

CYKLOZA WODNICZEK PANTOFELKA (*PARAMECIUM CAUDATUM*) W ZRÓŻNICOWANYCH WARUNKACH HIPERTONICZNOŚCI ŚRODOWISKA

CYCLOSIS OF VACUOLES OF PARAMECIUM (*PARAMECIUM CAUDATUM*) IN VARIOUS HIPERTONIC CONDITIONS

Aleksandra Sobaś

ABSTRACT

Protozoans are unicellular organisms leading a self-reliant or colony way of life. The cell retains all the features of eukaryotic cells as well as all the structural and functional features which are typical of a multicellular organism. They are the oldest animals in the world. They appeared in the Precambrian (600 million years ago). They play an important role in biotopes which they inhabit.

One important function in aquatic environment is the ability to depurate water. In taxonomic system which divides the world of creatures into five kingdoms, in the version proposed by Whittaker, protozoans are included in the informal grouping of Protists (*Protoctista*).

The conducted research demonstrated the impact of cyclosis of forming food vacuoles on the process of distributing food in a cell depending on the hypertonicity of the environment.

This relationship allows to determine the pace of food intake by a protozoan cell and, therefore, may affect the purity of water life which is the habitat of the organism.

The analysis of cyclosis of vacuoles was performed in three different samples. The first sample being the reference sample was a hay infusion of protozoans in 100 ml of tap water. The second sample, the experimental sample was a protozoan culture and 1% HCl solution with protozoans taken from the reference sample. The third sample was a culture with 5% HCl solution and protozoans from the reference sample.

The experimental samples were left for 4 hours under the same thermal conditions (25°C) and then, under a microscope after cell staining, the pace of movement of forming food vacuoles in the area of cytoplasm of a protozoa was observed.

The obtained results showed the slowest movement of vacuoles in the 5% HCl solution, which resulted from the slow movement of the cell cytoplasm.

Słowa kluczowe: roztwór hipertoniczny, cykloza, cytoplazma, oczyszczanie biologiczne

Key words: *solution hypertonic, cyclosis, cytoplasm, biological treatment*

Aleksandra Sobaś, I Ogólnokształcące Liceum Akademickie im. Janiny Kossakowskiej-Dębickiej w Kielcach, e-mail: olasobas55@gmail.com

Wprowadzenie

Coraz większą skalę przyjmują problemy związane z zanieczyszczeniem środowiska. Dotyczą one powietrza atmosferycznego, wody i gleby. Powszechnie stosowane w przywracaniu czystości środowiska środki chemiczne działają obosiecznie. Usuwając toksyny same w nim zalegają, co w perspektywie czasu

może przyczyniać się do naruszenia równowagi ekosystemowej. Dlatego słuszne jest zastosowanie metod biologicznych i wskazanie organizmów charakterystycznych dla poszczególnych biotopów, które są ich naturalnymi mieszkańcami i jednocześnie skutecznie przyczyniają się do zachowania równowagi biocenotycznej własnych środowisk (Gorzela, Kornijów 2004). Do takich organizmów należy wiele form eukario-

tycznych, w tym protisty (*Protoctista*) (Scamardella 1999). Przedstawicielem tej grupy organizmów jest pantofelek (*Paramecium caudatum*). Cykloza jego wodniczek, krążących wokół dużego jądra komórkowego – makronukleusa, trawiąc pobrane ze środowiska pokarmy, przyczynia się do wychwytywania zbędnych w środowisku cząstek materii organicznej, zalegania ich w biotopie, przeciwdziałając w ten sposób procesom gnilnym. Pobierane przez tego pierwotniaka cząstki organiczne trawione w cyklozie komórkowej uniemożliwiają uwalnianie związków azotowych powstających w wyniku amonifikacji białek w warunkach beztlenowych (Łagód i in. 2012). Zachowane zostają warunki pH środowiska, konduktywność, rezerwa tlenowa, co sprzyja zachowaniu warunków klimaksowych w biotopie i przekłada się na bogactwo faunistyczne i florystyczne (Urbanek 2007). Badania przeprowadzone w warunkach laboratoryjnych przy zróżnicowanych wartościach parametrów biotopowych pozwalają na ustalenie optymalnych warunków życia pierwotniaków oraz dynamikę życiową przejawiającą się intensywnym poborem pokarmów i aktywną cyklozą wodniczek.

