

杜连祥等 编著

工业微生物学实验技术

天津科学技术出版社



工业微生物学实验技术

杜连祥等 编著

天津科学技术出版社

津新登字 (90)003号

责任编辑: 张虹霞

工业微生物学实验技术

杜连祥等 编著

*

天津科学技术出版社出版

(天津市张自忠路189号)

天津新华印刷二厂印刷

新华书店天津发行所发行

*

开本787×1092毫米 1/16 印张18.75 字数629 000

1992年10月第1版

1992年10月第1次印刷

印数: (精) 1—1 000

(平) 1—6 000

ISBN 7-5308-1235-1/Q·6 定价: (精) 13.80元

(平) 9.80元

前 言

微生物学是生物科学中实践性最强的学科之一。微生物学实验技术是指研究各类微生物的形态、结构和生命活动的一般方法以及应用于科学研究、生产实践的具体操作技术。纵观微生物学的发展史，显微镜、消毒与灭菌、纯种的分离和培养等一系列基本实验技术的创立和应用，为微生物学的发展奠定了坚实的基础，而各种现代化实验手段的广泛应用，又进一步促进了微生物学的发展。当今，微生物学已成为生物科学中发展最快的学科之一，它的实验方法和技术也正在现代生物学的各个领域内迅速扩展。所以说掌握微生物学实验技术对于从事微生物的生产、科研与教学的工作者是非常重要的。本书就是为满足这一需要而编写的。

全书共十三章，设立 147 个实验。较系统地介绍了各种光学显微镜的原理和使用方法，各种微生物细胞形态、结构与内含物的染色观察方法，培养基的制备方法，各种微生物的接种、分离、纯化、培养方法，微生物的生理生化反应和分类方法以及微生物的育种方法等微生物的基本技术和研究微生物的基本方法，同时，还着重介绍了近代微生物学研究中的实验新技术，如显微操作单细胞分离、原生质体细胞融合技术、DNA 中 GC 含量测定、数值分类方法等。

本书第十、十一章微生物诱变育种和基因重组育种两章内容，是根据工业微生物育种实验和研究的实际需要，以微生物遗传学理论为指导编写的，也就是将微生物遗传学实验内容有机地与微生物育种结合起来，有些纯属微生物遗传学实验内容未编入本书。此两章重点介绍了微生物诱变育种和基因重组育种，如细菌的接合、转化与转导，酵母菌的杂交，霉菌的准性生殖及微生物原生质体细胞融合等。其目的在于掌握育种的方法和研究手段。

本书取材广泛，内容丰富，涉及工业微生物生产、科研和教学中所遇到的微生物学实验的基本技术和方法。为了使读者能系统地了解

和掌握这些知识和方法，在编写时，除了详细地介绍各章所选典型实验的操作方法外，更注重介绍与本实验有关的基础理论知识和发展动向，从而获得实验技能和科学研究能力的基本训练。本书所列举的实验项目，大部分是作者在长期微生物学实验教学和科学研究中应用过的，其方法较为准确。

本书第一、五、十二章由王昌禄编写，第二、七章由鲁梅芳编写，第三、四、六章由路福平编写，第十、十一章由杜连祥编写，第十三章由刘淑云编写，第九章由鲁梅芳、王昌禄共同编写。

本书可做为高等院校生物系各专业及发酵、食品等专业微生物学实验课的教材；可做为食品、发酵、酿造、制药、环保、饲料等行业从事工业微生物科研、生产的工程技术人员的参考书和工具书。

