce qui y est d'essentiel. La diversité et l'extension de la systématisation de la résonance c'est à-dire, la diversité et l'extention des paralysies, mutismes, anesthésies et dysesthésies, avec leurs concomitants positifs des convul-

¹⁾ Cette réalisation y est rendue possible et facile, par une labilisation simultanée des centres subcorticaux, probablement aussi des centres sympathiques et même de ceux de la moëlle épinière.

sions, spasmes, délires, idées fixes, hyperesthésies et algies, dépendra, dans chaque cas particulier, du caractère spécifique du complexe d'excitations émotionnelles, aussi bien que du degré et de l'étendue de labilisation du système nerveux. La systématisation fonctionnelle, conséquence d'un complexe défini des décharges et des freinages habituels (sit venia verbo!), n'est qu'un produit purement cortical. Les fonctions périphériques demeurent normales. Les fonctions corticales suspendues momentanément par un moyen quelconque, la sphère souscorticale, isolée ainsi de l'influence du complexe morbide, révèle aussitôt sa plasticité polybolique labilisée, en répondant automatiquement à tous les excitants externes (suggestivité hystérique!), tout comme mes Maja et mes Hyppolyte venant de muer. Mais, tant qu'un organisme, même le plus malade, demeure vivant, l'isolation mésologique ne peut être ni totale ni durable. En dehors des moments de syncope, une adiabasié, même relative, n'est pas réalisable. Les excitants venant du milieu ambiant y pénètrent par toutes les voies possibles (soit d'une manière naturelle, soit par intervention du médecin), attaquant le foyer du complexe cortical par des nouvelles qualités d'excitation, s'y faisant frayage, rompant et labilisant les chaînons moins résistants ou plus à la périphérie du complexe, diminue et limitant l'extention polarisatrice de ses décharges et de ses résistances. Mais, en raison de labilité constitutionnelle du processus nerveux, ceci donne lieu à toutes les conversions de substitution et de vicariat, à tous les transferts de compensation, aussi bien dans la sphère perceptuelle que dans la sphère motrice ou intellectuelle (voir les §§ 4, 9 et 14 bb). De même, ceci n'empêchera point les rechutes, les réapparitions des symptômes, dans des moments de l'accroissement du potentiel de l'excitabilité corticale (c'est-à-dire, des décharges), conformément au principe de la facilité de réapparition de ce qui déjà était dans l'habitude ou dans l'association

Les phénomènes du dédoublement ou de l'amorcellement de la personnalité, des existences multiples qui se manifestent par les changements brusques de caractère, de sensibilité, d'intelligence et de conduite (seraient-elles doubles, comme celles de Mary Reynolds de Mac-Nish, de Félicité d'Azam, de Marcelline de P. Janet, ou bien sextuples, comme celle de Louis Vivet de Legrand du Saulle), n'offrent à mon interprétation des difficultés plus grandes que ne le font les faits analogues, bien que moins compliqués, des multiples résonances chromatiques chez mes Maja et Hyppolyte, qui

se manifestent par les changements d'excitabilité chromatique, de coloration et de déguisement instinctif¹⁾.

Les douleurs caractéristiques qui accompagnent le passage d'une personnalité à une autre, avec le „coup à l'occiput", le bouleversement de toute l'émotivité, la syncope etc., nous rappellent l'excitation et les perturbations qui accompagnent la rupture d'une habitude ou d'un instinct chez mes animaux (Crustacées, Batraciens, etc.).

Un corollaire pratique.

Notre définition de l'hystérie détermine logiquement une nécessité et une possibilité de rechercher les remèdes plus radicaux et plus simples que ne le sont les méthodes psychoanalytiques (au sens large) actuelles. Il s'agit d'éliminer le facteur général de labilisation polybolique des centres corticaux. Dès le moment où l'on peut considérer comme établi le rapport de causalité entre les périodes de labilisation menstruelle de l'organisme féminin et les fonctions des ovaires (Pflüger, L. Fraenkel, et surtout L. Seitz et ses élèves), un remède se présente à l'esprit tout spontanément: c'est l'ovariotomie totale bilatérale, pratiquée à l'âge le plus bas possible, immédiatement après l'explosion de l'hystérie. Au point de vue de l'individu hystérique, l'opération en question ne déterminera pas l'amointrissement de sa vie ni de sa personnalité (celle-ci n'étant plus, chez les hystériques!), mais bien plutôt le contraire, malgré l'anéantissement de sa potentialité génératrice. Au point de vue social, l'opération serait d'un double bienfait: 1) pour l'avenir, vu l'hérédité fatale de la constitution névrotique, 2) pour le présent, si l'on réussissait à rendre à une vie utile ces milliers de femmes quasi-mortes qui ne sont actuellement que du terrible ballast.

B. La psychasténie.

Le moment étiologique général et suffisant, c'est l'abaissement du potentiel de l'excitabilité corticale (hypobolisme cortical), déterminé ordinairement par un grand épuisement après le surmenage de longue durée, accompagné d'émotions de la hâte, ou après les grandes fièvres (typho p. ex.), surtout quand cette intoxication de fatigue ou d'infection coïncide avec une intoxication alimentaire chronique (alcoolisme p. ex.).

Or, il est établi que l'abaissement du potentiel cortical, même après des fatigues passagères chez les individus normaux, détermine

¹⁾ C'est, précisément, cette analogie frappante qui m'a poussé, il y a quelques dix ans à m'occuper de l'analyse physiologique de l'hystérie.

une diminution de la précision et de la vitesse de la perception et de l'exécution, un manque de volonté, de pouvoir de se décider ou même de concentrer son attention sur quelque chose, des défauts d'évocation des souvenirs utiles, bref, une diminution de la faculté d'adaptation, c'est-à-dire, un affaiblissement de la résonance polybolique et, eo ipso, de sa réalisation dans des fonctions centrales et périphériques. Dans les organismes névrotiques, tarés, déséquilibrés, les fatigues de longue durée ou les intoxications chroniques mènent inévitablement à l'abaissement du potentiel cortical durable, à la névrose hypobolique avec toute la théorie de ses divers symptômes. Une telle ou autre formation des symptômes y est, dans chaque cas particulier, déterminée par les conditions mésologiques exogènes ou endogènes spécifiques, notamment: d'une part, par les défauts organiques individuels, même les plus insignifiants (cicatrices, croûtes, traces des maladies, malformations, insuffisances, hypertrophies professionnelles etc.), d'autre part, par les conditions du milieu social au sens large (profession, famille etc.).

Le complexe d'excitations spécifiques, provoquées constamment par ces facteurs extrinsèques (vie sociale) et intrinsèques (défauts), laissait, fixait et emmagasinait dans les centres corticaux ses traces de résonance, formant ainsi une systématisation des habitudes et des résistances définie. Au moment d'un abaissement durable du potentiel des processus corticaux, qui détermine l'impotence ou la faiblesse de réalisation du polybolisme, il s'y produit une discordance fondamentale entre le fonctionnement de l'écorce cérébrale figée dans de certains complexes qualitatifs habituels, et l'actualité variable du monde ambiant, agissant sur une périphérie nerveuse normale (ci-inclus les centres souscorticaux) et demandant sans cesse une réponse adaptative.

La faiblesse de la résonance corticale aux qualités d'excitation nouvelles venant de la périphérie, conduit, d'une part, à leur non-fixation dans la mémoire, à leur incapacité d'attirer l'attention, et d'autre part, à l'inexactitude, à l'indétermination des perceptions, à l'incommensurabilité des sensations avec l'excitant objectif, c'est-à-dire, à toutes sortes de dysgnosies, de désorientations, de désobjectivations, de dépersonnalisations, de sentiments de l'inconnu, de l'éloigné, du nouveau, de l'étrange, du bizarre (aussi bien par rapport aux objets de l'ambiance que par rapport aux parties et manifestations du propre corps), de pair avec les phobies, les angoisses etc. qui les accom-

pagent. La faiblesse des décharges corticales conduit au non-frayage des excitations qui naissent dans l'écorce, sur les centres souscorticaux, ou à une trop faible excitation de ceux-ci, c'est-à-dire, à l'impuissance ou à la faiblesse de la réalisation motrice, aux fonctions avortées, aux „caricatures d'actes“ (comme Charcot appelait les tics), à la non-exécution des impulsions toujours renaissantes, — tout ceci accompagné des phobies, des inquiétudes, des doutes, du manque de confiance en ses propres forces, de la dépression et de l'aboulie

La faiblesse et l'inexactitude de la résonance centrale aux excitations exogènes, rend impossible, bien entendu, leur réalisation automatique dans une résonance totale de l'organisme (d'où, entre autres, la non-hypnotisabilité des psychasténiques). En même temps, le bas potentiel de l'excitabilité corticale détermine un manque des facteurs de la bilisation, c'est-à-dire, l'impossibilité de rompre les habitudes anciennes, les anciennes inhibitions et résistances; d'où, d'une part, le routinisme, la rumination incessante des mêmes états émotionnels et intellectuels, tournant fatalement dans un cercle enchanté des qualités d'excitation du complexe morbide qui représente un emmagasinement des traces le plus important et continuellement renforcé; d'autre part, le manque de prévalence des décharges d'une qualité d'excitation sur celles des autres qualités, c'est-à-dire, l'impotence égale des toutes, leur heurtement aux résistances de tous côtés, leur rejettement d'un terme à un autre, ce qui donne des hésitations continues, un doute désespéré, une manie oscillatoire (quelque chose comme une espèce de chaos autobolique d'isolation intracortical, voir le § 1).

(NB. Dans tous ces faits, semble jouer un certain rôle la diminution de la vitesse des processus corticaux liée à l'abaissement du potentiel, et cela aussi bien dans l'établissement d'une qualité d'excitation, c'est-à-dire, dans l'évolution de sa courbe spécifique, que dans la valeur de la chronaxie de la conductibilité intracorticale, à ce qu'on pourrait conclure des certaines indications de P. Janet et postuler d'après les données expérimentales de G. Bourguignon et de M-me Lapicque).

* Beaucoup d'entre les symptômes psychasténiques trouvent leurs analogies frappantes dans les oscillations rythmiques lors des changements du chromatropisme chez les Pagures intoxiqués systématiquement par les produits de leur excréation dans, les agitations des Batraciens tirant leur langue sur tous les objets de l'ambiance, dans

la période de rupture d'une habitude établie auparavant; sans parler des chiens de P a w l o w surmenés par les dures exigences d'une différenciation des résonances et des résistances. L'étiologie de ces troubles est, on le voit, toute pareille à celle des troubles psychasténiques.

