



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE MÉXICO



FACULTAD DE  
ESTUDIOS SUPERIORES  
IZTACALA

REVISIÓN DEL MANEJO Y CUIDADOS DE MICROSCOPIA ÓPTICA  
Y MICROSCOPIOS RELACIONADOS.

**Tesina**

Que para obtener el título de:

**Bióloga**

Presenta:

**Monroy Fernández Carolina**

Directora de tesis:

**M.C. Guadalupe Eugenia Daleth Guedea Fernández**

Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla Edo Mex 2017



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## ÍNDICE

- Agradecimientos.....	6
<b>-Capítulo I</b>	
-Resumen.....	8
-Introducción.....	9-10
-Justificación.....	10
-Objetivo.....	10
-Método.....	10
<b>-Capítulo II</b>	
-Origen y evolución del microscopio...	12-24
<b>- Capítulo III Principios del microscopio</b>	
Luz.....	26
Teoría corpuscular.....	26
Teoría ondulatoria.....	28
Teoría cuántica de la luz.....	28
Modelo organicista.....	28
Modelo mecanicista.....	29
<b>-Capítulo IV Óptica</b>	
Índice de refracción.....	31
Poder de resolución.....	32
Apertura numérica (NA).....	32
Aberraciones (Esférica y cromática)....	33-34
Aumento.....	34-35

## **-Capítulo V Descripción del sistema óptico compuesto**

Sistema óptico.....38

Oculares.....38-39

Objetivos.....40

### **Sistema mecánico**

Platina.....42

Revolver.....42

Tornillos de enfoque.....43

Tubo ocular.....43

Tubo adaptador de cámara fotográfica.....44

Brazo.....44

### **Sistema de iluminación**

Fuente de luz.....45

Filtros.....45-46

Iris o diafragma de campo.....46

Condensador.....47

## **-Capítulo VI Otros microscopios relacionados**

Microscopio Estereoscópico.....49-50

Microscopio de campo oscuro.....50-51

Microscopio de contraste de contraste de fases.....51-52

Microscopio invertido o invertoscopio.....52

Microscopio de epifluorecencia.....53-55

Microscopio de laser confocal.....56-57

Microscopio electrónico de transmisión (TEM).....57-58

Microscopio electrónico de barrido (SEM).....58

Microscopio Petrográfico.....59

**-Capítulo VII Normas básicas para el uso correcto del microscopio**

Forma correcta de transportar un microscopio.....64-65

Problemas al enfocar.....64

Observación con ambos ojos abiertos .....65

Almacenamiento.....66-67

Limpieza de las lentes.....67-68

Limpieza del cuerpo del microscopio.....68-69

Conclusión.....69

**Anexo**

-Preparación de muestras para técnicas de uso común en microscopía.....72-78

## DEDICATORIA

*A mi profesor Héctor Barrera Escocia*

*Deseo honrar su recuerdo a través de este trabajo el cuál fue su idea .Agradezco enormemente cada momento en el que me brindo su atención y todas las valiosas lecciones académicas y de vida que me enseñó, pero más que todo por haberme dado su ejemplo, por confiar en mí, por ser el mejor profesor que pude tener en mi vida. Gracias querido amigo.*

## **AGRADECIMIENTOS**

En primer lugar le doy gracias a Dios, por haberme dado fuerza y valor para culminar esta etapa de mi vida.

A mi mamá por darme la vida, educación y participar en mi formación.

A mi Directora de tesis Daleth Guedea Fernández, por su apoyo y orientación para la elaboración de esta tesina, gracias por su confianza y tiempo.

A mis profesores M. en C. Pilar Villeda Callejas, M. en C. Rosario Fernández Barajas, M. en C. Luis Felipe Santos Cruz y Biólogo Osvaldo Cervantes Zamudio por su asesoría, paciencia y tiempo para la elaboración de esta tesina

A mi mejor amiga Jennifer por estar siempre conmigo y brindarme su cariño en los momentos tristes y felices de mi vida, por ser un ejemplo para mí, por tenerme la paciencia necesaria, por confiar en mí y motivarme a seguir adelante, pero sobre todo por ser parte de mi familia.

A mi gran amiga Jesica por ser un ejemplo para mí, por sus consejos y apoyo, por creer en mí siempre, por brindarme su cariño y por ser parte de mi familia.

A Yunuem, Oscar, Sofía y Santiago por ser una parte muy importante de mi vida, por acompañarme siempre, por brindarme su cariño, apoyo, amistad y por ser parte de mi familia.

A Berenice, Santiago, Jehú y María Karola por ser parte de mi familia y acompañarme en cada aventura que se me ocurre.

A mi Universidad Nacional Autónoma de México ya que siempre me brindó todo su apoyo académico. A mi Facultad de Estudios Superiores Iztacala que es mi segunda casa y me abrió la puerta al conocimiento de mi maravillosa carrera.

Carolina

# CAPITULO

# I



## **RESUMEN:**

En el presente trabajo se llevó a cabo una minuciosa revisión en libros, artículos y manuales, sobre los aspectos históricos y físicos del microscopio, ilustrándolo con imágenes de la red y de algunos trabajos realizados en el laboratorio de microscopía y fotografía digital de la Facultad de Estudios Superiores (FESI).

Con este trabajo se pretende facilitar el buen uso del microscopio óptico y relacionados, ya que en nuestro país son pocos los trabajos que hacen referencia a la microscopía y la información existente se encuentra dispersa y en manuales de uso técnico. Con ello tanto los profesores como alumnos podrán tener un panorama más amplio sobre la importancia del buen uso y manejo del microscopio, ya que para obtener una buena observación de la muestra se tiene que conocer ciertos aspectos relacionados con el microscopio, para lograr una clara imagen sobre lo que se quiere estudiar, obteniendo como beneficios una mejor calidad en sus observaciones y durabilidad del microscopio.

En cada capítulo se toca distintos puntos básicos para la comprensión del uso y cuidados del microscopio, tocando temas como origen, pioneros, evolución, luz, óptica, sistemas que conforman a un microscopio, descripción del microscopio óptico y relacionados, normas para el uso correcto de un microscopio, cuidados y un pequeño anexo sobre técnicas básicas para la preparación de muestras de uso común en microscopía.

Como conclusión de este trabajo se obtuvo que la microscopía evoluciona de una manera acelerada, cumpliendo cada vez mejor su objetivo el cual es la observación detallada de objetos que no pueden ser observados a simple vista, ayudando de manera clave en muchas áreas como la investigación y medicina, dando un panorama mucho más amplio y completo en muchas investigaciones,

## INTRODUCCIÓN

El microscopio es un instrumento utilizado por muchos profesionistas de la medicina y las ciencias naturales. El nombre deriva del griego *mikrós*, que significa pequeño y *skopéoo*, que significa observar. Es decir el microscopio sirve para observar a detalle objetos o estructuras pequeñas. Es por eso que se han vuelto familiares e indispensables en los laboratorios; sin embargo, muchos usuarios no muestran interés por conocer sus principios y técnicas fundamentales, en algunas ocasiones la información para ello no es tan accesible o se encuentra en manuales de uso técnico en otros idiomas. Por ello se considera muy importante extender y hacer más accesible la información sobre el buen uso del microscopio, técnicas y principios básicos para promover el interés sobre su funcionamiento y aplicación (Barrera *et al*, 2007).

En nuestro país son pocos los trabajos que hacen referencia a la microscopía ya que para obtener una buena investigación de la muestra se tiene que conocer y analizar ciertos aspectos sobre el microscopio, para lograr una clara imagen sobre lo que se quiere estudiar, por ejemplo cuando se plantea el estudio de alguna célula, tejido u órgano, previamente se debe definir cuales aspectos morfológicos y fisiológicos se quiere analizar, o si se desea observar células vivas o células fijadas. Con base en esto último se definirá y planificará el método a seguir; se seleccionará la técnica de visualización y el tipo de instrumento óptico para obtener las imágenes. Las técnicas de laboratorio para preparar la muestra (anexo 1) y obtener el preparado histológico que será observado, dependerán en gran medida del tipo de microscopio requerido para visualizarlo (Welley, 2001).

De igual manera el papel que juega la luz o sistema de iluminación empleada es de suma importancia, ya que es una herramienta que permite evidenciar y distinguir con mayor nitidez los detalles del objeto que se estudia. Generalmente se habla de la iluminación como un término ampliamente utilizado, que en microscopía no siempre denota el empleo de un rayo luminoso conformado por fotones, los cuales si pueden ser captados por la retina del ojo. Se trata de todo un sistema el cual está constituido por las partes del microscopio que producen, captan y regulan la intensidad de la luz, la cual es utilizada para la observación de la muestra (Barrera *et al*, 2007).

Además de la luz producida por focos incandescentes, también se pueden emplear otros tipos de radiaciones electromagnéticas, tales como la luz LED, ultravioleta, rayos láser y haz de electrones. Estos últimos no son captados por la retina pero si por una placa fotográfica o una pantalla fluorescente, siendo considerados como un tipo de iluminación, que a pesar de no estar constituida por

fotones, también permite la formación de una imagen que muestra los detalles finos de un espécimen (Montalvo, 2010).

