

BBA 73 II 3

Variations périodiques de la différence de potentiel électrochimique des chlorures au cours d'oscillations spontanées du potentiel de membrane chez Nitella

Summary

Spontaneous and self-sustained oscillations of the Cl^- electrochemical potential difference are always observed some seconds after rhythmical variations of the membrane potential. This corresponds to a periodic increasing of the internal Cl^- concentration in the vacuole. It is suggested that the potential spikes are linked with a bulk-change in the cytoplasmic phase associated with an expelling of fixed Cl^- . The origin of the oscillations is briefly discussed as a stationary state of non equilibrium associated with transitions in cytoplasmic colloid conformation.

Certaines cellules de Nitella présentent des oscillations spontanées et auto-entretenues de leurs deux potentiels de membrane ($E_{\text{cytoplasme}}$ et E_{vacuole}) lorsque le rapport des concentrations des différents ions est modifié dans le milieu extérieur¹. Ces oscillations se distinguent des potentiels d'action répétitifs^{2,3} par leur forme, leur amplitude et leurs conditions de déclenchement.

Dans cette note, nous décrivons deux séries typiques d'oscillations qui affectent la différence de potentiel électrochimique de Cl^- de part et d'autre du plasmalemme en même temps que le potentiel de membrane chez *Nitella flexilis* (L) Ag. Ces deux potentiels sont enregistrés par rapport au milieu extérieur, respectivement par deux électrodes d' $\text{Ag}-\text{AgCl}$, l'une enfoncee dans la vacuole, et par deux ponts de KCl 3 M raccordés à des piles au calomel, l'un contenu dans une micropipette de verre plongeant dans la vacuole (cf. réf. 4). La différence de potentiel électrochimique de Cl^- (en mV) est égale à la différence entre le potentiel de membrane et le potentiel d'équilibre de Cl^-

$$\Delta E_{\text{Cl}} = E_{\text{ov}} - \frac{RT}{zF} \cdot \ln \frac{[\text{Cl}^-]_0}{[\text{Cl}^-]_1}$$

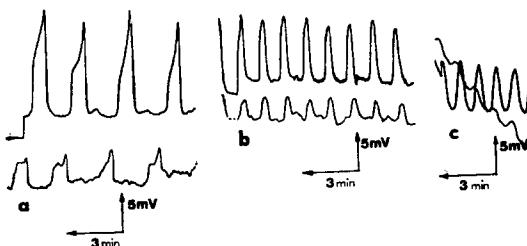


Fig. 1. Oscillations spontanées et auto-entretenues du potentiel de membrane (E_{ov} : au-dessus) et de la différence de potentiel électrochimique des chlorures (ΔE_{Cl} : au-dessous). Ces oscillations ont été déclenchées à la suite d'une modification de la concentration relative du milieu extérieur. Notez que les deux plumes de l'enregistreur sont décalées d'un espace correspondant à 1 min.
a. Oscillations rappelant une suite de potentiels d'action. b. Oscillations à amplitude croissante. c. Chute de ΔE_{Cl} et fin des oscillations.

Le premier train d'oscillations observées est reproduit sur la Fig. 1a. Elles sont apparues quand la solution extérieure: KCl 0.10 mM; NaCl 0.32 mM; glucuronate

de sodium 0.68 mM fut remplacée par KCl 0.10 mM; NaCl 0.10 mM; glucuronate de sodium 0.90 mM. La forme des oscillations du potentiel de membrane évoque celles de potentiels d'action répétitifs; toutefois leur amplitude est beaucoup plus faible (12 mV). Chaque oscillation de ΔE_{Cl} apparaît quelques secondes après l'oscillation correspondante d' E_{ov} . Leur amplitude est plus faible, leur pic maximum dure plus longtemps.

