

Instytut Fizyki UMCS
Zakład Fizyki Ogólnej

Jadwiga SKIERCZYŃSKA, Jan SIELEWIESIUK,
Irena BOSEK

**Zmiany oporu węzła ramienic *Nitellopsis obtusa*
wywołane uszkodzeniem komórek międzywęzłowych**

Изменение сопротивления узла водорослей *Nitellopsis obtusa*, вызванное повреждением межузловых клеток

Changes in the Resistance of the Node of *Nitellopsis obtusa*,
Caused by the Damage of the Internodal Cells

W pracach dotyczących elektrycznych właściwości węzłów roślin *Characeae* rozpatruje się zwykle węzeł jako element łączący sąsiednie międzywęzłowe komórki (5, 6, 8). Węzeł spełnia jednak w roślinie funkcję nie tylko łącznika, ale też separatora: po uszkodzeniu pewnej części rośliny odizolowuje tę część od pozostałych nie uszkodzonych komórek.

Przedstawione w niniejszej pracy zmiany oporu elektrycznego uszkodzonych odcinków rośliny *Characeae* miały na celu zbadanie separacyjnych właściwości węzła.

MATERIAŁ I METODY POMIARU

Pomiary wykonano w okresie od stycznia do kwietnia 1973 r. na komórkach *Nitellopsis obtusa* pobieranych z hodowli laboratoryjnej założonej w jesieni 1972 r.

Stosowano trzy metody pomiaru:

1. Metoda mikroelektrod wprowadzanych do międzywęzłowych komórek. Do badań pobierano dwie międzywęzłowe komórki połączone węzłem i zakończone węzłami. Odcinano komórki niby-liści i następnego dnia po odłączeniu komórek od rośliny i odcięciu niby-liści rozpoczynano pomiary. Badane komórki umieszczano w sporządzonym z pleksi naczyniu, które składało się z czterech zbiorników A, B, C i D, napełnionych wodą z akwarium (ryc. 1). Węzeł znajdował się w połowie odległości między naczyniami B i C. Elektrodamy Ag/AgCl 2 i 2', umieszczonymi w naczyniach A i D, doprowadzano do komórki prostopadłe impulsy prądu o amplitudzie 0,5 μ A. Napięcie między cieczkowymi mikroelektrodami 1 i 1', wprowadzonymi do komórki międzywęzłowych rejestrował samopis sprzężony z elektrometrem lampowym typu VA-I-51. Opór węzła wyliczono ze stosunku U/I , gdzie U — zmiany napięcia wywołane przepływem prądu o natężeniu I .

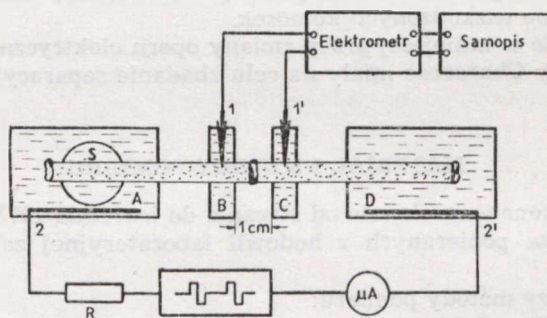
Poprawkę na opór wnętrza komórek międzywęzłowych wprowadzono na podstawie pomiarów oporu podłużnego R_l [$K\Omega/cm$], określonego prądem zmien-

nym w sposób opisany (7). Oporem podłużnym nazywamy opór, jaki stawia prądowi płynącemu wzdłuż wnętrza komórki jej odcinek o długości 1 cm; wartość tego oporu w badanych komórkach była równa ok 30 k Ω /cm.

Poprawka na prąd przepływający ścianką komórkową z jednego naczynia do drugiego nie była uwzględniana. W przypadku nie uszkodzonych komórek międzywęzłowych poprawka ta jest bardzo mała, ponieważ natężenie prądu płynącego ścianką jest co najmniej dziesięciokrotnie niższe od natężenia prądu płynącego przez węzeł. Łatwo to oszacować z otrzymanej wartości całkowitego oporu węzła wyliczonego ze stosunku U/I (opór ten zawierał się w granicach 100—300 k Ω) i oporu podłużnego ścianki. Nasze wcześniejsze obserwacje i pomiary przeprowadzone przez innych autorów (10) wykazały, że opór 1 cm długości ścianki dla prądu płynącego wzdłuż komórki ma wartość ok. 3 M Ω .

