



普通高等教育农业部“十二五”规划教材
全国高等农林院校“十二五”规划教材



面向 21 世纪 课 程 教 材
Textbook Series for 21st Century

微生物学实验指导

第二版

WEISHENGWUXUE
SHIYAN ZHIDAO

李顺鹏 • 主编



 中国农业出版社

普通高等教育农业部“十二五”规划教材
全国高等农林院校“十二五”规划教材
面向 21 世纪课程教材
Textbooks Series for 21st Century

微生物学实验指导

第二版

李顺鹏 主编

图书在版编目 (CIP) 数据

微生物学实验指导/李顺鹏主编. —2 版. —北京:
中国农业出版社, 2014. 8
普通高等教育农业部“十二五”规划教材 全国高等
农林院校“十二五”规划教材 面向 21 世纪课程教材
ISBN 978-7-109-19424-3

I. ①微… II. ①李… III. ①微生物学—实验—高等
学校—教学参考资料 IV. ①Q93-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2014) 第 164281 号

中国农业出版社出版
(北京市朝阳区麦子店街 18 号楼)
(邮政编码 100125)

责任编辑 刘 梁
文字编辑 赵 静

中国农业出版社印刷厂印刷 新华书店北京发行所发行
2003 年 3 月第 1 版 2015 年 1 月第 2 版
2015 年 1 月第 2 版北京第 1 次印刷

开本: 787mm×1092mm 1/16 印张: 9
字数: 208 千字
定价: 16.50 元

(凡本版图书出现印刷、装订错误, 请向出版社发行部调换)

第二版编写人员

主 编 李顺鹏 南京农业大学

副主编 于汉寿 南京农业大学

唐欣昀 安徽农业大学

吴晓玉 江西农业大学

参 编 孙军德 沈阳农业大学

崔中利 南京农业大学

盛下放 南京农业大学

何 健 南京农业大学

主 审 闵 航 浙江大学

第一版编写人员

主 编 李顺鹏 南京农业大学

副主编 李玉祥 南京农业大学

唐欣昀 安徽农业大学

参 编 孙军德 沈阳农业大学

高永生 江西农业大学

崔中利 南京农业大学

盛下放 南京农业大学

何 健 南京农业大学

主 审 闵 航 浙江大学

第二版前言

自 2003 年《微生物学实验指导》(面向 21 世纪课程教材)出版已有十年,十年中微生物学科及其技术方法都有了飞速发展。由于现代人才培养中对学生实验技能更加重视,实验教学改革不断深入,实验条件也大大改善,作为实验课程的教材必须适应新的人才培养要求。所以,我们在第一版的基础上对部分实验内容进行了修订,同时扩展和补充了新的体现基础性、可操作性、先进性及实用性强的实验内容。修订内容主要体现在以下几个方面:

1. 实验内容

(1) 第一部分微生物学实验基本技术中增加了“微生物鉴定技术”和“微生物保藏技术”。

(2) 第二部分微生物学实验中,由原来的 20 个实验增加到 27 个,并根据实验的内容分为 5 章。每个实验增加了“实验结果与分析”和“注意事项”,许多实验增加了实验的流程图,以帮助读者更好地理解实验。

2. 编排形式 统一了编排形式,每个实验简明扼要地列出实验目的和要求、实验内容、实验原理、实验材料、实验步骤与方法、实验结果与分析、注意事项以及问题与思考。

3. 插图和表格 对第一版中的部分图表进行了修正,同时增加了部分图表。补充了附录和参考文献。

第二版继续保持第一版简明扼要、重点突出、实用性强的特点,并从多方面进行了扩展与补充,各校在使用教材时可根据具体条件酌情选做。

参加本书修订工作的单位有:南京农业大学、江西农业大学、安徽农业大学、沈阳农业大学等。除编委会 8 位同志外,南京农业大学洪青、何琳燕、纪燕玲、蒋建东、徐冬青、黄星、闫新、郑会明、师亮、赵明文及江西农业大学王飞等同志也参与了编写。他们都是多年从事微生物学教学的一线教师,教学经验丰富。

