

JAN ZURZYCKI

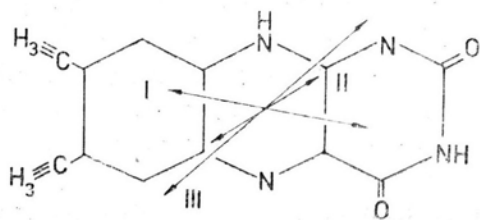
## DICHROIZM DZIAŁANIA

Pojęcie dichroizmu zostało wprowadzone w naukach mineralogicznych dla określenia pewnych własności kryształów oglądanych w świetle liniowo spolaryzowanym. Pochłanianie światła w wielu kryształach uzależnione jest od kierunku polaryzacji padającego na nie światła. Obracając taki kryształ w płaszczyźnie stolika mikroskopowego obserwujemy, przy zastosowaniu oświetlenia białym światłem spolaryzowanym, pojawianie się kilku barw, stąd nazwa dichroizm — dwubarwność. Jeżeli jednak użyjemy do obserwacji światło monochromatyczne, kryształ w trakcie obrotu wykazuje jedynie zmianę stopnia pochłaniania, stając się w pewnym położeniu ciemny, prawie czarny, w innym przezroczysty, w zależności od kąta pod jakim jego oś ustawiona jest do płaszczyzny polaryzacji.

Znacznie później pojęcie dichroizmu zastosowane zostało w fizyce molekularnej i chemii kwantowej. Okazało się bowiem, że wiele cząsteczek, zwłaszcza bardziej złożonych, nieizotropowych wykazuje maksymalne prawdopodobieństwo absorpcji kwantu świetlnego, przy określonym położeniu osi cząsteczki w stosunku do płaszczyzny polaryzacji. Pochłanianie światła przez roztwór takich cząsteczek jest oczywiście niezależne od płaszczyzny polaryzacji, ponieważ w roztworze cząsteczki są nieuporządkowane i prawdopodobieństwo ustawienia ich osi w dowolnym kierunku jest jednakowe. Natomiast zjawisko dichroizmu widoczne będzie dopiero wówczas, gdy cząsteczki zostaną uporządkowane w ten sposób, aby ich osie wykazywały preferencję ustawienia w określonym kierunku w przestrzeni. Porządkowanie tego typu może powstać na drodze naturalnej, np. podczas krystalizacji, możemy go jednak indukować sztucznie, np. drogą wprowadzenia cząsteczek do przezroczystych folii, które następnie poddaje się silnemu rozciąganiu, wprowadzenie ich do ciekłych kryształów lub innymi metodami.

Określenie kierunku maksymalnej absorpcji (w terminologii kwantowej — momentu przejścia) w stosunku do osi cząsteczki, nie jest łatwym zadaniem. Metody eksperymentalne polegają na określeniu własności optycznych systemu uporządkowanego np. rozciągniętej folii, przy czym z pewnym prawdopodobieństwem można przyjąć, że wydłużone cząsteczki ustawiają się równoległe do kierunku rozciągania.

Określenie kierunków absorpcji można również oprzeć na metodach obliczeniowych, uwzględniając rozkład ładunków w orbitalach cząsteczki. Metody te, zwłaszcza dla bardziej złożonych struktur organicznych, muszą opierać się na pewnych przyjętych założeniach, stąd ich wynik nie jest również zawsze jednoznaczny. Na skutek tych trudności ukierunkowanie momentów przejścia w wielu badanych związkach, w tym także ważnych jako biologiczne fotoreceptory, nie jest do dziś ostatecznie określone, ale proponowane są przynajmniej pewne alternatywne rozwiązania. Rys. 1 przedstawia przykładowo proponowany układ momentów przejść dla jednej z flawin. Jeżeli przyjąć, że w cząsteczce ryboflawiny momenty te ułożone są podobnie, to należałoby oczekiwać iż promieniowanie o długości fali bliskiej pierwszemu maksimum absorpcji (450 nm) pochłaniane będzie najsilniej gdy wektor elektryczny polaryzacji ustawiony jest równoległe do dłuższej osi pierścienia izoalloksazynowego, natomiast zakresy spektralne odpowiadające bardziej krótkofalowym maksimum (370, 280 nm) gdy wektor ten ustawiony jest pod kątem 30–50° w stosunku do osi pierścienia.

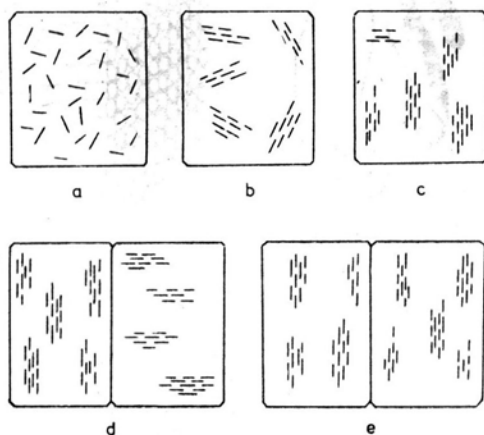


Rys. 1. Ukierunkowanie momentów przejścia w cząsteczce 6, 7-dwumetyloizoałoksazyny. Wektor I przedstawia położenie momentu przejścia dla maksimum w świetle widzialnym (niebieskim), wektory II i III dla maksimum w nadfiolecie [15]

Podsumowując, przez dichroizm rozumiemy różnice w absorpcji światła spolaryzowanego w zależności od ukierunkowania płaszczyzny polaryzacji do określonej osi geometrycznej struktury (kryształu, cząsteczki). Koncepcja dichroizmu działania jest analogicznym pojęciem biologicznym i oznacza różną efektywność fizjologiczną światła spolaryzowanego w zależności od ustawienia płaszczyzny polaryzacji w stosunku do określonej osi organizmu, komórki lub organelli komórkowej.

