

ANNALES
UNIVERSITATIS MARIAE CURIE-SKŁODOWSKA
LUBLIN — POLONIA

VOL. XXIII, 29

SECTIO AA

1968

Z Katedry Fizyki Ogólnej Wydziału Mat. Fiz. Chem. UMCS
Kierownik: doc. dr Danuta Stachórska

Władysław BULANDA, Jadwiga SKIERCZYŃSKA,
Wojciech ZARĘBSKI

**Opór i pojemność błon komórek *Nitella mucronata* i *Nitellopsis obtusa*
z pomiarów mostkiem RC**

Сопротивление и емкость мембран клеток *Nitella mucronata* и *Nitellopsis obtusa*,
определенные мостиком измерения сопротивления и емкости

Measurements of Resistance and Capacity of the Cell Membrane
of *Nitella mucronata* and *Nitellopsis obtusa* by the RC Bridge

Celem pracy było określenie wartości oporu elektrycznego (R) i pojemności elektrycznej (C) warstw otaczających wodniczkę komórek *Nitella mucronata* i *Nitellopsis obtusa* oraz przebadanie zaobserwowanej zależności R i C od częstości stosowanego prądu [8].

Wartości tych parametrów elektrycznych, mimo iż wielu autorów zajmowało się ich badaniem, nie zostały dotychczas jednoznacznie wyznaczone. Wartość na przykład oporu, otrzymana z pomiarów metodą elektrod zewnętrznych i wewnętrznych [4—7, 11, 13], zawiera się w granicach od 5 do 50 $k\Omega \text{ cm}^2$ i jest o cały rząd wielkości niższa od wartości oporu wyliczonej z natężenia strumienia radioaktywnych jonów przenikających do komórki [9, 10]; również wartość pojemności określana była w wielu pracach tak przy zastosowaniu elektrod zewnętrznych [2, 3], jak i wewnętrznych [6, 12] i wynosi od 1 do 2 $\mu\text{F}/\text{cm}^2$; natomiast Bennett i Rideal otrzymali pojemność równą 0,005 $\mu\text{F}/\text{cm}^2$ [1].

Należy podkreślić, że znajomość rzeczywistych wartości R i C jest bardzo istotna przy wyjaśnianiu procesu przenikania jonów do wnętrza komórki.

BADANY MATERIAŁ

Badanym materiałem były komórki *Nitella mucronata* (Braun) i *Nitellopsis obtusa* (Desv. in Lois) J. Gr. Glony *Nitellopsis obtusa*

pobrano do badań wprost z jezior. Glony *Nitella mucronata* pochodzili z hodowli laboratoryjnej; hodowlę założono w sierpniu 1967 r., a opisane pomiary przeprowadzono we wrześniu 1968 r.

Wszystkie pomiary wykonano na komórkach międzywęzłowych; odcinano je od sąsiednich międzywęzłowych i „niby-liściowych” komórek, pozostawiając tylko na końcach małe skupiska komórek węzłowych. Długość badanych komórek wynosiła od 2 do 4 cm, średnica od 0,3 do 0,5 mm.

METODA BADAŃ

Opór i pojemność komórek określano za pomocą mostka RC (ryc. 1A), stosując elektrody zewnętrzne. Do kontaktu z komórką używano roztworu o składzie: K — 0,1 mN, Na — 1,0 mN, Ca — 0,2 mN, Cl — 1,3 mN. Roztwór ten wypełniał dwa zbiorniczki, w których umieszczano końce badanej komórki, i połączony był z układem pomiarowym poprzez półogniwa Ag/AgCl.

Przez jeden koniec komórki prąd wpływał do jej wnętrza, przez drugi — wypływał. Badany opór (także pojemność) był sumą dwu szeregowo połączonych oporów (pojemności) powierzchni zetknięcia komórki z roztworem. Łatwo wykazać, że jeżeli opór wnętrza komórki jest praktycznie równy zeru i powierzchnie zanurzonych części wynoszą odpowiednio S_1 i S_2 , to opór jednostkowy * błon (ściślej warstwy oddzielającej wnętrze komórki od zewnętrznego roztworu) wyraża się wzorem:

$$r = R \frac{S_1 \cdot S_2}{S_1 + S_2},$$

gdzie R — całkowity opór otrzymany z pomiarów; podobnie pojemność jednostkowa c wyraża się wzorem:

$$c = C \frac{S_1 + S_2}{S_1 \cdot S_2},$$

gdzie C — całkowita mierzona pojemność.

