

БИОФИЗИКА

А. Г. АРАРАТЯН и В. С. БАДАЛЯН

СОПРОТИВЛЕНИЕ ЭЛЕКТРИЧЕСКОМУ ТОКУ ЖИВЫХ И
МЕРТВЫХ РАСТИТЕЛЬНЫХ ТКАНЕЙ

Жизнеспособность растительных тканей обычно достаточно хорошо определяется по изменениям, иногда очень резким, их внешнего или внутреннего вида. Но в некоторых случаях омертвевшие части растения по виду почти не отличимы от живых, и прямое наблюдение не дает основания для решения поставленного вопроса. В таких случаях приходится вести длительное наблюдение и ждать дальнейшего поведения этих частей.

Большое количество наблюдений показало, что переход из живого состояния в мертвое происходит не сразу, как иногда кажется с первого взгляда. Часто кажущаяся по виду погибшей часть растения на деле оказывается живой, так как через некоторое время приходит в нормальное состояние. Например, листья и стебли ряда суккулентов (алоэ, агавы и др.) от температуры ниже нуля приходят в такое состояние, что кажутся окончательно погибшими, однако при переносе в теплое помещение через несколько дней полностью или частично восстанавливаются. Описаны и такие случаи, когда поврежденные от высокой температуры растения через некоторое время как бы приходят в нормальное состояние, но живут недолго или же дальнейшая их жизнь протекает ненормально.

Для более точного определения жизнеспособности прибегают к различным методам. Одним из наиболее широко известных методов определения жизнеспособности клеток растений является метод плазмолиза. Он основан на том факте, что плазмолиз может совершаться только при живой плазме. Следовательно, наличие плазмолиза служит показателем жизнеспособности протоплазмы.

Жизнеспособность клетки можно установить также по способности живой протоплазмы не пропускать пигментов клеточного сока. Их выход служит показателем того, что протоплазма мертва.

Неплохим методом является и определение жизнеспособности по движению протоплазмы.

Весьма хорошим является метод определения жизнеспособности клеток по характеру адсорбирования тех или других красок разными клеточными компонентами. Особенно хорошо изучено это явление в отношении адсорбирования основной краски, известной под названием

нейтральная красная. Эта краска при жизни клетки проникает через оболочку в протоплазматический слой растительной клетки и накапливается в вакуолях, равномерно окрашивая клеточный сок или отлагаясь в нем в виде капелек, кристаллов и т. д. В неживой клетке она адсорбируется протоплазмой, ядром, пластидами, но не клеточным соком, который остается неокрашенным.

Жизнеспособность клетки может быть определена и другими методами, например, флюоресцентной микроскопией.

Кроме этих «клеточных» методов имеются и «суммарные» методы. Такое название иногда употребляется для тех методов, применение которых по отношению к отдельным клеткам затруднено по техническим обстоятельствам. Эти методы дают хороший результат при исследовании целых тканей или их комплексов. К таковым относятся методы определения жизнеспособности по установлению фотосинтеза или дыхания.

От некоторых из перечисленных выше методов принципиально не отличаются методы определения всхожести семян [2], так как она обуславливается жизнеспособностью тканей зародыша. Здесь также изучается характер адсорбирования зародышем той или иной краски, или определяется наличие или отсутствие процесса дыхания также по красочным реакциям.

Специальное исследование по цитофизиологической оценке различных методов определения жизнеспособности растительных клеток и тканей [1] показало, что эти методы не равнозначны, и каждый из них характеризует некоторый небольшой отрезок в переходном периоде от жизни к смерти. Например, прекращение фотосинтеза еще не значит, что наступила смерть, так как оно характеризует начальное обратимое состояние в переходе от жизни к смерти. С другой стороны выяснено, что процесс дыхания довольно долго продолжается даже после наступления необратимого состояния. То же самое можно сказать при сравнении двух других методов, основывающихся на определении движения протоплазмы и процесса плазмолиза. Обычно при медленном умирании клетки, например, при постепенном повышении температуры, раньше всего происходит остановка движения протоплазмы, но это не означает прекращения жизни, т. к. фотосинтез еще имеет место, о дыхании и речи не может быть, а плазмолиз в соответствующих условиях продолжает происходить нормально. После повышения температуры еще на несколько градусов (приблизительно на 5—12°) наблюдается потеря способности к плазмолизу. Это—признак необратимых процессов от жизни к смерти и гибели клетки.

