

## ПОРОГОВЫЙ И КОЛОРИМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОДЫ ИЗУЧЕНИЯ ЦВЕТОВОГО ЗРЕНИЯ

М. С. СМЕРНОВ и М. М. БОНГАРД

*Институт биологической физики АН СССР, Москва*

### Постановка вопроса

Вопрос о том, сколько приемников имеет глаз данного животного, каковы их спектральные характеристики, при каких состояниях адаптации каждый из этих приемников работает, а при каких нет,— является интересным и важным вопросом в области изучения цветового зрения человека и животных.

Для решения этих задач используются обычно два метода: измерение минимальных энергий света, необходимых для возникновения возбуждения (пороговый метод) и подбор двух излучений различного спектрального состава, не различаемых глазом один от другого (колориметрический метод). Пороговый метод привлекает исследователя своей относительной простотой, колориметрический же при большей сложности эксперимента дает возможность получить более полные сведения о приемниках глаза. К сожалению, на некоторые преимущества колориметрии многие исследователи не обращают должного внимания. Этим, повидимому, объясняется ничтожный процент работ по изучению цветового зрения животных, проведенных колориметрическим методом.

Настоящая статья посвящена сравнению границ применимости колориметрического и порогового методов, а также оценке их преимуществ и недостатков.

### Применение порогового метода в случае, когда работает один приемник

Наиболее простым для исследования является случай, когда работает только один приемник глаза. При этом вовсе не обязательно, чтобы глаз животного вообще обладал только одним приемником, как, например, глаз человека-ахромата. После темновой адаптации при малых яркостях и у нормального трихромата работает только один (сумеречный) приемник. Можно ли пороговым методом найти кривую спектральной чувствительности в подобном случае?

Как известно, отношением чувствительностей приемника к разным длинам волн называется величина, обратная отношению энергий этих длин волн, приводящих приемник в одинаковые состояния. По самому смыслу понятия «порог» два пороговых раздражителя разной длины волны приводят приемник в одинаковые состояния (состояния наименьшего возбуждения). Поэтому знание пороговых энергий света позволяет найти отношения чувствительностей приемника к излучениям с разной длиной волны.

Само собой разумеется, что при этих измерениях состояние адаптации должно быть совершенно постоянным. Если, например, производить измерения порогов при незакончившейся темновой адаптации, то полу-

ченная «чувствительность» окажется завышенной для тех длин волн, пороги к которым определялись позднее.

Итак, применяя пороговый метод, можно получить спектральную характеристику приемника в случае, если в условиях эксперимента функционирует только один этот приемник. Причем опыт нельзя вести на фоне изменяющейся адаптации. Состояние приемника должно быть постоянным.

### Возможности порогового метода в случае работы нескольких приемников

Далеко не для всякого приемника глаза можно создать такие условия, когда работает только он один. Нельзя ли применить пороговый метод для получения кривой спектральной чувствительности приемника в случае, если одновременно с ним работают еще и другие приемники? К сожалению, нельзя. Дело в том, что только при работе одного приемника существует упомянутая выше простая зависимость между порогами и чувствительностью (пороги обратно пропорциональны чувствительности). В случае одновременной работы двух и более приемников, дающих качественно разные реакции, систему вообще нельзя охарактеризовать одной общей чувствительностью. Если, как это часто делается, формально ввести понятие «чувствительность» и для этого случая как величины, обратной пороговой энергии, остается совершенно невыясненным вопрос о связи между такой «чувствительностью» и чувствительностью каждого из приемников. А без знания этой связи, как легко видеть, нельзя по порогам найти кривые спектральной чувствительности приемников. Более того, очевидно, что сама по себе пороговая кривая, характеризующая каждую точку спектра всего одним числом, содержит недостаточное количество данных для нахождения чувствительности нескольких приемников.

Гранит [1] пытается обойти это затруднение, снимая пороговые кривые при нескольких разных состояниях адаптации. При расчетах он постулирует, что «чувствительность» системы равна сумме чувствительностей отдельных приемников. Так как в опыте измеряются пороги, то этот постулат сводится к утверждению: если порог одного приемника  $r_1$ , а другого  $r_2$ , то общий порог системы:

$$R = \frac{r_1 r_2}{r_1 + r_2}.$$

Экспериментальной проверки этого соотношения между порогами никто не предпринимал, хотя оно вовсе не является очевидным. Наоборот, можно привести примеры физиологических приемников, взаимодействие которых не подчиняется этому закону. Если взять два звуковых тона разной высоты, каждый из которых по интенсивности составляет 0,6 порогового, то аккорд из них будет подпороговым (частоты этих звуков должны достаточно различаться и не находиться в простом кратном соотношении). С точки зрения «закона сложения чувствительностей» аккорд должен быть надпороговым.

