

## 昆虫幼虫的扫描电镜观察法

清洗幼虫：幼虫虫体表面经吸耳球轻拂后，用 0.1 mol/L 的磷酸缓冲液（pH=7.2）洗涤幼虫 3 次，在超声波清洗仪中超声处理 60 s。

固定：将幼虫浸于 3 %戊二醛固定液（20 ml3%的戊二醛、0.018 gNaCl、12 $\mu$ l 吐温-80）中，于解剖镜下将幼虫侧板各轻刺 3 个小孔，转移至盛有固定液的离心管中，将离心管置于微波炉中高火加热 8 s，离心管热而不烫。重新换入固定液并加热，共计 3 次。

冲洗：用磷酸缓冲液洗涤幼虫 5 遍，每次 8 min。

后固定：用 1%锇酸溶液固定 1.5 h，用磷酸缓冲液冲洗幼虫 10 次。

脱水：依次经 30%、50%、70%、80%、90%、95%、100%乙醇梯度脱水。每次 8 min。

冻干：用叔丁醇置换两次，冻干机冷冻干燥。

粘台、喷金、上机观察。

参考文献：

杨瑞, 张玲娜, 范敬伟, 王建立, 房克凤, 于同泉, 王绍辉, 杜艳丽. 昆虫材料扫描电镜样品制备技术. 北京农学院学报. 2014. 29(4): 33-35