

Título: Uso y Manejo del microscopio

Cursos para los que se recomienda el ejercicio de laboratorio: Para todas las variantes de Ciencias Biológicas.

Temas: Historia de la microscopía, las partes y función del microscopio.

Competencias de Investigación: El estudiante se capacitará en una técnica fundamental en las Ciencias Biológicas y otras disciplinas relacionadas a la biomédica y las Ciencias Forenses. Además, comprenderá como este instrumento, en sus diversas modalidades, permite al investigador ampliar su capacidad sensorial de visión permitiéndole hacer observaciones, descripciones cualitativas y cuantitativas y comparaciones de microorganismos, tejidos, células o sus estructuras en el rango micro (10^{-6}).

Competencias de información que se desarrollarán: El estudiante recopilará la información necesaria acerca de cómo se fue desarrollando la microscopía y su importancia en la biología y cómo estos avances han impactado en la ciencia de hoy.

Duración: Uno o dos periodos de laboratorio.

Introducción

El microscopio es una de las herramientas que los biólogos utilizan para estudiar la vida. Es igualmente útil para el estudiante que está aprendiendo conceptos biológicos. El microscopio de luz es básicamente un sistema óptico para magnificar y un sistema de iluminación para poder hacer visible el objeto. El microscopio compuesto consiste de por lo menos un par de sistemas de lentes: a) ocular: lente por donde se mira, (b) objetivos: son lentes que están más cerca del espécimen y que tienen valores de magnificación entre 4x y 100x.

La microscopía envuelve tres conceptos básicos: magnificación, resolución y contraste. Magnificación es el grado en que la imagen de un espécimen es agrandada. La resolución es la habilidad de distinguir dos puntos como puntos separados, por lo tanto, a mejor resolución más clara la imagen. El contraste es la habilidad de ver un detalle en particular contra un trasfondo. Se utilizan tintes para aumentar el contraste.

El ojo humano funciona como un sistema de lentes. El ojo normal no puede enfocar un objeto que esté a menos de 10 cm de distancia. Esto quiere decir que se pueden distinguir dos puntos en un objeto que estén separados por 0.1mm. El microscopio te capacita para observar de 1.0mm a 0.001mm. Para observar objetos más pequeños se utiliza el microscopio electrónico.

La mayoría de las células son microscópicas y por eso dependemos del microscopio para su observación. El microscopio compuesto es un instrumento delicado y costoso que consiste de partes mecánicas que permiten movimientos precisos para ajustar la distancia entre el espécimen y los lentes. Es uno de los instrumentos más útiles que tiene el biólogo para observar las estructuras de las células. Provee la oportunidad para conocer sobre un mundo que es invisible al ojo humano. Naturalmente, cualquier instrumento es de poco valor a menos que se sepa cómo usarlo.

Objetivos específicos

Al finalizar este ejercicio, el estudiante será capaz de:

1. reconocer y rotular en un diagrama del microscopio todas sus partes.
2. explicar la función de cada una de las partes del microscopio.
3. calcular el aumento en tamaño de un espécimen dado, conociendo el aumento que produce el ocular y el objetivo que esté usando.
4. usar el microscopio de forma apropiada para enfocar algún detalle en la laminilla.
5. explicar mediante un diagrama de círculos concéntricos la relación inversa que existe entre la magnificación y el tamaño del campo de visión.
6. explicar en qué dirección se mueve un objeto o estructura bajo el microscopio con relación a la dirección del movimiento que se le da a la laminilla con la mano.
7. conocer las formas de cuidar el microscopio.
8. transportar correctamente el microscopio de un sitio a otro.
9. observar diversas laminillas fijas de microorganismos o tejidos de los diversos reinos del dominio Eukarya.
10. preparar una o varias laminillas por el método de montaje húmedo y observar bajo el microscopio.

