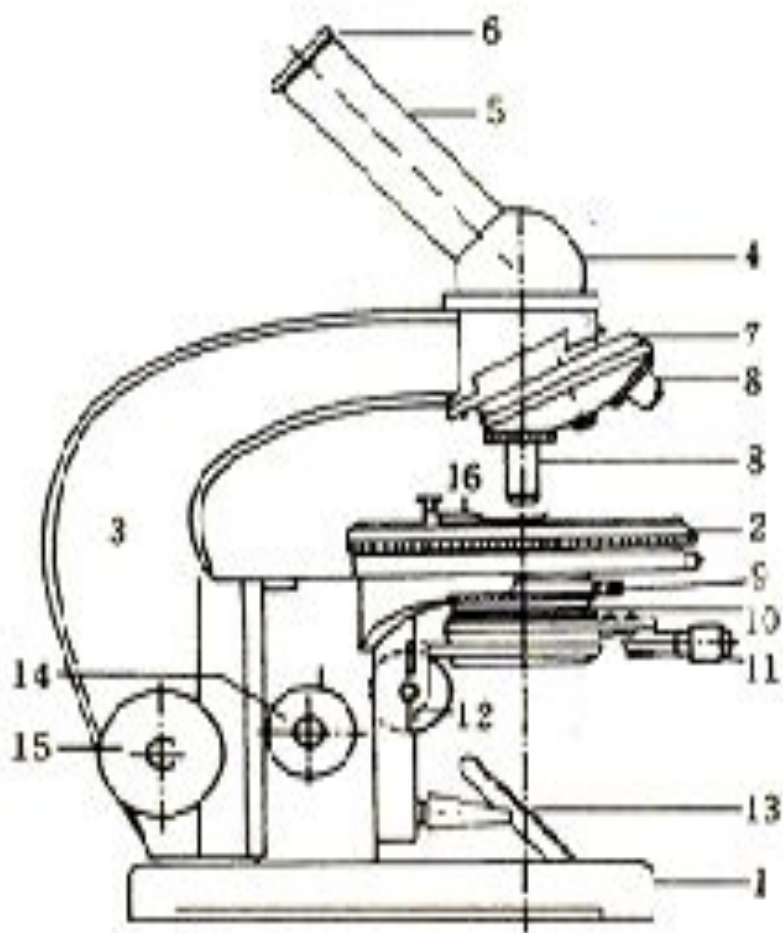


实验一 光学显微镜的使用与标本片观察

一、目的要求

- 1、掌握光学显微镜的使用方法
- 2、熟悉重要微生物的典型形态
- 3、了解光学显微镜的原理。

二、光学显微镜的基本结构



- 1.镜座； 2.载物台；
3.镜臂； 4.棱镜套；
5.镜筒； 6.接目镜；
7.转换器； 8.接物镜；
9.聚光器； 10.虹彩光
圈； 11.光圈固定器； 12.
聚光器升降螺旋；
13.反光镜； 14.细调节
器；
15.粗调节器； 16.标本夹



