



Central European Journal of Zoology

Has been issued since 2015.
E-ISSN 2500-3739
2018. 4(1). Issued once a year

EDITORIAL BOARD

Bityukov Nikolai – Sochi State University, Russian Federation, Sochi, Russian Federation (Editor in Chief)

Bensouilah Taqiyeddine – University of Badji Mokhtar, Annaba, Algeria

Khasanova Alfiya – Naberezhnye Chelny State Pedagogical University, Naberezhnye Chelny, Russian Federation

Mchedluri Tea – Telavi State University, Telavi, Georgia

Simonovich Elena – Southern Federal University, Rostov-on-Don, Russian Federation

Journal is indexed by: **OAJI, MIAR**

All manuscripts are peer reviewed by experts in the respective field. Authors of the manuscripts bear responsibility for their content, credibility and reliability.

Editorial board doesn't expect the manuscripts' authors to always agree with its opinion.

Postal Address: 1367/4, Stara Vajnorska str.,
Bratislava – Nove Mesto, Slovakia, 831 04

Release date 01.09.18.
Format 21 x 29,7/4.

Website: <http://ejournal40.com/>
E-mail: sochio03@rambler.ru

Headset Georgia.

Founder and Editor: Academic Publishing
House Researcher s.r.o.

Order № CEJZ-4.

Central European Journal of Zoology

2018

1
Is.

CONTENTS

Articles and Statements

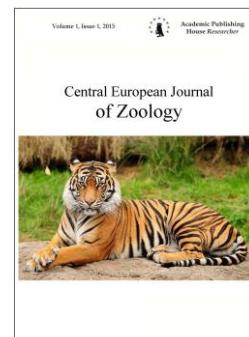
Technical and Methodical Notes on the Lensless Holographic Microscopy Applications for Helminthology and Zooparasitology. Case I: Spectrozonal/Multispectral Analysis of <i>Ascaris Lumbricoides</i> based on Coherent and Incoherent Light Sensor Platforms P.A. Nasirov, A.G. Jablokov, O.V. Gradov	3
Towards the Correlation-Spectral Multi-Channel Imaging [Comment to: “Spectrozonal Incoherent Lens-Less Imaging of Butterfly Leg and Laser Scanning Regime with Optical Aberrations for the Butterfly Leg Study in Single R-Spectral Channel”] O.V. Gradov	13
Spectrozonal Incoherent Lens-Less Imaging of Butterfly Leg and Laser Scanning Regime with Optical Aberrations for the Butterfly Leg Study in Single R-Spectral Channel A. Jablokov, P. Nasirov, A. Scrinnic, T. Orekhov	22
Pseudo-Volume Projection/Reflection Reconstruction of Diptera Parts Based on Lens-Less-Microscopy and Dynamic Lens-Less Microvolumetry Lab Equipment and Atomic Force Microscopy Software P. Nasirov, A. Jablokov, A. Skrinnik, S. Pankratov	31
Spectrozonal Lens-Less Imaging of the Fish Tissue: RAW Data and Symmetry Analysis P.A. Nasirov, A.G. Jablokov, T.K. Orekhov, O.V. Gradov	40

Copyright © 2018 by Academic Publishing House Researcher s.r.o.



Published in the Slovak Republic
Central European Journal of Zoology
Has been issued since 2015.
E-ISSN 2500-3739
2018, 4(1): 3-12

DOI: [10.13187/cejz.2018.1.3](https://doi.org/10.13187/cejz.2018.1.3)
www.ejournal40.com



Articles and Statements

Technical and Methodical Notes on the Lensless Holographic Microscopy Applications for Helminthology and Zooparasitology. Case I: Spectrozonal/Multispectral Analysis of *Ascaris Lumbricoides* based on Coherent and Incoherent Light Sensor Platforms

Brief communication

Phillip A. Nasirov ^a, Arthur G. Jablokov ^a, Oleg V. Gradov ^a

^aTalroze Institute of Energy Problems of Chemical Physics, Moscow, Russian Federation

Abstract

The article considers the novel method and device for helminthology and zooparasitology for applied problem, known as the laser spectrozonal lens-less holographic ascariscope/ascarimeter (and consequently the concept approach – laser spectrozonal lens-less ascariscopy or ascarimetry). Our device was approved using *Ascaris lumbricoides* cross-section micropreparatus/sample for visualization in different spectrozonal channels. It is obvious, that the basic principle of laser-based analysis may be distributed not only as a simple laser ascariscopy and ascarimetry, but in frames of laser holographic, laser fluorescence, laser interferometric, laser speckle imaging (ESPI) and laser velocimetric setup schemes.

Keywords: ascariscope, ascarimeter, lens-less microscope, lens-less holography, electronic speckle pattern imaging (ESPI), spectrozonal imaging, multispectral mapping, colocalization.

1. Введение

Общеизвестно, что, наряду с такими высокоразвитыми, доступными лишь небольшому числу пользователей техниками, как аналитическая электронная микроскопия (Hemphill, Croft, 1997) и лазерная микроскопия и микродиссекция (Jones et al., 2004), в паразитологии активно используются стандартные рутинные методы оптической микроскопии, причем для ряда массовых задач, таких, например, как анализ фекального биоматериала на индикаторы инвазий (Petithory and Ardoine-Guidon, 1995), такие, например, как яйца *Ascaris lumbricoides*, *Dicrocoelium dendriticum*, *Schistosoma* sp., крючки для *Echinococcus granulosus*, личинки нематод, *Strongyloides stercoralis*, как правило, использование даже элементарных средств исследовательской микроскопии (специальные виды контраста, флуорохромирование и т.д.) является избыточным. Более того, часто перед производителями оборудования ставится не задача увеличения числа диагностических дескрипторов, а задача упрощения оборудования для массовости анализа (пример – так называемые гельминтоскопы, оптическая сложность которых не превышает сложность микроскопической оптики начала XIX века). В цифровую эпоху, на пути к массовой телемедицине, это приводит к созданию паразитологических или гельминтологических систем и средств виртуальной микроскопии (Alcalá-Canto et al., 2012; Abdul-Ghani, 2015), в частности – основанной на веб-интерфейсе (Linder et al., 2008). Если в

начале данного тренда комбинированные устройства телемедицинской паразитологической диагностики представляли собой обычные микроскопы с упрощенной оптической системой, снабженные веб-камерой, а затем и собственно короткофокусные веб-камеры с программой, позволявшей транслировать изображение через сеть в реальном времени, то впоследствии, с развитием разрешающей способности светочувствительных матриц и уменьшением размера пикселей, был произведен переход к безлинзовой микроскопии. Беезлинзовая микроскопия настолько малобюджетна, что её внедрение смогли позволить себе азиатские и африканские государства, в которых ранее развитая микроскопия являлась существенной материальной и организационной помехой внедрению микроскопического скрининга в протоколы системы массовой паразитарной диагностики. Пионером движения за демократизацию диагностики на основе безлинзовой микроскопии является Айдоган Озкан из UCLA. Были исследованы и внесены в базы данных для машинного обучения (обучение с учителем – supervised learning) морфометрические диагностические паттерны, релевантные для паразитологии, такие, как трипаносомы (возбудители сонной болезни) и малярийный плазмодий; в качестве образцов гельминтологической практики для свободноживущих круглых червей были исследованы и идентифицированы свободноживущие нематоды вида *Caenorhabditis elegans* (Coskun et al., 2011; Isikman et al., 2010, 2011, 2012; Bishara et al., 2010, 2012; Shimogawa et al., 2018). Методы машинного обучения были реализованы с использованием волонтеров на базе пакетов типа BIOGAMES, созданных для решения этой задачи (Mavandadi et al., 2012; Ozcan, 2014). Нужно отметить, что технологически удавалось достичь объёмной/ псевдообъёмной репрезентации гельминтологических и паразитологических объектов за счет использования голограмм на чипе и лазерных многоугловых технологий проецирования. В силу контактной локализации и возможностей программного обеспечения впоследствии была устранена дефокусировка и потребность в Y-позиционировании с помощью ручки тонкой настройки (Trujillo, Garcia-Sucerquia, 2014). Рекордные времена экспонирования были достигнуты на терагерцовой или фемтосекундной лазерной технике (Mendoza-Yero et al., 2013), но, в целом, измерения такого типа и регистрация псевдотрёхмерных голограммических паттернов и паттернов паразитов в лазерных шлирен-методах и спекл-опосредованных методах проецирования не требует этой экзотики и может быть реализована на лазерах из обычных лазерных указок. Поэтому, даже для полевых исследований в сверхнизкобюджетных условиях не представляет существенной проблемы проведение безлинзовых микроскопических и голограммических исследований на чипе. Нами был проведен комплекс исследований для не исследовавшихся таким методом в секционированном состоянии представителей семейства *Ascaridae*, представляющих особое паразитологическое значение в случае *Ascaris lumbricoides*.

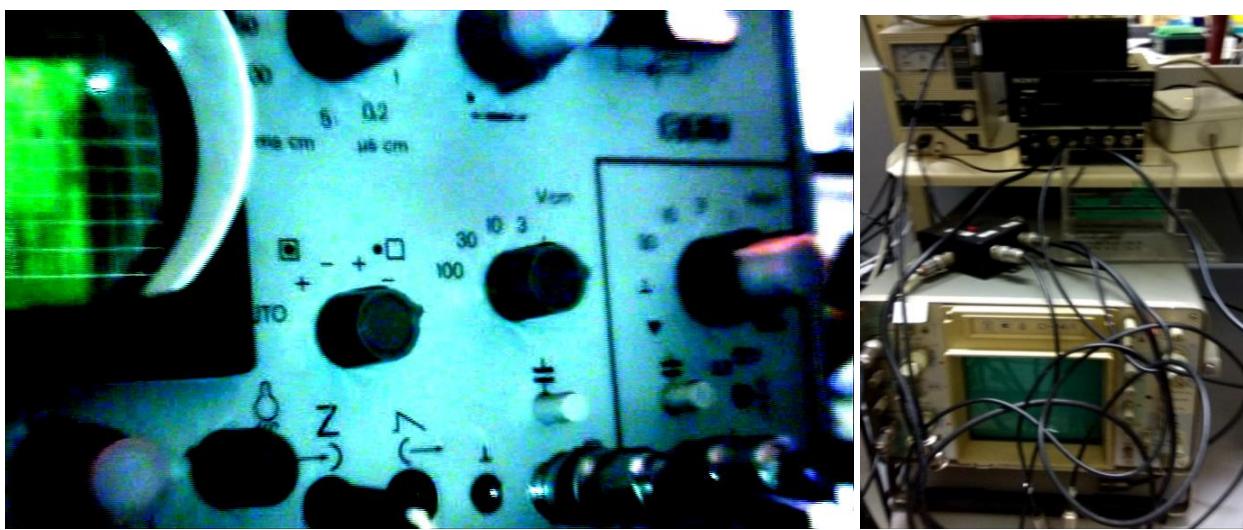


Рис. 1. Визуализация видеосигнала аскарископии возможна на модернизированном осциллоскопе-стереогониометре (слева) или осциллографе с XYZ-входами с сепаратором

2. Материалы и методы

Нами были реализованы несколько систем лазерной спектрゾональной аскарископии и аскариодографии на чипе. Аскарископы базировались на аналоговых матрицах – приборах с зарядовой связью (ПЗС) и выводом на осциллограф-стереогониометр с X-, Y- и Z-каналами или обычный высокочастотный осциллограф с X-, Y- и Z-каналами (см. [Рисунок 1](#)). Селективно выводить сигналы на многоканальный высокочастотный осциллограф позволял сепаратор с несколькими BNC-разъёмами конструкции Ф.А. Насирова, как это показано на приведенном выше рисунке. Цифровая версия (т.н. «askaridografiy») была имплементирована на основе КМОП-матриц стандартных веб-камер и КМОП-сенсоров камерофонов. Облучение образца осуществляли двумя способами – с помощью некогерентных источников (светодиодов, LED, спектрゾональная область эффективности которых подбиралась по соответствующему типу/составу полупроводника, как это показано в [Таблице 1](#)) и с помощью полупроводниковых или твердотельных лазеров, лазеров с диодной накачкой (DPSS) – как источников когерентного излучения. Если в первом случае являлись возможными только шлирен-техники аналитики объёма среза, то во втором случае – можно было производить расчеты по спекл-паттернам в области проекции отдельных анатомических структур. Измерения проводились синхронно – с визуализацией по трёхканальной схеме в RGB-каналах (красный, зеленый, синий) в случае использования LED «белого цвета» и в последовательном режиме, если источники спектра в различных поддиапазонах были разделены (т.н. «оптическое мультиплексирование»). При использовании матриц типа Foveon X3 имелась возможность измерения спектрゾональных сигналов в одной точке, но в случае использования фильтров Байера использовались только отдельные, разнесенные на размер пикселя (порядка микрон) для R, G и B каналов.

Таблица 1. Принцип подбора LED разных длин волн для спектрゾонального аскарископа

	Цвет	Длина волны (нм)	Материал полупроводника
	Инфракрасный	$\lambda > 760$	Арсенид галлия (GaAs) Алюминия галлия арсенид (AlGaAs)
	Красный	$610 < \lambda < 760$	Алюминия-галлия арсенид (AlGaAs) Галлия арсенид-фосфид (GaAsP) Алюминия-галлия-индия фосфид (AlGaInP) Галлия(III) фосфид (GaP)
	Оранжевый	$590 < \lambda < 610$	Галлия фосфид-арсенид (GaAsP) Алюминия-галлия-индия фосфид (AlGaInP) Галлия(III) фосфид (GaP)
	Жёлтый	$570 < \lambda < 590$	Галлия арсенид-фосфид (GaAsP) Алюминия-галлия-индия фосфид (AlGaInP) Галлия(III) фосфид (GaP)
	Зелёный	$500 < \lambda < 570$	Индия-галлия нитрид (InGaN) / Галлия(III) нитрид (GaN) Галлия(III) фосфид (GaP) Алюминия-галлия-индия фосфид (AlGaInP) Алюминия-галлия фосфид (AlGaP)
	Синий	$450 < \lambda < 500$	Селенид цинка (ZnSe) Индия-галлия нитрид (InGaN) Карбид кремния (SiC) в качестве субстрата Кремний (Si) в качестве субстрата
	Фиолетовый	$400 < \lambda < 450$	Индия-галлия нитрид (InGaN)

Ультрафиолетовый	$\lambda < 400$	Нитрид бора (215 нм) Нитрид алюминия (AlN) (210 нм) Нитрид алюминия-галлия (AlGaN) Нитрид алюминия-галлия-индия (AlGaNIn) – (менее 210 нм)
------------------	-----------------	---

3. Результаты

Результаты визуализации приводятся на серии [Рисунков 2 А-Е](#), для расшифровки которых предлагается воспользоваться поперечно-секционной схемой на [Рисунке 3](#):

При использовании красного спектрозонального диодного источника, который, в отличие от ОКГ (лазера) с узкой единичной длиной волны, имеет полуширину полосы в десять-двадцать нанометров, хорошо градиентно визуализируются не только оптически плотные контуры окрашенных границ препарата, но и почти все субкутикулярные структуры, причём, в силу градиентного отображения, они могут являться предметом микрофотометрического/-фотоколориметрического анализа. Уровень яркости некогерентного диодного источника не пересвечивает центральную зону препарата, вследствие чего эффекты «контрастной отсечки», свойственные лазерной безапертурной микроскопии, не обнаруживаются. Нами было проведено компартивное изучение возможностей визуализации в канале R для некогерентного и когерентного источника, как это показано на [Рисунке 2-а](#) и [Рисунке 2-б](#).

Качественно иная картина наблюдается при использовании зеленого диапазона – G-канала, так как гистологическая окраска препарата обладает существенным оптическим поглощением в зеленой области, вследствие чего контрастирование очень ярко выражено, как при шлирен-методе, причём затемненными являются те области, которые не проявлялись активно в красном (R) спектрозональном канале – например, гиподерма и, особо, боковые валики гиподермы. Аналитика микрофотометрического уровня при таком градиенте и контрасте произведена быть не может. Однако, что характерно, отдельные неоднородности иммерсии и свободные, в том числе – артефактные, неокрашенные клеточные элементы при этом визуализируются хорошо, так как их показатель преломления эффективен в зеленой области. Это показано на [Рисунке 2-В](#).

Для установления вклада различных пигментированных компонент в градиент оптической плотности на двух вышеуказанных спектрозональных диапазонах, а также для подбора оптимального аскарикопического режима измерений, нами был проведен цикл экспериментов по подбору оптимальных источников: белого / псевдо-белого (в аддитивном и субтрактивном аспекте) излучения. Принципы измерений на лазерных источниках континуума и суперконтинуума являются, с очевидных экономических позиций, избыточными для аскарикопических либо более общих гельминтоскопических задач, поэтому был принят протокол RGB-измерений при попеременно-изменяемых комбинациях диодных источников с различными длинами волн. Для двух вышеуказанных (R+G) каналов результат измерений приведен на [Рисунке 2-Г](#). С позиций рефракционного и шлирен-метода как источника гистометрических данных, можно заключить, что применение в аскариметрии на чипе комбинировано двух спектрозональных источников (R, G) позволяет не только сепарировать тени и, тем самым, выявить по формулам, общезвестным из курса инженерной оптики, объём препарата и высоту неких отдельно взятых органов над стеклянной подложкой, но и в чисто аналоговом (в отсутствие возможности компьютерной обработки по каналам) формате, выдать спектроморфологическую и гистохимическую картину образца, в том числе – на препаратах с многоцветным нефлуоресцентным окрашиванием устаревшими и редкими красителями с установлением колокализации на уровне, качественно не уступающем флуоресцентно-микроскопическим (а раз шлирен-техника даёт в объёме – то и конфокальным) методам визуализации.

Использование флуоресцентных, особо – аутофлуоресцентных и, в частности – хемилюминесцентных методов, необходимых для «безметочного» (“label-free”) анализа возможно проиллюстрировать следующим образом: так как известны и хорошо изучены спектральные диапазоны и точные длины волн возбуждения флуоресценции и испускания фотонов флуоресценции (эмиссии), можно, зная в качестве пререквизита оптимальные

длины волн возбуждения, анализировать с помощью небольшого сдвига относительно этих длин волн нефлуоресцентную и флуоресцентную картину в колокализации. При этом значение дельт длин волн могут быть пренебрежительно малы или располагаться в едином субдиапазоне и детектироваться единым детектором (например, отдельным каналом – типа R или G или B). На [Рисунке 2-д](#) показана «шириен-фотограмма» поперечного среза аскариды в В-канале, выполненная с применением синего диодного источника («коротковолновая спектральная аскариограмма»). Часть компартментов на данной иллюстрации очевидно переконтрастирована. Однако, при сдвиге далее в коротковолновую область, в пучке фиолетового DPSS-лазера соответствующие этим местам микроанатомические детали порождают высвечивание (эмиссию) в более длинноволновой/более «красной» области, проецируемую не как тень, а как свечение источника. Это показано на [Рисунке 2-Е](#) – вполне очевидно, что в районе 400 нм хорошо флуоресцируют многие естественные и гистохимические агенты.

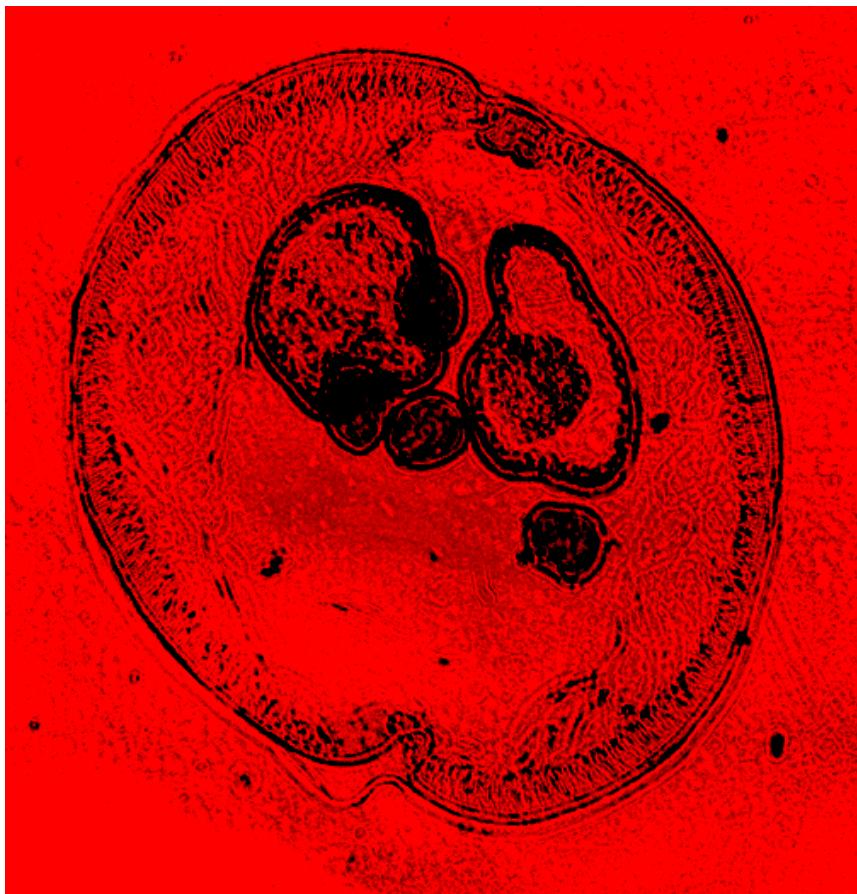


Рис. 2-а. Срез аскариды. R-канал. Некогерентный источник

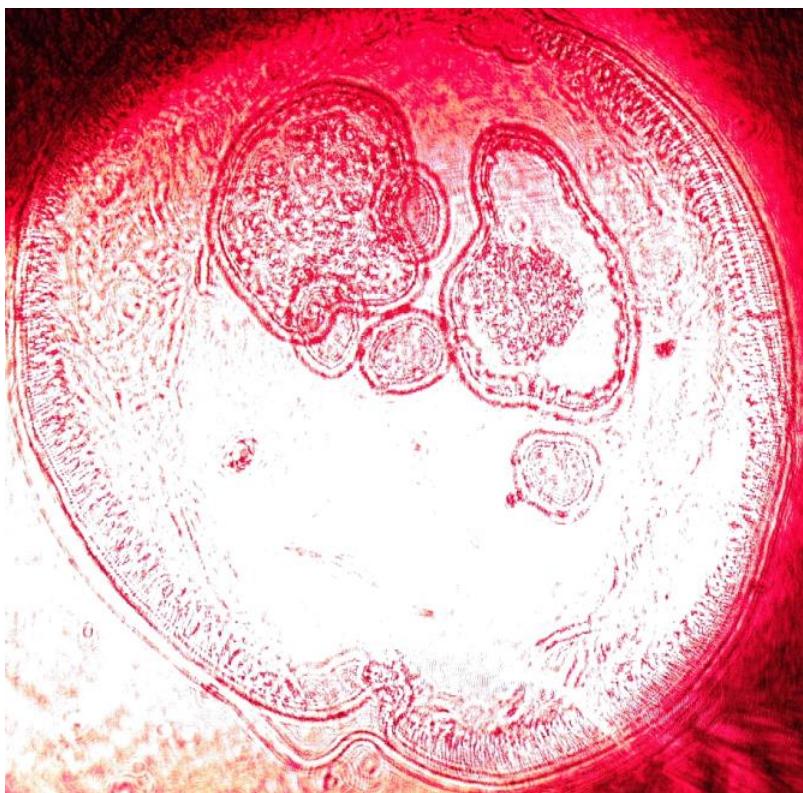


Рис. 2-б. Срез аскариды. R-канал. Лазерный безапертурный источник

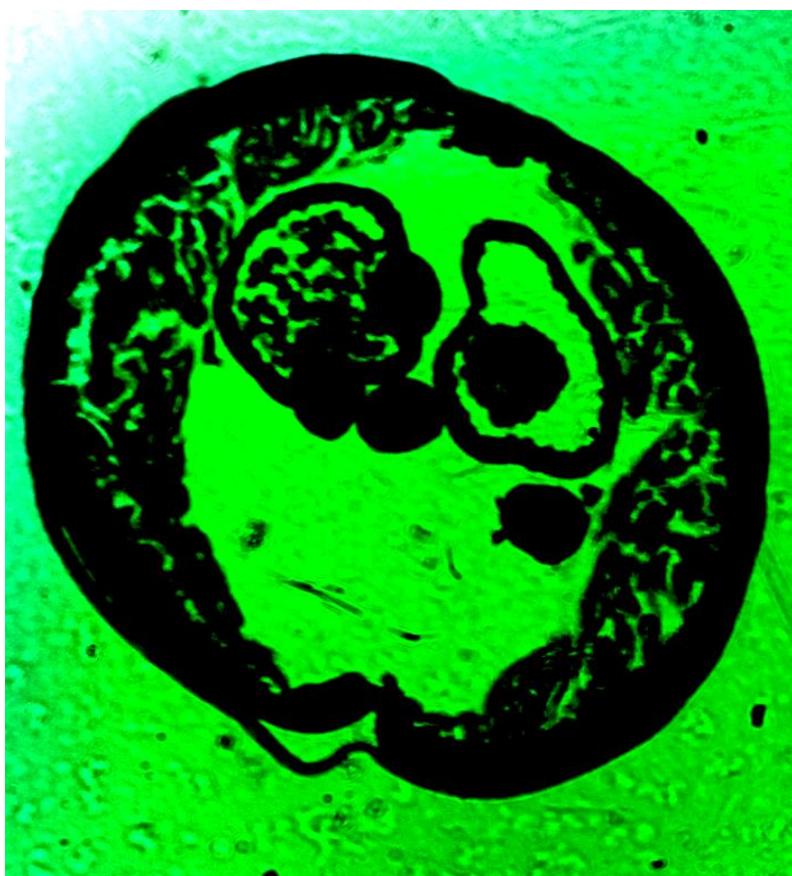


Рис. 2-в. Срез аскариды. G-канал. Некогерентный источник



Рис. 2-г. Срез аскариды. Неполный псевдоконтинум (RG...-LED)

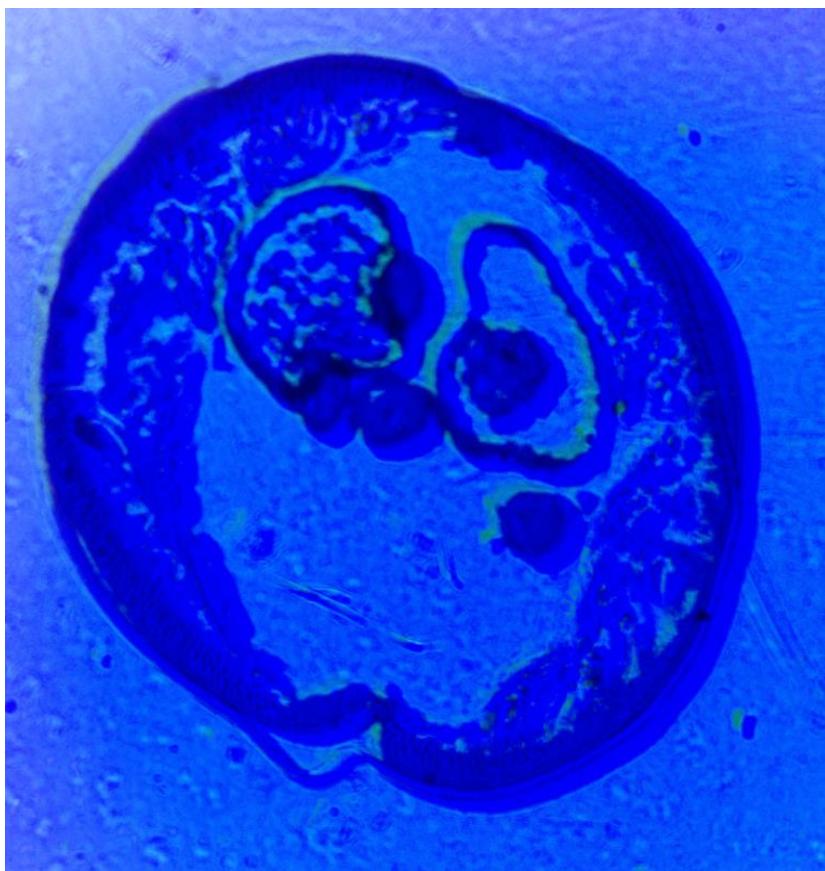


Рис. 2-д. Срез аскариды. В-канал. Некогерентный источник



Рис. 2-е. Срез аскариды. В-канал при источнике ближнего УФ-диапазона

4. Обсуждение



Рис. 3. Анатомическая схема поперечного среза

Существенную проблему для достаточно эффективной визуализации аскарид является подбор спектрональных источников, так как, как можно видеть из приведенных в разделе «Результаты» изображений, не все спектрональные диапазоны характеризуются точной и достаточно высокоразрешающей и контрастной прорисовкой структур. Вместе с тем, как это видно из [Рисунка 2-г](#), неполные спектрональные выборки не дают качественного результата в той мере, в какой бы это хотелось видеть, исходя из резольвометрических соображений (ср. с [Рисунка 2-а](#), [Рисунка 2-б](#)) либо несут избыточную информацию, нерелевантную для измерений целевых показателей. Решение этой задачи является предметом описания одной из наших ближайших статей, существующей в настоящее время только в виде препринта с датасетами ([Nasirov et al., 2018](#)) и планирующихся к публикации в

журнале настоящего издательства. В качестве некоторых базовых возможностей развития метода можно назвать ряд вариантов:

1. Аскариметрия с использованием лазеров на парах металлов. Позволяет реализовать в устройстве также функции лазерной проекционной микроскопии.
2. Аскариметрия с использованием терагерцовых фемтосекундных лазеров. Позволяет с высокой степенью достоверности характеризовать хиральные структуры в ткани.
3. Аскариметрия на химических лазерах. Не требует высоковольтного питания – в силу чего может быть имплементирована в полевых / полигонных условиях.
4. Эксимерная лазерная аскариметрия. Может быть реализована как «тераностика», где синхронизируются микропучковые манипуляции на препарате и измерение свойств.
5. Квантронно-лазерная аскариметрия или лазерная аскариметрия (ЛА) с квантронной накачкой. Позволяет инициировать термические процессы в образце, благодаря чему может быть также использована как средство термоаналитической тераностики.
6. Иразерная и ИК-мазерная (нем. *infrarotmaser*) аскариметрия. За исключением чисто физических аспектов может быть приближена к задачам п. 5. Квантово-каскадная (с использованием полупроводниковых QCL) аскариметрия также относится к методам инфракрасного диапазона зоопаразитологического назначения. Газодинамическая лазерная аскариметрия с тепловой накачкой подразумевает лишь накачку тепловым, т.е. инфракрасным источником.
7. Перестраиваемая по длине волны лазерная аскариметрия с использованием лазеров – таких, как титан-сапфировый лазер (690–1100 нм), Cr:ZnSe лазер (1970–2760 нм), Fe:ZnSe лазер (3950–5050 нм) и жидкостные лазеры на красителях (400–700 нм). Ту же функцию возможно реализовать оптические параметрические генераторы в схеме с лазерной накачкой заданной длиной волны, мехатронным изменением ориентации кристалла, термической регуляцией состояния кристалла.

