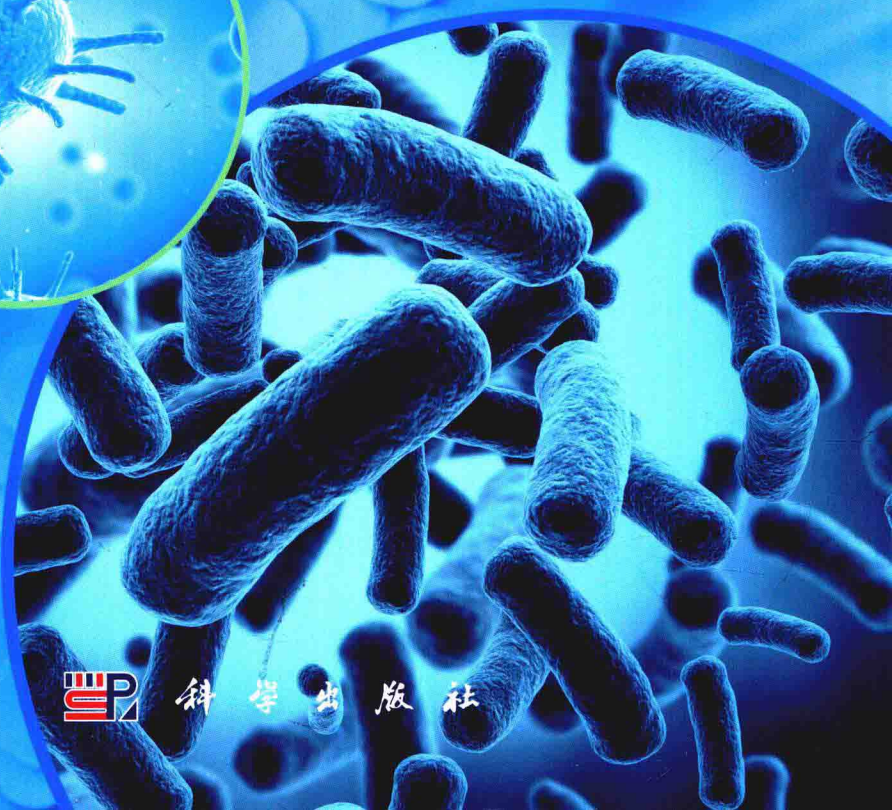
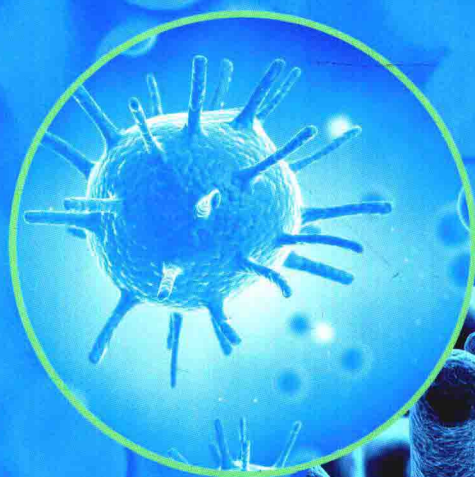


微生物学实验指导

王冬梅 主编



科学出版社

微生物学实验指导

王冬梅 主编

雒晓芳 杨具田 副主编



科学出版社

北京

内 容 简 介

本书内容包括基础性实验、综合性实验和应用性实验三部分,共46个实验,注重训练学生微生物学实验的基本操作和技能,让学生能应用所学的实验知识解决实际问题,做到学以致用,融会贯通,提升学生的实验操作能力和综合素质。

本书既可作为高等院校微生物学实验课教材,也可作为从事微生物相关工作的人员的实验参考书和工具书。

图书在版编目(CIP)数据

微生物学实验指导 / 王冬梅主编. —北京: 科学出版社, 2017.9

ISBN 978-7-03-054314-1

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

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2017) 第 211864 号

责任编辑: 席 慧 刘 丹 赵晓静 / 责任校对: 杜子昂

责任印制: 吴兆东 / 封面设计: 明轩堂

科 学 出 版 社 出 版

北京东黄城根北街16号

邮政编码: 100717

<http://www.sciencep.com>

北京中石油彩色印刷有限责任公司 印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2017年9月第 一 版 开本: 720×1000 1/16