Po uszkodzeniu jednej z badanych międzywęzłowych komórek natężenie prądu płynącego ścianką niewątpliwie wzrastało, oszacowanie jego wartości było jednak w tym przypadku niezwykle trudne. W celu sprawdzenia, czy wartości oporu węzła otrzymane po uszkodzeniu komórki międzywęzłowej metodami 1 i 2 nie są zbyt zaniżone z powodu nieuwzględniania przepływu prądu wzdłuż ścianki komórkowej, przeprowadzono pomiary oporu węzła metodą 3.

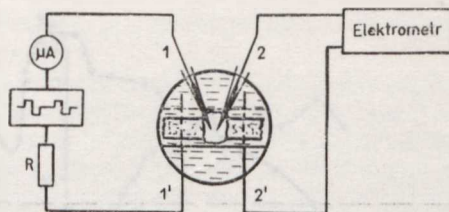
W metodzie 1 komórkę międzywęzłową uszkadzano bardzo małą kroplą chromianki (tj. mieszaniny stężonego kwasu siarkowego i nasyconego wodnego roztworu dwuchromianu potasu), nanoszoną na środkową część odcinka S (ryc. 1), który znajdował się w odległości 5—8 cm od badanego węzła. Odcinek komórki S wyizolowany był z otaczającej cieczy, toteż chromianka nie przenikała do tej cieczy i uszkodzenie komórki było całkowicie lokalne.



Ryc. 1. Schemat zestawu do pomiaru oporu węzła metodą 1
A scheme of the set for measuring the resistance node by the 1st method

2. Metoda elektrod zewnętrznych. Stosowano układ pomiarowy opisany w metodzie 1, zastępując jedynie mikroelektrody zewnętrznymi elektrodami Ag/AgCl. Elektrody te umieszczono pośrodku naczyń B i C, tj. w odległości od węzła o ok. 7—8 mm. Komórkę międzywęzłową uszkadzono mechanicznie — odcinano ją nożyczkami.

3. Metoda mikroelektrod wprowadzanych do węzła. Pomiary wykonywano na węzłach odłączonych zarówno od komórek niby-liści, jak i niby-lodygi w odległości ok. 1 cm od węzła. Odcinanie komórek międzywęzłowych przeprowadzano tuż przed wprowadzeniem do węzła mikroelektrod pomiarowych. Schemat układu pomiarowego przedstawiono na ryc. 2. Węzeł umieszczany był pośrodku naczynia o kształcie walca na naklejonej wewnątrz podstawie z pleksi.



Ryc. 2. Schemat zestawu do pomiaru węzła metodą 3
A scheme of the set for measuring the resistance node by the 3rd method

Do węzła wprowadzono dwie mikroelektrody: 1 i 2. Końce tych mikroelektrod — jak wykazała wartość rejestrowanego napięcia — znajdowały się w komórkach międzywęzłowych. Między mikroelektrodą 1 i elektrodą zewnętrzną Ag/AgCl 1' przykładano prostokątne impulsy prądu o amplitudzie ok. $1 \mu\text{A}$. Napięcie mierzono między mikroelektrodą 2 i zewnętrzną elektrodą 2' za pomocą elektrometru VA-I-51. Opór wyliczano z prawa Ohma. Przy wyliczaniu oporu jednostkowego powierzchnię węzła określano szacunkowo ze wzoru na powierzchnię walca.

We wszystkich przedstawionych metodach natężenie prądu mierzono z dokładnością do 0,1%, napięcie — z dokładnością do 0,5%.

