

WOJCIECH KUREK

## NIEKTÓRE ASPEKTY METODYKI POMIARU RÓŻNICY POTENCJAŁÓW ELEKTRYCZNYCH U ROŚLIN

SOME METHODOLOGICAL ASPECTS OF MEASUREMENTS OF ELECTRIC POTENTIAL DIFFERENCE IN PLANTS

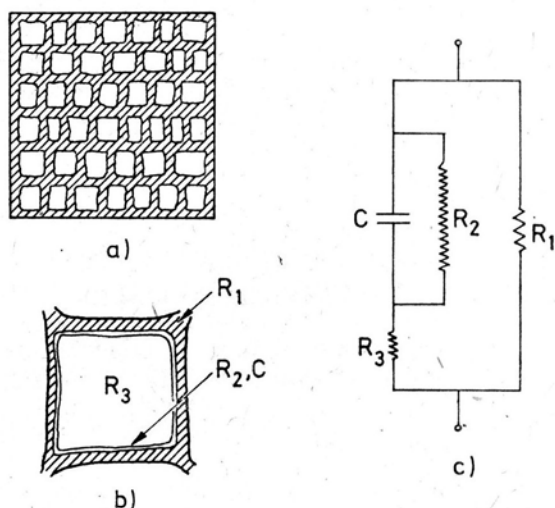
Zjawiska elektryczne są nieodłączną cechą komórek, tkanek i organów zarówno zwierzęcych, jak i roślinnych. Ich przejawem są mierzalne wielkości elektryczne: różnica potencjałów elektrycznych (ang.: potential difference, PD) i charakterystyki prądowo-opornościowe. Dwoma głównymi źródłami prowadzącymi do powstania PD między wnętrzem a środowiskiem zewnętrznym protoplastu, zwanej potencjałem membranowym (ang.: membrane potential,  $E_m$ ) są: transport bierny przez błony i pompa elektrogenna. Pierwszy z tych składników wynika z selektywnej przepuszczalności plazmolemy, różnej dla poszczególnych jonów, prowadzącej do wytworzenia gradientu koncentracji jonów — cząstek niosących ładunek elektryczny w poprzek membrany. Z kolei pompa elektrogenna jest definiowana jako aktywny transport, w którym ładunek netto jest przenoszony przez membranę na koszt energii metabolicznej [22]. U większości roślin ten ładunek netto niosą jony wodorowe ( $H^+$ ) wyrzucane na zewnątrz plazmolemy (pompa protonowa).

### Elektryczne modele organizmu roślinnego

Już dawno przyrównywano komórkę do ogniwa elektrycznego, wytwarzającego pewną siłę elektromotoryczną. Ponadto błonę komórkową, przez analogię do obwodu elektrycznego, można traktować jako pewną kombinację elementów elektrycznych biernych: rezystencji i pojemności [1, 8], a nawet — elementów czynnych: indukcyjności [5, 28, 51]; zaś cytoplazmę i ścianę komórkową — jako niskooporowe połączenia między nimi. Pozwala to traktować wielokomórkowy organizm roślinny jako pewną sieć elektryczną. Niektórzy autorzy, celem stworzenia fizycznej bazy dla interpretacji swoich rezultatów, konstruują mniej lub bardziej skompli-

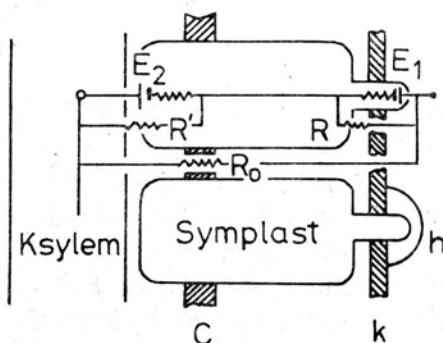
kowane modele powiązań elektrycznych grup komórek, tkanek i organów, a nawet kompletnych organizmów.

Modelowanie takie daje w efekcie zastępczy obwód elektryczny. Hayden i in. [21], (ryc. 1) w badaniach nad wycinkiem bulwy ziemniaka przyjęli np. założenie.



Ryc. 1. Model powiązań elektrycznych w wycinku bulwy *Solanum tuberosum*: a) schemat wielokomórkowego wycinka bulwy, b) modelowa komórka wyobrażająca ten wycinek, c) zastępczy schemat elektryczny. Pozostałe objaśnienia w tekście. Według Hayden i in. [21], zmodyfikowane

że zespół komórek wycinka można modelowo zastąpić pojedynczą, dużą komórką o rezystencji ściany komórkowej  $R_1$  (będącej odpowiednikiem sumy rezystencji ścian poszczególnych rzeczywistych komórek), o membranie typu kondensatora rzeczywistego z rezystencją  $R_2$  i pojemnością  $C$  (obie te wielkości są sumami po poszczególnych komórkach) i o rezystencji cytoplazmy  $R_3$ . Jakościowo inny jest model zaproponowany przez Okamoto i in. [37] dla hypokotylu rośliny motylkowej *Vigna* (ryc. 2). Dotyczy on całego organu, a ponadto zawiera elektryczne elementy