La justesse de notre conception de la nature physiologique de la psychasténie est confirmée par les conditions de son amélioration ou de sa guérison. Ces conditions ne renferment qu'une restitution momentanée ou durable du potentiel de l'excitabilité corticale, soit au moyen d'un repos complet de longue durée (c'est-à-dire, par élimination des effets de l'intoxication de fatigue, resp. ceux des autres agents d'intoxication), soit à l'aide des nouvelles sources d'excitations puissantes, fournies par un changement de milieu radical, soit, enfin, par les influences morales, avec détournement de l'attention du malade du complexe invétéré d'excitations morbides, ce qui permet à d'autres qualités d'excitation se faire frayage, en rompant les résistances du dit complexe.

De la même manière, un repos de plusieurs mois, donné à un chien névrosé artificiellement, restitue peu à peu sa résonance polybolique. C'est ainsi encor, qu'une élimination des sources d'intoxication chez mes Pagures élimine les perturbations oscillatoires de leur tropisme.

Un corollaire pratique.

Notre conception physiologique de la névrose psychasténique nous conduit logiquement, je le crois au moins, à une méthode de traitement plus radicale que ne le sont celles d'aujourd'hui, à savoir: faire augmenter le potentiel cortical, soit indirectement, par un renforcement des fonctions des certaines glandes endocrines (surtout de la thyroïde), soit directement, par une introduction humorale des facteurs agissant sur l'excitabilité des centres, à l'aide des implantations à la S t e i n a c h - W o r o n o w (pas nécessairement du testicule, mais, probablement, aussi des autres organes parenchymateux!). Cette dernière méthode, d'une efficacité plus que douteuse quand il s'agit de traiter une involution sénile qui change trop profondément la constitution de l'organisme tout entier, pourrait être suffisante, ceci me semble, dans le traitement de la psychasténie, puisque une augmentation temporaire du potentiel de l'excitabilité corticale durant quelques semaines (ce qui, assurément,

y a lieu) permettra de labiliser les habitudes et les résistances spécifiques du complexe morbide et de restituer la résonance polybolique normale.

(Travail du Laboratoire de Biologie Générale
à l'Institut N e n c k i, à Varsovie)

BIBLIOGRAPHIE.

1. Biederman Salomé. 1927. Le sens et la mémoire des formes d'un objet, chez les Anoures. (L'expérience optique des Batraciens, II-e mémoire.) Trav. Institut. Nencki Varsovie, t. 4, Nr. 56.
2. Bourguignon G. 1923. La chronaxie chez l'homme. Paris.
3. Gutglas Françoise. 1928. Le sens et la mémoire des couleurs chez les Anoures. (L'expérience optique des Batraciens, V-e mémoire). Trav. Institut. Nencki, Varsovie (sous presse).
4. Janet Pierre. 1904. Névroses et idées fixes, t. I.
5. Janet Pierre et Raymond. 1908. Névroses et idées fixes, t. II.
6. Janet Pierre. 1914. Les névroses. Paris.
7. Jikharew S. S. 1896. La menstruation (en russe). St. Pétersbourg.
8. Kreps E. M. 1925. Sur l'influence de la durée de la remise d'un excitant conditionnel sur l'excitation des grands hémisphères. Arch. des Sc. Biolog. Moscou t. 25 № 4-5.
9. Lapique M. M-me. 1923. Action des centres encéphaliques sur la chronaxie des nerfs moteurs. C. R. Soc. de Biolog. t. 88 Nr 1.
10. Minkiewicz R. 1906. Sur le chromatropisme et son inversion artificielle (chez le Lineus) C. R. Ac. Sc. Paris t. 143 Nr 21 et 23.
11. Minkiewicz R. 1907. Analyse expérimentale de l'instinct de déguisement chez les Brachyures. Arch. Zool. Expér. t. 7 (sér 4).
12. Minkiewicz R. 1908. Etude expérimentale du synchronatisme de Hippolyte varians. Bull. Internat. Acad. Cracovie.
13. Minkiewicz R. 1908. L'apparition rythmique et les stades de passage de l'inversion expérimentale du chlorotropisme des Pagures. C. R. Ac. Sc. Paris t. 147 Nr. 24.
14. Minkiewicz R. 1909. Versuch einer Analyse des Instinkts nach objektiver, vergleichender und experimenteller Methode. Zool. Jahrbüch. Bd. 28, H. 2.
15. Minkiewicz R. 1909. Induction successive des images colorées après une très forte excitation de la rétine. C. R. Ac. Sc. Paris t. 148 Nr. 3.
16. Minkiewicz R. 1914-17. Les bases expérimentales et théoriques d'une conception nouvelle des phénomènes nerveux (Théorie du polybolisme nerveux fondamental). En polonais. Varsovie.
17. Minkiewicz R. 1927. Potentialité autochromatique de l'œil humain. (Chromatentopie autogène, endogène et exogène). I-e partie: Au seuil de la perceptibilité. Trav. de l'Institut Nencki, Varsovie t. 4 Nr. 61.
18. Minkiewicz R. 1917. L'expérience optique des Batraciens. I. Introduction générale. Trav. Institut. Nencki. Varsovie, t. 4, Nr. 55.
19. Ott D. von. Gesetz der Polybolie der physiologischen Funktionen im weiblichen Organismus. X internat. Kongress in Berlin (3-te Sektion). Separat.

20. Papierbuch Léonie. 1928. Le sens et la mémoire des directions d'un objet chez les Anoures. (L'expérience optique des Batraciens, IV-e mémoire) Trav. Instit. Nencki, Varsovie (sous presse).
21. Pawlow I. P. 1924. Nouveaux progrès de l'étude objective des fonctions nerveuses supérieures chez les animaux. Bull. de l'Institut Lesshaft. Leningrad t. 8 (en russe).
22. Pawlow I. P. 1926. Die Beziehungen zwischen Erregung u. Hemmung, die Auseinanderhaltung von Erregung u. Hemmung sowie experimentelle Neurosem an Hunden. Skandin. Arch. f. Physiol. Bd 47 H. 1—2.
23. Petrowa M. K. 1925. Le traitement des névroses expérimentales des chiens Arch. des Sc. Biolog. Moscou t. 25 fasc. 1—3.
24. Piéron H. 1922. Des lois du déséquilibre chromatique initial etc. dans l'excitation lumineuse de la rétine. C. R. Soc. de Biol. t. 8, Nr. 16.
25. RoCHAT G. F. 1922. Etude quantitative du fusionnement binoculaire des couleurs complémentaires. Arch. Neerland. de physiol. t. 7.
26. Razwilowska Salomé. 1927. Le sens et la mémoire des dimensions d'un objet chez les Anoures. (L'expérience optique des Batraciens, III-e mémoire.) Trav. Instit. Nencki. Varsovie, t. 4, Nr. 60.
27. Thomsen E. 1918. Purkinjies entoptische Phänomene. Skandinav. Arch. f. Physiol. Bd 37 H. 1—3.
28. Trendelenburg W. 1913. Versuche über binoculare Mischung von Spektralfarben. Zeitschr. f. Sinnesphysiol. Bd 48, H. 3.

(Remarque. Je ne cite que les travaux qui m'ont fourni des arguments immédiatement nécessaires).

ROMUALD MINKIEWICZ.

PRAWA POLIBOLIZMU NERWOWEGO A DEFINICJA FIZJOLOGICZNA NEUROZ HISTERYCZNYCH I PSYCHASTENICZNYCH.

(streszczenie)

Dziesięć lat pracy od chwili ogłoszenia książki mej o procesach nerwowych doprowadziło mię do możności ujęcia zjawisk polibolizmu w pewną liczbę praw. Prawa te rozbijam na trzy grupy, mianowicie:

A. Prawa niezależności pierwotnej różnych jakości pobudzeniowych: 1, prawo spoczynkowego bezładu polibolicznego, 2, prawo wybuchu widma polibolicznego, 3, prawo ciągłości jakościowej przewodnictwa i 4, prawo rozlewności ośrodkowej danej jakości pobudzeniowej.

B. Prawa uzależnień zewnętrznych polibolizmu:

a) zależności zapoczątkowania: 5, prawo rezonansu albo zmiennego zestroju ze środowiskiem 6, prawo elektywności mechanicznej; b) zależności uzewewnętrzniania obwodowego: 7, prawo ograniczenia konstytucyjnego realizacji polibolizmu, 8, prawo kompensaty przerzutowej tego ograniczenia, 9, prawo zmiennej systematyzacji narządów wykonawczych (rezonans etologiczny).

C. Prawa uzależnień wewnętrznych realizacji polibolizmu: 10, prawo nałogowego ograniczania plastyczności polibolicznej (stabilizacji rezonansowej), 11, prawo przywracania plastyczności (labilizacji), 12, prawo nieodwracalnych zmian polibolizmu (m. i. zmniejszenia potencjału lub też wzmożenia plastyczności), 13, prawo interferencji pobudzeń różno jakościowych i 14, prawo symbolizmu albo konwersji mechanicznej i konwersji asocjacyjnej.

Z praw tych wysnuwa się możliwość zdefiniowania istoty fizjologicznej schorzeń neurotycznych. Neurozy — to trwałe zaburzenia podstawowych procesów korowych: pobudliwości i przewodnictwa, przytem, histerja jest neurozą labilizacyjną, o wzmożonej do absurdu plastyczności polibolicznej korowej i podkorowej, ze wszystkimi tego atrybutami w zakresie realizacji ośrodkowej i obwodowej, — psychastenja zaś jest neurozą hipoboliczną, o obniżonym potencjale korowym z jego konsekwencjami: słabością rezonansu i wylądowań, brakiem labilizacji oraz rozdźwiękiem między rezonansem aktualnym a oporami nałogowego zespołu.

Wykwit praktyczny definicji: nakaz leczenia histerji (u kobiet) drogą owarjotomji obustronnej całkowitej, psychastencji — drogą wszczepiania gruczołów inkrecyjnych metodą Steinach - Woronow.

[Prace Instytutu im. Nenckiego. № 71 *].

Wl. Niemierko.

Wpływ pracy na zawartość tłuszczów w mięśniu żaby.

Einfluss der Muskeltätigkeit auf den Fettgehalt des Froschmuskels.

Rękopis nadesłany w dniu 25. I. 1929 r.

Es scheint keinem Zweifel zu unterliegen, dass die Fette, als Energiequelle, eine bedeutende Rolle im tierischen Organismus spielen; leider sind unsere Kenntnisse von der Art und Weise der Beteiligung der Fette an der Muskeltätigkeit immer noch sehr unvollkommen.

So bleibt, z. B., noch nicht entschieden die Frage, ob Fette im Organismus erst nach Umwandlung in Kohlehydrate, oder unmittelbar oxydiert sein können; ferner wissen wir auch nicht, ob eine Oxydation der Fette im Muskelgewebe stattfinden kann.

Die Litteraturangaben über die Rolle der Fette in den sich im Muskel vollziehenden chemischen Vorgängen sind spärlich und die veröffentlichten Resultate der Untersuchungen einander widersprechend.

