

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
**«БЕЛГОРОДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»**
(Н И У « Б е л Г У »)

ПЕДАГОГИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ

ФАКУЛЬТЕТ МАТЕМАТИКИ И ЕСТЕСТВЕННОНАУЧНОГО
ОБРАЗОВАНИЯ

КАФЕДРА ИНФОРМАТИКИ, ЕСТЕСТВЕННОНАУЧНОГО
ОБРАЗОВАНИЯ И МЕТОДИК ПРЕПОДАВАНИЯ

ОРГАНИЗАЦИЯ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ РАБОТЫ
ШКОЛЬНИКОВ НА ПРИМЕРЕ ТЕМЫ
«МОРФОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ГЕМОЦИТОВ
CYPRINUS CARPIO»

Выпускная квалификационная работа
обучающегося по направлению подготовки 44.03.05 Педагогическое
образование профиль биология и химия
очной формы обучения, группы 02041207
Махновской Алины Михайловны

Научный руководитель
к.б.н., доцент
Чернявских С.Д.

БЕЛГОРОД 2017

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	3
1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	6
1.1 Особенности научно-исследовательской работы школьников.....	6
1.2 Морфофизиологические особенности гемоцитов рыб	13
1.3 Метод атомно-силовой микроскопии	20
2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	22
3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ.....	Ошибка!
Закладка не определена.	
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	Ошибка! Закладка не определена.
ВЫВОДЫ.....	Ошибка! Закладка не определена.
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ.....	27

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследования обусловлена приоритетами современной государственной образовательной политики и неготовностью школы к решению этих проблем инновационными методами. Школа озадачена поиском путей эффективного формирования и развития универсальных учебных действий, в том числе и через организацию исследовательской деятельности учащихся. Потребность в научно-теоретическом обосновании модели организации исследовательской деятельности учащихся в современной школе, выявление педагогических условий ее реализации обусловили актуальность темы исследования.

Социально-экономические изменения, происходящие в обществе, требуют от современных специалистов принятия самостоятельных, быстрых и творческих решений [24]. Постоянный большой приток информации приводит к тому, что учащиеся не сосредотачиваются на усвоении необходимых знаний и с трудом отслеживают научные достижения и не всегда осознают их смысл [29]. Изменения в современной образовательной политике государства, обозначенные в национальной образовательной инициативе «Наша новая школа», Федеральных государственных образовательных стандартах второго поколения кардинально изменили требования и цели образовательной деятельности. Современный выпускник – это развитая, творческая личность, способная видеть проблему, находить адекватные, нестандартные пути ее решения. Достижение этой цели возможно лишь при условии осуществления учащимися исследовательской деятельности [23].

Такие изменения в образовании требуют развития новых образовательных технологий в противовес широко распространенным в современной образовательной системе репродуктивным методам, основанным на простом воспроизведении готовой информации [37]. Новые образовательные программы требуют от педагога нового типа

профессиональное мышление, новые формы преподавания, а также современные методы организации учебной деятельности на разных ступенях обучения [10].

В последнее время появилась необходимость у педагогов все больше внимания уделять исследовательской деятельности учащихся в школе. Учителями создается разнообразная система исследовательской деятельности школьников, которая, в свою очередь, объединяет самые разнообразные формы ее организации от общешкольных конкурсов и олимпиад до конференций и научных обществ [27]. Для развития исследовательской деятельности необходимо создавать специальные условия, которые позволяют максимально учитывать способности и потребности учащихся и содействует формированию их исследовательской культуры, что ведет к повышению качества образования [37].

В современной школе значимость исследовательской деятельности возрастает. Практика проведения учебных исследований со школьниками может рассматриваться как особое направление внеклассной или внешкольной работы, тесно связанное с основным учебным процессом [36]. На сегодняшний день проектная и исследовательская деятельность занимает важное место в учебном процессе, так как способствует формированию свободной личности, способной самостоятельно мыслить, добывать и применять знания, обдумывать и принимать решения, четко планировать действия и многое другое [35]. Педагоги, шагая в ногу с современными реалиями, внедряют в свою практику методы проектов и занимаются исследованиями [44]. На данном этапе состояние образования в России все острее обозначается проблема применения знаний. Учащиеся, заканчивающие школы обладают различными знаниями, при этом не умеют их применять на практике. Отсюда все большее значение приобретает направление, предусматривающее участие школьников в научно-исследовательской и научно-практической деятельности [32]. Именно это направление и формирует у учащихся умение и навыки практического

применения теоретических знаний, что способствует развитию мышления, логики, а также учит ставить цели, задачи и способы их достижения.

Объект исследования – научно-исследовательская работа школьников по биологии.

Предмет исследования – организация научно-исследовательской работы школьников по биологии на примере темы: «Морфофизиологические особенности гемоцитов *Cyprinus carpio*».

Цель работы – изучить особенности организации научно-исследовательской работы школьников по биологии на примере темы: «Морфофизиологические особенности гемоцитов *Cyprinus carpio*».

Задачи исследования:

1. Определить этапы организации научно-исследовательской работы школьников по биологии.
2. Изучить гематологические показатели у рыб.
3. Оценить морфологические особенности клеток крови у представителей надкласса Рыбы.

Основная часть квалификационной работы состоит из трех разделов. В первом разделе рассматриваются теоретические основы научно-исследовательской работы школьников. Во втором разделе описание методов исследования. В третьем разделе обсуждаются результаты, полученные в ходе исследования. В заключении подведены итоги проделанной работы.