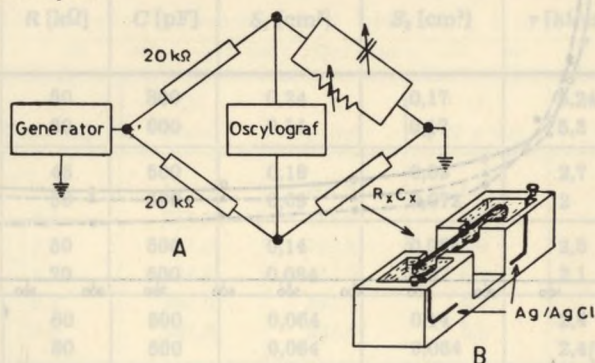
Źródłem napięć elektrycznych w stosowanej aparaturze był wzorcowy generator drgań sinusoidalnych (typ PW5); zaś wskaźnikiem kompensacji — oscylograf OK-15.

Opory i pojemności, umieszczone w ramionach oporowo-pojemnościowego mostka, określano z dokładnością co najmniej 5%. Natężenie prądu przepływającego przez komórkę wynosiło 10^{-6} A.

* Opór jednostkowy r błony jest liczbowo równy oporowi, jaki stawia prądowi jednostka powierzchni błony: $[r] = \Omega \text{ cm}^2$.

WSTĘPNE EKSPERYMENTY

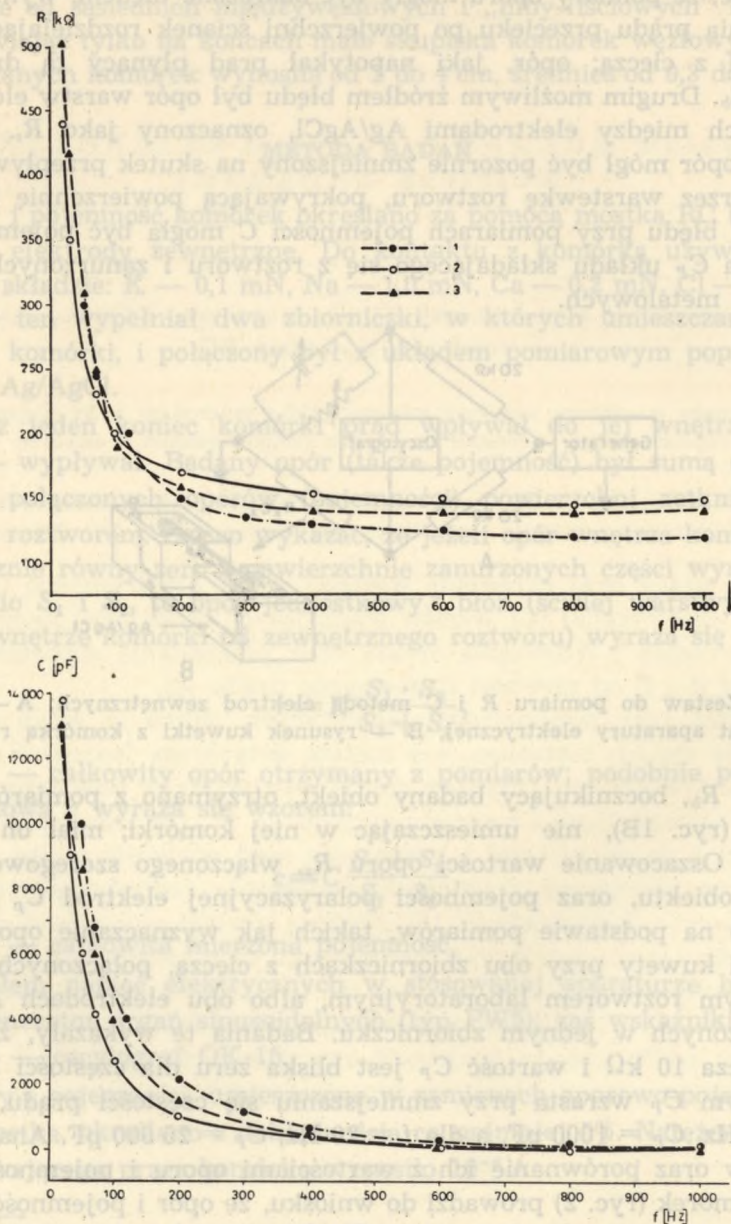
Pierwsze eksperymenty miały na celu oszacowanie dokładności otrzymywanych wyników. Prosta analiza przedstawionej metody pomiarowej wykazuje, że pomiary oporu mogły być obarczone błędem, wynikającym z istnienia prądu przecieku po powierzchni ścianek rozdzielających oba zbiorniki z cieczą; opór, jaki napotykał prąd płynący tą drogą nazywano R_b . Drugim możliwym źródłem błędu był opór warstw elektrolitu, zawartych między elektrodami Ag/AgCl, oznaczony jako R_s . Ponadto badany opór mógł być pozornie zmniejszony na skutek przepływu części prądu przez warstewkę roztworu, pokrywającą powierzchnię komórki. Źródłem błędu przy pomiarach pojemności C mogła być pojemność polaryzacji C_p układu składającego się z roztworu i zanurzonych w nim elektrod metalowych.