5. Благодарности

Работа инициирована в рамках конкурса на выполнение научно-исследовательских и опытно-конструкторских проектов, реализуемых на базе ФГАОУ ВО РУДН с возможностью создания структурных подразделений на базе ФГАОУ ВО РУДН по тематике «Исследование механизмов патогенеза социально значимых, инфекционных и паразитарных заболеваний в целях повышения эффективности их диагностики и терапии», 2017 года (ныне – в правовых рамках академической единицы САЕ2 РУДН); без финансовой поддержки ФГАОУ ВО РУДН и иных структур.

Работа выполнена в рамках гранта РФФИ 16-32-00914 (2016-2017 гг.) «Создание новых физических методов комплексной биомедицинской диагностики, базирующихся на принципах позиционно-чувствительного картирования с угловым разрешением на тканевом и клеточном уровне организаций в аналитических чипах» полностью в рамках средств этого проекта.

References

- [Abdul-Ghani, 2015](#) – Abdul-Ghani R. (2015). Towards e-parasitology: making use of virtual microscopy. *Tropical Medicine & International Health*. Т. 20. №2. pp. 227-229.
- [Alcala-Canto et al., 2012](#) – Alcala-Canto Y., Ibarra-Velarde F., Vera-Montenegro Y., Alberti-Navarro A. (2012). Virtual microscopy for studying veterinary parasitology. *Comparative Parasitology*. Т. 79. №1. pp. 138-142.
- [Bishara et al., 2010](#) – Bishara W., Zhu H., Ozcan A. (2010). Holographic opto-fluidic microscopy. *Optics express*. Т. 18. №26. pp. 27499-27510.
- [Bishara et al., 2012](#) – Bishara W., Isikman S. O., Ozcan A. (2012). Lensfree optofluidic microscopy and tomography. *Annals of biomedical engineering*. Т. 40. №2. pp. 251-262.
- [Coskun et al., 2011](#) – Coskun, A. F., Sencan, I., Su, T. W., Ozcan, A. (2011). Lensfree fluorescent on-chip imaging of transgenic *Caenorhabditis elegans* over an ultra-wide field-of-view. *PloS one*. Т. 6. №1. Art. No. e15955. DOI: 10.1371/journal.pone.0015955

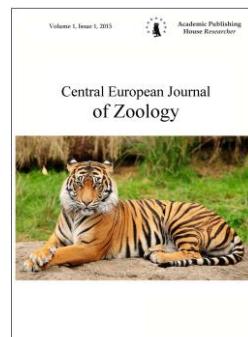
- [Hemphill, Croft, 1997](#) – Hemphill A., Croft S.L. (1997). Electron microscopy in parasitology. *Analytical parasitology*. Springer, Berlin, Heidelberg, pp. 227-268.
- [Isikman et al., 2010](#) – Isikman, S.O., Sencan, I., Mudanyali, O., Bishara, W., Oztoprak, C., Ozcan, A. (2010). Color and monochrome lensless on-chip imaging of *Caenorhabditis elegans* over a wide field-of-view. *Lab on a Chip*. T. 10. №9. pp. 1109-1112.
- [Isikman et al., 2011](#) – Isikman, S.O., Bishara, W., Mavandadi, S., Frank, W. Y., Feng, S., Lau, R., Ozcan, A. (2011). Lens-free optical tomographic microscope with a large imaging volume on a chip. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. T. 108. № 18. pp. 7296-7301.
- [Isikman et al., 2012](#) – Isikman S. O., Bishara W., Ozcan A. (2012). Lensfree on-chip tomographic microscopy employing multi-angle illumination and pixel super-resolution. *Journal of visualized experiments: JoVE*. №66. Art. No. 4161. DOI: 10.3791/4161
- [Jones et al., 2004](#) – Jones M.K., Randall L.M., McManus D.P., Engwerda C.R. (2004). Laser microdissection microscopy in parasitology: microscopes meet thermocyclers. *Trends in parasitology*. T. 20. №11. pp. 502-506.
- [Linder et al., 2008](#) – Linder E., Lundin M., Thors C., Lebbad M., Winiecka-Krusnell J., Helin H., Leiva B., Isola J., Lundin J. (2008). Web-Based Virtual Microscopy for Parasitology: A Novel Tool for Education and Quality Assurance. *PLoS Neglected Tropical Diseases*. T. 2. №10. Art. No. e315. DOI: 10.1371/journal.pntd.0000315
- [Linder et al., 2008](#) – Linder E., Lundin M., Thors C., Lebbad M., Winiecka-Krusnell J., Helin H., Leiva B., Isola J., Lundin J. (2008). Correction: Web-Based Virtual Microscopy for Parasitology: A Novel Tool for Education and Quality Assurance. *PLoS Neglected Tropical Diseases*. T. 2. №10. Art. No. e315. DOI: 10.1371/annotation/1f73ee39-9e3c-4ce4-9c35-2a6ab393de7d
- [Mavandadi et al., 2012](#) – Mavandadi, S., Feng, S., Yu, F., Dimitrov, S., Yu, R., Ozcan, A. (2012). BioGames: a platform for crowd-sourced biomedical image analysis and telediagnosis. *GAMES FOR HEALTH: Research, Development, and Clinical Applications*. T. 1. №5. pp. 373-376.
- [Mendoza-Yero et al., 2013](#) – Mendoza-Yero, O., Calabuig, A., Tajahuerce, E., Lancis, J., Andrés, P., Garcia-Sucerquia, J. (2013). Femtosecond digital lensless holographic microscopy to image biological samples. *Optics letters*. T. 38. №17. pp. 3205-3207.
- [Nasirov et al., 2018](#) – Nasirov P.A., Jablokov A.G., Gradov O.V. (2018). Datasets for spectrozonal and multispectral ascariscope and ascarimetric techniques. Preprint.
- [Ozcan, 2014](#) – Ozcan A. (2014). Educational games for malaria diagnosis. *Science Translational Medicine*. T. 6. №233. Art. No. 233ed9. DOI: 10.1126/scitranslmed.3009172
- [Petithory, Ardoine-Guidon, 1995](#) – Petithory J.C., Ardoine-Guidon F. (1995). Parasitology: true and false parasites in faecal microscopy. *Cahier de Formation. Biologie Médicale (Parasitology: true and false parasites in faecal microscopy)*. Issue 3. 184 p.
- [Shimogawa et al., 2018](#) – Shimogawa M.M., Ray S.S., Kisalu N., Zhang Y., Geng Q., Ozcan A., Hill K.L. (2018). Parasite motility is critical for virulence of African trypanosomes. *Scientific reports*. T. 8. № 1. Art. No. 9122. DOI: 10.1038/s41598-018-27228-0
- [Trujillo, Garcia-Sucerquia, 2014](#) – Trujillo C.A., Garcia-Sucerquia J. (2014). Automatic method for focusing biological specimens in digital lensless holographic microscopy. *Optics letters*. T. 39. №9. pp. 2569-2572.

Copyright © 2018 by Academic Publishing House Researcher s.r.o.



Published in the Slovak Republic
Central European Journal of Zoology
Has been issued since 2015.
E-ISSN 2500-3739
2018, 4(1): 13-21

DOI: [10.13187/cejz.2018.1.13](https://doi.org/10.13187/cejz.2018.1.13)
www.ejournal40.com



Towards the Correlation-Spectral Multi-Channel Imaging [Comment to: “Spectrozonal Incoherent Lens-Less Imaging of Butterfly Leg and Laser Scanning Regime with Optical Aberrations for the Butterfly Leg Study in Single R-Spectral Channel”]

Oleg V. Gradov ^{a,*}

^aTalroze Institute of Energy Problems of Chemical Physics, Moscow, Russian Federation

Abstract

It is the comment to the article “Spectrozonal incoherent lens-less imaging of butterfly leg and laser scanning regime with optical aberrations for the butterfly leg study in single R-spectral channel” published in this issue of “Central European Journal of Zoology”. The lens-less imaging/mapping station for the field-oriented entomological (particularly lepidopterological) measurement from the above work can be used not only as a simple spectrozonal CMOS-microscope, but also as a correlation-spectral analysis system based on the real time 2D Fourier spectra acquisition from the CRT- or LCD- monitor memory. Consequently, we can provide a novel technique for entomoscopy / entomometry aims, annotated as a correlation-spectral imaging and morphometry.

Keywords: lens-less entomometry, lens-less entomography, lens-less entomoscopy, lens-less lepidopterography, lens-less lepidopteroscopy, lens-less lepidopterometry.

1. Введение

В статье, опубликованной в настоящем выпуске журнала, “Spectrozonal incoherent lens-less imaging of butterfly leg and laser scanning regime with optical aberrations for the butterfly leg study in single R-spectral channel”, постулируется эффективность микроскопии ноги бабочки во всех спектрональных диапазонах, но не приводится резольвометрических данных (для R-, G-, B- диапазонов в отдельности), меж тем как вполне очевидно, что для разных каналов, характеризуемых разными диапазонами длин волн, дифракционная эффективность, также, как и энергетическая эффективность в трансмиссионном и шлирен- (теневом) режимах, что следует из оптики, различна. Поэтому необходимо предоставить читателю информацию не только в графическом виде собственно безлинзовой микрофотографии, но и результатов её обработки, позволяющих оценить «гранулированность» изображения и наличие aberrаций в нём. Для этого необходимо использовать программное обеспечение, обеспечивающее (как максимум, в real time; как минимум, при квадратичном постпроцессинге) измерения на различных спектрональных изображениях (или слоях) интегральных пространственных и интегральных частотных характеристиках.

* Corresponding author
E-mail addresses: o.v.gradov@gmail.com (O.V. Gradov)

2. Материалы и методы

По исходным файлам данных из обсуждаемой статьи “Spectrozonal incoherent lens-less imaging of butterfly leg and laser scanning regime with optical aberrations for the butterfly leg study in single R-spectral channel” определение ИПХ и ИЧХ (интегральных пространственных и интегральных частотных характеристик) осуществлялось напрямую с экрана компьютера с помощью ПО QAVIS, разработанного, в частности, для задач корреляционно-спектрального анализа изображений, специалистами Отдела информационных технологий (Лаборатории анализа океанологической информации) Тихоокеанского Океанологического Института им. В.И. Ильичева, А.А. Гончаровой (главный разработчик проекта) и В.К. Фищенко (научный руководитель проекта); примеры использования данной программы на практике даны ранее в работе (Гончарова и др., 2012). Параллельно строилась статистическая гистограмма для сопоставления разных каналов иллюминации при получении изображения. Биооптические свойства можно рассчитать, исходя из данных об источнике некогерентной иллюминации (в случае LED с R-, G-, B- каналами – данные приведены в укороченном виде в [Таблице 1](#)). Для биологических целей ранее QAVIS использовался нашим коллективом (Градов и др., 2018a; Градов и др., 2018b).

Облучение образца осуществляли с помощью некогерентных источников (светодиодов, LED, спектрозональная область эффективности которых подбиралась по соответствующему типу / составу полупроводника, как показано в [Таблице 1](#)) и с помощью полупроводниковых лазеров или лазеров с диодной накачкой (DPSS) – как источников когерентного излучения. Если в первом случае являлись возможными только шлирен-техники аналитики объёма среза, то во втором случае – можно было производить расчеты по спекл-паттернам в области проекции отдельных анатомических структур. Измерения проводились синхронно – с визуализацией по трёхканальной схеме в RGB-каналах (красный, зеленый, синий) в случае использования LED «белого цвета» и в последовательном режиме, если источники спектра в различных поддиапазонах были разделены (т.н. «оптическое мультиплексирование»). При использовании матриц типа Foveon X3 имелась возможность измерения спектрозональных сигналов в одной точке, но в случае использования фильтров Байера использовались только отдельные, разнесенные на размер пикселя (порядка микрон) для R, G и B каналов.

3. Результаты

Результаты визуализации ноги бабочки приводятся авторами на серии рисунков в их статье “Spectrozonal incoherent lens-less imaging of butterfly leg and laser scanning regime with optical aberrations for the butterfly leg study in single R-spectral channel”. Наш анализ данных приводится на [Рисунках 1-5](#) в настоящей статье.

При сравнении ИЧХ и ИПХ (интегральных частотных характеристик и интегральных пространственных характеристик), а также статистик Фурье-спектра для разных диапазонов становится очевидным, что сопоставление изображений лепидоптерографа для частично-коегерентных или некогерентных и когерентных систем иллюминации неправомерно по ряду фундаментальных причин:

1. Симметрия Фурье-спектра лазерной лепидоптерометрии ноги бабочки (6 лучей) не соответствует симметрии спектров спектрозональной лепидоптерометрии во всех диапазонах на некогерентном источнике (4 луча).

2. Гистограмма в статистике спектра лазерной лепидоптерометрии ноги бабочки сдвинута в крайне правую сторону, в то время как для остальных источников – некогерентных LED – она имеет бимодальный характер и расположена слева.

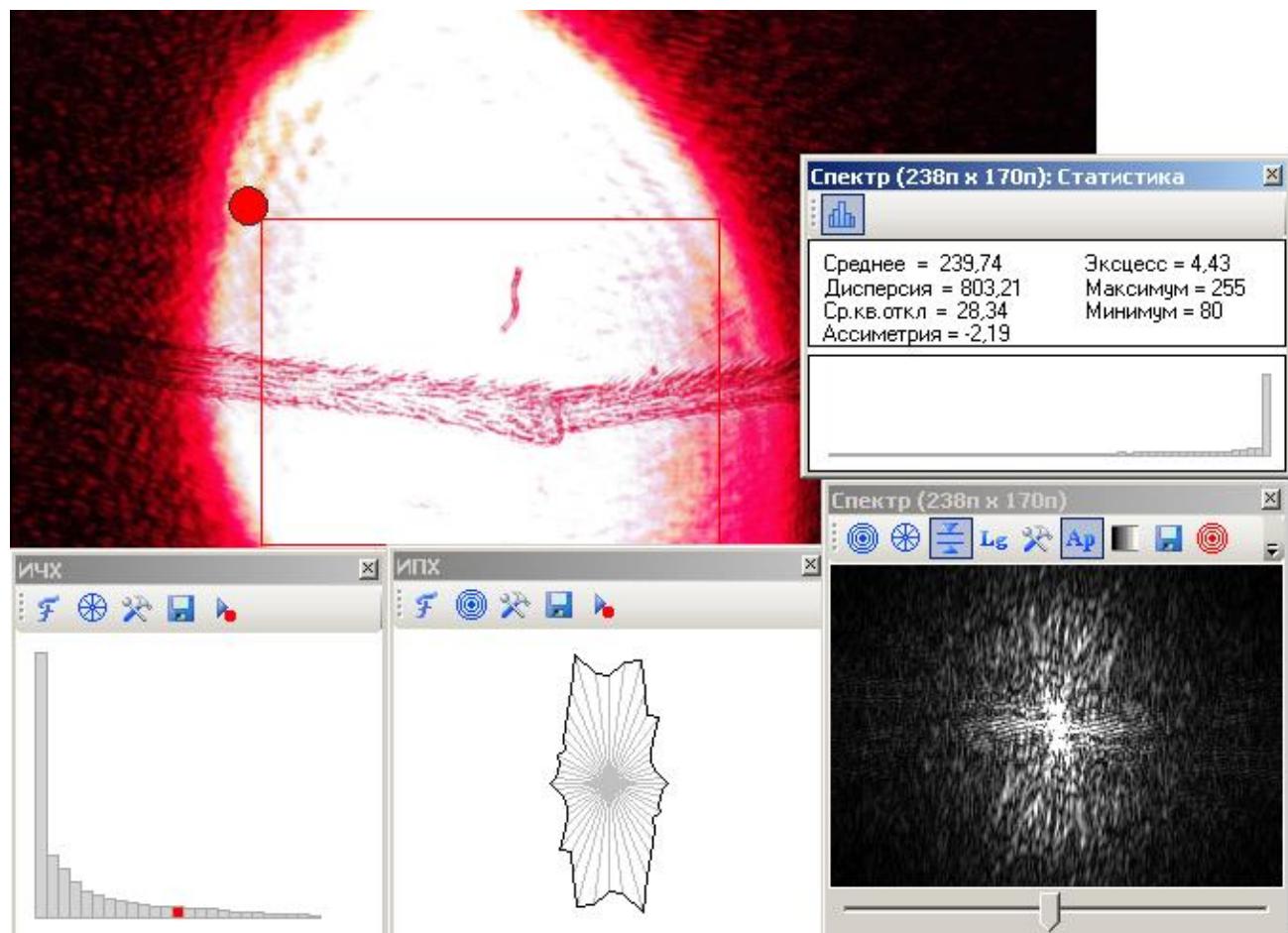
3. В интегральной частотной характеристике лепидоптерограмм регистрируются замечательные периоды при измерениях в когерентном пучке. Они не были за время тестирования отмечены ни в одном спектрозональном диапазоне LED.

4. Величины средних значений статистики Фурье-спектра лепидоптерограммы в лазерной версии метода превышают 200 (239.74 для приведенного в этой статье изображения), а для некогерентных источников не доходят до 100 (38,6-75,08 в приведенной в данной статье выборке).

5. Эксцесс для когерентных лепидоптерограмм доходит до 4.5 (4,43 для примера в настоящей статье), а для некогерентных флюктуирует между 1,9 и 3,3.

Таблица 1. Принцип подбора LED разных длин волн для спектрозонального аскарископа

Цвет	Длина волны (нм)	Материал полупроводника
Красный	$610 < \lambda < 760$	Алюминия-галлия арсенид (AlGaAs) Галлия арсенид-фосфид (GaAsP) Алюминия-галлия-индия фосфид (AlGaInP) Галлия(III) фосфид (GaP)
Зелёный	$500 < \lambda < 570$	Индия-галлия нитрид (InGaN) / Галлия(III) нитрид (GaN) Галлия(III) фосфид (GaP) Алюминия-галлия-индия фосфид (AlGaInP) Алюминия-галлия фосфид (AlGaP)
Синий	$450 < \lambda < 500$	Селенид цинка (ZnSe) Индия-галлия нитрид (InGaN) Карбид кремния (SiC) в качестве субстрата Кремний (Si) в качестве субстрата
Фиолетовый	$400 < \lambda < 450$	Индия-галлия нитрид (InGaN)

**Рис. 1.** Корреляционно-спектральная картина в R-канале для когерентного источника

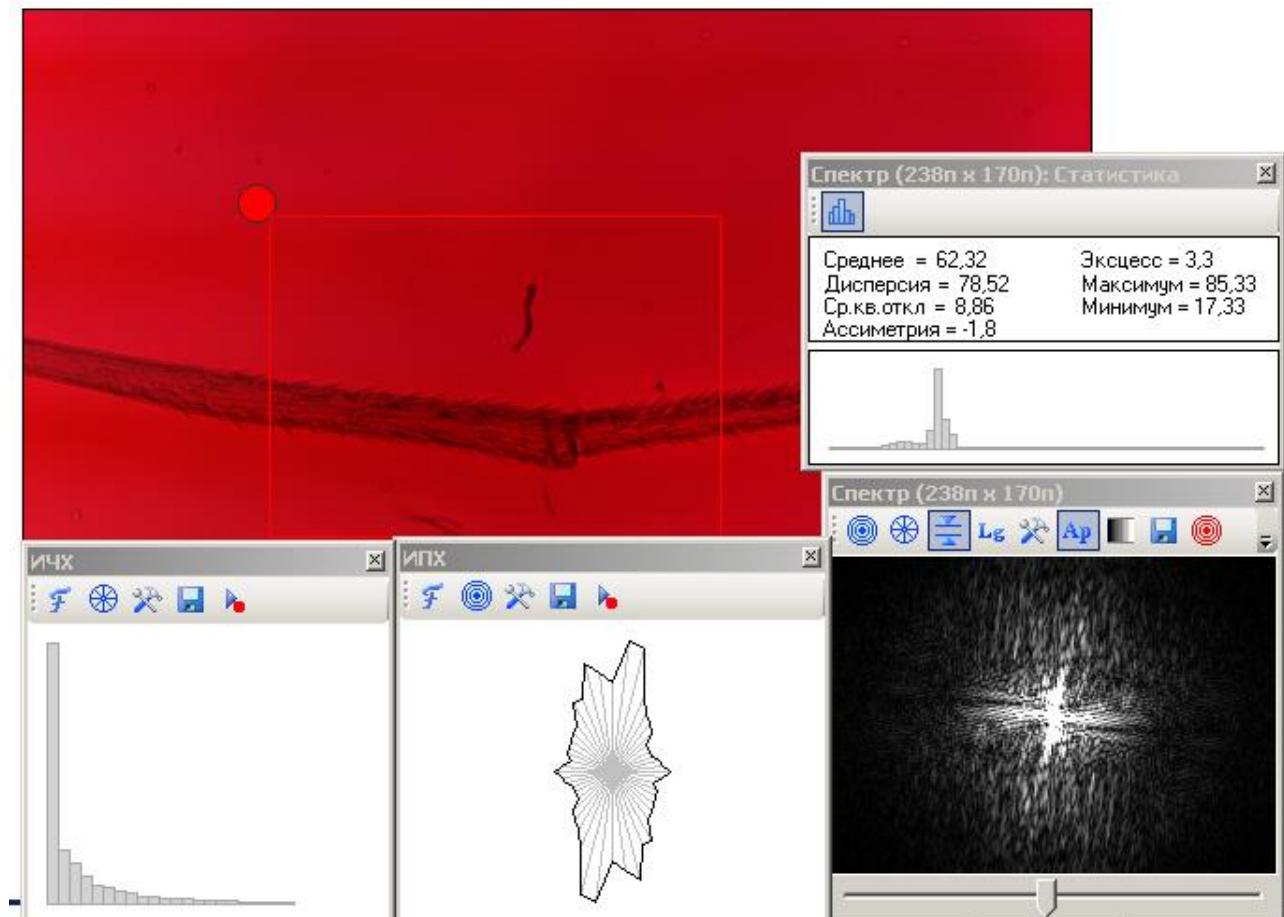


Рис. 2. Корреляционно-спектральная картина в R-канале для некогерентного источника

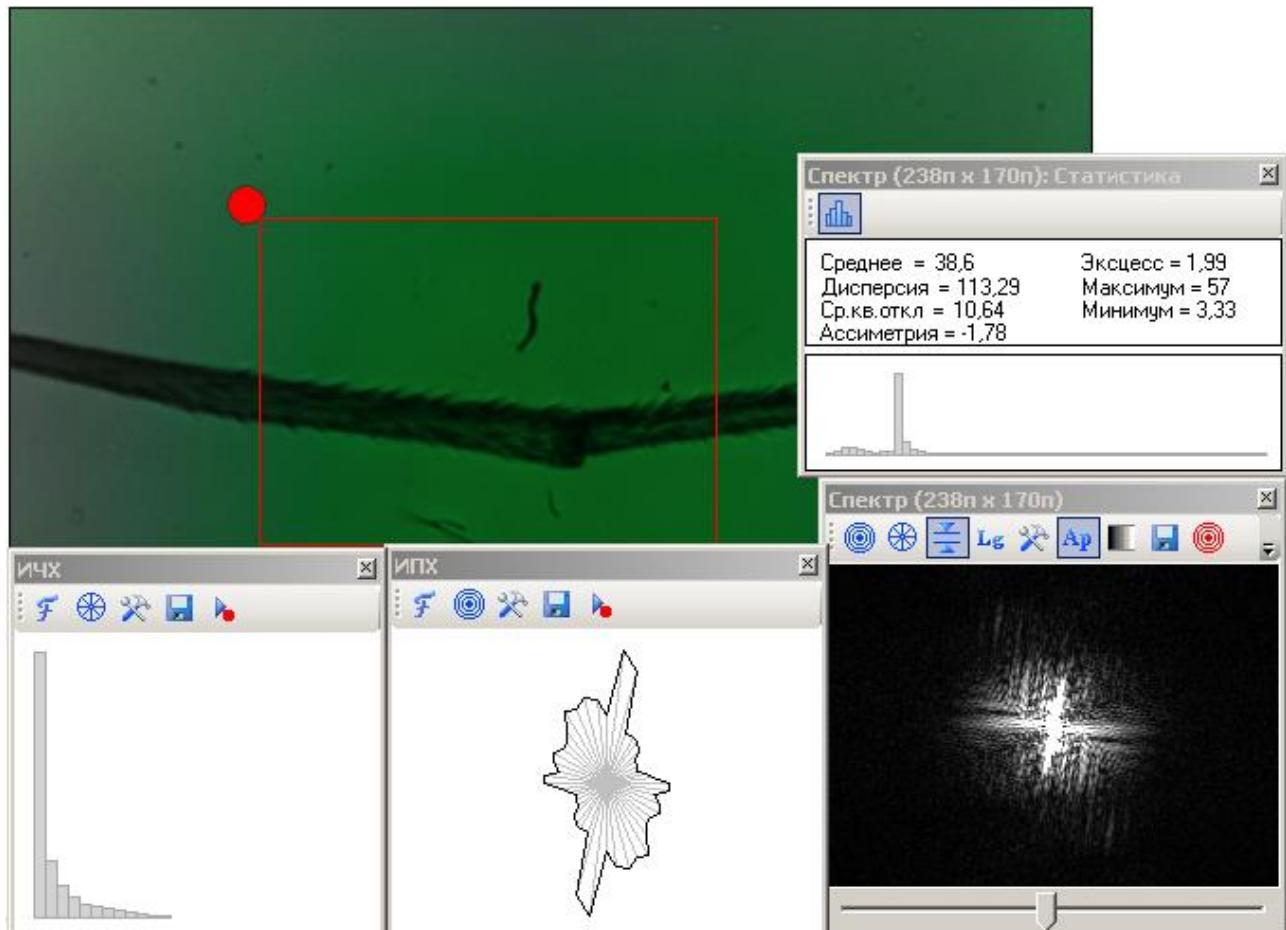


Рис. 3. Корреляционно-спектральная картина в G-канале для некогерентного источника