Jakie warunki muszą być spełnione, aby można było oczekiwać wystąpienia dichroizmu działania światła w procesach fizjologicznych? Pierwszym i podstawowym warunkiem jest dichroizm absorpcji barwników pełniących rolę fotoreceptorów. Warunek ten jest z reguły spełniony, ponieważ cząsteczki barwników typu flawin, karotenoidów, fitochromu, chlorofilu wykazują dichroizm absorpcji. Drugim warunkiem jest odpowiednie uporządkowanie tych cząsteczek w określonych strukturach, gdyż jak wspomniano nawet cząsteczki dichroiczne w systemie nieuporządkowanym (np. w roztworze) nie wykazują różnic w absorpcji w zależności od kierunku polaryzacji. W większości wypadków barwniki fizjologicznie czynne zlokalizowane są w określonych strukturach komórkowych (z reguły w błonach) dzięki czemu możliwy jest mniejszy lub większy stopień ich uporządkowania. To jednak nie wystarcza, gdyż jeśli substruktury komórkowe nie wykazują kierun-

kowej preferencji w swoim ustawieniu, komórka jako całość nie będzie reagować na płaszczyznę polaryzacji światła. Dopiero przy pojawieniu się kierunkowej preferencji układu substruktur, możliwe staje się wystąpienie dichroizmu działania na poziomie komórkowym. Dichroizm działania w skali organu czy organizmu (np. w procesach metabolicznych) wystąpić może dopiero gdy uporządkowanie sięga wyższego etapu strukturalnego, gdy komórki z uporządkowanymi strukturami recepcyjnymi ustawione są względem siebie regularnie, np. równoległe. Rozważania te najlepiej objaśni schemat przedstawiony na rys. 2.



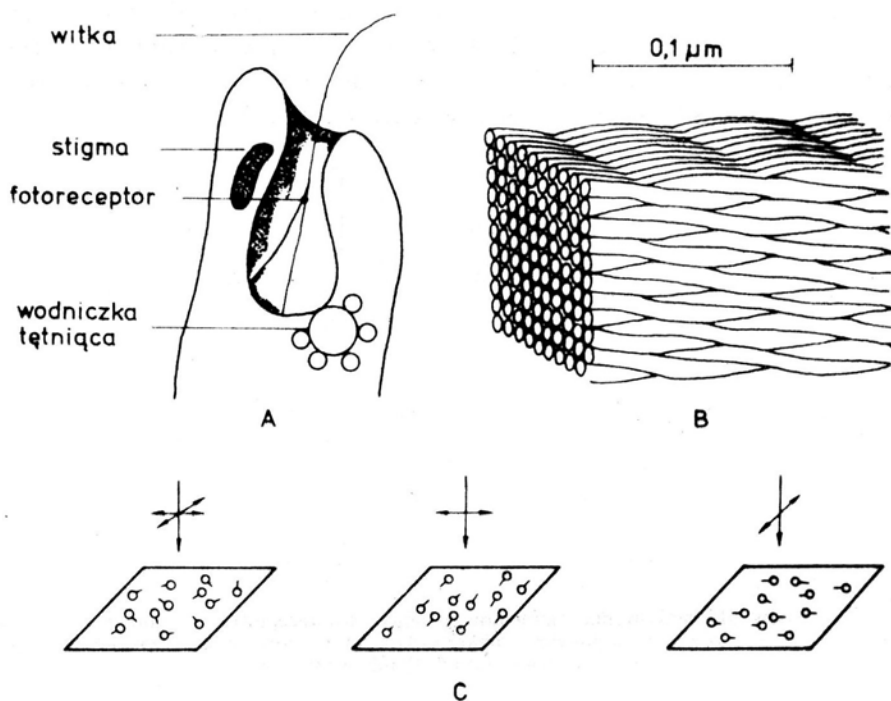
Rys. 2. Kilka typów ukierunkowania momentów przejścia fotoreceptorów w komórce. Możliwe jest wystąpienie dichroizmu działania na poziomie subkomórkowym w wypadku b, na poziomie komórkowym w c—e, na poziomie tkankowym w e

Wreszcie spełniony być musi trzeci warunek — światło musi docierać do elementów barwnych w formie spolaryzowanej. Warunek ten, choć oczywisty, jest często niedoceniany w badaniach skutków światła spolaryzowanego na tkanki roślinne. Tymczasem bardzo łatwo jest wykazać, że w tkankach tych posiadających z reguły przestwory międzykomórkowe wypełnione powietrzem, wielokrotne odbicie i załamanie światła na granicy faz woda-powietrze prowadzi do prawie całkowitej jego depolaryzacji. Tak więc można z góry przewidywać, że w złożonych tkankach roślinnych (liście, nasiona) nie można oczekiwać wystąpienia dichroizmu działania, nawet gdy poprzednio wymienione warunki są spełnione.

Przejdźmy teraz do przedstawienia wybranych przykładów dichroizmu działania w roślinnych procesach fotobiologicznych.

Klasycznym obiektem dla badań fototaksji swobodnie pływających glonów jest wiciowiec *Euglena*. Organizm ten posiada w przedniej części komórki obok wici dwa elementy strukturalne związane z recepcją światła: tzw. plamkę oczną (stigmę), złożoną z liczną kul lipidowych zawierających barwniki karotenoidowe i właściwy fotoreceptor jakim jest zgrubienie podstawowe wici (rys. 3a). Mechanizm ustawiania kierunku ruchu w stosunku do kierunku padania światła polega na tym, że gdy *Euglena* płynąc ruchem obrotowym ustawiona jest pod kątem do promieni świetlnych, fotoreceptor otrzymuje sygnał świetlny przerywany,

na skutek okresowego zaciemnienia przez plamkę oczną. Jest to sygnałem do korekcji kierunku ruchu. Korygowanie ustaje dopiero wówczas, gdy fotoreceptor otrzymuje ciągły strumień światła, co ma miejsce gdy kierunek ruchu zgodny jest z kierunkiem światła [7].