Ryc. 1. Zestaw do pomiaru R i C metodą elektrod zewnętrznych; A — blokowy schemat aparatury elektrycznej, B — rysunek kuwety z komórką roślinną

Opór R_b , bocznikujący badany obiekt, otrzymano z pomiarów oporu kuwety (ryc. 1B), nie umieszczając w niej komórki; miał on wartość 750 kΩ. Oszacowanie wartości oporu R_s , włączonego szeregowo do badanego obiektu, oraz pojemności polaryzacyjnej elektrod C_p przeprowadzono na podstawie pomiarów, takich jak wyznaczanie oporu i pojemności kuwety przy obu zbiorniczkach z cieczą, połączonych knotem nasyconym roztworem laboratoryjnym, albo obu elektrodach Ag/AgCl, umieszczonych w jednym zbiorniczku. Badania te wykazały, że R_s nie przekracza 10 kΩ i wartość C_p jest bliska zeru dla częstości 1000 Hz, przy czym C_p wzrasta przy zmniejszaniu się częstości prądu, np. dla $f = 200$ Hz, $C_p = 1000$ pF, a dla $f = 20$ Hz, $C_p = 25\,000$ pF. Analiza tych wyników oraz porównanie ich z wartościami oporu i pojemności badanych komórek (ryc. 2) prowadzi do wniosku, że opór i pojemność kuwety pomiarowej wprowadza do pomiaru R i C badanej komórki błąd nie przekraczający 20%.

Aby oszacować opór warstewki cieczy pokrywającej komórkę, oczyszczone z protoplastu ścianki komórkowe napełniano roztworem laboratoryjnym. Opór takich rurek z roztworem o średnicy 0,04 cm miał zawsze wartość wyższą od 100 k Ω . A zatem, gdyby warstewka tego roz-



Ryc. 2. Zależność R i C od częstości prądu dla komórek *Nitella mucronata*;

1 — komórka nr N 11, 2 — komórka nr N 12, 3 — komórka nr N 13

tworu, pokrywająca powierzchnię komórki, miała nawet grubość równą 0,1 promienia (tj. $\approx 20 \mu$), to jej opór byłby większy od 1000 k Ω , czyli co najmniej 10-krotnie wyższy od otrzymywanego z pomiarów oporu błon. Celem przebadania wpływu powierzchniowej warstewki na określane parametry R i C wykonano ponadto pomiary oporu jednostkowego i pojemności jednostkowej błon komórkowych przy różnych długościach tej warstewki; zmieniano w tym celu odległość między zbiorniczkami z cieczą. Z pomiarów wynika, że warstewka powierzchniowa praktycznie nie zmienia otrzymywanej wartości R i C (tab. 1).

Tab. 1. Badania zależności oporu i pojemności komórek *Nitella mucronata* w zależności od długości l szczeliny między zbiornikami

Nr ko-mórki	l [mm]	R [k Ω]	C [pF]	S_1 [cm ²]	S_2 [cm ²]	r [k Ω cm ²]	c [μ F/cm ²]
N 5	15	50	800	0,24	0,17	5,24	0,0076
	20	60	600	0,14	0,17	5,3	0,0073
N 8	15	45	500	0,18	0,09	2,7	0,08
	20	50	500	0,09	0,072	2	0,012
N 12	15	50	500	0,14	0,084	2,5	0,08
	20	70	500	0,084	0,07	2,1	0,086
N 13	15	60	500	0,064	0,14	2,4	0,012
	20	80	500	0,064	0,064	2,4	0,016
N 15	15	80	400	0,066	0,1	4,8	0,006
	20	100	400	0,066	0,033	2	0,022
N 14	15	50	500	0,11	0,22	2	0,012
	20	60	500	0,11	0,11	3	0,01