本书特别适合作为农林院校本科生和专科生的微生物学实验教材,亦可作为其他院校相关专业参考教材,对从事微生物学研究的科研人员也有一定参考价值。

本书第二版仍由浙江大学闵航教授主审,闵航教授对全书进行了仔细的审

阅和修改，并提出宝贵意见，谨此表示衷心的感谢。

由于编者水平有限，本版的缺点和错误在所难免，敬请各位同仁和读者批评指正。

编 者

2014年6月

第一版前言

微生物学是一门实验性很强的学科，微生物学实验是微生物学的重要组成部分，微生物学实验的理论和方法已经广泛地渗透到现代生命科学的各个领域，发挥着重要作用，微生物学实验已经成为一门十分重要的生物科学基础课实验。

《微生物学实验指导》是与《微生物学》第五版的理论课教学配套的微生物学实验教学指导书。本实验指导的使用对象主要是把微生物学作为专业基础课的农学、园艺学、农业化学、植物营养、环境保护等生物学类和大农学类的学生，也可作为一般涉及微生物研究的工作人员进行一般微生物学实验的参考指导。

为适应现代理论教学与实验教学自成体系的特点，我们在实验指导前面编入微生物学实验的基本理论部分，以帮助使用者对有关理论问题进行回顾和深入，加深实验课的教学质量。本实验指导围绕微生物学实验四大技术，主要收纳最基本的有关微生物学研究实验，希望为初学习者建立一个良好的实验微生物学知识平台。通过学习掌握基本的微生物学实验技能，了解微生物学实验室一般仪器设备的原理与使用方法，了解微生物学实验的设计与实验实施，为学生以后的工作奠定良好的基础。

为了引导学生的创新和开拓精神，本书在每一个实验后列出了思考题内容，以帮助学生复习总结，并在实验操作中列出注意事项，以确保实验的成功。本实验指导共安排了20个实验，可供各校根据具体条件酌情选做。书后附有详细的附录和参考书，供读者查阅和参考。

本实验指导的编写除上述编委会八位同志外，还有南京农业大学于汉寿、赵明文、钟增涛、杨兴明等同志参加编写。由于水平和时间有限，本书不足之处在所难免，请读者和同行专家提出宝贵意见。

