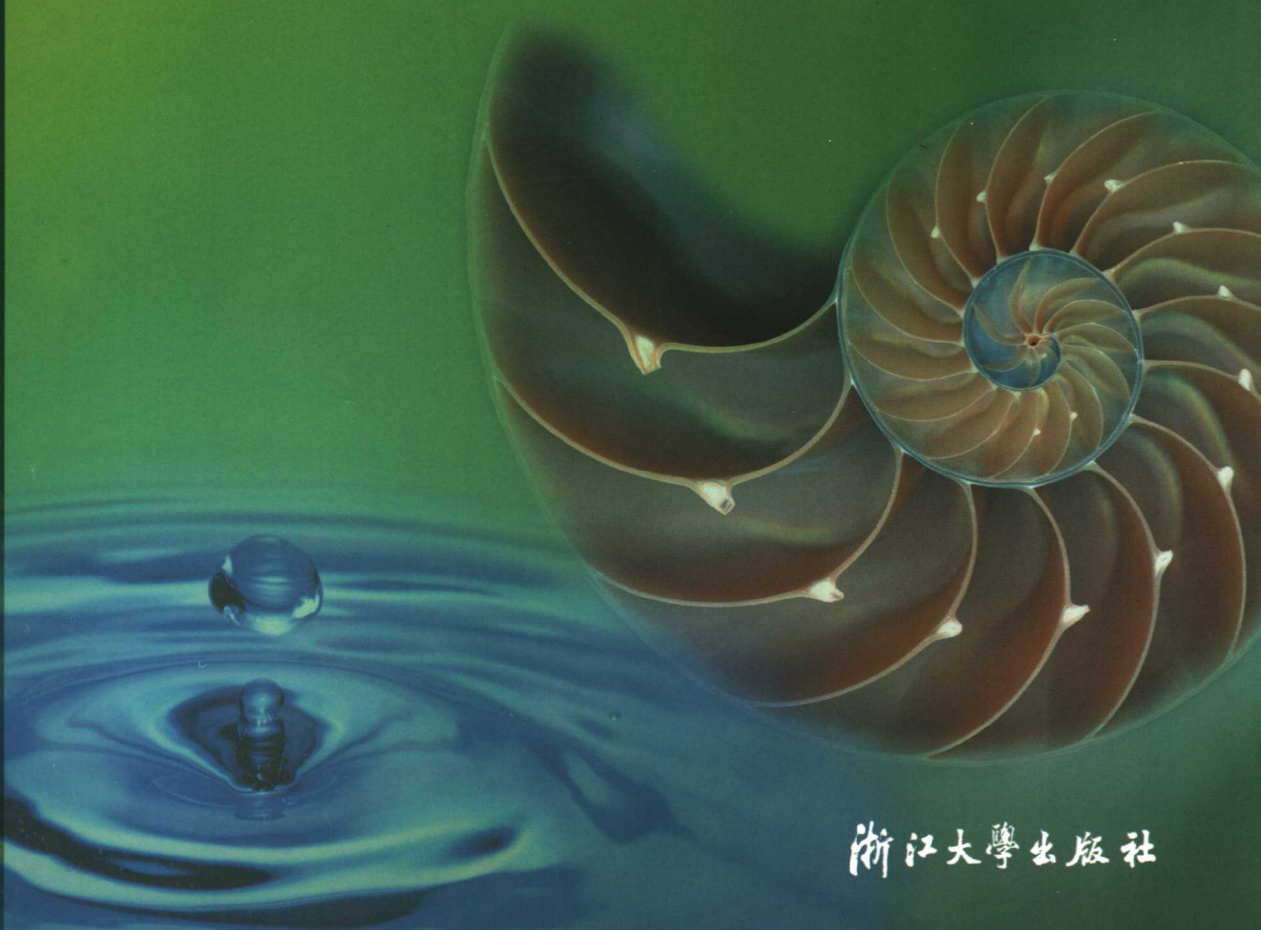


LABORATORY MANUAL FOR ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY

# 环境微生物学 实验指导

郑平主编



浙江大学出版社

# 环境微生物学实验指导

Laboratory Manual for Environmental Microbiology

郑 平 主 编

浙江大學出版社

## 图书在版编目 (CIP) 数据

环境微生物学实验指导 / 郑平主编. —杭州: 浙江大学出版社, 2005. 4

ISBN 7-308-04184-0

I. 环... I. 郑... III. 环境科学: 微生物学—实验—教材 IV. X172—33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2005) 第 028632 号

责任编辑 杜玲玲  
封面设计 刘依群  
出版发行 浙江大学出版社  
(杭州天目山路 148 号 邮政编码 310028)  
(网址: <http://www.zjupress.com>)  
(E-mail: [zupress@mail.hz.zj.cn](mailto:zupress@mail.hz.zj.cn))  
排 版 浙江大学出版社电脑排版中心  
印 刷 德清县第二印刷厂  
开 本 787mm×1092mm 1/16  
印 张 9  
字 数 230 千  
版 印 次 2005 年 4 月第 1 版 2006 年 7 月第 2 次印刷  
印 数 3001—6000  
书 号 ISBN 7-308-04184-0/X·013  
定 价 14.00 元