Rys. 3. *Euglena gracilis*. A. Przednia część komórki z aparatem fotorecepcji [7], B. Ultrastruktura fotoreceptora [20], C. Kierunki ruchu organizmów przy oświetleniu światłem niespolaryzowanym i spolaryzowanym [5]

Umieścimy zawiesinę komórek *Euglena* w formie cienkiej warstwy w płaskim naczyniu oświetlonym od góry. Komórki mając swobodę ruchu ograniczoną praktycznie do jednej płaszczyzny prostopadłej do światła, nie reagują na oświetlenie wykazując ruch różnokierunkowy. Jeżeli jednak zamiast zwykłego światła zastosować spolaryzowane, następuje porządkowanie kierunków ruchu poszczególnych komórek (rys. 3c). Płyną one teraz prostopadle do wektora elektrycznego światła [5]. Dichroizm działania występujący w tym wypadku nie ma nic wspólnego z mechanizmem zaciemnienia fotoreceptora przez stigmę, ponieważ zaciemnienie takie przy płynięciu w płaszczyźnie prostopadłej do światła zawsze występuje. Natomiast zjawisko dichroizmu jest wyrazem specyficznego wzbudzenia fotoreceptora uzależnionego od płaszczyzny polaryzacji i wskazującego na istnienie uporządkowanych struktur wewnątrz elementu fotorecepcyjnego. Struktura ta nie jest w pełni poznana, ale o istnieniu wysoce zorganizowanych i ukierunkowanych elementów wewnętrznych świadczą m. in. ostatnie badania wykonane przy wykorzystaniu specyficznych metod filtrowania optycznego zdjęć elektronomikroskopowych [20]. Wykazały one, że ciało bazalne złożone jest z elementów rurkowatych,

ustawionych równolegle względem siebie, a prostopadle do osi komórki i nieco helikoidalnie skręconych (rys. 3b). Opisane obrazy stanowią dobrą podstawę dla orientacji cząsteczek fotoreceptora, którym jest w tym wypadku flawina.

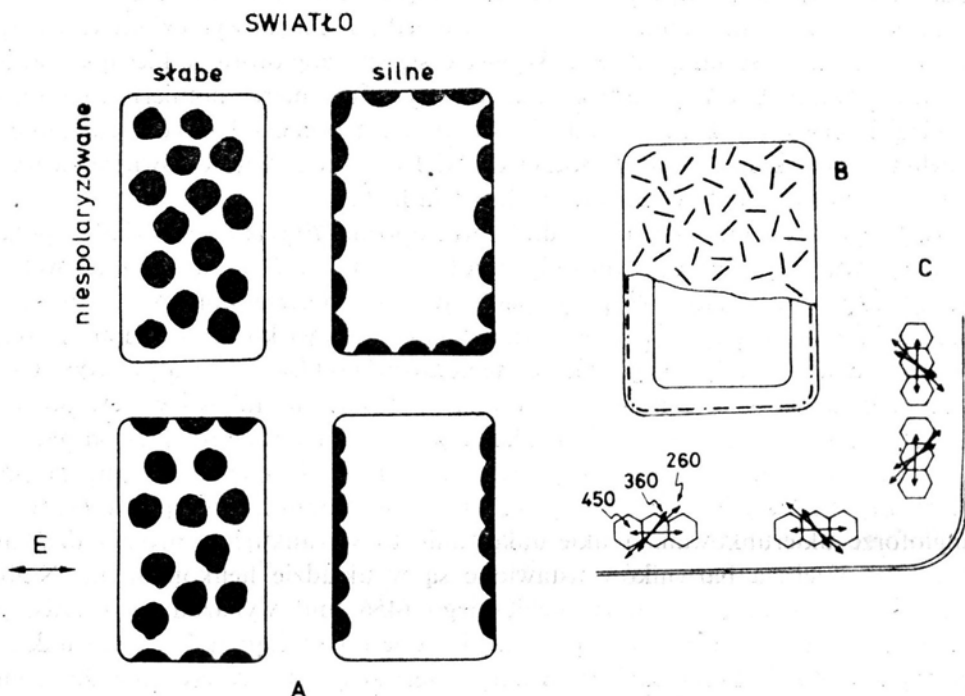
Zjawisko fototropizmu studiowane jest głównie na dwu obiektach: koleoptyle owsa i sporangioforze *Phycomyces*. O ile w pierwszym, ze względu na złożoną budowę wielokomórkową z przestrzeniami międzykomórkowymi, nie należy oczekiwać dichroizmu działania światła, o tyle jednokomórkowy, cylindryczny sporangiofor możliwość taką otwiera. Wygięcie się sporangioforu w kierunku światła po zastosowaniu bocznego oświetlenia jest wynikiem nierównomiernego wzrostu. Szybciej rośnie część komórki silniej oświetlona, a ponieważ światło załamuje się w cylindrycznej komórce jak w soczewce, większa intensywność oświetlenia występuje przy ścianie odwróconej od źródła światła [4].

Użycie po raz pierwszy do badań fototropizmu *Phycomyces* światła spolaryzowanego wykazało, że efektywność światła była o 24% wyższa gdy kierunek wektora elektrycznego ustawiony był prostopadle do osi sporangioforu w stosunku do ustawienia równoległego [17]. Pozornie wyraźne zjawisko dichroizmu działania zostało jednak przez samego eksperymentatora poddane w wątpliwość. Cylindryczna komórka sporangioforu, otoczona powietrzem stanowi wbrew pozorom złożony układ optyczny, a odbicie i załamanie światła (zależne również od płaszczyzny polaryzacji) bardzo komplikują analizę stosunków świetlnych. Późniejsze prace [11, 9, 14] wykazały jednak, że przynajmniej część drobin fotoreceptora jest w sporangioforze ukierunkowana i ukierunkowanie to warunkuje dichroizm działania. Momenty przejścia barwników ustawione są w układzie helikoidalnym. Najbardziej aktywne działanie światła niebieskiego (456 nm) wykazano wówczas, gdy płaszczyzna wektora elektrycznego ustawiona jest pod kątem  $7^\circ$  w stosunku do prostopadłej do osi komórki [14]. Ważną obserwacją było stwierdzenie, że promieniowanie o długości fali 280 nm jest najbardziej aktywne gdy jego wektor elektryczny skierowany jest pod kątem  $42^\circ$ . Przyjmuje się, że w ryboflawinie wzajemne ustawienie momentów przejścia jest podobne. Obserwacja powyższa jest zatem dodatkowym argumentem wskazującym na flawinowy charakter fotoreceptora. Natomiast do chwili obecnej sprawą dyskusyjną jest lokalizacja fotoreceptora w komórce sporangioforu (błona, struktury cytoplazmatyczne ukierunkowywane przez prądy cytoplazmy?).

