

Шаронина Ю.А., Никулина Е.А., Хрущева А.С.,
Коштырева Е.В., Путилова Т.В., Усатова Л.А.,
Шаронин В.О.; г. Москва

Полевая микрофотография и палинологическая биоиндикация
в школьных биоэкологических исследованиях

Сегодня научная фотография представляет собой самостоятельный метод получения, хранения и обработки информации для решения самых разнообразных задач во многих областях знания. Возможности современной цифровой фотографии, в сочетании с доступным компьютерным обеспечением, позволяют регистрировать, документировать, описывать объекты и интерпретировать процессы. Мгновенная фиксация изображения, практически неограниченный объем памяти, простота эксплуатации, возможность последующего количественного и качественного анализа – вот далеко не полный перечень бесспорных достоинств метода.

Комбинированное применение цифровой камеры и оптических приборов позволяет тысячекратно увеличить возможности человека в познании макро- и микромира, безгранично расширить рамки исследования недоступных невооруженному глазу объектов. Микрофотография по праву занимает достойное место в физико-химических, геологических и, даже, историко-археологических исследованиях. Микрофотосъемка успешно применяется в металлургии и текстильной промышленности. Сферами ее использования являются ядерная физика, информационные и военные технологии.

Компьютерная цифровая микроскопия находит все более широкое применение в диагностической практике, например, в цитогенетике, стоматологии, онкологии, гистологии, офтальмологии, криминалистике, при изучении патогенных микроорганизмов и т.д. Особую роль играет фотография и компьютерная микроскопия в биологических и экологических исследованиях.

Однако известные и предлагаемые технологии получения качественных микрофотографий требуют, в большинстве своем, дорогостоящего оборудования, опытных квалифицированных специалистов, значительных

временных затрат. К сожалению, большинство образовательных учреждений в настоящее время не может позволить себе роскошь приобретения соответствующих оптических и электронных систем. При этом почти каждая школа располагает хотя бы одним современным компьютером, световым микроскопом, цифровой камерой и практически неограниченным творческим потенциалом. Этих ресурсов достаточно для проведения актуальных естественнонаучных исследований на самом высоком технологическом уровне.

Мы предлагаем простой, проверенный на практике метод получения снимков живых объектов размером от нескольких микрометров до миллиметра с помощью школьного светового микроскопа и любительской цифровой фотокамеры. Метод заключается в простой фокусировке оптической системы фотоаппарата на объекте, находящемся на предметном столике микроскопа, через систему линз (объектив-окуляр). Резкость настраивается визуально винтами микроскопа: сначала через окуляр, затем на мониторе камеры, или непосредственно на дисплее. Объектив фотоаппарата, при этом, должен вплотную соприкасаться с окуляром микроскопа. Можно применять функцию zoom. Увеличение, яркость освещения, а также режим, экспозиция и дополнительные установки и функции подбираются эмпирически. Вполне удовлетворительные результаты достигаются при следующих основных параметрах:

- Микроскоп: об. 4x, 10x, 20x (при электрической подсветке – 40x, 100x – иммерсия); ок. 7x – 20x
- Фотокамера (минимальные требования): 3,2 мегапикселя, карта памяти 16 Мб, элементы питания, USB-выход. Режим «Авто», вспышка «Откл.»

Для регистрации движения объектов, определения скорости и траектории их перемещения, возможна съемка видеороликов.

Приблизительные относительные размеры исследуемого объекта оцениваются при помощи прозрачной школьной линейки путем предварительной съемки деления в 1 мм при увеличении объектива 4x и последующих элементарных расчетов для 10x, 40x и т.д.

При желании (и возможности) схема дополняется штативом, муфтой-переходником между объективом камеры и тубусом микроскопа, системой дополнительной подсветки и т.п. Для хранения и непосредственной обработки изображений полезен ноутбук. Однако, в полевых условиях усложнение, и, следовательно, утяжеление оснащения представляется нецелесообразным. Как показывает опыт, предельно упрощенный и облегченный вариант является оптимальным для выездных практик и экспедиций.

Указанный способ фотосъемки позволяет любому школьнику, обладающему элементарными навыками обращения с оргтехникой, проводить самостоятельные высокоинформативные биоэкологические исследования и эксперименты по самым разнообразным научным проблемам. Полученные изображения могут с одинаковым успехом лечь в основу (и стать украшением!) тематической работы «Простейшие моего аквариума» или «Мониторинг состояния окружающей среды особо охраняемых территорий нефтедобывающих районов». Фотографирование может производиться независимо от наличия постоянных источников электроэнергии, в отдаленных и труднодоступных экосистемах. Наколенный материал, при необходимости, может быть быстро доставлен на электронных носителях или через Интернет в профильную лабораторию, заинтересованным специалистам в любую точку Земного шара.

Преимуществами описанного метода являются:

- Относительная простота, быстрота и доступность
- Информативность, наглядность, надежность, качество и объективность
- Автономность исследователя (при запасе батареек и вместительной карте памяти)
- Высокая скорость передачи и обработки изображений
- Возможность качественного и количественного анализа

Обработка материала, за исключением высокоточных и узкоспециальных исследований, не требует специализированного программного обеспечения и профессионального владения компьютерной техникой. Для относительно

качественного редактирования изображений в школьных работах вполне достаточно стандартных средств Microsoft Office.

