

Wym. Zakł. Zool. U.W.

ACTA
BIOLOGIAE
EXPERIMENTALIS
VOL. VII, 1932.
(pp. 232 — 258)

W. A. ADOLPH
(Wilno).

STUDIEN ÜBER RHYTHMIK DER PROTISTENTEILUNGEN
I. ÜBER TAGESPERIODISCHEN RHYTHMUS IN DER
FORTPFLANZUNG VON PARAMECIUM CAUDATUM



VARSOVIE
REDACTION ET ADMINISTRATION:
INSTITUT NENCKI (SOC. SCI VARS.)
8 RUE SNIADOCKI

57. 86
S. 17859
23.4.51 MP
S. 22125

Acta Biologiae Experimentalis

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

Wydawnictwo to ukazuje się w liczbie około dwu tomów rocznie

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

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

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

Zgłoszenie do prenumeraty przyjmuje:

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

Skład główny:

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

W/3



Hielle Strausmannu Pann Professoru
B. Fulinskiemu z wyrazami wysokiego
poważenia
Autor.

Acta Biologiae Experimentalis. Vol. VII, № 14, 1932.



W. A. Adolph.

Studja nad rytmem podziału pierwotniaków. I. Rytm dobowy w rozrodzie *Paramecium caudatum*.

Studien über Rhythmik der Protistenteilungen. I. Über tagesperiodischen Rhythmus in der Fortpflanzung von Paramecium caudatum.

Rękopis nadesłany w dniu 20.VI.1932 r.

Im Zusammenhange mit Angaben von Strassburger (75), Lauterborn (95), Kaufmann (14), u. a. über den nächtlichen Verlauf der Teilungen der Pflanzenzellen, habe ich die Untersuchungen über diesbezügliche Verhältnisse bei *Paramecium caudatum* angestellt.

Dazu beobachtete ich 96 einzelne Paramecienindividuen, von denen ein jedes in 4 Tropfen Heuinfusion auf ausgehöhlten Objektträgern untergebracht war; die Nährflüssigkeit wurde jede 24 Stunden gewechselt. Die Kontrolle der ganzen Kultur erfolgte alle 3 Stunden, nämlich in den Stunden 9, 12, 15, 18, 21, 24, 3, 6, 9. Die Untersuchungen sind anfänglich (Versuch I) in 2 Serien durchgeführt worden; eine jede dauerte 3 volle Tage, ohne Unterbrechung (Fig. 1, Kurven I, II, III; Fig. 2, Kurven I, II, III; die Kurve IV auf Fig. 1 stellt die Totalergebnisse des Versuchs I dar; Zahlenangaben finden sich in der Tab. I). Aus dem Versuche I ergibt sich, dass in der Nacht die Teilungen ungefähr zweimal öfter stattfinden, als beim Tage, und dass es einen Kulminationspunkt der entsprechenden Kurve gibt, der auf die 21 Stunde fällt. Ferner habe ich festgestellt (Versuch III, Serie I, II, III, auf Fig. 3 und Tab. II), dass das zeitliche Verschieben des Anfangs der Versuche keinen Einfluss auf das Bild des täglichen Verlaufs der Kurven hat.

Bei sukzessiver Uebertragung der Paramecien auf die Versuchsgläschen in den Stunden 12, 15, 18 (Die Kurven I, II, III,

auf der Fig. 3, Totalergebnisse — Kurve IV auf Fig. 2, Zahlenangaben in der Tab. II) habe ich keine Veränderung im Verhalten der Protisten festgestellt. Ebenso wenig bewirkte der viermalige Wechsel des Nährmediums an einem Tage, der je 6 Stunden ausgeführt wurde (Versuch III, Serie IV; Kurve II auf der Fig. 3) eine Veränderung der vorher festgestellten Regelmässigkeit.

Die Ergebnisse bestätigen also die Unabhängigkeit der Kurvengestalt von den Veränderungen des Nährmediums, die die Funktion der Zeit im allgemeinen sind. Das teilweise Verdunkeln der Tiere (Versuch IV) im Laufe von 6 Stunden (Serie I; Kurve III, auf Fig. 4; Tab. IV), wie auch der permanente Aufenthalt im Finstern im Laufe von 3 Tagen hat keine Modifikationen der erhaltenen Ergebnisse hervorgerufen. Dieselben lassen sich folgendermassen zusammenfassen:

1°. Die Teilungen von *Paramecium caudatum* gehen nicht während der 24 Stunden ungeordnet vor sich, sondern sie weisen eine Regelmässigkeit auf, indem sie in bestimmten Stunden häufiger sind. Im Laufe von 24 Stunden kann man eine Nachtperiode unterscheiden (18—3, genauer — 18—1), wo die Teilungen zweimal so oft als in den anderen Stunden stattfinden, und eine Tagesperiode mit verminderter Teilungshäufigkeit. Der Nachtskulptinationspunkt fällt ungefähr in die Stunden 20—22; in der Tagesperiode kann man ausserdem eine leichte Depression in den Stunden 12—15 wahrnehmen. Auf Grund dessen kann man von der täglichen Teilungsrhythmik der Protisten sprechen, die sich in dem wellenförmigen Verlauf der Teilungen mit einem konstanten Kulminationspunkt offenbart.

2°. Die Gestalt der Tageskurve ist nicht vom unmittelbaren Wechsel des Lichtes und der Dunkelheit, sowie der Zahl der Teilungen, die das einzelne Individuum während des Tages durchgemacht hat, abhängig. Diese letztere Zahl schwankt zwischen den Grenzwerten 0.65—2.1 Teilungen pro 24 Stunden.

3°. Die Tag- und Nachtrhythmik ist — wie es scheint vom Tag- und Nachtwechsel abhängig, da sie bei ununterbrochener Verdunkelung während 3-mal 24 Stunden zum Vorschein tritt.

4°. Die Individualkulturen von Paramecien, als Ganzheit betrachtet, liefern im Zusammenhange mit verstärkten nächtlichen Teilungsprozessen eine Analogie zum nächtlichen verstärkten Wachstum der Pflanzen.

5°. Die beobachtete Rhythmik verläuft prinzipiell in gleicher Weise bei einzelligen- und wahrscheinlich auch bei höheren Pflanzen (K a r s t e n). Die Störungen, die die künstliche Belichtung hervorruft, können durch ihre allgemeine, nicht spezifische Wirkung auf den Pflanzenorganismus erklärt werden.

6°. Der ähnliche Charakter der Tag- und Nachtrhythmik bei *Paramecium* und den Pflanzen, trotz des verschiedenen Stoffwechsels in der tierischen und pflanzlichen Zelle, lässt die bisherigen genetischen Erklärungen der Erscheinung ablehnen; alle oben erwähnten Tatsachen dagegen veranlassen den Verfasser einen hypothetischen Faktor anzunehmen, der rhythmisch im Tageszeitraume den Teilungsverlauf der Protistenzellen mit tierischem und pflanzlichem Stoffwechsel beeinflusst.

W czasach ostatnich zwrócono uwagę na zjawisko synchronicznego występowania podziałów komórkowych w organach i tkankach jednego i tego samego osobnika; ze strony botanicznej dane w tej kwestji zawierają prace Palma ('16), Kniepa ('17), Dahlgrena ('20), z zoologicznej Gurwitscha ('10, '11), Sorokinej ('13), Kornfelda ('22); w szczególności Kornfeld, badając rytm podziałów, zachodzących w nablonku rogówki oczu salamandry, obserwował daleko posuniętą zgodność nie tylko w ilościowym stosunku podziałów w obu nablonkach, lecz nawet w synchronicznym występowaniu odpowiednich stadij podziałowych. Gurwitsch badał pod tym względem podziały spermatogonjalne w jądrze płazów; Sorokina wreszcie — synchronizm podziałów w blastomerach *Paracentrotus lividus*, potwierdzając zdanie Gurwitscha, że zupełna identyczność komórek nie jest warunkiem wystarczającym dla objaśnienia synchronizmu ich podziałów.

We wszystkich tych przypadkach rozpatrywano komórkę na tle skomplikowanego organizmu tkankowca; układem zamkniętym był organizm jako całość i rytm podziałów komórkowych ograniczony ramami rozwoju powyższego układu. Mielibyśmy tu do czynienia nie z problematem rytmu jako takim, lecz właściwie wybór materiału decydował zgóry o celu zagadnienia, leżącego w płaszczyźnie oddziaływań organizmu na proces podziałów. Można jednak rozprywać ten problemat w płaszczyźnie innej, zadając pytanie, czy komórka jako samodzielny organizm nie wykazuje w swych podziałach rytmiki, nie będącej wynikiem jej podrzędnej roli w stosunku do całości, i czy rytmika ewentualna nie zachodzi równolegle do innych procesów o charakterze ogólnym.

Najodpowiedniejszym do tego celu materiałem badawczym są pierwotniaki, jako wolno żyjące organizmy jednokomórkowe, nie połączone wzajemnymi zależnościami: ponieważ u większości z nich podziały zachodzą stosunkowo szybko, bo raz lub więcej na dobę, przedstawiają możliwość zastosowania tej koncepcji do sprawy rozmieszczenia podziałów w czasie doby, jako okresu, stanowiącego dzięki rytmowi słonecznemu określoną całość.

W pracy niniejszej chodzić będzie o rozstrzygnięcie pytania, czy i w jakim stopniu podziały wolnożyjącego, jednokomórkowego organizmu zwierzęcego, *Paramecium*, odbywają się regularnie na odcinku doby — czy też odbywają się bezładnie, zależąc jedynie od przypadkowych kształtowań się warunków środowiska, i czy w związku z tem można stwierdzić związek pomiędzy rytmem podziałowym pierwotniaka a rytmem słonecznym, ściślej — dobowym.