1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Особенности научно-исследовательской работы школьников

Сегодня среди ведущих направлений инновационных изменений российского образования находится научно-исследовательская деятельность. Современная система образования нацелена на то, чтобы удовлетворить у учащихся их интеллектуальные потребности, а также помочь детям в формировании научного взгляда на мир [4]. Важную роль в формировании у обучающихся навыков исследовательской деятельности невозможно переоценить. Среди самых важных задач, стоящих сегодня перед школой, необходимо отметить активизацию творческой познавательной деятельности, развитие теоретических и практических умений, овладение школьниками основами естественнонаучного мировоззрения. В фундаментальных исследованиях психологов и методистов показано, что учебно-познавательная деятельность, одной из форм которой являются исследования, играет важную роль в развитии учащегося [34]. Данный вид деятельности позволяет получить широкие знания в определенной области, формирует личность, способную правильно оценивать процесс развития нашего общества, дает возможность получать достоверную информацию и делать самостоятельные выводы. В условиях современных требований, значимым становится не столько приобретение обучающимися готовых знаний, сколько их собственные усилия, инициатива, поисковая деятельность по открытию знания. Научно-исследовательская деятельность дает возможность учащимся стать полноценными активными участниками образовательного процесса, получить новые знания не просто через теоретические источники информации, а также через свой собственный исследовательский опыт. На внеклассных занятиях учащиеся имеют возможность узнать, с помощью каких методов ученые-биологи получают новые научные знания, совершают важные открытия, а специалисты в области прикладных биологических профессий выполняют работу по

селекции, осуществляют различные пробы и анализы, проводят другие манипуляции с биологическим материалом.

На современном этапе развития методики преподавания биологии в школе необходимо, чтобы большинство заданий несли на себе практическую направленность. В настоящий момент следует по максимуму использовать научно-исследовательскую деятельность для выполнения задач обучения биологии школьников [11].

Вопрос о самостоятельной работе школьников исследуется многими отечественными и зарубежными психологами и педагогами, утверждающими, что осознание материала происходит через разные виды самостоятельной деятельности. Ученые-исследователи провели ряд опытов, в результате которых было выявлено, что ученики сохраняют в памяти примерно: 10 % из того, что читали, 20 % из того, что слушали, 30 % из того, что наблюдали, 50 % из того, что видели и слышали, 70 % из того, что высказывали и обсуждали, 90 % из того, что высказывали и практически выполняли [39]. Научно-исследовательская деятельность связана с решением учащимися творческой исследовательской задачи с заранее неизвестным решением и предполагает наличие основных этапов, характерных для исследования в научной сфере [38]. В образовании, цель исследовательской деятельности состоит не в производстве новых знаний, а в приобретении учащимся навыка исследования как универсального способа освоения действительности, развитии способности к исследовательскому типу мышления, активизации личностной позиции учащегося в образовательном процессе на основе приобретения новых знаний [2].

Таким образом, исследование в сфере образования является учебным и его главной целью является развитие личности, максимальное раскрытие творческого потенциала.

Учебное исследование подразумевает такую познавательную деятельность, в которой школьники используют приемы, соответствующие методам изучаемой науки, не ограничиваются усвоением новых знаний, а

вносят в творческий процесс свое оригинальное решение, находят новые вопросы в уже известном, используют широкий круг источников. При таких условиях исследовательская деятельность школьников приближается к научной, при этом сохраняются отличительные черты: тематика определена требованиями школьной программы и предполагает получение достоверного результата, который обладает новизной только для данного исследователя.

Основными направлениями учебно-исследовательской деятельности являются: формирование интереса к творческой, познавательной, экспериментально-исследовательской деятельности; создание необходимых условий для социального и профессионального определения школьников; совершенствование исследовательских навыков учащихся; раскрытие творческих способностей и личностных качеств у школьников; направление на продолжение дальнейшего образования в вузе [33]. Научно-исследовательская деятельность – труд учащихся, раскрывающий самостоятельное творческое исследование темы. Естественно научно - исследовательская работа (НИР) не может носить массовый характер и проводится с наиболее увлеченными, способными и подготовленными ребятами. Научно-исследовательская работа – это комплексная система участия школьников во внеучебных формах научной работы, основанная на принципах самостоятельности, добровольности, заинтересованности, направленная на углубление творческих качеств учащихся. Одной из форм научной работы являются научное общество учащихся (НОУ). Цели и задачи НОУ заключаются в следующем: выявление наиболее одаренных школьников в различных областях науки и развитие их познавательных и творческих способностей; активное привлечение учащихся школы в процесс самообразования и саморазвития; совершенствование умений и навыков самостоятельной работы учащихся, повышение уровня знаний в определенных областях науки; организация научно-исследовательской деятельности учащихся для усовершенствования процесса обучения что,

безусловно, способствует формированию исследовательской компетентности [18].

В ходе выполнения научного исследования отрабатываются навыки самостоятельной работы и самостоятельного обобщения информации научной литературы, изучаются и осваиваются методы научного познания, воспитывается способность на принятие самостоятельных решений при анализе выбранной проблемы, что является очень важным в современной реальности, приобретает навык проведения анализа и оценки полученных результатов, осуществляется выбор более эффективных приемов и методов. Также выполнение научно-исследовательской работы обучает школьников отстаивать и высказывать собственное мнение и грамотно излагать мысли в письменном виде [8].

Между научно-исследовательской деятельностью ученых и учебно-исследовательской деятельностью учащихся существуют общие и отличительные черты.

Научно-исследовательская деятельность определяется предметом и объектом исследования определенной области знаний. Она может осуществляться только высококвалифицированными кадрами, прошедшими длительную специальную подготовку. Для научной деятельности требуется совершенное оборудование, специальная лаборатория. Над многими мировыми проблемами науки трудятся большие коллективы ученых, целые научно-исследовательские институты [30].

Школьники не могут самостоятельно организовать научную деятельность, но они могут приобщиться к миру научного познания через те виды учебной деятельности, которые возможно осуществить в рамках школы и научных учреждений. По мнению В. И. Андреева, специфика учебной исследовательской деятельности, в отличие от деятельности ученого, заключается в том, что ученик чаще всего осуществляет не весь цикл исследования, а выполняет лишь отдельные его элементы [26].

Поэтому правомерно использовать понятие не научно-исследовательская, а учебно-исследовательская деятельность учащихся.

Учебно-исследовательская деятельность – это инструмент развития личности, средство обогащения новыми знаниями, способ формирования мировоззрения через сотрудничество учителя и учащегося [24]. Учебно-исследовательскую деятельность старшеклассников можно разделить на несколько видов. Во-первых, возможности для организации учебно-исследовательской деятельности школьников предоставляет урок. Учитель использует на уроке педагогические технологии, основанные на применении исследовательского метода обучения [41].

