

Instytut Fizyki UMCS

Zespół Biofizyki

Kierownik: doc. dr hab. Jadwiga Skierczyńska

Jadwiga SKIERCZYŃSKA, Jan SIELEWIESIUK,
Anna PRZYGODZKA, Mirosława WAWRZYSZUK,
Ryszard ŻOŁNIERCZUK*

Pomiary oporu właściwego soku komórek *Characeae*

Измерения удельного сопротивления сока клеток *Characeae*

The Measurements of the Specific Resistance of the Cell Sap of *Characeae*

Pomiary oporu właściwego soku komórkowego (ρ) wykonane zostały w związku z prowadzonymi przez nas badaniami własności elektrycznych komórek *Characeae*. Znajomość ρ była konieczna do dokładnego określania wartości oporu błony komórkowej metodą elektrod zewnętrznych oraz wyjaśnienia zaobserwowanych niejednoznaczności w wartościach oporu podłużnego (R_l) przy pomiarach prądem stałym i zmiennym [2]. O pomiarach wartości oporu właściwego soku komórek *Characeae* w znanych nam publikacjach są tylko wzmianki [1, 4, 5].

BADANY MATERIAŁ I METODA POMIARU

Badania przeprowadzono na międzywęzłowych komórkach *Nitellopsis obtusa*, pochodzących z hodowli laboratoryjnej założonej w sierpniu 1971 r.

Jedną serię pomiarów ρ wykonano w listopadzie 1971 r., a drugą i trzecią w marcu i kwietniu 1972 r.

Wartość ρ soku komórkowego określano bądź (I) wyciskając uprzednio sok z komórki, bądź (II) mierząc wielkość oporu podłużnego (R_l) żywej komórki**.

Pomiar oporu właściwego soku wyciśniętego z komórki przeprowadzono metodą porównania oporu soku z oporem 0,1N roztworu KCl (w temp.

* Pracownik WSI w Lublinie.

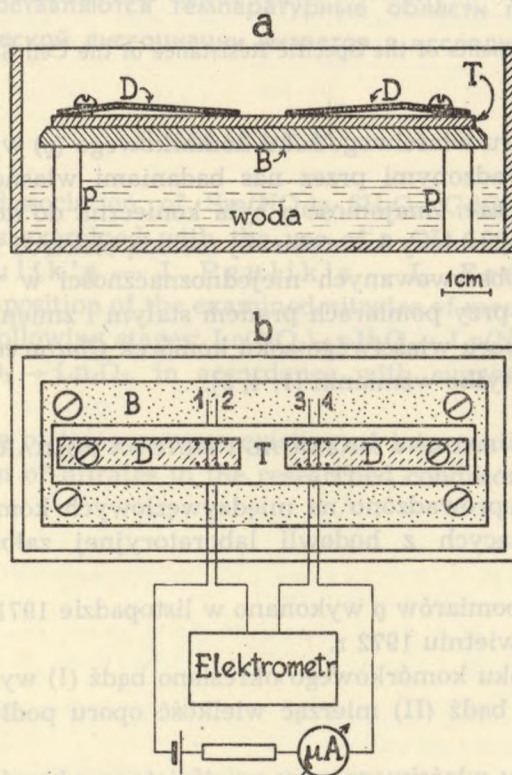
** Terminem „opór podłużny” określany jest opór, jaki stawia prądowi elektrycznemu przepływającemu wzdłuż wnętrza komórki odcinek jej o długości 1 cm.

25°C $\rho_{\text{KCl}} = 77,57 \Omega\text{cm}$). Jeżeli warstewka soku komórkowego i warstewka roztworu KCl mają jednakowe wymiary i ich opory elektryczne oznaczamy odpowiednio R i R_{KCl} , to opór właściwy soku wyrazi się wzorem

$$\rho = \rho_{\text{KCl}} \frac{R}{R_{\text{KCl}}}$$

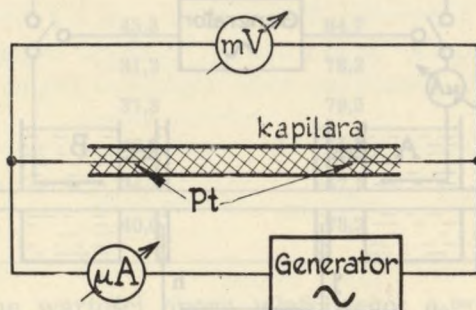
Pomiary oporu cieczy (wyciśniętego z komórki soku i wzorcowego roztworu KCl) przeprowadzono dwiema metodami:

(1a) Badaną cieczą nasycano wąski (szerokości ~ 1 mm) uprzednio czysto wypłukany w destylowanej wodzie, pasek papieru chromatograficznego. Pasek ten kładziono na teflonowej płytce umieszczonej w naczyniu napelnionym nasyconą parą wodną (ryc. 1a). Pomiar oporu przeprowadzano prądem stałym ($0,1 \mu\text{A}$), stosując cztery elektrody Ag/AgCl (ryc. 1b). Opór wejściowy elektrometru wynosił $10^{10} \Omega$.



Ryc. 1. Zestaw do pomiaru oporu soku komórkowego prądem stałym przy zastosowaniu czterech elektrod: a — widok komory pomiarowej z boku, T — płytka teflonowa, D — sprężynujący uchwyt, B — stolik z bakelitu, P — nóżki z pleksi, C — pudełko z pleksi; b — widok komory pomiarowej z góry: 1, 2, 3, 4 — elektrody Ag/AgCl

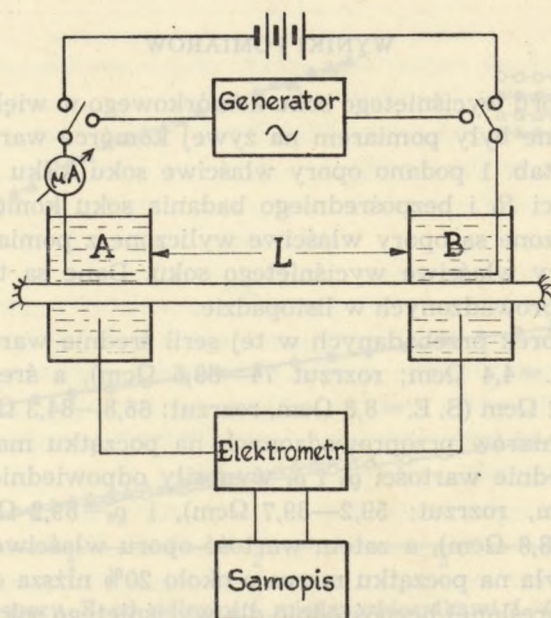
(Ib) Badaną ciecz wprowadzano do wąskiej kapilary o średnicy od 0,2 do 0,5 mm. Pomiar oporu przeprowadzano prądem zmiennym o częstościach 500 Hz i 1000 Hz, stosując dwie elektrody platynowe (ryc. 2). Odległość między końcami elektrod określana była katetometrem.



Ryc. 2. Schemat zestawu do pomiaru oporu soku komórkowego prądem zmiennym przy użyciu platynowych elektrod

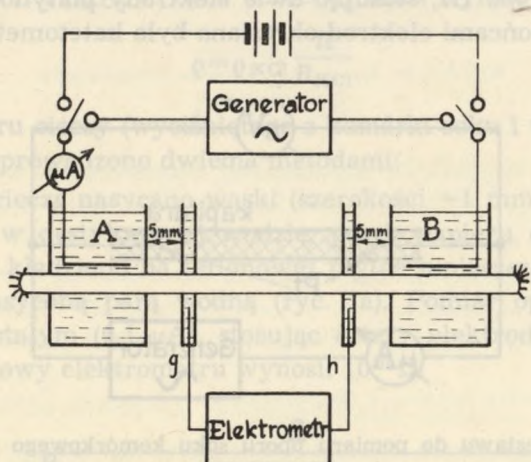
(II) Opór podłużny R_i mierzony był następującymi metodami:

(IIa) Metodą rozsuwanych naczyń prądem stałym bądź zmiennym (ryc. 3).



Ryc. 3. Schemat zestawu do pomiaru R_i metodą dwu rozsuwanych naczyń A i B (L zmieniano w granicach 0,1—40 mm)

(IIb) Metodą czterech naczyń, z elektrodami Ag/AgCl, prądem stałym bądź zmiennym (ryc. 4).