Большое преимущество всех упомянутых методов заключается в том, что ими исследуются те или другие физиологические явления непосредственно и в большинстве случаев визуально. Кроме того отдельные методы применимы для определения различных ступеней процесса умирания. Однако эта же их особенность является в некотором отношении отрицательным явлением, так как ни один из этих методов не охватывает всех ступеней умирания, всего процесса в целом. Наконец, не

всеми упомянутыми методами можно получить цифровые данные и в большинстве случаев таковые оказываются весьма относительными и трудно сравнимыми.

В качестве метода определения жизнеспособности клеток и тканей может быть применено также измерение электропроводности. Поскольку последняя находится в обратном отношении к сопротивлению электрическому току, электропроводность может быть выражена также степенью сопротивляемости, выраженной в омах.

Электрометрический метод определения жизнеспособности основывается на явлении, установленном несколько десятков лет тому назад [3, 4, 5, 6]. Суть этого явления заключается в том, что при отмирании клеток и целых тканей закономерно увеличивается их электропроводность или, что одно и то же, падает сопротивление электрическому току. Был предложен метод определения жизнеспособности животных объектов путем измерения сопротивления в омах [4].

Электрометрический метод определения жизнеспособности тканей имеет ряд особенностей. В отличие от большинства вышеупомянутых методов, этот метод не допускает непосредственного, визуального наблюдения над тканями и происходящими в них изменениями. Кроме того электрометрический метод пока что является суммарным, т. е. по техническим причинам обычно применим к тканям и органам растений, но не к их клеткам, за исключением редких случаев, когда исследуются крупные клетки [6]. Но он имеет ряд таких преимуществ, что вполне может считаться самостоятельным методом. Во-первых, при применении этого метода определение производится очень быстро, буквально за время от нескольких секунд до одной-двух минут, не считая времени, необходимого для подготовки материала и его умерщвления. Во-вторых, его большим преимуществом является получение числового выражения, соответствующего тому или другому состоянию тканей. Отсюда возможность широкого сравнения данных, полученных для различных частей растения, разных фаз развития и т. д. Наконец, электрометрический метод, в зависимости от употребления тех или других приборов, дает возможность наблюдения на расстоянии, по проводам или без них, с использованием световых или звуковых сигналов, записи течения процессов на самопишущих приборах.

В наших опытах мы пользовались тремя различными приборами: 1) мостиком постоянного тока с батарейным питанием, 2) мостиком переменного тока с частотой в 5.10 гц с питанием от электрической сети, 3) мостиком переменного тока с частотой в $3 \cdot 10^3$ гц с питанием от электрической сети¹. Сравнительные опыты показали, что для определения сопротивления изучаемых нами объектов с одинаковым успехом можно пользоваться любым из трех приборов, поскольку отсчеты производятся быстро. Мы предпочтительно пользовались третьим прибором, в состав

¹ Третий прибор по нашей просьбе был собран конструктором Г. В. Вартаняном, которому приносим благодарность.

которого входил также тестер со стрелкой, непосредственно показывающей сопротивление в омах.

В качестве материала для исследования брались разные части двадцати видов растений: пластинки и черешки листьев, стебли, корни, плоды, клубни и т. д. Отрезались части длиной приблизительно в 2—3 см. Из толстых органов—плодов, клубней, корнеплодов—вырезались куски толщиной в 0,5—1,0 см. Для таких объектов иногда использовалось пробочное сверло с внутренним диаметром в 6 мм. Отделенным частям давали слегка подсохнуть с поверхности. Затем их нанизывали на электроды (щупы), присоединенные к тестеру посредством недлинных проводов. Во всех случаях отмечалось первое же показание прибора, как только стрелка прибора приходила в состояние покоя.

Как известно, величина сопротивления в омах зависит не только от объекта, но и от поверхности электродов и расстояния между ними. Однако в описываемых здесь опытах нас интересовали не абсолютные величины, а отношения величин сопротивления, полученных как при прижизненных, так и при посмертных измерениях. Эти отношения, условно названные нами **электрокоэффициентами жизнеспособности**, не зависят от поверхности электродов [4] и расстояния между ними. Необходимо только, чтобы при измерениях прижизненного и посмертного сопротивления одного и того же объекта положение электродов не менялось.