Ruch cyrkulacyjny cytoplazmy polega na ruchu cytoplazmy zabierającej ze sobą organella komórkowe, w tym wodniczki pokarmowe, które w trakcie przemieszczania trawią pobrane substancje pokarmowe, dostarczając produkty trawienia komórce. Kierunek prądu cytoplazmy przy stabilnych warunkach środowiska zewnętrznego pozostaje stały. Na stabilność wpływa temperatura i stężenie roztworu środowiskowego. Tempo przemieszczania się wodniczek odpowiada procesom trawienia wewnątrzkomórkowego. Pomiar czasu pełnego obrotu wodniczki w cytoplazmie może wskazywać na intensywność procesów trawienia komórkowego, czyli aktywność metaboliczną komórek pierwotniaka.

Charakterystyka obiektu badań

Pantofelek jest pierwotniakiem i należy do typu orzęsek.

Zespół typów: Pierwotniaki (*Protozoa*)

Typ: Orzęski (*Ciliata*)

Gatunek: Pantofelek (*Paramecium*)

Orzęski to najwyżej uorganizowane pierwotniaki, o skomplikowanej budowie powierzchni pelikuli (Umiński i in. 1991). Pantofelek jest organizmem jednokomórkowym. Jest to pierwotniak stosunkowo duży (200–300 mikrometrów). Okryty jest systemem pofałdowań, pęcherzyków i włókien, tworzących grubą sprężystą warstwę (Dąbski i in. 1984, Larousse 1990). Komórka pokryta jest licznymi rzęskami, stąd nazwa typu. Mimo takiej

budowy *pellikula* umożliwia pobieranie pokarmu. Na jej powierzchni znajdują się pola służące do odżywiania, wydalania i osmoregulacji (Lewiński 2000). Pola okologiczne opatrzone są systemem rzęsek napędzających pokarm. Korelacja ruchu rzęsek umożliwia szybki ruch i aktywną penetrację środowiska. Cechą szczególną orzęsków jest obecność dwóch różnych typów jąder o różnej ilości materiału genetycznego i różnej funkcji, dużego makronukleusa oraz małego mikronukleusa (Umiński i in. 1991). Po stronie brzusznej w przedniej części ciała znajduje się wklęsnięcie, na którego dnie leży zagłębienie okologiczne – cytostom. Przez niego cząstki pokarmowe dostają się w głąb komórki, a następnie do wodniczki trawiącej. Wodniczka krąży po określonej drodze wewnątrz komórki pantofelka. Do krążących wodniczek przenikają z protoplazmy enzymy. Niestrawione pozostałości są usuwane przez obszar pelikuli, zwany cytopyge, umieszczony po stronie brzusznej w tylnej części komórki. (Pierwotniaki [on-line]. pwn.pl. 2010). Żyjący w środowisku wodnym pantofelek jest ważnym czynnikiem samooczyszczania się wód. Zanieczyszczające je związki organiczne oraz bakterie są pokarmem pierwotniaków, które przerabiają je na prostsze składniki nieorganiczne, pobierane następnie przez rośliny (Dąbski i in. 1984).