## 内 容 简 介

本书是环境微生物学的实验教材,供高校开设环境微生物学实验课选用。全书由 11 部分组成,内容包括显微镜使用技术,微生物形态和结构观察,微生物大小和数量测定,无菌操作、接种技术和培养方法,微生物分离与纯化技术,微生物菌种保藏技术,微生物与物质转化,微生物与废水生物处理,活性污泥中微生物多样性分析,微生物与环境监测。本书还可作为高等院校环境科学、环境工程、给水排水、生命科学、微生物学、生物技术等专业的实验教学用书,也可作为相关科技人员的参考书。

# 前 言

微生物学是一门典型的实验学科。在微生物学的发展过程中,每一重大进展无不以实验技术的创新为基础。随着相关学科的广泛渗透和深度融合,微生物学实验技术的发展可谓日新月异,其所发挥的作用越来越大。环境微生物学是微生物学的一个分支,实验环节占有举足轻重的地位。为了配合《环境微生物学》教材(郑平主编,浙江大学出版社,2002),作者选编了《环境微生物学实验指导》,以求课堂教学与实验教学互相促进。

浙江大学于20世纪80年代初开始设立《环境微生物学》课程,历任授课老师都为环境微生物学实验内容的选定花费了大量精力。经过多年的试用、修改和补充,逐渐形成了本校相对稳定的《环境微生物学》实验教学框架。《环境微生物学实验指导》是在前辈们的工作基础上,根据环境微生物学的发展和本科教学的实际需要,经过修改和扩充而成的。它是浙江大学环境微生物教研室全体教师集体智慧的结晶。由于它是本科生的实验教材,因此,选编中兼顾了基本实验技术和最新实验技术,并尽可能做到内容准确,形式规范,通俗易懂。

全书由11个部分33个实验组成。第一部分(实验1—3),第二部分(实验4—6)由郑平和胡宝兰编写,第三部分(实验7—10)由胡宝兰和吴明生编写,第四部分(实验11—13)由胡宝兰和李金页编写,第五部分(实验14—16)由郑平编写,第六部分(实验17)由胡宝兰和郑平编写,第七部分(实验18—20)由郑平编写,第八部分(实验21—22)由胡宝兰和邓良伟编写,第九部分(实验23—25)由胡宝兰、郑平、吴东雷、卢刚编写,第十部分(实验26—29)由刘和与郑平编写,第十一部分(实验30—33)由郑平和胡宝兰编写。全书由郑平负责统稿。

浙江大学教务部和浙江大学出版社对本教材的出版给予了大力支持,在此深表感谢。

由于编者水平有限,错误在所难免,恳请使用者谅解并批评指正。

编 者

2005年3月

# 环境微生物学实验室守则

为了维持环境微生物学实验室的工作秩序,保证环境微生物学实验的教学质量,特制定本守则。

1. 进入环境微生物学实验室的学生必须严格遵守实验室的各项规章制度。
2. 认真预习《环境微生物学实验指导》,明确每次实验的目的、要求、原理和方法,做到心中有数。
3. 仔细观摩实验指导教师的讲解和示范,了解仪器设备的基本性能,掌握实验操作的基本要领,严格按照规程操作。
4. 珍惜每次实验机会,重视各项实验技能,认真观察实验现象,如实做好实验记录。
5. 需集中处理的物品,应注明组别、名称及处理方法,放于教师指定的地方。
6. 实验结束后,做好仪器设备、试剂药品等整理工作,经教师验收后,将仪器设备放回原处。值日学生做好清洁卫生工作。
7. 提倡科学严谨的实验作风。仔细整理实验结果,认真完成实验报告,并将报告按时交给指导教师批阅。
8. 爱护国家财产。如因违规操作而损坏仪器设备,须按学校有关规定赔偿。
9. 保持实验室安静,维护实验室整洁。

# 目 录

<b>第一部分 显微镜使用技术</b> .....	1
实验 1 普通光学显微镜的使用 .....	1
实验 2 相差显微镜的使用 .....	8
实验 3 荧光显微镜的使用 .....	13
<b>第二部分 微生物形态和结构观察</b> .....	16
实验 4 细菌染色和形态结构观察 .....	16
实验 5 放线菌形态和结构观察 .....	24
实验 6 真菌形态和结构观察 .....	26
<b>第三部分 微生物大小和数量测定</b> .....	32
实验 7 微生物细胞大小的测定 .....	32
实验 8 微生物细胞的显微直接计数 .....	35
实验 9 微生物细胞的稀释平板计数 .....	37
实验 10 微生物细胞的稀释培养计数(MPN) .....	40
<b>第四部分 培养基配制和灭菌消毒</b> .....	45
实验 11 培养基种类与配制程序 .....	45
实验 12 细菌、放线菌和霉菌培养基的配制 .....	51
实验 13 培养基及器皿的消毒和灭菌 .....	54
<b>第五部分 无菌操作、接种技术和培养方法</b> .....	59
实验 14 无菌操作 .....	59
实验 15 接种技术 .....	62
实验 16 培养方法 .....	66
<b>第六部分 微生物分离与纯化技术</b> .....	70
实验 17 从土壤中分离微生物 .....	70