Materiales y equipo

1. microscopio compuesto
2. laminillas
3. cubreobjetos
4. laminillas fijas
5. papel para lentes
6. papel absorbente
7. papa pequeña
8. agua destilada
9. papel toalla
10. goteros
11. tinte de yodo (Lugol)
12. escalpelo
13. aguja de disección
14. pinzas

Notas importantes sobre el uso del microscopio

1. Debe sostener el microscopio con la base sobre la palma de la mano y sujetar el brazo de este con su otra mano para llevarlo de un sitio a otro. (Fig. 1)
2. Los lentes, portaobjetos (laminillas) y cubreobjetos deben mantenerse siempre limpios.
3. Los lentes deben limpiarse solamente con papel para lentes, el cual estará disponible en el laboratorio. (Fig. 1)
4. Nunca coloque la laminilla sobre la platina cuando tenga el microscopio con el objetivo de mayor aumento en posición de observar.
5. No permita que el lente toque el cubreobjetos. (Fig. 1)
6. Al hacer observaciones por el microscopio, mantenga ambos ojos abiertos.
7. El microscopio está diseñado con un sistema parafocal, el cual permite que la imagen ya enfocada en 4X, al pasar a los objetivos de 10X y 40X respectivamente, la imagen esté en foco y solo requiere se ajuste la nitidez de la imagen usando el botón micrométrico. Por esta razón debe enfocar la muestra primero con el objetivo de menor aumento (4X) y luego pasar a observar con los objetivos de mayor aumento.
8. Si su microscopio no funciona como es debido, notifique al profesor enseguida.
9. Al guardar el microscopio debe estar seguro de: limpiar los lentes con papel de lente, remover la laminilla de la platina, subir el condensador, colocar el objetivo de menor aumento (4X, el más corto) en posición de observar, bajar la platina, cerrar el diafragma, apagar el interruptor de la luz y enrollar el cable.

Procedimiento

A. Forma correcta de levantar, sostener y transportar el microscopio

1. Sostenga el brazo del microscopio con una mano y levante en forma recta para que el eje de este quede en posición vertical.
2. Ponga la palma de la otra mano directamente bajo la base del microscopio.
3. Debe mantener el microscopio al frente suyo en una posición que considere cómoda.
4. Evite que éste se balancee mientras camina.
5. Si su microscopio tiene la iluminación integrada, no toque la bombilla después de haberlo usado, pues estará caliente y puede quemarse.
6. Es necesario que siempre siga las instrucciones que se le han dado de cómo transportar el microscopio de un sitio a otro, para evitar que accidentalmente éste pueda recibir algún golpe o que sus lentes se puedan caer y romper. (Fig. 1)

Figura 1. Uso correcto de transporte de microscopio.



B. Pasos básicos que seguir al usar el microscopio.



Figura 2. Microscopio compuesto

1. Observación de una laminilla en menor aumento.

- a. Coloque el microscopio en la mesa con el brazo hacia usted.
- b. Utilizando el microscopio y la figura 2, localice y rotule en el diagrama las siguientes partes: la base, el brazo, los lentes oculares, el botón micrométrico, el botón macrométrico, la montura tipo revólver con los lentes objetivos, la platina con el carro mecánico, el diafragma, el condensador y el iluminador (bombilla).