本书承浙江大学生命学院闵航教授主审，对全书进行了仔细的审阅和修改，谨表示衷心的感谢。

作 者

2003年3月

中国农业出版社生命科学类系列教材

普通生物学	魏道智	主编	农业院校基础生物化学	金 红	主编
普通生态学 (第二版)	骆世明	主编	学考研辅导解析		
植物学 (第二版)	胡宝忠	张友民 主编	分子生物学 (第二版)	卢向阳	主编
植物学实验	胡宝忠	常 纓 主编	简明分子生物学教程	王宪泽	主编
植物学 (第二版)	张宪省	主编	蛋白质组学	李维平	主编
植物学	梁建萍	主编	细胞生物学 (第二版)	沈振国	主编
植物学	丁春邦	杨晓红 主编	简明细胞生物学教程	周竹青	主编
植物学实验及实习指导	陈中义	周存宇 主编	细胞生物学实验教程	周竹青	主编
植物分类学 (第三版)	崔大方	主编	遗传学 (第三版)	朱 军	主编
动物生物学	吴常信	主编	遗传学实验指导	祝水金	主编
植物生理学 (第二版)	王 忠	主编	普通遗传学	张桂权	主编
植物生理学复习思考题与答案	王 忠	主编	普通遗传学综合性实验	刘向东	李亚娟主编
植物生理学	萧浪涛	王三根 主编	遗传学	易自力	主编
植物生理学实验技术	萧浪涛	王三根 主编	分子遗传学	杨业华	主编
植物生理学学习指导	萧浪涛	王三根 主编	细胞遗传学	刘大钧	主编
植物生理学	孟庆伟	高辉远 主编	生物信息学	萧浪涛	主编
植物生理学实验指导	邹 琦	主编	免疫学	王家鑫	主编
植物生理生化	王三根	主编	现代生物技术概论	程备久	主编
微生物学 (第六版)	李阜棣	胡正嘉 主编	植物生物技术	朱延明	主编
微生物学实验	何绍江	陈雯莉 主编	细胞工程 (第二版)	王 蒂	主编
微生物学	唐欣昀	主编	细胞工程实验教程	王 蒂	主编
微生物学 (中英文版)	朱 军	主编	动物细胞工程学	周欢敏	主编
微生物学实验指导	李顺鹏	主编	基因工程 (第二版)	陈 宏	主编
病毒学	王小纯	主编	基因工程实验技术 (第二版)	陈 宏	主编
微生物生理学	沈 标	主编	发酵工程与设备	邱立友	主编
微生物遗传学	周俊初	主编	发酵工程与设备实验	邱立友	主编
生物化学 (第二版)	李庆章	吴永尧 主编	微生物工程	王立群	主编
生物化学实验指导	李庆章	吴永尧 主编	酶工程	王金胜	主编
生物化学 (第二版)	黄卓烈	朱利泉 主编	生物安全学	张 伟	主编
生物化学实验技术	黄卓烈	主编	植物组织与细胞培养	陈耀峰	主编
生物化学学习指导	黄卓烈	朱利泉 主编	植物组织培养 (第二版)	王 蒂	陈劲枫主编
生物化学 (第三版)	刘祥云	蔡 马 主编	植物组织培养实验指导	王 蒂	主编
生物化学实验指导 (第五版)	张云贵	王俊斌 李天俊 主编	生物显微技术	王庆亚	主编
生物化学习题集 (第三版)	张云贵	丛方地 主编	生物学专业英语	萧浪涛	李关荣主编
生物化学	刘卫群	主编	保护生物学	薛建辉	主编
基础生物化学	吴显荣	主编			
基础生物化学	陈 惠	主编			
生物化学实验技术原理和方法 (第二版)	李 茜	郭兴启 主编			

中国农业出版社教师沟通表

姓 名		性 别		年 龄		民 族	
技术职称				行政职务			
工作单位				专业学科			
通信地址				邮政编码			
办公电话		QQ		手 机			
E-mail				传 真			
毕业学校			毕业时间		学位		
所授课程名称			课时总数		年学生数量		

课程属性：☐公共课 ☐专业基础课 ☐专业课 ☐选修课 共同授课教师：_____

所用教材：☐自选教材 ☐教研室指定教材 ☐学校指定教材 ☐其他

目前所用教材：_____出版社出版的《_____》；
优（缺）点：_____

目前所用实验教材：_____出版社出版的《_____》；
优（缺）点：_____

当我社策划组织系列教材编写时，您是否愿意参与：☐愿意 ☐根据情况再决定 ☐不愿意

您及所在部门其他老师是否有图书（☐教材、☐教辅、☐专著）的编写计划：☐无 ☐有

书稿名称：_____ 使用专业：_____ 年使用人数：_____

教师姓名：_____ 联系电话：_____

对中国农业出版社教材出版的意见和建议（教材特色、出版方向等）：_____

若有适合您教学使用的教材，请列出，我们将免费寄送与您所授课程相关的教材样书（限一本）：
书名：_____ ISBN：_____ 主编：_____

邮寄地址：北京市朝阳区麦子店街 18 号中国农业出版社高等教育教材出版分社生物类策划编辑收 邮编：100125
联系电话：010-59194979 传真：010-65005926 E-mail: mybiology@163.com（注：邮寄、传真和电邮此表均可）