<b>第七部分 微生物菌种保藏技术</b> .....	76
实验 18 菌种简易保藏 .....	76
实验 19 菌种冷冻真空干燥保藏 .....	79
实验 20 菌种液氮超低温冷冻保藏 .....	81
<b>第八部分 微生物与物质转化</b> .....	84
实验 21 不含氮有机物的微生物降解 .....	84
实验 22 含氮化合物的微生物转化 .....	86
<b>第九部分 微生物与废水生物处理</b> .....	90
实验 23 活性污泥及其生物相的观察 .....	90
实验 24 活性污泥代谢活性测定 .....	99
实验 25 厌氧活性污泥代谢活性测定 .....	103
<b>第十部分 活性污泥中微生物多样性分析</b> .....	106
实验 26 活性污泥中微生物总 DNA 的提取 .....	107
实验 27 微生物总 DNA 中 16S rDNA 的 PCR 扩增 .....	108
实验 28 DGGE 分析微生物的多样性 .....	111
实验 29 凝胶中 DNA 的回收、测序及系统发育树的构建 .....	113
<b>第十一部分 微生物与环境监测</b> .....	116
实验 30 水中细菌总数和大肠菌群的检测 .....	116
实验 31 空气中微生物的计数 .....	123
实验 32 Ames 致突变试验 .....	126
实验 33 发光细菌毒性试验 .....	130
<b>参考文献</b> .....	133



# 第一部分 显微镜使用技术

17世纪荷兰人列文·虎克制造了第一台显微镜,首次把微生物世界展现在人类面前,至今已经历300余年。显微镜的问世对微生物学的奠基和发展起到了不可估量的作用。在长期的实践中,显微镜不断推陈出新,已成为微生物研究的重要工具。

在微生物实验中,常用的显微镜主要有普通光学显微镜、相差显微镜和荧光显微镜。下面着重介绍这三种显微镜的使用技术。

## 实验1 普通光学显微镜的使用

普通光学显微镜简称光学显微镜(light microscope),以平均波长为550 nm的可见光作为光源,能分辨的两点距离约为 $0.22\ \mu\text{m}$ 。多数细菌的个体大于 $0.25\ \mu\text{m}$ ,因此可在光学显微镜下观察。由于许多细菌的大小与光学显微镜的分辨率处于同一个数量级,为了看清细菌的形态与结构,经常使用油镜来提高显微镜的分辨率。在光学显微镜的使用中,油镜的使用是一项十分重要的操作技术。

### 一、目的要求

1. 了解普通光学显微镜的基本构造和工作原理。
2. 学习并掌握普通光学显微镜,重点是油镜的使用技术和维护知识。
3. 在油镜下观察细菌的几种基本形态。
4. 采用悬滴法在高倍镜下观察细菌运动。

### 二、基本原理

#### (一)普通光学显微镜的构造

普通光学显微镜由机械系统和光学系统两部分组成(图1-1)。

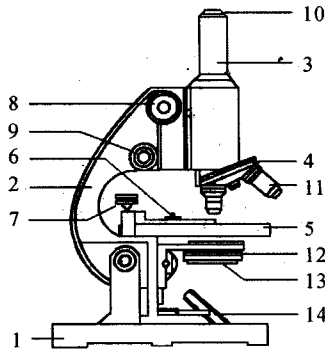


图 1-1 普通光学显微镜的构造

1. 镜座 2. 镜臂 3. 镜筒 4. 转换器 5. 载物台 6. 压片夹 7. 标本移动器 8. 粗调螺旋 9. 细调螺旋 10. 目镜  
11. 物镜 12. 虹彩光阑(光圈) 13. 聚光器 14. 反光镜

### 1. 机械系统

机械系统包括镜座、镜臂、镜筒、物镜转换器、载物台、调节器等。

(1) 镜座:它是显微镜的基座,可使显微镜平稳地放置在平台上。

(2) 镜臂:用以支持镜筒,也是移动显微镜时手握的部位。

(3) 镜筒:它是连接目镜(简称目镜)和接物镜(简称物镜)的金属圆筒。镜筒上端插入目镜,下端与物镜转换器相接。镜筒长度一般固定,通常是 160 mm。有些显微镜的镜筒长度可以调节。

(4) 物镜转换器:它是一个用于安装物镜的圆盘,位于镜筒下端,其上装有 3~5 个不同放大倍数的物镜。为了使用方便,物镜一般按由低倍到高倍的顺序安装。转动物镜转换器可以选用合适的物镜。转换物镜时,必须用手旋转圆盘,切勿用手推动物镜,以免松脱物镜而招致损坏。

(5) 载物台:载物台又称镜台,是放置标本的地方,呈方形或圆形。载物台上装有压片夹,可以固定被检标本;装有标本移动器,转动螺旋可以使标本前后和左右移动。有些标本移动器上刻有标尺,可指示标本的位置,便于重复观察。

(6) 调节器:调节器又称调焦装置,由粗调螺旋和细调螺旋组成,用于调节物镜与标本间的距离,使物像更清晰。粗调螺旋转动一圈可使镜筒升降约 10 mm,细调螺旋转动一圈可使镜筒升降约 0.1 mm。