- c. Dele vueltas a la montura tipo revolver hasta que el objetivo de menor aumento (4X) esté en posición de observar. Escuchará un sonido (“click”) que le indicará que el objetivo está en posición correcta. El aumento total de cualquier espécimen visto bajo el microscopio se obtiene multiplicando la magnificación del objetivo usado por la magnificación del lente ocular. Por lo tanto, con el ocular 10X y con el objetivo 10X, la imagen del objeto es aumentado cien veces.
- d. Seleccione una de las diversas laminillas de montaje fijo que le provea su profesor y colóquela correctamente en el carro mecánico. Asegúrese de que el cubreobjetos quede hacia arriba.
- e. Al mirar por el ocular mantenga siempre ambos ojos abiertos. Ajuste la distancia entre los oculares y sus ojos siguiendo las instrucciones de su profesor. Mire por el ocular mientras mueve el ajuste macrométrico. El ajuste macrométrico **solo** se utilizará con el objetivo de 4X en posición de observar, **nunca** con objetivos de 10X, 40X o 100X. Continúe haciendo esto hasta que el objeto quede en foco.
- f. Una vez el espécimen o la laminilla esté enfocado en 4X, será necesario ajustar el diafragma para obtener la mejor iluminación. Esto se logra abriendo y cerrando el diafragma sin mover el condensador. No toque el condensador. Es necesario que practique esta técnica para que logre su dominio.
- g. De ser necesario utilice el botón del ajuste micrométrico para enfocar el objeto claramente. Observe detenidamente.
- h. Mueva la laminilla hacia la derecha. ¿Hacia qué lado se mueve el objeto visto por el microscopio? (Es importante que recuerde esto.) Practique moviendo la laminilla hasta que pueda hacerlo suavemente. Localice algún punto o estructura en el campo de visión, mueva la laminilla de tal modo que pueda seguir la estructura o punto seleccionado según vaya moviendo el campo de visión. Esto es muy importante cuando esté observando organismos vivos.
- i. Mueva el botón del ajuste micrométrico mientras mueve la laminilla. ¿Por qué el espécimen no desaparece inmediatamente de la vista cuando se mueve el ajuste micrométrico?

2. Observación de una laminilla en mayor aumento.

Cuando crea que puede operar el microscopio con éxito usando el lente de menor aumento, proceda a utilizar el de mayor aumento (40X). Cuando use este lente, el objeto a ser observado debe estar en el centro del campo de visión, ya que este objetivo aumenta sólo una pequeña porción de lo que se ve con el objetivo de menor aumento.

- a. El objeto debe enfocarse primero con el objetivo de menor aumento (4X).
- b. Luego mueva la montura revólver hasta poner en posición el objetivo de 10X. Enfoque utilizando el botón micrométrico. Una vez enfocado pase al de mayor aumento 40X.

- c. Ahora, para enfocar mejor, tiene que utilizar el botón micrométrico, moviéndolo como se le ha indicado anteriormente. **El ajuste macrométrico no debe usarse con el objetivo de mayor aumento.**
- d. Regule la cantidad de luz con el diafragma.
- e. Mueva la laminilla poco a poco. Trate de seguir una misma área de la preparación alrededor del campo de visión. ¿Qué observa? ¿Qué ve con el objetivo de mayor aumento que no le fue posible ver con de menor aumento? ¿Qué magnificación obtiene con el objetivo de 40X y el ocular de 10X?

3. Observación de una letra utilizando la técnica de montaje húmedo.

- a. Coloque una gota de agua sobre una laminilla y acomode una letra de papel de periódico en posición de lectura utilizando la aguja de disección, cuya forma sea asimétrica.
- b. Coloque el cubreobjetos según se indica en la figura 3.
- c. Enfoque y observe. ¿Qué diferencia nota en la posición de la imagen?
- d. Mueva la laminilla hacia la derecha, hacia la izquierda, hacia arriba y hacia abajo. ¿Qué relación existe entre la dirección en que mueve el objeto y el movimiento de la imagen?

