



Programa de la asignatura:

# Técnicas de laboratorio de biología

**U3** | El microscopio



DCSBA



BIOTECNOLOGÍA



## Índice

Presentación de la unidad.....	2
Propósitos de la unidad.....	2
Competencia específica.....	3
3. El microscopio.....	3
3.1. Historia del microscopio.....	4
3.1.1. Tipos de microscopio y su uso.....	13
3.1.2. Importancia de los microscopios en el laboratorio.....	19
3.2. El microscopio dentro del laboratorio de biología.....	20
3.2.1. Manejo del microscopio óptico.....	22
3.2.2. Manejo del microscopio electrónico.....	24
3.2.3. Manejo del microscopio de disección.....	28
Actividades.....	29
Autorreflexiones.....	29
Cierre de la unidad.....	30
Para saber más.....	31
Fuentes de consulta.....	31



## Presentación de la unidad

Existen organismos y objetos que no pueden ser observados a simple vista, por eso es necesario auxiliarse de equipos que sean capaces de ampliar el poder de resolución del sentido de la vista para la visualización del objeto que se está analizando; entre estas herramientas están las lupas, lentes de aumento y una gran variedad de microscopios.

En esta unidad conocerás el origen del microscopio y su evolución tecnológica para llegar hasta los que actualmente se conocen, siendo estos de diversos tipos y con características específicas para realizar observaciones claras y objetivas.

Con los microscopios ha sido posible observar características de una enorme variedad de microorganismos, células y biomoléculas, que son útiles en aplicaciones biotecnológicas. Por ejemplo, existen cinco tipos de virus de la gripe, entre los que se encuentra el de la influenza AH1N1. Para clasificarlos, fue necesario analizar cómo las cepas reaccionaban ante diferentes pruebas y después, mediante el microscopio, visualizar los resultados que ayudaron a los científicos a registrarlos y categorizarlos en cinco grupos, de acuerdo a sus características genéticas.

También en la elaboración de alimentos o fármacos se requiere utilizar microorganismos, los cuales procesan ciertas sustancias durante su metabolismo para dar como producto final la fermentación de lácteos, pan, vinos, quesos, o la producción de antibióticos derivados de la penicilina.

## Propósitos de la unidad



El propósito de esta unidad es que conozcas cómo es un microscopio a través de su descripción; que sepas los tipos que existen y lo importantes que son para realizar las actividades, experimentos, investigaciones y trabajos dentro de un laboratorio de biología, así como de biotecnología. También sabrás cómo se llegó a su invención, mediante el descubrimiento de las lentes, a través de una serie de etapas de búsqueda y



prueba que comenzaron desde la antigüedad y que sirvieron como base para la elaboración del microscopio moderno.

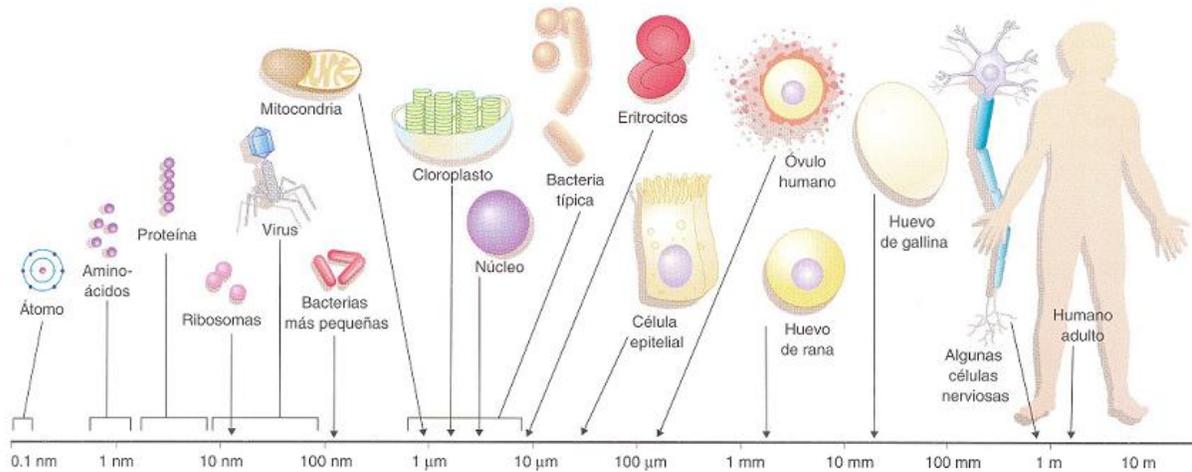
### Competencia específica



**Describir** el microscopio, sus principios y evolución, así como los diferentes tipos que existen y sus usos. Además del manejo específico del microscopio óptico, electrónico y de disección en el procesamiento de las muestras biológicas para la realización de investigaciones con aplicaciones biotecnológicas.

### 3. El microscopio

Generalmente se denomina **macroscópico** a todo aquello que el ojo humano puede visualizar clara y naturalmente en condiciones normales. Lo **microscópico** es lo que el ojo no puede visualizar de forma natural, por lo que necesita del auxilio de una herramienta óptica, como el microscopio.



**Figura 1. Dimensiones en la Biología.**

Tomado de Solomon, P. E., Berg, R. L. y Martin, W. D. (2008), pág. 75.

### 3.1. Historia del microscopio

Los primeros seres en aparecer sobre el planeta Tierra fueron los microorganismos, los cuales fueron evolucionando hasta los organismos que hay en la actualidad y que se dividen en tres grandes dominios (*Archaea*, *Bacteria* y *Eukarya*). Dentro del dominio Eucaria se encuentran los cinco reinos: protista, monera, fungi, plantae y animalia (Solomon, *et al.* 2008).



**Figura 2. El microscopio.**

Tomado de <http://didactalia.net/comunidad/materialeducativo/recurso/El-microscopio-origenes-y-evolucion/5767488e-c2d8-4097-8c59-7f7c2571ac27> y Karp, (2005) pág. 2.



La Microbiología es una ciencia auxiliar de la Biología y su objetivo es estudiar a los microorganismos. Para ello, necesita de una herramienta para alcanzar su fin: el **microscopio**. Pero ¿cómo se llegó a la invención de este aparato?

Primero, en la antigüedad se descubrieron las lentes, que son la base principal para observar objetos. Estas fueron evolucionando hasta ser parte fundamental para la construcción del primer microscopio, durante la Revolución Científica (siglos XVI y XVII), y de los modernos microscopios, a mediados del siglo XX (Solomon, *et al.* 2008).

La **Óptica** es la rama auxiliar de la Física dedicada al estudio de los fenómenos y leyes de la luz, analizan sus parámetros y caracterizan la forma en que los lentes permiten observar a los cuerpos u objetos mediante la reflexión y refracción de la luz. Entonces, las lentes son pieza tecnológica fundamental para la construcción de, microscopios. Desde la antigüedad se sabe que algunas culturas ya usaban algunos tipos de cristales de aumento, por ejemplo los chinos y mesopotámicos lo hacían años antes de Cristo.

Aunque no se sabe con exactitud quién o quiénes inventaron como tal las lentes. Se han encontrado vestigios de lentes primitivas (cristales de roca pulida) en las civilizaciones antiguas, lo que demuestra el interés del humano por la observación. He aquí un breve recuento, según Cetto (1996):

En 1500 a.C. se fabricaban vasos de vidrio y esmaltes artísticos; en Mesopotamia se fabricaban lentes; en tumbas egipcias se han encontrado restos de espejos metálicos; en Creta se utilizaban para generar fuego. En China, 500 a.C., se usaban lentes como accesorio; en Sicilia, 495 a. C., Empédocles habló del campo visual; en el siglo V, los griegos, romanos y árabes ubicaron las características de los espejos.

La **primera lente** fue construida por Aristófanes, en 424 a.C. Consistía en un globo de vidrio soplado lleno de agua, cuyo propósito era concentrar la luz solar. Por accidente descubrió las lentes (op. cit).

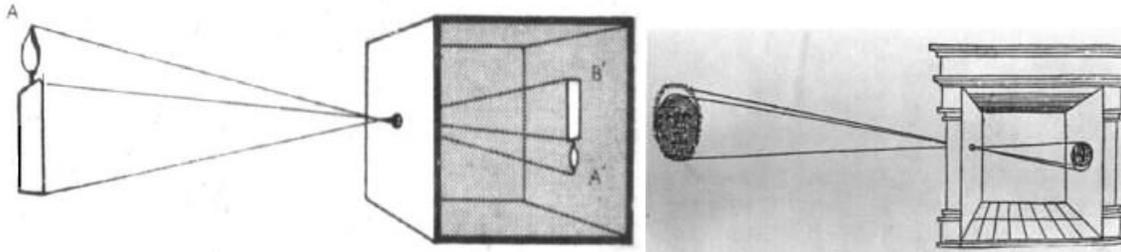
Herón (200 a. C.) estudió los tipos y formas de espejos. Cuenta una leyenda que Arquímedes (287-212 a. C.) utilizaba espejos cóncavos, que concentraban los rayos del Sol hacia los barcos romanos, invasores de Siracusa, y quemaba así sus naves. Esto no puede ser cierto, un grupo de científicos ingleses se dieron a la tarea de comprobarlo mediante un experimento y llegaron a la conclusión de que no era posible, ya que se necesitaría un espejo de gran dimensión.

