东亚飞蝗血细胞形态学研究*

贾雷坡 崔智芳 王 强 吴 昊 张小民**

(山西大学生命科学学院 太原 030006)

摘 要 通过 Wright's 染色和光学显微镜对不同地区东亚飞蝗的血细胞进行了观察,发现东亚飞蝗 *Locusta migratoria manilensis* (Meyen) 的血细胞包括原血胞、浆血胞、粒血胞和类绛血胞 4 种类型。原血胞的细胞核为红色,而其它 3 种血细胞的细胞核均被 Wright's 染液染成红色和蓝色 2 种类型。故认为浆血胞是由原血胞分裂而来;浆血胞进一步分化为蓝核浆血胞和红核浆血胞,蓝核浆血胞进一步演化为蓝核粒血胞和蓝核类绛血胞;红核浆血胞进一步演化为红核粒血胞和红核类绛血胞。粒血胞又分化为大颗粒粒血胞和小颗粒粒血胞,小颗粒粒血胞又进一步分化为密集小颗粒粒血胞和稀少小颗粒粒血胞,由此将东亚飞蝗的血细胞分为 4 类 11 种。该研究不仅为蝗虫形态学提供依据,同时也为蝗虫生理、蝗虫免疫,以及防蝗治蝗提供依据。

关键词 东亚飞蝗,血细胞,形态学

Morphological study on hemocytes of *Locusta migratoria manilensis*

JIA Lei-Po CUI Zhi-Fang WANG Qiang WU Hao ZHANG Xiao-Min**

(School of Life Science, Shanxi University, Taiyuan 030006, China)

Abstract Light microscopy and the Wright stain method revealed four types of hemocytes; prohaemocytes, plasmatocytes, granulocytes and oenocytoids, in *Locusta migratoria manilensis* (Meyen). Prohaemocytes' had a red nucleus, whereas the nucleus of the other three haemocytes was dyed red and blue by Wright's dye. Plasmatocytes are considered to be disintegrated prohaemocytes and can be further differentiated into red-nucleus plasmatocytes and blue-nucleus plasmatocytes. Blue-nucleus plasmatocytes evolve into blue-nucleus granulocyte and oenocytoids whereas red-nucleus plasmatocytes evolve into red-nucleus granulocyte and oenocytoids. Granulocytes are differentiated into large-granular granulocytes and small-granular granulocytes, the latter are differentiated into exiguous and dense small granular granulocytes. Hemocytes of *L. m. manilensi* can therefore be divided into four main types with eleven subtypes. This study not only provides a basis for grasshopper morphology, but also grasshopper physiology, immunity and locust control.

Key words *Locusta migratoria manilensis*, hemocyte, morphology

自从 1669 年 Swammerdam 被认为是第 1 个发现昆虫的"白"血细胞以来,昆虫的血细胞研究已逾 340 余年的历史(Rooseboom, 1937; Jones, 1962),在昆虫血细胞形态和类型研究方面具代表性的学者有 Newport(1845) 将昆虫和其它无脊椎动物血细胞的进化,以及与人和脊椎动物血细胞进行了比较;Gupta(1929) 总结了昆虫血细胞的形态、功能和研究方法;Mathur 和 Soni(1937) 对沙漠蝗血液的组织学进行了观察;Yeager(1945) 以南方行军虫 *Prodenia eridania*(Cram.) 为材料,热固定后用 Wright 染色法,将其血细胞细分 10 类 32 型;Rizki(1957) 研究了果蝇血细胞数量,并将果蝇 *Drosophila melanogaster* Meig 的血细胞分为两大类;Jones(1962) 归纳了目前人们所接受的昆虫血细胞的 5 种类型;刘崇乐和傅贻玲(1964) 将粘虫各虫态虫龄的血细胞分为 8 个类型,并将浆血胞区分为大核浆血胞和小核浆血胞 2 种;Price 和 Ratcliffe(1974) 对 15 目的昆虫活细胞进行了光学显微镜研究,发现 6 种血细胞类型,有原血胞、浆血胞、粒血胞、球血胞、囊血胞和类浆色血胞,其中

