技术与方法

# 一种使用 Image J 重构昆虫感器支配神经的方法*

程振丰[1**] 付丙鲜[1***] 祝增荣[2] 洪 健[3]

（1. 浙江农林大学现代农学院，临安 311300；2. 浙江大学农业与生物技术学院昆虫科学研究所，杭州 310058；
3. 浙江大学农生环测试中心，杭州 310058）

**摘 要** 【**目的**】 Image J 是一款基于 Java 的完全开源软件，本文通过 Image J 重构昆虫感器支配神经，以期提供一种开源的三维重构方法。【**方法**】 Image J 重构包括调整系列图片亮度及对比度、图像校准、手动绘制填色图片、导入填色图片、通过图形工作站运行 3D Viewer。【**结果**】 基于 Image J，完成了灰飞虱触角盘状感器支配神经的三维重构，重构模型生动展示了盘状感器支配神经元组的数量及空间延展关系。在三维查看器中可旋转、放大三维模型观察精细结构，也可调整阈值观察特定结构，还可调整模型透明度及模型整体颜色。【**结论**】 Image J 具有广阔的升级空间和应用前景，有望为昆虫、其他节肢动物及生物组织的三维重构提供有力支持。

**关键词** Image J 软件；昆虫；感器；支配神经；三维重构

# A method of reconstructing innervating nerves of insect sensilla using Image J

CHENG Zhen-Feng[1**] FU Bing-Xian[1***] ZHU Zeng-Rong[2] HONG Jian[3]

(1. College of Advanced Agricultural Sciences, Zhejiang A&F University, Lin'an 311300, China; 2. Institute of Insect Sciences, College of Agricultural and Biotechnology, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China; 3. Analysis Center of Agrobiology and Environmental Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

**Abstract** **[Objectives]** Image J is a fully open-source Java-based software package. We used Image J to reconstruct the dendritic innervations of insect sensilla, thereby providing an open source, three-dimensional reconstruction method. **[Methods]** We followed the following steps; adjust the brightness and contrast of serial pictures, calibrate images, manually add color and import pictures, and finally, run the 3D viewer through a graphics workstation. **[Results]** We successfully completed 3D reconstruction of the innervating nerves of sensilla placodea on antennae of the small brown planthopper. The reconstructed model vividly demonstrates the number of neuronal groups of sensilla placodea and their spatial relationships with each other. The 3D viewer allowed images to be rotated and enlarged to observe fine structures, adjustment of the threshold value to observe the specific structures and adjustment of the transparency and overall color of the model. **[Conclusion]** Image J has great potential for application in this field and is expected to provide technical support for the 3D reconstruction of the morphology of insects, other arthropods and biological tissues.

**Key words** Image J; insect; sensilla; innervating nerves; three-dimensional reconstruction

*资助项目 Supported projects：学校科研发展基金项目（2019FR023）；国家自然科学基金青年科学基金项目（31600520）；中国博士后科学基金项目（2016M601970）；中国博士后科学基金项目（2013M531470）

**第一作者 First author，E-mail：zjchengzf@aliyun.com

***通讯作者 Corresponding author，E-mail：20180014@zafu.edu.cn

收稿日期 Received：2021-06-29；接受日期 Accepted：2021-11-17

三维图像比二维图像更容易理解，计算机三维（Three dimensional，3D）重构是指运用计算机图形学和数字图像处理技术，将所得二维图像在计算机中重构出物体的三维图像数据，并显示所研究对象三维结构的技术（Genoni *et al.*，2021）。计算机中的三维模型是物体多视角集合和几何信息的立体呈现，计算机构造三维模型的流程一般包括数据获取、三维重构、面重构三部分，三维重构是三维模型构造的核心计算过程（Phang *et al.*，2021）。

无论是通过各种高分辨荧光显微镜对生物组织做无损光学切片，还是通过电子显微镜对生物组织进行有损切片，获取连续数据均是进行三维重构的第一步。在结构生物学领域，基于低温透射电子断层扫描（Cryo transmission electron tomography，Cryo-TEM）的三维重构，已经分化发展为三种具有各自特点和适用范围的方法：电子断层三维重构技术（Electron tomography）适用于不具有全同性的超分子和亚细胞体系；单颗粒三维重构技术（Single particle analysis）用于解析具有全同性的蛋白质分子的三维结构；电子晶体学（Electron crystallography）主要处理二维晶体样品（张凯等，2010；Strunk，2012）。低温透射电子显微镜技术，具有能保持样品近生理状态、能重构出高分辨率三维结构的特点（程凌鹏，2018），但对设备、样品的要求较高，且更适合病毒颗粒等小分子样品。在更大尺度空间重构生物组织结构，最开始基于透射电镜连续切片技术（Serial section/transmission electron microscopy，SSTEM），但由于切片、染色、电子束损伤等种种原因，使得该工作非常耗时耗力且具高难度挑战性，目前基于此技术进行三维重构的研究报道非常罕见，应用于昆虫方面的研究更是稀少（Stefan *et al.*，2021）。在过去 20 年里，随着计算机运行计算能力的提高、复杂的显示选项和新仪器的发展，带有内置切片机的扫描电镜、聚焦离子束扫描电镜使得对样品进行连续切片和 3D 分析变得更加容易和快速，而基于聚焦离子束扫描电镜（Focused ion beam/scanning electron microscope，FIB-SEM）的断层扫描技术具有最广泛的应用前景（Kizilyaprak *et al.*，2014）。基于聚焦离子束的连续块面扫描电镜技术（Focused ion beam/serial block face scanning electron microscopy，FIB-SBFSEM）填补了使用高端荧光显微镜的 3D 成像和电子断层扫描提供的高分辨率之间的空白（Hughes *et al.*，2014），具有 Z 轴分辨率高、自动化程度高等特点，主要应用于细胞水平研究，在获得大尺度样品数据信息上显示出了巨大优越性（李晓敏，2020）。

