



2004-2006 m. Bendrojo programavimo dokumento 2 prioriteto „Žmogiškųjų išteklių plėtra“ 4 priemonė „Mokymosi visą gyvenimą sąlygų plėtra“

Projekto sutarties numeris: ESF/2004/2.4.0-K01-160/SUT-261

Projekto pavadinimas: **Inovatyvūs mokymosi metodai ir naujausios technologijos gamtos mokslų bakalauro rengimui**

---

## **BIO 313 BESTUBURIŲ BIOLOGIJA**

### **Laboratorinis darbas**

**LĖTŪNŲ (TIPAS *TARDIGRADA*) SURADIMAS KERPIŲ IR SAMANŲ  
MĖGINIUOSE. LĖTŪNŲ MORFOLOGINĖ ANALIZĖ.**

## TIPAS LĒTŪNAI (TARDIGRADA)

Lētūnai yra kosmopolitai ir paplitę įvairiai: gėlame ir jūriniame vandenyje, dumbliuose, dirvožemyje, smėlyje, ant augalų šaknų, lapų paklotėje tačiau didžiausia tikimybė lētūnus rasti samanose ar kerpėse. Tai maži daugialąsčiai (0.1 – 0.5 mm) gyvūneliai, turintys keturias poras nesegmentuotų galūnių ir judantys palaipsniui dēliodami galūnes, tuo primindami lokių eiseną. Dėl šios priežasties lētūnai dažnai yra vadinami “vandens meškiukais”. Šie bilateralinės simetrijos mikroskopiniai daugialąsčiai turi plokščią ventralinę pusę ir iškilią dorsalinę pusę. Vidutinis suaugusių lētūnų dydis 250-500 μm (Dewel et al. 1993). Kūnas sudarytas iš 5 nelabai aiškiai išsiskiriančių segmentų, kuriuos sudaro galvos segmentas ir keturi liemens segmentai, kurių kiekviename yra po porą galūnių, užsibaigiančių nageliais. Pirmosios 3 galūnių poros nukreiptos ventrolateraliai ir jų pagrindinė funkcija – judėjimas. 4 – oji galūnių pora nukreipta į užpakalinį kūno galą ir naudojama užsikabinti už substrato (**Pav. 1**).



**Pav. 1.** Lētūno kūno fragmentas su ventrolateraliai nukreiptomis galūnėmis ir ketvirtąją galūnių porą nukreipta į užpakalinį kūno galą. (Fotografuota trinokuliariniu FK mikroskopu MOTIC BA300 su skaitmenine foto-video kamera MOTICAM 2000).

Lētūnai maitinasi pradurdami ląsteles (bakterijų, dumblių, augalų, samanų, kerpių arba gyvūnų (pirmuonių, verpečių, nematodų, lervų ir kitų smulkių bestuburių)) kietu stiletu ir iščiulpia ląstelių turinį raumeningos ryklės pagalba (**Pav. 2**). Kai kurioms rūšims

pagrindinis maisto šaltinis – detritas. Nors lėtūnų gyvenamoji aplinka labai įvairi, tačiau jie visi yra vandens gyvūnai ir yra aktyvūs tik tuomet kai jų kūną supa vanduo.



**Pav. 2.** Lėtūno priekinė kūno dalis ir galvoje matomas stiletas (pažymėtas rodykle). (Fotografuota trinokuliariniu FK mikroskopu MOTIC BA300 su skaitmenine foto-video kamera MOTICAM 2000).

