



普通高等教育“十二五”规划建设教材

微生物学实验教程

wei sheng wu xue shi yan jiao cheng

宋 渊 主 编



中國農業大學出版社

ZHONGGUONONGYEDAXUE CHUBANSHE

普通高等教育“十二五”规划建设教材

微生物学实验教程

宋 渊 主编

中国农业大学出版社

• 北京 •

内 容 提 要

本实验教程共选择编写了 35 个微生物学实验,内容可区分为 3 个部分:第一部分是微生物形态特征的观察,包括细菌的各种染色实验和培养特征的观察,放线菌、酵母菌和霉菌个体形态和培养特征的观察等。第二部分是微生物的生理实验,包括环境、化学因子等对微生物生长的影响、微生物对大分子物质的利用、糖发酵实验、生长曲线测定、厌氧培养技术等。第三部分是应用实验,包括土壤微生物的分离与活菌计数、微生物菌种的保藏、甜米酒和酸奶的制作、食品中大肠菌群的检测、水污染指示菌的检测、固氮菌和根瘤菌的分离、食用菌的栽培等。

本教材可作为普通高等院校生物、农学、植保、园艺、环境、林学、草业、食品等专业的教学用书。

图书在版编目(CIP)数据

微生物学实验教程/宋渊主编. —北京:中国农业大学出版社,2012.5
ISBN 978-7-5655-0519-5

I. ①微… II. ①宋… III. ①微生物学-实验-教材 IV. ①Q93-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2012)第 045961 号

书 名 微生物学实验教程

作 者 宋 渊 主 编

责任编辑 张秀环 杨晓昱

封面设计 郑 川

出版发行 中国农业大学出版社

社 址 北京市海淀区圆明园西路 2 号

电 话 发行部 010-62818525,8625

编辑部 010-62732617,2618

网 址 <http://www.cau.edu.cn/caup>

经 销 新华书店

印 刷 北京时代华都印刷有限公司

版 次 2012 年 5 月第 1 版 2012 年 5 月第 1 次印刷

规 格 787×980 16 开本 11.25 印张 200 千字

定 价 18.00 元

责任校对 陈 莹 王晓凤

邮政编码 100193

读者服务部 010-62732336

出 版 部 010-62733440

E-mail cbsszs @ cau.edu.cn

图书如有质量问题本社发行部负责调换

编 审 人 员

主 编 宋 渊

副主编 范君华 李炳学

编 者 (按姓氏拼音顺序排列)

范君华(塔里木大学)

辜运富(四川农业大学)

李炳学(沈阳农业大学)

宋 鹏(河南科技大学)

宋 渊(中国农业大学)

咸洪泉(青岛农业大学)

赵 艳(海南大学)

主 审 王贺祥

前 言

《微生物学实验教程》是一本介绍微生物学基本实验和操作的实验教程,适用于生物、农学、园艺、植保、土化、环境、林学、草业、食品等相关专业。

由于微生物体积微小,其实验方法不同于其他的生物学实验,因此在本实验教程的编写过程中,注重突出基础微生物学实验的特点,同时考虑到本实验教程的应用范围,也增加了在农学、环境、食品等方面的内容。教程编写力求简洁、实用性强。

参加本书编写工作的都是长期从事微生物学教学工作的教师,中国农业大学宋渊教授(任主编)编写实验四、十三、三十五和附录部分,塔里木大学范君华副教授(任副主编)编写实验一、八、十二、二十四、二十八和三十四,沈阳农业大学李炳学副教授(任副主编)编写实验二、九、十、二十五、二十六和二十七,四川农业大学辜运富讲师编写实验五、七、二十三、三十二和三十三,河南科技大学宋鹏讲师编写实验三、十五、十七、二十、二十一、二十二和三十一,青岛农业大学咸洪泉副教授编写实验十六、十八和十九,海南大学赵艳讲师编写实验六、十一、十四、二十九和三十。全书由宋渊和范君华统稿。