2017年9月第一次印刷 印张: 13 1/4

字数: 255 000

定价: 39.00 元

(如有印装质量问题, 我社负责调换)

前言

微生物学是一门实践性和应用性很强的学科，微生物学实验是现代生物技术的重要基础，在生物、环境、食品及医学等领域的生产研究中广泛应用。微生物学实验课是培养学生的实验技能、独立工作能力和综合素质的重要环节，实验教材是指导学生上好实验课的重要工具。

为适应高等院校多专业微生物实验教学的特点，在学习兄弟院校大量实验教材，总结我校（西北民族大学）长期实践教学经验的基础上，我们编写了这本《微生物学实验指导》。全书分为基础性实验、综合性实验和应用性实验三部分，共46个实验。本书突出实验的可操作性和实用性，简明扼要，每个实验项目基本按照实验目的、实验原理、实验器材、实验步骤、注意事项、实验结果和思考题7部分编写。

微生物学基本实验技能的训练是实验教学的重要任务，本书涵盖了微生物学各分支学科的实验技术。在基础性实验中，突出了对学生基本实验技能的训练，如无菌操作、染色、显微观察及微生物的分离纯培养等技术；适当充实了新内容，如显微镜技术中增加了相差显微镜和电子显微镜的使用等实验。结合不同专业的教学要求和实际生产应用需要，在综合性实验部分安排了化能异养微生物的分离与纯化、突变株的选育、Ames实验等实验；在应用性实验中增加了食品及饮用水的卫生检查、诱变剂对微生物产生酶的诱变效应、固定化活细胞发酵、自控发酵罐的使用等实验内容。微生物学实验中的一些最基本操作技术，在教材后两部分中有重复，旨在强化实验技能的训练，让学生能应用所学的实验知识来解决实际问题，做到学以致用，融会贯通，培养学生独立思考和解决问题的能力，同时提高其综合素质，为进一步从事相关工作打下基础。

教材后有参考文献和附录。附录中除有微生物学实验常用培养基、染液、试剂、缓冲液等的配制外，还增加了实验室意外事故的处理、教学常用菌种名称介绍等内容。

本书由王冬梅担任主编，雒晓芳和杨具田担任副主编。具体编写分工如下：雒晓芳编写第一部分的实验12、实验13、实验19～实验25，第二部分的实验28、实验29和实验35，第三部分的实验36、实验37、实验38、实验39、实验45和实验46；杨具田编写第一部分的实验14～实验18，第二部分的实验26和实验27；王冬梅编写教材中的其他内容，并负责全书的布局、统稿和定稿。西北民族大学生命科学与工程学院的臧荣鑫、刘翊中、李琼毅、周雪雁、徐继英、藺国珍、马晓霞、冯玉萍，实验中心的陈丽华、程燕、吴慧昊，医学院的赵晋、胜利、董开忠，化工学院的王喆、杨小军，以及学校教务处，对本书的编写和出版给予了极大支持，在此

表示衷心的感谢！

本书可作为高等院校本科生的微生物学实验课教材，也可作为生命科学、医学、环境工程等专业从事微生物相关工作的人员的实验参考书和工具书。

由于编者水平和学识有限，书中不足之处在所难免，真诚希望读者批评指正，以便及时予以修正和补充。

编 者

2017年5月

微生物学实验室规则

微生物学实验室是一个严肃的实验场所，虽然普通微生物学实验所用的微生物材料一般为非致病菌或条件致病菌，但许多微生物是否具有致病性不是绝对的，与其数量、条件、感染途径等有关，在实验操作中必须将所有的微生物培养物都看成是具有潜在致病性的。因此，要求进入实验室后必须严格遵守以下实验室规则。

1. 进入实验室必须穿工作服，离室时脱下，反折放回原处。无菌操作时必须戴好口罩，并不得打开电风扇。留长发者，必须将长发挽在背后。非实验室人员不得进入实验室。

2. 实验室内禁止吸烟、饮食和会客，不得高声谈笑或随意走动。不必要的物品和书包不得带入实验室；实验台上除了记录本和笔（记录笔和记号笔）以外，不准放置任何个人物品。