En Grecia, los seguidores de Pitágoras y Platón discutían teorías relacionadas con la luz. Aristóteles (284-348 a.C.) proponía que había un medio esencial para propiciar la visión, el cual puede ser el aire o agua, menciona la vista larga y corta. Séneca (3-65 d.C.) describió los colores que se observan en un prisma transparente y analizó cómo se observaban objetos a través de un globo de vidrio con agua (op. cit).

Durante la Edad Media no ocurrieron hallazgos importantes, salvo el del físico Árabe Ibn al-Haytham, mejor conocido como Al-Hazen (siglo X), quien enfocó sus estudios en describir las enfermedades de los ojos mediante los adelantos en la óptica de lentes y espejos. Por ello se le considera el padre de la Óptica moderna.



Además, construyó una cámara oscura, antecesora de la fotográfica. En ella, la o las imágenes se visualizan de manera invertida, respecto a cómo es el objeto, fenómeno causado por la propagación rectilínea de la luz (op. cit).



**Figura 3. Cámara oscura.**

Tomado de <http://html.rincondelvago.com/camara-oscura.html>  
<http://www.educa.madrid.org/web/ies.sanisidro.madrid/EXPOSICION/camara%20opaca.htm>

También en el siglo XI, los frailes desarrollaron las piedras para leer, que no eran más que rocas de berilio talladas de forma esférica. Con ellas lograban algún aumento en la letra.



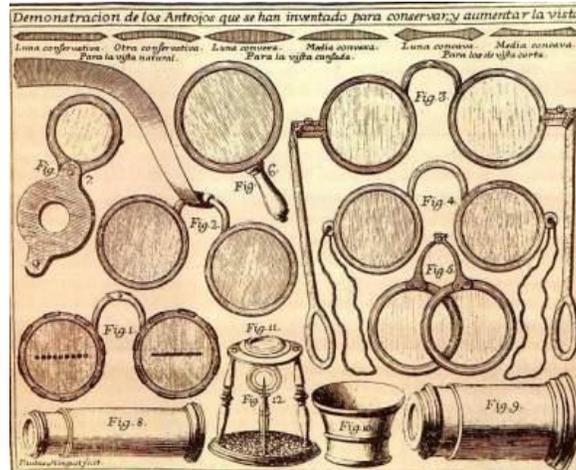
**Figura 4. Piedras para leer.**

Tomado de  
<http://www.unav.es/digilab/proyectosda/1999/visionline/archivo/gylarch/lesestein.html>

Hacia el siglo XII, el fraile franciscano inglés Roger Bacon se basó en la lente construida por Aristóteles (424 a. C.) y fabricó las primeras lentes con forma de lenteja, que se conocen en la actualidad. Describió sus propiedades para ampliar la letra escrita y como anteojos, para ayudar a leer a las personas de avanzada edad o con problemas en la vista. Los primeros lentes se elaboraron de cuarzo y agua marina, pero después se



fabricaron con vidrio óptico y fueron sofisticándose hasta convertirse en las gafas que de usan como accesorio hoy en día (op. cit).



**Figura 5. Lentes.**

Tomado <http://www.lenticonweb.com.ar/historiao.htm?pagina=2>

Durante el siglo XV, Leonardo da Vinci realizó observaciones detalladas sobre la morfología del ojo, lo cual se ve reflejado en sus pinturas. Diseñó también máquinas para tallar espejos, pero no las construyó.

Ya para los siglos XVI y XVII, época de la Revolución Científica, se inventaron aparatos como el telescopio y el microscopio para obtener una mejor experimentación cuantitativa y cualitativa. Se empezó a utilizar la experimentación para dar una respuesta a los fenómenos que ocurrían en la naturaleza (op. cit).

Entre 1609 y 1610, Galileo Galilei diseñó un microscopio simple, compuesto de una lente convexa y otra cóncava.



**Figura 6. El microscopio de Galilei.**

Tomado de <http://www.guachipedia.com/archives/3-%E2%80%93-microscopio-de-galileo-galilei-1612>



Entre 1571 y 1630, Juan Kepler fabricó un microscopio rústico donde el objetivo y el ocular eran convexos. Posteriormente, en el periodo entre 1596 y 1650, Descartes contribuyó a descubrir fundamentos de la Óptica moderna.

Entre 1628 y 1694, el italiano fisiólogo y biólogo **Marcelo Malpighi** diseñó unas lentes que podían combinarse para aumentar el tamaño de los objetos pequeños, descubrió así al microscopio, por lo cual es considerado el **padre de la Anatomía microscópica**. Contribuyó además al estudio de los capilares que transportan la sangre y los túbulos seminíferos de los testículos (op. cit).

Posteriormente, Antonie Van Leeuwenhoek, entre los años 1632 y 1723, labró lentes que formaban parte de un microscopio simple para observar con mayor resolución objetos pequeños, como microorganismos. Descubrió así los protozoarios que hay en el agua estancada. También observó sus propias mucosas y los glóbulos de la sangre. A partir de 1974, con las observaciones de Leeuwenhoek, se fue perfeccionando el sistema óptico para eliminar los problemas de enfoque (resolución) y distorsión (op. cit).

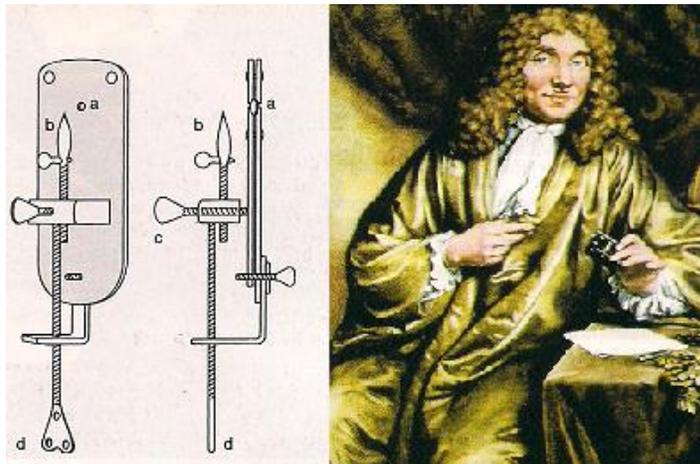


Figura 7. El microscopio y Leeuwenhoek.  
Tomado de Prescott, et al. ( 2000) pág. 5

A raíz de esto, en 1665 Robert Hooke fabricó el primer microscopio compuesto, que constaba de una lente muy pequeña, como objetivo, que forma una imagen ampliada del objeto frente a una lente ocular, presentaba además un soporte mecánico. Sus descubrimientos los plasmó en su libro "Micrographia" (op. cit).

Posteriormente, en el transcurso del siglo XVIII, se fue perfeccionando el microscopio y, debido a los ajustes mecánicos que se le realizaron, se pudo mejorar su enfoque óptico. Ya para finales del siglo se inventaron las lentes bifocales, diseñadas por Benjamín Franklin (1706-1760), que constaban de dos mitades de lentes: una para ver cosas lejanas y otra para observarlas de cerca, las cuales van montadas sobre una varilla (op. cit).



En 1826, el físico británico Joseph Jackson Lister diseñó el objetivo acromático y aplanático, que perfeccionó al microscopio óptico, lo cual se vio reflejado en la fabricación y utilización del mismo en los laboratorios.



**Figura 8. Lister.**

Tomado de Prescott, et al. (2000) pág. 7.

El médico alemán Robert Koch (1809-1885) fue el primero que demostró que la bacteria que causaba el carbunco es *Bacillus anthracis*, esto mediante una serie de experimentos que realizó auxiliándose de un microscopio.



**Figura 9. Robert Koch.**

Tomado de Prescott, et al. (2000) pág. 7.

Para finales del siglo XIX, Ernest Abbe (1840-1905), matemático y astrónomo inglés, realizó un informe matemático sobre el microscopio. En 1880, por orden de Carl Zeiss, se introdujo el ocular ortoscópico, que consistía en cuatro lentes, y perfeccionó así al microscopio compuesto. Además, se sustituyó el agua por aceite de cedro, lo que mejoró



la microscopia de inmersión, al aumentar en dos mil por ciento la imagen luminosa y nítida observada a distancia focal corta (op. cit).



