

PRÁCTICA DE LABORATORIO: MICROSCOPIA



1. INTRODUCCIÓN.

El microscopio óptico es un instrumento que permite la observación de objetos y detalles de estructuras tan pequeñas que no podrían ser observadas a simple vista. Con él, nuestro grado de visibilidad se amplía en cientos o miles de veces, gracias a un conjunto de lentes, dispuestos convenientemente.

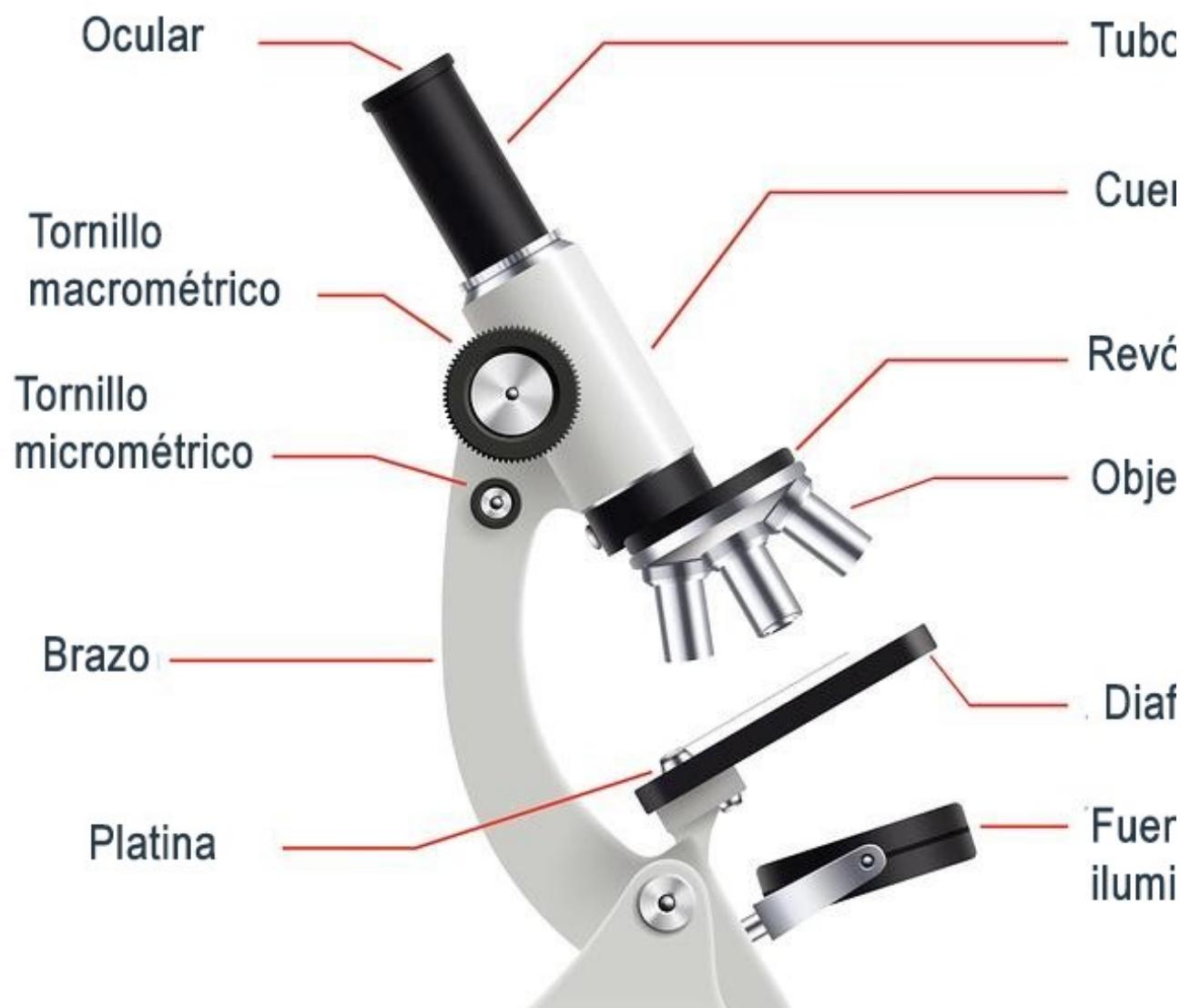
Las principales dificultades en la observación y estudio de estructuras biológicas son su REDUCIDO TAMAÑO Y SU TRANSPARENCIA a la luz visible. Dado que el microscopio permite superar estas dos dificultades, su uso y el conocimiento de los principios y técnicas en microscopía, resultan fundamentales para el desarrollo de la investigación en ciencias biológicas.