Mimo, że literatura o podziałach pierwotniaków jest olbrzymia, i rytmika ich jest przedmiotem wielu prac, lecz pojęta jest w znaczeniu innym, przede wszystkim w związku ze zjawiskami t. zw. depresji fizjologicznej, występującej w rozrodzie pierwotniaków, oraz z zagadnieniem nieśmiertelności komórek pierwotniaczych, że wymienimy Woodruffa ('17 a i b), Younga ('16), Calkinsa ('19 i '20), Botsforda ('22). Podobnie jak poprzednicy, Calkins ('15) również nie daje materiału do sprawy, rozpatrując cykl życiowy *Didinium nasutum* — jak i Woodruff i Baitsell ('11) oraz Dawson ('26), opisujący dłużej prowadzoną kulturę *Histrio complanatus*, również jednak z punktu widzenia cykliczności — występowania okresów konjugacji i endomiksji; Richards i Dawson ('27), zestawiając wyniki trzyletnich hodowli *Blepharisma undulans*, *Histrio complanatus* i *Paramecium aurelia*, dochodzą do wniosku o istnieniu sezonowego rytmu o największym nasileniu podziałów w lipcu, jednak nierówność temperatury oraz brak ścisłych danych o składzie i różnicach w pożywce, każą przypuszczać bezpośredni wpływ tych czynników w powstaniu wahań krzywej podziałów.

Żadnych danych w naszej sprawie nie zawiera praca Austina ('27), dotycząca się zagadnień długowieczności i konjugacji u *Uroleptus mobilis*; również Dale Beers ('28) w pracy nad rytmiką rozrodu *Didinium nasutum* zajmuje się okresowymi wahaniami tempa podziałów, nie wiążąc ich jednak z czasem.

Zarówno prace Buetschli'ego jak i Dofleina ('29) nie zawierają żadnych danych w tej sprawie w zastosowaniu do pierwotniaków o wyraźnie zwierzęcej przemianie materji. Z nieokreślonych jednak wzmianek, których źródła nie jestem w stanie ustalić, wynika, że istnieją obserwacje, stwierdzające nocny, względnie we wczesnych godzinach rannych, tryb podziałów pierwotniaków (Korenfeld '22); nie mogłem też zdać sobie sprawy, czy wzmianki te nie opierają się na faktach, obserwowanych u pierwotniaków o charakterze raczej roślinnym, o czem do pewnego stopnia świadczyłaby wzmianka w Lühe (Lang '21, str. 323), wymieniająca wśród pierwotniaków o nocnym trybie podziału *Haematococcus*, *Ceratium* — lecz i *Trichosphaerium*, *Arcella*, *Euglypha*.

W literaturze bowiem botanicznej zjawisko rytmiki dobowej odnotowane zostało dość dawno, a w nowszej spotykamy dość liczne o niem wzmianki. Już Thuret w 1850 i Braun (1851) podają noc, jako czas wytwarzania gamet przez pewne glony, fakt potwierdzony przez Gerasimowa ('92) i Strassburgera ('80) w odniesieniu do *Spirogyra*, u której podziały zachodzą prawie wyłącznie około północy. Blochman ('94) i Lauterborn ('95), mówią o nocnych podziałach *Euglena*, *Ceratium* i *Diatomeae*; Oltmanns ('04/05) przytacza obserwacje, z których wnosić można o nocnym natężeniu procesów podziałowych, prowadzących do wytworzenia produktów płciowych u licznych alg morskich. Merri-man i następnie Escocoyez ('07) stwierdzają wyłącznie nocny tryb podziałów *Zygnema* i to przeważnie w czasie 21—24 godz.; identyczne stosunki obserwował Lutmann ('11) u *Closterium*, jakkolwiek podziały występują tu aż do godziny 5-ej. Kaufmann ('14) podaje, że podziały vegetatywne *Cylindrocystis Brebissonii* zachodzą zarówno w dzień, jak w nocy, jednak intensywność ich w nocy jest znacznie większa; maksimum leży w godz. 23³⁰—1³⁰. Podobne stosunki mają zachodzić u *Penium* i *Tetmemorus*.

Liczbowo ujęte dane oraz odpowiednie doświadczenia zawiera praca Karstena ('18). Hodowle *Spirogyra* zostały poddane przez kilka dni działaniu światła elektrycznego, którego wpływ wyraził się w stłumieniu aktów podziałowych. W tych samych kulturach naświetlanych w nocy i zaciemnianych w dzień zachodzą podziały w czasie dziennego zaciemnienia; w związku z tem autor wnioskuje, że w sprawie normalnego rytmu *Spirogyra* chodzi nie tyle o bezpośredni wpływ ciemności, ile o dziedziczne przywiązanie podziału do oznaczonej godziny.

U alg z grupy *Desmidiaceae* panują stosunki podobne — podziały jednak odbywają się na przestrzeni całej doby; dla *Cosmarium Botrytis* istnieje wyraźne maksimum w godzinach nocnych 21—24, oraz popołudniowe minimum w godz. 13—15. W tym samym mniej więcej czasie przypada ono dla *Closterium moniliferum* i *Mesotaenium Endlicherianum*. Okres wzmózonych podziałów przypada odpowiednio na godz. 22—4 i 20—2, z wierzchołkami o 24-ej i 22-iej.

W teźże pracy przytoczone są dane, stwierdzające nocne natężenie procesów podziałowych w stożku wzrostu *Pinus austriaca*; w godzinach mianowicie 24—4 mitozy spotykają się najczęściej.

W stosunku do roślin wyższych fakt perjodyczności dobowej wzrostu znany był oddawna; w nocy proces ten jest intensywniejszy, niż we dnie. Sachs już w 1863 roku omawia tę sprawę, przypisując główną rolę światłu. Roślina, według niego, przystosowała się do okresowych zmian oświetlenia w ten sposób, że orientuje swe organy asymilacyjne na światło, partje zaś, gdzie zachodzą podziały w większej ilości, usuwa od jego hamującego wpływu; gdzie nie jest to możliwe — przesuwają podziały na noc.

W pracy z 1915 r. Karsten stwierdził, że i u roślin wyższych znacząca się również okresowość dobową w ilościowym występowaniu podziałów komórkowych w tkance embrjonalnej; maksimum ich przypada na okres nocny. Okresowość tę wiąże ze zmianą oświetlenia i upatruje

w niej przyczynę zjawiska, opierając się z jednej strony na braku rytmu w podziemnych częściach rośliny, z drugiej zaś na możliwości przesunięcia punktów kulminacyjnych przez odpowiednią zmianę naturalnych stosunków fotycznych.

Ponieważ zaś rytm podziałów zachowuje się u kiełkujących roślin mimo zupełnie jednostajnych warunków (ciemności), ponieważ wykazuje dość wyraźną „bezwładność”, trwając przez czas pewien po diametralnej zmianie warunków, które hipotetycznie go wywołują, przyjmuje Karstena, że jest dziedziczny.

Sumując przytoczone, stwierdzimy, że perjodyczność dobową w podziałach komórkowych niższych roślin jest bardzo rozpowszechniona: znane są fakty, że i rośliny wyższe podlegają tej regule. Przyczynę zjawiska upatrywano w działaniu światła, hamującego podziałyienne, dzięki nastawieniu metabolizmu komórki roślinnej w tym okresie w kierunku asymilacji CO₂.

W tych warunkach poszukiwanie analogicznych zjawisk w świecie zwierzęcym jest o tyle ważne, że w razie ich stwierdzenia rozszerzyłaby się ogromnie podstawa zagadnienia i w związku z zupełnie różną przemianą materji w komórce zwierzęcej kazałoby to doszukiwać się przyczyn innych, mających już charakter ogólnobiołogiczny i odnoszących się do warunków podziału komórki wogóle.

Metoda i technika.

Postawienie zagadnienia określało zgóry metodę pracy: w odróżnieniu od autorów amerykańskich uwzględnić ona musiała potrzebę operowania możliwie dużymi liczbami podziałów w jednym okresie dobowym. Metoda Karstena (18), przeglądającego dużą ilość osobników z masowej hodowli przy każdorazowej kontroli, nie wydała się odpowiednią w danym przypadku ze względu na bardzo krótki czas trwania procesu podziału u *Paramecium*.

Wobec tego zastosowałem metodę hodowli indywidualnych na szkiełkach wydrążonych. Ponieważ okresem doświadczalnym była tylko jedna doba, w ciągu której warunki w całej hodowli ulegały mniej więcej jednokowym wahaniom, zatrzymałem się na pożywce sianowej, przygotowanej przez 10-cio minutowe gotowanie 2.5 g siana w 300 cm³ wody wodociągowej i przesączenie wywaru. W pewnych razach wywar był przed użyciem rozcieńczany; do doświadczeń używałem pożywkę w różnym „wieku” — od 2 dni do tygodnia.

Temperatura (Woodruff i Baitsell '11) w poszczególnych doświadczeniach — jak nawet w ciągu poszczególnych okresów dobowych ulegała wahaniom parustopniowym; z powodu konieczności zachowania

naturalnych warunków oświetlenia i dość dużej przestrzeni zajmowanej przez hodowlę, nie można było zastosować termostatu.

Wielkość przestrzeni odżywczej, której znaczenie podkreśla Greenleaf (26), Myers (27), Ludwig (28) i inni, kaže obracać takie jej quantum, które umożliwia przejście do porządku nad zmianami w rozrodzie, wywołanymi przez jej niedostateczność — a które, zgodnie z wynikami tych prac, ustaliłem na 4 krople dla każdego pierwotniaka.

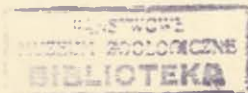
Wpływ produktów przemiany materji, wątpliwy czynnik allelokatalityczny Robertson'a, i t. p. zostały usunięte przez umieszczenie na szkiełku jednego osobnika, odseparowywanie odeń powstałych przez podział, oraz zmianę co 24 g. pożywki i przenoszenie pierwotniaków do świeżego środowiska.

Ponieważ chodziło o operowanie możliwie dużymi liczbami, do każdej serji doświadczeń użyte było 96 szkiełek, umieszczonych w 8 komorach wilgotnych i rozłokowanych w jednakowych warunkach oświetlenia.

Obserwacje, oznaczone jako kontrole, przeprowadzane były zasadniczo 8 razy na dobę — co 3 godziny, stale o godz. 9, 12, 15, 18, 21, 24, 3, 6, przyczem podczas kontroli nocnych przedsiębrano zasłonięcie od światła lampy klosza, służącego za komorę dla 12 szkieł — obserwacja zaś pojedynczego szkła trwała tak krótko, że wpływ działania światła można zupełnie pominąć. Wszystkie doświadczenia wykonane zostały w miesiącach wiosennych — kwietniu, maju i czerwcu 1931 roku.