在本书编写中，限于水平和时间仓促，错误和不足之处在所难免，希读者批评指正。

编 者

1992.3

目 录

第一章 显微技术	(1)
第一节 概述	(1)
一、普通光学显微镜的光学系统	(1)
二、普通光学显微镜的机械系统	(4)
第二节 普通光学显微镜的使用	(5)
实验 1.1 用低倍、高倍物镜观察酿酒酵母的水浸片	(5)
实验 1.2 用油浸物镜观察枯草芽孢杆菌的简单染色片	(6)
第三节 暗视野显微镜的使用	(6)
实验 1.3 细菌运动性的观察	(7)
第四节 相差显微镜的使用	(8)
实验 1.4 酿酒酵母细胞内部结构的观察	(8)
第五节 荧光显微镜的使用	(9)
实验 1.5 抗酸细菌的观察	(10)
第六节 其它光学显微镜	(10)
第七节 显微测微技术	(10)
实验 1.6 酵母菌细胞大小及体积的测定	(11)
实验 1.7 酵母菌细胞计数和出芽率的测定	(12)
实验 1.8 种曲孢子数的测定	(14)
第二章 微生物的染色技术	(16)
第一节 染色的基本原理及染料种类与选择	(16)
一、染色的基本原理	(16)
二、染料种类和常用染料	(16)
三、常用染料的选择	(18)
第二节 固定制片与染色	(18)
一、制片与染色的一般操作程序	(18)
二、染色方法	(18)
三、染色操作技术	(19)
实验 2.1 细菌的单染色与形态观察	(19)
实验 2.2 革兰氏染色法	(20)
实验 2.3 微生物的荧光染色	(20)
实验 2.4 细菌的芽孢染色与观察	(21)
实验 2.5 细菌细胞壁的染色观察	(22)

实验 2.6 细菌荚膜染色法	(22)
实验 2.7 细菌的鞭毛染色观察	(23)
实验 2.8 细胞核的染色	(24)
实验 2.9 抗酸性细菌染色法	(24)
实验 2.10 微生物细胞中异染粒的染色观察	(25)
实验 2.11 啤酒酵母细胞内脂肪粒的染色观察	(25)
实验 2.12 啤酒酵母细胞中肝糖粒的染色观察	(26)
第三节 活体观察与活体染色观察	(26)
一、活体观察法	(26)
二、活体染色	(26)
三、活体染色的机制	(27)
四、活体染色剂的分类	(27)
五、几种重要的活体染色剂的使用方法	(27)
第四节 活体染色的操作技术	(28)
一、染色方法	(28)
二、活体染色操作技术	(28)
实验 2.13 酵母菌的活体染色观察及死亡率的测定	(28)
实验 2.14 霉菌的活体染色观察	(29)
实验 2.15 毛霉菌的琼脂槽培养法染色观察	(29)
实验 2.16 酵母菌液泡系的活体染色观察	(30)
实验 2.17 酵母菌线粒体的活体染色观察	(30)
第三章 灭菌与除菌	(32)
第一节 灭菌与除菌的概念	(32)
第二节 物理因素除菌的种类及方法	(32)
一、加热灭菌	(32)
二、过滤除菌	(35)
三、紫外辐射	(37)
第三节 化学药物的消毒与灭菌	(38)
一、优良消毒剂和防腐剂的特点	(38)
二、化学药物的灭菌原理	(38)
三、化学灭菌剂的种类	(38)
四、常用消毒剂的使用和灭菌原理	(38)
第四节 各类培养基常采用的灭菌方法及注意事项	(41)
一、各类培养基的灭菌法	(41)
二、培养基灭菌的注意事项	(41)
第五节 无菌室和曲室的消毒与灭菌	(42)
一、福尔马林加热熏蒸	(42)
二、氧化熏蒸	(42)

三、硫熏蒸	(42)
第四章 培养基的配制	(43)
第一节 培养基配制原则	(43)
第二节 培养基的组成和作用	(43)
第三节 培养基的种类及应用	(45)
第四节 培养基的制备过程	(47)
一、器皿的准备	(47)
二、培养基的制备	(48)
实验 4.1 麦芽汁培养基的制备	(49)
实验 4.2 肉汤培养基的配制	(49)
实验 4.3 高氏 I 号培养基的配制	(50)
实验 4.4 伊红-美蓝培养基的配制	(50)
第五章 微生物的接种与培养技术	(51)
第一节 微生物的接种技术	(51)
一、常用的微生物接种、分离工具及制备	(51)
二、无菌操作	(51)
三、微生物的接种方法	(52)
四、发酵生产中常用的扩培、接种方法	(54)
实验 5.1 微生物的各种接种方法	(56)
第二节 微生物的培养技术	(58)
一、微生物培养的一般问题	(58)
二、好气性微生物培养法	(59)
三、厌气性微生物培养法	(61)
实验 5.2 丙酮丁醇梭状芽孢杆菌的培养	(64)
I、用厌氧袋法培养丙酮丁醇梭状芽孢杆菌	(64)
II、丙酮丁醇梭状芽孢杆菌的简易厌氧培养法	(66)
第三节 连续培养	(66)
一、连续培养的基本理论	(66)
二、连续培养的装置与方法	(66)
第四节 几种常用的特殊培养方法	(68)
一、同步培养	(69)
实验 5.3 经冷冻处理的霉菌分生孢子同步生长情况的观察	(69)
二、透析培养	(69)
实验 5.4 乳酸杆菌与酵母菌的透析培养	(72)
三、微生物细胞及其某些代谢产物的收集	(72)
四、微生物细胞的处理方法	(75)