Ryc. 2. Schematyczne przedstawienie struktury elektrofizjologicznej hypokotylu *Vigna*. C — pasemka Caspary'ego, k — kutykula, h — hydattoda. Pozostałe objaśnienia w tekście. Według Okamoto i in. [37], zmodyfikowane

aktywne. Według tych autorów można przyjąć, że hypokotyl składa się z parenchymatycznych dysków symplastycznych otaczających system waskularny. W dyskach tych dwa ogniwa elektryczne reprezentują dwie radialne siły elektromotoryczne. Jedna z nich ( $E_1$ ) działa między powierzchnią organu a parenchymą, a druga ( $E_2$ ) — między parenchymą a ksylemem.  $R$  i  $R'$  są komponentami oporu membranowego korespondującego z kanałami pasywnego przepuszczania jonów. Są to rezystencje równoległe do sił elektromotorycznych  $E_1$  i  $E_2$ . Wysoka rezystencja  $R_0$  odpowiada pasemkom Caspary'ego, które są uważane za główną barierę dla przewodnictwa jonowego równoległe do obu sił elektromotorycznych. Tego typu model dla poziomej organizacji całego pędu zaproponował Lund [31]. Na podstawie polarności elektrycznych i wartości PD mierzonych w różnych kierunkach ustalił on zwroty i gradienty radialnych sił elektromotorycznych w tkankach floemu i ksylemu u *Pseudotsuga* oraz określił podłużną polarność elektryczną pędu.

Wraz ze wzrostem liczby komórek i rodzajów ich powiązań zastępczy obwód elektryczny traci szczegółowość. W ślad za tym powstają trudności w interpretacji wyników. Mimo to trzeba stwierdzić, że ograniczanie się do badań na pojedynczych komórkach mogłoby zamknąć drogę do poznania bardziej skomplikowanych procesów, wynikających ze złożoności struktury i funkcji rośliny wyższej. Niezależnie od ewentualnych trudności z interpretacją, przyjęcie określonego modelu stwarza możliwość uznania systemu elektrycznego rośliny za potencjalny nośnik różnego rodzaju informacji w obrębie organizmu. Przy takim założeniu, pomiary wielkości elektrycznych (np. PD) na poszczególnych elementach lub w poszczególnych obwodach tak określonej sieci mogłyby dostarczyć informacji cdośnie do funkcjonowania poszczególnych części lub całości rośliny. Pomiary takie są dziś wykonywane w wielu laboratoriach na różnych poziomach organizacji: od komórki do całego osobnika.

### Ogólna charakterystyka elektrod stosowanych do pomiaru PD u roślin

Układ służący do pomiaru PD składa się z trzech głównych części, niezależnie od tego czy obiektem badanym jest komórka, czy np. cała roślina:

- pary elektrod: elektrody pomiarowej i elektrody odniesienia,
- wzmacniacza sygnału elektrycznego odebranego przez elektrody,
- urządzenia rejestrującego (jako że PD jest zwykle obserwowana w pewnym przedziale czasu).

O ile wybór samych przyrządów pomiarowych jest dziś w znacznej mierze kwestią przeglądu ofert firm produkujących sprzęt elektroniczny, o tyle dobór elektrod, a w szczególności — elektrody pomiarowej, wymaga bardziej indywidualnego podejścia, uwzględniającego cel i obiekt badań. Właśnie z punktu widzenia obiektu badań, a szczególnie — jego wielkości, pojawia się kwestia wyboru pomiędzy dwoma grupami elektrod: mikroelektrodami i makroelektrodami. Pierwsze z nich służą do pomiaru PD na poziomie komórki, stanowiąc narzędzie do badań nad mechanizmem powstawania polaryzacji błon komórkowych i funkcjami potencjałów elektrycznych w przemianach komórkowych. W badaniach tych istotną rolę od-

grywają też takie metody jak: technika stabilizacji napięcia na membranach, pomiary przewodnictwa elektrycznego, stałej czasowej oraz impedancji, a także, w niektórych przypadkach, metody luminescencyjne pomiaru napięć elektrycznych. Prace z tego zakresu są zdominowane przez eksperymenty prowadzone na dużych komórkach glonów i stanowią dziś osobny, wielostronnie przebadany obszar elektrofizjologii roślin. Metodyka i zastosowanie techniki mikroelektrodowej w odniesieniu do pojedynczych komórek są opisane szczegółowo w pracach przeglądowych [9, 10, 12, 29, 43, 53]. Dlatego też w niniejszej pracy przedstawione są głównie zagadnienia dotyczące makroelektrod. Te ostatnie różnią się od mikroelektrod przede wszystkim wielkością obszaru, z którego zbierają sygnał elektryczny. Jest to przestrzeń obejmująca co najmniej kilkanaście komórek, zależnie od rodzaju elektrody. Cheesman i Pickard [4] na podstawie porównania wyników pomiarów wewnątrz- i zewnątrzkomórkowych utrzymują, że zjawiska rejestrowane zewnątrzkomórkowo reprezentują kolektywne zmiany  $E_m$  bardzo wielu komórek. Fuller i Pickard [11] zwracają ponadto uwagę, że pomiary makroelektrodami z kontaktem powierzchniowym rejestrują zjawiska, których źródło jest w różnej odległości od miejsca pomiaru, co zmusza do ostrożnej interpretacji danych dotyczących amplitudy obserwowanych zmian PD.

