

电子显微镜资料汇编

(一)

中国农业科学院原子能所电镜组

一九八二年五月

前 言

我组建立已有二十多年的历史，先后用苏联YЭMB-100，荷兰EM-201C，日本H-500透射式电子显微镜和S-450扫描电子显微镜进行工作。《电子显微镜资料汇编》即系在这段时间里，根据科研和生产上需要解决的实际问题，分别与各有关科研、生产教学等兄弟单位密切协作而作出的部分工作中，经选择整理、汇集成册。

由于时间仓促，水平所限，错误和不当之处在所难免，诚请批评指正。

目 录

- 1.透射电子显微镜的原理、结构及成像机制..... 李振兰 (1)
- 2.电离辐射导致雄性不育玉米螟精巢电镜观察..... 中国农科院原子能所电镜组 (9)
- 3.粘虫瘟病毒的分离和特征..... 柳连元 付仓生 李振兰 (13)
- 4.午毒蛾核型多角体病毒的初步研究
.....中国林科院林研所昆虫室 中国农科院原子能所电镜组 (18)
- 5.柳毒蛾核型多角体病毒的初步研究
.....中国林科院林研所昆虫室 中国农科院原子能所电镜组 (22)
- 6.玉米矮花叶病病毒的提纯和电子显微镜观察
.....中国农科院生物所 中国农科院原子能所 (27)
- 7.北京郊区番茄病毒病的毒原鉴定.....王先彬 付仓生等 (34)
- 8.北京地区甜椒病毒病的初步鉴定.....蔡少华 付仓生等 (39)
- 9.北京地区菜粉蝶颗粒体病毒的分离和鉴定
.....北京市农科院植保所 中国农科院原子能所电镜组 (46)
- 10.泡桐丛枝病病原及传染途径的研究.....金开璇 付仓生等 (50)
- 11.杨天社蛾颗粒体病毒病的研究
.....中国林科院林研所昆虫室 中国农科院原子能所电镜组 (56)
- 12.折带黄毒蛾核型多角体病毒初报
.....中国林科院林研所昆虫室 中国农科院原子能所电镜组 (63)
- 13.猪肺炎支原体的电镜观察
.....中国农科院原子能所 江苏省农科院畜牧兽医所 (65)
- 14.关于小麦丛矮病的病原病毒问题.....杨 莉 付仓生等 (70)
- 15.小麦丛矮病的病毒寄主范围研究初报.....张石新 付仓生等 (76)
- 16.扫描电镜制样方法—冰冻割断法试验成功中国农科院原子能所电镜组 (85)

透射电子显微镜

的原理结构及成像机制

李振兰

(中国农业科学院原子能所电镜组)

众所周知,透射电子显微镜(简称透射电镜)是研究微观组织结构的强有力工具,近年来在农、林、牧、鱼等科研上越来越得到重视和广泛应用。从事生物工作者深知,细胞学的发现与显微镜的制作有密切关系。虽然光学显微镜可以观察到组织细胞结构,如:细胞核、质、膜等,但只能看到它们的大致情况,对细胞内的超微结构研究是无能为力的。另外对动、植物体内出现的病毒,对其病毒形态、结构及病毒在体内复制过程等的观察和研究必须应用透射电镜,因为光学显微镜分辨率受到了作为成像媒介的光线限制,分辨率最高为光波波长的一半(可见光波波长为 $0.4-0.7\mu\text{m}$),即光学显微镜的分辨本领为 $2000\text{\AA}$ 。十九世纪以来,科学家们致力于寻找比光波波长更短的波作光源,1924年德布罗意发现电子波动性后,人们认识到电子波的波长比光波的波长短的多,但是能否用电子作光源来制作电子显微镜,这是电子光学要解决的问题。光学显微镜基本原理是光线通过不同介质会产生折射、偏转、聚焦、成像等。

电子光学就是研究电子(或离子)在电磁场中的运动规律,特别是研究电子(或离子)在电磁场中偏转、聚焦、成像的规律。电子光学的理论基础建立于1932~1937年间,就在这个期间,首次制成了电子显微镜。电子显微镜的发明是电子光学发展中最卓越的成就之一,随着电子光学的发展,又为电镜分辨率的提高提供了理论依据。下面我们谈谈与电子显微镜有密切关系的电子几何光学问题。

1. 电子光学折射率。

光线光学中的一个基本定律——折射定律(也称斯涅尔定律),用分式表示,

$$\frac{\sin \alpha_1}{\sin \alpha_2} = \frac{n_2}{n_1} \dots\dots\dots (1-1)$$

$n_1, n_2 \dots\dots$ 表示边界两侧媒质的折射率。

$\alpha_1 \dots\dots$ 入射角(即入射线与界面法线夹角)。

$\alpha_2 \dots\dots$ 折射角(折射线与法线的夹角)。

入射线、折射线、法线位于同一平面内。

对电子而言,电子在两个等位区域中分别为等速运动,当电子初速度不计,而且不考虑相对论效应时,

$$\frac{1}{2} m v_1^2 = e \varphi_1, \quad v_1 = \sqrt{\frac{2e}{m} \varphi} \dots\dots\dots (1-2)$$

$$\frac{1}{2} m v_2^2 = e \varphi_2, \quad v_2 = \sqrt{\frac{2e}{m} \varphi} \dots\dots\dots (1-3)$$