2. OBJETIVOS DE LA PRÁCTICA:

La presente práctica tiene por objetivos:

1. Identificar las partes del microscopio y comprender sus características.
2. Manejar el microscopio correctamente.
3. Realizar observaciones con este instrumento.
4. Ver cómo se realiza una preparación para observar al microscopio.

3. EL MICROSCOPIO ÓPTICO: PARTES.



En un microscopio óptico se pueden distinguir, para su estudio, tres partes:

- **SISTEMA MECÁNICO:**

Partes que sirven de soporte al microscopio:

- **Platina:** Soporte en que se sitúan las preparaciones. Tiene una perforación en el centro que deja pasar la luz que viene desde la fuente de luz a través del condensador.
- **Brazo:** Sirve para unir el tubo con la platina.
- **Pie:** Base de sujeción del microscopio.
- **Tornillos de enfoque macro y micrométricos:** Mueven la platina o el tubo hacia arriba y hacia abajo. El macrométrico, permite desplazamientos amplios para un enfoque inicial y el micrométrico, desplazamientos muy cortos, para el enfoque más preciso.

- **SISTEMA ÓPTICO:**

- **Ocular:** Es la lente por donde se mira. Puede ser **mono**, **bi** o **trinocular**. El trinocular es un tipo de microscopio equipado con tres oculares. Esto permite que sea usado como microscopio binocular por un observador y al mismo tiempo conectar una cámara digital al tercer ocular. De este modo puede observarse cómodamente la muestra y simultáneamente capturar imágenes de las observaciones.

También tiene un aumento que se “acumula” al del objetivo. **Por ejemplo**, con un ocular de 10x y un objetivo de 40x tendremos un aumento total de $10 \cdot 40 = 400x$ (se aumenta 400 veces la muestra).

Monocular



Binocular



Trinocular



- **Objetivos:** Son unas lentes diseñadas para ampliar la imagen de los objetos situados en la platina del microscopio. Puede tener diferentes aumentos: 4x, 10x, 45x...



El **código de colores** es muy útil para identificar de forma inmediata el aumento proporcionado por el objetivo. Cada color se corresponde a un aumento determinado.

	1x / 1.25x / 1.5x
	2x / 2.5x
	4x / 5x
	10x
	16x / 20x
	25x / 32x
	40x / 50x
	60x / 63x
	100x / 150x / 250x



- **Revolver:** Pieza móvil que permite colocar los objetivos en posición correcta de trabajo.
- **Tubo del ocular:** Conecta el Ocular y el objetivo.

- SISTEMA DE ILUMINACIÓN:

- **Foco de luz:** la luz que emite deberá atravesar la preparación y el sistema óptico del microscopio.
- **Diafragma:** Regula la cantidad de luz que va a pasar a través de la preparación.



- **Condensador:** Concentra (enfoca) el haz luminoso sobre la preparación.



- **Tornillo del condensador:** Sube y baja el condensador regulando la cantidad de luz en la preparación.

4. MICROSCOPIO: MANEJO:

1. Iluminación: Con el ocular y el objetivo de menor potencia, sin montar la preparación y con el diafragma totalmente abierto, se orienta el espejo hasta que el haz de luz reflejada pase por el tubo. Si el microscopio es eléctrico, lo conectamos y encendemos.
2. Colocar el objetivo de menor aumento en posición de empleo y bajar la platina completamente.
3. Colocar la preparación sobre la platina sujetándola con las pinzas metálicas.
4. Acercar al máximo la lente del objetivo a la preparación, empleando el mando de enfoque. Esto debe hacerse mirando directamente y no a través del ocular, ya que se corre el riesgo de incrustar el objetivo en la preparación pudiéndose dañar alguno de ellos o ambos.

5. Mirando, ahora sí, a través de los oculares, ir separando lentamente el objetivo de la preparación hasta obtener un enfoque fino.
6. Una vez logrado el enfoque actuar sobre el diafragma, abriéndolo o cerrándola, hasta lograr la iluminación más adecuada.