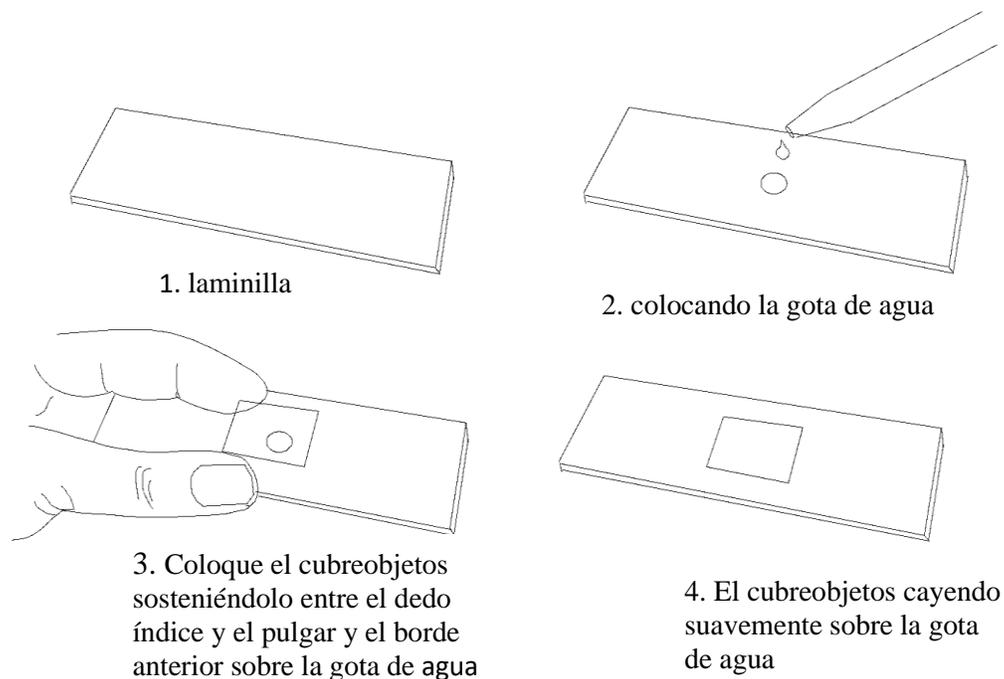


Fig. 3 Montaje húmedo

C. Técnica de tinción

- a. Corte un pedazo fino de papa en una laminilla limpia
- b. Añada una gota de agua y colóquele un cubre objeto.
- c. Observe con el objetivo menor aumento.

- d. Por un extremo del cubre objeto añada unas gotas de solución de yodo, al mismo tiempo que toque el otro extremo con un pedazo de papel toalla.
- e. Observe rápidamente a través del ocular. ¿Qué le ocasiona el tinte de yodo a los gránulos de almidón?

II. Microscopio de disección

Introducción

El microscopio de disección es un microscopio compuesto con una distancia de trabajo mayor entre el espécimen y el objetivo, lo que permite la manipulación del espécimen (ejemplo: disección de un insecto). Posee 2 lámparas, 1 en la parte superior lo que permite la iluminación desde arriba, y otra en la base lo que ilumina el espécimen desde la parte inferior.

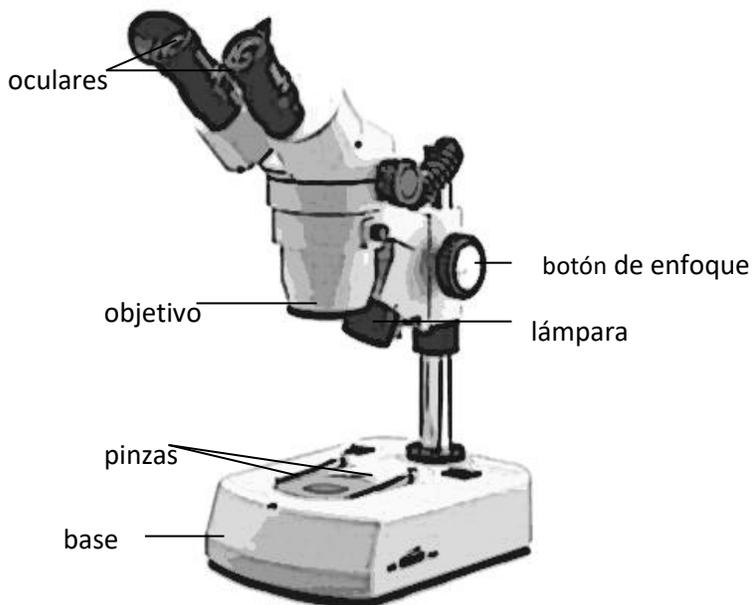


Fig. 4. Microscopio de disección

Objetivos específicos

Al finalizar este ejercicio, el estudiante será capaz de:

1. usar el microscopio de disección de forma apropiada para enfocar un objeto, observar y describir sus estructuras.
2. utilizar las siguientes técnicas de microscopía de disección: ajuste de luz, profundidad y poder de resolución.