上述各种技术获取的连续数据，通过计算机三维重构可得到样本的三维模型。用于计算机三维重构的软件有 Amira、Avizo、IMOD、Image J 等，其中 Amira 具有良好的三维重构效果，也是应用最多的软件，在生物医学领域可用于动脉粥样硬化组织的三维重构（Hekking *et al.*，2009）或计算机断层扫描（Computed tomography，CT）图像的三维重构（徐凯等，2011）。Avizo 功能与 Amira 类似，但与 Amira 专用于生命科学不同，Avizo 多在材料学中有所应用，如利用 Avizo 重构材料的内部孔洞（Long *et al.*，2017）。IMOD 是由 Kremer 等（1996）开发的用于电子显微镜或光学显微镜连续切片的三维重构软件，应用不及 Amira 和 Avizo 广泛，但 IMOD 属于非商用软件，具有使用简便的特性。Image J 是由美国国立卫生研究院（National institutes of health，NIH）在 1987 年开发的基于 Java 的完全开源的图像处理软件，能处理和保存诸如 TIFF、JPEG、GIF、BMP 等多种格式的图片，具有功能强大、操作简便的特点（Schindelin *et al.*，2012）。Image J 具有多种强大的功能，包括但不限于图片的分割、标注、旋转、裁剪及面积计算和数量统计等功能，也能用于三维图像的构造和处理（张培等，2012）。Image J 的优势还在于支持一系列插件的使用，从最初的 Image J1 到目前的 Fiji（在 Image J1 的基础上增加了许多功能和插件后的软件，文中提到的 Image J 均指 Fiji），经过几十年的发展，Image J 功能强大的插件数量已达数百种并形成了 Image J 生态，具有广阔的应用发展前景（Schroeder *et al.*，2020）。Image J 在生命科学中已有较多应用，特别是在医学方面，Image J 可用于人体烧伤皮肤伤口面积的测量（鲁晋，2017）、人体皮肤-微观结构的三维重构等（陈伟

等，2017）；Image J 也成功用于果蝇 *Drosophila* 幼虫中枢神经系统的三维重构（Cardona *et al.*，2010）。在材料学方面，Image J 可用于显微组织结构连续切片图像三维空间的处理、分割、分析研究（Asad *et al.*，2012）。

三维重构已广泛应用于昆虫学研究，如昆虫嗅觉神经的三维重构（付丙鲜和祝增荣，2008）；近来开展的相关研究有双斑蟋 *Gryllus bimaculatus* 触角叶神经纤维球的三维重构，呈现出神经纤维球的位置、大小关系（武健文，2012）；果蝇脑的三维重构（Cardona *et al.*，2010）；捻翅目昆虫单侧眼的三维重构及利用模型测量其体积（Stefan *et al.*，2021）；关于家蚊触角叶的三维重构（Ye *et al.*，2020）；褐飞虱 *Nilaparvata lugens* (Stål) 的内部三维结构已经得到完整重构（Wang *et al.*，2021），清晰地展示了褐飞虱内部各种器官的位置关系，并以一种新模式揭示了褐飞虱对水稻危害机制；另外褐飞虱腹板上的毛状感器被成功三维重构，重构的三维模型展现了刺形感器所具有的机械性刺激感受器的一般特征（Guo *et al.*，2019）。三维重构技术在灰飞虱 *Laodelphax striatellus* (Fallén) 的研究中亦有所涉及（Fu，2013）。昆虫学三维重构研究中的常用软件为 Amira，但其购买及使用费用较高。Image J 软件完全开源，且支持多种跨平台插件的使用（Schindelin *et al.*，2012），使得其在昆虫学研究中具有巨大潜力。因此，本文使用 Image J，以 FIB-SEM 即 FIB-SBFSEM 所获得的数据集为例，介绍了一种开源的三维重构计算方法，以期为昆虫、节肢动物及生物组织的三维重构提供有力支撑。

# 1　材料与方法

## 1.1　图形工作站

三维重构于图形工作站中进行，图形工作站 1 配置如下：CPU 为 AMD Ryzen 5 1600，显卡为 GTX 1060 6 GB，运行内存为 16 GB，主板为微星 B350M PRO-VD PLUS；图形工作站 2 配置如下：CPU 为 Intel Core i5 7200，显卡为 AMD Radeon R5 M530，运行内存为 4 GB，主板为 7th Generation Intel Processor Family I/O-9D58。本研究中图片的预处理和选区操作在图形工作站 1 中运行，三维重构的过程在图形工作站 2 中运行。