Materiał hodowlany pochodził z kultury „dzikiej”, wziętej z jednego z basenów Uniwersyteckich w marcu 1931, i należał do gatunku *Paramecium caudatum*; wymoczki, pochodzące z podziałów odseparowanego stąd osobnika, były prowadzone nadal w próbkach, jako kultury masowe, ze zmianą normalnej pożywki sianowej co 3—5 dni, przez co utrzymywała się stale wysoka zdolność podziałowa. One to dostarczały materiału do każdej serji doświadczeń, przyczem dla przyzwyczajania zwierząt do nowego środowiska, jakim była kropla na szkiełku, rozpoczynałem pierwszą kontrolę dokładnie w 24 godziny od momentu rozłokowania *Paramecium* na poszczególne szkiełka, po przeniesieniu pojedynczych osobników do świeżej pożywki.

Ponieważ wyniki poszczególnych okresów dobowych wykazywały zgodność w określonych odcinkach, upoważniło to do sumowania wyników (zestawienia), choć zdawałem sobie sprawę z różnic w każdorazowym środowisku odżywcem. Wahania ilościowe podziałów w różnych odcinkach nazywam przypadkowymi o ile noszą charakter sporadyczny, pozostawiając otwartą kwestję wywołujących je przyczyn. Niektóre wahania krzywych łączę z przebiegiem temperatury — oczywiście mając na myśli jej wpływ pośredni, więc te nieokreślone bliżej zmiany w chemizmie pożywki, które oddziałują na metabolizm pierwotniaków. Podobnie, łącząc nagłe zmiany w podzielności kultur z pożywką, chcę jedynie podkreślić ich odrębność od zauważonej prawidłowości noc — dzień.



Opis doświadczeń.

Doświadczenie I.

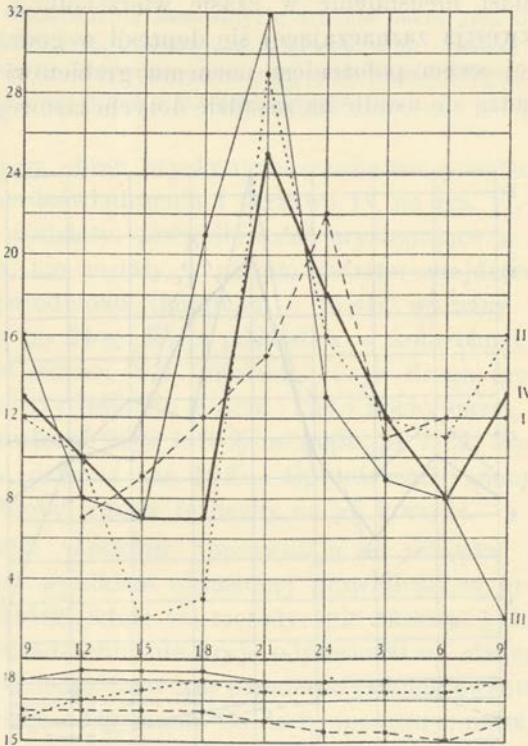
W doświadczeniu tem chodzi o ustalenie normalnego trybu podziałów *Paramecium* na przestrzeni doby; przeprowadzone ono zostało w 2 serjach, z których każda trwała 3 pełne doby. Pożywka, zmieniana codziennie o 9-ej, była używana w 48 g. od przygotowania.

Tabela I.

Kontrola <i>Kontrolle</i>	1	2	3	4	5	6	7	8	Suma <i>Totalzahl</i>	4+5+6	1+2+3 +7+8	
Czas <i>Zeit</i>	12	15	18	21	24	3	6	9	24	18—3	3—18	
Podziały — <i>Teilungen</i>	I Serja, doba 1 <i>I Serie, Tag 1</i>	7%	5%	14%	17%	22%	11%	12%	12%	138=100%	50%	50%
	" doba 2 " <i>Tag 2</i>	19%	10%	7%	9%	20%	16%	9%	10%	164=100%	45%	55%
	" doba 3 " <i>Tag 3</i>	13%	10%	10%	25%	13%	14%	11%	4%	135=100%	52%	48%
	II Serja, doba 1 <i>II Serie, Tag 1</i>	7%	9%	12%	15%	22%	11%	12%	12%	101=100%	48%	52%
	" doba 2 " <i>Tag 2</i>	10%	2%	3%	29%	16%	12%	11%	16%	122=100%	57%	43%
	" doba 3 " <i>Tag 3</i>	8%	7%	21%	32%	13%	9%	8%	2%	112=100%	54%	46%
	Ogółem <i>Totalzahl</i>	11%	7%	11%	21%	18%	12%	11%	9%	773=100%	51%	49%

Wszystkie 3 krzywe dobowe pierwszej serji (rys. 1, krzywa I, II, III) wykazują wyraźne wzniesienia i depresje, świadczące o nierównomiernym przebiegu podziałów w ciągu doby. Ogólnie biorąc, między godz. 12 i 15 zaznacza się tendencja spadkowa, od 15—18 lekki, a od 18 bystry wzrost krzywych; punkty kulminacyjne zgodnie przypadają na noc, na 21 i 24 godz., poczem następuje spadek i nieregularne wahania. Ogólne ilości podziałów w poszczególnych dobach (tab. I) wyniosły 138 (1.44 na osobnika), 164 (1.7) i 135 (1.4). Wierzchołki krzywych osiągnęły wartości

22%, 20% i 25%, punkty najniższe — 5%, 7% i 4%. Największe ilości podziałów przypadają na godziny wieczorne i nocne, co pozwala rozbić dobę na okres dzienny, trwający od 3—18 godz. i nocny 18—3. W ciągu pierwszej doby na okres nocny wypada 50% podziałów, wobec czego średnia 3 godzinna wynosi 17%, przy 10% w okresie dziennym. W drugiej dobie wartości te wy-

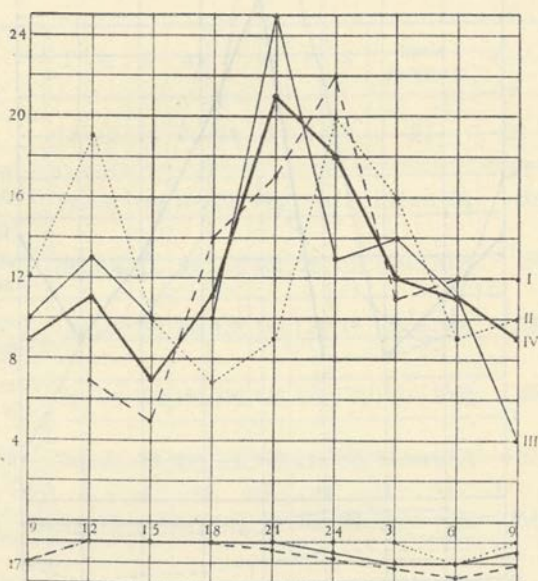


Rys. 1. Doświadczenie I; Serja I, doba I, II i III; krzywa IV daje zestawienie seryj I i II. Na osi rzędnych podziały w % sumy dobowej, na osi odciętych godziny, w których dokonano kontroli. U dołu odpowiednie krzywe temp.
 Fig. 1. I Versuch; I Serie, I, II und III Tag; IV Kurve stellt Totalergebnisse der beiden Serien des I Versuchs dar. Auf Abszisse — die Zeit der Kontrolle, auf Ordinate — die Zahl der Teilungen in % der Tagessumme dargestellt. Unten — Temperaturkurven.

noszą 15% i 11%, w trzeciej 17% i 10%. Powodem najmniej wyraźnego wyniku drugiej doby jest wysoka liczba podziałów o godz. 12-ej, wynosząca 19%; ponieważ zwiększenie liczby podziałów nastąpiło bezpośrednio po zmianie pożywki, nasuwa się przypuszczenie o jego przypadkowym charakterze. Ten „nadatowy” wydatek energii podziałowej nie pozostał zapewne bez wpływu

na wolniejszy wzrost krzywej w godzinach wieczornych i położenie nocnego wierzchołka. Jednak i tutaj niema zasadniczej różnicy w stosunku do I i III doby. Nocny spadek temperatury idzie w parze ze wzrostem ilości podziałów.

Zgodność krzywych co do istnienia maksimum nocnego i okresu wzmożonych podziałów w godz. 18—21—24 jest oczywista. Natomiast nieustalenie w czasie wierzchołków (21 czy 24 godz.?) i kwestja zaznaczającej się depresji w godz. 12—18, odpowiadającej swem położeniem nocnemu grzbietowi fali podziałowej nie dadzą się ustalić na zasadzie dotychczasowego materiału.



Rys. 2. Doświadczenie I; Serja II, doba I, II i III; krzywa IV daje zestawienie trzech pierwszych serji doświadczenia III. Oznaczenia jak na rys. 1.

Fig. 2. I Versuch, II Serie, I, II und III Tag. Die Kurve IV stellt Totalergebnisse der drei ersten Serien des III Versuchs dar. Bezeichnungen wie auf Fig. 1.

Serja druga (rys. 2, krzywa I, II i III) przeprowadzona została w identyczny sposób z pierwszą. Mimo tego różne liczby podziałów (tab. I) świadczą o różnicach w pożywce. Krzywe dobowe noszą ten sam charakter co poprzednie; ponieważ nie występują tutaj zniekształcające wpływy przypadkowe, są one jeszcze bardziej instruktywne, choć bezwzględne ilości podziałów są mniejsze, niż w pierwszej serji, wynosząc 101 (1.04 na osobnika), 122 (1.27) i 112 (1.17). Szczególniej krzywa II i III z wyraźnie zaznaczoną depresją popołudniową — nagłym wzrostem, krótkotrwałym okre-

sem nocnym wzmożonych podziałów — potwierdzają dane pierwszej serji. Wierzchołki krzywych wypadają na 21 i 24 godz. i są znacznie wyższe, osiągając 22%, 29% i 32%, wobec 7%, 2% i 2% minimumów. Popołudniowa tendencja depresyjna utrzymuje się, od 15-ej następuje wzrost przebiegający bardzo gwałtownie od 18—21, punkt odpowiadający godz. 24-ej, leży już znacznie niżej, o 3-ej krzywe znajdują się już mniej więcej na poziomie stałym. Okresami wzmożonych podziałów są odcinki 18—21—24; okres 24—3 należy właściwie do normalnych; średnie nocne (dla 3 godzin) wynoszą 16%—19%—18%, dzienne zaś 10%—9%—9%. Naogół więc noc odznacza się prawie dwukrotną przewagą podziałów; krzywe temperatury nie wykazują koincydencji z ich przebiegiem.

