

Государственное бюджетное общеобразовательное учреждение
средняя общеобразовательная школа № 422
Кронштадтского района г. Санкт – Петербурга

НАУЧНО - ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ПРОЕКТ



*Изучение структуры крыла
насекомых с помощью оптической и сканирующей
зондовой микроскопии*



Авторы: Пошталянец Александр, Силин Артём, Розанов Константин-
- учащиеся 5 «а» класса

Руководитель: учитель биологии Куренкова Валентина Степановна

г. Санкт – Петербург

2014 г.

Оглавление

<u>Введение</u>	3
• применение новых технологий при изучении биологических объектов	
• цели	
• задачи	
• методы проекта	
<u>Основная часть</u>	
<i>Аналитическая</i>	4
• Методы исследования морфологии биологических объектов	
• История создания сканирующего зондового микроскопа	
• Структура крыла бабочки и природа окрашивания материалов	
<i>Экспериментальная</i>	8
• Изучение структуры крыла с помощью <i>обычного школьного</i> микроскопа	
• Изучение структуры крыла с помощью <i>цифрового оптического</i> микроскопа	
• Изучение структуры крыла с помощью <i>сканирующего зондового</i> микроскопа	
<u>Заключение</u>	
Выводы по исследуемому вопросу	12
<u>Список используемой литературы</u>	13
<u>Приложение №1</u>	
Презентация защиты проекта	

Введение

Традиционными методами диагностики и исследования биологических объектов являются оптические и электронные микроскопы. Но при современных методах анализа применяют новые технологии. В исследовании структуры клеток, молекул ДНК сканирующая зондовая микроскопия (СЗМ) открывает новые возможности. В настоящее время СЗМ является одним из базовых методов нанобиотехнологии.

Изобретение СЗМ микроскопа поспособствовало в первую очередь прогрессу биологии, медицины и других наук, связанных с изучением микроорганизмов, растений и животных.

Цель проекта:

- Исследовать микроструктуру крыльев бронзовки, кузнечика, бабочки, а также наноструктуру крыльев бабочки.
- Выявить природу окраски покрова крыльев бабочки.

Задачи проекта:

- Изучить соответствующую литературу по данной теме.
- Провести экспериментальную часть.
- Выступить с результатами исследований на конференции и уроках биологии.

Методы проекта:

- Оптической и сканирующей зондовой микроскопии
- Аналитический

Аналитическая часть

Методы исследования морфологии биологических объектов

Оптическая микроскопия

Это совокупность методов изучения мелких и мельчайших объектов с помощью различных оптических микроскопов. Эти методы существенно зависят от типа объектива микроскопа, вспомогательных приспособлений к нему, вида микрообъекта и способа подготовки его для наблюдения, а так же от характера его освещения при наблюдении.

С помощью оптического микроскопа можно изучать объекты, отстоящие друг от друга на 0,2 мкм. Однако трудности изучения клеток связаны с тем, что многие из них прозрачны, поэтому открытие их структур состоялось только после введения в практику красителей. Они обеспечивают достаточный контраст изображения. Самыми маленькими объектами, которые можно различать в оптическом микроскопе являются бактерии и митохондрии.

Для продолжительных по времени исследований клетки необходимо зафиксировать, для чего препараты обрабатывают фиксирующими агентами. Такая подготовка значительно ограничивает возможности исследования.

Электронная микроскопия

Это метод исследования структур, находящихся вне пределов видимости светового микроскопа и имеющих размеры менее одного микрона (от 1 мк до 1—5 Å). Действие электронного микроскопа (рис.) основано на использовании направленного потока электронов, который выполняет роль светового луча в световом микроскопе, а роль линз играют магниты (магнитные линзы).

Одним из самых больших недостатков электронной микроскопии является то, что биологические объекты необходимо подвергнуть специальной обработке. Сначала их фиксируют глутаровым альдегидом, а затем осмиевой кислотой. Электроны обладают низкой проникающей способностью, поэтому надо делать сверх тонкие срезы, а для этого образцы обезвоживают и пропитывают солями тяжёлых металлов (уран, свинец).

Основными и существенными недостатками этих методов является длительность, сложная и высокая стоимость приготовления образца.

Сканирующая зондовая микроскопия

В сканирующем зондовом микроскопе (СЗМ) вместо электронного луча или оптического излучения используется заостренный зонд, сканирующий поверхность образца. В оптических или электронных микроскопах образец осматривается, а в СЗМ - ощупывается. В результате можно получать трехмерные изображения объектов в разных средах: вакууме, воздухе, жидкости.

Одним из существенных преимуществ СЗМ является исследования биологических объектов (прежде всего клеток) в режиме реального времени, что позволяет даже снимать микрофильмы о некоторых биологических процессах, например, гибридизации двух комплементарных молекул ДНК. Можно получать трехмерные изображения, точно определять латеральные размеры объектов и шероховатость поверхности.