Исследовательский метод можно определить как самостоятельное решение учащимися новой для них проблемы с применением таких элементов научного исследования, как наблюдение и самостоятельный анализ фактов, выдвижение гипотезы и её проверка, формулирование выводов, закона или закономерности [19]. Существует множество нетрадиционных уроков, предполагающих выполнение учениками учебного исследования или его элементов: урок-исследование, урок-лаборатория, урок – творческий отчёт, урок «Удивительное рядом», урок «Я – исследователь», урок-защита исследовательских проектов, урок-рассказ об учёных и др. Внеурочная деятельность предполагает более широкие возможности для реализации научно-исследовательской деятельности, так как не ограничена временем [28].

Формы организации исследовательской деятельности: исследовательская практика, защита выпускной экзаменационной работы, образовательные экспедиции (поездки, экскурсии с четко обозначенными образовательными целями), факультативные занятия, ученическое научно-исследовательское общество (УНИО), участие старшеклассников в олимпиадах, конференциях, конкурсах [16].

Таким образом, исследовательская деятельность учащихся, как никакая другая учебная деятельность, поможет учителям сформировать у ученика

качества, необходимые ему для дальнейшей учебы, для профессиональной и социальной адаптации, причем, независимо от выбора будущей профессии [14]. Роль учителя в исследовательской деятельности учащегося – это организатор деятельности, консультант и коллега по решению проблемы, добыванию необходимых знаний и информации из различных источников [17].

Понятие научно-исследовательской работы

Научно-исследовательская работа учащихся, проходящая в рамках школьного образовательного процесса, является особым видом педагогической деятельности, имеющим ряд существенных отличий от основных традиционных методов преподавания школьных дисциплин.

Научно-исследовательская деятельность – это вид деятельности, направленный на получение новых объективных научных знаний. Учебно-исследовательская деятельность – это деятельность, главной целью которой является образовательный результат, она направлена на обучение учащихся, развитие у них исследовательского типа мышления. Главное здесь не овладение новыми фактами, а обучение алгоритму ведения исследования, навыкам, которые могут быть затем использованы в исследовании любой сложности и тематики.

А.В. Леонтович указывал на то, что в этимологии слова «исследование» заключено указание на то, чтобы извлечь нечто «из следа», т.е. восстановить некоторый порядок вещей по косвенным признакам, случайным предметам. «...Исследование, отличие от проектирования, конструирования и организации, есть самый «деликатный» по отношению к объекту вид деятельности, его главная цель – установление истины. ...развитие способности занимать исследовательскую позицию является важнейшей задачей образования и воспитания как средства оценки своей деятельности, ее возможных последствий. Источник исследования как вида

деятельности – в свойственном человеческой природе стремлении к познанию» [24].

А.С. Обухов считает, что «именно педагогом задаются формы и условия исследовательской деятельности, благодаря которым у ученика формируется внутренняя мотивация подходить к любой возникающей перед ним проблеме с исследовательской, творческой позиции» [29].

Коленченко Е.М., считает что «исследовательская деятельность – это деятельность, связанная с решением учащимися творческой, исследовательской задач с заранее неизвестным решением и предполагающая наличие основных этапов, характерных для исследования в научной сфере» [23].

В начале привлечения ученика к научной работе очень важно чётко определить:

- что исследование или рассматриваемый вопрос должны либо затрагивать, либо жёстко привязаны к региону или району (это важно для краеведения) проживания как преподавателя, так и ученика;
- границы своих возможностей в раскрытии темы;
- наличие нужных для исследований источников и архивных данных;
- диапазон поисков.

В данном случае ученик и сам без руководителя имеет навыки поиска (работа в библиотеке ему уже знакома). Руководитель здесь должен правильно определить и сам предварительно изучить вопрос возможности найти литературу по данному исследованию.

Занимаясь исследовательской деятельностью с учащимися, учитель ставит следующие задачи

- 1) расширить и углубить знания учащихся по истории;
- 2) дать школьникам навыки научно-исследовательской деятельности;
- 3) формировать умения публичного выступления, иметь и отстаивать свою гражданскую позицию;
- 4) развивать коммуникативные качества личности школьников;

- 5) находить и анализировать информацию из различных источников;
- 6) научить школьников составлять электронные презентации исследований и выступлений для последующей защиты;
- 7) помочь учащимся определиться с выбором профессии

Этапы работы над исследованием:

1. Знакомство с особенностями исследовательской деятельности.

Выбор темы

2. Понятие актуальности исследования. Обоснование актуальности.

Примеры формулировок актуальности исследования.

3. Гипотеза и проблема исследования. Что такое «проблема». Поиск проблем в выбранных тематиках исследования.

4. Цели и задачи исследования. Понятия «цель работы», «задачи работы». Примеры формулировок целей и задач исследования.

5. Планирование исследовательской работы. Значение планирования и требования к плану. Общие требования к оформлению текстов (рефератов) исследования.

6. Поиск источников по выбранной теме. Отбор фактического материала. Достоверность информации. Правила пользования Интернет-ресурсами. Сбор информации, и ее систематизация.

7. Работа над основной частью исследования.

8. Результаты исследования. Обоснование полученных результатов. Заключение. Общие требования к данному разделу.

9. Как оформить презентацию исследования. Рекомендации по составлению тезисов, конспектов, докладов. Подготовка публичного выступления.

1.2 Морфофизиологические особенности гемоцитов рыб

В настоящее время накоплено большое количество данных о кроветворных органах и образовании клеток крови у рыб [5], но все эти

сведения достаточно противоречивы. Главной особенностью дефинитивного гемопоэза у рыб, как и у других низших позвоночных, является территориальное разделение эритро- и лейкопоэза [7].