Kada yra sausa ir aplinkoje trūksta drėgmės, lėtūnai sugeba iškęsti šias nepalankias sąlygas pereinami į specialią metabolinę būseną, vadinamą kryptobioze. Dėl šios savybės lėtūnai priskirtini ekstremalams – organizmams, kurie pakelia daugeliui nepakeliamas aplinkos sąlygas. Sausumos lėtūnai tampa aktyvūs tik tuomet, kai gauna pakankami drėgmės t.y. patenka į vandenį. “Atsigavę” lėtūnai lėtai ropoja ant substrato ir ieško sau maisto. Kai aplinkinis vanduo išgaruoja, lėtūnai gali prarasti iki 90% kūno vandens. Šis vandens praradimas vadinamas anhydrobioze. Anhydrobiozė veda į sekančią būseną kryptobiozę, kuomet lėtūnas yra “išdžiūvęs” ir gali suformuoti statinaitės formos cistas, kurios išlieka gyvybingos pakankamai ilgai. Statinaitės būsenoje lėtūnai gali išbūti kelis mėnesius ar net metus, tol, kol pateks į vandens aplinką ir atgis. Šioje būsenoje jie gali pakelti temperatūrą nuo  $-272^{\circ}\text{C}$  20 valandų ir  $-200^{\circ}\text{C}$  – 20 mėnesių, gali pakelti X – rentgeno spindulių dozę, 1000X didesnę nei letali dozė žmogui, atlaiko 1000 atmosferų slėgį (Kinchin 1994). Teigiama, kad iš 120 metų senumo statinaitės formos cistų, palaikius jas tinkamoje (drėgnoje) aplinkoje, sėkmingai atsigavo ir pradėjo judėti lėtūnai (Kinchin 1994).

Lėtūnų (Tardigrada) tipe yra išskiriamos dvi klasės: Heterotardigrada (šarvuoti lėtūnai) ir Eutardigrada (plikieji lėtūnai). Toks skirstymas yra susijęs kurikulinėmis dorsalinėmis plokštelėmis, kurios būdingos sausuminėms Heterotardigrada rūšims ir kurių neturi Eutardigrada (Marcus 1929). Heterotardigrada kiti charakteringi požymiai tai: galvos galūnės, kutikulinės išaugos, nageliai ir dorsalinių kutikulos plokštelių skulptūrinis paviršius. Eutardigrada svarbūs morfologiniai požymiai yra nageliai, burnos – ryklės aparatas ir kutikulos struktūra (lygi, granuluota ar turinti išaugėles).

Lėtūnai pakankamai lengvai surandami tose vietose, kur drėgna: ant apsamanojusių ar kerpėmis apaugusių stulpų, tvorų, medžių kamienų. Dauguma lėtūnų gyvena ant kerpių, yra gana dažni, tačiau būdami labai smulkūs paprastai nepastebimi. Kartu su lėtūnais, ant kerpių galima rasti kitus smulkius organizmus: pirmuonis, verpetės, nematodus, erkutes. Kerpės ir ant jų gyvenantys organizmai, gali būti bioindikatoriais, kadangi didžiąją dalį medžiagų ir vandens gauna daugiau iš atmosferos nei iš dirvos.

Dabartiniu metu aprašyta apie 700 lėtūnų rūšių, kurios paplitusios visuose žemynuose.

### **LABORATORINIS DARBAS NR.3**

#### **Lėtūnų (Tardigrada) suradimas kerpių ir samanų mėginiuose. Lėtūnų morfologinė analizė.**

**Darbo priemonės:** Kerpių ir samanų, surinktų nuo medžių kamienų, akmenų ar dirvos, mėginiai. Petri lėkštelės, objektiniai stikleliai, dengiamieji stikleliai, pipetės, pincetai, distiliuotas vanduo, mokomieji monokuliariniai mikroskopai SFC 100FL H.

#### **Darbo eiga:**

Surinktos kerpės ar samanos (kiekviena rūšis atskirai) dedamos į Petri lėkšteles iki pusės užpildytas lietaus, šaltinio ar distiliuotu vandeniu (maždaug apie 1 cm). Taip užmerktus mėginius galima laikyti 24 val, tačiau laikymas 48 ar 72 valandas duoda geresnius rezultatus. Praėjus šiam laikui vanduo iš Petri lėkštelės išpilamas ir jame ieškoma lėtūnų. Tiriant samanų mėginius, užpiltą vandenį galima išpilti, o patį samanų gniužulą nugręžti, išspaudžiant samanų absorbuotą vandenį į mažą Petri lėkštelę. Tuomet toks mėginys

stebimas stereoskopinio mikroskopo 40X ar dar mažesniu objektyvu. Ieškoti lėtūnų patartina tamsiame fone. Studentai gali sudaryti lentelę, kurioje fiksuotų kiek lėtūnų (kokių) rado ant kiekvienos kerpių ar samanų rūšies.

Surastus lėtūnus galima suskirstyti į grupes pagal jų formą, spalvą, kutikulą (ornamentuota ar lygi), gyvi ar ne, turi kiaušinių ar ne ir pan.