Нами наблюдалось, что для величины электропроводности некоторое значение имеют и размеры исследуемого объекта при одних и тех же положениях электродов. Чем больше размеры объекта, тем меньше получается сопротивление, и наоборот. Однако это обстоятельство также не влияет на указанное отношение, т. е. **электрокоэффициент жизнеспособности** (табл. 1).

Как видно из таблицы, для пяти различной величины кусков клубня картофеля получены разные абсолютные числа в омах, однако отношения сопротивления живой и умерщвленной ткани остаются почти неизменными. Средняя ошибка не превышает 2,4% средней величины.

Таблица 1

Сопротивление мякоти клубня картофеля электрическому току в омах при различной величине взятых кусков

№ кусков клубня картофеля разной величины (от большого к малым)	Сопротивление в омах		Электрокоэффициенты жизнеспособности	Средний электрокоэффициент жизнеспособности $M = m$
	в живом состоянии	после умерщвления высокой температурой		
1	10,500	5,000	2,10	2,13 ± 0,045
2	11,500	5,500	2,09	
3	14,000	6,800	2,05	
4	16,000	7,500	2,13	
5	19,500	8,400	2,29	

Умерщвление исследуемого объекта производилось парами воды при температуре 70—75°. Для этой цели колба с небольшим количеством воды нагревалась на водяной бане до получения нужной температуры в верхней части колбы, что проверялось при помощи вставленного в резиновую пробку термометра. Объект вместе с электродами, на которых он оставался за все время опыта, вводился в колбу, в атмосферу паров, и устанавливался около ртутного резервуара термометра. Мы остановились на упомянутой температуре, чтобы смерть наступала быстро и наверняка, т. е. без возможности обратимых процессов [1]. В этих условиях любой из исследованных объектов умерщвлялся за 5—30 секунд, однако для верности объект продерживался в колбе несколько дольше—до одной минуты и больше. За наступлением смерти можно следить по движению стрелки прибора. Обычно она движется в сторону понижения сначала медленно, затем ускоренно, под конец снова замедленно. Остановка стрелки на некотором низком сопротивлении означает наступление смерти.

Объект на электродах доставался из колбы и ставился на охлаждение до комнатной температуры. Во многих случаях за время охлаждения стрелка вновь более или менее перемещалась в сторону повышения сопротивления. Показание тестера после охлаждения объекта фиксировалось как посмертное сопротивление.

Для умерщвления живых тканей можно использовать горячую воду нужной температуры, в которой также объект остается недолго; в опытах В. Я. Александрова 5 минут [1]. При долгом нахождении объекта в воде после умерщвления электролиты из клеток диффундируют в воду, отчего сопротивляемость тканей электрическому току повышается и иногда доходит до прижизненной. Такое повышение сопротивления вовсе не означает восстановление жизнеспособности и объясняется чисто физико-химическими изменениями в мертвой ткани.

Ниже, в табл. 2, приводим результаты измерений сопротивления в омах исследованных нами объектов. На основании вышесказанного о способе применения электродов должно быть ясно, что абсолютные величины сопротивления, приведенные в таблице (столбцы 5 и 6), не сравнимы даже в пределах одного вида или в отношении одинаковых органов различных видов. Вполне сравнимыми могут считаться лишь отношения между сопротивлением в омах живой и умерщвленной части растения, т. е. условно принятые электрокоэффициенты жизнеспособности (столбец 7). Статистическая обработка числового материала упомянутых отношений показала, что приведенные в таблице электрокоэффициенты жизнеспособности довольно близки к истинным значениям для данного конкретного материала. Так, для стебля плюща получилось $M \pm m = 4,5 \pm 0,22$, откуда нетрудно вычислить, что ошибка средней величины не превышает 5%.