### 2. 光学系统

光学系统包括目镜、物镜、聚光器、反光镜等。

(1) 目镜:它的功能是把物镜放大的物像再次放大。目镜一般由两块透镜组成。上面一块称接目透镜,下面一块称场镜。在两块透镜之间或在场镜下方有一光阑。由于光阑的大小决定着视野的大小,故又称它为视野光阑。标本成像于光阑限定的范围之内,在光阑上粘一小段细发可用作指针,指示视野中标本的位置。在进行显微测量时,目镜测微尺被安装在视野光阑上。目镜上刻有 5×、10×、15×、20× 等放大倍数。可按需选用。

(2) 物镜:它的功能是把标本放大,产生物像。物镜可分为低倍镜(4×或 10×)、中倍镜(20×)、高倍镜(40×~60×)和油镜(100×)。一般油镜上刻有“OI”(oil immersion)或 HI(homogeneous immersion)字样,有的刻有一圈红线或黑线,以示区别。物镜上通常标有放大倍数、数值孔径(numerical aperture,简写为 NA)、工作距离(物镜下端至盖玻片间的距离,mm)

及盖玻片厚度等参数(图 1-2)。以油镜为例,100/1.25 表示放大倍数为 100 倍,NA 为 1.25; 160/0.17 表示镜筒长度 160 mm,盖玻片厚度等于或小于 0.17 mm。

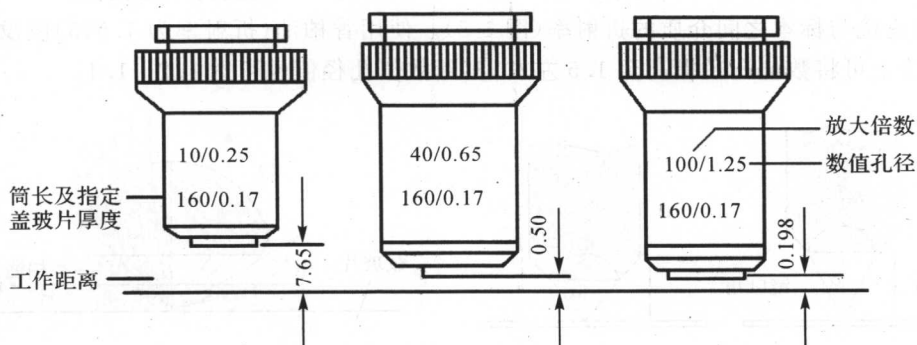


图 1-2 XSP-I6 型显微镜物镜的主要参数

(3) 聚光器: 聚光器又称聚光镜, 它的功能是把平行的光线聚焦于标本上, 增强照明度。聚光器安装在镜台下, 可上下移动。使用低倍物镜(简称低倍镜)时应降低聚光器, 使用油镜时则应升高聚光器。聚光器上附有虹彩光阑(俗称光圈), 通过调整光阑孔径的大小, 可以调节进入物镜光线的强弱(物镜焦距、工作距离与光圈孔径之间的关系见图 1-3)。在观察透明标本时, 光圈宜调得相对小一些, 这样虽会降低分辨力, 但可增强反差, 便于看清标本。

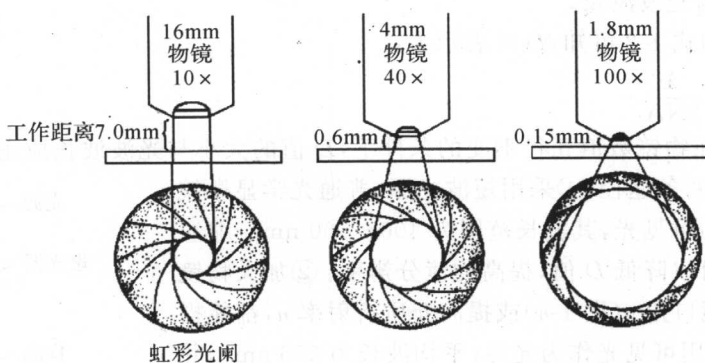


图 1-3 物镜焦距、工作距离与光圈孔径之间的关系

(4) 反光镜: 它是普通光学显微镜的取光设备, 其功能是采集光线, 并将光线射向聚光器。反光镜安装在聚光器下方的镜座上, 可以在水平与垂直两个方向上任意旋转。反光镜的一面是凹面镜, 另一面是平面镜。一般情况下选用平面镜, 光量不足时可换用凹面镜。