* 资助项目:国家自然科学基金资助项目(30770239)、山西省自然基金(2009011048)。

**通讯作者,E-mail: zhangxm@sxu.edu.cn

收稿日期:2010-12-24,接受日期:2011-02-28

前 3 种血细胞存在于他研究的全部昆虫中; Jones (1977) 依据前人的研究归纳出 7 种常见的血细胞类型: 原血细胞 (prohaemocytes)、浆血细胞 (plasmatocytes)、粒血细胞 (granulocytes)、囊血细胞 (cystocytes)、脂血细胞 (adipohemocytes)、珠血细胞 (spherule cells) 和类绛血细胞 (oenocytoids), 并被广泛接受和观察到, 还有 3 种不常见的血细胞类型: 足形细胞 (podocytes)、蠕形细胞 (vermiform) 和颗粒吞噬细胞 (granulocytophagus); Brehelin 等 (1978) 对 9 种昆虫血细胞的超微结构进行了研究, 将血细胞分为 8 种类型; Lavine 和 Strand (2002) 研究了昆虫的血细胞和它们的免疫作用, 并总结了鳞翅目昆虫中的 4 种血细胞类型; Meister 和 Lagueux (2003) 确定了果蝇血细胞的 3 种类型; 迟淑萍等 (2004) 在德国小蠊中发现 5 种血细胞类型; 王世贵等 (2007) 在直翅目红褐斑腿蝗血细胞循环中发现了 5 种类型的血细胞。

在昆虫血细胞功能方面的研究有: Brehelin 等 (1975) 研究了飞蝗和大栗鳃角金龟血细胞对外来物的包被作用; Miranpuri 和 Khachatourians (1993) 研究了血黑蝗感染白僵菌后血细胞表面的变化; Gillespie 等 (2000) 研究了沙漠蝗感染真菌后的免疫反应; Tojo 等 (2000) 研究了蜡蛾浆血胞和粒血胞的吞噬作用; Lavine 和 Strand (2002) 研究了昆虫的血细胞和它们的免疫作用; Marmaras 和 Lampropoulou (2009) 研究了昆虫血细胞免疫。

东亚飞蝗 *Locusta migratoria manilensis* (Meyen), 隶属于直翅目, 斑翅蝗科, 飞蝗属。在我国南北各地均有分布, 是重大农业害虫之一。对东亚飞蝗血细胞的形态学研究尚未见报道, 本文通过光学显微镜对东亚飞蝗血细胞的形态进行了观察, 并对东亚飞蝗血细胞的形态进行了分类, 本文不仅为蝗虫的细胞免疫和蝗虫形态学提供依据, 同时也为防蝗治蝗提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

东亚飞蝗 *Locusta migratoria manilensis* (Meyen) 成虫 2008 年 6 月 12 日采自河北黄骅; 2009 年 5 月 6 日采自于天津北大港水库; 2010 年 6 月 10 日采自河北沧州。

1.2 方法

涂片法: 每次取东亚飞蝗成虫雌、雄各 10 只, 用清水将后足基部洗净, 再用 75% 的乙醇消毒, 然后在东亚飞蝗的后足基部取血一滴, 将血滴在载玻片上, 涂片。经 Wright's 染液染色, 中性树胶封片, Olympus BX-51 光学显微镜下观察并照相。

2 结果与分析

通过光学显微镜观察, 不同地区东亚飞蝗雌和雄成虫的血细胞 (hemocyte) 在形态和类型上基本相同, 包括原血胞 (prohaemocytes)、浆血胞 (plasmatocytes)、粒血胞 (granulocytes) 和类绛血细胞 (oenocytoid) 4 种血细胞类型。在成虫体内数量最多的是粒血胞, 浆血胞次之, 然后是原血胞, 而类绛血胞最少。