История создания сканирующего зондового микроскопа

В 1979 году швейцарские ученые Г. Биннинг и Г. Рорер, работающие в лаборатории Цюрихского отделения IBM, предложили новый принцип работы с физическими объектами: сканирующий зондовый микроскоп (СЗМ).

Принцип работы такого прибора заключается в том, что зонд подводят к исследуемой поверхности на очень близкое расстояние (доли ангстрема), подают между зондом и образцом постоянное напряжение, вследствие чего между ними возникает туннельный ток. Его величина сильно зависит от промежутка зонд-образец и поддерживается постоянной с помощью следящей системы, то опускающей, то поднимающей сканер в зависимости от рельефа исследуемой поверхности. Информацию об этом перемещении отслеживает компьютер, и после ее программной обработки можно "увидеть" поверхность образца.

В 1986 году ученые Г. Биннинг и Г. Рорер были удостоены Нобелевской премии по физике за изобретение СТМ.

В 90-х годах прошлого столетия появилось множество работ, доказывающих возможность успешного использования сканирующей зондовой микроскопии в исследованиях биологических объектов.

Структура крыла бабочки и природа окрашивания крыльев

Крылья покрыты чешуйками, от структуры и расположения которых зависит рисунок. Именно поэтому бабочек и называют чешуекрылыми. Чешуйки представляют собой видоизмененные волоски и располагаются

правильными рядами поперек крыла: концы чешуек обращены к боковому краю крыла, а их основания прикрыты черепицеобразно концами предыдущего ряда.

Для каждого вида бабочек характерны своя форма, оптические и химические свойства находящихся на крыльях чешуек. В редких случаях чешуйки на крыльях отсутствуют, и тогда крылья кажутся совершенно прозрачными, как, например, у стеклянниц.

Секрет фантастической красоты и поразительного разнообразия бабочек именно в чешуйках, цвет, структура и расположение которых определяют причудливость.

По характеру окраски чешуйки делятся на пигментные и оптические.

Обычная пигментная окраска

Крылья одних бабочек состоят из пигментных чешуек, и тогда они окрашены в какой-либо один цвет (лимонницы, белянки и т.д.). Пигменты способны поглощать какую-то часть лучей спектра. Ту часть спектра, которую отражает предмет, наш глаз и воспринимает как цвет. Каждая чешуйка содержит лишь один пигмент. Часто это меланины, которые придают чешуйкам чёрный и коричневый цвета. Меланины вырабатываются самой бабочкой, но другие пигменты могут быть получены и из веществ, входивших в меню гусениц. Так, зелёный пигмент — из съеденного ими с листьями хлорофилла. Жёлтая и красная окраска бабочек (кроме белянок) связана с питанием растениями, содержащими каротин, окрашивающий, например, морковь. Хотя пигментная окраска и бывает очень яркой, она всегда матовая и лишена блеска (рис 1).

Структурная окраска

Бабочки урании, парусники, морфиды и др. могут похвастаться оптическими чешуйками - блестящими, заметно переливающимися на солнце и придающими крыльям этих насекомых необыкновенную яркость и красочность. Кроме того, оптические чешуйки имеют особенное строение, благодаря которому окраска крыльев бабочки меняется в зависимости от освещения: лучи солнца, падающие с различных сторон, создают на крыльях бабочек настоящую разноцветную радугу. В них нет пигмента, а причина блестящей металлической окраски и сияющих цветных переливов в том, что белый свет, преломляясь в полых тонких чешуйках, разлагается на отдельные цвета спектра.

Структурная окраска покрова объясняется взаимодействием света с периодическими наноструктурами, расположенными на крыльях бабочки. При отражении света от этих структур, происходит перераспределение

интенсивности света в результате наложения нескольких световых волн (интерференция), отклонения света от прямолинейного распространения (дифракция) и рассеивание волн - вот мы и видим цвет. Это окраска оптического изображения (рис 2).

Сочетание пигментной и структурной окраски

Синий цвет создаётся структурной окраской за счёт чешуек, но при добавлении жёлтого пигмента появляется зелёный цвет (рис 3).



Рис. 1



Рис. 2



Рис. 3

Экспериментальная часть

Изучение структуры крыла с помощью обычного школьного микроскопа (увеличение 8*20)

Крылья бабочек состоят из чешуек — это изменённые волоски. Число чешуек на одном крыле может достигь миллиона (рис.1).

Крылья жуков не одинаковы по своему строению и значению. Ко второму членику груди, прикреплены твердые бурые надкрылья, а к третьему – пара больших полупрозрачных летательных крыльев.