Metody badań

Metodyka przewidywała porównanie próby kontrolnej i próbek badawczych w zróżnicowanych warunkach hipertoniczności środowiska i ich wpływu na intensywność ruchów cytoplazmy i cyklozy wodniczek trawiennych. W tym celu założono hodowlę sianową jako próbkę odniesienia (fot. 1), z której pobierano materiał biologiczny pierwotniaka (*Paramecium caudatum*). Próbkę badawczą stanowiły pierwotniaki umieszczone w hodowlach o zróżnicowanych warunkach zasolenia. Do pierwszej, opartej na bazie próbki kontrolnej, dodano 1-procentowy roztwór HCl, w drugiej – 5-procentowy roztwór HCl. Po zadaniu próbek badawczych roztworem chlorku sodu pozostawiono je na 1 godzinę, po której obserwowano ruchy wodniczek. Czynność powtórzono po upływie 2, 3 i 4 godzin w obu próbkach badawczych (fot. 2, 3), notując czas wędrówki wodniczki. Obserwację ruchu ułatwiło przyżyciowe zabarwienie hematoksyliną. Barwienie to umożliwiło obserwację żywych komórek pierwotniaka i ruch zabarwionych organelli komórkowych w cytoplazmie, zachowując ich funkcje życiowe. Wyniki rejestrowano fotograficznie z wykorzystaniem mikroskopu Nikon AZ 100 z możliwością cyfrowego zapisu obrazu (fot. 4).

Czas pełnej cyklozy obserwowano mikroskopowo i notowano tabelarycznie według wzoru:

Numer pomiaru w próbce kontrolnej	Czas cyklozy wodniczki w min. po upływie 1 godz.	Czas cyklozy wodniczki w min. po upływie 2 godz.	Czas cyklozy wodniczki w min. po upływie 3 godz.	Czas cyklozy wodniczki w min. po upływie 4 godz.
1				

Wynik pomiaru w 1. próbce badawczej (1% HCl)	Czas cyklozy wodniczki w min. po upływie 1 godz.	Czas cyklozy wodniczki w min. po upływie 2 godz.	Czas cyklozy wodniczki w min. po upływie 3 godz.	Czas cyklozy wodniczki w min. po upływie 4 godz.
1				

Wynik pomiaru w 2. próbce badawczej (5% HCl)	Czas cyklozy wodniczki w min. po upływie 1 godz.	Czas cyklozy wodniczki w min. po upływie 2 godz.	Czas cyklozy wodniczki w min. po upływie 3 godz.	Czas cyklozy wodniczki w min. po upływie 4 godz.
1				



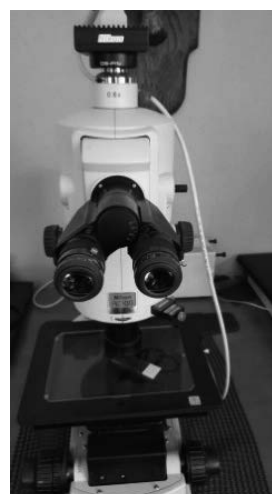
Fot. 1. Hodowla sianowa, próbka odniesienia (fot. M.A. Józwiak)



Fot. 3. Pierwotniaki w 5-procentowym roztworze HCl (fot. M.A. Józwiak)



Fot. 2. Pierwotniaki w 1-procentowym roztworze HCl (fot. M. A. Józwiak)



Fot. 4. Mikroskop optyczny Nikon AZ 100 (fot. M.A. Józwiak)

Wyniki badań

Przebieg pełnej cyklozy wodniczki w pięciu losowo wybranych komórkach próbki kontrolnej wskazuje na niewielkie różnice czasowe (od 0,3 do 0,7 min) w przebiegu cyklozy w obserwowanych pierwotniakach (tab. 1). Komórki znajdowały się w środowisku o stężeniu zachowującym cechy warunków naturalnych (hodowla sianowa). W środowisku występowała duża ilość materii organicznej, którą są artefakty widoczne na fot. 5 i 6. Duża ilość substancji pokarmowych aktywizowała pierwotniaki i pobudzała ruch wodniczek trawiennych. Należy przypuszczać, że cytoplazma była optymalnie uwodniona.