Клетки крови у представителей надкласса рыб имеют морфологическое сходство с клетками крови других позвоночных животных [42]. В состав гемоцитов рыб входит плазмалемма, которая поддерживает постоянство внутри клетки, это постоянство необходимо для нормальной её жизнедеятельности [43]. В составе клеток крови рыб содержатся митохондрии, клеточный центр, аппарат Гольджи, а также другие органеллы, которые входят в состав клеток крови высших позвоночных животных. Кроме органелл в составе клеток крови рыб содержатся и другие клеточные элементы, которые меняются по мере созревания клетки и ее роста. Ядро гемоцитов рыб имеет различное строение. При этом форма и размеры ядра клетки крови рыб зависят от возраста, размера, функционального состояния и других особенностей клетки в целом. При повышении возраста клетки происходит уплотнение ядра, а также уменьшение его размера. Большую часть клетки занимает базофильная цитоплазма. В крови рыб содержатся эритроциты, лейкоциты и тромбоциты [22]. Соотношение эритроцитов и лейкоцитов в крови у рыб различно. У колюшки, например, лейкоцитов примерно в 100 раз меньше, чем эритроцитов, а у ерша – только в 12 раз. У карпов это соотношение сильно меняется с возрастом.

Понятие системы крови

Понятие системы крови было введено в 1830-х гг. Х. Лангом. Кровь – это физиологическая система, которая включает в себя периферическую (циркулирующую и депонированную) кровь, органы кроветворения, органы кроверазрушения; механизмы регуляции.

Система крови обладает рядом особенностей: динамичностью, т. е. состав периферического компонента может постоянно изменяться; отсутствием самостоятельного значения, так как все свои функции

выполняет в постоянном движении, т. е. функционирует вместе с системой кровообращения.

Ее компоненты образуются в различных органах. В организме кровь выполняет множество функций: транспортную, дыхательную, питательную, экскреторную, терморегулирующую, защитную. Кровь также регулирует поступление к тканям и органам питательных веществ и поддерживает гомеостаз. Транспортная функция заключается в переносе большинства биологически активных веществ с помощью белков плазм (альбуминов и глобулинов). Дыхательная функция осуществляется в виде транспорта кислорода и углекислого газа. Питательная функция заключается в том, что кровь доставляет ко всем органам и тканям питательные вещества – белки, углеводы, липиды. За счет наличия высокой теплопроводности, высокой теплоотдачи и способности легко и быстро перемещаться из глубоких органов к поверхностным тканям кровь регулирует уровень теплообмена организма с окружающей средой. Через кровь доставляются к местам выделения продукты метаболизма. Органы кроветворения и кроверазрушения поддерживают на постоянном уровне различные показатели, т. е. обеспечивают гомеостаз. Защитная функция заключается в участии в реакциях неспецифической резистентности организма (врожденный иммунитет) и в приобретенном иммунитете, системе фибринолиза за счет наличия в составе лейкоцитов, тромбоцитов и эритроцитов.

Кровь заключена в систему замкнутых трубок - кровеносных сосудов. Она состоит из жидкой части - плазмы и форменных элементов - эритроцитов, лейкоцитов и тромбоцитов [12]. Соотношение плазмы и форменных элементов зависит от того, где находится кровь. В циркулирующей крови преобладает плазма – 50–60 %, содержание форменных элементов – 40–45 %. В депонированной крови, наоборот, плазмы – 40–45 %, а форменных элементов – 50–60 %. Для определения процентного соотношения плазмы и форменных элементов вычисляют

гематокритный показатель или гематокринное число. Часто под гематокритным числом понимают только объем крови, приходящийся на долю форменных элементов [20]. Физико-химические свойства крови обусловлены ее составом: суспензионное, коллоидное, реологическое, электролитное. Суспензионное свойство связано со способностью форменных элементов находиться во взвешенном состоянии. Коллоидное свойство обеспечивается в основном белками, которые могут удерживать воду (лиофильные белки). Электролитное свойство связано с наличием неорганических веществ. Его показателем является величина осмотического давления. Реологическая способность обеспечивает текучесть и влияет на периферическое сопротивление.

Морфофизиологические особенности эритроцитов рыб

Эритроциты представителей рыб, по сравнению с человеком и млекопитающими животными, имеют заметно больший размер, но количественно их меньше, что касается лейкоцитов, то их в разы больше. Данное явление объясняется тем, что у рыб пониженный обмен веществ, а также тем, что у животных данного вида постоянная потребность в усиленной защитной функции крови, так как окружающая среда изобилует болезнетворными организмами [21]. Красные клетки крови у представителей рыб представляют собой эллипсоидную клетку с вытянутым по длине красно-фиолетовым ядром плотной структуры. Широкий слой цитоплазмы иногда резко оксифилен. У представителей надкласса рыб количество содержащихся эритроцитов изменяется в широких пределах и зависит от подвижности животных: у карпа – 0,84-1,89 млн/мм³ крови, у щуки – 2,08 млн/мм³, у пелагиды – 4,12 млн/мм³ [13]. Поперечный диаметр эритроцита, например, у осетровых колеблется от 9,84 мкм до 14,0 мкм, продольный – от 10,16 до 16,75 мкм. У костистых рыб продольный диаметр эритроцита равен 9,90-18,3 мкм, поперечный 5,28-11,05 мкм. Клетки эритроидного ряда в процессе своего развития претерпевают структурные и метаболические

изменения [3]. Высокодифференцированные ядросодержащие эритроциты крови рыб являются носителями дыхательного пигмента – гемоглобина [6]. Они выполняют не только дыхательную, но и многие другие сложные функции, в том числе ферментативного и защитного характера [1]. Клетки крови красного ряда по мере созревания претерпевают изменения. На ранних этапах своего развития у рыб имеется эритробласт. Далее следуют пронормобласты и нормобласты – базофильный, полихроматофильный, оксифильный. Заканчивается развитие клеток эритрона формированием эритроцита [15]. Цвет крови у рыб определяется содержанием пигмента гемоглобина: наличие этого пигмента – цвет крови имеет красную окраску, отсутствие – бесцветную. Содержание пигмента гемоглобина в крови у рыб варьирует от 0,5 до 4 г на 1 кг массы тела и зависит от подвижности рыб. Например, у проходного осетра уровень гемоглобина равен 4 г на кг массы тела, у налима – 0,5 г на кг массы тела. Не маловажным фактором при определении уровня гемоглобина является время года. У сазана этот показатель увеличивается в зимний период и уменьшается в летний сезон. Уровень гемоглобина зависит также от кислотности среды водоема. В воде с кислой реакцией, равной 5,2, количество гемоглобина в крови рыб увеличивается, в щелочной среде – снижается. Помимо выше сказанного, количество гемоглобина в крови рыб зависит от характера питания [25]. Изучение гемоцитарного профиля у представителей костистых рыб является важным критерием оценки состояния их организма в целом. Известно, что при нормальном состоянии организма количественное содержание входящих в состав крови компонентов строго регулируется и поддерживается в состоянии равновесия. При патологических нарушениях функций каких-либо органов и тканей, отравлениях, инфекционных заболеваниях, развитии местных или общих критических состояний наблюдаются довольно резкие сдвиги в морфологическом, физико-химическом и биохимическом составе крови.

