

Мария Игоревна Бородина
Евгений Сергеевич Дзябура
Антон Сергеевич Медведев

Применение дифракции света для исследования некоторых биологических объектов

*Работа отмечена Дипломом
Министерства образования РФ
на международной конференции-конкурсе "Юниор-2003"
(1-ое место по секции "Физика и астрономия")*

В настоящее время методы физической оптики широко применяются во многих областях науки и техники. С их помощью создаются высокоточные приборы, способные измерять широкий спектр характеристик макро- и микрообъектов, осуществлять дефектоскопию, сверхплотную запись информации и т. д. Данная работа иллюстрирует один из возможных способов применения аппарата физической оптики в практических целях.

Как известно, у живых организмов, населяющих нашу планету, существует несколько принципиально различных типов специализированных органов фоторецепции со специфичным строением и происхождением. Среди них можно выделить 2 основных вида глаз, наиболее распространенные в животном мире: камерный и фасеточный. У человека глаза камерные. Фасеточные глаза (осци) имеют все крылатые насекомые, кроме блох, ряда паразитических и пещерных насекомых [1]. Фасеточные глаза состоят из огромного количества омматидиев - крошечных отдельных "глазков". Каждый такой "глазок" заканчивается прозрачным шестиугольным-линзой - фасеткой (рис. 1).



Рис. 1. Разрез фасеточного глаза.

Шестиугольники фасеток, покрывающие всю поверхность глаза насекомого, удивительно единообразны и образуют регулярную структуру. Количество базовых элементов (шестиугольных линз) в такой структуре может достигать тысяч, а у рекорсменов - хищных стрекоз рода коромысел - оно примерно равно 50.000. Размеры конкретных фасеток зависят как от вида их "владельцев", так и от положения в глазу насекомого - например, у тех же стрекоз было замечено два типа различных фасеток (см. ниже).

Нижеописанная методика позволяет получать линейные размеры биологических объектов (в том числе и фасеток глаз насекомых) в диапазоне приблизительно от 10 до 100 мкм без использования высокоточных оптических измерительных приборов.

Данная методика основана на волновых свойствах света, конкретно - на дифракции [5]. Дифракцией света называется огибание светом контуров непрозрачных предметов и, как следствие этого, проникновение его в область геометрической тени. Дифракция является следствием интерференции света (явление увеличения или уменьшения амплитуды результирующей волны при сложении двух или нескольких волн, причём, как правило, рассматриваются волны с одинаковыми частотами колебаний).

Колебания называются когерентными, если разность их фаз остаётся постоянной или закономерно изменяется во времени. Тогда при сложении колебаний эта разность определяет амплитуду суммарного колебания. При интерференции когерентных волн возникает устойчивая во времени интерференционная картина максимумов и минимумов освещённости, причём в максимумах энергия больше суммы энергий от обеих слагаемых волн, а в минимумах энергия равна нулю (очевидно перераспределение энергии).

На этом явлении основана работа дифракционной решётки и других дифракционных приборов (зонная пластинка Френеля, голограммы Габора).

Простейшая дифракционная решетка представляет собой пластинку, на которой чередуются параллельные одинаковые прозрачные и непрозрачные полосы. Сумму ши-

рин прозрачной и непрозрачной полоски принято называть периодом решетки и обозначать как d . В современных решётках период может быть меньше десятитысячных долей миллиметров. Если на решетку направить узкий параллельный пучок света, то на краях щелей (прозрачных полос) свет отклонится от своего первоначального направления. Т.о. каждая полоска может рассматриваться как протяжённый источник когерентного света. Световые волны от множества таких источников накладываются и дают на экране интерференционную картину (рис. 2).

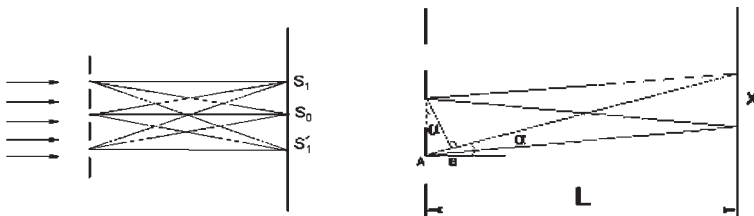


Рис.2. Дифракционная решётка Рис.3. Дифракционная решётка

Интенсивность светового излучения в данной точке зависит от разности хода волн, сходящихся в ней. Если разность хода равна четному числу полуволен, то будет максимум излучения. Если нечетному - минимум.

Рассмотрим две щели дифракционной решетки (рис. 3). Разность хода двух показанных на рисунке световых лучей будет равна $AB=d \cdot \sin \alpha$. Расстояние до экрана (например, в наших измерениях оно составляло от 5 до 10 метров) намного больше периода решетки (в частности, при 25 штрихах на миллиметр период решётки составляет 40 мкм, в то время как характерное расстояние до экрана - несколько метров). Значит угол α - мал. Тогда справедливы следующие соотношения:

$$\sin \alpha = \alpha = \operatorname{tg} \alpha,$$

$$\operatorname{tg} \alpha = x/L,$$

где L - расстояние до экрана, а x - расстояние от центрального максимума (самого яркого) до данной точки. Центральный максимум получается там, где разность хода двух волн равна нулю, а остальные максимумы - там, где она составляет целое число волн (или, как ещё говорят, чётное число полуволен): $d \cdot \alpha = n \cdot \lambda$

Итак,

$$n\lambda = \frac{d \cdot x}{L} \Rightarrow d = \frac{n \cdot \lambda \cdot L}{x}$$

где n - номер максимума, считая от центрального (центральный считается нулевым - $n = 0$).

Таким образом, зная расстояние до экрана и измеряя расстояние между максимумами, мы можем вычислить период решётки

Методика

Было замечено, что многие биологические объекты имеют приближённо-периодическую структуру. К числу таких объектов, например, относятся фасеточные плёнки насекомых и других членистоногих, срезы растительных тканей, трубчатки некоторых грибов и др. Периодическую структуру этих объектов можно измерить (в худших случаях - оценить характерные размеры элементов структуры, в лучших - точно вычислить период) как обыкновенную дифракционную решётку, т.е. имея пучок света строго определённой длины волны и такую "биологическую решётку", найти её период и вычислить линейные размеры периодичных элементов.

Такой эксперимент без особых усилий и специального оборудования можно провести с фасеточной плёнкой насекомых.

Фасеточная плёнка насекомых состоит из правильных шестиугольников (рис. 4). Такую структуру можно условно разложить на три решетки с одинаковым периодом. При освещении препарата из фасеточной плёнки узким пучком когерентного света на экране появляется устойчивая интерференционная картина, максимумы которой как бы образуют решётку из правильных треугольников (иначе можно сказать, что каждый максимум находится внутри воображаемого шестиугольника).

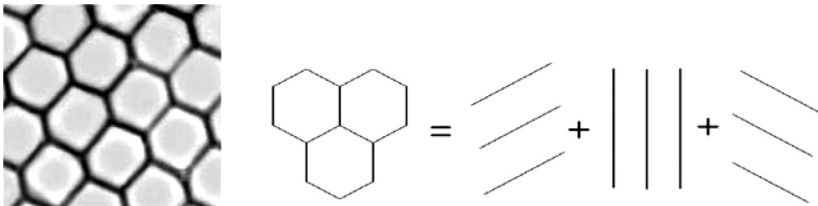


Рис.4. Фасеточная плёнка стрекозы как суперпозиция трёх решёток

Для изготовления препарата предпочтительнее использовать глаза крупных стрекоз-коромысел (фасеточные плёнки крупных насекомых лучше поддаются обработке). Аккуратно под небольшим увеличением (можно использовать лупу или микроскоп с увеличением в 2-4 раза) препаровальными иглами фасеточная плёнка вычищается от внутреннего содержимого глаза. Плёнка несколько раз промывается, с неё тщательно и аккуратно удаляют непрозрачное вещество (это пигментные клетки омматидиев). В том случае, если радиус кривизны глаза мал, необходимо вырезать фрагмент плёнки небольших размеров, который можно считать плоским, или произвести 3 - 4 радиальных разреза с целью не допустить значительного увеличения толщины слоя заливки препарата, вызывающего дополнительные искажения картины неоднородностью ориентации шестиугольников фасеток. В дальнейшем готовится временный препарат на водной основе или постоянный препарат на основе Канадского бальзама.

Для просвечивания препарата следует использовать пучок света со строго определённой длиной волны. Это может быть обыкновенная лазерная указка, длину волны которой нетрудно установить с помощью фабричной дифракционной решётки с известным периодом. Лазер и препарат неподвижно размещаются на штативах так, чтобы луч лазера как можно точнее проходил через фасеточную плёнку (или другой исследуемый объект). На расстоянии 5-10 метров от препарата устанавливается экран (рис. 4).

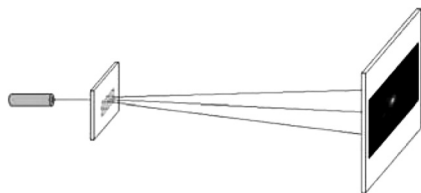


Рис.5. Схема экспериментальной установки

Измерив расстояние X (рис. 5) от главного максимума до

максимума n -ого порядка, по формуле
$$d = \frac{n \lambda L}{x}$$
 мож-

но найти период решётки. Для повышения точности измерений лучше всего брать расстояние от n -го максимума не до центрального (нулевого), а до максимума, симметричного ему относительно центрального.

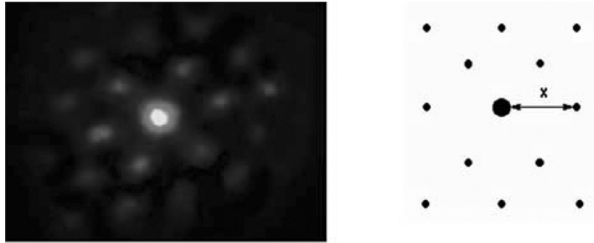


Рис.6. Фотография и схематичное изображение полученной интерференционной картины

Форма получаемых интерференционных картин напрямую зависит от формы периодической структуры (рис. 7). Здесь стоит обратить внимание на фасетки креветок. С формальной точки зрения их форма является шестиугольной, однако при этом две из шести сторон так сильно укорочены, что фактически шестиугольник превратился в квадрат, что можно как увидеть на микрофотографии, так и понять по дифракционной картине.

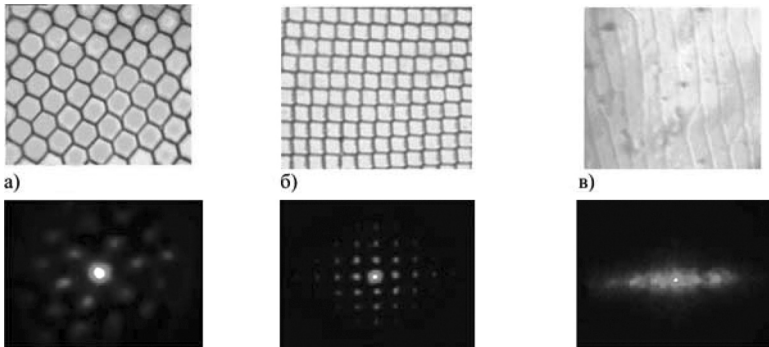


Рис. 7. Микрофотографии различных биологических структур (верхний ряд) и соответствующие им дифракционные картины (нижний ряд). Фасетки стрекозы (а) и креветки (б), плёнка лука (в).

На основе вида дифракционной картины могут быть сделаны выводы о структуре исследуемого объекта, а так-

же о степени его нерегулярности. Так как в работе используются природные материалы, то ни о какой идеальности решетки речи не идёт. Получаемая интерференционная картина на некотором максимуме начинает смазываться. Используя это явление (определив номер максимума, на котором происходит смазывание - перекрытие n -го и $(n+1)$ -го максимумов) можно найти степень нерегулярности решётки.

Пусть период d решётки изменяется в пределах некоторого Δd , где $\Delta d/2$ - максимальное отклонение от среднего периода решётки d . Тогда её можно рассматривать как совокупность наложенных друг на друга регулярных решёток, периоды которых лежат в промежутке от $d - \Delta d/2$ до $d + \Delta d/2$. За степень нерегулярности решётки принимается отношение $\Delta d/d$. Зная номер максимума, на котором происходит размытие и предполагая, что там сливаются n -й максимум решётки с периодом $d - \Delta d/2$ и $(n+1)$ -й решётки с периодом $d + \Delta d/2$, отношение $\Delta d/d$ найти очень легко:

$$\frac{\Delta d}{d} = \frac{2}{2n+1}$$

Например, степень нерегулярности для препарата, изготовленного из лука, составляет $\sim 20\%$, (размытие происходит на 5-ом максимуме).

Таким образом, в описанных измерениях возможно оценивать не только погрешности, возникшие по причинам технического характера, но и "погрешности", заложенные в исследуемый объект самой природой.

Результаты измерений

В табл. 1 приведены некоторые из результатов, которые были получены авторами статьи в ходе работы на Физическом отделении Летней Экологической Школы (ныне - Физическое Отделение Летней Школы "Исследователь", fizlesh.msk.ru). Вид насекомых определялся при помощи литературы [2] и [3].

Длина волны использованного лазера (лазерной указки): $\lambda = 650 \pm 10$ нм.

Особо следует прокомментировать результаты, приведённые для коромысла большого (*aeschna grandis*) и коро-

мысла синего (*aeschna cyanea*). В таблице для каждого из этих видов имеются две цифры, это отображает тот факт, что фасетки в разных частях глаза действительно имеют разные размеры. Причина - в специализации верхней и нижней половинок глаза: верхняя часть следит за небом, не позволяя приблизиться к стрекозе опасным для неё птицам, а нижняя высматривает добычу. Физически это проявляется в том, что чувствительность одной части лежит в ультрафиолетовой области, а другой - в более привычном нам жёлто-красном диапазоне.

Выводы

Вышеописанный метод изготовления препаратов и измерения их характеристик позволяют в короткие сроки получать сравнительно большие объёмы точной информации без привлечения дорогостоящей техники. С некоторыми модификациями созданная методика может активно использоваться в полевых условиях, что является неоспоримым преимуществом, так как применение высокоточных оптических приборов в данном случае сопряжено с рядом трудностей. На её базе возможно проведение намного более серьёзных исследований, целью которых, вероятнее всего, будет получение больших массивов статистических данных.

Данная работа также имеет заметное методическое значение. Её материалы вполне могут использоваться в школах и ВУЗах наряду с классическими экспериментами по физической оптике. В частности, надо полагать, они должны иметь большую ценность для проведения так называемых "интегрированных уроков" в школах, так как в данном случае затронуты по меньшей мере два школьных предмета - физика и биология. Также на основе данной работы можно создать целый круг лабораторных работ для средней школы и ВУЗов по темам "физическая оптика", "физические методы в биологии" и т.д.

Кроме того, хотелось бы надеяться, что такой простой и точный метод может оказаться существенным подспорьем для исследователя на определённых этапах работы.

Препарат	Количество наблюдаемых максимумов	Количество измерений	Период решетки (мкм)
Коромысло синее (<i>aeschna cyanea</i>)	6	3	37±1.0
	8	3	41.1±1.6
Шмель земляной (<i>bombus hupnorum</i>)	2	3	17.7±0.9
Стрелка красивая (<i>coenagrion pulchellum</i>)	6	3	60±3.0
Лютка-невеста (<i>lestes sponsa</i>)	8	3	53±2.0
Мохнатка прозрачная (<i>vollucella pellucense</i>)	4	3	23.9±0.9
Стрекоза жёлтая (<i>sympetrum flaveolum</i>)	10	3	40.5±1.5
Стрекоза кровавая (<i>sympetrum sanguineum</i>)	8	3	49.3±1.7
Шершень (<i>vespa scabro</i>)	6	3	31.0±1.1
Коромысло большое (<i>aeschna grandis</i>)	10	3	49.9±1.7
Оса лесная (<i>dolichovespula silvestris</i>)	8	3	32±1.0
	2	3	27.8±1.9
Алоэ древовидное (<i>Aloe arborescens</i>)	4	3	40±4.0
Королевская креветка	22	3	54±3.0

Литература

1. Захваткин Ю.А. Курс общей энтомологии. - М. Агропромиздат, 1986.
2. Козлов М.А., Олигер И.М. Школьный атлас-определитель беспозвоночных. - М. Просвещение, 1991.
3. Плавильщиков Н.Н. Определитель насекомых. М. Тропикал, 1994.
4. Биологический энциклопедический словарь. Гл. ред. М.С. Гиляров. - М. Науч. Изд. "Большая российская энциклопедия", 1995.
5. Ландсберг Г.С. Элементарный учебник физики. - Т.III.

Печатается по материалам
Конференции-конкурса "ЮНИОР", Intel ISEF,
г. Москва, 1-2 марта, 2003 г.