

EFEKTY DZIAŁANIA ŚWIATŁA NA PLAZMODIA ŚLIZOWCÓW

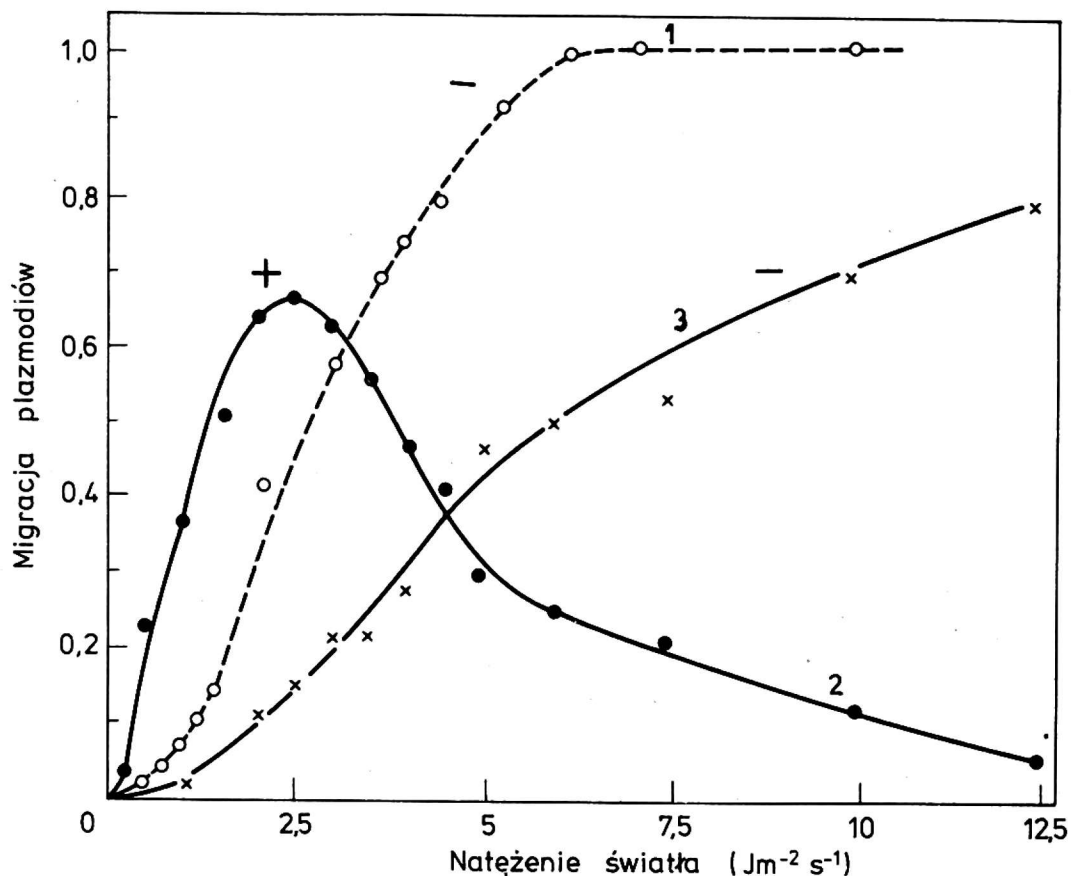
Leokadia Rakoczy

Zakład Fizjologii Roślin PAN, 30-952 Kraków, ul. Podłużna 3

Światło jest czynnikiem wywierającym silny wpływ na procesy życiowe śluzowców. Badania nad wpływem światła na te organizmy koncentrują się głównie na fazie plazmodium, które z uwagi na łatwość hodowli, duże wymiary i wiele innych cech, stanowi dogodny i zarazem interesujący obiekt studiów fotobiologicznych. Plazmodia wielu gatunków śluzowców mogą być hodowane w warunkach laboratoryjnych, a niektóre z nich mogą rosnąć także w kulturach bezbakteryjnych i na określonym pod względem chemicznym podłożu [7, 9, 10, 17, 20, 28-30, 55, 56]. Wiele gatunków, np. w obrębie grupy Physarales wytwarza duże plazmodia, co zapewnia dostateczną ilość materiału do badań biochemicznych. Ogromna zdolność plazmidów do regeneracji umożliwia uzyskiwanie z jednego organizmu wielu egzemplarzy o takiej samej fazie fizjologicznej. Plazmodium jest komórczakiem o dużej liczbie jąder. Ich podziały przebiegają w sposób zsynchronizowany; w istocie plazmodium może być traktowane jako jedna, olbrzymich rozmiarów komórka, osiągająca powierzchnię wielu setek cm^2 . Brak twardej ściany ułatwia izolację niektórych organelli (jąder, mitochondriów), lub ekstrakcję różnych składników z plazmodium. Plazmodia śluzowców mogą migrować po podłożu i dzięki temu ich reakcja na czynniki zewnętrzne środowiska np. światło wyrażać się może zmianą ich położenia. Wzrost plazmodium i różnicowanie są rozdzielone w czasie, co pozwala na oddzielne badanie wpływu światła na każdy z tych procesów. Stwierdzono wpływ światła na migrację, wzrost, barwę plazmodiów, wreszcie jak to zostało wykazane dla szeregu gatunków, światło jest czynnikiem koniecznym dla indukcji owocowania (sporulacji).

WPŁYW ŚWIATŁA NA MIGRACJĘ

Zdolność plazmodiów do migracji po stałym podłożu umożliwia tym organizmom wybór optymalnych warunków do życia. Wskazują na to obserwacje śluzowców żyjących w warunkach naturalnych, jak również wyniki badań nad chemotaksją [8, 31, 32], zachowaniem się plazmodiów w gradiencie światła i wilgotności [48], w gradiencie temperatury [65] i ich reakcja na inne czynniki środowiska [22].



Rys. 1. Migracja młodych i dojrzałych plazmodiów śluzowca *Physarum nudum* w warunkach światła; 1 - plazmodia młoda (4-dniowe), 2 i 3 - plazmodia dojrzałe (12-13-dniowe) - migracja negatywna - ucieczka plazmodiów z miejsc oświetlonych, + - migracja pozytywna - przemieszczanie się plazmodiów do miejsc oświetlonych [3,4]

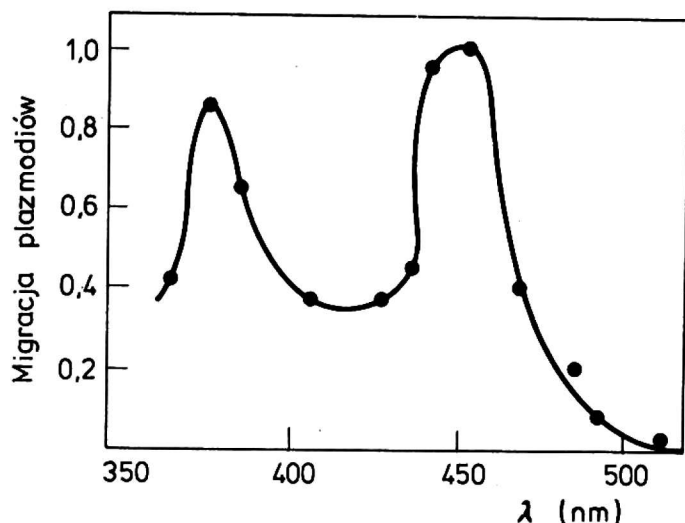
Światło jest jednym z czynników wpływających na kierunek migracji plazmodiów. Takie informacje znaleźć można już w bardzo wczesnych pracach nad śluzowcami [1, 30, 63]. Stosując metodę gradientu światła [48] stwierdzono dla plazmodiów śluzowca *Physarum nudum*, że ich reakcja na światło zmienia się wraz z wiekiem. Plazmodia młode wędrowały do ciemności lub miejsc o niskich natężeniach światła, podczas gdy plazmodia pochodzące z kultur starszych lokowały się w miejscach silnie oświetlonych. Taka reakcja śluzow-