Морфофизиологические особенности лейкоцитов рыб

Лейкоциты крови рыб разделяются на клетки, содержащие специфическую зернистость – гранулоциты и незернистые – лейкоциты-агранулоциты. В некоторых источниках литературы есть суждения и о том, что у некоторых видов рыб гранулоциты отсутствуют. Костистые рыбы (Teleostei) представляют собой самостоятельную ветвь по гематологическим показателям, в связи с тем, что у них имеются значительные видовые отличия типов лейкоцитов, которые к тому же нельзя отождествлять с лейкоцитами других позвоночных. В виду этого значительная разница в свойствах крови у некоторых групп костистых рыб обусловлена не только филогенетическими, но и экологическими особенностями [31]

классифицировали белые периферические клетки крови *Surginus carpio* на лимфоциты, гранулоциты и моноциты. В зависимости от размера клеток авторы подразделяют лимфоциты на малые (с диаметром ниже 8 мкм), средние (8-10 мкм) и большие (диаметр выше 10 мкм). По морфологии ядер и гранул, гранулоциты делят на три типа: I, II и III. Гранулоциты I-типа имеют дольчатое ядро и большое число цитоплазматических гранул овальной формы, электронно-плотные включения и один кристаллоид. Гранулоциты II-типа имеют небольшое эксцентричное ядро. Клетки этого типа на основе электронно-микроскопического анализа 12 подразделяют на подтипы IIa и IIb. Гранулы гранулоцитов IIb-типа больше по размеру, чем у IIa-типа и содержат случайным образом распределенные электронно-плотные и электронно-светящиеся включения. Гранулоциты III-типа обладают круглым ядром и крупными гранулами, заполненными нитевидными и игольчатыми структурами. В исследованиях Ивановой Н.Т. (1983) показано, что в крови различных эколого-биологических и систематических групп рыб, за некоторым исключением, присутствуют как зернистые, так и незернистые лейкоциты на всех известных современной гематологии этапах развития. В состав зернистых лейкоцитов крови рыб входят нейтрофилы, эозинофилы, базофилы и нетипичные формы, отнесенные к псевдобазофилам.

Гранулоцитарный состав у костистых рыб не постоянный, некоторые представители лишены нейтрофилов или эозинофилов, базофилы встречаются редко [9]. У некоторых видов рыб гранулоциты легко распознать с помощью электронной микроскопии. У камбалы, форели, карповых, сома, белокровки, полосатого окуня, тилапии, морского окуня), щуки и африканского леща нейтрофилы содержат гранулы с волокнистым осевым основанием, при этом данный вид клеток очень похож на «ядросодержащие» гранулы нейтрофилов млекопитающих. Гранулоциты Sparidae одни авторы называют гетерофилами, так как у них имеются вытянутые гранулы подобные гетерофилам 13 двоякодышащей рыбы, рептилий и птиц, другие авторы считают, что это нейтрофилы, третьи – эозинофилы. Некоторые гранулоциты имеют сходство с киллер-клетками млекопитающих. Все эозинофилы костистых рыб содержат гомогенные эозинофильные гранулы. Гранулоциты крови рыб сходны не только по своей морфологии, но и по своему развитию. Выделяют различные стадии развития зернистых лейкоцитов. В целом, в процессе физиологической регенерации они проходят те же этапы цитогенеза, что и лейкоциты теплокровных. Так, согласно Н.Т. Ивановой (1983), стволовые полипотентные клетки, к которым относятся гемогистобласты и гемоцитобласты, являются предшественниками миелобласта, который далее проходит следующие этапы развития: промиелоциты, миелоциты, матамиелоциты, палочкоядерные и сегментоядерные нейтрофилы, псевдоэозинофилы и псевдобазофилы. При этом автор предполагает, что возможно, базофилы и эозинофилы, минуя ряд стадий развития, образуются из миелобластов. Согласно Иванову А.А. (2003), нейтрофилы и эозинофилы образуются из миелобластов проходя через те же стадии, которые выделяет Иванова Н.Т. (1983) для нейтрофилов, псевдоэозинофилов и псевдобазофилов, при этом автор предполагает, что базофилы образуются непосредственно из миелобласта. Незернистые лейкоциты у рыб представлены лимфоцитами, плазмоцитами (плазматическими клетками), моноцитами и макрофагами [3]. Количество

лейкоцитов в крови рыбы очень изменчиво. На него влияют возрастные изменения, пол, упитанность, сезонность, изменения температуры, инфекционные и паразитарные заболевания, а также многие другие факторы [43]. 14 Лейкоцитарный состав крови рыб меняется в нерестовый период. Так, у куринолососа во время икрометания наблюдается увеличение моноцитов до 58% у самок и до 38% у самцов.

1.3 Метод атомно-силовой микроскопии

Атомно-силовая микроскопия (АСМ) – основной метод исследования морфологии и локальных механических, электрических, магнитных и других свойств поверхности твердого тела с субнанометровым пространственным разрешением. АСМ является одной из разновидностью сканирующих зондовых микроскопов.