Из данных таблицы видно, что во всех случаях сопротивление электрическому току живых тканей намного выше, чем в тех же тканях после их умерщвления. В этом отношении наши данные согласуются с приве-

Таблица 2

Сопротивление частей растений электрическому току в живом состоянии
и после умерщвления высокой температурой

Вид растения	Исследуемый орган	Число измерений	Среднее сопротивление в омах		Средний электрокоэффициент жизнеспособности
			в живом состоянии	после умерщвления высокой температурой	
<i>Allium cepa</i> Лук репчатый	сочные чешуи	6	33,500	8,000	4,2
	донце	2	22,500	6,500	3,5
<i>Aralia</i> sp. Аралия	черешок листа	9	37,280	6,960	5,3
<i>Begonia feastii</i> Бегония круглолистная	черешок листа	9	44,550	3,320	13,4
<i>Begonia maculata</i> Бегония пятнистая	черешок листа	4	50,000	4,200	11,9
<i>Beta vulgaris</i> Свекла столовая	корнеплод	6	20,670	7,170	2,9
<i>Brassica oleracea</i> Капуста белокочанная	лист, между жилками	4	57,000	10,000	5,7
	жилка листа	4	12,000	4,150	2,9
	кочерыжка	4	13,750	7,300	1,9
<i>Bryophyllum daigremontianum</i> Бриофиллум	старый лист	5	100,000	9,350	10,7
	молодой лист	7	331,670	12,500	26,5
	черешок листа	2	37,500	9,500	3,9
	корень толщ. 2 мм	1	125,000	16,500	7,6
<i>Citrus limon</i> Лимон	черешок листа	6	201,670	17,670	11,4
	стебель побега	9	63,550	16,650	3,8
<i>Citrus reticulata</i> Мандарин	кожица плода	3	78,300	10,300	7,6
	мякоть плода	3	30,700	11,700	2,6
<i>Cucurbita pepo</i> Тыква	мякоть плода	9	22,700	8,800	2,6
<i>Cydonia oblonga</i> Айва	плод	3	22,670	6,300	3,6
<i>Daucus carota</i> Морковь	центр корнеплода	3	17,300	8,000	2,2
	кора корнеплода	3	15,670	6,300	2,4
<i>Elaeagnus angustifolia</i> Лох	годовая ветка	10	106,000	27,300	3,9
<i>Ficus elastica</i> Фикус комнатный	черешок листа	6	18,500	8,500	2,2
	корень толщ. 6 мм	2	42,000	14,900	2,9
<i>Hedera helix</i> Плющ	черешок листа	10	445,000	23,250	19,1
	стебель побега	11	51,730	10,470	4,9
<i>Kleinia</i> sp. Клейния цилиндрическая	лист	6	93,500	17,160	5,4
	стебель	2	30,500	7,000	4,4
<i>Kleinia</i> sp. Клейния плосколистная	черешок листа	10	143,000	14,400	9,9
	стебель	8	37,500	7,725	4,9
<i>Malus domestica</i> Яблоня культурная	плод	3	31,700	7,000	4,5
<i>Raphanus sativus</i> Редька	центр корнеплода	4	15,800	7,750	2,0
	кора корнеплода	3	18,500	7,700	2,4
<i>Solanum tuberosum</i> Картофель	клубень	9	12,300	7,000	2,1

ленными в литературе [4, 6]. В наших опытах наибольшие электрокоэффициенты были получены для листьев (26,5) и их черешков (19,1), наименьшие—для клубней картофеля (2,1) и кочерыжек капусты (1,9).

При сопоставлении электрокоэффициентов жизнеспособности различных растительных объектов можно прийти к выводу, что эти величины характерны для них, так как в определенных условиях константны, о чем уже было сказано выше.

Если изученные нами объекты расположить в определенной последовательности, например, в порядке убывания электрокоэффициента жизнеспособности, как это сделано Б. Н. Тарусовым по отношению к органам животного, то получится приблизительно такой ряд: пластинка листа > черешок листа > стебель = корень > луковица > плод > корнеплод > клубень = кочерыжка капусты. Поскольку электрокоэффициент жизнеспособности выше у тканей с большим обменом веществ [4], то отсюда можно прийти к выводу, что листья являются органами с наибольшим обменом веществ. Стебли и корни в этом отношении намного уступают листьям. Органы же, служащие местом накопления запасных веществ, характеризуются низким электрокоэффициентом жизнеспособности.