Przykładem ruchów wewnątrzkomórkowych sterowanych światłem krótkofalowym mogą być zależne od oświetlenia przemieszczania chloroplastów. W ciemności chloroplasty są z reguły rozmieszczone równomiernie przy wszystkich ścianach komórkowych. Po oświetleniu światłem słabym przesuwają się i skupiają przy ścianach ustawionych prostopadle do kierunku padania światła, a więc najkorzystniej oświetlonych, natomiast w świetle silnym opuszczają te miejsca lokując się przy ścianach bocznych, równoległych do kierunku światła, najslabiej oświetlonych. Zjawisko to można traktować jako wyraz szybkiej adaptacji aparatu fotosyntetycznego do warunków oświetlenia.

Zastosowanie światła spolaryzowanego do badań przemieszczeń chloroplastów [16, 21] wykazało, że komórka bardzo wyraźnie odbiera informacje o kierunku

polaryzacji. W spolaryzowanym świetle słabym chloroplasty lokują się nie tylko na górnej i dolnej ścianie, ale również na ścianach bocznych, równoległych do wektora elektrycznego polaryzacji. Na odwrót — w świetle silnym unikają nie tylko ścian ustawionych prostopadłe do kierunku padania światła, ale i ścian bocznych, równoległych do wektora elektrycznego (rys. 4a). Zjawisko to będące



Rys. 4. Układy chloroplastów w komórce *Funaria hygrometrica* w świetle słabym i silnym, niespolaryzowanym i spolaryzowanym. B. Postulowany układ momentów przejścia fotoreceptora (dla światła niebieskiego) w komórce *Funaria*. C. Możliwy układ cząsteczek flawiny [23]

wyraźną ilustracją dichroizmu działania można tłumaczyć przyjmując, iż moment przejścia cząsteczek fotoreceptora ustawiony jest równoległe do powierzchni komórki. Jak wynika z innych badań, miejscem lokalizacji flawinowego fotoreceptora jest w tym wypadku plazmolema. Wysoki stopień organizacji strukturalnej tej błony stwarza możliwość odpowiedniego ustawienia cząsteczek flawiny. Promieniowanie nadfioletowe wywołuje również translukacje chloroplastów, ale komórka nie jest w stanie w tym zakresie spektralnym reagować specyficznie na kierunek polaryzacji [21, 23] — recepcja promieniowania spolaryzowanego jest identyczna jak niespolaryzowanego. Wytłumaczenia tego faktu można dopatrywać się znowu w specyficznych właściwościach optycznych cząsteczki flawiny. Przy ułożeniu cząsteczek jak to przedstawia rysunek 4c należy przewidywać, że światło spolaryzowane niebieskie (450 nm) jest zupełnie różnie pochłaniane przy ścianach bocznych w zależności od ich ustawienia do płaszczyzny polaryzacji, natomiast pochłanianie spolaryzowanego nadfioletu (370, 280 nm) wskutek ustawienia mo-



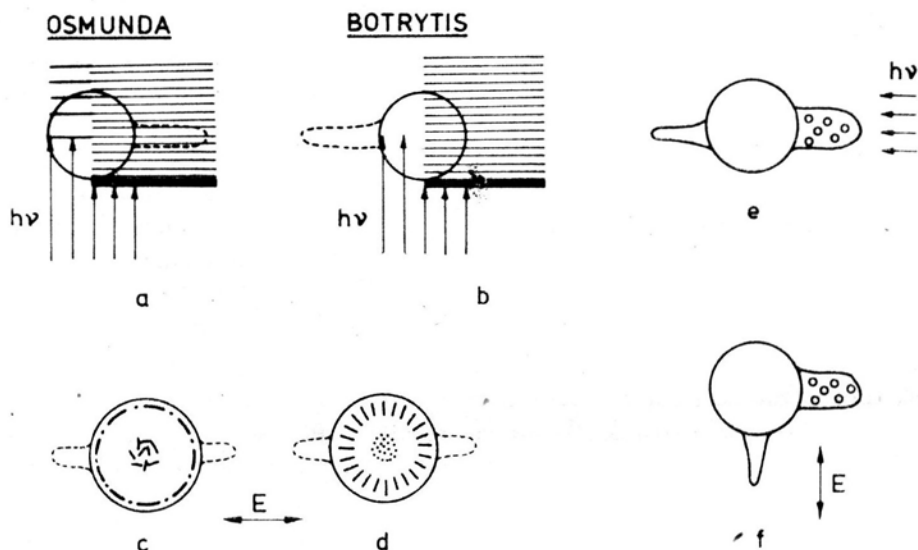
mentów przejścia dla tych długości fali pod kątem bliskim  $45^\circ$  do powierzchni komórki, jest przy wszystkich ścianach bocznych jednakowe, niezależnie od ustawienia płaszczyzny polaryzacji użytego promieniowania.

Światło jest nierzadko elementem niezbędnym lub modyfikującym procesy kiełkowania form przetrwalnych, takich jak nasiona czy zarodniki. Nasiona, z uwagi na wysoki stopień organizacji swej struktury, nie są zachęcającym obiektem dla badań dichroizmu działania, choć i w tym zakresie czynione są ostatnio pewne próby [3]. Natomiast kiełkujące zarodniki stały się bardzo wdzięcznym obiektem dla badań działania światła spolaryzowanego.

