

Vybrané metody studia hmyzích fosilií v jantaru

Jantar je fosilizovaná pryskyřice některých druhů pravěkých stromů, stará obvykle 25–40 milionů let (nejstarší nálezy vysoce přesahují 100 milionů let a nejmladší forma – kopál – vznikala jen před několika desítkami až stovkami tisíc let). Jantar existuje v několika formách podle místa původu a barvy. Stejně jako často vidíme hmyz „utopený“ ve viskózní pryskyřici současných stromů nebo čerstvých pařezů, kam spadl či byl touto vysoce adhezivní hmotou přilepen a posléze pohlcen, tak se dělo v minulosti i s hmyzem, který „navěky“ spočívá uzavřen v pryskyřici, jež se postupně stala jantarem. V jantaru ale najdeme kromě hmyzu a jiných organismů i vzduchové bubliny, prachové částice, kapky vody, rostlinný detrit a další inkluze. Organismy jsou v jantaru díky fosilizaci většinou hůře, vzácněji lépe zachované. Výjimečně se zachovala i buněčná struktura, a tak lze někdy rozlišit různé komponenty jako třeba buněčnou stěnu, jádro, chloroplasty nebo vakuoly.

Problematika jantaru i hmyzích fosilií uzavřených v něm je velmi zajímavá z více důvodů. Zejména pro nás představuje dotek historického vývoje přírody, kde stále zbývá hodně neznámého. Jantar se stal předmětem, který hlavně jako šperk doprovází člověka odnepaměti – historické nálezy se vztahují k úsvitu dějin lidstva. Před začátkem našeho letopočtu existovaly jantarové stezky a jantarem se v antice zabýval např. Plinius starší (ten si povšiml i inkluzí – objektů, které se např. vnořily do nějakého média, v našem případě jantaru, a zůstaly zde natrvalo). Nelze na tomto místě nezpomenout film Jurský park, kde jsou určité návaznosti vedoucí až k představám o možnosti klonování pravěkých živočichů z DNA uchované v jantaru. Otázka, zda dodnes zůstává v jantarových fosiliích zachována DNA, zaměstnává řadu vědců. V současnosti převažuje názor, že DNA pravděpodobně zachována není, a to ani u kopálu. Klonování dinosaurů se asi konat nebude. Ovšem představa, že některý hmyz navěky dlící uvnitř starších jantarů zřejmě lezl i po tehdy žijících dinosaurech, je skutečně fascinující.

Jantar s jeho hmyzími fosiliemi nám však hlavně umožňuje dovědět se něco o vývoji vyhynulých druhů hmyzu příbuzných druhům recentním, zejména pak o tělesných a jiných adaptacích na tehdejší prostředí. Úkolem tohoto článku je ukázat, jaké moderní techniky lze využít pro přiblížení se k hmyzu uzavřenému v jantaru, jak ho vizualizovat a případně uvolnit pro bližší studium. Nepokryjeme zde všechny dostupné techniky, k nimž patří např. infračervená spektroskopie, synchrotron nebo mikroskopie atomárních sil (AFM) a další. Naším přáním je inspirovat odborníky ke studiu fosilií v jantaru. Uvědomme si, že každý kousek jantaru s inkluzí znamená jedinečný preparát se specifickými vlast-



1 Příklad dobré makrofotografie fosilií uchovaných v jantaru – nacházely se blízko povrchu. Zástupci brachycerních (podřád *Brachycera*) dvoukřídlých (*Diptera*) z čeledi hrbilkovití (*Phoridae*)

nostmi mírně odlišnými od ostatních – podle toho, jak vznikl, jaký hmyz a v jakém stavu se do něj kdysi dostal a za jakých podmínek probíhala fosilizace. Na druhé straně stojí skutečnost, že když vybraný kus otevřeme a fosilii vyjmeme a zpracujeme, daný původní unikátní vzorek tím vlastně zničíme.

Institucí, výzkumných týmů a vědců, kteří se v minulosti nebo v současnosti zabývají studiem jantaru a jeho inkluzí, je mnoho. Pokrývají obory od taxonomie, chemie, biochemie, anatomie až po molekulární biologii. Nás zajímají dva směry výzkumu: metody studia hmyzích fosilií v jantaru a stav hmyzích tkání po této fosilizaci. Chtěli bychom představit metody, které využíváme, a ukázat příklady toho, co jsme zjistili.

Digitální fotografie v denním světle

Biologům poskytuje digitální fotografie základní, dostupný a efektivní dokumentační prostředek (podrobněji např. viz Živa

2003, 6). Má však své zákonitosti, které musíme znát, abychom dosáhli přijatelných výsledků. Jantar a fosilie v něm patří z fotografického pohledu k obtížným objektům. Jantar je z optického hlediska komplikované prostředí (lom a rozptyl světla) a objekty bývají uvnitř, nikoli na povrchu. Navíc jantar není čirý, obsahuje kontaminace (detrit), praskliny, plynové bubliny atd. Výsledné snímky nebývají v takovém případě nejlepší. Ideálně pracujeme s jantarem vyleštěným a zbrúšeným tak, aby fosilie ležela co nejbliže k povrchu. Tím se minimalizuje vliv jeho optických vlastností. Studované biologické objekty bývají malých až mikroskopických rozměrů a tady nastupuje „extrémní makrofotografie“ s použitím speciálních makro- a mikroobjektivů (obr. 1 a snímek na 2. str. obálky).