ca wydaje się zrozumiała, ponieważ światło wywiera hamujący wpływ na wzrost plazmodiów [17, 51], natomiast dla plazmodiów, które zakończyły wzrost wegetatywny światło jest czynnikiem koniecznym dla indukcji owocowania [21, 47]. Badania prowadzone przy użyciu metody gradientu światła miały

charakter jakościowy. Doświadczenia o charakterze ilościowym przeprowadzone na młodych i dojrzałych plazmodiach *Physarum nudum* pozwoliły na bliższe poznanie zależności migracji od natężenia światła. Wyniki tych badań zestawione na rysunku 1 wykazują, że pozy-

tywna reakcja na światło plazmodiów dojrzałych, tj. ich migracja do miejsc oświetlonych występuje tylko przy stosunkowo niskich wartościach inten-

sywności i zwiększenie intensywności światła wyzwała również w plazmodiach dojrzałych reakcję negatywną (migracja do miejsc zaciemnionych). Dla młodych plazmodiów śluzowca *Physarum nudum* wykazujących tylko reakcję negatywną na światło wykazano, że aktywne zakresy spektralne dla tego typu reakcji to bliski UV i zakres niebieski widma [2]. Określono również widmo działania dla reakcji negatywnej śluzowca (rys. 2), które wykazuje dwa maksima - przy 375 i 452 nm [2].

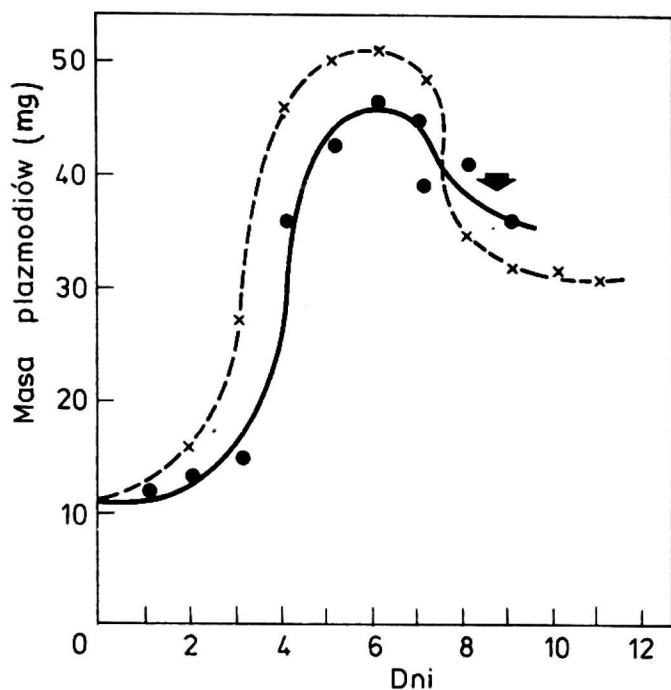


Rys. 2. Widmo działania dla negatywnej migracji (ucieczka z miejsc oświetlonych) młodych plazmodiów *Physarum nudum* [2]

WPŁYW ŚWIATŁA NA WZROST, WYKORZYSTANIE GLUKOZY PRZEZ PLAZMODIA I ODDYCHANIE

Światło wywiera wyraźnie hamujący wpływ na wzrost plazmodiów, co zostało wykazane dla dwóch gatunków śluzowców - *Physarum polycephalum* i *Physarum nudum* [17, 51]. Wpływ światła zaznacza się szczególnie we wczesnych okresach rozwoju wegetatywnego plazmodiów (rys. 3). Krzywa wzrostu plazmodiów *Physarum nudum* rosnących w warunkach światła charakteryzuje się znacznie dłuższym okresem lag niż plazmodiów z ciemności. Maksymalne wartości suchej masy plazmodiów naświetlanych i znajdujących się w ciemności zostają

osiągnięte mniej więcej po tym samym okresie, jednakże wartości te są znacznie niższe w przypadku plazmodiów naświetlanych [51].