### **Justificación**

En vista de que la información existente sobre microscopía es poco práctica para el alumno y el profesor, ya que se encuentra muy dispersa, poco condensada y en revistas especializadas o libros técnicos como:

- J. Bernis Mateu, 1986. Atlas de Microscopía.
- C. Ramírez Montaña, 2000. Microscopía general y guía del microscopio.
- N. Anadón Coto y J. Martínez Fraga, 2008. Microscopía y Análisis de Imagen en Biología.
- D. J Jackson, 2008. Better Microscopy. A Series of Practical User's Guide. Vol. III Digital Photo-Microscopy. A Guide to Practical Imaging Methods for digital Cameras, Webcams, 35mm & more.

**El objetivo** del presente trabajo fue facilitar la comprensión de conceptos y técnicas microscópicas de una manera accesible. Para que con ello se le dé un uso adecuado al microscopio, mejorando la durabilidad del mismo y calidad en las observaciones.

### **Método**

En el presente trabajo se llevó a cabo una revisión bibliográfica sobre aspectos históricos, físicos, manejo y operación del microscopio, en especial del microscopio óptico compuesto. Cada detalle es ilustrado con imágenes de la red y de algunos trabajos del Laboratorio de Microscopia y Fotografía Digital de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM (FESI).

# CAPITULO

## II

## ORIGEN Y EVOLUCIÓN DEL MICROSCOPIO

### Origen:

La historia está llena de elementos ópticos que en algún momento se usaron para la creación tanto del telescopio como del microscopio; en muchas excavaciones de antiguas civilizaciones se han encontrado objetos que se usaron para aumentar el tamaño de las imágenes; reflejar objetos y un sin número de elementos que dieron pie para la creación de los actuales microscopios. El arte de cortar y pulir lentes, es muy remoto, siendo conocido por pueblos del medio oriente, tales como los asirios, egipcios y los chinos, después se extendió hasta Grecia e Italia (Lanfranconi, 2008).

En el Blog, “*Crónicas del tiempo*” se menciona que ya en el año 3000 a. C. con la civilización Asiria, en Mesopotamia se hacían lentes plano-convexas y biconvexas con cristal de roca (algunas se conservan en museos como el de Berlín) (Figura 1 y 2) se han encontrado en las tumbas egipcias vestigios de espejos metálicos que tal vez sirvieron para desviar los rayos del sol y lentes positivas que fueron usadas como lupas desde tiempos muy remotos. Los hallazgos arqueológicos demostraron que fueron utilizadas para hacer las pequeñas inscripciones que aparecieron en objetos hallados en las esfinges en Egipto (Figura 2), en Pompeya se halló una lente de 5 cm de diámetro y lo mismo ocurría en Creta donde se utilizaban como objetos sagrados para encender el fuego. Juárez (2015) señala que la amplificación de la imagen fue conocida en la antigüedad lo que fue, probablemente debido a, la necesidad de la observación de objetos muy pequeños y poco visibles a simple vista, esto condujo a la creación de lentes actualmente conocidas como lupas (Juárez, 2015).

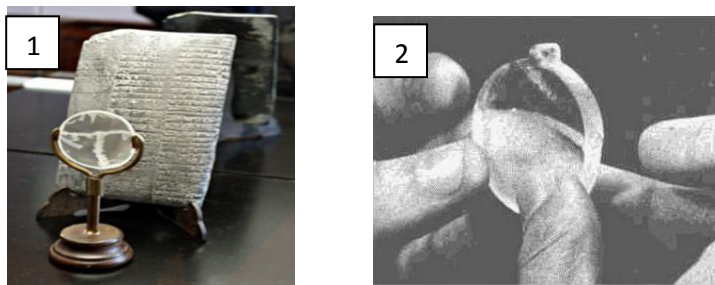


Figura 1 y 2: En 1 se encuentra una lente plana convexa usada como lupa, hallada en las excavaciones de Nínive, en 1847. En 2: Es una lente pulida hallada en la tumba de Semerjet, en Helwan Egipto, la cual tiene al menos 5 mil años de antigüedad. Recuperado de <https://category/explicacion.com>

Después de los grandes descubrimientos y creaciones; no volvieron a ocurrir cambios, el oscurantismo de la edad media, no permitió evolución alguna en la ciencia y hasta el siglo XVII los naturalistas se encontraban supeditados exclusivamente a sus sentidos, en este periodo los sentidos se afinan y agudizan mediante la ayuda de instrumentos, especialmente el microscopio. Incluso existen en algunos museos lentes con superficies cóncavas y convexas que datan hace más de tres mil años, las cuales tienen poder de amplificar la imagen de los objetos que son vistos a través de ellos, esto seguramente no pasó desapercibido por aquellos que las fabricaron o manejaron ya que fueron cortadas y pulidas con las técnicas lapidarias que se conocían en esas épocas, y las superficies que se obtenían eran pobres en calidad óptica y como consecuencia, las imágenes eran de muy baja calidad (Sánchez y Oliva, 2015).

Entre los pioneros de la microscopía se pueden mencionar al árabe **Alhazen ben Alhazen (962-1038)** considerado “el padre de la óptica” por sus trabajos y experimentos con lentes, espejos, reflexión y refracción (Figura 3). En su libro **ÓPTICA** menciona “si un objeto es colocado en un medio esférico, cuya superficie curva está hacia el ojo, el objeto aparecerá amplificado” (Borcaty y Lanary, 2004).



Figura 3 Alhazen ben Alhazen y las piedras para leer, las cuales fueron realizadas por los frailes de la edad media siguiendo los principios del árabe. Posiblemente eran de cristal de roca o de alguna de las llamadas piedras semipreciosas, estaban talladas en forma de una media esfera y aumentaban la letra. **Recuperado de <http://www.famousinventors.org/alhazen>.**

**Bacon (1214-1292)**, un monje que vivió en Oxford, dedicó su vida al estudio de la naturaleza y escribió muchas de sus investigaciones en su obra “*Opus Mayus*” (Figura 4). Escribió sobre sus experimentos con las lentes, los cuales ayudaron a corregir la visión defectuosa, por lo cual fue considerado como uno de los descubridores de los anteojos (Borcaty y Lanary, 2004).

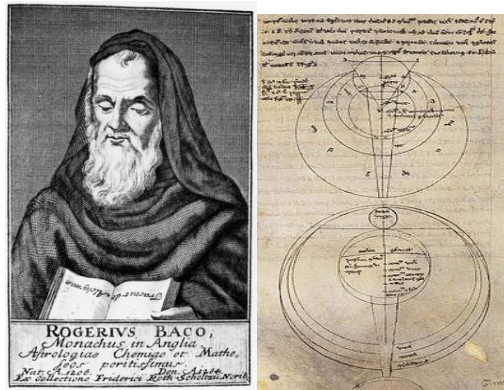


Figura 4 Bacon y su estudio sobre óptica en la obra Opus Mayus. Recuperado de [www.xatakaciencia.com](http://www.xatakaciencia.com)

**Joris Hoefnagel (1542-1600)** con ayuda del Kijker o Magnificador, este artista presentó en “*Diversae Insectarum Volantium*” en 1552 (Figura 5) las primeras ilustraciones de insectos aumentados (Herrera, 2004).



Figura 5 Hoefnagel y uno de sus muchos dibujos sobre insectos y plantas donde utilizó el magnificado. Recuperado de [www.historyofinformation.com](http://www.historyofinformation.com)

**Galileo Galilei (1564 –1642)** Aunque no se destacó por sus investigaciones en microscopía, si lo hizo por la aplicación de lentes en diversos aparatos como el telescopio (Figura 6) que ya se conocía tiempo atrás; mismo que consistía de una lente objetivo convexa y una cóncava que era el ocular. Con este instrumento Galileo hizo notables descubrimientos astronómicos; en particular observó por primera vez los satélites de Júpiter y las fases de Venus. Decía “con este tubo he observado moscas que se ven tan grandes como ovejas” (Sánchez y Oliva, 2015).



Figura 6 Galileo y su microscopio el cual fabricó con el fin de observar elementos pequeños. Recuperado de [/htdocs/cienciacuriosa.com](https://htdocs/cienciacuriosa.com)

**Zacharias Janssen (1588-1628)** En 1592 aparecen las primeras ilustraciones de insectos aumentados con el microscopio rudimentario que inventó (Figura 7) (Sánchez y Oliva, 2015).



Figura 7 Zacharias Janssen y el microscopio que inventó. Recuperado de <https://histoptica.com>

**Pierre Borel (1620 1671)**, Alquimista, médico, químico y botánico francés considerado pionero en la utilización del microscopio para la investigación de tejidos de órganos humanos. Fue el autor de la publicación: *“De Vero Telescopii Inventori”* en 1655 donde se presenta la primera referencia histórica del microscopio compuesto, acreditando a Borel como inventor de un instrumento que consistía en dos lentes combinadas en un tubo en el que la magnificación variaba mediante la alteración de la distancia entre ellas. Se conseguían unos 9 aumentos, sin embargo, el instrumento como tal no tenía nombre propio y no señalaron publicaciones de observaciones científicas realizadas con dicho instrumento (Figura 8) (Lancranfoni, 2008).





**Figura 8** Borel y la imagen de la portada de su libro “*Devero Telescopii Inventore, cumbrieriominnum Conspicilium Historia*”. Recuperado de <http://www.quo.es/tecnologia/breve-historia.com>

**Faber 1624**, siendo miembro de la academia de los Linceos que publicaron un trabajo sobre la observación microscópica del aspecto de una abeja; él introduce el nombre microscopio para el instrumento conocido hasta entonces con distintos nombres, tales como cospicillum, perspicillum, magnificador y otros (Figura 9) (Rodríguez, 2014).