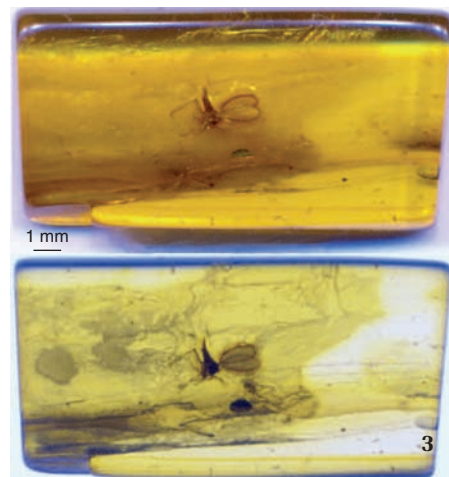
Máme tu ovšem ještě jeden fenomén, noční měru „extrémních“ makrofotografií, a to hloubku ostrosti (depth of field). Na druhé straně ale také jednu velkou výhodu – fosilie v jantaru jsou mrtvé, tedy nepohyblivé. Toho lze využít v moderní technice, již se říká skládání obrazu z vrstev. Vyfotografujeme fosilní hmyz jako sérii postupně jedním směrem zaostřovaných vrstev (fokusační série) a výsledný obraz pak z nich složíme (obr. 2) v některém ze specializovaných počítačových programů (volně dostupný např. CombinezP nebo PICOLAY, z komerčních vynikající Helicon Focus).

Digitální fotografie v infračerveném světle

Kromě „konvenční“ digitální fotografie tu máme ještě vědeckou digitální fotografii, která umí pracovat i se světlem jiných než běžných vlnových délek ve viditelné oblasti. Ultrafialové světlo není vhodné, neboť jantar vykazuje silnou autofluorescenci. Infračervená oblast světla (přesněji oblast blízká infračervené, tedy N-IR, near-infrared light) výhodná naopak je. Vlnové délky v rozsahu 750–950 nm mohou přispět k zobrazení určitých detailů, které ve viditelné části světla nejsou zřetelné. Některé digitální fotoaparáty dokáží pracovat v této oblasti. Navíc existuje možnost úpravy čipu fotoaparátu (odstranění IR filtru). Pro podrobnosti odkazují na publikace vzniklé v Laboratoři digitálního zobrazování v entomologii při Entomologickém ústavu Biologického centra Akademie věd ČR (v letech 1999–2011, www.entu.cas.cz/labdigit/czech/czech.htm).

Stolní skenery

Slouží nejen pro skenování dokumentů, ale i trojrozměrných přírodnin víceméně plochého tvaru. Jejich předností je rychlé pořízení obrazové dokumentace v dostatečné kvalitě, např. pro katalogizační účely. Ne každý skener má však vhodné parametry. Dostatečné výsledky poskytne přístroj, který zvládá podstatně větší hloubku ostrosti než kancelářský papír (existují i speciální 3D skenery). Výhodou bývá diapositivní (filmový) nástavec – pak můžeme pořizovat obrazy přírodnin nejen v dopadajícím světle (běžný skenerový mód), ale i ve světle procházejícím (obr. 3). Skenujeme na nejvyšší hardwarové (nikoli softwarové) rozlišení.



2 Skládání fotografického obrazu. Dílčí snímek s malou hloubkou ostrosti (obr. a) a fotografie sestavená ze tří snímků v programu PICOLAY (b)

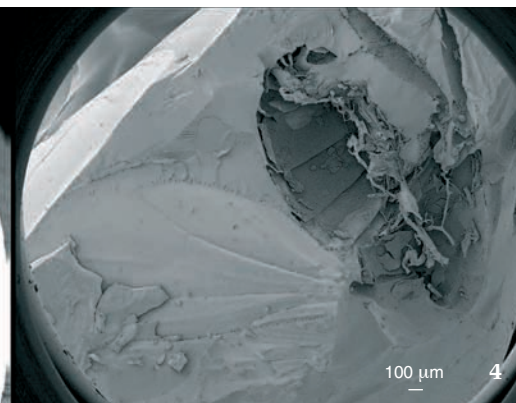
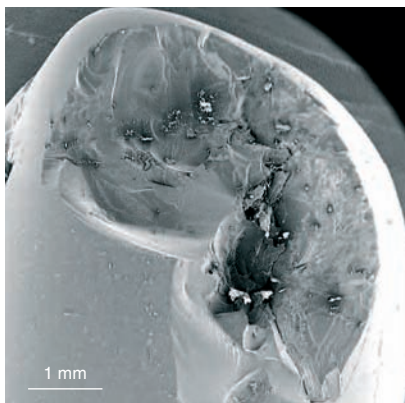
3 Obrazový záznam jantaru s nematocerním (podřád *Nematocera*) dvoukřídlným hmyzem z čeledi smutnicovití (*Sciaridae*) pořízený skenerem (Canon 8800F) v dopadajícím (nahore) a procházejícím světle (dole). Rozlišení 1 200 dpi

4 Extrakce biologických objektů z jantaru. Vlevo apikální část kousku jantaru obnažená pomocí žiletky až k povrchu fosilie (snímek z elektronového rastrovacího mikroskopu, SEM).