学院盖章
年 月 日

目 录

第二版前言

第一版前言

第一部分 微生物学实验基本技术	1
一、微生物显微技术	1
二、微生物染色技术	9
三、微生物分离纯化技术	12
四、灭菌和消毒技术	14
五、微生物接种技术	21
六、微生物鉴定技术	24
七、微生物保藏技术	26
第二部分 微生物学实验	29
第一章 微生物细胞染色与形态显微观察	29
实验一 普通光学显微镜的使用与细菌形态观察	29
实验二 细菌的简单染色与革兰氏染色	32
实验三 细菌特殊结构的染色	35
实验四 放线菌形态的观察	39
实验五 酵母菌和丝状真菌菌体及孢子形态观察	41
实验六 微生物细胞数量和大小的测定	45
实验七 大肠杆菌噬菌斑的观察	50
第二章 微生物分离、培养和保藏	52
实验八 常用培养基的配制	52
实验九 土壤中微生物的分离纯化和计数	58
实验十 厌氧微生物的分离培养和计数	63
实验十一 微生物菌落形态特征的观察	67
实验十二 微生物菌种的保藏	71
第三章 微生物生理特性	74
实验十三 细菌生长曲线测定	74
实验十四 环境条件对微生物生长的影响	76
实验十五 微生物生理生化反应	79
实验十六 细菌鉴定系统 API 和 Biolog 的应用	82
实验十七 微生物的抗生素抗性	85
第四章 微生物遗传与分子生物学基础	87

实验十八 微生物诱变育种——紫外光诱变	87
实验十九 细菌 DNA 的小量提取	91
实验二十 细菌质粒的小量制备	94
实验二十一 细菌的转化作用	97
实验二十二 细菌的接合作用	100
实验二十三 细菌基因组的转座子诱变	103
第五章 应用微生物学基础	106
实验二十四 水中细菌总数和大肠菌群的检测	106
实验二十五 甜米酒的发酵	109
实验二十六 豆科植物根瘤的观察和根瘤菌分离	111
实验二十七 食用菌菌种分离	114
附录	116
附录一 常用染色液的配制	116
附录二 微生物实验室常用试剂与缓冲液	118
附录三 实验室常用培养基配方	120
附录四 MPN 法计数统计表	124
附录五 教学常用微生物菌种	126
附录六 常用抗生素使用浓度	128
附录七 常用消毒剂	129
附录八 常用干燥剂	130
参考文献	131

第一部分

微生物学实验基本技术

一、微生物显微技术

绝大多数微生物个体微小，远远低于肉眼的观察极限，必须借助显微镜放大才能看见。历史上是显微镜最早揭开了细胞结构的奥秘，今天，显微镜也是微生物工作者必不可少的工具。一般来讲，光学显微镜（light microscope）用于在较低放大倍数下观察完整细胞，而电子显微镜（electron microscope）则用于观察细胞的细微结构。需要注意的是，除了放大倍数，决定显微观察效果的还有一个重要因素，即分辨率。分辨率是区分和分离 2 个邻近物体的能力。放大倍数可以无限地提高，但分辨率不行，它是由光的物理性质决定的。首先介绍光学显微镜，其分辨率极限约 $0.2\ \mu\text{m}$ ，然后再讨论电子显微镜，它的分辨率是光学显微镜的 1 000 倍。

（一）普通光学显微镜

光学显微镜由光学放大系统和机械支持及调节系统组成（图 1-1-1）。

1. 机械支持及调节系统 机械支持及调节系统是整个显微镜的骨架，对光学系统起支撑和调节作用，部件包括镜座、镜臂、镜筒、物镜转换器、镜筒和粗、细调节旋钮等。

镜座：镜座是显微镜的基座，可使显微镜平稳地放置在桌面上。

镜臂：镜臂用于支撑镜筒、镜筒和调节系统。

镜台：镜台又称载物台，是放置标本的地方，多为方形，镜台上有标本固定和位置移动系统，用于固定标本和在平面上移动；标本固定和位置移动系统上附带有游标卡尺，可用于标本定位。