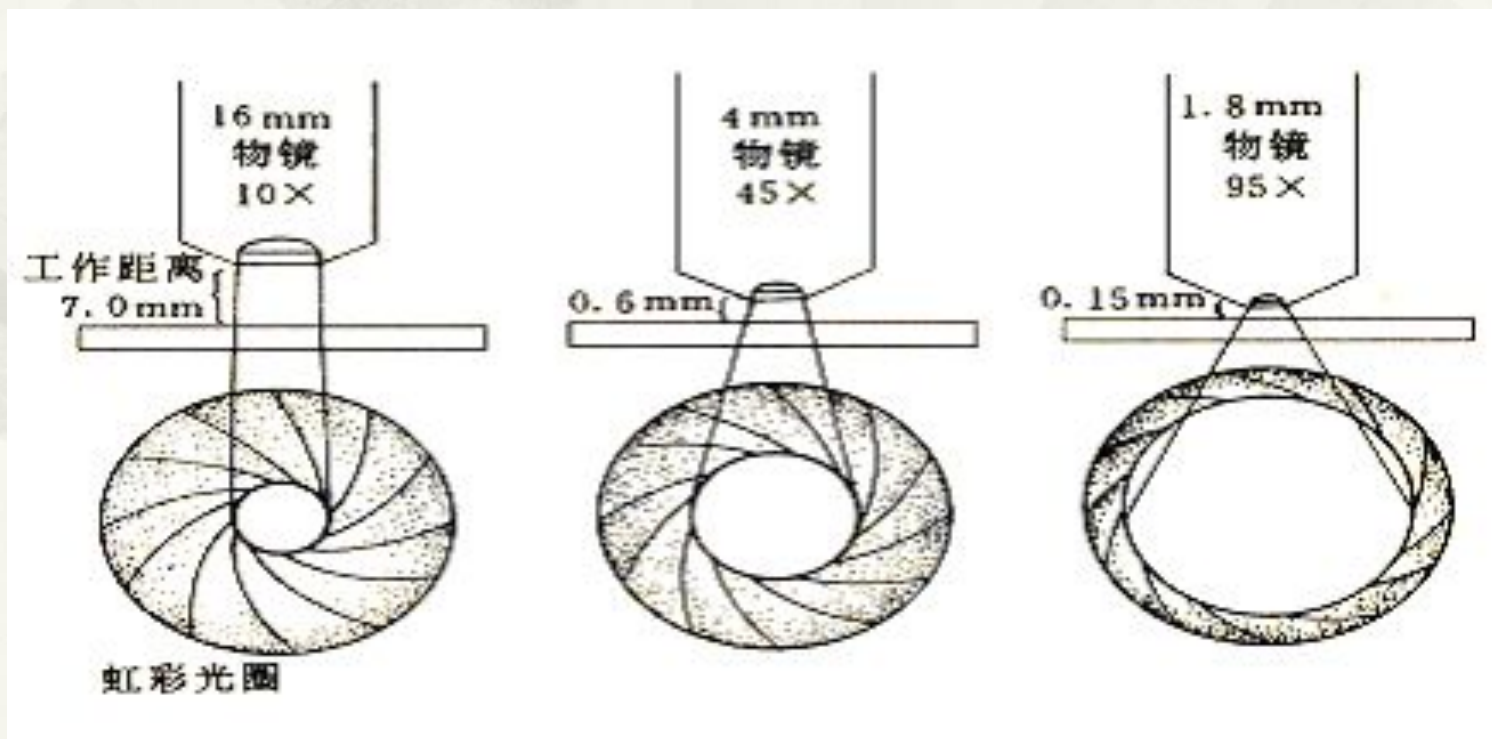
光学显微镜基本结构：

1. 照明灯
2. 聚光器
3. 载物台和切片夹
4. 推进器
5. 物镜
6. 粗细螺旋
7. 目镜
8. 照相机等接口

二、油镜的原理

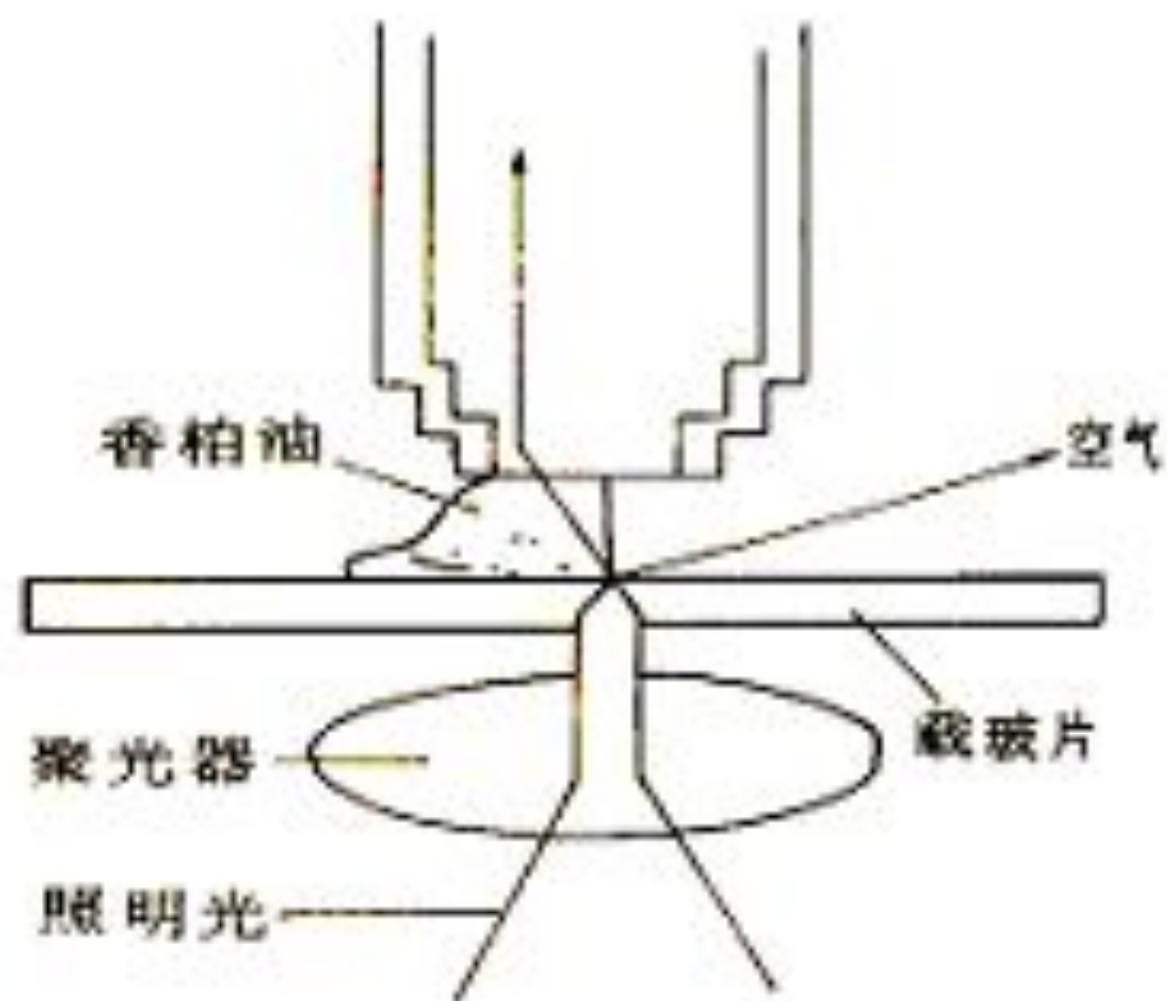
1. 增加照明亮度

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。



2. 滴加香柏油

从承载标本的玻璃片透过来的光线，因介质密度不同，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，在使用油镜时需**在油镜和玻片之间加入与玻璃的折射率（ $n = 1.55$ ）相仿的镜油（通常使用香柏油，其折射率 $n = 1.52$ ）。**



增加显微镜的分辨率

$$\begin{cases} \text{分辨率} = \lambda / 2NA \\ NA = n \cdot \sin(\alpha / 2) \end{cases}$$

【 λ 为波长， NA 为物镜的数值孔径值， α 为物镜镜口角】

随 n 增大， NA 增大，分辨率的值降低，可达到 $2 \mu m$

三、实验器材

1、微生物标本片

2、香柏油、二甲苯。

3、光学显微镜、擦镜纸。

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3~4cm。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** 安装在镜座内的光源灯可**通过调节电压以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。

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。一般情况下，特别是初学者，进行显微观察时应遵从由低倍镜到高倍镜再到油镜的观察程序，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

将染色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。将 $10\times$ 物镜置于光路中，用粗调节器慢慢升起载物台，使标本在视野中初步聚焦，再使用细调节器调节图像清晰。通过玻片夹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，仔细观察并记录观察到的结果。

(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。

(3) 油镜观察

在高倍镜或低倍镜下找到要观察的样品区域后，用粗调节器将载物台降低，然后将油镜转到工作位置。在待观察的样品区域加滴香柏油，从侧面注视，用粗调节器将载物台小心地上升，使油镜浸在油镜中并几乎与标本相接。调节照明使视野的亮度合适，用粗调节器将载物台徐徐下降，直至视野中出现物像并用细调节器使其清晰准焦为止。