## 1.2　Image J 软件

Image J 即 Fiji。本研究所使用 Image J 是 Window10 操作系统的 64 位版，于官网下载（https://imagej.net/Fiji/Downloads）。此外研究中用到的 Image J 插件 Image Stabilizer 于官网下载（http://www.cs.cmu.edu/~kangli/code/Image_Stabilizer.html）。

## 1.3　处理图像的获取

本研究所用系列图片由双束扫描电镜（Fei Helios Nanolab 600i）进行收集。将整体染色的灰飞虱触角树脂包埋块置于倾斜样品台上，适量涂抹银胶，喷碳处理后置入双束扫描电镜中进行连续块面扫描，获得 336 张扫描电镜图像，图像主要内容为灰飞虱触角盘状感器的支配神经元及其附属细胞。

## 1.4　Image J 软件的下载与安装

所用 Image J 软件为官方网站（https://imagej.net/Fiji/Downloads）下载的 Windows 版 64 位，将名为“fiji-win64.zip”的压缩包解压缩即得到 Image J 软件。打开解压后的文件夹找到.exe 的 Image J 程序，双击即可使用软件。

# 2　结果与分析

## 2.1　Image J 界面及功能简介

双击 Image J 打开软件后，软件界面如图 1 所示，Image J 菜单下方是各种快捷工具，主要是各种选区工具。选区工具有“Rectangle”、“Oval selections”、“Polygon selections”、“Freehand selections”、“Straight line”、“Angle tool”、“Point Tool”、“Wand Tool”等。单击鼠标左键选中并使用这些工具，双击鼠标左键可对选区工具做一些设置，如左键 Oval selections 可更改选区工具笔刷的像素大小，左键 Wand Tool 工具可调整容

差大小等，快捷工具的图标右下角有三角形小红标则代表快捷工具有子菜单，选中某个选区工具后单击鼠标右键可更改选区工具为子菜单工具。

Rectangle 是矩形选区工具，用来选择矩形选区，其子菜单下还有“Rounded Rectangle”和“Rotated Rectangle”选区工具，Rounded Rectangle 用于选择四角圆滑的矩形选区，Rotated Rectangle 用于选择菱形选区。Oval selections 用于形成圆形或椭圆形选区，子菜单下有“Elliptical selections”和“Selection Brush Tool”，Elliptical selections 可创造固定比例但可任意调节大小的椭圆形选区，Selection Brush Tool 类似于笔刷，可创造任意形状的选区，本研究主要使用工具为 Selection Brush Tool。Polygon selections 以多根直线相连的方式创造选区，Freehand selections 以手动画线的方式创造任意形状的选区。Straight line 即创造一根直线，用于辅助创造选区，Straight line 子菜单下有“Segmented Line”、“Freehand Line”和“Arrow Tool”，Segmented Line 的选区功能类似 Polygon selections，但 Segmented Line 不会自动形成闭合选区，Arrow Tool 即创造一个带箭头的直线，用于标示特定结构，和 Straight line 一样不具有形成闭合选区的功能。Angle tool 即创造一个可调整大小的角，无法形成闭合选区。Point Tool 及其子菜单下的 Multi-point Tool 能创造一个带数字的点选区，起到辅助计数的作用。Wand Tool 即根据图片之间的容差大小快速区分颜色差距较大的部分而快速创造选区。Image J 中对选区的一些快捷操作：Edit>Selection>Select all（快捷键 ctrl+A）选中整张图片为选区，Edit>Selection>Select none（快捷键 ctrl+shift+A）可清除图片中的所有选区。

综合以上选区工具，鉴于 Selection Brush Tool 能选取任意形状的选取且易于修改，选用 Selection Brush Tool 作为本研究的主要选区工具。

**图 1 Image J 界面**
**Fig. 1 The interface of Image J**

## 2.2 导入图片

在 Image J 界面通过 File>Open（快捷键 ctrl+O）可导入 TIFF、PNG、GIF、JPEG、BMP 等格式的文件，也可将一张或多张图片直接拖曳到 Image J 界面打开。File>Import>Image Sequence 可导入一个文件夹中的全部图片并将文件夹中的图片按顺序组成 Stack（Stack 指图片堆栈，能在 Image J 中显示和处理），File>Import> AVI 可导入 AVI 格式的视频文件。

File>Save（快捷键 ctrl+S）将图片保存为 TIFF 格式，该步骤等同于 File>Save AS>Tiff。File>Save As>AVI 可将 Stack 保存成 AVI 格式的视频。

## 2.3 图片预处理

**2.3.1 调整图片衬度** 双击 Image J 打开软件，首先导入图片（原图片为 TIFF 格式）。通过 Image>Adjust>Brightness/Contrast（Brightness/Contrast 对话框如图 2：A）可调整单张图片的亮度和对比度实现，Brightness/Contrast 的调整通过 Minimum/Maximum 值的变化来实现。本处理中通过运行程序将 Brightness/Contrast 界面中的 Minimum 值调整为 45，将 Maximum 值调整为 245，实现对导入图片亮度、对比度的批量调整，从而达到图片衬度的批处理效果。程序的运行操作如下：Process>Batch>Macro 打开批处理对话框（图 2：B），Input 处选择“导入文件夹”，Output 处选择“导出文件夹”，Output format 选择 TIFF，Add macro code 处选择[Select from list]，批处理界面最下方的空白处输入宏代码“run ("Brightness/Contrast..."); setMinAndMax(45, 255); run("Apply LUT"); run("Close");”，点击 Process 即实现图片