LAFON ('12) spricht, z. B., von einer Verminderung der Fettmenge in einem gereizten Kaninchenmuskel. PALAZZOLO ('13) findet in den isolierten, gereizten Frosch-Gastrocnemien kleinere Fettmengen, als in den nicht gereizten; dagegen WIENFIELD ('15) konnte nie eine Verminderung der Fettmenge nach der Reizung isolierter Froschmuskeln nachweisen; und CUTHBERTSON ('25) fand in den *in situ* gereizten Muskeln einer Katze dieselben Fettmengen, wie in den nicht gereizten.

Der Verfasser hat sich vorgenommen, den Anteil der Fette bei der Muskelarbeit nocheinmal zu prüfen und die bisjetzt existierenden Widersprüche zwischen den Resultaten der Untersu-

*) Z Zakładu Fizjologii Instytutu im. Nenckiego.

chungen womöglich aufzuklären. Er hat seine Untersuchungen an Froschmuskeln (Gastrocnemien) ausgeführt.

Zunächst beschreibt der Verfasser die von ihm angewandte, zur Fettbestimmung dienende Methode; dieselbe bestand in der Vereinigung der Extractionsmethode von KUMAGAWA-SUTO mit der Oxydationsmethode BANG's. Mit Hilfe dieser Methode konnte der Verfasser die Fettmengen in den einzelnen Frosch-Gastrocnemien bequem bestimmen (Tab. I, II, III). Der Fettgehalt der symmetrischen Gastrocnemien in einem und demselben Frosche wurde als sehr ähnlich gefunden (Tab. IV, V); dagegen, die individuellen Unterschiede im Fettgehalte erwiesen sich bei verschiedenen Fröschen als sehr bedeutend. (Tab. IV, V). Der durchschnittliche Fettgehalt in den Muskeln beträgt bei den Herbstfröschen 0.74%; während des Winterhungerns nimmt er allmählich ab und sinkt im Juni bis auf 0.30% nieder (Tab. VI).

Die mechanische Zerstörung des Muskelgewebes (Tab. VII), sowie auch die Wärmestarre (Tab. VIII) scheinen keinen Einfluss auf den Fettgehalt des Muskels auszuüben.

Nach einer erschöpfender Reizung der glykogenreichen isolierten Muskeln der Herbstfrösche blieb der Fettgehalt unverändert (Tab. IX); aber, nach einer erschöpfender Reizung der glykogenarmen isolierten Gastrocnemien der im Herbst gefangenen und bis Frühjahr im Laboratorium gehungerten Frösche fand der Verfasser — in einer Hälfte der Versuche — eine Verminderung des Fettgehaltes, die 12% bis 31% betrug (Tab. X).

Dasselbe Resultat erhielt der Verfasser bei der Reizung der Gastrocnemien *in situ*. Die Versuche waren bis zu einer weitgehender Muskeln-Erschöpfung geführt. Die Muskeln verloren während dieser Versuche 60 bis 94% ihres Glykogengehaltes. Der Fettgehalt der Muskeln blieb in der einen Hälfte der Versuche unverändert, in der anderen aber konnte der Verfasser eine Abnahme des Fettgehaltes erweisen, die 12% bis 26% ausmachte (Tab. XI).

Der Verfasser deutet die Resultate seiner Versuche in dem Sinne, dass der Froschmuskel in erster Linie die leichter oxydierbaren Kohlehydrate verbrenne und Fette erst beim Fehlen derselben oxydiere.

Die erwähnten Widersprüche zwischen den Resultaten der Untersuchungen PALAZZOLO's ('13) und WIENFIELD's ('15) versucht

der Verfasser einstweilen auf die Weise zu erklären, dass die in den genannten Untersuchungen in Rede kommenden Muskeln, wahrscheinlich, bis zu einem verschiedenen Erschöpfungsgrade gereizt würden.

Nie ulega wątpliwości, że tłuszcze jako źródło energii mają w organizmie bardzo doniosłe znaczenie. Większość badań, przeprowadzonych nad wymianą gazową całego organizmu, przemawia za tem, że udział tłuszczów w pracy jest dość znaczny. Aczkolwiek według niektórych autorów (BENEDICT i CATHCART '13; HILL '24; FURUSAWA, HILL, LONG i LUPTON '25) praca odbywa się przeważnie kosztem węglowodanów, tłuszcze natomiast biorą udział bądź tylko w pracy bardzo napiętej, bądź też głównie w procesach wypoczynkowych, mamy jednak szereg badań (ANDERSON i LUSK '17, HENDERSON i HOWARD '25, RAPPORT i RALL '28), z których wynika, że głównym źródłem energii w pracy są tłuszcze; organizm, znajdujący się w stanie głodu lub też otrzymujący pokarm obfity w tłuszcze, pracuje niemal wyłącznie kosztem tych ostatnich.

Jeżelibyśmy jednak chcieli postawić pytanie co do mechanizmu udziału tłuszczów w pracy, nie byłibyśmy w stanie odpowiedzieć na to nic konkretnego. Dotychczas jeszcze nie jest rozstrzygnięty stary spór szkoły CHAUVEAU i szkoły ZUNTZA o to, czy tłuszcze, dostarczając energii, powinny ulec poprzednio przekształceniu na węglowodany, czy też mogą spalać się bezpośrednio, przechodząc przez sobie właściwe stany przemian cząsteczkowych. Nie wiemy również, czy spalanie tłuszczów może się odbywać wewnątrz samego mięśnia.

Prac, dotyczących udziału tłuszczów w procesach chemicznych, odbywających się w mięśniach, istnieje bardzo niewiele, wyniki zaś odnośnych badań są rozbieżne.

W r. 1912 LAFON stwierdził zmniejszenie się ilości tłuszczów w drażnionym mięśni królika, w porównaniu z mięśniem spożywającym. Zmniejszenie to było bardzo znaczne, wynosiło bowiem około 40% początkowej ich zawartości. W r. 1913 PALAZZOLO ogłosił pracę nad zachowaniem się tłuszczów w drażnionych izolowanych mięśniach żaby. Średnie zawartości tłuszczów w mięśniach drażnionych były niższe (20 — 25%), niż w mięśniach kontrolnych. WIENFIELDOWI ('15) natomiast, który badania swoje przeprowadzał również na izolowanych mięśniach żaby, nie udało się w żadnym doświadczeniu stwierdzić zmniejszenia się ilości tłuszczów po pracy. Mamy wreszcie pracę CUTHBERTSOHNA ('25), który drażniąc mięśnie kota *in situ*, w żadnym z czterech przeprowadzonych doświadczeń nie stwierdził różnicy w ilości tłuszczów w mięśniach drażnionych w porównaniu z mięśniami kontrolnymi.

Praca niniejsza została podjęta w celu ponownego zbadania zachowania się tłuszczów w mięśniach drażnionych i wyjaśnienia rozbieżności wyników w badaniach dotychczasowych.

Jako materiał do doświadczeń wybrane zostały żaby głównie ze względu na to, że obiekt ten tak wielostronnie badany był pod względem przemiany węglowodanowej, w latach zaś ostatnich — również z punktu widzenia przemiany azotowej.

W celu uzyskania bardziej przejrzystych wyników, przeprowadzono doświadczenia na mięśniach pojedynczych, masowe bowiem doświadczenia, jakie znajdujemy w powyżej cytowanych pracach PALAZZOLO i WIENFIELDA, zawsze są połączone z szeregiem niejasności.

I. Metodyka.

Do doświadczeń służyły mięśnie łydkowe (*m. gastrocnemius*) żab wodnych (*Rana esculenta*). Wszystkie doświadczenia przeprowadzone były na żabach, zebranych w październiku. Do chwili rozpoczęcia doświadczenia żaby przebywały w piwnicy.

Przy oznaczaniu tłuszczów posługiwałem się metodą KUMAGAWA-SUTO, przy której stosowaniu można było w tej samej próbie oznaczać również i glikogen. Ze względu na małe ilości tłuszczów, znajdujących w pojedynczych mięśniach żaby, metoda uległa pewnym zmianom, z których najważniejszą było spalanie otrzymanywanych kwasów tłuszczowych według BANGA ('18), stosowane zamiast oznaczenia wagowego, to ostatnie bowiem

wobec ilości kwasów tłuszczowych, nie przekraczających kilku miligramów, przedstawiało znaczne trudności ¹⁾).

Analizy wykonywano w sposób następujący:

Mięśnie wrzucano do probówek z gorącym 60% ługiem potasowym (1 cm³ ługu — na 1 g mięśnia). Po dwugodzinnym ogrzewaniu na łaźni wodnej, hydrolizat rozcieńczano równą objętością wody i przelewano do małego rozdzielacza. Ciecz tę zakwaszono 3 cm³ stężonego kwasu solnego i wyklócano z 10 cm³ eteru etylowego. Po zlaniu kwaśnego roztworu wodnego i roztworu eterowego, osad pozostały na granicy roztworów rozpusz-

Tabela I.

Spalanie czystego kwasu oleinowego według metody Banga w obecności 2 cm³ n/1 K₂Cr₂O₇ i 10 cm³ stężonego H₂SO₄.

Verbrennung der reinen Oleinsäure nach Bang bei Einwirkung von 2 cm³ n/1 K₂Cr₂O₇ u. 10 cm³ konz. H₂SO₄.

№ kolejny analizy	Ilość kwasu oleinowego wzięta do analizy	Zużyta ilość n/1 K ₂ Cr ₂ O ₇	Obliczona ilość n/10 K ₂ Cr ₂ O ₇ na 1 mg kwasu oleinowego
№ der Analyse	<i>Menge der gebrauchten Oleinsäure</i>	<i>Verbrauchte Menge n/1 K₂Cr₂O₇</i>	<i>Berechnete Menge n/10 K₂Cr₂O₇ auf 1 mg der Oleinsäure</i>
	mg	cm ³	cm ³
1	2.14	0.495	2.31
2	2.14	0.51	2.38
3	2.14	0.48	2.24
4	4.28	0.97	2.27
5	4.28	1.00	2.34
6	4.28	0.975	2.28
7	5.36	1.20	2.24
8	5.36	1.26	2.35
9	5.36	1.27	2.37
10	6.43	1.51	2.35
11	6.43	1.47	2.29
Przeciętnie:			2.32
<i>Durchschnittlich:</i>			

czano w 1 cm³ n/1 KOH, dolewano 10 cm³ eteru i zakwaszano, wlewając do rozdzielacza odłuszczonej poprzednio hydrolizat. Jeszcze raz wyklócano i łączono razem obydwa roztwory eterowe. Po odparowaniu eteru pozostałość rozpuszczano w 10 cm³ eteru absolutnego, sączono przez azbest, znów odparowywano eter i suszono przez kilka godzin w suszarce próżniowej, w temperaturze 40°. Po rozpuszczeniu pozostałości stałej w 10 cm³ eteru naftowego (punkt wrzenia około 40°) i przesączeniu przez azbest, w otrzymanym roztworze oznaczano kwasy tłuszczowe według BANGA ('18), używając ze względu na większe ilości substancji zamiast 1/10 normalnego

¹⁾ Metoda KUMAGAWA-SUTO, w połączeniu z metodą BANGA w zastosowaniu do mikro-analizy po raz pierwszy została opracowana przez WASILEWSKĄ ('23). Nasz sposób postępowania nieco się od powyższego różni.

roztworu dwuchromianu potasu — roztworu jednonormalnego. We wszystkich oznaczeniach brano 2 cm³ n/1 K₂Cr₂O₇ i 10 cm³ stężonego H₂SO₄.