**Figura 10. El microscopio de Abbe.**

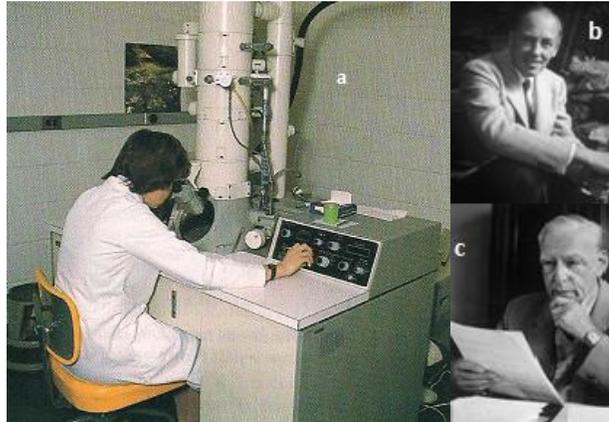
Tomado de <http://histoptica.com/instrumentos/microscopios/carl-zeiss-ernst-abbe/>  
[http://www.ecured.cu/index.php/Ernest\\_Abbe](http://www.ecured.cu/index.php/Ernest_Abbe)



**Figura 11. El microscopio de Zeiss.**

Tomado de <http://www.todocoleccion.net/antiguo-microscopio-carl-zeiss-jena-realmente-precioso-esta-excelente-estado-conservacion~x18886100>  
<http://histoptica.com/instrumentos/microscopios/carl-zeiss-ernst-abbe/>

En Alemania, ya en el siglo XX, para ser exactos en 1931, Max Knoll y Ernst Ruska diseñaron el microscopio electrónico de transmisión (TEM), que utiliza un haz de electrones en lugar de uno de luz, de tal manera que al enfocar la muestra se consigue un aumento de 100 000X.



**Figuras 12: a) microscopio electrónico de transmisión, b) Knoll y c) Ruska**

Tomado de Prescott, et al. (2000) pág. 30

<http://www.micomania.rizoazul.com/microscopia%20el%20microscopio.html>

<http://iaap.org/congresses/barcelona-2004/walking-in-the-footsteps-of-eranos.html>

<http://fransaval.blogcindario.com/2010/05/00013-historia-del-microscopio.html>

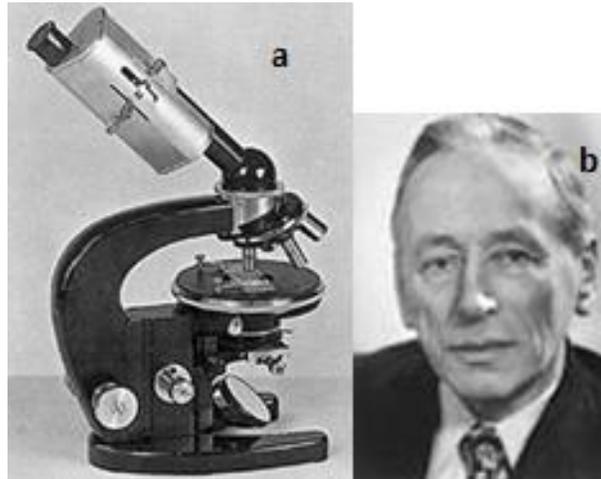
En 1942 se inventó el microscopio electrónico de barrido (SEM).



**Figura 13. El microscopio electrónico de barrido.**

Tomado de <http://www.micomania.rizoazul.com/microscopia%20el%20microscopio.html>

Posteriormente, el físico holandés Frits Zernike entre los años 1888 y 1966 fabricó el microscopio de contraste de fase, mediante el cual se visualizan microorganismos transparentes sin necesidad de teñirlos, algo que no se consigue con el microscopio básico. Por lo anterior, se le otorgó el premio Nobel de Física en 1953. Este tipo de microscopio es el que comúnmente se puede encontrar en los laboratorios (op. cit).



Figuras 14. a) Microscopio electrónico de contraste de fase y b) Zernike.

Tomado de

<http://www.zeiss.es/c12574750032cb61/ContentsFrame/1d7bcf7153696c52c125747800307cd1> y <http://www.datuopinion.com/frits-zernike>

A la par que se ha ido mejorando la resolución del microscopio, se han llevado a cabo descubrimientos en las lentes, componente principal en su fabricación, y que también son útiles para corregir problemas de visión (lentes de contacto y gafas).

### Línea del tiempo





### 3.1.1. Tipos de microscopio y su uso

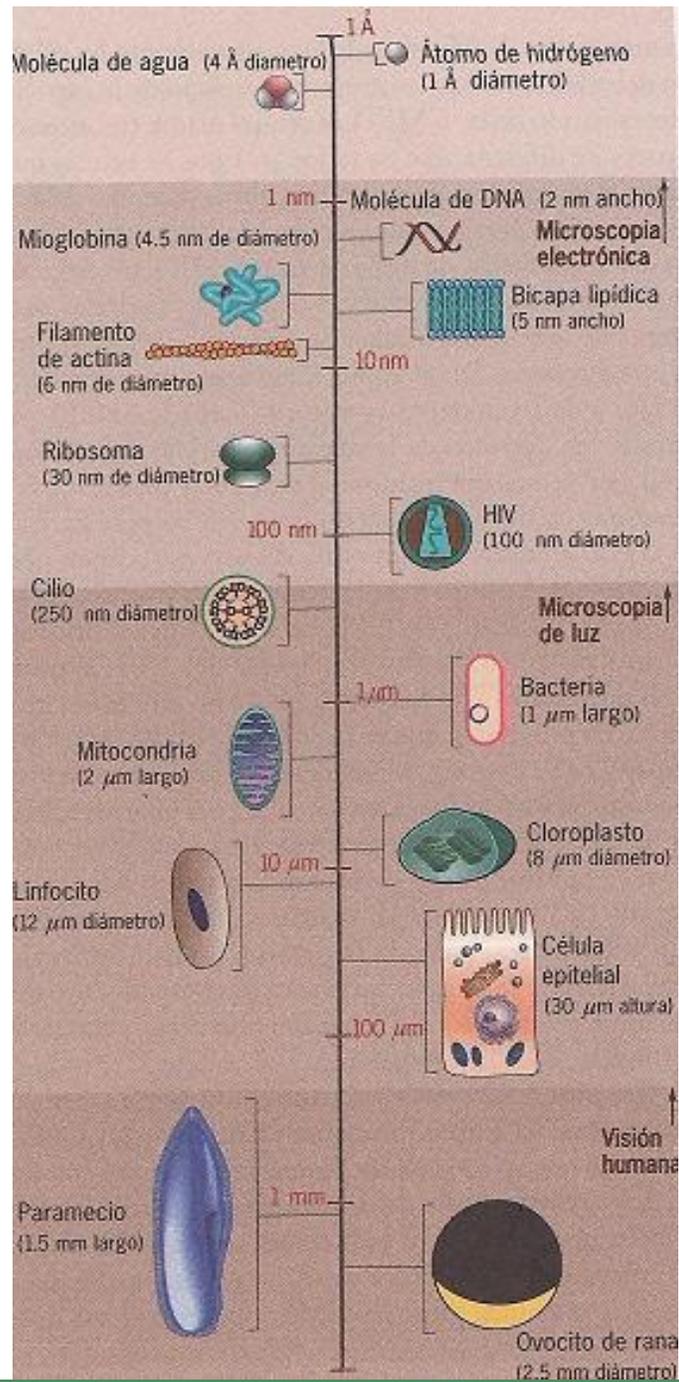
Desde la antigüedad, el deseo de conocer los organismos imperceptibles a la vista del ojo humano dio como resultado el diseño y fabricación de un sinnúmero de equipos y aparatos que auxilian en su visualización, fabricándose así el microscopio óptico y el electrónico, los más importantes en la actualidad.

A raíz de la invención del primer microscopio, se evolucionó en el diseño hasta llegar a fabricar el microscopio óptico, electrónico de transmisión y el de barrido; que sirven para observar y obtener información acerca de organismos microscópicos, características genéticas y obtener información sobre estructuras moleculares. Además, contribuyen al conocimiento de las células, componente principal de todos los seres vivos (animales, plantas, hongos, protistas, bacterias y arqueobacterias) (Prescott, L. M., Harley, J. P. y Klein, D. A., 2000)

Por lo anterior, es importante conocer los tipos de microscopios, cómo funcionan y en qué consiste su especialidad para utilizarlos dentro del laboratorio como parte fundamental de un proceso con enfoque biotecnológico.

El ojo humano no puede enfocar objetos a una distancia mayor a 25 cm, por eso necesita auxiliarse de una lente convexa, como una lupa de aumento, que funciona como un microscopio al colocarla sobre el objeto y aumentar su tamaño. Una lupa de vidrio proyecta una imagen más clara a una distancia muy corta, haciendo que el objeto tenga apariencia mayor. Las lentes hacen que se eleve la potencia focal respecto a la distancia a la que se observa el objeto; esto quiere decir que una lente con distancia focal corta aumenta más la imagen del objeto que una lente con distancia focal larga (Prescott, L. M., Harley, J. P. y Klein, D. A., 2000).