Stosowane do rejestracji PD na poziomie ponadkomórkowym elektrody pomiarowe można podzielić na:

- penetrujące tkankę,
- elektrody z kontaktem powierzchniowym,
- bezkontaktowe.

Elektroda odniesienia umieszczana jest zwykle w środowisku korzeni lub kontaktuje się z rośliną w taki sam sposób jak elektroda pomiarowa.

### Elektrody z kontaktem powierzchniowym

W grupie elektrod pomiarowych z kontaktem powierzchniowym stosuje się najczęściej ciekłe, elektrolityczne połączenie między rośliną a elektrodą (zwykle kalomelową lub chlorosrebrową). Jest to tzw. klucz elektrolityczny lub mostek solny (ang.: salt bridge). Na styku mostek solny/płynna zawartość tkanek wytwarza się zwykle pewna PD, zwana w elektrochemii potencjałem dyfuzyjnym, o wartości rzędu kilku do kilkudziesięciu mV [30]. Wielkość ta jest osiągana praktycznie natychmiast po zetknięciu się roztworów. W efekcie, w trakcie pomiaru PD potencjał dyfuzyjny jest źródłem stałego, systematycznego błędu. Dlatego w pracach z użyciem tego rodzaju kontaktów uwaga zwrócona jest głównie na wahania PD, a nie na jej wartość bezwzględną.

W przypadku elektrod powierzchniowych wielkość obszaru kontaktowego waha się w dużych granicach. Skrajnym przypadkiem jest tu praca Mamulašvilego i in. [32], którzy pojedyncze odcinki pędów *Cucurbita*, *Helianthus* i *Cucumis* o długości ok. 8—10 cm w całości zanurzali w pożywce Knoppa, z tym że poszczególne ich części (długości ok. 2 cm każda) znajdowały się w izolowanych od siebie kom-

partmentach, do których zanurzano elektrody. Mimo że w tych warunkach sygnał jest zbierany z bardzo dużej powierzchni rośliny, autorzy podają, że byli w stanie zarejestrować zmiany PD o charakterze potencjałów czynnościowych (ang.: action potential, AP). Ze stosunkowo mniejszej powierzchni zbierał sygnał Lund [31] w swoich doświadczeniach na izolowanych pędach *Pseudotsuga*. W tym przypadku zastosowano połączenie między tkanką a elektrodą w postaci nasyconych słabym elektrolitem (woda wodociągowa) pasemek bawełny, owiniętych wokół pędu. Późniejsi autorzy rozwinęli technikę bardziej punktowej rejestracji napięcia na powierzchni rośliny. W tym przypadku elektroda zakończona jest zwykle cienkościnną, szklaną pipetą z otworem o średnicy rzędu 1 mm na końcu, wypełnioną elektrolitem najczęściej roztworem KCl. Kontakt z powierzchnią rośliny może być: a) bezpośredni w postaci kropelki elektrolitu ([34, 40] — wyjątkowo cienka pipeta o średnicy wierzchołka ok. 15  $\mu\text{m}$ ); b) w postaci pędzelka utrzymującego ciekłe połączenie między wnętrzem pipety a powierzchnią organu [38]; c) poprzez nią bawełnianą nasączoną roztworem elektrolitu i żelowaną agarą, wystającą z pipety [41]; d) w postaci bloczka agarowego zawierającego również elektrolit [23, 47]. Zaletami metody powierzchniowych kontaktów są: nieuszkodzenie mechaniczne rośliny, możliwość zastosowania sprawdzonych w elektrofizjologii elektrod do pomiaru napięć stałych — mianowicie niepolaryzujących się elektrod odniesienia, stosunkowo duża prostota operacji łączenia elektrody z rośliną — małe trudności manipulacyjne.

Metoda cieczowych kontaktów powierzchniowych jest dziś dość powszechnie stosowana w elektrofizjologicznych badaniach na poziomie ponadkomórkowym. Przy jej użyciu rejestrowano spontaniczne oscylacje PD u *Phaseolus* [45], *Zea* [48], *Ipomoea*, *Pisum* i *Xanthium* [41], grzyba *Coprinus* [11]. Badano charakterystyki elektryczne AP u *Cucurbita* [47], *Lupinus* [39, 58, 59, 60, 61] i u wątrobowca *Conocephalum* [6, 40]. Analizowano rolę AP jako przenośnika informacji u *Dionaea* i *Drosera* [42, 57] oraz u roślin „niepobudliwych”: *Cucurbita* i *Phaseolus* [20]. Ustalano związki między rozkładem PD i procesami wzrostu u *Vigna* [23, 37].