3、显微镜用毕后的处理

(1) 下降载物台，取下载玻片。

(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。

切忌用手或其他纸擦拭镜头，以免使镜头沾上污渍或产生划痕，影响观察。

(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，将物镜转成“八”字形，再向下旋。

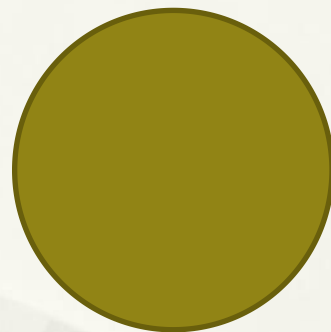
4、微生物形态结构的观察

(1) 细菌的形态

(2) 细菌的基本结构

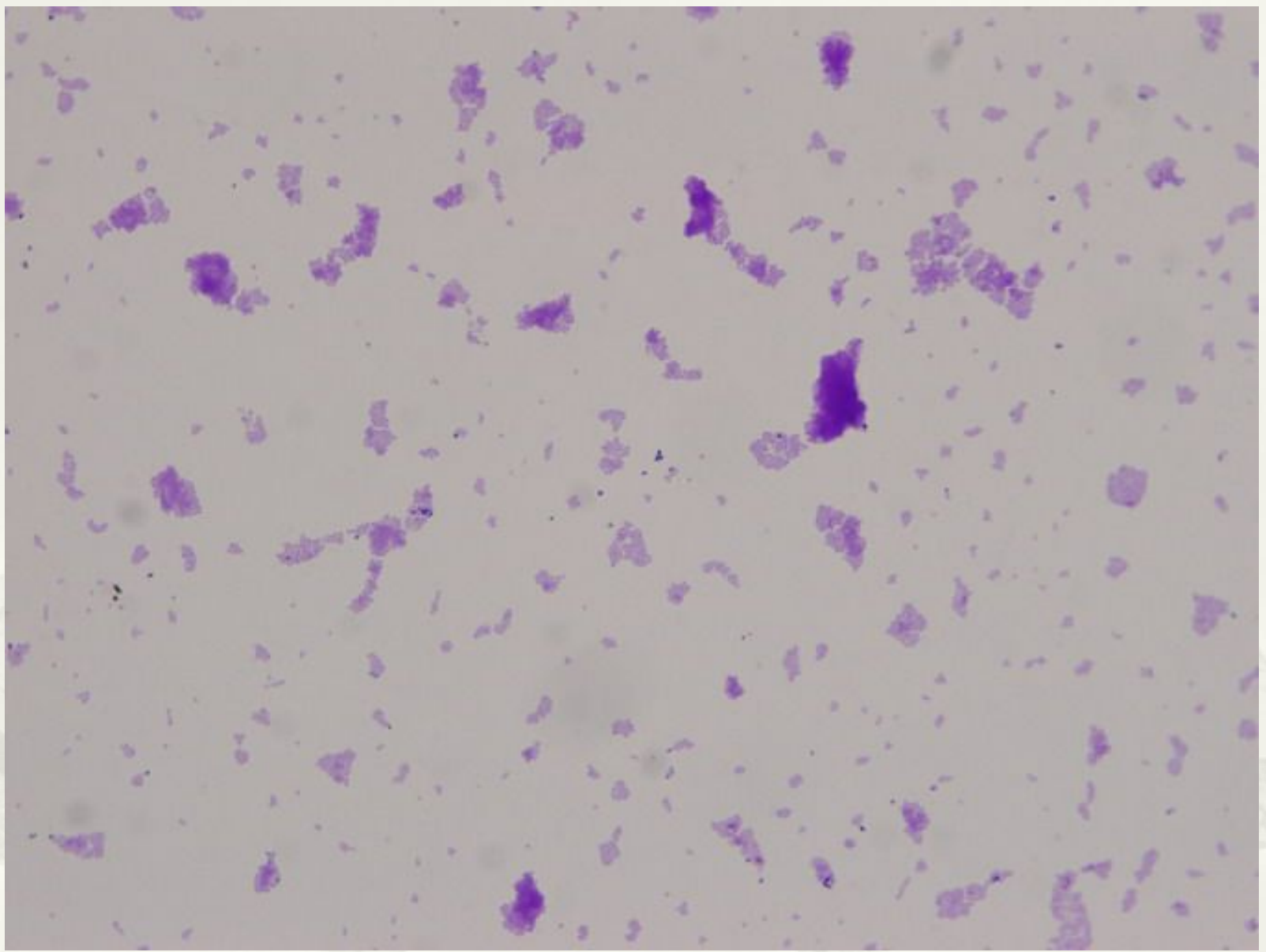