3. 实验室中的菌种和物品等，未经教师许可，不得携出室外。实验室物品应按指定地点合理摆放。须送培养箱培养的物品，应做好标记后送到指定地点进行培养。用过的器材必须放入消毒缸内，禁止随意放于桌上及水槽中。凡废弃的有菌培养物及染菌带毒物品，都要放入指定的污物桶内，不得随意丢弃，应送消毒室，先进行高压灭菌后才能进一步处理。

4. 实验过程中，切勿使乙醇（酒精）、乙醚、丙酮等易燃药品接近火焰。如遇火险，应先灭掉火源，再用湿布或沙土掩盖灭火。必要时用灭火器。

5. 进行高压灭菌、干热灭菌、干燥、冷冻离心等工作时，应严格遵守操作规程，工作人员不得擅自离开现场，要认真观察，确保安全无异常后方可离开。

6. 实验过程中发生差错或意外事故时，禁止隐瞒或自作主张不按规定处理，应立即报告教师进行正确的处理。如有传染性的材料污染桌面、地面等，应立即用3%来苏水或5%苯酚溶液浸泡覆盖污染部位半小时后方可抹去。如为芽孢杆菌，应适当延长消毒时间。如手上沾有活菌，也应用上述消毒液浸泡10min左右，再用肥皂洗手，并用自来水反复冲洗。

7. 使用显微镜及其他贵重仪器时要按要求操作，按时做好使用记录，对仪器定期检查、保养、检修。严禁在冰箱内存放和加工私人食品。室内仪器设备，严格按操作规则使用。

注意节约水电，节约各种实验材料，应建立领取消耗记录，破损遗失应主动报告教师进行处理。

8. 实验操作要细心谨慎，认真进行观察，及时做好实验记录，以实事求是的态度完成实验报告。

9. 实验完毕, 应将仪器清洁并放回原处, 整理和清扫实验台面和实验室。离开实验室前注意关闭门窗、灯、火、煤气等, 并用肥皂洗手。工作服应经常清洗, 保持整洁, 必要时高压消毒。

10. 实验室工作人员每日下班前, 尤其节假日前, 应认真检查水、电和正在使用的仪器设备, 关好门窗。

目 录

前言

微生物学实验室规则

第一部分 基础性实验

第一章 显微镜技术	1
实验 1 普通光学显微镜	1
实验 2 荧光显微镜	9
实验 3 暗视野显微镜	11
实验 4 相差显微镜	13
实验 5 电子显微镜	16
第二章 微生物的染色技术与形态结构观察	22
实验 6 细菌的简单染色和革兰氏染色	22
实验 7 细菌的芽孢、荚膜及鞭毛染色	25
实验 8 放线菌的形态和结构	29
实验 9 酵母菌的形态观察	31
实验 10 霉菌的形态观察	34
实验 11 微生物大小的测定	38
第三章 微生物的纯培养技术	42
实验 12 培养基的配制	42
实验 13 消毒与灭菌	48
实验 14 微生物的分离纯化与接种技术	55
实验 15 微生物的培养特征	61
实验 16 厌氧微生物的培养	63
实验 17 菌种保藏技术	66
实验 18 噬菌体的分离纯化与效价测定	72
第四章 微生物生长的测定	78
实验 19 显微计数法	78
实验 20 平板菌落计数法	81