Kuliste zarodniki grzybów, mszaków, paprotników nie mają z góry określonej osi kiełkowania. U wielu obiektów tego typu proces kiełkowania jest uzależniony od światła. Zarodniki takie wysiane na stałym podłożu, np. na warstwie agaru i oświetlone z boku kiełkują w określony sposób w stosunku do kierunku padania światła. Boczne oświetlenie i powstały w zarodniku gradient absorpcji światła indukuje ustawienie osi kiełkowania. Np. zarodniki *Athyrium filixfemina* wytwarzają pierwszą komórkę przedrośla bogatą w chloroplasty zawsze w kierunku, z którego pada światło, natomiast komórkę rozoidalną od strony przeciwnej, tj. zacienionej (rys. 5e) [17]. W takim zachowaniu można się dopatrywać elementów przystosowawczych, polegających na kierowaniu aparatu fotosyntetycznego w stronę światła. Zarodniki wysiane na podłożu stałym i oświetlone od góry prostopadle do podłoża, mają tylko zdeterminowaną warunkami zewnętrznymi płaszczyznę kiełkowania (powierzchnia podłoża), natomiast oświetlenie nie wywiera w tym wypadku wpływu na ustawienie osi kiełkowania. Kiełkowanie odbywa się we wszystkich kierunkach (w płaszczyźnie podłoża) jednakowo. Gdy jednak zastosować do oświetlenia zamiast zwykłego światła — spolaryzowane, kierunek kiełkowania zostaje narzucony płaszczyzną polaryzacji, przy czym w większości zbadanych wypadków kiełkowanie odbywa się w płaszczyźnie wektora elektrycznego polaryzacji. Wyraźnie występujący w tym wypadku dichroizm działania światła nie pozwala jeszcze na jednoznaczne określenie ustawienia momentów przejść w cząsteczkach fotoreceptora, ponieważ nie jest z góry ustalone, czy kiełkowanie następuje w miejscu największej czy najmniejszej absorpcji światła. Odpowiedź na to pytanie wymaga dodatkowych eksperymentów. Jaffe i Etzold [12] przeprowadzili odpowiednie doświadczenia polegające na wysianiu zarodników na płaszczyźnie, na której napyłono paski powłoki metalicznej silnie pochłaniającej światło i obserwacji zachowania się zarodników leżących na granicy pasków w taki sposób, że połowa komórki otrzymywała pełne oświetlenie, druga połowa była zacieniona. Wyniki przedstawione schematycznie na rys. 5a wykazują, że np. zarodniki *Osmunda* kiełkują zawsze w swej części zacienionej. Kierunkowość narzucona przez światło spolaryzowane może być więc wytłumaczona przez przyjęcie, że momenty przejść czynnego fotoreceptora ustawione są tangencjalnie do powierzchni komórki, gdyż wówczas część obwodu komórki prostopadła do wektora elektrycznego pochłania najslabiej (rys. 5c). Odwrotnie zarodniki *Botrytis* połowicznie zacienione kiełkują zawsze po stronie oświetlonej. W tym wypadku należy postulować radialne ustawienie momentów przejść, aby wytłumaczyć zgod-

ność kierunku kiełkowania z kierunkiem wektora elektrycznego światła spolaryzowanego.

Wspomniane już zarodniki *Athyrium filix-femina* oświetlone światłem spolaryzowanym prostopadle do płaszczyzny kiełkowania wytwarzają zupełnie szczególne formy kiełkowania (rys. 5f), polegające na produkowaniu komórki rizoidu prostopadle do komórki przedroślowej. Formy takie są wyrazem powstałych w zarodniku gradientów absorpcji promieniowania czynnego, gradientów, które każą wytworzyć komórkę przedroślową w stronę najsilniejszej absorpcji, a komórkę rizoidalną w stronę najsłabszej absorpcji. Przy oświetleniu bocznym ma to sens



Rys. 5. Kielkowanie zarodników *Osmunda* i *Botrytis* przy połowicznym oświetleniu (a, b) oraz przy oświetleniu światłem spolaryzowanym (c, d) [12]. Kielkowanie zarodników *Athyrium filix-femina* przy oświetleniu bocznym (e) i przy oświetleniu światłem spolaryzowanym (f) [17]

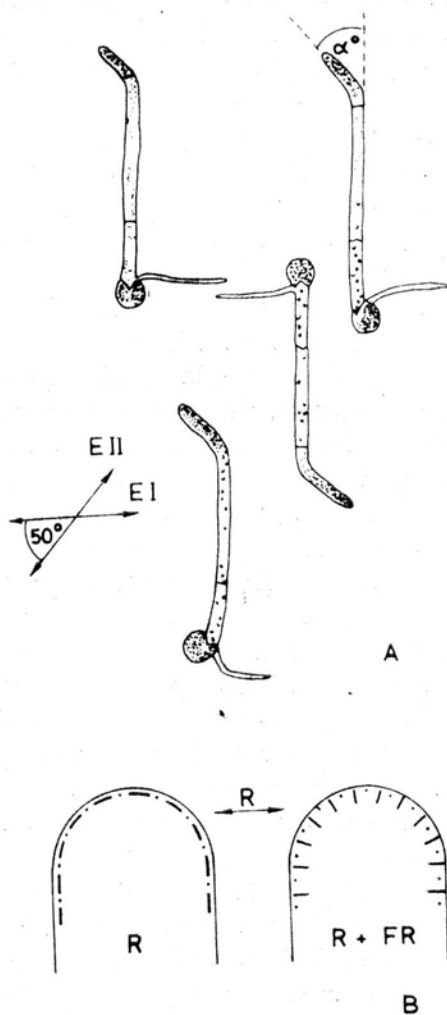
biologiczny, przy zastosowaniu światła spolaryzowanego sensu tego dopatrzeć się trudno.

Zjawiska dichroizmu działania w procesach kiełkowania zarodników komplikuje fakt, że czasem proces ten jest regulowany nie przez jeden, ale przez dwa a nawet trzy fotoreceptory. Wyniki osiągnięte przez kompleksowe badania działania światła spolaryzowanego, jednostronnego i widm działania przy różnych zakresach intensywności oświetlenia, pozwalają wysunąć sugestię, że u *Fucus* i *Equisetum* istnieje system dwóch fotoreceptorów czynnych w zakresie krótkofalowym [1, 2], a u *Funaria* nawet trzy fotoreceptory wszystkie absorbujące w czerwieni (przynajmniej jeden z nich ma charakter fitochromowy), ale różnie ukierunkowane w zarodniku [13].

Owa dwoistość systemu fotorecepcji istnieje nie tylko w regulacji kiełkowania zarodników, ale i w działaniu światła na kierunek wzrostu spletków czy nitkowatych form przedrośli paproci. Struktury te wykazują wzrost szczytowy, a oświetlone z boku



tj. w płaszczyźnie podłoża, reagują w sposób typowy dla fototropizmu — kierunek wzrostu ustawia się zawsze w stronę padającego światła. Oświetlenie rosnących na powierzchni agaru nici przedroślowych (chloronem) prostopadle do płaszczyzny podłoża nie wpływa na kierunek wzrostu, o ile światło jest niespolaryzowane. Zastosowanie światła liniowo spolaryzowanego staje się elementem porządkującym. Wzrost szczytowy ukierunkowuje się zawsze prostopadle do wektora elektrycznego polaryzacji. Regulacyjne działanie światła spolaryzowanego jest niezwykle wyraźne, zmieniając w trakcie doświadczenia płaszczyznę polaryzacji wywołujemy odpowiednią korektę kierunków wzrostu u wszystkich badanych obiektów (rys. 6a). Najbardziej aktywnym zakresem spektralnym w powyższych procesach, zarówno foto- jak i polarotropizmu, okazało się światło czerwone. Przypuszczenie, które