的批量衬度调整。相关宏代码可于 Plugins>Macros>Record 中进行相关操作获取。

**2.3.2　图片校准**　此步骤需要用到 Image J 的 Image Stabilizer 插件，该插件可于官网自行下载（http://www.cs.cmu.edu/~kangli/code/Image_Stabilizer.html），将下载到的两个 Image_Stabilizer.class 和 Image_Stabilizer_Log_Applier.class 文件放置在 Image J 安装目录的 Plugins 文件夹中，然后重新打开 Image J 软件，即可在 Plugins 菜单下找到 Image Stabilizer。使用 Image J Stabilizer 需要先在 File>Import>Image Sequence 导入需要校准的图片序列，导入序列后在 Sequence Option 处勾选“Use virtual stack”（图 2：C，勾选是由于图片序列较大，图片序列小可不勾选），此时打开 Image Stabilizer 会提示选择输出文件夹，点击“OK”并选择文件夹，弹出 Image Stabilizer 对话框（图 2：D），点击“OK”，等待校准后将图片导出即可。

## 2.4　选区操作

打开经过预处理的图片，通过 Analyze>Tools>ROI Manager 打开 ROI Manager 窗口（图

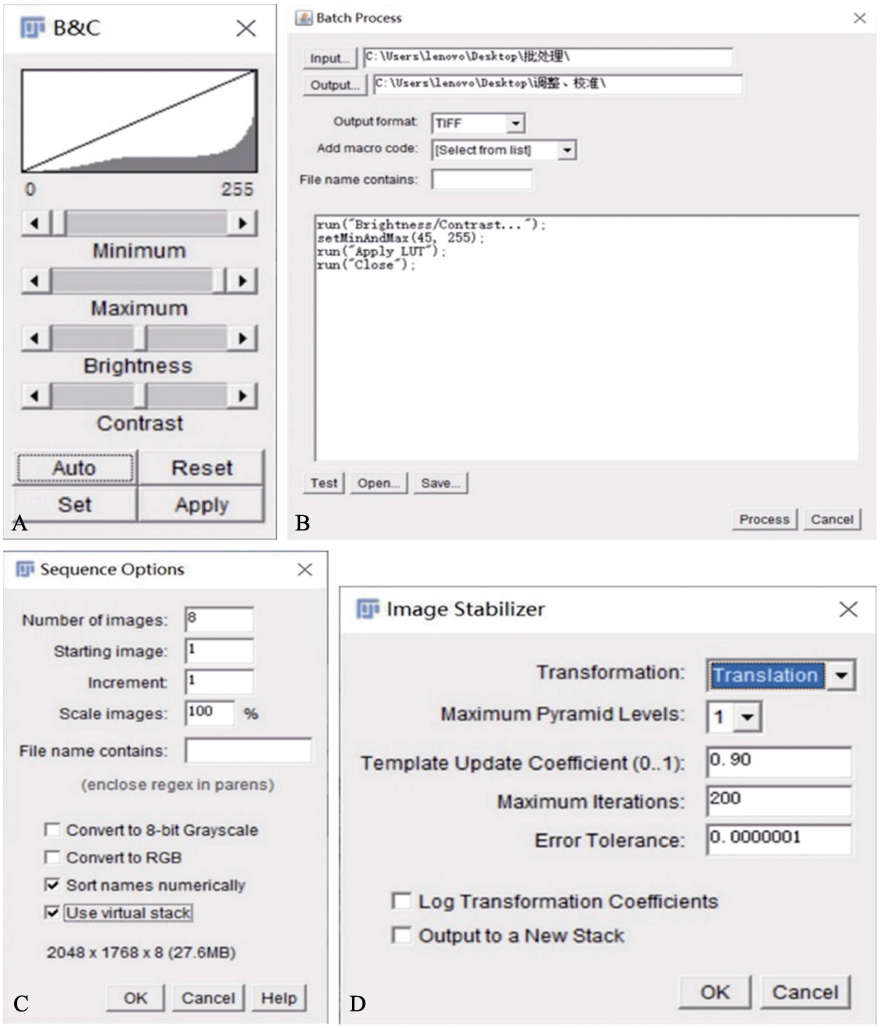


**图 2　图片预处理**

**Fig. 2　Image preprocessing**

A.“亮度/对比度”对话框；B. Image J 的批处理对话框；

C. 导入图片序列时选择“使用虚拟堆栈”；D.“图片校准器”对话框。

A. The dialogue box of brightness/contrast; B. The dialogue box of batch process of Image J;

C. Choosing “Use virtual stack” when import sequence; D. The dialogue box of “Image Stabilizer”.