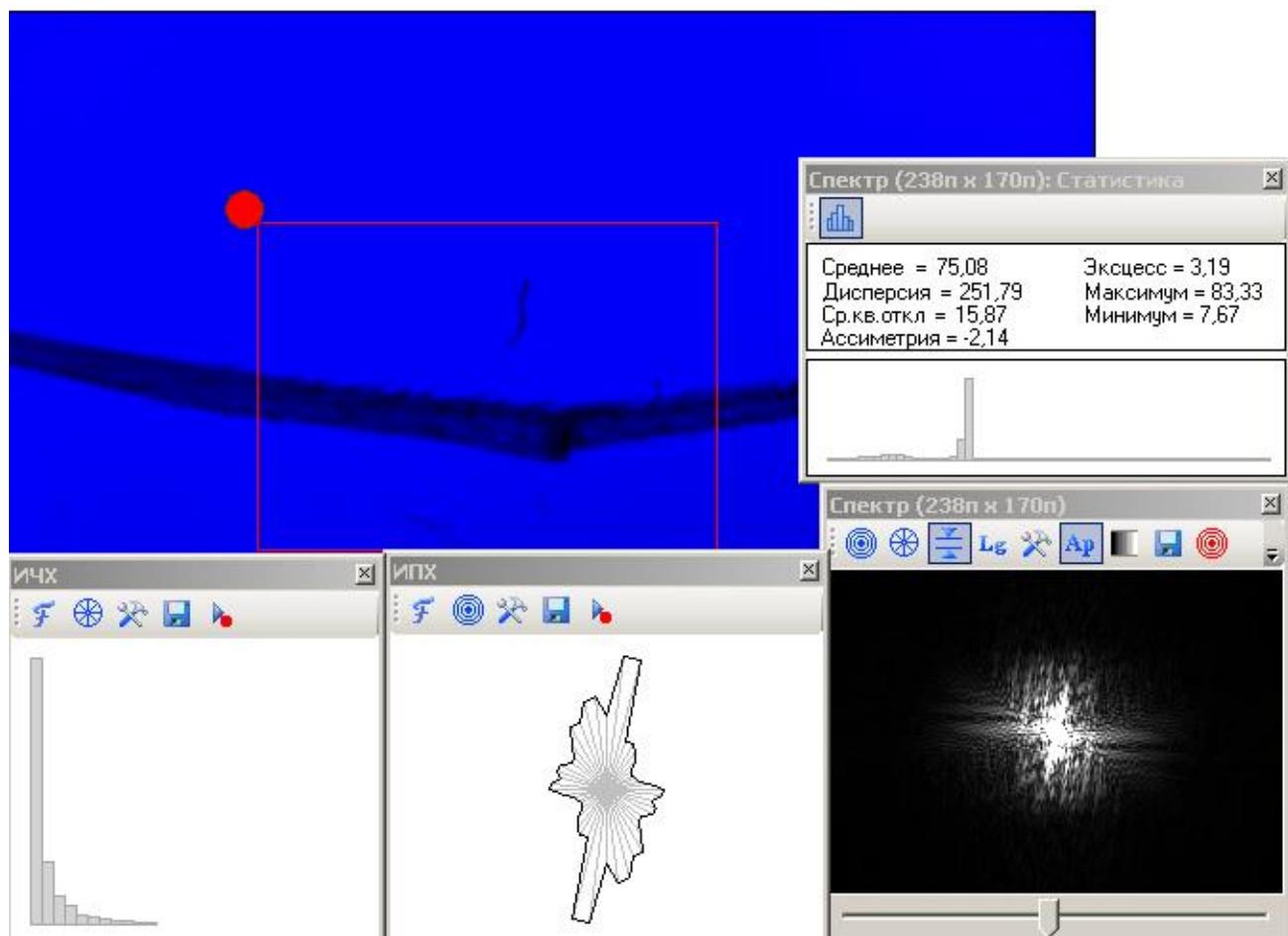


Рис. 4. Корреляционно-спектральная картина в В-канале для некогерентного источника

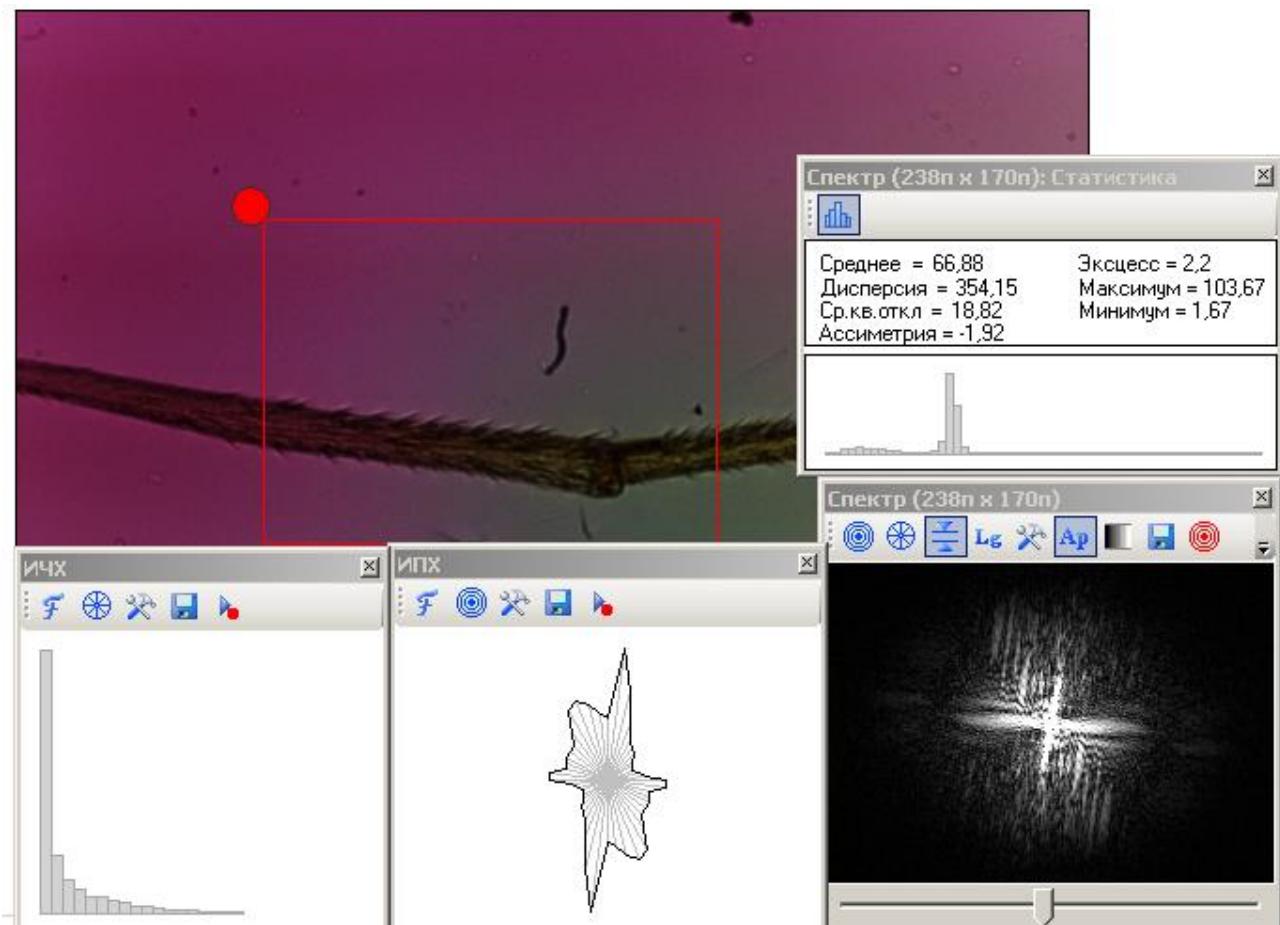


Рис. 5. Комбинационная корреляционно-спектральная картина переходного процесса для двух отличных спектрозональных каналов при некогерентных источниках

4. Заключение

Таким образом, можно полагать, что методы корреляционно-спектрального анализа в перспективе могут стать одновременно высокинформативным дополнением к безлинзовой микроскопии, не только обеспечивающим квадиметрическую поддержку её результатов (как по резольвиметрическим, так и по «абберометрическим» критериям), но и дополняющим и верифицирующим её результаты в тех случаях, когда человеческому взгляду морфолога это недоступно, но объективные различия, обусловленные биооптическими свойствами образца (или его физиологическим состоянием), определенно, существуют. Кросс-валидация систем измерений с применением собственного аналитического (оптического) сигнала как прямого дескриптора является, по определению, внутренне-непротиворечивой системой, поскольку, с точки зрения метрологии, из двумерного Фурье-спектра можно извлечь изображение, чему соответствует и обратное выражение. Это позволяет не прийти к противоречиям обработки, ведущим к артефактам уровня «внутренней логики мифа», когда экзотическое и физически нереализуемое (кроме как в виртуальном виде посредством ЭВМ) состояние изображения – за счёт тонкой обработки, избранной и реализованной *ad hoc* – приводит к обнаружению на изображении особенностей и пекулярных структур, не имеющих места в реальности либо не обладающих присваиваемыми им обработкой свойствами.

5. Благодарности

Работа выполнена в рамках гранта РФФИ 16-32-00914 как ответвление использования разработанной в ходе его выполнения техники.

Литература

[Гончарова и др., 2012](#) – Гончарова А.А., Фищенко В.К., Дубина В.А. Применение программы экспресс-анализа изображений и видео QAVIS в задачах спутникового мониторинга. *Современные проблемы дистанционного зондирования земли из космоса*, 2012, 2(3), 293-298.

[Градов и др., 2018a](#) – Градов О.В., Насиров Ф.А., Гончарова А.А., Фищенко В.К., Яблоков А.Г. Технологии безлинзовой голографической трихоскопии и трихометрии на чипе: микроинтерференционные, 2d-Фурье-спектральные (интегральные частотные и пространственные) и коррелографические техники в клинической трихологии. *Морфология*, 2018, 12(2): 7-21.

[Градов и др., 2018b](#) – Градов О.В., Насиров Ф.А., Гончарова А.А., Фищенко В.К., Яблоков А.Г. Безлинзовая голографическая трихоскопия и трихометрия. *Вестник трихологии*, 2018. (Сетевой журнал союза трихологов). [Электронный ресурс]. URL: <http://www.trichology.pro/articles/vracham-spetsialistam/bezlinzovaya-golograficheskaya-trikhoskopiya-i-trikhometriya.php>

References

[Goncharova i dr., 2012](#) – Goncharova A.A., Fishchenko V.K., Dubina V.A. (2012). Primenenie programmy ekspress-analiza izobrazhenii i video QAVIS v zadachakh sputnikovogo monitoring [Application of the program of express analysis of images and video QAVIS in the tasks of satellite monitoring.]. *Sovremennye problemy distantsionnogo zondirovaniya zemli iz kosmosa*, 2(3), 293-298. [in Russian]

[Gradov i dr., 2018a](#) – Gradov O.V., Nasirov F.A., Goncharova A.A., Fishchenko V.K., Yablokov A.G. (2018). Tekhnologii bezlinzovoi holograficheskoi trikhoskopii i trikhometrii na chipe: mikrointerferentsionnye, 2d-Fur'e-spektral'nye (integral'nye chastotnye i prostranstvennye) i korrelograficheskie tekhniki v klinicheskoi trikhologii [Technologies of lensless holographic trichoscopy and trichometry on a chip: microinterference, 2d Fourier spectral (integral frequency and spatial) and correlographic techniques in clinical trichology]. *Morfologiya*, 12(2): 7-21. [in Russian]

[Gradov i dr., 2018b](#) – Gradov O.V., Nasirov F.A., Goncharova A.A., Fishchenko V.K., Yablokov A.G. (2018). Bezlinzovaya holograficheskaya trikhoskopiya i trikhometriya [Lensless holographic trichoscopy and trichometry]. *Vestnik trikhologii*, 2018. (Setevoi zhurnal soyuza trikhologov). [Elektronnyi resurs]. URL: <http://www.trichology.pro/articles/vracham-spetsialistam/bezlinzovaya-golograficheskaya-trikhoskopiya-i-trikhometriya.php> [in Russian]

На пути к корреляционно-спектральному многоканальному картированию [Комментарий к статье: “Spectrozonal incoherent lens-less imaging of butterfly leg and laser scanning regime with optical aberrations for the butterfly leg study in single R-spectral channel”]

Олег Валерьевич Градов ^{a,*}

^a ИНЭПХФ РАН, Москва, Российская Федерация

Аннотация. Данная заметка представляет комментарий к статье: “Spectrozonal incoherent lens-less imaging of butterfly leg and laser scanning regime with optical aberrations for the butterfly leg study in single R-spectral channel”, опубликованной в настоящем выпуске журнала. Авторами последней приводятся сырье данные и подразумевается эквивалентность изображения для разных спектрозональных каналов, но легко показать, что это не так. Резольвометрические / дифракционно-оптические измерения показывают, что качество изображения ноги бабочки зависит от избранного спектрозонального диапазона и когерентности/некогерентности для заданного канала. Для контроля этого и,

* Корреспондирующий автор

Адреса электронной почты: o.v.gradov@gmail.com (О.В. Градов)

одновременно, характеристизации биооптики образца в заданном спектрональном диапазоне/канале, предлагается использовать дескрипторы, извлекаемые из двумерного Фурье-спектра. Оптимальным программным обеспечением для данных задач является ПО разработки наших дальневосточных коллег, внедрение которого для данных задач описывается и иллюстрируется в настоящей заметке. Метод, внедренный с использованием программного обеспечения для корреляционно-спектрального анализа, в силу сопоставления и компартивной интерпретации данных различных спектрональных каналов (диапазонов), может быть назван корреляционно-спектральным многоканальным/многодиапазонным картированием. Для ROI различных анатомических элементов габитуса имаго при этом могут быть характерны различные биооптические свойства, что позволяет, в частности, реализовывать метод с топографо-анатомической привязкой и функциональной интерпретацией данных.

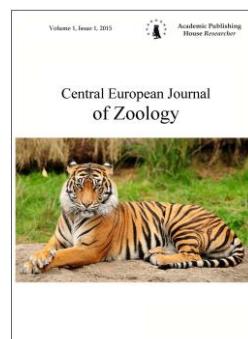
Ключевые слова: безлинзовая энтомометрия, безлинзовая энтомография, безлинзовая энтомоскопия, безлинзовая лепидоптерография, безлинзовая лепидоптероскопия, безлинзовая лепидоптерометрия.

Copyright © 2018 by Academic Publishing House Researcher s.r.o.



Published in the Slovak Republic
Central European Journal of Zoology
Has been issued since 2015.
E-ISSN 2500-3739
2018, 4(1): 22-30

DOI: [10.13187/cejz.2018.1.22](https://doi.org/10.13187/cejz.2018.1.22)
www.ejournal40.com



Spectrozonal Incoherent Lens-Less Imaging of Butterfly Leg and Laser Scanning Regime with Optical Aberrations for the Butterfly Leg Study in Single R-Spectral Channel

Brief communication

A. Jablokov ^a, P. Nasirov ^a, A. Scrinnic ^a, T. Orehov ^a

^a Talroze Institute of Energy Problems of Chemical Physics, Moscow, Russian Federation

Abstract

The article considers the novel method and microdevice for entomometry, particularly – in lepidopterometry, known as the laser spectrozonal lens-less holographic lepidopterometer or lepidopterograph. Our device was approbated using butterfly legs for visualization in different spectrozonal channels. It is obvious, that the basic principle of laser-based analysis may be distributed not only as a simple laser lepidopterometry or lepidopterography, but in frames of laser holographic, laser fluorescence, laser interferometric, laser speckle imaging (ESPI) and laser shlieren-setup schemes. The article consider the novel technique for the spectrozonal incoherent lens-less imaging of butterfly leg and laser scanning regime with optical aberrations for the butterfly leg study in single R-spectral channel for on-a-chip-RGB-lepidopterology and “lepidopterometry” on-a-chip.

Keywords: lens-less entomometry, lens-less entomography, lens-less entomoscopy, lens-less lepidopterography, lens-less lepidopteroscopy, lens-less lepidopterometry.

1. Введение

В работе ([Nasirov et al., 2019](#)), опубликованной в настоящем выпуске журнала, авторы дают пример использования технологий безлинзовой микроскопии для паразитологических исследований. В настоящей заметке приводится пример использования метода безлинзовой микроскопии для лепидоптерологических исследований. Парадоксальной особенностью для большинства предшествующих лепидоптерологических исследований является эстетически-ориентированный, часто акцентированный на крыльях и чешуйках, характер работы. Это не является, в достаточной степени, оправданным, несмотря на эффекты структурной окраски, по причине чего мы решили проанализировать butterfly leg, а не butterfly wing. Основанием для убежденности в целесообразности апробации новой техники микроскопии на бабочках в таком варианте явилось наличие известного количества работ, содержащих информацию по микроскопии различных лепидоптерологических структур, причём работ довольно свежих, зарубежных, выполненных большими коллективами довольно известных авторов ([Dey et al., 1998](#); [Gruverman et al., 2006](#); [Xie et al., 2007](#); [Leertouwer et al., 2011](#); [Arteaga et al., 2015](#); [Mari et al., 2018](#)), не считая классических работ, известным даже по восточному цитированию, в частности – японских ([Hirata, Kubota, 1957](#)).

2. Материалы и методы

Измерения производились в иммерсионном препарате с использованием стандартной схемы, описанной нами ранее в статьях ([Насиров и др., 2018; Nasirov et al., 2018; Jablokov, Gradov, 2015; Gradov, Jablokov, 2017, 2018; Градов, Яблоков, 2017; Градов и др., 2017, 2018](#)).

В качестве образца для отработки метода, безотносительно к видовой таксономической принадлежности, использовалась нога бабочки из стандартного набора учебных препаратов КНР. Окрашивание или иное контрастирование образца не производилось, чтобы сохранить естественные отражательные и рассеивающие свойства его поверхности.

Производилось картирование по трём каналам (R,G,B) в некогерентном режиме, после которого осуществлялось измерение сканирующим пучком под разными углами в R-канале. В результате сканирования под различными углами возникали и фиксировались aberrации, приводившие к искажению формы пучка в зоне проекции. Поэтому в иллюстрациях данной статьи нами приводится не один лазерный паттерн, а серия таковых.

3. Результаты

Результаты визуализации приводятся на серии рисунков ниже. На [Рисунке 1](#) приведен спектрозональный паттерн, зарегистрированный в синем канале. На [Рисунке 2](#) приведен спектрозональный паттерн, зарегистрированный в зеленом канале. На [Рисунке 3](#) приведен спектрозональный паттерн, зарегистрированный в красном канале. На [Рисунке 4](#) приведен многоугловой мультипроекционный (а-г) спектрозональный паттерн, зарегистрированный в красном канале с использованием лазерного диода в качестве источника. Сканирующее ROI и пятно проекции идентичны и солокализованы. Приведение сырых (RAW) данных здесь не является следствием пренебрежительного отношения авторов к задачам работы, а связано с потребностью визуализации прямого результата измерений, из которого комбинируется (по технологиям оптической многоугловой томографии и рейтрейсинга) финитный 3D-паттерн.