Le second train d'oscillations (Fig. 1b) est apparu à la fin de la période d'équilibre du potentiel de membrane lorsque Nitella fut plongée de la solution KCl 0.10 mM; NaCl 0.57 mM; glucuronate de sodium 0.43 mM dans: KCl 0.10 mM; NaCl 1.00 mM. Il s'agit de variations périodiques de E_{ov} et de ΔE_{Cl} de forme plus symétrique que les précédentes. Leur amplitude augmente linéairement en fonction du temps, plus rapidement pour E_{ov} que pour ΔE_{Cl} (Fig. 2). Le délai entre deux oscillations devient plus grand à mesure que leur amplitude augmente. On constate aussi sur cette figure que la plupart des oscillations de ΔE_{Cl} sont en retard sur celles de E_{ov} . Ces déphasages ont été calculés d'après l'enregistrement; étant donné la vitesse assez lente de déroulement du papier, leur mesure est approximative. Une dizaine de mesures faites au chronomètre montrent que ce délai peut varier de 1.5–10 sec, la valeur moyenne

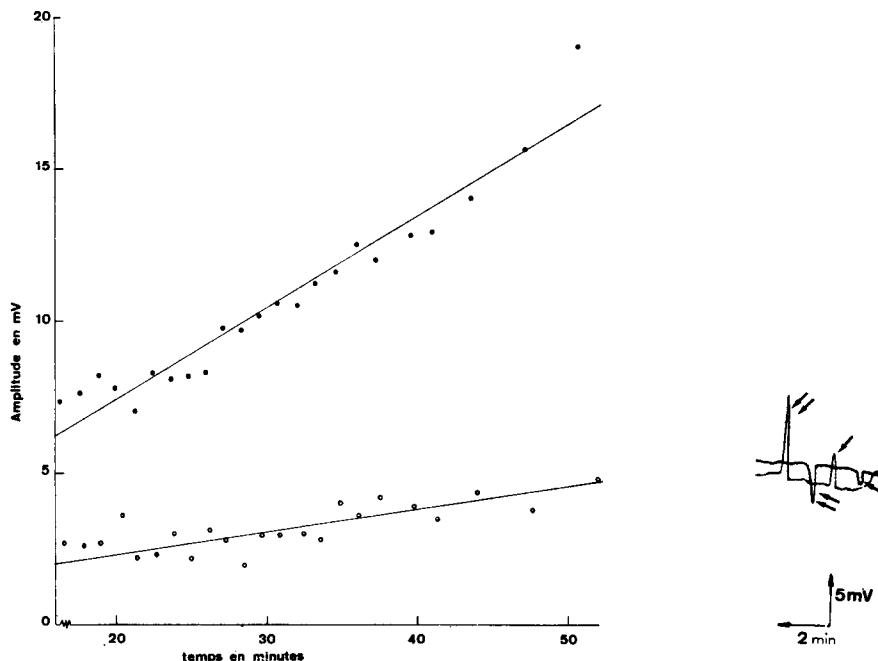


Fig. 2. Augmentation de l'amplitude des oscillations du potentiel de membrane (E_{ov} : ●) et de celles de la différence de potentiel électrochimique (ΔE_{Cl} : ○) en fonction du temps. On note le léger retard de l'oscillation de la différence de potentiel électrochimique sur celle du potentiel de membrane.

Fig. 3. Oscillations spontanées à amplitude croissante du potentiel de membrane cytoplasmique (E_{oc} : au-dessous) et vacuolaire E_{ov} (au-dessus). Les flèches indiquent les oscillations correspondantes (même remarque que pour Fig. 1). On note la déviation en sens contraire de chacun de ces potentiels au moment de l'oscillation.

étant de 6 sec. 50 min après le début des oscillations la ΔE_{Cl} chute régulièrement (Fig. 1c) en continuant à osciller alors que le potentiel de membrane diminue seulement de quelques mV (de -116 à -111 mV).

Comme nous l'avons déjà souligné¹, l'apparition de telles oscillations est aléatoire. Toutefois, la substitution du glucuronate au chlorure comme anion de remplacement dans le milieu extérieur, semble augmenter la fréquence du phénomène chez les Nitella testées en hiver, déjà plus sensibles¹. C'est ainsi que 7 cellules sur les 20 observées ont présenté un comportement oscillant, soit sous la forme décrite, soit sous la forme de quelques oscillations de même type mais isolées.

