



现代发酵工程

实验指导

XIANDAI FAJIAO
GONGCHENG
SHIYAN ZHIDAO

李 进 吴冬梅 梁丽静 邓 岳 / 著



电子科技大学出版社

现代发酵工程

实验指导

常州大学图书馆
藏书章
XIANDAI FAJIAO
GONGCHENG
SHIYAN ZHIDAO

李 进 吴冬梅 梁丽静 邓 岳 / 著



电子科技大学出版社

图书在版编目(CIP)数据

现代发酵工程实验指导 / 李进等著. -- 成都 : 电子科技大学出版社, 2017.5

ISBN 978-7-5647-4319-2

I. ①现… II. ①李… III. ①发酵工程 - 实验 - 高等教育 - 教学参考资料 IV. ①TQ92-33

中国版本图书馆CIP数据核字(2017)第081468号

现代发酵工程实验指导

李 进 吴冬梅 梁丽静 邓 岳 著

出 版: 电子科技大学出版社(成都市一环路东一段159号电子信息产业大厦
邮编: 610051)

策划编辑: 万晓桐

责任编辑: 万晓桐

主 页: www.uestp.com.cn

电子邮箱: uestp@uestp.com.cn

发 行: 新华书店经销

印 刷: 四川煤田地质制图印刷厂

成品尺寸: 170mm × 240mm 印张: 10 字数: 164千

版 次: 2017年5月第一版

印 次: 2017年5月第一次印刷

书 号: ISBN 978-7-5647-4319-2

定 价: 26.00元

■ 版权所有 侵权必究 ■

- ◆ 本社发行部电话:028-83202463;本社邮购电话:028-83201495。
- ◆ 本书如有缺页、破损、装订错误,请寄回印刷厂调换。

第一章 微生物培养技术	1
实验一 显微镜的使用与微生物形态观察	6
实验二 细菌的革兰氏染色	10
实验三 微生物细胞大小测定和浓度测定	11
实验四 环境中空气质量状况分析	15
实验五 酵母菌的形态观察	17
第二章 发酵菌种选育	21
实验一 产淀粉酶菌株的诱变育种	21
实验二 排斥美兰放线菌的筛选	30
实验三 土壤中放线菌的分离与纯化	34
实验四 发酵菌种的自然选育	40
实验五 质粒的制备	43
实验六 DNA 的琼脂糖凝胶电泳	45
实验七 外源 DNA 片段在质粒载体中的克隆	47
实验八 感受态细胞的制备	49
实验九 质粒的转化及转化子的鉴定	52
实验十 PCR 技术操作	54
第三章 发酵培养基制备与优化	56
实验一 培养器皿的洗涤与环境的消毒及培养基母液的配制	65
实验二 培养基的制备与灭菌	67



实验三	正交实验设计优化微生物(酵母)的培养基	72
实验四	植物组培培养基母液的配制	74
实验五	植物组织培养的培养基配制、分装与灭菌	79
第四章	发酵工程技术	81
实验一	淀粉酶产生菌发酵实验	81
实验二	生物发酵罐的操作实验	83
实验三	流加培养酵母菌及其动力学参数的检测	83
实验四	土霉素摇瓶发酵实验(设计型实验)	88
实验五	亚硫酸钠氧化法测定 k_La	92
实验六	分批培养大肠杆菌及其动力学参数的检测	94
实验七	酵母培养中的基质代谢、呼吸和生长的参数检测与参数 相关分析	99
第五章	综合实验	106
实验一	酸奶的制作	106
实验二	甜酒酿的制作	108
实验三	泡萝卜的制作	109
实验四	橘子酒的制作	111
实验五	葡萄酒酿造实验	112
实验六	醋的酿造	118
实验七	虫草米酒的设计与制作	118
实验八	泡菜中乳酸菌的分离及初步鉴定	129
实验九	毛霉的分离纯化及腐乳制作	136
实验十	小曲制作	139
实验十一	红曲霉液态发酵制备红曲色素	141
附红曲霉相关资料		143
附录		145