Jak wykazuje tabela I, spalanie kilkumiligramowych ilości kwasu oleinowego (od 2.14 do 6.42 mg) daje w powyższych warunkach stosunkowo niewielkie odchylenia. Średni współczynnik spalania (ilość cm³ n/10 K₂Cr₂O₇, zużytych na 1 mg substancji) wynosi 2.32.

W celu ustalenia wielkości współczynnika spalania kwasów tłuszczowych, znajdujących się w mięśniach żaby, shydrolizowano kilkadziesiąt gramów mięśni i z otrzymanych według KUMAGAWA-SUTO kwasów tłuszczowych przygotowano roztwór benzolowy. Spalając próbki tego roztworu, można było z ilości zużytego dwuchromianu obliczyć współczynnik spalania.

Tabela II.

Spalanie otrzymanych z mięśni żaby kwasów tłuszczowych w obecności 2 cm³ n/1 K₂Cr₂O₇ i 10 cm³ stężonego H₂SO₄.
(Oznaczanie współczynnika spalania).

*Verbrennung der aus Froschmuskeln erhaltenen Fettsäuren bei Einwirkung von 2 cm³ n/1 K₂Cr₂O₇ u. 10 cm³ konz. H₂SO₄.
(Bestimmung des Verbrennungskoeffizienten).*

№ kolejny analizy <i>№ der Analyse</i>	Ilość kwasów tłuszczowych wzięta do analizy <i>Menge der gebrauchten Fettsäuren</i> mg	Zużyta ilość n/1 K ₂ Cr ₂ O ₇ <i>Verbrauchte Menge n/1 K₂Cr₂O₇</i> cm ³	Obliczona ilość n/10 K ₂ Cr ₂ O ₇ na 1 mg kwasów tłuszczowych <i>Berechnete Menge n/10 K₂Cr₂O₇ auf 1 mg der Fettsäuren</i> cm ³
1	1.55	0.363	2.34
2	1.55	0.363	2.34
3	1.55	0.352	2.27
4	3.01	0.694	2.30
5	3.01	0.683	2.27
6	3.01	0.730	2.42
7	4.66	1.072	2.30
8	4.66	1.056	2.27
9	2.81	0.663	2.36
10	2.81	0.663	2.36
11	2.81	0.673	2.39
12	4.21	0.983	2.33
13	4.21	0.983	2.33
14	4.21	0.973	2.31
		Przeciętnie: <i>Durchschnitt:</i>	2.33

Rezultaty tych spalań podane są w tabeli II. Widzimy, że średni współczynnik spalania kwasów tłuszczowych z mięśni żaby wynosi 2.33, tyle więc mniej więcej, co i dla kwasu oleinowego.

W celu sprawdzenia dokładności metody, brano próbki roztworu benzolowego, który służył do oznaczania współczynnika spalań, i przeprowadzano zawarte w nich kwasy tłuszczowe przez wszystkie czynności, stosowane w czasie wyodrębniania ich z tkanki mięśniowej (ogrzewanie z lu-

giem, zakwaszenie, ekstrahowanie i t. d.). Po ostatecznym spalaniu dwuchromianem uzyskano wyniki, podane w tabeli III.

Tabela III.

Sprawdzanie dokładności ekstrahowania i spalania kwasów tłuszczowych.

Prüfung der Genauigkeit beim Extrahieren u. Verbrennen der Fettsäuren.

№ kolejny analizy № der Analyse	Ilość kwasów tłuszczowych wzięta do analizy <i>Menge der ge- brauchten Fett- säuren</i>	Z n a l e z i o n o <i>G e f u n d e n</i>	
		mg	‰
1	1.55	1.49	95
2	1.55	1.58	102
3	3.11	3.36	108
4	3.11	3.29	106
5	3.11	3.29	106
6	4.66	4.87	105
7	4.66	4.60	99
8	4.66	5.00	107
		Przeciętnie: <i>Durchschnitt:</i>	103.5

Do oznaczenia glikogenu stosowałem metodę PRZYŁĘCKIEGO (18). W przypadku jednoczesnego oznaczania w mięśniach glikogenu i kwasów tłuszczowych, te ostatnie ekstrahowałem z alkoholowego roztworu ługu, pozostałego po strąceniu i oddzieleniu glikogenu.

Otrzymywaną z glikogenu glukozę oznaczałem według HAGEDORNA i JENSENA (23). Glikogen podawałem wszędzie w ilościach glukozy.

II. Zawartość kwasów tłuszczowych w mięśniach normalnych.

Przystępując do badania udziału tłuszczów w przemianach mięśniowych i chcąc badania te przeprowadzić na pojedynczych mięśniach, musiałem przede wszystkim ustalić, czy mięśnie symetryczne zawierają jednakowe ilości tłuszczów. Przeprowadzone analizy prawych i lewych mięśni łydkowych żaby dały następujące rezultaty (tabela IV i V).

Największa różnica w zawartości kwasów tłuszczowych pomiędzy mięśniami symetrycznymi dochodzi do 11% (tabela IV, analiza № 11), średnio zaś wynosi około 4%.

Jeżeli różnice te porównamy z wahaniami, jakie otrzymaliśmy w analizach, mających na celu ustalenie wielkości błędu, związanego z wyodrębnianiem tłuszczów (tabela III), to przekonamy się, że są one mniej więcej tej samej wielkości.

Wnioskujemy więc, że symetryczne mięśnie łydkowe żaby zawierają prawie jednakowe ilości procentowe kwasów tłuszczowych.

Widzimy natomiast, że jednakowe mięśnie różnych osobników zawierać mogą nieraz bardzo różne ilości kwasów tłuszczowych. Mięśnie żab, analizowanych w tym samym nawet okre-

Tabela IV.

Zawartość kwasów tłuszczowych w symetrycznych mięśniach łydkowych żaby. (Analizy wykonane na żabach jesiennych świeżo złowionych).

Fettgehalt in den symmetrischen Gastrocnemien des Frosches. (Versuchsobject: frisch gefangene Herbstfrösche).

№ analizy der Analyse	Data Datum	Ciężar mięśnia Gewicht		Znaleziona ilość kwasów tłuszczowych w mięśniu Gefundene Menge der Fettsäuren		Zawartość względna kwasów tłuszczowych w mięśniu Prozentgehalt der Fettsäuren		
		prawego d. rechten Muskels	lewego 'd. linken Muskels	prawym im rechten Muskel	lewym im linken Muskel	a prawym im rechten Muskel	b lewym im linken Muskel	$\frac{b-a}{a} \cdot 100$ wzgl. różn. Relative Differenz
		g	g	mg	mg	%	%	
1	1.X	0.430	0.415	6.8	7.0	1.58	1.69	+ 6
2	1.X	1.030	1.058	8.5	8.2	0.83	0.78	- 6
3	7.X	0.780	0.770	8.9	8.1	1.14	1.06	- 8
4	7.X	0.885	0.850	5.8	5.1	0.66	0.60	- 9
5	11.X	0.790	0.845	6.2	6.8	0.79	0.81	+ 3
6	11.X	0.742	0.755	5.0	5.1	0.67	0.67	0
7	15.X	0.644	0.595	3.4	3.2	0.53	0.54	+ 2
8	15.X	0.862	0.838	5.1	4.8	0.59	0.57	- 3
9	24.X	1.020	1.000	7.4	7.6	0.73	0.76	+ 5
10	24.X	0.635	0.570	3.6	3.2	0.57	0.56	- 2
11	3.XI	0.554	0.610	4.9	4.7	0.88	0.79	-11
12	9.XI	0.560	0.537	2.9	2.8	0.52	0.52	0
13	9.XI	0.722	0.720	4.7	5.2	0.65	0.72	+ 9
14	15.XI	0.524	0.510	4.0	4.0	0.76	0.79	+ 4
15	15.XI	0.920	0.930	3.8	4.1	0.42	0.44	+ 5
16	19.XI	0.865	0.852	6.2	5.9	0.72	0.69	- 4
17	19.XI	0.826	0.841	3.9	4.1	0.47	0.49	+ 4
Przeciętnie: Durchschnitt:						0.737	0.734	- 0.4

sie roku, zawierają procentowe ilości tłuszczów, które różnią się pomiędzy sobą parokrotnie. Tak, na przykład, widzimy (tabela IV), że największa procentowa zawartość kwasów tłuszczowych w okresie październik-listopad wynosi 1.69% (analiza № 1), najmniejsza zaś 0.44% (analiza № 15).

Wnioskujemy więc, że indywidualne różnice w procentowej zawartości kwasów tłuszczowych pomiędzy różnymi żabami są bardzo znaczne.

Tabela V.

Zawartość kwasów tłuszczowych w symetrycznych mięśniach łydkowych żaby. (Analizy wykonano na żabach, które przezimowały w piwnicy).

Fettgehalt in den symmetrischen Gastrocnemien des Frosches. (Versuchsobject: im Herbst gefangene u. bis Frühjahr im Laboratorium gehungerte Frösche).

№ analizy der Analyse	Data Datum	Ciężar mięśnia Gewicht		Znaleziona ilość kwasów tłuszczowych w mięśniu Gefundene Menge der Fettsäuren		Zawartość względna kwasów tłuszczowych w mięśniu Prozentgehalt der Fettsäuren		
		prawego d. rechten Muskels	lewego d. linken Muskels	prawym im rechten Muskel	lewym im linken Muskel	a prawym im rechten Muskel	b lewym im linken Muskel	$\frac{b-a}{a} \cdot 100$ względna różnica Relative Differenz
		g	g	mg	mg	%	%	%
1	11.V	1.000	1.010	3.78	3.82	0.378	0.380	0
2	11.V	0.800	0.800	3.05	2.95	0.381	0.368	- 3
3	19.V	0.690	0.680	2.78	2.71	0.403	0.396	- 2
4	19.V	0.800	0.800	3.46	3.50	0.433	0.438	+ 1
5	24.V	0.670	0.660	2.78	2.66	0.415	0.403	- 2
6	24.V	0.750	0.760	2.46	2.41	0.328	0.317	- 3
7	6.VI	0.504	0.522	1.98	2.05	0.393	0.393	0
8	6.VI	0.581	0.610	2.00	2.05	0.344	0.338	- 2
9	20.VI	0.630	0.630	1.39	1.45	0.221	0.230	+ 4
10	20.VI	0.400	0.385	1.00	1.05	0.250	0.273	+ 9
Przeciętnie: Durchschnitt:.						0.355	0.354	0.3

Tabela VI.