Внешне поверхность надкрыльев выглядит гладкой, однако при осмотре – через обычный микроскоп – становится заметно, что она имеет неоднородную структуру (рис.2).

По всей поверхности крыла кузнечика располагаются трубчатые утолщения – жилки: в них лежат нервные волокна и трахеи. Между жилками находятся ячейки (рис. 3).



Рис.1

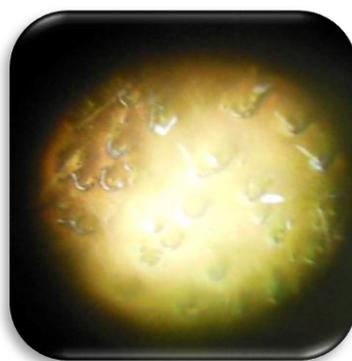


Рис.2

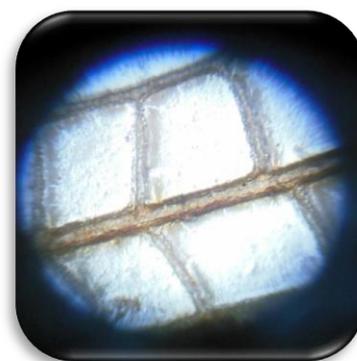


Рис.3



Изучение структуры крыла с помощью цифрового оптического микроскопа

(объективы с увеличением 5х, 10х, 20х, 50х, 100х)

На надкрыльях бронзовки хорошо заметны выпуклости и углубления (рис.1-5)

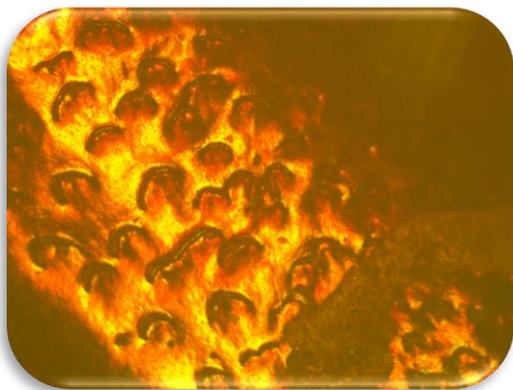


Рис.1 (5х)



Рис.2 (10х)

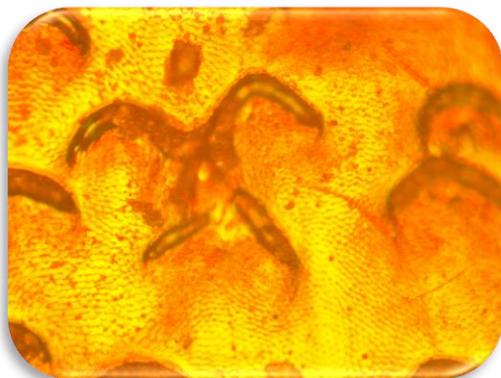


Рис.3 (20х)

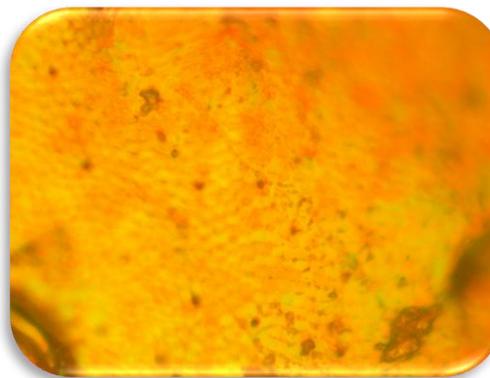


Рис.4 (50х)

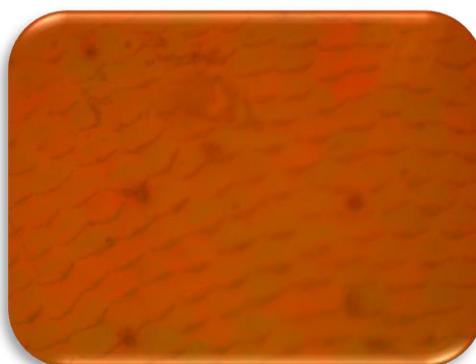


Рис. 5 (100х)

На крыльях бабочки видны чешуйки (рис. 1-4)

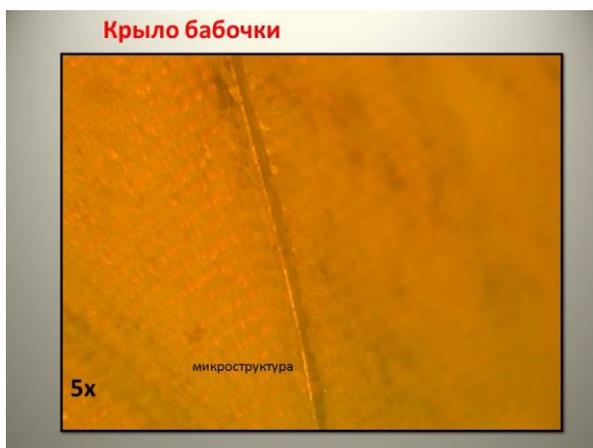


Рис.1



Рис.2



Рис.3



Рис.4

Пятна на крыльях не круглые (как кажется), а имеют неопределённую форму и тоже состоят из чешуек (рис. 1,2)