3：A）。选择“Wand Brush Tool”工具选择目标选区（单个选区如图 3：B），可通过该工具精确调整选区边界。点击 ROI Manager 处“Add it”即可添加选区，重复操作可选取并添加多个选区。ROI Manager 窗口内勾选“Show All”可显示所有选区（图 3：C），勾选“Labels”会按添加顺序显示各个选区的标签。鼠标左键点击 ROI Manager 内的单个选区，ROI Manager 处点击 Rename 可对选区进行重新命名，点击 Delete 可删除选区，对单个选区进行重新操作后点击 Upgrade 可显示更改后的选区，点击 Properties 弹出对话框（图 3：D），在对话框的 Fill color 处可通过输入某种颜色的英文名称或十六进制颜色码改变选区内的颜色。鼠标选择单个选区后按住 Ctrl 再点击其他选区即可选择多个选中选区，通过 Properties 可更改所有选中选区的颜色，More> Save 可保存选区。将所有目标选区填上需要颜色后，选择 Edit>Clear Outside，再点击 ROI Manager 处的 Flatten，得到填色图片（图 3：E）并保存。选中多个选区后可通过 ROI Manager 窗口的 More> Combine 将所有选区合并，More>Open 可以打开之前保存的选区，继续进一步操作。

重复以上选区操作，将 ROI 区域都选出来，

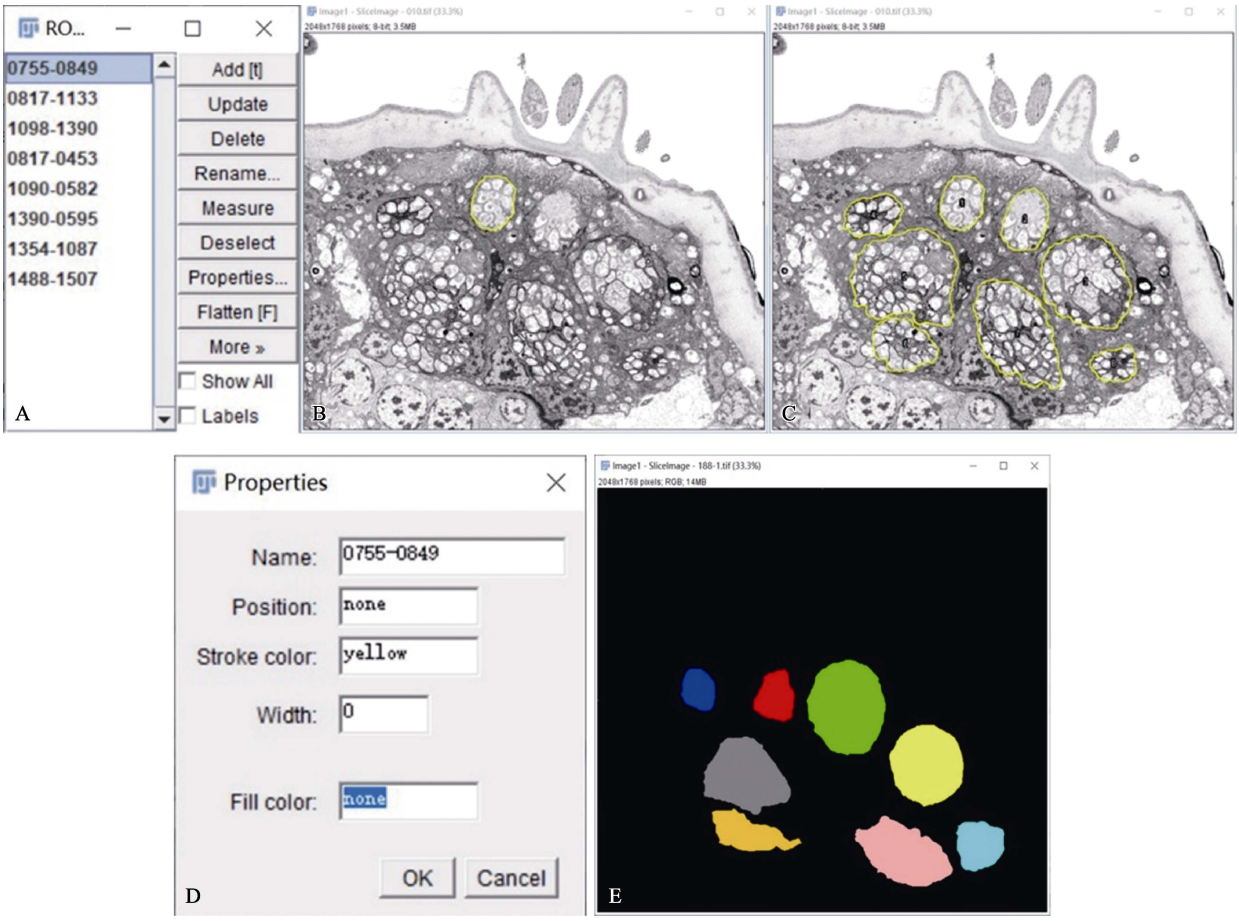


**图 3　选区操作**

**Fig. 3　The process of choosing ROI (Region of interest)**

A. 选区管理器窗口；B. 一个单独的选区；C. “选区管理器”中勾选“显示全部选区”和“标签”显示的所有选区；D. 选区管理器中“属性”对话框；E. 支配神经元组的填色图片。

A. The window of ROI Manager; B. A single ROI; C. The all ROIs after choosing “Show All” and “Labels” in ROI Manager; D. The dialogue box of Properties in ROI Manager; E. The color-filled picture of groups of dendritic innervations of neurons.