第六章 微生物的形态与观察	(79)
第一节 细菌个体形态与观察	(79)
一、细菌的个体形态、排列与大小	(79)
二、细菌的细胞结构	(79)
三、细菌形态的观察	(79)
第二节 放线菌的形态与观察	(80)
一、放线菌的形态与结构	(80)
二、放线菌的繁殖	(81)
三、放线菌的形态观察	(81)
实验 6.1 插片法、压印法观察放线菌的特征	(81)
实验 6.2 电镜法观察放线菌的孢囊孢子及鞭毛的形态	(82)
第三节 酵母菌的形态与观察	(83)
一、酵母菌的形态	(83)
二、酵母菌的细胞结构	(83)
三、酵母菌的繁殖方式	(83)
四、酵母菌形态观察的内容	(84)
实验 6.3 酵母菌子囊孢子的形成与观察	(84)
第四节 霉菌的形态与观察	(85)
一、霉菌的形态与结构	(85)
二、霉菌的繁殖	(85)
三、几种常用霉菌的形态	(86)
四、霉菌的形态观察	(88)
实验 6.4 毛霉、根霉、梨头霉的形态观察	(88)
实验 6.5 根霉(或梨头霉)接合孢子形成的观察	(89)
实验 6.6 曲霉、青霉的形态观察	(89)
第五节 四大类微生物菌落形态与观察	(90)
实验 6.7 四大类微生物菌落形态的比较和识别	(91)
第七章 微生物的纯种分离	(93)
第一节 纯种的分离、筛选	(93)
一、纯种分离与筛选的依据	(93)
二、纯种分离方法	(94)
第二节 新菌种的分离筛选	(98)
一、富集培养	(98)
二、新种分离与筛选的方法步骤	(98)
三、纯种的鉴定	(100)
第三节 微生物分离操作技术	(100)
一、细菌的分离	(100)

实验 7.1 醋酸菌的分离	(100)
实验 7.2 乳酸菌的分离	(101)
实验 7.3 酸乳制品中的乳酸菌的分离	(103)
实验 7.4 谷氨酸产生菌的分离	(103)
实验 7.5 枯草芽孢杆菌的分离	(104)
实验 7.6 己酸菌的分离	(105)
二、放线菌的分离	(106)
实验 7.7 产链霉素菌种的分离	(106)
实验 7.8 金色链霉菌的分离筛选	(106)
三、酵母菌的分离筛选	(107)
实验 7.9 酒曲中酵母菌的分离	(107)
实验 7.10 啤酒酵母菌的分离	(108)
实验 7.11 耐双乙酰啤酒酵母菌的分离	(108)
实验 7.12 耐二氧化硫葡萄酒酵母菌的分离	(109)
四、霉菌的分离筛选	(110)
实验 7.13 根霉菌的分离	(110)
实验 7.14 黑曲糖化酶菌株的分离	(110)
实验 7.15 柠檬酸产生菌的分离	(111)
实验 7.16 米曲霉的分离	(112)
五、噬菌体的分离纯化	(112)
实验 7.17 噬菌体的分离纯化	(112)
实验 7.18 溶源性菌株的检查	(113)

第八章 微生物的生理生化实验

第一节 细菌的生理生化实验	(114)
实验 8.1 糖发酵试验	(114)
实验 8.2 三糖铁培养基反应试验	(115)
实验 8.3 β -半乳糖苷酶试验	(115)
实验 8.4 含碳化合物的利用	(116)
实验 8.5 丙二酸盐试验	(116)
实验 8.6 柠檬酸盐试验	(117)
实验 8.7 葡萄糖铵试验	(117)
实验 8.8 V-P 试验	(117)
实验 8.9 甲基红(MP)试验	(118)
实验 8.10 产生吲哚试验	(119)
实验 8.11 石蕊牛乳试验	(119)
实验 8.12 氰化钾试验	(120)
实验 8.13 动力试验	(120)
实验 8.14 明胶液化试验	(121)