WYNIKI POMIARÓW

Przebadano 27 komórek *Nitella mucronata* i 39 komórek *Nitellopsis obtusa*. W tab. 2 i 3 podano przykładowo wartości R i C (także r i c) tych komórek dla prądu o częstotliwości 1000 Hz, zaś w tab. 4 — opracowania wszystkich wykonanych pomiarów.

Badania zależności R i C od częstotliwości stosowanego prądu (f) w zakresie od 10 do 1000 Hz wykazały, że przy wzroście częstotliwości obie te wielkości maleją, a zwłaszcza zmniejsza się pojemność.

Opór R , jak widać z ryc. 2 i 3, przy wzroście częstotliwości od 10 do 1000 Hz zmniejsza się około 2-krotnie, a pojemność C — od 200 do 400 razy.

Tab. 2. Wartości oporu i pojemności błon komórek *Nitella mucronata* dla prądu o częstotliwości 1000 Hz

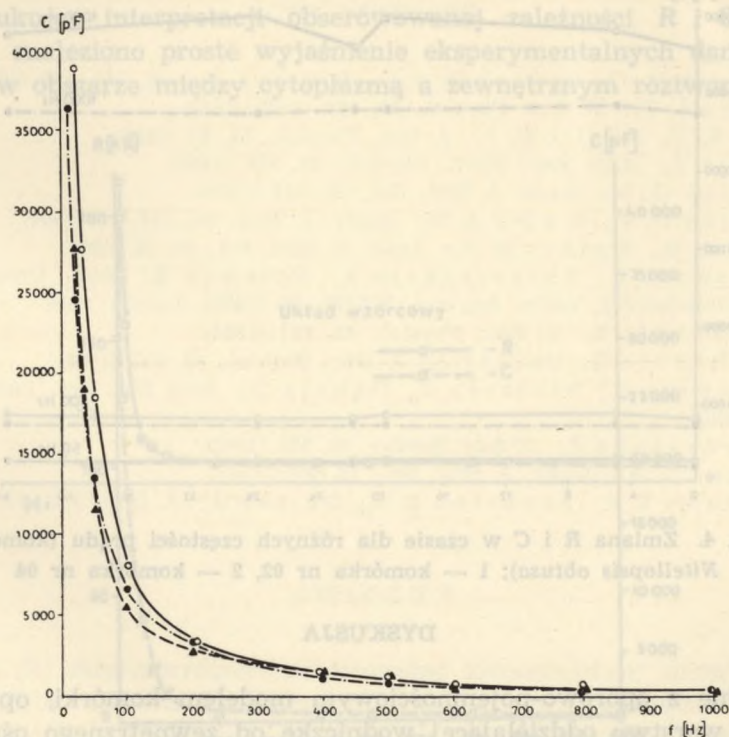
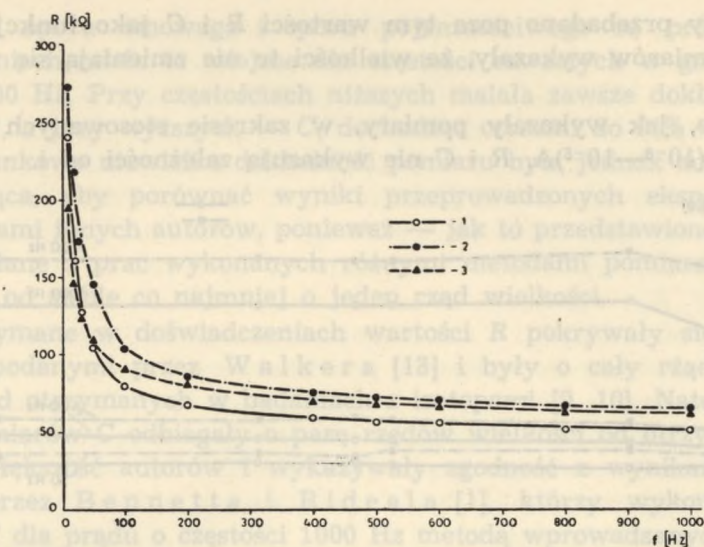
L.p.	R [kΩ]	C [μF × 10 ³]	S ₁ [cm ²]	S ₂ [cm ²]	r kΩ · cm ²	c μF · cm ² × 10 ³
1	143	0,1	0,095	0,024	2,74	5,2
2	135	0,1	0,043	0,054	2,4	5,6
3	110	0,1	0,121	0,075	5,1	2,2
4	120	0,1	0,041	0,027	1,9	6,2
5	160	0,1	0,026	0,026	2,1	7,6
6	180	0,1	0,026	0,040	2,8	6,4