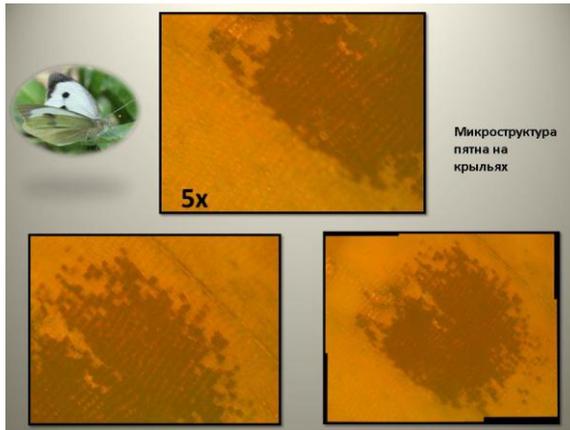


Рис.1

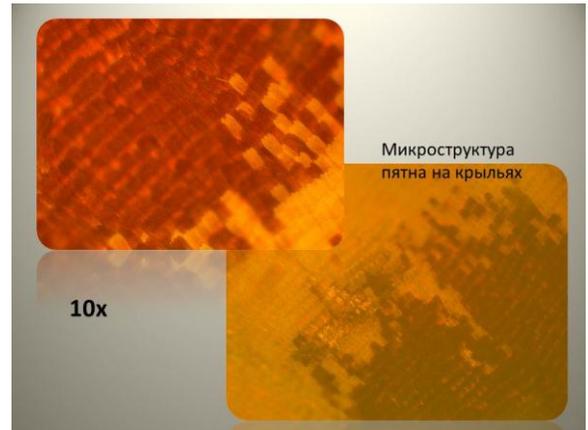
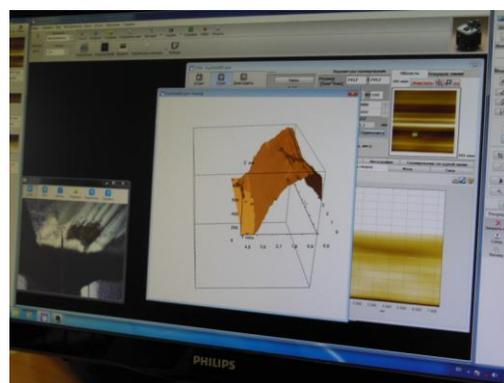
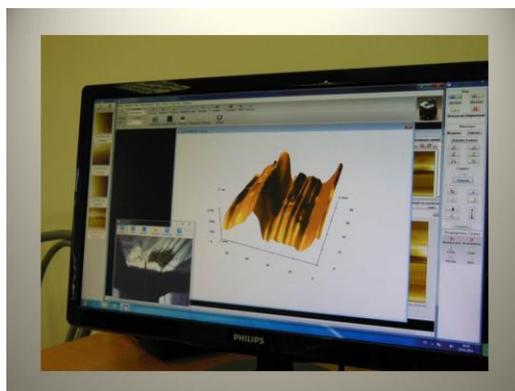


Рис.2

Изучение структуры крыла с помощью сканирующего зондового микроскопа

Сканирующий зондовый микроскоп позволил увидеть наноструктуру объектов в трёхмерном изображении. Наночастички чешуйки крыла бабочки имеют выпуклости, бороздки, которые не были видны в цифровой оптический микроскоп.



Можно выделить параллельный массив борозд, а также массивы поперечных перемычек. Наноструктуры имеют определённый период.

Заключение

- С помощью оптической микроскопии мы увидели объекты микронного диапазона, расположенных на поверхности крыла бабочки.
- С помощью СЗМ мы увидели, что на поверхности крыльев есть периодические объекты разного масштабного диапазона, в том числе и нанометрового.
- При проведении СЗМ исследований, выявлено, что за окраску различных участков крыла отвечает структурированная сеть нанообъектов, расположенных между бороздами микронного размера. Каждому участку крыла соответствует свой уникальный период упорядоченных нанообъектов.
- Окраска крыла связана с процессами дисперсии, интерференции, дифракции света.

Литература

1. Методическое пособие «Шаг за шагом в нано мир». ООО «НТ-СПБ».
2. <http://www.danaida.ru/obsh/krul.htm>, <http://web-zoopark.ru/>