**Figura 9** Imagen de Faber. Recuperado de <http://www.lincolni-celebrazioni.it/ischmidt>.

**Malpighi (1628-1694)** Fue un eminente investigador italiano de la segunda mitad del siglo XVII, figura también entre los pioneros que utilizó el microscopio para sus investigaciones anatómicas. Las obras de Malpighi contienen muchas observaciones importantes sobre los campos más diversos de la biología (Figura 10) (Ford, 2000).

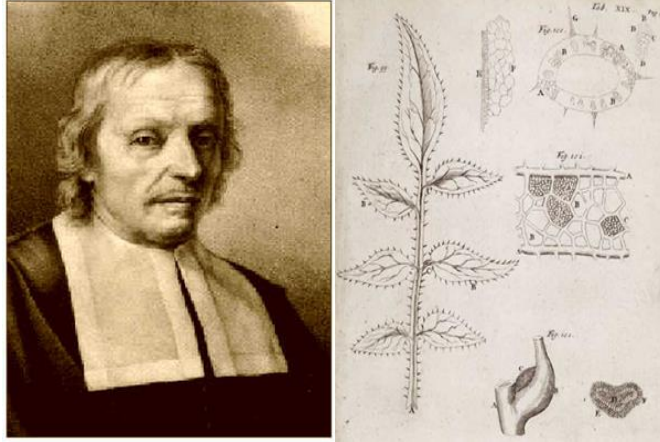


Figura 10 Malpighi y uno de sus muchos dibujos de anatomía vegetal, realizados con ayuda de un microscopio. Recuperado de <http://www.disri.unibo.it>

**Leeuwenhoek 1632-1723**, dedicó sus ratos libres a pulir y tallar lentes y de esta manera fabricó sus primeros microscopios. La calidad de sus instrumentos ópticos era muy alta, ya que montó 247 lentes en microscopios, los cuales la mitad eran de plata, tres de oro y el resto de bronce (Figura 11) (Sánchez y Oliva, 2015).



Figura 11 Leeuwenhoek Observando con sus lentes tallados y su microscopio que consistía en una pequeña lente convexa montada sobre una placa de latón, que se sostenía muy cerca del ojo. Las muestras se montaban sobre la cabeza de un alfiler que se podía desplazar mediante unos tornillos que permitían enfocar. Recuperado de [pais.com/elpais/2016/10/24/ciencia](http://pais.com/elpais/2016/10/24/ciencia)

**Descartes (1637)** Realiza una profunda experimentación sobre la percepción. Escribe dos tratados de óptica y otro de luz. Descubre el “ángulo del arcoíris” a partir del punto de incidencia de la luz solar en una gota de lluvia respecto de un punto de vista, en pocas palabras: el color es resultado de la combinación de los ángulos que forma la luz en la gota en relación con el ángulo de visión (Figura 12). (Ramírez y González, 2008).

Descartes presentó dos formas de microscopios. Uno es un microscopio simple que está formado por lente biconvexa, quedando el lado menos curvo hacia el ojo. La segunda forma que mostró, estaba formado por una lente plana convexa y un reflector metálico para iluminar el objeto (Figura 12 y 13) se debe entonces a descartes la invención del microscopio simple (Lancranfoni, 2008).



Figura 12 Descartes .Recuperado de <http://www.biografiasyvidas.com/biografia/d/descartes.htm>

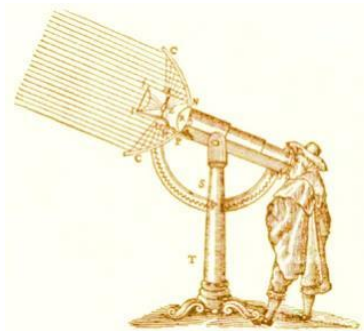


Figura 13 Microscopio gigante ideado por René Descartes, el ocular era una lente biconvexa y el objetivo una convexa. Recuperado de <http://loff.it/society/efemerides.com>

**Robert Hooke (1635-1703)** La palabra "célula" fue usada por primera vez en sentido biológico por el científico Robert **Hooke** el cuál en 1665 publica su libro "*Micrographia*" (Figura 15) fue ilustrado con imágenes dibujadas con ayuda de un microscopio. El trabajo contiene treinta y ocho ilustraciones de objetos que fueron dibujados con ayuda de un microscopio (Figura 14). En este libro se describe con detalle el microscopio que él creó, el cual constaba de una lente biconvexa de distancia focal corta como objetivo, montada justo junto a un diafragma pequeño. El ocular consistía de dos lentes, una lente de campo y una ocular (Barcaty y Lanary, 2004).

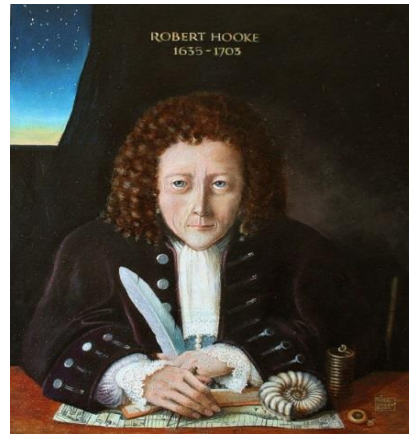
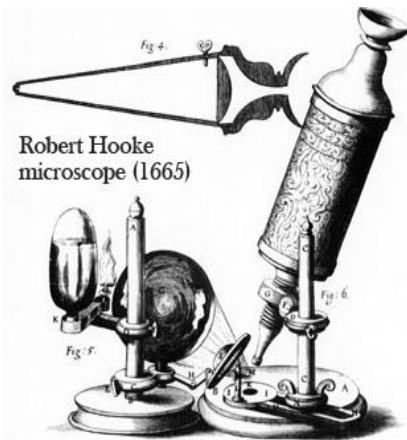


Figura 14 Robert Hooke y el microscopio usado para sus investigaciones **Recuperado de <https://www.emaze.com>**

**MICROGRAPHIA:**

OR SOME  
*Physiological Descriptions*  
 OF  
**MINUTE BODIES**  
 MADE BY  
 MAGNIFYING GLASSES.  
 WITH  
 OBSERVATIONS and INQUIRIES thereupon.  
 By **R. HOOKE**, Fellow of the ROYAL SOCIETY.



LONDON, Printed by *Jn. Streater*, and *Jn. Allaby*, Printers to the  
 ROYAL SOCIETY, and are to be sold by their Shop in the Hall  
 in *St. Pauls Church-yard*. M. DC. LXV.

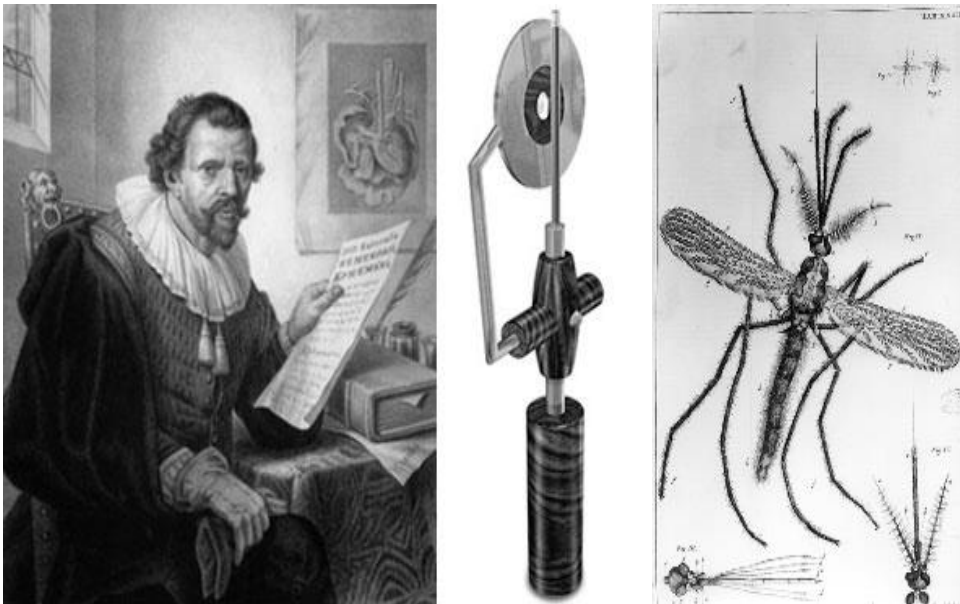
Figura 15 Libro de Hooke publicado en 1665, tuvo un éxito razonable cuando apareció el 20 de enero del mismo año" **Recuperado de <https://www.emaze.com>**

**Neheimeiah Grew (1641-1712)** llamado el padre de la fisiología vegetal y de la palinología (Figura 16) fue médico y botánico británico, utilizó el microscopio para observar y diferenciar las estructuras anatómicas de las plantas. Fue un gran anatomista vegetal, hizo cortes admirables de tallos y raíz que evidencian claramente las diferencias estructurales de los principales tipos de plantas. Quizá la más notable de todas las contribuciones de Grew es su conjetura de que las flores son los órganos reproductores de las plantas usó el microscopio para observar y analizar el polen, descubriendo que, aunque todos los pólenes son más o menos globulares, el tamaño y la forma difiere entre especies, no obstante, los granos de polen de una especie son todos iguales. Este descubrimiento fue vital para el campo de la palinología (Ford, 2000).



Figura 16 Retrato de Nehemiah Grew **Recuperado de <https://www.biol.unlp.edu.ar/historiabiologia>.**

**Swammerdam** Fabricó un microscopio para estudios fundamentales sobre insectos y otros animales (Figura 17). Sus manuscritos fueron publicados 57 años después de su muerte, bajo el título de *“Biblia Naturae”* (Ford, 2000).



