

PRÁCTICA DE BIOLOGÍA N° 2

Técnicas de Observación en el Microscopio

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

• **Introducción**

La necesidad del uso de microscopios más potentes y un manejo adecuado de los mismos, se ven inefectivos si a ello no se acompaña una técnica adecuada de preparación de placas y un correcto enfoque

El uso del Microscopio se ha generalizado tanto, son tantas las ciencias a las que es menester, que su uso mismo en la actualidad no es tan simple, incluso solamente hablando del microscopio óptico; y es por razón de que la inmensa cantidad de objetos y múltiples sustancias a investigarse, requieren de un procesamiento adecuado y propio para su mejor enfoque y visualización.

Es por ello que se quiere impartir al estudiante, en esta práctica, algunas nociones de las principales técnicas de las que se sirve el laboratorio para el mejor enfoque y visualización de los diferentes elementos a investigar.

• **Objetivos**

- Identificar algunos de las principales técnicas en enfoque u observación.
- Discernir cual es la técnica más adecuada para la observación de diferentes objetos.

• **Recursos**

Humanos

- Grupo de estudiantes
- Ayudante de cátedra

Materiales

- Microscopio Compuesto de Luz
- Láminas cubreobjetos y portaobjetos
- Fijador para el cabello
- Aceite de inmersión (cedro)
- Objetos para la observación (Papel cuadriculado, Cabello, Pétalo de una flor, placas preparadas)

• **Procedimientos**

- Exposición teórica: brevemente se hablará y abordará temas como los objetivos de la práctica, materiales necesarios, los procedimientos, algunas definiciones, tipos de técnicas.
- Observación del pétalo de una rosa o un cabello por el método en fresco. Para ello colocamos el objeto a investigarse en el portaobjetos, lo cubrimos con el cubreobjetos, y procedemos a la observación del mismo con los objetivos de 4x, 10x y 40x.
- Visualización del pétalo de una rosa o un cabello por la técnica de fijación. El pétalo de la rosa utilizado en la anterior visualización, la presionamos contra el portaobjetos con nuestro dedo índice (fijación mecánica) y en la placa con el cabello rociamos un poco de spray para el cabello, quedando así fijados los objetos en las placas y procedemos a observar con los objetivos de 4x, 10x y 40x.
- Las placas fijadas o teñidas enfóquelas por inmersión. Sobre las placas ya preparadas colocamos una gota del aceite de cedro, y las observamos al microscopio con el objetivo de 100x o de inmersión.

• Marco Teórico

Definición

Entendemos como técnicas de observación en Microscopía a todas aquellas formas, maneras o métodos utilizados para lograr la máxima visualización del objeto a investigarse, mediante el adecuado tratamiento o procesamiento del mismo.

Como se ve es un concepto muy general, y esto se debe a que muchas maneras o incluso circunstancias pueden colaborar en este objetivo, esto a su vez ha determinado que las técnicas de microscopía resulten innumerables.

Clasificación

El hecho anteriormente mencionado, ha impedido tener una clasificación precisa y absoluta de las técnicas de microscopía o de observación de placas, sin embargo, hemos tratado de resumirlas, con ciertos condicionamientos, en las siguientes formas:

Técnica de Observación en Fresco

Son todas aquellas formas o métodos de observación, mediante los cuales los objetos a investigarse, no sufren cambios o alteraciones en cuanto a su forma, estructura o composición química o sentido de vitalidad de los mismos; para ello los objetos deberán ser observados tal como existen o máximo inmersos en un medio similar, como el caso de las soluciones fisiológicas. Solo así podrán ser estudiados en su real y verdadera naturaleza. Estos métodos no suelen dar sin embargo la máxima visualización del objeto. Su uso se recomienda para el estudio de parásitos en heces, de secreciones corporales, etc.

Técnica de Observación por Fijación

Se denomina así todas aquellas formas en las que los elementos a estudiarse quedan fijados o impresos en el portaobjetos, deteniéndose todos los procesos vitales. Estas técnicas necesariamente cambian o alteran en alguna medida la estructura, forma o composición química de los objetos de estudio; su importancia radica en el hecho de que en esta forma pueden preservarse a través del tiempo, los elementos en la forma que ya fueron fijados. Los métodos de fijación son múltiples, pero se les puede dividir en métodos físicos y métodos químicos:

Fijación por métodos físicos

La fijación del objeto se realiza utilizando mecanismos físicos, como son el calor, la congelación, la desecación, la presión mecánica, etc. Sobre ésta última forma, vale la pena indicar, que aunque es un método

nuevo, ha sido utilizado especialmente en Citogenética, en el estudio de la mitosis y meiosis, desplazando en este campo a los procesos histológicos de parafina; consiste simplemente en la presión, que puede ser digital, sobre el objeto colocado en el portaobjetos.