Procentowa zawartość kwasów tłuszczowych w mięśniach łydkowych żaby podczas głodu zimowego.

Prozentgehalt an Fettsäuren in den Gastrocnemien der hungernden Frösche.

Żaby świeżo złowione Frisch gefangene Frösche	Ż a b y g ł o d z o n e H u n g e r n d e F r ö s c h e						
	Październik. Listo- pad October. November	Styczeń Januar	Luty Februar	Marzec März	Kwiecień April	Maj Mai	Czerwiec Juni
1.58	0.63	0.71	0.65	0.46	0.38	0.39	
0.83	0.37	0.73	0.68	0.52	0.38	0.34	
1.14	0.43	0.46	0.58	0.46	0.40	0.22	
0.66	0.60	0.16	0.57	—	0.43	0.25	
0.79	0.62	0.55	0.58	—	0.42	—	
0.67	0.48	0.40	0.50	—	0.33	—	
0.53	0.87	0.51	0.57	—	—	—	
0.59	—	0.62	0.60	—	—	—	
0.73	—	0.62	0.37	—	—	—	
0.57	—	0.63	0.45	—	—	—	
0.88	—	0.65	0.31	—	—	—	
0.52	—	0.43	—	—	—	—	
0.65	—	0.39	—	—	—	—	
0.76	—	0.56	—	—	—	—	
0.42	—	0.55	—	—	—	—	
0.72	—	0.64	—	—	—	—	
0.47	—	—	—	—	—	—	
Przeciętnie: Durchschnitt:.	0.74	0.57	0.54	0.53	0.48	0.39	0.30

Procentowe zawartości kwasów tłuszczowych w mięśniach świeżo zebranych żab jesiennych (tabela IV) są większe, niż w mięśniach żab, które przezimowały w pracowni i przez cały czas znajdowały się w stanie głodu (tabela V).

Spadek procentowej zawartości kwasów tłuszczowych podczas okresu zimowego, w którym zwierzęta przechowywane w piwnicy (w temperaturze 5° do 10°) nie pobierały pokarmu, podany jest w tabeli VI.

Widzimy, że mięśnie łydkowe żaby zawierają na jesieni średnio 0.74% kwasów tłuszczowych; ilość ta podczas głodu zimowego spada równomiernie i dochodzi w czerwcu do 0.30%.

III. Uszkodzenie struktury mięśnia.

Wiadomo, że uszkodzenie struktury mięśnia powoduje rozkład węglowodanów i tworzenie się kwasu mlekowego (FLETCHER i HOPKINS '06), jak również rozkład ciał azotowych i powstawa-

Tabela VII.

Zawartość kwasów tłuszczowych w mięśniach rozartych. (Doświadczenia wykonano na żabach świeżo złowionych).

Fettsäuren-Gehalt in zerriebenen Gastrocnemien. (Versuchsmaterial: frisch gefangene Sommerfrösche).

№ doświadczenia d. Versuchs	Data Datum	Ciężar mięśni Gewicht		Znaleziona ilość kwasów tłuszczow. w mięśniach Gefundene Menge der Fettsäuren		Zawartość względna kwasów tłuszczowych w mięśniach Prozentgehalt der Fettsäuren		
		kontrol- nych Kontroll- Muskeln	wziętych do roztarcia zum Zerrei- ben bestim- mie Muskeln	kontrol- nych Kontroll- Muskeln	rozartych zerriebene Muskeln	a kontrol- nych Kontroll- Muskeln	b rozartych zerriebene Muskeln	$\frac{b-a}{a} \cdot 100$ względna różnica Relative Differenz
		g	g	mg	mg	%	%	%
1 ¹⁾	26.V	5.86	5.85	31.3	31.5	0.534	0.538	+ 0.7
2 ²⁾	29.V	4.88	5.04	24.4	26.7	0.500	0.530	+ 6.0
Przeciętnie: Durchschnitt:						0.517	0.534	+ 3.4

¹⁾ Mięśnie z 6 żab.

²⁾ Mięśnie z 6 żab.

Uwaga: Kwasy tłuszczowe oznaczono wagowo.

nie amonjaku (PARNAS '28, CHRZĄSZCZEWSKI i MOZOŁOWSKI '28). Znajdujemy więc tu te same procesy chemiczne, jakie odbywają się w mięśniu podczas pracy. Wydawało się wobec tego ciekawym zbadanie, czy roztarcie mięśni na miazgę powoduje również zmiany w ilości zawartych w nich tłuszczów.

Jak widać z tabeli VII, badania te dały wynik ujemny. Mięśnie roztarte zawierały bowiem takie same procentowe ilości kwasów tłuszczowych, co mięśnie nieuszkodzone (symetryczne).

IV. Tężec ciepły mięśnia.

Doświadczenia nad wpływem tężca ciepłego na zawartość kwasów tłuszczowych w mięśniach żaby wykonane były w sposób następujący. Mięśnie po odpreparowaniu i zważeniu zanurzone były w roztworze RINGERA i ogrzewane do 38 — 40°. Przez cały czas trwania doświadczenia roztwór był obficie zaopatrywany w tlen. Tężec następował po 2 — 3 godzinach. Mięśnie kontrolne natychmiast po odpreparowaniu i zważeniu były wrzucane do gorącego roztworu ługu potasowego i analizowane po skończonym doświadczeniu jednocześnie z mięśniami doświadczalnymi.

Tabela VIII.

Zawartość kwasów tłuszczowych w mięśniach łydkowych żaby, wprowadzonych w stan tężca ciepłego.

Gehalt an Fettsäuren in den in Wärmestarre gebrachten Gastrocnemien des Frosches.

№ d. Versuchs	Data Datum	Ciężar mięśni Gewicht		Znaleziona ilość kwasów tłuszczow. w mięśniach Gefundene Menge der Fettsäuren		Zawartość względna kwasów tłuszczowych w mięśniach Prozentgehalt der Fettsäuren		
		kontrolnych Kontroll-Muskeln	wprowadzonych w stan tężca in Starre gebrachte Muskeln	kontrolnych Kontroll-Muskeln	stężałych in Starre gebrachte Muskeln	a	b	$\frac{b-a}{a} \cdot 100$ względna różnica Relative Differenz
						kontrolnych Kontroll-Muskeln	stężałych in Starre gebrachte Muskeln	
		g	g	mg	mg	%	%	%
1	10.I	0.72	0.75	6.2	6.4	0.87	0.86	— 1.3
2	25.I	1.18	1.09	7.4	6.6	0.63	0.61	— 3
3	10.II	0.60	0.62	4.2	4.3	0.71	0.69	— 3
4	20.II	0.82	0.83	6.0	6.0	0.73	0.72	— 1.5
5 ¹⁾	22.II	5.52	5.63	26.6	27.8	0.48	0.49	+ 2
6 ²⁾	27.II	4.48	4.52	25.0	25.6	0.56	0.57	+ 2
Przeciętnie: Durchschnitt:						0.663	0.659	— 0.7

¹⁾ Mięśnie z 8 żab. Kwasy tłuszczowe oznaczono wagowo.

²⁾ Mięśnie z 7 żab. „ „ „ „ „ „

Widzimy z liczb tabeli VIII, w której podane są wyniki tych badań, że tężec ciepły nie wywiera żadnego wpływu na zawartość kwasów tłuszczowych w mięśniach żaby.

V. Mięśnie w stanie pracy.

W badaniach nad udziałem tłuszczów w pracy mięśniowej przeprowadziłem dwa typy doświadczeń. W pierwszym typie były drażnione mięśnie izolowane, w drugim natomiast — mięśnie *in situ*, t. j. znajdujące się w organizmie o nienaruszonym krwio-biegu. Drażnienia odbywały się zapomocą podniet pojedynczych. Dla mięśni izolowanych podniety dawane były co 9 sek., w przy-padku zaś drażnienia mięśni *in situ* — co 5 sek. Skurcze mięśni notowane były na walcu kimografu. W miarę męczenia się mięśnia zwiększano siłę podniet w tym celu, aby mięśnie przez cały czas trwania doświadczenia kurczyły się maksymalnie. Wszystkie doświadczenia trwały do całkowitego wyczerpania mięśnia; innemi słowy, doświadczenie przerywano wówczas, gdy mięsień na naj-silniejsze podniety reagował już ledwie widocznymi skurczami. Czas trwania doświadczeń wahał się od 20 do 92 godzin. Mięśnie kontrolne zaraz po odpreparowaniu i zważeniu były wrzucane do gorącego ługu potasowego i analizowane jednocześnie z mię-śniami doświadczalnymi.

a) Mięśnie izolowane.

Mięśnie drażnione umieszczane były w roztworze RINGERA z obfitym dopływem tlenu. Naczynie, w którym znajdował się mięsień, jak również cała aparatura i sposób drażnienia były te same, jakie stosował i szczegółowo opisał w pracy swojej WOJTCZAK ('24). Roztwór RINGERA, celem usuwania produktów prze-miany, był podczas doświadczenia kilkakrotnie zmieniany. Skurcze odbywały się izometrycznie, drażnienie było bezpośrednie.

Wykonane zostały dwie serje doświadczeń: jedna w okresie czasu październik-grudzień na żabach świeżo złowionych, druga w okresie marzec-kwiecień na żabach, które przezimowały w pracowni.

W tabeli IX przytoczone są dane analiz z pierwszej serji. Widzimy, że tylko w jednym doświadczeniu (№ 10) mamy zmniej-szenie się po pracy ilości kwasów tłuszczowych o 13% w porów-naniu z mięśniem kontrolnym. Jeżeli zwrócimy uwagę na doświad-czenia № 7 i 9, w których drażnione mięśnie zawierają o 10 i 14.5%

T a b e l a I X.

Zachowanie się kwasów tłuszczowych i glikogenu w izolowanych mięśniach litykowych zaby, drażnionych prądem indukcyjnym.
(Doświadczenia wykonano na ząbach jesiennych świeżo złowionych).

Fettsäuren- u. Glykogen-Gehalt in den geritzten, isolierten Frosch-Gastrocnemien.
(Versuchsmaterial: Herbstfrösche).