其中 e —电子电量, φ —加速电压

在两个区域的界面处, 电子的速度由 v_1 变到 v_2 , 但在切向没有电场力, 速度的切向分量不改变, 轨迹与界面法线的夹角为 α_1, α_2 , 则有:

$$v_1 \sin \alpha_1 = v_2 \sin \alpha_2$$

$$\frac{\sin \alpha_1}{\sin \alpha_2} = \frac{v_2}{v_1} = \sqrt{\frac{\varphi_2}{\varphi_1}} \dots\dots\dots (1-4)$$

比较 (1-1) 和 (1-4) 式, 不难看出: $\sqrt{\varphi}$ 起了光线折射率的作用。

这就是静电场中电子光学折射定律。

由式 (1-4) 可知: 如果 $\varphi_2 > \varphi_1$, 电子将进入电位更高的区域, 速度的法线分量增加, 折射角 α_2 将小于 α_1 , 电子的轨迹趋于法线, 在相反情况下 ($\varphi_2 < \varphi_1$), 电子的轨迹将离开法线。

在磁场中运动电子等效折射率为:

$$n = \sqrt{\frac{e}{2m} (\vec{A} \cdot \vec{S})} \dots\dots\dots (1-5)$$

式中: $\vec{A}$ 实际轨迹各点上的矢量磁位

$\vec{S}$ —— 轨迹相应各点处上的切线方向的单位矢量, 由该处的速度矢量决定。

对于电磁复合场中运动电子的等效折射率为:

$$n = [\sqrt{\varphi} - \sqrt{\frac{e}{2m} (\vec{A} \cdot \vec{S})}] \dots\dots\dots (1-6)$$

由公式 (1-6) 看出: 第二项是由磁场引起的, 同 (1-5) 式, 当运动方向改变时, 它相应改变符号。因此, 磁场对于电子运动的作用引起电子光学各向异性, 这对应于光线通过晶体情况。

2. 费玛原理

在光线光学中利用费玛原理可以决定具有任意折射率分播的光学媒质中光线的传播路程。

设: P_0, P_1 是光学媒质中的两点, 光线传播的实际路程, 将由下述最短光程原理所决定, 即在所有经过 P_0, P_1 点的相邻曲线中, 光线传播的实际路程是沿着传播时间 t 取极值的那条曲线进行的 (通常取极小值)。

$$\text{即} \quad \int_{t_0(p_0)}^{t_1(p_1)} dt \rightarrow \text{极 值}$$

它的物理意义: 如果光线只能沿着一条路径从空间一点射到另一点, 那么在几何上可能的一切路径中, 这条路径必须具备特殊的条件, 所需的时间最短或最长 (极端) 的路径正好具备这种特殊条件。有时费玛原理也叫“关于光线的特殊路径的假设”, 可用

变分形式表示为:

$$\delta \int_{p_0}^{p_1} dt = 0 \dots\dots\dots (1-7)$$

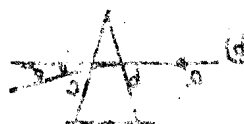


我们知道:在光线光学中,任一光学媒质的折射率为:

$$n = \frac{C_0}{V} \dots\dots\dots (1-8)$$

C_0光在真空中的传播速度

V光在介质中某一位置的传播速度



$$\text{已知: } dt = \frac{ds}{V}, \therefore dt = \frac{ds}{V} = \frac{n}{C_0} ds \dots\dots\dots (1-9)$$

将(1-9)式代入(1-7)式,费玛原理表示为:

$$\frac{1}{C_0} \int_{p_0}^{p_1} n ds \rightarrow \text{极 值}$$

$$\text{用变分表示: } \delta \int_{p_0}^{p_1} n ds = 0 \dots\dots\dots (1-10)$$

在力学中,有最小作用原理,按照这个原理,具有质量 m 的物体在位场力的作用下运动时,作用量函数取极值即:

沿着实际轨迹的积分值 S 是极值: $\delta S = 0$

通过计算可得:

$$\delta S = \delta \int_{p_0}^{p_1} m v ds = 0 \dots\dots\dots (1-11)$$

如果电位从阴极算起,并以 ε 代表电子离开阴极时的热速度,则:

$$V = \sqrt{\frac{2e}{m}} \sqrt{\varphi + \varepsilon} = \sqrt{\frac{2e}{m}} \sqrt{\varphi^*} \dots\dots\dots (1-12)$$

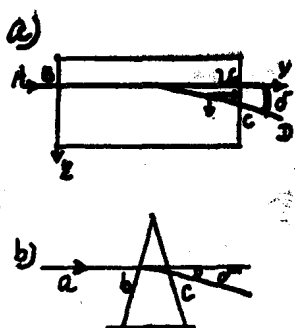
$$\text{代入(1-11)式,可写为: } \delta \int_{p_0}^{p_1} \sqrt{\varphi^*} ds = 0 \dots\dots\dots (1-13)$$