绘制出 336 张电镜图的填色图片即获得用于三维重构的图片序列。

### 2.5　三维重构

得到所有特定选区的填色图片后，将所有图片按 File>Import>Image Sequence 导入，打开 Image>Properties，调节弹出窗口处的“Voxel depth”值（图 4：B），即可调节 3D Viewer 中的 Z 轴距离，具体“Voxel depth”值大小根据切片的实际间隔距离而定，本研究的“Voxel depth”值为“5.0000”。选择 Plugins>3D Viewer（图 4：A）查看三维结构。在 3D Viewer 窗口选择 View>Record 360 deg rotation 后会弹出一个“Movie”窗口，点击播放按钮可以观察重建模型旋转 360 度的 Movie（图 4：C），通过 File>Save As>AVI 可将该 Movie 以 AVI 视频格式保存。

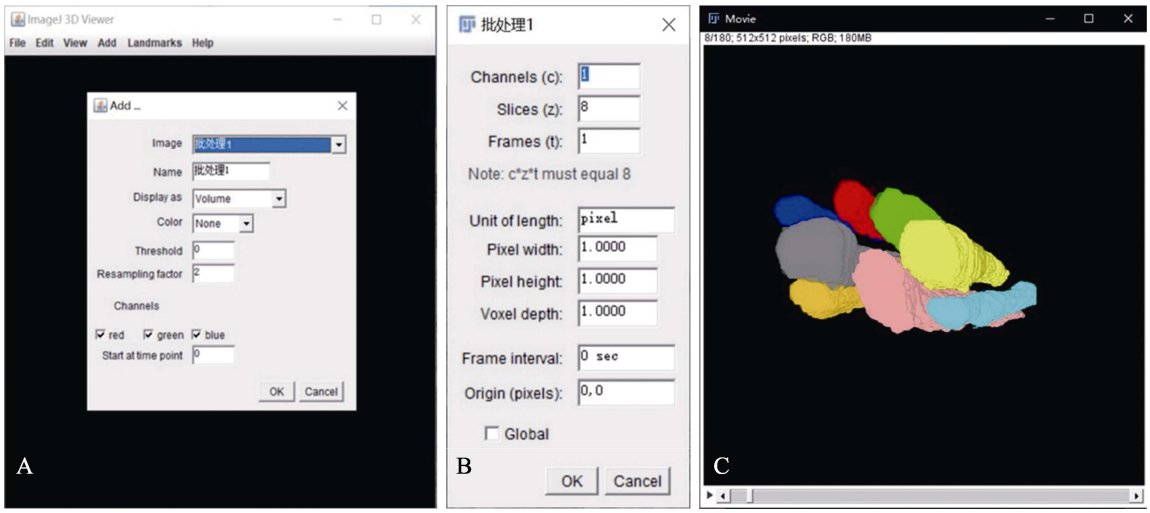


**图 4　三维重构**

**Fig. 4　Three-dimensional reconstruction**

A. 打开三维查看器后出现的对话框；B. 选择“图片>属性”后打开的对话框；C.“影像”窗口展示了多组支配神经的三维重构模型。

A. The dialogue box that appears after opening the 3D Viewer; B. The dialogue box appears after choosing 'Image>Properties'; C. The window of Movie showing the 3D model of several groups of innervating nerves.

## 3　讨论

近年来随着显微镜技术的提升，图像数据的数量和复杂性已达到必须利用计算机才能提取其中信息的地步，其中依靠软件进行三维重构是生物学家较为常用的一种方案（Schindelin *et al.*，2012）。FIB-SEM 技术所使用的表面树脂包埋组织具有浮雕状拓扑结构，故样品中的感兴趣区域（Region of interest，ROI）可被 FIB-SEM 技术成像并用于三维分析（Kizilyaprak *et al.*，2014），由此寻找便捷的三维重构技术成为必要。

三维重构的主流软件常为澳大利亚 Visage Imaging 公司出品的 Amira、Avizo 软件，软件本身不开源且较昂贵，而 Image J 是完全开源的免费软件，另外 Image J 具有对非专业人员友好、操作简单且大部分操作不占用太大运行内存的特性，是一个值得推荐的图像处理软件。Image J 在三维重构领域的应用已经有不少案例，如用于捻翅目昆虫单侧眼三维重构研究中的图片校准、ROI 结构选择和数据的测量计算均利用 Image J 完成（Stefan *et al.*，2021）；多种生物神经回路的三维重构也都利用了 Image J：果蝇中枢神经系统的三维重构、猫视觉皮层中的丘脑-皮质连接的三维重构以及小鼠视觉皮层的三维重构（Cardona *et al.*，2012），这些研究表明 Image J 软件应用于昆虫神经学具有可行性。因此，本文采用 Image J 对灰飞虱感器支配神经进行三维重构，展示了 Image J 的三维重构功能在多种情况