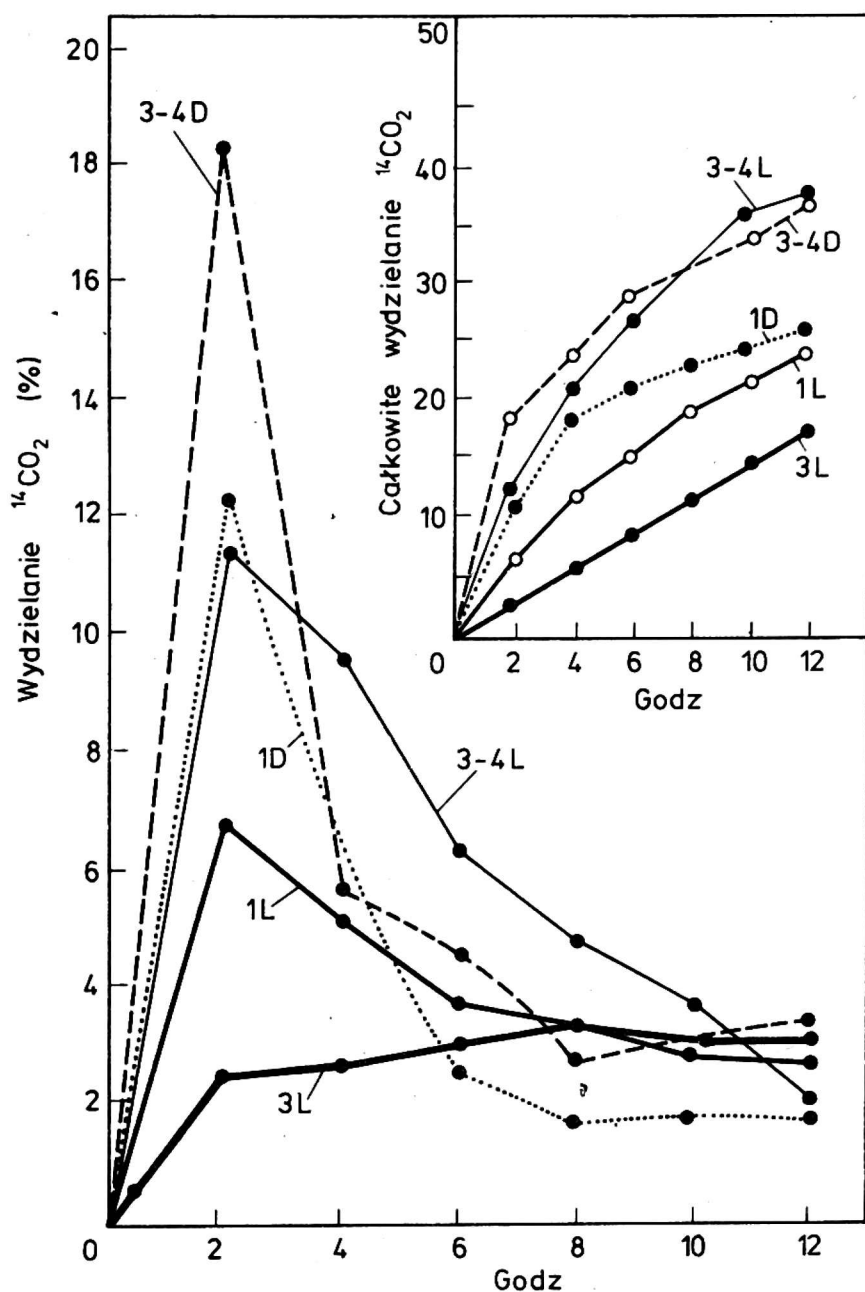


Rys. 3. Krzywe wzrostu plazmodiów *Physarum nudum*. Świeża masa plazmodiów wyjściowych - 100 mg; linia ciągła - kultury znajdujące się w stałych warunkach oświetlenia, linia przerywana - kultury z ciemności, strzałka wskazuje średni czas owocowania plazmodiów naświetlanych [51]

Badania nad wpływem światła na wzrost plazmodiów prowadzone były tylko przy zastosowaniu światła białego, emitowanego z lamp fluorescencyjnych, nie są więc znane zakresy spektralne aktywne w tym procesie.

Hamujący wpływ światła na wzrost koresponduje z efektem działania światła na wykorzystanie glukozy przez plazmodia. Daniel podaje [12], że w warunkach światła pobieranie glukozy przez plazmodia *Physarum polycephalum* jest znacznie niższe niż w przypadku plazmodiów z ciemności. Lynch i Henney [39] stosując specyficzną znakowaną glukozę wykazali dla innego gatunku śluzowca, *Physarum flavicomum*, że światło wpływa hamująco

na metabolizm glukozy. W rosnących plazmodiach *Physarum flavicomum* degradacja glukozy zachodzi na dwóch drogach: poprzez szlak EMP Embdena-Meyerhofa-Parnasa oraz szlak pentozofosforanowy Warburga-Dickensa-Horeckera [38]. Oba te szlaki metaboliczne są blokowane w plazmodiach rosnących w warunkach pełnego światła białego, podczas gdy nie stwierdzono takiego efektu w przypadku plazmodiów znajdujących się w butlach ze szkła absorbującego w wysokim stopniu zakres krótkofalowy widma (rys. 4). Choć efekt końcowy tj. ilość wydzielonego $^{14}\text{CO}_2$ po 12 godzinach był taki sam (rys. 4, krzywe górne), to jednak produkcja $^{14}\text{CO}_2$ przez plazmodia naświetlane w pierwszych 2-godzinnych odstępach czasowych wynosiła tylko około 57% ilości produkowanej przez plazmodia znajdujące się w ciemności. Przedstawione na wykresach wyniki wykazują również, że światło nie wywiera specyficznego wpływu na szlak EMP czy pentozofosforanowy, ponieważ oba te szlaki są blokowane w równym stopniu. W przypadku *Physarum flavicomum* nie stwierdzono hamują-



Rys. 4. Degradacja znakowanej glukozy przez plazmodia śluzowca *Physarum flavicomum* wyrażona jako procent całkowitej ilości tego związku; plazmodia (55 mg białka) były inkubowane w 10 ml roztworu zawierającego 0,20 μCi znakowanego substratu. $^{14}\text{CO}_2$ wydzielany w procesie oddychania plazmodiów był zbierany i określano jego radioaktywność; L - plazmodia naświetlane światłem białym, D - plazmodia znajdujące się w butlach (actinic flasks) odcinających z światła białego zakres krótkofalowy (poniżej 500 nm), 1D i 1L - $^{14}\text{CO}_2$ pochodzący z glukozy 1- ^{14}C , 3-4D oraz 3-4L - $^{14}\text{CO}_2$ pochodzący z glukozy 3-4- ^{14}C [39]

cego efektu działania światła na pobieranie glukozy przez plazmodia [38, 39].

Światło wywiera również wyraźny wpływ na oddychanie plazmodiów. Pomiar pobierania tlenu przez zawiesinę plazmodiów *Physarum polycephalum*, jak i izolowane mitochondria dokonywane metodą polarograficzną wykazały, że światło w dużym stopniu (ok. 50%) ob-

niższą wartość oddychania [11, 12]. W obu przypadkach hamowanie występowało gwałtownie, w ciągu 15 sekund i było odwracalne w ciemności. Nawet po 4-godzinnej ekspozycji na światło plazmodia wracały do oryginalnego poziomu oddychania po umieszczeniu ich w ciemności i zachowywały analogiczną wrażliwość na światło jak plazmodia przed naświetlaniem. W doświadczeniach nad oddychaniem stosowano światło białe o natężeniach od 200-1250 świec stopowych.

FOTOINDUKCJA OWOCOWANIA

Owocowanie jest dla śluzowców podstawowym procesem, umożliwiającym tym organizmom przeżywanie w warunkach niekorzystnych dla wzrostu dzięki znacznemu obniżeniu w zarodnikach tempa przebiegu procesów metabolicznych i możliwości rozsiewania organizmów w formie spor. Również mejoza, prowadząca do genetycznej rekombinacji i zmienności zachodzi podczas tego procesu. Badania nad owocowaniem prowadzone na różnych gatunkach śluzowców wykazały, że światło jest czynnikiem bezwzględnie koniecznym dla wystąpienia owocowania.

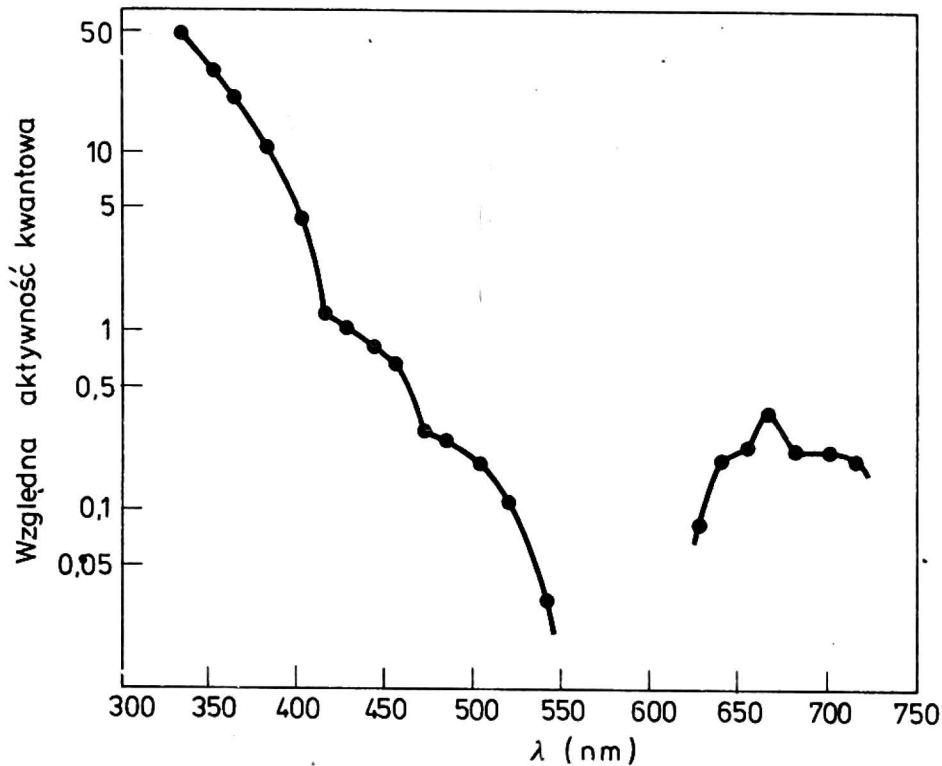
W pracach wcześniejszych wielu autorów podaje, że światło jest konieczne do owocowania gatunków o plazmodiach barwnych, podczas gdy gatunki o plazmodiach niezabarwionych mogą wytwarzać zarodnie zarówno na świetle, jak i w ciemności. Badania te nie były jednak poparte pomiarami spektrofotometrycznymi absorpcji barwników. Obecnie wiemy, że również śluzowce w plazmodiach białych wymagają światła do indukcji owocowania [23, 33, 41, 62]. Istotnie, plazmodia wymagające światła do sporulacji muszą zawierać barwnik (barwniki) absorbujący światło, ale niekoniecznie w ilości dostrzegalnej gołym okiem.