2.1 原血胞 (prohaemocytes)

原血胞也称原始血细胞, 圆形或卵圆形, 核大, 单核, 位于细胞中央, 紫红色或红色, 直径约为 10 ~ 12.5 μm, 几乎充满整个细胞, 表面无突起, 较光滑, 轮廓清晰 (图版 Ⅰ: 1)。

2.2 浆血胞 (plasmatocytes)

浆血胞也称原生质细胞, 细胞形态多样, 有球形、卵形、纺锤形、星型和不规则形等。卵圆形的平均细胞大小约为 15 μm × 20 μm。核大, 单核, 直径约为 10 ~ 12.5 μm, 位于细胞中央, 约占细胞体积的一半, 细胞核有红色和蓝色 2 种颜色, 并将东亚飞蝗的浆血胞分为红核浆血胞 (red-nucleus plasmatocytes, Rnp) 和蓝核浆血胞 (blue-nucleus plasmatocytes, Bnp) 2 种类型 (图版 Ⅰ: 2, 3), 2 种血细胞在血液中的数量比约为 1∶1。细胞质嗜碱性, 均一, 无颗粒内含物。

2.3 粒血胞 (granulocytes)

粒血胞是一类普遍存在于东亚飞蝗血液中的优势血细胞, 细胞形态多为球形、卵形、纺锤形和不规则形, 卵圆形平均细胞大小约为 11.5 μm × 25 μm。细胞核多为圆形和卵圆形, 直径约为 10 ~ 12.5 μm, 多数细胞的核位于细胞中央, 约占细胞体积的一半, 细胞核有红色和蓝色 2 种颜色, 并将东亚飞蝗的粒血胞分为红核粒血胞 (red-nucleus granulocyte, Rng) 和蓝核粒血胞 (blue-nucleus granulocyte, Bng) 2 种类型 (图版 Ⅰ: 4), 2 种血细胞在血液中的数量比约为 1∶1。红核粒血胞的细胞

质多为中性或较浅的碱性,其细胞中的颗粒多为嗜酸性颗粒,根据颗粒的大小可将粒血胞分为大颗粒粒血胞(large granular granulocyte)(颗粒直径大于 1 μm)(图版Ⅰ:5)和小颗粒粒血胞(small granular granulocyte)(颗粒直径小于 1 μm),小颗粒粒血胞又分为稀少小颗粒粒血胞(exiguous small granular granulocytes,Esg)(图版Ⅰ:7)和密集小颗粒粒血胞(dense small granular granulocytes,Dsg)(图版Ⅰ:8)。蓝核粒细胞的细胞质为嗜碱性,其中多为嗜酸性的颗粒,也包括 2 种颗粒,即大颗粒粒血胞(large granular granulocytes)(图版Ⅰ:6)和小颗粒粒血胞(small granular granulocyte),小颗粒粒细胞也包括稀少小颗粒粒血胞(图版Ⅰ:9)和密集小颗粒粒血胞(图版Ⅰ:10)。不论是哪种颗粒细胞,其细胞质中主要是嗜酸性颗粒,而嗜碱性颗粒较少。

2.4　类绛血胞(oenocytoid)

类绛血胞是东亚飞蝗血液中最大型的血细胞,直径 20 μm×25 μm~35 μm×40 μm,多为卵圆形或三角形。细胞核为圆形,直径约为 10~15 μm,位于细胞的一侧,也有 2 个核或 4 个核的。根据细胞核的颜色东亚飞蝗的类绛血胞分为红核类绛血胞(red-nucleus oenocytoid)(图版Ⅰ:11)和蓝核类绛血胞(blue-nucleus oenocytoid)(图版Ⅰ:12) 2 种类型。红核类绛血胞的细胞质为酸性和浅酸性,其中有较稀少的酸性颗粒。蓝核类绛血胞的细胞质嗜碱性,其中有较稀少的碱性颗粒。