5. CONSEJOS PARA UN CORRECTO CUIDADO DEL MICROSCOPIO:

- i. El microscopio es un aparato delicado; para moverlo tómalo por el brazo con una mano y con la otra sujetla la base.
- ii. No toques las lentes con las manos.
- iii. Mueve los tornillos con suavidad para que no se desajuste
- iv. Nunca hay que tocar las lentes con las manos. Si se ensucian, limpiarlas muy suavemente con un papel de filtro o, mejor, con un papel de óptica.
- v. 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. No cambiar nunca de objetivo agarrándolo por el tubo ni mientras se está observando a través del ocular.
- vi. Mantener cubierto o guardado el microscopio cuando no esté en uso.
- vii. Al finalizar el trabajo, hay que dejar puesto el objetivo de menor aumento en posición de observación y dejarlo cubierto con su funda.

6. NORMAS GENERALES DEL LABORATORIO DE CCNN:

- i.** El orden y la limpieza deben presidir todas las experiencias de laboratorio. En consecuencia, al terminar cada práctica se procederá a limpiar cuidadosamente el material que se ha utilizado.

- ii.** Cada grupo de prácticas se responsabilizará de su zona de trabajo y de su material.

- iii.** Antes de utilizar un compuesto hay que fijarse en la etiqueta para asegurarse de que es el que se necesita y de los posibles riesgos de su manipulación.

- iv.** Todo el material, especialmente los aparatos delicados, como lupa y microscopios, deben manejarse con cuidado evitando los golpes o el forzar sus mecanismos.

- v.** Los cubreobjetos y portaobjetos deben cogerse por los bordes para evitar que se engrasen.

PRÁCTICA I: OBSERVACIÓN DE CÉLULAS DE CORCHO AL MICROSCOPIO:

Observar corcho en un microscopio es ideal para realizar un **experimento sencillo**. Las células de corcho son células vegetales que se han secado una vez la materia viva que las ha ocupado ha muerto. El resultado es una estructura dividida en muchos compartimentos que resulta fascinante a través del microscopio.

Materiales:

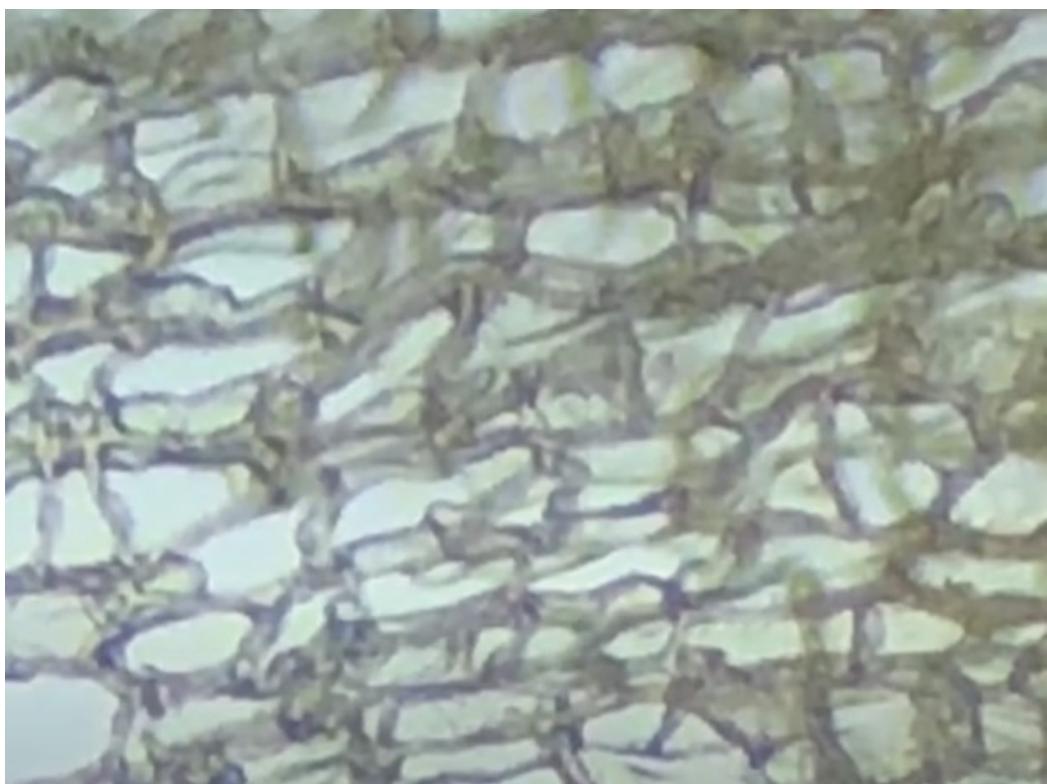
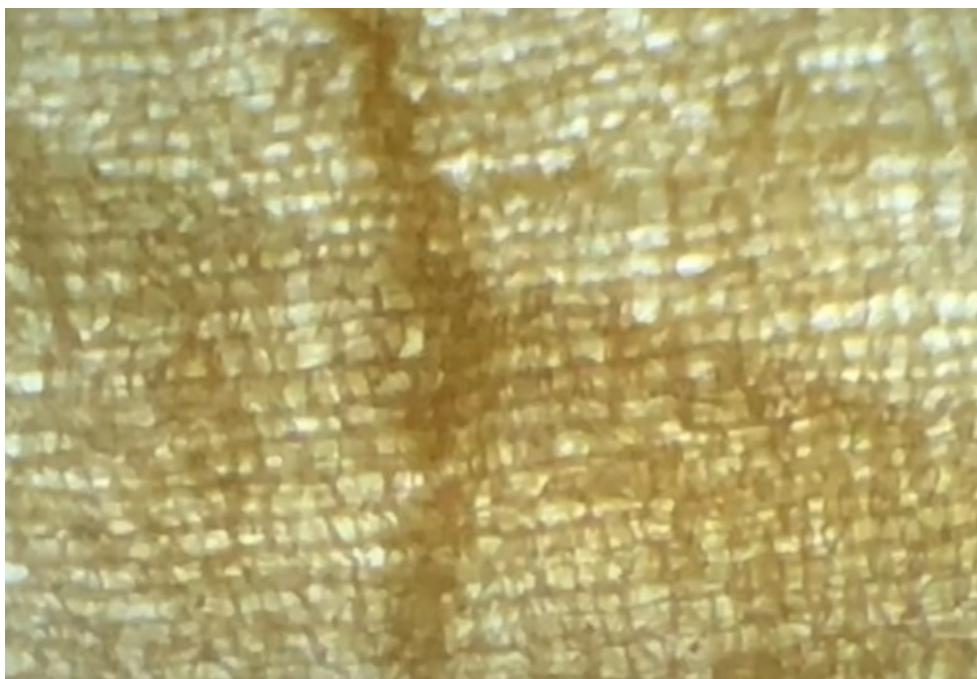
- Un trozo de corcho (por ejemplo, de un tapón de corcho).
- Microscopio óptico
- Portaobjetos + Cubreobjetos.
- Papel secante.
- Cúter o cuchillo.
- Pipeta.
- Agua