Dentro de un laboratorio se pueden encontrar dos clases de microscopios: el óptico y el electrónico, hay varios tipos de cada uno de ellos, los cuales se describen a continuación (Karp, 2005).



**Figura 15. Dimensiones de organismos.**  
Tomado de Karp, (2005) pág. 22.



- **Microscopio óptico:** en el laboratorio se pueden encontrar diferentes tipos de microscopios ópticos, como el de campo claro, campo oscuro, de contraste de fases y de fluorescencia (Prescott, *et al.* 2000).

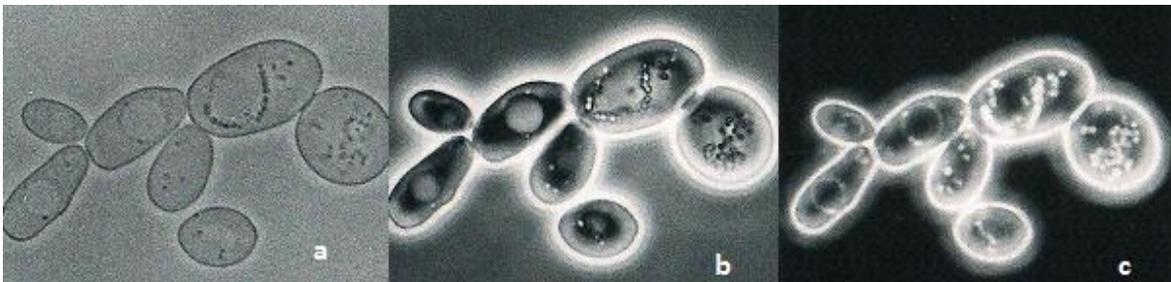
**Microscopio de campo claro:** Denominado también microscopio ordinario, genera una imagen oscura en un fondo claro. Está formado por un cuerpo de metal que tiene una base y un brazo donde se localizan el resto de las partes que lo componen. En la base presenta un iluminador eléctrico. En el brazo están dos tornillos que sirven para enfocar (uno de ajuste fino o micrométrico y otro de ajuste grueso o macrométrico), que pueden mover la platina o el portaobjetivos para enfocar la imagen de abajo hacia arriba o viceversa.

En la mitad del brazo, se localiza la platina donde se colocan los portaobjetos que se sujetan con una pinza; mediante los tornillos de control de la platina se puede mover la muestra, ya sea de izquierda a derecha o viceversa (Prescott, *et al.* 2000).

**Microscopio de campo oscuro:** Las células y microorganismos que no presentan color en su estructura morfológica, no son fáciles de observar directamente en el microscopio, por lo que se enfoca en el microscopio con un cono hueco de luz sobre la muestra, provocando que no penetren en el objetivo los rayos no reflejados ni refractados. Solo la luz que la muestra refleje o refracte formará la imagen.

La muestra permanece iluminada, mientras que el campo que la rodea es negro, de ahí la denominación de microscopio de campo oscuro (Prescott *et al.* 2000).

**Microscopio de contraste de fases:** Los organismos que se van a observar tienen que fijarse y pasar por una serie de tinciones antes de poder observarlos en este microscopio. Eso permite aumentar su contraste, creando variaciones de color de las estructuras de la célula. Es muy útil para observar células vivas, como los *Paramecium* que habitan en agua encharcada (Prescott *et al.*; 2000).

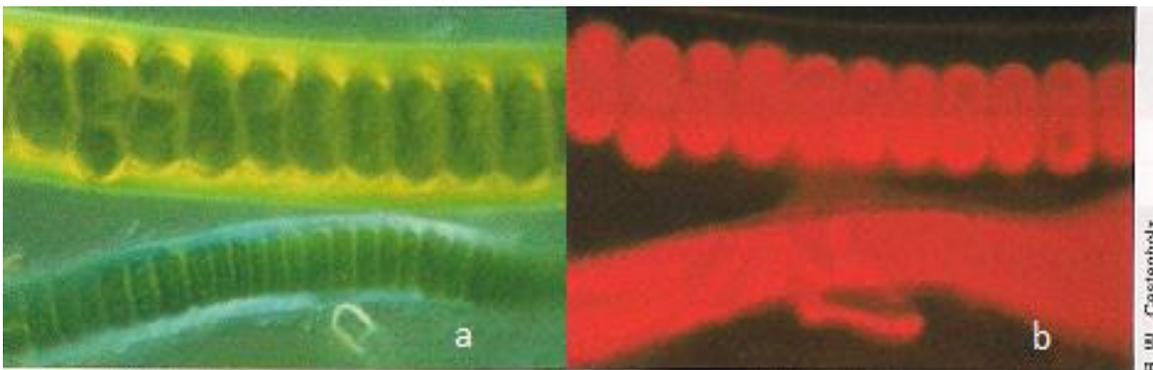


Figuras 16. Células de levadura de panadería *Saccharomyces cerevisiae* vistas al microscopio: a) de campo claro, b) de campo oscuro y c) contraste de fases  
Tomado de Madigan, *et al.* (2009) pág.32



**Microscopio de fluorescencia:** La luz fluorescente se caracteriza porque se emite rápidamente por una molécula que es excitada y libera su energía atrapada para luego recuperar un estado estable; por lo tanto, expone la muestra a la luz ultravioleta, violeta o azul, y forma una imagen del objeto con la luz fluorescente emitida.

Cabe señalar que para la observación se requiere ocupar luz UV, la cual es dañina para la vista humana, llegando a causar daño en la retina, queratitis, cataratas y eritema. Por ello se recomienda el uso de lentes especiales de protección contra luz UV, tanto en el microscopio como en los ojos (Prescott, *et al.* 2000).



**Figuras 17. Cianobacteria observada a) microscopio de campo claro y b) microscopio de fluorescencia.**

Tomado de Madigan, *et al* (2009) pág.33

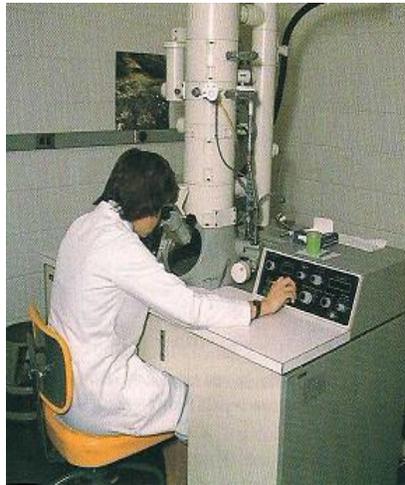
- **Microscopio electrónico:** Desde su descubrimiento, el microscopio óptico ha sido de gran utilidad en el estudio de microorganismos, pero, con los grandes avances tecnológicos, se ha diseñado el microscopio electrónico, el cual ha permitido dar grandes saltos a la observación de muestras biológicas. Entre este tipo de microscopio destacan el de transmisión y el de barrido, mismos que se describen a continuación (Prescott *et al.* 2000):

- a) **Microscopio electrónico de transmisión:** Denominado también por las siglas MET. Tiene una resolución mil veces superior a la de un microscopio óptico, es capaz de mostrar microorganismos desde 0.5 nm. Funciona mediante un filamento de tungsteno, calentado en una pistola, que genera un haz de electrones que se enfoca sobre la muestra con el condensador.

Dicha pistola se localiza en la parte superior de la columna central y sus lentes se encuentran en el interior, la imagen se observa en la pantalla fluorescente mediante un amplificador, incluso permite tomar fotografías con la cámara que está debajo de la pantalla (Prescott, *et al.* 2000).



La muestra debe tener un grosor de 20 nm a 100 nm, se fija con glutaraldehído o tetróxido de osmio para estabilizar su estructura celular. Posteriormente se deshidrata con disolventes orgánicos (acetona o etanol), se realiza la inclusión en plásticos y, con cuchillas de diamante o vidrio, se hacen cortes de un ultramicrotomo que se sumergen en solución de sales de metales pesados (citrató de plomo, osmio y acetato de uranilo). Por último, se montan en rejillas finas de cobre (Prescott, *et al.* 2000).