第一章 微生物培养技术

一、微生物的接种、分离与纯化

（一）微生物的接种

接种细菌应用接种针（环）来蘸取细菌标本，进行接种。接种环与接种针为用白金丝或合金丝所制，亦可用电炉丝代替，因它能耐高温且散热快，便于接种前后通过火焰灭菌（整个接种环烧红即达到灭菌目的）。在使用接种环时一般用右手持笔式较为方便，左手可持培养基进行配合，其接种程序可分为：灭菌接种环→稍冷→蘸取细菌样品→进行接种（包括：启盖或塞、接种画线、加盖或塞）→进行接种环灭菌五个程序。不同培养基，接种方法也不同，下面进行分述。

1. 平板画线接种法（分离培养法）

是将细菌分离培养的常用技术，其目的是将混有多种细菌的培养物，或标本中不同的细菌（病原菌与非病原菌）使其分散生长，形成单个菌落或分离出单一菌株，便于识别鉴定。平板画线接种方法较多，其中以分段划线法与曲线画线法较为常用。

2. 连续画线法

此法多用于接种材料中含菌数量不太多的样品或培养物。方法是先将样品或培养物涂于平板表面的一角，然后用接种环自样品涂擦处开始，向左右两侧划开并逐渐向下移动，连续划成若干条分散的平等线。

3. 斜面接种植法

此法主要用于移种纯菌，使其增殖后用于鉴定或保存菌种。通常是从平板培养物上挑取某一单独菌落或者从一支已长好的斜面菌种，移种至斜面培



培养基上,接种步骤如下(以从已长好的斜面菌种转接为例):

(1) 左手拿两支试管,一支为经灭菌的斜面,另一支为已长好的菌种。右手持接种环或接种针通过火焰灭菌后放冷,并同时以右手小指和无名指轻轻拔取两支试管的棉塞或试管帽(先转动棉塞后拔去),夹持于手指间;

(2) 将试管口通过火焰数次,并稍转动,以防止外界的污染;

(3) 首先将接种环伸入有菌试管,使接种环接触菌苔取少量菌,取出接种环,立即将管口通过火焰灭菌后将接种环伸入斜面管内,先从斜面底部到顶端拖一条接种线,再自下而上地蜿蜒涂布,或直接自斜面底部向上蜿蜒涂布。此步注意接种环不可碰试管壁和接种时不要划破培养基;

(4) 烧试管口,塞好棉塞或盖好试管帽,将接种环插到酒精瓶中。

4. 倾注培养法

平板倾注法的基本操作:先往培养皿中倾注一定量的菌液,然后再加入培养基,快速混匀,培养基凝固后,放入培养箱中培养。

5. 穿刺接种法

用接种针蘸取少量的菌种,沿半固体培养基中心向管底作直线穿刺,如某细菌具有鞭毛而能运动,则在穿刺线周围能够生长。在保藏厌氧菌种或研究微生物的动力时常采用此法。做穿刺接种时,用的接种工具是接种针。用的培养基一般是半固体培养基。

(二) 分离与纯化

研究微生物的基本方法。将特定的微生物个体从群体中或从混杂的微生物群体中分离出来的技术叫作分离;在特定环境中只让一种来自同一祖先的微生物群体生存的技术叫作纯化。

分离技术主要是稀释和选择培养。稀释是在液体中或在固体表面上高度稀释微生物群体,使单位体积或单位面积仅存留一个单细胞,并使此单细胞增殖为一个新的群体。最常用的为平板划线法。如果所要分离的微生物在混杂的微生物群体中数量极少或者增殖过慢而难以稀释分离时,需要结合使用选择培养法,即选用仅适合于所要分离的微生物生长繁殖的特殊培养条件来