Рис. 1. Спектрозональный паттерн, зарегистрированный в синем канале

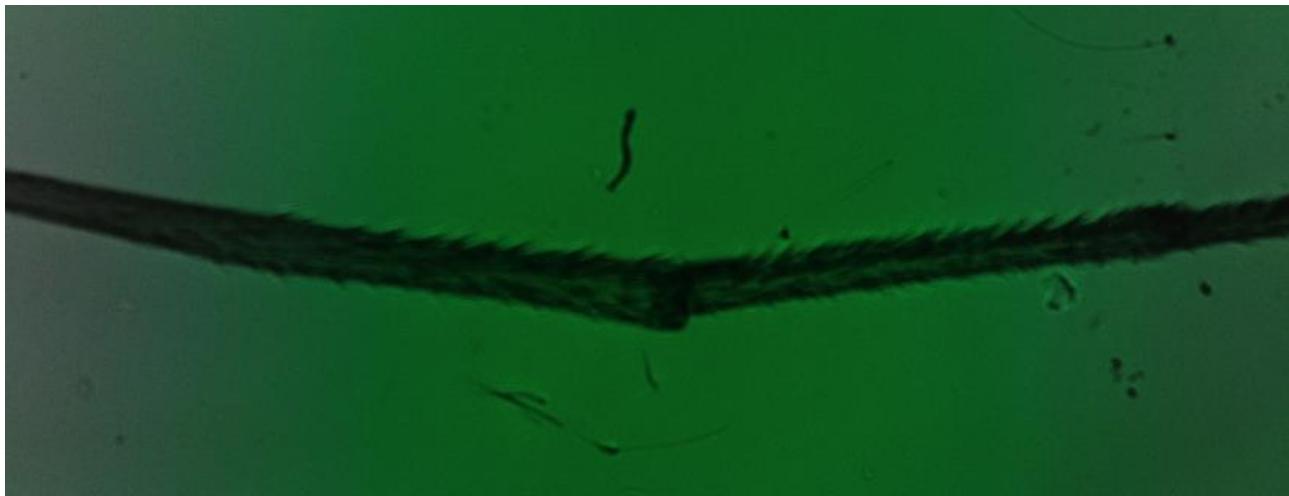


Рис. 2. Спектрозональный паттерн, зарегистрированный в зеленом канале

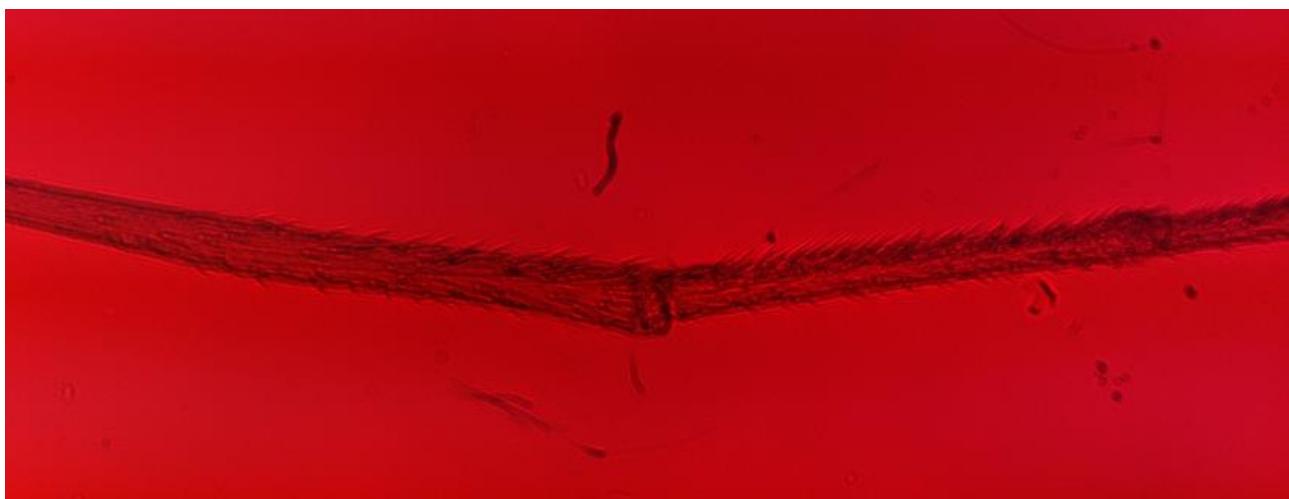


Рис. 3. Спектрозональный паттерн, зарегистрированный в красном канале

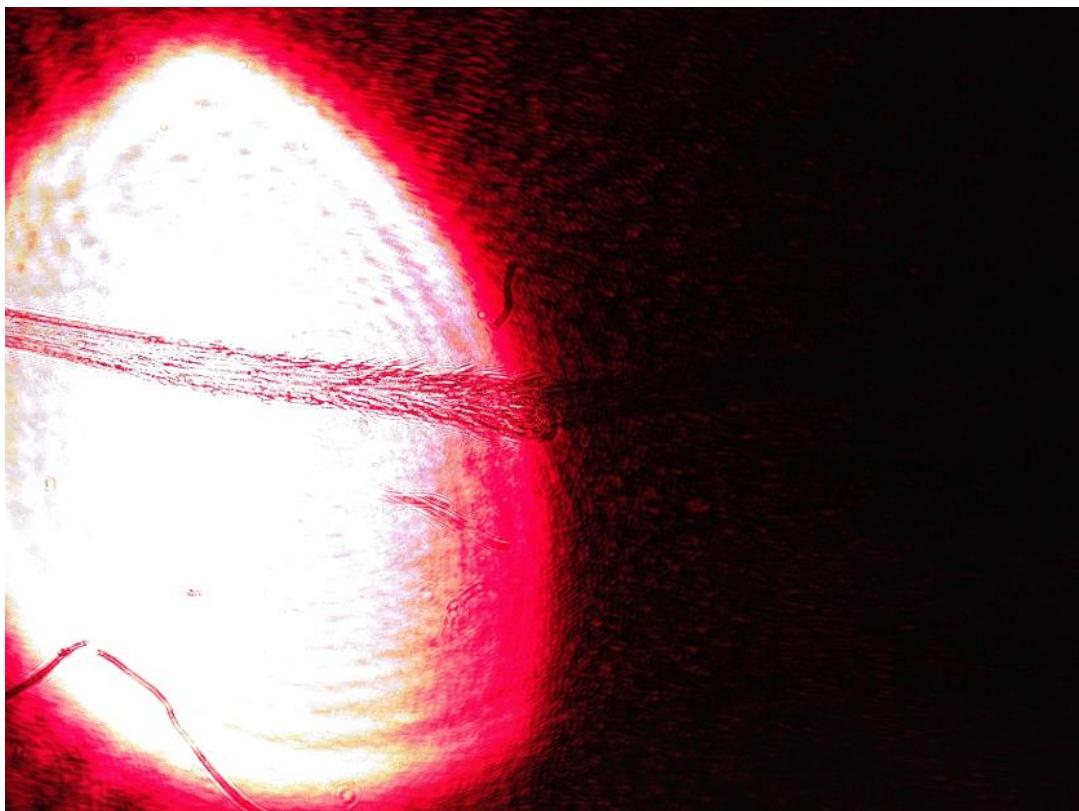


Рис. 4-а. Первая фаза сканирования

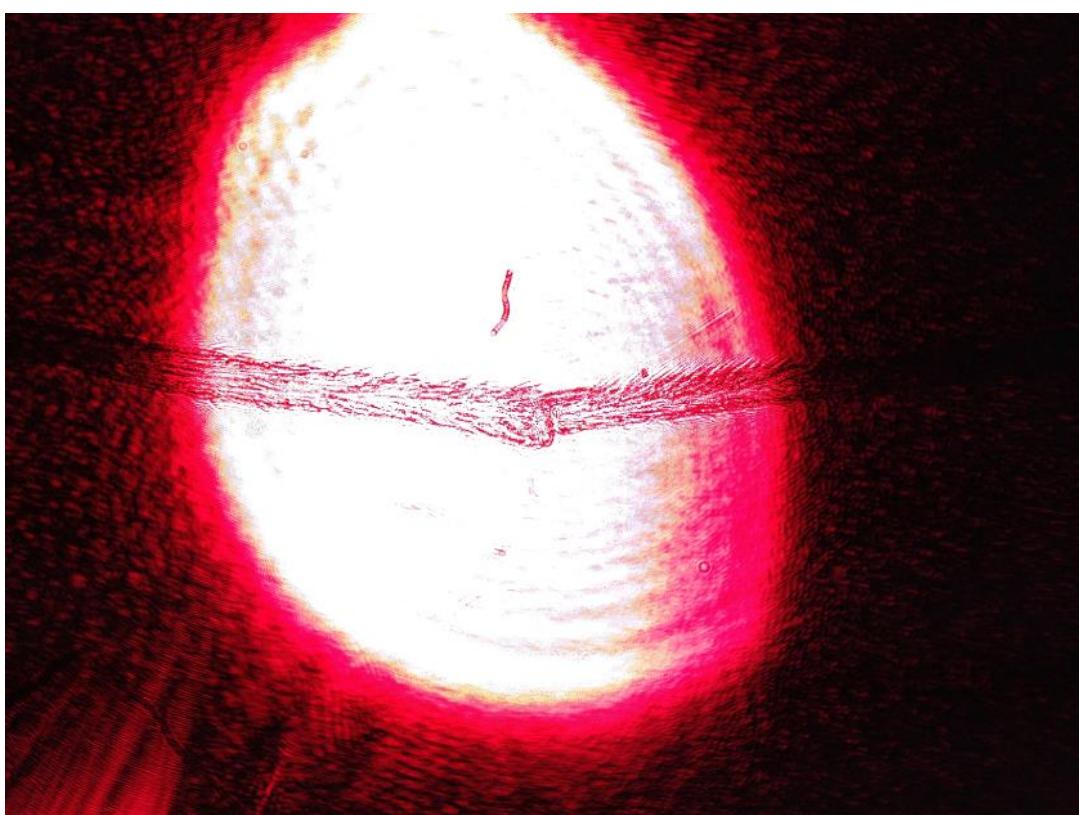


Рис. 4-б. Вторая фаза сканирования

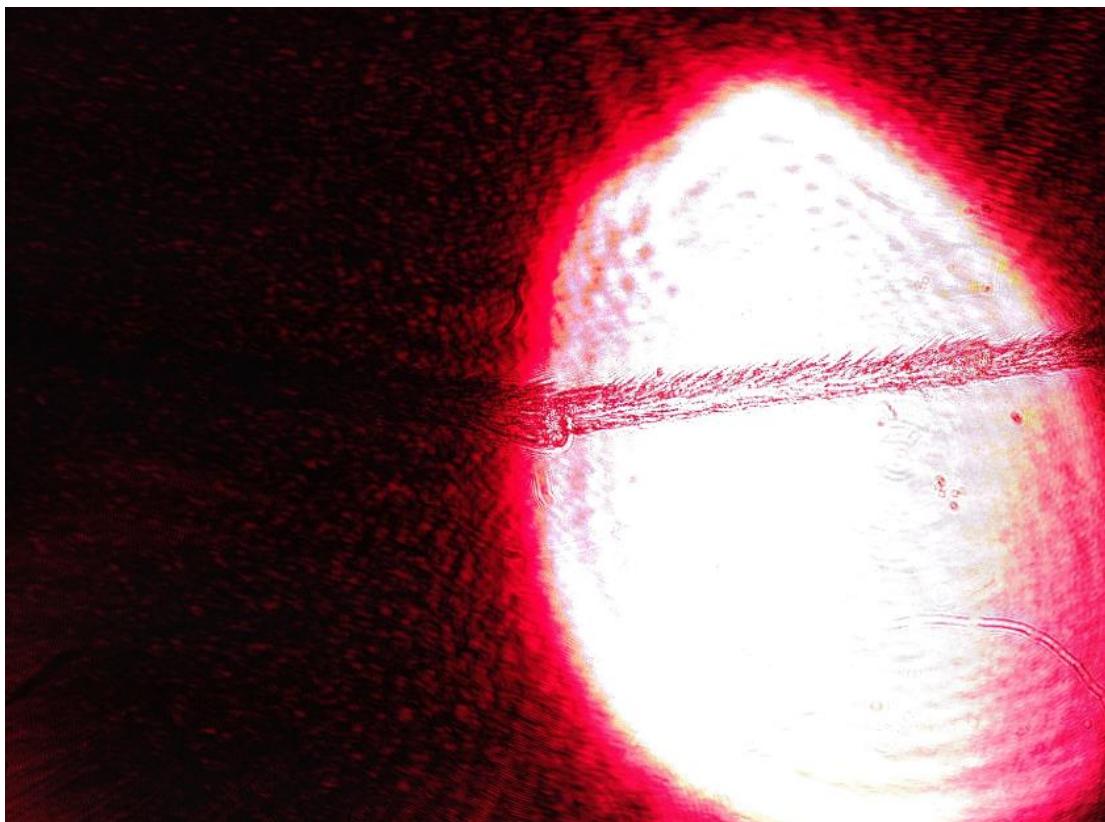


Рис. 4-в. Третья фаза сканирования

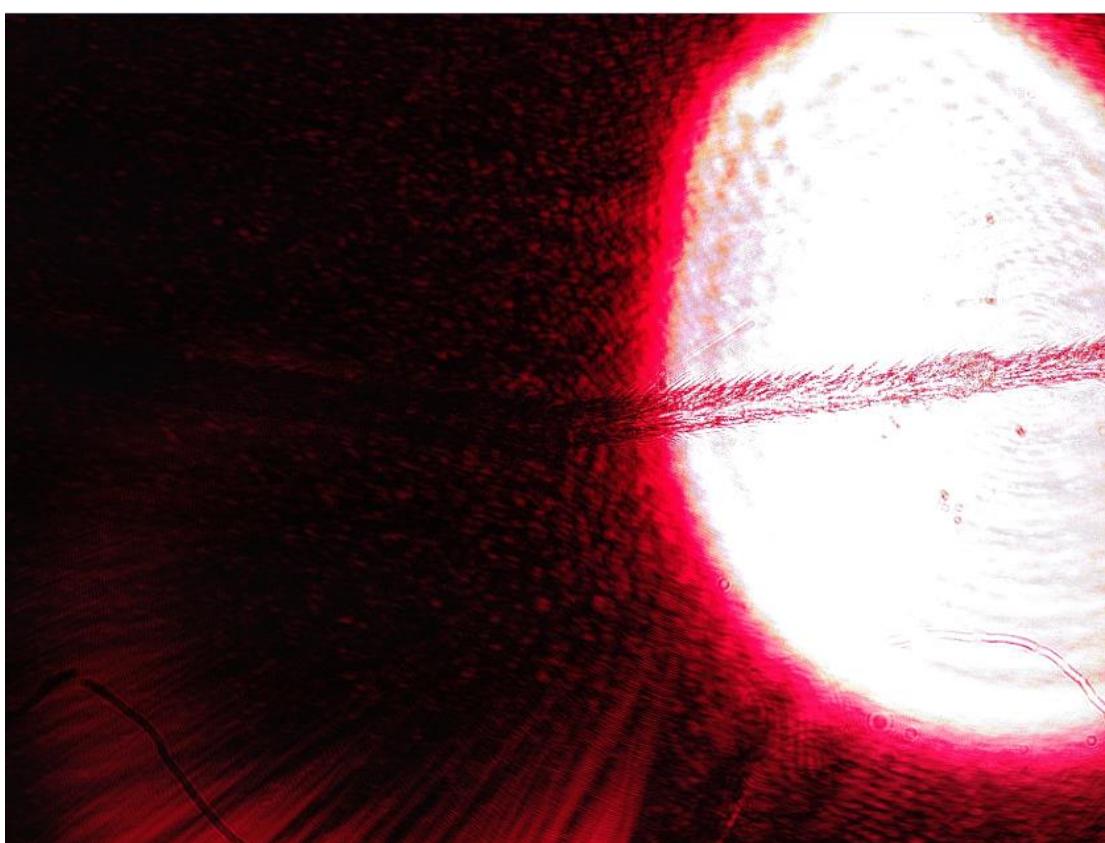


Рис. 4-г. Четвертая фаза сканирования

4. Заключение

Исследование лепидоптерологических структур не должно ограничиваться крыльями, как правило, являющимися не только точками акцента исследований, но и источниками для ассоциаций, идущих за пределы компетенции субдисциплин лепидоптерологии – в области кристаллографии и металлографии, полимерной физики и иного материаловедения (Moses et al., 1994; Umemoto et al., 1984; Sato, Zaehlerer, 2009; Weiss, 1996; Pang, Baba-Kishi, 1998). На данный момент представляется возможным лазерное сканирование насекомого в целом или его отдельных структур со сравнительно высоким разрешением, а также элиминация многих искажений/аберраций с помощью цифровой пост-обработки. Последняя описывалась нами в статье, писавшейся в 2017-2018 гг. в рамках т.н. группы биофизического приборостроения, не существующей в настоящее время, в силу чего надеяться, по крайней мере, на быстрый (в случае, если не вообще) выход соответствующего материала не приходится, ограничиваясь, в порядке фиксации результата, только настоящим предварительным сообщением.

Литература

- Градов и др., 2018 – Градов О.В., Насиров Ф.А., Гончарова А.А., Фищенко В.К., Яблоков А.Г. Технологии безлинзовой голограммической трихоскопии и трихометрии на чипе: микроинтерференционные, 2d-Фурье-спектральные (интегральные частотные и пространственные) и коррелографические техники в клинической трихологии. *Морфология*, 2018, 12(2): 7-21.
- Градов и др., 2017 – Градов О.В., Насиров Ф.А., Яблоков А.Г. Методы безлинзовой редоксметрической, озонометрической и гипоксиметрической микроскопии на чипе для эксперимента, цитодиагностики и цитоскрининга в молекулярной онкологии. *Успехи молекулярной онкологии*, 2017, 4(4): 10-11.
- Градов, Яблоков, 2017 – Градов О.В., Яблоков А.Г. Мультипараметрические лаборатории на чипе как инструмент экспериментальной регенеративной медицины и синтетического морфогенеза. *Гены и клетки*, 2017, 12(3): 74.
- Насиров и др., 2018 – Насиров Ф.А., Яблоков А.Г., Градов О.В. Регистрация препарата семенных каналцев методами безлинзовой лазерной проекционной микроскопии на чипе и ближнепольной микроскопии со спектрональным разложением каналов изображений. *Гены и клетки*, 2018, 1 (Приложение): 85-86.
- Arteaga et al., 2015 – Arteaga O., Kuntman E., Antó J., Pascual E., Canillas A., Bertran E. Mueller matrix microscopy on a Morpho butterfly. *Journal of Physics: Conference Series*, 2015, Vol. 605, No. 1, p. 012008. IOP Publishing.
- Dey et al., 1998 – Dey S., Hooroo R.N.K., Bhattacharjee C.R. Electron microscopy and spectroscopic studies on the coloured patches on the wing of a butterfly, *Graphium sarpedon* (Lepidoptera: Papilionidae) with reference to their photobiological and electrical properties. *Pigment cell research*, 1998, 11(1), 1-11.
- Gradov et al., 2018 – Gradov O.V., Nasirov P.A., Jablokov A.G. Lensless on-chip-hemocytometry with secondary processing of cell images in the framework of an unconventional photometric model. *Photonics Russia*, 2018, 12(7): 716-729.
- Gradov, Jablokov, 2017 – Gradov O.V., Jablokov A.G. Multiparametric lab-on-a-chip with multiple biophysical signal converters as a novel tool for experimental stem cell biology and control equipment for hematopoietic stem cell transplantation. *Cellular Therapy and Transplantation*, 2017, 6(3:20): 41-42.
- Gradov, Jablokov, 2018 – Gradov O.V., Jablokov A.G. Novel morphometrics-on-a-chip: CCD- or CMOS-lab-on-a-chip based on discrete converters of different physical and chemical parameters of histological samples into the optical signals with positional sensitivity for morphometry of non-optical patterns. *Journal of Biomedical Technologies*, 2016, 1(2): 1-29.
- Gruverman et al., 2006 – Gruverman A., Rodriguez B.J., Kalinin S.V. Nanoscale electromechanical and mechanical imaging of butterfly wings by scanning probe microscopy. *Journal of Scanning Probe Microscopy*, 2006, 1(2), 74-78.
- Hirata, Kubota, 1957 – Hirata K., Kubota T. Microstructure of the scale of the butterfly, *Colias erate poliographus* Motschulsky, elucidated by electron microscopy. *Sci. Rep. Kagoshima Univ*, 1957, 6, 151-167.

Jablokov, Gradov, 2015 – *Jablokov A.G., Gradov O.V.* (2015). Multiparametric qualimetric microsurgical scanning chip-lancet model: theoretical metrological and biomedical considerations. *MicroMedicine*, 2015, 3(2): 31-35.

Leertouwer et al., 2011 – *Leertouwer H.L., Wilts, B.D., Stavenga D.G.* Refractive index and dispersion of butterfly chitin and bird keratin measured by polarizing interference microscopy. *Optics Express*, 2011, 19(24), 24061-24066.

Mari et al., 2018 – *Mari I.P., Gigliolli A.A.S., Nanya S., de Brito Portela-Castro A.L.* Histological and electron microscopy observations on the testis and spermatogenesis of the butterfly *Dione juno* (Cramer, 1779) and *Agraulis vanillae* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Nymphalidae). *Micron*, 2018, 109, 11-21.

Moses et al., 1994 – *Moses E., Kume T., Hashimoto T.* Shear microscopy of the “butterfly pattern” in polymer mixtures. *Physical review letters*, 1994, 72(13), 2037.

Nasirov et al., 2018 – *Nasirov P.A., Jablokov A.G., Gradov O.V.* Technical and methodical notes on the lensless holographic microscopy applications for helminthology and zooparasitology. Case I: Spectrozonal/multispectral analysis of *ascaris lumbrocooides* based on coherent and incoherent light sensor platforms. *Central European Journal of Zoology*, 2018, 4(1): 3-12.

Pang, Baba-Kishi, 1998 – *Pang G.K., Baba-Kishi K. Z.* Characterization of butterfly single crystals of by atomic force, optical and scanning electron microscopy techniques. *Journal of Physics D: Applied Physics*, 1998, 31(20), 2846.

Sato, Zaefferer, 2009 – *Sato H., Zaefferer S.* A study on the formation mechanisms of butterfly-type martensite in Fe-30 % Ni alloy using EBSD-based orientation microscopy. *Acta Materialia*, 2009, 57(6), 1931-1937.

Umemoto et al., 1984 – *Umemoto M., Hyodo T., Maeda T., Tamura I.* (1984). Electron microscopy studies of butterfly martensite. *Acta Metallurgica*, 1984, 32(8), 1191-1203.

Weiss, 1996 – *Weiss, R.* Microscopy and Light Scattering Study of a Flowing PB/PI Blend: Origin of Butterfly Patterns, 1996. Electronic resource]. URL: https://ideaexchange.uakron.edu/polymerengin_ideas/2248

Xie et al., 2007 – *Xie H., Wang Q., Kishimoto S., Dai F.* Characterization of planar periodic structure using inverse laser scanning confocal microscopy moiré method and its application in the structure of butterfly wing. *Journal of applied physics*, 2007, 101(10), 103511.

References

Arteaga et al., 2015 – *Arteaga O., Kuntman E., Antó J., Pascual E., Canillas A., Bertran E.* (2015). Mueller matrix microscopy on a Morpho butterfly. In *Journal of Physics: Conference Series*, Vol. 605, No. 1, p. 012008. IOP Publishing.

Dey et al., 1998 – *Dey S., Hooroo R.N.K., Bhattacharjee C.R.* (1998). Electron microscopy and spectroscopic studies on the coloured patches on the wing of a butterfly, *Graphium sarpedon* (Lepidoptera: Papilionidae) with reference to their photobiological and electrical properties. *Pigment cell research*, 11(1), 1-11.

Gradov et al., 2018 – *Gradov O.V., Nasirov P.A., Jablokov, A.G.* (2018). Lensless on-chip-hemocytometry with secondary processing of cell images in the framework of an unconventional photometric model. *Photonics Russia*, 12(7): 716-729.

Gradov i dr., 2017 – *Gradov O.V., Nasirov F.A., Yablokov A.G.* (2017). Metody bezlinzovoi redoksmetricheskoi, ozonometricheskoi i gipoksimetricheskoi mikroskopii na chipe dlya eksperimenta, tsitodiagnostiki i tsitoskrininga v molekulyarnoi onkologii [Methods of lensless redox, ozonometric and hypoximetric microscopy on a chip for experiment, cytodiagnosis and cytoscraining in molecular oncology]. *Uspekhi molekulyarnoi onkologii*, 4(4): 10-11. [in Russian]

Gradov i dr., 2018 – *Gradov O.V., Nasirov F.A., Goncharova A.A., Fishchenko V.K., Yablokov A.G.* (2018). Tekhnologii bezlinzovoi holograficheskoi trikhoskopii i trikhometrii na chipe: mikrointerferentsionnye, 2d-Fur'e-spektral'nye (integral'nye chastotnye i prostranstvennye) i korrelograficheskie tekhniki v klinicheskoi trikhologii [Technologies of lensless holographic trichoscopy and trichometry on a chip: microinterference, 2d Fourier spectral (integral frequency and spatial) and correlographic techniques in clinical trichology.]. *Morfologiya*, 12(2): 7-21. [in Russian]

Gradov, Jablokov, 2017 – *Gradov O.V., Jablokov A.G.* (2017). Multiparametric lab-on-a-chip with multiple biophysical signal converters as a novel tool for experimental stem cell biology and

control equipment for hematopoietic stem cell transplantation. *Cellular Therapy and Transplantation*, 6(3:20): 41-42.

Gradov, Jablokov, 2018 – *Gradov O.V., Jablokov A.G.* (2016). Novel morphometrics-on-a-chip: CCD- or CMOS-lab-on-a-chip based on discrete converters of different physical and chemical parameters of histological samples into the optical signals with positional sensitivity for morphometry of non-optical patterns. *Journal of Biomedical Technologies*, (2): 1-29.

Gradov, Yablokov, 2017 – *Gradov O.V., Yablokov A.G.* (2017). Mul'tiparametricheskie laboratorii na chipe kak instrument eksperimental'noi regenerativnoi meditsiny i sinteticheskogo morfogeneza [Multiparametric laboratories on a chip as a tool for experimental regenerative medicine and synthetic morphogenesis]. *Geny i kletki*, 12(3): 74. [in Russian]

Gruverman et al., 2006 – *Gruverman A., Rodriguez B.J., Kalinin S.V.* (2006). Nanoscale electromechanical and mechanical imaging of butterfly wings by scanning probe microscopy. *Journal of Scanning Probe Microscopy*, 1(2), 74-78.

Hirata, Kubota, 1957 – *Hirata K., Kubota T.* (1957). Microstructure of the scale of the butterfly, *Colias erate poliographus* Motschulsky, elucidated by electron microscopy. *Sci. Rep. Kagoshima Univ*, 6, 151-167.

Jablokov, Gradov, 2015 – *Jablokov A.G., Gradov O.V.* (2015). Multiparametric qualimetric microsurgical scanning chip-lancet model: theoretical metrological and biomedical considerations. *MicroMedicine*, 3(2): 31-35.

Leertouwer et al., 2011 – *Leertouwer H.L., Wilts B.D., Stavenga D.G.* (2011). Refractive index and dispersion of butterfly chitin and bird keratin measured by polarizing interference microscopy. *Optics Express*, 19(24), 24061-24066.

Mari et al., 2018 – *Mari I.P., Gigliolli A.A.S., Nanya S., de Brito Portela-Castro A.L.* (2018). Histological and electron microscopy observations on the testis and spermatogenesis of the butterfly *Dione juno* (Cramer, 1779) and *Agraulis vanillae* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Nymphalidae). *Micron*, 109, 11-21.

Moses et al., 1994 – *Moses E., Kume T., Hashimoto T.* (1994). Shear microscopy of the “butterfly pattern” in polymer mixtures. *Physical review letters*, 72(13), 2037.

Nasirov et al., 2018 – *Nasirov P.A., Jablokov A.G., Gradov O.V.* (2018). Technical and methodical notes on the lensless holographic microscopy applications for helminthology and zooparasitology. Case I: Spectrozonal/multispectral analysis of *ascaris lumbrocooides* based on coherent and incoherent light sensor platforms. *Central European Journal of Zoology*, 4(1): 3-12.

Nasirov i dr., 2018 – *Nasirov F.A., Yablokov A.G., Gradov O.V.* (2018). Registratsiya preparata semennykh kanal'tsev metodami bezlinzovoi lazernoi proektionnoi mikroskopii na chipe i blizhnepol'noi mikroskopii so spektrozonal'nym razlozheniem kanalov izobrazhenii [Registration of the seed tubule preparation using lens-free laser projection microscopy on a chip and near-field microscopy with a spectrozonal decomposition of image channels]. *Geny i kletki*, (1 (Prilozhenie)): 85-86. [in Russian]

Pang, Baba-Kishi, 1998 – *Pang, G. K., & Baba-Kishi, K. Z.* (1998). Characterization of butterfly single crystals of by atomic force, optical and scanning electron microscopy techniques. *Journal of Physics D: Applied Physics*, 31(20), 2846.

Sato, Zaefferer, 2009 – *Sato H., Zaefferer S.* (2009). A study on the formation mechanisms of butterfly-type martensite in Fe-30 % Ni alloy using EBSD-based orientation microscopy. *Acta Materialia*, 57(6), 1931-1937.

Umemoto et al., 1984 – *Umemoto M., Hyodo T., Maeda T., Tamura I.* (1984). Electron microscopy studies of butterfly martensite. *Acta Metallurgica*, 32(8), 1191-1203.

Weiss, 1996 – *Weiss R.* (1996). Microscopy and Light Scattering Study of a Flowing PB/PI Blend: Origin of Butterfly Patterns. [Electronic resource]. URL: https://ideaexchange.uakron.edu/polymerengin_ideas/2248/

Xie et al., 2007 – *Xie H., Wang Q., Kishimoto S., Dai F.* (2007). Characterization of planar periodic structure using inverse laser scanning confocal microscopy moiré method and its application in the structure of butterfly wing. *Journal of applied physics*, 101(10), 103511.

Спектрональная некогерентная безлинзовая проекционная микроскопия ноги бабочки с применением лазерного сканирующего режима с aberrациями для исследования ноги бабочки в красном спектрональном канале

Краткое сообщение

А. Яблоков ^a, Ф. Насиров ^a, А. Скрынник ^a, Ф. Орехов ^a

^a ИНЭПХФ РАН, г. Москва, Российская Федерация

Аннотация. В настоящей статье предлагается новый метод и устройство для микроэнтомометрии, в частности – лепидоптерометрии: лазерный безлинзовый голограммический лепидоптерометр- лепидоптерограф. Данное устройство работает в разных спектрональных каналах (R,G,B). Применение облучения пучком с aberrациями коллиматора приводит к возможности RGB-визуализации с профилированием лазерного микропучка – подобно методам микроскопии структурированного освещения. Методы RGB-лепидоптерометрии на КМОП-сенсоре могут в будущем обеспечить полевую замену последним. Это актуально для низкобюджетных работ энтомологов. В основу аппаратного обеспечения положено устройство схемы Ф.А. Насирова, разрабатывавшееся в рамках группы биофизического приборостроения по проекту РФФИ с целью создания многоугловой диагностической системы. Невозможность доводки лазерной системы иллюминации лепидоптерографа и его прототипов обусловлена самоустраниением третьего автора этой статьи от работ по построению лазерного оборудования в рамках этого проекта.

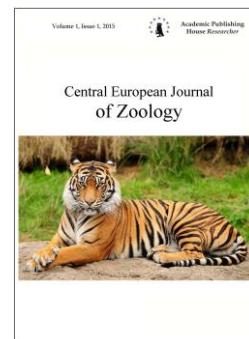
Ключевые слова: безлинзовая энтомометрия, безлинзовая энтомография, безлинзовая энтомоскопия, безлинзовая лепидоптерография, безлинзовая лепидоптероскопия, безлинзовая лепидоптерометрия.

Copyright © 2018 by Academic Publishing House Researcher s.r.o.



Published in the Slovak Republic
Central European Journal of Zoology
Has been issued since 2015.
E-ISSN 2500-3739
2018, 4(1): 31-39

DOI: [10.13187/cejz.2018.1.31](https://doi.org/10.13187/cejz.2018.1.31)
www.ejournal40.com



Pseudo-Volume Projection/Reflection Reconstruction of Diptera Parts Based on Lens-Less-Microscopy and Dynamic Lens-Less Microvolumetry Lab Equipment and Atomic Force Microscopy Software

Brief report

P. Nasirov ^a, A. Jablokov ^a, A. Skrinnik ^a, S. Pankratov ^a

^aTalroze Institute of Energy Problems of Chemical Physics, Moscow, Russian Federation

Abstract

The article consider the pseudo-volume projection/reflection reconstruction of Diptera parts based on lens-less-microscopy and dynamic lens-less microvolumetry lab equipment and atomic force microscopy software. It is the novel method for dipterology. Two-winged insects or Diptera comprise 12 % of the planetary biota. Consequently, it is rational to use this approach not only for simple fly species, but also for samples from different taxonomic ranges of Diptera (for example, see the “Systema Dipterorum” database (<http://sd.zoobank.org/Nomenclator>)).

Keywords: lens-less entomometry, lens-less entomoscopy, lens-less entomography, micro-projection entomovolumetry.

1. Введение

В работе ([Nasirov et al., 2019](#)), опубликованной в настоящем выпуске журнала, авторы дают пример использования технологий безлинзовой микроскопии для паразитологических исследований. Однако известно, что разносчиками многих паразитических заболеваний, как следствие распространения их агентов, являются двукрылые. Поэтому целесообразно ввести лазерную безлинзовую микроскопию в практику эпизоотологии и санитарной и прикладной энтомологии. Между тем, в отличие от гельминтологии и санитарной протозоологии, метод, дающий только двумерную презентацию структуры по срезу, не является эффективным, в силу объёмно-рельефного характера большинства энтомологических структур. Согласно тем источникам, которые были найдены в сети, являясь широко распространенной для решений задач медицины, в частности, паразитологии и эпидемиологии, безлинзовая микроскопия не дошла до применимости в медицинской энтомологии на профессиональном уровне, хотя на любительском уровне были precedents рассмотрения мух и других насекомых на КМОП-микроскопах из веб-камер.

2. Материалы и методы

Измерения производились в иммерсионном препарате с использованием стандартной схемы, описанной нами ранее в статьях ([Насиров и др., 2018](#); [Nasirov et al., 2018](#); [Jablokov, Gradov, 2015](#); [Gradov, Jablokov, 2017, 2018](#); Градов, Яблоков, 2017; Градов и др., 2017, 2018).

В качестве образца использовалась голова мухи – классический объект, фрагменты и целостные экземпляры которого неоднократно изучались энтомологами, микроскопистами, также, как и головы иных двукрылых, во все десятилетия второй половины XX в. ([Bonhag, 1951](#); [Craig, 1969](#); [Davies, 1974](#); [Sutcliffe, McIver, 1974](#); [Been et al, 1980](#); [Millest, 1990](#)), начиная с

работ, появившихся ещё до классических работ Йоблинга (Jobling, 1926, 1928, 1929), и, особенно часто, в XXI веке (Gajewski et al., 2005; Richardi et al., 2005; Rotheray, Gilbert, 2008; Wang et al., 2008; Schneeberg, Beutel, 2011).

Декапитация производилась стандартным походным энтомологическим инструментом без применения специальных микротомий.

Восстановление изображений производилось с использованием специализированного морфометрического программного обеспечения для атомно-силовой и другой сканирующей/зондовой микроскопии. Ввиду отсутствия возможности калибровки в миллиметровой (или большей) шкале, объём вычислялся в пикселях, сопоставленных с нанометровой шкале, затем пересчитывался в нужные единицы с помощью формул пересчёта и макроса.