实验 8.15 硝酸盐还原试验	(121)
实验 8.16 硫化氢产生试验	(122)
实验 8.17 血清学玻片凝集试验	(122)
实验 8.18 溶血性试验	(123)
实验 8.19 耐盐性试验	(123)
实验 8.20 酪蛋白分解试验	(124)
实验 8.21 氨基酸脱羧酶试验	(124)
实验 8.22 尿素酶试验	(125)
实验 8.23 氧化酶试验	(125)
实验 8.24 细胞色素氧化酶试验	(126)
实验 8.25 过氧化氢酶试验	(126)
实验 8.26 TTC 试验	(127)
实验 8.27 卵磷脂酶试验	(127)
实验 8.28 苯丙氨酸脱氨酶试验	(127)
实验 8.29 链激酶试验	(128)
实验 8.30 马尿酸钠水解试验	(128)
实验 8.31 杆菌肽敏感试验	(129)
实验 8.32 淀粉水解试验	(129)
实验 8.33 精氨酸双水解酶的测定试验	(130)
第二节 放线菌的生理生化实验	(130)
实验 8.34 放线菌的生理生化实验	(130)
第三节 酵母菌的生理生化实验	(131)
实验 8.35 糖类发酵测定	(131)
实验 8.36 碳源同化试验	(131)
实验 8.37 氮源同化试验	(132)
实验 8.38 分解杨梅苷的测定	(132)
实验 8.39 类淀粉化合物形成的测定	(133)
实验 8.40 产酯试验	(133)
实验 8.41 分解脂肪试验	(133)
实验 8.42 产酸测定	(134)
实验 8.43 石蕊牛乳反应	(134)
实验 8.44 明胶液化试验	(134)
实验 8.45 尿素分解试验	(135)
实验 8.46 啤酒酵母发酵力的测定	(135)
实验 8.47 酵母菌热死温度的测定	(136)
实验 8.48 酵母菌凝集力的测定	(137)
实验 8.49 酵母菌耐酒精能力试验	(137)
实验 8.50 生孢子能力测定	(138)
第四节 霉菌的生理生化测定	(138)

实验 8.51 各种营养份对霉菌生长速率的影响	(138)
实验 8.52 根霉产酸试验	(138)
第九章 微生物的分类与命名	(140)
第一节 微生物的分类单位与命名	(140)
一、微生物的分类单位	(140)
二、微生物的命名原则	(141)
第二节 微生物的分类依据	(141)
一、形态特性	(141)
二、生理生化特性	(142)
三、生态特性	(142)
四、血清学反应	(142)
五、其它生物反应	(142)
六、新技术的应用	(142)
第三节 微生物的分类方法	(143)
一、经典分类法	(143)
二、近代分类法	(143)
第四节 微生物的分类检索系统	(146)
一、原核生物的分类系统	(146)
二、真菌的分类系统	(149)
三、工业上常用微生物的分类检索表	(151)
第十章 微生物诱变育种	(168)
第一节 突变研究的理论背景	(168)
一、基因突变	(168)
二、基因突变类型	(169)
三、诱变剂	(169)
第二节 诱变育种	(175)
一、诱变育种基本程序	(175)
二、诱变育种中的几个问题	(176)
三、突变型菌株的分离	(178)
第三节 微生物诱变育种实例	(183)
实验 10.1 紫外线诱变育种——绘制细胞存活率和突变率曲线	(183)
实验 10.2 高产蛋白酶酱油曲霉的选育	(183)
实验 10.3 抗性突变株——大肠杆菌链霉素抗性标记的制作	(186)
实验 10.4 抗反馈调节突变型——赖氨酸高产菌株的选育	(186)
实验 10.5 耐高浓度自身代谢产物的抗反馈抑制突变型——卡那 霉素高产菌株的选育	(187)
实验 10.6 抗菌素效价的生物测定(管碟法)	(189)

实验 10.7	营养缺陷型突变株——枯草杆菌氨基酸营养缺陷遗传标记的制作	(190)
实验 10.8	温度敏感型突变——酱油曲霉的育种	(192)
实验 10.9	呼吸缺失突变株——酿酒酵母呼吸缺失突变株的选育	(192)