**Figura 17** Swammerdan y el microscopio que utilizó para realizar estudios sobre insectos, entre ellos los moscos. **Recuperado de <http://www.biografiasyvidas.com>**

**Hartsoeker** es el primero en incluir un diafragma de apertura para control de la luz incidente, por ello se le considera como el inventor de los microscopios de tornillo (Figura 18) (Ford, 2000).



Figura 18 Hartsoeker y su diafragma de control de luz. Recuperado de <http://www.biografiasyvidas.com>

**Harel 1716** Introduce en su modelo de microscopio un tornillo micrométrico y una platina mecánica (Naik, 2000).

**Whatkinns 1754** crea un microscopio montado en una base en forma de tripie unido con un tornillo que permite inclinar el microscopio (Figura 19) (Naik, 2000).



Figura 19 microscopio compuesto monocular de bronce con un cuerpo que se apoya basculando sobre dos arcos de bronce. El tubo se apoya en una columna rectangular, pudiendo alejarse y aproximarse horizontalmente, esta columna se desliza, para el enfoque, sobre otra columna similar que fija el sistema. Recuperado de <http://www.librosmaravillosos.com>



**Ernest Abbe (1840-1905)** dio fundamento científico sólido al ajuste de sus microscopios. La fabricación contemporánea de los microscopios se hacía en base de prueba y error, los métodos no estaban basados en cálculos ópticos. Con el trabajo de Abbe y Zeiss se logró el primer microscopio construido con los cálculos, pero poseía menos usos que los fabricados con el viejo método. Este hecho preocupó a Abbe y acabó llevando a su Teoría de la formación de Imágenes al microscopio así como a su evaluación de las posibilidades de resolución microscópica. En 1880 introdujo el ocular ortoscópico formado por cuatro lentes en dos grupos que corregía muchos defectos que tenían los microscopios anteriores. Mejoró la microscopía de inmersión sustituyendo el agua por aceite de cedro lo que permite obtener aumentos de hasta 2000x. De igual manera esto contribuyó a proporcionar una imagen luminosa y nítida sobre todo en distancias focales cortas. Mediante estos descubrimientos mejoró de manera evidente el rendimiento de los microscopios de entonces. En el año de 1884, creó los bifocales de porciones dependientes, estas consistían en una lente común, al cual se le agregaba una lentilla cementada con bálsamo de Canadá. Zeiss decidió incorporar a Abbe a su empresa como socio el 22 de julio de 1876. El reconocimiento internacional llegó el 1 de mayo de 1878 al ser declarado miembro de honor de la Real Sociedad Sajona (Figura 20) (Martínez, 2006).



Figura 20 Ernest abbe, físico estadístico óptico. Recuperado de <https://www.mundomicroscopio.com>

A finales del siglo XIX, el microscopio alcanza un grado de perfección en cuanto a la óptica, poder de resolución, contraste de la imagen y grado de corrección de las aberraciones (Figura 21) (Sánchez y Oliva, 2015).



Figura 21 Microscopio más elaborado y refinado del S. XIX. Recuperado de <http://cienciaexplicada.com>

**Max Knoll y Ernst Ruska** (1931), desarrollaron el primer microscopio electrónico de transmisión, fue el primer tipo de microscopio electrónico. Este utiliza un haz de electrones en lugar de luz para enfocar la muestra consiguiendo aumentos de 100.000 X (Figura 22) (Arenas y Alatorre, 2005).



Fig 22 Desarrollo del microscopio electrónico de transmisión. Recuperado de <http://bibliotecadigital.ilce.edu.mx>

**Fritz Zernike** (1888-1966), físico holandés, inventó el microscopio de contraste de fase, gracias al cual le fue otorgado el premio Nobel de Física en 1953. Con este microscopio se pueden observar microorganismos transparentes, sin necesidad de teñirlos, lo que es imposible con el microscopio ordinario (Figura23) (López, 2008).



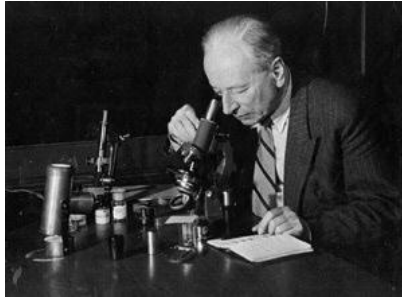


Fig 23 Fritz Zernike y su microscopio de contraste de fases. Recuperado de <http://www.revista.unam.mx>

Actualmente los microscopios ópticos poseen algunos cambios, incluyendo pequeñas modificaciones para hacer más cómodo su manejo, como ejemplo esta la adaptación de programas computacionales para la toma y modificación de imágenes (Linares, 2010).

III

# PRINCIPIOS DEL MICROSCOPIO

## Principios del microscopio

El estudio de las diferentes teorías que a través de la historia han nacido para explicar los fenómenos luminosos es un ejemplo que ilustra la evolución del método seguido por los científicos: siempre abierto a cambios y sometido a la prueba definitiva de la verificación experimental. Luz y óptica siempre se han relacionado, es difícil pensar en luz sin hablar de óptica así que en este capítulo se apreciará esta relación (Carmona, 2000).

Comenzaremos primero con:

### LUZ

Se puede considerar que uno de los principales elementos para el buen funcionamiento de un microscopio es la luz, la cual es una radiación electromagnética, fluctuaciones de campos eléctricos y magnéticos en la naturaleza. Concretamente la luz es energía y el fenómeno del calor es un producto de la interacción de la energía y la materia. Las ondas electromagnéticas existen como consecuencia de dos efectos: Un campo magnético variable genera un campo eléctrico; un campo eléctrico variable produce un campo magnético. Las ondas electromagnéticas, consisten en campos eléctricos y magnéticos oscilatorios que están en un ángulo recto entre sí y también son perpendiculares a la dirección de propagación de la onda (Ramírez, 2004).

La Luz en un microscopio es la encargada de iluminar el espécimen que se desea observar. Si la muestra es iluminada de manera inadecuada, la calidad de la imagen que se obtiene se verá afectada, aún cuando se disponga de un excelente sistema óptico. La naturaleza de la luz ha sido estudiada desde hace muchos años por muchos científicos notables como Descartes y Alhazen ben Alhazen ya mencionados anteriormente. Con ello surgieron las tres teorías acerca de la luz las cuales son: Corpuscular, Ondulatoria y Cuántica (Ramírez, 2004).

#### -Teoría corpuscular

La luz es considerada por muchos como partículas que son emitidas por filamentos de metales o gases a altas temperaturas. Hasta el siglo XVII se pensaba en luz como corpúsculos que eran emitidos por los filamentos de focos, por el sol o la flama de una vela, que viajaban en línea recta y que podían atravesar los objetos transparentes pero no los opacos (Figura 24). Gran parte de esta teoría se debe al prestigio científico de Isaac Newton que propuso leyes ópticas compatibles con esta descripción corpuscular de la luz (Ramírez, 2004).

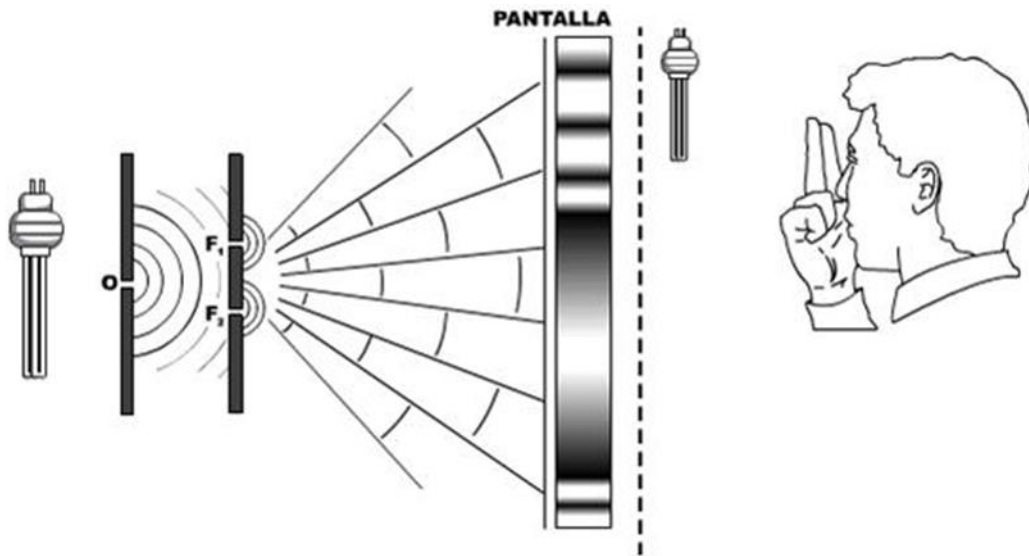


Figura 24 La propagación rectilínea de la luz en el medio permite que los focos luminosos emitan minúsculas partículas, que se propagan en todas direcciones y que al chocar con nuestros ojos, producen la sensación luminosa. (Ramírez, 2004) Recuperado de [www.educarchile.com](http://www.educarchile.com)

#### -Teoría ondulatoria

Huygens en 1660 demostró que las leyes de la óptica se podían explicar suponiendo que la luz tenía naturaleza ondulatoria. La teoría no fue aceptada porque no explicaba más aspectos observados sobre la luz que la teoría corpuscular (Ramírez, 2004).