将(1-13)与费玛原理的(1-10)比较可以看出:它们在形式上非常相似,只是将光线光学中的折射率换成电子在位场中运动的相应点的电位平方根 $\sqrt{\varphi^*}$ 。这就是说,电子在电位等于 φ^* 的电场中运动的轨迹和光线在折射率为 n 的光学媒质中传播,只要起始条件相同以及各点的 n 和 $\sqrt{\varphi^*}$ 的数值相等,其传播路程(轨迹)就完全一样。

二、电子在电磁场中的运动

图(2-1)画出了一只平板电容器,板的面积很大,可认为它们之间的电场是均匀的。

设:板长为 L 。板间距离为 d ,两板之间加上不大电位差,如果有一个电子以初速度 V_0 由 B 点沿着曲线 BC 运动,这条曲线的形状如何?下面就要来决定。



(图1-2)

a) 电子在平板电容器的均匀电场中运动

b) 光线通过棱镜的行程

电子在电场强度为 $\vec{E}$ 的电场中运动，受电场力的作用产生加速度 $\vec{a}$ ，在非相对论范

围内： $m\vec{a} = -e\vec{E}$

式中 m 为电子质量 $= 9.1 \times 10^{-28} \text{g}$

e 为电子电量 $= 1.6 \times 10^{-19} \text{库伦}$

在直角坐标系中可写为：

$$m \frac{d^2x}{dt^2} = -eE_x, \quad m \frac{d^2y}{dt^2} = -eE_y, \quad m \frac{d^2z}{dt^2} = -eE_z \dots\dots\dots (2-1)$$

这是电子在静电场中的运动方程式。

现在研究的是电子在平板电容器的均匀电场中运动，电子初速度 V_0 与电场强度 $\vec{E}$ 垂直，在 Y 方向上电子不受力，在 Z 方向受力 $-e\vec{E}$

这时运动方程可写为：

$$m \frac{d^2Z}{dt^2} = e \frac{\partial \phi}{\partial z} = -eE \dots\dots\dots (2-2) \quad (y = v_0 t)$$

求解此方程可得：

$$Z = -\frac{e}{m} E \frac{y^2}{2v_0^2} \dots\dots\dots (2-3)$$

这是抛物线方程。

并能求出电子在电容器内运动方向改变的角度 δ (δ 是轨迹的切线对 y 轴的倾斜角)

这个角度的正切等于 $\frac{dz}{dy} \because E$ 很小, $\therefore \delta$ 也小。

$$\text{即 } \delta = \text{tg} \delta = \frac{dz}{dy} = -\frac{e}{m} E \frac{y}{v_0^2} \dots\dots\dots (2-4)$$

($\because$ 射线从电容器出来的地方 $y = l$)

由此可知，电子在平板电容器的运动与光线经过棱镜的过程，不仅在定性上而且在定量上也相似。在平板电容器里，电子轨迹方向改变的角度和它在什么地方进入电场没有关系，就是说，具有同样速度平行飞行的电子，在平板电容器里也将互相平行地运动。平板电容器没有聚焦的能力。要使系统给出光像的话，它们必须具有聚焦的能力。

我们感兴趣的是能够使电子会聚和可以得到电子发射体的电子光像的电场。轴对称双曲面电极产生的电场，就具有这个特性。

双曲面电极产生的电场，这种电场的等位面是绕轴旋转而成的双曲面。这个电场对称于z轴，其电子运动方程为：

$$m \frac{d^2 r}{dt^2} = e \frac{\partial \varphi}{\partial r}, \quad m \frac{d^2 z}{dt^2} = e \frac{\partial \varphi}{\partial z} \quad \dots\dots\dots (2-5)$$

经计算得到：

$$z = A_1 e^{k_1 t} + A_2 e^{k_2 t} \quad \dots\dots\dots (2-6)$$

$$r = \frac{v_{0\perp}}{\omega} \sin \omega t + r_0 \cos \omega t \quad \dots\dots\dots (2-7)$$

A_1, A_2 均为常数。

由上式看出： Z 和 r 没有关系，从垂直于 Z 轴的平面同时发出的电子，若具有相同的轴向初速度分量，经过 $T = \frac{2\pi}{\omega}$ 以后，将全部重新落在另一个与 Z 轴垂直的平面上，且与起始平面的距离 $Z = A_1 e^{k_1 t} + A_2 e^{k_2 t}$ 。如果在这个平面上放置荧光屏，我们就在屏上看到发射电子的那个平面的光像。这光像和物体本身的几何形状相似。

通过以上分析可以看出：电子通过平板电容器的电场时，轨迹弯曲的情况和光线通过棱镜时的折射情况相似。平板电容器和棱镜一样，不能成像。双曲面轴对称电场总是使电子向对称轴偏转，使电子轨迹会聚能成像。

2、电子在磁场中的运动

首先我们来研究电子在均匀磁场中的运动，这种磁场如：永久磁铁的中间部分或长螺旋管的内部都会得到均匀磁场。

我们知道，电子在磁场中受罗伦兹力作用

$$\Delta f = evH \sin \alpha = evH \sin \vec{V} \cdot \vec{H} \quad \dots\dots\dots (2-8)$$