№ d. dośw. d. Versuchs	Data	Czas trwania doświadczenia t Versuchs-Dauer	Liczba skurczów Zahl d. Zuckungen	Ciężar mięśnia Gewicht		Znaleziona ilość Gefundene Menge						Zawartość względna Prozentgehalt					
				kontrol- nego Kontroll- Muskel	drażnio- nego Geritzter Muskel	kwasów tłuszczowych Fettsäuren		glikogenu Glykogen		kwasów tłuszczowych Fettsäuren		glikogenu Glykogen		względna różnica Relative Differenz			
				g	g	w mięśniu kontrolnym Kontroll- Muskel	w mięśniu drażnionym Geritzter Muskel	w mięśniu kontrolnym Kontroll- Muskel	w mięśniu drażnionym Geritzter Muskel	a w mięśniu kontrolnym Kontroll- Muskel	b w mięśniu drażnionym Geritzter Muskel	a, w mięśniu kontrolnym Kontroll- Muskel	b, w mięśniu drażnionym Geritzter Muskel	$\frac{b-a}{a} \cdot 100$ kwasy tłuszczowe Fettsäuren	$\frac{b-a}{a} \cdot 100$ glikogen Glykogen	%	%
1	4.X	52	20,800	0,87	0,93	3,99	4,08	5,68	2,55	0,459	0,439	0,557	0,272	- 4,5	- 51		
2	4.X	52	20,800	1,02	1,03	5,86	6,14	13,50	8,85	0,574	0,596	1,35	0,781	+ 4	- 14		
3	17.X	42	16,800	0,68	0,68	2,74	2,83	—	—	0,403	0,416	—	—	+ 3,2	—		
4	17.X	42	16,800	0,65	0,69	4,45	4,87	—	—	0,685	0,707	—	—	+ 3,4	—		
5	20.X	40	16,800	0,96	0,96	6,83	6,65	8,40	7,50	0,715	0,696	0,881	0,785	+ 2,8	- 12		
6	3.XI	42	16,800	0,72	0,75	3,40	3,40	—	—	0,472	0,453	—	—	- 3,8	—		
7	3.XI	42	16,800	1,19	1,25	6,21	7,28	—	—	0,522	0,582	—	—	+ 10	—		
8	10.XI	45	18,000	1,11	1,14	4,71	4,71	12,95	8,75	0,434	0,413	1,17	0,77	+ 2,8	- 34		
9	14.XI	50	20,000	0,62	0,69	3,63	4,70	—	—	0,586	0,681	—	—	+ 14,5	—		
10	18.XI	54	21,600	0,53	0,52	3,10	2,64	8,58	5,08	0,582	0,506	1,62	0,97	+ 13	- 40		
11	22.XI	38	15,200	1,13	1,13	4,20	4,30	—	—	0,372	0,381	—	—	+ 2,4	—		
12	2.XII	40	16,000	0,99	1,00	4,30	4,45	—	—	0,434	0,455	—	—	+ 3,5	—		
										Przeciętnie: Durchschnittl.:		0,519		0,526		+ 1,4	

więcej kwasów tłuszczowych niż kontrolne, będziemy skłonni uważać wszystkie te trzy różnice za indywidualne odchylenia. (Spotykaliśmy się nieraz z podobnymi odchyleniami, badając zawartość kwasów tłuszczowych w normalnych mięśniach symetrycznych). Reszta doświadczeń z tabeli IX nie wykazuje wahań, które przekraczałyby błędy doświadczenia; średnie procentowe zawartości kwasów tłuszczowych w mięśniach drażnionych i kontrolnych różnią się zaledwie o 1.2%.

Tabela X.

Zachowanie się kwasów tłuszczowych w izolowanych mięśniach łydkowych żaby drażnionych prądem indukcyjnym. (Doświadczenia wykonano na żabach, które przezimowały w piwnicy). *Fettsäuren-Gehalt in den gereizten, isolierten Frosch-Gastrocnemien. (Versuchsmaterial: im Herbst gefangene u. bis Frühjahr im Laboratorium gehungerte Frösche).*

doświadczenia № d. Versuchs	Data Datum	Czas trwania doświadczenia Versuchs-Dauer h	Liczba skurczów Zahl d. Zuckungen	Ciężar mięśnia Gewicht		Znaleziona ilość kwasów tłuszczowych w mięśniu Gefundene Menge d. Fettsäuren		Zawartość względna kwasów tłuszczowych w mięśniu Prozentgehalt d. Fettsäuren		
				kontrolnego Kontroll-Muskel	drażnionego Gereizter Muskel	kontrolnym Kontroll-Muskel	drażnionym Gereizter Muskel	a kontrolnym Kontroll-Muskel	b drażnionym Gereizter Muskel	$\frac{b-a}{a} \cdot 100$ względna różnica Relative Differenz
				g	g	mg	mg	%	%	
				Przeciętnie: Durchschnittl.:						
1	6.III	28	11200	1.060	1.025	6.10	4.06	0.575	0.396	—31
2	17.III	20	8000	0.915	0.945	4.55	4.91	0.498	0.520	+ 4
3	17.III	20	8000	0.735	0.755	4.18	4.18	0.569	0.554	— 3
4	2.VI	23	9200	0.640	0.650	3.79	3.12	0.592	0.480	—19
5	2.VI	23	9200	1.200	1.290	5.51	5.11	0.459	0.405	—12
6	12.VI	24	9600	0.970	1.010	5.00	4.95	0.515	0.490	— 2
7	12.VI	24	9600	1.020	1.070	4.68	5.56	0.456	0.519	+11
8	20.VI	25	10000	1.010	1.020	5.71	5.55	0.565	0.545	— 3
9	26.VI	26	10400	0.336	0.317	1.16	0.90	0.366	0.270	—26

W doświadczeniach № 1, 2, 5, 8 i 10 oznaczano również glikogen. We wszystkich tych doświadczeniach znajdujemy znaczne zmniejszenie się ilości tego związku po pracy. Wynosi ono bowiem od 12 do 51%, co wskazuje na daleko idące wyczerpanie mięśnia.

Przystępujemy do omawiania wyników drugiej serii doświadczeń. Różni się ona od pierwszej tem, że przeprowadzona została na żabach, które przez szereg miesięcy przebywały w stanie głodu w pracowni. W tabeli X przytoczone są dane analiz tej serii.

Widzimy, że z dziewięciu doświadczeń w czterech znajdujemy w mięśniach drażnionych o 12, 19, 26 i 31% mniejsze ilości

kwasów tłuszczowych, niż w mięśniach kontrolnych. Różnice takie przekraczają nietylko błędy doświadczenia, ale również wszystkie przytoczone w analizach mięśni symetrycznych odchylenia indywidualne. Średnie zawartości kwasów tłuszczowych w mięśniach kontrolnych i drażnionych w całej tej serii wykazują po pracy ubytek tłuszczów, wynoszący 9%. Porównyując różnice te z różnicami średnich zawartości, podanymi w tabelach IV, V, VII, VIII i IX, jesteśmy skłonni do przypuszczenia, że udało się nam w doświadczeniach przytoczonych w tabeli X stwierdzić zmniejszenie się ilości tłuszczów po pracy.

Wszystkie mięśnie doprowadzone były do całkowitego wyczerpania, zmniejszenie się zaś ilości kwasów tłuszczowych znajdujemy zaledwie tylko w połowie doświadczeń. Przypuszczamy wobec tego, że tłuszcze zaczynają znikać dopiero w chwili bardzo daleko posuniętego wyczerpania mięśnia.

Porównyując doświadczenia pierwszej i drugiej serii (tabela IX i X), pierwszej z nich, wykonanej na żabach jesiennych, obficie zaopatrzonych w glikogen, drugiej natomiast — na żabach przez dłuższy czas głodzonych, a przeto ubogich w glikogen (ATHANASIU '99), sądzimy, że znikanie tłuszczów w drażnionych mięśniach żab głodzonych można wytłumaczyć w ten sposób, że mięśnie, zawierające już na początku drażnienia małe ilości glikogenu, łatwiej można doprowadzić do pewnego minimum zawartości węglowodanów, po którego osiągnięciu praca zaczyna odbywać się kosztem tłuszczów. Możliwą jest rzeczą, że izolowany mięsień, obficie zaopatrzony w glikogen, dlatego trudno jest doprowadzić do stanu, w którym zaczynają utleniać się tłuszcze, że jeszcze przed wyczerpaniem zapasów węglowodanowych zostaje on zahamowany w swych czynnościach wskutek gromadzenia się produktów przemiany. Jesteśmy zatem tego zdania, że tłuszcze zaczynają spalać się dopiero wtedy, gdy zapasy glikogenu w znacznym już stopniu zostaną zużyte.

b) Praca mięśni *in situ*.

Badając udział tłuszczów w pracy mięśni izolowanych, doszliśmy do wniosku, że spalanie tłuszczów następuje dopiero po dostatecznym zużyciu węglowodanów. Takie rozwiązanie sprawy nie przesądzało jednak możliwości udziału tłuszczów w pracy

mięśnia, zawierającego normalne ilości glikogenu, lecz drażnionego *in situ*.

Biorąc pod uwagę mniejsze od jedności ilorazy oddechowe, jakie otrzymano dla całej żaby (DOLK i POSTMA '27) w przeciwieństwie do mięśni izolowanych, i wiedząc, że mięśnie stanowią znaczny odsetek wagi ciała zwierzęcia (około 40%, po wyłączeniu szkieletu), można było przypuszczać (HIMWICH i CASTLE '27), że procesy chemiczne w mięśniach *in situ* różnią się od tych, jakie spotykamy w mięśniach izolowanych. Krwiobieg, usuwając szkodliwe produkty przemiany, mógłby stwarzać warunki, ułatwiające utlenienie tłuszczów w mięśniach.

Dlatego też uważałem za rzecz konieczną uzupełnić te badania doświadczeniami, przeprowadzonymi na żabie żywej.

Doświadczenia wykonane były w sposób następujący:

Jedną tylną nogę żaby mocno ścisnąłem jedwabną nitką powyżej kolana, odcinałem nogę i odpreparowywałem mięsień łydkowy, który służył jako kontrolny. (Mięsień ten był natychmiast wrzucany do gorącego roztworu ługu i analizowany po skończonym doświadczeniu jednocześnie z mięśniem doświadczalnym). Po dokonany zabiegu żabę umocowywałem na deseczce, łączyłem jedną elektrodę induktora ze skórą w okolicy kolana nogi nietkniętej, drugą w okolicy ścięgna Achillesa i drażniłem prądem indukcyjnym. Mięsień łydkowy kurcząc się wyprostowywał stopę, i ruchy te zapomocą miografu izometrycznego, połączonego drucikiem ze ścięgnem Achillesa, notowane były na walcu. Drażnienia odbywały się co 5 sek., częstsze bowiem drażnienia powodowały zbyt szybkie męczenie się mięśnia.