Tab. 3. Wartości oporu i pojemności błon komórek *Nitellopsis obtusa* dla prądu o częstotliwości 1000 Hz

L.p.	R [kΩ]	C [μF × 10 ³]	S ₁ [cm ²]	S ₂ [cm ²]	r [kΩ cm ²]	c [μF/cm ² × 10 ³]
1	60	0,4	0,204	0,204	6,1	3,9
2	53	0,4	0,212	0,212	5,6	3,8
3	64	0,3	0,147	0,147	4,7	4,1
4	59	0,3	0,151	0,173	4,8	3,7
5	47	0,6	0,186	0,186	4,4	6,6
6	66	0,6	0,198	0,198	6,5	6,1

Tab. 4. Dane z opracowania pomiarów oporu jednostkowego i pojemności jednostkowej błon komórek *Nitella mucronata* i *Nitellopsis obtusa* dla prądu o częstotliwości 1000 Hz

Badany materiał	Pomiary oporu				Pomiary pojemności			
	Wartość średnia r [kΩcm ²]	Błąd standardowy S _n [kΩcm ²]	Rozrzut [kΩcm ²]	Liczba badanych komórek	Wartość średnia c [μF/cm ²]	Błąd standardowy S _n [μF/cm ²]	Rozrzut [μF/cm ²]	Liczba badanych komórek
<i>Nitella mucronata</i>	3,4	0,12	1,2—5,8	24	6,6 · 10 ⁻³	0,2 · 10 ⁻³	(2—14) · 10 ⁻³	24
<i>Nitellopsis obtusa</i>	5,7	0,28	3,2—8,5	25	4,3 · 10 ⁻³	0,3 · 10 ⁻³	(1,7—7,1) · 10 ⁻³	25

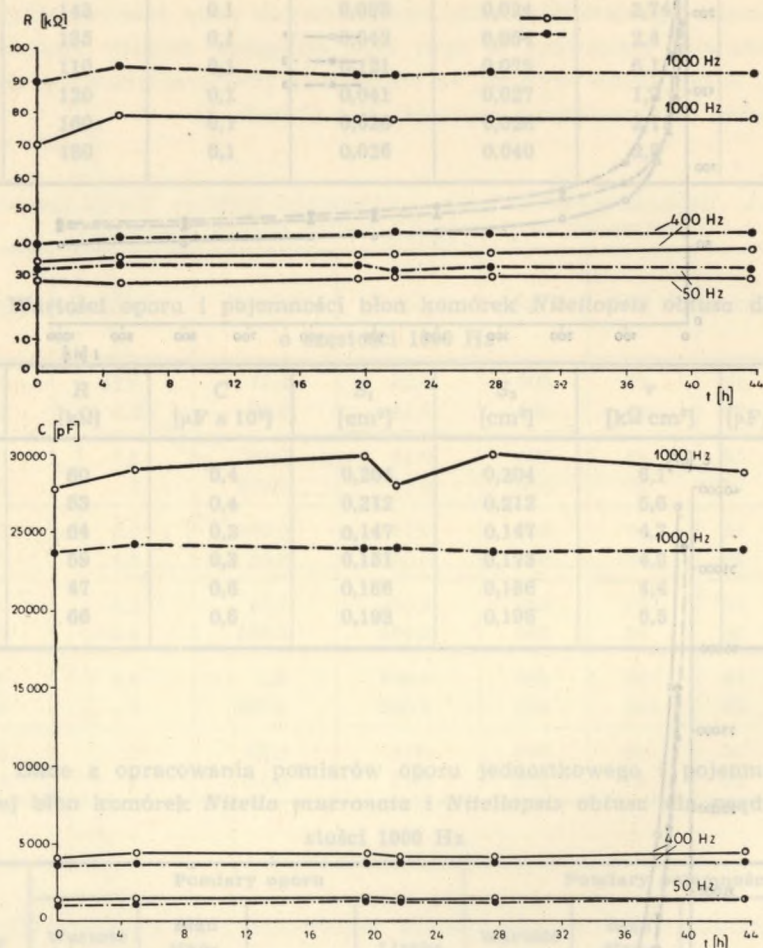


Ryc. 3. Zależność R i C od częstości prądu dla komórek *Nitellopsis obtusa*;