培养混杂菌体，改变群体中各类微生物的比例，以达到分离的目的。为保证分离到的微生物是纯培养，分离时必须用。

二、生物量检测方法

生物量指生物体的总量。

1. 直接检测法

直接计数测定根据微生物种类，常见的有血球计数板法、细菌计数板法、电子计数器法。

2. 间接检测法

主要包括：比浊法、稀释平板计数法、液体培养稀释计数法、薄膜过滤计数法。

三、菌种保藏法

1. 石蜡油低温保藏法

本方法的原理是在长好的斜面菌上覆盖灭菌的液体石蜡，达到菌体与空气隔绝，使菌处于生长和代谢停止状态，同时石蜡油还防止水分蒸发，在低温下达到较长期的保藏菌种的目的。保藏温度要求在 $-4^{\circ}\text{C} \sim 4^{\circ}\text{C}$ 下。液体石蜡法适用于不产孢子的菌种。具体操作是：菌种为斜面培养菌种，斜面不宜过长；选择纯净优质石蜡油，置三角烧瓶中经过 121°C 高压蒸汽灭菌 $1 \sim 2\text{h}$ ，将其放入烘箱中（ 160°C 左右）干热处理，去除灭菌时渗入的水分，待石蜡油变得清澈透明后冷却即可加入斜面，斜面上不能出现气泡，液蜡添加量以高出斜面顶部约 1cm 为宜。

2. 甘油管冷冻保藏法

本方法适合于中、长期菌种保藏，保藏时间一般为 $2 \sim 4$ 年。

(1) 用火焰灭菌的接种环取斜面菌种在平皿上画线分离单菌落。

(2) 平皿倒置于 30°C 或 37°C 恒温培养箱，培养 $24 \sim 48\text{h}$ ，至单菌落的大小为 3mm 左右。

(3) 挑取一个单菌落，接种于一个装 50mL 的 300mL 三角瓶中 30°C 或



37℃振荡培养10~15h,至菌密度OD₆₀₀为1.0~1.5。

(4) 用火焰灭菌的接种环取少量种子液,涂片后,作革兰氏染色,在显微镜下观察菌体的形态,即是否有杂菌。

(5) 按30%甘油:种子液为1:1(V/V)的量加入无菌甘油,混合后分装至事先灭菌的菌种保存管(1~2mL/管),-70℃或液氮保存。

3. 真空冷冻干燥法

由于在真空冷冻干燥状态下,微生物能保持长时期的活力,并保持遗传性状的稳定性。因此,国内外都很重视这项保藏技术。主要步骤如下。

(1) 安瓿管准备

选取规格约直径为8mm,高100mm的中性玻璃安瓿管,先用2%盐酸浸泡8~10h,再经自来水冲洗多次,用蒸馏水涮洗2~3次,烘干;在每管内放入打好菌号及日期的标签,字面朝向管壁,管口塞好脱脂棉塞,121℃下高压灭菌20min,备用。

(2) 保护剂的选择和准备

选取新鲜牛奶作为保护剂,牛奶要先脱脂,用离心方法去除上层油脂,115℃下高压蒸汽灭菌25min,备用。

(3) 菌种准备及分装

菌种要求为生长良好的纯种,菌龄以处于稳定期为好,孢子是新鲜的。每支长好的斜面加2~3mL保护剂,用接种环将菌苔轻轻刮起(注意勿刮起培养基),制成菌悬液。如用液体培养的菌种,则需经离心收集和用灭菌生理盐水洗涤细胞,收集的菌体用保护剂悬浮制成菌悬液。悬液中菌数要求达到 $10^8 \sim 10^{10}$ 个/mL为宜。悬液制备完成尽快分装和冻结。分装安瓿时可用灭菌的长滴入安瓿管底部,每管分装量约0.1~0.2mL,分装安瓿管时间尽量要短,最好在1~2h内分装完毕并预冻。分装时应注意在无菌条件下操作。