3　讨论

对昆虫血细胞的研究至今大约有 340 多年的历史,涉及昆虫的种类在 100 种以上,但昆虫血细胞的形态,以及分类是分歧和困惑最多的一个方面。长期以来众说纷纭,直到 1977 年 Jones 将昆虫的血细胞分为最常见的 7 种类型和 3 种不常见的血细胞类型,至此对昆虫血细胞的形态和类型有了一个较为明显的规范。

到目前为止仅对 4 种蝗虫血细胞进行了研究,Mathur 和 Soni(1937),Gillespie 等(2000)对沙漠蝗 *Schistocerca gregaria* 的血细胞进行了观察,将血细胞分为 4 种类型; Brehelin 等(1978)对 9 种昆虫血细胞的超微结构进行了研究其中包括飞蝗 *Locusta migratoria*,将血细胞分为 8 种类型; Miranpuri 和 Khachatourians(1993)研究了血黑蝗 *Melanoplus sanguinipes* 感染白僵菌后血细胞表面的变化; 王世贵等(2007)对红褐斑腿蝗 *Catantops pinguis* 的血细胞进行了观察,并分为 5 种类型。

通过 Wright 染色在东亚飞蝗的血涂片上未看到珠血胞。但看到了一类非常大的细胞(图版Ⅰ:11,12),最大的细胞直径约为 40 μm,是东亚飞蝗血片上最少的一类细胞,并将该类细胞归为类绛血胞。其理由是 Jones(1977)认为即使血淋巴涂在玻片上迅速固定时,囊血胞很快地崩解,在姬氏和瑞氏染料的涂片上可看到轮廓分明的核,但无细胞质,故排除了囊血胞的可能; 傅贻玲(1982a,1982b)认为昆虫的血细胞有 5 种为多数人所接受,其中类绛血胞因与体腔两侧的绛色细胞有类似之处而得名,并且类绛血胞可以转化为囊血胞(cystocyte); 许再福(2009)认为类绛血胞是昆虫血液内最大型的血细胞。由此看来东亚飞蝗的血细胞中的这种体积较大的细胞可能就是类绛血胞。

作者从 2007 年以来分别对河北黄骅、天津北大港和河北沧州地区的东亚飞蝗进行了 Wright 染色和观察,仅原血胞被染成红色(图版Ⅰ:1)。浆血胞(图版Ⅰ:2,3)、粒血胞(图版Ⅰ:5~10)和类绛血胞(图版Ⅰ:11,12)分别均被染成蓝核和红核 2 种细胞类型。Gupta 和 Sutherland(1966)对蜚蠊、蜡螟和黄粉甲的血细胞进行研究时,在离体条件下观察了浆血胞的转化,认为浆血胞是昆虫血细胞的基本形态,并图示了昆虫血细胞之间的相互关系。从他们图示的关系中可以看出浆血胞是由原血胞分裂和演化而来,并认为(1)粒血胞由浆血胞变来; (2)珠血胞由浆血胞、粒血胞变来; (3)囊血胞由浆血胞、粒血胞变来; (4)脂血胞由粒血胞变来; (5)类绛血胞由浆血胞变来; (6)足血胞及蠕血胞由浆血胞变来。由此可以认为东亚飞蝗的各种血细胞有如下关系: 原血胞是东亚飞蝗血细胞的干细胞,可分裂和分化为浆血胞,浆血胞进一步演化为红核浆血胞和蓝核浆血胞 2 种类型。红核和蓝核浆血胞各自可进一步分化和演化为粒血胞和类浆血胞(图 1)。

东亚飞蝗的粒血胞不论是红核还是蓝核,都可根据颗粒的大小又分为大颗粒粒血胞(颗粒直径大于 1 μm)和小颗粒粒血胞(颗粒直径小于 1 μm),小颗粒粒血胞又可以分为密集和稀少 2 种