En 1823 se produjo un avance cuando se comprendió la naturaleza de la luz, cuando los estudios teóricos de Maxwell sobre los campos eléctricos y magnéticos le permitieron unir ambos criterios en una teoría llamada electromagnetismo, en la que se podía deducir naturalmente la existencia de ondas electromagnéticas desplazándose a la velocidad de la luz, de donde se deducía que la naturaleza de ésta debió ser electromagnética (Figura 25) (Ramírez, 2004).

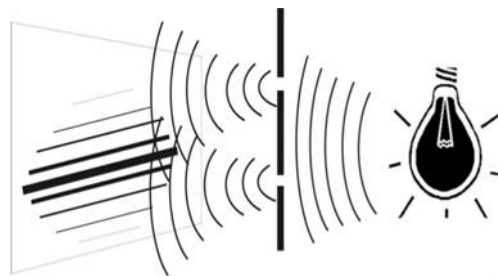


Figura 25 La luz se propaga mediante ondas mecánicas emitidas por un foco luminoso. Para lo cual necesita un medio material de gran elasticidad, impalpable que todo lo llena, incluyendo el vacío. Recuperado de <https://naturalmenteciencias>

## -Teoría cuántica de la luz

Esta teoría nos habla de que la luz no llega de una manera continua, sino que está compuesta por pequeños paquetes de energía, a los que llamamos cuantos. Este efecto consiste en la emisión espontánea de electrones en algunos sólidos irradiados por la luz. Fue descubierto por Hertz, el cual suponía un importante desafío a la teoría electromagnética de la luz (Figura 26) (Ramírez, 2004).

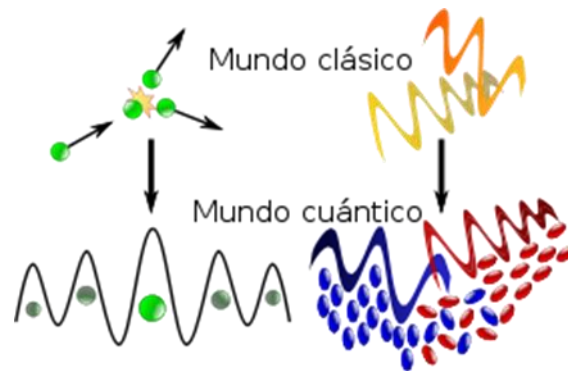


Figura 26 Comportamiento de los paquetes de energía. Recuperado de [www.profesorenlinea.com](http://www.profesorenlinea.com)

Los modelos teóricos generaron respuestas acerca de la luz. Entre esos modelos están los siguientes:

**Modelo organicista:** Donde se señala que la óptica es una rama de las Ciencias naturales, ya que los modelos físicos se basaban fundamentalmente en analogías sacadas del comportamiento de los seres vivos. Muchos pensadores del pasado no estaban de acuerdo sobre el tema de la emisión de rayos visuales y así se generaron 2 teorías:

- 1: Los rayos pasan del objeto al ojo (Demócrito, Aristóteles, Epicúreo y Lucrecio).
- 2 Los rayos pasan del ojo al objeto (Euclides, Empédocles y Tolomeo).

La idea de la emisión de rayos visuales fue indudablemente útil y avanzada para su tiempo, ya que permitió elaborar una teoría acertada de la formación de las imágenes en los espejos (Galván, 2013).

**Modelo mecanicista** se sustentó en material y movimiento, los que surgían para interpretar los hechos observados. De este modelo nació la duda de si la luz estaba formada por partículas o es un cierto tipo de movimiento ondulatorio. La concepción mecanicista del mundo, aunque en muchos casos puede ser una poderosa ayuda para la imaginación, no es siempre válida en la historia de la Física, ya que algunas ocasiones muestra una fé demasiado grande en un modelo mecánico, el cual puede dar lugar a un estancamiento en el progreso científico que no aportaría ningún beneficio sobre todo en aspectos físicos (Galván, 2013).

IV

# ÓPTICA

## Óptica

La óptica evolucionó lenta y progresivamente hasta llegar a ser lo que es hoy en día. Los autores de la antigüedad clásica no resolvieron el dilema emisor-receptor al referirse a la naturaleza de la luz ( Medina, 2015).

Desde que se comenzó a estudiar la óptica, ha desempeñado un papel muy importante en el desarrollo del conocimiento científico y de la tecnología. Los principales avances de la física de nuestro siglo, como la teoría cuántica, la relatividad o los láser tienen su fundamento o comprobación en algún experimento óptico. Con ayuda de la física se fueron descubriendo y estudiando a profundidad distintos elementos ( Medina, 2015).

Los cuales son:

### Índice de refracción

Es una medida de la capacidad de refracción ya sea del vidrio o de cualquier otro material transparente cuando es atravesado por la luz (Figura 27) (Rovira, 2005).

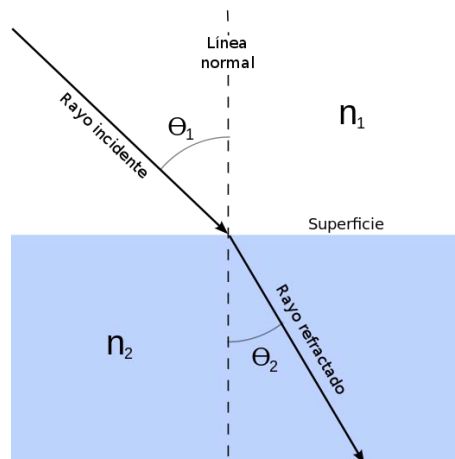


Fig 27 Refracción de la luz en la interfaz entre dos medios con diferentes índices de refracción. **Recuperado de <https://www.smf.mx/boletin>**



## Poder de resolución

El poder de resolución de una lente se define como la capacidad que se tiene para distinguir dos puntos muy cercanos entre sí y que pueden verse separados (Figura 28), ya que si no se logra este propósito se verán como un punto debido a su cercanía. Es claro entonces que esta capacidad indicará su potencial para observar detalles (Rovira, 2005).

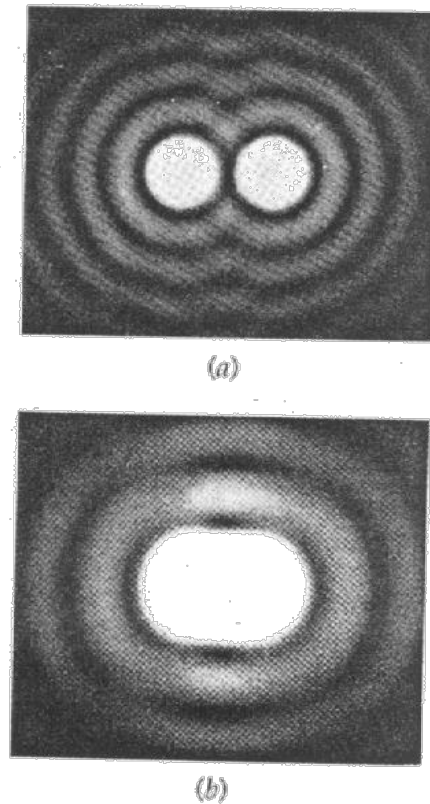


Figura 28 capacidad para resolver y distinguir dos objetos que están muy juntos. Las imágenes de los objetos tienden a solaparse debido a los efectos de difracción de la abertura de entrada del mismo. **Recuperado de <http://www.medic.ula.ve/histologia/anexos.com>**

## Apertura numérica (NA)

Es una medida de la amplitud del cono luminoso que se forma por las lentes del microscopio, ya sea del condensador o del objetivo, esta amplitud se puede medir trazando un eje central imaginario del vértice del cono al centro de la lente y midiendo el seno del semiángulo hasta el borde del cono luminoso, multiplicado por el índice de refracción del medio que atraviesa la luz, ya sea aire o aceite de inmersión (Figura 29 ) (Barrera *et al*, 2007).

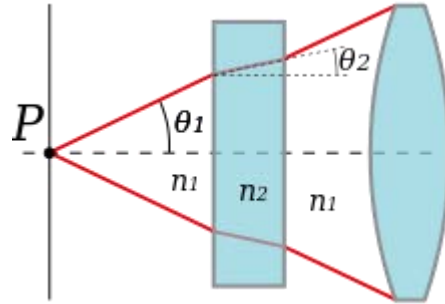


Figura 29 La apertura numérica con respecto a un punto P depende del "ángulo-mitad, del cono máximo de luz que puede entrar o salir de la lente y el índice de refracción ambiente. **Recuperado de [biologiavsambiente.blogspot.m](http://biologiavsambiente.blogspot.m)**

## Aberraciones

Se denominan aberraciones a los efectos de corrección del sistema óptico.

### -Aberración esférica

Es debida al efecto del prisma de una lente simple que provoca a partir de un foco lumínico la formación de una capa cáustica de rayos. Se corrige pegando dos o tres lentes de distinto índice de refracción y de distinta dispersión (Figura 30) (Barrera *et al*, 2007).

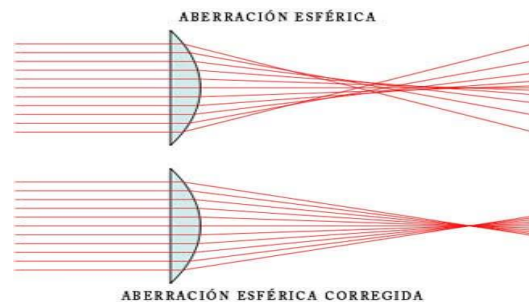


Figura 30 corrección de una aberración . **Recuperado de [formacion.edu.aytolacoruna](http://formacion.edu.aytolacoruna)**

## Aberración cromática

Es debida a la diferencia de longitud focal y en función de la longitud de onda. Se corrige de la misma manera que la aberración esférica (Figura 31) (Barrera *et al.*, 2007).