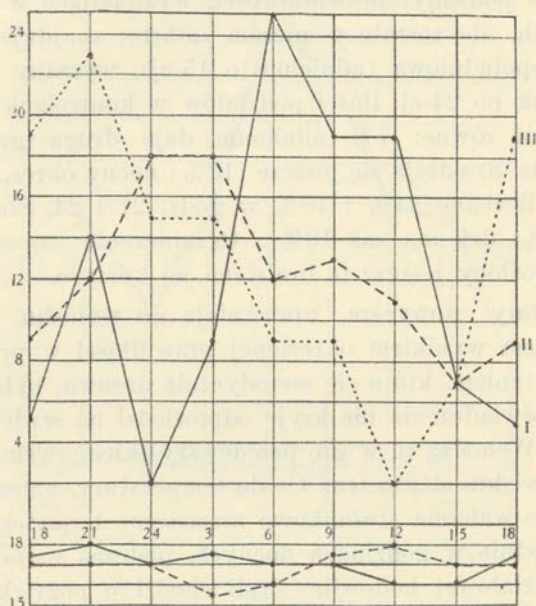
Jaśniejszy obraz uzyskanych rezultatów przedstawia zestawienie ogólne doświadczenia I (krzywa IV na rys. 1), obejmujące 6 dni i 773 podziały; prawidłowości, występujące w poszczególnych dobach, nie zostały w niczem zatarte; znajdujemy bowiem depresję popołudniową (minimum o 15-ej), wyraźny wierzchołek o 21, spadek po 24-ej; ilości podziałów w kontrolach poszczególnych są dość równe; 7% minimum daje druga (godz. 15), na szóstej (godz. 3) odbija się jeszcze (12%) nocny okres, zaznaczony wysokimi liczbami 21% i 18% w godz. 21 i 24. Średnia nocna wynosi 17%, dzienna zaś 10%. Ograniczenie „nocy” do 24-ej godz. podniosłoby jeszcze te liczby na jej korzyść.

Rezultaty powyższe uprawniają do wniosku, że przebieg krzywych jest wynikiem określonej prawidłowości w przebiegu podziałów; pytaniem, które się metodycznie nasuwa, było, czy sama technika doświadczenia nie kryje odpowiedzi na stwierdzoną prawidłowość. Wchodzą tu w grę przedewszystkiem ewentualne zmiany w środowisku odżywczem. Co do temperatury, należy podnieść, że wykazuje wahania stosunkowo nieznaczne i spadek jej występuje przeważnie w godzinach nocnych, podczas wzmożonej działalności podziałowej hodowli. Jeśli chodzi o pożywkę, to schematycznie wyobrazić sobie możemy, że np. rozwój ilościowy bakterij w kropli jest na razie nie tak silny, by umożliwić akty podziałowe pierwotniaków w znaczniejszym stopniu; okres ten reprezentowałaby depresja popołudniowa. Po pewnym czasie, wynoszącym ca. 9 godzin, rozwój bakterij może osiągnąć stopień odpowiadający optymalnym warunkom dla podziałów *Paramecium* — i dalej przekracza go, pociągając za sobą zmianę tych optymalnych warunków, wyrażającą się w spadku liczby podziałów. Na krzywej zaznacza się to odcinkiem od 24-ej godz. na

prawo. Oczywiście tłumaczenie, uwzględniające liczbę bakteryj, służy wyłącznie za schemat. W tym przypadku — dla wyniku miarodajnym byłby jedynie odcinek czasu od początku doświadczenia do wystąpienia wierzchołka, więc ca. 12 godzin. Przesuwając chwilę wyboru, osiągnąć powinniśmy przesunięcie wierzchołka.

Doświadczenie II.

W tym celu przeprowadzone zostało doświadczenie II, z wyborem pierwotniaków z hodowli masowych, przesuniętym w stosunku do poprzednich o 9 godzin — na godz. 18-g. Rezultaty przedstawia krzywa I na rys. 3; zdają się one potwierdzać wypowiedziane przypuszczenia. Ogólna ilość



Rys. 3. Krzywa pierwsza daje rezultat doświadczenia II, krzywa II — rezultat serji IV dośw. III, krzywa III — rezultat serji I dośw. IV. Oznaczenia jak na rys. 1.
 Fig. 3. Die I Kurve stellt die Ergebnisse des II Versuchs, Kurve II—die Ergebnisse der IV Serie des III Versuchs, Kurve III — die Ergebnisse der I Serie des IV Versuchs dar. Bezeichnungen wie auf Fig. 1.

podziałów 109 (1.13 na osobnika); krzywa o 21-ej osiąga poziom 14%, o 24-ej obniża się aż do 2%, od tego punktu wzrasta stromo, osiągając o 6-ej punkt szczytowy (25%); potem następuje spadek. Średnia dzienna (tab. II) wynosi 15%—nocną tylko 9%, z czego wynika, że tym razem okres dzienny zaznacza się znaczną przewagą podziałów. Z punktu widzenia jednak wy-

luszczonego wyżej, dane te są typowe; jeżeli bowiem rozpatrzmy je pod kątem tylko kolejności kontroli od początku doświadczenia, nie wiążąc ich z określonymi godzinami, zauważymy, że depresja kontroli 2 odpowiada depresji popołudniowej, zaś najbardziej intensywny okres podziałów — jak i poprzednio — przypada na kontrole 4 i 5 oraz 6, co również nie odbiega od stosunków obserwowanych uprzednio. Punkt kulminacyjny leży na 4-ej kontroli, więc tak samo w 12 godzin od początku i 12 od końca. I stosunki liczbowe są beżmala zachowane. Wprawdzie wygląd krzywej może nasuwać podejrzenie co do jej normalności, jednak rezultat ten spowodował podjęcie szeregu doświadczeń kontrolnych.

D o ś w i a d c z e n i e III.

Myślą przewodnią jego było przesunięcie czasu wyboru pierwotniaków z hodowli masowych, któreby doprowadziło do wyraźnych modyfikacyj krzywych. Dane liczbowe zawiera tabela II. Zostało ono przeprowadzone w 4 serjach; w pierwszej wyboru dokonano o godz. 12-ej, w drugiej o 15-ej, w trzeciej o 18-ej. W razie słuszności wyżej wypowiedzianych przypuszczeń, krzywe poszczególnych seryj winny wykazać odpowiednie przesunięcie w czasie charakterystycznych odcinków. Zestawiając wyniki wszystkich seryj, otrzymać winniśmy krzywą zniwelowaną na odcinku godzin 21—24—3 na poziomie, odpowiadającym wysokości punktów maksymalnych w każdej dobie. Ponieważ niektóre z otrzymanych wyników nasuwały wątpliwości, niektóre z seryj obejmują więcej niż jedną dobę. Sprawie oddziaływania samej pożywki na przebieg krzywej poświęcona jest serja czwarta doświadczenia.

Ponieważ poszczególne krzywe dobowe są bardzo jednostajne, omówimy tylko zestawienia sumaryczne każdej serji (rys. 4). Serja I (krzywa I), z wyborem o 12-ej, obejmuje 2 doby i 337 podziałów; w ciągu pierwszej doby zaszło 189 podz. (1.97 na osobnika), w drugiej 148 (1.54). Krzywa wygląda najzupełniej typowo: punkt kulminacyjny leży na wysokości 25% na godz. 21-ej; średnie nocne i dzienne wynoszą tu 17% i 10%, dla ściślejszego zaś okresu nocnego (18—24) 21.5% i 10.5%. Pojawienie się grzbietu w godz. 9—12 stoi zapewne w związku z podwyższeniem się temperatury z 20° na 23° w pierwszej dobie w czasie 6—9 godz. Równie typowy przebieg wykazuje krzywa II (rezultat II serji); w ciągu jednej doby miało tu miejsce 136 podz. (1.42). Wyboru dokonano o 15-ej. Wysoko położony wierzchołek (27%) leży na 24-ej godz.; jednak trudno tu mówić o przesunięciu, gdyż znajduje się w granicach obserwowanych wahań. Poza-

krzywa nie przedstawia szczególnych cech; średnia nocna wynosi aż 21%, dzienna — tylko 7%. Na zmniejszenie ilości podziałów w czasie 3—15 poniżej zwykłej normy zapewne wpłynęło obniżenie się temperatury z 22° na 20° i utrzymanie się jej na tym poziomie od godz. 3. W serji III dokonane były obserwacje 3 okresów dobowych; w pierwszym zaszło 253

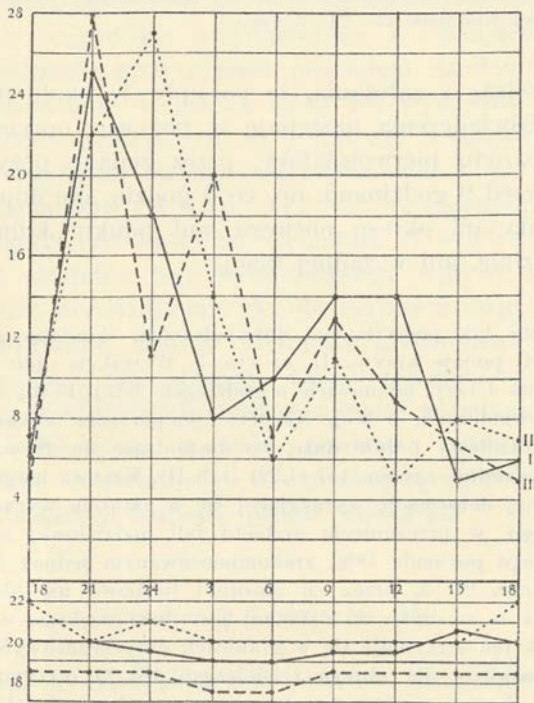
Tabela II.