镜筒：镜筒是连接物镜和目镜的金属筒，其上端插入目镜，下端和物镜转换器相连接。

物镜转换器：物镜转换器安装在镜筒下端，用于装配物镜，装配有 4~6 个不同放大倍数的物镜，转动物镜转换器可以选择到合适的物镜。

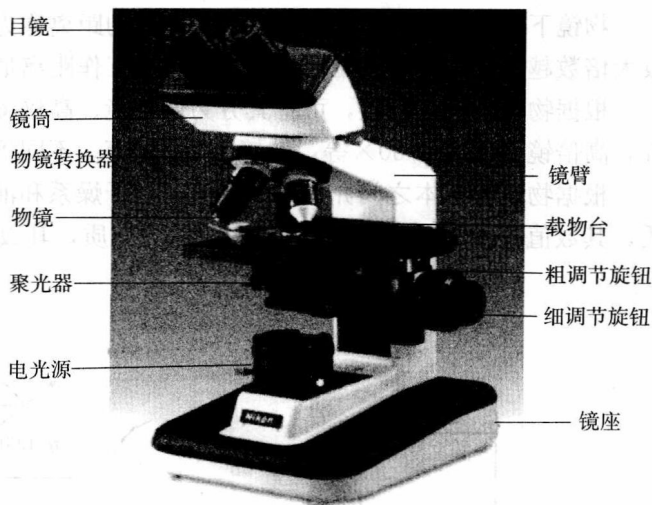


图 1-1-1 光学显微镜构造

粗、细调节旋钮：粗、细调节旋钮位于镜臂基部，可沿镜臂上下移动，用于调节焦距。

2. 光学系统 光学系统架构于机械系统上，包括目镜、物镜、聚光器和光源。

目镜：目镜的作用是使物镜放大的实像再放大一次，且物像由此进入观察者眼中；一般由 2 块透镜组成，上面一块称为接目透镜，下面一块称为场镜，在 2 块透镜之间或在 2 块透镜下方有一个由金属制成的环状光阑，又称视场光阑，物镜放大后的中间像就落在视场光阑处，目镜测微尺应安装在视场光阑处。

物镜：物镜安装在物镜转换器上，其作用是对标本进行第一次成像，是显微镜中很重要的部件，其质量的好坏直接关系到成像的质量。物镜的性能以数值孔径（numerical aperture，简写为 N_A ）的大小来衡量， N_A 定义为物镜透镜与被检物体之间介质的折射率（ η ）和镜口角（ μ ）一半的正弦的乘积。即：

$$N_A = \eta \sin (\mu/2)$$

显微镜所能辨别物体两点之间最小距离为分辨率，以 δ 表示，其计算公式为：

$$\delta = \lambda / 2 N_A$$

从公式中可以看出， N_A 越大，则分辨率越高，另外选择波长较短的光源及增大介质的折射率也可以提高分辨率。

若波长 $\lambda = 0.56 \mu\text{m}$ ， $N_A = 1.4$ ，则 $\delta = 0.56 / (2 \times 1.4) = 0.20 \mu\text{m}$ ；

如使用波长 λ 为 $0.28 \mu\text{m}$ 的紫外光，则 $\delta = 0.28 / (2 \times 1.4) = 0.10 \mu\text{m}$ 。

分辨率提高了 1 倍。

增大物镜与标本之间介质的折射率也是行之有效的方法，在使用油浸物镜观察细菌的形态时，在物镜与标本之间滴加香柏油就是为了增加分辨率并减少因折射而造成的光线散失。

物镜下表面与标本之间或与盖玻片之间的距离称为物镜的工作距离（图 1-1-2），物镜的放大倍数越大，则其工作距离越短，油镜的工作距离最短，只有约 0.2 mm 。

根据物镜的放大倍数，可将其分为低倍镜、高倍镜和油镜。低倍镜有 $4\times$ 、 $10\times$ 、 $20\times$ 等，高倍镜有 $40\times$ 、 $60\times$ 等，油镜有 $100\times$ 等。不同倍数物镜的特性比较见表 1-1-1。