(4) 预冻

-80℃冰箱预冻1~2h。

(5) 冷冻干燥

将冷冻后的样品安瓿管置于冷冻干燥机的干燥箱内,开始冷冻干燥,时

间一般为8~20h。终止干燥时间应根据下列情况判断：①安瓿管内冻干物呈酥块状或松散片状；②真空度接近空载时的最高值；③选用1~2支对照管，其水分与菌悬液同量，视为干燥完结。

(6) 真空封口

将安瓿管颈部棉塞以下处用强火焰，拉细进行熔封。

(7) 保藏

安瓿管保藏在-20℃冰箱里。

(8) 活化

如果要从取出菌种恢复培养，可先用75%酒精将管的外壁消毒，用镊子敲下已开裂的安瓿管的顶端，使管子破裂，在安瓿管中加入0.5~1mL液体培养基，慢慢旋转安瓿管，先冻干菌种复水，然后直接接种到琼脂斜面或涂布平板。

4. 液氮超低温保存

液氮超低温保藏技术是将菌种保藏在-196℃的液态氮，或在-150℃的氮气中的长期保藏方法，它的原理是利用微生物在-130℃以下新陈代谢趋于停止而有效地保藏微生物。操作步骤如下。

(1) 安瓿管或冻存管的准备

用圆底硼硅玻璃制品的安瓿管，或螺旋口的塑料冻存管。注意玻璃管不能有裂纹。将冻存管或安瓿管清洗干净，121℃下高压灭菌15~20min，备用。

(2) 保护剂的准备

保护剂种类要根据微生物类别选择。配制保护剂时，应注意其浓度，一般采用10%~20%甘油。

(3) 微生物保藏物的准备

微生物不同的生理状态对存活率有影响，一般使用静止期或成熟期培养物。装时注意应在无菌条件下操作。菌种的准备可采用下列几种方法：刮取培养物斜面上的孢子或菌体，与保护剂混匀后加入冻存管内；接种液体培养基，振荡培养后取菌悬液与保护剂混合分装于冻存管内；将培养物在平皿培



养，形成菌落后，用无菌打孔器从平板上切取一些大小均匀的小块（直径5~10mm），真菌最好取菌落边缘的菌块，与保护剂混匀后加入冻存管内；在小安瓿管中装1.2~2mL的琼脂培养基，接种菌种，培养2~10d后，加入保护剂，待保藏。

（4）预冻

预冻时一般冷冻速度控制在以每分钟下降1℃为好、使样品冻结到-35℃。目前常用的有三种控温方法：程序控温降温法，应用电子计算机程序控制降温装置，可以稳定连续降温，能很好地控制降温速率；分段降温法：将菌体在不同温级的冰箱或液氮罐口分段降温冷却，或悬挂于冰的气雾中逐渐降温。一般采用两步控温，将安瓿管或塑料小管，先放-20℃~-40℃冰箱中1~2h，然后取出放入液氮罐中快速冷冻。这样冷冻速率大约每分钟下降1℃~1.5℃。对耐低温的微生物、可以直接放入气相或液相氮中。

（5）保藏

将安瓿管或塑料冻存管置于液氮罐中保藏。一般气相中温度为-150℃，液相中温度为-196℃。

（6）复苏方法

从液氮罐中取出安瓿管或塑料冻存管，应立即放置在38℃~40℃水浴中快速复苏并适当摇动。直到内部结冰全部溶解为止，一般约需50~100s。开启安瓿管或塑料冻存管，将内容物移至适宜的培养基上进行培养