Po přiblížení těsně k objektu obnažila žiletkou opatrně odlomená vrstva jantaru uvnitř ukrytý hmyz. Na snímku vpravo můžeme vidět křídla, dutinu hrudi a zadečku se zbytky tkání (fotografie z Low Temperature Field Emission Scanning Electron Microscope, LTFESEM). Zástupce brachycerních dvoukřídlných (*Diptera*)

5 Snímek distálního okraje vnitřní plochy křídla pakomára (*Chironomidae*) v rastrovacím elektronovém mikroskopu LTFESEM (Jeol JSM-7401F).

Z křídla vystupují smyslové senzily. Četné malé prohloubeniny jsou vstupy do dutin mikrotrichií (senzilám podobné pseudoštetinky, ale bez nervových zakončení).



Mechanická extrakce fosilních inkluzí z jantarových úlomků

Po důkladném vyfotografování (naskenování) pro dokumentační účely (dál použijeme destruktivní metodu) upevníme kousek jantaru s fosilním hmyzem do pevného držáku (např. improvizovaný minisvěráček). Acetonem očištěnou (zbavenou tuku) a buničinou ořetou žiletkou velmi opatrně jantar odkrajujeme (případně odlamujeme tenčí vrstvičky), až se dostaneme těsně k fosilii (obr. 4 vlevo). Pak pokračujeme ještě opatrněji, dokud fosilii neodkryjeme (obr. 4 vpravo), popřípadě ji po částech vyjmeme z jantaru. Druhou možností je plochu v těsné blízkosti fosilie začistit jemným pilníkem a ručně obrousit navlženým (chlazením) smirkovým papírem. Výhoda tohoto přístupu spočívá ve větší kontrole pronikání k fosilii. Profesionální postup při této metodě využívá modelářské minibrusky se sadou zaměřitelných nástrojů (vrtáků, brusných minikotoučků, řezáků atd.). Extrahovanou fosilii (tedy

spíše její úlomky) prohlédneme pod binokulární lupou a dále zpracujeme.

Optická mikroskopie (LM, Light Microscopy)

Při studiu fosilií v jantaru optický (světelný) mikroskop využijeme zejména pro kontrolu a fotografování detailů v binokulární lupě, otevírání jantaru a vyjmutí fosilie (rovněž pod binokulární lupou fotografujeme postup extrakce) a prohlížení a fotodokumentaci polotenkových (1–2 μ m) řezů zhotovených na ultramikrotomu (podrobně viz později).

Elektronová rastrovací mikroskopie (SEM, Scanning Electron Microscopy)

Zapojení této techniky do výzkumu fosilií (zahájil P. Mierzejewski v r. 1976) posunulo zásadním způsobem naše možnosti.

Rastrovací elektronový mikroskop (skening) nám umožňuje prohlédnout s vysokým rozlišením a hloubkou ostrosti povrch toho, co jsme z fosilie extrahovali. Díky tomu, že jsou objekty suché, nemusíme je odvodnit a vysušit. Pouze je nalepíme na terčík (nejlépe lepidlem s koloidním stříbrem), pozlatíme metodou vakuového naprašování (sputtering) a prohlížíme. Moderní rastrovací mikroskopy jsou vybaveny dostatečnými parametry pro práci na vysoké úrovni. Specifický typ rastrovacího elektronového mikroskopu – LTFESEM (Low Temperature Field Emission Scanning Electron Microscope) použili pro výzkum jantaru a jeho fosilií M. Speranza a kol. (2010). Jeho předností je např. velmi vysoké rozlišení (obr. 5). Má rovněž zmrazovací mód, který ale není pro účely studia jantarových fosilií nezbytný.

