



**1-Práctica de laboratorio: A. MICROSCOPIA B. OBSERVACION MICROSCOPICA Y MACROSCOPICA**

**Integrantes:** \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_

**Código:** \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_

**2-OBJETIVOS.**

**Generales:**

- ✦ Reconocer y utilizar el microscopio y el estereoscopio como herramientas en actividades científicas

**Específicos:**

- ✦ Identificar y explicar las funciones de la partes de un microscopio compuesto y un estereoscopio
- ✦ Conocer los principios ópticos y aprender el manejo correcto de los dos instrumentos.
- ✦ Aprender a realizar montajes húmedos y determinar la magnificación de lo observado.
- ✦ Aprender a enfocar de manera adecuada preparados con los diferentes objetivos del microscopio, incluido el de inmersión o 100X.
- ✦ Determinar el diámetro del campo de visión en los diferentes objetivos utilizados.
- ✦ Cumplir las Normas de Bioseguridad en el laboratorio para el desarrollo de los protocolos en biología.

**3-REFERENTES CONCEPTUALES**

**Palabras clave:** Microscopio, Estereoscopio, Montaje húmedo, *Elodea sp*, observación microscópica, observación macroscópica.

La invención de dos aparatos de óptica, el telescopio y el microscopio compuesto, a finales del siglo XVI y principios del XVII, ha contribuido a modificar la concepción que el hombre tenía del mundo. Con el primero se empezó a sondear la profundidad del cosmos y con el segundo el mundo de lo infinitamente pequeño.

Hacia los años 1590 y 1610, se reconoció como el primer constructor del microscopio compuesto a Zaccharias Janssen de Middleburg (Holanda). Posteriormente, Antoine Van Leewenhoek también holandés, reveló el mundo de los organismos microscópicos al observar los microorganismos conocidos hoy como protozoarios y bacterias, presentes en gotas de agua, que observó en un



microscopio simple o lupa, constituido por una lente esférica. Los microscopios actuales se parecen muy poco a los primeros aparatos y paralelo a su desarrollo y perfeccionamiento, se han logrado importantes descubrimientos (1).

Existen diversos microscopios y tipos de iluminación; entre los principales se encuentran: el microscopio común de luz transmitida o combinado con iluminación por transmisión y reflexión, con campo oscuro, con contraste de fase: el microscopio invertido, el microscopio con luz polarizada y el microscopio con luz ultravioleta. Los anteriores trabajan con luz fotónica, mientras el microscopio electrónico tiene como fuente de luz haces de electrones y en vez de lentes utiliza campos electromagnéticos (1).

Es así como para los estudios de biología se utiliza el microscopio de luz para observar material biológico con tamaños muy pequeños. Un microscopio de luz es un sistema coordinado de lentes arreglados para producir una imagen bien clara y definida del espécimen con un mayor tamaño. La invención del microscopio de luz fue muy importante para la biología, debido a que éste fue usado para formular la teoría celular y el estudio de la estructura biológica a nivel celular. El microscopio de luz reveló un infinito mundo al ojo y la mente humana. Hoy es un instrumento fundamental para la mayoría de los científicos que requieren de él (1).