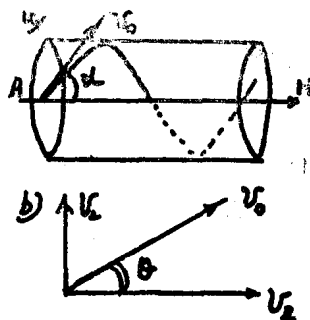
e 在CGSE单位制中， H 以奥斯特为单位。

则公式(2-8)可写为：

$$\Delta f = \frac{1}{C} e v H \sin \alpha \quad \dots\dots\dots (2-9)$$

这个公式叫罗伦兹公式它表示：作用在强度为 H 的磁场中以速度为 V_0 运动着的电荷上的力。当 $V_0 = 0$ 时， $\Delta f = 0$ 说明磁场对静止电荷无作用力。

下面对公式(2-9)的几种情况进行讨论：见图(2-2)(a)



(1) 如果 $\vec{V} \parallel \vec{H}$ (同向)，即 $\alpha = 0$ ，则 $f = 0$ ，说明电子在磁场中作匀速直线运动。

(2) 如果 $\vec{V} \perp \vec{H}$ ，即 $\alpha = 90^\circ$ ，不难看出罗伦兹力的方向垂直于 $\vec{H} \cdot \vec{V}$ 平面，这时电子速度不变，电子轨迹弯曲，同时出现离心力 F^1 即：

图2-2 电子在均匀磁场中运动

$$F_1 = \frac{mv_0^2}{R}, \quad \therefore R = \frac{cmv_0}{eH} \dots\dots\dots (2-10) \quad \text{这时电子沿着}$$

半径等于 $R = \frac{cmv_0}{eH}$ 作圆周运动，这个圆周处在与线圈轴垂直的平面上。

$$\text{电子绕圆形轨道一周所需时间 } T = \frac{2\pi R}{V} = \frac{2\pi cm}{eH} \dots\dots\dots (2-11)$$

T与电子的速度无关。

(3) 速度 $\vec{V}$ 与 $\vec{H}$ 有一定夹角 α 时，可把 $\vec{V}_0$ 分为两个分量：见图 2-2 (b)

$$\left. \begin{aligned} V_z &= v_0 \cos\theta \\ V_L &= v_0 \sin\theta \end{aligned} \right\} \dots\dots\dots (2-12)$$

前面已经讨论过，当 $\vec{V}_z \parallel \vec{H}$ ，罗伦兹力 $f = 0$ ，电子不受磁场力影响作匀速直线运动。

当 $\vec{V}_L \perp \vec{H}$ 时，不改变速度大小，只改变速度方向，电子在垂直于磁场平面内作匀速圆周运动，所以在速度 $\vec{V}$ 与 $\vec{H}$ 有一定夹角时，电子在均匀磁场中的运动轨迹是——螺旋线，即电子围绕着与 Z 轴平行的某一条轴旋转。

$$\text{螺旋线的半径 } R = \frac{cmv \sin\theta}{eH}$$

$$\text{螺距 } h = \frac{2\pi cm \cos\theta}{eH}$$

通过上面分析可以看出：由长螺旋管产生的均匀磁场有聚焦能力，这种磁场能够产生和物一样大小的电子像。这种透镜对电镜没有多大用途，因为不能用它得到放大像。电子显微镜所用的透镜是轴对称的短磁透镜，而且要求电子在轴对称磁场中运动满足于旁轴条件。

旁轴条件：

① r 很小，即 $r^2 \approx 0$ ，(r 为电子离轴的距离)

② $\vec{V}$ 与轴夹角很小，即斜率 $r' \ll 1$ 。

在轴对称磁场中，电子运动方程可写为，

$$m \frac{d^2 z}{dt^2} = - \frac{e^2}{2m} \frac{2}{2z} (AA) \dots\dots\dots (2-13)$$

$$m \frac{d^2 r}{dt^2} = - \frac{e^2}{2m} \frac{2}{2r} (AA) \dots\dots\dots (2-14)$$

$$\frac{d\theta}{dt} = \frac{1}{r} \frac{e}{m} \frac{H\phi}{2} = \frac{e}{m} \frac{A}{r} \dots\dots\dots (2-15)$$

A—为磁场的矢量磁位

φ —电子进入磁场前的加速电位，决定电子速度。

通过计算可得，

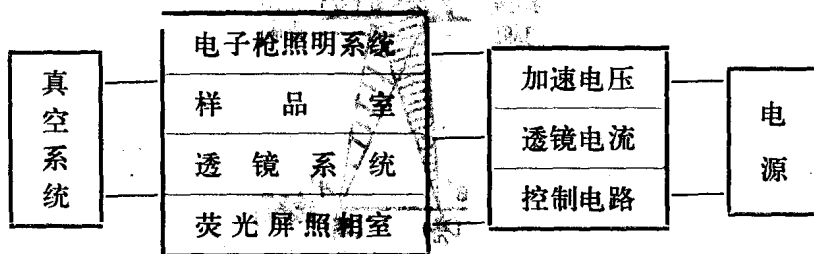
$$\theta = \sqrt{\frac{e}{8m\varphi}} \int_{Z_0}^{Z_1} H(z) dz \dots \dots (2-16)$$