根据物镜和标本之间介质不同，可分为干燥系和油浸系（图 1-1-3），干燥系以空气为介质，其数值孔径小于 1，油浸系以香柏油为介质，其数值孔径大于 1。

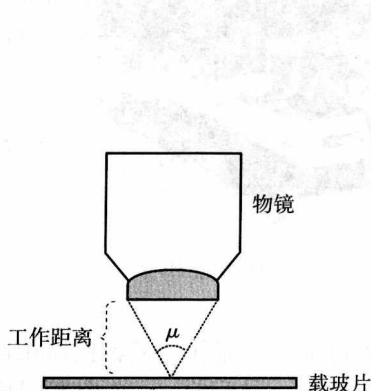


图 1-1-2 镜口角与工作距离的关系

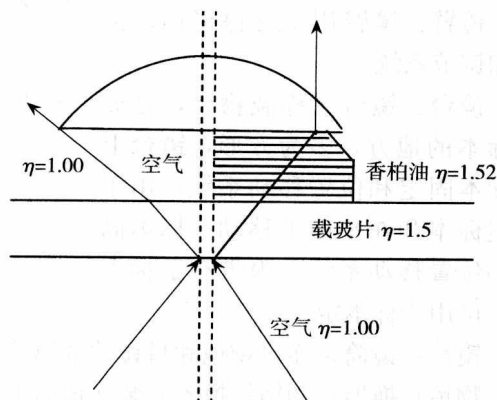


图 1-1-3 物镜干燥系和油浸系的光线图

显微镜的总放大倍数为物镜放大倍数乘以目镜放大倍数，如在观察某标本时，物镜的放大倍数为 100 倍，目镜的放大倍数为 10 倍，则总的放大倍数为 $100 \times 10 = 1\,000$ 倍。

表 1-1-1 不同倍数物镜的特性比较

特性	物 镜			
放大倍数	4×	10×	(40~45) ×	(90~100) ×
N_A	0.10	0.25	0.55~0.65	1.25~1.40
工作距离 (mm)	17~20	4~8	0.5~0.7	0.1
(蓝光时) 最高分辨率 (μm)	2.3	0.9	0.35	0.18

聚光器：聚光器安装于载物台下，其作用是将从光源来的平行光线聚焦于标本上，以增强照明度，得到清晰明亮的效果，可以通过调节旋钮调节聚光器上下移动以适应不同厚度的载玻片 (0.9~1.3 mm)，聚光器上附有孔径光阑，通过调节孔径光阑孔径的大小可以调节进入物镜光线的强弱。

光源：光源有自然光源（反光镜）和电光源 2 种，老式显微镜一般采用自然光源，新式显微镜设置有内源性电光源，使用方便，不受环境光源的影响。

3. 显微镜的成像原理 由光源射入的光线经聚光镜聚焦于被检标本上，使标本得到足够的照明，由标本反射或折射出的光线经物镜放大，在目镜的视场光阑处形成放大的实像，此实像再经接目透镜放大成虚像。

(二) 相差显微镜

活的生物细胞内部结构一般无色透明，光线通过细胞时，光的波长（颜色）和振幅（亮度）变化不大，因此用普通光学显微镜看不清活细胞内部的细微结构。P. Zernike 于 1932 年发明了相差显微镜（phase-contrast microscope），并因此获 1953 年诺贝尔物理学奖。相差显微镜又称相衬显微镜，是一种能将光线通过透明标本时所产生的眼睛不能分辨的光程差（相位差）转化为人眼睛所能够分辨的光强差（振幅差）的显微镜，从而使细胞内部的细微结构能在相差显微镜下清晰可见。

1. 相差显微镜的结构 相差显微镜的结构和普通的显微镜相似，所不同的是它有其特殊的结构：环状光阑、相板、合轴调节望远镜和滤光片。

环状光阑：其上有一环形开孔，照明光线只能从环形的透明区形成一圆柱形光柱进入聚光镜再斜射到标本上。大小不同的环状光阑分别和不同放大倍数的物镜相匹配，位于聚光器的前焦点平面上，与聚光器一起组成转盘聚光器。在转盘的前端有一标示孔，表示当前的光阑种类，表示普通聚光镜，10、20、40、100 分别表示要和 10×、20×、40×、100× 的物镜相匹配。