Morath i Hertel [34] w pracy z użyciem elektrod o kontakcie powierzchniowym doszli do wniosku, że pierwszym efektem niesymetrycznego nałożenia auksyny na koleoptyl *Zea* jest przemieszczające się bazypetalnie zaburzenie bocznej PD. Fale PD rejestrowaną powierzchniowo na koleoptylu *Avena* po jednostronnym naświetleniu lub nałożeniu IAA na ściętą górną powierzchnię organu obserwował też Newman [35]. Stosując ten rodzaj kontaktu elektrod z rośliną badano też wpływ zmian warunków świetlnych na PD u *Vicia* [44] i *Phaseolus* [52]. Próbowano również wiązać zmiany PD z procesami towarzyszącymi zranieniu rośliny [54]. Metodę tę wykorzystywano ponadto w doświadczeniach nad zmutowanymi liniami kukurydzy [33] i nad siewkami oraz jednorocznymi pędami *Tilia* [50].

Do pomiaru PD stosowano także sporadycznie metalowe elektrody powierzchniowe, w których metal styka się bezpośrednio z nadziemnym organem rośliny. W pracy Semenienki [46] użyte zostały nakładane na liść płaskie elektrody platynowe. Eksperymenty przeprowadzone na dużej grupie gatunków roślin wyższych z różnych rodzin wykazały występowanie spontanicznych oscylacji PD. Można jednak

mieć zastrzeżenia, czy dotycząca tkanki elektroda metalowa tworzy rzeczywiście półogniwo w sensie elektrochemicznym. Powierzchnia liścia często jest pokryta kutykulą i w efekcie platyna styka się z izolatorem, a nie — z roztworem wodnym. Brak byłoby w tej sytuacji wynikającego z definicji elektrody (tj. półogniwa) przejścia z przewodnictwa elektronowego na jonowe (brak granicy faz: stałej i ciekłej).

Pewnymi wadami obarczona jest także metoda cieczowych kontaktów powierzchniowych. Jaffe i Nuccitelli [25] uważają, że techniką tą nie mierzy się naturalnych pól ani wielkości prądów, gdyż elektrody kontaktują się z powierzchnią komórki lub tkanki w bardziej lub mniej niefizjologicznych warunkach. Jest to według nich pomiar napięcia generowanego między dwoma punktami powierzchni przez zewnątrzkomórkowy prąd przechodzący przez powierzchniową warstwę cieczy. Napięcie to jest maksymalizowane przez zwiększanie oporu powierzchni, zwykle wskutek wysuszenia nieco powierzchni tkanki. Ponadto zmiany koncentracji cieczy kontaktowej zmieniają potencjał dyfuzyjny na styku z elektrolitem tkanki. Wahania te nakładają się mogą jako błąd na mierzoną PD. Stąd, zdaniem autorów, nieprzydatność metody do badań długookresowych. Gensler [13] wysuwa ponadto zastrzeżenie, że znaczna część mierzonej PD może być artefaktem — spadkiem napięcia na dużym oporze kutykuli. Potwierdzeniem tej sugestii może być praca Newmana [35], w której PD zaindukowanego fototropicznie koleoptylu, mierzona między dwoma punktami o zdrapanej kutykuli (ok. 1000-krotne zmniejszenie rezystancji) była 30-krotnie mniejsza od wartości uzyskanej przez innych autorów w pomiarach bez usuwania kutykuli.

### Elektrody bezkontaktowe

W celu uniknięcia tych wad i niepewności związanych z powierzchniowym kontaktem elektrody Graham i Hertz [18] skonstruowali elektrodę wibrującą do bezstykowego pomiaru PD. Metoda ta wykorzystuje fakt, że jeśli istnieje pole elektryczne między płytami płaskiego kondensatora i odległość między płytami jest zmienna, obserwuje się korespondujące zmiany napięcia w poprzek kondensatora, powodowane zmianą jego pojemności. A więc jeśli jedna płyta wibruje, amplituda zmiennego napięcia, które będzie generowane, jest proporcjonalna do pola elektrycznego wewnątrz kondensatora. Konstrukcyjna realizacja tej idei polega na tym, że jedną płytę kondensatora stanowi wibrująca płytka z metalu, a drugą obiekt biologiczny. Twórcy wibrującej elektrody przeprowadzili za jej pomocą pomiary poprzecznej PD koleoptyli *Avena*. W przypadku badania efektu geotropicznego uzyskali wynik ok. 60 mV [18], a dla efektu fototropicznego — ok. 90 mV ([19] cyt. za: [26]). Newman [35] uważa jednak, że metoda ta nie eliminuje artefaktowych pól elektrycznych wywołanych rozkładem ładunku statycznego, co zwykle zachodzi na powierzchni koleoptylu, ale co nie ma znaczenia biologicznego. W każdym razie ten sposób pomiaru PD organów roślin nie upowszechnił się. Metoda wibrującej elektrody została natomiast wykorzystana do nieco innych celów po ponownym jej opracowaniu przez Jaffe i Nuccitelli [24]. W tym przypadku zasada działania jest ta sama,