式中 Z_0 是电子进入磁场时的座标， Z_1 是电子离开磁场时的座标，公式给出了磁场中电子轨迹的转角。由公式可知： θ 角与电子的起始位置 r_0 没有关系。就是说，一切电子，不管从什么地方开始运动，只要在旁轴范围内，旋转的角度都是一样的。当磁场改变时，轨迹平面旋转的方向也跟着改变。

因此，轴对称磁场是会聚的电子透镜，在旁轴范围内，这种磁场给出逼真的电子像这个像整个地转过一个角 θ ，角度大小由公式（2—16）决定。

三.电子显微镜的结构

尽管目前透射电镜型号繁多，但透射电镜均由以下几个主要部分组成。



电子枪照明系统：电子枪由灯丝、栅极和阳极组成。由灯丝发射出电子经阳极电场加速，聚焦成为展角很小的细束称电子束，电子束经聚光镜照射在样品上。

样品室：是将被研究的样品放在物镜焦点附近特制支架上。电子束通过样品受到散射后进入物镜中。

透镜系统：进入物镜的电子束成像并经逐级透镜放大，在荧光屏上得到清晰的图像。

荧光屏、照相室：在荧光屏上可直接观察到样品的电子像，也可用于板或胶片拍照下来，以便分析研究。

真空系统：以上各部分均在真空状态下工作，高真空的获得需要真空系统来完成这个任务。

电源：以供给电子枪加速电压，透镜电流及控制部分电源。

四.透射电镜的成像机制。

人眼可直接观察到光学显微镜下的样品信息，但透射电镜必须使带有样品信息的电子束照在荧光屏上，然后将电信号变成光的振幅差异，这样就可直接观察到在荧光屏上的图像。这种光强度差异称为“反差”，在电镜图像中又称为“衬度”。

光学显微镜和电子显微镜中主要有四种物理过程参与成像，这就是散射，吸收、干涉和衍射，这些物理过程形成了像上的“反差”。

普通光学显微镜成像的重要因素是吸收，即光线通过物体时，在物体的各点上吸收光线强度不同，就在像上形成明暗对比。但在电镜中，因样品很薄，吸收引起的反差很小，一般不考虑。对图像形成起重要作用的是“散射”。

我们知道：物质是由原子组成，对一个原子来讲，原子核和电子之间的距离是 $10^{-8} \sim 10^{-6} \text{ \AA}$ ，而原子之间的距离是 $1 \text{ \AA}$ 或更大。原子虽小，但原子和原子之间的距离比起原子内部核与电子之间的距离大的多，所以入射电子几乎是穿过空的空间，大量入射电子与样品中原子不发生碰撞直接穿过去。如果入射电子和样品中的原子发生碰撞就会产生散射，使电子运动方向改变而能量没有改变的散射为弹性散射。两者均改变的为非弹性散射。这里主要指弹性散射。

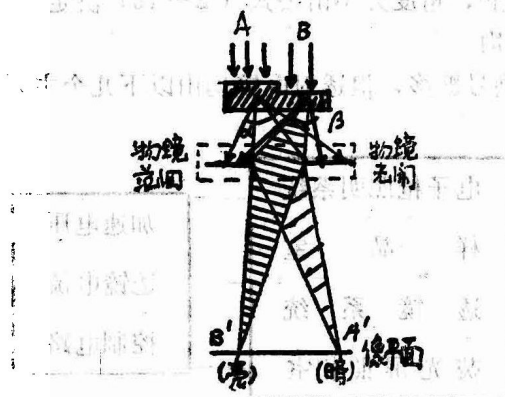


图4—1 成像机制

电子散射角随物质厚度和密度不同而有所同的（见图4—1）对于厚或密度大的样品，电子散射角大，反之散射角小，在电子光路中放置一个物镜光阑（或称反差光阑）其孔很小，一般为 $30 \sim 50 \mu$ ，散射电子被这个光阑挡住，只有直接穿过和散射角很小的部分电子参与成像。从图4—1中看出，A处样品厚，电子散射能力强，被反差光阑挡住的多，参加该点成像的电子数目就少，照在屏上的电流密度小，形成图像亮度在A'就暗，B点的样品薄在屏上的像B'点就亮，这是透射电镜形成图像反差的最主要因素。

第二是“离焦反差”有干涉形成。由于电子波的干涉效应，在电子像的任何边缘上都出现费涅尔环，费涅尔环在欠焦时以亮线，过焦时以黑线加强边缘，这样也增加了图像反差，这种反差称之为“离焦反差”。

第三是“相位反差”：因为入射电子是相干的，样品中物质的不均匀性，使得电子穿过样品时有着不同的路程，通过样品后因电子波的路程稍有差别而产生干涉，这种效应产生的反差称“相位反差”，只有在相当高的分辨率，高放大倍数下，才能观察到，因此只有在高分辨率工作时有实际影响。