Ryc. 4. Schemat zestawu do pomiaru R_i elektrodami zewnętrznymi metodą czterech naczyń

Zasada pomiaru oporu R_i powyższymi metodami została dokładnie opisana w jednej z naszych uprzednich prac [3].

WYNIKI POMIARÓW

Pomiary oporu wyciśniętego soku komórkowego w większości przypadków poprzedzane były pomiarem na żywej komórce wartości R_i prądem zmiennym. W tab. 1 podano opory właściwe soku kilku komórek otrzymane z wartości R_i i bezpośredniego badania soku komórkowego. Symbolem ϱ_i oznaczone są opory właściwe wyliczone z pomiarów R_i , symbolem ϱ_0 — opory właściwe wyciśniętego soku. Dane są typowe dla serii pomiarów przeprowadzonych w listopadzie.

Dla 12 komórek przebadanych w tej serii średnia wartość ϱ_0 wynosiła 79,8 Ωcm (S. E.=4,4 Ωcm ; rozrzut 74—88,5 Ωcm), a średnia wartość ϱ_i była równa 77,2 Ωcm (S. E.=8,8 Ωcm , rozrzut: 66,8—84,3 Ωcm).

W serii pomiarów przeprowadzonych na początku marca przebadano 8 komórek. Średnie wartości ϱ_0 i ϱ_i wynosiły odpowiednio: $\varrho_0=76,5 \Omega\text{cm}$ (S. E.=11,9 Ωcm , rozrzut: 59,2—89,7 Ωcm), i $\varrho_i=59,2 \Omega\text{cm}$ (S. E.=10,4, rozrzut 35,1—68,6 Ωcm), a zatem wartość oporu właściwego wyliczona z pomiarów R_i była na początku marca o około 20% niższa od wartości rzeczywistej, tj. określonej bezpośrednio dla wyciśniętego soku.

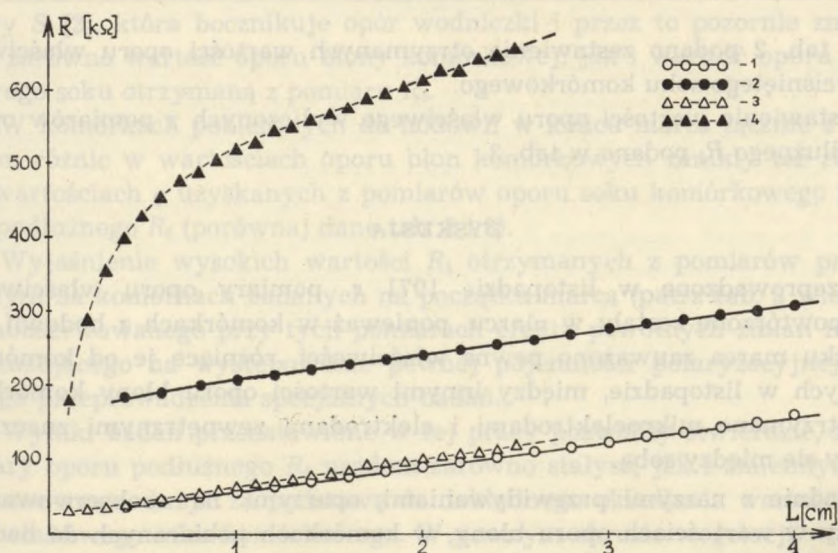
Z badań przeprowadzonych na 6 komórkach pobranych z hodowli w końcu marca otrzymaliśmy — podobnie jak dla komórek badanych w lis-

Tab. 1. Porównanie wartości oporu właściwego wyciśniętego soku komórkowego (ρ_0) z wartościami wyliczonymi z pomiarów R_i prądem zmiennym ρ_i

Nr komórki	R_i (k Ω cm)	ρ_i (Ω cm)	ρ_0 (Ω cm)
13	43,3	84,7	78,5
14	31,3	78,2	77,1
15	37,3	79,5	83,3
16	46,0	75,1	82,0
17	34,3	67,1	78,2
18	40,0	78,2	74,9

topadzie — zgodne wartości oporu właściwego: $\rho_0=60,9 \Omega$ cm (S. E.= $=3,1 \Omega$ cm, rozrzut 58,3—67,3 Ω cm), $\rho_i=57,4 \Omega$ cm (S. E.= $=3,5 \Omega$ cm, rozrzut 52,9—63,9 Ω cm).