Поскольку метод Гранита не обоснован и так как в настоящее время законы взаимодействия отдельных приемников неизвестны, мы неизбежно приходим к выводу, что в условиях, когда один стимул одновременно возбуждает несколько приемников, пороговый метод, даже в соединении с методом избирательной адаптации, оказывается бессильным. Единственное, что можно установить с его помощью,— это наличие более чем одного приемника (по сдвигу пороговой кривой после цветовой адаптации). Ни уточнить число приемников (два, три и т. д.), ни получить их спектральные характеристики пороговым методом нельзя.

### Пороговый метод в сочетании с применением микроэлектродов

Попыткой обойти трудности, разобранные в предыдущем параграфе, являются работы, в которых один приемник «отделяется» от других с помощью микроэлектродов [1]. Идея метода заключается в том, что если подключиться к нервному волокну, с которым соединен только один приемник\*, то пороговая кривая в этом случае должна непосредственно дать кривую чувствительности этого приемника.

Как известно [3], между близко расположенными элементами сетчатки существуют сложные отношения взаимного возбуждения и торможения. Освещение соседних элементов, в зависимости от их взаимного расположения, может как повышать, так и понижать чувствительность элементов сетчатки, соединенных с исследуемым волокном. Если соседние элементы обладают иной, чем у исследуемого участка, спектральной чувствительностью, то торможение или возбуждение будет разным в разных участках спектра. Из-за этого кривая спектральной чувствительности исследуемых элементов может резко изменяться (возможно, этим и объясняется большое разнообразие «модуляторов» Гранита). Поэтому следует с большой осторожностью относиться к полученным этим методом кривым и во всяком случае стараться проверить их другими способами.

### Колориметрия при одном работающем приемнике

Рассмотрим теперь возможности колориметрического метода. Если в глазе функционирует только один приемник, любые два излучения можно сделать неразличимыми для животного (или человека) подбором их мощностей. Колориметрия в этом случае сводится к подбору для разных длин волн мощностей, при которых эти излучения эквивалентны для глаза. Кривая обратных эквивалентных мощностей («кривая сложения») является по определению кривой чувствительности приемника.

Что же нового дает колориметрия в этом случае? Ведь и пороговым методом можно найти кривую спектральной чувствительности, когда работает один приемник. В отличие от порогового, колориметрический метод можно использовать и во время продолжающейся адаптации. В самом деле, при колориметрии мы сравниваем между собой чувствительность приемника к двум разным длинам волн в одно и то же время. Если через некоторое время общая чувствительность и изменится, но останется прежней относительная спектральная чувствительность приемника, мы снова в опыте получим ту же величину.

До сих пор мы подразумевали, что приемник имеет постоянную кривую спектральной чувствительности, не зависящую от яркости тестового поля и состояния адаптации. Так как колориметрическим способом можно исследовать работу приемника при любой яркости поля, то он дает возможность проверить, действительно ли это допущение справедливо во всех случаях. Выяснить это важно для теории первичных процессов в сетчатке. Пороговым же методом при каждом состоянии адаптации можно исследовать работу приемника лишь при одной определенной яркости.

Таким образом, хотя при наличии только одного функционирующего приемника пороговый метод вполне применим, колориметрическое исследование может дать значительно более полную картину работы приемника в разных условиях.

\* Заметим при этом, что нам представляется весьма сомнительным, чтобы у животных разные дневные приемники посылали сигналы по разным волокнам. Смирнов [2] показал, что каждая колбочка глаза человека содержит все три дневных приемника. Однако мы оставим эти сомнения в стороне и обсудим возможности порогового метода, предположив, что каждое волокно передает сигналы только одного приемника.

### Колориметрия в общем случае

Как мы уже говорили, пороговым методом можно лишь установить, работает один приемник или несколько. С помощью же колориметрии мы сразу определяем, сколько приемников работает одновременно. Для этого нужно установить, из скольких излучений можно составить комбинацию, неотличимую от любого цвета. Если для глаз животного любой цвет можно составить из двух излучений, значит, работают два приемника, если из трех — три и т. д.

Для более подробной характеристики зрения нужно снять кривые сложения. Теперь цветовое зрение глаза характеризуется не одной кривой сложения (как при работе одного приемника), а несколькими кривыми, по числу работающих приемников. Во многих случаях по кривым сложения удается приближенно вычислить и кривые спектральной чувствительности приемников [4].

Метод колориметрии дает возможность изучить работу одного приемника на фоне работы нескольких других. При этом удастся не только заметить, что работает какой-то приемник, но и установить по кривой его спектральной чувствительности, что это за приемник.

Нами [5] было показано, что сумеречный приемник у лягушки и человека не перестает работать при больших яркостях, а продолжает функционировать наряду с дневными приемниками. В настоящее время не существует другого метода, который дал бы возможность провести подобные исследования.

Разумеется, и при исследовании нескольких приемников в полной мере сохраняются такие преимущества колориметрии, как возможность вести опыт при нестационарных состояниях адаптации и при разных яркостях стимулов.

### Выводы

Сопоставим возможности порогового и колориметрического способов исследования цветового зрения.