co u Grahma i Hertza: przetworzenie charakterystyki stałego pola elektrycznego na sinusoidę napięcia zmiennego, którego amplituda, równa mierzonej PD, jest następnie przetwarzana na napięcie stałe. Realizacja konstrukcyjna jest jednak inna. Wibrująca elektroda pomiarowa jest osadzoną na cieniutkim łączniku platynową kulką o średnicy ok. 25  $\mu\text{m}$ , a elektroda odniesienia — stosunkowo dużym, również platynowym pierścieniem, umieszczonym w pewnej odległości od elektrody pomiarowej. Układ ten jest przystosowany do pomiaru w środowisku wodnym. Dostarcza więc informacji o konfiguracji i wartości pola elektrycznego, jakie w swym (wodnym) otoczeniu wytwarza organizm żywy lub jego część. Autorzy tej metody zainteresowani byli jednak bardziej natężeniem prądów elektrycznych generowanych przez rozwijający się organizm żywy. W efekcie wibrująca elektroda stała się narzędziem do testowania hipotezy, że naturalne prądy elektryczne są istotnym czynnikiem wzrostu i różnicowania komórek i tkanek [26]. Badania prowadzone na zygotach glonów, m. in. *Fucus* ([36] cyt. za: [26]), rosnącej łagiewce pyłkowej *Lilium* [55] oraz korzeniu i włośnikach siewki *Hordeum* [56] pozwoliły ustalić główne miejsca generacji prądów, ich kierunek, zwrot i skład jonowy, a także wykazać ich rolę morfogenetyczną. Ewentualne przystosowanie wibrującej elektrody do bezpośrednich pomiarów PD nadziemnych organów roślin wymagałoby, jak się zdaje, daleko idących modyfikacji tego, bardzo skomplikowanego konstrukcyjnie, przyrządu.

### Elektrody penetrujące tkankę

Trzecią grupę elektrod do pomiaru PD na poziomie ponadkomórkowym stanowią elektrody penetrujące tkankę. W takim charakterze stosowane są czasem elektrody realizujące kontakt z obiektem przez mostek solny, analogicznie do mikropipet szklanych używanych do pomiaru  $E_m$ . Tego rodzaju pipety, o średnicy wierzchołka 10—20  $\mu\text{m}$ , stosował Sinjuchin [49] w pracy nad *Mimosa*, *Heracleum* i *Cucurbita*, w której ustalił, że potencjały czynnościowe są propagowane w pędzie tylko przez komórki miękiszowe floemu i komórki protoksylemu. Tego typu elektrody szklane są jednak bardzo kruche i można je używać tylko w przypadku miękkich tkanek. Penetrujące elektrody o kontakcie za pomocą klucza elektrolitycznego dla roślin drzewiastych zostały skonstruowane inaczej. Przykład taki znaleźć można we wspomnianej wcześniej pracy Lunda [31]. Kontakt elektrody pomiarowej z rdzeniem pędu *Pseudotsuga* zapewniał napełniony elektrolitem szklany lejek, wsadzony w wywiercony wąski otwór sięgający osi pędu. Również mostkiem solnym, ale innego rodzaju, posługiwali się autorzy badający długookresowe przebiegi PD rzędu miesięcy, roku, paru lat w pniu rosnących drzew [2, 7]. W tym przypadku w wywiercony otwór o średnicy paru milimetrów wciskany był 0,9% roztwór KCl, żelowany 0,7% agarem, który na zewnątrz pnia wypełniał wykonaną z izolatora tubę. W tej tubie elektroda właściwa — chlorosrebrowa kontaktowała się ze wspomnianym elektrolitem. Elektroda pomiarowa przez swój mostek solny penetrowała zwykle floem, kambium i parę słoików ksylemu. Tego typu elektrody nadają się tylko do pomiarów w dużych roślinach drzewiastych, gdzie można przyjąć założenie,

że rana o dość znacznych wymiarach nie zaburza istotnie zjawisk elektrycznych wewnątrz pędu. Dlatego w pracach nad mniejszymi obiektami zastosowano elektrody metalowe, stykające się bezpośrednio z elektrolitem wewnątrztkankowym. Jeśli materiał elektrody nie jest metalem szlachetnym (elektroda spolaryzowana), reakcja elektrolitów tkankowych z fazą stałą elektrody prowadzi do powstania dodatkowej różnicy potencjałów, która nie wynika z naturalnych procesów zachodzących w tkance. Niedogodność ta nie występuje, jeśli półogniwo wykonane jest z metalu szlachetnego (elektroda redoks), nie rozpuszczającego się w elektrolicie. Wtedy wytworzony potencjał jest miarą proporcji między stężeniami substancji zredukowanych i utlenionych w tkance.