**Figura 18. Microscopio electrónico de trasmisión.**  
Tomado de Prescott, *et al.* (2000) pág. 30

A continuación, con información de Prescott, *et al.* (2000), se ejemplifica en la Tabla 1 las diferencias entre un microscopio óptico y uno electrónico de trasmisión:



**Tabla 1. Diferencias entre los microscopios ópticos y los electrónicos.**

Características	Microscopio óptico	Microscopio electrónico
Aumento práctico más elevado	Entre 1000 y 1500	Más de 100 000
Resolución máxima	0.2 $\mu\text{m}$	0.5 nm
Fuente de radiación	Luz visible	Haz de electrones
Medio de desplazamiento	Aire	Vacío
Tipo de lente	Vidrio	Electroimán
Fuente de contraste	Absorción de luz diferencial	Dispersión de electrones
Mecanismo de enfoque	Se ajusta la lente mecánicamente	Ajuste eléctrico de la lente magnética
Método de modificación de los aumentos	Cambio del objetivo u ocular	Ajuste eléctrico de la lente magnética
Montaje de la muestra	Portaobjetos de vidrio	Rejilla de metal (normalmente de Cu)

- b) **Microscopio electrónico de barrido:** También denominado con las siglas MEB. Es útil para estudiar superficies de microorganismos de manera muy detallada al producir la imagen a partir de electrones emitidos por la superficie de un objeto, en lugar de generarla vía electrones transmitidos, como sucede en el MET.

La preparación de la muestra es sencilla: se seca al aire y se examina directamente. Aunque también los microorganismos se fijan, deshidratan y se secan para conservar su estructura de superficie, lo que evita que las células colapsen al exponerse al vacío. La muestra se coloca sobre una capa fina de metal para evitar que se forme una carga eléctrica en su superficie (Prescott, *et al.* 2000).



**Figura 19. Microscopio electrónico de barrido.**

Tomado de Madigan, et al. (2009) pág.35

<http://www.micomania.rizoazul.com/microscopia%20el%20microscopio.html>

### 3.1.2. Importancia de los microscopios en el laboratorio

Los microscopios son equipos que producen una imagen aumentada de un objeto. La ciencia dio un salto histórico cuando fue posible observar organismos pequeños (microorganismos), fue entonces que nació una rama auxiliar de la Biología: la Microbiología, siendo el microscopio el aparato de gran utilidad para la posterior observación de células y de microorganismos (Prescott, *et al.* 2000, Karp, G., 2005 y Madigan, *et al.* 2009).

En el laboratorio se maneja una gran variedad de muestras, que en la mayoría de los casos se tienen que analizar exhaustivamente para dar respuesta a algún fenómeno, situación, o acontecimiento, que afecta biológicamente a nuestro planeta. Por ejemplo, los investigadores en Medicina se auxilian del microscopio para analizar a detalle microorganismos (virus, bacterias, parásitos) que causan enfermedades y, tras una serie de experimentos, su objetivo es encontrar la forma de curarlo, erradicarlo o controlarlo, pudiendo ser con aplicación de vacunas o de tratamientos.

También ha sido de gran utilidad para estudiar y describir la estructura, morfología y composición de los seres vivos. Desde lo general (como individuo), hasta lo particular (como las células que integran tejidos).

Para los forenses es de gran ayuda en las investigaciones para esclarecer crímenes. En las series de televisión te habrás percatado que, cuando hay un asesinato o violación, se toma una muestra que se localiza en el lugar de los acontecimientos o escena del crimen (ya sea sangre, semen, fluidos, cabello, huellas dactilares, ropa, alimentos, bebidas), la cual se procesa y sirve para descartar posibles sospechosos y dar con el culpable.



En los grandes y modernos hospitales se cuenta con microscopios que auxilian en operaciones o cirugías para realizar a detalle la intervención quirúrgica.

En la industria alimenticia se llevan a cabo experimentos para que los productos elaborados puedan salir al mercado, es la prueba de calidad, en donde mediante una serie de análisis (entre ellos una revisión exhaustiva con el microscopio), se verifica que cumpla con las normas de calidad. También en la industria farmacéutica, automotriz, textil, química, entre otras, el control de calidad es muy riguroso y de gran importancia, por lo que se llevan a cabo una serie de análisis para cubrir dichos requerimientos que harán posible la venta de los productos al mercado.



**Figura 20. Microscopio.**

Tomado de <http://www.upc.edu/pct/es/equip/711/microscopio-optico.html>  
[http://sarahiviolinist.blogspot.mx/2010\\_10\\_01\\_archive.html](http://sarahiviolinist.blogspot.mx/2010_10_01_archive.html)

### 3.2. El microscopio dentro del laboratorio de biología

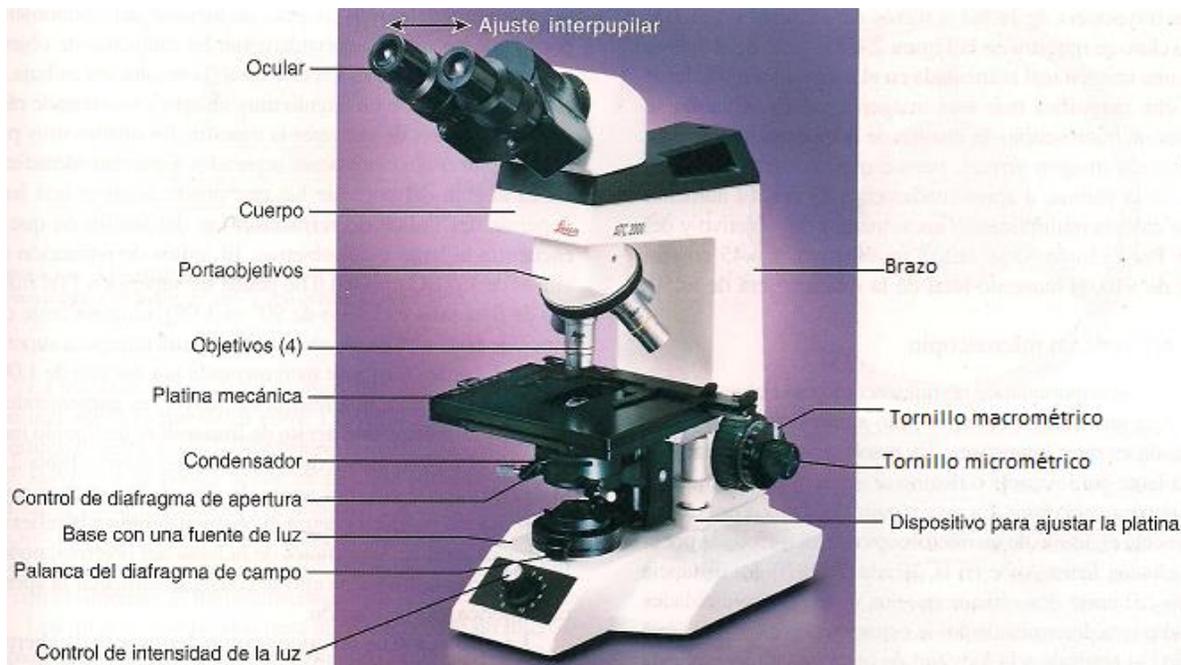
El microscopio es de gran utilidad dentro del laboratorio de biología para observar microorganismos, muestras de agua, células animales, tejidos vegetales, partículas químicas, suelo, entre otros. Estos se procesan, mediante una serie de metodologías que dependen del objetivo planteado, para obtener resultados con aplicaciones hacia la biotecnología.

Es importante conocer el manejo de cada tipo de microscopio que se puede encontrar en el laboratorio de biología, así como las partes básicas que lo integran, para saber qué procedimiento hay que aplicarle a una muestra y qué precauciones hay que tener al momento de manipular cualquier tipo de microscopio. A continuación se define y describe cada una de las partes del microscopio (Prescott, *et al.* 2000, Karp, G., 2005 y Madigan, *et al.* 2009):

- **Ajuste interpupilar:** Es un dispositivo que se abre o se cierra, ajustándose a la distancia que hay entre los ojos del observador.



- **Ocular:** Son lentes que permiten colocar el ojo para visualizar la muestra, normalmente son dos oculares puesto que tenemos un par de ojos.
- **Cuerpo y brazo:** En ellos están incrustadas las piezas que complementan la estructura del microscopio.
- **Portaobjetivos:** También denominado revólver, el cual va a sostener a los objetivos.
- **Objetivos:** Son lentes de máximo cuatro aumentos, que son variables. 4X sirve para localizar y ubicar el objeto de estudio completo; 10X enfoca la imagen y 40X la mueve mostrando varios detalles. Con el 100X se visualiza la muestra con mayor resolución, gracias a la aplicación de aceite de inmersión antes de observarla con este objetivo.
- **Platina mecánica:** En ella se coloca la muestra sobre un portaobjetos de vidrio, contienen unas pequeñas pinzas que sujetan el portaobjetos con la muestra.
- **Tornillo macrométrico:** Permite mover la platina hacia arriba o hacia abajo, de manera rápida, para enfocar la muestra con la lente que se vaya a utilizar.
- **Tornillo micrométrico:** Permite mover la platina lentamente, para ajustar la muestra de manera que se visualice clara, nítida y fina.
- **Condensador:** Formado por lentes que se encargan de concentrar el haz de luz, se sitúa por debajo de la platina y puede moverse mecánicamente, acercando o alejando la fuente de iluminación.
- **Diafragma:** Regula la luz que absorberá la muestra para ser reflejada, de tal manera que se pueda observar. Presenta un control de apertura para permitir el paso de luz.
- **Base con fuente de luz:** De ella sale un foco que emite luz e ilumina la muestra para que pueda ser visualizada. Tiene una palanca para abrir y cerrar la fuente de luz.