下都具有较好的便捷性。Image J 三维重构通过其中的 3D Viewer 插件实现，所有涉及的操作步骤简单易实现，能很快完成三维重构，且对硬件的要求不高。在 3D Viewer 中可以旋转、放大三维模型从而观察结构，也可调整阈值观察特定结构，还可调整模型透明度及模型整体颜色。3D Viewer 可通过记录模型 360 度旋转的一系列图片的方式，以 AVI 视频格式导出而保存三维模型，导出时 Image J 自带压缩功能，导出的 AVI 视频占用内存较小，这些都使得 3D Viewer 具有超高的实用性。

Image J 的便捷性不局限在三维重构，它是一个具有丰富功能的图像处理软件。Image J 的应用主要集中在医学图像研究、神经生物学、细胞生物学等方面，特别是在神经回路重构方面已有诸多报道（Cardona *et al.*，2012）。本研究将 Image J 引入到昆虫神经研究中，在研究昆虫微观结构和电镜图片的处理方面发挥了良好的作用。Image J 的开源性使其拥有优质的应用插件（Schindelin *et al.*，2012），具有广阔的升级空间和应用前景，加强对 Image J 的学习，亦能在提高图像处理能力的同时扩展自身的知识储备。通过 Image J 可较为便捷地实现三维重构，但目前有关 Image J 的系统学习资料仍十分缺乏，且其普及程度也较低，因此有关 Image J 在三维重构中的应用尚需深入研究。另外，通过 Image J 重构的三维模型在精细度方面与传统三维重构软件 Amira、Avizo 相比仍有不足。但在昆虫学研究中，完全可以引入 Image J，以实现对昆虫组织数据集的三维重构，Image J 有望在昆虫器官形态功能（Chitsaz *et al.*，2020）、昆虫神经网络结构（Xie *et al.*，2019）、昆虫感受器分布及功能等研究中发挥重要作用。

## 参考文献 (References)


Asad U, Liu GQ, Wang H, Dil FK, Matiullah K, 2012. A framework for image processing, analysis and visualization of materials microstructures using Image J package. *Chinese Journal of Stereology and Image Analysis*, 17(4): 301–312. [Asad Ullah, 刘国权, 王浩, Dil Faraz Khan, Matiullah Khan, 2012. 应用 Image J 程序包进行材料显微组织图像处理、分析和可视化的一种框架(英文). 中国体视学与图像分析, 17(4): 301–312.]

Cardona A, Saalfeld S, Preibisch S, Schmid B, Cheng AC, Pulokas J, Tomancak P, Hartenstein V, 2010. An integrated micro-and macroarchitectural analysis of the *Drosophila* brain by computer-assisted serial section electron microscopy. *PLoS Biology*, 8(10): e1000502.

Cardona A, Saalfeld S, Schindelin J, Arganda-Carreras I, Preibisch S, Longair M, Tomancak P, Hartenstein V, Douglas JR, 2012. TrakEM2 software for neural circuit reconstruction. *PLoS ONE*, 7(6): e38011.

Cheng LP, 2018. 3D reconstruction of high-resolution cryo-electron microscope for biological macromolecules. *Experimental Technology and Management*, 35(6): 23–28, 32. [程凌鹏, 2018. 生物大分子高分辨率冷冻电镜三维重构技术. 实验技术与管理, 35(6): 23–28, 32.]

Cheng W, Cheng JJ, Ma JH, Lin L, Xin Y, Cai G, Zhang Y, Wang C, 2017. A preliminary study on three-dimensional visualization of human skin microstructure. *Chinese Journal of Aesthetic and Plastic Surgery*, 28(1): 5–7, 11. [陈伟, 陈家骏, 马建华, 林力, 辛宇, 柴岗, 张艳, 王琴, 2017. 人皮肤显微结构三维可视化方法的初步研究与建立. 中国美容整形外科杂志, 28(1): 5–7, 11.]

Chitsaz N, Marian R, Chahl J, 2020. Experimental method for 3D reconstruction of Odonata wings (methodology and dataset). *PLoS ONE*, 15(4): e0232193.

Fu BX, 2013. Ultrastructure and three dimensional reconstruction attempts of olfactory sensilla on antennae of adult small brown planthopper, *Laodelphax striatellus* (Fallén) (Hemiptera: Delphacidae). Entomological Society of America Annual Meeting. Austin Texas. 1–7.

Fu BX, Zhu ZR, 2008. Computerized three dimensional reconstruction of the insect olfactory nerves. *Chinese Bulletin of Entomology*, 45(4): 668–673. [付丙鲜, 祝增荣, 2008. 昆虫嗅觉神经的计算机三维重建. 应用昆虫学报, 45(4): 668–673.]

Genoni R, Pizzocri D, Antonello F, Barani T, Luzzi L, Pavlov TR, Giglio JJ, Cappia F, 2021. Three-dimensional reconstruction from experimental two-dimensional images: Application to irradiated metallic fuel. *Journal of Nuclear Materials*, 548: 1–12.

Guo JS, Wang XQ, Li DT, Song DD, Zhang CX, 2019. Three-dimensional architecture of a mechanoreceptor in the brown planthopper, *Nilaparvata lugens*, revealed by FIB-SEM. *Cell and Tissue Research*, 379(19): 487–495.