## (二) 普通光学显微镜的性能

### 1. 数值孔径

数值孔径(NA)又称开口率, 是指介质折射率与镜口角 1/2 正弦的乘积, 可用式 1-1 表示。

$$NA = n \sin \frac{\alpha}{2} \quad (1-1)$$

式 1-1 中,  $n$  为物镜与标本之间介质的折射率,  $\alpha$  为镜口角(通过标本的光线延伸到物镜边缘所形成的夹角, 见图 1-4)。

物镜的性能与物镜的数值孔径密切相关, 数值孔径越大, 物镜的性能越好。因为镜口角  $\alpha$

总是小于  $180^\circ$ ，所以  $\sin \frac{\alpha}{2}$  的最大值不可能超过 1。又因为空气的折射率为 1，所以以空气为介质的数值孔径不可能大于 1，一般为 0.05~0.95。根据式 1-1，要提高数值孔径，一个有效途径就是提高物镜与标本之间介质的折射率(图 1-5)。使用香柏油(折射率为 1.515)浸没物镜(即油镜)理论上可将数值孔径提高至 1.5 左右；实际数值孔径值也可达 1.2~1.4。

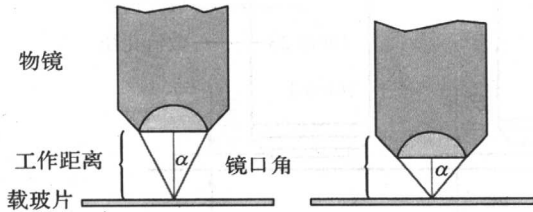


图 1-4 物镜的镜口角

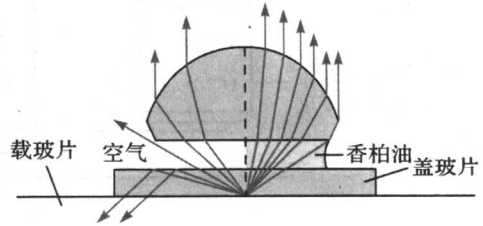


图 1-5 介质折射率对光线通路的影响

## 2. 分辨率

分辨率是指分辨物像细微结构的能力。分辨率常用可分辨出的物像两点间的最小距离 ( $D$ ) 来表征(式 1-2)。 $D$  值愈小，分辨率愈高。

$$D = \frac{\lambda}{2n \sin \frac{\alpha}{2}} \quad (1-2)$$

式 1-2 中， $\lambda$  为光波波长。

比较式 1-1 和式 1-2 可知， $D$  可表示为：

$$D = \frac{\lambda}{2NA} \quad (1-3)$$

根据式 1-3，在物镜数值孔径不变的条件下， $D$  值的大小与光波波长成正比。要提高物镜的分辨率，可通过两条途径：①采用短波光源。普通光学显微镜所用的照明光源为可见光，其波长范围为 400~700 nm。缩短照明光源的波长可以降低  $D$  值，提高物镜分辨率。②加大物镜数值孔径。提高镜口角  $\alpha$ (图 1-4)或提高介质折射率  $n$ ，都能提高物镜分辨率。若用可见光作为光源(平均波长为 550 nm)，并用数值孔径为 1.25 的油镜来观察标本，能分辨出的两点距离约为 0.22  $\mu\text{m}$ 。

## 3. 放大率

普通光学显微镜利用物镜和目镜两组透镜来放大成像，故又被称为复式显微镜。采用普通光学显微镜观察标本时，标本先被物镜第一次放大，再被目镜第二次放大(图 1-6)。所谓放大率是指放大物像与原物体的大小之比。因此，显微镜的放大率 ( $V$ ) 是物镜放大倍数 ( $V_1$ ) 和目镜放大倍数 ( $V_2$ ) 的乘积，即：

$$V = V_1 \times V_2 \quad (1-4)$$

如果物镜放大 40 倍，目镜放大 10 倍，则显微镜的放大率是 400 倍。常见物镜(油镜)的最高放大倍数为 100 倍，目镜的最高放大倍数为 15 倍，因此一般显微镜的最高放大率是 1500 倍。

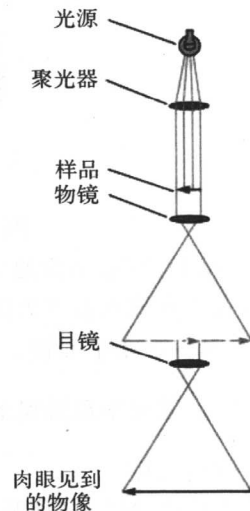


图 1-6 普通光学显微镜的成像原理

#### 4. 焦深

一般将焦点所处的像面称为焦平面。在显微镜下观察标本时,焦平面上的物像比较清晰,但除了能看见焦平面上的物像外,还能看见焦平面上面和下面的物像,这两个面之间的距离称为焦深。物镜的焦深与数值孔径和放大率成反比,数值孔径和放大率越大,焦深越小。因此,在使用油镜时需要细心调节,否则物像极易从视野中滑过而不能找到。

### 三、实验器材

1. 菌种:培养 12~18 h 的枯草杆菌(*Bacillus subtilis*)斜面培养物 3~4 支。
2. 标本片:细菌三种基本形态的染色标本,特殊形态细菌染色标本(示范镜)。
3. 仪器及相关用品:显微镜,香柏油,二甲苯(或 1:1 的乙醚酒精溶液),擦镜纸。
4. 其他用品:盖玻片,凹玻片,吸水纸,酒精灯,接种环,牙签,凡士林。

