

实验四 微生物的细胞大小测定 及数量的直接测定

一、实验目的：

掌握细胞大小的测定方法和计数板测定细胞数量的方法

二、实验材料：

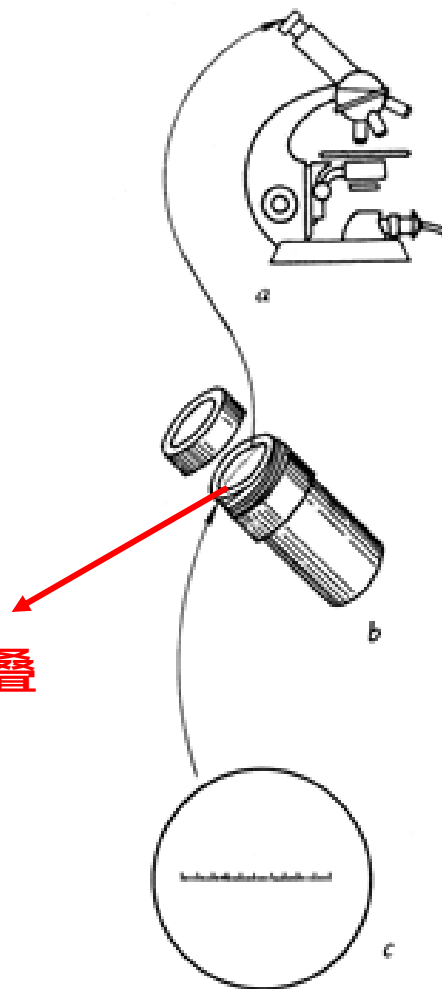
- 1、菌种：酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*)
- 2、器材：显微镜、血球计数板、镜台测微尺、目镜测微尺