第十一章 微生物基因重组育种 (194)

第一节 细菌的转化 (194)

一、概述	(194)
二、实验举例	(196)
实验 11.1 枯草杆菌质粒 DNA 的提取	(196)
实验 11.2 大肠杆菌质粒 DNA 的快速提取	(198)
实验 11.3 地衣芽孢杆菌染色体 DNA 的提取	(199)
实验 11.4 琼脂糖凝胶电泳测定 DNA	(200)
实验 11.5 大肠杆菌的遗传转化	(200)
实验 11.6 枯草杆菌染色体 DNA 的转化	(202)
实验 11.7 枯草杆菌原生质体的转化	(203)

第二节 细菌的转导 (204)

一、概述	(204)
二、实验举例	(205)
实验 11.8 枯草杆菌噬菌体普遍转导	(205)
实验 11.9 大肠杆菌半乳糖基因高频转导	(207)

第三节 细菌的接合 (209)

一、细菌接合的基本原理	(210)
二、大肠杆菌杂交实验举例	(211)
实验 11.10 大肠杆菌 Hfr 品系的建立	(211)
实验 11.11 大肠杆菌的杂交	(212)

第四节 酵母菌的杂交育种 (214)

一、酵母菌的生活史	(214)
二、酵母菌有性杂交技术	(216)
三、酵母菌有性杂交实验举例	(217)
实验 11.12 糖化酵母单倍体细胞分离与遗传标记制作	(217)
实验 11.13 异宗接合型酵母菌的杂交	(219)
实验 11.14 同宗接合型酵母菌株的杂交	(220)
实验 11.15 应用多次回交法选育嗜杀清酒酵母菌株	(221)

第五节 霉菌的杂交育种 (222)

一、霉菌的准性生殖过程	(222)
二、霉菌的杂交育种	(224)
三、霉菌杂交育种实例	(225)

第六节 微生物细胞融合技术 (225)

一、概述	(225)
------	-------

二、原生质体细胞融合育种举例	(229)
实验 11.16 细菌原生质体细胞融合	(229)
实验 11.17 利用原生质体融合选育耐热性 β -淀粉酶产生菌	(230)
实验 11.18 酵母菌原生质体细胞融合	(231)
实验 11.19 利用核融合缺陷细胞融合法选育嗜杀葡萄酒酵母菌株	(232)
附 嗜杀质粒提取和琼脂糖电泳	(235)
实验 11.20 应用原生质体细胞融合技术选育酱油曲霉	(236)
三、电诱导原生质体细胞融合	(237)
实验 11.21 相同接合型酵母原生质体电融合	(238)
实验 11.22 电诱导酵母菌与短梗霉属属间融合	(239)
第十二章 发酵制品微生物学检测	(241)
第一节 总则	(241)
一、样品的采集	(241)
二、送检	(241)
三、检验	(241)
四、报告	(241)
第二节 空气中的微生物学检测	(242)
实验 12.1 空气中微生物的检测和计数	(242)
第三节 水的微生物学检测	(243)
实验 12.2 细菌菌落总数的测定	(243)
实验 12.3 大肠菌群的测定	(245)
实验 12.4 水的细菌学检查	(248)
第四节 调味品微生物学检验	(249)
实验 12.5 调味品微生物学检验	(249)
第五节 酒类微生物学检验	(249)
实验 12.6 酒类微生物学检验	(249)
第六节 发酵生产过程中的微生物学检测	(250)
一、原料的检查	(250)
二、曲的检查	(251)
三、酒曲、发酵醪及成品的检测	(252)
四、酿造原料、成品中黄曲霉毒素的检出与防治	(254)
五、设备及容器的检查	(257)
第十三章 微生物菌种保藏	(259)
第一节 菌种保藏原理	(259)
第二节 普通菌种保藏方法	(259)
一、定期移植保藏法	(259)
二、沙管保藏法	(260)

三、液体石蜡保藏法	(261)
四、液氮保藏法	(262)
五、冷冻真空干燥保藏法	(263)
第三节 特殊菌种的保藏法	(266)
一、噬菌体的保藏法	(266)
二、厌气性细菌的保藏法	(269)
附录	(272)
I. 染色液及其配制	(272)
II. 培养基	(273)
III. 生理生化用培养基	(279)
IV. 生理生化试验用试剂	(284)
主要参考书	(285)