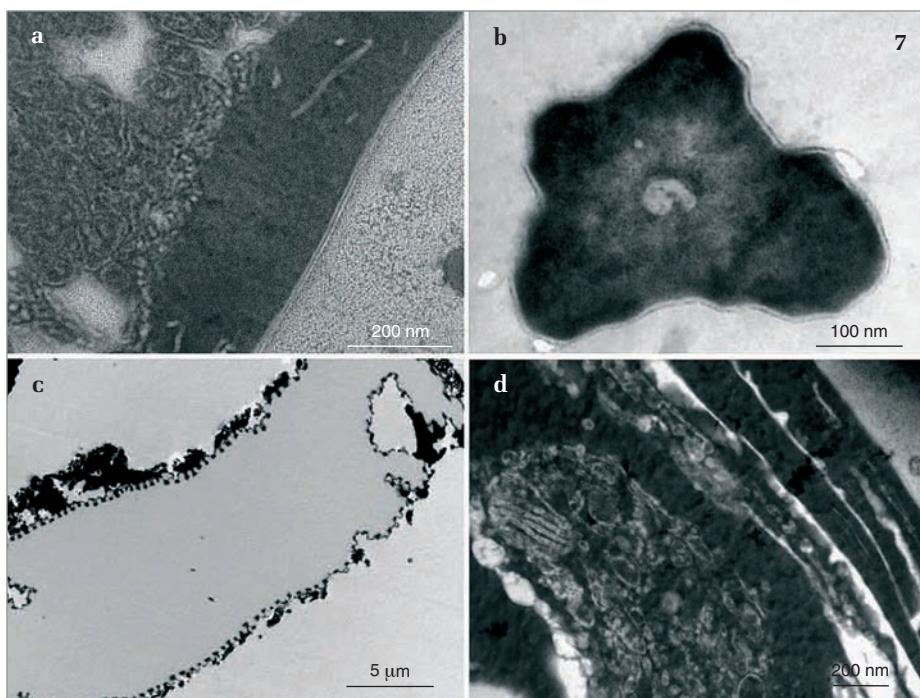
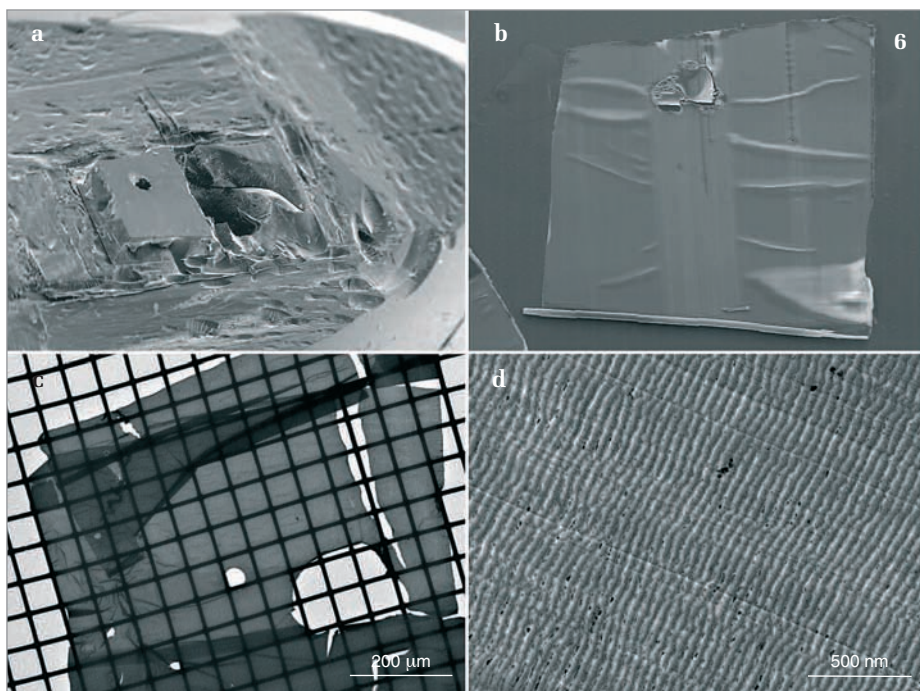
Elektronová prozařovací mikroskopie (TEM, Transmission Electron Microscopy)

Jako jeden z autorů tohoto článku (F. Weyda) si neodpustím malý historický úvod. Když jsem začátkem 70. let 20. stol. navštěvoval jako student Přírodovědecké fakulty UK v Praze kurz Základy elektronové mikroskopie a držel v ruce první zkušební sérii bločků zpolymerizované pryskyřice (Epon-Araldit), měl jsem dojem, že mi něco připomínají. Uvědomil jsem si, že se svou „hustou“ žlutou barvou i mechanickými vlastnostmi (šlo do nich rýpat) podobají jantaru. Při krájení polotenných a ultratenkých řezů z těchto bločků mne napadlo, zda by šel na ultramikrotomu krájet i jantar. Tehdy ještě nebyly k dispozici publikace popisující studium ultrastruktury jantarových fosilií. K realizaci této myšlenky – jak to občas ve vědě chodí – jsem se bohužel dostal až mnohem později. To už existovalo několik prací o ultrastruktuře tkání biologických objektů (na počátku stáli v r. 1982 G. O. Poinar a R. Hess článkem v časopise Science). Stále inspirativní je ale především dnes už klasická práce D. A. Grimaldiho a kol. (1994).

Jantar se naštěstí vyznačuje vlastnostmi, které umožňují předkrojit na důležitém místě (kde leží fosilie) pyramidu pro krájení polotenných (1–2 μm) řezů (obr. 6b). S trochou šikvosti lze získat i průměrné ultratenké řezy, i když poněkud potřhané a s dutinami (obr. 6c). Dutiny můžeme vyplnit pryskyřicí používanou v elektronové mikroskopii a nechat zpolymerovat při nižších teplotách než obvykle. Jantar se krájí lépe na diamantovém noži; vzhledem k riziku přítomnosti tvrdých minerálních částic je ale bezpečnější použít kvalitní nůž skleněný. Na hotových ultratenkých řezech se často vyskytují artefakty, za všechny uvedeme typické „vlnkování“ řezu viditelné při větším zvětšení (obr. 6d). Nicméně studium ultrastruktury zbytků fosilizovaných tkání přináší fascinující výsledky (obr. 7). Zbývá vyřešit otázku nutnosti kontrastování ultratenkých řezů fosilií z jantaru. Nemůžeme zatím dát jednoznačnou odpověď, ale i nekontrastované řezy jsou použitelné pro zobrazování v TEM.

Konfokální mikroskopie (CM, Confocal Microscopy)

Tento typ mikroskopu se stal neocenitelným pomocníkem jak v biologickém a medicínském výzkumu, tak i při studiu povrchových vlastností různorodých technických materiálů (viz také Živa 2006, 6: 245–248). Zatímco studium textury a složení povrchů využívá schopnosti mikroskopu detekovat odražené světlo, biologický výzkum je založen na detekci světla vzorkem vyzařovaného. Látky schopné po ozáření (excitaci) světlem určité vlnové délky část světla absorbovat a následně vyzařovat (emitovat) světlo o vyšší vlnové délce, označujeme jako fluorofory. Ty mohou být přirozenou součástí organického materiálu (autofluorescence), nebo jsou do organismu uměle začleněny a slouží k přesnému označení specifických buněčných struktur (např. mitochondrií, Golgiho aparátu, endoplazmatického retikula), případně se váží na biologické makromolekuly, jako bílkoviny či nukleové kyseliny.