实验一 显微镜的使用与微生物形态观察

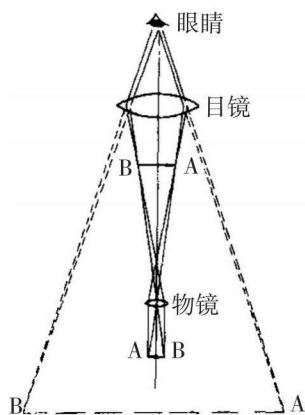
一、实验目的

掌握显微镜低倍镜和高倍镜的使用方法，了解油浸系物镜的基本原理，掌握油浸系物镜的使用方法。

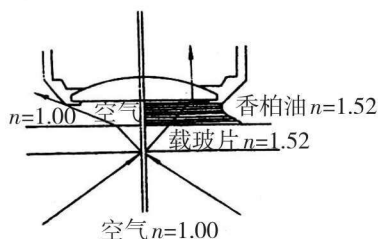
二、实验原理

油镜，即油浸接物镜。当光线由反光镜通过玻片与镜头之间的空气时，由于空气与玻片的密度不同，使光线受到曲折，发生散射，降低了视野的照

明度。若中间的介质是一层油（其折射率与玻片的相近），则几乎不发生折射，增加了视野的进光量，从而使物象更加清晰。当镜与装片之间的介质为空气时，由于空气（ $n=1.52$ ）的折射率不同，光线会发生折射，不仅使进入物镜的光线减少，降低了视野的照明度，而且会减少镜口角。当以香柏油（ $n=1.515$ ）为介质时，由于它的折射率与玻璃相近，光线经过载玻片后可直接通过香柏油进入物镜而不发生折射，不仅增加了视野的照明度，更重要的是通过增加数值孔径达到提高分辨率的目的。可见光的波长平均为 $0.55\mu\text{m}$ 。当使用数值孔径为 0.65 的高倍镜时，它能辨别两点之间的距离为 $0.42\mu\text{m}$ ；而使用数值孔径为 1.25 的油镜时，能辨别两点之间的距离则为 $0.22\mu\text{m}$ 。



光学显微镜的成像原理（倒立的虚像）



介质为空气与介质为香柏油时光线通过的比较

三、实验设备及材料

微生物标本装片、香柏油、二甲苯、光学显微镜、擦镜纸。



四、实验方法与步骤

(一) 观察前的准备

(1) 将显微镜置于平稳的实验台上，镜座距实验台边沿约4cm。坐正后用左眼观察。

(2) 调节光源：将低倍物镜转到工作位置，把光圈完全打开，聚光器升至与载物台相距约1mm。转动反光镜采集光源，光线较强的天然光源宜用平面镜，光线较弱的天然光源或人工光源宜用凹面镜，对光至视野内均匀明亮为止。观察染色装片时，光线宜强；观察未染色装片时，光线不宜太强。

(二) 低倍镜观察染色装片

首先上升镜筒，将枯草芽孢杆菌染色装片置于载物台上，用标本夹夹住，将观察位置移至物镜正下方，物镜降至距装片0.5cm处，适当缩小光圈然后两眼从目镜观察，转动粗调节器使物镜逐渐上升（或使镜台下降）至发现物像时，改用细调节器调节到物像清楚为止。移动装片，把合适的观察部位移至视野中心。

(三) 高倍镜观察

眼睛离开目镜从侧面观察，旋转转换器，将高倍镜转至正下方，注意避免镜头与玻片相撞。再由目镜观察，仔细调节光圈，使光线的明亮度适宜。用细调节器校正焦距使物像清晰为止。将最适宜观察部位移至视野中心，绘图。不要移动装片位置，准备用油镜观察。

(四) 油镜观察

(1) 提起镜筒约2cm，将油镜转至正下方。在玻片标本的镜检部位（镜头的正下方）滴一滴香柏油。

(2) 从侧面注视，小心慢慢降下镜筒，使油镜浸在油中至油圈不扩大为止，镜头几乎与装片接触，但不可压及装片，以免压碎玻片，损坏镜头。

(3) 将光线调亮，左眼从目镜观察，用粗调节器将镜筒徐徐上升（切忌反方向旋转），当视野中有物像出现时，再用细调节器校正焦距。如因镜头下降未到位或镜头上升太快未找到物像，必须再从侧面观察，将油镜降下，

