

PRÁCTICA DE BIOLOGÍA N° 1

El Microscopio

-

- *Introducción*
- *Objetivos*
- *Recursos*
- *Procedimientos*
- *Marco Teórico*
- *Observaciones en la Práctica*
- *Autoevaluación*

• **Introducción**

OBSERVANDO LO INVISIBLE. Gracias al Microscopio Óptico es posible conocer lo más pequeño del mundo que nos rodea.

Desde el descubrimiento del Microscopio por parte de Zacarías Jansen, la ciencia, particularmente la biológica, ha venido década tras década aportando nuevos conocimientos, desde la observación de la célula y su descubrimiento, el de las bacterias, hasta la situación actual con la visualización de la ultraestructura celular.

Y nosotros en nuestra formación como entes promotores y forjadores de salud, es de gran importancia el conocimiento y desarrollo de destrezas en este instrumento, que en un futuro no muy lejano, será un medio auxiliar de la carrera.

• **Objetivos**

- Reconocer al microscopio y sus elementos.
- Identificar los diferentes tipos de microscopios.
- Aprender la forma de manejo y el cuidado de un microscopio.
- Asimilar la técnica adecuada para el enfoque.

• **Recursos**

Humanos

- Grupo de estudiantes
- Ayudante de cátedra

Materiales

- Microscopio Simple de Luz
- Laminas cubreobjetos y portaobjetos
- Objetos para la observación (Papel cuadriculado, Cabello)

• **Procedimientos**

- Exposición teórica: brevemente se hablará y abordará temas como los objetivos de la práctica, materiales necesarios, los procedimientos, definición del microscopio, historia, estructura, manejo y cuidado, recomendaciones.
- Reconocimiento del Microscopio y sus elementos con la colaboración del ayudante de cátedra.
- Visualización de objetos e identificación de la técnica correcta para enfocarlos. El papel cuadriculado y el cabello los colocamos en portaobjetos, cubrimos con el cubreobjetos y observamos con los objetivos de 4x, 10x y 40x.

• Marco Teórico

Definición

Etimológicamente microscopio viene del griego: "mikro" = pequeño y "scopeō" = mirar (para mirar cosas pequeñas)

En definitiva un microscopio es cualquier instrumento que se utiliza para obtener una imagen aumentada de objetos minúsculos o detalles muy pequeños de los mismos.

En su afán de llegar siempre más lejos en la investigación de la naturaleza, de lo que los límites de sus órganos sensoriales le imponen, el hombre ha construido múltiples instrumentos que le han permitido acceder allí donde los sentidos no podían penetrar.

Así como el telescopio abrió a la humanidad las puertas de lo infinitamente grande, el microscopio hizo posible conocer los mundos de dimensiones ínfimas, entre ellos la célula, base de la vida. Se contaban así las bases de las modernas ciencias biológicas que hasta bien entrada la edad moderna se habían fundado en las observaciones directas.

El tipo más común de microscopio y el primero que se inventó es el microscopio óptico. Se trata de un instrumento óptico que contiene una o varias lentes que permiten obtener una imagen aumentada del objeto y que funciona por refracción.

La ciencia que investiga los objetos pequeños utilizando este instrumento se llama microscopía.

Historia

La curiosidad innata al hombre ha hecho que este haya intentado saber más acerca de los objetos más lejanos, pero también de los más próximos; desde la antigüedad se conoce algunos datos de observaciones hechas por diversas personas, sobre la propiedad de ciertos materiales (los vidrios) de modificar la imagen de lo que observamos, pero yéndonos a datos precisos, este es un resumen con fechas y nombres de hechos importantes relacionados con el microscopio:

Estructura

El microscopio óptico común está conformado por dos sistemas:

- El sistema mecánico está constituido por una serie de piezas en las que van instaladas las lentes que permiten el movimiento para el enfoque.
- El sistema óptico comprende un conjunto de lentes dispuestas de tal manera que produce el aumento de las imágenes que se observan a través de ellas.