(3) 细菌的特殊结构

五、实验结果

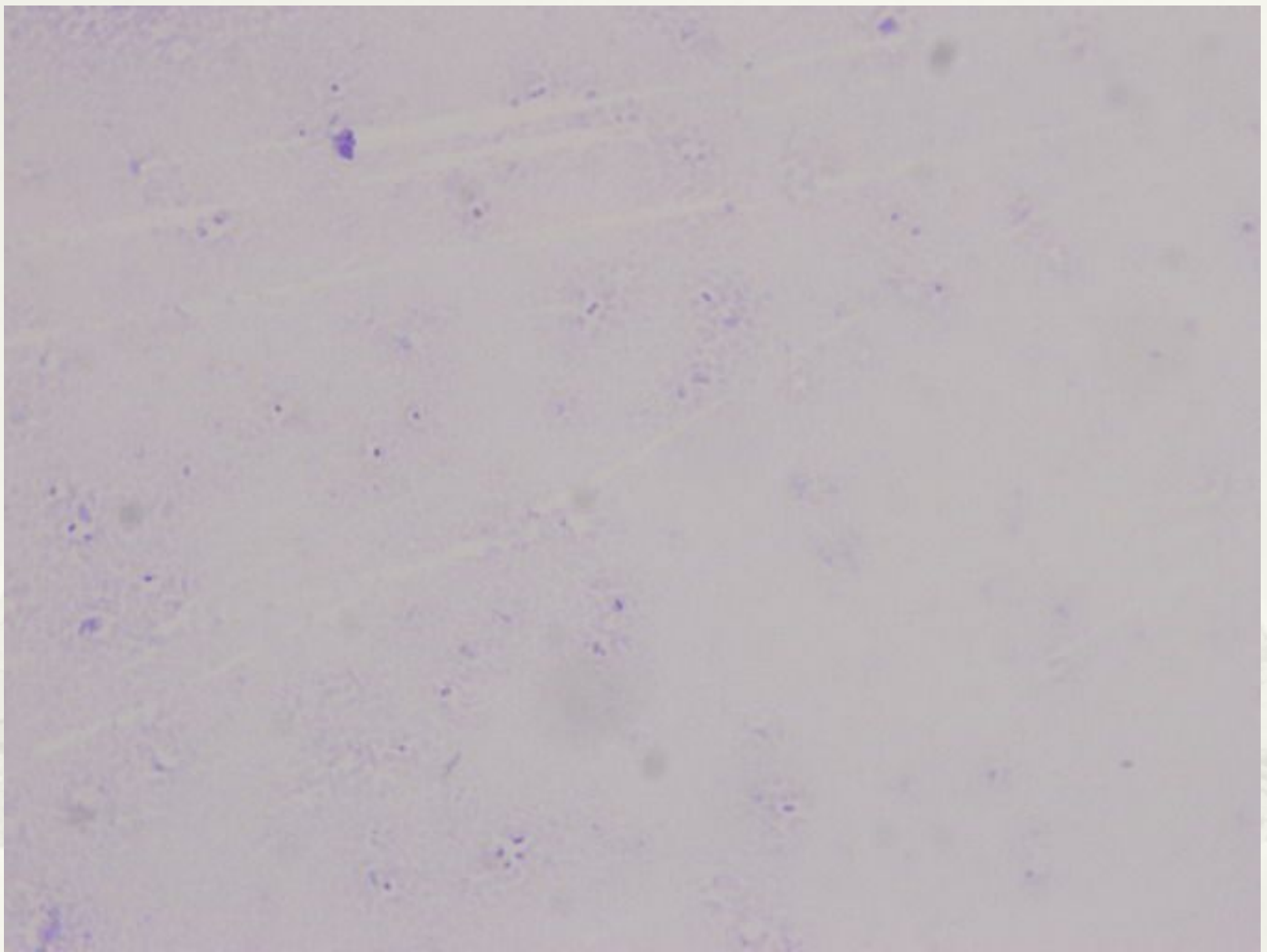


分别绘出在油镜下观察到的5种微生物标本的形态，注明放大倍数，标注观察结构。

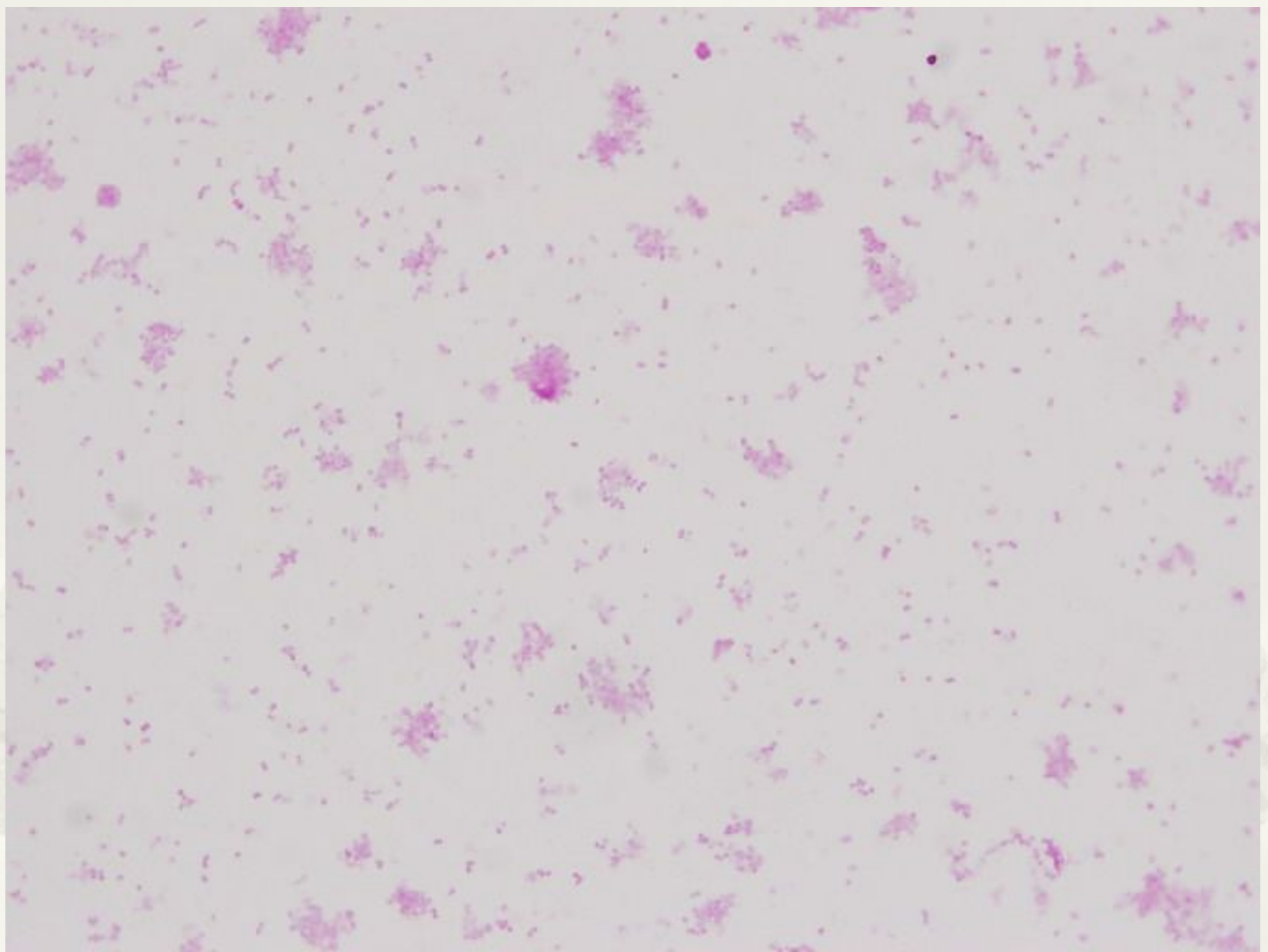