Нами проведен небольшой опыт по определению сопротивления электрическому току частей растений, умерщвленных низкой температурой. С этой целью черешки листьев двух видов бегонии и цилиндрические куски из клубня картофеля, вырезанные при помощи пробочного сверла, были поставлены на 16 часов в холодильник при $-1,5^\circ$ и частью под открытым небом, в ноябре, при -3° . Результаты измерений приводятся в табл. 3.

Таблица 3

Сопротивление частей растений электрическому току в живом состоянии и после умерщвления охлаждением до $-1,5$ — -3°C

Вид растения	Исследуемый орган	Число измерений	Среднее сопротивление в омах		Электрокоэффициент жизнеспособности
			в живом состоянии	после умерщвления охлаждением	
<i>Begonia feastii</i> Бегония круглолистная	черешки	2	50,000	4,200	11,9
<i>Begonia maculata</i> Бегония пятнистая	черешки	3	55,000	5,600	10,3
<i>Solanum tuberosum</i> Картофель	клубни	6	12,300	6,160	2,0

Данные, приведенные в табл. 3, показывают, что при умерщвлении живых тканей низкой температурой сопротивление также резко понижается приблизительно до таких величин, которые были получены при применении высокой температуры. При обоих способах умерщвления

живой ткани электропроводность изменяется одинаково, следовательно, электрокоэффициент жизнеспособности должен также получиться почти одинаковым, что мы видим при сопоставлении данных табл. 2 и 3. Для бегонии круглолистной мы имеем соответственно 13,4 и 11,9, для бегонии пятнистой—11,9 и 10,3 для клубней картофеля—2,1 и 2,0.

Из вышеизложенного видно, что электрометрическим способом можно весьма точно определить жизнеспособность неизвестной ткани, т. е. узнать, жива она или нет. Для этой цели Б. Н. Тарусовым [4] предложен мостик, дающий возможность измерять сопротивление ткани электрическим током двух частот—низкой частоты (10^4) и после переключения—высокой частоты (10^6). И поскольку электропроводность живой ткани при токах высокой частоты равна электропроводности той же ткани в мертвом состоянии, то нет надобности умерщвлять ткань. Электрокоэффициент жизнеспособности при помощи этого прибора определяется весьма быстро. Для этого числовое выражение сопротивления в омах при пропускании тока низкой частоты нужно делить на соответствующую величину, полученную при пропускании тока высокой частоты.

Мы предлагаем более простой способ определения жизнеспособности тканей и их комплексов. Простота нашего способа заключается в том, что можно использовать мостик любой конструкции как постоянного, так и переменного тока невысоких частот. Кроме мостика необходимо иметь еще приспособление для получения температуры в 70—75°C. Сначала определяется сопротивление объекта в омах в естественном состоянии, а затем через 1—3 минуты после воздействия высокой температурой. Если частное, полученное в результате деления первого числа на второе, будет не менее чем 1,5 и обычно более (в наших опытах до 26,5), значит исследуемая часть растения была живой. Если же частное получится равным единице с небольшим отклонением в ту или другую сторону, приблизительно на 0,2—0,3, то эта часть растения была мертвой.

В случае, если мертвая ткань растения долго пролежала в воде, то первая величина в омах, т. е. полученная при определении сопротивления объекта до нагревания, может оказаться такой же высокой, как и при прижизненном определении. Однако и в таком случае после нагревания объекта сопротивление не понижается, а остается почти таким же.

В опыте с пятью кусками клубня картофеля, продержанных в воде после умерщвления нагреванием, нами получены следующие средние величины сопротивления.

Сопротивление в омах в живом состоянии — 12,000,
после умерщвления — 7,200,

Электрокоэффициент жизнеспособности — 1,7.

После четырехдневного выдерживания в воде тех же пяти кусков получено:

Сопротивление в омах до нагревания — 11,900,
после нагревания — 11,700,

Электрокоэффициент жизнеспособности — 1,1.

Подобные же данные были получены в опыте с выдерживанием в воде черешков двух видов бегонии.

Таким образом, описанный способ определения жизнеспособности применим и в тех случаях, когда мертвые части растения находились в воде несколько дней и, следовательно, лишились большей части электролитов.

Армянский сельскохозяйственный
институт

Поступило 30 I 1957 г.