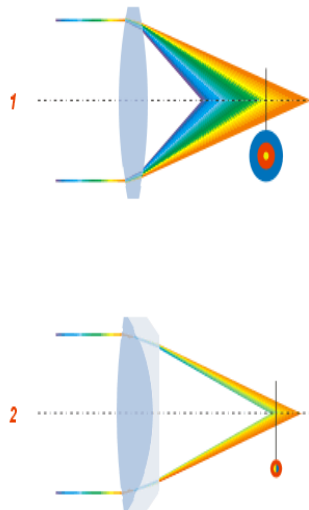


Figura 31 aberración cromática y su corrección. Recuperado de [teleformacion.edu.aytolacoruna](http://teleformacion.edu.aytolacoruna)

## Aumento

Es el número total de diámetros que puede agrandarse una imagen, y el total de aumentos que se puede alcanzar en un microscopio se obtiene multiplicando el número de aumentos que tiene el ocular por el número de aumentos del objetivo, de manera que si se utiliza un ocular 10x y un objetivo 4x el total de aumentos es 40. El aumento máximo que se puede lograr con un microscopio convencional es de 2500x aproximadamente. Es importante mencionar que el agrandamiento de la imagen no tiene que ver necesariamente con un incremento en la nitidez, ya que esta última depende de la calidad y uso adecuado de un buen sistema de lentes, así como una buena iluminación de la muestra (Figura 32) (Barrera *et al.* 2007).

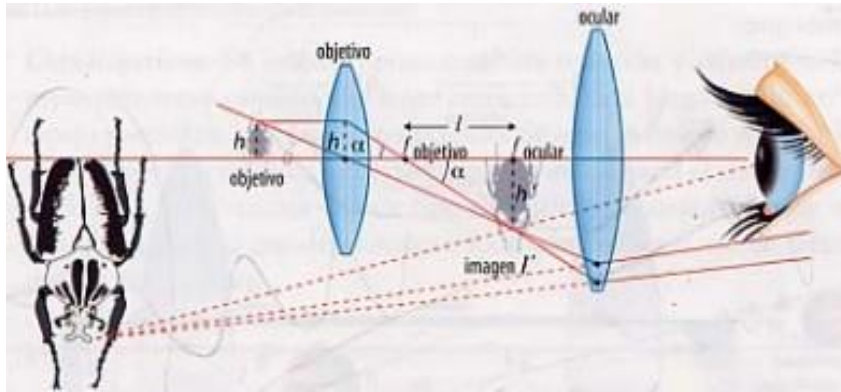


Figura 32 La potencia de aumento de un sistema óptico indica cuánto parece acercar el objeto al ojo.  
Recuperado de <http://e-ciencia.com>

V

DESCRIPCIÓN  
DEL  
MICROSCOPIO  
ÓPTICO  
COMPUESTO

## Descripción del microscopio óptico compuesto

Un microscopio consta de distintos elementos los cuales nos ayudan a visualizar directamente por el aumento de la imagen cuerpos que no son observables a simple vista, la mayoría móviles para que el observador los adapte de manera que logre el mejor enfoque para el elemento que desea estudiar (Figura 33) (Rivera, 2016).



Figura 33 Microscopio óptico. Tomada en el laboratorio de microscopía de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala.

Está formado por tres sistemas:

### **-SISTEMA ÓPTICO**

Es el encargado de producir la imagen ampliada de la muestra mediante los dos sistemas de lentes que se sitúan en sus extremos. Este sistema son el ocular y el objetivo. El objetivo proyecta una primera imagen de la muestra que el ocular amplía (Rivera, 2016).

### **OCULARES**

Están formados por dos lentes plano-convexas centradas y empotradas en un tubo metálico corto, al que se acerca el ojo del observador, en cuya retina se proyecta la segunda imagen aumentada que proviene del objetivo (Figura 34).

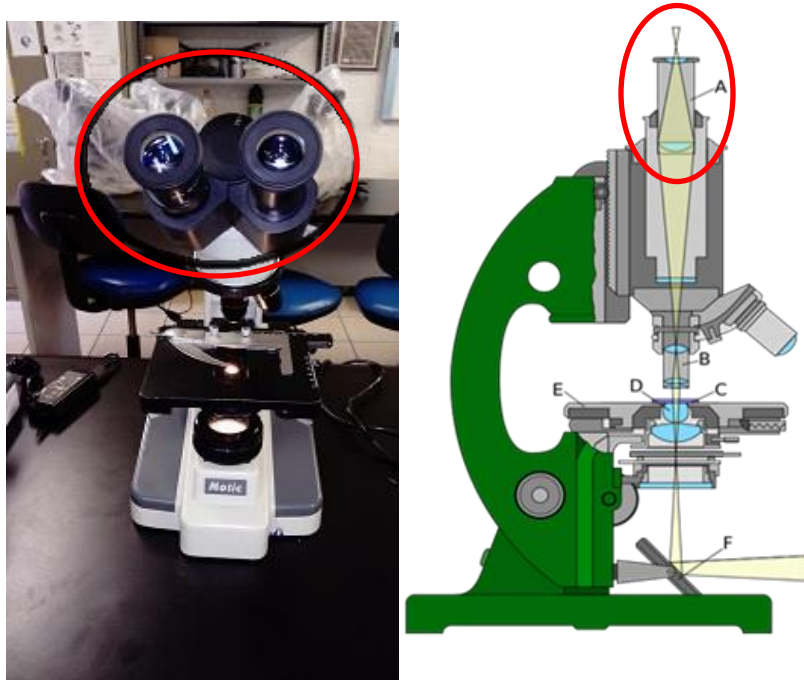


Figura 34 Oculares del microscopio óptico y corte transversal de un microscopio en el cual se resaltan los oculares A) ocular B) objetivo, C) portador del objeto, D) lentes de la iluminación, E) sujeción del objeto, F) espejo de la iluminación. . Tomada en el laboratorio de microscopia de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala y Recuperado de <http://e-ciencia.com>

Los oculares se clasifican dependiendo de la posición de las lentes y el diafragma, dentro de la camiseta que los contienen. Por ello se dividen en:

### **-Oculares negativos de Huygens**

Están constituidos por dos lentes plano convexas, con la superficie convexa dirigida hacia abajo, entre ambos se sitúa un diafragma anular, localizado en el plano focal de las lentes (Rivera, 2016).

### **-Oculares positivos o de Ramsden**

Las lentes plano convexas están dispuestas con las superficies curvas dirigidas hacia dentro. El diafragma está situado por debajo de la lente de campo (Figura 35 y 36) (Rovira, 2005).



Figura 35 oculares dobles los cuales cuentan con gomas protectoras. Tomada en el laboratorio de microscopía de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala.

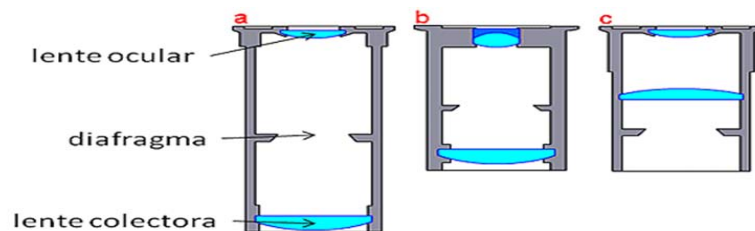


Figura 36 modelos de oculares. (a) Ocular de Huygens, (b) ocular compensador y (c) ocular de Ramsden. Los oculares negativos (a y b) poseen el diafragma entre las dos lentes (colectora y ocular) y los oculares positivos poseen el diafragma por debajo de las lentes (c). Recuperada de <http://www.medic.ula.ve/histologi.com>



## OBJETIVOS

Los objetivos participan en la primera etapa de amplificación de un microscopio, produciendo una imagen ampliada del objeto y la proyectan sobre un plano ubicado en el interior del microscopio. Están formados por un sistema de pequeñas lentes ensambladas (Navarro y Araiza, 2005).

Los objetivos también se clasifican dependiendo al medio que existe entre el objeto examinado y la lente frontal del objetivo. De acuerdo a esta característica son secos o de inmersión. Son objetivos secos aquellos que entre el objeto observado y el objetivo solo existe aire; en cambio se denomina objetivo de inmersión aquellos que requieren que entre la preparación y la lente frontal del objetivo, se coloque una sustancia líquida, la cual puede ser agua, glicerina o un aceite de inmersión natural como el de cedro o artificial (Montalvo, 2010).

-Nomenclatura de los objetivos:

La identificación de las propiedades individuales de los objetivos es posible gracias a la nomenclatura grabada en la parte exterior y contiene todas las especificaciones necesarias para su uso apropiado (Figura 37).



Figura 37 A son las propiedades ópticas de los objetivos. B es el código de colores para poder identificar cual aumento estamos utilizando **Recuperada de <http://www.medic.ula.ve/histologi.com>**

## **-SISTEMA MECÁNICO**

Este sostiene la parte óptica y de iluminación; además, permite los desplazamientos necesarios para el enfoque del objeto y es conformado por:

### **SOPORTE**

Formado por un pie pesado que sostiene un brazo inclinado, del cual salen tanto la platina como el tubo del microscopio (Figura 38) (Navarro y Araiza, 2005).