实践证明，要充分发挥电镜的高性能，必须对电镜的原理、结构及成像机制有所了解。

电离辐射导致雄性不育玉米螟 精巢的电镜观察

中国农业科学院原子能所电镜组

电离辐射对昆虫生殖机能影响的研究,国内外已获得了不少结果[1·2·3·4·5]。我所从1961年开始进行电离辐射导致玉米螟雄性不育的研究。结果表明,用40000 r Co^{60} 射线照射羽化前1—3天的雄蛹,所造成的虫体不育可达98%以上,而又对虫体羽化、飞翔、交尾和寿命等生理活动均无显著影响[1]。为消灭农业害虫开辟了新途径,这不仅在理论上而且在生产实践上,均有重要价值。到目前为止有关玉米螟正常及辐射后精巢的电镜观察资料尚未见报导。为探索不育的原因,本工作对正常和处理后的玉米螟营养和生殖细胞的亚显微结构进行了初步观察。

材料与方法

取羽化前1—3天的雄蛹,用 Co^{60} 射线处理,剂量为40000 r,并让其在自然条件下羽化,羽化一天后,将虫体腹部剪下放入缓冲液内,在解剖镜下迅速取出精巢,并立刻投入1% KMnO_4 或1% OsO_4 冷血动物固定液中。另取一对照。在0—4℃的冰箱内固定30分钟,经逐级乙醇脱水、浸透后,包埋于预聚合的甲基丙烯酸甲酯和甲基丙烯酸丁酯的混和液中,在60℃温箱内聚合18—24小时,用JUM-5 A超薄切片机切成约300 Å厚的切片,用JEMB-100型电镜观察。

果结和讨论

正常精巢的每一胞囊内约有200—260个生殖细胞(图1),其外被胞囊所包围(图2),胞囊是由几个营养细胞组成。在同一胞囊内的生殖细胞均处于相同的发育阶段。这说明胞囊内的生殖细胞是同时进行成熟分裂的。

营养细胞是包在生殖细胞外的一种大细胞,核呈椭圆形,具有清晰的双层膜,内质网为双层膜的网状结构,线粒体呈椭圆形或棒状,亦为双膜结构,但线粒体少而短。随生殖细胞的发育,它的结构亦有相应的变化。生殖细胞处于发育期时,营养细胞的内质网丰富,线粒体发达,胞浆内含有一些营养物质(图3),这与生殖细胞发育时所需营养的供给有密切关系。在精子期时,营养细胞的内质网明显的衰退,双膜的网状结构变成小泡和碎片,线粒体体积变小,双膜不明显而成泡状,营养物质消失(图8)。这些现象表明,生殖细胞业已成熟,无需营养供给,营养细胞完成了使命而处于退化状

态。根据这些特征可以确定胞囊内生殖细胞的发育时期。

精子的微细结构，可分头、颈、体和尾部。头呈梨形，前端稍突出，后为一细而短的颈部。核居头中央并占其大部，核后延伸出一轴丝，内充满着与轴垂直的双膜（图4），轴丝外有膜，并在其侧形成九个褶皱，对侧为相等数量的细纤维丝。继续向后延伸可形成尾部。

40000r处理过的精巢，在精巢中可观察到成团、电子密度较大的和空泡状的结构，可能是由于辐射效应而产生的废弃物。

发育期生殖细胞外的营养细胞破坏较为严重，内质网已不呈网状，并失去双膜结构，而成大小不一的小泡，甚至剩下膜状结构的残余而充满在胞浆内。线粒体双膜结构不明显，由椭圆形或棒状变成趋近于圆形。营养物质也消失（图5—6）。

辐射后精子体部轴丝内的双膜结构不显著，质膜所形成的褶皱亦被部分或完全破坏（图7）。

根据有关报导，电离辐射后造成生殖细胞不育的原因是由于染色体的断裂，遗传物质的破坏所致。〔6,7〕这有待于进一步观察。根据我们电镜初步观察结果表明，用40000r ^{60}Co 射线处理玉米螟羽化1—3天的雄蛹，对营养细胞的破坏很严重，如：内质网、线粒体均与正常不同，营养物质也消失。营养细胞的代谢因之而失调，直接影响了发育期生殖细胞养料的供给，使精子发育不良，这可能是造成雄性不育的重要原因之一。

参考文献

1. 张和琴等，探讨电离辐射导致雄性不育防治玉米螟的可能性。中国农业科学院原子能利用研究所科学研究年报（1964年）
2. 李卫绩，利用 ^{60}Co 射线造成玉米螟不育的研究。原子能科学技术，1964年12
3. 胡少波等，玉米螟蛹对 ^{60}Co 射线照射后不孕性研究初报。广西农学院科学研究汇刊第四集1964
4. 徐风早等，电离辐射对东南亚飞蝗雄性生殖细胞成熟分裂及精子分化的扰乱作用。昆虫学报第13卷第5期1964
5. 斯坦尼尔·L·F等，在夏威夷和玛利亚纳岛应用辐射不孕法防治果蝇，进展的同位素译丛 No.8 85—59, 1963
6. Н.П.Дзбинин 电离辐射与遗传，复旦大学遗传学研究所译，上海科学技术出版社
7. H·N 努月金等，放射生物论文集，科学出版社，1958 88