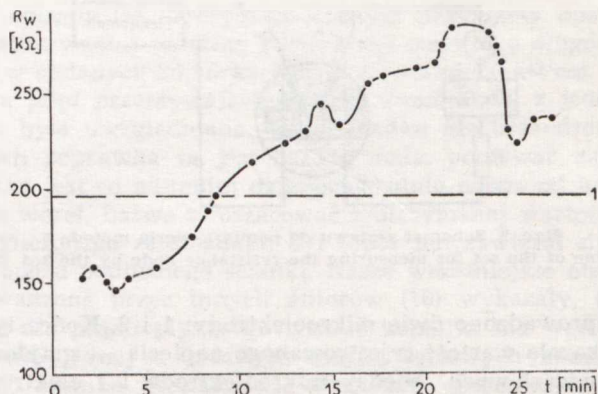
WYNIKI POMIARÓW

Metodą mikroelektrod wprowadzanych do komórek międzywęzłowych przebadano 4 węzły. Przebieg zmian oporu jednego z badanych węzłów przedstawiono na ryc. 3. Średnia wartość oporu przeliczona na jednostkę powierzchni poprzecznego przekroju węzła wynosiła przed uszkodzeniem komórki międzywęzłowej $0,45 \text{ k}\Omega\text{cm}^2$, natomiast po 10—20 min. od chwili uszkodzenia — $0,75 \text{ k}\Omega\text{cm}^2$ zaobserwowane w tej metodzie pomiaru obniżanie się oporu węzła do upływie ok. 25 min. od chwili uszkodzenia międzywęzłowej komórki było, być może, związane z dyfuzyjnym przenikaniem do obszaru węzła mieszaniny chromowej, użytej do uszkodzenia komórki.

Metodą elektrod zewnętrznych przebadano 8 węzłów. Średnia wartość oporu początkowego przeliczona na jednostkę powierzchni poprzecznego przekroju była równa $0,54 \text{ k}\Omega\text{cm}^2$, po uszkodzeniu opór przyjmował wartość $0,90 \text{ k}\Omega\text{cm}^2$, średni czas ustalania się tej wartości oporu wynosił 17 min. Przykładowy przebieg zmian oporu w czasie przedstawiono na ryc. 4.

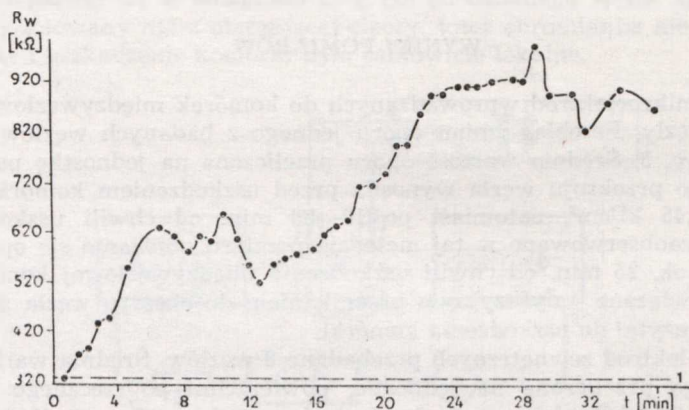
Metodą mikroelektrod przeprowadzono pomiary na 10 węzłach. Wykres zmian wartości oporu dla jednej z badanych komórek przedstawiono na ryc. 5. Czas liczono od chwili odcięcia od węzła międzywęzłowych komórek niby-łodygi. Średnia wartość oporu początkowego dla przebadanych 10 węzłów wynosiła $0,23 \text{ k}\Omega\text{cm}^2$, opór końcowy miał wartość $0,59 \text{ k}\Omega\text{cm}^2$.

Średnie wartości oporów otrzymanych każdą ze stosowanych metod zestawiono w tab. 1. Ze względu na odmienny sposób pomiaru i wyliczenia oporu jednostkowego nie można bezpośrednio porównywać danych otrzymanych metodą 3 z danymi otrzymanymi metodami 1 i 2. Opory r_{wo} , otrzymane metodami 1 i 2, są oporami przeliczonymi na jednostkę powierzchni dwuszeregowo połączonych granic węzeł—komórka międzywęzłowa. Aby porównać je z wartością otrzymaną metodą 3, należy podzielić je przez dwa. Otrzymane w ten sposób



Ryc. 3. Przebieg zmian oporu węzła mierzonego metodą mikroelektrod wprowadzanych do komórek międzywęzłowych; czas obserwacji liczono od momentu uszkodzenia komórki; 1 — wartość oporu R_{w0} przed uszkodzeniem komórki międzywęzłowej, R_{w0} jest wartością średnią z kilku pomiarów

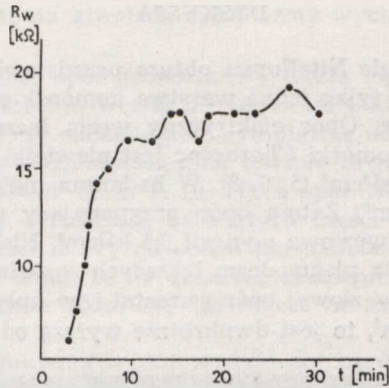
The course of changes in the node resistance measured by the method of introducing microelectrodes into the internodal cells; the observation time was counted from the moment that the cell was damaged; 1 — value of resistance R_{w0} before the internodal cell was damaged, R_{w0} is the mean value of a few measurements



Ryc. 4. Przebieg zmian oporu węzła mierzonego metodą elektrod zewnętrznych; 1 — patrz ryc. 3

The course of changes in the node resistance measured by the external electrode method; 1 — see Fig. 3

wartości r_{w0} oznaczone są w tab. 1 literą „b”. Średnia wartość r_{w0} , wyliczona z trzech wartości: $0,23 \text{ k}\Omega\text{cm}^2$, $0,27 \text{ k}\Omega\text{cm}^2$ i $0,23 \text{ k}\Omega\text{cm}^2$, jest równa $0,24 \text{ k}\Omega\text{cm}^2$. Do wyliczenia średniej wartości r_{wk} brano wartości otrzymane metodą 3 oraz wartości oznaczone w tab. 1 literą „b”, otrzymane jako różnice $r_{wk} - \frac{1}{2}r_{w0}$. Każda z tak wyliczonych wartości r_{wk} oznacza opór przypadający na jednostkę powierzchni pojedynczej granicy węzeł—uszkodzona komórka międzywęzłowa. Otrzymana wartość średnia r_{wk} wynosi $0,59 \text{ k}\Omega\text{cm}^2$.



Ryc. 5. Przebieg zmian oporu z pomiarów metodą mikroelektrod wprowadzanych do węzła
The course of resistance changes from measurements made by the method of introducing microelectrodes into the node

Tab. 1. Zestawienie wartości oporu węzła
The list of values of the node resistance

Metoda pomiaru The method of measurement	n	Przed uszkodzeniem Before the damage		Po uszkodzeniu After the damage		t (min.)	
		τ_{w0} (kΩcm ²)	rozrzut range (kΩcm ²)	τ_{wk} (kΩcm ²)	rozrzut range (kΩcm ²)		
1	4	0,45	0,34—0,64	0,74	0,47—0,99	1,5	13
		(b) 0,23	—	(b) 0,51	—	(b) 2,6	—
2	8	0,54	0,20—0,79	0,90	0,49—1,16	1,8	17
		(b) 0,27	—	(b) 0,63	—	(b) 2,4	—
3	10	0,23	0,11—0,43	0,59	0,24—1,55	2,5	14
Wartość średnia z 1b, 2b i 3 Mean value from 1b, 2b and 3	22	0,24	—	0,59	—	2,5	15

τ_{w0} — początkowa wartość jednostkowego oporu węzła, tj. oporu przeliczonego na jednostkę całkowitej powierzchni węzła (w metodzie 3) bądź też (w metodach 1 i 2) na jednostkę poprzecznego przekroju węzła;

τ_{w0} — the initial value of the node resistance; i.e. the resistance reduced to a unit of the whole area of the node (in the method 3) or to a unit of the transverse section of the node (in the methods 1 and 2);

τ_{wk} — maksymalna wartość jednostkowego oporu po uszkodzeniu komórki międzywęzłowej;

τ_{wk} — the maximum value of the node resistance after the damage of the internodal cell;

n — liczba pomiarów;

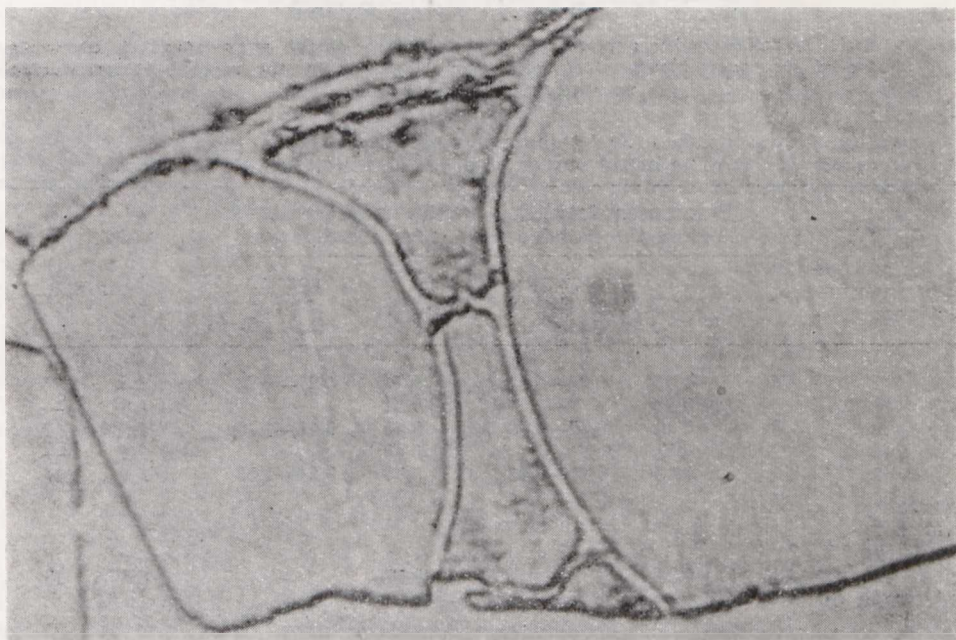
n — the number of measurements;

t — czas, po którego upływie jednostkowy opór węzła osiąga wartość τ_{wk} ;

t — the time, after which the resistance reached the value τ_{wk} .

DYSKUSJA

Zdjęcie węzła ramienic *Nitellopsis obtusa* przedstawia ryc. 6. W centralnej części węzła jest zawsze tylko jedna warstwa komórek oddzielających od siebie komórki międzywęzłowe. Opór elektryczny węzła łączącego dwie nie uszkodzone międzywęzłowe komórki *Characeae* jest niewielki i zawiera się w granicach dziesiątych części $k\Omega\text{cm}^2$ (5, 6, 8). W badanym materiale miał on wartość średnią równą $0,5 k\Omega\text{cm}^2$. Zatem opór przypadający na pojedynczą granicę węzeł—komórka międzywęzłowa wynosił $0,5 k\Omega\text{cm}^2$. Niski opór węzła jest jednym z dowodów istnienia plazmodesm łączących sąsiednie komórki. Po uszkodzeniu komórki międzywęzłowej opór wzrastał i po upływie 20—30 min. uzyskiwał wartość $0,59 k\Omega\text{cm}^2$, to jest dwukrotnie wyższą od wartości początkowej.



Ryc. 6. Przekrój węzła ramienic *Nitellopsis obtusa*
A section of the *Nitellopsis obtusa* node

Należy zauważyć, że wartości średnie, otrzymane metodą 1 i 2, wynoszą odpowiednio $0,51 k\Omega\text{cm}^2$ i $0,63 k\Omega\text{cm}^2$, a wartość średnia otrzymana metodą 3 jest równa $0,59 k\Omega\text{cm}^2$ (tab. 1). Zgodność wyników otrzymanych tymi metodami świadczy o tym, że w metodach 1 i 2 błąd spowodowany istnieniem upływu prądu wzdłuż ścianki komórkowej jest bardzo mały i nieuwzględnianie tego błędu nie wpływa w sposób istotny na wartość badanego oporu.

Wzrost oporu węzła po uszkodzeniu komórki międzywęzłowej świadczy o tym, że plazmodesmy łączące komórki międzywęzłowe i ułatwiające kontakt substancji między komórkami po uszkodzeniu jednej z tych komórek ulegają zasklepieniu substancją wysokooporową. Po 20—30 min. opór uzyskuje maksymalną wartość. Również w takim samym czasie osiąga maksymalną wartość

opór błony tworzącej się na kroplach cytoplazmy wyciśniętej z komórek *Characeae* (2, 9).

Jak wykazały badania, opór jednostkowy wężła (opór przeliczony na jednostkę całkowitej powierzchni wężła) nie uzyskuje takiej wartości, jaką posiada opór jednostkowy błony oddzielającej cytoplazmę od zewnętrznego ośrodka. Opór zewnętrznej błony plazmatycznej ma wartość zawartą w granicach od kilku do kilkudziesięciu $k\Omega\text{cm}^2$ (1, 3, 4, 10, 11), a opór wężła odłączonego od komórki międzywęzłowej — wartość dziesiątych części $k\Omega\text{cm}^2$, a więc jest co najmniej o rząd wielkości niższy od oporu plazmalemy. Tę różnicę wartości można by przypisywać temu, że na obszarze zasklepienia plazmodesm tworzy się błona, której struktura różni się zasadniczo od struktury błony plazmatycznej.

Jeżeli jednak przyjmujemy — co wydaje się bardziej prawdopodobne — że struktura plazmalemy na całej powierzchni cytoplazmy jest podobna i jej opór ma średnią wartość równą kilku $k\Omega\text{cm}^2$, to niską wartość oporu wężła można wyjaśnić bardzo dużą powierzchnią plazmalemy na badanym obszarze. Powierzchnia ta może być dużo większa od powierzchni przekroju poprzecznego wężła na skutek licznych kanalikowych wgłębień plazmalemy w materiał ścianek.

Na podstawie zaobserwowanych w tej pracy zmian oporu wężła można wyliczyć wielkość całkowitej powierzchni plazmalemy wyścielającej plazmodesmy. Otrzymana z tych wyliczeń wartość * wynosi $0,3\text{ mm}^2$ i jest dziesięciokrotnie większa od powierzchni poprzecznego przekroju wężła.

PIŚMIENNICTWO

1. Dainty J.: Ion Transport and Electrical Potentials in Plant Cells. *Ann. Rev. Plant. Physiol.* 13, 379 (1962).
2. Inoue I., Veda T., Kobatake I.: Structure of Excitable Membranes Formed on the Surface of Protoplasmic Drops Isolated from *Nitella*. I. Conformation of Surface Membrane Determined from the Resistance Index and from Enzyme Action. *Biochim. et Biophys. Acta* 298, 653 (1973).
3. Oda K.: The Electrical Constants in *Chara braunii*. *Rep. Tohoku Univ. Ser. IV Biol.* 27, 187 (1961).
4. Paszewski A., Stolarek I., Gębala T.: Ionic Relations and Electrophysiology of Single Cells of *Characeae* Investigation on Electric Potentials and Resistance in Cells of *Nitellopsis obtusa*. *Acta Soc. Bot. Pol.* 37, 327 (1968).
5. Sibaoka T.: Action Potentials in Plant Organs. *Symposia of the Soc. for Exp. Biol.* 20, 49 (1966).
6. Skierczyńska J.: Some of the Electrical Characteristics of the Cell Membrane of *Chara australis*. *J. exp. Bot.* 19 389 (1968).
7. Skierczyńska J., Spięwła E., Zolnierczuk R., Bulanda W., Wardak A.: The Measurements of the Resistance of *Characeae* by Alternating and Direct Currents. *J. exp. Bot.* 24, 444 (1973).
8. Spanswick R. M., Costerton J. W. P.: Plasmodesmata in *Nitella translucens* Structure and Electrical Resistance. *J. Cell Sci.* 2, 451 (1967).
9. Takenaka T., Inoue I., Ishima I., Horie H.: Excitability of Surface Membrane of Protoplasmic Drop Produced from Protoplasm in *Nitella*. *Proc. Jap. Acad.* 47, 555 (1971).
10. Walker N. A.: The Electric Resistance of the Cell Membranes in a *Chara* and a *Nitella* Species. *J. exp. Bot.* 13, 468 (1960).
11. Williams E. I., Johnston R. J., Dainty J.: The Electrical Resistance and Capacitance of the Membranes of *Nitella translucens*. *J. exp. Bot.* 15, 1 (1964).

* Przeprowadzone wyliczenia będą przedmiotem osobnej publikacji.

РЕЗЮМЕ

Измерения сопротивления узла водорослей *Nitellopsis obtusa* проводились несколькими методами. Эти измерения показали, что после повреждения межузловой клетки сопротивление границы узел — межузловая клетка возрастает и в течение примерно 15 минут достигает максимальной величины равной в среднем 0,59 ком см². Эта величина в 2,5 раза больше начальной величины, но меньше, примерно на один ряд величины, сопротивления внешней плазматической мембраны — плазмалеммы.

SUMMARY

Resistance measurements of the *Nitellopsis obtusa* node have been carried out by several methods. The experiments showed that after the damage of the internodal cell, the resistance between the node and the internodal cell increases and after about 15 min it reaches its maximal value of 0.59 kΩcm² on the average. This final resistance is by 2.5 times higher than the initial one but is at least 10 times smaller than the resistance of the superficial plasma membrane — plasmalemma.