W przypadku komórek pobieranych z hodowli w początku marca zauważono podczas pomiarów oporu podłużnego R_i prądem stałym metodą czterech naczyń (wyniki nie zamieszczone w tabelach), że w miarę przepływu prądu napięcie na elektrodach $g h$ (ryc. 4), a zatem i wartość R_i co-



Ryc. 5. Zależność oporu R od odległości między zbiornikami L (patrz zestaw na ryc. 3) dla komórki z listopadowej serii pomiarów (1 — prąd stały, 2 — prąd zmienny) i komórki z marcowej serii pomiarów (3 — prąd stały, 4 — prąd zmienny). Miara R_i jest współczynnik kierunkowy odpowiedniej prostej

raz bardziej wzrasta, natomiast po wyłączeniu prądu na elektrodach CD powstaje pewna różnica potencjałów, która bardzo powoli maleje do wartości zerowej. Pomiary oporu podłużnego tych komórek prądem stałym metodą naczyń rozsuwanych dały wartości R_i znacznie różniące się od otrzymywanych tą metodą przy zastosowaniu prądu zmiennego.

Podane na ryc. 5 wartości R wyliczono z napięć wytwarzanych przez jednosekundowe impulsy prądu stałego. Kolejne impulsy prądu stałego (jednokierunkowego) podzielone były impulsami prądu zmiennego.

Tab. 2. Wartości oporu właściwego wyciśniętego soku komórkowego

Czas badania	Liczba komórek	Metoda	R_0 (Ωcm)	S. E. (Ωcm)	Rozrzut (Ωcm)
listopad	17	papier chromat.; prąd stały	78,5	5,2	71,8—88,5
	10	kapilara; prąd zm.	78,9	7,2	71,2—93,3
początek marca	8	papier chromat.; prąd stały	76,5	9,8	59,2—89,7
koniec marca	7	papier chromat.; prąd stały	62,4	4,5	58,3—71,7

W tab. 2 podano zestawienie otrzymanych wartości oporu właściwego wyciśniętego soku komórkowego.

Zestawienie wartości oporu właściwego wyliczonych z pomiarów oporu podłużnego R_i podano w tab. 3.

DYSKUSJA

Przeprowadzone w listopadzie 1971 r. pomiary oporu właściwego soku powtórzone zostały w marcu, ponieważ w komórkach z hodowli na początku marca zauważono pewne właściwości, różniące je od komórek badanych w listopadzie, między innymi wartości oporu błony komórkowej otrzymane mikroelektrodami i elektrodami zewnętrznymi znacznie różniły się między sobą.

Zgodnie z naszymi przewidywaniami, opartymi na zaobserwowanej różnicy w wartościach oporu błony, w komórkach pobieranych do badań na początku marca wartości oporu właściwego soku otrzymane z pomiarów R_i prądem zmiennym okazały się niższe od wartości otrzymanych dla wyciśniętego soku komórkowego. Wynik ten przemawia za wysuniętą przez nas koncepcją istnienia w błonie komórkowej przewodzącej war-

Tab. 3. Wartości oporu właściwego (ϱ_i) wyliczone z pomiarów oporu podłużnego (R_i)

Nr serii	Czas badania	Liczba komórek	Metoda	R_i (k Ω /cm)	ϱ_i śr. (Ω cm)	SE (Ω cm)	Rozrzut (Ω cm)
1.	listopad	12	czterech naczyń; prąd zmienny	40,9	77,2	8,8	66,8—84,3
2.	początek marca	5	rozsuw. naczyń; prąd stały	99,2	142,7	35,6	43,7—211,9
			rozsuw. naczyń; prąd zmienny (mostkowo)	37,4	53,2	3,9	38,7—60,8
		8	czterech naczyń; prąd zmienny (z prawa Ohma)	36,2	58,6	...	34,2—68,6
3.	koniec marca	6	rozsuw. naczyń; prąd stały	34,4	60,2	2,2	48,1—86,4
			rozsuw. naczyń; prąd zmienny	33,7	59,3	2,4	35,6—86,7
		8	czterech naczyń; prąd stały	36,7	59,9	6,7	53—71,7

stwy S [2], która bocznikuje opór wodniczki i przez to pozornie zmniejsza zarówno wartość oporu błony komórkowej, jak i wartość oporu właściwego soku otrzymaną z pomiaru R_i .