Ա. Գ. ԱՐԱՐԱՏՅԱՆ, Վ. Ս. ԲԱԿԱՆՅԱՆ

ԿԵՆԴԱՆԻ ԵՎ ՄԵՌԱԾ ԲՈՒՍԱԿԱՆ ՀՅՈՒՍՎԱԾՔՆԵՐԻ ԴԻՄԱԴՐՈՒԹՅՈՒՆԸ ԽԵՎՏՐԱԿԱՆ ՀՈՍԱՆՔԻՆ

Ա մ փ ո փ ու մ

Բույսերի կենսառնակաթյունը որոշվում է մի քանի մեթոդներով՝ ներկման, պլազմոլիզմի, շնչառության և այլն: Մենք առաջարկում ենք օգտագործել նաև էլեկտրաչափական մեթոդ, որն ունի մի շարք առավելություններ: Կենսառնակաթյան որոշումը էլեկտրաչափական մեթոդով կատարվում է արագ: Ստացվում են համեմատելի թվեր: Հնարավոր է գիտողաթյունները կատարել հեռավորության վրա, օգտագործել լույսաչին և ձայնաչին ազդանշաններ, փոփոխությունները գրանցել ինքնադիր գործիքներով:

Հաշտնի է, որ կենդանի և մեռած հյուսվածքների էլեկտրահաղորդականությունը նույնը չէ: Կենդանի հյուսվածքն ավելի մեծ դիմադրություն է ցույց տալիս էլեկտրական հոսանքին, քան նույն հյուսվածքը մեռնելուց հետո: Այդ դիմադրությունը չափվում է կիրոսմետրով:

Հյուսվածքի կենսառնակաթյունը որոշելու համար նախ պետք է չափել նրա դիմադրությունը օմերով կենդանի վիճակում ապա մինչև 70—75° տաքացնելու միջոցով մեռչնելուց հետո, և առաջին թիվը բաժանել երկրորդի վրա: Եթե քանոցը ստացվի 1,5-ից ո՛չ պակաս և սովորաբար ավելի մեծ (մեր փորձերում ստացվել է մինչև 26,5), արեմն հյուսվածքը կենդանի է, իսկ եթե ափս լինի 1 կամ մինչև 0,3 ավելի կամ պակաս (0,7—1,3), դա նշանակում է որ հյուսվածքը մեռած է:

Այդ քանոցը մենք պարմանական կերպով սնվանում ենք կենսունակությամբ Էլեկտրագործակից: Վերջինս բնորոշ է համապատասխան հյուսվածքների համար և այնքան ավելի բարձր է, որքան ավելի հյուսվածքի նյութերի փոխանակությունն ուժեղ է: Մեր փորձերը ցույց տվեցին, որ նյութափոխանակաթյունն ամենից ինտենսիվ կատարվում է տերևում, ապա ցողունում և արմատում, այն ամենից թույլ է սննդանյութեր ամբարոդ օրգաններում՝ պտուղներում, պալարներում, արմատապտուղներում:

Երբ բույսի մեռած հյուսվածքը երկար ժամանակ մնում է ջրի մեջ, նրա էլեկտրությունները դուրս են գալիս և այդ հյուսվածքի դիմադրությունը բարձրանում է՝ հասնելով համարյա կենդանի հյուսվածքի դիմադրության: Սակայն, մեռած հյուսվածքի բարձրացած դիմադրությունը տաքացնելուց հետո չի իջնում, և երկու դիմադրությունների հարաբերությունը դարձյալ լինում է մոտավորապես 1:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Александров В. Я., Цитофизиологическая оценка различных методов определения жизнеспособности растительных клеток. Экспериментальная ботаника, вып. 10, 1955.
2. Исаченко Б. Л. и Предтеченская А. А., Применение окрашивания семян как метод определения их жизнеспособности. Экспериментальная ботаника, вып. 2, 1936.
3. Насонов Д. Н. и Александров В. Я., Реакция живого вещества на внешние воздействия, 1940.
4. Тарусов Б. Н., Электропроводность как метод определения жизнеспособности тканей. Архив биол. наук, т. 52, вып. 2, 1938.
5. Трошин А. С., Проблема клеточной проницаемости, 1956.
5. Osterhout W., Electrical phenomena in large plant cells. *Physiological Review*, 16, 1936.