La parte mecánica del Microscopio

La parte mecánica del microscopio comprende: el pie, el cabezal, el revólver, la platina, el tornillo micrométrico y el tornillo macrométrico. Estos elementos sostienen la parte óptica y de iluminación, además permite los desplazamientos necesarios para el enfoque del objeto.

- *El pie.* Constituye la base sobre la que se apoya el microscopio y tiene por lo general forma de Y o bien es rectangular
- *El cabezal o tubo óptico.* Tiene forma cilíndrica y está ennegrecido internamente para evitar las molestias que ocasionan los reflejos de la luz. En su extremidad superior se colocan los oculares.
- *El revólver.* Es una pieza giratoria provista de orificios en los cuales se enroscan los objetivos. Al girar el revólver, los objetivos pasan por el eje del tubo y se colocan en posición de trabajo, la cual se nota por el ruido de un piñón que lo fija.
- *La columna,* llamada también asa o brazo, es una pieza colocada en la parte posterior del aparato. Sostiene el tubo en su porción superior y por el extremo inferior se adapta al pie.
- *La platina.* Es una pieza metálica plana en la que se coloca la preparación u objeto que se va a observar. Presenta un orificio en el eje óptico del tubo que permite el paso de los rayos luminosos a la preparación. La platina puede ser fija, en cuyo caso permanece inmóvil; en otros casos puede ser giratoria, es decir, mediante tornillos laterales puede centrarse o producir movimientos circulares.
- *El tornillo macrométrico.* Girando este tornillo, asciende o desciende el tubo óptico o la platina del microscopio, deslizándose en sentido vertical gracias a una cremallera. Estos movimientos largos permiten el enfoque rápido de la preparación.
- *El tornillo micrométrico.* Mediante el movimiento casi imperceptible que produce al deslizar el tubo o la platina, se logra el enfoque exacto y nítido de la preparación. Lleva acoplado un tambor graduado en divisiones de 0,001 mm que se utiliza para precisar sus movimientos y puede medir el espesor de los objetos.



Sistema Óptico

El sistema óptico es el encargado de reproducir y aumentar las imágenes mediante el conjunto de lentes que lo componen. Está formado por los lentes oculares, los objetivos, la fuente de luz, el condensador y el diafragma.

- *Los oculares.* Los oculares están constituidos generalmente por dos lentes, dispuestas sobre un tubo corto. Los oculares generalmente más utilizados son los de: 8X, 10X, 12.5X, 15X. La X se utiliza para expresar en forma abreviada los aumentos.

- *Los objetivos.* Los objetivos producen aumento de las imágenes de los objetos y organismos y, por tanto, se hallan cerca de la preparación que se examina. Los objetivos utilizados corrientemente son de dos tipos: objetivos secos y objetivos de inmersión. Se disponen en una pieza giratoria denominada revólver.
- Los objetivos secos se utilizan sin necesidad de colocar sustancia alguna entre ellos y la preparación. En la cara externa llevan una serie de índices que indican el aumento que producen, la abertura numérica y otros datos. El número de objetivos varía con el tipo de microscopio y el uso a que se destina. Los aumentos de los objetivos secos más frecuentemente utilizados son: 6X, 10X, 20X, 45X y 60X.
- El objetivo de inmersión está compuesto por un complicado sistema de lentes. Para observar a través de este objetivo es necesario colocar una gota de aceite de cedro entre el objetivo y la preparación, de manera que la lente frontal entre en contacto con el aceite de cedro. Generalmente, estos objetivos son de 100X y se distingue por uno o dos círculos o anillos de color negro que rodea su extremo inferior.
- *La Fuente de Luz:* Que puede ser natural (a través de un espejo) o artificial (una lámpara conectado a una fuente de energía eléctrica).
- *Condensador.* El condensador está formado por un sistema de lentes, cuya finalidad es concentrar los rayos luminosos sobre el plano de la preparación. El condensador se halla debajo de la platina. El condensador puede deslizarse sobre un sistema de cremallera mediante un tornillo que determina su movimiento ascendente o descendente.
- *Diafragma.* Generalmente, el condensador está provisto de un diafragma o iris, que regula su abertura y controla la calidad de luz que debe pasar a través del condensador.