本教材在编写过程中,引用了一些相关的书刊和网站资料,王贺祥教授对书稿进行了审定,在此表示衷心的感谢。

由于编写时间仓促,作者水平有限,书中难免存在不足,恳请广大读者批评指正,以便今后进一步修订完善。

编 者

2012 年 1 月

目 录

微生物学实验室基本要求	1
实验一 环境中的微生物检测	2
实验二 光学显微镜的使用	5
实验三 细菌的简单染色及菌落特征观察	13
实验四 细菌的革兰氏染色	17
实验五 细菌的荚膜染色	20
实验六 细菌的芽孢染色	22
实验七 细菌的运动观察和鞭毛染色	25
实验八 放线菌的形态及菌落特征观察	28
实验九 酵母菌的形态及菌落特征观察	32
实验十 微生物细胞的显微镜下直接计数	36
实验十一 微生物细胞大小的测定	40
实验十二 丝状真菌的形态及菌落特征观察	45
实验十三 噬菌体效价的测定	50
实验十四 培养基的制备	53
实验十五 灭菌技术	63
实验十六 环境因子对微生物生长的影响	69
实验十七 化学药剂对微生物生长的影响	73
实验十八 大分子物质水解实验	76
实验十九 糖发酵实验	79
实验二十 细菌鉴定中常用的生理生化反应	81
实验二十一 细菌生长曲线的测定	85
实验二十二 微生物的厌氧培养技术	88

2 微生物学实验教程

实验二十三	土壤微生物的分离、纯化与活菌计数·····	92
实验二十四	微生物菌种的保藏·····	97
实验二十五	甜米酒的酿造·····	103
实验二十六	酸奶的制作·····	106
实验二十七	泡菜的制作及乳酸菌的分离·····	109
实验二十八	食品中大肠菌群的测定·····	112
实验二十九	水污染指示菌的检测·····	117
实验三十	活性污泥菌胶团及生物相观察·····	128
实验三十一	自生固氮菌的分离与纯化·····	133
实验三十二	豆科植物根瘤菌的分离·····	135
实验三十三	豆科植物根瘤菌的结瘤实验·····	137
实验三十四	食用菌母种、原种和栽培种的制作·····	140
实验三十五	平菇袋料栽培及出菇过程观察·····	147
附录 I	教学常用菌种·····	150
附录 II	教学常用染色剂及封片剂·····	153
附录 III	教学常用培养基·····	157
附录 IV	教学常用消毒剂·····	167
参考文献	·····	169

微生物学实验室基本要求

在进行微生物学实验时,一个基本要求是无菌操作,即在实验过程中,要求避免与实验无关的微生物(我们通常称为杂菌)对我们正在研究的微生物产生污染。由于微生物非常微小,肉眼看不见,这就需要有特殊的实验室要求和实验操作要求,因此在进行微生物学实验时要求做到以下几点。

1. 平时注意保持实验室的整洁,废弃的实验用品应尽快清理出实验室。
2. 进入实验室后应尽量避免随意走动,不要大声交谈,保持室内安静。
3. 无菌操作室要定期消毒,不能随意进入。
4. 接种时,应严格遵守无菌操作规程,不要讲话。接种用的接种环、接种针及其他带菌用具,使用前后都应经火焰灭菌和放在指定的消毒器皿内,不要随意放置。
5. 勿将实验菌液洒在桌上或地上,如有菌液污染桌面或地面时,不要随便涂抹,应用 75% 酒精或 5% 石炭酸溶液消毒后再进行清理。
6. 实验过程中注意防火安全,万一遇有打翻酒精灯或酒精瓶,引起火险,应首先关闭电源,隔绝空气,再用湿布或沙土掩盖灭火,必要时用灭火器。
7. 实验废弃的菌种或带菌器皿灭菌后再进行清理。
8. 实验结束后,将手洗净,离开实验室前检查水电、门窗是否关好。

实验一 环境中的微生物检测

在我们生活的环境中,存在着无数的微生物。由于微生物个体微小、构造简单,单个微生物细胞很难用肉眼观察到,因此我们常常忽略它们的存在。但是,如果我们提供给微生物一个合适的生长基质,微生物就可以在基质表面大量繁殖,形成肉眼可见的微生物群体。

一、实验目的

1. 证明在我们生活的环境中存在许多微生物,充分认识微生物在自然界分布的广泛性。
2. 比较来自不同场所微生物的数量和类型。
3. 观察不同类群微生物的菌落形态特征。
4. 体会无菌操作在微生物实验中的重要性。