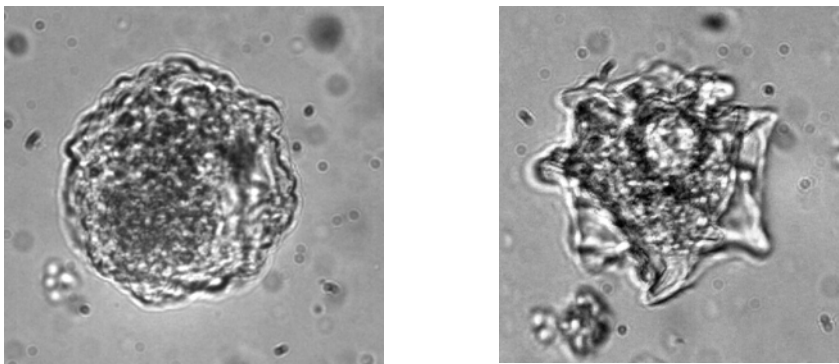
Terpėje galima rasti ne tik pačių lėtūnų, bet ir jų kiaušinių, kurie išsiskiria savo ornamentuotu paviršiumi (**Pav. 3**).

Be lėtūnų, šiuose mėginiuose iš samanų, gali būti randami kiti mikroskopiniai daugialąsčiai: verpetės (Rotatoria) (**Pav. 4**) ir apvaliosios kirmėlės (Nematoda).

Jei mėginyje radote lėtūną (pagal išvaizdą nesupainiosite jo nei su verpetėmis nei su nematodais), smulkia pipete perkelkite jį ant objektinio stiklelio (į mažą vandens lašą) ir uždenkite dengiamąjį stiklelį, prieš tai ant jo kampų uždėję truputį vazelino. Kadangi lėtūnai nėra greiti, tai su jų judėjimo sulėtinimu problemų neturėtų būti.

Lėtūnai kaip ir kerpės yra naudojami kaip bioindikatoriai oro užterštumui įvertinti. Kerpės reaguoja į sieros dioksidą (SO<sub>2</sub>) ir jei aplinkoje jo, kerpių augimas sulėtėja, jos apmiršta. Ant kerpių gyvenančių ir randamų lėtūnų rūšinė įvairovė ir gausa taip pat yra oro kokybės indikatorius.

Mėginiuose surastus lėtūnus galima užfiksuoti. Tam tikslui imama mikropipetė su kuria iš vandens mėginio nuo objektinio stiklelio paimami lėtūnai ir fiksuojami 70% etilo alkoholyje arba 5% formalino tirpale.



**Pav. 3.** Lėtūnų (Tardigrada) kiaušiniai surasti vandens mėginyje iš samanų (Fotografuota trinokuliariniu FK mikroskopu MOTIC BA300 su .skaitmenine foto-video kamera MOTICAM 2000).



**Pav. 4.** Verpetės (Rotatoria) randamos kartu su lėtūnais vandens mėginiuose iš samanų (Fotografuota trinokuliariniu FK mikroskopu MOTIC BA300 su skaitmenine foto-video kamera MOTICAM 2000).

#### **LITERATŪRA**

1. Kazlauskas R. Bestuburių biologija. – Vilnius: Mokslas, 1988.- 384 p.
2. Kinchin I. M. 1994. The Biology of Tardigrades. Blackwell Publishing Co., London.
3. Mažiulis D. Starodubaitė M. Zoologija. Vilnius : Siveida, 2001. – 296 p.
4. Marcus E. 1929. Tardigrada. *In* H. G. Bronn (ed.) Klassen und Ordnungen des tierreichs. Vol 5, Seciont 4, Part 3: 1-608.
5. Dewel R. A., D. R. Nelson, W. C. Dewel. 1993. Tardigrada. *In* Microscopic Anatomy of Invertebrates, volume 12: Onychophora, Chilopoda, and Lesser Protostomata. Wiley-Liss, Inc.

#### **INTERNETINIAI PUSLAPIAI**

<http://www.tardigrades.com/>

<http://www.museums.org.za/bio/tardigrades/>

<http://www.earthlife.net/inverts/tardigrada.html>

[http://www.fcps.edu/StratfordLandingES/Ecology/mpages/water\\_bear.htm](http://www.fcps.edu/StratfordLandingES/Ecology/mpages/water_bear.htm)