### 四、实验程序

#### (一)显微镜(油镜)操作

1. 领取并检查显微镜:按学号向实验指导老师领取显微镜,所有实验课均对号使用。从显微镜箱中取出显微镜时,用右手紧握镜臂,左手托住镜座,直立平移(图 1-7),轻轻放置在实验台上(图 1-8)。检查各部件是否齐全,镜头是否清洁。若发现有问題应及时报告老师。

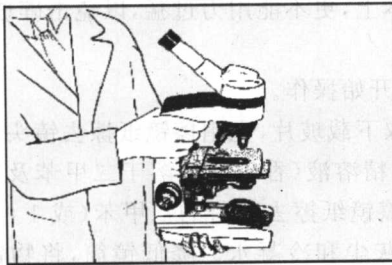


图 1-7 显微镜的搬动

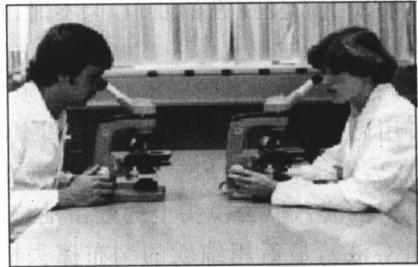


图 1-8 显微镜的放置

2. 调节光源:良好的照明是保证显微镜使用效果的重要条件。将低倍镜旋转到工作位置,用粗调螺旋提升镜筒,使镜头距离载物台 10 mm 左右,降低聚光镜的位置,完全打开虹彩光阑,一边看目镜,一边调节反光镜镜面的角度(在正常情况下,一般用平面反光镜;若自然光线较弱,则可用凹面反光镜)。然后,调节聚光器的位置(酌予升降),直至视野内得到均匀适宜的亮度。

3. 低倍镜观察:使用低倍镜观察,视野较广,焦深较大,便于搜寻目标,因此宜从低倍镜开始观察。将载玻片标本(涂面朝上)置于载物台中央(图 1-9),用压片夹固定(图 1-10),并将标本部位移到正中,转动粗调螺旋(图 1-11),使镜头与标本的距离降到 10 mm 左右。然后,一边看目镜内的视野,一边调节粗调螺旋缓慢升高镜头,至视野内出现物像时,改用细调螺旋(图 1-12),继续调节焦距和照明,以获得清晰的物像,并将所需部位移到视野中央,再换中、高倍镜观察(图 1-13)。



图 1-9 将载玻片标本置于载物台中央



图 1-10 用压片夹固定载玻片标本

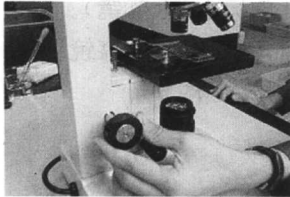


图 1-11 转动粗调螺旋

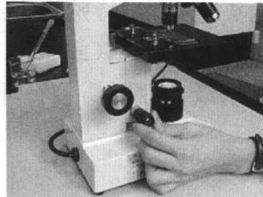


图 1-12 转动细调螺旋



图 1-13 转换物镜

4. 中、高倍镜观察:依次用中、高倍镜观察低倍镜下锁定的部位,并随着物镜放大倍数的增加,逐步提升聚光器增强光线亮度。找出所需目标,将其移至视野中央。

5. 油镜观察:将聚光器提升至最高点,转动转换器,移开高倍镜,使高倍镜和油镜成“八”字形,在标本中央滴一小滴香柏油,把油镜镜头浸入香柏油中,微微转动细调螺旋,直至看清物像。如果油镜上升至离开油面还未看清物像,则需重新调节。可从侧面注视,小心地转动粗调节器将油镜重新浸在香柏油中,但不能让油镜压在标本上,更不能用力过猛,以免击碎玻片,损坏镜头。

6. 调换标本:观察新标本片时,必须重新从第 3 步开始操作。

7. 用后复原:观察完毕,转动粗调螺旋提升镜筒,取下载玻片,先用擦镜纸擦去镜头上的香柏油,然后用擦镜纸蘸取少许二甲苯或 1:1 的乙醚酒精溶液(香柏油可溶于二甲苯及 1:1 的乙醚酒精溶液),擦去镜头上的残留油迹,再用干净的擦镜纸擦去残留的二甲苯(或 1:1 的乙醚酒精溶液),最后用细软的绸布擦去机械部件上的灰尘和冷凝水。降低镜筒,将物镜转成“八”字形置于载物台上。降低聚光器,避免聚光器与物镜相碰。使反光镜垂直于镜座,以防受损。将显微镜放回显微镜箱中锁好,并放入指定的显微镜柜内。

## (二)细菌形态观察

1. 结合显微镜(油镜)的使用,观察三个细菌染色片(球菌、杆菌和螺旋菌,如图 1-14 所示),并绘图。

2. 看示范镜,观察双球菌和四联球菌(如图 1-15 所示),并绘图。

## (三)细菌运动性观察

有些细菌具有鞭毛,能在水中自由运动。细菌运动常用水浸片法和悬滴法观察。

### 1. 水浸片法

用接种环取培养 12~18 h 的枯草杆菌菌液一环,置于干净的载玻片中央,盖上盖玻片(图 1-16,注意不使产生气泡),用低倍镜找出目标后,再换用中倍至高倍镜观察。