Окрашивание или иное контрастирование образца не производилось, чтобы сохранить естественные отражательные и рассеивающие свойства его поверхности.

3. Результаты

Результаты визуализации приводятся на серии рисунков ниже. На [Рисунках 1-а, 1-б](#) приводятся два вертикальных сечения – в зоне отсутствия головы мухи (а) и на периферии ROI головы мухи (б). Подробный проекционный профиль волокон приведён на [Рисунке 2-а](#); их объём (без пересчёта в корректные единицы), вычисленный и отображенный программой – на [Рис. 2-б](#). Микронеоднородности (волоски, ворсинки) на голове мухи показаны на [Рисунке 3](#), а бугорки в районе фасетчатых глаз – на [Рисунках 4-а, 4-б](#). Можно обеспечить проекции для барельефных структур головы мухи на карту изофот (то есть – контурную карту оптических плотностей микропрепарата). Такой пример показан на [Рисунке 5-А](#). Аналогичная проекция, но сделанная в зоне декапитации, показана на [Рисунке 5-б](#).

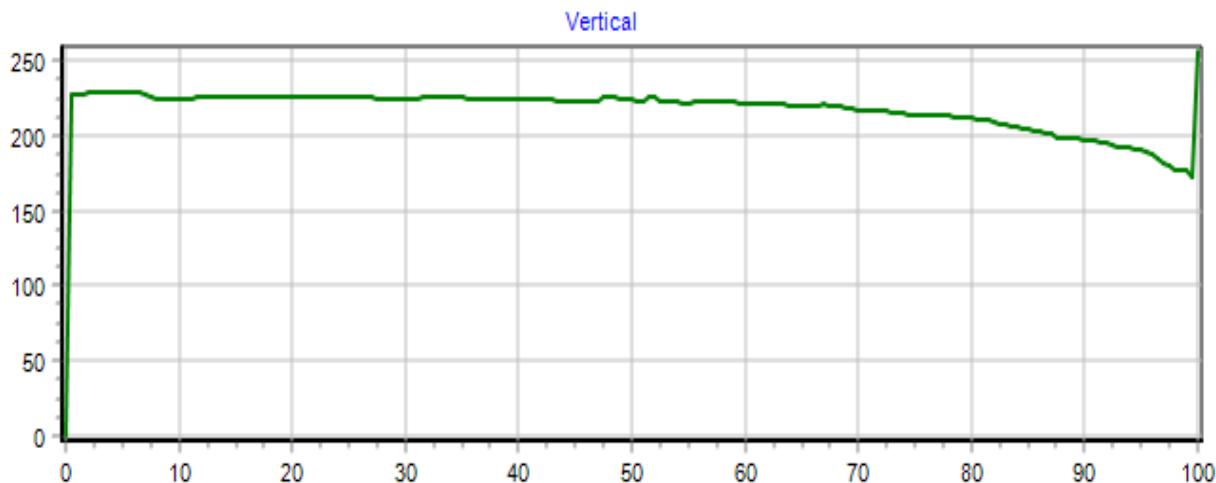


Рис. 1-а: Вертикальное сечение в зоне отсутствия головы мухи

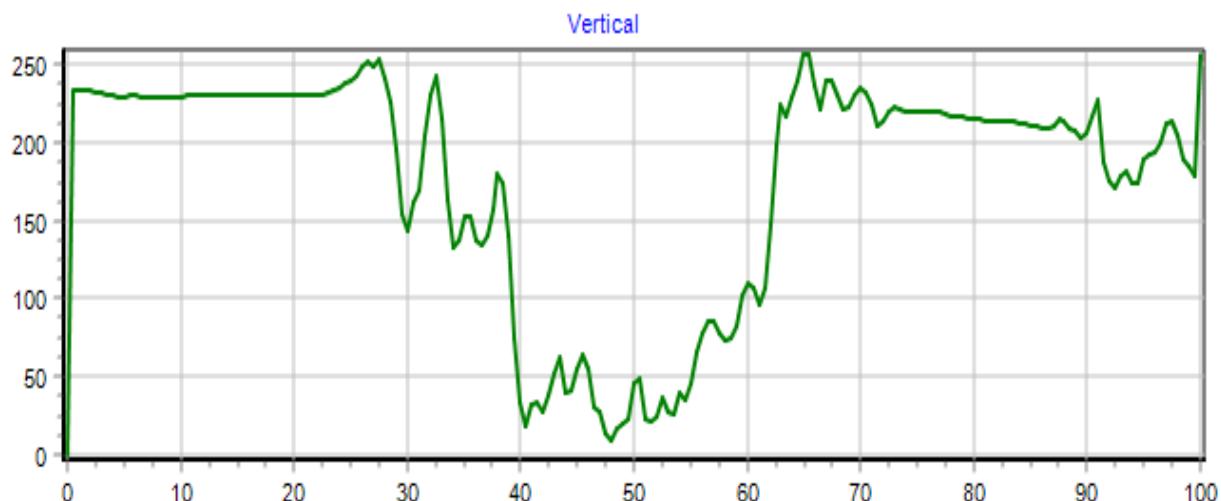


Рис. 1-б. Сечение экстинкционного профиля на периферии головы мухи

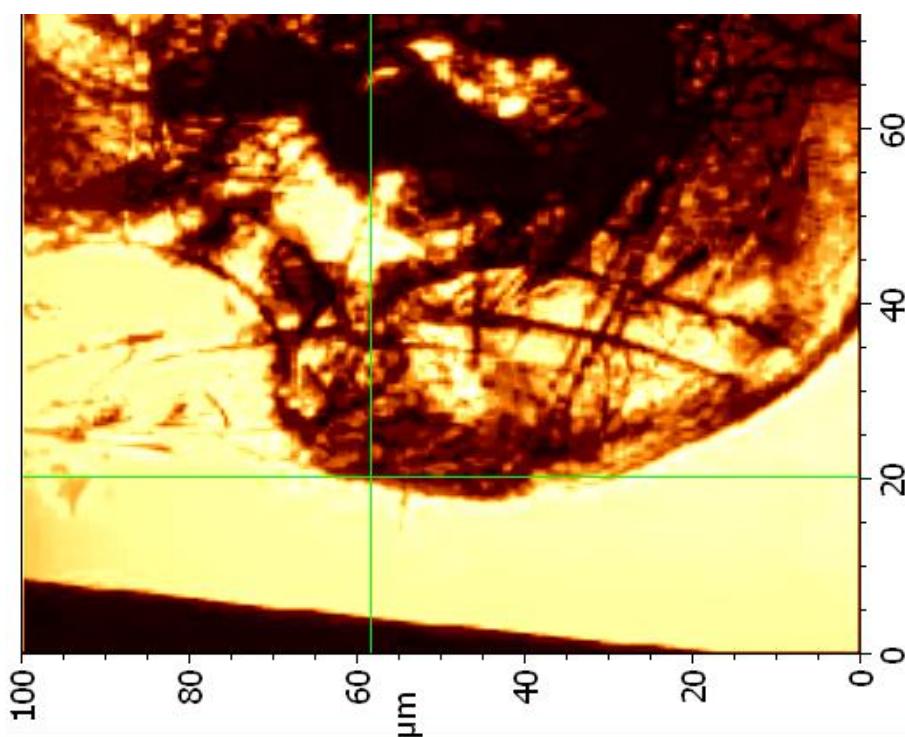


Рис. 2-а. Фрагмент головы мухи

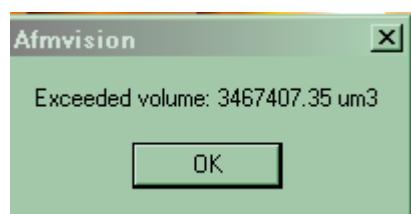


Рис. 2-б. Вычисление объёма биоматериала (без калибровки – пример окна)



Рис. 3. Микронеоднородности (волоски, ворсинки) на голове мухи

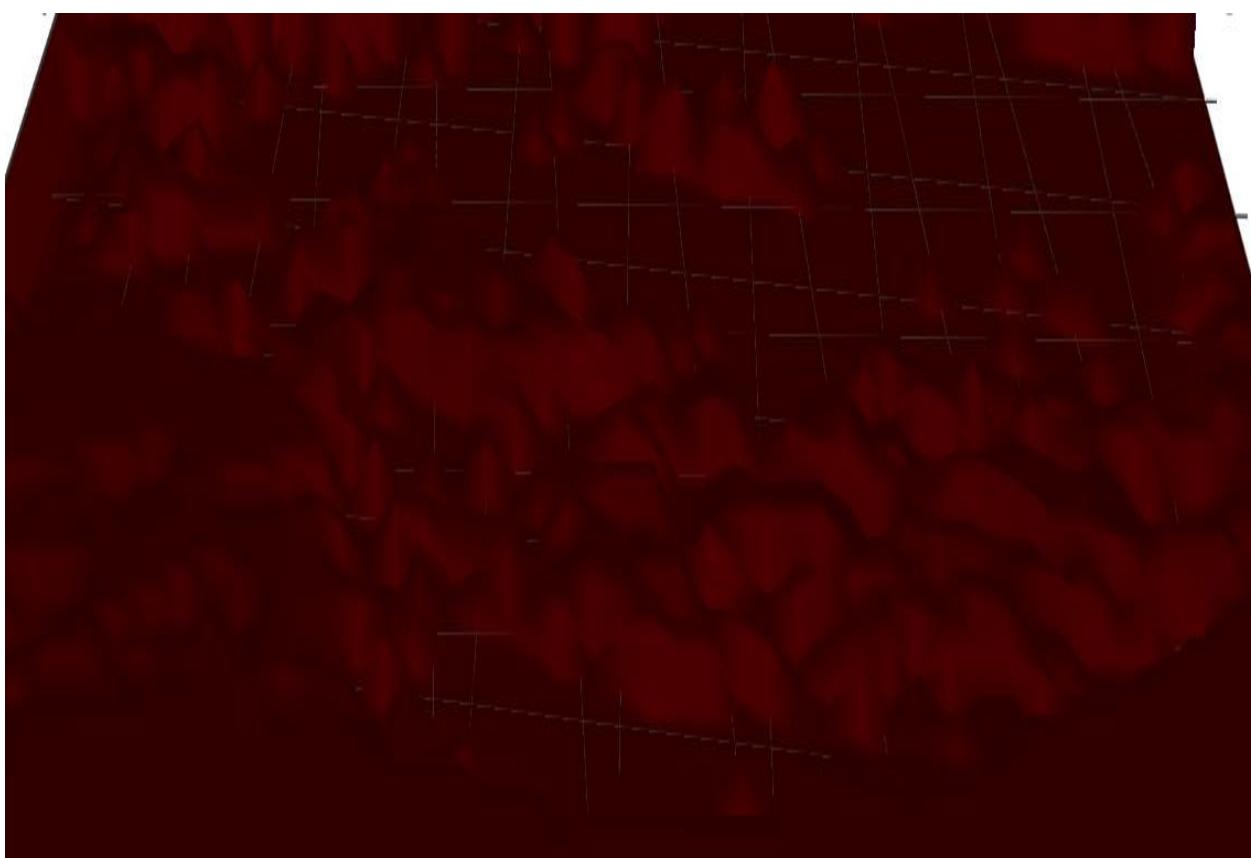


Рис. 4-а. Бугорки в районе глаз

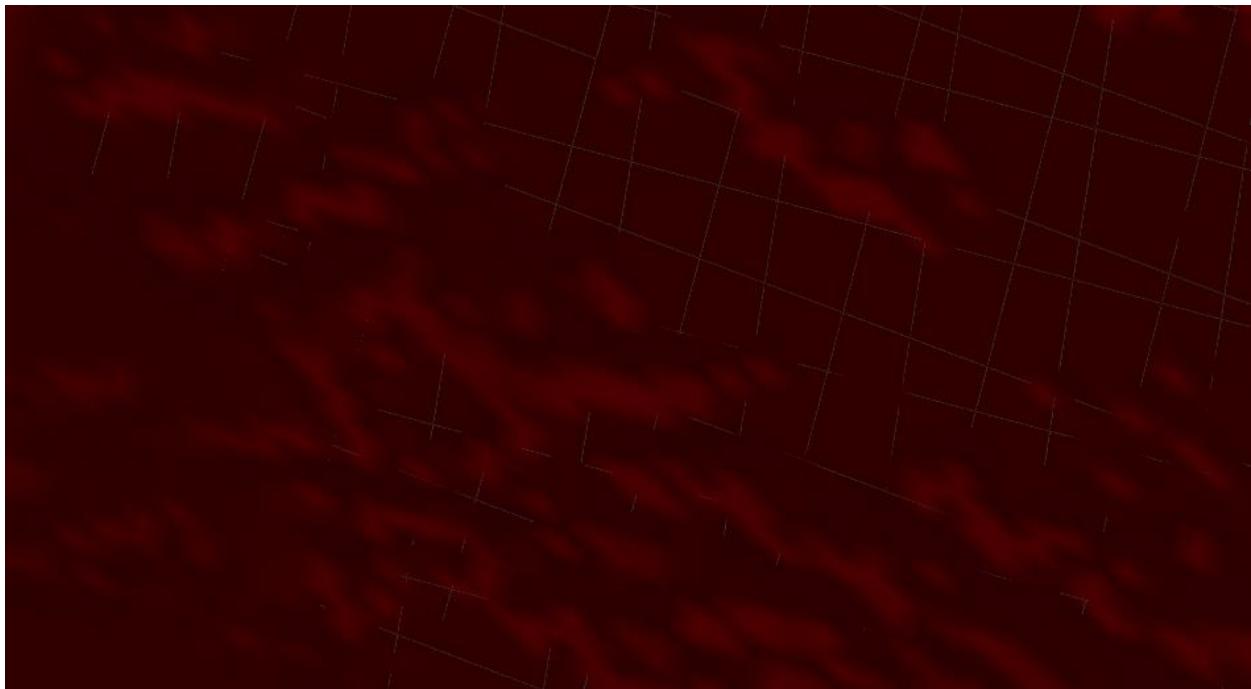


Рис. 4-б. Они же в другой проекции

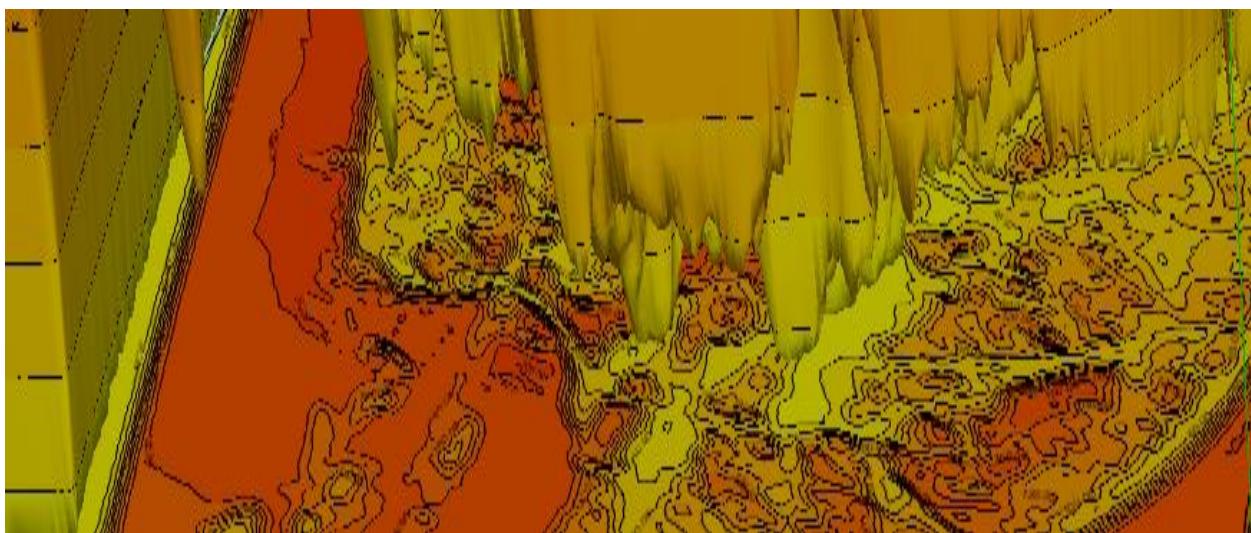


Рис. 5-а. Проекция барельефных структур головы мухи на карту изофот (контурную карту оптических плотностей микропрепарата)

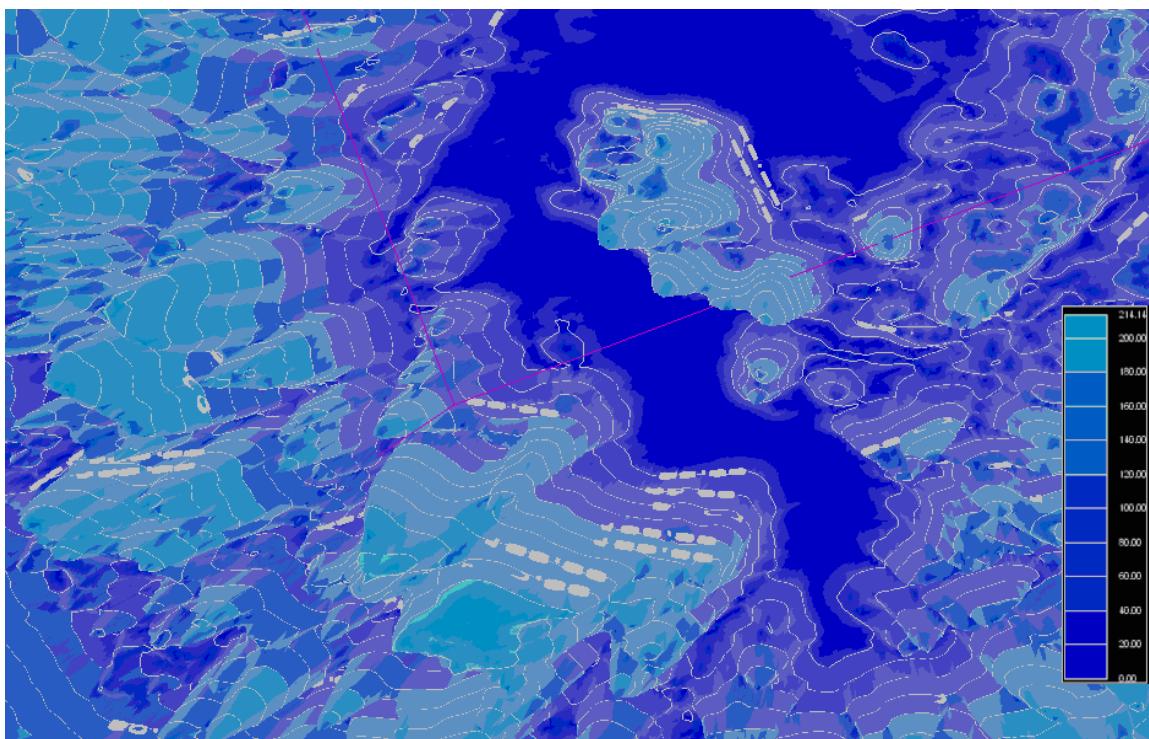


Рис. 5-б: Проекция в зоне отрыва

4. Заключение

Существенную проблему для здоровья народов тропической и субтропической Африки составляют двукрылые (классический пример – муха цеце). Возможность измерений мух на безлинзовом микроскопе представляет, таким образом, не только технический, но и явный прикладной интерес. Безлинзовая микроскопия использовалась раньше как средство быстрой диагностики и профилактического скрининга для данного региона и прилегающих к нему областей, преимущественно – в гематологии (проект BIOGAMES, UCLA). Распространение и расширение областей применимости технологии на медицинскую и санитарно-прикладную энтомологию является небезынтересной перспективой. К сожалению, в российских условиях работы в данном направлении продолжены не будут из-за закрытия всех проектов в данной области, выполнявшихся в рамках более не существующей группы О.В. Градова в ИНЭПХФ РАН и в пределах соответствующих тематических спецпрактикумов, поддерживавшихся ею.

Литература

[Градов и др., 2018](#) – Градов О.В., Насиров, Ф.А., Гончарова А.А., Фищенко В.К., Яблоков А.Г. Технологии безлинзовой голограммической трихоскопии и трихометрии на чипе: микроинтерференционные, 2d-Фурье-спектральные (интегральные частотные и пространственные) и коррелографические техники в клинической трихологии // *Морфологія*, 2018, 12(2): 7-21.

[Градов и др., 2017](#) – Градов О.В., Насиров Ф.А., Яблоков А.Г. Методы безлинзовой редоксметрической, озонометрической и гипоксиметрической микроскопии на чипе для эксперимента, цитодиагностики и цитоскрининга в молекулярной онкологии // *Успехи молекулярной онкологии*, 2017, 4(4): 10-11.

[Градов, Яблоков, 2017](#) – Градов О.В., Яблоков А.Г. Мультипараметрические лаборатории на чипе как инструмент экспериментальной регенеративной медицины и синтетического морфогенеза // *Гены и клетки*, 2017, 12(3): 74.

[Насиров и др., 2018](#) – Насиров Ф.А., Яблоков А.Г., Градов О.В. Регистрация препарата семенных каналцев методами безлинзовой лазерной проекционной микроскопии на чипе и ближнепольной микроскопии со спектрゾнальным разложением каналов изображений // *Гены и клетки*, 2018, (1 (Приложение)): 85-86.

[Been et al., 1980](#) – *Been T.H., Schomaker C.H., Thomas, G.* Olfactory sensilla on the antenna and maxillary palp of the sheep head fly, *Hydrotaea irritans* (Fallen) (Diptera: Muscidae) // *International Journal of Insect Morphology and Embryology*, 1980, 17(2), 121-133.

[Bonhag, 1951](#) – *Bonhag P.F.* The skeleto-muscular mechanism of the head and abdomen of the adult horsefly (Diptera: Tabanidae) // *Transactions of the American Entomological Society* (1890-), 1951, 77(2), 131-202.

[Craig, 1969](#) – *Craig D.A.* (1969). The embryogenesis of the larval head of *Simulium venustum* Say (Diptera: Nematocera) // *Canadian Journal of Zoology*, 1969, 47(4), 495-503.

[Davies, 1974](#) – *Davies L.* Evolution of larval head-fans in Simuliidae (Diptera) as inferred from the structure and biology of *Crozetia crozettensis* (Womersley) compared with other genera // *Zoological Journal of the Linnean Society*, 1974, 55(3), 193-224.

[Gajewski et al., 2005](#) – *Gajewski K., Bouchard G., Wilson S.E., Kurek J., Cwynar L.C.* Distribution of Chironomidae (Insecta: Diptera) head capsules in recent sediments of Canadian Arctic lakes // *Hydrobiologia*, 2005, 549(1), 131-143.

[Gradov et al., 2018](#) – *Gradov O.V., Nasirov P.A., Jablokov A.G.* Lensless on-chip-hemocytometry with secondary processing of cell images in the framework of an unconventional photometric model // *Photonics Russia*, 2018, 12(7): 716-729.

[Gradov, Jablokov, 2017](#) – *Gradov O.V., Jablokov A.G.* Multiparametric lab-on-a-chip with multiple biophysical signal converters as a novel tool for experimental stem cell biology and control equipment for hematopoietic stem cell transplantation // *Cellular Therapy and Transplantation*, 2017, 6(3:20): 41-42.

[Gradov, Jablokov, 2016](#) – *Gradov, O.V., Jablokov, A.G.* Novel morphometrics-on-a-chip: CCD- or CMOS-lab-on-a-chip based on discrete converters of different physical and chemical parameters of histological samples into the optical signals with positional sensitivity for morphometry of non-optical patterns // *Journal of Biomedical Technologies*, 2016, (2): 1-29.

[Jablokov, Gradov, 2015](#) – *Jablokov A.G., Gradov O.V.* Multiparametric qualimetric microsurgical scanning chip-lancet model: theoretical metrological and biomedical considerations // *MicroMedicine*, 2015, 3(2): 31-35.

[Jobling, 1926](#) – *Jobling B.* (A comparative study of the structure of the head and mouth parts in the Hippoboscidae (Diptera Pupipara) // *Parasitology*, 1926, 18(3), 319-349.

[Jobling, 1928b](#) – *Jobling B.* (1928). The structure of the head and mouth parts in *Culicoides pulicaris*, L. (Diptera Nematocera) // *Bulletin of Entomological Research*, 18(3), 211-236.

[Jobling, 1928a](#) – *Jobling B.* (1928). The structure of the head and mouth-parts in the Nycteribiidae (Diptera Pupipara) // *Parasitology*, 20(3), 254-272.

[Jobling, 1929](#) – *Jobling B.* A comparative study of the structure of the head and mouth parts in the Streblidae (Diptera Pupipara) // *Parasitology*, 1929, 21(4), 417-445.

[Millest, 1990](#) – *Millest A.L.* Differences in the larval head patterns and body coloration of members of the *Simulium metallicum* species complex (Diptera: Simuliidae) from Mexico // *Bulletin of Entomological Research*, 1990, 80(2), 191-194.

[Nasirov et al., 2018](#) – *Nasirov P.A., Jablokov A.G., Gradov, O.V.* Technical and methodical notes on the lensless holographic microscopy applications for helminthology and zooparasitology. Case I: Spectrozonal / multispectral analysis of *ascaris lumbricoides* based on coherent and incoherent light sensor platforms // *Central European Journal of Zoology*, 2018, (4(1)): 3-12.

[Richardi et al., 2005](#) – *Richardi V.S., Rebechi D., Aranha J.M., Navarro-Silva M.A.* (2013). Determination of larval instars in *Chironomus sancticaroli* (Diptera: Chironomidae) using novel head capsule structures // *Zoologia (Curitiba)*, 30(2), 211-216.

[Rotheray, Gilbert, 2008](#) – *Rotheray G.E., Gilbert F.* Phylogenetic relationships and the larval head of the lower Cyclorrhapha (Diptera) // *Zoological Journal of the Linnean Society*, 2008, 153(2), 287-323.

[Schneeberg, Beutel, 2011](#) – *Schneeberg K., Beutel R.G.* The adult head structures of Tipulomorpha (Diptera, Insecta) and their phylogenetic implications. *Acta Zoologica*, 2011, 92(4), 316-343.

[Sutcliffe, McIver, 1974](#) – *Sutcliffe J.F., McIver S.B.* Head appendage and wing cleaning in blackflies (Diptera: Simuliidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 1974, 67(3), 450-452.

[Wang et al., 2008](#) – *Wang Y., Francis D.R., O'Brien D.M., Wooller M.J.* A protocol for preparing subfossil chironomid head capsules (Diptera: Chironomidae) for stable isotope analysis

in paleoclimate reconstruction and considerations of contamination sources // *Journal of Paleolimnology*, 2008, 40(3), 771-781.