Plazmodia stają się zdolne do owocowania po wyczerpaniu składników odżywczych w podłożu i w tym okresie światło jest konieczne do indukcji tego procesu. Czas naświetlania jest w zasadzie różny dla różnych gatunków. Po indukującym działaniu światła procesy morfogenetyczne mogą zachodzić w ciemności. Dla *Physarum nudum* stwierdzono, że czas owocowania plazmodiów wpływający od momentu przeszczepienia plazmodium na świeże podłoże, zależy od wieku kultury [47]. Plazmodia, które w danych warunkach hodowli zakończyły wzrost wegetatywny, owocują po krótszym okresie niż rosnące plazmodia młode.

Doza światła, tj. iloczyn jego natężenia i czasu działania konieczna dla indukcji owocowania jest różna dla plazmodiów będących w różnym wieku. Plazmodia 12-dniowe, które w określonych warunkach hodowli zakończyły wzrost wegetatywny, po 12-godzinnym naświetlaniu światłem białym o natężeniu $4,5 \text{ Jm}^{-2}\text{s}^{-1}$ owocują w 100%. Porównanie wyników zależności owocowania od warunków świetlnych środowiska uzyskiwanych dla różnych gatunków śluzowców jest trudne, ponieważ nie wszyscy badacze podają dawkę stosowanego światła, jak również nie zawsze są sprecyzowane inne warunki hodowli. Zakresy spektralne aktywne w procesie owocowania określone przez różnych autorów [21, 24-26, 37, 45, 49, 50, 52, 64] dla różnych gatunków śluzowców zestawiono w tabeli 1. U wszystkich badanych pod tym względem śluzowców stwierdzono, że dla procesu owocowania aktywne są zawsze: krótkofalowy widzialny zakres promieniowania i bliski UV, a dla niektórych gatunków aktywne jest również światło czerwone, jednakże o natężeniu 10-krotnie wyższym w porównaniu z zakresem widzialnym do około 500 nm. Dla *Didymium iridis* i *Physarum polycephalum* wykazano, że proces owocowania indukowany działaniem światła czerwonego może być zahamowany po naświetleniu plazmodiów daleką czerwienią [45]. Na przykładzie *Didymium iridis* stwierdzono ponadto, że hamujący efekt dalekiej czerwieni zostaje zniesiony o ile plazmodia zostaną ponownie naświetlone światłem czerwonym [45].

Widmo działania dla sporulacji znane jest tylko dla *Physarum nudum* (rys. 5). Najbardziej aktywny w tym procesie jest bliski UV; aktywność rozciąga się stopniowo się zmniejszając do około 540 nm. Stwierdzono również, że światło czerwone indukuje owocowanie u tego gatunku śluzowca, jednakże aktywność tego promieniowania jest znacznie słabsza w porównaniu z UV i zakresem krótkofalowym widzialnym [50]. Różne zakresy spektralne wykazują różnice w ich aktywności jeśli chodzi o indukcję owocowania. Zakresy aktywne indukujące owocowanie to bliski UV, zakres niebieski i czerwony widma, podczas gdy światło zielone i daleka czerwień nie wywołują procesu sporulacji.

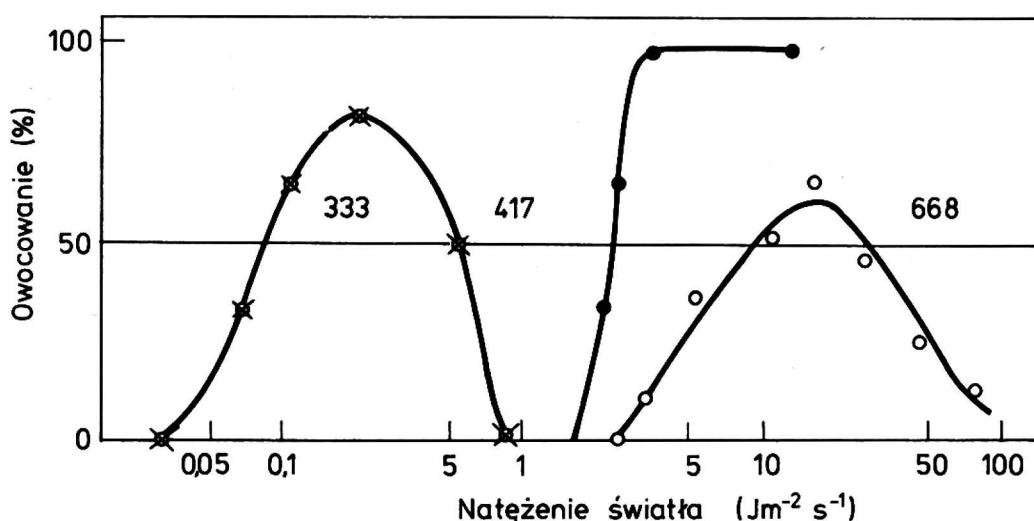
Jak wykazano następnie [52] zakres zielony widma wywiera hamujący efekt na proces sporulacji z maksimum działania przy 560 nm. Działanie promieniowania: czerwień-daleka czerwień nie było badane u śluzowca *Physarum nudum*. Zakresy spektralne indukujące owocowanie wykazują wyraźne różnice ilościowe i jakościowe. Na rysun-



Rys. 5. Widmo działania procesu owocowania *Physarum nudum*. Plazmodia 12-dniowe, czas naświetlania 12 godzin. Względną aktywność kwantową określono przez porównanie aktywności kwantowej poszczególnych długości z aktywnością promieniowania o długości fali 429 nm przyjętą umownie jako 1 [50]

ku 6 przedstawiono przykładowo wybrane długości fali z zakresów spektralnych wyzwalających procesy sporulacji. Różnice te dotyczą natężenia promieniowania zdolnego do indukcji sporulacji oraz procentu owocujących kultur w warunkach supraoptymalnych natężeń światła. W przypadku UV i światła czerwonego nie uzyskiwano owocowania w 100%, ponieważ po zastosowaniu wyższych natężeń promieniowania z tych zakresów spektralnych procent kultur owocujących ulegał znacznemu obniżeniu. W zakresie niebieskim widma (rys. 6, przykładowa długość fali 429 nm) odpowiednio wysokie natężenia promieniowania różnych długości fali wyzwały owocowanie u wszystkich naświetlanych kultur i 100% poziom owocowania utrzymywał się mimo dalszego zwiększania tego natężenia. Tak więc krzywe owocowania w przypadku działania bliskiego UV i światła czerwonego mają charakter optymalny, podczas gdy krzywe obrazujące procent plazmodiów zdolnych do sporulacji po indukcji promieniowaniem z zakresu niebieskiego widma mają charakter maksymalny (rys. 6).