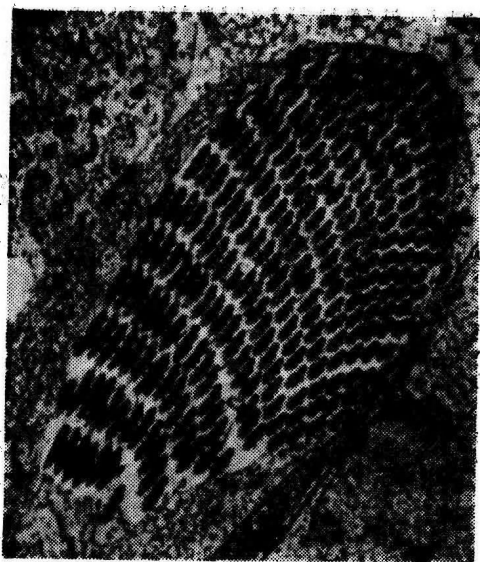


图1.玉米螟胞囊内生殖细胞的排列。2340×



图2.精束外的营养细胞 1758×

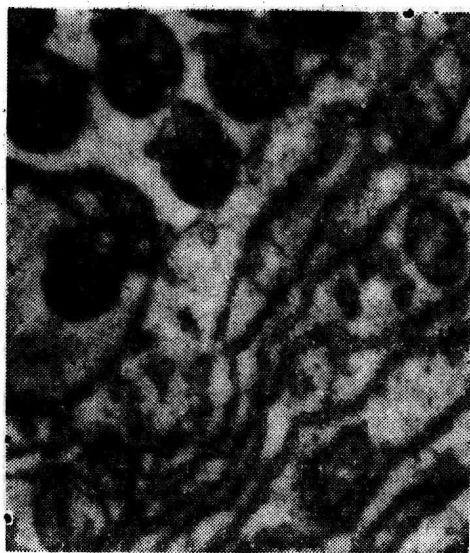


图3.营养细胞的营养颗粒 1758×



图4.精子轴丝的结构 31500×



图5. 40000rCo⁶⁰r射线处理后
的胞囊结构7050×

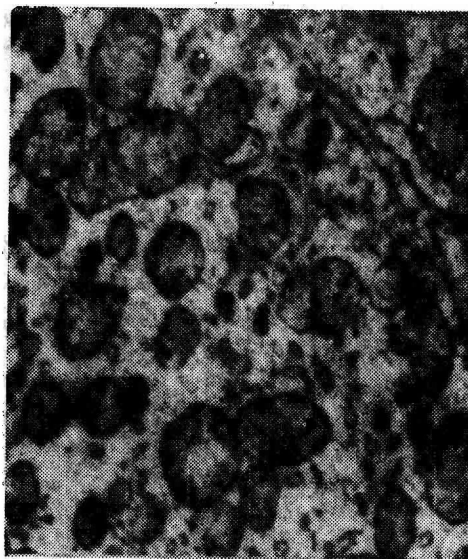


图6. 40000rCo⁶⁰r射线处理后
营养细胞的结构11480×

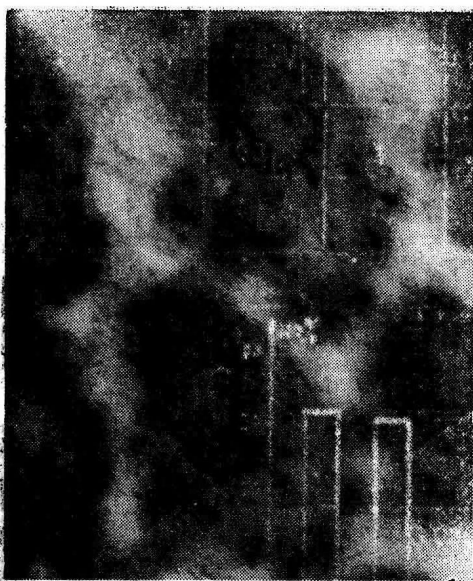


图7. 40000rCo⁶⁰r射线处理后轴
丝的结构(横切面)
37500×



图8. 精子形态及营养细胞的
结构.45000×

粘虫痘病毒的分离和特征*

柳连元

(长春师范学院)

付仓生

李振兰*

(中国农业科学院原子能所)