二、实验原理

培养基含有微生物生长所需要的营养成分,当微生物接种于培养基上,在一定的温度下培养,经过一段时间,一个微生物菌体细胞通过多次细胞分裂繁殖,就能形成一个肉眼可见的细胞群体。根据这一原理,我们可以将某一个样品,接种到一个平板培养基的表面,样品中的微生物就可以利用培养基中的营养物质生长繁殖,形成一个我们肉眼可见的微生物群体。每一种微生物所形成的群体都有它自己的特点,根据微生物群体的特点,我们可以初步辨别出细菌、放线菌、酵母菌和霉菌。

三、实验材料与用品

培养基:牛肉膏蛋白胨琼脂培养基(也称细菌营养琼脂),150 mL 分装于300 mL 三角瓶内。

器皿及材料:5套无菌培养皿、酒精灯、记号笔、棉签或牙签、火柴、镊子等。

仪器与设备:恒温培养箱。

四、实验内容与方法

(一)制备培养基平板

点燃酒精灯,取 5 套无菌培养皿,再取一瓶已经融化并冷却到 50°C 左右的牛肉膏蛋白胨琼脂培养基,按照无菌操作的要求,一般右手拿三角瓶,左手拔去棉塞,在酒精灯火焰上迅速轻烧瓶口,边烧边转动,进行瓶口的灭菌。左手拿培养皿,用大拇指和食指打开培养皿盖,迅速倒入约 15 mL 培养基,盖上皿盖,轻轻转动混匀,平放待其凝固后使用(图 1-1)。

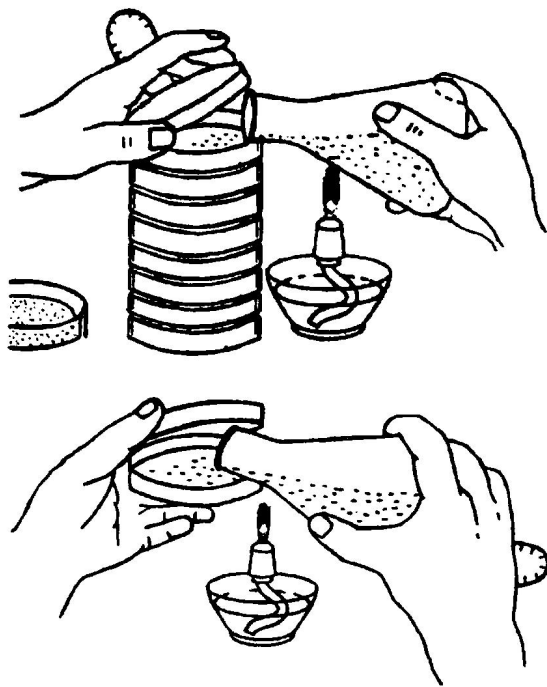


图 1-1 平板培养基制备示意图

按无菌操作的要求,整个操作过程都应在酒精灯的火焰周围进行。

(二)环境中微生物的检测

1. 培养皿标记 在操作前用记号笔在培养皿底面上先做上标记,标记上班级、姓名、日期、样品来源、处理方法等。标记一般写在皿底上,如果写在皿盖上,打开皿盖时,容易混淆,且标记最好写在皿底的一边,不要写在中间,以免影响观察。

2. 环境中的微生物检测 其中一个培养皿不打开,注明为对照(CK)。其余培

养皿根据检测对象的不同,可以选择不同的处理方法,举例如下。

(1)空气中的微生物:打开一个培养皿盖,使其暴露在空气中 15~20 min,然后盖上皿盖。

(2)人体表面微生物:在一个培养基的表面按一个手印,或手指在培养基表面轻轻地来回划几道线;也可取一根头发置于培养基表面,或用头发在培养基表面轻轻地来回划线等。

(3)人体内微生物:咳嗽,打开培养皿,对着培养基表面用力咳嗽,然后盖上皿盖;或用棉签蘸少量鼻腔内容物,在培养基表面轻轻划线;或用牙签取一点牙垢,在培养基表面轻轻划线等。

(4)土壤中的微生物:取少量土壤,轻轻撒在培养基表面。

(5)水体中的微生物:取一滴污水,滴在培养基表面。

处理完毕后,将所有培养皿倒置,放入恒温培养箱中,28℃培养,1~7 d 观察。

五、作业与思考题

1. 记录各处理的观察结果。

观察各培养皿有无微生物生长,有多少不相同类型微生物菌落或菌苔,它们的大小、形态、颜色、表面特征如何,将观察结果记录于表 1-1 中。

表 1-1 环境中微生物检测结果

处理	菌落或菌苔数(个)	简 要 描 述
CK		
No. 1		
No. 2		
No. 3		
No. 4		

2. 实验中为什么要设对照,比较对照培养皿与处理培养基的结果,说明了什么?