Daniel i Rusch [21] oraz Daniel i Baldwin [17] uzyskiwali w wysokim stopniu synchronizację owocowania plazmodiów śluzowca *Phy-*

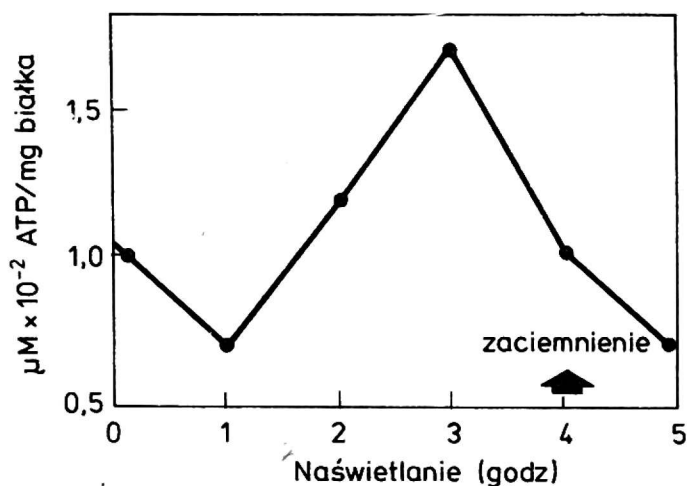


Rys. 6. Zależność owocowania *Physarum nudum* od natężenia promieniowania; liczby przy krzywych - długość fali w nm [50]

sarum polycephalum. W tym celu plazmodia hodowano w ciemności na pożywce płynnej o znanym w pewnym stopniu składzie chemicznym (semi-defined medium) i następnie przenoszono je na podłoże mineralne z agarą i dalej trzymano w ciemności. Po 4 dniach inkubacji na podłożu mineralnym plazmodia naświetlano 3-4 godziny i ponownie umieszczano w ciemności aż do momentu wystąpienia owocowania. Po okresie przebywania na podłożu mineralnym plazmodia stawały się bardzo wrażliwe na światło i krótki czas naświetlania wystarczał do indukcji owocowania. Podczas okresu głodzenia zmniejsza się w plazmodium ogólna ilość białka, kwasów nukleinowych i polisacharydów [12, 59], jednakże w tych warunkach podziały mitotyczne jąder i synteza DNA mają miejsce, jakkolwiek procesy te przebiegają znacznie wolniej niż w plazmodiach znajdujących się na podłożu odżywczym [27, 59]. Aby indukcja owocowania mogła mieć miejsce, przynajmniej jeden podział mitotyczny i synteza DNA muszą wystąpić w plazmodium przed okresem naświetlania. Zahamowanie tych procesów odpowiednimi inhibitorami hamuje również owocowanie [59]. Podobnie jak w plazmodiach znajdujących się na podłożu odżywczym, tak i w plazmodiach głodzonych nie występuje faza G_1 [43] i światło jest efektywne w okresie fazy S. Wyraźne różnice występują we frakcji białek kwaśnych rozpuszczalnych w fenolu izolowanych z plazmodiów głodzonych w porównaniu z białkami takiej frakcji pochodzącymi z kultur rosnących na podłożu odżywczym. Białka te wyizolowane z plazmodiów głodzonych i rozdzielone metodą elektroforetyczną wykazują obecność 4 dodatkowych pasm nie występujących w plazmodiach rosnących oraz brak jednego pasma obecnego w śluz-

niach znajdujących się na podłożu odżywczym [36]. Okres głodzenia nie jest jednak czynnikiem wystarczającym do wystąpienia owocowania i plazmodia przeniesione z podłoża mineralnego ponownie na podłoże odżywcze podejmują wzrost na nowo [21, 66]. Wprawdzie po okresie głodzenia plazmodia są niejako przygotowane do sporulacji, ale światło jest w tym okresie niezbędnie konieczne dla indukcji tego procesu.

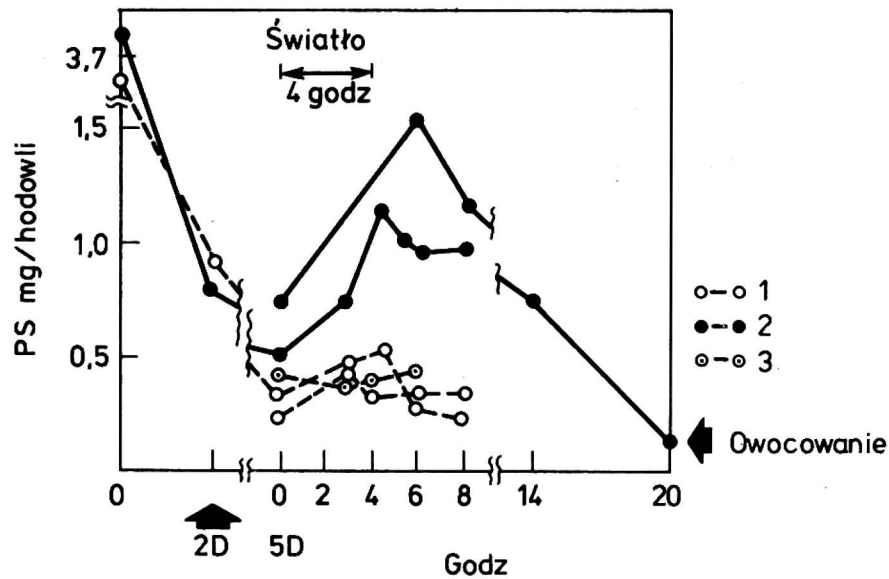
Podczas okresu naświetlania ma miejsce przejściowy spadek poziomu ATP w plazmodium (rys. 7) i zmniejszenie ilości polisacharydów typu glikogenu (rys. 8), natomiast wzrasta wartość pH podłoża