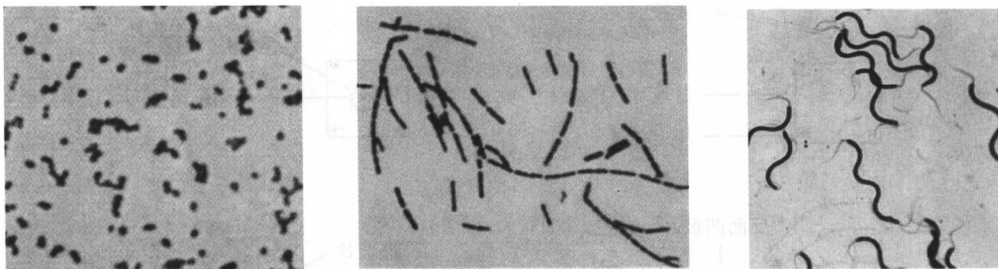


图 1-14 球菌、杆菌和螺旋菌

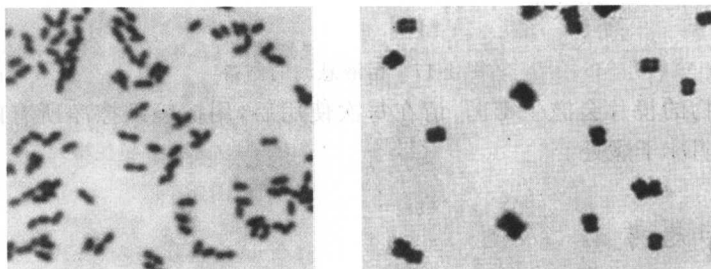


图 1-15 双球菌和四联球菌

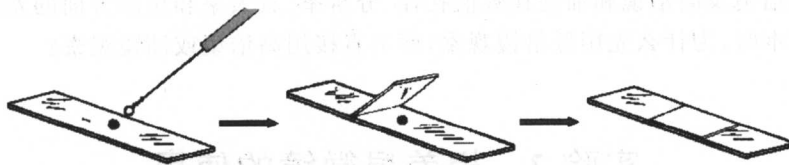


图 1-16 水浸片的制备

## 2. 悬滴法

取一洁净的盖玻片,用牙签挑取少量凡士林,涂于盖玻片四角;再按无菌操作要求,用接种环从斜面底部取培养 12~18 h 的枯草杆菌菌液一环,置盖玻片中央(菌液呈水珠状);接着取凹玻片一块,将凹窝向下覆盖在带有菌液的盖玻片上;翻转凹玻片,使液滴悬于盖玻片表面(图 1-17)。悬滴片制成后,先用低倍镜找到水滴,再换高倍镜观察,可以看到活跃的细菌运动。

## 五、注意事项

1. 不要擅自拆卸显微镜的任何部件,以免损坏设备。
2. 拭擦镜面请用擦镜纸,不要用手指或粗布,以保持镜面的光洁度。
3. 观察标本时,请依次用低倍、中倍、高倍镜,最后再用油镜。在使用高倍镜和油镜时,请不要转动粗调螺旋降低镜筒,以免物镜与载玻片碰撞而压碎玻片或损伤镜头。
4. 观察标本时,请两眼睁开,一方面养成两眼轮换观察的习惯,以减轻眼睛疲劳,另一方面养成左眼观察、右眼注视绘图的习惯,以提高效率。
5. 取显微镜时,请用右手紧握镜臂,左手托住镜座,切不可单手拎镜臂,更不可倾斜拎镜臂。

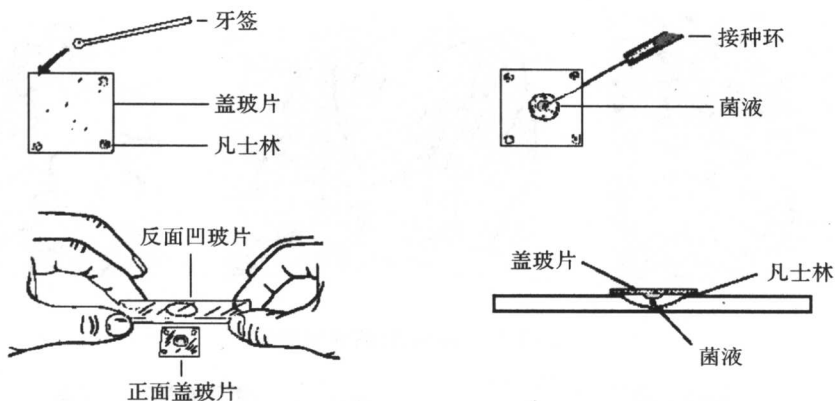


图 1-17 菌液悬滴的制备

6. 沾有有机物的镜片会滋生霉菌,请在每次使用后,用擦镜纸擦净所有的目镜和物镜,并将显微镜存放在阴凉干燥处。

## 六、问题与思考

1. 使用显微镜的油镜时,为什么必须使用镜头油?
2. 比较低倍镜及高倍镜和油镜在数值孔径、分辨率、放大率和焦深方面的差别。
3. 镜检标本时,为什么先用低倍镜观察,而不直接用高倍镜或油镜观察?