第一章 显微技术

第一节 概 述

微生物个体微小，必须借助显微镜才能观察到，因此在微生物学的各项研究中，显微镜就成为研究者不可缺少的工具。所以说，从事微生物教学、科研、生产的人员，必须了解显微镜的种类、结构，正确地、熟练地掌握各种显微镜的使用技术。

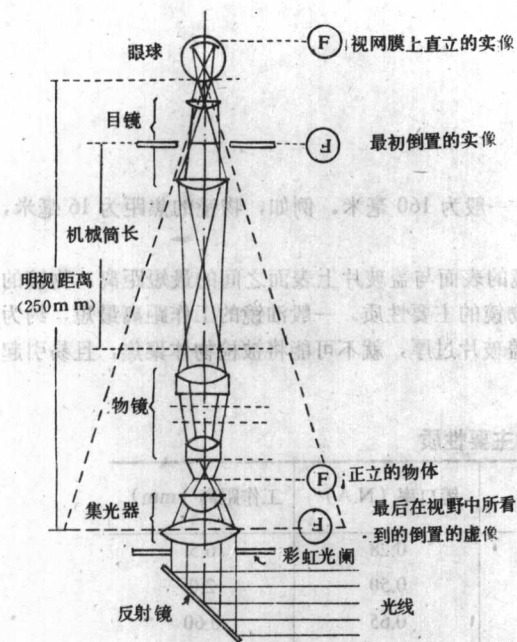


图 1-1 复式光学显微镜成像原理图

光学显微镜的构造如图 1-2 所示，分光学系统和机械系统两部分。

一、普通光学显微镜的光学系统

显微镜的光学系统主要包括物镜、目镜、集光器、彩虹光阑、反光镜和光源等。

(一) 物镜及其性质

物镜通常称镜头，是在金属圆筒内装有许多块透镜组成的。这些透镜用特殊的胶粘接在一起。光线照射标本，通过物镜形成放大的、倒立实物像。根据使用方法的差异，物镜分为干燥系物镜和油浸系物镜两种（图 1-3）。

干燥系物镜是指物镜和标本之间的介质是空气（折光率 $n=1.00$ ），包括低倍和高倍物镜两种；油浸系物镜指物镜和标本之间的介质是一种和玻璃折光率（ $n=1.52$ ）相近的香柏油（ $n=1.515$ ）。这种物镜也称油镜，放大倍数为 $90\times$ 或 $100\times$ ，一般在镜头上标以“HI”或“OI”字样，或在镜头下缘刻有一圈黑线。使用油镜时需将物镜镜头浸在香柏油中进行观察，这是为了消除光由一种介质进入另一种介质时发生散射。

1. 放大倍数 物镜的放大倍数可由外形来辨别，镜头长度愈短，口径越大，放大倍数愈低。物镜的放大倍数都标明在镜头上，常用的低倍镜为 $10\times$ 、 $20\times$ ；高倍镜为 $40\times$ 、 $45\times$ ；油镜为 $90\times$ 、 $100\times$ 。

$$\text{物镜的放大倍数} = \frac{\text{相当的光学筒长}}{\text{物镜的焦距}}$$

显微镜的种类很多，根据其结构，一般分为光学显微镜和非光学显微镜两大类。光学显微镜又分为单式显微镜和复式显微镜，在微生物学的研究中，主要使用复式显微镜。复式显微镜有明视野显微镜（即普通光学生物显微镜）、暗视野显微镜、相差显微镜、偏光显微镜、紫外光显微镜和荧光显微镜。非光学显微镜为电子显微镜。

最简单的单式显微镜是放大镜，其放大倍数常为 10 倍以下，由一块透镜组成。构造稍复杂的单式显微镜为解剖显微镜，放大倍数在 200 倍左右，由几块透镜组成。

复式显微镜是实验室观察微生物形态常用的显微镜，又以普通光学生物显微镜最常见，其成像原理如图 1-1 所示。将被检物体置于集光器与物镜之间，平行的光线自反射镜折入集光器，光线经过集光器穿过透明的物体进入物镜后，即在目镜的焦点平面（光阑部位或附近）形成了一个初生倒置的实像。从初生实像射过来的光线，经过目镜的接目透镜而到达眼球。这时的光线已变成平行或接近平行光，再透过眼球的水晶体时，便在视网膜后形成一个直立的实像。