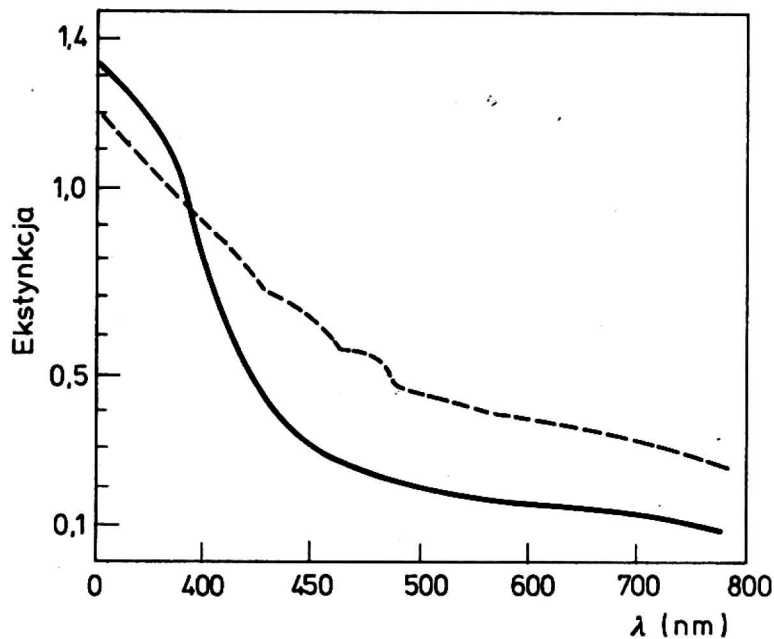
Rys. 7. Wpływ światła na poziom ATP w plazmodium. Kultury *Physarum polycephalum* naświetlano po 5 dniach hodowli. Plazmodia ekstrahowano w buforze Tris (pH = 8) w temperaturze 100°C. Ilość ATP określano metodą fluorymetryczną, zawartość białka w plazmodiach - metodą Folina [12]

[12]. Wstępne doniesienia wskazują, że światło ułatwia ukierunkowany przepływ jonów Ca^{++} i H^+ ze środowiska do plazmodium [18, 19]. Przepływowi H^+ towarzyszy uwalnianie jonów K^+ do podłoża [18]. Podobny efekt wywołuje cAMP i związek ten może w pewnym stopniu zastąpić światło w indukcji owocowania [14, 15]. Światło działa hamująco na oddychanie plazmodiów głodzonych, w sposób podobny jak to wykazano dla plazmodiów rosnących [11, 12]. Owocowanie śluzowca *Physarum polycephalum* jest zależne od syntezy DNA przed okresem naświetlania pla-

zmodiów, od syntezy białek zarówno przed, jak i w okresie naświetlania i od syntezy RNA do około 3 godzin po naświetlaniu [59]. Trzy godziny po okresie naświetlania oznacza dla *Physarum polycephalum* „punkt, z którego nie ma powrotu” - to jest moment, w którym plazmodium jest nastawione na owocowanie w sposób nieodwracalny i nawet gdy zostanie przeniesione na podłoże odżywcze i umieszczone w ciemności wzrost nie jest podejmowany lecz zostają wytworzone zarodnie [21, 58, 59, 66]. Efekt działania światła może być przeniesiony z plazmodiów naświetlanych na organizmy znajdujące się w ciemności. Straub [64] uzyskiwał owocowanie *Didymium nigripes* hodowanego w ciemności drogą dokarmiania plazmodiów kulturami naświetlanymi. Warmington i współprac. [70, 71] uzyskiwali ana-



Rys. 8. Zmiany w zawartości polisacharydów u *Physarum polycephalum* w zależności od czasu naświetlania plazmodium. Kultury znajdujące się na podłożu bez glukozy naświetlano po 5 dniach hodowli w ciemności. Plazmodia poddawane były trawieniu przez umieszczenie ich w 30% roztworze KOH, polisacharydy (PS) wytrącano gorącym etanolem i określano ich ilość po przeprowadzeniu reakcji z antro-nem; 1 - ilość polisacharydów w plazmodiach z ciemności, 2 - po różnym czasie naświetlania światłem białym, 3 - w plazmodiach znajdujących się butlach (actinic flasks) absorbujących z zastosowanego światła białego ok. 90% promieniowania o długościach fali poniżej 500 nm [12]



Rys. 9. Widmo absorpcyjne plazmodiów *Physarum nudum*; linia ciągła plazmodia z ciemności, linia przerywana - plazmodia naświetlane [53]

logiczny efekt w przypadku *Physarum polycephalum* drogą iniekcji do plazmodiów w ciemności barwnej (maksimum absorpcji przy 365-

-370 nm) substancji o masie cząsteczkowej około 500 izolowanej z plazmodiów poddanych działaniu światła. Okazało się również, że substancja ta naświetlana *in vitro* posiada zdolność do indukcji owocowania [70]. Dla *Physarum nudum* wykazano, że efekty wywołane działaniem światła mogą być zachowane w formach przetrwalnych (sklerotach) nawet w ciągu kilku tygodni i plazmodia uzyskiwane z takich sklerot, tj. powstałych z plazmodiów naświetlanych mogą wytwarzać zarodnie w ciemności (Rakoczy, dane nieopublikowane).

WPŁYW ŚWIATŁA NA BARWĘ I SKŁAD BARWNIKOWY PLAZMODIÓW

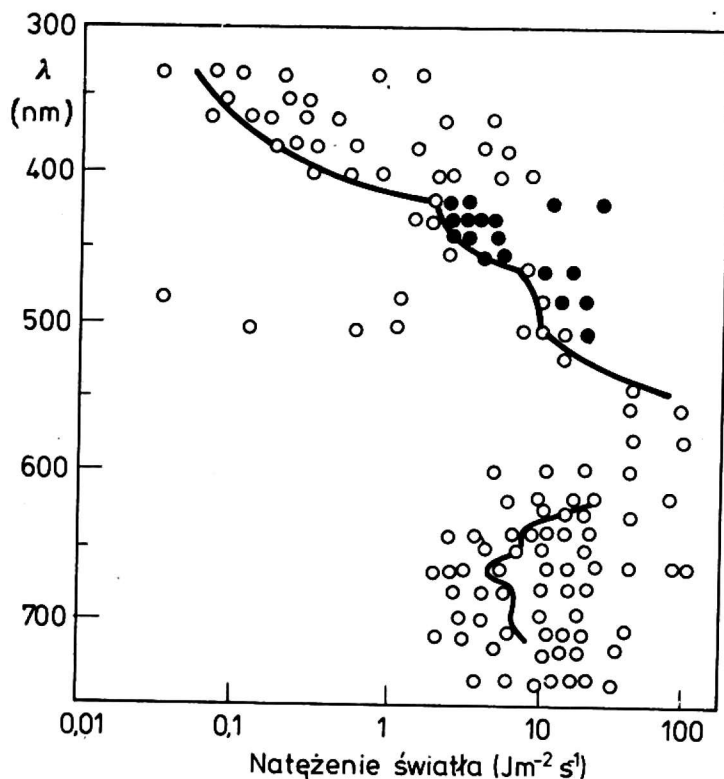
Wiele gatunków plazmodiów wytwarza plazmodia bezbarwne, prawie przezroczyste [40], jednakże znaczna większość przedstawicieli tej grupy organizmów posiada plazmodia o różnorodnym zabarwieniu. Pigmentacja śluzni może być mleczno-biała, żółta, pomarańczowa, fioletowa, czarna. Nie zostało definitywnie rozstrzygnięte, czy barwa plazmodium jest cechą gatunkową. Znane są przypadki, że plazmodia o różnej barwie mogą występować w obrębie tego samego gatunku śluzowca. Prawdopodobnie różnice w zabarwieniu są cechą odmianową [6], a w pewnym stopniu kolor śluzni może się zmieniać w zależności od pH podłoża [42, 60]. Oprócz wymienionych czynników również światło może wywierać wpływ na barwę plazmodium, np. plazmodia *Fuligo septica* hodowane w ciemności są barwy cytrynowo-żółtej, natomiast na świetle stają się kremowe [1, 24]. Białe plazmodia *Physarum gyrosum*, zmieniają barwę na żółtą w warunkach światła [34, 45]. Dla *Physarum polycephalum* wykazano, że pod wpływem światła żółto-pomarańczowe plazmodia ulegają w dużym stopniu odbarwieniu; podobny efekt wywiera światło na wyizolowane z plazmodium barwniki [12]. W przypadku śluzowca *Physarum nudum* stwierdzono, że żółte w ciemności plazmodia stają się brązowe podczas hodowli w warunkach światła [47, 50]. Na rysunku 10 przedstawiono widma absorpcyjne plazmodiów *Physarum nudum* hodowanych w warunkach światła i w ciemności [53].