Tipos de Microscopios

La búsqueda de imágenes de mejor calidad y contraste, ha llevado al descubrimiento de nuevas y mejoradas clases de microscopios. Las principales clases de microscopios se resumen en el siguiente cuadro:

Los microscopios ópticos utilizan la propiedad de los lentes de aumentar la imagen de los objetos y de esa manera visualizarlos con el uso de la luz visible (espectro de luz).

Los microscopios ópticos especiales en cambio utilizan otros tipos de luz o modificaciones a la luz visible para obtener imágenes que de otra manera no se pueden visualizar.

El microscopio electrónico dejó a un lado la utilización de fotones (partículas que componen la luz) y de los lentes, y pasó al uso de electrones para la visualización y campos magnéticos que hacen las veces de lentes obteniéndose así imágenes de mejor calidad y de un mayor aumento.

Propiedades del Microscopio

Poder separador. También llamado a veces poder de resolución, es una cualidad del microscopio, y se define como la distancia mínima entre dos puntos próximos que pueden verse separados. El ojo normal no puede ver separados dos puntos cuando su distancia es menor a una décima de milímetro.

En el microscopio óptico, el poder separador máximo conseguido es de 0,2 décimas de micra, y en el microscopio electrónico, el poder separador llega hasta 10 ángstrom.

Poder de definición. Se refiere a la nitidez de las imágenes obtenidas, sobre todo respecto a sus contornos. Esta propiedad depende de la calidad y de la corrección de las aberraciones de las lentes utilizadas.

Poder de aumento. En términos generales se define como la relación entre el diámetro aparente de la imagen y el diámetro o longitud del objeto.

Manejo y Enfoque

En forma sistemática se debe seguir el siguiente modelo para un adecuado manejo y la técnica del enfoque:

- Encender la fuente de luz o colocarlo en un lugar iluminado en el caso de microscopio con fuente natural.
- Colocar el objetivo de menor aumento en posición de empleo y bajar la platina completamente. Si el microscopio se recogió correctamente en el uso anterior, ya debería estar en esas condiciones.
- Colocar la preparación sobre la platina sujetándola con las pinzas metálicas.
- Comenzar la observación con el objetivo de 4x (ya está en posición) o colocar el de 10 aumentos (10x) si la preparación es de bacterias.
- Para realizar el enfoque:
 - ◆ Acercar al máximo la lente del objetivo a la preparación, empleando el tornillo macrométrico. Esto debe hacerse mirando directamente y no a través del ocular.
 - ◆ Mirando, ahora sí, a través de los oculares, ir separando lentamente el objetivo de la preparación con el macrométrico y, cuando se observe algo nítida la muestra, girar el micrométrico hasta obtener un enfoque fino.
- Al pasar al siguiente objetivo la imagen debería estar ya casi enfocada y suele ser suficiente con mover un poco el micrométrico para lograr el enfoque fino.
- Empleo del objetivo de inmersión:
 - ◆ Bajar totalmente la platina.
 - ◆ Subir totalmente el condensador para ver claramente el círculo de luz que nos indica la zona que se va a visualizar y donde habrá que echar el aceite.
 - ◆ Girar el revólver hacia el objetivo de inmersión dejándolo a medio camino entre éste y el de 40X.
 - ◆ Colocar una gota mínima de aceite de inmersión sobre el círculo de luz.
 - ◆ Terminar de girar suavemente el revólver hasta la posición del objetivo de inmersión.
 - ◆ Mirando directamente al objetivo, subir la platina lentamente hasta que la lente toca la gota de aceite.
 - ◆ Enfocar cuidadosamente con el micrométrico.