目镜测微尺：

目镜测微尺是一块圆形玻片，在玻片中央把5mm长度刻成50等分，或把10 mm长度刻成100等分。

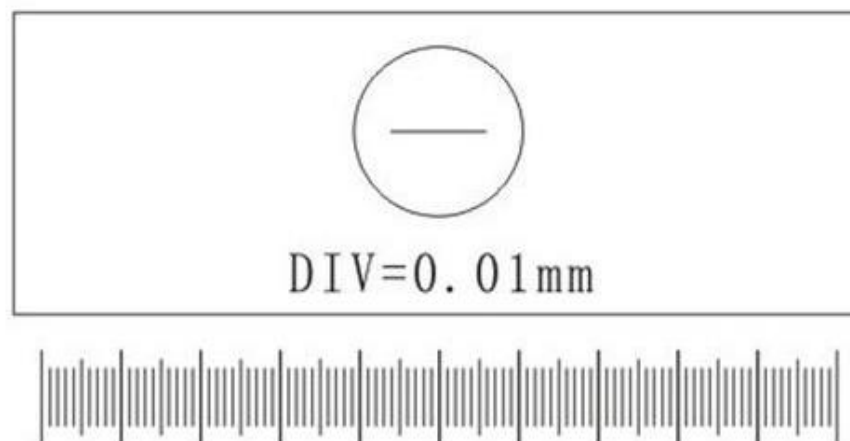
放在接目镜的隔板上。

此处正好与物镜放大的中间像重叠



镜台测微尺：

镜台测微尺是中央刻有精确等分线的载玻片，用于校正目镜测微尺每格长度，一般将1mm等分为100格，每格长10 μm （即0.01 mm）。

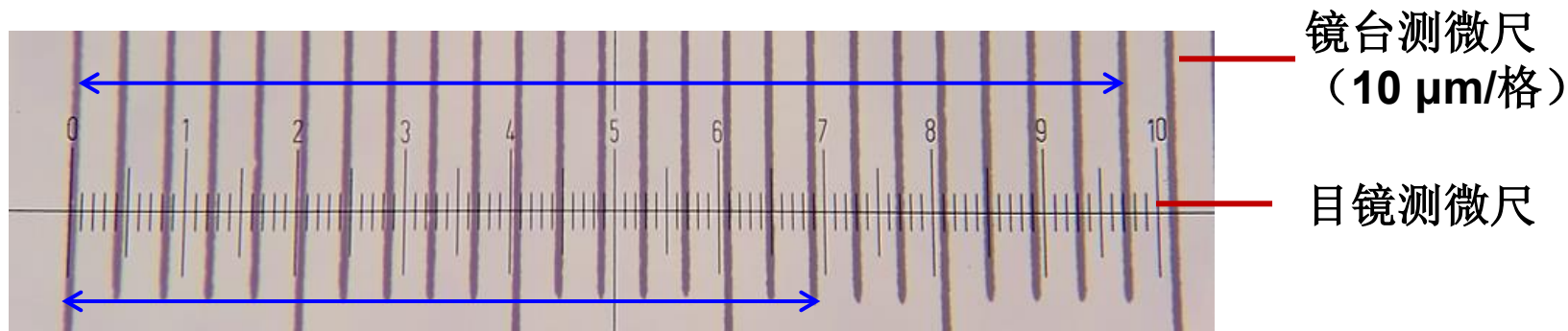


三、实验步骤：

(一) 细胞大小测定

1、目镜测微尺的校正

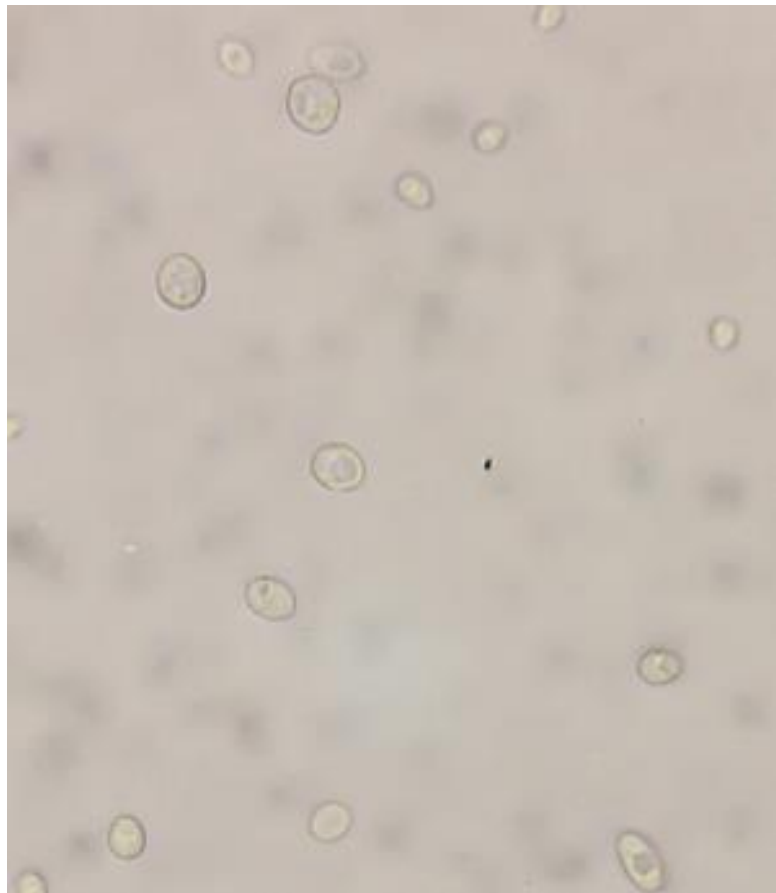
镜台测微尺置载物台上（**镜台测微尺有字的一面朝上**） → 4x 找刻度，调焦
→ 10x、40x 调焦、校正 → 转动目镜，或移动载物台，使目镜测微尺的0刻度
与镜台测微尺某一刻度重合 → 寻找下一个完全重合的刻度 → 计算校正值。



$$\text{目镜测微尺每格长度 } (\mu\text{m}) = \frac{\text{两重合线间镜台测微尺的格数} \times 10}{\text{两重合线间目镜测微尺的格数}} = \frac{24 \times 10 \mu\text{m}}{97} = 2.47 \mu\text{m}$$

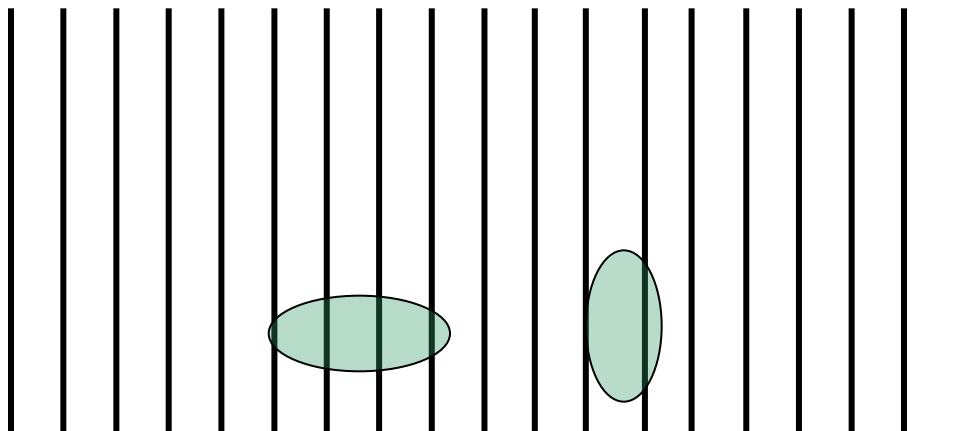
2、细胞大小的测量

于载玻片滴加酵母菌悬液1滴，盖上盖玻片（**正方形盖玻片**），用目镜测微尺随机测量5个细胞大小（长和宽各占几格，不足一格估算至小数点后一位），测量完毕，将载玻片洗干净回收，盖玻片丢黄色垃圾桶。