#### Partes del microscopio.

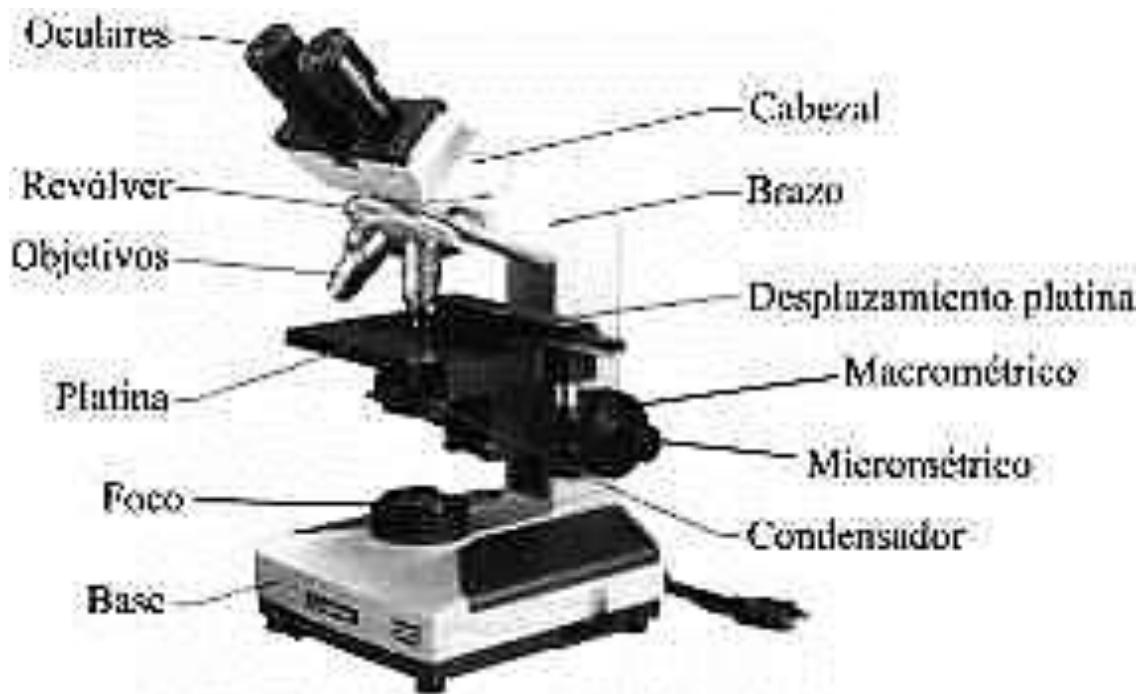


Figura 1. Partes del microscopio. Fuente: [http://moblog.whmsoft.net/related\\_search.php?keyword=microscopio+partes&language=spanish&deph=2](http://moblog.whmsoft.net/related_search.php?keyword=microscopio+partes&language=spanish&deph=2).



### Parte mecánica:

- Pie o soporte: Sirve como base al microscopio y en él se encuentra la fuente de iluminación.
- Platina: Superficie sobre la que se colocan las preparaciones. En el centro se encuentra un orificio que permite el paso de la luz. Sobre la platina hay un sistema de pinza o similar, para sujetar el portaobjetos con la preparación, y unas escalas que ayudan a conocer qué parte de la muestra se está observando. La platina presenta 2 tornillos, generalmente situados en la parte inferior de la misma, que permiten desplazar la preparación sobre la platina, en sentido longitudinal y transversal respectivamente.
- Tubo: cilindro hueco que forma el cuerpo del microscopio. Constituye el soporte de oculares y objetivos.
- Revólver portaobjetivos: estructura giratoria que contiene los objetivos.
- Brazo: une el tubo a la platina. Lugar por el que se debe tomar el microscopio para trasladarlo de lugar.
- Tornillo macrométrico (enfoque grueso): sirve para obtener un primer enfoque de la muestra al utilizarse el objetivo de menor aumento. Desplaza la platina verticalmente de forma perceptible a simple vista.
- Tornillo micrométrico (enfoque fino): sirve para un enfoque preciso de la muestra, una vez que se ha realizado el enfoque con el macrométrico. También desplaza verticalmente la platina, pero de forma prácticamente imperceptible.
- En la mayoría de microscopios de luz, estos dos tornillos se encuentran en un mismo eje, en donde el mecanismo de funcionamiento es por piñones muy finos llamado de cremallera, el cual no puede ser forzado so pena de ser estropeado.