Figura 38 Base microscopio con su tubo soporte. **Tomada en el laboratorio de microscopía de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala.**

## PLATINA

Es la pieza sobre la cual se colocan las diferentes preparaciones que se desean observar; Su forma es variada, puede ser fija o móvil. Prácticamente todos los microscopios profesionales actuales poseen un carro móvil graduado, que hace posible la localización precisa de áreas de interés en la preparación (Figura 39) (Navarro y Araiza, 2005)



Figura 39 Platina móvil sobre la cual se coloca la muestra a observar. Tomada en el laboratorio de microscopía de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala.

## Revólver

Es una pieza que lleva varios objetivos intercambiables, permitiendo adaptar a estos el tubo del microscopio (Figura 40) (Navarro y Araiza, 2005).



Figura 40 Revólver. Se encuentra en la parte inferior del tubo óptico y en él se encuentran los lentes objetivos, en los microscopios ópticos puede haber tres o cuatro de estos lentes objetivos. Tomada en el laboratorio de microscopía de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala.

## Tornillos de enfoque

Tornillo de ajuste micrométrico y macrométrico, desplazan la platina en sentido vertical, lo que permite el enfoque correcto de la preparación. El tornillo macrométrico la mueve rápidamente y se usa para localizar el enfoque grueso de la preparación; el micrométrico realiza el enfoque fino (Figura 41) (Locquin y Langueron, 2003).



Figura 41 Tornillos macrometricos y micrometricos cuya función es hacer subir la platina hasta alcanzar la distancia de trabajo o distancia de enfoque. **Tomada en el laboratorio de microscopía de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala.**

## Tubo ocular

Los primeros microscopios que se fabricaron eran monoculares, es decir, tenían un solo tubo por el cual el observador podía ver la imagen, pero en los microscopios actuales se fabrican con dos oculares, para realizar observaciones con los dos ojos, este dispositivo permite evitar el cansancio durante largos periodos (Figura 42) (Barrera *et al*, 2007).



Figura 42 Cavity por la cual se pueden hacer observaciones a la muestra deseada. **Recuperada de <http://www.astroshop.es.com>**

## Tubo adaptador de cámara fotográfica

Estos tubos son tan diversos como las cámaras que se montan en ellos, pero la mayor parte tienen una lente ajustable por medio de una rosca (Figura 43) (Vallejo, 2007).



Figura 43 Cavidad en la cual se puede colocar la cámara para tomar fotos de la muestra deseada. **Tomada en el laboratorio de microscopía de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala.**

## Brazo

Pieza vertical más o menos curva que se une a la platina y a la base, sirve para tomar al microscopio durante su traslado y lleva los controles de enfoque (Figura 44) (Vallejo, 2007).



Figura 44 sitio llamado brazo de donde se sostiene el microscopio. **Tomada en el laboratorio de microscopía de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala.**

## -Sistema de iluminación

El cual está constituido por la fuente de luz, el condensador y un diafragma o iris. Como regla general, este está colocado debajo de la platina y la finalidad es de iluminar mediante luz transmitida (Rovira, 2005).

### Fuente de luz

La fuente de iluminación se realiza con focos especiales (comunmente se utilizan lámparas con filamento de tungsteno incandescente, de 6 a 12 v, montadas sobre un portalámparas especial ubicado en la base del microscopio). La intensidad luminosa se regula en forma continua girando un botón o moviendo una palanca de control deslizante (Figura 45) (Rovira, 2005).



Figura 45 fuente de luz con la cual se regula el foco. Tomada en el laboratorio de microscopía de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala.

### -Filtros

Se sitúan en diversas partes del haz luminoso, aunque en la mayoría de los casos se sitúan entre la fuente luminosa y el condensador, tienen como finalidad modificar la longitud de onda de luz que ilumina el objetivo al observar (Figura 46) (Montalvo, 2010).



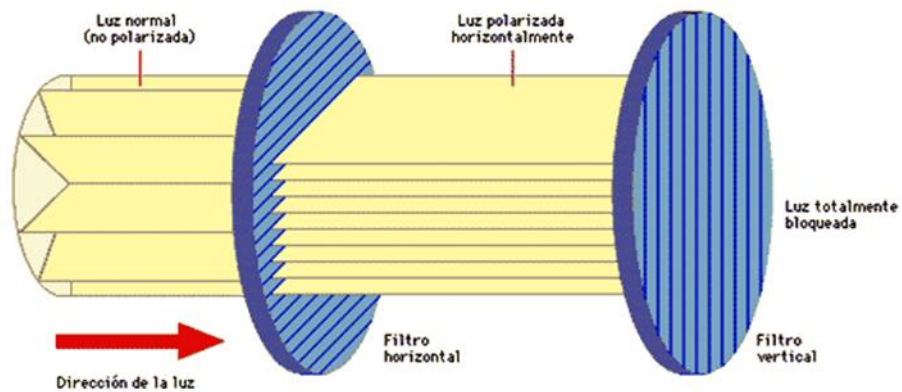


Figura 46 material usado para regular la luz y lograr una mejor observación de la muestra. Existen de varios colores. **Recuperado de <https://www.tecnospica.es.mx>**

### -Iris o diafragma de campo

Es un dispositivo que se coloca inmediatamente debajo de la platina. Debe permitir cambios en la apertura y con diámetros variables cuya finalidad es la de obtener conos luminosos cada vez más estrechos y eliminar los rayos de luz sobrantes. Los primeros diafragmas consistían en un disco de metal con agujeros de diferente diámetro, el cual se rotaba según la necesidad. Estos discos fueron substituidos por el iris, otro dispositivo más elaborado y con un diseño que le permite cambiar de diámetro. La apertura del diafragma se regula en relación con el tipo de objetivo que se esté utilizando. El diafragma o iris está pintado de negro con la finalidad de eliminar los rayos de luz reflejada que pueden interferir con la iluminación del objeto (Figura 47) (Montalvo, 2010).

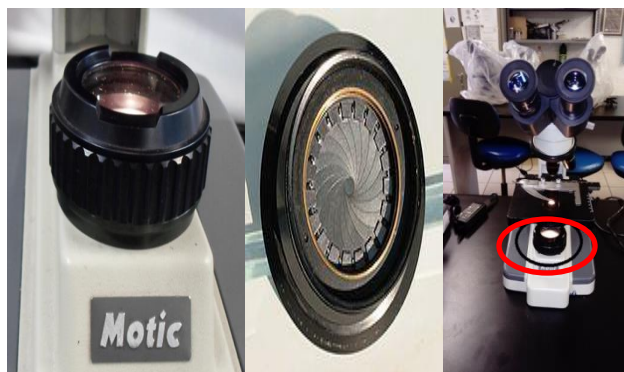


Figura 47 Fuente de iluminación y control de la misma. **Tomada en el laboratorio de microscopía de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala.**

## Condensador

Sistema de lentes convergentes de gran apertura, que concentra la luz visible y la proyecta uniformemente sobre la muestra convenientemente preparada. El condensador tiene una lente o una serie de lentes cuya función es la de agrupar los rayos de luz que provienen del foco y permite aprovechar toda la luz posible. (Figura 48) (Barrera *et al*, 2007).

El primer condensador que se fabricó en 1838 (por Dujardin) poseía tres lentes acromáticas. Al igual que en los objetivos, las lentes del condensador poseen poder de aumento y también producen aberraciones; sin embargo, éstas también pueden corregirse (Garrido, 2010).



Figura 48 Condesador el cual concentra la luz generada por la fuente de iluminación. **Recuperado de <http://www.pce-iberica.es/medidor-detalles-tecnico>**



VI  
OTROS  
MICROSCOPIOS  
RELACIONADOS

## OTROS MICROSCOPIOS RELACIONADOS

### MICROSCOPIO ESTEREOSCÓPICO

Los microscopios estereoscópicos fueron desarrollados por Greenough y Abbeson en 1890, estos son utilizados para disección y observación de organismos intactos pequeños y demás aplicaciones parecidas. Son capaces de formar imágenes de visión directa y tridimensional que se forman por la observación a través de dos sistemas ópticos separados, es decir, un microscopio completo para cada ojo que corresponde a la visión estereoscópica y están separados por un ángulo de  $7^\circ$ , la iluminación es lateral y reflejada por lámparas de halógeno o por lámparas de luz fría. Otra característica de los microscopios estereoscópicos modernos es que incluyen óptica zoom para un enfoque gradual continuo (Navarro y Araiza, 2005).

Este microscopio fue diseñado para observar objetos en tercera dimensión y empleando una magnificación de bajo poder de 2X a 50X. A medida que el observador incrementa el aumento de un espécimen, la profundidad de campo de la muestra tiende a disminuir, causando que la imagen final aparezca bidimensional, de esta manera se nulifica el diseño de este instrumento. Manipulando al objeto de estudio, la iluminación de las estructuras y las propiedades físicas se puede proporcionar una imagen en tercera dimensión (Navarro y Araiza, 2005).

La imagen producida por este microscopio es erecta a diferencia de la que produce el microscopio óptico, esto permite a este microscopio una gran utilidad en procedimientos de disección y manipulación del espécimen, este tipo de trabajos se realizan con aumentos bajos, de hasta 40X y se usan mucho en medicina y odontología, para cirugía. En biología se usan para disección de insectos u otros organismos (Martínez, 2006).