Doświadczenie II <i>Versuch II</i>		Podziały Teilungen	Zeit	21(1)	24(2)	3(3)	6(4)	9(5)	12(6)	15(7)	18(8)	Suma Totalzahl	18-3	3-18
		14%		2%	9%	25%	19%	19%	7%	5%	109=100%	25%	75%	
Doświadczenie III <i>Versuch III.</i>	Serja I <i>Serie I</i>	Czas	Zeit	15	18	21	24	3	6	9	12	24	18-3	3-18
	Doba 1 <i>Tag 1</i>	Podziały Teilungen	7%	9%	26%	10%	7%	12%	15%	14%	189=100%	43%	57%	
	Doba 2 <i>Tag 2</i>		3%	3%	24%	26%	9%	7%	14%	14%	148=100%	59%	41%	
	Ogółem <i>Totalzahl</i>		5%	6%	25%	18%	8%	10%	14%	14%	337=100%	50%	50%	
	Serja II <i>Serie II</i>	Czas	Zeit	18	21	24	3	6	9	12	15	24	18-3	3-18
	Doba 1 <i>Tag 1</i>	Podziały Teilungen	7%	22%	27%	14%	6%	11%	5%	8%	136=100%	63%	37%	
	Serja III <i>Serie III</i>	Czas	Zeit	21	24	3	6	9	12	15	18	24	18-3	3-18
	Doba 2 <i>Tag 2</i>	Podziały Teilungen	26%	11%	23%	6%	18%	8%	5%	3%	62=100%	60%	40%	
	Doba 3 <i>Tag 3</i>		29%	11%	17%	8%	9%	10%	9%	7%	106=100%	57%	43%	
	Ogółem w serji III <i>Totalzahl d. III Serie</i>		28%	11%	20%	7%	13%	9%	7%	5%	168=100%	59%	41%	
Serja I+II+III <i>Serie I+II+III</i>	25%	18%	12%	8%	13%	10%	7%	7%	641=100%	55%	45%			
Serja IV <i>Serie IV</i>	Czas	Zeit	12	15	18	21	24	3	6	9	24	18-3	3-18	
	Podziały Teilungen	11%	7%	9%	12%	18%	18%	12%	13%	117=100%	48%	52%		

podz. (2.63 na osobnika) dzięki wysokiej temperaturze; nagie jednak jej wahania w granicach 24°—20°—25° wpłynęły na bezwartościowość wyników. Krzywa III przeto jest wykreślona na zasadzie 2 pozostałych okresów; rezultaty pierwszej zostały pominięte ze względu na ich wątpliwy charakter przy uchwytnej niestałości warunków zewnętrznych. Trzecia serja (2 okresy, 168 podz.) też nie wnosi nic nowego do znanych stosun-

ków; położenie wierzchołka jest typowe; w pierwszej dobie zaszło tylko 62 podz. (0.65), jednak dane liczbowe szczególnie co do średnich nocnych (20%) i dziennych (8%) są bardzo charakterystyczne. W drugiej dobie zaobserwowałem 106 podz. (1.1) — średnie wynoszą 19% i 9%.

Krzywa sumaryczna wszystkich 3 seryj dośw. III (rys. 2. krzywa IV) jest identyczna z krzywą ogólną dośw. I: wierzchołek leży na 21 godz., między 12 i 18 rozciąga się depresja; na noc przypada średnio 18% na każde 3 godziny, na dzień — 9%, a więc stosunek nieco wyższy na korzyść nocy, niż w dośw. I.



Rys. 4. Doświadczenie III; Serja I, II i III—rezultaty sumaryczne. Oznaczenia jak na rys. 1.

Fig. 4. III Versuch; I, II und III Serie — Totalergebnisse. Bezeichnungen wie auf Fig. 1.

Wyniki te potwierdzają na wszystkich punktach wnioski z przebiegu dośw. I, dając im trwalsze podstawy (11 okresów dobowych, 1414 podziałów); ponieważ zaś w żadnym przypadku nie uzyskałem zmian krzywej, upoważniającej do podejrzewania węzła przyczynowego między położeniem jej punktów krytycz-

nych w czasie, a chwilą wyboru — należy uznać za przypadkowy wynik dośw. II oraz brak związku krzywej ze zmianami w samej pożywce w tym sensie, jak to wypowiedzieliśmy uprzednio.

Jak się okazuje, podział doby na okresy przyjęte nie zupełnie odpowiada naturalnym stosunkom; w szczególności okres wzmoczonych podziałów nocnych, rozpoczynając się około 18-ej, a prawdopodobnie — między 18—19, trwa aż do 24—1, na co wskazuje wyższa niż w innych dziennych kontrolach wartość kontroli 6-ej. Zwraca też uwagę bystry wzrost ilości podziałów w okresie 18—21, gdy natomiast spadek ich po punkcie kulminacyjnym jest daleko łagodniejszy i odbywa się dwukrotnie wolniej (odcinek 21—24—3 godz.).

Wychodząc z założenia, że po upływie około 9 godzin od początku doświadczenia następuje w pożywce optimum warunków dla rozrodu pierwotniaków, przez zmianę pożywki, uskutecznaną przed 9 godzinami, np. co 6 godzin, nie dopuścilibyśmy do powstania ani okresu nocnego, ani punktu kulminacyjnego o 21-ej godzinie, ani w żadnej innej.

Rezultaty tak pomyślanego doświadczenia, składającego się na IV serję dośw. III podaje krzywa II, na rys. 3. W trakcie doby pożywka została zmieniona 4 razy, mianowicie o godzinach: 9-tej, 15-tej, 21-szej, 3-ciej. Początek doświadczenia o 9-ej. Niestety, temperatura wykazuje przebieg bardzo nieprawidłowy i dość duże, bo dochodzące do 2^o stopni wahania (18^o—16^o). Podziałów ogółem 117 (1.22) (tab. II). Krzywa uległa na odcinku nocnym pewnej deformacji, wyrażającej się w zatarciu wyraźnego punktu kulminacyjnego, w przesunięciu grzbietu fali podziałowej na czas 24—3 i w niskim jego poziomie 18%, zrekompensowanym jednak długością wysokiego odcinka 24—3, przez co stosunki liczbowe nie uległy zmianie. Średnia nocna w stosunku do dziennej jest dużo większa, wynosząc 16% i 10%. Wynik ten utrzymuje się w granicach dotychczasowych wahań liczbowych. Wprawdzie dla okresu ściślejszego 18—24 otrzymamy wartości 15 i 11.5% — lecz i one świadczą wyraźnie o zachowaniu okresu wzmoczonych podziałów. Należy też wziąć pod uwagę, że przenosząc pierwotniaki aż 4 razy na dobę do świeżego środowiska, wprowadzamy nieuniknione zaburzenia w ich normalnym trybie życia, a każdorazowa pożywka, choć brana z tej samej próbki i mniej więcej z tego samego poziomu, przy swym nieokreślonym składzie, może zawsze działać hamująco lub przyspieszająco na proces podziałów w okresie, następującym bezpośrednio po zmianie. Uwzględniając powyższe, nie można komentować wyników doświadczenia w sensie dodatnim; nie zaznacza się na krzywej bowiem ani tendencja do wyprostowania, ani też jakakolwiek okresowość, którą możnaby zestawić z okresową, 4-ro krotną zmianą środowiska odżywczego. Wystę-

puje w niej natomiast normalna okresowość dobową, wyrażoną w depresji popołudniowej, wieczornym wzroście ilości podziałów i nocnym okresie wzmózonej działalności podziałowej.

Wyniki doświadczenia III prowadzą do wniosku, że krzywa dobową nie zależy od szczególnych warunków badań; punkty krytyczne zaznaczają związek z oznaczonymi punktami kalendarza dobowego, a zjawisko rytmu zdaje się nie być funkcją czasu wogóle, lecz funkcją pory doby. Ponieważ rytmiczny przebieg krzywej wykazuje zgodność z rytmiczną zmianą światła i ciemności, przypadającą grzbietem na czas panowania ciemności nocnej, nasuwało się najprostsze przypuszczenie o hamującym działaniu światła, względnie sprzyjającym podziałom działaniu ciemności.

Przypuszczenie to jednak zgóry nie wydawało się prawdopodobne wobec istniejących w literaturze wskazówek, przemawiających wogóle za słabym oddziaływaniem w tej sprawie powyższych czynników (W o o d r u f f '05), w szczególności zaś raczej za hamującym wpływem ciemności (D e m b o w s k a '22).

Celem zbadania tego bezpośredniego wpływu światła, wykonane zostało doświadczenie IV, obejmujące 2 serje; w pierwszej z nich zastosowane zostało częściowe zaciemnienie; w drugiej trwało ono przez czas dłuższy, dla otrzymania wyraźniejszych modyfikacyj krzywych. Wybrałem metodę zaciemnienia nie zaś sztucznego oświetlenia nocnego, ponieważ ostatnie wnosiłoby nowy czynnik — światło — o charakterze aktywniejszym, niż ciemność. Rezultaty liczbowe podaje tabela III.

Doświadczenie IV.

Ponieważ w danej porze roku ciemność nocna trwa około 6 godzin, zaciemnienie w serji I zastosowano w tejże skali i to na odcinku 9—15 godz., gdyż w tym okresie występuje zwykle depresja krzywej, która powinna zniknąć w razie dodatniego oddziaływania ciemności, względnie hamującego wpływu światła. Ze względu następnie na istnienie w ciągu okresu doświadczalnego dwu odcinków poddanych działaniu jednakowego czynnika (ciemność), spodziewać się należało albo wystąpienia 2 grzbietów, albo nieprawidłowego rozszania podziałów na przestrzeni doby. (Krzywa III na rys. 3). Temperatura, poza skokiem w godz. 9—12 z 19° na 21°, utrzymuje się do 21-ej na poziomie 21°, by następnie spadać stopniowo do 6-ej do 19.5°. Skok poranny i ustalenie się na dość wysokim poziomie 21° prawdopodobnie nie pozostały bez pewnego wpływu na gwałtowny wzrost

krzywej obserwowany w godz. 15—18, rozpoczynający się już od 12 godz. i powodujący wysoki poziom bezwzględny punktu o 18-ej z jego 19%. Poza to jednak krzywa przedstawia obraz pod każdym względem typowy. Odcinek zaciemniony 9—15 nie zdradza żadnych modyfikacji, co zresztą było do przewidzenia; liczba 7% o godz. 15-ej jest najbardziej typową dla popołudniowej depresji. Wierzchołek z wartością 23% przypada na normalny termin — 21 godz.; podobnie średnie nocne 18% i dzienne 9% są zupełnie typowe. Wynik doświadczenia przemawia więc przeciwko przyjęciu bezpośredniego oddziaływania ciemności, względnie braku światła, na powstanie nocnego grzbietu fali podziałowej.

Aby osiągnąć co do tego większą pewność, w serji drugiej zastosowano zaciemnienie na większą skalę, trwające nieprzerwanie w ciągu trzech okresów dobowych (tabela III).

Ponieważ w danym przypadku chodziło o możliwie pełne wyłączenie wpływu światła, nieuniknionego podczas wykonywania częstych kontroli, ilość tych ostatnich ograniczyłem do 3 na dobę; wykonywane one były o 9-ej, 18-ej i 3-ej.

Przy tem postawieniu sprawy nie mogłem skontrolować zachowania się depresji popołudniowej. Zasadnicza jednak cecha krzywych dobowych leży w wyglądzie ich odcinka nocnego 18—3 i w stosunku liczbowym podziałów tego okresu do pozostałego. Ten właśnie moment wybrany został za sprawdzian działania ciemności. Ilość podziałów dość znaczna, wynosi w ciągu I doby 161, drugiej 202 i trzeciej 198; na jednego pierwotniaka przypada więc 1.68—2.1—2.02 podziałów. Temperatura wahała się w granicach tylko 1°. Pierwszego dnia ilości ogólne podziałów dla nocy i dnia wynoszą 51% i 49% (średnio 17% i 10%), drugiego — wyniki są jeszcze bardziej charakterystyczne 55% i 45% (średnio 18% i 8%), trzeciego nieco słabsze 48% i 52% (średnio 16% i 10%). W ciągu pierwszych dwu okresów dobowych nie zaszły najmniejsze zmiany w liczbowym ustosunkowaniu okresów nocnych i dziennych, dopiero trzecia doba zdradza tendencję do wyrównania różnic, co upatrywać można we wzroście liczby podziałów w okresie dziennym do 52%. Wzrost ten tyczy się jednak tylko pierwszego odcinka doby (9—18 godz.), zachowując w trzecim (3—9 godz.) wartość średnią taką samą, jak w poprzednich dniach — 7% — może więc łączyć się ze zmianą pożywki, nosząc charakter przypadkowy. Za tem tłumaczeniem przemawia i ta okoliczność, że stosunek liczbowy 16% do 10% sam przez się nie wykacza zupełnie poza ramy napotykanne w innych razach, a w stosunku do pierwszej doby II wykazuje takie same prawię odchylenie in plus, jak III in minus.

Rezultaty drugiej serji doświadczenia IV stwierdzają, podobnie jak i pierwszej — brak bezpośredniej zależności pomiędzy powstawaniem grzbietu fali podziałowej a nastaniem ciem-

Tabela III.

Kontrola Kontrolle	1	2	3	4	5	6	7	8	Suma Totalzahl	4+5+6	1+2+3+ +7+8
Czas Zeit	12	15	18	21	24	3	6	9	24	18-3	3-18
Serja I. Serie I.	3 = 2%	13 = 7%	33 = 19%	41 = 23%	52 = 30%		34 = 19%		176 = 100%	92 = 53%	85 = 47%
Serja II, doba 1 Serie II, Tag 1		54 = 34%			82 = 51%		25 = 15%		161 = 100%	82 = 51%	79 = 49%
Serja II, doba 2 Serie II, Tag 2		65 = 32%			112 = 55%		25 = 13%		202 = 100%	112 = 55%	90 = 45%
Serja II, doba 3 Serie II, Tag 3		75 = 38%			95 = 48%		28 = 14%		198 = 100%	95 = 48%	103 = 52%
Serja II, ogółem Serie II, To- talzahl		194 = 35%			289 = 51%		78 = 14%		561 = 100%	289 = 51%	272 = 49%

Podziaty - Teilungen

ności; normalny rytm utrzymuje się po wyłączeniu zmian świetlnych w ciągu 3 okresów dobowych. Miarodajną więc jest dlań nie zmiana światła i ciemności, lecz zmiana dnia i nocy. Dla utrzymania przypuszczenia o wpływie światła, wysunięto istnienie dziedzicznej reakcji rytmicznej w tym kierunku u roślin; jednak wyniki doświadczenia IV nie potwierdzają tego objaśnienia w stosunku do *Paramecium*. Jeśli bowiem przypuszczać, że zachowanie normalnego rytmu w ciemności jest spowodowane reakcją dziedziczną, należy wnosić, że działanie światła, które doprowadziło do wytworzenia odpowiedniej jednostki w genotypie zwierzęcia, musi być bardzo wyraźne. W takim jednak razie, niezależnie od normalnie przejawianej dziedzicznej reakcji, uwydatniającej się w powstaniu nocnego wierzchołka krzywej — musiałyby ono w jakikolwiek sposób ten dobitny wpływ zamaniestować na innych odcinkach krzywej, tam, gdzie w warunkach sztucznych zachodzi ku temu sposobność. Nie jednak podobnego w przebiegu obu seryj doświadczenia IV nie miało miejsca.

• Dyskusja wyników.

W toku pracy ustaliliśmy, że podziały *Paramecium* w kulturach indywidualnych nie są jednostajnie rozsiane na wszystkich odcinkach okresu dobowego, lecz wyróżnić tu możemy okres dzienny i nocny. W nocnym, trwającym mniej więcej od godz 18 do 1, częstość podziałów jest średnio 2 razy większa, niż w dziennym; punkt kulminacyjny zagęszczenia leży między 20 i 22 godz. Okres dzienny (3—18 godz.), prócz mniejszej częstości podziałów, wykazuje depresję popołudniową w czasie 12—15. Jak wynika z doświadczeń, obraz ten nie zależy zupełnie od chwili dokonania wyboru z hodowli masowej i od tych zmian w środowisku doświadczalnym, które zająć mogą w ciągu 24 godzin w kropli pożywki; trudno go też wiązać z temperaturą. Nie wskazują też powyższe badania na bezpośredni wpływ w tej sprawie światła. Krzywa bowiem nie wykazała żadnych modyfikacyj pod wpływem wyłączenia wszelkich zmian świetlnych, nie mówiąc o danych, znanych z literatury. Niezależność zjawiska od składu każdorazowej pożywki wynika z faktu zachowania normalnego wyglądu krzywej we wszystkich prawie doświadczeniach, mimo że minimalna

ilość podziałów osobnika w ciągu doby (0.65) i maksymalna (2.1) wykazują trzykrotną rozpiętość.

Wobec powyższego, nie wypowiadając się co do bezpośrednich przyczyn tego zjawiska, ograniczę się do określenia go terminem rytmu dobowego, gdyż przebiegiem, z którym można go związać węzłem koincydencji, jest dobowy rytm słoneczny.

Interesującym jest skonfrontowanie tych wyników ze szczupłymi danymi, jakie dostarcza literatura przedmiotu, oraz z próbami objaśnienia samego zjawiska, wysuniętymi przez Karstena (15 i 18).

Porównyując przebieg podziałów u obserwowanych przez niego alg i u *Paramecium*, widzimy daleko idącą zgodność: w obydwu przypadkach wyróżniają się okresy o mniejszej (dzienny) i większej (nocny) częstotliwości podziałów oraz wierzchołki, przypadające na godziny prawie jednakowe (21—1) i depresje (12—15). Wierzchołek nocny, aczkolwiek leży w granicach wahań, znalezionych u *Paramecium*, jest jednak jakgdyby przesunięty. W tej sprawie praca cytowana nie daje wyjaśnienia, bowiem operuje tylko jednym okresem dobowym, w którym dokonano wszystkich obserwacji. Stosunki, wykryte przez Karstena u roślin wyższych, są zasadniczo takie same, jak u jednokomórkowych i nie odbiegają od danych co do *Paramecium*.

Jedną z przesłanek o dziedzicznym charakterze zjawiska był dla niego brak rytmu w korzeniach roślin: w roku jednak 1920 Stälfelt doszedł do odmiennych wniosków. Wbrew danym Karstena i własnym z 1919 r. udało mu się stwierdzić istnienie rytmu w podziałach, zachodzących w korzonkach *Pisum sativum* o wierzchołku w godz. 9—11 i odpowiadającym mu minimum w godz. 21—23¹⁾.

Druga z przesłanek opiera się na dowiedzionym fakcie możliwości zmiany okresowości równoległe do zmian oświetlenia. Roślina jednak, jako istota, najściślej związana ze światłem całością swych funkcji życiowych, musi być na działanie jego szczególnie wrażliwa; stosowanie tego bodźca przez czas tak długi, jak to miało miejsce w doświadczeniach Karstena, wy-

¹⁾ Sprawa istnienia rytmiki podziałów w korzeniach nie jest jednak ustalona ostatecznie; Jaburek (29), polemizując ze Stälfeltem, dowodzi jej braku.

wołało np. w przypadku stałego naświetlenia, ogólne zahamowanie rozwoju roślin i to w stopniu — jak mówi autor — bardzo jaskrawym. Nie jest więc szczególnie charakterystycznym, że i normalny rytm uległ zmianie; nie da się zaprzeczyć wpływu światła na jego przesunięcie — nie mamy jednak danych do twierdzenia, że światło go wywołało. Nasuwa się natomiast przypuszczenie, że poza światłem ukrywa się inny czynnik, nieujawniony dotychczas i działający okresowo; różne nasilenie jego w różnych porach doby stwarza warunki mniej lub więcej sprzyjające aktom podziałowym komórki. Przyjęcie tego czynnika — aczkolwiek hipotetycznego, pozwala na nieuciekanie się do pomocy dziedziczności, o której istnieniu może tylko przekonać eksperyment genetyczny.

Wykrycie rytmiki, zgodnej z dotychczas znaną u roślin w świecie zwierzęcym, rozszerza zakres zjawiska i dodaje wagi tej argumentacji; trudno jest bowiem wiązać bezpośrednio wpływ światła z procesem podziałowym komórki zwierzęcej w sensie, w jakim to robią botanicy dla komórki roślinnej; *Paramecium*, odżywiające się bakteriami, nie posiada nastawienia metabolizmu na okresowe działanie światła słonecznego, jak to ma miejsce u roślin. Dla niego nie istnieje żadna okresowość, żadna zmiana w nastawieniu fizjologicznym, umożliwiająca dopuszczenie tłumaczenia *Sachs'a* o gromadzeniu energii w dzień, a wydatkowaniu w nocy; mamy zresztą w pracach *Dembowskiej* ('22) i *Woodruff'a* ('05) bezpośrednie dane, przemawiające za istnieniem hamującego wpływu nie światła, lecz odwrotnie, ciemności na sprawę podziałów pierwotniaków; w najgorszym zaś razie — za brakiem dodatniego z jej strony oddziaływania.

Wszystko to przemawia za istnieniem czynnika, posiadającego wpływ na procesy podziału komórki, niezależnie od jej roślinnego czy zwierzęcego metabolizmu, o działaniu rytmicznym, zgodnym z rytmem dnia i nocy. Ogromna różnorodność środowisk i warunków, wśród których przejawia swe działanie, przemawia za jego bardzo ogólnym charakterem. U roślin czynnik ten jest przykryty innym — światłem, którego działanie jest silne i wszechstronne; dobitnie o tem świadczy doświadczenie *Karstena* ze stale oświetlonymi kulturami *Zea Mays*.

Możliwość istnienia czynnika o postulowanym charakterze potwierdzają pewne dane faktyczne; w ostatnich czasach zwrócono uwagę na procesy elektryczne, odbywające się w środowisku atmosfery i wody, związane z jonizacją — i przebiegające okresowo. Tak np. Legendre ('22) stwierdził okresowe wahania w stężeniu jonów wodorowych w przeciągu doby w wodzie litoralnej morskiej; wahania wartości pH z 8.0 o godz. 7 rano do 8.19 w godz. 15—16 odpowiadają prawie dwukrotnej różnicy w alkaliczności środowiska, które te zjawisko może odegrywać pewną rolę w procesach biologicznych.

W świecie roślinnym zjawiskiem z wielu względów przypominającym rytm podziałowy — są ruchy nyktynastyczne; w szczególności ruchy „sennie” liści *Phaseolus*, zachodzące prawidłowo w rytmie zgodnym ze zmianą dnia i nocy. Podobieństwo tych na pozór różnych faktów tkwi w ich „autonomicznym” charakterze; ruchy liści *Phaseolus* mają bowiem zachodzić w zupełnej ciemności z wykluczeniem bezpośredniego wpływu światła. Wprawdzie Semon ('05) komentuje to zjawisko jako poparcie swej mnemonicznej teorii, upatrując w niem skutek czynników dziedzicznych, jednak nie brak i innego tłumaczenia, mającego bezpośredni związek z naszym zagadnieniem. Stoppel ('16) mianowicie, wykazuje istnienie zgodności krzywych zachowania się poszczególnych roślin na punkcie czasowego położenia najgłębszej depresji w położeniu liści, między 2 a 4 godz. w nocy; niezależność tych ruchów od parustopniowego obniżenia temperatury; zgodność z normalnym rytmem roślin, pochodzących z nasion, przywiezionych z Ameryki i Jawy (co nie mogłoby mieć miejsca w przypadku dziedziczenia) — wreszcie zestawia przebieg odnośnej krzywej z przebiegiem krzywej przewodnictwa elektrycznego atmosfery. W pracy Stoppel ('20), poświęconej stosunkom pomiędzy rośliną i atmosferyczną elektrycznością, znajdujemy, że okresowe zmiany w przewodnictwie i jonizacji atmosfery osiągają maksymalne wartości w godzinach 2—4 w nocy; ponieważ zaś wiele procesów fizjologicznych wykazuje w tym czasie charakterystyczny przebieg, wnosi autorka o istnieniu między temi faktami przyczynowego związku. Jednak związanie tak różnych zjawisk, jak oddychanie i ruchy nyktynastyczne liści lub podział komórki z przewodnictwem atmosfery, jest wobec braku dowodów eksperymentalnych czysto werbalne.

Daleko więcej prawdopodobieństwa posiada druga z wysuwanych przez Stoppel możliwości, że poza procesami biologicznymi zjawiska rytmiczne (dobowe) mają miejsce i w świecie fizycznym i że dla obu tych dziedzin należy przyjąć wspólną przyczynę.

W sprawie udziału przewodnictwa elektrycznego w procesie podziału komórki nie mamy żadnych danych pozytywnych, przeciwnie Sperlich ('22) podał w wątpliwość dane Stoppel o tyle, że pomijając samą sporną sprawę synchroniczności ruchów liści różnych osobni-

ków — stwierdził, że rośliny nie reagowały zupełnie na silniejsze niż normalnie mające miejsce — sztuczne zmiany przewodnictwa elektrycznego.

Zagadnienie rytmiki dobowej podziałów komórkowych może być ujęte z innego jeszcze punktu widzenia — z punktu widzenia rytmiki wzrostu. Rytmika ta, w odniesieniu do okresu dobowego, znana jest oddawna w świecie roślin: noc jest okresem wzmózonego wzrostu rośliny na długość — po wschodzie słońca intensywność jego gwałtownie maleje. Jak się przekonaliśmy, w osnowie tego zjawiska leży również nocny tryb podziałów komórkowych. Podobne stosunki zachodzą u zwierząt — pierwotniaków; według Schmalhausen i Synga jest wskazane (25) najbardziej intensywny wzrost *Paramecium* zaznacza się w ciągu ca. 3 godzin po akcie podziału. Ponieważ zaś w okresie nocnym 21—24 godz. fala podziałów osiąga swój punkt szczytowy — okres wzmózonego wzrostu substancji gatunkowej *Paramecium* — o ile się tak można wyrazić — przypadając w 3 godziny po nim, również — jak i u roślin — ma miejsce w nocy.

Przyczyny tej koincydencji nie są znane; czy jest to tylko przypadek, czy też skutek specjalnych przyczyn i wpływów — rozstrzygnąć mogą tylko przyszłe badania; w każdym bądź razie zjawisko rytmiki dobowej podziałów komórkowych jest jeszcze jednym dowodem, że rytm słoneczny przenika głęboko w stosunki życiowe organizmów, a pojęcie doby znajduje swój odpowiednik w procesach biologicznych nawet tak napozór odeń niezależnych, jak to miało miejsce w rozpatrywanym przypadku.

Streszczenie.

1^o. Podziały *Paramecium caudatum* w warunkach, określonych metodą pracy, nie są beładnie rozsiane na przestrzeni doby, lecz wykazują prawidłowość w tym względzie, skupiając się w określonych godzinach.

2^o. W ciągu okresu 24-ro godzinnego można wyróżnić podokres nocny, trwający od ca. 18-ej do 3 godziny (ściślej 18—1), w którym podziały zachodzą dwukrotnie częściej, niż w odpowiednim okresie czasu w innym porach doby, oraz — podokres dzienny, obejmujący czas ca. 2—18 godz., o mniejszej częstotliwości podziałów; punkt kulminacyjny zagęszczenia nocnego przypada

na godz. ca. 20—22. W okresie dziennym w godz. ca. 12—15 zaznacza się ponadto depresja.

3°. W związku z powyższym, można mówić o rytmice dobowej podziałów pierwotniaków, manifestującej się w falowym przebiegu podziałów w ciągu doby, o stałym położeniu grzbietu fali.

4°. Rytm dobowy *Paramecium* nie jest bezpośrednio zależny od zmiany światła i ciemności, jak również od parustopniowych wahań temperatury, oraz specyficznych warunków hodowli, pojętych jako ew. zmiany w kropki pożywki, będących funkcją czasu wogóle.

5°. Jest on niezależny, przynajmniej w pewnym stopniu, od ilości podziałów, dokonanych w ciągu doby przez jednego osobnika, a co za tem idzie — od tych ogólnych warunków środowiska, które powodują nierównomierność tempa podziałów. Niezależność powyższa została stwierdzona w granicach 0.65—2.1 podziałów w ciągu doby.

6°. Rytmika dobową podziałów zależna jest, jak się zdaje, od zmiany dnia i nocy, występując w warunkach nieprzerwanego, 3 dobowego zaciemnienia.

7°. Zjawisko to zasadniczo przebiega analogicznie u roślin jednokomórkowych — i jak się zdaje — tkankowych (K a r s t e n i inni).

8°. Hodowle indywidualne *Paramecium*, rozpatrywane jako całość, w związku z nocnym nasileniem procesów podziałowych, przedstawiają analogję do roślin w sprawie nocnego trybu wzmożonego wzrostu.

9°. Fakty powyższe czynią prawdopodobnem istnienie hipotetycznego czynnika, nie wykrytego dotychczas, oddziałującego rytmicznie na przestrzeni doby na proces podziału komórek pierwotniaków o roślinnej i zwierzęcej przemianie materji; większe nasilenie jego nocą stwarza warunki, sprzyjające aktom podziałowym.

Piśmiennictwo *).