昆虫痘病毒 (insect pox virus) 是1963年首先由 Hurpin和Vago 在 鳃角龟金子 (Melolontha melolontha) 中发现的。经“国际病毒命名委员会”审定认为这类病毒应归入痘病毒属 (Pox virus)。由于昆虫痘病毒在形态、构造上与脊椎动物痘病毒极为相似, 故称为昆虫痘病毒。这类病毒以后在鞘翅目、鳞翅目、双翅目、直翅目昆虫中均有发现。1978年第四届国际病毒学会议上提出的 ICTV 第三期报告 (Mathews, 1979) 中, 把原来的昆虫痘病毒属, 升格为痘病毒科的昆虫痘病毒亚科 (Entomopoxvirinae), 下面拟设 A, B, C, 三个属。其代表种分别为五月鳃角金龟子痘病毒, 盐治灯蛾 (Amsaeta moorei) 痘病毒与摇蚊 (Chironomus luridus) 痘病毒。粘虫痘病毒截至1980年末国内尚未见发表, 国外也未见报导。我们在1980年7月, 用长春一代粘虫 (Mythimna leparata walker) 的幼虫进引粘虫核型多角体病毒 (Nuclear polyhedrosis virus 简称 N.P.V.)。长春病毒株在复制过程中, 在粘虫的幼虫、蛹、成虫中均发现有痘病毒侵染。本文报导粘虫痘病毒的分离和特征。

一、材料与方 法

供试粘虫, 为由田间捕捉, 室内饲养, 将罹病死虫虫体研碎、稀释接种 (添饲法)。将111头罹病幼虫、蛹、成虫, 用 Bouin 氏液固定, 石蜡包埋, 切片, Hamm 氏染色法 (略有改变) 注²染色, 用 OLYMPUS—BH 型显微镜彩色摄影。初提纯的粘虫痘病毒的包涵体, 经钨酸蒸气固定, H—500 型电镜观察、摄影。上述样品经常规制样, HCP—2 型临界点干燥仪干燥, HUS—5GB 真空蒸发仪喷金, S—450 型扫描电镜观察、摄影。罹病蛹的脂肪组织, 经戊二醛、钨酸双固定, 甲丙塑料包埋, JUM—5A 超薄切片机制片, 醋酸铀、柠檬酸铅双染色, H—500 型电镜观察、摄影。对粘虫痘病毒的溶解性, 着色性等进行试验观察。

* 该所参加工作的还有郝宏京、张福顺同志。

二、结果

〈一〉罹病粘虫的症状:

罹病虫分别在变态过程中死亡,有的在变蛹。变成虫的过程中,还未来得及蜕皮就死去。从接种到死亡,历时15—24天,幼虫多在六龄期或蛹前期死亡。罹病幼虫,行动迟缓、体节肿胀、对针刺反应迟钝或无反应。体色变淡,体壁变薄易破。蛹前期幼虫,躯体收缩、体色加深,罹病蛹对刺激反应极为缓慢,体色变为深褐色;罹病成虫体形比较小,翅发育不健全,双翅折叠,不能展平,一般失去飞翅能力。虫尸体内含物为脓样,在光学显微镜下观察,可见到大量、大小不一的,折光率较强的球形、椭圆形、纺锤形的包涵体,以椭圆形为最多(图版1—1)。

〈二〉组织病理学检查:

粘虫痘病毒侵染初期,在罹病虫的细胞质中进行复制。(图版1—1, 2—3)。首先侵染脂肪细胞(图版1—2)。进而侵入上皮组织的真皮细胞(图版1—3)。和气管基质上皮细胞(图版1—4)。当细胞核膜自溶破裂后,寄生在细胞质内的包涵体,充满整个细胞,待细胞膜破裂后,包涵体则分散于体腔内。

〈三〉粘虫痘病毒的主要特征:

包涵体(Inclusion body),在光学显微镜下观察,球形体(Spherules)大小直径约为3—5 μ ,椭圆形体(Ovals)大小为3—4.5 $\times$ 4—6 μ ,纺锤形体(Spindles)长轴为4—10 μ (图版1—1)三种形态。

扫描电子显微镜观察,三种形态包涵体的表面均呈现轻度不规则的波状隆起(图版2—1)。透射电子显微镜观察见到纺锤形包涵体中有畸形包涵体,在包涵体上长出三角形物质(图版2—2)。超薄切片,透射电镜观察,球形、椭圆形及少量纺锤形包涵体内均包埋多数病毒粒子(Virion),约为10—40粒,任意排列,散在于包涵体内(图版2—3)。而多数纺锤形包涵体内不包埋病毒粒子,与George E, Cantwell和有贺久雄等报导的昆虫痘病毒,纺锤形包涵体内不包埋病毒粒子一致。

病毒粒子,呈椭圆形和类似砖形,大小约350nm—250nm左右。核心(Core)的周围形成侧体(Lateral body)。外层包着衣壳,核衣壳(Nucleocapsid)呈对称筒状。病毒粒子表面有许多不规则隆起如桑椹状,与牛痘病毒相似(图版2—4)。

〈四〉包涵体的溶解性与着色性:

粘虫痘病毒的包涵体,不溶解于蒸馏水、无水乙醇、二甲苯、乙醚、乙酸乙酯、丙酮等有机溶剂。可被1%氢氧化钠、冰醋酸溶解。对细菌的腐败作用有抗性。

包涵体不被复红、孔雀绿等颜色着色。经冰醋酸、1%氢氧化钠处理后,则被石炭酸复红染为紫红色,伊红为鲜红色,偶氮胭脂红上染为玫瑰红色,孔雀绿染为绿色。

三、结论与讨论

综上述结果,根据国际病毒分类与命名系统,我们1980年从粘虫中分离的病毒。属