Атомно-силовой микроскоп был создан Гердом Биннигом, Кэлвином Куэйтом и Кристофером Гербертом в 1986 году. Это изобретение позволило добиться атомарного разрешения на проводящих, и на не проводящих образцах различной природы. В биологических исследованиях очень широко применяется метод АСМ, так как с помощью этого метода можно провести измерения в жидких средах с молекулярным разрешением. Метод АСМ дает возможность исследовать биополимеры, макромолекулы, белки, ДНК, вирусы, бактерии, клетки крови, ткани и т.д.

Атомно-силовая микроскопия – является современным инструментом для проведения исследований. При введении метода АСМ в биологическую науку стало возможным измерить профиль поверхности, локальные силы трения, величину адгезии, упругие и вязкие свойства поверхности с субнанометровым пространственным разрешением. Приготовление препаратов для исследований с помощью атомно-силовой микроскопии позволяет избежать жесткой фиксации образцов и методов обработки солями тяжелых металлов, которые традиционно применяются в световой

и электронной микроскопии. Подобные процедуры зачастую не соответствуют природным условиям, в которых макромолекулы проявляют свою биологическую активность. Высокое разрешение порядка нескольких нанометров, относительно небольшое время – минуты, которое требуется для сканирования. АСМ является одним из самых удобных инструментов исследования в биологии за счет отсутствия необходимости вводить метки и фиксировать образец.

2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Предметом нашего исследования была научно-исследовательская работа школьников по биологии. В работе участвовали обучающиеся 7 классов, которые занимались по дополнительной образовательной программе «Регуляторные системы живых организмов» в рамках проекта «Создание школы НИУ «БелГУ». В работе были использованы данные, полученные на кафедре биологии Белгородского государственного национального исследовательского университета.

В работе было выполнено исследование крови сазана *Cyprinus carpio*.

Было проведено две серии опытов в условиях *in vitro*.

В первой серии был описан гематологический профиль ядерных эритроцитов и лейкоцитов *Cyprinus carpio*.

Во второй серии были описаны результаты опытов, выполненных методом атомно-силовой микроскопии (АСМ).

Объектами исследования служили ядерные эритроциты и полиморфноядерные лейкоциты (ПМЯЛ).

В ходе опыта для разбавления крови использовали изотонический раствор с концентрацией NaCl 0,75%. В качестве антикоагулянта использовали гепарин (15 ед./мл).

Подсчет клеток крови проводился в камере Горяева.

Методика подсчета эритроцитов крови в счетной камере Горяева

Счетную камеру помещали под микроскопом и рассматривали сетку Горяева вначале при малом, а затем при большом увеличении. Покровным стеклом накрывали камеру, стекло притирается к стеклу камеры до тех пор, пока не появляются радужные кольца Ньютона. Наносили каплю крови. Обтирали конец капилляра фильтровальной бумагой и быстро, пока кровь не свернулась, переносили его в чашку с 3% раствором хлорида натрия, при этом держали смеситель вертикально. Набирали раствор до метки 101 (т.е. разводили кровь в 200 раз), после чего смеситель переводили в

горизонтальное положение и клали на стол. На рисунке 2.1. представлена счетная камера Горяева.



Рисунок 2.1 – Счетная камера Горяева

Для подсчета эритроцитов брали заполненный меланжер, зажимали нижний конец пальцем, снимали резиновую грушу и, зажав оба конца смесителя третьим и первым пальцами, в течение 1 мин перемешивали кровь. При этом эритроциты сжимались и становились заметнее. Выпускали из смесителя на вату три капли, а четвертую наносили на среднюю площадку камеры у края покровного стекла. Капиллярными силами капля сама стягивалась в покровное стекло и заполняла камеру. Излишек раствора крови стекал в желобок. Если на сетку попадал воздух или на боковых площадках оказывался излишек раствора, камеру промывали дистиллированной водой, высушивали и заполняли снова. Заполненную камеру ставили под микроскоп

и, если форменные элементы были расположены равномерно (что является показателем хорошего перемешивания крови), приступали к подсчету. Считали эритроциты при малом объективе (x8), используя при этом окуляр x15. Подсчитывали число эритроцитов в пяти больших квадратах (разделенных на 16 маленьких), расположенных по диагонали от верхнего левого квадрата вниз направо. Подсчет вели в пределах маленького квадрата по рядам (от верхнего до нижнего). Во избежание двукратного подсчета клеток, лежащих на границе между малыми квадратами, применяли правило Егорова: «к данному квадрату относятся эритроциты, лежащие как внутри квадрата, так и на его левой и верхней границах; эритроциты, лежащие на правой и нижней границах, к данному квадрату не относятся». Подсчитав сумму эритроцитов в пяти больших квадратах (что составляет 80 маленьких), находили среднее арифметическое число эритроцитов в одном маленьком квадрате. Зная, что объем пространства камеры над одним маленьким квадратом равен $1/4000 \text{ мм}^3$, умножали найденное число на 4000, получая число эритроцитов в 1 мм^3 разведенной крови. Далее умножали на величину разведения (200), получая количество эритроцитов в 1 мм^3 цельной крови. Формула для вычисления количества эритроцитов была следующая: $X = (\Sigma \times 4000 \times 200) / 80$, где x – искомое число эритроцитов в 1 мм^3 цельной крови, Σ – сумма эритроцитов в 80 маленьких квадратах, 80 – число маленьких квадратов, в которых произведен подсчет, 200 – разбавление крови. Затем полученное число эритроцитов записывали в пересчете на 1 л крови, т.е. число миллионов эритроцитов, найденных в 1 мм^3 , умножали на 10^{12} .

Записывали, сколько эритроцитов содержится в 1 л исследуемой крови. Сравнивали полученные результаты с нормой.

Концентрацию гемоглобина измеряли общепринятым методом.

Методика определения количества гемоглобина по методу Сали

На рисунке 2.2. представлен гемометр Сали.