实验 21	MPN 法测定活性污泥中的硝化细菌数	85
实验 22	比浊法测定大肠杆菌的生长曲线	89
第五章 微生物的生理生化反应		92
实验 23	大分子物质的水解实验	92
实验 24	糖发酵试验	97
实验 25	IMViC 与硫化氢试验	100
第二部分 综合性实验		
实验 26	空气/实验台/门把手微生物的检测	104
实验 27	人体表面微生物的检测	106
实验 28	环境因素对微生物生长的影响	108
实验 29	生长谱法测定微生物的营养需求	111
实验 30	化能异养微生物的分离与纯化	114
实验 31	产氨基酸抗反馈调节突变株的选育	121
实验 32	抗噬菌体菌株的选育	124
实验 33	酵母菌营养缺陷型的筛选	127
实验 34	Ames 实验检测诱变剂和致癌剂	131
实验 35	固定化活细胞的制备及发酵实验	137
第三部分 应用性实验		
实验 36	水中细菌总数的测定	141
实验 37	水中总大肠菌群的测定	145
实验 38	乳酸菌的分离与酸奶的制作	150
实验 39	毛霉的分离和豆腐乳的制备	154
实验 40	紫外线对枯草芽孢杆菌产淀粉酶的诱变效应	156
实验 41	硫酸二乙酯对枯草芽孢杆菌产生蛋白酶的诱变效应	159
实验 42	抗生素抗菌谱及抗生素的抗药性测定	163
实验 43	酚降解菌的分离与纯化及高效菌株的选育	165
实验 44	土壤中产脂肪酶菌株的分离纯化及高产菌株的选育	168
实验 45	活性污泥脱氢酶活性的测定	172
实验 46	自控发酵罐的原理和使用	175
主要参考文献		181

附录	182
附录 1 实验室意外事故的处理	182
附录 2 常用器皿的清洗与处理	183
附录 3 常用培养基的配制	184
附录 4 实验室常用染液的配制	188
附录 5 常用试剂、消毒剂和缓冲液的配制	191
附录 6 教学常用菌种名称	200

第一部分 基础性实验

第一章 显微镜技术

实验 1 普通光学显微镜

一、实验目的

1. 了解普通光学显微镜的结构、维护和保养方法。
2. 学习并掌握普通光学显微镜的基本原理和正确使用方法。
3. 掌握利用显微镜观察不同微生物的基本技能。

二、实验原理

1. 显微镜的构造及原理

光学显微镜由机械装置和光学系统两大部分组成(图 1-1)。显微镜的机械装置包括镜座、镜筒、物镜转换器、载物台、推进器、粗调节器、细调节器等部件。

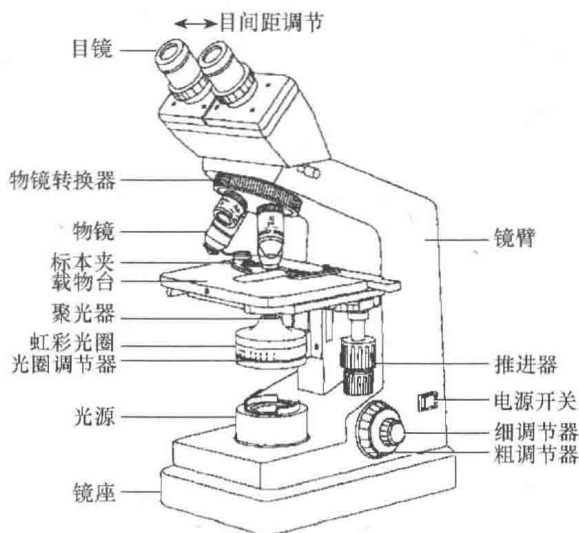


图 1-1 显微镜的构造示意图

镜座是显微镜的基座，支撑整个显微镜，装有照明光源。镜臂用以支撑镜筒和载物台，分固定、可倾斜两种。镜筒是连接目镜和物镜的金属筒，上端放置目镜，下端连接物镜转换器，分为固定式（机械筒长不能变更）和可调节式两种。

物镜转换器固定在镜筒下端，有4~6个物镜螺旋口，物镜应按放大倍数排列。旋转物镜转换器时，应用手指捏住旋转碟进行旋转，不要用手指推动物镜，因为这样操作容易使光轴歪斜，使成像质量变差。

调焦装置：在镜臂两侧装有使载物台或镜筒上下移动的调焦装置——粗调节器、细调（微调）节器。使用低倍物镜时仅用粗调节器便可获得清晰的物像。使用高倍物镜和油镜时，先用粗调节器找到物像，再用微调节器调节焦距，才能获得清晰的物像。微调节器每转一圈载物台上升或下降0.1mm，微调节器只在粗调节器找到物像后，使其获得清晰物像时使用。