Rys. 6. A. Kierunek wzrostu nitek chloronemy *Dryopteris filix-mas*. W pierwszej fazie wzrostu wektor elektryczny polaryzacji ustawiony w pozycji E I, w końcowej fazie w pozycji E II [18]. B. Postulowane ukierunkowanie momentów przejścia formy R i FR fitochromu [6]

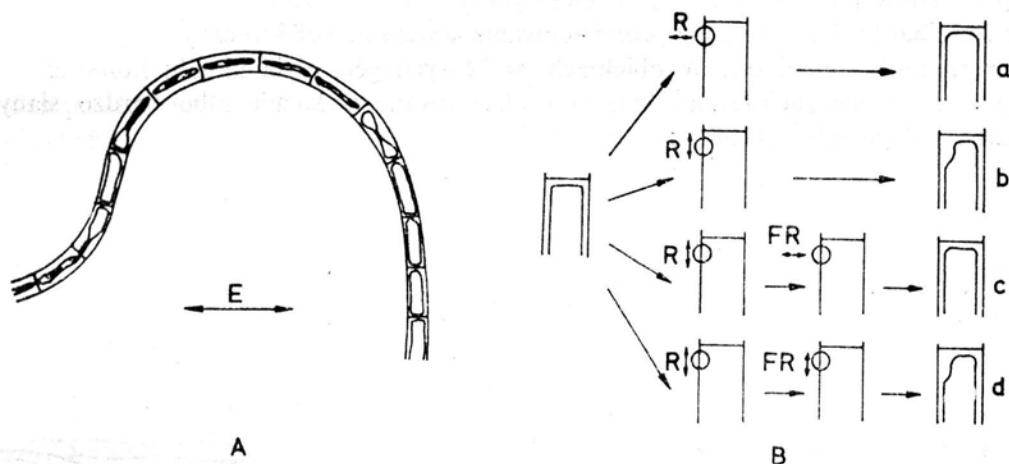
nasuwa się w podobnych wypadkach, że fotoreceptorem jest fitochrom, zostało potwierdzone przez wykazanie odwracalności efektów czerwieni dodatkową dawką promieniowania dalekiej czerwieni. Co więcej, zastosowanie światła spolaryzowanego umożliwiło wyciągnięcie wniosków o ułożeniu momentów przejścia obu form fitochromu. Wzrost komórki szczytowej w stronę światła (przy oświetleniu bocznym) wskazuje, że centrum wzrostu lokalizuje się w miejscu najsilniejszej absorpcji formy R fitochromu. Zatem kierunek wzrostu prostopadły do wektora elektrycznego światła sugeruje, iż moment przejścia tej formy fitochromu ustawiony jest tangencjalnie do powierzchni komórki (rys. 6b). Natomiast maksymalne działanie dalekiej czerwieni każe przypuszczać, że moment przejścia formy FR fitochromu ukierunkowany jest prostopadle do tej powierzchni [6]. Oznacza to, że oś chromoforu zmienia swoje położenie o  $90^\circ$  przy każdorazowej transformacji formy R w FR i odwrotnie. Zjawisko takie jest teoretycznie możliwe, jeżeli weźmiemy pod uwagę że transformacjom towarzyszą zmiany konformacyjne w części białkowej chromoproteidu jakim jest fitochrom. Podobne wnioski zostały również wyciągnięte z doświadczeń nad *Mougeotia*, które omówimy poniżej.

Jakkolwiek udział fitochromu w procesie działania światła na wzrost nici przedroślowych nie ulega wątpliwości, istnieją dowody że przynajmniej u niektórych obiektów nie sam fitochrom jest odpowiedzialny za reakcje świetlne. Steiner [18, 19] wykazał, że w przedroślach *Dryopteris filix-mas* obok fitochromu działa również system krótkofalowy, wykazujący maksima aktywności typowe dla systemów flawinowych. W zależności od warunków doświadczenia, przede wszystkim intensywności stosowanego promieniowania, a także przyjętych kryteriów działania, jeden lub drugi system wysuwa się na plan pierwszy.

Jak już wspomniano, regulacja położenia chloroplastów w komórce odbywa się przy zaangażowaniu krótkofalowego systemu fotorepcji. Od tej ogólnej zasady istnieją dwa wyjątki. U dwu rodzajów glonów nitkowatego *Mougeotia* i jednokomórkowego *Mesotaenium* położeniem chromatoforu steruje system fitochromowy. W obu wypadkach chromatofor ma kształt płytkowaty, jest duży, wymiarami zbliżony do wymiarów całej komórki i ustawiony jest nie przy ścianie komórki, ale zajmuje położenie centralne. Płytko chromatoforu przyjmuje położenie prostopadle do kierunku padania światła (przy oświetleniu słabym światłem), względnie przekręca się o  $90^\circ$ , przyjmując położenie równoległe do promieni świetlnych w silnym oświetleniu. Lokalne oświetlenie komórki może prowadzić do odpowiedniego wygięcia się tylko części chromatoforu. Szczególnie glon *Mougeotia* stał się dzięki pracom Haupta modelowym obiektem dla badań tzw. szybkich reakcji sterowanych przez fitochrom.

Zastosowanie światła liniowo spolaryzowanego wykazało istnienie wyraźnego dichroizmu działania w reakcji chromatoforu na oświetlenie. Nawet w jednej nici glonu można stwierdzić, że komórki reagują ruchem chromatoforu w zależności od ustawienia ich osi do płaszczyzny polaryzacji (rys. 7a). Rys. 7b przedstawia schematycznie wynik bardzo pomysłowego eksperymentu, polegającego na lokalnym oświetleniu komórki przy zastosowaniu dwu zakresów spektralnych: czerwieni i dalekiej czerwieni, przy czym dla obu zakresów zmieniano kierunek polaryzacji