Tylko dwa doniesienia podają zakresy spektralne aktywne w procesie zmiany barwy plazmodiów śluzowców. Nair i Zabka [45] stwierdzili, że *Physarum gyrosum* zmienia barwę z białej (w ciemności) na żółtą pod wpływem światła niebieskiego, a po naświetlaniu światłem czerwonym staje się brązowe. Naświetlając śluzowca *Physarum nudum* promieniowaniem monochromatycznym z różnych zakresów spekt-

rańnych stwierdzono, że plazmodia zmieniają zabarwienie z żółtego na brązowe tylko w zakresie niebieskim widma [50], podczas gdy UV, zakres zielony, czerwony i daleka czerwień nie wywierają wpływu na barwę plazmodium (rys. 10).

Zakresy promieniowania wywołujące zmianę barwy *Physarum nudum* nie są zgodne z zakresami indukującymi sporulację tego gatunku śluzowca. Owocowanie występuje bowiem po naświetlaniu plazmodium UV lub światłem czerwonym, natomiast promieniowanie tych zakresów spektralnych nie ma wpływu na barwę śluzni [50].

Natura chemiczna barwników występujących w plazmodiach nie jest jeszcze dokładnie poznana u żadnego z gatunków śluzowców. Co więcej, dane na ten temat zawarte w pracach różnych autorów są sprzeczne nawet w przypadku tego samego gatunku jak np. *Physarum polycephalum*. Jedynie dla *Physarum nudum* wiadomo, że w plazmodiach naświetlanych wytwarzane są karotenoidy i melanina, podczas gdy w kulturach w ciemności obok licznych, nie w pełni jeszcze scharakteryzowanych barwników występuje fitofluen [54]. Melanina i karotenoidy prawdopodobnie pełnią rolę ochronną w plazmodium, na co wskazują wyniki badań dotyczących indukcji owocowania promieniowaniem różnych zakresów spektralnych (rys. 6). W przeciwieństwie do UV i promieniowania z zakresu czerwieni tylko zakres niebieski widma wyzwała sporulację w 100%, a więc ten zakres, który jest jednocześnie aktywny dla syntezy barwników karotenoidowych i melaniny.



Rys. 10. Zmiana barwy plazmodiów śluzowca *Physarum nudum* w warunkach światła; kółka białe i czarne - plazmodia naświetlane 12 godzin promieniowaniem o różnym natężeniu i różnych długościach fali, kółka czarne - plazmodia, które zmieniły barwę z żółtej (w ciemności) na brązową (w warunkach światła); linią ciągłą zaznaczono widmo działania owocowania [50]

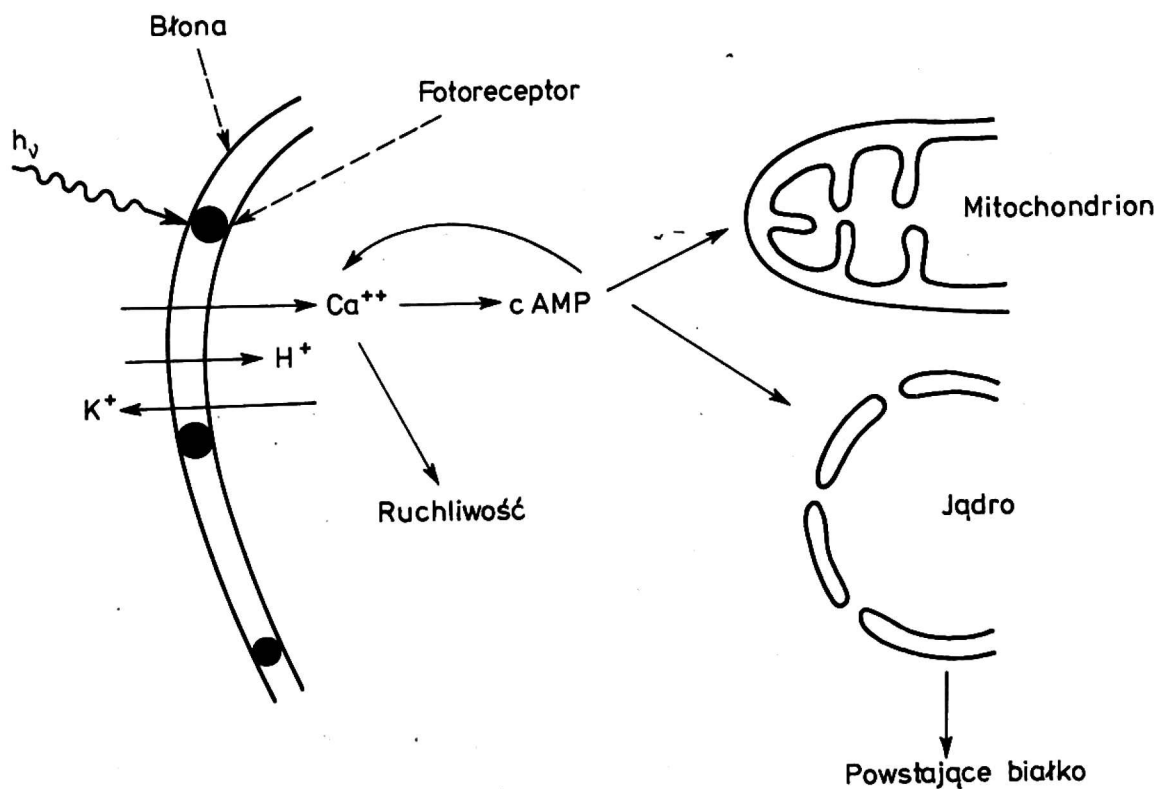
Zakresy spektralne indukujące sporulację u śluzowców

Gatunek śluzowca i barwa plazmodium	Zakresy spektralne						Nr literatury
	UV	niebieski	zielony	czerny	daleka czerwien	czerwień, daleka czerwien	
Physarum polycephalum	+	+	+	0	0	0	[25, 26]
Żółto-pomarańczowa	+	+	-	-	0	0	[21]
	0	+	+	+	-	-	[45]
Physarum nudum	+	+	-	+	-	0	[50]
Żółta							
Didymium nigripes	+	+	-	+	-	0	[64]
Brązowa	+	+	-	+	-	0	[37]
Didymium iridis	0	+	-	+	-	-	[45]
Brązowa							
Physarum gyrosum	0	+	-	+	+	0	[45]
Biała							

+ Zakres spektralny aktywny, - nieaktywny, 0 nie badany.