视野为半径 $2cm$ 的圆形



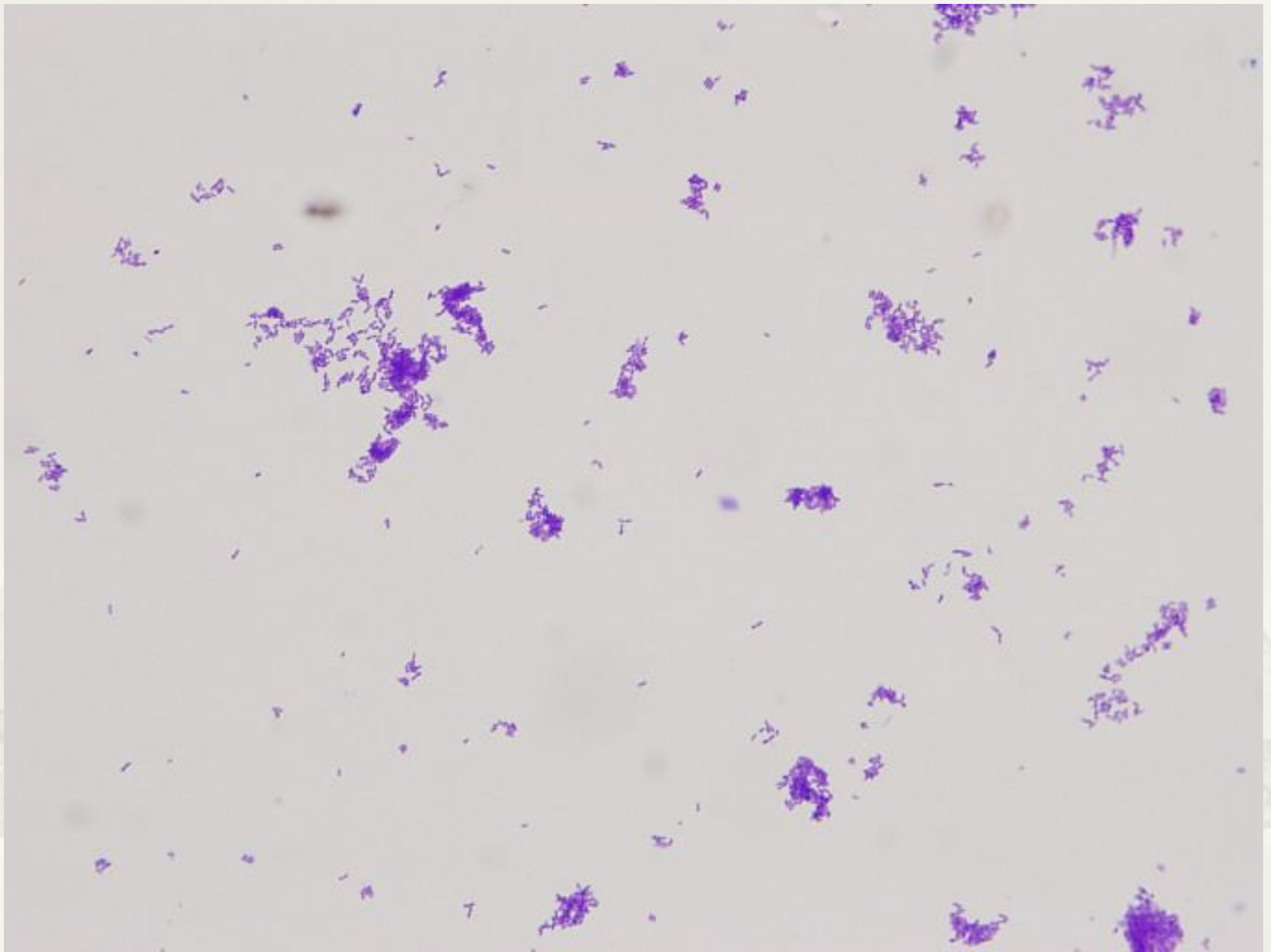
白色葡萄球菌



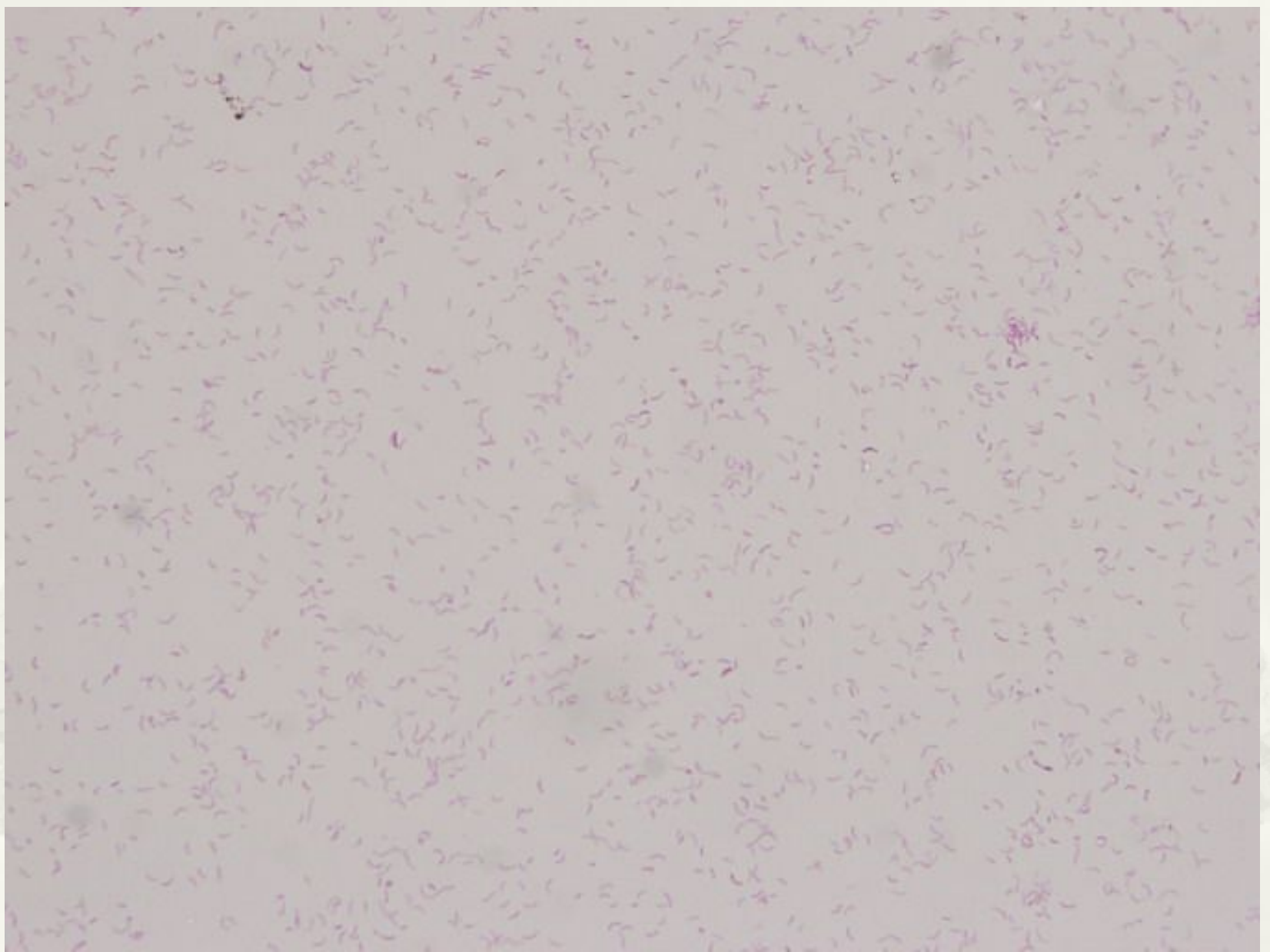
肺炎鏈球菌