We wszystkich doświadczeniach oznaczany był, oprócz kwasów tłuszczowych, glikogen.

Wyniki analiz podane są w tabeli XI.

W liczbach przytoczonych uderza nas przedewszystkiem stopień redukcji ilości glikogenu. Po skończonych doświadczeniach mięśnie zawierały od 6 do 40% początkowej ilości tego związku. W doświadczeniach № 3 i 4 drażnione mięśnie prawie zupełnie pozbawione były glikogenu, ilość jego bowiem wynosiła zaledwie 0.04% wagi mięśnia. Nie wiadomo, jak wielką była ogólna ilość spalonych w mięśniach węglowodanów, bo nie wiemy, jaka ilość tych związków mogła być dostarczona mięśniom drogą krwiobiegu.

Tabela XI.

Zachowanie się kwasów tłuszczowych i glikogenu w mięśniach tykdkowych zaby, drażnionych prądem indukcyjnym *in situ*.
Fettsäuren- u. Glykogen-Gehalt in den in situ gereizten Frosch-Gastrocnemien.

№ doświadczenia	Data	Czas trwania doświadczenia Versuchs-Dauer	Liczba skurczów Zahl d. Zuckungen	Ciężar mięśnia Gewicht		Znaleziona ilość Gefundene Menge			Zawartość względna Prozentgehalt							
				kontrol- nego Kontroll- Muskel	drażnio- nego Gereizter Muskel	kwasów tłuszczowych Fettsäuren	glikogenu Glykogen	kwasów tłuszczowych Fettsäuren	glikogenu Glykogen	względna różnica Relative Differenz						
				g	g	w mięśniu kontrolnym Kontroll- Muskel	w mięśniu kontrolnym Kontroll- Muskel	w mięśniu drażnionym Gereizter Muskel	a w mięśniu kontrolnym Kontroll- Muskel	b w mięśniu drażnionym Gereizter Muskel	a, w mięśniu kontrolnym Kontroll- Muskel	b, w mięśniu drażnionym Gereizter Muskel	b—a, 100 a, 100			
1	17.I	24	17.000	0.928	0.876	5.53	9.30	3.52	0.596	0.613	1.00	0.40	+ 3	60		
2	20.I	45	33.000	0.868	0.946	5.34	7.08	1.17	0.616	0.490	0.815	0.124	-20	85		
3	26.I	24	17.000	0.693	0.781	3.35	3.55	0.28	0.483	0.501	0.512	0.040	+ 4	92		
4	1.II	92	65.000	0.690	0.810	3.15	5.00	0.34	0.456	0.338	0.725	0.042	-26	94		
5	10.II	22	15.000	0.784	0.751	1.22	6.85	1.06	0.155	0.130	0.875	0.159	-16	82		
6	22.II	22	15.000	1.013	1.071	5.53	8.95	2.24	0.546	0.553	0.858	0.207	- 1.5	76		
7	25.II	26	18.000	0.992	1.044	3.95	7.50	1.01	0.398	0.350	0.756	0.097	-12	87		
									Przeciętnie: Durchschnitt:			0.464	0.425	0.792	0.150	- 8.8

Co się zaś tyczy tłuszczów, to widzimy w doświadczeniach № 2, 4, 5, i 7 zmniejszenie się po pracy ilości kwasów tłuszczowych o 20, 26, 16 i 12%, w doświadczeniach natomiast № 1, 3 i 6 ilość kwasów tłuszczowych w mięśniach kontrolnych i drażnionych jest niemal identyczna.

Ponieważ wszystkie doświadczenia doprowadzone były do całkowitego wyczerpania mięśni (por. str. 154), w trzech zaś z siedmiu doświadczeń ilość kwasów tłuszczowych po pracy wcale nie uległa zmianie, sądzimy, że w mięśniach drażnionych *in situ*, tak samo jak w mięśniach izolowanych, tłuszcze zaczynają się spalać dopiero w chwili daleko posuniętego wyczerpania, gdy zapasy glikogenu w znacznym stopniu zostaną już zużyte.

Zawartości glikogenu znajdujące w drażnionych mięśniach nie dają jednak pod tym względem zupełnie jednolitego obrazu. Naprzykład, w doświadczeniu № 3 mięsień zawierał po pracy zaledwie minimalne ilości tego związku (0.04%), a mimo to tłuszcze wcale nie były naruszone. Można to tłumaczyć w ten sposób, że mięsień pracował w tym przypadku kosztem węglowodanów, dostarczanych zapomocą krwiobiegu; byłoby to możliwe, gdyby naprzykład żaba z doświadczenia № 3 zawierała większe zapasy glikogenu w wątrobie.

VI. Omówienie wyników.

Wyniki badań naszych wskazują na bardzo bierne zachowanie się tłuszczów w mięśniach żaby. W podanych powyżej warunkach doświadczenia nie udało się nam stwierdzić zmniejszenia się ilości kwasów tłuszczowych ani po roztarciu mięśnia, ani w mięśniu, wprowadzonym w stan tężca cieplnego, ani też po wyczerpującym drażnieniu mięśnia izolowanego, obficie zaopatrzonego w glikogen. Dopiero drażniąc mięsień *in situ* lub też drażniąc mięsień izolowany o znacznie wyczerpanych wskutek głodu zwierzęcia zapasach glikogenu, mogliśmy w połowie doświadczeń stwierdzić ubytek tłuszczów, wahający się od 12 do 30%. Tłumaczymy to sobie w ten sposób, że w obecności węglowodanów mięśnie pracują kosztem tych ostatnich, dopiero w stanie daleko idącego wyczerpania mięśni, gdy zapasy węglowodanów przypuszczalnie w znacznym już stopniu zostaną zużyte, zaczynają spalać się tłuszcze.

Niewątpliwą zatem jest rzeczą, że węglowodany nie są jedyną substancją, której kosztem może się odbywać praca mięśni.

OLMSTED i HARVEY ('27) i OLMSTED i COULTHARD ('28), zastrzykując żabom insulinę, otrzymywali mięśnie prawie zupełnie pozbawione glikogenu. Krzywa pracy tych mięśni niczem się nie różniła od krzywej, otrzymanej dla mięśni zwierząt kontrolnych. Źródłem energii w tym przypadku były przypuszczalnie tłuszcze, aczkolwiek nie jest również wykluczony udział substancyj azotowych.

Węglowodany w porównaniu z tłuszczami znacznie łatwiej podlegają oksydacji. Fakt, że mięsień czerpie energję ze spalania przede wszystkim węglowodanów, jest przeto łatwo zrozumiałe. Utlenienie tłuszczów, związków chemicznie bardzo biernych, powinno wymagać znacznie dłuższego okresu czasu. Utlenienie to musi być z konieczności bardzo powolne i przechodzić przez szereg faz pośrednich.

Ciekawe są z tego punktu widzenia badania BLOORA ('25), w których autor wykazał, że w mięśniach bardziej aktywnych większy odsetek tłuszczów przypada na kwasy nienasycone, niż w mięśniach mniej aktywnych.

Według LUSKA ('25) proces spalania tłuszczów można przedstawić sobie jako „wybuchowe“ powstawanie kwasu octowego, występujące wskutek β -utlenienia wyższych kwasów tłuszczowych.

W świetle badań naszych możemy do pewnego stopnia wytłumaczyć rozbieżności w wynikach badań PALAZZOLO ('13) i WIENFIELDA ('15). PALAZZOLO mianowicie znajdował zmniejszenie się ilości tłuszczów po pracy, WIENFIELD natomiast takiego zmniejszenia się nigdy nie mógł stwierdzić. Różnice te polegają przypuszczalnie na różnym stopniu wyczerpania mięśni i różnym stopniu zawartości w nich glikogenu.

PALAZZOLO ograniczył się do jakościowych prób na glikogen; w drażnionych mięśniach żab letnich nie mógł on stwierdzić obecności glikogenu. Znikanie tłuszczów w mięśniach bezglikogenowych jest w zgodzie z naszym zapatrywaniem na udział tłuszczów w pracy mięśni żaby. Nie możemy natomiast pogodzić z naszymi rezultatami wyników badań PALAZZOLO, który stwierdził zmniejszenie się ilości tłuszczów również w drażnionych izolowanych mięśniach żab zimowych, w których glikogen po pracy był jeszcze obecny (próby jakościowe). Rozbieżności z wynikami naszych badań są tem bardziej dla nas niezrozumiałe, że

czas trwania doświadczeń był u PALAZZOLO bez porównania krótszy niż u nas, wynosił bowiem zaledwie kilkadziesiąt minut, gdy w naszych doświadczeniach dochodził do 54 godzin.

Brak zmniejszenia się ilości tłuszczów w doświadczeniach WIENFIELD'a możemy wytłumaczyć nie tyle mniejszym stopniem wyczerpania mięśni, ile raczej tą okolicznością, że doświadczenia były robione masowo, i wobec stwierdzonych przez nas bardzo dużych indywidualnych różnic w procentowej zawartości tłuszczów (do 300%), małe zmiany w ilości tłuszczów po pracy dzięki temu mogły zginąć bez śladu ¹⁾.

Pozostają nam jeszcze do omówienia w kilku słowach dane, dotyczące zachowania się tłuszczów w mięśniach zwierząt stałocieplnych.

LAFON ('12) na podstawie badań nad mięśniami królika i konia (w tym ostatnim przypadku oznaczał tłuszcze w krwi dopływającej i odpływającej z mięśnia) wnioskuje o bezpośrednim spalaniu się tłuszczów podczas pracy. PALAZZOLO ('13) w cytowanej już pracy przeprowadził kilka doświadczeń na mięśniach jeża i we wszystkich znajdował znikanie tłuszczów po pracy. Ujemną odpowiedź daje jedna jedyna tylko praca CUTHBERTSONA ('25), wykonana na mięśniach kota. (W przypadku mięśni żaby ujemną odpowiedź co do udziału tłuszczów — przynajmniej dla pracy krótkotrwałej — daje, drogą coppersprawda pośrednią i nie mówiąc o tem wyraźnie, cały szereg prac wykonanych w pracowniach MEYERHOFA, HILLA, EMBENA i PARNASA).

W roku 1927 ukazała się praca HIMWICHA i CASTLE'A ('27) nad ilorazem oddechowym spoczywającego *in situ* mięśnia psa. Ze względu na precyzyjną metodykę praca ta ma duże znaczenie. Oznaczony przez autorów iloraz oddechowy wynosił 0.7 i wskazywał na przemiany tłuszczowe.

¹⁾ W doświadczeniach WIENFIELDA nie jest dla nas zupełnie jasną zgodność w zawartości tłuszczów w mięśniach kontrolnych i drażnionych, jaką znajduje w każdym doświadczeniu, przy dużej różnicy w procentowej zawartości tłuszczów w różnych doświadczeniach. Fakt ten nie zgadza się z okolicznością, że do kontrolnych doświadczeń nie były brane mięśnie symetryczne; dlatego też kontrolne mięśnie z jednego doświadczenia powinny służyć do wszystkich innych doświadczeń, jak to też ma miejsce w pracy PALAZZOLO.