1 — komórka nr 02, 2 — komórka nr 04, 3 — komórka nr 05

W pracy przebadano poza tym wartości R i C jako funkcje czasu. Wyniki pomiarów wykazały, że wielkości te nie zmieniają się w czasie (ryc. 4).

Ponadto, jak wykazały pomiary, w zakresie stosowanych natężeń prądu $i = (10^{-6} - 10^{-5})\text{A}$, R i C nie wykazują zależności od i .



Ryc. 4. Zmiana R i C w czasie dla różnych częstotliwości prądu (komórki *Nitellopsis obtusa*); 1 — komórka nr 02, 2 — komórka nr 04

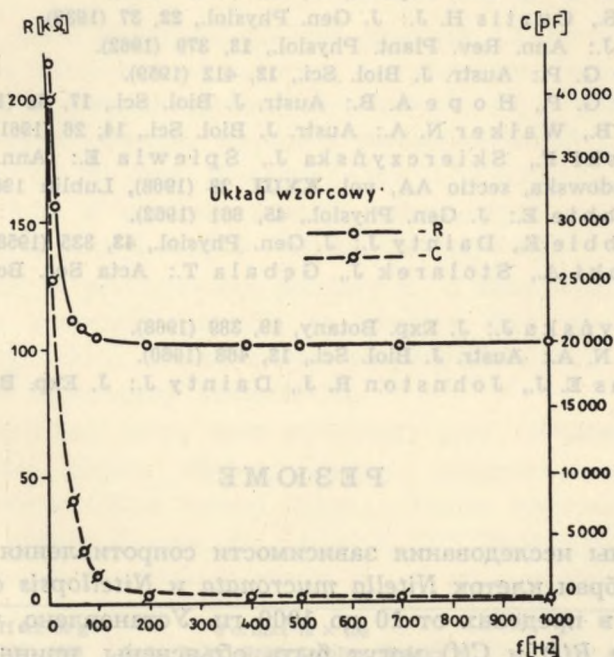
DYSKUSJA

Zgodnie z oporowo-pojemnościowym modelem komórki, opór i pojemność warstwy oddzielającej wodniczkę od zewnętrznego ośrodka są połączone ze sobą równolegle, toteż dokładność pomiaru obu tych wielkości jest jednakowa tylko w obszarze takich częstotliwości, dla których

wartości oporu omowego i oporu pojemnościowego są prównywalne. W badaniach miało to miejsce dla częstości zawartych w granicach od 50 do 700 Hz. Przy częstościach niższych malała zawsze dokładność pomiaru R , a przy wyższych — C , dochodząc czasami do 50% wartości C . Ta stosunkowo niewielka dokładność pomiaru była jednak zupełnie wystarczająca, aby porównać wyniki przeprowadzonych eksperymentów z wynikami innych autorów, ponieważ — jak to przedstawiono we wstępie — dane z prac wykonanych różnymi metodami pomiarowymi różniły się od siebie co najmniej o jeden rząd wielkości.

Otrzymane w doświadczeniach wartości R pokrywały się z wartościami podanymi przez Walkera [13] i były o cały rząd wielkości niższe od otrzymanych w badaniach z izotopami [9, 10]. Natomiast wyniki pomiarów C odbiegały o parę rzędów wielkości od otrzymywanych przez większość autorów i wykazywały zgodność z wynikami uzyskanymi przez Bennetta i Rideala [1], którzy wykonywali pomiary C dla prądu o częstości 1000 Hz metodą wprowadzanych do wodniczki elektrod metalowych. A zatem małą wartość C przypisać należy przypuszczalnie stosowaniu w eksperymentach prądu zmiennego.