W pierwszej z dwóch próbek badawczych pierwotniaki umieszczono w 1-procentowym roztworze chlor-

ku sodu. Obserwacje prowadzono w cyklu cogodzinnym czterokrotnie. Ostatnia obserwacja miała miejsce po upływie 4 godzin od momentu rozpoczęcia badań w losowo wybranych komórkach. Zaobserwowano postępujące wydłużenie czasu cyklozy w zależności od czasu trwania doświadczenia. W większości przypadków przekraczał on 1 min, a w próbce nr 4 po 4 godzinach trwania doświadczenia cykloza była najdłuższa i wyniosła 1,6 min (tab. 2).

Druga próbka badawcza polegała na obserwacji wodniczek w komórkach pierwotniaków umieszczonych w 5-procentowym roztworze chlorku sodu. Zaobserwowano spadek aktywności ruchowej pierwotniaków i postępujące spowolnienie ruchu cytoplazmy i wodniczek komórkowych. Na 20 przeprowadzonych obserwacji w dziesięciu przypadkach czas trwania

Tabela 1. Wyniki pomiaru czasu cyklozy wodniczek w próbce kontrolnej

Numer pomiaru	Czas cyklozy wodniczki w min. po upływie 1 godz.	Czas cyklozy wodniczki w min. po upływie 2 godz.	Czas cyklozy wodniczki w min. po upływie 3 godz.	Czas cyklozy wodniczki w min. po upływie 4 godz.
1	0,5	0,4	0,7	0,7
2	0,4	0,4	0,3	0,5
3	0,7	0,6	0,4	0,6
4	0,4	0,5	0,7	0,5
5	0,6	0,5	0,6	0,6

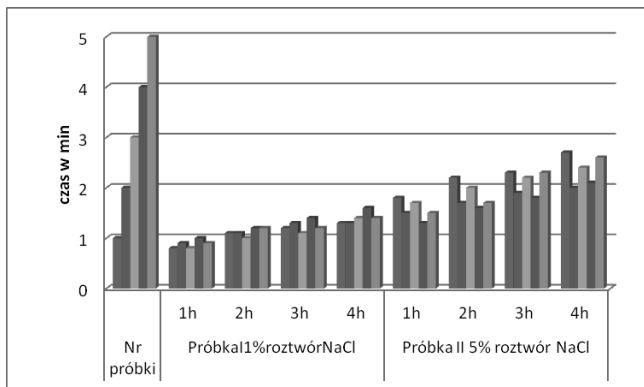
Tabela 2. Wyniki pomiaru w 1. próbce badawczej (1-procentowy HCl)

Numer pomiaru	Czas cyklozy wodniczki w min. po upływie 1 godz.	Czas cyklozy wodniczki w min. po upływie 2 godz.	Czas cyklozy wodniczki w min. po upływie 3 godz.	Czas cyklozy wodniczki w min. po upływie 4 godz.
1	0,8	1,1	1,2	1,3
2	0,9	1,1	1,3	1,3
3	0,8	1,0	1,1	1,4
4	1,0	1,2	1,4	1,6
5	0,9	1,2	1,2	1,4

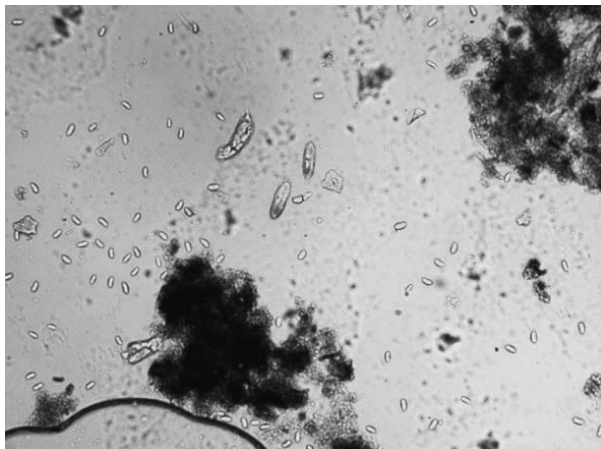
Tabela 3. Wyniki pomiaru w 2. próbce badawczej (5-procentowy HCl)