W przypadku elektrody metalowej istnieje swoboda wyboru w dużych granicach wielkości powierzchni kontaktu elektrody z tkanką. Skrajnymi przypadkami są tutaj: nagi drut lub blaszka, bądź też ostrzona elektrolitycznie igła, zaizolowana lakierem prawie do wierzchołka. Kwestia ta jest o tyle istotna, że przy pomiarach wewnątrz rośliny elektroda naga zwiera różne tkanki, więc zapewne i strefy o różnym potencjale elektrycznym i mierzona PD jest średnią, nie reprezentatywną dla żadnej ze stref. Mimo to nagie elektrody metalowe wbijane na głębokość paru milimetrów w tkankę są stosowane, np. przez Genslera [13, 14]. W swych wcześniejszych pracach używał on słabo zaostrego drucika o długości paru milimetrów i średnicy 0,25 mm, ze stali nierdzewnej, który uważał za elektrodę redoks. Drucik wbijany był w pęd, tworząc półogniwo pomiarowe, a elektroda odniesienia umieszczona była w środowisku korzeni. W dalszych pracach autor ten stosował elektrody z palladu — klasycznego materiału na półogniwa redoks [15, 16]. Wykonując pomiary tą metodą, uzyskał w eksperymentach nad *Kalanchoë* i *Lycopersicon* powtarzalność przebiegów PD i zgodność niektórych szczegółów elektrofitygramu z wynikami uzyskanymi innymi metodami, z użyciem kontaktów powierzchniowych.

W następnej pracy Goldstein i Gensler [17] zamieszczają bardziej kompletne podstawy teoretyczne tej metodyki. Postulują, że otrzymany przebieg PD można interpretować według alternatywy:

- modelu opartego na efektach wewnętrznego pola elektrycznego rośliny, tworzonego w znacznym stopniu przez pompy elektrogenne,
- modelu opartego na zjawiskach wynikających ze zmian pH (jony  $H^+$  są bardzo istotnym składnikiem wewnątrzkomórkowych układów redoks) i/lub wzajemnej koncentracji par redoks.

Podobną technikę stosował Karlsson [27]. Używał on igłowych elektrod ze złota o średnicy 0,4 mm, wbijanych w ogonek liścia *Ficus*, rejestrując spontaniczne oscylacje PD o amplitudzie do ok. 200  $\mu V$ .

Wszystkie wymienione wyżej penetrujące elektrody metalowe miały stosunkowo duże wymiary. Tymczasem Cater i Silver [13] wnioskuje na podstawie badań nad zwierzętami, że im mniejsza powierzchnia kontaktu elektrody pomiarowej z tkanką, tym szybciej wykrywalne są zmiany PD indukowane przez iniekcję hormonów. Lecz przy redukcji powierzchni elektrody pomiarowej nasilają się bardzo zjawiska polaryzacji, prowadzące do dużych wahań poziomu zerowego. Z praktyki wiadomo



[10], że żadna elektroda metalowa o powierzchni tak małej jak rzędu kilku  $\mu\text{m}^2$  nie jest efektywna w pomiarach bardzo wolnych zmian PD. Są one dopiero użyteczne do pomiaru wahań PD, szczególnie o dużej częstotliwości — takich, jakie są przedmiotem zainteresowań neurofizjologii. Tak więc elektrofizjologowie roślin, mający do czynienia z powolnymi zmianami PD, muszą w tym przypadku dokonać wyboru między mikroelektrodą metalową o dużej rozdzielczości i dużych szumach własnych a makroelektrodą metalową — bezszumową, ale zbierającą potencjał z dużego obszaru.

#### LITERATURA

- [1] Blinks L. R., 1930. The variation of electrical resistance with applied potential. III. Impaled *Valonia ventricosa*. *J. Gen. Physiol.* 14, 139—162.
- [2] Burr H. S., 1947. Tree potentials. *Yale J. Biol. Med.* 19, 311—319.
- [3] Cater D. B., Silver I. A., 1961. Microelectrodes and electrodes used in biology. In: Reference electrodes. D. J. G. Ives, G. J. Janz eds. Academic Press, New York, 464—523.
- [4] Cheesman J., Pickard B. G., 1975. Depolarization of cell membranes in leaves of *Lycopersicon* by Ricca's factor. *Plant Physiol.* 56 suppl., 81.
- [5] Cole K. S., 1941. Rectification and inductance in the squid giant axon. *J. Gen. Physiol.* 25, 29—51.
- [6] Dziubańska H., Paszewski A., Trębacz K., Zawadzki T., 1983. Electrical activity of the liverwort *Conocephalum conicum*: The all-or-nothing law, strength-duration relation, refractory periods and intracellular potentials. *Physiol. Plant.* 57, 279—284.
- [7] Fensom D. S., 1963. The bioelectric potentials of plants and their functional significance. V. Some daily and seasonal changes in the electrical potential and resistance of living trees. *Can. J. Bot.* 41, 831—851.
- [8] Findlay G. P., Hope A. B., 1964. Ionic relations of cells of *Chara australis*. VII. The separate electrical characteristics of the plasmolemma and tonoplast. *Aust. J. Biol. Sci.* 17, 62—77.
- [9] Findlay G. P., Hope A. B., 1976. Electrical properties of plant cells. Methods and findings. In: Encyclopedia of Plant Physiology (New Series). Vol. II. Transport in plants. Part A. Cells. U. Lüttge, M. G. Pitman eds. Springer, Berlin, 52—92.
- [10] Frank K., Becker M. C., 1964. Microelectrodes for recording and stimulation. In: Physical techniques in biological research. Vol. V. W. L. Nastuk ed. Academic Press, New York, 22—87.
- [11] Fuller F. B., Pickard B. G., 1972. Spontaneous electrical activity in *Coprinus*. *Z. Pflanzenphysiol.* 67, 291—292.
- [12] Geddes L. A., 1972. Electrodes and the measurements of bioelectric events. Wiley, New York, 364 pp.
- [13] Gensler W., 1974. Bioelectric potentials and their relation to growth in higher plants. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 238, 280—299.
- [14] Gensler W., 1976. Method and apparatus for electrically determining plant water status. U. S. Patent No. 3, 967, 198.
- [15] Gensler W., 1978a. Tissue electropotentials in *Kalanchoë blossfeldiana* during wound healing. *Amer. J. Bot.* 65, 152—157.
- [16] Gensler W., 1978b. Correlation of transition electropotentials and stem diameter changes in *Lycopersicon esculentum*. *Bioelectrochem. Bioenerg.* 5, 152—167.
- [17] Goldstein A. H., Gensler W., 1981. A physiological basis for electrophytograms. I. Theoretical considerations. *Bioelectrochem. Bioenerg.* 8, 645—659.
- [18] Graham L., Hertz C. H., 1962. Measurements of the geoelectric effect in coleoptiles by a new technique. *Physiol. Plant.* 15, 96—114.
- [19] Graham L., 1964. Measurements of geoelectric and auxin-induced potentials in coleoptiles with a refined vibrating electrode techniques. *Physiol. Plant.* 17, 231—261.