Kombinací fluoroforů emitujících světlo různých vlnových délek lze v jedné tkáni souběžně zachytit několik struktur.

Konfokální mikroskop je druhem světelného mikroskopu, který neinvazivním a nedestruktivním způsobem provádí optické řezy živými nebo fixovanými tkáněmi do hloubky až 100 μm . K nejčastěji používaným technikám patří laserová skenovací konfokální mikroskopie, kde světelný zdroj zařízení posouvá ohnisko excitujícího laserového paprsku, a tak bod po bodu ozařuje vzorek. Pomocí řádkování jsou snímány optické body v rovině xy a díky přesně definovanému posuvu objektivu v ose z i jednotlivé optické řezy. Světelný signál spolu se souřadnicemi analyzovaných bodů znamená v číselné formě počítač a digitální data se převádějí na obraz. Ze série horizontálních optických řezů lze rekonstruovat zvětšenou 3D projekci, kterou můžeme zobrazit v libovolném zorném úhlu, popřípadě sestavit vertikální optické

řezy vzorkem. Základní přednost konfokální mikroskopie tkví ve vyšší rozlišovací schopnosti dané průchodem světla přes konfokální clonku, zajišťující odfiltrování rušivého pozadí z mimoohniskových rovin obrazu a ohyb světla na kruhovém otvoru. Výsledný obraz je tudíž konjugován (spojován) se zaostřenou, tj. fokální rovinou optické aparatury (z tohoto spojení byl odvozen název mikroskopu).

Kromě detekce odraženého, rozptýleného nebo emitovaného světla je konfokální systém vybaven modulem, který obsahuje fotonásobič pro detekci procházejícího světla s možností polarizace světla a diferenciální interferenčního kontrastování (DIC). V tomto případě excitací paprsek není odražen zpět do objektivu, ale prochází vzorkem přímo do detektoru. Digitálně sestavený černobílý obraz představuje obdobu snímku získaného klasickým světelným mikroskopem. Zatímco světelný mikroskop v kombinaci s barevnou CCD

6 a–d Řezy fosiliemi v jantaru pro optickou (LM) a elektronovou mikroskopii (TEM): obr. a – pyramida na povrchu jantaru s končetinou hmyzí fosilie (okrouhlá dutina); b – polotenký řez odkrojený z pyramidy; c – ultratenký řez odkrojený z pyramidy; d – jako typický artefakt na ultratenkých řezech jantarem najdeme „vlnkování“ řezu viditelné při větším zvětšení.

7 a–d Ultrastruktura fosilií hmyzu z jantaru (TEM): obr. a – příklad zachování ultrastruktury kutikuly a epidermis u některých hmyzích fosilií z baltského jantaru; b – příčný řez smyslovou senzilou zástupce brachycerních dvoukřídlých patrně z čeledi hrbilkovití se zachovalým válcem uprostřed senzily (smyslové štětinky, patrně mechanoreceptorické, registrující tlak) a epikutikulou na jejím povrchu; c – podélný řez tracheálním vakem neurčeného brachycerního dvoukřídlého hmyzu; d – řez kutikulou neurčeného zástupce brachycerních dvoukřídlých s částí tkáně pod epidermis – zřetelně jsou vidět buněčné vakuoly a mitochondrie. Snímky F. Weydy, pokud není uvedeno jinak