WNIOSKI

Dokonany przegląd zjawisk kontrolowanych przez światło wykazuje, że wiele procesów życiowych śluzowców jest uzależnionych od działania tego czynnika. Jakkolwiek nie dla wszystkich omawianych procesów znane jest dokładne widmo działania, czy aktywne zakresy spektralne, to jednak z informacji jakimi dotychczas dysponujemy wynika, że dla takich procesów jak migracja, wzrost, zmiana składu barwników w plazmodium, owocowanie aktywny jest zawsze krótkofalowy widzialny zakres widma i bliski UV, a w przypadku indukcji sporulacji aktywne może być również światło czerwone. Łańcuch reakcji prowadzący od wzbudzonej cząsteczki fotoreceptora (czy fotoreceptorów) do końcowych, obserwowanych efektów jest z pewnością złożony i jak dotąd w słabym stopniu poznany. Pewne dane, jakkolwiek fragmentaryczne, można jednak połączyć w hipotetyczny łańcuch wydarzeń zachodzących pod wpływem działania światła niebieskiego (rys. 11). Opierając się zatem tylko na informacjach doty-



Rys. 11. Schemat ilustrujący hipotetyczny łańcuch reakcji pierwotnych zachodzących w plazmodiach śluzowców pod wpływem działania światła niebieskiego

czących działania światła niebieskiego można przypuszczać, że cząsteczka fotoreceptora, prawdopodobnie ryboflawina, zlokalizowana

jest w błonie plazmatycznej śluzni. Wzbudzenie cząsteczki fotoreceptora może w efekcie prowadzić do pewnych zmian w błonie, co z kolei wpływa na zmianę jej przepuszczalności, szczególnie dla jonów Ca^{++} , a także H^+ (nie można wykluczyć, że również i innych jonów). Wskazują na to dane, zawarte w doniesieniach Daniela i współpracowników [13, 15, 18, 19]. Wapń jest znanym czynnikiem kontrolującym aktywność systemu aktomiozynowego w mięśniach, jak również i w plazmodium [35]. Aktywność skurczowa żył plazmodialnych jest zależna od systemu aktomiozynowego. System ten jest zlokalizowany w ektoplazmatycznej warstwie żył śluzowców [67, 68], do której błona plazmatyczna penetruje poprzez liczne inwaginacje i ma z nią bezpośredni, rozbudowany kontakt [68, 69]. Zmiany w poziomie wapnia powodowane m.in. zmianami w przepuszczalności błony, mogą więc bezpośrednio wpływać na zjawisko migracji, ponieważ ruch lokomocyjny plazmodium wiąże się bezpośrednio z ruchem protoplazmy. Wapń może także wpływać na poziom cAMP w cytoplazmie i odwrotnie - cAMP może regulować stężenie wapnia w plazmodium [5, 19, 46]. Na podstawie danych dotyczących innych organizmów można przypuszczać, że również w przypadku śluzowców cAMP może regulować procesy transkrypcji w jądrze i na tej drodze prowadzić do syntezy nowych białek koniecznych dla procesów związanych z wytworzeniem zarodni. Choć zjawiska fizjologiczne, takie jak ruch, wzrost, owocowanie nie są efektem jednego szlaku metabolicznego, nie można wykluczyć, że reakcje pierwotne indukowane światłem są dla nich wspólne, natomiast występujące po nich reakcje wtórne mogą być włączone w te procesy metaboliczne, które są odrębne dla każdego z tych zjawisk.

W przypadku tych gatunków śluzowców, u których stwierdzono aktywność systemu red-far-red, drugim fotoreceptorem może być fitochrom. Ten typ fotorecepcji może się wiązać z uruchamianiem reakcji prowadzących do sporulacji. Zjawisko to może mieć znaczenie ekologiczne. W warunkach naturalnych śluzowce spotykają się z ostrym gradientem promieniowania, ponieważ zarówno UV, jak i widzialny zakres krótkofalowy są silnie absorbowane w glebie, ściółce leśnej - naturalnych siedliskach plazmodiów. Nieco głębiej dociera zakres długofalowy światła - ten nie działa hamująco na wzrost, ale indukuje owocowanie. Jaka jest droga działania tego systemu fotorecepcji nie wiadomo, ponieważ zagadnienie to, jak dotąd nie było przedmiotem bliższych badań.

LITERATURA

1. Baranatzki J.: Mem. Soc. Sci. Nat. Cherbourg, 19, 321-360, 1976
2. Białczyk J.: Photochem. Photobiol. 30, 301-303, 1979
3. Białczyk J., Rakoczy L.: Bull. Acad. Polon. Sci. ser. biol., 22, 817-873, 1974
4. Białczyk J., Rakoczy L.: Bull. Acad. Polon. Sci. ser. biol., 23, 571-575, 1975
5. Borle A.B.: Fed. Proc., 32, 1944-1950, 1973
6. Brandza M.: Compt. Rend. Acad. Sci. Paris, 185, 10772-10774, 1927
7. Brever E.N., Kuraishi S., Garver J.C., Strong F.G.: Appl. Microbiol., 12, 161-164, 1964
8. Carlile M.J.: J. Gen. Microbiol., 63, 221-226, 1970
9. Carlile M.J.: Methods in Microbiology, Acad. Press, London, 1, 237-265, 1971
10. Carlile M.J.: Trans. Br. Mycol. Soc., 62, 213-215, 1974
11. Daniel J.W.: J. Cell Biol., 27, 23A-24A, 1965
12. Daniel J.W.: Cell Synchrony, Cameron I.L., Padilla G.M., Eds Acad. Press, New York, 117, 152, 1966
13. Daniel J.W.: Amer. Society for Photobiology Meeting, 182, 1973
14. Daniel J.W.: Miami Winter Symposia: Membrane transformations in Neoplasia, USA, 1974
15. Daniel J.W.: Amer. Soc. Photobiology. (Abstr.), 47, 1975
16. Daniel J.W.: Second International Mycol. Congr. (Abstr.), 126 1977

Л. Ракочи

ВЛИЯНИЕ СВЕТА НА ПЛАЗМОДИЯ ПЛЕСЕНИ

Р е з ю м е

Исследовалось влияние света на плазмодия *Physarum nudum*. Измерялись следующие параметры: спектр действия на рефлекс утечки после освещения; взаимоотношение между рефлексом утечки и возрастом плазмодий; радиореспирометрическая характеристика; влияние интенсивности света на споруляцию; влияние света на плазмодиальный АТФ и уровень полисахаридов; спектр поглощения плазмодий, а также изменение окраски плазмодий в зависимости от интенсивности освещения и длины волны. Представлена гипотетическая цель первичных процессов вызванных фиолетовым светом в плазмодиях плесени.

L. Rakoczy

INFLUENCE OF LIGHT ON SLIME MOULD PLASMODIA

S u m m a r y

Influence of light has been tested on *Physarum nudum* plasmodia as a model. The following parameters of light effect have been investigated: action spectrum for light avoidance upon illumination; relation between light avoidance responses and age of plasmodia; radiorespirometric patterns; light intensity effect on sporulation; light effect on plasmodial ATP and polysaccharide level; absorption spectrum of *Physarum nudum* plasmodia, and finally the change of colour of plasmodia depending on intensity of radiation at different wavelengths. A hypothetical chain of primary events caused by blue light in the slime mould plasmodia is presented.