References

- [Been et al., 1980](#) – Been T.H., Schomaker C.H., Thomas G. (1988). Olfactory sensilla on the antenna and maxillary palp of the sheep head fly, *Hydrotaea irritans* (Fallen) (Diptera: Muscidae). *International Journal of Insect Morphology and Embryology*, 17(2), 121-133.
- [Bonhag, 1951](#) – Bonhag P.F. (1951). The skeleto-muscular mechanism of the head and abdomen of the adult horsefly (Diptera: Tabanidae). *Transactions of the American Entomological Society* (1890-), 77(2), 131-202.
- [Craig, 1969](#) – Craig, D.A. (1969). The embryogenesis of the larval head of *Simulium venustum* Say (Diptera: Nematocera). *Canadian Journal of Zoology*, 47(4), 495-503.
- [Davies, 1974](#) – Davies L. (1974). Evolution of larval head-fans in Simuliidae (Diptera) as inferred from the structure and biology of *Crozetia crozettensis* (Womersley) compared with other genera. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 55(3), 193-224.
- [Gajewski et al., 2005](#) – Gajewski K., Bouchard G., Wilson S.E., Kurek J., Cwynar L.C. (2005). Distribution of Chironomidae (Insecta: Diptera) head capsules in recent sediments of Canadian Arctic lakes. *Hydrobiologia*, 549(1), 131-143.
- [Gradov et al., 2018](#) – Gradov O.V., Nasirov P.A., Jablokov A.G. (2018). Lensless on-chip-hemocytometry with secondary processing of cell images in the framework of an unconventional photometric model. *Photonics Russia*, 12(7): 716-729.
- [Gradov i dr., 2017](#) – Gradov O.V., Nasirov F.A., Yablokov A.G. (2017). Metody bezlinzovoi redoksmetricheskoi, ozonometricheskoi i gipoksimetricheskoi mikroskopii na chipe dlya eksperimenta, tsitodiagnostiki i tsitoskrininga v molekulyarnoi onkologii [Methods of lensless redox, ozonometric and hypoximetric microscopy on a chip for experiment, cytodiagnosis and cytoscreening in molecular oncology]. *Uspekhi molekulyarnoi onkologii*, 4(4): 10-11. [in Russian]
- [Gradov i dr., 2018](#) – Gradov O.V., Nasirov, F.A., Goncharova A.A., Fishchenko V.K., Yablokov A.G. (2018). Tekhnologii bezlinzovoi holograficheskoi trikhoskopii i trikhometrii na chipe: mikrointerferentsionnye, 2d-Fur'e-spektral'nye (integral'nye chastotnye i prostranstvennye) i korrelograficheskie tekhniki v klinicheskoi trikhologii [Technologies of lensless holographic trichoscopy and trichometry on a chip: microinterference, 2d Fourier spectral (integral frequency and spatial) and correlographic techniques in clinical trichology]. *Morfologiya*, 12(2): 7-21. [in Russian]
- [Gradov, Jablokov, 2017](#) – Gradov O.V., Jablokov A.G. (2017). Multiparametric lab-on-a-chip with multiple biophysical signal converters as a novel tool for experimental stem cell biology and control equipment for hematopoietic stem cell transplantation. *Cellular Therapy and Transplantation*, 6(3:20): 41-42.
- [Gradov, Jablokov, 2016](#) – Gradov, O.V., Jablokov, A.G. (2016). Novel morphometrics-on-a-chip: CCD- or CMOS-lab-on-a-chip based on discrete converters of different physical and chemical parameters of histological samples into the optical signals with positional sensitivity for morphometry of non-optical patterns. *Journal of Biomedical Technologies*, (2): 1-29.
- [Gradov, Yablokov, 2017](#) – Gradov O.V., Yablokov A.G. (2017). Mul'tiparametricheskie laboratorii na chipe kak instrument eksperimental'noi regenerativnoi meditsiny i sinteticheskogo morfogeneza [Multiparametric laboratories on a chip as a tool for experimental regenerative medicine and synthetic morphogenesis]. *Geny i kletki*, 12(3): 74. [in Russian]
- [Jablokov, Gradov, 2015](#) – Jablokov A.G., Gradov, O.V. (2015). Multiparametric qualimetric microsurgical scanning chip-lancet model: theoretical metrological and biomedical considerations. *MicroMedicine*, 3(2): 31-35.
- [Jobling, 1926](#) – Jobling, B. (1926). A comparative study of the structure of the head and mouth parts in the Hippoboscidae (Diptera Pupipara). *Parasitology*, 18(3), 319-349.
- [Jobling, 1928b](#) – Jobling B. (1928). The structure of the head and mouth parts in *Culicoides pulicaris*, L. (Diptera Nematocera). *Bulletin of Entomological Research*, 18(3), 211-236.
- [Jobling, 1928a](#) – Jobling B. (1928). The structure of the head and mouth-parts in the Nycteribiidae (Diptera Pupipara). *Parasitology*, 20(3), 254-272.
- [Jobling, 1929](#) – Jobling B. (1929). A comparative study of the structure of the head and mouth parts in the Streblidae (Diptera Pupipara). *Parasitology*, 21(4), 417-445.

Millest, 1990 – *Millest A.L. (1990). Differences in the larval head patterns and body coloration of members of the Simulium metallicum species complex (Diptera: Simuliidae) from Mexico. Bulletin of Entomological Research, 80(2), 191-194.*

Nasirov et al., 2018 – *Nasirov P.A., Jablokov A.G., Gradov O.V. (2018). Technical and methodical notes on the lensless holographic microscopy applications for helminthology and zooparasitology. Case I: Spectrozonal / multispectral analysis of ascaris lumbricoides based on coherent and incoherent light sensor platforms. Central European Journal of Zoology, (4(1)): 3-12.*

Nasirov i dr., 2018 – *Nasirov F.A., Jablokov A.G., Gradov O.V. (2018). Registratsiya preparata semennykh kanal'tsev metodami bezlinzovoi lazernoi proektsionnoi mikroskopii na chipe i blizhnepol'noi mikroskopii so spektrozonal'nym razlozheniem kanalov izobrazhenii [Registration of the seed tubule preparation using lens-free laser projection microscopy on a chip and near-field microscopy with a spectrozonal decomposition of image channels]. Geny i kletki, (1 (Prilozhenie)): 85-86. [in Russian]*

Richardi et al., 2005 – *Richardi V.S., Rebechi, D., Aranha, J.M., Navarro-Silva M.A. (2013). Determination of larval instars in Chironomus sancticaroli (Diptera: Chironomidae) using novel head capsule structures. Zoologia (Curitiba), 30(2), 211-216.*

Rotheray, Gilbert, 2008 – *Rotheray G. E., Gilbert F. (2008). Phylogenetic relationships and the larval head of the lower Cyclorrhapha (Diptera). Zoological Journal of the Linnean Society, 153(2), 287-323.*

Schneeberg, Beutel, 2011 – *Schneeberg K., Beutel R.G. (2011). The adult head structures of Tipulomorpha (Diptera, Insecta) and their phylogenetic implications. Acta Zoologica, 92(4), 316-343.*

Sutcliffe, McIver, 1974 – *Sutcliffe J.F., McIver S.B. (1974). Head appendage and wing cleaning in blackflies (Diptera: Simuliidae). Annals of the Entomological Society of America, 67(3), 450-452.*

Wang et al., 2008 – *Wang Y., Francis D.R., O'Brien, D.M., Wooller, M.J. (2008). A protocol for preparing subfossil chironomid head capsules (Diptera: Chironomidae) for stable isotope analysis in paleoclimate reconstruction and considerations of contamination sources. Journal of Paleolimnology, 40(3), 771-781.*

Псевдотрёхмерная проекционная реконструкция в диптерологии, основанная на безлинзовой микроскопии и динамической безлинзовой микроволюметрии с использованием программного обеспечения для атомно-силовой микроскопии

Краткое сообщение

Ф. Насиров^a, А. Яблоков^a, А. Скрынник^a, С. Панкратов^a

^a ИНЭПФХ РАН, г. Москва, Российская Федерация

Аннотация. В данной статье предлагается использование псевдо-трёхмерной микропроекционной реконструкции основанной на безлинзовой микроскопии и безлинзовой микроволюметрии с использованием программного обеспечения для атомно-силовой микроскопии, для задач диптерологии. Так как объекты диптерологии составляют примерно 12 % биоты, возможно расширение данного метода не только на простые виды мух, но и на всё таксономическое (и экологическое) разнообразие Diptera. В качестве инструмента для подбора таксономически-оптимальных объектов можно воспользоваться базами данных «зообанка» данных “Systema Dipterorum” (<http://sd.zoobank.org/Nomenclator>).

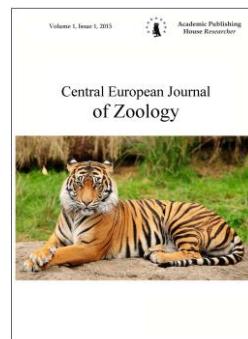
Ключевые слова: безлинзовая энтомометрия, безлинзовая энтомоскопия, безлинзовая энтомография, микропроекционная энтомоволюметрия.

Copyright © 2018 by Academic Publishing House Researcher s.r.o.



Published in the Slovak Republic
Central European Journal of Zoology
Has been issued since 2015.
E-ISSN 2500-3739
2018, 4(1): 40-58

DOI: [10.13187/cejz.2018.1.40](https://doi.org/10.13187/cejz.2018.1.40)
www.ejournal40.com



Spectrozonal Lens-Less Imaging of the Fish Tissue: RAW Data and Symmetry Analysis

Phillip A. Nasirov ^a, Arthur G. Jablokov ^a, Theodor K. Orekhov ^a, Oleg V. Gradov ^a

^aTalroze Institute of Energy Problems of Chemical Physics, Moscow, Russian Federation

Abstract

The article considers the novel principle for the fish scale analysis and multiparametric "on-chip-ichthyochronography" line estimation using spectrozonal lens-less imaging of the fish tissue at some different wavelengths and symmetry analysis. Consequently, the ichthyochronography on a chip may be used as a powerful tool for the "symmetrymetry" in different spectrozonal ranges (or channels). It is known, that biradial symmetry is a combination of radial and bilateral symmetry in water environment (the evolution of bilateral symmetry "from a presumably radially symmetrical ancestor"). Consequently, the spectrozonal lens-less symmetry analyzer may be used not only for a fish parts, but also for the general problem aim of evolutionary biology of water organisms, known as the origin of symmetry and correlation between symmetry of organisms and symmetry of some physical forces in the environment (programmed some reactive reaction-diffusion processes of the morphogenesis).

Keywords: lens-less microscopy, fish scale, ichthyology, ichthyometry, ichthyography.

1. Введение

В работе ([Nasirov et al., 2019](#)), опубликованной в настоящем выпуске журнала, авторы дают пример использования технологий безлинзовой микроскопии для паразитологических исследований. В настоящей работе предъявлен пример использования в ихтиологическом и, в частности, хронометрическом (по чешуе) направлении. Более подробное описание данной работы с развернутой обработкой данных планируется к публикации в специализированных оптических изданиях в ближайшие годы.

2. Материалы и методы

Измерения производились в иммерсионном препарате с использованием стандартной схемы, описанной нами ранее в статьях ([Насиров и др., 2018](#); [Nasirov et al., 2018](#); [Jablokov, Gradov, 2015](#); [Gradov, Jablokov, 2017, 2018](#); [Градов, Яблоков, 2017](#); [Градов и др., 2017, 2018](#)).

В качестве образца для отработки метода, безотносительно к видовой таксономической принадлежности, использовалась имеющая характеристики искаженной линзы Френеля и/или спиральной дифракционной решетки и фазовой пластинки на ортогональных режимах, в зависимости от длины волны и экстинкционных свойств препарата чешуя рыбы с явными ростовыми кольцами (из стандартного набора учебных препаратов КНР). Окрашивание или контрастирование образца не производилось, чтобы сохранить естественные отражательные и рассеивающие свойства его поверхности.

Производилось картирование по трём каналам (R,G,B) в некогерентном режиме, после которого осуществлялось измерение сканирующим пучком под разными углами в R-канале (однако для печати в статье, в силу специфики локализации объекта, выделялся

один ROI с наиболее близким значением «параметра эквидистантности» **A** [AREA], характеризующего дистанцию от краев объекта до интерференционных краев проекции пучка). Производилось визуальное (для зоологического издания) сравнение отклика пучка на регулярную структуру годовых колец чешуи (аналогичные количественные данные приводятся в другом издании, специализированном для физического акцента и табулированных данных). Производилось измерение автокорреляционной функции и степени инвариантности во всех квадрантах при использовании программного обеспечения, разработанного нижегородскими коллегами для анализа биосимметрии (более подробная информация не дается в силу подготовки работы к публикации).

3. Результаты

Результаты визуализации приводятся на серии рисунков ниже. На [Рисунке 1](#) приведен спектрональный паттерн, зарегистрированный в красном (R) канале. Можно видеть, что в красном канале, в силу несоответствия входного пучка излучения параметрам препарата, не наблюдается отклика на мезоструктуру, исключая более тонкие области на его периферии, а также элементов «статистического оптического пробоя» в поле образца – на фоне с высокой оптической плотностью. Оптимальным же для визуализации является G-канал, в котором с высокой достоверностью и достаточной резольвометрической точностью можно обнаружить годовые кольца роста, обладающие на некотором конечном для онтогенеза рыбы интервале (взрослое состояние, когда рост сохраняется, а диспропорционирование в морфологическом аспекте не происходит) свойствами самоподобия и гомотетии (выражено в угловой области). Более того, согласно нашим предшествующим данным, можно индицировать имагинальные/анцестральные/дефинитивные пропорции организма по резольвограмме его чешуи (что в другом – существенно более длинноволновом диапазоне – характерно и для годовых колец растений), а также её спектрональным профилографическим периодограммам. Очевидно, что на [Рисунке 2](#), где изображена спектрональная безлинзовая микрофотография чешуи, явно видны все периферические кольца, которые проявляются более эффективно, чем ранние (и более толстые) более часто расположенные и оптически плотные центральные слои. Зонами периферии чешуи ограничивать анализ не следует, так как свойства регулярности проявляет только направлена по ходу гидродинамического обтекания рыбы часть чешуи. Корневая и близкая к ней часть не обладает такой волнообразной регулярностью, способной являться, в частности, предметом дифракционных исследований. В большей степени, чем в красном (R) канале, но в меньшей степени, чем в зеленом канале резольвометрически оптимальными свойствами обладает изображение чешуи в синем канале, показанное на фиг. 3. Однако же и это (В-канал) изображение обладает очевидной оптической спецификой: рассеяние – такое же, как и коротковолнового пучка в атмосфере, приводящее к соответствующей окраске её и синему цвету «неба» вообще – очевидно для всей текстуры, особо – для периферии, где оно также сопряжено с изменением фокусировки, несмотря на фактически «ближнепольное» – контактно-проекционное, исключая слой покровного стекла, на котором находится образец – расположение. Однако для инициальных структур это приводит к контрастированию (sic!) и улучшению качества радиальных (не концентрических) элементов текстуры. Это может, в частности, быть связано с их химическим и, как следствие, деситометрическим отличием, а не только рефракционными и дисперсионными эффектами. Однако вклад последних, равно как и анизотропии (одни структуры ориентированы концентрически, а другие – радиально) мало очевиден при сравнении изображения зеленого и синего каналов. В частности, [Рисунок 2](#) характеризуется более выраженными черными рисками – артефактами, хотя аналогичные в аспекте направленности одной из них радиальные элементы не прослеживаются, тогда как на [Рисунке 3](#) радиальные элементы симметрии видны примерно также, как и риски-артефакты. Хотелось бы отметить, что использование гибридных по световому составу источником при сохранении позиционирования образца даёт эффект более полной визуализации структуры объекта (кольца), что характерно для каждой из используемых длин волн. Однако же глубина проникновения фотонов и контрастиметрическая характеристика сохраняются для данных длин волн такими же, как и в одноволновом случае. Пример гибридной двухдиодной (2LED) визуализации приведен на [Рисунке 4](#). Вместе с тем,

очевидно, что применение более высокого (в смысле интенсивности) уровня фокусирования пучка не ведёт к кардинальному изменению свойств изображения, однако при использовании лазерного пучка, в силу его когерентности, некоторый эффект от этого, тем не менее, наблюдается, причём интерференционные его линии отображаются, естественно отличаясь по периоду от годовых колец, следовательно – могут являться артефактами в измерении времени жизни носителя колец, а, следовательно – должны быть изучены как самостоятельный предмет исследования для каждой из лазерных мод и длин волн в дальнейшем. Для того, чтобы убедиться в данном тезисе, рекомендуется, в частности, сопоставить [Рисунок 1](#), выполненный в красном канале (R) на некогерентном (LED) и [Рисунок 5](#), выполненный в красном канале (R) на когерентном (DPSSL) источнике. Чешуя и ROI выбраны те же.



Рис. 1. Изображение в красном канале (R). Некогерентный источник (LED)



Рис. 2. Изображение в зеленом канале (G). Некогерентный источник (LED)

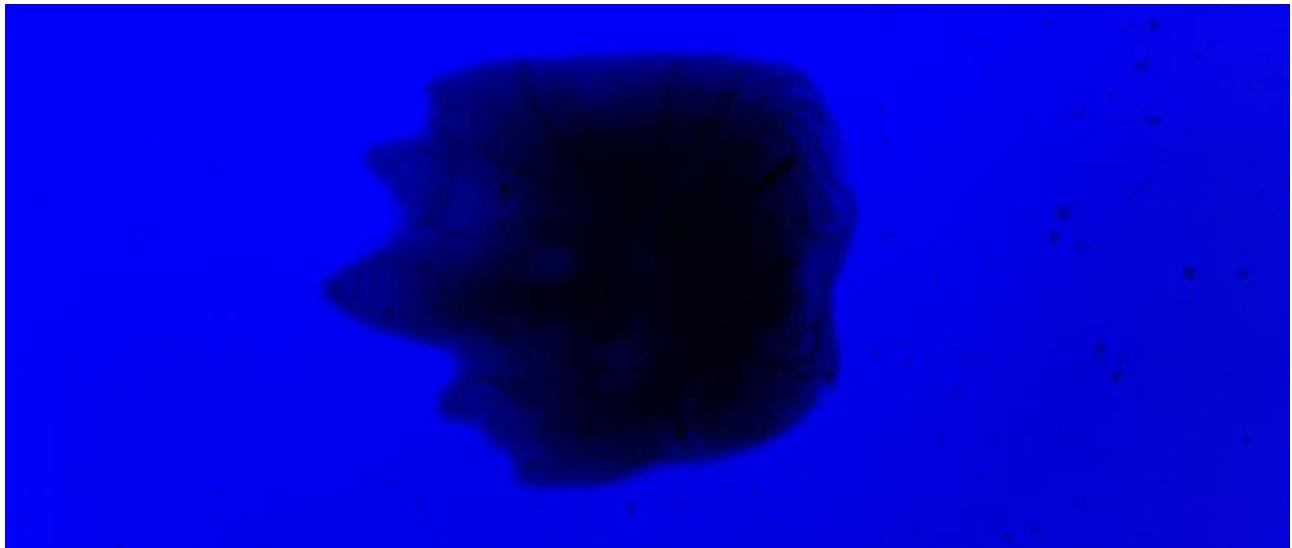


Рис. 3. Изображение в синем канале (B). Некогерентный источник (LED)

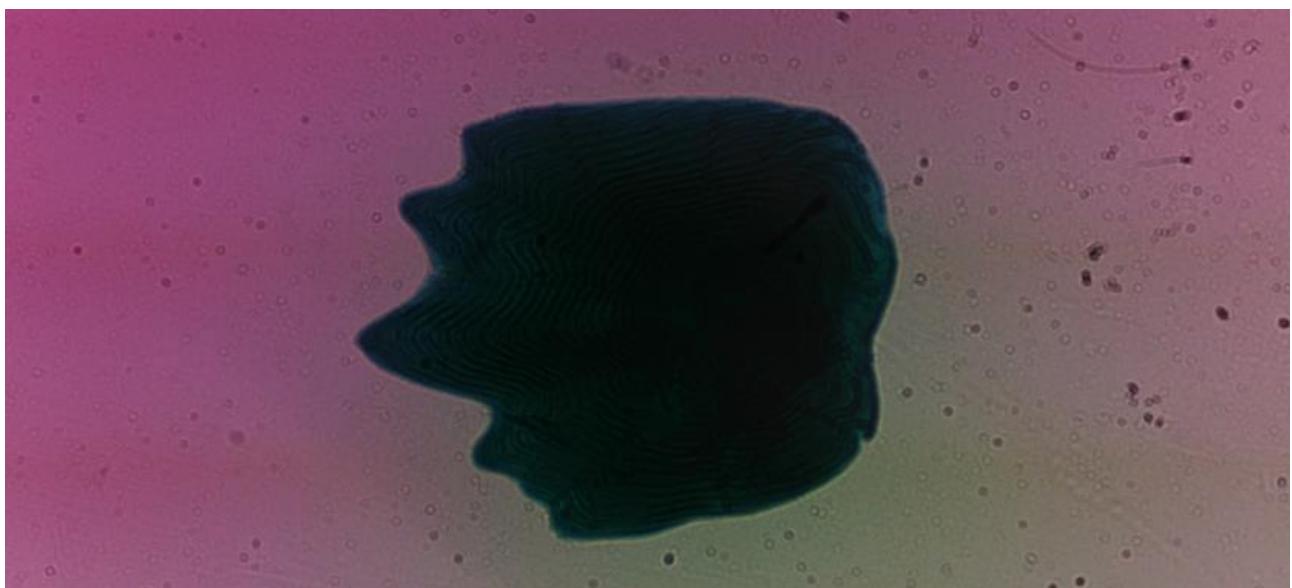


Рис.4. Изображение в гибридных каналах. Некогерентные источники (LEDs)

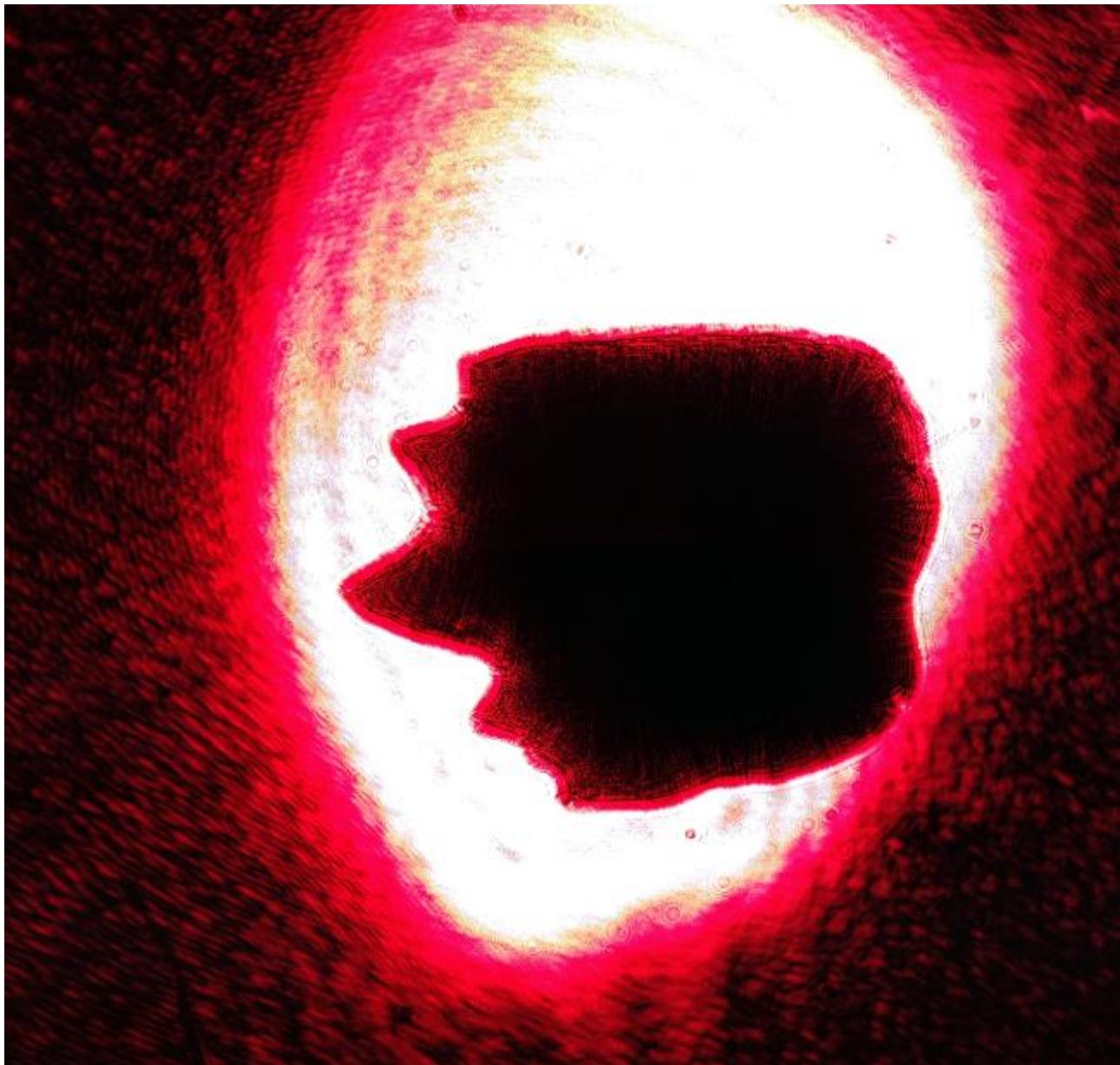


Рис. 5. Изображение в красном канале (R). Когерентный источник (DPSSL)

Было показано, что изображения чешуи на безлинзовом сенсоре качественно отличны по симметрии – по степени инвариантности и автокорреляционной функции – для случаев с использованием когерентного и некогерентного источника в едином спектрональном или узкополосном спектральном канале, но слабо отличимы по форме (за исключением малого количества пекулярностей) для разных каналов или спектрональных диапазонов в одном некогерентном или слабокогерентном (LED) режиме освещения микропрепарата. Примеры зависимости от угла степеней инвариантности в четырёх квадрантах для слабокогерентного и когерентного случаев R-канала приведены в [Таблице 1](#), [Таблице 3](#) соответственно (столбцы даны при табулировании по отдельным квадрантам). Примеры численных данных корреляции (в форме автокорреляционных функций) для соответствующих режимов при стационарном (не меняющим положение и центр симметрии) образце даны в [Таблице 2](#) и [Таблице 4](#) соответственно. В [Таблице 5](#) дано сопоставление экстремумов и статистических параметров инвариантности для данных случаев. Можно видеть, что не только номенклатура, но и число пиков изменяется в зависимости от режима (когерентного или частично-коегрентного), уменьшаясь в случаях, в которых происходит «аподизация» ROI за счёт ограничения сечения лазерного пучка.