### Parte óptica:

- Oculares: son los sistemas de lentes más cercanos al ojo del observador, situados en la parte superior del microscopio. Son cilindros huecos provistos de lentes convergentes cuyo aumento se reseña en la parte superior de los mismos (generalmente 10X).
- Objetivos: son sistemas de lentes convergentes que se acoplan en la parte inferior del tubo, mediante el revólver. Un anillo coloreado es distintivo de los aumentos de cada objetivo, que también van reseñados en el lateral del mismo. Los objetivos corrientes utilizados son: 4X y 10X o de menor aumento, 40X o de mayor aumento y 100X o de inmersión, esto porque el objetivo no enfoca bien la preparación al aire, y se debe utilizar un aceite especial, llamado de inmersión.
- Condensador: sistema de lentes convergentes que capta los rayos de luz y los concentra sobre la preparación, de manera que proporciona mayor o menor contraste.
- Diafragma: mecanismo que al abrirlo o al cerrarlo permite graduar la intensidad de la luz. Bajo el diafragma se encuentra ocasionalmente un Anillo Portafiltro. Tanto el condensador como el diafragma se encuentran conformando una unidad bajo la platina.



- Fuente de iluminación: el aparato de iluminación está constituido por una lámpara halógena de bajo voltaje (12V) situada en el pie del microscopio. La luz procedente de la bombilla pasa por un reflector que envía los rayos luminosos hacia la platina, los rayos luminosos atraviesan así el

condensador y la preparación para finalmente pasar por el objetivo y el ocular, que están dispuestos en el mismo eje óptico.

- Distancia de Trabajo o Distancia Focal: es el espacio que existe entre la superficie de la lente del objetivo y la laminilla, una vez se encuentre enfocada la preparación. A mayor aumento del objetivo disminuye la distancia de trabajo, y para los objetivos de mayor aumento y de inmersión es menor de 1mm; o sea, estos objetivos se colocan muy cerca de la preparación, pero no deben tocarla directamente, ya que se puede romper la laminilla, o rayar los objetivos o causar daño mecánico al microscopio.

### Principios ópticos:

Una lente sencilla (biconvexa) posee dos focos, uno a cada lado de la lente, cuando los rayos luminosos pasan a través de la lente, se concentran en el foco. Si el objeto se coloca a una distancia mayor del foco, se obtiene una imagen real; mientras que si el objeto se localiza a una distancia menor del foco, la imagen será virtual.

Se podría pensar que al emplear lentes adicionales se lograrían mayores aumentos, pero en la formación de la imagen, no solo es importante la ampliación, se requiere que la imagen sea nítida, para lo cual es necesario combinar los diferentes poderes del microscopio, los cuales son:

- Poder de aumento: Permite magnificar la imagen. En general el número de aumentos está dado por la relación:  $A = \# \text{ ocular} \times \# \text{ objetivo}$
- Poder de resolución: Capacidad de distinguir claramente los pequeños detalles presentes en un objeto. Para la mayoría de las personas, los objetos que están separados entre sí por una distancia menor de 0.1 mm, no pueden ser vistos como objetos separados a simple vista. El microscopio permite visualizar de forma separada objetos que están mucho más unidos, aún objetos que de otra forma parecen construir una unidad.
- Poder de definición: Permite formar imágenes claras, nítidas con contornos definidos.
- Poder de profundidad de foco (penetración): Permite observar varios planos con un mismo enfoque.