**Figura 20. Microscopio.**

Tomado de <http://www.upc.edu/pct/es/equip/711/microscopio-optico.html>  
[http://sarahiviolinist.blogspot.mx/2010\\_10\\_01\\_archive.html](http://sarahiviolinist.blogspot.mx/2010_10_01_archive.html)

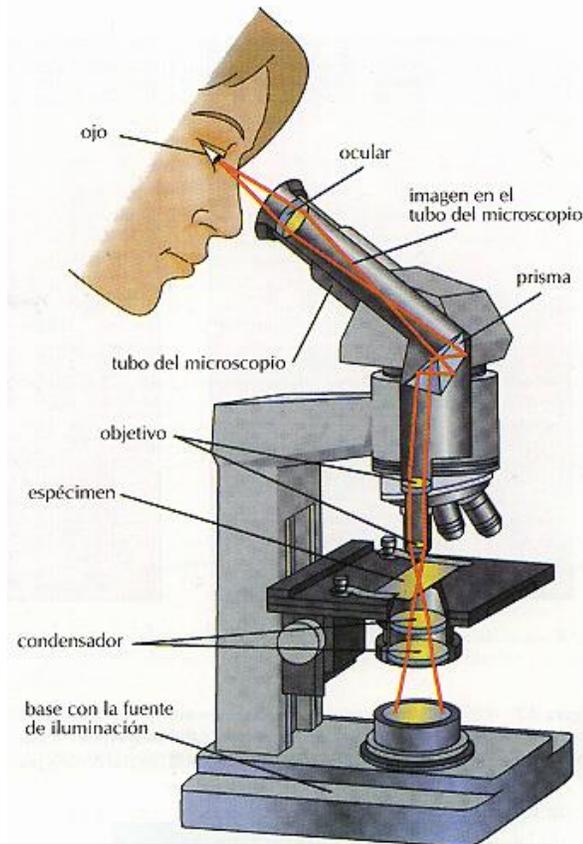
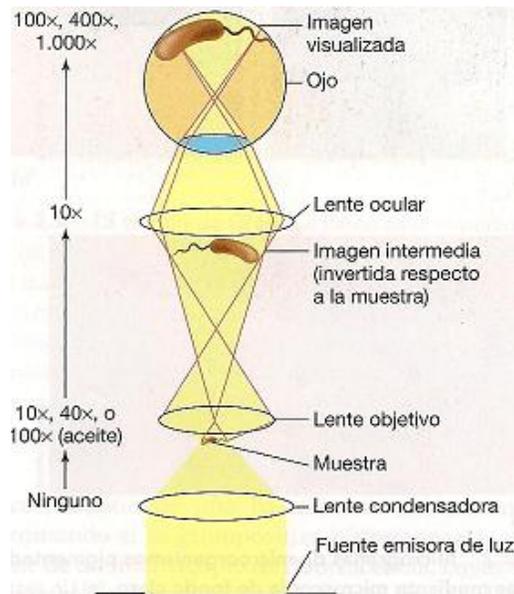
De manera general, en la Figura 22 se muestran los componentes de un microscopio, aunque puede haber variaciones. Por ejemplo, a algunos se les puede acondicionar una computadora y, mediante un *software*, permiten manipular las imágenes observadas.

Entra en la siguiente liga y comprueba si aprendiste las partes del microscopio:  
[https://es.educaplay.com/es/recursoseducativos/675740/partes\\_del\\_microscopio.htm](https://es.educaplay.com/es/recursoseducativos/675740/partes_del_microscopio.htm)

### 3.2.1. Manejo del microscopio óptico

El microscopio óptico, como integrante de un laboratorio, es de vital importancia para la observación de muestras microscópicas biológicas y no biológicas. Según la metodología, durante los experimentos se pueden utilizar diferentes tipos de microscopios ópticos, como el de campo claro, campo oscuro, de contraste de fases y de fluorescencia (Prescott, *et al.* 2000).

Un microscopio óptico compuesto está integrado por una fuente de luz, puede estar localizada de manera interna en el microscopio o externa, incrustada en la base. Mediante los objetivos se condensan los rayos difusos que provienen de la fuente de luz y que posteriormente iluminarán la muestra.



**Figura 21. Trayectoria de la luz en el microscopio óptico.**

Tomado de Madigan, et al. (2008) pág. 29, <http://bioservice77.obolog.com/page/18>

Una cosa es visualizar la imagen de la muestra u objeto de estudio, y otra es verificar detalladamente las características sobre la calidad de la misma, es decir, su **resolución**.

Por ejemplo, quieres observar una laminilla que contiene una muestra de espermatozoides que se desean contabilizar. Para ello, usas la lente del objetivo a 63X y una lente ocular que amplifica la imagen del objetivo cinco veces más (es decir un ocular 5X), pero la cercanía de unos espermatozoides con otros hace imposible contabilizarlos. Por lo tanto, debes optar por cambiar los oculares, de 5X a 10X, aumentado así la capacidad para contabilizar los espermatozoides, ya que la imagen producida por la lente del objetivo se extiende sobre una parte más grande de la retina (Karp, 2005).

El hecho de cambiar de ocular (por ejemplo a 20X), no significa que se observarán más detalles de la muestra, solo se visualizará más grande respecto al tamaño original, puesto que está ocupando una mayor superficie retiniana.

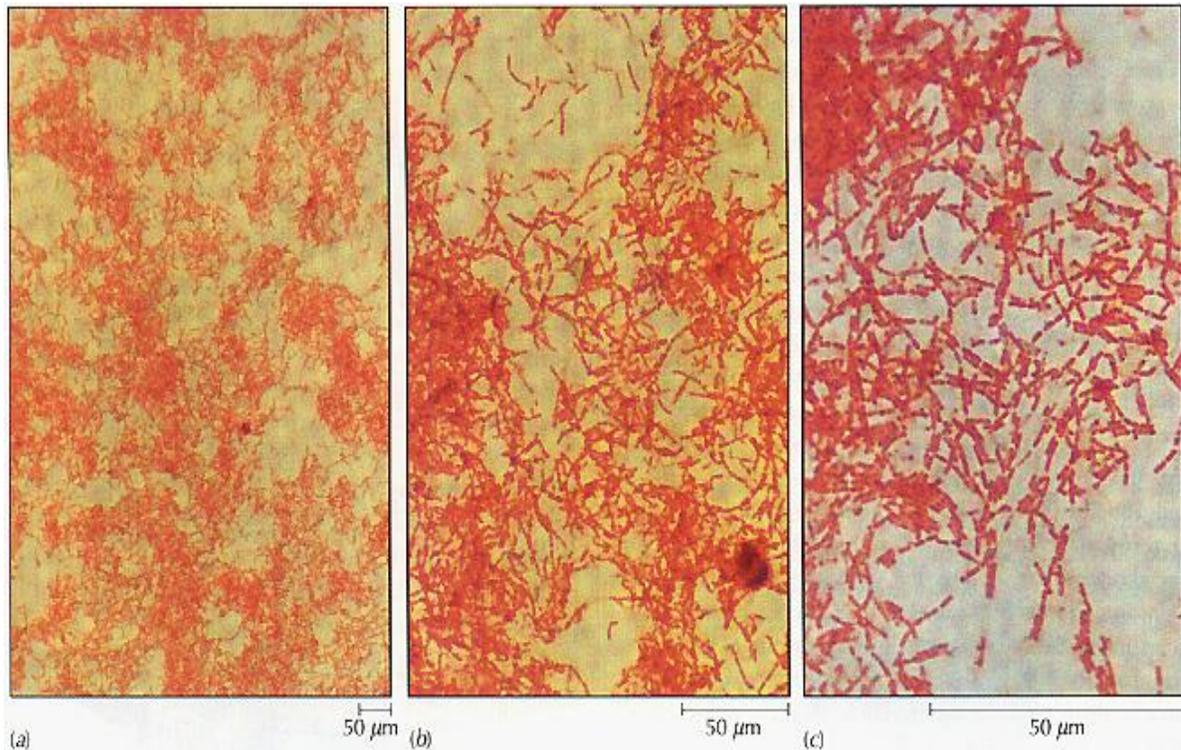
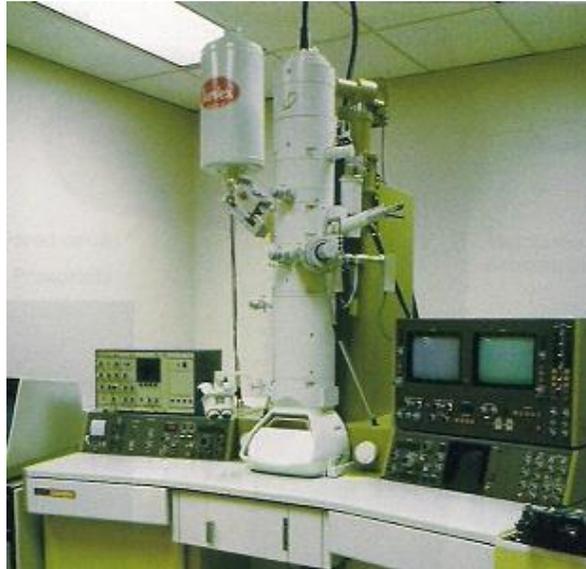


Figura 22. Microscopio óptico compuesto de tres lentes objetivos. *Bacillus subtilis* visto con el objetivo débil seco a) 100x, b) fuerte seco 400x, y c) con el de inmersión 1000x. Los aumentos mayores revelan más detalle de una porción de campo menor.