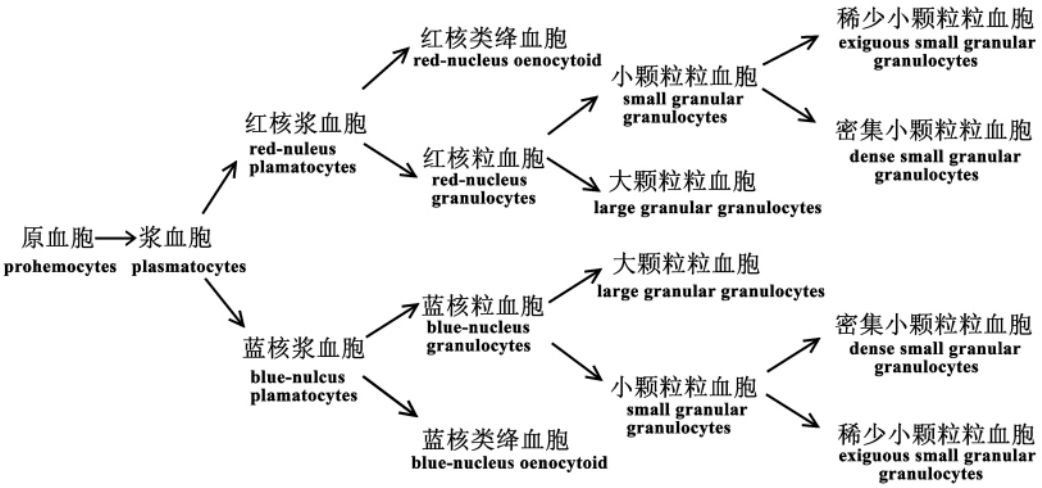


图 1 东亚飞蝗各种血细胞之间的演化关系

Fig. 1 The evolutionary relations brtween hemocytes of *Locusta migratoria manilensis*

类型。故东亚飞蝗的血细胞共包括 4 类 11 种(图 1):

(1) 原血胞(prohemocytes):细胞核红色,是另外 3 类血细胞的干细胞,其它细胞均由原血胞演化而来。王荫长(2004)认为原血胞的主要功能为分裂补充血细胞。

(2) 浆血胞(plasmatocytes):细胞核有红色和蓝色 2 类,根据细胞核的颜色将浆血胞分为红核浆血胞(red-nucleus plasmatocytes)和蓝核浆血胞(blue-nucleus plasmatocytes),浆血胞是蝗虫血细胞的基本形态,可转变为粒血胞和类绛血胞。Marschall(1966)直接观察到浆血胞的吞噬作用。王荫长(2004)认为浆血胞的功能是吞噬异物及愈合伤口,也参与包被和成瘤作用,因此浆血胞是主要的防卫血细胞。

(3) 粒血胞(granulocytes):细胞核有红色和蓝色 2 类,红核粒血胞(red-nucleus granulocyte)包括大颗粒粒血胞(large granular granulocytes)和小颗粒粒血胞(small granular granulocytes),小颗粒粒血胞又分为密集小颗粒粒血胞(dense small granular granulocytes)和稀少小颗粒粒血胞(exiguous small granular granulocytes);蓝核粒细胞(blue-nucleus granulocyte)也包括大颗粒粒血胞和小颗粒粒血胞,小颗粒粒血胞也分为密集小颗粒粒血胞和稀少小颗粒粒血胞;粒血胞是东亚飞蝗的血细胞中数量最多的一类细胞。Zachary 和 Hoffmann (1973)观察到红头丽蝇粒血胞是吞噬署红的唯一吞噬细胞。梁子才和程振衡(1991)对亚洲玉米螟幼虫注入细菌后未见浆血胞单独进行吞噬,而由粒血胞吞噬细菌;Tojo 等(2000)研究了蜡蛾浆血胞和粒血胞的吞噬作用。王荫长(2004)认为粒血胞可分化为其他类型的血细胞,功能与贮存、分泌和防卫有关。