### Verificaciones preliminares:

- Al iniciar la práctica llene la hoja de inventario con los datos correspondientes al microscopio asignado.
- Si va a mover el microscopio tómelo con una mano del brazo, y con la otra mano sosténgalo por la base. Utilice siempre las dos manos al transportar el microscopio. Colóquelo cuidadosamente sobre la mesa de laboratorio de tal manera que los oculares queden mirando hacia usted.
- Revisar que todas las partes se encuentren limpias y en buen estado. Si presentan daño alguno avise inmediatamente a la persona encargada o al docente.
- Gire el revólver hasta que el objetivo de menor aumento 4X quede alineado con el ocular (se siente un golpecito al quedar en posición de uso). Abra luego el diafragma completamente y gradúe el condensador de tal manera que quede cerca de la platina. Mire por el ocular y haga los ajustes finales hasta que el CAMPO DE VISION quede uniformemente iluminado (a manera de una luna llena).
- Si las lentes de los oculares u objetivos están sucias u opacas, límpielas con el papel de arroz impregnado de alcohol isopropílico, moviéndolo circular y suavemente. NUNCA use tela u otro tipo de papel, RAYARÁ los lentes.
- Realice todas las observaciones propuestas e indique en cada una de sus figuras o dibujos: nombre del objeto observado y sus detalles o contenidos, tipo de montaje, aumento, tamaños, etc.
- Una vez terminada la práctica gire el revólver de tal forma que el objetivo de menor aumento (4X) quede alineado con el ocular en forma vertical y a una distancia de 4 o 5 cm de la platina. Esto se llama POSICIÓN DE TRABAJO.

### Manejo del Microscopio.

Para el uso correcto del microscopio es importante y necesario seguir los pasos que se describen a continuación:

- *Iluminación:* prenda el microscopio con el objetivo de menor aumento (4X), observe por el ocular y ajuste la luz hasta lograr una iluminación uniforme en el campo de visión (a manera de una luna llena). El condensador debe estar cerca de la platina y el diafragma abierto.
- *Enfoque visual a menor aumento,* coloque la preparación centrada en la platina. Mirando por fuera acerque el objetivo a la lámina, girando el tornillo macrométrico hasta que quede a una distancia ligeramente menor de la distancia de trabajo (3 cm para 4X y 1 cm para 10X). Ahora enfoque a través del ocular subiendo lentamente el objetivo (o retirando la platina según el microscopio) hasta ver la imagen del preparado. Una vez obtenida la imagen, complete el enfoque con el tornillo de ajuste fino (micrométrico). Si es necesario, gradúe la intensidad luminosa, ajustando la apertura del diafragma y la altura del condensador (si el condensador es fijo, varíe la cantidad de luz, evite sobre iluminación).
- *Enfoque visual a mayor aumento:* una vez observada la preparación en menor aumento (4X y 10X), pase a posición de trabajo el objetivo de mayor aumento, girando suavemente el revólver. Si observa que la lente tropieza con la preparación, sepárela levemente del objetivo empleando el tornillo macrométrico y posteriormente proceda a acercar el objetivo a la preparación (en este caso casi pegado al cubre objeto, menos de 1mm) observando por fuera y no a través del ocular. Enfoque la imagen con el tornillo micrométrico, siempre alejando el objetivo de la preparación.

#### 4 CONSULTA PREVIA.

1. Consulte la utilidad del microscopio y del estereoscopio
2. Explique la diferencia entre observación microscópica y observación macroscópica.
3. Realice una reseña sobre qué es y cómo funciona un estereoscopio
3. Indique los diferentes poderes de resolución del microscopio
4. ¿Cuáles son las medidas microscópicas?
5. ¿Cuánto equivale un milímetro en micras?
6. En cada una de las preparaciones, ¿Compare los diferentes objetivos, en cuál se observa mejor? ¿Por qué?
7. Cite tres diferencias entre microscopio de luz y microscopio electrónico.
8. Elabore una tabla indicando la combinación y/o resultado de multiplicar el *valor del ocular x objetivo = aumentos*.

#### 5 MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS

Materiales y equipos	Reactivos
Micopreparados Trozos de papel de arroz Microscopio Estereoscopio	Frasco de aceite de inmersión Líquido para limpieza de lentes

#### Materiales que debe traer el estudiante

- Hojas de Elodea
- Lupa
- Gotero
- Toallas absorbentes
- Tijeras
- Hojas blancas, papel, lápiz
- Material biológico (hojas flores frescas, insectos)
- Laminas portaobjetos y cubreobjetos
- Bisturí

## 6 PROCEDIMIENTO

### A. Observación Microscópica

#### 1. Observación de las células de *Elodea sp.*

- Sobre una lámina portaobjetos limpia, coloque una hoja pequeña o una parte de hoja de la planta, adicione una gota de agua.