Numer pomiaru	Czas cyklozy wodniczki w min. po upływie 1 godz.	Czas cyklozy wodniczki w min. po upływie 2 godz.	Czas cyklozy wodniczki w min. po upływie 3 godz.	Czas cyklozy wodniczki w min. po upływie 4 godz.
1	1,8	2,2	2,3	2,7
2	1,5	1,7	1,9	2,0
3	1,7	2,0	2,2	2,4
4	1,3	1,6	1,8	2,1
5	1,5	1,7	2,3	2,6

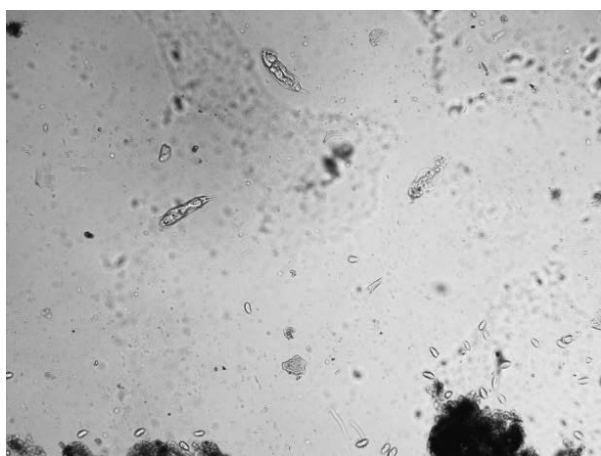
cyklozy zbliżony był do 2 min (od 1,3 do 1,9 min.), w pozostałych dziesięciu przekroczył 2 min. (od 2,1 do 2,7 min.). Przedstawiona zależność uwzględniała czas przebiegu doświadczenia (tab. 3).



Ryc. 1. Zależność czasu cyklozy wodniczek od stężenia roztworu i czasu trwania doświadczenia



Fot. 5. Komórki pantofelka w próbce kontrolnej (fot. M.A. Józwiak)



Fot. 6. Komórki pantofelka w próbce badawczej (1-procentowy roztwór HCl) (fot. M.A. Józwiak)

Podsumowanie i wnioski

Pierwotniak *Paramecium caudatum* odgrywa ważną rolę w środowisku. Żerując na rozkładającej się materii organicznej oraz odżywiając się bakteriami, wpływa na zachowanie równowagi w ekosystemie. Przeprowadzone badania cyklozy wodniczek i ich aktywności w zależności od stężenia roztworu wykazały że:

1) aktywność ruchowa pierwotniaka zależy od dostępności pokarmu – większa przy niewielkiej ilości, mniejsza w środowisku zasobnym w pokarm,

2) istnieje zależność między wzrostem stężenia roztworu w środowisku życia pierwotniaków a cyklozą wodniczek w komórkach (przebiega wolniej);

3) aktywność cyklozy wodniczek zależy od czasu trwania doświadczenia, co wskazuje na prawdopodobny stały proces odwadniania cytoplazmy;

4) wprowadzanie do środowiska życia pierwotniaków zbyt dużej ilości materii organicznej, wpływającej na wzrost hipertoniczności środowiska, może obniżyć aktywność życiową pierwotniaków, spowolnić cyklozę wodniczek i wpłynąć negatywnie na zachowanie równowagi biocenotycznej;

5) pierwotniak *Paramecium caudatum* może być organizmem bio wskaźnikowym stanu zanieczyszczenia środowiska wodnego.