重复操作直至物像看清为止。仔细观察并绘图。

(4) 再次观察 提起镜筒，换上金黄色葡萄球菌染色装片，依次用低倍镜、高倍镜和油镜观察，绘图。重复观察时可比第一次少加香柏油。

(五) 镜检完毕后的工作

(1) 移开物镜镜头。

(2) 取出装片。

(3) 清洁油镜，油镜使用完毕后，须用擦镜纸擦去镜头上的香柏油，再用擦镜纸沾少许二甲苯擦掉残留的香柏油，最后再用干净的擦镜纸擦干残留的二甲苯。

(4) 擦净显微镜，将各部分还原。将接物镜呈“八”字形降下，不可使其正对聚光器，同时降下聚光器，转动反光镜使其镜面垂直于镜座。最后套上镜罩，对号放入镜箱中，置阴凉干燥处存放。

五、思考题

(1) 使用油镜应特别注意哪些问题？为什么必须用香柏油？

(2) 使用显微镜绘图时，眼睛的位置应该如何？

(3) 镜检标本时，为什么先用低倍镜观察，而不是直接用高倍镜或油镜观察？

(4) 转到高倍镜和油镜时，对照明度有何要求？应如何调节？

六、注意事项及其他说明

不准擅自拆卸显微镜的任何部件，以免损坏。

拿显微镜时，一定要右手拿镜臂，左手托镜座，不可单手拿，更不可倾斜拿。

下降镜头时，一定要从侧面注视，切忌用眼睛对着目镜，边观察边下降镜头的错误操作，以免压碎玻片而损坏镜头。

观察标本时，必须依次用低、中、高倍镜，最后用油镜。特别在使用油镜时，切不可使用粗调节器，以免压碎玻片或损伤镜面。使用油镜后，及时用二甲苯清洁油镜和载玻片。注意二甲苯不能过多，以防溶解固定透镜的树脂。



注意保持显微镜的洁净，对金属部分要用软布擦拭，擦镜头必须用擦镜纸，切勿用手或用普通布、纸等，以免损坏镜头。

显微镜应存放在阴凉干燥处，以免镜片滋生霉菌而腐蚀镜片。

七、分析与讨论

使用油镜应特别注意哪些问题？为什么必须用香柏油？

使用显微镜绘图时，眼睛的位置应该如何？

镜检标本时，为什么先用低倍镜观察，而不是直接用高倍镜或油镜观察？

转到高倍镜和油镜时，对照明度有何要求？应如何调节？

实验二 细菌的革兰氏染色

一、实验目的

学习并掌握细菌的革兰氏染色，了解革兰氏染色法的原理及其在细菌分类鉴定中的重要性。

二、实验原理

革兰氏染色法是细菌学中最重要鉴别染色法。革兰氏染色的机理，与细菌细胞壁的化学组成和结构有关。经结晶紫初染以后，所用的细菌都被染成蓝紫色。碘作为媒染剂，它能与结晶紫结合形成复合物，从而增强了染料与细菌的结合力。当用乙醇脱色时，两类细菌的脱色效果是不同的，革兰氏阳性细菌的细胞壁主要由肽聚糖形成的网状结构组成、壁厚、类脂含量低，用乙醇脱色处理时细胞壁脱水、使肽聚糖层的网状结构孔径缩小，透性降低，从而使结晶紫-碘的复合物不易被洗脱而保留在细胞内；革兰氏阴性细菌的细胞壁中肽聚糖层在内层且较薄、类脂含量高，所以当脱色处理时，类脂被乙醇溶解、细胞壁透性增加，使结晶紫-碘的复合物被洗脱出来。用蕃红复染时染上红色。