(4) 类绛血胞(oenocytoids):细胞核有红色和蓝色 2 类,根据细胞核的颜色将东亚飞蝗的类绛血胞分为红核类绛血胞(red-nucleus oenocytoid)和蓝核类绛血胞(blue-nucleus oenocytoid)。类绛血胞是东亚飞蝗血细胞中数量最少、体积最大的一类细胞。Shaftesbury(1934)研究了蜜蜂绛色细胞的起源、进化和功能;Wigglesworth(1979)研究了昆虫浆血胞和类绛血胞的分泌活动。王荫长(2004)认为类绛血胞无吞噬作用,主要功能是参与物质代谢和分泌作用。

由于昆虫血细胞的形态及分类是研究得最广泛的一个方面,其形态多样及中间类型的大量存在,甚至同一种蝗虫的不同虫态、虫龄及在不同生态、生理条件下都会变异,故本文划分可能更为精确。

参考文献(References)

Brehelin M, Hoffmann JA, Matz G, Porte A, 1975. Encapsulation of implanted foreign bodies by hemocytes in *Locusta migratoria* and *Melolontha melolontha*. *Cell Tiss. Res.*, 160(3):283—289.

Brehelin M, Zachary D, Hoffmann JA, 1978. A comparative

ultrastructural study of blood cells from nine insect orders. *Cell Tiss. Res.*, 195(1): 45—57.

迟淑萍, 杜云静, 李同京, 2004. 德国小蠊血细胞形态初步观察. 医学动物防治, 20(2): 101.

傅贻玲, 1982a. 昆虫的血细胞(一). 昆虫知识, 19(3): 45—47.

傅贻玲, 1982b. 昆虫的血细胞(二). 昆虫知识, 19(4): 37—41.

Gillespie JP, Burnett C, Charnley AK, 2000. The immune response of the desert locust *Schistocerca gregaria* during mycosis of the entomopathogenic fungus, *Metarhizium anisopliae* var *acridum*. *Journal of Insect Physiology*, 46(4): 429—437.

Gupta AP, Sutherland DJ, 1966. In vitro transformations of the insect plasmatocyte in some insects. *Journal of Insect Physiology*, 13(5): 1369—1375.

Gupta AP, 1929. Insect Hemocytes: Developent, Forms, Functions and Technigues. Cambridge University Press. 10—614.

Jones JC, 1962. Current concepts concerning insect hemocytes. *Am. Zoologist.*, 2: 209—246.

Jones JC, 1977. The Circulatory System of Insects. Thomas Press, Springfield. 144—170.

Lavine MD, Strand MR, 2002. Insect haemocytes and their role in immunity. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 32(10): 1295—1309.

梁子才, 程振衡, 1991. 对亚洲玉米螟幼虫血淋巴的免疫反应. 昆虫学报, 34(2): 141—144.

刘崇乐, 傅贻玲, 1964. 粘虫血细胞的类型辨识和病态变化. 昆虫学报, 13(4): 544—547.

Marmaras VJ, Lampropoulou M, 2009. Regulators and signalling in insect haemocyte immunity. *Cellular Signalling*, 21(2): 186—195.

Marschall KJ, 1966. Bau und Funktion der Blutzellen des Mehlkäfers *Tenedrio militor*. *Zeitschr Morphökol Tiere*, 58: 182—246.

Mathur CB, Soni BN, 1937. Studies on *Schistocerca gregaria* Forsk. IX. Some observations on the histology of the blood of the desert locust. *Ind. J. Agric. Res.*, 7(2): 317—325.

Meister M, Lagueux M, 2003. Drosophila blood cells. *Cellular Microbiology*, 5: 573—580.

Miranpuri GS, Khachatourians GG, 1993. Hemocyte surface changes in the migratory grasshopper *Melanoplus sanguinipes* in response to wounding and infection with *Beauveria bassiana*. *Entomol. Exp. Appl.*, 68(2): 157—164.