Областями применения метода в школьных экологических и биологических исследованиях могут, например, стать:

Биоиндикация, в т.ч. – палинологическая; палинологическое исследование спор пластинчатых грибов, папоротников, мхов, хвощей и плаунов (в зависимости от места и сезона); описание видового состава фито-, зоопланктона и бентоса постоянных и временных водоемов; сукцессии микроорганизмов; особенности строения ротовых аппаратов двукрылых кровососущих насекомых (на примере комаров, слепней, дождевок, златоглазок); клубеньковые бактерии семейства мотыльковые; многообразие тлей и галловых клещей; сравнительный анализ геоморфологической микроструктуры почвы и т.д.

Объектом палинологических исследований, как известно, является пыльца голо- и покрытосеменных растений, споры мхов, плаунов, хвощей, папоротников, а также грибов и других организмов. Палинологические исследования находят применение в экологии (биоиндикация), медицине (аллергология), археологии (идентификация по пыльцевым отложениям), криминалистике.

С помощью микроскопа и фотоаппарата можно провести, например, сравнительный морфологический анализ пыльцы (спор) растений одного вида, семейства, фитоценоза, создать фототеку-определитель, осуществить экологический мониторинг, исследуя сезонный или территориальный полиморфизм пыльцевых зерен по различным признакам и т.д. Предметом исследования может быть избрана пыльца фоновой флоры (распространенных местных растений) в определенный временной период (фенологическая компонента). В этом случае составляется список эталонных растений, и берутся пробы (образцы). Сбор пыльцы цветущих растений осуществляется путем встряхивания цветка над контейнером, служить которым может пробирка, бумажный или пластиковый пакетик и т.п. (Следует подчеркнуть

нетравматический, совершенно безвредный для объекта характер таких анализов.) Все пробы в обязательном порядке маркируются (вид, дата, место). Для чистоты эксперимента необходимо избегать контаминации (смешения, загрязнения) образцов. Исследования можно проводить и в условиях *in situ*, т.е. – непосредственно на месте. В таком случае, материал собирается, анализируется и частично обрабатывается прямо в поле и/или по ходу движения группы. Пыльца (споры) прямо с растения переносятся в каплю чистой воды на предметном стекле, фотографируются и анализируются микроскопически, согласно цели и задачам. Собранный пыльца одного из распространенных растений, для которого выявлен относительно небольшой разброс значений диаметров пыльцевых зерен, может служить условным метрическим эталоном для определения приблизительных размеров всех микроскопических объектов. После установления среднего диаметра пыльцевого зерна, можно, добавляя немного пыльцы из эталонного образца в каждый временный препарат визуально оценивать масштаб любого объекта в поле зрения микроскопа.

Для экологического мониторинга и биоиндикации имеет значение содержание в растительных клетках углеводов, белков, жиров, нуклеиновых кислот и других биоорганических соединений. Пыльца растений, содержащая спермии (мужские половые клетки) – один из наиболее доступных и информативных объектов для проведения качественных биохимических исследований такого рода. Наличие белка можно обнаружить цветными реакциями. Наиболее универсальной качественной реакцией на белки является биуретовая. На предметное стекло наносится немного раствора щелочи и капля слабого раствора сульфата меди. Затем добавляется проба пыльцы. Белок, содержащийся в пыльцевых зернах, через небольшой промежуток времени окрашивается в красно-фиолетовой цвет (что свидетельствует о наличии пептидных связей). Содержание углеводов (крахмала) выявляется качественной реакцией с йодом. Удобно использовать разбавленный раствор Люголя ($I_2 + KI$ в глицерине). Крахмал пыльцы окрашивается в темно-синий цвет.

Метиленовый синий («синька» или краситель Романовского-Гимзы), соединяясь с нуклеиновыми кислотами хроматина, дает окрашивание широкого спектра: от бледно-розового – до фиолетового, в зависимости от pH среды. Качественная реакция на содержание липидов (масел) проводится с использованием специфического красителя Судана черного. При наличии этих веществ в школьной лаборатории, возможна оценка содержания в пыльцевых зернах всех четырех основных классов органических веществ. Биохимический анализ пыльцы, таким образом, может быть проведен по одному или нескольким параметрам. Интенсивность окрашивания пыльцевых зерен при той или иной качественной реакции может служить как показателем общего экологического благополучия, так и состояния (степени угнетенности) отдельных экземпляров растений. По интенсивности окрашивания пыльцевые зерна могут быть подразделены на несколько условных категорий. Подсчитанный процент пыльцевых зерен, не содержащих тех или иных основных органических соединений, также может являться свидетельством выраженности антропогенной нагрузки. Критерии оценки результатов сравнительного биохимического исследования требуют, безусловно, дальнейшей доработки и статистического анализа.

Наряду с биохимическими экспериментами, не следует оставлять без внимания информативные с экологической точки зрения и простые по исполнению морфологические исследования, выявляющие долю пыльцевых зерен с отклонениями от условной нормы по форме и размерам.

Микрографическая документация результатов палинологических и других биоэкологических исследований служит незаменимым материалом для обработки и дальнейших, возможно более масштабных исследований, а также для создания фототек, школьных атласов-определителей и наглядных пособий. В перспективе широкое распространение описанных методов (в комбинации или обособленно) позволит осуществлять масштабные экологические и биологические комплексные межшкольные проекты, интегральные естественнонаучные программы.