酵母的形态

目镜测微尺刻度



作业

(一) 微生物细胞大小测定

1、目镜测微尺校正：在40x下，目镜测微尺 ____ 格与镜台测微尺 ____ 格相当，因为镜台测微尺1小格 = 10 μm ，故目镜测微尺1小格 = ____ μm

2、酵母菌大小测定：

	1	2	3	4	5	平均格数 (精确到 0.1 格)	平均长度 (单位: μm)
长 (格数)							
宽 (格数)							

(二) 细胞数量测定

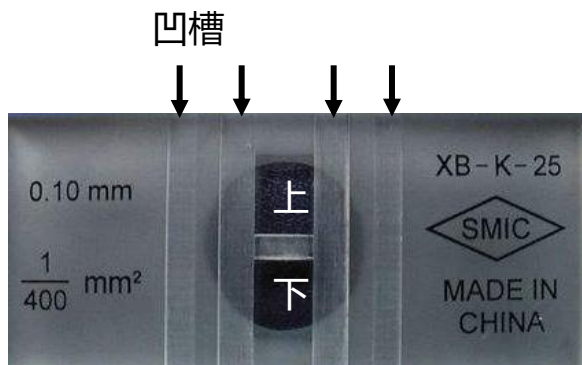
血球计数板：

一块特制的厚型载玻片，中央有4条纵向的凹槽，形成3个平台区。

中间的平台被1个短的横向凹槽分割为上下2个平台。

上、下2个中间平台各有1个计数室(透明区)。

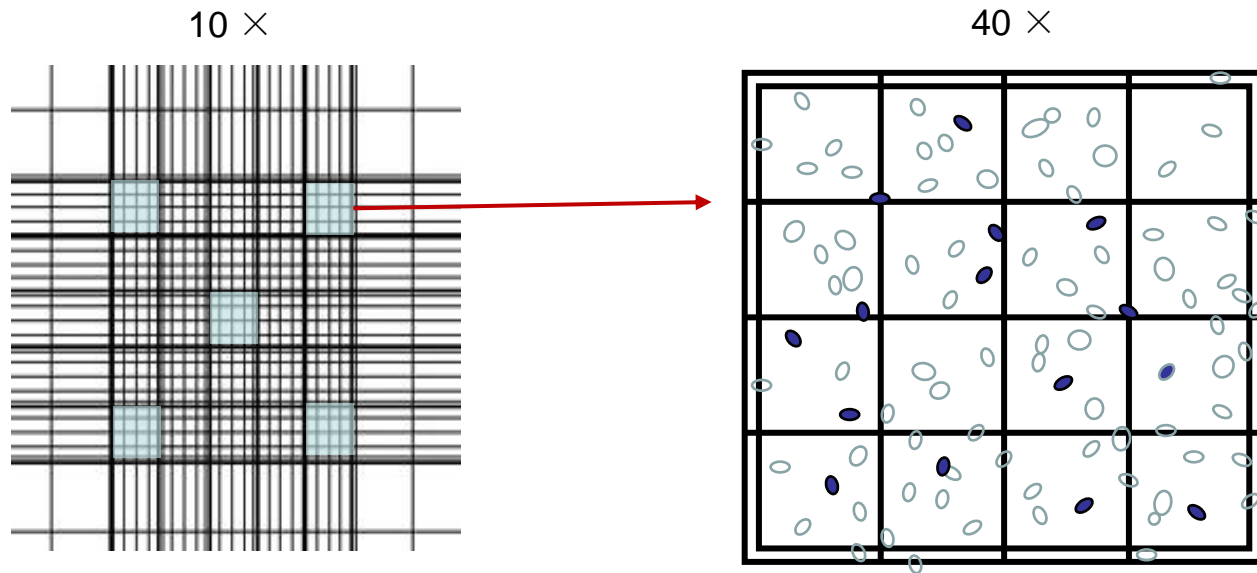
中间平台与两边的细长平台有0.1 mm的高度差。



血球计数板：

计数室：边长为1mm的大方格，高度为0.1mm，体积为0.1mm³。

1个计数室包含 **5 x 5** 个中格，1个中格包含 4 x 4 个小格。



每 mL 菌悬液中细胞数 = 每中格平均细胞数 (N) $\times 25 \times 10^4$

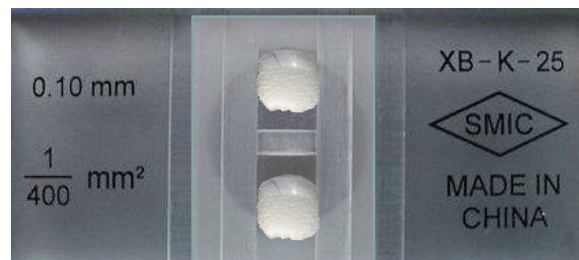
实验步骤:

1、取计数板，将酵母菌悬液摇匀，取酵母菌悬液直接滴加在计数区（上下透明区各滴加一滴），然后将大盖玻片(24 × 32 mm)盖在血球计数板中央的3个平台上(需盖住上、下计数室)。

注意避免产生气泡，也不要使平台沾上菌悬液。



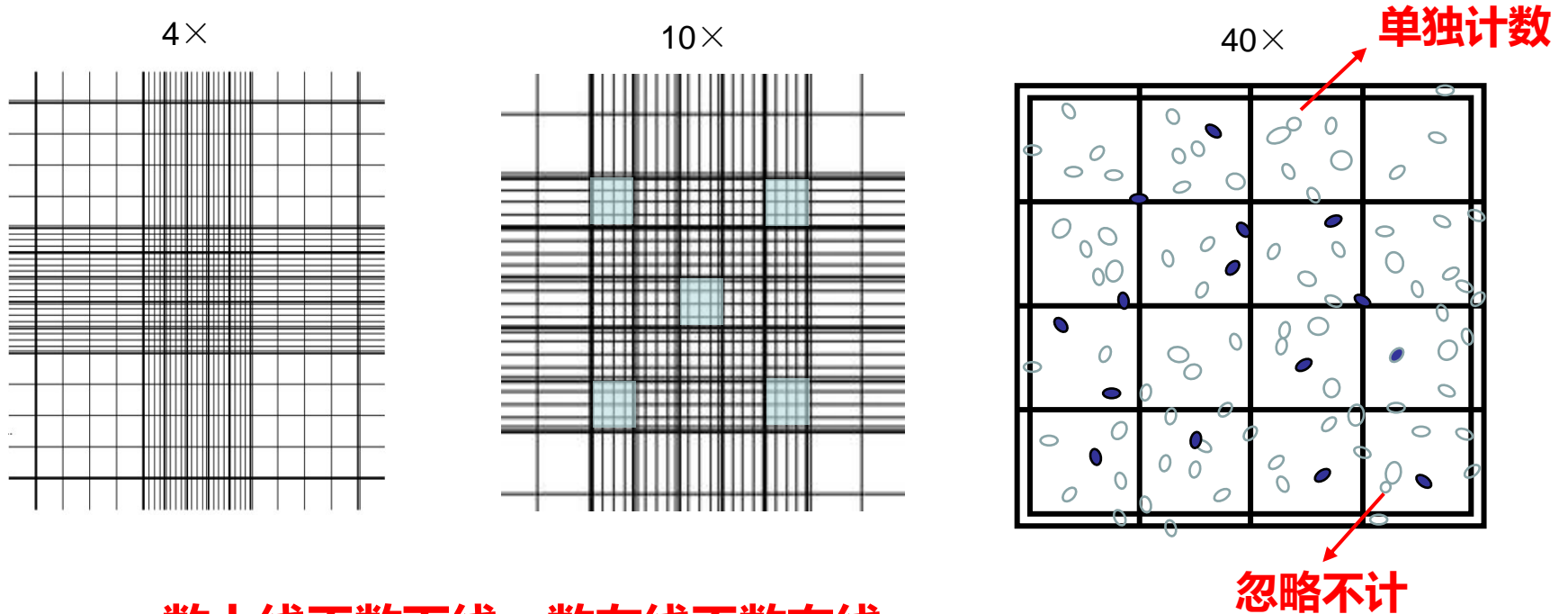
滴加菌悬液



盖上大盖玻片

2、静置约3~5min，使菌体沉积于计数板上。

3、在显微镜下，于4×找到计数区，将计数区调至视野中央，10×观察，再调至40×，计数（统计5个中格中的酵母菌数量）。



数上线不数下线，数左线不数右线，
芽体达到母细胞大小一半时，即单独计数。

4、测数完毕，取下盖玻片，在水龙头上用水柱将血球计数板冲洗干净，切勿用硬物洗刷或抹擦，以免损坏网格刻度。洗净后自然晾干或用吹风机吹干，放入盒内保存。

作业

(二) 细胞数量测定

统计5个中格中的细胞数量

计数室	1	2	3	4	5	每中格平均个数	样品细胞数 (个/ml) 科学 计数法表示
总菌数							