Hekking LHP, Lebbink MN, Winter DD, Schneijdenberg CTWM, Brand CM, Verkleij AJ, Post JA, 2009. Focused ion beam-scanning electron microscope: Exploring large volumes of atherosclerotic tissue. *J. Microsc.*, 235(3): 336–347.

Hughes L, Hawes C, Monteith S, Vaughan S, 2014. Serial block face

scanning electron microscopy-the future of cell ultrastructure imaging. *Protoplasma*, 251(2): 395–401.

Kizilyaprak C, Bittermann AG, Daraspe J, Humbel B, 2014. FIB-SEM Tomography in Biology. *Methods in Molecular Biology*, 1117: 541–558.

Kremer JR, Mastronarde DN, Mcintosh JR, 1996. Computer visualization of three-dimensional image data using IMOD. *J. Btruct. Biol.*, 116(1): 71–76.

Li XM, 2020. The methodology study of FIB-SEM dual beam system in 3D reconstruction of biology sample at normal temperature. *Journal of Chinese Electron Microscopy Society*, 208(2): 102–111. [李晓敏，2020. 聚焦离子束技术在常温生物样品三维重构方面的方法探讨. 电子显微学报, 208(2): 102–111.]

Long W, Xiao B, Bo Z, Liang P, 2017. Research on the internal pores in alkali-activated slag cementing material via X-CT three-dimensional imaging microscopy. Mathematical Sciences and Its Application. Shenzhen. 1–6.

Lu J, 2017. Assessment study of computer-aided three-dimensional wound evaluation system. Master dissertation. Shanghai: The Second Military Medical University. [鲁晋, 2017. 三维伤口扫描系统在伤口评估中的应用. 硕士学位论文. 上海：第二军医大学.]

Phang J, Lim KH, Chiong R, 2021. A review of three dimensional reconstruction techniques. *Multimedia Tools and Applications*, 80(1): 17879–17891.

Schindelin J, Arganda-Carreras I, Frise E, Kaynig V, Longair M, Pietzsch T, Preibisch S, Rueden C, Saalfeld S, Schmid B, Tinevez J, White D J, Hartenstein V, Eliceiri K, Tomancak1 P, Cardona A, 2012. Fiji: An open-source platform for biological-image analysis. *Nature Methods*, 9(7): 676–682.

Schroeder BS, Dobson Ellen TAD, Curtis TR, Pavel T, Florian J, Kevin WE, 2020. The Image J ecosystem: Open-source software for image visualization, processing, and analysis. *Protein Science: A Publication of the Protein Society*, 30(1): 234–249.

Stefan F, Michael L, Carsten HGM, Lan AM, Hans P, 2021. Ultrastructural 3D reconstruction of the smallest known insect photoreceptors: The stemmata of a first instar larva of *Strepsiptera* (Hexapoda). *Arthropod Structure & Development*, 62: 1–15.

Strunk KM, 2012. 3-Dimensional electron microscopy of biological specimens. Master dissertation. Pittsburgh: Carnegie Mellon University.

Wang XQ, Guo JS, Li DT, Zhang CX, 2021. Three-dimensional reconstruction of a whole insect reveals its phloem sap-sucking mechanism at nano-resolution. *eLife Sciences*, 10: e62875.

Wu JW, 2012. The study on the antennal nerves pathway and the 3D reconstruction of antennal lobe glomeruli in *Gryllus bimaculatus*. Master dissertation. Shenyang: Shenyang Normal University. [武健文, 2012. 双斑蟋触角神经投射通路及触角叶神经纤维球三维重建研究. 硕士学位论文. 沈阳: 沈阳师范大学.]

Xie GY, Ma BW, Liu XL, Chang YJ, Chen WB, Li GP, Feng HQ, Zhang YJ, Berg BG, Zhao XC, 2019. Brain organization of *Apolygus lucorum*: A Hemipteran species with prominent antennal lobes. *Frontiers in Neuroanatomy*, 13: 70.

Xu K, Chen C, Huang SD, Zhang Y, Yi QS, 2011. Design of three-dimensional visualization based on the posterior lumbar pedicle screw fixation. *Medical Journal of Chinese Peoples Liberation Army*, 36(9): 935–938. [徐凯, 陈春, 黄山东, 章莹, 尹庆水 2011. 腰椎椎弓根螺钉内固定术三维可视化设计. 解放军医学杂志, 36(9): 935–938.]

Ye Z, Liu F, Liu N, 2020. Three-dimensional structure of the antennal lobe in the Southern house mosquito *Culex quinquefasciatus*. *Insect Science*, 28(1): 93–102.

Zhang K, Zhang Y, Hu ZJ, Ji G, Sun F, 2010. Development and frontiers of electron microscopy three-dimensional reconstruction technology. *Acta Biophysica Sinica*, 26(7): 533–559. [张凯, 张艳, 胡仲军, 季刚, 孙飞, 2010. 电子显微三维重构技术发展与前沿. 生物物理学报, 26(7): 533–559.]

Zhang P, Li MJ, Sun SF, Huang ZY, 2012. Application of 3D CT image processing based on Image J. *Computer Development & Applications*, 25(10): 9–12. [张培, 李梦洁, 孙水发, 黄志勇, 2012. Image J 软件在三维立体 CT 图像处理中的应用. 电脑开发与应用, 25(10): 9–12.]