Tomado de <http://bioservice77.obolog.com/page/18>

### 3.2.2. Manejo del microscopio electrónico

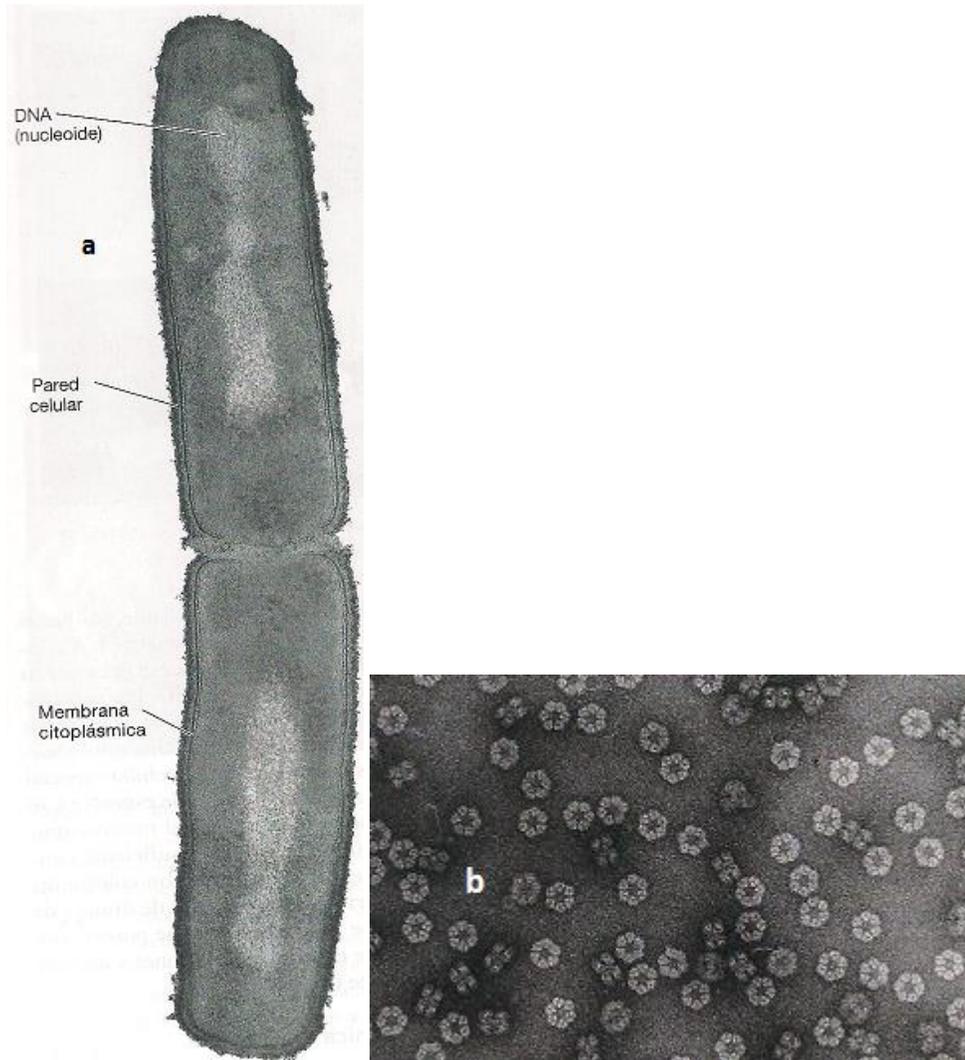
El descubrimiento del microscopio óptico ha sido de gran utilidad en el estudio de microorganismos, pero el microscopio electrónico ha permitido dar grandes saltos a la observación de muestras biológicas. Esto es porque utilizan fotones, en lugar de electrones, para producir imágenes de estructuras microscópicas y la mayoría están equipados con cámaras que permiten tomar fotografías, denominadas **micrografías electrónicas**. En este tipo de microscopio destacan el de transmisión (MET) y el de barrido (MEB) (Prescott, *et al.* 2000 y Madigan, *et al.* 2009).



**Figura 23. Microscopio electrónico.**  
Tomado de Madigan, et al. (2009) pág. 35

El MET se emplea principalmente para la visualización de estructuras intracelulares a grandes aumentos y con elevada resolución. Permite observar estructuras a nivel molecular, debido a que la longitud de onda de los electrones es más corta que la de la luz visible. Dicha longitud afecta la resolución.

Si comparamos, la resolución de un microscopio óptico de calidad es de unos  $0,2 \mu\text{m}$ , mientras que la de uno electrónico de transmisión es de  $0,2 \text{ nm}$ . Debido a esto es posible observar estructuras por debajo de ese tamaño, como moléculas individuales de proteínas, ácidos nucleicos, carbohidratos, entre otras (Madigan, et al. 2009).



**Figura 24. a) Micrografía de un corte de la bacteria *Bacillus subtilis* tomada con un microscopio electrónico de transmisión y b) moléculas de hemoglobina del gusano marino *Nereis virens*.**

Tomado de Madigan, et al. (2009) pág. 36

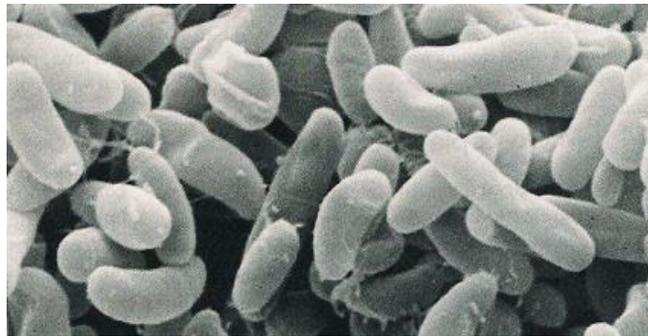
Es necesario emplear técnicas especiales que permitan ver detalladamente las muestras, como es el caso de la obtención de cortes ultrafinos. En este caso, una célula bacteriana puede cortarse con una cuchilla especial en varios tajos ultrafinos, que varían de 20 a 60 nm de espesor, para examinarlos por separado en el microscopio electrónico.

Y si lo que se desea es obtener un buen contraste, la muestra se tiñe con colorantes que posean átomos pesados (ácido ósmico, permanganato, sales de uranio, de lantano o de plomo) capaces de desviar los electrones y de esta forma aumentar el contraste (Madigan, et al. 2009).



Por otro lado, si la finalidad de la investigación es estudiar y analizar las estructuras tridimensionales y superficies externas de una muestra de un organismo o microorganismo, no es necesario llevar a cabo cortes ultrafinos, ya que se pueden observar las células intactas mediante el MET.

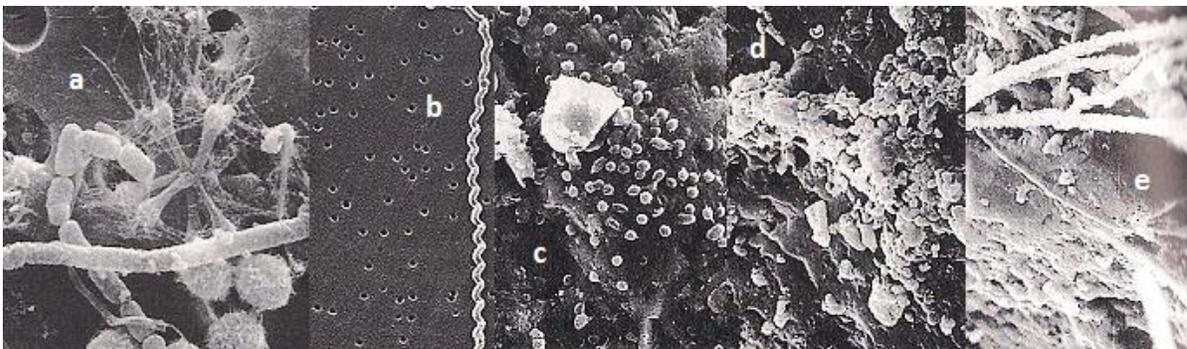
En cambio, para visualizar una muestra en el MEB, sí es necesario realizar cortes ultrafinos y cubrirla con una fina capa de un metal pesado (como el oro). Esto hace que el haz de electrones barra la superficie de la muestra y los electrones desviados por la capa de metal, se recojan y proyecten una imagen sobre la pantalla. El MEB permite la visualización de la superficie de muestras en aumentos que van desde 15 hasta 100 mil veces (Madigan, et al. 2009).