С помощью порогового метода можно:

- 1) исследовать ход адаптации;
- 2) найти кривую спектральной чувствительности приемника, когда функционирует только он один;
- 3) определить наличие более чем одного приемника (в сочетании с цветовой адаптацией).

С помощью порогового метода невозможно:

- 1) исследовать кривую чувствительности приемника в условиях нестационарной адаптации;
- 2) исследовать приемник при больших яркостях тестового поля;
- 3) определить количество функционирующих приемников, когда их несколько;
- 4) определить кривые спектральной чувствительности нескольких одновременно работающих приемников;
- 5) отличить случай, когда при разных состояниях адаптации работают разные приемники, от случая, когда при изменении адаптации постепенно изменяется кривая чувствительности одного и того же приемника.

С помощью порогового метода можно:

- 1) определить число одновременно работающих приемников;
- 2) вести исследования при изменяющемся в процессе опыта состоянии адаптации;
- 3) исследовать работу приемников при произвольной яркости тестового поля;
- 4) определить кривые сложения, характеризующие цветоразличительные свойства глаза;

5) приближенно найти кривые чувствительности нескольких одновременно работающих приемников;

6) отличить случай изменения свойств какого-либо приемника при изменении условий опыта от случая появления нового приемника.

Мы видим, что, за исключением некоторых исследований адаптации, где требуется быстрота измерений, колориметрия имеет неоспоримые преимущества при изучении цветового зрения. Поэтому, несмотря на простоту пороговой методики, для решения большинства задач приходится предпочесть колориметрию.

Поступила в редакцию  
15. X. 1955

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Granit R. Sensory mechanisms of the retina. 1947.
2. Смирнов М. С. ДАН, 103, 3. 1955.
3. Barlow H. V. J. Physiol., 119, 1, 69. 1953.
4. Бонгард М. М. и Смирнов М. С. ДАН, 102, 6. 1955.
5. Бонгард М. М. ДАН, 103, 2. 1955.

## О ПРИМЕНЕНИИ РЕНТГЕНОВСКОЙ ТЕНЕВОЙ МИКРОСКОПИИ В БИОЛОГИИ

Б. М. РОВИНСКИЙ, В. Г. ЛЮТЦАУ и А. И. АВДЕЕНКО

*Институт машиноведения АН СССР, Москва*

Замечательные свойства рентгеновских лучей, как известно, были использованы в медицине непосредственно после их открытия. На протяжении более полувека совершенствовались методы рентгеновских исследований и аппаратура, и в результате сформировалась самостоятельная отрасль знания — рентгенология. Однако до последнего времени рентгеновские лучи использовались в медицине и в биологии в основном при изучении довольно крупных, макроскопических объектов.

Значительный интерес представляет использование рентгеновских лучей для микроскопических исследований. Рентгеновские лучи незначительно преломляются в материалах, поэтому невозможно конструировать рентгеновский микроскоп по типу оптического. Однако известен другой способ построения рентгеновского микроскопа, основанный на использовании расходящегося пучка рентгеновских лучей, исходящих из «точечного» источника, т. е. теневой метод.

Разрешающая способность теневое микроскопа определяется в основном размером источника и длиной волны применяемого излучения. Зависимость между размером источника излучения и величиной максимально возможного увеличения при теневом методе выражается формулой:  $r = \frac{R}{M-1}$ , где  $r$  — радиус источника излучения,  $M$  — увеличение,  $R$  — ширина полутени на увеличенном изображении (должна быть менее 0,1 мм, т. е. не разрешима глазом). Простой расчет показывает, что для получения четкого изображения с увеличением в 100 раз необходим источник излучения радиусом в 1 мк. Выбор наиболее выгодного излучения диктуется соотношением коэффициентов поглощения рентгеновских лучей в различных микроучастках исследуемого объекта. Таким образом, основная трудность в построении рентгеновского микроскопа теневое типа заключается в создании «точечного» источника излучения.

Обычные рентгеновские трубки, применяемые в технике и медицине, имеют «фокус» довольно больших размеров — порядка одного миллиметра, а в специальных трубках — порядка десятых долей миллиметра. С помощью таких трубок можно производить съемки объектов, находящихся вблизи фотоматериала, т. е. практически без увеличения. В технике для исследования некоторых особенностей строения металлов за последнее время получил распространение метод контактной микрорентгенографии [1]. При этом для просвечивания тонких срезов, находящихся в непосредственном контакте с фотопластинкой, используются параллельные пучки рентгеновских лучей, получаемых от обычных трубок. После экспонирования и фотообработки снимки увеличиваются фотографическим способом в 50—100 раз. Ввиду относительно высокой жесткости излучения

\* Печатаемые ниже работы Б. М. Ровинского, В. Г. Лютцау и А. И. Авдеенко; Т. Н. Евреиновой; Г. М. Майбороды доложены на Конференции по вопросам применения в биологии новых методов микроскопии (состоялась 21—23.XII.1955 г. в Москве).