## 实验 2 相差显微镜的使用

细菌标本没有染色时,菌体的折光性与周围背景相近,在光学显微镜下不易看清。相差显微镜(phase contrast microscope)是一种能将光线通过透明标本后产生的光程差(即相位差)转化为光强差的特殊显微镜。以相差显微镜观察标本,可以克服光学显微镜的缺陷,看清活细胞及其细微结构,并产生立体感。

### 一、目的要求

1. 了解相差显微镜的构造和原理。
2. 掌握相差显微镜的使用方法。

### 二、基本原理

#### (一)相差显微镜的工作原理

光线通过透明标本时,光的波长(颜色)和振幅(亮度)不会发生明显的变化。因此,采用普



通光学显微镜观察未经染色的标本，一般难以分辨细胞的形态和内部结构。然而，由于细胞各部分的折射率和厚度不同，光线穿过标本时，直射光和透射光会产生光程差，并由此导致光波相位差(图 2-1)。通过相差显微镜上的特殊装置——环状光阑和相板，利用光的干涉原理，可将光波的相位差转变为人眼可以察觉的振幅差，即明暗差(图 2-2)。视野上的明暗差可增强检视物的对比度，从而看清在普通光学显微镜下不易看到的活细胞及其细微结构(图 2-3)。

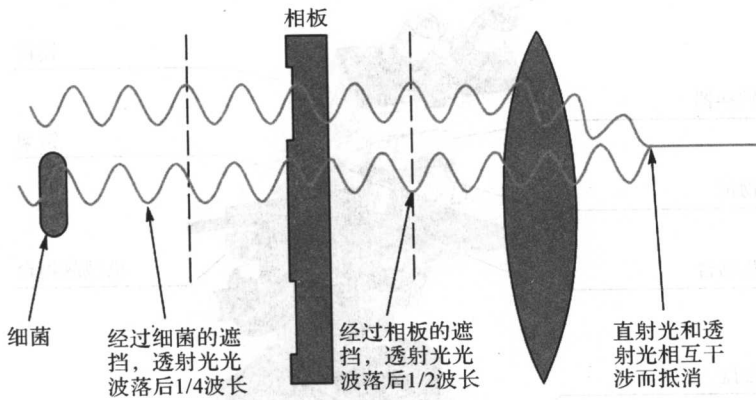


图 2-1 直射光与透射光相互干涉而抵消，在明亮的视野中产生黑暗的物像

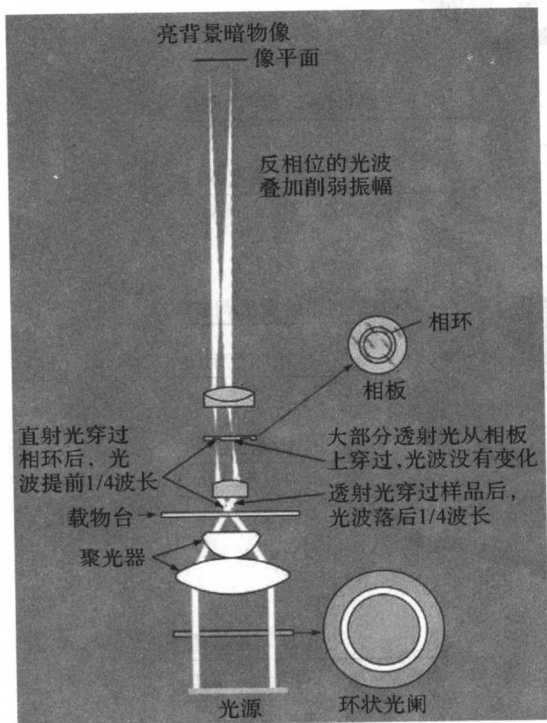


图 2-2 相差显微镜成像原理

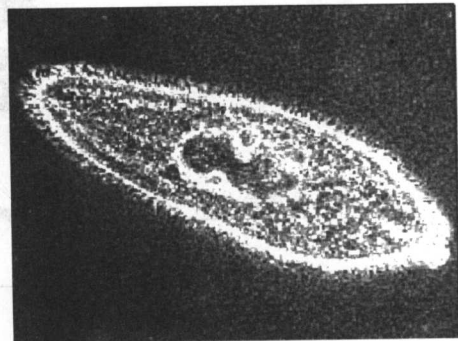
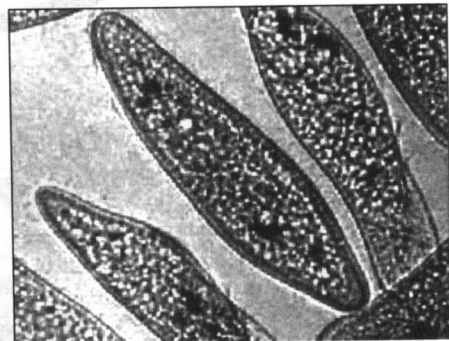


图 2-3 普通光学显微镜的物像(上)与相差显微镜的物像(下)

## (二)相差显微镜的构造

奥林巴斯(OLYMPUS)生物显微镜是从日本进口的一种双筒光学显微镜。它是目前微生