**Figura 25. Células de la bacteria *Rhodovibrio sodomensis* tomada por el microscopio electrónico de barrido.**

Tomado de Madigan, et al. (2009) pág. 36

Las micrografías electrónicas que se toman con el MET o el MEB proporcionan imágenes en blanco y negro, las cuales se pueden manipular, coloreándolas falsamente en la computadora. Sin embargo, esto no significa que se mejore la resolución de la micrografía (Madigan, et al. 2009).



**Figura 26. Micrografías tomadas con el microscopio electrónico de barrido y de transmisión, son en blanco y negro. Se muestra en a) bacterias acuáticas y algas, b) *Leptospira interrogans*, c) microcolonia de cocobacilos, d) esporas de actinomicetos y e) hifas fúngicas.**

Tomado de Madigan, et al; (2009) pág. 756 y 873



### 3.2.3. Manejo del microscopio de disección

El microscopio de disección, también conocido como microscopio estereoscópico porque se puede observar la muestra tridimensionalmente, sirve para procesar organismos o sustancias cuyas características no son distinguibles a simple vista, pero que tampoco son de tamaño microscópico. Al microscopio se le puede conectar una computadora cuyo *software* permite realizar la visualización más detallada de lo que se está trabajando.

Funciona como una lupa convencional, que quizá has usado para algunas observaciones. En las investigaciones sirve, por ejemplo, como ayuda en la disección de una rana, conejo o rata; en la observación de la morfología de una semilla infectada o del ancho del borde de una hoja de planta; para analizar la textura de la mucosa vaginal o la longitud de un pelo de puma, entre otras cosas (Solomon, *et al.* 2008).



**Figura 27. Microscopio de disección o estereoscopio.**

Tomado de <http://www.instrumentacion.com.mx/HTML/EZ4D.htm>

<http://www.microscopios.net/micros/nz14.html>

Para trabajar con este microscopio, el espécimen se coloca directamente en un vidrio de reloj, un portaobjetos o en la tapa de una caja Petri, sin ningún proceso de preparación. Se procede entonces a realizar las observaciones pertinentes, tomando las precauciones adecuadas. Si se trabaja en la disección de una rana o una rata, se deben de utilizar guantes para evitar mancharse con la sangre del organismo, así como un cubreboca, para evitar respirar los olores del anestésico que se le haya colocado para iniciar la disección.



**Figura 31. Uso del microscopio de disección.**

Tomado de [http://biopuntalarga.blogspot.mx/  
http://es.123rf.com/photo\\_487829\\_plante-la-diseccion-debajo-del-microscopio-para-la-cultura-del-tejido-fino.html](http://biopuntalarga.blogspot.mx/http://es.123rf.com/photo_487829_plante-la-diseccion-debajo-del-microscopio-para-la-cultura-del-tejido-fino.html)

Las partes que componen al estereoscopio son las mismas que las de un microscopio óptico. La diferencia es que no presenta las cuatro lentes objetivas, solo tiene una, que es con la que se observan las características de lo que se esté procesando para obtener resultados con aplicaciones biotecnológicas.

## Actividades

**La elaboración de las actividades estará guiada por tu figura académica**, mismo que te indicará, a través de la *Planificación de actividades*, la dinámica que tú y tus compañeros (as) llevarán a cabo, así como los envíos que tendrán que realizar.

Para el envío de tus trabajos usarás la siguiente nomenclatura: BTLB\_U3\_A1\_XXYZ, donde BTLB corresponde a las siglas de la asignatura, U3 es la etapa de conocimiento, A1 es el número de actividad, el cual debes sustituir considerando la actividad que se realices, XX son las primeras letras de tu nombre, Y la primera letra de tu apellido paterno y Z la primera letra de tu apellido materno.

## Autorreflexiones

Para la parte de autorreflexiones debes responder las *Preguntas de Autorreflexión* indicadas por tu figura académica y enviar tu archivo. Cabe recordar que esta actividad tiene una ponderación del 10% de tu evaluación.



Para el envío de tu autorreflexión utiliza la siguiente nomenclatura:

BTLB\_U3\_ATR\_XXYZ, donde BTLB corresponde a las siglas de la asignatura, U3 es la unidad de conocimiento, XX son las primeras letras de tu nombre, y la primera letra de tu apellido paterno y Z la primera letra de tu apellido materno.

## Cierre de la unidad

Como te habrás dado cuenta, estás a punto de finalizar el curso de Técnicas de laboratorio de biología. En él pudiste comprender que el microscopio es de vital importancia en el procesamiento de muestras, para llegar a un fin determinado en la resolución de incógnitas con aplicaciones biotecnológicas.

Por ejemplo, para perfeccionar o descubrir la cura para una enfermedad, es necesario analizar a profundidad la estructura molecular del organismo o microorganismo causante de la patogenicidad, lo cual se logra con ayuda del microscopio electrónico de transmisión y de barrido. Mientras que un microscopio estereoscópico (óptico) será útil si solo se desea conocer la estructura morfológica superficial de los órganos de un cierto tipo de plantas, que están dentro de una zona que se desea convertir en reserva natural.

Los microscopios auxilian en las investigaciones médicas para la detección de anomalías de los fetos en gestación, de tumores cancerígenos, de análisis de los componentes sanguíneos. En la industria alimenticia, para las pruebas de calidad de los productos que se están elaborando, para su posterior venta y distribución al público.

Con todo esto podrás apreciar la importancia de los diferentes tipos de microscopios que existen. Pero no es fácil la obtención y procesamiento de las muestras biológicas, por lo que se requiere de la aplicación de ciertas técnicas, como el uso de colorantes o reactivos, que es el tema de la siguiente unidad.



## Para saber más



- Se te recomienda entrar en la siguiente liga [http://www.youtube.com/watch?v=fgnkdgHXK\\_Y&feature=related](http://www.youtube.com/watch?v=fgnkdgHXK_Y&feature=related), reafirmarás los conocimientos sobre la evolución y funcionamiento del microscopios.
- Se te recomienda entrar en la siguiente liga <http://www.youtube.com/watch?v=cCUbfq-rimE&feature=related>, para consolidar los conocimientos sobre los microorganismos.

## Fuentes de consulta



### Bibliografía básica

- García, S. J. (2009). *Fisiología de microorganismos. Manual de laboratorio*. México, D. F.: Trillas.



- Gaviño de la T. G., Juárez, L. C. y Figueroa, T. H. H. (1985). *Técnicas biológicas selectas de laboratorio y de campo*. México, D. F: Limusa.
- Todd, S. (2007). *Laboratorio*. Madrid: Marbán.

#### **Bibliografía complementaria**

- Asimov, I. (2007). *Historia y cronología de la Ciencia y los descubrimientos*. Madrid, España: Editorial Ariel.
- Barthelemy, E. R., Dawson, R. J. y Lee, A. E. (1976). *Técnicas de laboratorio de biología*. México: CECSA.
- Cetto, A.M. (1996). *La luz en la Naturaleza y en el laboratorio, Historia de la óptica. En la ciencia desde México*. Fondo de Cultura Económica. Recuperado de la web <http://bibliotecadigital.ilce.edu.mx/sites/ciencia/volumen1/ciencia2/32/html/laluz.html>
- Chang, R. y College, W. (2002). *Química*. 7a. ed. D.F, México: Mc Graw-Hill.
- Karp, G. (2005). *Biología celular y molecular. Conceptos y experimentos*, 4a. ed. D.F., México: McGraw-Hill Interamericana.
- Madigan, M. T., Martinko, J. M. y Parker, J. (2009). *Brock. Biología de los microorganismos*, 12a. ed. Madrid, España: Pearson Adison-Wesley.
- Prescott, L. M., Harley, J. P. y Klein, D. A. (2000). *Microbiología*, 4a. ed. Madrid, España: McGraw-Hill Interamericana.
- Solomon, P. E., Berg, R. L. y Martin, W. D. (2008). *Biología*, 8a. ed. México: Mc Graw Hill.
- Zarco, R. E. (1998). *Seguridad en Laboratorios*, 2a. ed. México, D. F: Trillas.