光学系统主要包括物镜、目镜、聚光器、光源、滤光片和反光镜等。

物镜是显微镜中最重要的部件，由多块透镜组成。根据物镜的放大倍数和使用方法，可将其分为低倍物镜（4×、10×、20×）、高倍物镜（40×、60×）和油镜（90×以上）三类。

目镜一般由两块透镜组成，上面一块为接目透镜，下面一块为场镜/聚透镜，两块透镜中间或场镜的下方有一视场光圈。在进行显微测量时，目镜测微尺便要放在视场光圈上。目镜上标有5×、10×、15×等放大倍数，不同放大倍数的目镜其口径是统一的，可互换使用。目镜的焦距较短，其功能是把物镜放大的像再进行一次放大，成虚像。

聚光镜由多块透镜组成，主要用途是增强光线的聚焦能力，把平行光线聚焦于标本上，增强照明度。聚光镜的焦点必须在正中，使用聚光镜上的调节器可以进行调中。通过转动手轮调节聚光镜，以适应使用不同厚度的载玻片，也能保证焦点落在被检标本上。聚光镜的焦距短，载玻片一般以0.9~1.3mm为宜。聚光镜上附有虹彩光圈，通过调节光圈孔径的大小，可以调节进入物镜光线的强弱。

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率（resolution）。物像放大后，能否呈现清晰的细微结构，主要取决于物镜的性能，其次为目镜和聚光器的性能。显微镜性能的主要影响因素总结如下。

（1）数值孔径 物镜的性能取决于物镜的数值孔径（numerical aperture, 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。数值孔径是物镜前透镜与被检物体之间介质的折射率（ n ）和镜口角（ α ）半数正弦的乘积，用公式表示为： $NA = n \times \sin \alpha/2$ 。

影响数值孔径的因素之一是镜口角。镜口角是物镜光轴上的物体点与物镜前透镜的有效直径所形成的角度，它取决于物镜的直径和工作距离，一般来说，在

实际应用中,物镜镜口角最大只能达到 120° 。镜口角越大,进入物镜的光通量就越大,它与物镜的有效直径成正比,与焦点的距离成反比。影响数值孔径的另一个因素是介质折射率(n)。几种介质的折射率(n):空气为1.0、水为1.33、香柏油为1.515、玻璃为1.52。常用的 $40\times$ 以下的物镜为干燥系物镜,以空气为介质,数值孔径均小于1。

数值孔径与其他技术参数密切相关,它几乎决定和影响其他各项技术参数。它与分辨率成正比;与放大率(有效放大率)成正比;与焦深成反比;NA值的平方与图像亮度成正比;NA值越大,视场宽度与工作距离都会相应变小。

(2) 分辨率 显微镜的分辨率(resolution)是指分辨物像细微结构的能力。分辨率常用显微镜可分辨的两点间的最小距离(D)来表示。显微镜 D 值愈小则分辨率愈高。分辨率与其他技术参数有以下关系: $D=Kn/MNA$ (其中 K 为常数, M 为放大率, n 为媒质的折射率)。

显微镜的分辨率(D)可以用以下公式表示:

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

式中, λ 为光源光波的波长,NA为物镜的数值孔径。

提高物镜的分辨率有两条途径:一为缩短光的波长;二为增大物镜的数值孔径,在镜头与玻片之间加入香柏油作为介质,就可使数值孔径增大到1.2~1.4。

(3) 焦深 焦深(depth of focus)为焦点深度的简称,当焦点对准某一物体时,不但位于该点平面上(目的面或焦平面)的每个点都可以看清楚,而且在此平面的上下一定厚度内,也都能看得清楚,这个清楚部分的厚度就是焦深。物镜的焦深和数值孔径及放大率成反比,分辨率高则焦深小。使用显微镜并要求高分辨率观察时,必须使用微调焦装置上下调节,以检测被测物的全景,弥补焦深小的缺陷。