Poszukując interpretacji obserwowanej zależności R i C od częstości f , znaleziono proste wyjaśnienie eksperymentalnych danych. Ponieważ w obszarze między cytoplazmą a zewnętrznym roztworem znaj-



Ryc. 5. Zależność R i C od częstości prądu dla dwójnika elektrycznego

dują się dwie wysokooporowe warstwy, przedzielone przewodnikiem, modelem obiektu biologicznego może być dwójnik elektryczny [12]. R_p jest oporem pierwszej zewnętrznej wysokooporowej warstwy, o oporze jednostkowym $r \approx 5 \text{ k}\Omega \text{ cm}^2$ [12]; C_p to pojemność tej warstwy o pojemności jednostkowej $c = 0,005 \mu\text{F}/\text{cm}^2$ [1]; pojemność jednostkowa drugiej warstwy jest równa $2 \mu\text{F}/\text{cm}^2$ [2, 6, 12, 14]. Przy takich założeniach co do wartości oporu jednostkowego i pojemności jednostkowej dla powierzchni równej $0,05 \text{ cm}^2$ otrzymuje się $R_p = 100 \text{ k}\Omega$, $C_p = 250 \text{ pF}$, $C_L = 0,1 \mu\text{F}$, R_L — przyjęto, że jest równe $200 \text{ k}\Omega$.

Wykres zależności R i C tak zaprojektowanego dwójnika od f (ryc. 5) jest bardzo podobny do wykresów przedstawionych na ryc. 2 i 3.

A zatem można przyjąć, że badane parametry elektryczne: opory i pojemności poszczególnych warstw komórki, pozostają stałe przy zmianach częstości stosowanego prądu. Obserwowana zależność R i C od f daje się interpretować jako wynik specyficznego układu tych niezależnych od częstości elementów.

PIŚMIENNICTWO

1. Bennett M. C., Rideal Sir Eric: Proc. Roy. Soc. B, **142**, 483 (1954).
2. Blinks L. R.: J. Gen. Physiol., **20**, 229 (1936—1937).
3. Cole K. S., Curtis H. J.: J. Gen. Physiol., **22**, 37 (1938).
4. Dainty J.: Ann. Rev. Plant. Physiol., **13**, 379 (1962).
5. Findlay G. P.: Austr. J. Biol. Sci., **12**, 412 (1959).
6. Findlay G. P., Hope A. B.: Austr. J. Biol. Sci., **17**, 62 (1964).
7. Hope A. B., Walker N. A.: Austr. J. Biol. Sci., **14**, 26 (1961).
8. Jaśkowski F., Skierczyńska J., Spiewła E.: Ann. Univ. Mariae Curie-Skłodowska, sectio AA, vol. **XXIII**, 28 (1968), Lublin 1969.
9. Mac Robbie E.: J. Gen. Physiol., **45**, 861 (1962).
10. Mac Robbie E., Dainty J.: J. Gen. Physiol., **43**, 335 (1958).
11. Paszewski A., Stolarek J., Gębala T.: Acta Soc. Bot. Poloniae, **37**, 327 (1968).
12. Skierczyńska J.: J. Exp. Botany, **19**, 389 (1968).
13. Walker N. A.: Austr. J. Biol. Sci., **13**, 468 (1960).
14. Williams E. J., Johnston R. J., Dainty J.: J. Exp. Bot. **15**, 1 (1963).

РЕЗЮМЕ

Проведены исследования зависимости сопротивления (R) и емкости (C) мембран клеток *Nitella mucronata* и *Nitellopsis obtusa* от частоты тока в пределах от 10 до 1000 гц. Установлено, что полученные кривые $R(f)$ и $C(f)$ могут быть объяснены, приняв некоторую простую электрическую систему как модель растительной клетки.

SUMMARY

The effect of the current frequency (from 10 to 1,000 cycles per sec.) on the values of the resistance (R) and capacity (C) of the cell membrane of *Nitella mucronata* and *Nitellopsis obtusa* was investigated. The course of the obtained curves can be explained if we take for granted that the electric model of a plant cell is a simple electric system.

Władysław BULANDA, Jadwiga SKIERCZYŃSKA,
Ryszard ZOLNIERCZUK

Analiza zależności R i C błon komórek *Characeae* od częstotliwości prądu

ANALIZA ZAWISIMOSTI R I C MEMBRAN KARIOT *Characeae* OD CZĘSTOTLIWOŚCI PRĄDU

Analysis of the Effect of the Current Frequency on R and C of the Cell Membrane of *Characeae*

Pomiary oporu elektrycznego błon komórek *Characeae*, przeprowadzone metodą mikroelektrod, sugerują, że cytoplazma tych komórek złożona jest dwiema wysokooporowymi warstwami [9]. Wyniki tych badań pokrywają się w pewnym stopniu z zaobserwowanymi przez Nagai i Kishimoto [8] oraz Woroblowa i Kurellę [12, 13] skokiem potencjału w obszarze ścianki, wskazującym na występowanie w tym obszarze jakiejś odrębnej bardzo cienkiej fazy.

Wydało się, że przedstawione pomiary R i C błon komórkowych [4, 7] potwierdzają koncepcję istnienia w komórce dwu wysokooporowych warstw. W oparciu o analizę danych eksperymentalnych został pojęty prosty model elektryczny komórki [4].

Celem niniejszej pracy było wyliczenie przy zastosowaniu wspomnianego wyżej modelu wartości oporu i pojemności poszczególnych warstw komórek *Chara brauni* (Gm.), *Nitella mucronata* (Braun) i *Nitellopsis obtusa* (Desv. in L.) J. Gr. Podstawę tych wyliczeń stanowiła eksperymentalna zależność R i C od częstotliwości prądu. Doku-

SUMMARY

The effect of the current frequency (from 10 to 1,000 cycles per sec) on the values of the resistance (R) and capacity (C) of the cell membrane of *Nitella macleodii* and *Nitellopsis obtusa* was investigated. The course of the obtained curves can be explained if we take for granted that the electric model of a plant cell is a simple electric system consisting of two parallel plates, the area of which is equal to the area of the cell surface. From the obtained curves we calculated the values of R and C for *N. macleodii* and *N. nitellopsis* at frequencies of 10, 100 and 1,000 cycles per sec. The values of R and C for *N. macleodii* at 10 cycles per sec are: $R = 100 \text{ k}\Omega$, $C = 250 \text{ pF}$, $C_L = 0.1 \text{ nF}$, $R_L = 200 \text{ k}\Omega$.

Wykres zależności R i C tak zaprojektowanego dwójnika od f (rys. 5) jest bardzo podobny do wykresów przedstawionych na rys. 2 i 3.

A zatem można przyjąć, że badane parametry elektryczne opory i pojemności poszczególnych warstw komórki, pozostają stałe przy zmianach częstotliwości stosowanego prądu. Obserwowana zależność R i C od f daje się interpretować jako wynik specyficznego układu tych niezależnych od częstotliwości elementów.

BIBLIOTEKA

1. Beckett M. C., Rideal Sir Eric, Proc. Roy. Soc. B, 142, 463 (1954).
2. Blinks L. R.: J. Gen. Physiol., 20, 229 (1953-1957).
3. Cole K. S., Curtis H. J.: J. Gen. Physiol., 12, 37 (1952).
4. Dainty J.: Ann. Rev. Plant. Physiol., 12, 379 (1962).
5. Findlay G. P.: Austr. J. Biol. Sci., 12, 412 (1959).
6. Findlay G. P., Hope A. B.: Austr. J. Biol. Sci., 17, 53 (1964).
7. Hope A. B., Walker N. A.: Austr. J. Biol. Sci., 14, 26 (1961).
8. Jajkowski F., Skierczyńska J., Spiewia E.: Ann. Univ. Mariae Curie-Skłodowska, sectio AA, vol. XXIII, 29 (1968), Lublin 1969.
9. Mac Robbie E.: J. Gen. Physiol., 45, 351 (1963).
10. Mac Robbie E., Dainty J.: J. Gen. Physiol., 45, 323 (1963).
11. Paszowski A., Stolarek J., Gajda T.: Acta Soc. Bot. Poloniae, 27, 207 (1964).
12. Skierczyńska J.: J. Exp. Botany, 17, 285 (1968).
13. Walker N. A.: Austr. J. Biol. Sci., 12, 403 (1959).
14. Williams E. J., Johnston A. J., Dainty J.: J. Exp. Bot., 15, 1 (1963).

РЕЗЮМЕ

Проведены исследования зависимости сопротивления (R) и емкости (C) мембран клеток *Nitella macleodii* и *Nitellopsis obtusa* от частоты тока в пределах от 10 до 1000 циклов в секунду. Значения R и C для *N. macleodii* при 10 циклах в секунду: $R = 100 \text{ k}\Omega$, $C = 250 \text{ pF}$, $C_L = 0.1 \text{ nF}$, $R_L = 200 \text{ k}\Omega$.