Variations de $[Cl^-]_i$. L'électrode d'Ag-AgCl plonge à la fois dans le cytoplasme et dans la vacuole. Assez souvent le cytoplasme rampe à sa surface et la recouvre dans sa plus grande partie. L'électrode capillaire est située dans la vacuole: elle enregistre la somme de la différence de potentiel entre le cytoplasme et le milieu extérieur et de celle entre la vacuole et le cytoplasme: $E_{ov} = E_{oc} + E_{ev}$. Considérons la cellule comme un seul compartiment limité par le plasmalemmme. Puisque $[Cl^-]_o$ reste constant pour une même série d'oscillations, il résulte des variations de $(\Delta E_{Cl} - E_{ov})$ que $[Cl^-]_i$ augmente brusquement après chaque variation périodique du potentiel de membrane (E_{ov}) puis diminue d'abord rapidement, ensuite plus lentement, pour retrouver sa concentration de départ (cf. Fig. 1a). Pour considérer séparément les phases cytoplasmique et vacuolaire nous devons connaître les variations de leurs potentiels de membrane respectifs (E_{oc} et E_{ev}). Dans ce but, nous enfonçons une microélectrode dans le cytoplasme, l'autre dans la vacuole et nous constatons (Fig. 3) qu'au moment des oscillations E_{oc} devient plus négatif (valeur moyenne pour 10 mesures: de -133 à -142 mV) et E_{ov} devient moins négatif (de -112 à -104 mV). Pour autant que les variations de E_{ov} ou de E_{oc} soient plus fortes que celles de ΔE_{Cl} , ce qui semble être le cas, on peut conclure que $[Cl^-]_i$ cytoplasmique diminue et que $[Cl^-]_i$ vacuolaire augmente après chaque oscillation des potentiels respectifs.

Chaque oscillation du potentiel de membrane est donc suivie d'une variation de la quantité des chlorures thermodynamiquement actifs: augmentation au niveau vacuolaire, très probablement diminution au niveau cytoplasmique. Ces observations cadrent bien avec celles de COSTER *et al.*⁵ au cours d'un potentiel d'action chez *Chara australis*. En effet durant l'excitation, la charge nette effective fixée du cytoplasme passe d'une valeur négative à une valeur positive. Ces observations soulignent la ressemblance entre certaines des oscillations auto-entretenues et les potentiels d'action répétitifs. Comme celles-ci se produisent toujours au moment où la cellule vient d'être plongée dans une solution extérieure où la concentration ionique relative a été changée, nous estimons qu'elles correspondent à l'apparition d'un état stationnaire de non-équilibre⁶. La contrainte imposée au système cellulaire résulte d'une variation des flux ioniques. Il est intéressant de rapprocher cette structure de non-équilibre des propriétés normales d'irritabilité de Nitella et ainsi des variations critiques dans la forme et les propriétés adsorbantes des colloïdes cytoplasmiques.

Facultés Universitaires de Namur,
Département de Biologie Végétale,
Rue de Bruxelles 61, B-5000, Namur (Belgique)

J. LEFEBVRE
C. GILLET

- 1 J. LEFEBVRE, R. LEFEVER ET C. GILLET, *Bull. Soc. Roy. Belgique*, 103 (1970) 157.
- 2 U. KISHIMOTO, *Plant Cell Physiol.*, 7 (1966) 547.
- 3 C. RADENOVICH, L. A. CAREVA ET A. N. SINJUKHIN, *Biofizika*, 13 (1968) 270 (en russe).
- 4 J. BRADLEY ET E. J. WILLIAMS, *J. Exptl. Botany*, 55 (1967) 241.
- 5 H. G. L. COSTER, J. C. SYRIATOWICZ ET L. N. VOROBIEV, *Australian J. Biol. Sci.*, 21 (1968) 1069.
- 6 I. PRIGOGINE ET R. LEFEVER, *J. Chem. Phys.*, 48 (1968) 1695.

Reçu le janvier 21, 1970

Biochim. Biophys. Acta, 203 (1970) 575-578