Recomendaciones

- Levantar y transportar el microscopio por el brazo.
- Es conveniente limpiar y revisar siempre los microscopios al inicio y final de la sesión práctica.
- Cuando no se está utilizando el microscopio, hay que mantenerlo cubierto con su funda para evitar que se ensucien y dañen las lentes.
- Nunca hay que tocar las lentes con las manos.
- No dejar el portaobjetos puesto sobre la platina si no se está utilizando el microscopio.
- Al finalizar el trabajo, hay que dejar puesto el objetivo de menor aumento en posición de observación.
- La cantidad de luz que ingresa por el condensador va a depender del objetivo que estemos utilizando, a mayor aumento mayor cantidad de luz.
- Después de utilizar el objetivo de inmersión, hay que limpiar el aceite que queda en el objetivo con pañuelos especiales para óptica o con papel de filtro (menos recomendable). En nuestro caso podemos hacer uso de pañuelos que no dejen pelusa.
- No forzar nunca los tornillos giratorios del microscopio.
- El cambio de objetivo se hace girando el revólver y dirigiendo siempre la mirada a la preparación para prevenir el roce de la lente con la muestra.

- Mantener seca y limpia la platina del microscopio.

- **Observaciones de la Práctica**

- Ponga el nombre de cada una de las partes del Microscopio Óptico Compuesto:



- Grafique lo observado en el microscopio:

- **Autoevaluación**

- Son componentes del sistema mecánico del microscopio. Excepto:
- El tubo óptico.
- El brazo.
- La platina.
- El diafragma.
- Los tornillos macro y micrométrico.
- Todos.
- Ninguno.
- Sobre el manejo y cuidado del microscopio. Señale lo correcto:
- Se debe levantar y transportar el microscopio por el brazo.
- Es conveniente limpiar y revisar siempre los microscopios al inicio y final de la sesión práctica.
- Nunca hay que tocar las lentes con las manos.
- No dejar el portaobjetos puesto sobre la platina si no se está utilizando el microscopio.
- Todos.
- Ninguno.
- Señale 2 diferencias entre el microscopio óptico y el microscopio electrónico:

-
-
-
- ¿Qué entiende por poder de definición del microscopio?
-

- ¿Cómo explica usted observar la imagen impresa en el papel milimetrado (<) de modo inverso en el microscopio?

4x

4x

10x

10x

40x

40x

Objeto: _____

Objeto: _____

Microscopios ópticos

- ◆ microscopio simple
- ◆ microscopio compuesto

Microscopios ópticos especiales

- ◆ microscopio de luz ultravioleta
- ◆ microscopio en campo oscuro
- ◆ microscopio de fase

Microscopios electrónicos

- ◆ microscopio electrónico de transmisión
- ◆ microscopio electrónico de barrido

Tornillo

Micrométrico

Tornillo

Micrométrico

Oculares

Interruptor

Pie

Platina

Brazo

Tubo óptico

Objetivos

Fuente de Luz

Revolver

Condensador

Diafragma

- 1608 Zacarías Jansen construye un microscopio con dos lentes convergentes.
- 1665 Hooke utiliza un microscopio compuesto para estudiar cortes de corcho y describe los pequeños poros en forma de caja a los que él llamó "células". Publica su libro Micrographia
- 1674 Leeuwenhoek informa su descubrimiento de protozoarios. Observará bacterias por primera vez 9 años después.
- 1838 Schleiden y Schwann proponen la teoría de la célula y declaran que la célula nucleada es la unidad estructural y funcional en plantas y animales.
- 1876 Abbé analiza los efectos de la difracción en la formación de la imagen en el microscopio y muestra cómo perfeccionar el diseño del microscopio.
- 1881 Retzius describe gran número de tejidos animales con un detalle que no ha sido superado por ningún otro microscopista de luz. En las siguientes dos décadas él, Cajal y otros histólogos desarrollan nuevos métodos de tinción y ponen los fundamentos de la anatomía microscópica.
- 1882 Koch usa tinte de anilina para teñir microorganismos e identifica las bacterias que causan la tuberculosis y el cólera. En las siguientes dos décadas, otros bacteriólogos, como Klebs y Pasteur identificarán a los agentes causativos de muchas otras enfermedades examinando preparaciones teñidas bajo el microscopio.
- 1937 Ernst Ruska y Max Knoll, físicos alemanes, construyen el primer microscopio electrónico.