Fijación por métodos químicos

En este caso la fijación se realiza aprovechando la naturaleza de ciertas sustancias químicas, que tienen la propiedad de fijar o impregnar las sustancias o elementos, así como de paralizar los procesos metabólicos celulares; entre estas sustancias tenemos: el aceite de carmín, el xilol, el formol, el alcohol, algunos ácidos y álcalis, etc. Vale la pena mencionar aquí el fijador de cabello en spray, que aunque contiene algunos de los elementos o sustancias ya mencionadas, se usa como fijador popular, especialmente en la preparación de placas para el estudio del Papanicolau, en la detección precoz del cáncer cervical. Se han elaborado programas en este sentido, teniendo en cuenta la facilidad de preparación de placas con este tipo de fijación, que podría ser realizado por la misma paciente.

Técnica de Observación por Tinción

Son todas aquellas formas de observación, por las cuales los objetos a estudiarse son teñidos o coloreados. Su uso es preponderante con aquellos objetos o materiales traslúcidos, como lo son en su mayoría las células y sus protoplasmas. La coloración puede ser simple o compleja.

Coloración Simple

Es aquella en donde se utiliza un solo tipo de colorante

Coloración Compleja

Aquella donde se utiliza más de un colorante, debiendo estos ser aplicados siguiendo un proceso ordenado y riguroso; generalmente esta técnica va acompañada de los procesos de fijación. Como ejemplo tenemos la tinción de Wright, Gram, Baar, Ziel Nelzen, etc.

Colorante

Son sustancias químicas, generalmente del grupo de las sales, en donde una de sus partes, la ácida o la básica, posee propiedades cromáticas y la otra no.

Atendiéndose a esta propiedad los colorantes se clasifican en: ácidos, básicos y neutros. Los primeros tendrán afinidad por las sustancias básicas, los segundos por las sustancias ácidas, y los terceros tendrán una afinidad indiferente.

Técnica de Observación por Inmersión

Es una técnica de observación que no compete a la preparación misma de la placa, sino a la corrección de un problema de difracción de la luz en el microscopio. Para ello se utiliza en aceite de cedro o de inmersión, una gota del cual debe ir colocado entre el objeto y el objetivo de 100x, necesitando estos, estar en contacto directo.

Función del aceite de inmersión

Sabemos que el aire tiene también un índice de difracción de la luz aunque no muy considerable. En el microscopio, la luz que sale de la fuente y atraviesa el condensador, llega al objeto al cual debe iluminarlo a trasluz, para luego recorrer una columna de aire hasta llegar al lente objetivo. Este último tiene un índice de

difracción de la luz equivalente a 1.1515, muy superior al de la columna de aire, lo cual produce una alteración en la visualización del objeto. El aceite de cedro que tiene un índice muy parecido al del objetivo, es colocado desplazando a la columna de aire y resolviendo este problema en forma aceptable. Sólo debe usarse, sin embargo, con el objetivo de inmersión.

Técnicas Combinadas

En realidad, a este grupo pertenecen la mayoría de las técnicas utilizadas en microscopía, y resultan de la combinación de dos o más técnicas de las ya mencionadas, especialmente fijación y tinción.

Técnicas Especiales

Como se había dicho al comienzo, existen innumerables técnicas en microscopía, y muchas de ellas no se las ha podido clasificar dentro de ninguno de los grupos mencionados anteriormente, por lo que los hemos llamado técnicas especiales, que aunque no son muy numerosas, algunas de ellas son muy importantes como es el caso de las técnicas histológicas de cortes en parafina.

• Observaciones de la Práctica

- Grafique lo observado en el microscopio con la técnica de observación en fresco
- Grafique lo observado en el microscopio con la técnica de observación por fijación
- Grafique lo observado en el microscopio con la técnica de observación por inmersión

• Autoevaluación

- Sobre las técnicas de observación en microscopía por fijación. Señale lo incorrecto:
- Las hay de tipo físico y químico.
- Las hay de tipo simple y complejo.
- Se pueden utilizar en combinación con la técnica de tinción.
- Se le utiliza para la toma de muestra para el Papanicolau.
- Todos.
- Ninguno.
- Diga un ejemplo de cada una de las siguientes técnicas de observación en microscopía:

Observación en Fresco _____

Observación por Fijación _____

Observación por Tinción _____

Técnicas Combinadas _____

Técnicas Especiales _____

- ¿Qué técnica utilizaría para la observación de parásitos en heces?
- Observación en fresco.
- Observación por fijación química.
- Observación por tinción simple.
- Una técnica especial.
- Todas.
- Ninguna.
- En la tinción de Gram, utilizada para visualizar bacterias, se combina dos técnicas. Señale el literal

correcto:

- Fijación y observación en fresco.
- Observación en fresco y tinción.
- Fijación y tinción.
- No es combinada, es una técnica especial.
- Todas.
- Ninguna.

100x

Objeto: _____

40x

10x

Objeto: _____

10x

Objeto: _____

40x

40x

10x

Objeto: _____

10x

Objeto: _____

40x