三、实验设备及材料

菌种：金黄色葡萄球菌（*Staphylococcus aureus*）大肠杆菌（*E.coli*）

试剂：草酸铵结晶紫、路哥氏碘液、95%乙醇、番红液

其他：显微镜、载玻片、接种环、酒精灯、无菌水、香柏油、二甲苯等。

四、实验方法与步骤

(1) 细菌的活化：将细菌接种营养琼脂斜面，培养约24h。

(2) 制片：取菌种培养物常规涂片、干燥、固定。

(3) 初染：于制片上滴加结晶紫染液，染色1min后，用水洗去剩余染料。

(4) 媒染：用碘液冲去残水，并用碘液覆盖约1min，水洗。

(5) 脱色：用滤纸吸去玻片上的残水，将玻片倾斜，在白色背景下，直接用95%乙醇从载玻片上端冲洗脱色，直到流下的酒精无明显的紫色时，立即水洗。酒精的浓度、用量及涂片厚度都会影响脱色速度。脱色是革兰氏染色中最关键的一步。

(6) 复染：滴加番红液，染色2min，水洗。

(7) 用滤纸吸干，油镜镜检。

五、思考题

影响革兰氏染色结果的最关键的因素是什么？

六、注意事项及其他说明

为了保证革兰氏染色结果的正确性，制片过程中要注意：要选用活跃生长的幼培养物作革兰氏染色，涂片不宜过厚，火焰固定不宜过热，脱色时间的控制。另外，可选用标准的革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌和未知菌一起混合涂片和染色。

实验三 微生物细胞大小测定和浓度测定

一、实验目的

了解测量微生物大小的原理；学习并掌握接目镜测微尺的校正方法及微生物大小的测定方法，增强微生物细胞大小的感性认识。



学习并掌握血球计数板计数的原理；掌握利用血球计数板进行微生物计数的方法。

二、实验原理

微生物细胞的大小是微生物基本的形态特征，也是分类鉴定的依据之一。微生物细胞个体较小，需要在显微镜下借助于特殊的测量工具——测微尺来测定其大小。测微尺包括镜台测微尺和目镜测微尺。镜台测微尺是一张中央部分刻有精确等分线的载玻片，专门用于校定接目镜测微尺每小格的相对长度。通常，刻度的总长是1mm，被等分为100格，每格0.01mm（即10 μ m）。镜台测微尺不直接用来测量细胞的大小。目镜测微尺是一块可以放入接目镜的圆形小玻片，其中央有精确的等分刻度，有等分为50小格和100小格的两种。在测量时将目镜测微尺放在目镜的隔板上，即可来测量经显微镜放大后的细胞物象。也有专用的目镜，里面已经安放好了目镜测微尺。由于目镜测微尺所测量的是经显微镜放大后的细胞物象，因此，在不同的显微镜或不同的目镜和物镜组合放大倍数不同，目镜测微尺每一小格所代表的实际长度也不一样。所以，在用目镜测微尺测量微生物大小之前，必须先用镜台测微尺校定目镜测微尺，以确定该显微镜在特定放大倍数的目镜和物镜下，目镜测微尺每一小格所代表的实际长度，然后根据微生物细胞相当于的目镜测微尺格数，计算出微生物细胞的实际大小。

利用血球计数板在显微镜下直接计数，是一种常用的微生物计数方法。该方法是将菌悬液放在血球计数板与盖玻片之间容积一定的计数室中，在显微镜下进行计数，然后根据计数结果计算单位体积内的微生物总数目。血球计数板是一块特制的载玻片，其上由4条槽构成3个平台。中间较宽的平台又被一短横槽隔成两半，每一边的平台上各刻有一个方格网，每个方格网共分为9个大方格，中间的大方格即为计数室。计数室的边长为1mm，中间平台下陷0.1mm，故盖上盖玻片后计数室的容积为0.1mm³。常见血球计数板的计数室有两种规格：一种是16 $\times$ 25型，即计数室共分为16个中方格，每个中方格又分为25个小方格；另一种是25 $\times$ 16型，即计数室先被分成25个中方