### EESTI NSV TEADUSTE AKADEEMIA TOIMETISED. XVI KÖIDE BIOLOOGIA. 1967, Nr. 3

### ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК ЭСТОНСКОЙ ССР. ТОМ XVI БИОЛОГИЯ. 1967, № 3

https://doi.org/10.3176/biol.1967.3.10

# LÜHITEATED \* КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

А.-П. СИЛЬВЕРЕ

## ПРОСТЕЙШИЙ МЕТОД ПОЛЯРИЗАЦИОННОЙ МИКРОСКОПИИ ДЛЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

A.-P. SILVERE. LIHTSAIM POLARISATSIOONIMIKROSKOOPIA MEETOD BIOLOOGILISTEKS UURIMISTEKS

A.-P. SILVERE, THE SIMPLEST METHOD OF POLARIZING MICROSCOPY FOR BIOLOGICAL INVESTIGATIONS

Поляризационная микроскопия в биологических исследованиях применяется сравнительно мало. Одна из причин этого, по-видимому, в необходимости прибегать к помощи специальных поляризационных микроскопов. Выпускаемые для кристаллографических и минералогических лабораторий, они довольно сложны, позволяют пользоваться преимущественно средними увеличениями и имеются лишь в немногих биологических лабораториях. Кроме специальных микроскопов, существуют поляризационные насадки, предназначенные для любых биологических микроскопов; но практически они тоже не дают возможности пользоваться большими увеличениями. Ограничение вызвано неоднородностью оптического стекла, применяемого для изготовления линз объектива и окуляра, в отношении поляризованного света. Внутренние напряжения стекла значительно деполяризуют свет и в результате изображение искажается (Аппельт, 1959). Наибольшая деполяризация происходит именно в насадочной системе, где между поляризатором и анализатором расположена вся оптика микроскопа. В специальных поляризационных микроскопах анализатор помещается между объективом и окуляром, такое же устройство у поляризационной системы универсального микроскопа МБИ-6. Однако объектив микроскопа содержит много линз из различных сортов стекла и при повышении увеличения его увеличиваются число линз и тем самым деполяризующее действие объектива. Поэтому в поляризационных микроскопах применяются специальные объективы.

Нами сделана попытка разработать поляризационную приставочную систему, применимую на микроскопах с обычными объективами при любых увеличениях. Для удобства работы требовалось, чтобы переход от любого метода микроскопического исследования к поляризационной микроскопии был как можно проще.

Из сказанного выше о влиянии оптики микроскопа на поляризованный свет можно сделать простой вывод: для полного устранения деполяризующего влияния нужно вывести поляризационную систему из оптической системы микроскопа, разделить их, для чего достаточно опустить анализатор на одну «ступень», т. е. расположить его между объектом и фронтальной линзой объектива. Оптика микроскопа при этом на

поляризационное изображение влиять не может, по сути дела мы будем рассматривать через микроскоп окончательное поляризационное изображение объекта, создаваемое поляризованным светом при прохождении его через объект и анализатор. Изменение плоскости поляризации под действием оптики микроскопа на четкость изображения не влияет.

Для практического применения описанной поляризационной системы требуется анализатор в виде очень тонкой поляризующей пластинки, он помещается между объектом и объективом даже при самых коротких фокусных расстояниях, не превышающих у объективов с большим увеличением 1-2 мм. Мы применили для этой цели, как и в качестве поляризатора, фотографические поляризационные светофильтры ПФ-42 или  $\Pi$ Ф-36 (разница между ними только в диаметре).

Для поляризатора, укрепляемого под конденсором при помощи небольшого переходного кольца, пригоден готовый светофильтр в поворачивающейся оправе. Чтобы получить достаточно тонкий анализатор, мы выделили из светофильтра, сняв оправу и защитные стекла, целлулоидную поляризационную пленку толщиной около 0,1 мм и поместили ее непосредственно на покровное стекло исследуемого препарата. Кусок поляризационной пленки должен быть несколько меньше употребляемых покровных стекол (во избежание загрязнения анализатора), для удобства обращения к нему можно приклеить с одной стороны легкую ручку из пластмассы.

Поворачивающейся частью описанной поляризационной системы будет поляризатор, оправу которого можно снабдить шкалой. Кроме простоты в обращении и универсальности применения, такой анализатор может быть использован с обычными иммерсионными объективами, при этом анализатор погружается в иммерсионное масло. Очищается анализатор быстрым погружением в ксилол и промыванием в спирте, но при частом пользовании его нужно хранить в небольшом количестве иммерсионного масла. Расположение анализатора между объектом и объективом заметно на качество изображения не влияет. Здесь нужно иметь в виду, что расположенный над покровным стеклом анализатор не попадает в фокус объектива, а погружение в иммерсионное масло делает его еще прозрачнее и однороднее.