(4) 放大率 显微镜放大物体,首先经过物镜第一次放大成像,再经过目镜在明视距离内第二次放大成像。因此,显微镜的放大倍数等于物镜的放大倍数和目镜放大倍数的乘积。

2. 油镜的使用

油镜(油浸接物镜)对微生物学研究最为重要。油镜的放大倍数可达 $100\times$,镜头焦距很短,直径很小,但所需的光照度却很大(图1-2)。与其他物镜相比,油镜的使用方法比较特殊,需要在玻片和镜头之间滴加镜油,这主要有如下两方面的原因。

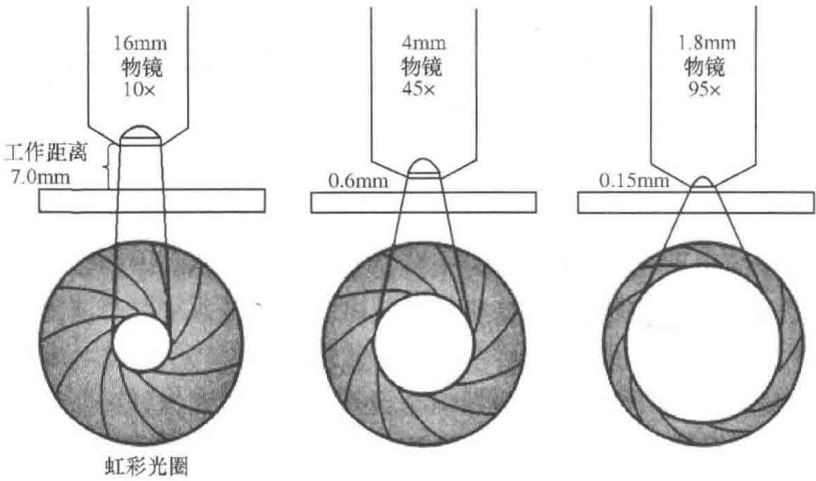


图 1-2 物镜的焦距、工作距离和虹彩光圈的关系示意图

(1) 增加照明亮度 从显微镜的结构看 (图 1-3)，由于油镜镜面很小，使用时被檢視物与镜面又非常靠近 (0.14~0.19mm)，因此进入镜头的光线较少。

当光线由反光镜通过玻片与镜头之间，玻片与物镜之间的介质为空气 (干燥系物镜) 时，由于空气与玻片的密度不同，光线受到折射，发生散射现象，结果进入物镜的光线必然减少，这样就降低了视野的照明度。若在油镜与玻片之间加入与玻璃的折射率 ($n=1.52$) 相仿的镜油 (通常用香柏油，其折射率 $n=1.515$)，光线通过玻片后可直接通过香柏油进入物镜而几乎不发生折射 (油浸系物镜)，使视野光量增加，这样就能使物像更加清晰，见图 1-4。