Newport G, 1845. On the structure and development of the blood. First series. The development of the blood-corpuscles in insects and other invertebrata, and its comparison with that of man and the vertebrata. *Ann. Mag. Nat. Hist.*, 15: 281—284.

Price CD, Ratcliffe NA, 1974. A reappraisal of insect haemocyte classification by the examination of blood from 15 different insect orders. *Cell Tissue Res.*, 147(4): 537—549.

Rizki MTM, 1957. Alterations in the haemocyte population of *Drosophila melanogaster*. *J. Morph.*, 100(3): 437—458.

Rooseboom M, 1937. Contribution À L'étude De La Cytologie Du Sang De Certains Inescts, Acec Quelques Considérations Générales. *Archives Néerlandaises de Zoologie*, 2(128): 432—559.

Shaftesbury AD, 1934. Origin, development, and function of the oenocytes of the honeybee, *Apis mellifica* Linn. PhD. Thesis, Johns Hopkins Univ., Baltimore. 165.

Tojo S, Naganuma F, Arakawa K, Yokoo S, 2000. Involvement of both granular cells and plasmaocytes in phagocytic reactions in the greater wax moth, *Galleria mellonella*. *J. Insect Physiol.*, 46(7): 1129—1135.

王世贵, 周志军, 郑哲民, 2007. 红褐斑腿蝗血细胞的形态和分类. 昆虫知识, 44(2): 241—244.

王荫长, 2004. 昆虫生理生化学. 北京: 中国农业出版社. 58—60.

Wigglesworth VB, 1979. Secretory activities of plasmatocytes and oenocytoids during the moulting cycle in an insect (*Rhodnius*). *Tiss. Cell*, 11(1): 69—78.

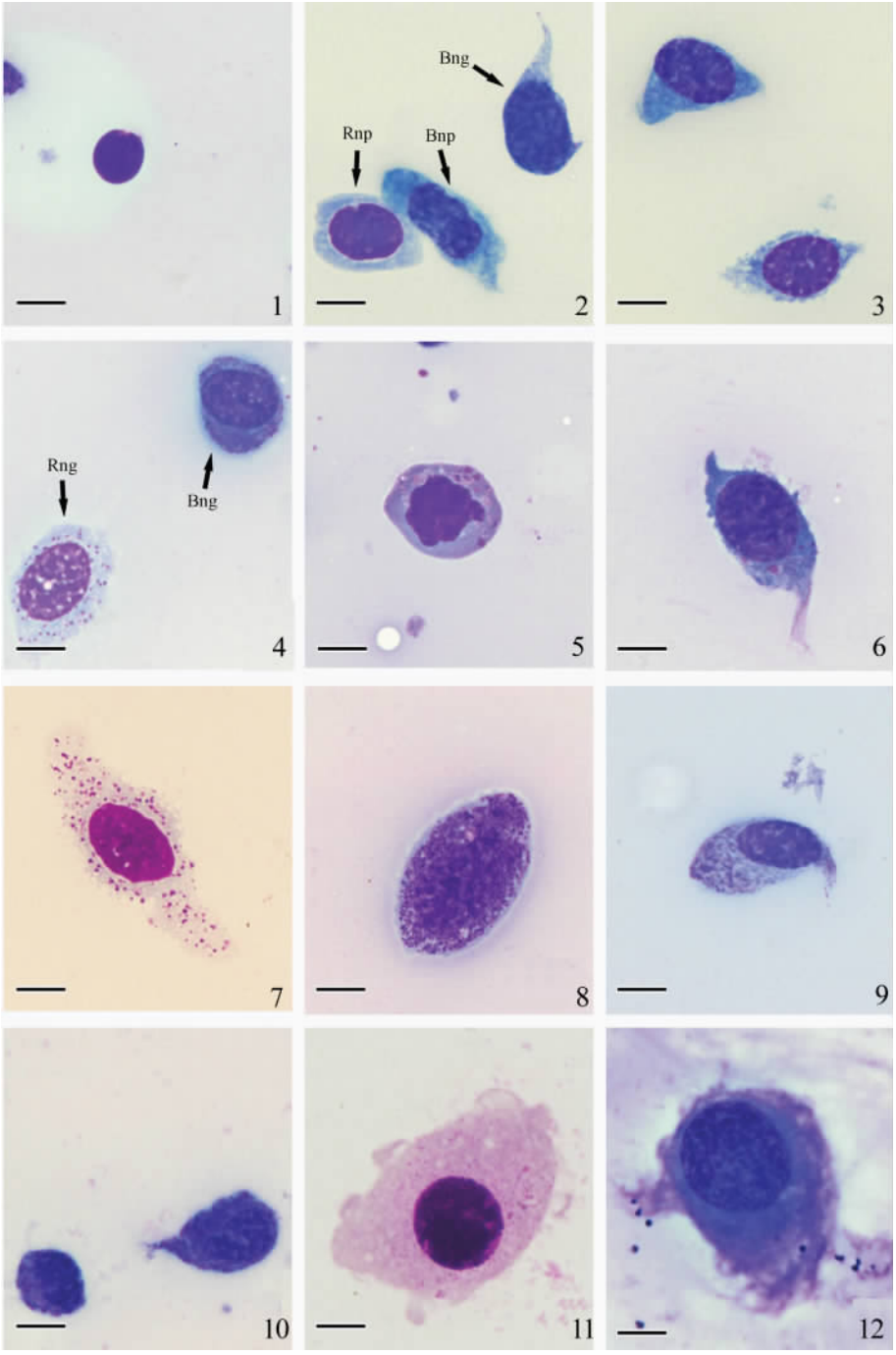
许再福, 2009. 普通昆虫学. 北京: 科学出版社. 110—113.