- [20] Gunar I. I., Sinjuchin A. M., 1963. Funkcional'noe značenie tokov dejstvija v izmenenii gazo-obmena vyššich rasteņij. Fiziol. Rast. 10, 265—274.
- [21] Hayden R. I., Moyle C. A., Calder F. W., Crawford D. P., Fensom D. S., 1969. Electrical impedance studies on potato and alfalfa tissue. J. Exp. Bot. 20, 177—200.
- [22] Higinbotham N., 1973. Electropotentials of plant cells. Ann. Rev. Plant Physiol. 24, 25—46.
- [23] Ichino K., 1978. Distribution of electric potential and ion transport in the hypocotyl of *Vigna sesquipedalis*. III. Significance of radial potential difference. Plant Cell Physiol. 19, 253—262.
- [24] Jaffe L. F., Nuccitelli R., 1974. An ultrasensitive vibrating probe for measuring steady extracellular currents. J. Cell Biol. 63, 614—628.
- [25] Jaffe L. F., Nuccitelli R., 1977. Electrical controls of development. Ann. Rev. Biophys. Bioeng. 6, 445—476.
- [26] Jaffe L. F., 1982. Developmental currents, voltages and gradients. In: Developmental order: its origin and regulation. S. Subtelny, P. B. Green eds., Alan R. Liss, New York, 183—215.
- [27] Karlsson L., 1972. Instrumentation for measuring bioelectric signals in plants. Rev. Sci. Instr. 43, 458—464.
- [28] Kishimoto U., 1966. Hyperpolarizing response in *Nitella internodes*. Plant Cell Physiol. 7, 429—439.
- [29] Kuriyama H., Ito Y., 1975. Recording of intracellular electrical activity with microelectrodes. In: Methods in pharmacology. Vol. III. Smooth muscle. E. E. Daniel, D. M. Paton eds. Plenum Press, New York, 201—230.
- [30] Libuś W., Libuś Z., 1975. Elektrochemia, 278 ss., PWN, Warszawa.
- [31] Lund E. J., 1931. Electric correlation between living cells in cortex and wood in the Douglas fir. Plant Physiol. 6, 631—652.
- [32] Mamulašvili G. G., Krasavina M. S., Lialin O. O., 1973. O roli različnyh tkanej stebļa v pere-dače vozbuždenija. Fiziol. Rast. 20, 442—450.
- [33] Maslobrod S. N., Lysikov V. N., Duchovnyj A. I., Oloer F. G., 1978. Èlektrofiziologija kuku-ruzy. 121 ss., Štiinca, Kišinev.
- [34] Morath M., Hertel R., 1978. Lateral electrical potential following asymmetric auxin application to maize coleoptiles. Planta 140, 31—35.
- [35] Newman I. A., 1963. Electric potentials and auxin translocation in *Avena*. Aust. J. Biol. Sci. 16, 629—646.
- [36] Nuccitelli R., Jaffe L. F., 1975. The pulse current pattern generated by developing fucoid eggs. J. Cell Biol. 64, 636—643.
- [37] Okamoto H., Katou K., Ichino K., 1979. Distribution of electric potential and ion transport in the hypocotyl of *Vigna sesquipedalis*. VI. The dual structure of radial electrogenic activity. Plant Cell Physiol. 20, 103—114.
- [38] Paszewski A., Zawadzki T., 1973. Bioelectric potential in *Lupinus angustifolius* L. shoots. Ann. Univ. M. Curie-Skłodowska, Sectio C. 28, 1—9.
- [39] Paszewski A., Zawadzki T., 1974. Action potentials in *Lupinus angustifolius* L. shoots. II. De-termination of the strength-duration relation and the all-or-nothing law. J. Exp. Bot. 25, 1097—1103.
- [40] Paszewski A., Dziubińska H., Trębacz K., Zawadzki T., 1982. Electrical activity of the liver-wort *Conocephalum conicum*: Method of investigation and general characteristics of excitation. Physiol. Plant. 54, 83—87.
- [41] Pickard B. G., 1972. Spontaneous electrical activity in shoots of *Ipomoea*, *Pisum* and *Xanthium*. Planta 102, 91—114.
- [42] Pickard B. G., 1973. Action potentials in higher plants. Bot. Rev. 39, 172—201.
- [43] Purves R. D., 1981. Microelectrode methods for intracellular recording and iontophoresis. 146 pp., Academic Press, London.
- [44] Rybin I. A., Obolonskij V. V., Efimov A. K., 1972. Zavisimost' perechodnoj bioelektričeskoj reakcii lista rasteņija ot spektral'nogo sostava sveta. Fiziol. Rast. 19, 1170—1173.
- [45] Scott B. I. H., 1957. Electric oscillations generated by plant roots and a possible feedback mecha-nism responsible for them. Aust. J. Biol. Sci. 10, 164—179.