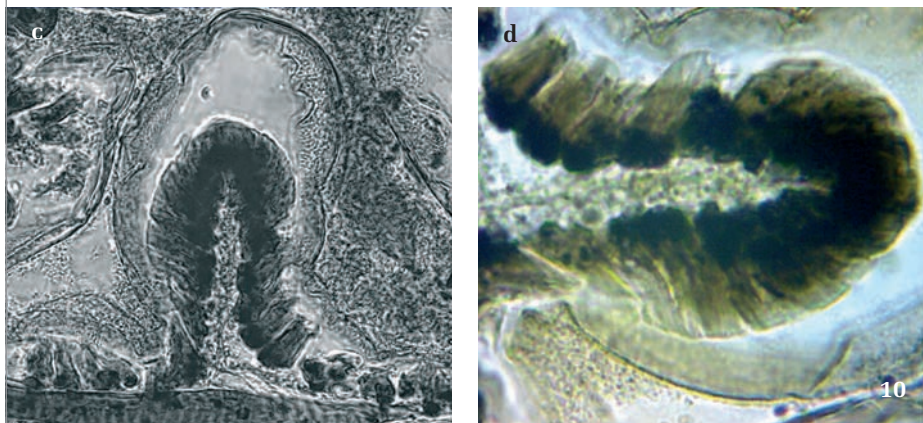
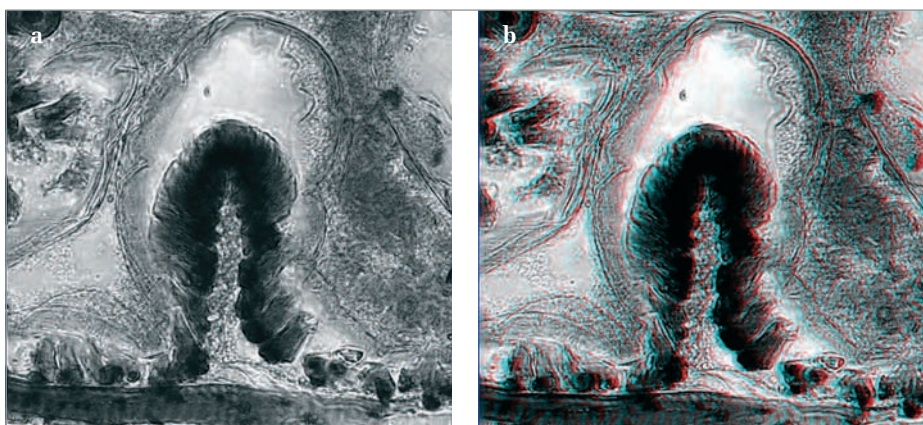
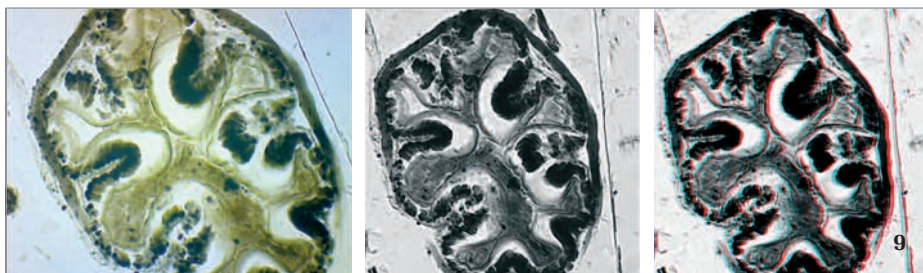
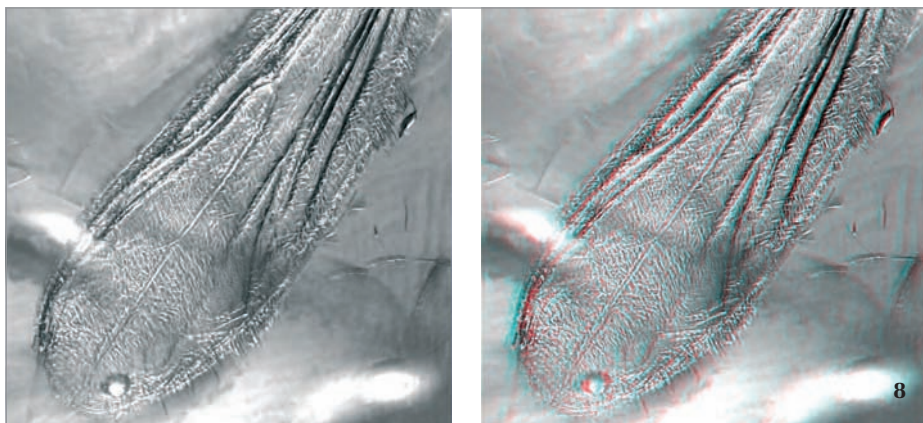
8 Křídlo pakomára v konfokálním mikroskopu (CM). Vlevo 3D rekonstrukce z 42 polotenkových (1 µm) nebarvených řezů. Vpravo anaglyf – počítačem vytvořený obraz z jednotlivých barevně separovaných komponent obrazu vlevo, které při prohlížení ve speciálních barevných brýlích vytvářejí 3D efekt. Foto H. Sehadová.

Obr. 8–10 byly pořízeny v transmisním módu konfokálního mikroskopu vybaveném čtyřmi lasery, systémem AOBs (Acousto-Optical Beam Splitter) a spektrálním detekčním systémem zajišťujícím vysoký stupeň citlivosti a kombinovatelnost až čtyř barev fluorescenčních markerů.

9 Příčný řez zadním střevem pavouka z baltského jantaru v konfokálním mikroskopu. Zleva: polotenkový řez (1,5 µm, nebarvený, v konvenčním optickém mikroskopu); tentýž řez v konfokálním optickém mikroskopu složený z 15 řezů; anaglyf z prostředního obrázku. Foto H. Sehadová

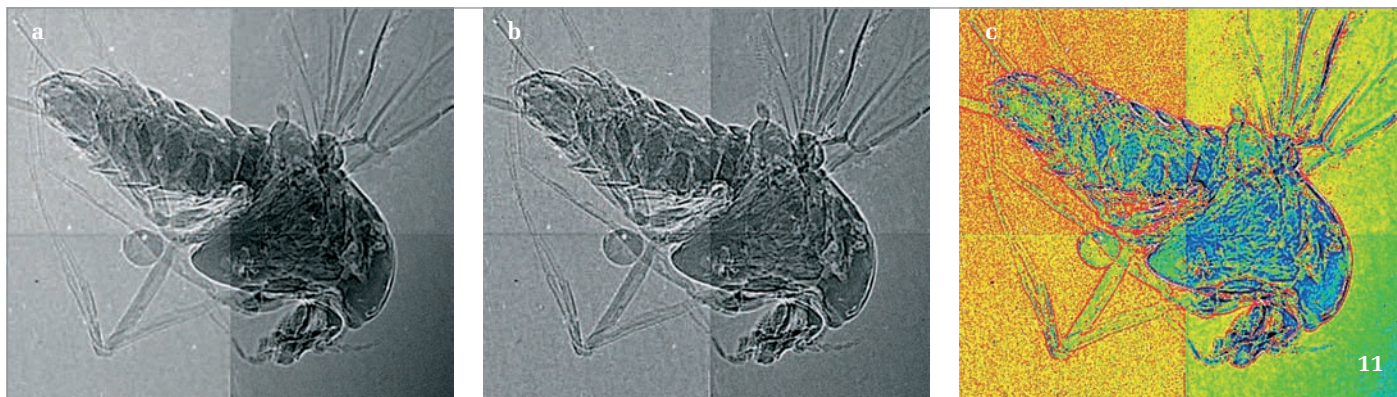
10 Detail příčného řezu zadním střevem pavouka z baltského jantaru v konfokálním mikroskopu: obr. a – 3D rekonstrukce z 29 polotenkových (1,5 µm) nebarvených řezů; b – anaglyf obr. a; c – obrazová analýza (ACC Structure Enhancement) v programu ACC Image Structure and Object Analyser vycházející z obr. a; d – detailní pohled na klk střeva a peritrofitickou membránu v konvenčním optickém mikroskopu. Foto H. Sehadová