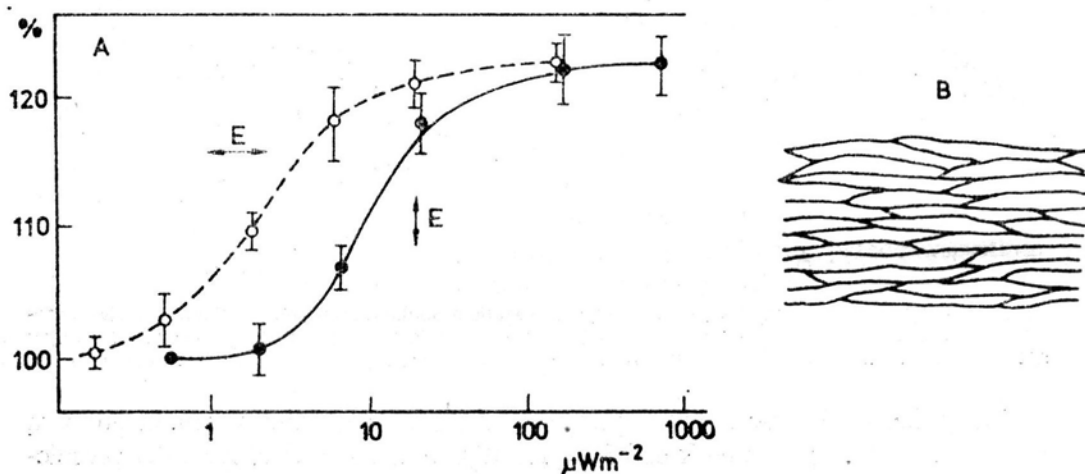
[10]. Jak wynika z rysunku lokalne naświetlenie czerwienią wywołuje efekt w postaci odgięcia się chromatoforu w miejscu naświetlonym tylko wówczas, gdy płaszczyzna polaryzacji jest równoległa do powierzchni komórki. Działanie czerwieni można zlikwidować odpowiednią dozą dalekiej czerwieni, co jest typowe dla reakcji fitochromowych. Jednakże promieniowanie dalekiej czerwieni, jeśli ma być aktywne, musi być spolaryzowane prostopadle do powierzchni komórki. Wynik powyższy jest instruktywnym dowodem, że podczas przekształcania formy R w FR fitochrom następuje zmiana położenia momentu przejścia w tym barwniku.



Rys. 7. Ruchy chromatoforu *Mougeotia* wywołane światłem spolaryzowanym. A. Położenie chromatoforu w zależności od ustawienia osi komórki do płaszczyzny polaryzacji [8]. B. Eksperyment z lokalnym naświetlaniem komórki światłem spolaryzowanym w zakresie czerwieni (R) i dalekiej czerwieni (FR) [10]

Wszystkie omówione powyżej przykłady dichroizmu działania światła odnoszą się do zjawisk na poziomie komórkowym. Wykazanie różnej aktywności promieniowania w zależności od jego kierunku polaryzacji na przemianę materii, jest bardzo trudne ze zrozumiałych względów. O ile bowiem w obrębie jednej komórki można spodziewać się określonego ukierunkowania cząsteczek fotoreceptora, o tyle dla uchwycenia skutków metabolicznych konieczne byłoby zgodne ukierunkowanie we wszystkich komórkach wchodzących w skład tkanki będącej obiektem pomiarów. Jako przykład dichroizmu działania mierzalnego metodami stosowanymi w badaniach metabolizmu, przytoczyć można wpływ światła na wzmożone pobieranie tlenu. Jak wykazano, w szeregu typów komórek fotosyntetyzujących nawet bardzo słabe promieniowanie krótkofalowe powoduje wyraźne zwiększenie natężenia konsumpcji tlenu. Zjawisko to nie ma nic wspólnego z fotooddychaniem, jego mechanizm nie jest w pełni wyjaśniony, jakkolwiek wiele danych wskazuje na to, że fotoreceptor czynny w tym wypadku, jest zlokalizowany w plazmolemie, a sam proces wiąże się z uaktywnionym przez światło transportem elektronów w tej błonie. Stwierdzenie dichroizmu działania światła w omawianym procesie możliwe było dzięki zbiegowi sprzyjających okoliczności. Dogodnym obiektem badań okazały się liście niektórych mchów złożone z wydłużonych, wrzecionowatych komórek,

ustawionych równoległe do osi liścia. Drugą, sprzyjającą okolicznością było zastosowanie metody mikrospirometrycznej, której duża czułość pozwala na przeprowadzenie pomiarów przemiany gazowej na małej masie tkanki, w konkretnym wypadku na 4 liściach, a ułożenie tych liści w komorze mikrospirometru może być kontrolowane [22]. Rys. 8 przedstawia działanie światła liniowo spolaryzowanego na wzmocnienie pobierania tlenu przez badane liście. Przy dostatecznie wysokim natężeniu światła maksymalny poziom wzmocnienia jest osiągalny niezależnie od ukierunkowania płaszczyzny polaryzacji. Natomiast w zakresie słabych natężeń, promieniowanie, którego wektor elektryczny jest równoległy do osi liścia, jest wyraźnie bardziej aktywne niż promieniowanie o wektorze elektrycznym skierowanym prostopadłe do tej osi. W obiektach, w których geometria układu komórek nie jest tak ściśle zachowana, światło spolaryzowane wykazuje albo bardzo słaby, albo niemierzalny dichroizm działania.



Rys. 8. A. Wzmoczone pobieranie tlenu (oś Y w procentach pobierania w ciemności) w zależności od intensywności oświetlenia w liściach *Climatium dendroides*. Zastosowano światło spolaryzowane o dwu kierunkach polaryzacji. B. Kształt komórek liścia *Climatium* [22]