3. 比较不同处理的结果,哪一个处理的菌落(和菌苔)数与类型最多? 说明什么?

4. 在微生物的培养过程中,为什么要将培养皿倒置?

5. 通过本次实验,谈谈你对无菌操作的认识?

实验二 光学显微镜的使用

显微镜是微生物学研究的重要工具,借助显微镜我们可以观察到微生物。普通光学显微镜利用目镜和物镜两组透镜系统放大成像,故称为复式显微镜。显微镜是一种精密的光学仪器,学会正确使用和保养显微镜,尤其是油镜的使用和保养。

一、实验目的

1. 了解普通光学显微镜的基本构造和工作原理。
2. 学习显微镜的正确使用方法和保养,使用油镜观察细菌个体形态。

二、实验原理

普通光学显微镜由机械装置和光学系统两大部分组成。

(一)显微镜的机械装置

显微镜的机械装置包括镜座、镜筒、物镜转换器、载物台、推动器、粗动(调节)螺旋、微动(调节)螺旋等部件(图 2-1)。

1. 镜座 镜座是显微镜的基本支架,它由底座和镜臂两部分组成。在它上面连接有载物台和镜筒,它是用来安装光学放大系统部件的基础。

2. 镜筒 镜筒上接目镜(也称接目镜),下接物镜转换器,形成接目镜与物镜(也称接物镜,装在转换器下)间的暗室。

从物镜的后缘到镜筒尾端的距离称为机械筒长。因为物镜的放大率是对一定的镜筒长度而言的,镜筒长度的变化,不仅放大倍率随之变化,而且成像质量也受到影响。因此,使用显微镜时,不能任意改变镜筒长度。国际上将显微镜的标准筒长定为 160 mm,此数字标在物镜的外壳上。

3. 物镜转换器 物镜转换器上可安装 3~4 个物镜,转动转换器,可以按需要将其中的任何一个物镜和镜筒接通,与镜筒上面的目镜构成一个放大系统。

4. 载物台 载物台中央有一孔,为光线通路。在台上装有弹簧标本夹和推动器,其作用为固定或移动标本的位置,使得镜检对象恰好位于视野中心。

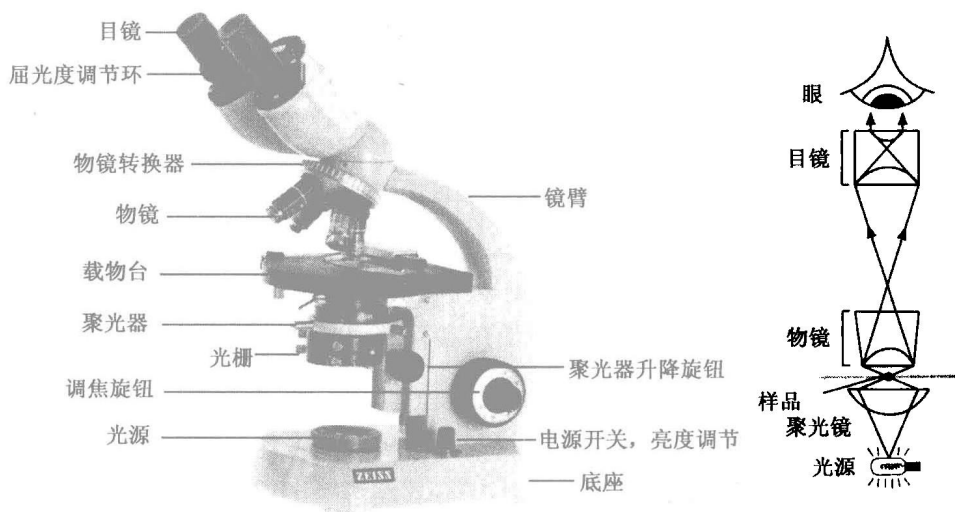


图 2-1 光学显微镜的构造及其成像原理

5. 推动器 是移动标本的机械装置,它是由一横一纵两个推进齿轴的金属架构成的,档次较高的显微镜在纵横架杆上刻有刻度标尺,构成很精密的平面坐标系。如果我们须重复观察已检查标本的某一部分,在第一次检查时,可记下纵横标尺的数值,以后按数值移动推动器,就可以找到原来标本的位置。