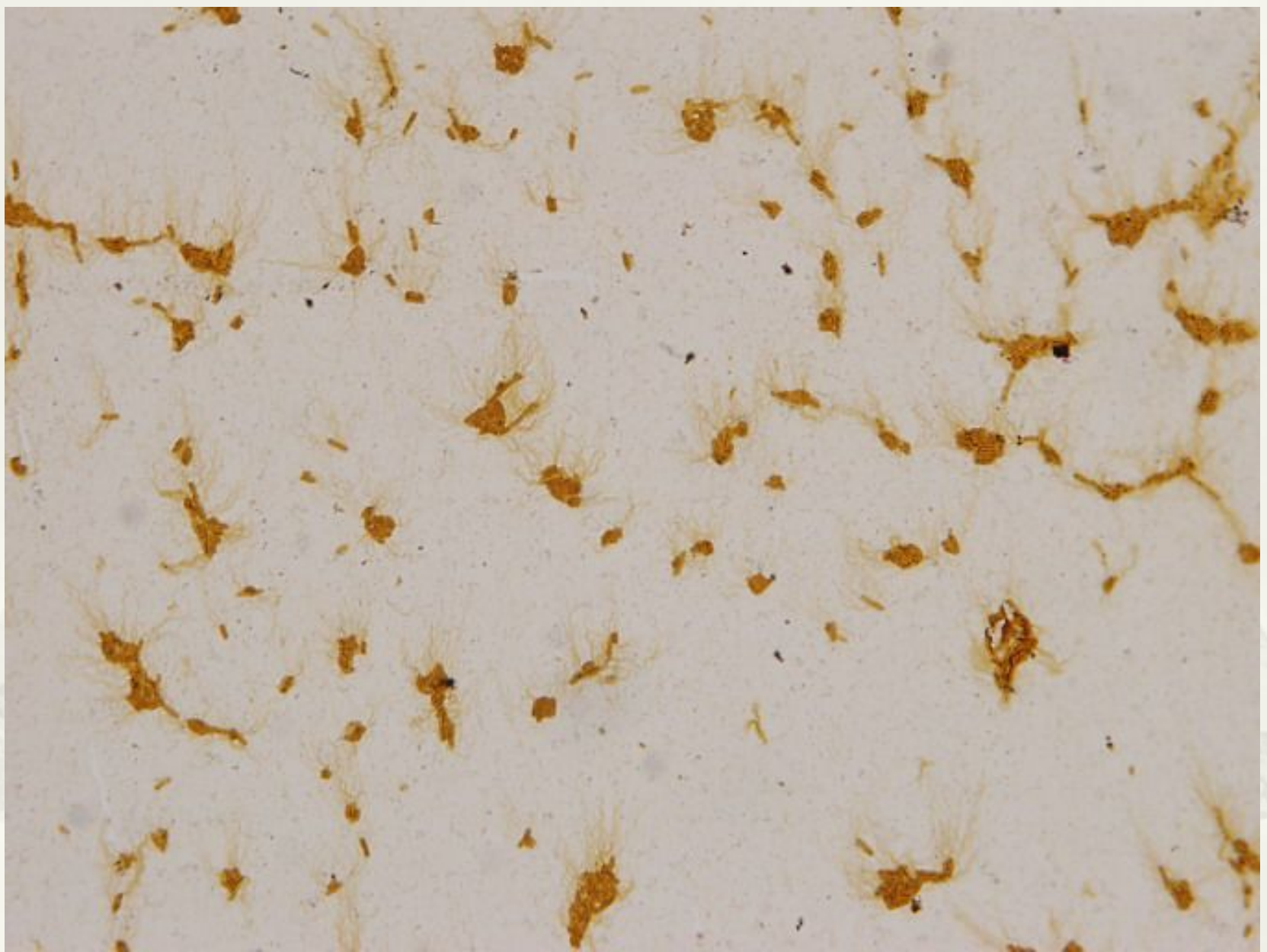
淋病奈瑟菌



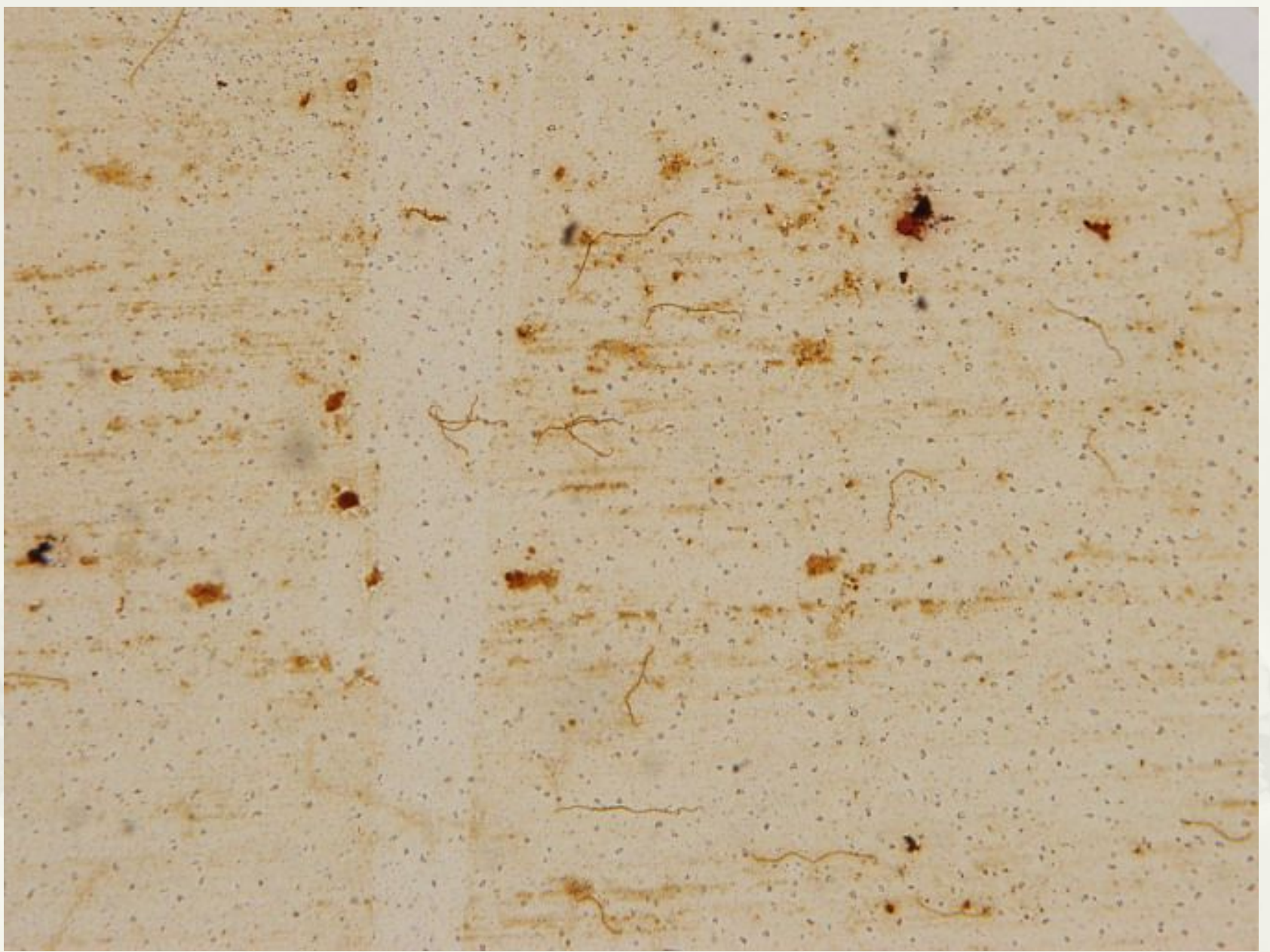
白喉棒状杆菌



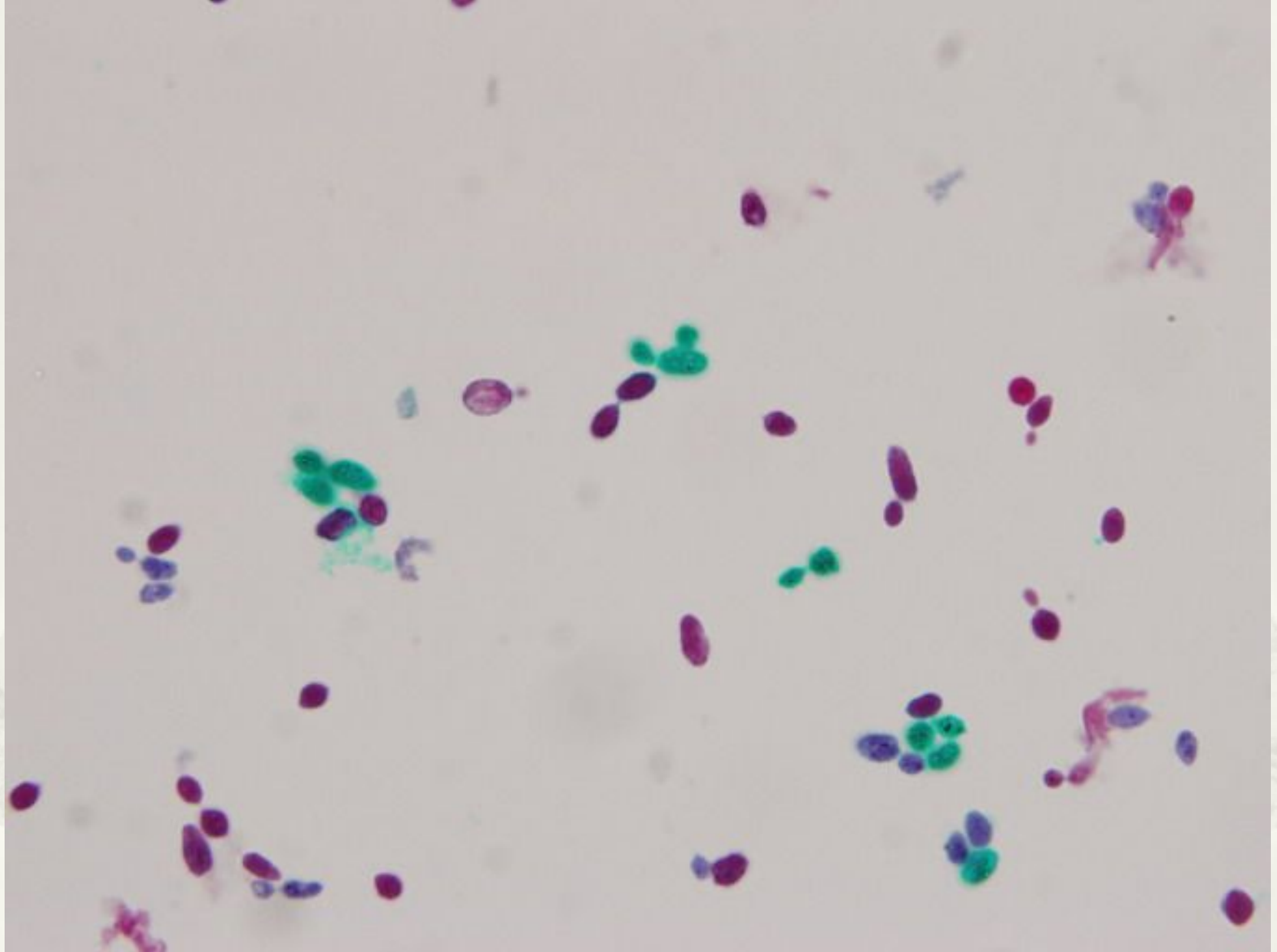
霍亂弧菌