kamerou umožňuje vizualizaci obrazu v reálných barvách, konfokální mikroskop poskytuje výhodu postupného proostřování objektu v ose z. Přestože jsou jednotlivé snímky narušeny šumem z mimo-ohniskových rovin, dá se z takto získané série snímků pomocí specializovaných programů odfiltrovat nezaostřený signál a zrekonstruovat ostrý 3D obraz (viz obr. 8–10, prohlížejí se speciálními brýlemi).



V porovnání s tradičními mikroskopickými technikami je použití konfokální mikroskopie při studiu biologického materiálu v jantaru novinkou. Relativně dobrá propustnost jantaru umožňuje skenování malých, zcela nebo částečně průhledných organismů (případně částí organismů větších) v transmisním světle a následnou rekonstrukci 3D obrazu. Podmínkou je umístění tkáně ve slabé vrstvě čirého jantaru, jehož možná tloušťka závisí na hloubce ostrosti daného objektivu. Imerzní objektivy tedy můžeme zvolit pouze pro inkluze umístěné těsně pod povrchem jantaru. Největší výhodu přináší užití suchých objektivů s menším zvětšením a vysokou

hloubkou ostrosti. Za pomoci konfokální mikroskopie došlo např. k rekonstrukci 3D obrazu 140 milionů let staré pavučiny ukryté v usazeninách jantaru objevených na pobřeží jižní Anglie (Brasier a kol. 2009) nebo k zobrazení anatomické struktury pylových váčků u chalcidek z čeledi fikovnicovití (blanokřídlí – *Hymenoptera: Agaonidae*; Compton a kol. 2010). Při studiu plísní ve španělském jantaru se zase podařilo rozpoznat mumifikované formy plísní od jejich mineralizovaných forem, a odhalit tak vzájemné vztahy v mikrospolečenstvu. Zatímco chitinové buněčné stěny mumifikovaných forem emitují autofluorescenční signál, minerály obsažené



v mineralizovaných formách světlo odráží (Speranza a kol. 2010). Intenzita autofluorescence navíc určuje stupeň mumifikace.

Většina biologických objektů však zůstává svou velikostí nebo umístěním v hlubších vrstvách jantaru pro zobrazení konfokálním mikroskopem nedostupná. Značné problémy při rastrování vzorku činí též různé praskliny a bubliny vzniklé během procesu tuhnutí, které způsobují nežádoucí lom dopadajícího světla. Jak vyplývá z recentních studií různých biologických objektů, konfokální analýza přináší cenné poznatky, jež nelze získat jinými mikroskopickými technikami. To, že si organismy uložené miliony let v jantaru zachovávají schopnost autofluorescence a že jsou zde přítomny organické látky odrážející světlo (např. chitin v kutikulách členovců), podporuje využití konfokální mikroskopie pro studium objektů v jantaru.

Mikroradiografie

K zobrazování biologických vzorků již několik let úspěšně používáme také mikroradiografii (viz Živa 2008, 6: 286–288). Proto jsme se rozhodli aplikovat tuto metodu i na struktury uvnitř jantaru. Uplatnění Roentgenova záření se zakládá na skutečnosti, že není pro zobrazované objekty destruktivní. Rychlé náhledy do vnitřních struktur vzorků umožňuje mamografické rentgenové zařízení, vhodné i pro větší objekty. Pro lepší prostorové rozlišení a kvalitu obrazu slouží rentgenové zařízení s mikroohniskem. V zobrazování jantarů využíváme vlastnosti geometrického zvětšení, proto musíme pro větší prostorové rozlišení zvolit co nejmenší ohniska rentgenových přístrojů. Vzhledem k tomu, že biologické struktury jsou nasycené stejným materiálem (pryskyřice), mají vzorky téměř shodný útlum pro rentgenové záření a obtížně se zobrazují pomocí rentgenových filmových technik. Zde úspěšně pracujeme s digitálními pixelovými detektory s vysokým dynamickým rozsahem pro dosažení velmi dobrého kontrastu.

● Mamografické rentgenové zařízení Planmed Nuance Excel

Tento přístroj má wolframovou anodu s velikostí ohniska rentgenky 100 μm . Dostupná zvětšení jsou 1,6, 1,8 a 2,0. Používá se digitální amorfní selenový detektor o rozměrech 354 × 368 mm. Hrana pixelu je 85 μm a celkové prostorové rozlišení 2 816 × 3 584 pixelů. Vzorky mohou být umístěny přímo na detektor nebo lze pro zvětšení nad něj umístit speciální držák.

● Mikroohniskové rentgenové zařízení Hamamatsu

Uvedený systém obsahuje mikroohniskový rentgen s wolframovou anodou s velikostí ohniska 5 μm . Posuvný stolek umožňuje pohyb vzorku v osách x, y, z a jeho rotaci, které se využívá pro mikrotomografii. Amorfní křemíkový detektor s pixely o hraně 100 μm slouží jako zobrazovač.

● Mikroohniskové rentgenové zařízení FeinFocus

Tato aparatura se skládá z rentgenu s mikroohniskem o velikosti 1 μm a držákem vzorku v podobě posuvného stolku. Jako zobrazovač používáme detektor Medipix21 (vyvinutý ve výzkumném ústavu v CERNu ve Švýcarsku ve spolupráci se 17 univerzitami a výzkumnými týmy; <https://medipix.web.cern.ch/medipix/pages/medipix2.php>), který je rozdělen na matici buněk 512 × 512 pixelů o hraně 55 μm .

Podrobnější problematika aplikace mikrorentgenografických technik ve výzkumu fosilí v jantaru (včetně obrazové dokumentace) překračuje rozsah tohoto článku, proto odkazujeme na specializované publikace (např. Dammer a kol. 2013).

Rentgenová mikrotomografie

Výpočetní tomografie (CT, Computed Tomography) umožňuje nedestruktivní a kvalitní 3D vizualizaci a analýzu vnitřních mikrostruktur biologických vzorků, skeletů a měkkých tkání v lékařství, materiálu z oboru geologie, kompozitních a textilních materiálů apod.

Z řady rentgenových projekcí provedených v odlišných úhlech se získává matematická rekonstrukce obrazu. Rentgenové paprsky při průchodu různými materiály slábnou, stupeň absorpce je menší nebo větší v závislosti na hustotě materiálu. Koeficientem absorpce záření se vyjadřuje schopnost konkrétních látek pohlcovat rentgenové záření. V případě, že vyzařovaná energie zůstává konstantní, pohlcování rentgenových paprsků závisí pouze na materiálu, kterým procházejí.

Stolní mikrotomografický přístroj SkyScan 1272 patří k výkonným zařízením tohoto typu s vysokým rozlišením. Naskenuje objekt ve formě 2D obrazů, které za pomoci specializovaného programu (rekonstrukční software) převede na objekt 3D. Umožňuje analyzovat délku a velikost objektu, jeho tvar, orientaci a porozitu. Rozlišení přístroje dosahuje až 0,35 μm , maximální velikost testovaného materiálu 75 mm v průměru a 70 mm na délku. Součástí vybavení tvoří uzavřená, vzduchem chlazená rentgenka s napětím 20–100 kV,

11 a–c Rentgenové snímky fosilního dvoukřídlého hmyzu (velmi pravděpodobně pakomára – *Chironomidae*) v jantaru. Zobrazeno pomocí mikroohniskového rentgenového zařízení FeinFocus FXE-160.51 a detektoru Medipix2. Zleva: původní obraz získaný z přístroje (a); snímek po obrazové analýze v programu ACC Image Structure and Object Analyser (detaily jsou lépe viditelné, b); počítačové přiřazení barev stupňům šedi – tak lze lépe odlišit morfologické a anatomické detaily (c). Snímky J. Dammera, obrazová analýza obr. c: F. Weyda

0–250 μA (10 W max), 16 megapixelová detekční CCD kamera, monitorizované držáky pro přesné nastavení polohy vzorku vůči zdroji záření a CCD kameře, dva kontrolní počítače s LCD monitory a softwarovým vybavením pro kompletní 2D a 3D kvantitativní analýzu, pro morfometrii (měření tvarů) a denzitometrii (zjišťování optických hustot zpracovávaných fotografických záznamů), pro realistické 3D vizualizace zkoumaných objektů apod.

Tomograf SkyScan 1272 zobrazí hmyz a jeho vnitřní struktury jako zbytky tkání nebo endoskelet ve vloženém jantaru v 3D. S objekty můžeme v počítači pohybovat ve směru os x, y, z a provádět optické řezy ve třech rovinách zkoumaného objektu.

Závěr

Jak je vidět, ke studiu hmyzích fosilí v jantaru máme k dispozici plejádu zajímavých metod a přístrojů, díky kterým můžeme posunout výzkum o notný kus dopředu. Další právě vznikající techniky nebo už zaváděné do vědy určitě přinesou zatím netušené možnosti. Navíc jantar se svými fosiliemi má přitažlivost nejen svým potenciálem pro vědu, ale i přesahem do historie a kultury. Byli bychom rádi, kdybyste se pro jantar nadchli stejně tak jako my.

Prezentované výsledky byly částečně podpořeny Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy v rámci účelové podpory Národního programu udržitelnosti I a nevznikly by bez podpory Jany Nebesářové a kolektivu pracovníků Laboratoře elektronové mikroskopie Parazitologického ústavu Biologického centra AV ČR, v. v. i., v Českých Budějovicích.

Kolektiv spoluautorů: Jiří Dammer, Hana Sehadová, Antonín Havelka, Marcela Kolínová a Jitka Pfliegerová

Literaturu uvádíme na webu Živa.