相板：相差物镜的后焦平面上装有相板，这是相差显微镜很重要的结构。相板上有环状光阑相对应的环状共轭面和补偿面，相板上镀有 2 种金属膜，即吸收膜和相位膜。吸收膜上镀有铬、银等金属，能吸收通过光线的 60%~90%；相位膜上则镀有氟化镁，能把通过的光线相位推迟 $1/4$ 个波长。

合轴调节望远镜：环状光阑的光环和相差物镜中的相位环很小，使用合轴调节望远镜可以调节两环的环孔相互吻合，光轴完全一致。

滤光片：一般显微镜使用的光源为复色光，常引起相位的变化，为获得良好稳定的相差效果，相差显微镜要求使用波长范围比较窄的单色光，通常采用绿色滤光片来过滤光线，这是因为绿色滤光片滤光效果好，且由于能吸收产热的红光和蓝光，有利于观察活体细胞。

2. 相差显微镜的成像原理 相差显微镜的光路图如图 1-1-4 所示。从光源发出的光线通过环状光阑形成光柱，光柱经聚光器聚成光束照射在被检物体上，有细胞结构的地方光线既发生直射又发生衍射，背景处光线只发生直射；光线到达相板后，直射光通过共轭面，而衍射光通过补偿面，由于相板上共轭面和补偿面上的金属膜不同，会使这两部分光线产生一定程度的相位差和强度的减弱，当这两部分光线通过透镜会聚进入同一光路后会产生光的干涉现象，将人眼不可觉察的相位差变成人眼可觉察的振幅差即光强度。

(三) 暗视野显微镜

暗视野显微镜 (dark-field microscope) 又称暗场显微镜，其工作的原理是用侧光照射样品，使样品产生散射光来分辨标本的细节。

暗视野显微镜的结构和普通光学显微镜基本相同，暗视野显微镜特殊的地方是采用了暗场聚光器 (图 1-1-5)。暗场聚光器的结构使光线不能由下而上垂直通过被检物体，而是使光线改变方向，使其斜向射向标本；只有从标本上反射或衍射的光线才能进入物镜和目镜，而照明光线则不能进入物镜和目镜，这样就能在黑暗的背景中看到标本受光侧面清晰明亮的轮廓。暗视野显微镜能观察到 $0.004 \sim 0.2 \mu\text{m}$ 大小的细节。