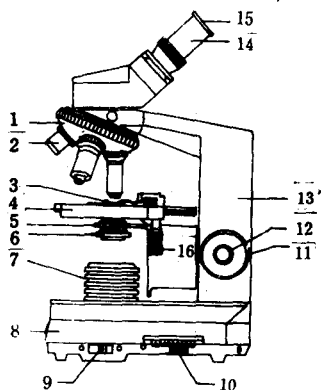


图 1-2 复式光学显微镜构造示意图

1. 物镜转换器 2. 物镜 3. 游标卡尺 4. 载物台
5. 集光器 6. 彩虹光阑 7. 光源 8. 镜座 9. 电源开关
10. 光源滑动变阻器 11. 粗调螺旋 12. 微调螺旋
13. 镜臂 14. 镜筒 15. 目镜 16. 标本移动螺旋

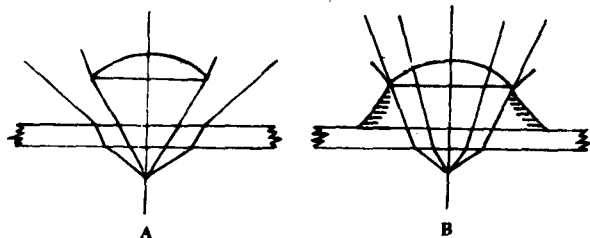


图 1-3 两种物镜的光线通路
A. 干燥系物镜 B. 油浸系物镜

光学筒长是指物镜上焦平面到目镜下焦平面间的距离，一般为 160 毫米。例如，物镜的焦距为 16 毫米，光学筒长 160 毫米，它的放大倍数应为 $10\times$ 。

2. 工作距离 是指观察标本最清晰时的物镜最下面透镜的表面与盖玻片上表面之间的最短距离。物镜的放大倍数愈大，工作距离愈短（表 1-1）。表 1-1 表示标准物镜的主要性质。一般油镜的工作距离最短，约为 0.2 毫米。因此，要求盖玻片的厚度为 0.17~0.18 毫米，若盖玻片过厚，就不可能将被检物体聚焦，且易引起物镜的意外损坏。

表 1-1 标准物镜的主要性质

焦距 (mm)	光学筒长 (mm)	放大倍数	镜口率 (N.A)	工作距离 (mm)
16	160	$10\times$	0.28	6.5
8	160	$20\times$	0.50	2.0
4	160	$40\times$	0.65	0.60
2	180	$90\times$	1.25	0.20

3. 焦点距离（焦距） 是指平行光线经过单一透镜后集中于一点，由这一点到透镜中心的距离。一个物镜通常是由几个不同性质的透镜组成。因此，它的焦距的测定比较复杂。一般，显微镜的物镜上都注明焦距的长度（表 1-1）。物镜的放大倍数愈大，焦距愈短。

4. 焦点深度 在视野中垂直范围内所能清晰观察到的物体界限，称为焦点深度。物镜放大倍数愈大，焦点深度愈浅。通常，焦点深度与显微照像有密切关系。

5. 镜口率（数值口径，简称 N.A） 是物镜与标本间介质折射率（ n ）和光的最大入射角 α 正弦的乘积。其计算公式如下：

$$N.A = n \cdot \sin (\alpha / 2)$$

n 是物镜与标本间介质的折射率，干燥系物镜 $n=1$ ，油浸系物镜 $n=1.515$ ； α 是光线进入物镜的最大夹角，也称镜口角。油浸系物镜最大镜口角为 120° ，因此镜口率最大也不超过 1.31，只能分辨直径为 0.2 微米的物体。镜口率均标明在物镜镜头上（表 1-1）。

6. 分辨力 是指显微镜分辨被检物体细微结构的能力，也就是判别两个物体点之间最短距离的本领。分辨力以 R 表示，若两个物体之间距离大于 R ，可被这个物镜分辨；若距离小于 R 时，就分辨不清了。所以， R 值愈小，物镜的分辨力愈高，物镜愈好。

分辨力（ R ）用下式计算：