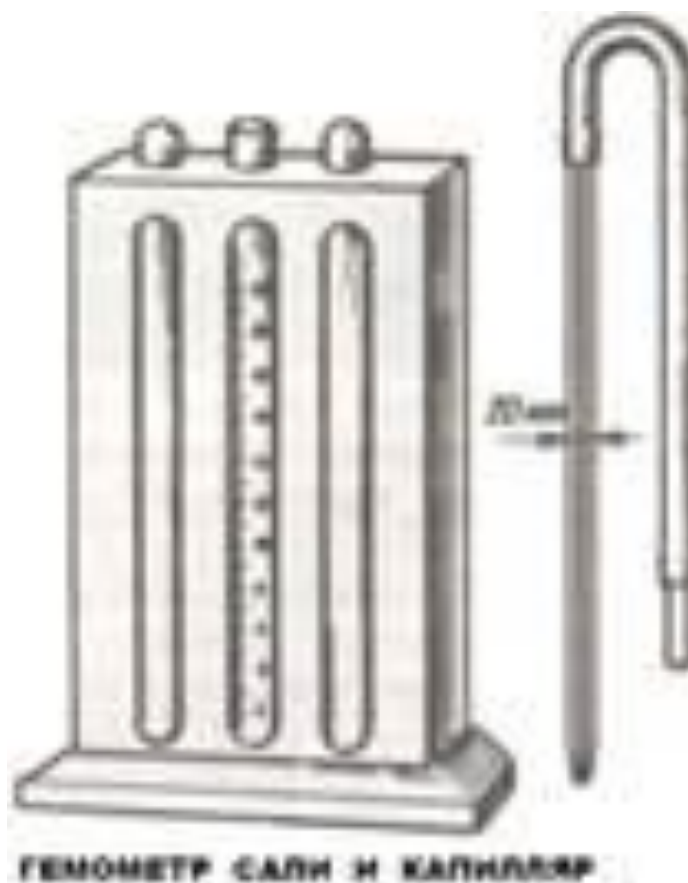


Рисунок 2.2 - Гемометр Сали и капилляр

Определение количества гемоглобина по Сали производили колориметрическим способом, основанном на следующем принципе: если исследуемый раствор путём разбавления довести до окраски, одинаковой со стандартным раствором, то концентрация растворённых веществ в обоих растворах будет одинакова, а количества веществ будут соотноситься как их объёмы. Зная количества веществ в стандартном растворе (16,7%, что принято за 100% гемоглобина), легко вычислить его содержание в исследуемом растворе в относительных процентах. Гемометр Сали представляет собой штатив, задняя стенка которого сделана из матового стекла. В штатив вставлены три пробирки одинакового диаметра. Две крайние сверху запаяны и содержат раствор солянокислого гематина, средняя – градуирована и открыта. Она предназначена для исследуемой крови. В среднюю пробирку гемометра наливали 0,1 N раствор HCl до нижней кольцевой метки. Затем капали кровь на дно средней пробирки так,

чтобы верхний слой соляной кислоты оставался неокрашенным. Не вынимая пипетки, ополаскивали её соляной кислотой из верхнего слоя. После этого содержимое пробирки перемешивали, ударяя пальцем по её дну, и оставляли стоять 5–10 мин. Это время было необходимо для полного превращения гемоглобина в солянокислый гематин. Затем к раствору прибавляли по каплям дистиллированную воду до тех пор, пока цвет полученного раствора не будет одинаков с цветом стандартного (добавляя воду, раствор перемешивают стеклянной палочкой). Цифра, стоящая на уровне нижнего мениска полученного раствора, показывает содержание гемоглобина в исследуемой крови в грамм–процентах.

Методом атомно-силовой микроскопии были изучены морфометрические показатели клеток крови *Suiprinus carpio*.

Полученную кровь центрифугировали 10 мин при относительной силе центрифугирования равной 400g. Суспензии эритроцитов и лейкоцитов разбавляли изотоническими растворами. Далее клетки крови инкубировали при комнатной (20°C), пониженной (5°C) и повышенной (40°C) температурах (Т °С) в течение 2 ч. После инкубации гемоцитов делали мазки крови. Методом атомно-силовой микроскопии исследовали по 20-25 клеток в каждой из серий пробоподготовки. Сканирование клеток крови проводили на атомно-силовом микроскопе ИНТЕГРА Вита (конфигурация на базе инвертированного оптического микроскопа Olympus IX-71).

Полученные данные представлены значениями средней арифметической выборочной совокупности (M), стандартным отклонением (среднее квадратическое отклонение, SD). Для оценки различий непараметрических выборок использовали U-критерий Уилкоксона-Манна-Уитни (*, $p < 0,05$). Для оценки различий параметрических выборок использовали t-критерий Стьюдента (*, $p < 0,05$). Все статистические обработки были проведены с помощью программы IBM SPSS Statistics 20.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Абдурахманов, Г.М. Основы зоологии и зоогеографии / Д.А. Криволуцкий, Е. Г. Мяло, Г. Н. Огуреева. – М.: Академия, 2003. – 480 с.
2. Агаджанян, Н.А. Основы физиологии человека: 2-е издание, исправленное / Н.А. Агаджанян. – М.: РУДН, 2001. – 408 с.
3. Аминова, В.А. Физиология рыб / В.А. Аминова, А.А. Яржомбек. – М.: Академия, 1984. – 256 с.
4. Андреев, В.И. Диалектика воспитания и самовоспитания творческой личности / В.И. Андреев. – Казань: изд-во КГУ, 1988. – 238 с.
5. Анисимова, И.М. Ихтиология / И.М. Анисимова, В.В. Лавровский. – М.: Высшая школа, 1983. – 255с.
6. Вейсблут, М. Физика гемоглобина. Структура и связь / М. Вейсблут. – Москва: Моск. Кн. Изд-во, 1969. – 76 с.
7. Верголяс, М.Р. Использование формулы крови рыб в биотестировании / М.Р. Верголяс. – М., 2008. – Часть 2. – 363с.
8. Верзилин, Н.М. Общая методика преподавания биологии / Н.М. Верзилин. – М.: Просвещение, 1983. – 384с.
9. Веснина, Н.В. Физико-химические особенности мембран эритроцитов у жителей Среднего Приобья / Н.В. Веснина, Л.М. Леонова, Э.А. Кашуба, Л.Ф. Чернецова. – Урал, 2008. – №1. – 74 с.
10. Выготский, Л.С. Педагогическая психология / Л.С. Выгодский. – М.: Педагогика – Пресс, 2003. – 536 с.
11. Гафитулин, М.С. Проект "Исследователь". Методика организации исследовательской деятельности учащихся / М.С. Гафитулин. – М.: Педагогическая техника, 2005. – 26 с.
12. Головина, Н.А. Методы гематологических исследований в ихтиопатологической практике / Н.А. Головина // Рыбохозяйственное использование внутренних водоемов. – 1979. – № 4. – 8-18 с.