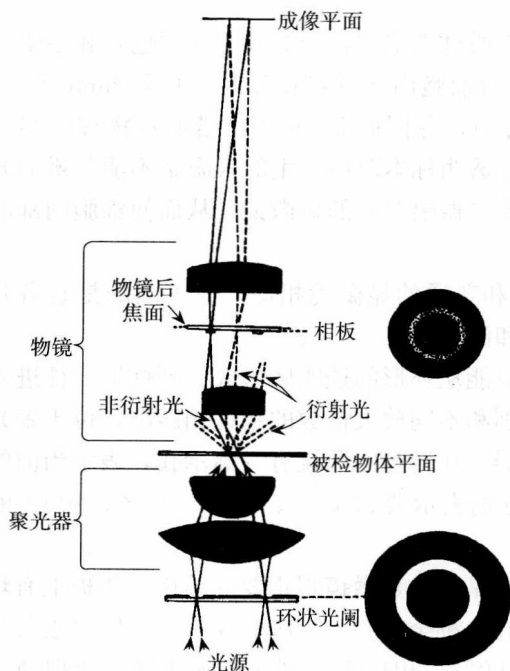


图 1-1-4 相差显微镜成像原理

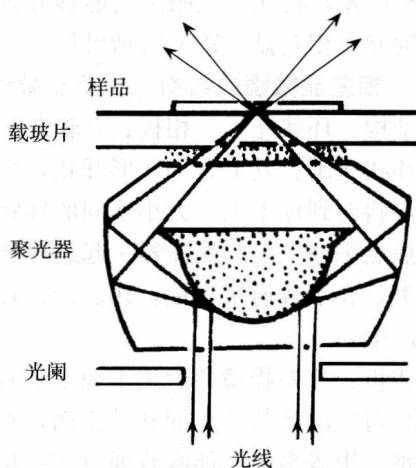


图 1-1-5 暗视野显微镜的暗场聚光器

(四) 解剖镜

解剖镜 (dissecting microscope) 又被称为实体显微镜或立体显微镜, 是为了不同的工作需求所设计的显微镜。解剖显微镜能形成正立像, 立体感强, 常常用在一些固体样本的表面观察, 或是解剖、钟表制作和小电路板检查等工作上。解剖镜有如下特点: ①双目镜筒中的左右两光束不是平行, 而是具有一定的夹角——体视角 (一般为 $12^{\circ} \sim 15^{\circ}$), 因此成像具有三维立体感; ②像是直立的, 便于操作和解剖, 这是由于在目镜下方的棱镜把像倒转过来的缘故; ③虽然放大率不如常规显微镜, 但其工作距离很长; ④焦深大, 便于观察被检物体的全层; ⑤视场直径大。



图 1-1-6 解剖镜

解剖显微镜的基本结构是镜体, 其中装有几组不同放大倍数的物镜, 镜体的上端安装着双目镜筒, 其下端的密封金属壳中安装着 5 组棱镜组, 镜体下面安装着 1 个大物镜, 使目镜、棱镜、物镜组成一个完整的光学系统。物体经物镜第一次放大后, 由棱镜使物像正转, 再经目镜第二次放大, 使在目镜中观察到正立的物像。在镜体架上还有粗调和微调手轮, 用以调节焦距。双目镜筒上安装着目镜, 目镜上有目镜调节圈, 以调节两眼的不同视力 (图 1-1-6)。

(五) 荧光显微镜

从光源的作用上来看, 普通光学显微镜是利用可见光使镜下标本得到照明, 通过放大系统进行观察, 因此, 看到的是样品的本色, 光源起到照明作用; 而荧光显微镜 (fluorescence microscope) 则是利用一定波长的光激发样品, 使其产生荧光, 通过放大系统放大后, 看到的不是样品的本色, 而是其荧光, 所以光源起到的是激发作用, 而非照明。由此看出, 荧光显微镜的主要特点在于其光源, 按激发光照射的方式, 有透射和落射 2 种。荧光显微镜的结构和主要部件 (图 1-1-7A) 包括以下几部分。

(1) 光源。荧光显微镜一般采用 200W 的超高压汞灯作为光源, 由石英玻璃制作, 超高压汞灯发射很强的紫外和蓝紫光, 足以激发各类荧光物质。另外超高压汞灯工作时散发出大量热能, 因此, 灯室必须有良好的散热条件。

(2) 滤色系统。滤色系统是荧光显微镜的重要部件, 由激发滤板和压制滤板组成。根据光源和荧光色素的特点, 激发滤板分为 3 类: 紫外光激发滤板、蓝光激发滤板和紫蓝光激发滤板, 分别可以提供一定波长范围的激发光。压制滤板的作用是完全阻挡激发光通过, 提供相应波长范围的荧光, 与激发滤板相对应, 有 3 种压制滤板: 紫外光压制滤板、蓝光压制滤板和紫蓝光压制滤板。

(3) 反光镜。反光镜的反光层一般是镀铝的, 因为铝对紫外光和可见光的蓝紫区吸收少, 反射达 90% 以上 (银的反射只有 70%)。一般使用平面反光镜。

(4) 聚光镜。专为荧光显微镜设计制作的聚光镜是用石英玻璃或其他透紫外光的玻璃制成, 分明视野聚光镜和暗视野聚光镜 2 种。

(5) 物镜。各种物镜均可应用, 但最好用消色差的物镜, 因其自体荧光极微, 且透光性能 (波长范围) 更适合于荧光。