- [46] Semenenko A. D., 1969. Èffekt avtoparametričeskogo rezonansa u rastenij. Dokl. Ak. Nauk SSSR (Biologija). 189, 1396—1399.
- [47] Sinjuchin A., Stolarek J., 1961a. O przewodzeniu prądów czynnościowych przez wiązki przewodzące dyni zwyczajnej (*Cucurbita pepo*). Ann. Univ. M. Curie-Skłodowska, Sectio C. 16, 215—228.
- [48] Sinjuchin A. M., Stolarek J., 1961b. Izmenenie ritmičeskich kolebanij biopotencialov v ontogeneze koleoptila kukuruzy. Dokl. Ak. Nauk SSSR. 137, 725—727.
- [49] Sinjuchin A. M., 1964. Èlektrofiziologičeskie issledovanija kletok floëmy vysšich rastenij Izvestija TŠChA. 3, 59—70.
- [50] Sinjuchin A. M., Rutkovskij I. V., 1966. Registracija žytnospobnosti drevesnych rastenij èlektrofiziologičeskim metodom. Fiziol. Rast. 13, 349—357.
- [51] Skierczyńska J., 1975. Elektryczne własności błony plazmatycznej. W: Wykłady z biofizyki. W. Leyko red. Wyd. Uniw. Łódzkiego, Łódź, 123—157.
- [52] Stolarek J., Pazurkiewicz-Kocot K., 1980. Light induced action potentials in *Phaseolus vulgaris* L. Acta Biologica. 9, 9—17.
- [53] Thomas R. C., 1978. Ion-sensitive intracellular microelectrodes: how to make and use them. 110 pp., Academic Press, London.
- [54] Van Sambeek J. W., Pickard B. G., 1976. Mediation of rapid electrical, metabolic and photosynthetic changes by factors released from wounds. I. Variation potentials and putative action potentials. Can. J. Bot. 54, 2642—2650.
- [55] Weisenseel M. H., Jaffe L. F., 1976. The major growth current through lily pollen tubes enters as  $K^+$  and leaves as  $H^+$ . Planta. 133, 1—7.
- [56] Weisenseel M. H., Dorn A., Jaffe L. F., 1979. Natural  $H^+$  currents traverse growing roots and root hairs of barley (*Hordeum vulgare* L.). Plant Physiol. 64, 512—518.
- [57] Williams S. E., Pickard B. G., 1980. The role of action potentials in the control of capture movements of *Drosera* and *Dionaea*. In: Plant growth substances 1979. F. Skoog ed., Springer, Berlin, 470—480.
- [58] Zawadzki T., 1979a. Electrical properties of *Lupinus angustifolius* L. stem. I. Subthreshold potentials. Acta Soc. Bot. Pol. 48, 99—107.
- [59] Zawadzki T., 1979b. Electrical properties of *Lupinus angustifolius* L. stem. III. RC model, time constant, latency and threshold charge. Acta Soc. Bot. Pol. 48, 305—315.
- [60] Zawadzki T., 1980. Action potentials in *Lupinus angustifolius* L. shoots. V. Spread of excitation in the stem, leaves and root. J. Exp. Bot. 31, 1371—1377.
- [61] Zawadzki T., Trębacz K., 1982. Action potentials in *Lupinus angustifolius* L. shoots. VI. Propagation of action potential in the stem after the application of mechanical block. J. Exp. Bot. 33, 100—110.

Mgr inż. Wojciech Kurek  
Katedra Botaniki Leśnej SGGW-AR,  
ul. Rakowiecka 26/30, 02-528 Warszawa