- Austin M. 1927. Studies on *Uroleptus mobilis*. Journ. of exp. Zool. 49. Beers C. Dale. 1928. Rhythmus in Infusoria, with special reference *Didinium nasutum*. Journ. of exp. Zool. 51. Blochmann F. 1894. Ueber die Kernteilung bei *Euglena*. Biol. Zentralbl. 14. Botsford E. 1922. Rhythmus in the rate of reproduction of *Amoeba bigemma*. Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 19. Buetschli O. 1889. Bronn's Klassen und Ordnungen Tierreichs. I. B. Protozoa. Leipzig. Calkins G. 1915. *Didinium nasutum* — the life history. Journ. of exp. Zool. 19. Calkins G. 1919. *Uroleptus mobilis*. II. Renewal of vitality through conjugation. Journ. of exp. Zool. 29. Calkins G. 1920. *Uroleptus mobilis*. III. Study in vitality. Journ. of exp. Zool. 31. Chejfec M. 1928. Przebieg reorganizacji jądrowej u *Paramecium caudatum*. Acta Biol. Exper. 2. Chejfec M. 1930. Długość życia *Paramecium caudatum* w związku z odżywianiem. Acta Biol. Exper. 4. Dahlgren O. 1920. Zur Embryologie der Kompositen. Zeitschr. für Bot. 12. Dawson J. 1926. The life cycle of *Histrio complanatus*. Journ. of exp. Zool. 46. Dembowska S. 1922. Wpływ światła barwnego na tempo mnożenia się *Paramecium caudatum*. Prace Zakł. Biol. Ogólnej Instytut. im. Nenckiego. 1. Doflein F. und Reichenow E. 1929. Lehrbuch der Protozoenkunde. Jena 5 Aufl. Greenleaf W. 1926. The influence of volume of culture medium and cell proximity on the rate of reproduction of Infusoria. Journ. of Exp. Zool. 46. Gurvitsch A. 1911. Untersuchungen über den zeitlichen Faktor der Zellteilungen. Archiv. f. Entw.-mech. 32. Hargitt G. and Fray W. 1917. The growth of *Paramecium* in pure cultures of bacteria. Journ. of Exp. Zool. 22. Jaburek. 1929. Ueber die zeitlichen Verhältnisse der Mitosen im wachsenden Gewebe. Acta Biol. Exper. 3. Jost L. und Benecke W. 1923. Vorlesungen über Pflanzenphysiologie. 2. Jena, 4 Aufl. Junker H. 1925. Ueber d. Wirksamkeit verdünnten Substanzen auf *Paramecium*. Biol. Zentralbl. 45. Karsten G. 1915. Ueber die Tagesperiode der Kern- und Zellteilungen. Zeitschr. f. Bot. 7. Karsten G. 1918. Ueber die Tagesperiode des Kern- und Zellteilungen. Zeitsch. f. Bot. 10. Kaufmann. 1914. Ueber den Entwicklungsgang von *Cylindrocystis*. Zeitschr. f. Bot. 6. Kniep H. 1917. Beiträge zur Kenntnis der *Hymenomyces*. Zeitschr. f. Bot. 9. Kornfeld W. 1922. Ueber Zellteilungsrythmus. Archiv. f. Entw.-mech. 50. Lang A. 1921. Handbuch der Morphologie der wirbellosen Tiere. I Band. Protozoa. Jena. Lauterborn. R. 1895. Kern- und Zellteilung von *Ceratium hirundinella*. Zeitschr. f. wiss. Zool. 59. Legendre. 1922. Variations diurnes de la concentration en ions hydrogène de l'eau de mer littorale. C. R. Acad. Sc. 175. Ludwig W. 1928. Ueber den funktionellen Zusammenhang zwischen Populationsdichte, Nahrungsdichte und Teilungsrate bei Protisten. Biol. Gen. 4. *) Lutmann

*) Prace oznaczone gwiazdką znane są tylko z referatów.

B. 1911. Cell and Nuclear division in *Closterium*. Bot. Gaz. 51. Munk M. 1928. Theoretische Betrachtungen über die Ursachen der Periodizität. Biol. Zentralbl. 34. Myers E. 1927. Relation of density of population and certain other factor to survival and reproduction in different biotypes of *Paramecium caudatum*. Journ. of. exp. Zool. 49. Philipps R. 1922. The growth of *Paramecium* in infusions of known bacterial content. Journ. of. exper. Zool. 36. Richards O. and Dawson J. 1927. The analysis of the division rates of Ciliates. Journ. of Gen. Physiol. 10. Schmalhausen und Syngajewskaja. 1925. Studien über Wachstum und Differenzierung. Die Individualwachstumskurve von *Paramecium*. Arch. f. Entw.-mech. 55. Semon R. 1905. Ueber die Erbllichkeit der Tagesperiode. Biol. Zentralbl. 25. Sorokina M. 1925. Ueber Synchronismus der Zellteilungen. Arch. f. Entw.-mech. 35. *) Stalfelt M. 1920. Ein neuer Fall von Tagesperiodischen Rhythmus. Svensk. bot. Tidsk. 14. Stoppel R. 1916. Die Abhängigkeit der Schlafbewegungen von *Phaseolus multiflorus* von verschiedenen Aussenfaktoren. Zeitschr. f. Bot. 8. Stoppel R. 1920. Die Pflanze in ihrer Beziehung zur atmosphärischen Elektrizität. Zeitschr. f. Bot. 12. Strassburger. 1875. Zellbildung und Zellteilung. Jena. Woodruff L. 1905. An experimental study on the life-history of Hypotrichous Infusoria. Journ. of Exper. Zool. 2. Woodruff L. 1917. The influence of general environmental conditions on the periodicity of endomixis in *Paramecium aurelia*. Biol. Bull. 31. Woodruff L. 1917. Rhythms and endomixis in various races of *Paramecium aurelia*. Biol. Bull. 33. Woodruff L. and Baitzell G. 1911. The reproduction of *Paramecium aurelia* in a constant culture medium of beef extract. Journ. of. exp. Zool. 11. Woodruff L. and Baitzell G. 1911. The temperature coefficient of the rate of reproduction of *Paramecium aurelia*. Amer. Journ. of Physiol. 29. Woodruff L. and Erdmann. 1914. A normal periodic reorganisation process without cell fusion in *Paramecium*. Journ. of exp. Zool. 17. Young R. 1918. The relation of rhythms and endomixis their periodicity and synchronisms in *Paramecium aurelia*. Biol. Bull. 35.

Wilno, dn. 15.VI.1932 r.



Acta Biologiae Experimentalis

Wskazówki dla autorów:

Do druku są przyjmowane nieogłoszone dotychczas w obcych czasopismach naukowych prace, wykonane w polskich lub zagranicznych zakładach badawczych. Rękopisy (pisane po polsku, ze streszczeniem w jednym z czterech języków kongresowych, nie przekraczającym 10% tekstu polskiego, lub też pisane w języku obcym, z odpowiednim streszczeniem polskim) nie powinny w zasadzie przekraczać objętości **jednego arkusza** druku. Rękopisy winny być pisane możliwie zwięźle, zupełnie czytelnie (lepiej — maszynowo na interlinji, zaś tekst obcojęzyczny obowiązkowo na maszynie), z marginesem, na jednej stronie kartek (jednokowej wielkości), z zakreśleniem ustępów mniej ważnych (historja zagadnienia, kwestje metodyczne i techniczne, protokoły doświadczeń, spis piśmiennictwa), które będą drukowane *petitem*.

Autorowie są proszeni o nadsyłanie rękopisów w redakcji ostatecznej, wyłączonej poważniejsze zmiany lub uzupełnienia tekstu w czasie korekty.

Uprasza się o przestrzeganie w układzie rękopisu następującej kolejności: 1^o, nazwa zakładu, w którym praca została wykonana; 2^o, imię (lub lepiej — tylko inicjały) i nazwisko autora; 3^o, tytuł pracy możliwie krótki i ściśle odpowiadający treści w języku polskim i poniżej — w języku obcym; 4^o, streszczenie w jednym z języków kongresowych (jako wzór — komunikaty w C. R. Soc. de Biol.); 5^o, tekst polski; 6^o, polskie streszczenie głównych wyników, o charakterze obiektywnym i w formie, dającej się bezpośrednio zużytkować w czasopismach bibliograficznych; 7^o, piśmiennictwo; 8^o, objaśnienie rysunków w tablicach pozatekstowych (w dwu językach).

Podkreślenia: 1^o, **rozdziały pracy** — trzema linjami ciągłymi (*petit tusty*); 2^o, **NAZWISKA AUTORÓW W TEKŚCIE** — dwiema linjami ciągłymi (*kapitaliki*); 3^o, **ustępy tekstu o charakterze wniosków** — jedną linią przerywaną (tekst spacjaowany); 4^o, **nazwy tacińskie** w tekście (rodzaje i gatunki zwierząt i roślin, nazwy anatomiczne) oraz **tekst obcojęzyczny w tabelach liczbowych, w objaśnieniach rysunków** w tekście i do tabel pozatekstowych — jedną linią falistą (*kursywa*).

Cytaty: po nazwisku autora, cytowanego w tekście, należy umieścić w nawiasach dwie ostatnie cyfry roku wydania pracy, poprzedzone przecinkiem u góry; np: GODLEWSKI ('91).

Tabele liczbowe: na oddzielnych kartkach (tego samego formatu, co rękopis), z nagłówkami ogólnymi i kolumnowymi w dwu językach, ułożone oszczędnie (należy unikać kolumn mało wypełnionych), numeracja rzymska.

Rysunki: reprodukcja wyłącznie cynkofotograficzna (kreskowa lub siatkowa), jednobarwna; liczba rysunków możliwie ograniczona; wielkość nieprzekraczająca — po zmniejszeniu (najlepiej do $\frac{2}{3}$) — 50 cm². Objasnienia do rysunków w tekście (dwujęzyczne) na oddzielnych kartkach — wklejonych w odpowiednie miejsca rękopisu.

Piśmiennictwo, ułożone w porządku alfabetycznym, nazwisk autorów, w formie, przyjętej w bibliografji: 1^o, nazwisko i inicjały imion autora (potrójne podkreślenie); 2^o, rok wydania pracy lub książki (cyfra pełna); 3^o, pełny tytuł publikacji; 4^o, skrócony tytuł czasopisma; 5^o, tom (cyfry arabskie, potrójne podkreślenie); 6^o, pierwsza strona pracy (w nawiasie). Np.: Nencki M. und J. Zaleski. 1901. Über die Bestimmung des Ammoniaks in tierischen Flüssigkeiten und Geweben. Zeitschr. physiol Chem. 33 (193), Opera Omnia 2 (806).

Autorowie otrzymują 60 odbitek pracy gratis. Odbitki nadliczbowe można nabyć w cenie kosztu (arkusz druku — ok. 45 gr., okładka — 10 gr.) za uprzednim zamówieniem, które należy nadesłać wraz z pierwszym arkuszem korekty.



Drukarnia i Litografia
JAN COTTY
w Warszawie, Kapucyńska 7.