Materiales y equipo

1. microscopio de disección
2. pedazo de madera
3. cristal de reloj
4. organismo pequeño (solicitar los organismos conservados en cajas de cristal)

Procedimiento

1. Coloque un objeto, como un pedazo de madera, un bolígrafo, un cabello suyo, etc. en la platina del microscopio de disección y observe. Enfoque utilizando ambos objetivos. ¿Observa alguna diferencia en lo observado?
2. Coloque un organismo, provisto por el profesor, en posición de observar utilizando un cristal de reloj o una placa Petri.
3. Examine el mismo bajo el microscopio. ¿Qué estructuras puede identificar que no veía a simple vista? Use ambos objetivos.

Preguntas de Autoevaluación

Conteste las preguntas del 1 al 5 seleccionando la mejor contestación entre las alternativas “a”, “b” o “c”.

- a. lente objetivo de menor aumento (4X)
- b. lente objetivo de mayor aumento (40X)
- c. lente objetivo de inmersión de aceite (100X)

- ___ 1. ¿Qué lente objetivo debe estar sobre el centro de la platina, tanto cuando se empieza a enfocar como cuando se guarda el microscopio?
- ___ 2. Al enfocar, ¿cuál de los lentes objetivos queda a mayor distancia de la laminilla?
- ___ 3. Si se utiliza un lente ocular 5X, ¿qué lente objetivo debe usarse para obtener un aumento de 20X?
- ___ 4. ¿Qué lente objetivo produce un aumento de 400X cuando se usa un ocular de 10X?
- ___ 5. ¿Qué lente objetivo transmite la mayor cantidad de luz por razón de tener un diámetro mayor?

Conteste las siguientes preguntas:

1. Mencione las ventajas que tiene utilizar el montaje húmedo para examinar material vivo.
2. Describa la función de cada una de las siguientes partes de un microscopio de luz compuesto.
 - a. condensador
 - b. diafragma
 - c. objetivo
 - d. ocular

3. Cuando se coloca una letra sobre la platina en posición de lectura y se observa bajo el microscopio, ¿cómo se observa ésta? ¿Si se mueve a la derecha, hacia dónde se mueve la misma?
4. ¿Cuáles son las diferencias estructurales y funcionales de un microscopio compuesto comparado con un microscopio de disección?

Actividades sugeridas para aplicar el conocimiento en una nueva situación o para realizar investigación adicional y desarrollar las competencias de información.

1. Haga una búsqueda bibliográfica sobre cómo evoluciona la biología y otras ramas de la ciencia gracias al microscopio.
2. Busque información sobre 5 profesiones o trabajos que utilizan microscopios como herramienta laboral.
3. Haga una búsqueda bibliográfica sobre el origen y desarrollo del microscopio compuesto.

Referencias:

Starr, C. Taggart, T., Evers, C. Starr, L. 2016. Biology: The Unity and Diversity of Life, 14va Edición. Cengage Learning Canada.

Historia del microscopio.

Recuperado de: <http://personales.mundivia.es/mggalvez/micro2.htm>

Microscopía: la historia del microscopio.

<https://www.biol.unlp.edu.ar/historiamicroscopia.htm>

¿Qué es el microscopio? http://www.areaciencias.com/El_Microscopio.htm

Slaiter, E. 1992. Light and Electron Microscopy. Cambridge University Press, NY.

Zhou, W. 2007. Scanning Microscopy for Nanotechnology: Techniques & Applications. <http://site.ebrary.com/id/10517856>.

REVISADO POR EL COMITÉ DE CURRÍCULO OCTUBRE 2018