6. 粗动螺旋 粗动螺旋是调节物镜与标本间距离的机件。调节物镜与标本间的距离可以有 2 种方式:调节镜筒的升降或调节载物台的升降。老式显微镜多采用调节镜筒升降的方式,粗动螺旋向前扭,镜筒和物镜下降接近标本。新近产的显微镜多采用调节载物台升降的方式。镜检时,向前扭动粗动螺旋,载物台上升,让标本接近物镜,反之则下降,标本脱离物镜。

7. 微动螺旋 粗动螺旋只可以粗放地调节焦距,要得到最清晰的物像,需要用微动螺旋做进一步调节。微动螺旋每转一圈镜筒移动 0.1 mm ($100\text{ }\mu\text{m}$)。新近产的较高档次的显微镜的粗动螺旋和微动螺旋是共轴的。

(二)显微镜的光学系统

显微镜的光学系统由反光镜(或光源)、聚光器、物镜、目镜组成,光学系统使物体放大,形成物体放大像(图 2-1)。

1. 反光镜或光源 较早的普通光学显微镜是用自然光检视物体,在镜座上装有反光镜。反光镜是由一平面和另一凹面的镜子组成,可以将投射在它上面的光线反射到聚光器透镜的中央,照明标本。新近出产的较高档次的显微镜上都装有

光源,并有电流调节旋钮,可通过调节电流大小调节光照强度。

2. 聚光器 聚光器在载物台下面,它是由聚光透镜、虹彩光圈和升降螺旋组成的。聚光器可分为明视场聚光器和暗视场聚光器,普通光学显微镜配置的都是明视场聚光器。

聚光器安装在载物台下,其作用是将光源(或经反光镜反射来)的光线聚焦于样品上,以得到最强的照明,使物像获得明亮清晰的效果。聚光器的高低可以调节,使焦点落在被检物体上,以得到最大亮度。一般聚光器的焦点在其上方 1.25 mm 处,而其上升限度为载物台平面下方 0.1 mm。因此,要求使用的载玻片厚度应在 0.8~1.2 mm,否则被检样品不在焦点上,影响镜检效果。聚光器透镜组前面还装有虹彩光圈,它可以开大和缩小,影响成像的分辨力和反差。升降螺旋用于调节聚光器的升降。

3. 物镜 安装在镜筒前端转换器上的接物透镜,利用光线使被检物体第一次造像。物镜成像的质量,对分辨力有着决定性的影响。物镜的性能取决于物镜的数值孔径(numerical aperture,简称为 NA),每个物镜的数值孔径都标在物镜的外壳上,数值孔径越大,物镜的性能越好。

物镜的种类很多,可从不同角度来分类:

根据物镜前透镜与被检物体之间的介质不同,可分为:

(1)干燥系物镜 以空气为介质,如常用的放大率 $40\times$ 以下的物镜,数值孔径均小于 1。

(2)油浸系物镜 此物镜也称油镜,常以香柏油为介质,其放大率为 $90\sim 100\times$,数值孔径大于 1。

根据物镜放大率的高低,可分为:

(1)低倍物镜 指放大率为 $1\sim 6\times$,数值孔径值为 0.04~0.15 的物镜。

(2)中倍物镜 指放大率为 $6\sim 25\times$,数值孔径值为 0.15~0.40 的物镜。

(3)高倍物镜 指放大率为 $25\sim 63\times$,数值孔径值为 0.35~0.95 的物镜。

(4)油浸物镜 指放大率为 $90\sim 100\times$,数值孔径值为 1.25~1.40 的物镜。

4. 目镜 目镜的作用是把物镜放大的实像再放大一次,并把物像映入观察者的眼中。普通光学显微镜常用的目镜为惠更斯目镜(huygens eyepiece),它的结构较物镜简单,由两片未经过色差校正的凸透镜组成,上端的一块透镜称“目透镜”,下端的透镜称“场透镜”,在两块透镜之间的目透镜焦平面上放一光栏,把显微刻度尺(目镜测微尺)放在此光栏上,从目镜中可观察到叠加在物像上的刻度。由于惠更斯目镜没有校正像差,只适合与低、中倍消色差物镜配合使用,它的放大倍数一般不超过 15 倍,性能更好的目镜有:补偿目镜(K)、平场目镜(P)、广视场目镜