Literatura

- Cavalier-Smith T., 2004: Only six kingdoms of life. „Proc. R. Soc. Lond. B”. 271: 1251–1262. DOI: 10.1098/rspb. 2705 (ang.).
- Dąbski J., Kozikowska Z., Wengris J., Wiadrowska Z., 1984: Zoologia. PWRIL, Warszawa.
- Gorzel M., Kornijów R., 2004: Biologiczne metody oceny jakości wód rzecznych. Kosmos. Problemy Nauk Biologicznych. Polskie Towarzystwo Nauk Biologicznych T. 53, 2(263): 183–191.
- Larousse M., 1990: Ziemia, rośliny, zwierzęta. BGW, Warszawa: 310. ISBN 83-85167-005.
- Lewiński W., 2000: Biologia – podręcznik dla klasy drugiej liceum ogólnokształcącego. Rumia: Wydaw. „Operon”, Nr. wydawniczy 83-87518-08-5.
- Łagód G., Babko R., Jaromin K., Kuzmina T., 2012: Zmiany w strukturze zbiorowiska pierwotniaków osadu czynnego w zróżnicowanych warunkach tlenowych. Changes in structure of activated sludge protozoa community at the different oxygen condition DOI: 10.2429/proc. 6(1) 041: 6(1).
- Scamardella J.M., 1999: Not plants or animals: a brief history of the origin of Kingdoms Protozoa, Protista and Proctotista. „International Microbiology”. 2: 207–216,

Springer-Verlag Ibérica.

Pierwotniaki (pol.). w: Słownik terminów biologicznych [on-line]. pwn.pl. [dostęp 2010-03-21].

Umiński, S., Feliksiak, W., Michajłow Z., Raabe K., Strawiński K., 1991: Biologia. Podręcznik dla klasy drugiej liceum ogólnokształcącego, WSiP, Warszawa.

Urbanek A., 2007: Jedno istnieje tylko zwierzę: myśli przewodnie biologii porównawczej. Muzeum i Instytut Zoologii Polskiej Akademii Nauk. Warszawa, ISBN 978-83-88147-08-1.

STRESZCZENIE

Pierwotniaki są organizmami jednokomórkowymi prowadzącymi samodzielny lub kolonijny tryb życia. Komórka zachowuje wszystkie cechy komórek eukariotycznych i zawiera wszystkie cechy budowy i funkcji, które są typowe dla organizmu wielokomórkowego. Są najstarszymi zwierzętami świata. Pojawiły się w prekambrze (600 mln lat temu). Odgrywają istotną rolę w zasiedlanych biotopach. Jedną z ważnych funkcji w środowisku wodnym jest ich zdolność do oczyszczania wód. W systemie taksonomicznym, dzielącym świat istot żywych na pięć królestw, w wersji proponowanej przez Whittakera, zalicza pierwotniaki do nieformalnej grupy protistów (*Protoctista*) zwierzęcych. W przeprowadzonych badaniach wykazano wpływ cyklozy wodniczek pokarmowych na procesy rozprowadzania pokarmu w komórce w zależności od warunków hipertoniczności środowiska. Zależność ta pozwala ustalić tempo poboru pokarmu przez komórkę pierwotniaka, a w związku z tym może wpływać na czystość wody, czyli środowisko życia tego organizmu. Analizę cyklozy wodniczek prowadzono w trzech zróżnicowanych próbkach. Pierwsza, będąca próbką odniesienia, to hodowla sianowa pierwotniaków w 100 ml wody kranowej. Druga próbka badawcza to hodowla pierwotniaków zadanego 1-procentowym roztworem HCl pierwotniakami pobranymi z próbki kontrolnej. Trzecia próbka – badawcza hodowla zadana 5-procentowym roztworem HCl z pierwotniakami pobranymi z próbki kontrolnej. Próbkę badawczą pozostawiono na 4 godziny w takich samych warunkach termicznych (25°C), a następnie w obrazie mikroskopu, po wcześniejszym zabarwieniu przyżyciowym, obserwowano tempo przemieszczania się wodniczek pokarmowych w obszarze cytoplazmy pierwotniaka. Otrzymane wyniki wykazały najwolniejsze przemieszczanie się wodniczek w 5-procentowym roztworze HCl, wynikające z powolnego ruchu cytoplazmy komórkowej.