Yeager JF, 1945. The blood picture of the southern armyworm (*Prodenia eridania*). *J. Agric. Res.*, 71: 1—40.

Zachary D, Hoffmann JA, 1973. The haemocytes of *Calliphora erythrocephala*. *Z. Zellforsch.*, 141(1): 55—73.

图版 Ⅰ 东亚飞蝗血细胞光学显微镜图像

Plate Ⅰ The optical microscope's image of the hemocyte of *Locusta migratoria manilensis*



1. **原血细胞**(prophemocytes PR) ×1 000; 2. **浆血细胞**(plasmatocytes, PL) ×1 000 Bnp: **蓝核浆血胞** blue-nucleus plasmatocytes, Rnp: **红核浆血胞** red-nucleus plasmatocytes Bng, **蓝核粒血胞** blue-nucleus granulocyte; 3. **浆血细胞**(plasmatocytes, PL) ×1 000; 4. **粒血细胞**(granulocytes, GR) ×1 000; 5. **红核粒血胞中的大颗粒粒血胞**(the large granular granulocytes of the red-nucleus granulocyte) ×1 000; 6. **蓝核粒细胞中的大颗粒粒血胞**(the large granular granulocytes of the blue-nucleus granulocyte) ×1 000; 7. **红核粒血胞中的稀少小颗粒粒血胞**(the exiguous small granular granulocytes of the red-nucleus granulocyte) ×1 000; 8. **红核粒血胞中的密集小颗粒粒血胞**(the dense small granular granulocytes of the red-nucleus granulocyte) ×1 000; 9. **蓝核粒血胞中的稀少小颗粒粒血胞**(the exiguous small granular granulocytes of the blue-nucleus granulocyte) ×1 000; 10. **蓝核粒血胞中的密集小颗粒粒血胞**(the dense small granular granulocytes of the blue-nucleus granulocyte) ×1 000; 11. **红核类绛血胞**(red-nucleus oenocytoid) ×1 000; 12. **蓝核类绛血胞**(blue-nucleus oenocytoid) ×1 000. Scale bar = 10 μm.