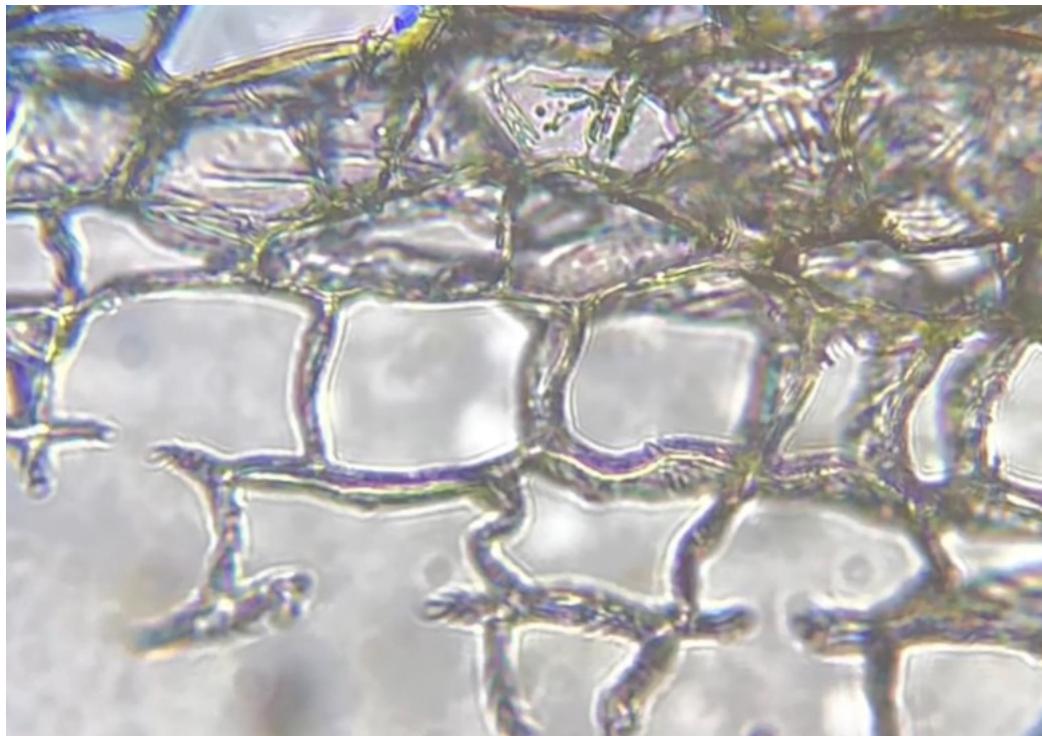
Instrucciones:

- i. Utilizando el cúter, corta una lámina del tapón de corcho que sea lo más delgada posible.
- ii. Con la ayuda de la pipeta coloca unas gotas de agua en el portaobjetos. La superficie de agua debe ser más grande que el trozo de corcho que has cortado previamente.
- iii. Coloca el trozo de corcho en el centro de la superficie de agua. Puedes utilizar unas pinzas para una mejor precisión.

- iv. Coloca el cubreobjetos sobre la muestra. Para evitar la aparición de burbujas apoya primero solo un lado del cubreobjetos colocándolo con un ángulo de 45° con respecto el portaobjetos. A continuación, puedes soltar el cubreobjetos con cuidado para cubrir toda la muestra.
- v. Si hay un exceso de agua a los lados del cubreobjetos puedes eliminarla con papel secante.
- vi. Coloca el portaobjetos con la muestra sobre la platina del microscopio y empieza con la observación con el objetivo de menor aumento.
- vii. Según vamos incrementando los aumentos deberíamos ver algo así:







PRÁCTICA II: OBSERVACIÓN DE CÉLULAS VEGETALES (DE CEBOLLA) AL MICROSCOPIO:

Materiales:

- Microscopio óptico
- Cuentagotas (pipeta) de plástico.
- Agua destilada.
- Portaobjetos y cubreobjetos
- Aguja enmangada, tijeras, pinzas
- Cubeta y soporte de tinción.
- Colorante (azul de metileno).
- Bulbo de cebolla.

Técnica de preparación:

1. Separar una de las hojas interna de la cebolla y desprender la tenue membrana que está adherida por su cara inferior cóncava (epidermis).



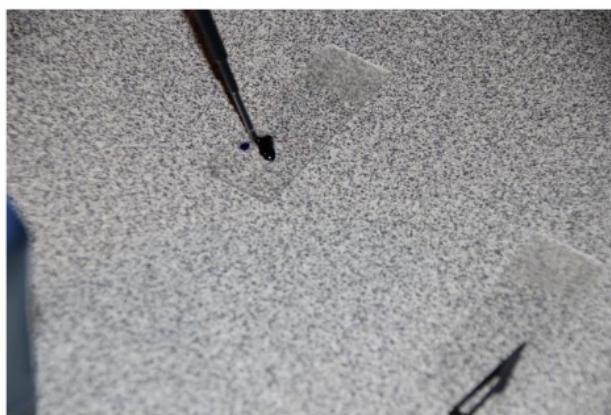
2. Depositar el fragmento de membrana en un porta con unas gotas de agua destilada y evitando que se enrosque. Dejamos que escurra bien. Si es preciso, estirar el trozo de epidermis con ayuda de las agujas enmangadas.



3. Extraemos el azul de metileno con la pipeta de plástico.



4. Pon el porta sobre la **cubeta de tinción** para que caiga en ella el agua y los colorantes. Si es preciso, estirar el trozo de epidermis con ayuda de dos agujas enmangadas. Añadir una gota de azul de metileno sobre la membrana y dejamos actuar durante de 3 a 5 minutos aproximadamente. ¡No debe secarse la epidermis por falta de colorante o por evaporación del mismo!



5. Con el cuentagotas bañamos la epidermis con agua destilada abundante hasta que no suelte colorante. A continuación, Colocamos sobre la preparación un cubreobjetos evitando que se formen burbujas y llevamos al microscopio.



6. Se utilizarán primero los aumentos débiles con el fin de centrar la preparación y determinar la zona mejor para la visualización. Cambiar después a un aumento mayor.
7. Las células de la epidermis de las hojas internas del bulbo de la cebolla son de forma alargada y bastante grandes. La **membrana celular** se destaca muy claramente teñida por el colorante. Los **núcleos** son grandes y muy visibles. Debemos ver aproximadamente lo siguiente:

