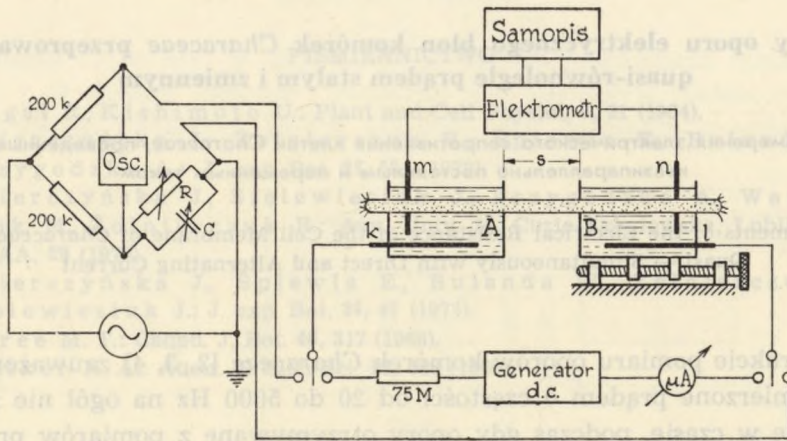


Roztwór, w którym rosły komórki i w którym przechowywano je po ścięciu, miał skład podstawowych jonów następujący: Na 0,23 mM/l; K 0,70 mM/l; Cl 0,19 mM/l; Ca 0,84 mM/l.

Stosowana do pomiarów kuweta (ryc. 1 i 2) była podobna do przedstawionej przez Walkera [5] oraz Skierczyńską i współprac. [4]. Składała się ona z dwu oddalonych od siebie o 3 cm zbiorników A i B, napełnionych roztworem. Szerokość zbiorników — a zatem i długość zanurzonych w nich odcinków badanej komórki — wynosiła 1 bądź 2 cm.

Quasi-równoległe pomiary oporu błony metodą elektrod zewnętrznych przeprowadzono na dwu zestawach pomiarowych przedstawionych na ryc. 1 i 2.

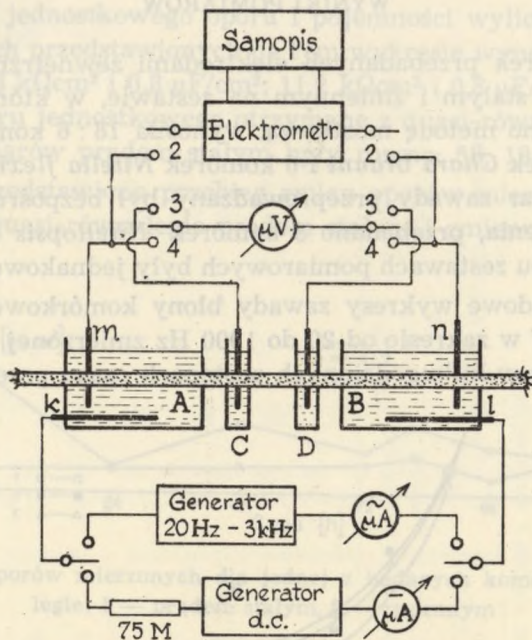


Ryc. 1. Schemat zestawu do quasi-równoległych pomiarów oporu prądem stałym i zmiennym; do pomiarów prądem zmiennym służył mostek RC; opór podłużny R_l określano metodą rozsuwania naczyń A i B

Na każdym z zestawów opór prądem stałym określano za pomocą czterech chlorosrebrnych elektrod: k , l , m , n w sposób opisany w wyżej wymienionych pracach [4, 5].

Opór prądem zmiennym mierzono dwiema różnymi metodami. Na jednym z zestawów (ryc. 1) pomiary wykonywano metodą mostka RC [3], na drugim (ryc. 2) — metodą analogiczną do stosowanej dla prądu stałego: mierzono napięcie U , natężenie I i wyliczano zawadę ze wzoru $Z=U/I$. Określanie oporu z wartości otrzymanej zawady przeprowadzono w sposób opisany w pracy Skierczyńskiej i Bulandy [2], przyjmując, że modelem błony komórkowej jest element składający się z oporu r_m i pojemności c_m połączonych równoległe.

Opór wnętrza komórki eliminowano określając wartość oporu podłuż-



Ryc. 2. Schemat zestawu do quasi-równoległych pomiarów oporu prądem stałym i zmiennym; opór podłużny R_l określano za pomocą dwu dodatkowych elektrod, umieszczonych w naczyniach C i D

nego (R_l)^{*} poprzez pomiar całkowitego oporu przy dwu różnych odległościach s między zbiornikami A i B (ryc. 1) bądź też przez pomiar oporu między dodatkowymi elektrodami umieszczonymi w zbiornikach C i D (ryc. 2). Zakres stosowanych częstotliwości prądu: 20—5000 Hz lub 1—20 Hz.

Quasi-równoległe pomiary oporu błony prądem stałym i zmiennym przeprowadzono nie tylko metodą elektrod zewnętrznych, lecz również metodą mikroelektrod ciekowych wprowadzanych do wnętrza komórki. W tym przypadku pomiary prądem stałym były wykonywane w sposób ogólnie stosowany [1, 5]. Analogicznie mierzono mikroelektrodami zawadę dla częstotliwości prądu od 1 do 20 Hz. Przeprowadzenie pomiarów prądem zmiennym możliwe było dzięki temu, że stosowane mikroelektrody ciekowe miały niskie opory, nie przekraczające 300 k Ω .

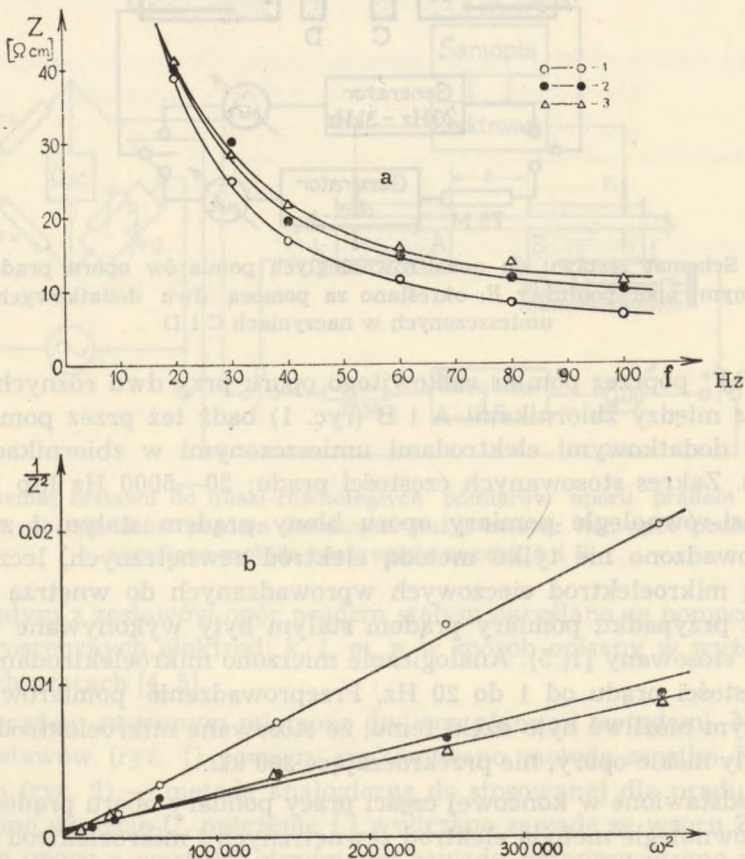
Przedstawione w końcowej części pracy pomiary oporu prądem stałym quasi-równoległe metodą elektrod zewnętrznych i mikroelektrod wykonywano na aparaturze opisanej w naszej uprzedniej pracy [4].

* Oporem podłużnym nazywany jest opór, jaki stawia prądowi elektrycznemu przepływającemu wzdłuż wnętrza komórki odcinek o długości 1 cm.

WYNIKI POMIARÓW

Liczba komórek przebadanych elektrodami zewnętrznymi quasi-równoległe prądem stałym i zmiennym na zestawie, w którym do pomiaru zawady stosowano metodę mostkową, wynosiła 18 : 6 komórek *Nitellopsis obtusa*, 6 komórek *Chara brauni* i 6 komórek *Nitella flexilis*. Na zestawie, w którym pomiar zawady przeprowadzany był bezpośrednio z pomiaru napięcia i natężenia, przebadano 8 komórek *Nitellopsis obtusa*. Wyniki otrzymane na obu zestawach pomiarowych były jednakowe.

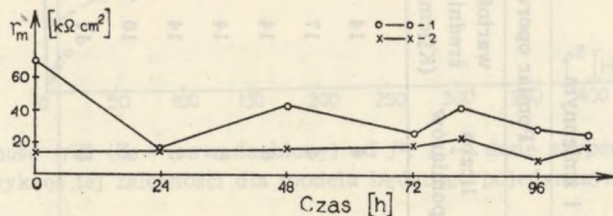
Trzy przykładowe wykresy zawady błony komórkowej jako funkcji częstości prądu f w zakresie od 20 do 1000 Hz zmierzonej dla jednej z badanych komórek w kilkugodzinnych odstępach czasu przedstawione są na



Ryc. 3. Wykresy zawady błony jako funkcji częstości prądu sporządzone dla jednej z badanych komórek; 1 — pomiar pierwszy, 2 — pomiar drugi po upływie dwu godzin, 3 — pomiar trzeci po upływie kolejnych czterech godzin (na ryc. 3b przedstawiono zależności z ryc. 3a w skali logarytmicznej)

ryc. 3. Wartości jednostkowego oporu i pojemności wyliczone dla każdej z trzech krzywych przedstawionych na tym wykresie wynoszą: 14,6 kΩcm² i 1,2 μF/cm²; 11,8 kΩcm² i 0,8 μF/cm²; 11,2 kΩcm² i 0,8 μF/cm². Odpowiednie wartości oporu jednostkowego otrzymane z quasi-równoległe przeprowadzonych pomiarów prądem stałym były równe: 58, 19,2 i 16,7 kΩcm².

Na ryc. 4 przedstawiono przebieg zmian oporów mierzonych dla jednej z komórek quasi-równoległe prądem stałym i zmiennym przez okres 105 godz.



Ryc. 4. Wartości oporów mierzonych dla jednej z badanych komórek quasi-równoległe; 1 — prądem stałym, 2 — zmiennym

Opracowanie wyników otrzymanych w jednej z serii pomiarowych (bezpośredni pomiar zawady) podano w tab. 1.

Quasi-równoległe pomiary oporu, przy których stosowano prąd o częstotliwości od 1 do 20 Hz wykonano na 18 komórkach *Characeae*. W przypadku wszystkich badanych komórek stwierdzono, że w zakresie częstotliwości niższych od 10 Hz wykres zależności $1/Z^2$ od f^2 odbiegał od linii prostej.* Dla tego zakresu częstotliwości wartości pojemności i oporu błony nie zostały określone, ponieważ były trudności z dopasowaniem do otrzymanych krzywych $Z(f)$ dostatecznie prostych oporowo-pojemnościowych modeli.

Metodą mikroelektrod przeprowadzono quasi-równoległe pomiary oporu prądem stałym i zmiennym dla 10 komórek *Nitellopsis obtusa*. Otrzymana w tych pomiarach zależność $1/Z^2$ od f^2 przy niskich częstotliwościach również odbiegała wyraźnie od linii prostej (ryc. 5), a zatem — podobnie jak i w przypadku pomiarów dla $f < 10$ Hz elektrodami zewnętrznymi — modelem błony komórkowej dla tych częstotliwości nie mógł być prosty układ: pojedynczy element R-C. Metodą prób i dopasowań do zależności Z od f udało się, w przypadku tych pomiarów, określić elementy dwójnika (ryc.

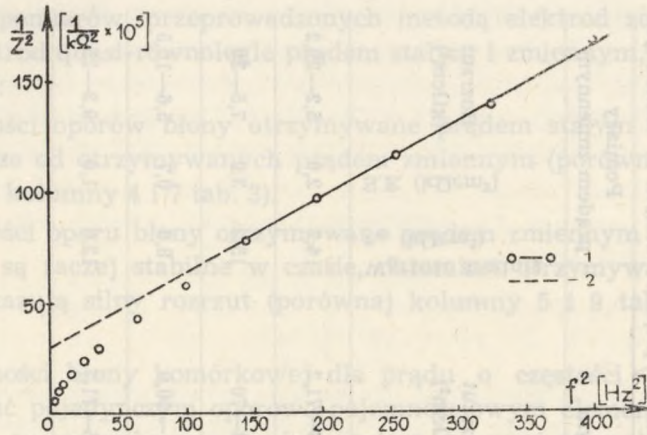
* Zawada układu składającego się z równoległe połączonych dwu elementów: oporu R i pojemności C wyraża się wzorem:

$$Z = \frac{R}{\sqrt{1 + R^2 C^2 \omega^2}}, \text{ gdzie } \omega = 2\pi f.$$

Wykres zależności $1/Z^2$ od f^2 jest zatem linią prostą.

Tab. 1. Pomiaru oporu błony prądem stałym i zmiennym

Nr komórki	Czas obserwacji	Pomiar oporu prądem stałym				Pomiar oporu prądem zmiennym			
		liczba pomiarów	wartość średnia ($K\Omega cm^3$)	rozrzut ($K\Omega cm^3$)	S.E. ($K\Omega cm^3$)	liczba pomiarów	wartość średnia ($K\Omega cm^3$)	rozrzut ($K\Omega cm^3$)	S.E. ($K\Omega cm^3$)
K2	4 doby	5	30	22-38	3,9	4	14	9-17	1,9
K4	2 doby	4	23	7-51,5	11,9	4	17	10-21	2,6
K5	4d. 6h.	8	29	56-18	7,8	6	14	9-18	1,7
K6	4d. 6h.	7	31	2-68	7,2	6	14	8-21	2
K7	30 h.	6	32	17-58	7	5	14	11-20	1,8
K8	48 h.	6	17	6-30	4,2	6	10	8-12	0,8
K9	30 h.	5	19	11,6-30,5	3,8	5	11	10-12	0,3



Ryc. 5. Zależność $1/Z^2$ (Z — zawada błony) od f^2 ; 1 — dane eksperymentalne, 2 — teoretyczny wykres tej zależności dla modelu będącego pojedynczym elementem RC

Tab. 2. Wartości oporów i pojemności dwójnika przyjętego za model błony komórkowej

Nr komórki	r_1 (kΩcm ²)	c_1 (μF/cm ²)	r_2 (kΩcm ²)	c_2 (μF/cm ²)	$r_1 + r_2$ (kΩcm ²)	r_m (kΩcm ²)	S (cm ²)
1	9,0	3,90	6,5	1,56	15,4	18,1	0,30
2	6,7	3,08	4,2	1,75	10,9	11,5	0,28
3	37,3	2,28	7,4	2,00	44,8	47,0	0,28
4	31,7	2,32	7,2	2,00	38,9	43,6	0,28
5	6,2	11,85	11,2	1,55	17,4	19,4	0,27
6	7,5	8,20	12,9	1,23	20,4	21,6	0,30
7	8,1	8,00	16,5	1,26	24,6	27,0	0,30
8	24,0	3,28	9,6	1,60	28,1	20,0	0,25
Wart. średn.	16,3	5,30	9,4	1,60	25,1	27,1	—

r_1 , c_1 , r_2 , c_2 — wartości oporów i pojemności dwójnika przedstawionego na ryc. 6, wyliczone z pomiarów zawady;

r_m — wartość oporu jednostkowego błony zmierzona mikroelektrodami;

S — powierzchnia komórki.

6), który mógłby służyć za ewentualny model błony komórkowej. Wartości tych elementów przedstawiono w tab. 2.

Usrednione wartości oporów błon komórek otrzymane z pomiarów prądem stałym i zmiennym ujęto w tab. 3.

Tab. 3. Średnie wartości oporu jednostkowego błony komórkowej otrzymane z pomiarów prądem stałym i zmiennym

Badany gatunek	Metoda pomiaru	Liczba komórek	Pomiary prądem stałym		Pomiary prądem zmiennym		
			Wartość średnia r_m (k Ω cm ²)	S.E. (k Ω cm ²)	Wartość średnia r_m (k Ω cm ²)	S.E. (k Ω cm ²)	
<i>Nitellopsis obtusa</i>	czterech elektrod	14	36,8	4,1	14,8—71,2	14,2	2,0
	mikroelektrod	10	32,4	6,5	13,2—70	15,2	3,9
<i>Chara brauni</i>	mostkowa	6	41,4	2,3	34—50,8	8,6	0,7
	mostkowa	6	51,9	8,0	14,5—71,7	12,0	1,0
<i>Nitella flexilis</i>							

Badany gatunek

Metoda pomiaru

Liczba komórek

Wartość średnia r_m (k Ω cm²)S.E. (k Ω cm²)Rozrzut (k Ω cm²)Wartość średnia r_m (k Ω cm²)S.E. (k Ω cm²)Rozrzut (k Ω cm²)

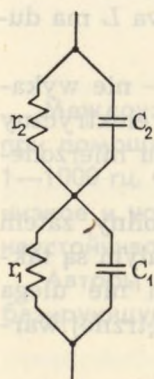
Wyniki pomiarów, przeprowadzonych metodą elektrod zewnętrznych i mikroelektrod quasi-równoległe prądem stałym i zmiennym, można ująć następująco:

1. Wartości oporów błony otrzymywane prądem stałym są zdecydowanie wyższe od otrzymywanych prądem zmiennym (porównaj kolumny 4 i 8 tab. 1 i kolumny 4 i 7 tab. 3).

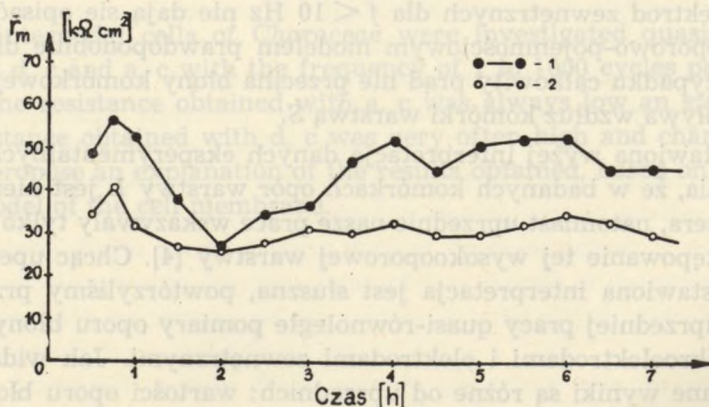
2. Wartości oporu błony otrzymywane prądem zmiennym dla częstotliwości > 10 Hz są raczej stabilne w czasie, natomiast otrzymywane prądem stałym wykazują silny rozrzut (porównaj kolumny 5 i 9 tab. 1 i patrz ryc. 4).

3. Własności błony komórkowej dla prądu o częstotliwości < 10 Hz nie można opisać pojedynczym oporowo-pojemnościowym elementem RC.

Pomiary oporu wyłącznie prądem stałym — quasi-równoległe metodą elektrod zewnętrznych i mikroelektrod — przeprowadzono dla 10 komó-



Ryc. 6. Dwójnik elektryczny — układ przyjęty za oporowo-pojemnościowy model błony komórkowej



Ryc. 7. Wartości oporu błony komórki *Nitellopsis obtusa* otrzymane: 1 — metodą elektrod zewnętrznych, 2 — mikroelektrod

rek *Chara brauni* i 5 komórek *Nitellopsis obtusa*. Typowy przebieg otrzymanych wartości oporu pokazano na ryc. 7. Dla komórek *Chara brauni* średnia wartość oporu określanego elektrodami zewnętrznymi (r_m) wynosiła 19,5 k Ω cm² (SE=3,6 k Ω cm², rozrzut 10—22 k Ω cm²), a mikroelektrodami (r_m) — 23,5 k Ω cm² (SE=4,4 k Ω cm², rozrzut 11—27 k Ω cm²). Dla komórek *Nitellopsis obtusa* otrzymano odpowiednio $r_m=33,2$ k Ω cm² (SE=9,1 k Ω cm², rozrzut 22—48 k Ω cm²) i $r_m=38,7$ k Ω cm² (SE=9,4 k Ω cm², rozrzut 26—52 k Ω cm²).

DYSKUSJA

Otrzymane wyniki z quasi-równoległe przeprowadzonych pomiarów prądem stałym i zmiennym dają się wyjaśnić w oparciu o koncepcję istnienia w pobliżu ścianki komórkowej dwu wysokooporowych warstw *P* i *L* (przezielonych przewodnikiem *S*), z których wewnętrzna ma niestabilną wartość oporu [4] oraz założenie, że wewnętrzna warstwa *L* ma dużą pojemność, równą co najmniej 6 μ F/cm².

Ad 1. Warstwa *L* — ponieważ posiada dużą pojemność — nie wykazuje praktycznie żadnego oporu dla prądu zmiennego. Opór elektryczny mierzony prądem stałym ma zatem wartość większą od oporu mierzonego prądem zmiennym.

Ad 2. Ponieważ opór wewnętrznej warstwy *L* jest niestabilny, zatem wartości całkowitego oporu otrzymane z pomiarów prądem stałym są także niestabilne. Wartość oporu otrzymana prądem zmiennym nie ulega zmianie, ponieważ prąd ten określa opór tylko stabilnej zewnętrznej warstwy *P*.

Ad 3. Modelem błony komórkowej, zgodnie z przyjętą koncepcją dwu wysokooporowych warstw, winien być dwójnik (ryc. 6). Pomiary zawady metodą elektrod zewnętrznych dla $f < 10$ Hz nie dają się opisać żadnym prostym oporowo-pojemnościowym modelem prawdopodobnie dlatego, iż w tym przypadku całkowity prąd nie przecina błony komórkowej, a część jego przepływa wzdłuż komórki warstwą *S*.

Przedstawiona wyżej interpretacja danych eksperymentalnych wymaga założenia, że w badanych komórkach opór warstwy *L* jest niemal stale różny od zera, natomiast uprzednie nasze prace wskazywały tylko na okresowe występowanie tej wysokooporowej warstwy [4]. Chcąc upewnić się, czy przedstawiona interpretacja jest słuszna, powtórzyliśmy przeprowadzone w uprzedniej pracy quasi-równoległe pomiary oporu błony prądem stałym mikroelektrodami i elektrodami zewnętrznymi. Jak widać z ryc. 7, otrzymane wyniki są różne od uprzednich: wartości oporu błony z pomiarów mikroelektrodami są niemal stale wyższe od otrzymywanych dla tych samych komórek elektrodami zewnętrznymi.

Badane w tej pracy komórki — charakteryzujące się niestabilną wartością oporu określanego prądem stałym — różnią się więc właściwościami elektrycznymi od komórek o stosunkowo stabilnym oporze. Z punktu widzenia koncepcji dwu wysokooporowych warstw, w komórkach o niestabilnym oporze wysokooporowa warstwa L istnieje stale.

PIŚMIENNICTWO

1. Skierczyńska J.: J. exp. Bot. **19**, 389 (1968).
2. Skierczyńska J., Bulanda W.: Studia Biophysica **21/22**, 219 (1970).
3. Skierczyńska J., Śpiewła E., Bulanda W., Żoźnierczuk R., Sielewiesiuk J.: J. exp. Bot. **24**, 47 (1973).
4. Skierczyńska J., Żoźnierczuk R., Śpiewła E., Bulanda W., Przygodzka A.: J. exp. Bot. **23**, 591 (1972).
5. Walker N. A.: Austr. J. Biol. Sci. **13**, 468 (1960).

РЕЗЮМЕ

Междоузельные клетки *Characeae* исследовались квазипараллельно при помощи постоянного или переменного тока с частотой в пределах 1—1000 гц. Сопротивление мембраны для переменного тока всегда было низкое и устойчивое, а для постоянного тока — очень часто высокое и неустойчивое.

Авторы предлагают свою интерпретацию полученных результатов, базирующуюся на трехслойной модели клеточной мембраны.

SUMMARY

The internodal cells of *Characeae* were investigated quasisimultaneously by d. c and a. c with the frequency of 1 to 1000 cycles per sec. The membrane resistance obtained with a. c was always low and stable, while the resistance obtained with d. c was very often high and changeable.

We propose an explanation of the results obtained, based on the three-layer model of the cell membrane.