W komórkach pobieranych do hodowli w końcu marca łącznie z zaniemienieniem różnic w wartościach oporu błon komórkowych zanikły też różnice w wartościach ϱ uzyskanych z pomiarów oporu soku komórkowego i oporu podłużnego R_i (porównaj dane tab. 2 i 3).

Wyjaśnienie wysokich wartości R_i otrzymanych z pomiarów prądem stałym na komórkach badanych na początku marca (patrz tab. 3 wiersz 2) i zaobserwowanego przy tych pomiarach efektu powolnych zmian napięć, wskazującego na występowanie pewnej pojemności polaryzacyjnej, wymaga przeprowadzenia specjalnych badań.

Wyniki badań przedstawione w tej pracy pozwoliły stwierdzić, że pomiary oporu podłużnego R_i prądem zarówno stałym, jak i zmiennym, nie zawsze mogą służyć za podstawę do dokładnego określania wartości oporu właściwego soku komórkowego. W pewnym okresie wegetacji wartości ϱ uzyskane z pomiarów oporu podłużnego R_i prądem zmiennym są o około 20% niższe od rzeczywistych, tj. określonych bezpośrednio dla wyciśniętego soku, natomiast uzyskane z pomiarów R_i prądem stałym — o przeszło 100% wyższe (porównaj dane tab. 2 i wiersz 2 tab. 3).

Poczynione przez nas obserwacje wykazują ponadto, że komórki *Characeae* mogą znajdować się okresowo w stanie różnym od stanu dotychczas przez nas badanego [3] i właściwego komórkom, które badaliśmy w listopadzie i w końcu marca. Cechy wyróżniające ten stan to znaczne różnice w wartościach oporu błony określanego metodą mikroelektrod i elektrod zewnętrznych, brak efektu zmniejszania się oporu podłużnego na zanurzonych odcinkach komórki, niższa o ok. 20% od normalnej wartość R_i dla prądu zmiennego i wysoka wartość R_i dla prądu stałego oraz występowanie przy przepływie wzdłuż komórki prądu stałego efektów wskazujących na istnienie pewnej pojemności polaryzacyjnej.

PIŚMIENNICTWO

1. Oda K.: Sci. Rep. Tohoku Univ. Ser. IV (Biol) 27, 187 (1961).
2. Skierczyńska J., Żoźnierczuk R., Śpiewła E., Bulanda W., Przygodzka A.: J. exp. Bot. 23, 591 (1972).
3. Skierczyńska J., Śpiewła E., Bulanda W., Żoźnierczuk R., Sielewiesiuk J.: J. exp. Bot. 24, 47 (1973).
4. Stacy R. W., Williams D. T., Worden R. E., McMorris R. O.: Biological and Medical Physics. McGraw — Hill Book Company. New York—Toronto—London 1955.
5. Walker N. A.: Austr. J. Biol. Sci. 13, 468 (1960).

РЕЗЮМЕ

Удельное сопротивление клеточного сока клеток *Characeae* определялось на основе измерения продольного сопротивления (R_i) при помощи постоянного или переменного тока на живых клетках и измерялось непосредственно после удаления сока из клеток.

Результаты свидетельствуют о том, что в определенный период вегетации растений измерения R_i дают величины удельного сопротивления значительно отличающиеся от полученных непосредственно.

Авторы дают свою интерпретацию этого эффекта.

SUMMARY

The specific resistance of the cell sap of *Characeae* was calculated from the measurements of the longitudinal resistance (R_i) on the live cells with d. c. and a. c. and was measured directly on the squeezed sap.

The investigations indicated, that in a certain period of plant vegetation, the value of the specific resistance obtained by R_i measurements differed greatly from that obtained directly.

The explantation of the effect was presented.