13. Головина, Н.А. Морфофункциональная характеристика крови рыб – объектов аквакультуры: автореферат диссертации на соискание ученой 100 степени доктора биологических наук. 03.00.01 / Н.А. Головина. – М., 1996. – 53 с.
14. Грабовская, Е.Ю. Хрестоматия (часть 2): методические рекомендации, предназначенные для студентов по специальности «физическая реабилитация» / Е.Ю. Грабовская. – Симферополь, 2008. – 242 с.
15. Житенева, Л.Д. Основы ихтиогематологии (в сравнительном аспекте) / Л.Д. Житенева, Э.В. Макаров, О.А. Рудницкая. – Ростов н/Д.: Эверест, 2004. – 312 с.
16. Загвязинский, В.И. Теория обучения современная интерпретация / В.И. Загвязинский. – М., 2011. – 186 с.
17. Зарубин, В.Г. Современная школа / В.Г. Зарубин, Ю.В. Новиков. – М.: Астрель, 2015. – 262 с.
18. Зверев, И.Д. Общая методика преподавания биологии в школе / И.Д. Зверев. – М.: Просвещение, 1985. – 191 с.
19. Зимняя, И.А. Ключевые компетентности как результативно – целевая основа компетентностного подхода в образовании / И.А. Зимняя. – М.: Исследовательский центр проблем качества подготовки специалистов, 2004. – 42 с.
20. Иванов, А.А. Физиология рыб / А.А. Иванов. – М.: Мир, 2003. – 284 с.
21. Ильмаст, Н.В. Введение в ихтиологию. Учебное пособие / Н.В. Ильмаст. – Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2005. – 148 с.
22. Карташев, Н.Н. Практикум по зоологии позвоночных / Н.Н. Карташев, В.Е. Соколов, И.А. Шилов. – М., 2004. – 284 с.
23. Коленченко, Е.М. Организация учебно-исследовательской деятельности школьников // <http://festival.1september.ru/articles/569355/>

24. Леонтович, А.В. Развитие исследовательской деятельности учащихся: Методический сборник / А.В. Леонтович. – М.: Народное образование, 2001. – 34 с.
25. Липунова, Е.А.. Физиология крови: моногр. исслед. / Е.А. Липунова, М.Ю. Скоркина. – Белгород: Изд-во БелГУ, 2007. – 324 с.
26. Мазяркина, Т.В Исследовательская деятельность школьников / Т.В. Мазяркина. – М.: Современные наукоемкие технологии, 2011. – 122 с.
27. Манаков, Н.А. Ваша первая научная работа / Н.А. Манаков. – Оренбург: ОЦДНТТ, 2006. – 33 с.
28. Менчинская, Н.А. Психологические вопросы развивающего обучения и новые программы / Н.А. Менчинская. – М.: Педагогика, 1968. – 114с.
29. Обухов, А.С. Исследовательская деятельность как возможный путь вхождения подростка в пространство культуры / А.С. Обухов. – М.: Народное образование, 2001. – 61 с.
30. Обухов, А.С. Развитие исследовательской деятельности учащихся: Методический сборник / А.С. Обухов. – М., 2001. – 65 с.
31. Остроумова, И.Н. Особенности биохимического состава и размеров науплиусов артемии как стартового корма для личинок рыб / И.Н. Остроумова. – М.: Рыбоводство и рыб. хоз-во, 2014. – № 6. – 55-61 с.
32. Разагатова, Н.А. Вовлечение младших школьников в учебно-исследовательскую деятельность / Н.А. Разагатова, С.Е. Джаджа. – Самара: Научный центр РАН, 2006. – № 3. – 223-230 с.
33. Роджерс, К. Свобода учиться / К. Роджерс, Дж. Фрейберг. – М., 2002. – 124 с.
34. Румянцева, Н.Ю. Организация учебно-исследовательской деятельности младших школьников / Н.Ю.Румянцева. – М.: Просвещение, 2001. – 34 с.

35. Румянцева, Н.Ю. Потенциальная готовность учителя к организации учебно-исследовательской деятельности младших школьников / Н.Ю. Румянцева. – М.: Просвещение, 2000. – 234 с.
36. Русских, Г.А. Развитие учебно-исследовательской деятельности учащихся / Г.А. Русских. – М.: Дополнительное образование, 2001. – № 7-8. – 54 с.
37. Рябочкина, П.А. Особенности организации проектной деятельности школьников / П.А. Рябочкина. – М., 2002 – 38 с.
38. Савенков, А.И. Психологические основы исследовательского подхода к обучению / А.И. Савенков. – М.: Просвещение. – 2006. – 434 с.
39. Семенова, Н.А. Исследовательская деятельность учащихся / Н.А. Семенова. – М.: Начальная школа, 2006. – №2. – 45-49 с.
40. Семенова, Н.А. Организация исследовательской деятельности в начальной школе / Н.А.Семенова. – Томск: Издательство ТГПУ, 2002. – 40 с.
41. Степанова, М.В. Учебно – исследовательская деятельность школьников в профильном обучении / М.В. Степанова. – Санкт-Петербург: изд. «Каро», 2005. – 27 с.
42. Терентьева, Э.И. Атлас ультраструктуры клеток кроветворной ткани/ Э.И. Терентьева, З.Г. Шимканова. – М.: Медицина, 1972. –134 с.
43. Хвостова, С. М. Кроветворение в мезонефросе у хрящевых рыб: научное издание / С. М. Хвостова, М. П. Грушко. – М.: Морфология, 2012. – 165 с.
44. Якимов, Н.А. Проектно-исследовательская деятельность младших школьников / Н.А.Якимов// Исследовательская работа школьников. – 2003. – №1. – 48-51с.