Jesteśmy tego zdania, że w mięśniach zwierząt stałocieplnych udział tłuszczów powinien przejawiać się w większym stopniu, niż w mięśniach zwierząt zmiennocieplnych. Nasuwa się przypuszczenie, że wyższa temperatura ciała zwierząt stałocieplnych w znacznym stopniu przyspiesza proces utleniania tłuszczów, powodując większy udział tłuszczów w czynnościach mięśnia i większą łatwość stwierdzenia tego udziału w warunkach doświadczenia.

VII. Streszczenie.

1°. Odpowiednio zmodyfikowana metoda ekstrahowania KUMAGAWA-SUTO w połączeniu z metodą spalania BANGA pozwala na ilościowe oznaczenie kwasów tłuszczowych w pojedynczych mięśniach żaby.

2°. Symetryczne mięśnie łydkowe żaby zawierają bardzo zbliżone do siebie ilości kwasów tłuszczowych.

3°. Indywidualne różnice w zawartości kwasów tłuszczowych w mięśniach łydkowych różnych żab dochodzą do 300%.

4°. Podczas zimy zawartość kwasów tłuszczowych u żab trzymanyh w pracowni spada równomiernie. Średnia zawartość wynosi na jesieni 0.74%, w czerwcu — 0.30%.

5°. Zniszczenie struktury i roztarcie mięśnia na miazgę nie zmienia zawartości kwasów tłuszczowych.

6°. Tężec ciepły nie zmienia zawartości kwasów tłuszczowych.

7°. Tłuszcze zachowują się w mięśniach żaby bardzo biernie i zaczynają brać udział w pracy mięśnia przypuszczalnie dopiero wówczas, gdy zapasy glikogenu w znacznym już stopniu zostaną zużyte.

Piśmiennictwo.

Anderson R. J. and G. Lusk. 1917. Animal calorimetry. Journ. biol. Chem. 32 (421). Athanasiu J. 1899. Über den Gehalt des Froschkörpers an Glykogen in den verschiedenen Jahreszeiten. Arch. f. d. ges. Physiol. 74 (561). Bang I. 1918. Verfahren zur titrimetrischen Mikrobestimmung der Lipoidstoffe. Bioch. Zeitschr. 91 (86). Benedict and Cathcart. 1913. Publ. Carn. Inst. Wash, 187. Cyt. wedł. Rapport and Ralli, 1928. Bloor W. R. 1927. Distribution of unsaturated fatty acids in tissues. I. Voluntary muscle of beef. Journ. biol. Chem. 72 (327). Chrzęszczewski St. i Wł. Mozołowski.

1928. Badania nad wzajemną zależnością powstawania kwasu mlekowego i amonjaku w mięśniach płazów. (Untersuchungen über den Zusammenhang der Milchsäurebildung und Ammoniakbildung im Amphibienmuskel). Acta Biol. Exper. 2 (47). **Cuthbertson D. P.** 1925. The determination of phosphorus and fat in the resting and fatigued muscle of cat. Bioch. Journ. 14 (896). **Dolk N. E.** and **N. Postma.** 1927. Über die Haut- und die Lungenatmung von *Rana temporaria*. Zeitschr. f. vergl. Physiol. 5 (417). **Fletcher W. M.** and **F. G. Hopkins.** 1907. Lactic acid in amphibian muscle. Journ. of Physiol. 35 (247). **Furusawa, Hill, Long** and **Lupton.** 1926. Proc. Roy. Soc. B. 99 (167). Cyt. wedł. Rapport and Ralli ('28). **Hagedorn H. C.** and **B. N. Jensen.** 1923. Zur Mikrobestimmung des Blutzuckers mittels Ferricyanid. Bioch. Zeitschr. 135 (46). **Henderson Y.** and **W. H. Howard.** 1925. The maximum of human power, and the fuel of muscular work. Amer. Journ. Physiol. 72 (220). **Hill A. V.** 1924. Science N. S. 60 (505). Cyt. wedł. Rapport and Ralli ('28). **Himwich H. E.** and **W. B. Castle.** 1927. Studies in the metabolism of muscle. I. The respiratory quotient of resting muscle. Amer. Journ. Physiol. 83 (92). **Lafon G.** 1912. Sur la consommation des graisses dans l'organisme animal. C. R. Ac. Sc. 156 (1248). **Lusk G.** 1925. Die Energiequelle bei der Muskelarbeit. Bioch. Zeitschr. 156 (334). **Olmsted J. M. D.** and **I. M. Harvey.** 1927. The glycogen content of frog's muscle after injection of insulin and its relation to contraction. Amer. Journ. Physiol. 80 (643). **Palazzolo.** 1913. Ricerche sul consumo del grasso muscolare en la contrazione. Arch. di Fisiol. 11 (558). **Parnas J. K.** 1928. Badania nad powstawaniem amonjaku i zależnością tej sprawy od czynności i stanu mięśni. (Untersuchungen über die Ammoniakbildung und über den Zusammenhang dieses Vorganges mit Funktion und Zustandsänderung des Muskels). Acta Biol. Exper. 1. № 3. **Przyłęcki St. J.** 1918. O sposobie ilościowego oznaczania glikogenu w drobnych ilościach tkanki. (Une méthode quantitative pour déterminer le glycogène dans les petites quantités de tissus). Sprawozd. Tow. Nauk. Warsz. 11 (773). **Rapport D.** and **E. P. Ralli.** 1928. The nature of the foodstuffs oxidised to provide energy in muscular work. I. In the normal animal. Amer. Journ. Physiol. 83 (450). **Wasilewska J.** 1923. Sur la modification et l'application de la microméthode de Bang du dosage des acides gras. Trav. Inst. Nencki. 2 № 23. **Wienfield.** 1915. The fate of fatty acids in the survival processes of muscle. Journ. of Physiol. 44 (171). **Wojtczak A.** 1927. Badania nad przepuszczalnością mięśni dla elektrolitów w stanie pracy i spoczynku. (Recherches sur le perméabilité des muscles pour les électrolytes pendant le travail et le repos). Trav. Inst. Nencki. 4, № 58.

PRACE PAŃSTWOWEGO MUZEUM ZOOLOGICZNEGO.
Annales Musei Zoologici Polonici.

Tom VIII, zeszyt 2—3, 1928.

J. DOMANIEWSKI: Über die Identität von *Pelecanus roseus* Gm. und *P. onocrotalus* L. — T. JACZEWSKI: *Mesovellidae* from the State of Paraná. — T. JACZEWSKI: *Hydrometridae* from the State of Paraná. — W. ROSZKOWSKI: The distribution of Limnads in Europe and in North America, with relation to Wegener's theory. — J. KREMKY: Remarques sur la morphologie et la distribution géographique des Lépidoptères du groupe de *Apamea nicticans* Bkh. — H. JAWŁOWSKI: *Karptophyllon poliiński* n. sbg. n. sp., *Leptotilus czarnohoricus* n. sp. (Diplop.).

Adres Redakcji: Warszawa, Państwowe Muzeum Zoologiczne.

ARCHIWUM HYDROBIOLOGII I RYBACTWA.

Tom III, zeszyt 1—2, 1929 (cena tomu w prenumeracie 10 zł.).

I. F. PRAWDIN: Płoc z jeziora Perty w Suwalszczyźnie. — J. BOWKIEWICZ: *Cyclops scutifer* Sars. w jeziorze Krzyżaki pod Wilnem. — K. DEMEL: Rola głębi gdańskiej w naszych morskich połowach. — ST. K. SAKOWICZ i L. KASZEWSKI: Badania nad warunkami życia pogłowia leszcza. — WL. KULMATYCKI i J. GABAŃSKI: Występowanie *Aphelocheirus (aestivalis)* Fabr. w Wierzyku. — K. DEMEL: Nasze połowy morskie na tle pomiarów termicznych w roku 1927. — Referaty, notatki, bibliografia.

Adres redakcji i administracji: Suwałki, Stacja Hydrobiologiczna na Wigrach (Instytut im. Nenckiego).

FOLIA MORPHOLOGICA.

(Organ Polskiego Towarzystwa Anatomiczno-Zoologicznego).

Tom I, zeszyt 2—3, 1929 (cena 6 zł.).

J. TUR: Studia Teratogenica. II. Les monstres incohérents. — T. MARCINIAK i K. SERAFIN: W sprawie unerwienia łuku mięśniowego pachy przez nerw międzybrowo-ramienny u człowieka. — P. SŁONIMSKI: W sprawie składników komórkowych i ich pochodnych we krwi *Batrachoseps attenuatus* Esch. — Z. ZAKOLSKA: Przypadki partenogenetycznego podziału jaj w jajniku szczura. — A. RODRIGUES, L. DE PINA et S. PEREIRA: Dissection d'un Nègre de Mozambique. — E. LEBLANC, M. RIBET, P. GOINARD, G. CHEVAUX, H. EZES, E. CURTILLET, F. MORAND: Recherches sur 40 Sujets indigènes d'Algérie (Berbères). — Referaty. — Polskie Towarzystwo Anatomiczno-Zoologiczne. — Personalia.

Adres redakcji i administracji: Warszawa, Chałubińskiego 5.

MEDYCYNA DOŚWIADCZALNA I SPOŁECZNA.

Tom IX, zeszyt 3—4, 1928 (cena 4 zł.).

M. SKARZYŃSKA-GUTOWSKA: Działanie fizjologiczne wyciągu witaminy B. Część II. — S. KOHN i E. WATCHORN: Zależność między rodzajem węglowodanu w pożywieniu a zewnętrznym zapotrzebowaniem witaminy B u szczura. J. FRENZŁOWA i Z. SZYMANOWSKI: W sprawie paraglutynacji doświadczalnej. — M. FRANKE: O „retencji” azotu niebiałkowego i ciał aromatycznych we krwi i o umiejscowieniu jej anatomicznem w doświadczalnej niedomodze nerkowej. — J. CELAREK i W. PORĘBSKI: W sprawie wrażliwości koni na toksyny paciorkoweowe i miareczkowania surowicy szkarłatynowej. — E. J. WEBBER: Zwalczenie widliszków w okolicach Warszawy. — J. MEISSNER: Opadanie czerwonych ciałek krwi (objaw Biernackiego) u schizofreników. — I Zjazd Mikrobiologów i Epidemjologów Polskich. — Kronika Epidemjologiczna.

Adres redakcji: Warszawa, Chocimska 24.



Drukarnia i Litografia
P. F. „JAN COTTY“
w Warszawie, Kapucyńska 7