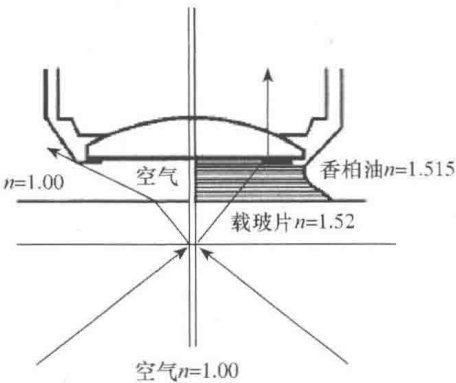


图 1-3 干燥系与油浸系物镜的光线路路

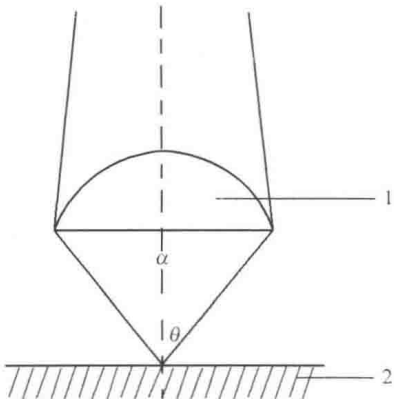


图 1-4 物镜的镜口角
1. 镜头; 2. 载玻片

(2) 增加显微镜的分辨率 通过增大物镜的数值孔径来提高物镜的分辨率。

数值孔径 $NA = n \times \sin \alpha/2$

分辨率 $D = \frac{\lambda}{2NA}$

由于香柏油的折射率 (1.515) 比空气和水的折射率 (分别为 1.0 和 1.33) 要

大, 因此以香柏油作为镜头与玻片之间的介质所能达到的数值孔径 (NA 一般在 $1.2 \sim 1.4$) 要大于低倍镜、高倍镜等 (NA 都低于 1.0)。

可见光的波长为 $0.4 \sim 0.7 \mu\text{m}$, 平均波长为 $0.55 \mu\text{m}$, 人眼可分辨的两点间最小距离仅为 0.2mm 。数值孔径通常在 0.65 左右的高倍镜只能分辨出距离不小于 $0.4 \mu\text{m}$ 的物体, 油镜的分辨率却可达到 $0.2 \mu\text{m}$ 左右。

三、实验器材

(1) 菌种 金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*)、枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*) 和迂回螺菌 (*Spirillum volutans*) 等细菌的染色玻片标本, 酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*)、链霉菌 (*Streptomyces* sp.) 及青霉 (*Penicillium* sp.) 的水封片。

(2) 仪器及用具 普通光学显微镜、擦镜纸、载玻片、香柏油、二甲苯等。

四、实验步骤

1. 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, 镜座距实验台边缘约 10cm 。镜检时姿势要端正。

2) 光源调节: 将聚光器上升到最高位置, 同时通过调节安装在镜座内的光源灯的电压获得适当的照明亮度; 而使用反光镜采集自然光或灯光作为照明光源时, 应根据光源的强度及所用物镜的放大倍数选用凹面反光镜或凸面反光镜并调节其角度, 使视野内的光线均匀, 亮度适宜。

适当调节聚光器的高度也可改变视野的照明亮度, 但一般情况下聚光器在使用中都是调到最高位置。

3) 根据使用者的个人情况, 调节双筒显微镜的目镜: 双筒显微镜的目镜间距可以适当调节, 而左目镜上一般还配有屈光度调节环, 可以适应眼距不同或双眼视力有差异的观察者。

4) 聚光器数值孔径的调节: 调节聚光器虹彩光圈与物镜的数值孔径相符或略低。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, 从镜筒中一边看着视野, 一边缩放光圈, 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确定后, 若需改变光照度, 可通过升降聚光器或改变光源的亮度来实现, 原则上不应再对虹彩光圈进行调节。当然, 有关虹彩光圈、聚光器高度及照明光源强度的使用原则也不是固定不变的, 只要能获得良好的观察

效果,有时也可根据具体情况灵活运用,不一定拘泥不变。

2. 显微观察

在目镜保持不变的情况下,使用不同放大倍数的物镜所能达到的分辨率及放大率都是不同的,在显微观察时应根据所观察微生物的大小选用不同的物镜。例如,观察酵母、放线菌、真菌等个体较大的微生物形态时,可选择低倍镜或高倍镜,而观察个体相对较小的细菌或微生物的细胞结构时,则应选用油镜。一般情况下,特别是初学者,进行显微观察时应遵守从低倍镜到高倍镜再到油镜的观察顺序,因为低倍数物镜视野相对大,易发现目标及确定检查的位置。

(1) 低倍镜观察 将要观察的标本玻片置于载物台上,用标本夹夹住,移动推进器使观察对象处在物镜的正下方。下降 $10\times$ 物镜,使其接近标本,用粗调节器慢慢升起镜筒,使标本在视野中初步聚焦,再使用细调节器调节至图像清晰。通过推进器慢慢移动玻片,认真观察标本各部位,找到合适的目的物,仔细观察并记录所观察到的结果。

在任何时候使用粗调节器聚焦物像时,必须养成良好的调焦习惯:先从侧面注视小心调节物镜靠近标本,然后用目镜观察,慢慢调节物镜离开标本。以防因一时的操作失误而损坏镜头及玻片。

(2) 高倍镜观察 在低倍镜下找到合适的观察目标并将其移至视野中心后,轻轻转动物镜转换器将高倍镜移至工作位置。对聚光器光圈及视野亮度进行适当调节后微调细调节器使物像清晰,利用推进器移动标本仔细观察并记录所观察到的结果。