Таблица 1. Зависимость от угла степеней инвариантности в четырёх квадрантах
Красный канал. Слабокогерентный источник – LED

1 квадрант (0°- 90°)		2 квадрант (90°- 180°)		3 квадрант (180°- 270°)		4 квадрант (270°-360°)	
Угол, град.	Степень инвариантности	Угол, град.	Степень инвариантности	Угол, град.	Степень инвариантности	Угол, град.	Степень инвариантности
1.00	0.9863	91.00	0.6469	181.00	0.9626	271.00	0.6472
2.00	0.9736	92.00	0.6474	182.00	0.9505	272.00	0.6478
3.00	0.9611	93.00	0.6481	183.00	0.9386	273.00	0.6488
4.00	0.9488	94.00	0.6491	184.00	0.9271	274.00	0.6501
5.00	0.9369	95.00	0.6504	185.00	0.9159	275.00	0.6516
6.00	0.9255	96.00	0.6521	186.00	0.9051	276.00	0.6535
7.00	0.9145	97.00	0.6540	187.00	0.8947	277.00	0.6557
8.00	0.9039	98.00	0.6564	188.00	0.8848	278.00	0.6582
9.00	0.8938	99.00	0.6590	189.00	0.8752	279.00	0.6611
10.00	0.8843	100.00	0.6621	190.00	0.8662	280.00	0.6644
11.00	0.8751	101.00	0.6655	191.00	0.8574	281.00	0.6680
12.00	0.8665	102.00	0.6694	192.00	0.8492	282.00	0.6720
13.00	0.8584	103.00	0.6735	193.00	0.8413	283.00	0.6764
14.00	0.8507	104.00	0.6781	194.00	0.8339	284.00	0.6811
15.00	0.8435	105.00	0.6831	195.00	0.8268	285.00	0.6862
16.00	0.8367	106.00	0.6884	196.00	0.8202	286.00	0.6917
17.00	0.8302	107.00	0.6937	197.00	0.8138	287.00	0.6971
18.00	0.8240	108.00	0.6978	198.00	0.8078	288.00	0.7014
19.00	0.8182	109.00	0.7008	199.00	0.8020	289.00	0.7046
20.00	0.8126	110.00	0.7031	200.00	0.7965	290.00	0.7070
21.00	0.8071	111.00	0.7048	201.00	0.7912	291.00	0.7090
22.00	0.8019	112.00	0.7061	202.00	0.7861	292.00	0.7105
23.00	0.7967	113.00	0.7071	203.00	0.7811	293.00	0.7116
24.00	0.7916	114.00	0.7077	204.00	0.7763	294.00	0.7125
25.00	0.7867	115.00	0.7081	205.00	0.7716	295.00	0.7132
26.00	0.7819	116.00	0.7083	206.00	0.7672	296.00	0.7137
27.00	0.7772	117.00	0.7084	207.00	0.7629	297.00	0.7140
28.00	0.7728	118.00	0.7083	208.00	0.7587	298.00	0.7143
29.00	0.7685	119.00	0.7082	209.00	0.7548	299.00	0.7145
30.00	0.7644	120.00	0.7081	210.00	0.7510	300.00	0.7146
31.00	0.7605	121.00	0.7080	211.00	0.7474	301.00	0.7148
32.00	0.7568	122.00	0.7079	212.00	0.7440	302.00	0.7149
33.00	0.7532	123.00	0.7079	213.00	0.7407	303.00	0.7152
34.00	0.7499	124.00	0.7080	214.00	0.7377	304.00	0.7155
35.00	0.7467	125.00	0.7082	215.00	0.7349	305.00	0.7159
36.00	0.7438	126.00	0.7085	216.00	0.7322	306.00	0.7164
37.00	0.7410	127.00	0.7089	217.00	0.7297	307.00	0.7170
38.00	0.7385	128.00	0.7094	218.00	0.7274	308.00	0.7177
39.00	0.7361	129.00	0.7101	219.00	0.7253	309.00	0.7185
40.00	0.7340	130.00	0.7108	220.00	0.7234	310.00	0.7194
41.00	0.7319	131.00	0.7117	221.00	0.7216	311.00	0.7204
42.00	0.7301	132.00	0.7126	222.00	0.7200	312.00	0.7215
43.00	0.7284	133.00	0.7136	223.00	0.7185	313.00	0.7227
44.00	0.7268	134.00	0.7147	224.00	0.7171	314.00	0.7240
45.00	0.7253	135.00	0.7158	225.00	0.7158	315.00	0.7253
46.00	0.7240	136.00	0.7171	226.00	0.7147	316.00	0.7268
47.00	0.7227	137.00	0.7185	227.00	0.7136	317.00	0.7284

48.00	0.7215	138.00	0.7200	228.00	0.7126	318.00	0.7301
49.00	0.7204	139.00	0.7216	229.00	0.7117	319.00	0.7319
50.00	0.7194	140.00	0.7234	230.00	0.7108	320.00	0.7340
51.00	0.7185	141.00	0.7253	231.00	0.7101	321.00	0.7361
52.00	0.7177	142.00	0.7274	232.00	0.7094	322.00	0.7385
53.00	0.7170	143.00	0.7297	233.00	0.7089	323.00	0.7410
54.00	0.7164	144.00	0.7322	234.00	0.7085	324.00	0.7438
55.00	0.7159	145.00	0.7349	235.00	0.7082	325.00	0.7467
56.00	0.7155	146.00	0.7377	236.00	0.7080	326.00	0.7499
57.00	0.7152	147.00	0.7407	237.00	0.7079	327.00	0.7532
58.00	0.7149	148.00	0.7440	238.00	0.7079	328.00	0.7568
59.00	0.7148	149.00	0.7474	239.00	0.7080	329.00	0.7605
60.00	0.7146	150.00	0.7510	240.00	0.7081	330.00	0.7644
61.00	0.7145	151.00	0.7548	241.00	0.7082	331.00	0.7685
62.00	0.7143	152.00	0.7587	242.00	0.7083	332.00	0.7728
63.00	0.7140	153.00	0.7629	243.00	0.7084	333.00	0.7772
64.00	0.7137	154.00	0.7672	244.00	0.7083	334.00	0.7819
65.00	0.7132	155.00	0.7717	245.00	0.7081	335.00	0.7867
66.00	0.7125	156.00	0.7763	246.00	0.7077	336.00	0.7916
67.00	0.7116	157.00	0.7811	247.00	0.7071	337.00	0.7967
68.00	0.7105	158.00	0.7861	248.00	0.7061	338.00	0.8019
69.00	0.7090	159.00	0.7912	249.00	0.7048	339.00	0.8072
70.00	0.7070	160.00	0.7965	250.00	0.7031	340.00	0.8126
71.00	0.7046	161.00	0.8020	251.00	0.7008	341.00	0.8182
72.00	0.7014	162.00	0.8078	252.00	0.6978	342.00	0.8240
73.00	0.6971	163.00	0.8138	253.00	0.6937	343.00	0.8302
74.00	0.6917	164.00	0.8202	254.00	0.6884	344.00	0.8367
75.00	0.6862	165.00	0.8268	255.00	0.6831	345.00	0.8435
76.00	0.6811	166.00	0.8339	256.00	0.6781	346.00	0.8507
77.00	0.6764	167.00	0.8413	257.00	0.6735	347.00	0.8584
78.00	0.6720	168.00	0.8492	258.00	0.6694	348.00	0.8665
79.00	0.6680	169.00	0.8574	259.00	0.6655	349.00	0.8751
80.00	0.6644	170.00	0.8661	260.00	0.6621	350.00	0.8843
81.00	0.6611	171.00	0.8752	261.00	0.6590	351.00	0.8938
82.00	0.6582	172.00	0.8848	262.00	0.6564	352.00	0.9039
83.00	0.6557	173.00	0.8948	263.00	0.6540	353.00	0.9145
84.00	0.6535	174.00	0.9051	264.00	0.6521	354.00	0.9255
85.00	0.6516	175.00	0.9159	265.00	0.6504	355.00	0.9369
86.00	0.6501	176.00	0.9271	266.00	0.6491	356.00	0.9488
87.00	0.6488	177.00	0.9386	267.00	0.6481	357.00	0.9611
88.00	0.6478	178.00	0.9505	268.00	0.6474	358.00	0.9736
89.00	0.6472	179.00	0.9626	269.00	0.6469	359.00	0.9863
90.00	0.6469	180.00	0.9740	270.00	0.6469	360.00	1.0000

Таблица 2. Таблица значений автокорреляционной функции
(Красный канал. Слабокогерентный источник – LED)

1 квадрант (0°- 90°)		2 квадрант (90°- 180°)		3 квадрант (180°- 270°)		4 квадрант (270°-360°)	
Угол, град.	Автокорреляция	Угол, град.	Автокорреляция	Угол, град.	Автокорреляция	Угол, град.	Автокорреляция
1.00	1.0000	91.00	0.9786	181.00	0.9998	271.00	0.9786
2.00	0.9999	92.00	0.9787	182.00	0.9998	272.00	0.9786
3.00	0.9998	93.00	0.9787	183.00	0.9997	273.00	0.9787
4.00	0.9997	94.00	0.9788	184.00	0.9996	274.00	0.9787
5.00	0.9995	95.00	0.9788	185.00	0.9994	275.00	0.9788
6.00	0.9993	96.00	0.9790	186.00	0.9992	276.00	0.9789
7.00	0.9991	97.00	0.9791	187.00	0.9990	277.00	0.9790
8.00	0.9988	98.00	0.9792	188.00	0.9988	278.00	0.9792
9.00	0.9985	99.00	0.9794	189.00	0.9985	279.00	0.9793
10.00	0.9982	100.00	0.9795	190.00	0.9982	280.00	0.9795
11.00	0.9979	101.00	0.9797	191.00	0.9979	281.00	0.9797
12.00	0.9976	102.00	0.9799	192.00	0.9976	282.00	0.9798
13.00	0.9973	103.00	0.9801	193.00	0.9973	283.00	0.9801
14.00	0.9969	104.00	0.9803	194.00	0.9969	284.00	0.9803
15.00	0.9966	105.00	0.9806	195.00	0.9966	285.00	0.9805
16.00	0.9962	106.00	0.9808	196.00	0.9962	286.00	0.9807
17.00	0.9959	107.00	0.9810	197.00	0.9959	287.00	0.9810
18.00	0.9955	108.00	0.9813	198.00	0.9955	288.00	0.9812
19.00	0.9951	109.00	0.9815	199.00	0.9952	289.00	0.9814
20.00	0.9948	110.00	0.9817	200.00	0.9948	290.00	0.9817
21.00	0.9944	111.00	0.9820	201.00	0.9944	291.00	0.9819
22.00	0.9940	112.00	0.9822	202.00	0.9941	292.00	0.9821
23.00	0.9937	113.00	0.9824	203.00	0.9937	293.00	0.9824
24.00	0.9933	114.00	0.9826	204.00	0.9933	294.00	0.9826
25.00	0.9930	115.00	0.9828	205.00	0.9930	295.00	0.9828
26.00	0.9926	116.00	0.9830	206.00	0.9926	296.00	0.9830
27.00	0.9923	117.00	0.9832	207.00	0.9923	297.00	0.9832
28.00	0.9919	118.00	0.9834	208.00	0.9919	298.00	0.9834
29.00	0.9916	119.00	0.9836	209.00	0.9916	299.00	0.9836
30.00	0.9913	120.00	0.9838	210.00	0.9913	300.00	0.9838
31.00	0.9909	121.00	0.9840	211.00	0.9909	301.00	0.9840
32.00	0.9906	122.00	0.9842	212.00	0.9906	302.00	0.9842
33.00	0.9903	123.00	0.9844	213.00	0.9903	303.00	0.9844
34.00	0.9900	124.00	0.9846	214.00	0.9900	304.00	0.9846
35.00	0.9897	125.00	0.9848	215.00	0.9897	305.00	0.9848
36.00	0.9894	126.00	0.9850	216.00	0.9894	306.00	0.9850
37.00	0.9891	127.00	0.9852	217.00	0.9891	307.00	0.9852
38.00	0.9889	128.00	0.9854	218.00	0.9889	308.00	0.9854
39.00	0.9886	129.00	0.9856	219.00	0.9886	309.00	0.9856
40.00	0.9883	130.00	0.9858	220.00	0.9883	310.00	0.9858
41.00	0.9881	131.00	0.9860	221.00	0.9881	311.00	0.9860
42.00	0.9878	132.00	0.9862	222.00	0.9878	312.00	0.9862
43.00	0.9876	133.00	0.9864	223.00	0.9876	313.00	0.9864
44.00	0.9873	134.00	0.9867	224.00	0.9873	314.00	0.9867
45.00	0.9871	135.00	0.9869	225.00	0.9871	315.00	0.9869
46.00	0.9869	136.00	0.9871	226.00	0.9869	316.00	0.9871
47.00	0.9867	137.00	0.9873	227.00	0.9867	317.00	0.9873
48.00	0.9864	138.00	0.9876	228.00	0.9864	318.00	0.9876

49.00	0.9862	139.00	0.9878	229.00	0.9862	319.00	0.9878
50.00	0.9860	140.00	0.9881	230.00	0.9860	320.00	0.9881
51.00	0.9858	141.00	0.9883	231.00	0.9858	321.00	0.9883
52.00	0.9856	142.00	0.9886	232.00	0.9856	322.00	0.9886
53.00	0.9854	143.00	0.9889	233.00	0.9854	323.00	0.9889
54.00	0.9852	144.00	0.9891	234.00	0.9852	324.00	0.9891
55.00	0.9850	145.00	0.9894	235.00	0.9850	325.00	0.9894
56.00	0.9848	146.00	0.9897	236.00	0.9848	326.00	0.9897
57.00	0.9846	147.00	0.9900	237.00	0.9846	327.00	0.9900
58.00	0.9844	148.00	0.9903	238.00	0.9844	328.00	0.9903
59.00	0.9842	149.00	0.9906	239.00	0.9842	329.00	0.9906
60.00	0.9840	150.00	0.9909	240.00	0.9840	330.00	0.9909
61.00	0.9838	151.00	0.9913	241.00	0.9838	331.00	0.9913
62.00	0.9836	152.00	0.9916	242.00	0.9836	332.00	0.9916
63.00	0.9834	153.00	0.9919	243.00	0.9834	333.00	0.9919
64.00	0.9832	154.00	0.9923	244.00	0.9832	334.00	0.9923
65.00	0.9830	155.00	0.9926	245.00	0.9830	335.00	0.9926
66.00	0.9828	156.00	0.9930	246.00	0.9828	336.00	0.9930
67.00	0.9826	157.00	0.9933	247.00	0.9826	337.00	0.9933
68.00	0.9824	158.00	0.9937	248.00	0.9824	338.00	0.9937
69.00	0.9821	159.00	0.9941	249.00	0.9822	339.00	0.9940
70.00	0.9819	160.00	0.9944	250.00	0.9820	340.00	0.9944
71.00	0.9817	161.00	0.9948	251.00	0.9817	341.00	0.9948
72.00	0.9814	162.00	0.9952	252.00	0.9815	342.00	0.9951
73.00	0.9812	163.00	0.9955	253.00	0.9813	343.00	0.9955
74.00	0.9810	164.00	0.9959	254.00	0.9810	344.00	0.9959
75.00	0.9807	165.00	0.9962	255.00	0.9808	345.00	0.9962
76.00	0.9805	166.00	0.9966	256.00	0.9806	346.00	0.9966
77.00	0.9803	167.00	0.9969	257.00	0.9803	347.00	0.9969
78.00	0.9801	168.00	0.9973	258.00	0.9801	348.00	0.9973
79.00	0.9798	169.00	0.9976	259.00	0.9799	349.00	0.9976
80.00	0.9797	170.00	0.9979	260.00	0.9797	350.00	0.9979
81.00	0.9795	171.00	0.9982	261.00	0.9795	351.00	0.9982
82.00	0.9793	172.00	0.9985	262.00	0.9794	352.00	0.9985
83.00	0.9792	173.00	0.9988	263.00	0.9792	353.00	0.9988
84.00	0.9790	174.00	0.9990	264.00	0.9791	354.00	0.9991
85.00	0.9789	175.00	0.9992	265.00	0.9790	355.00	0.9993
86.00	0.9788	176.00	0.9994	266.00	0.9788	356.00	0.9995
87.00	0.9787	177.00	0.9996	267.00	0.9788	357.00	0.9997
88.00	0.9787	178.00	0.9997	268.00	0.9787	358.00	0.9998
89.00	0.9786	179.00	0.9998	269.00	0.9787	359.00	0.9999
90.00	0.9786	180.00	0.9998	270.00	0.9786	360.00	1.0000

Таблица 3. Зависимость от угла степеней инвариантности в четырёх квадрантах
(Красный канал. Лазерный диод)

1 квадрант (0°- 90°)		2 квадрант (90°- 180°)		3 квадрант (180°- 270°)		4 квадрант (270°-360°)	
Угол, град.	Степень инвариантности	Угол, град.	Степень инвариантности	Угол, град.	Степень инвариантности	Угол, град.	Степень инвариантности
1.00	0.9888	91.00	0.5922	181.00	0.5267	271.00	0.5973
2.00	0.9840	92.00	0.5898	182.00	0.5264	272.00	0.6000
3.00	0.9793	93.00	0.5874	183.00	0.5261	273.00	0.6028
4.00	0.9742	94.00	0.5850	184.00	0.5258	274.00	0.6056
5.00	0.9690	95.00	0.5826	185.00	0.5253	275.00	0.6085
6.00	0.9636	96.00	0.5803	186.00	0.5248	276.00	0.6114
7.00	0.9581	97.00	0.5780	187.00	0.5244	277.00	0.6143
8.00	0.9526	98.00	0.5757	188.00	0.5238	278.00	0.6175
9.00	0.9472	99.00	0.5733	189.00	0.5233	279.00	0.6206
10.00	0.9419	100.00	0.5710	190.00	0.5228	280.00	0.6238
11.00	0.9367	101.00	0.5687	191.00	0.5221	281.00	0.6269
12.00	0.9317	102.00	0.5664	192.00	0.5214	282.00	0.6299
13.00	0.9268	103.00	0.5641	193.00	0.5207	283.00	0.6330
14.00	0.9218	104.00	0.5618	194.00	0.5201	284.00	0.6363
15.00	0.9170	105.00	0.5595	195.00	0.5193	285.00	0.6396
16.00	0.9122	106.00	0.5573	196.00	0.5187	286.00	0.6429
17.00	0.9076	107.00	0.5551	197.00	0.5180	287.00	0.6462
18.00	0.9030	108.00	0.5529	198.00	0.5172	288.00	0.6495
19.00	0.8986	109.00	0.5508	199.00	0.5166	289.00	0.6528
20.00	0.8941	110.00	0.5487	200.00	0.5159	290.00	0.6561
21.00	0.8895	111.00	0.5467	201.00	0.5152	291.00	0.6594
22.00	0.8847	112.00	0.5447	202.00	0.5146	292.00	0.6627
23.00	0.8795	113.00	0.5427	203.00	0.5140	293.00	0.6662
24.00	0.8742	114.00	0.5409	204.00	0.5134	294.00	0.6698
25.00	0.8687	115.00	0.5391	205.00	0.5127	295.00	0.6735
26.00	0.8631	116.00	0.5373	206.00	0.5121	296.00	0.6775
27.00	0.8576	117.00	0.5357	207.00	0.5115	297.00	0.6817
28.00	0.8521	118.00	0.5340	208.00	0.5109	298.00	0.6860
29.00	0.8465	119.00	0.5323	209.00	0.5104	299.00	0.6903
30.00	0.8410	120.00	0.5307	210.00	0.5100	300.00	0.6948
31.00	0.8353	121.00	0.5290	211.00	0.5097	301.00	0.6994
32.00	0.8295	122.00	0.5274	212.00	0.5095	302.00	0.7039
33.00	0.8237	123.00	0.5260	213.00	0.5093	303.00	0.7085
34.00	0.8181	124.00	0.5245	214.00	0.5093	304.00	0.7130
35.00	0.8125	125.00	0.5231	215.00	0.5094	305.00	0.7175
36.00	0.8071	126.00	0.5218	216.00	0.5096	306.00	0.7220
37.00	0.8018	127.00	0.5205	217.00	0.5098	307.00	0.7266
38.00	0.7965	128.00	0.5194	218.00	0.5100	308.00	0.7312
39.00	0.7913	129.00	0.5183	219.00	0.5103	309.00	0.7357
40.00	0.7861	130.00	0.5174	220.00	0.5107	310.00	0.7401
41.00	0.7812	131.00	0.5165	221.00	0.5112	311.00	0.7446
42.00	0.7763	132.00	0.5157	222.00	0.5117	312.00	0.7490
43.00	0.7716	133.00	0.5149	223.00	0.5123	313.00	0.7534
44.00	0.7669	134.00	0.5142	224.00	0.5128	314.00	0.7579
45.00	0.7623	135.00	0.5135	225.00	0.5134	315.00	0.7623
46.00	0.7579	136.00	0.5128	226.00	0.5142	316.00	0.7669
47.00	0.7534	137.00	0.5123	227.00	0.5149	317.00	0.7715

48.00	0.7490	138.00	0.5117	228.00	0.5157	318.00	0.7763
49.00	0.7446	139.00	0.5112	229.00	0.5165	319.00	0.7812
50.00	0.7401	140.00	0.5107	230.00	0.5174	320.00	0.7861
51.00	0.7357	141.00	0.5104	231.00	0.5183	321.00	0.7913
52.00	0.7312	142.00	0.5100	232.00	0.5194	322.00	0.7964
53.00	0.7266	143.00	0.5097	233.00	0.5205	323.00	0.8018
54.00	0.7220	144.00	0.5096	234.00	0.5218	324.00	0.8071
55.00	0.7175	145.00	0.5094	235.00	0.5231	325.00	0.8125
56.00	0.7130	146.00	0.5093	236.00	0.5245	326.00	0.8181
57.00	0.7085	147.00	0.5093	237.00	0.5260	327.00	0.8238
58.00	0.7039	148.00	0.5095	238.00	0.5274	328.00	0.8295
59.00	0.6994	149.00	0.5097	239.00	0.5290	329.00	0.8353
60.00	0.6948	150.00	0.5100	240.00	0.5307	330.00	0.8410
61.00	0.6903	151.00	0.5104	241.00	0.5323	331.00	0.8465
62.00	0.6860	152.00	0.5109	242.00	0.5340	332.00	0.8521
63.00	0.6817	153.00	0.5115	243.00	0.5356	333.00	0.8576
64.00	0.6775	154.00	0.5121	244.00	0.5373	334.00	0.8631
65.00	0.6735	155.00	0.5128	245.00	0.5391	335.00	0.8687
66.00	0.6698	156.00	0.5134	246.00	0.5409	336.00	0.8741
67.00	0.6662	157.00	0.5140	247.00	0.5428	337.00	0.8796
68.00	0.6627	158.00	0.5146	248.00	0.5447	338.00	0.8847
69.00	0.6594	159.00	0.5152	249.00	0.5467	339.00	0.8894
70.00	0.6561	160.00	0.5159	250.00	0.5487	340.00	0.8941
71.00	0.6529	161.00	0.5166	251.00	0.5508	341.00	0.8986
72.00	0.6495	162.00	0.5172	252.00	0.5529	342.00	0.9030
73.00	0.6462	163.00	0.5180	253.00	0.5551	343.00	0.9076
74.00	0.6429	164.00	0.5187	254.00	0.5573	344.00	0.9122
75.00	0.6396	165.00	0.5193	255.00	0.5595	345.00	0.9170
76.00	0.6363	166.00	0.5201	256.00	0.5618	346.00	0.9219
77.00	0.6331	167.00	0.5208	257.00	0.5641	347.00	0.9268
78.00	0.6299	168.00	0.5214	258.00	0.5664	348.00	0.9317
79.00	0.6269	169.00	0.5221	259.00	0.5687	349.00	0.9367
80.00	0.6238	170.00	0.5228	260.00	0.5710	350.00	0.9419
81.00	0.6207	171.00	0.5233	261.00	0.5733	351.00	0.9472
82.00	0.6175	172.00	0.5238	262.00	0.5757	352.00	0.9526
83.00	0.6143	173.00	0.5244	263.00	0.5780	353.00	0.9580
84.00	0.6114	174.00	0.5248	264.00	0.5803	354.00	0.9636
85.00	0.6085	175.00	0.5253	265.00	0.5826	355.00	0.9690
86.00	0.6056	176.00	0.5258	266.00	0.5850	356.00	0.9742
87.00	0.6028	177.00	0.5261	267.00	0.5874	357.00	0.9793
88.00	0.6000	178.00	0.5264	268.00	0.5898	358.00	0.9840
89.00	0.5973	179.00	0.5267	269.00	0.5922	359.00	0.9888
90.00	0.5947	180.00	0.5268	270.00	0.5947	360.00	1.0000

Таблица 4. Таблица значений автокорреляционной функции
(Красный канал. Лазерный диод)

1 квадрант (0°- 90°)	2 квадрант (90°- 180°)	3 квадрант (180°- 270°)	4 квадрант (270°-360°)
Угол, Автокор- град. град. реляция			
1.00 1.0000	91.00 0.9442	181.00 0.9124	271.00 0.9449
2.00 0.9999	92.00 0.9435	182.00 0.9125	272.00 0.9457
3.00 0.9999	93.00 0.9427	183.00 0.9125	273.00 0.9464
4.00 0.9998	94.00 0.9420	184.00 0.9125	274.00 0.9471
5.00 0.9997	95.00 0.9413	185.00 0.9125	275.00 0.9479
6.00 0.9996	96.00 0.9406	186.00 0.9125	276.00 0.9487
7.00 0.9994	97.00 0.9399	187.00 0.9126	277.00 0.9494
8.00 0.9992	98.00 0.9392	188.00 0.9126	278.00 0.9502
9.00 0.9990	99.00 0.9385	189.00 0.9126	279.00 0.9510
10.00 0.9988	100.00 0.9379	190.00 0.9127	280.00 0.9517
11.00 0.9986	101.00 0.9372	191.00 0.9128	281.00 0.9525
12.00 0.9983	102.00 0.9365	192.00 0.9128	282.00 0.9533
13.00 0.9980	103.00 0.9359	193.00 0.9129	283.00 0.9541
14.00 0.9977	104.00 0.9352	194.00 0.9130	284.00 0.9549
15.00 0.9974	105.00 0.9346	195.00 0.9131	285.00 0.9557
16.00 0.9970	106.00 0.9340	196.00 0.9131	286.00 0.9565
17.00 0.9967	107.00 0.9333	197.00 0.9132	287.00 0.9573
18.00 0.9963	108.00 0.9327	198.00 0.9133	288.00 0.9581
19.00 0.9959	109.00 0.9321	199.00 0.9134	289.00 0.9589
20.00 0.9955	110.00 0.9315	200.00 0.9136	290.00 0.9597
21.00 0.9950	111.00 0.9309	201.00 0.9137	291.00 0.9605
22.00 0.9946	112.00 0.9303	202.00 0.9138	292.00 0.9613
23.00 0.9941	113.00 0.9298	203.00 0.9140	293.00 0.9621
24.00 0.9936	114.00 0.9292	204.00 0.9141	294.00 0.9629
25.00 0.9931	115.00 0.9287	205.00 0.9143	295.00 0.9637
26.00 0.9926	116.00 0.9281	206.00 0.9144	296.00 0.9645
27.00 0.9921	117.00 0.9276	207.00 0.9146	297.00 0.9653
28.00 0.9915	118.00 0.9271	208.00 0.9148	298.00 0.9662
29.00 0.9909	119.00 0.9265	209.00 0.9150	299.00 0.9670
30.00 0.9904	120.00 0.9260	210.00 0.9152	300.00 0.9678
31.00 0.9898	121.00 0.9255	211.00 0.9154	301.00 0.9686
32.00 0.9892	122.00 0.9250	212.00 0.9156	302.00 0.9694
33.00 0.9885	123.00 0.9246	213.00 0.9158	303.00 0.9702
34.00 0.9879	124.00 0.9241	214.00 0.9160	304.00 0.9710
35.00 0.9873	125.00 0.9236	215.00 0.9163	305.00 0.9718
36.00 0.9866	126.00 0.9232	216.00 0.9165	306.00 0.9726
37.00 0.9859	127.00 0.9227	217.00 0.9168	307.00 0.9734
38.00 0.9853	128.00 0.9223	218.00 0.9171	308.00 0.9742
39.00 0.9846	129.00 0.9219	219.00 0.9174	309.00 0.9749
40.00 0.9839	130.00 0.9215	220.00 0.9176	310.00 0.9757
41.00 0.9832	131.00 0.9211	221.00 0.9179	311.00 0.9765
42.00 0.9825	132.00 0.9207	222.00 0.9183	312.00 0.9773
43.00 0.9817	133.00 0.9203	223.00 0.9186	313.00 0.9780
44.00 0.9810	134.00 0.9200	224.00 0.9189	314.00 0.9788
45.00 0.9803	135.00 0.9196	225.00 0.9192	315.00 0.9795
46.00 0.9795	136.00 0.9192	226.00 0.9196	316.00 0.9803
47.00 0.9788	137.00 0.9189	227.00 0.9200	317.00 0.9810
48.00 0.9780	138.00 0.9186	228.00 0.9203	318.00 0.9817