(WF), 照相时选用照相目镜(NFK)。

(三)显微镜的性能

显微镜分辨能力的高低决定于光学系统的各种条件。被观察的物体必须放大率高,而且清晰。物体放大后,能否呈现清晰的细微结构,首先取决于物镜的性能,其次为目镜和聚光镜的性能。

1. 数值孔径(NA) 也称镜口率(或开口率),在物镜和聚光器上都标有它们的数值孔径,数值孔径是物镜和聚光器的主要参数,也是判断它们性能的最重要指标。数值孔径与显微镜的各种性能有密切的关系,它与显微镜的分辨力成正比,与焦深成反比,与镜像亮度的平方根成正比。

数值孔径可用下式表示:

$$NA = n \cdot \sin \frac{\alpha}{2}$$

式中: n 是物镜与标本之间的介质折射率, α 是物镜的镜口角,即从物镜前发光点发出的光线与物镜透镜有效直径边缘所张的角度(图 2-2)。

干燥物镜的数值孔径总是小于 1,一般为 0.05~0.95,油浸物镜(如用香柏油,折射率为 1.52)理论上数值孔径最大可接近 1.5。但从实际的透镜制造技术看,是不可能达到这一极限的。通常在实用范围内,高级油浸物镜的最大数值孔径是 1.4。

几种常见介质的折射率:空气为 1.00、水为 1.33、石蜡油为 1.46、甘油为 1.47、香柏油为 1.52、各种玻璃的折射率在 1.5~1.7。介质折射率对物镜光线通路的影响见图 2-3。

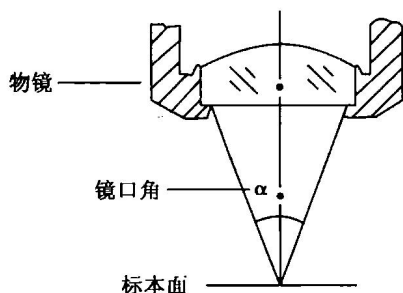


图 2-2 物镜的光线入射角

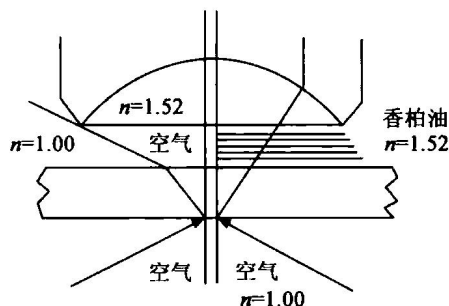


图 2-3 干燥物镜和油浸物镜光线通路

2. 分辨力(D) 指显微镜能分辨出两点间的最小距离,也称分辨率,显微镜优

劣主要决定于分辨力。

显微镜的分辨力决定于光的波长和物镜的数值孔径,可用下式表示:

$$D = \frac{\lambda}{2NA}$$

可见光的波长为 $0.4 \sim 0.7 \mu\text{m}$, 平均波长为 $0.55 \mu\text{m}$ 。若用数值孔为 0.65 的物镜, 则 $D = 0.55 \div (0.65 \times 2) = 0.42(\mu\text{m})$ 。这表示被检物体在 $0.42 \mu\text{m}$ 以上时可被观察到, 若小于 $0.42 \mu\text{m}$ 就不能视见。如果使用数值孔径为 1.25 的物镜, 则 $D = 0.55 \div (1.25 \times 2) = 0.22(\mu\text{m})$, 即被检物体大于这个数值, 均能视见。

3. 放大率 显微镜放大物体, 首先经过物镜第一次放大造像, 目镜在明视距离造成第二次放大像。放大率就是最后的像和原物体两者体积大小之比例。显微镜的放大率(V)等于物镜放大率(V_1)和目镜放大率(V_2)的乘积, 即 $V = V_1 \times V_2$ 。