Таксе простое поляризационное устройство позволяет переходить от других микроскопических методов к поляризационному анализу, не снимая и даже не перемещая препарата на столике микроскопа. Конечно, как и другие насадочные поляризационные системы, она не позволяет производить точных измерений поляризации, но в биологических исследованиях этого, как правило, не требуется и поляризационный анализ сводится к выявлению двоякопреломляющих компонентов и структур в органах и тканях (Роскин и Левинсон, 1955) и обнаружению кристаллических образований.

В нашей работе по изучению цитологии и ультраструктуры органов и клеток членистоногих вышеописанная методика поляризационной микроскопии полностью себя оправдала. Приведенные микрофотографии дают представление о получаемых результатах. Нужно отметить еще одну ценную особенность предлагаемого метода: микрофотографирование при использовании описанной системы поляризации ничем, кроме более продолжительной выдержки, не отличается от обычной микрофотографии на специальных приборах или при помощи микрофотонасадок.

#### ЛИТЕРАТУРА

Аппельт Г., 1959. Введение в методы микроскопического исследования. М. Роскин Г. И., Левинсон Л. Б., 1957. Микроскопическая техника. М.

Институт экспериментальной биологии Академии наук Эстонской ССР Поступила в редакцию 28/XI 1966

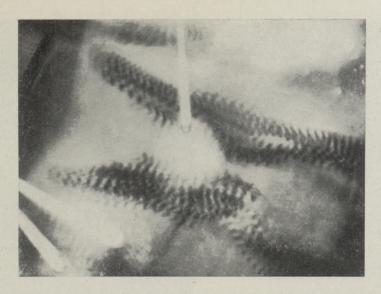


Рис. 1. Поперечнополосатые мышцы под кутикулой личинки паугинного клеща. Поляризационная микроскопия тотального постоянного препарата. Увел.  $300 \times$ .

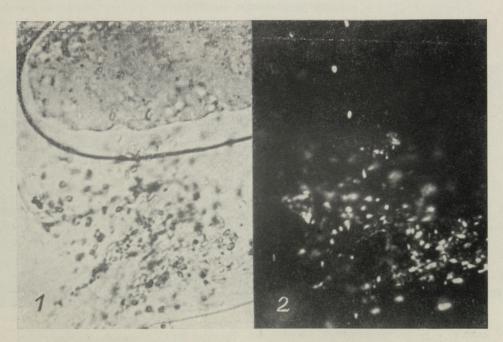


Рис. 2. Задняя часть гистеросомы клеща с экскреторными гранулами, содержащими гуанин. Тотальный препарат. 1 — обычная микроскопия; 2 — поляризационная микроскопия, выявляется кристаллический гуанин. Увел.  $640 \times$ .

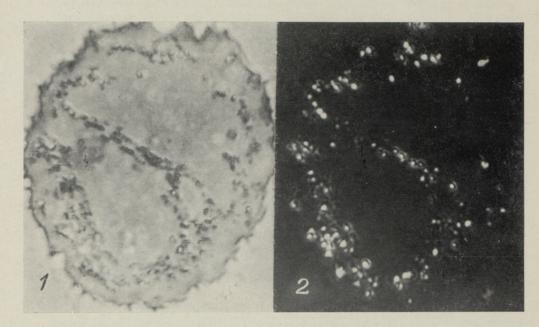


Рис. 3. Срез толщиной 0,5 мк гистеросомы галлового клеща, заключенного в метакрилат (для электронной микроскопии). Экскреторные гранулы в паренхиматозной ткани. I — фазово-контрастная микроскопия; 2 — поляризационная микроскопия, выявляются микрокристаллы гуанина. Иммерсионный объектив, прямое увеличение  $630 \times$ , на микрофотографии —  $2270 \times$ .

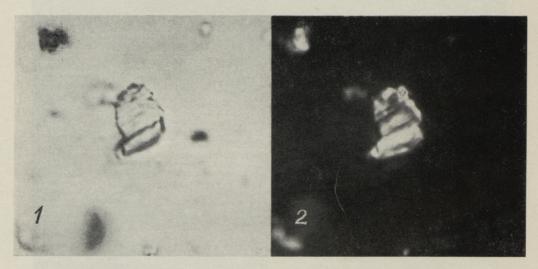


Рис. 4. Неправильный микрокристалл чистого гуанина. I — фазово-контрастная микроскопия: 2 — поляризационная микроскопия. Иммерсионный объектив, прямое увеличение  $630 \times$ , на микрофотографии —  $2520 \times$ .