49.00	0.9773	139.00	0.9183	229.00	0.9207	319.00	0.9825
50.00	0.9765	140.00	0.9179	230.00	0.9211	320.00	0.9832
51.00	0.9757	141.00	0.9176	231.00	0.9215	321.00	0.9839
52.00	0.9749	142.00	0.9174	232.00	0.9219	322.00	0.9846
53.00	0.9742	143.00	0.9171	233.00	0.9223	323.00	0.9853
54.00	0.9734	144.00	0.9168	234.00	0.9227	324.00	0.9859
55.00	0.9726	145.00	0.9165	235.00	0.9232	325.00	0.9866
56.00	0.9718	146.00	0.9163	236.00	0.9236	326.00	0.9873
57.00	0.9710	147.00	0.9160	237.00	0.9241	327.00	0.9879
58.00	0.9702	148.00	0.9158	238.00	0.9246	328.00	0.9885
59.00	0.9694	149.00	0.9156	239.00	0.9250	329.00	0.9892
60.00	0.9686	150.00	0.9154	240.00	0.9255	330.00	0.9898
61.00	0.9678	151.00	0.9152	241.00	0.9260	331.00	0.9904
62.00	0.9670	152.00	0.9150	242.00	0.9265	332.00	0.9909
63.00	0.9662	153.00	0.9148	243.00	0.9271	333.00	0.9915
64.00	0.9653	154.00	0.9146	244.00	0.9276	334.00	0.9921
65.00	0.9645	155.00	0.9144	245.00	0.9281	335.00	0.9926
66.00	0.9637	156.00	0.9143	246.00	0.9287	336.00	0.9931
67.00	0.9629	157.00	0.9141	247.00	0.9292	337.00	0.9936
68.00	0.9621	158.00	0.9140	248.00	0.9298	338.00	0.9941
69.00	0.9613	159.00	0.9138	249.00	0.9303	339.00	0.9946
70.00	0.9605	160.00	0.9137	250.00	0.9309	340.00	0.9950
71.00	0.9597	161.00	0.9136	251.00	0.9315	341.00	0.9955
72.00	0.9589	162.00	0.9134	252.00	0.9321	342.00	0.9959
73.00	0.9581	163.00	0.9133	253.00	0.9327	343.00	0.9963
74.00	0.9573	164.00	0.9132	254.00	0.9333	344.00	0.9967
75.00	0.9565	165.00	0.9131	255.00	0.9340	345.00	0.9970
76.00	0.9557	166.00	0.9131	256.00	0.9346	346.00	0.9974
77.00	0.9549	167.00	0.9130	257.00	0.9352	347.00	0.9977
78.00	0.9541	168.00	0.9129	258.00	0.9359	348.00	0.9980
79.00	0.9533	169.00	0.9128	259.00	0.9365	349.00	0.9983
80.00	0.9525	170.00	0.9128	260.00	0.9372	350.00	0.9986
81.00	0.9517	171.00	0.9127	261.00	0.9379	351.00	0.9988
82.00	0.9510	172.00	0.9126	262.00	0.9385	352.00	0.9990
83.00	0.9502	173.00	0.9126	263.00	0.9392	353.00	0.9992
84.00	0.9494	174.00	0.9126	264.00	0.9399	354.00	0.9994
85.00	0.9487	175.00	0.9125	265.00	0.9406	355.00	0.9996
86.00	0.9479	176.00	0.9125	266.00	0.9413	356.00	0.9997
87.00	0.9471	177.00	0.9125	267.00	0.9420	357.00	0.9998
88.00	0.9464	178.00	0.9125	268.00	0.9427	358.00	0.9999
89.00	0.9457	179.00	0.9125	269.00	0.9435	359.00	0.9999
90.00	0.9449	180.00	0.9124	270.00	0.9442	360.00	1.0000

Таблица 5. Компаративный анализ экстремумов функций

Слабокогерентный случай (LED)	Когерентный случай (лазерный диод)
Ширина изображения: 4080	Ширина изображения: 4080
Высота изображения: 4080	Высота изображения: 4080
Координаты центра: X:2040; Y:2040	Координаты центра: X:2040; Y:2040
Начальный угол: 0.00	Начальный угол: 0.00
Конечный угол: 360.00	Конечный угол: 360.00
Шаг по углу: 1.00	Шаг по углу: 1.00
Минимальная степень инвариантности: 0.6469	Минимальная степень инвариантности: 0.5093
Максимальная степень инвариантности:	Максимальная степень инвариантности:

1.0000 Средняя степень инвариантности: 0.7526 Среднеквадратическое отклонение степени инвариантности: 0.0826 Дисперсия степени инвариантности: 0.0068	1.0000 Средняя степень инвариантности: 0.6541 Среднеквадратическое отклонение степени инвариантности: 0.1498 Дисперсия степени инвариантности: 0.0225
Угол, град. Степень инвариантности 90.00 0.6469 117.00 0.7084 122.00 0.7079 180.00 0.9740 237.00 0.7079 243.00 0.7084 270.00 0.6469	Угол, град. Степень инвариантности 146.00 0.5093 180.00 0.5268 214.00 0.5093
Таблица экстремумов <u>автокорреляционной функции</u> : Угол, град. Автокорреляция 90.00 0.9786 181.00 0.9998 271.00 0.9786	Таблица экстремумов <u>автокорреляционной функции</u> : Угол, град. Автокорреляция 180.00 0.9124

4. Обсуждение

Безлинзовая микроскопия не использовалась раньше как средство микроихтиометрии, так как высокая оптическая плотность не позволяет визуализировать микроструктуру чешуи трансмиссионным путём. Как правило, используется растровая / сканирующая электронная микроскопия (DeLamater et al., 1972; DeLamater, Courtenay, 1974; Kaur, Dua, 2004; Singla, 2017; Esmaeili, Esmaeili, 2009; Esmaeili, Gholami, 2011; Pala et al., 2013; Dey et al., 2014, 2015; Mekkawy et al., 2003), часто – аналитическая – со спектроскопией вторично-эмиссионного рентгеновского излучения (Guambe et al., 2012), хотя распространение СЭМ в ихтиологии, в частности – в изучении чешуи, началось в 1960-е гг., когда аналитических приборов данного класса в продаже не существовало (Kawaguti, 1966). Альтернативой методам электронной микроскопии считается корпускулярная ядерная микроскопия (Tang et al., 1997). Оптически такие системы можно изучать только при наличии флуоресцентных меток и лишь в режиме суммирования частот (Kouyama et al., 2014), так как они непрозрачны для оптического и УФ излучения. Такая невозможность сугубо ограничивает потенциал использования методов и подходов на основе оптического имэджинга для анализа годовых (возрастных) колец рыбы, изучаемой по чешуе с позапрошлого века (Park, Lee, 1988). Данная проблема коррелирует не только с микродендрохронографией как подразделом дендрохронографии, развивающейся по тем же законам (LeBreton, Beamish, 2000), включая методы анализа девиаций, подобных источникам аберраций в оптике и описываемых конформными преобразованиями (Gradoff, 2012; Градов, Нотченко, 2012), но и с иным разделом биоминерализации – формированием отолитов, также снабженных годовыми кольцами, деформируемыми по конформным сеткам, непрозрачных для трансмиссионного оптического анализа на уровне структуры колец. Этот пул проблем заставляет различные пути к исследованию периодических биоминеральных и «нативно-фоссилизированных» мезоструктур отолитов (Chaplin, 1983; Gauldie, Nelson, 1988; Gauldie et al., 1990; Gjosæter et al., 1983), отличные от классических подходов 1940-х и более ранних гг. (Yasuda, 1940), включая методы рентгенографической микрорадиоавтографии с диксrimинацией по проникающей способности (или «квенчинг-фактору» преобразователей излучения) и ныне цифровой, а ранее (в 1960-е гг.) аналоговой регистрацией излучения (Lal Mohan, Patel, 1968). Использование многоугловой безлинзовой микроскопии с применением методов анализа симметрии для различных угловых проекций позволяет гибридизовать ряд методов анализа, ранее несовместимых друг с другом (таких, как на просвет и на отражение) и не

использовавшихся до появления ориентируемых в кватернионной сетке ПЗС- и КМОП-сенсоров, позволяющих применять не только методы анализа диффузного рассеяния или же диффузного отражения (за счёт использования интегрирующей сферы без имплементации режимов с позиционной чувствительностью, зачастую с использованием метода Тейлора на стадии установочных испытаний) при регистрации по многим углам. Можно полагать, что в использовании подобных схем состоит один из вариантов прогресса «ихтиохронологии» или «ихтиохронографии» на чипе (аналогично «дendрохронологии» или «дendрохронографии» в её современном понимании (Градов, Нотченко, 2012)) с последующей реконструкцией фаз симметрии и статистическим анализом девиации и тератоморфозов в морфогенезе чешуй.

5. Благодарности

Работа выполнена в рамках гранта РФФИ 16-32-00914 (2016-2017[2018] гг.) «Создание новых физических методов комплексной биомедицинской диагностики, базирующихся на принципах позиционно-чувствительного картирования с угловым разрешением на тканевом и клеточном уровне организации в аналитических чипах» полностью в рамках средств этого проекта и доложена на семинаре, организованном последним автором данной статьи по его тематике. Авторы благодарят нижегородских коллег за предоставление программ для сбора-анализа данных о симметрии микропрепарата.

При написании данной статьи сырье данные получены первыми двумя авторами, а их анализ и аргументация, данная в разделе «Обсуждение», произведены и комплексированы последними двумя. В настоящее время работы в данном направлении прекращены или же, в лучшем случае, приостановлены на неопределенный срок, по организационным причинам, несмотря на то, что, в отличие от ряда других работ авторов в этом направлении, очевидным является перспективность и незаменимость данного подхода для объекта исследования. При интересе к безвозмездному использованию данных наработок (или коллaborации), просьба обращаться по e-mail: retromicroscopy@gmail.com и gradov@center.chph.ras.ru.

Литература

[Градов и др., 2017](#) – Градов О.В., Насиров Ф.А., Яблоков А.Г. Методы безлинзовой редоксметрической, озонометрической и гипоксиметрической микроскопии на чипе для эксперимента, цитодиагностики и цитоскрининга в молекулярной онкологии // Успехи молекулярной онкологии, 2017, 4(4): 10-11.

[Градов и др., 2018](#) – Градов О.В., Насиров, Ф.А., Гончарова А.А., Фищенко В.К., Яблоков А.Г. Технологии безлинзовой голограммической трихоскопии и трихометрии на чипе: микроинтерференционные, 2d-Фурье-спектральные (интегральные частотные и пространственные) и коррелографические техники в клинической трихологии // Морфологія, 2018, 12(2): 7-21.

[Градов, Нотченко, 2012](#) – Градов О.В., Нотченко А.В. Полуавтоматическая дендрохронография для исследования морфогенеза и тератоморфозов на спилах высших растений // Лесотехнический журнал, 2012, 4(8): 47-57.

[Градов, Яблоков, 2017](#) – Градов О.В., Яблоков А.Г. Мультипараметрические лаборатории на чипе как инструмент экспериментальной регенеративной медицины и синтетического морфогенеза // Гены и клетки, 2017, 12(3): 74.

[Насиров и др., 2018](#) – Насиров Ф.А., Яблоков А.Г., Градов О.В. Регистрация препарата семенных каналцев методами безлинзовой лазерной проекционной микроскопии на чипе и ближнепольной микроскопии со спектрональным разложением каналов изображений // Гены и клетки, 2018, (1 (Приложение)): 85-86.

[Chaplin, 1983](#) – Chaplin J.A. A Study of the Primary Growth Rings in the Otoliths of Two Species of Marine Fish, 1983 (Doctoral dissertation, University of Queensland).

[DeLamater et al., 1972](#) – DeLamater E.D., Courtenay W.R., Whitaker C. Scanning electron microscopy of fish scales as an adjunctive aid in speciation. Proceedings of the Electron Microscope Society of America, 13th Annual Meeting (Arcenaux, CJ, ed.), 1972, pp. 394-395.

[DeLamater, Courtenay, 1974](#) – DeLamater E.D., Courtenay Jr.W.R. Fish scales as seen by scanning electron microscopy. Florida Scientist, 1974, 141-149.

Dey et al., 2014 – *Dey S., Biswas S.P., Dey S., Bhattacharyya S.P.* Scanning electron microscopy of scales and its taxonomic application in the fish genus *channa*. *Microscopy and Microanalysis*, 2014, 20(4), 1188-1197.

Dey et al., 2015 – *Dey S., Biswas S.P., Dey S.* Scanning electron microscopy of scale microstructures in *Channa barca*, a poorly known snake head fish in regard to taxonomy. *Microscopy*, 2015, 64(5), 351-359.

Esmaeili, Esmaeili, 2009 – *Esmaeili H.R., Esmaeili H.R.* Scanning electron microscopy of scales in cyprinid fish, *Alburnoides bipunctatus* (Blotch, 1782). *Journal of Cell and Molecular Research*, 2009, 1(1), 19-28.

Esmaeili, Gholami, 2011 – *Esmaeili H.R., Gholami, Z.* Scanning Electron Microscopy of the scale morphology in Cyprinid fish, *Rutilus frisii kutum* Kamenskii, 1901 (Actinopterygii: Cyprinidae). *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 2011, 10(1), 155-166.

Gauldie et al., 1990 – *Gauldie R.W., Davies N.M., Coote G., Vickridge, I.* The relationship between organic material and check rings in fish otoliths. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 1990, 97(4), 461-474.

Gauldie, Nelson, 1988 – *Gauldie R.W., Nelson D.G.A.* Aragonite twinning and neuroprotein secretion are the cause of daily growth rings in fish otoliths. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 1988, 90(3), 501-509.

Gjosaeter et al., 1983 – *Gjosaeter J., Darayatne P., Gjosaeter M., Sousa M., Beck, I.* Ageing tropical fish by primary growth rings in their otoliths. University of Bergen, Bergen, 1983.

Gradoff, 2012 – *Gradoff O.* Visualization of photoinduced self-organization processes in reaction-diffusion media for modelling of abiogenesis and primitive waves in morphogenesis. *International Journal of Biophysics*, 2012, 2(3): 26-39.

Gradov et al., 2018 – *Gradov O.V., Nasirov P.A., Jablakov A.G.* Lensless on-chip-hemocytometry with secondary processing of cell images in the framework of an unconventional photometric model. *Photonics Russia*, 2018, 12(7): 716-729.

Gradov, Jablakov, 2017 – *Gradov O.V., Jablakov A.G.* Multiparametric lab-on-a-chip with multiple biophysical signal converters as a novel tool for experimental stem cell biology and control equipment for hematopoietic stem cell transplantation. *Cellular Therapy and Transplantation*, 2017, 6(3:20): 41-42.

Gradov, Jablakov, 2018 – *Gradov O.V., Jablakov A.G.* Novel morphometrics-on-a-chip: CCD- or CMOS-lab-on-a-chip based on discrete converters of different physical and chemical parameters of histological samples into the optical signals with positional sensitivity for morphometry of non-optical patterns. *Journal of Biomedical Technologies*, 2016, (2): 1-29.

Guambe et al., 2012 – *Guambe J.F., Mars J.A., Day J.* Application of particle-induced X-ray emission, scanning electron microscopy and backscattering spectrometry in the elemental quantification of incremental patterns in scales of the fish *Pomadasys kaakan*: a 2-D study. *International Journal of PIXE*, 2012, 22(01n02), 185-193.

Jablakov, Gradov, 2015 – *Jablakov A.G., Gradov O.V.* Multiparametric qualimetric microsurgical scanning chip-lancet model: theoretical metrological and biomedical considerations. *MicroMedicine*, 2015, 3(2):31-35.

Kaur, Dua, 2004 – *Kaur N., Dua A.* Species specificity as evidenced by scanning electron microscopy of fish scales. *Current science*, 2004, 692-696.

Kawaguti, 1966 – *Kawaguti S.* Electron microscopy on the cornification of the epidermis of the fish scale with special references to the mucous cell. *Biol. J. Okayama Univ*, 1966, 12, 47-56.

Kouyama et al., 2014 – *Kouyama W., Ogawa A., Li H., Miyauchi Y., Mizutani G., Sano, H.* Sum Frequency Generation Confocal Microscopy Observation of a Fish Scale. *e-Journal of Surface Science and Nanotechnology*, 2014, 12, 259-262.

Lal Mohan, Patel, 1968 – *Lal Mohan R S., Patel P.H.* A study of growth rings in otoliths of fish by microradiography. *Current Science*, 1968, 37, 318-319.

LeBreton, Beamish, 2000 – *LeBreton G.T., Beamish F.W.H.* Interannual growth variation in fish and tree rings. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 2000, 57(11), 2345-2356.

Mekkawy et al., 2003 – *Mekkawy I.A.A., Mahmoud U.M., Harabawy A.S.A.* Identification of four *Labeo* fish species from the Nile, Egypt by their scale characteristics and scanning electron microscopy. *J. Union Arab Biol. Cairo*, 2003, 19, 81-104.

[Nasirov et al., 2018](#) – Nasirov P.A., Jablokov A.G., Gradov O.V. Technical and methodical notes on the lensless holographic microscopy applications for helminthology and zooparasitology. Case I: Spectrozonal/multispectral analysis of ascaris lumbricoides based on coherent and incoherent light sensor platforms. *Central European Journal of Zoology*, 2018, 4(1): 3-12.

[Pala et al., 2013](#) – Pala M.E., Dey S., Borkotoki A. Scanning electron microscopy of the scales of a fresh water fish, Channa gachua inhabiting a north-east Indian hill stream contaminated by municipal wastes and other pollutants. *Journal of Advanced Microscopy Research*, 2013, 8(1), 21-26.

[Park, Lee, 1988](#) – Park E.H., Lee S.H. Scale growth and squamation chronology for the laboratory-reared hermaphroditic fish Rivulus marmoratus (Cyprinodontidae). *Japanese Journal of Ichthyology*, 1988, 34(4), 476-482.

[Singla, 2017](#) – Singla R.B. Scanning electron microscopy (SEM) of scale of freshwater exotic fish, Ctenopharyngodon idella exposed to organochlorine pesticide, endosulfan. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 2017, 5(1), 05-09

[Tang et al., 1997](#) – Tang S.M., Orlic I., Yu K.N., Sanchez J.L., Thong P.S.P., Watt F., Khoo H.W. Nuclear microscopy study of fish scales. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*, 1997, 130(1-4), 396-401.

[Yasuda, 1940](#) – Yasuda H. On the rings formed on the scale, vertebral centrum and otolith of the same individual fish, Scombrops chilodipteroides and Theragra chalcogramma (Pallas). *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 1940, 8, 298-300.

References

- [Chaplin, 1983](#) – Chaplin J.A. (1983). A Study of the Primary Growth Rings in the Otoliths of Two Species of Marine Fish (Doctoral dissertation, University of Queensland).
- [DeLamater et al., 1972](#) – DeLamater E.D., Courtenay W.R., Whitaker C. (1972). Scanning electron microscopy of fish scales as an adjunctive aid in speciation. *Proceedings of the Electron Microscope Society of America, 13th Annual Meeting* (Arcenay, CJ, ed.), pp. 394-395.
- [DeLamater, Courtenay, 1974](#) – DeLamater E.D., Courtenay Jr. W.R. (1974). Fish scales as seen by scanning electron microscopy. *Florida Scientist*, 141-149.
- [Dey et al., 2014](#) – Dey S., Biswas S.P., Dey S., Bhattacharyya S.P. (2014). Scanning electron microscopy of scales and its taxonomic application in the fish genus channa. *Microscopy and Microanalysis*, 20(4), 1188-1197.
- [Dey et al., 2015](#) – Dey S., Biswas S. P., Dey S. (2015). Scanning electron microscopy of scale microstructures in Channa barca, a poorly known snake head fish in regard to taxonomy. *Microscopy*, 64(5), 351-359.
- [Esmaeili, Esmaeili, 2009](#) – Esmaeili H.R., Esmaeili H.R. (2009). Scanning electron microscopy of scales in cyprinid fish, Alburnoides bipunctatus (Blotch, 1782). *Journal of Cell and Molecular Research*, 1(1), 19-28.
- [Esmaeili, Gholami, 2011](#) – Esmaeili H.R., Gholami Z. (2011). Scanning Electron Microscopy of the scale morphology in Cyprinid fish, Rutilus frisii kutum Kamenskii, 1901 (Actinopterygii: Cyprinidae). *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 10(1), 155-166.
- [Gauldie et al., 1990](#) – Gauldie R.W., Davies N.M., Coote G., Vickridge I. (1990). The relationship between organic material and check rings in fish otoliths. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 97(4), 461-474.
- [Gauldie, Nelson, 1988](#) – Gauldie R.W., Nelson D.G.A. (1988). Aragonite twinning and neuroprotein secretion are the cause of daily growth rings in fish otoliths. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 90(3), 501-509.
- [Gjosaeter et al., 1983](#) – Gjosaeter J., Darayatne P., Gjosaeter M., Sousa M., Beck I. (1983). Ageing tropical fish by primary growth rings in their otoliths. University of Bergen, Bergen.
- [Gradoff, 2012](#) – Gradoff O. (2012). Visualization of photoinduced self-organization processes in reaction-diffusion media for modelling of abiogenesis and primitive waves in morphogenesis. *International Journal of Biophysics*, 2(3): 26-39.
- [Gradov et al., 2018](#) – Gradov O.V., Nasirov P.A., Jablokov A.G. (2018). Lensless on-chip-hemocytometry with secondary processing of cell images in the framework of an unconventional photometric model. *Photonics Russia*, 12(7): 716-729.
- [Gradov i dr., 2017](#) – Gradov O.V., Nasirov F.A., Yablokov A.G. (2017). Metody bezlinzovoi redoksmetricheskoi, ozonometricheskoi i gipoksimetricheskoi mikroskopii na chipe dlya

eksperimenta, tsitodiagnostiki i tsitoskrininga v molekulyarnoi onkologii [Methods of lensless redox, ozonometric and hypoximetric microscopy on a chip for experiment, cytodiagnistics and cytoscrinning in molecular oncology]. *Uspekhi molekulyarnoi onkologii*, 4(4): 10-11. [in Russian]

Gradov i dr., 2018 – *Gradov O.V., Nasirov, F.A., Goncharova A.A., Fishchenko V.K., Yablokov A.G.* (2018). Tekhnologii bezlinzovoi holograficheskoi trikhoskopii i trikhometrii na chipe: mikrointerferentsionnye, 2d-Fur'e-spektral'nye (integral'nye chastotnye i prostranstvennye) i korrelograficheskie tekhniki v klinicheskoi trikhologii [Technologies of lensless holographic trichoscopy and trichometry on a chip: microinterference, 2d Fourier spectral (integral frequency and spatial) and correlographic techniques in clinical trichology]. *Morfologiya*, 12(2): 7-21. [in Russian]

Gradov, Jablokov, 2017 – *Gradov O.V., Jablokov A.G.* (2017). Multiparametric lab-on-a-chip with miltiple biophysical signal converters as a novel tool for experimental stem cell biology and control equipment for hematopoetic stem cell transplantation. *Cellular Therapy and Transplantation*, 6(3:20): 41-42.

Gradov, Jablokov, 2018 – *Gradov O.V., Jablokov A.G.* (2016). Novel morphometrics-on-a-chip: CCD- or CMOS-lab-on-a-chip based on discrete converters of different physical and chemical parameters of histological samples into the optical signals with positional sensitivity for morphometry of non-optical patterns. *Journal of Biomedical Technologies*, (2): 1-29.

Gradov, Notchenko, 2012 – *Gradov O.V., Notchenko A.V.* (2012). Poluavtomaticheskaya dendrokhronografiya dlya issledovaniya morfogeneza i teratomorfozov na spilakh vysshikh rastenii [Semi-automatic dendrochronography for the study of morphogenesis and teramorphosis on the cuttings of higher plants]. *Lesotekhnicheskii zhurnal*, 4(8): 47-57. [in Russian]

Gradov, Yablokov, 2017 – *Gradov O.V., Yablokov A.G.* (2017). Mul'tiparametricheskie laboratorii na chipe kak instrument eksperimental'noi regenerativnoi meditsiny i sinteticheskogo morfogeneza [Multiparametric laboratories on a chip as a tool for experimental regenerative medicine and synthetic morphogenesis]. *Geny i kletki*, 12(3): 74. [in Russian]

Guambe et al., 2012 – *Guambe J.F., Mars J.A., Day J.* (2012). Application of particle-induced X-ray emission, scanning electron microscopy and backscattering spectrometry in the elemental quantification of incremental patterns in scales of the fish Pomadasys kaakan: a 2-D study. *International Journal of PIXE*, 22(01n02), 185-193.

Jablokov, Gradov, 2015 – *Jablokov A.G., Gradov O.V.* (2015). Multiparametric qualimetric microsurgical scanning chip-lancet model: theoretical metrological and biomedical considerations. *MicroMedicine*, 3(2): 31-35.

Kaur, Dua, 2004 – *Kaur N., Dua A.* (2004). Species specificity as evidenced by scanning electron microscopy of fish scales. *Current science*, 692-696.

Kawaguti, 1966 – *Kawaguti S.* (1966). Electron microscopy on the cornification of the epidermis of the fish scale with special references to the mucous cell. *Biol. J. Okayama Univ*, 12, 47-56.

Kouyama et al., 2014 – *Kouyama W., Ogawa A., Li H., Miyauchi Y., Mizutani G., Sano H.* (2014). Sum Frequency Generation Confocal Microscopy Observation of a Fish Scale. *e-Journal of Surface Science and Nanotechnology*, 12, 259-262.

Lal Mohan, Patel, 1968 – *Lal Mohan R.S., Patel P.H.* (1968). A study of growth rings in otoliths of fish by microradiography. *Current Science*, 37, 318-319.

LeBreton, Beamish, 2000 – *LeBreton G.T., Beamis F.W.H.* (2000). Interannual growth variation in fish and tree rings. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 57(11), 2345-2356.

Mekkawy et al., 2003 – *Mekkawy I.A.A., Mahmoud U.M., Harabawy A.S.A.* (2003). Identification of four Labeo fish species from the Nile, Egypt by their scale characteristics and scanning electron microscopy. *J. Union Arab Biol. Cairo*, 19, 81-104.

Nasirov et al., 2018 – *Nasirov P.A., Jablokov A.G., Gradov O.V.* (2018). Technical and methodical notes on the lensless holographic microscopy applications for helminthology and zooparasitology. Case I: Spectrozonal/multispectral analysis of ascaris lumbricoides based on coherent and incoherent light sensor platforms. *Central European Journal of Zoology*, 4(1): 3-12.

Nasirov i dr., 2018 – *Nasirov F.A., Yablokov A.G., Gradov O.V.* (2018). Registratsiya preparata semennykh kanal'tsev metodami bezlinzovoi lazernoi proektzionnoi mikroskopii na chipe i blizhnepol'noi mikroskopii so spektrozonal'nym razlozheniem kanalov izobrazhenii. *Geny i kletki*, (1 (Prilozhenie)):85-86. [in Russian]

[Pala et al., 2013](#) – Pala M.E., Dey S., Borkotoki A. (2013). Scanning electron microscopy of the scales of a fresh water fish, Channa gachua inhabiting a north-east Indian hill stream contaminated by municipal wastes and other pollutants. *Journal of Advanced Microscopy Research*, 8(1), 21-26.

[Park, Lee, 1988](#) – Park E.H., Lee S.H. (1988). Scale growth and squamation chronology for the laboratory-reared hermaphroditic fish Rivulus marmoratus (Cyprinodontidae). *Japanese Journal of Ichthyology*, 34(4), 476-482.

[Singla, 2017](#) – Singla R.B. (2017). Scanning electron microscopy (SEM) of scale of freshwater exotic fish, Ctenopharyngodon idella exposed to organochlorine pesticide, endosulfan. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 5(1): 05-09.

[Tang et al., 1997](#) – Tang S.M., Orlic I., Yu K.N., Sanchez J.L., Thong P.S.P., Watt F., Khoo H.W. (1997). Nuclear microscopy study of fish scales. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*, 130(1-4), 396-401.

[Yasuda, 1940](#) – Yasuda, H. (1940). On the rings formed on the scale, vertebral centrum and otolith of the same individual fish, Scombrops chilodipteroides and Theragra chalcogramma (Pallas). *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 8, 298-300.

Спектрональный безлинзовый имэджинг чешуи рыбы: первичные данные и анализ симметрии морфогенеза

Ф. Насиров ^a, А. Яблоков ^a, Ф. Орехов ^a, О. Градов ^a

^a ИНЭПХФ РАН, г. Москва, Российская Федерация

Аннотация. Предлагается и рассматривается безлинзовая ихтиохронография на КМОП-чипе (или, что точнее, КМОП-сенсоре), а также анализ симметрии чешуи рыбы при облучении лазером и некогрентными диодными источниками в различных спектрональных диапазонах. Этот метод является прямым переходом от безлинзовой микроскопии рыбной чешуи к прямому метрологическому оцениванию её возраста, положения на теле (обеспечиваемого привязкой конкретных форм чешуи к конкретным ROI на теле рыбы), отклонений в морфогенезе и их обусловленности биохронологическими ритмами.

Ключевые слова: безлинзовая микроскопия, чешуя рыбы, ихтиология, микроихтиометрия, микроихтиография.