4. 焦深 在显微镜下观察一个标本时, 焦点对在某一像面时, 物像最清晰, 这像面为目的面。在视野内除目的像面外, 还能在目的面的上面和下面看见模糊的物像, 这两个面之间的距离称为焦深。物镜的焦深和数值孔径及放大率成反比: 即数值孔径和放大率愈大, 焦深愈小。因此, 调节油镜比调节低倍镜要更加仔细, 物像容易滑过而找不到。

(四) 光学显微镜的成像原理

图 2-1 是显微镜的成像原理。在显微镜的光学系统中, 物镜的性能最为关键, 它直接影响着显微镜的分辨力。而在普通光学显微镜通常配置的几种物镜中, 油镜的放大倍数最大, 对微生物学研究最为重要。与其他物镜相比, 油镜的使用比较特殊, 需在载玻片与镜头之间滴加香柏油。

油镜的放大倍数可达 $100\times$, 放大倍数这样大的镜头, 焦距很短, 直径很小, 但所需要的光照强度却最大。从承载标本的玻片透过来的光线, 因介质密度不同(从玻片进入空气, 再进入镜头), 有些光线会因折射或全反射, 不能进入镜头, 致使在使用油镜时会因射入的光线较少, 物像显现不清。所以为了不使通过的光线有所损失, 在使用油镜时须在油镜与载玻片之间加入与玻璃的折射率相仿的香柏油。

三、实验材料与用品

染色标本片: 大肠杆菌(*Escherichia coli*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)和枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)染色标本片。

器皿及材料: 香柏油、二甲苯、擦镜纸等。

仪器与设备: 光学显微镜。

四、实验内容与方法

(一)观察前的准备

1. 显微镜的安置 置显微镜于平整的实验台上,镜座距实验台边缘 3~4 cm。镜检时姿势要端正。

取放显微镜时应一手握住镜臂,一手托住底座,使显微镜保持直立、平稳。切忌用单手拎提,且不论使用单筒显微镜或双筒显微镜均应双眼同时睁开观察,以减少眼睛疲劳,也便于边观察边绘图或记录。

2. 光源调节 正确的照明是获得良好检查效果的前提条件。晴天对着窗户的散射阳光是很好的光源,但应避免强烈的直射光。在光线不足时,可用 8~30 W 的日光灯或特制的显微镜灯作光源。普通灯泡的光,因有黄色光而影响观察,需在聚光器下加放一块蓝色滤光片。

调节光照的一般步骤如下。

(1)将低倍物镜旋到镜筒下方,旋转粗动螺旋,使镜头和载物台相距 0.5 cm 左右。

(2)上升聚光器,使之与载物台相距 1 cm 左右。

(3)左眼看目镜,调节反光镜镜面角度(在天然的光线下观察,一般用平面反光镜,若以灯光为光源,一般多用凹面反光镜)。开闭光栅,调节光线强弱,直至视野内得到最均匀、最适宜的照明为止。一般使用油镜检查时,光度宜强,可将光栅开大,聚光器上升到最高处,用凹面反光镜。

现在自带光源的双(目镜)筒显微镜得到了普遍使用,使用这种显微镜时,光源的调节可通过底光源调节旋钮,聚光器升降和光栅开闭进行。

3. 调节双筒显微镜的目镜间距和屈光度 双筒显微镜在使用时要注意调节双筒之间的距离,使视野重合为一个。由于我们双眼视力存在差异,双筒显微镜在设计上左侧镜筒设有屈光度调节环,可根据我们每个人的具体情况进行调节,达到双眼的最佳观察效果。

4. 聚光器数值孔径值的调节 调节聚光器虹彩光圈值与物镜的数值孔径值相符或略低。有些显微镜的聚光器只标有最大数值孔径值,而没有具体的光圈数刻度。使用这种显微镜时可在样品聚焦后取下一目镜,从镜筒中看着视野,同时缩放光圈,调整光圈的边缘与物镜边缘黑圈相切或略小于其边缘。因为各物镜的数值孔径值不同,所以每转换一次物镜都应进行这种调节。

在聚光器的数值孔径值确定后,若需改变光照强度,可通过升降聚光器或改变光源的亮度来实现,原则上不应再通过虹彩光圈的调节。当然,有关虹彩光圈、聚