Observe la muestra con los lentes de 4X y 10X

- Acerque la laminilla cubre objetos en posición oblicua y apoyando una arista sobre el portaobjetos al lado de la muestra, déjela caer suavemente sobre esta, evitando la formación de burbujas de aire.
- La preparación debe quedar totalmente cubierta y embebida en el líquido. Evite el exceso de agua (o colorantes en preparaciones coloreadas) en los bordes de la laminilla o sobre esta, retire el exceso con papel absorbente.
- Antes de colocar la lámina sobre la platina, fíjese que esté completamente seca en la parte inferior. Si Usted ve que la preparación se está deshidratando puede agregar agua por goteo al lado de la laminilla (3).

Observe la muestra con el lente de 40X

#### 2. Observación de las células de micropreparados:

- Reciba cuidadosamente con las dos manos una lámina de micropreparado con tejido animal Colóquela en la platina y realice observaciones en 4X, 10X y 40X
- Observe cuidadosamente, dibuje o tome fotografías.

#### 3. Observación de protozoos y algas en una gota de agua estancada:

- Sobre una lámina portaobjetos limpia, coloque una gota de agua estancada (charco, florero, o acuario de laboratorio).

Observe la muestra con los lentes de 4X y 10X



- Acerque la laminilla cubre objetos en posición oblicua y apoyando una arista sobre el portaobjetos al lado de la muestra, déjela caer suavemente sobre esta, evitando la formación de burbujas de aire.
- La preparación debe quedar totalmente cubierta y embebida en el líquido. Evite el exceso de agua (o colorantes en preparaciones coloreadas) en los bordes de la laminilla o sobre esta, retire el exceso con papel absorbente.
- Antes de colocar la lámina sobre la platina, fíjese que esté completamente seca en la parte inferior.

Observe la muestra con el lente de 40X

Observe cuidadosamente, dibuje o tome fotografías.

### **B. Observación Macroscópica:**

Observación utilizando el estereoscopio:

- ✦ En cajas de Petri individuales coloque las distintas muestras a observar (hojas, pistilos, pétalos, estambres, insectos, lombrices)
- ✦ Coloque la caja de Petri bajo la lupa y manualmente mueva la caja, enfocando la parte de la muestra que desea observar
- ✦ Gradué la luz de acuerdo a la necesidad
- ✦ Observe cuidadosamente, dibuje o tome fotografías.

## **7 BIBLIOGRAFÍA**

1. Alberts, Bray, Hopkin, Johnson, Lewis, Raff et al. Introducción a la Biología Celular. 3ª edición. Mexico. Editorial Médica Panamericana. 2011.
2. Vodopich D, Moore R. Biology Laboratory Manual. Mc.Graw Hill Ed. 2005.
3. Capuchino J, Sherman N. Microbiology, a Laboratory Manual. Benjamín Cummings Ed. 2001.
4. Jonson T, Case C. Laboratory Experiments in Microbiology. Benjamín Cummings, Ed. 2001.



## INFORME DE LABORATORIO

---

**Integrantes:** ● \_\_\_\_\_  
● \_\_\_\_\_  
● \_\_\_\_\_  
● \_\_\_\_\_

**Código:** ● \_\_\_\_\_  
● \_\_\_\_\_  
● \_\_\_\_\_  
● \_\_\_\_\_

### RESULTADOS DE OBSERVACION

]

1.1 Dibujos (imágenes) y descripción de observación Microscópica

**[1,5/5,0]**

1.2 Dibujos (Imágenes) y descripción de observación Macroscópica

**[1,5/5,0]**

**1. Conclusiones**

**[1,5/5,0]**

**2. Bibliografía**

**[0,5/5,0]**