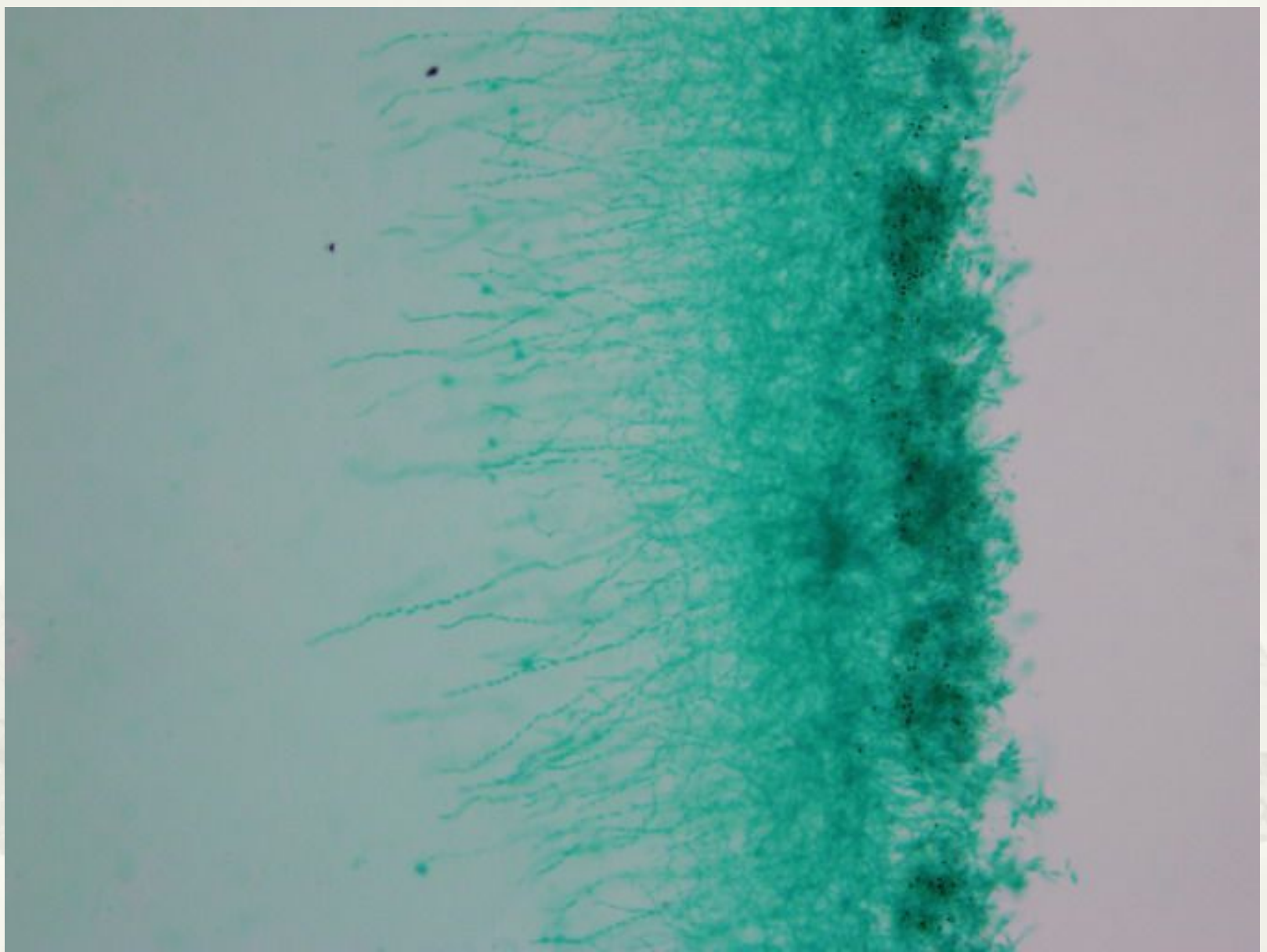
伤寒沙门菌



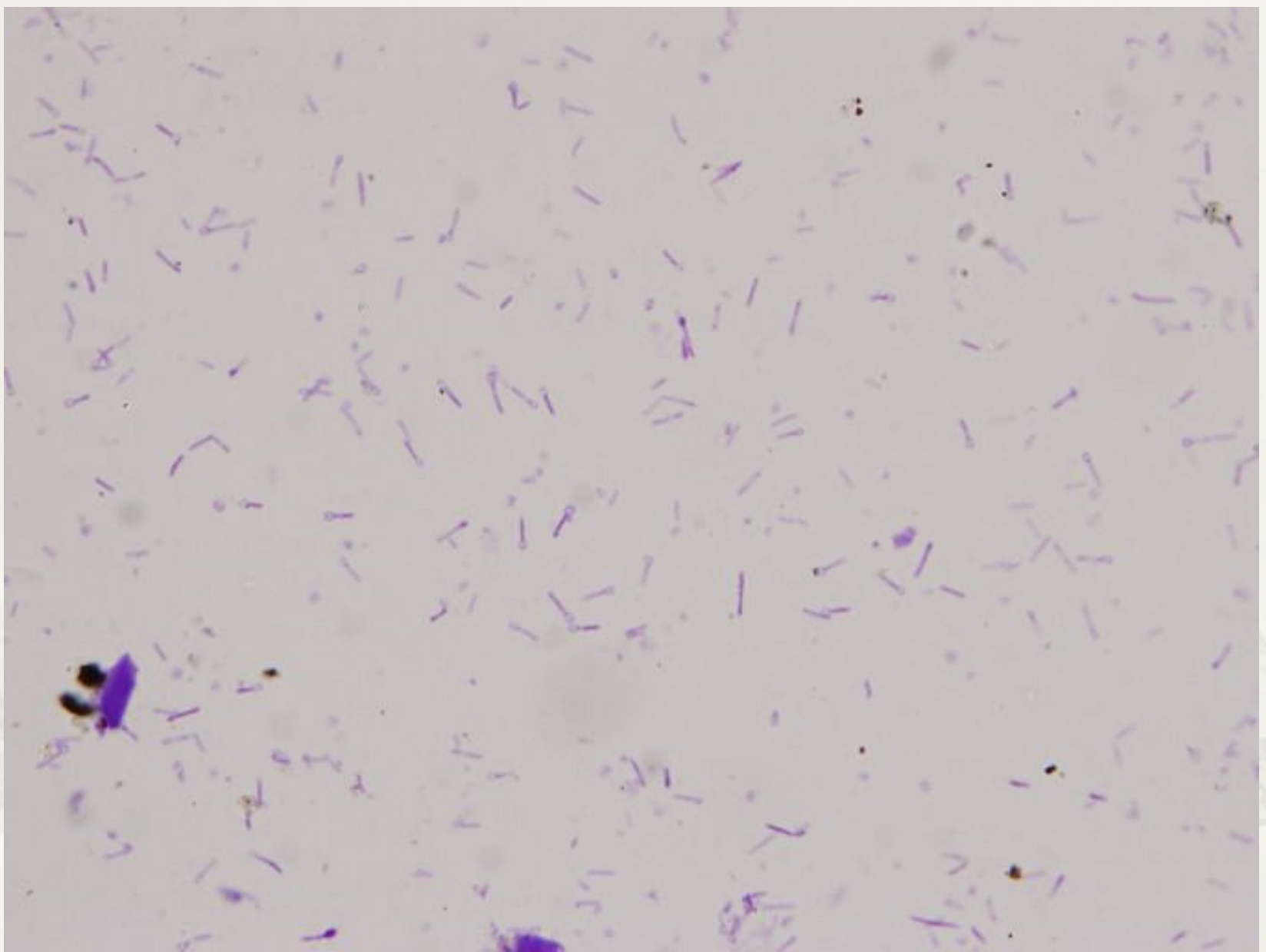
钩端螺旋体



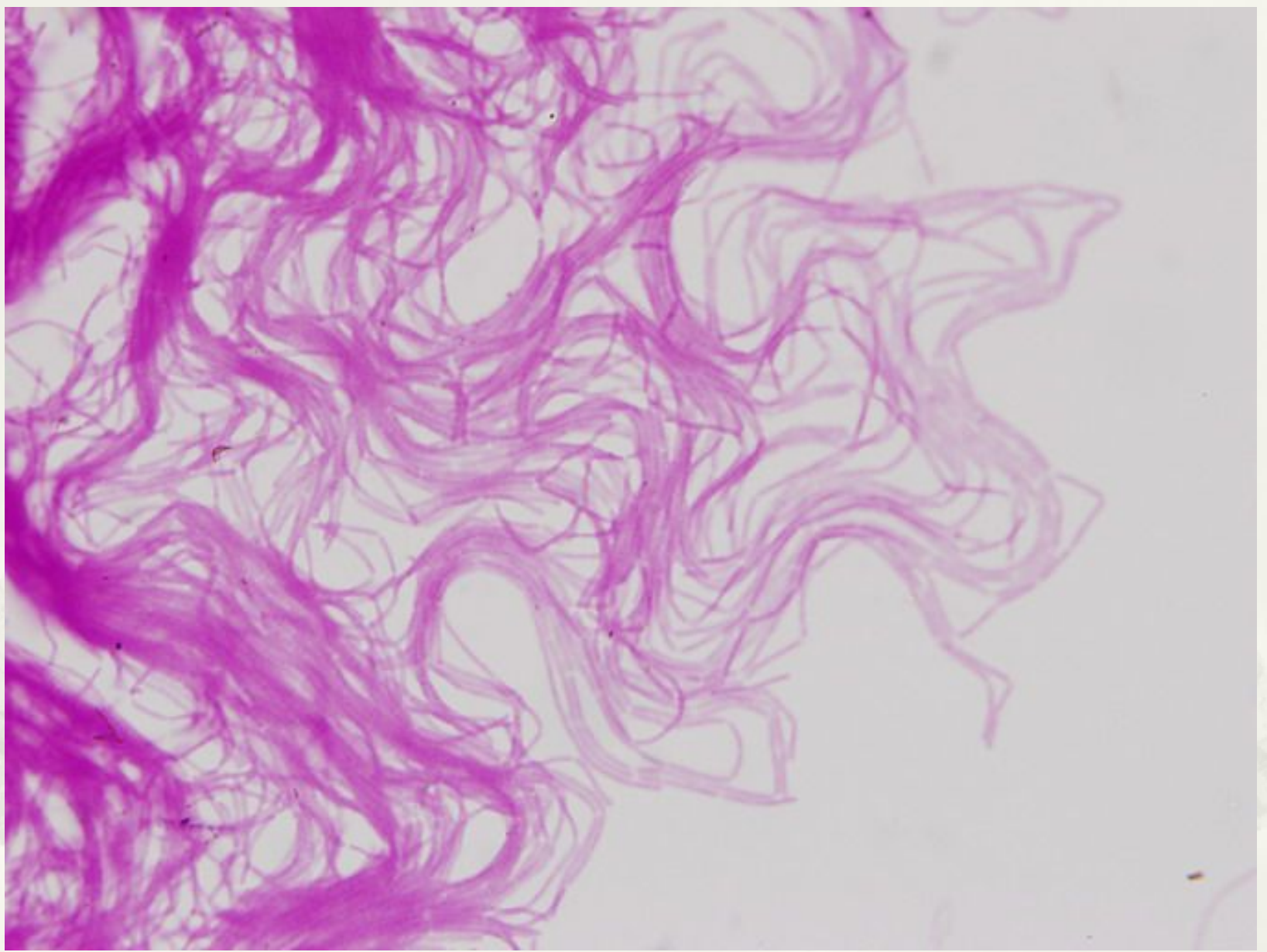
酵母菌



青霉菌



破伤风梭菌



炭疽杆菌