在一般情况下,当物像在一种物镜视野中已清晰聚焦时,转动物镜转换器将其他物镜转到工作位置进行观察时物像将保持基本准焦的状态,这种现象称为物镜的同焦(parfocal)。利用这种同焦现象,可以保证在使用高倍镜或油镜等放大倍数高、工作距离短的物镜时仅用细调节器即可对物像进行清晰聚焦,从而避免由于使用粗调节器时可能的操作失误而损坏镜头或玻片。

(3) 油镜观察 在高倍镜下找到合适的观察目标并将其移至视野中心,将高倍镜转离工作位置,在待观察的样品区域滴上一滴香柏油,将油镜转到工作位置,油镜镜头此时应正好浸泡在镜油中。将聚光器升至最高位置并开足光圈,若所用聚光器的数值孔径超过1.0,还应在聚光镜与载玻片之间加滴香柏油,保证其达到最大的效能。调节照明使视野的亮度合适,微调细调节器使物像清晰,利用推进器移动标本仔细观察并记录所观察到的结果。

注意:切不可将高倍镜转动经过加有镜油的区域。

另一种常用的油镜观察方法是在低倍镜下找到要观察的样品区域后,用粗调节器将镜筒升高,将油镜转到工作位置,然后在待观察的样品区域滴加香柏油。从侧面注视,用粗调节器将镜筒小心降下,使油镜浸在镜油中并几乎与标本相接,

调节聚光器的数值孔径及视野的照明强度后,用粗调节器将镜筒徐徐上升,直至视野中出现物像并用细调节器使其清晰准焦为止。

有时按上述操作还找不到目的物像,则可能是由于油镜下降还未到位,或因油镜上升太快,以至眼睛捕捉不到一闪而过的物像。遇此情况,应重新操作。另外,应特别注意不要因在下降物镜时用力过猛或调焦时误将粗调节器向反方向转动而损坏镜头及玻片。

3. 显微镜用后的处理

1) 上升镜筒,取下玻片。

2) 用擦镜纸拭去镜头上的镜油,然后用擦镜纸蘸少许二甲苯擦去镜头上残留的油迹,最后再用干净的擦镜纸擦去残留的二甲苯。

3) 用擦镜纸清洁其他物镜及目镜,用绸布清洁显微镜的金属部件。

4) 将各部分还原,将光源灯亮度调至最低后关闭,或将反光镜垂直于镜座,将最低放大倍数的物镜转到工作位置,同时将载物台降到最低位置,并降下聚光器。

五、注意事项

1. 在任何情况下都应先用低倍镜($10\times$ 或 $4\times$)搜寻、聚焦样品,确定待观察目标的大致位置后再转换到高倍镜或油镜。若初学者即使使用低倍镜仍难以找到样品的准焦位置,则可用记号笔在载玻片正面空白处画一道线,通过粗调节器、细调节器使该线条聚焦清晰后再移动到加有样品的部位进行观察。在使用高倍镜及油镜时应该特别注意避免粗调节器的操作失误。

2. 根据目镜中的物像是否随着载玻片进行相应移动来判断聚焦的物像是否为待观察的样品。一般来说,由于焦平面不同,物镜上的少量污物不会影响对样品的观察。对虹彩光圈和视野明亮度进行调节可以获得反差合适的观察物像。

3. 无论使用单筒显微镜还是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。

4. 显微镜属于精密仪器,在取、放时应一手握住镜臂,另一手托住镜座,使显微镜保持直立平稳,切忌单手拎提。

5. 显微镜具有聚焦校正功能,观察时一般可以摘下近视或远视眼镜。确需佩戴眼镜进行观察时则应注意不要使眼镜镜片与目镜镜头相接触,以免在眼镜或镜头镜片上造成划痕。

6. 二甲苯等清洁剂会对镜头造成损伤,不要使用过量的清洁剂或让其在镜头上停留时间过长或有残留。此外,切忌用手或其他纸擦拭镜头,以免使镜头粘上汗渍、油物或产生划痕,影响观察。