Na podstawie powyższego przeglądu można pokusić się o wyciągnięcie pewnych wniosków ogólnych, dotyczących powszechności zjawiska jakim jest dichroizm działania i jego znaczenia biologicznego. Analiza omówionych przykładów prowadzi do wniosku, że trudno jest dopatrzeć się znaczenia specyficznego działania światła spolaryzowanego dla zachowania egzystencji osobnika czy ułatwienia jego funkcji życiowych, a często działanie takie wydaje się być pozbawione sensu (np. wytwarzanie nienormalnych form kiełkowania zarodników). Jedyne wyjątek, gdzie dichroizm działania odgrywa istotne znaczenie, występuje w świecie zwierząt. Zdolność rozróżniania kierunków polaryzacji przez złożone oczy owadów została wykorzystana dla orientacji w przestrzeni (pszczoły, motyle). W obiektach roślinnych działanie światła spolaryzowanego nie wykazuje istotnego znaczenia. Wydaje się, że poznane przykłady dichroizmu działania w świecie roślin należy traktować

nie jako element przystosowawczy, ale jako wynik pewnych prawidłowości w procesach fotorecepcji. W większości procesów uzależnionych od światła skutek światła jest znacznie większy niżby to można wnosić z ilości pochłoniętej energii świetlnej. Jedynymi wyjątkami jest proces fotosyntezy oraz proces fotofosforylacji u *Halo-bacterium*, gdzie ilość wytworzonych asymilatów względnie ATP pozostaje w stosunku stechiometrycznym do pochłoniętej energii świetlnej. We wszystkich innych procesach fotobiologicznych skutek działania światła jest nieproporcjonalnie wyższy, jego działanie musi zatem ulegać odpowiedniemu wzmocnieniu. Światło jest czynnikiem sterującym procesy metaboliczne prowadzące do takiego wzmocnienia. Z kolei regulacja metabolizmu, szybka, odwracalna i efektywna może odbywać się najprościej drogą zmiany przepuszczalności błon dzielących komórkę na określone przestrzenie. Lokalizacja fotoreceptorów w błonach biologicznych, o którym to zjawisku coraz powszechniej się przekonujemy, sprzyja takiemu sterowaniu. Z kolei błony są strukturami o wysokim stopniu organizacji, więc umieszczenie w nich cząsteczek barwników, które odgrywają rolę jako fotoreceptory, wiąże się z regularnym ich uporządkowaniem w przestrzeni, co jest elementem sprzyjającym wystąpieniu dichroizmu działania. W takim ujęciu zjawisko dichroizmu działania byłoby jedynie konsekwencją celowej lokalizacji fotoreceptorów, która jedynie w wyjątkowych wypadkach (widzenie u owadów) została wykorzystana do pełnienia określonej funkcji biologicznej. Nie zmienia to faktu, że dzięki dichroizmowi działania światło liniowo spolaryzowane stało się ważnym narzędziem pracy biologa komórki.

#### LITERATURA

- [1] Bentrup F. W., 1963. Vergleichende Untersuchungen zur Polaritätsinduktion durch das Licht an der *Equisetum* Spore und der *Fucus*-Zygote. *Planta* 59, 472—491.
- [2] Bentrup F. W., 1964. Zur Frage eines Photoinaktivierungs-Effektes bei der Polaritätsinduktion in *Equisetum*sporen und *Fucus* zygoten. *Planta* 63, 356—365.
- [3] Björn L. O., 1980. Polarized light induced action dichroism in photoregulation mediated by photo-reversibly phytochromic pigments. *Proc. II Int. Congr. FESPP Santiago* p. 134—135.
- [4] Castle E. S., 1965. Differential growth and phototropic bending in *Phycomyces*. *J. gen. Physiol.* 48, 409—423.
- [5] Creutz C., Diehn B., 1976. Motor response to polarized light and gravity sensing in *Euglena gracilis*. *J. Protozool.* 23, 552—556.
- [6] Etzold H., 1965. Der Polarotropismus und Phototropismus der Chloronemen von *Dryopteris filix-mas*. *Schott. Planta* 64, 524—580.
- [7] Haupt W., 1977. *Bewegungsphysiologie der Pflanzen*. G. Thieme Verl. Stuttgart.
- [8] Haupt W., 1970. Localization of the phytochrome in the cell. *Physiol. Veg.* 8, 551—563.
- [9] Haupt W., Buchwald M. 1967. Die Orientierung der Photoreceptor-Molekule in Sporangientrager von *Phycomyces*. *Z. Pflanzenphysiol.* 56, 20—26.
- [10] Haupt W., Mörtel G., Winkelkemper I., 1969. Demonstration of different dichroic orientation of phytochrom  $P_R$  and  $P_{FR}$ . *Planta* 88, 183—186.
- [11] Jaffe L. F., 1960. The effect of polarized light on the growth of a transparent cell. A theoretical analysis. *J. gen. Physiol.* 43, 897—911.
- [12] Jaffe L. F., Etzold H., 1962. Orientation and locus of the tropic photoreceptor molecules in spores of *Botrytis* and *Osmunda*. *J. Cell Biol.* 13, 13—31.

- [13] Jaffe L. F., Etzold H., 1965. Tropic response of *Funaria* spores to red light. *Biophys. J.* 5, 715—742.
- [14] Jesaitis A. J., 1974. Linear dichroism and orientation of the *Phycomyces* photopigment. *J. gen. Physiol.* 63, 1—21.
- [15] Kurtin W. E., Song P-S., 1968. Photochemistry of the model phototropic system involving flavins and indoles. I. Fluorescence polarization and MO calculations of the direction of the electronic transition moments in flavins. *Photochem. Photobiol.* 7, 263—273.
- [16] Mayer F., 1964. Lichtorientierte Chloroplasten-Verlagerung bei *Selaginella martensii*. *Z. Bot.* 346—381.
- [17] Shropshire W., 1959. Growth response of *Phycomyces* to polarized light stimuli. *Science* 130, 336.
- [18] Steiner A. M., 1969a. Dose response behaviour for polarotropism of the chloronema of the fern *Dryopteris filix-mas* Schott. *Photochem. Photobiol.* 9, 493—506.
- [19] Steiner A. M., 1969b. Action spectrum for polarotropism in the chloronema the fern *Dryopteris filix-mas* Schott. *Photochem. Photobiol.* 9, 507—513.
- [20] Wolken J. J., 1977. *Euglena*: the photoreceptor system for phototaxis. *J. Protozool.* 24, 518—522.
- [21] Zurzycki J., 1967. Properties and localisation of the photoreceptor active in displacements of chloroplasts in *Funaria hygrometrica*. II Studies with polarized light. *Acta Soc. Bot. Polon.* 36, 143—152.
- [22] Zurzycki J., 1971. Effect of linear polarized light on the O<sub>2</sub> uptake in leaves. *Biochem. Physiol. Pflanzen* 162, 310—317.
- [23] Zurzycki J., 1972. Primary reactions in the chloroplast rearrangements. *Acta Protozool.* 11, 189—199.

Prof. dr JAN ZURZYCKI

Instytut Biologii Molekularnej UJ, Zakład Fizjologii Roślin,  
ul. Grodzka 53, 31-001 Kraków