Este tipo de microscopios han sido mejorados con nuevas pantallas en lugar de los oculares convencionales, esto ayuda a que el observados pueda mirar fácilmente desde diversos ángulos o por varios observadores a la vez. Este se enfoca moviendo los dos tubos de oculares hasta que solo un campo circular pueda ser visto a través de dos oculares (Figura 49) (Barrera *et al*, 2007).



Figura 49 Microscopio Estereoscópico y un *pentatomidae cosmopepla* visto con microscopio estereoscópico. Tomada en el laboratorio de microscopía de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala.

### MICROSCOPIO ÓPTICO DE CAMPO OSCURO

Respecto al uso del microscopio óptico de campo oscuro no existen criterios concretos, básicamente se utiliza con objetos cuya estructura implique la variación en su índice de refracción como: objetos planos de estructura regular, por ejemplo las diatomeas o radiolarios entre otros, para las formaciones lineales como flagelos, fibras, cristales, núcleos y bacterias. En este caso no es recomendable utilizar muestras teñidas con colorantes. Los portaobjetos, cubreobjetos y el condensador deben estar libres de ralladuras, polvo o algunas partículas que interfieran con las condiciones de refracción de la luz, la iluminación debe de ser de una lámpara potente de baja tensión y se debe realizar la observación con la iluminación de Kohler, para que surta efecto la luz anular que quedará fuera del condensador, con la finalidad de que no se origine ninguna iluminación lateral contaminante (Naik, 2000).

El microscopio de campo oscuro es similar al de campo claro en prácticamente todas sus partes excepto en el condensador, el cual tiene una diferencia en cuanto a que el cono luminoso que forma es hueco en la parte interna, debido a que la lente del condensador esta oscurecida. El principio físico en el cual se basa el campo oscuro es que los rayos luminosos alcanzan la preparación tan oblicuamente en relación con el eje óptico que no alcanzan a pasar hacia el objetivo, por lo cual el fondo se observará oscuro y sólo se podrán observar estructuras que alcancen a refractar la luz suficiente para que penetren el objetivo y se observen brillantes sobre este fondo oscuro. Los condensadores de estos microscopios pueden ser de dos tipos; cardioide que consta de dos superficies curvas a manera de espejos en los que se refleja la luz; y los condensadores paraboloides cuyas lentes están solamente oscurecidos por un disco opaco en la

parte del centro de las lentes y que preferentemente se utilizan para objetivos secos es decir los de menores aumentos (Figura 50 y 51) (Barrera *et al*, 2007).

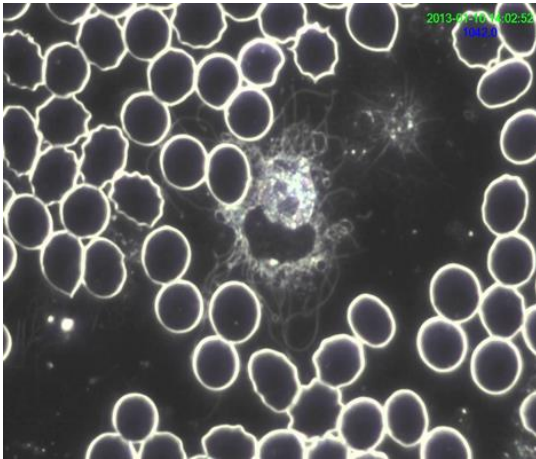


Fig 50 Técnica en campo oscuro de leucocitos y Fig 51 Técnica en campo oscuro espermatozoide. Recuperadas de <http://saludbio.com/articulo/espermatozoides-en-microscopio-de-campo-oscuro>.

### MICROSCOPIO ÓPTICO DE CONTRASTE DE FASES

Después de la última guerra mundial se construyó un gran cambio en las costumbres de los microscopistas, saber que, sin necesidad de aplicar tinciones letales, podían observar estructuras vivas, por muy delgadas que fueran, teniendo una imagen clara y detalles internos altamente contrastados, viéndose perfectamente bien los núcleos y mitocondrias. Este descubrimiento se debió a F. Zernike y le valió el Premio Nobel (Ramírez y Camacho, 2008).

En microscopía los materiales pueden clasificarse en dos grupos: los materiales más o menos teñidos, que absorben cierta cantidad de luz incidente y modifican así la densidad y el color, son los objetos de amplitud, y los materiales incoloros, generalmente delgados, cuyos contornos y detalles únicamente aparecen sobre fondo oscuro (Ramírez y Camacho, 2008).

También cuentan con unas placas de fases que tienen una forma anular, están situadas en el plano focal interno de los objetivo al utilizar el microscopio óptico de contraste de fases deben tenerse en cuenta los siguientes puntos: las estructuras a observar deben estar sin teñir o escasamente teñidas, no deben tener paredes gruesas y deben ser extremadamente delgadas, no deben abarcar toda la superficie del campo de observación, para permitir que una parte importante de la onda incidente no sea modificada por el objeto. Las superficies ópticas, tanto del microscopio como de la preparación, deben ser muy limpias. La fuente lumínica debe ser muy intensa, mucho más que para las observaciones en fondo claro,

debido a la reducción anular del flujo incidente y sobre todo a la absorción de la placa de fases.(Figura 52) (Locquin y Langeron, 2003).



Fig 52 Microscopio de contraste de fases y células epiteliales en cultivo vistas con la técnica de contraste de fases. Recuperado de <http://www.medic.ula.ve/histologia.com>

### **MICROSCOPIO ÓPTICO INVERTIDO O INVERTOSCOPIO**

Es un microscopio que como su nombre lo indica tiene una estructura invertida, la fuente de luz se encuentra por encima de la platina, las lentes se encuentran ubicadas bajo la platina de observación transparente. La muestra se coloca viendo hacia abajo del objetivo con la línea de observación directamente hacia arriba. Los sistemas modernos de microscopía permiten la inclusión de cámaras digitales o aditamentos de vídeo para observar en un monitor (Hibbs, 2004).

El funcionamiento y formación de la imagen es igual al microscopio óptico tradicional, es utilizado para cultivos celulares, para monitorear actividades como comportamiento y crecimiento de las mismas. También es usado para examinar los especímenes gruesos y especímenes que típicamente se asientan en la base de los platos de observación (Figura 54) (Hibbs, 2004).



Figura 54 Microscopio óptico invertido. Tomada en el laboratorio de microscopía de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala.

## **MICROSCOPIO ÓPTICO DE EPIFLUORESCENCIA**

Este microscopio permite la observación de estructuras fluorescentes, ya sean naturales o artificiales. Algunas de las sustancias que llegan a formar parte de las preparaciones exhiben fluorescencia cuando son estimuladas con energía en forma de luz de baja longitud de onda como es la de color azul, violeta o ultravioleta, esta energía que absorben las moléculas estimula a los electrones de sus átomos, que pueden brincar hacia niveles energéticos más altos y cuando este electrón regresa a su nivel energético original, pierde la energía absorbida momentáneamente en forma de calor y luz de longitud de onda más alta que la original, esta luz es emitida en un tiempo corto (10s) se le conoce como fluorescencia, cuando perdura por un mayor tiempo se le conoce como fosforescencia, este tipo de emisiones están dadas según las características que muestran el flúor o el fosforo cuando emiten luz, esta última es la que se observa en los relojes en los números y manecillas luminosas en un reloj (Vallejo, 2007).

La fluorescencia fue originalmente estudiada con microscopios de luz transmitida y se utilizaban condensadores de campo oscuro, la luz de baja longitud de onda se producía por una lámpara de mercurio colocada en la parte baja del microscopio, era filtrada y después de pasar por la preparación se interponía un filtro de barrera para evitar que la luz ultravioleta pasara a los ojos del observador, este filtro sólo permite el paso de la luz fluorescente que proviene de la muestra (Vallejo, 2007).

Los equipos actuales funcionan con luz incidente, es decir, por encima de la preparación de manera que el objetivo es especial y sirve para transmitir la luz a la muestra y al mismo tiempo para observar la luz fluorescente, a estos microscopios se les conoce como epifluorescencia, este aparato proporciona una imagen de mayor intensidad fluorescente debido a que la luz excitadora incide directamente sobre la muestra y no a través del vidrio del portaobjetos, así, la fluorescencia se torna más intensa que con la luz transmitida, la alta eficiencia del aparato permite utilizar lámparas más pequeñas (Wielley, 2001).

En la microscopía de epifluorescencia se utilizan sustancias marcadoras fluorescentes llamadas fluorocromos que se adhieren a anticuerpos o directamente a componentes específicos de las células o las propias células los poseen, permitiendo que se hagan visibles las estructuras en el sitio en donde ocurre la reacción, los primeros instrumentos que utilizaron estos métodos estimulaban los fluorocromos con luz ultravioleta transmitida y esto hacía que se tuvieran que usar portaobjetos de cuarzo ya que el cristal normal no permite el paso de la radiación UV, pero actualmente se utilizan fluorocromos que usan la luz visible hasta aproximadamente 550nm permitiendo el uso de condensadores y óptica convencional en los microscopios; el microscopio de fluorescencia de

transmisión está dotado de una lámpara de mercurio que emite radiaciones de baja longitud de onda preferentemente, pero que genera mucho calor, así que la fuente se debe alejar lo suficiente de la preparación. Para la microscopia de fluorescencia se ha desarrollado desde hace 40 años o más y se destaca en las profesiones relacionadas con medicina y ciencias naturales. (Figura 55) (Locquin, 2003).



Fig 55 microscopio triocular con epifluorescencia. Recuperada de <https://www.intechopen.com>

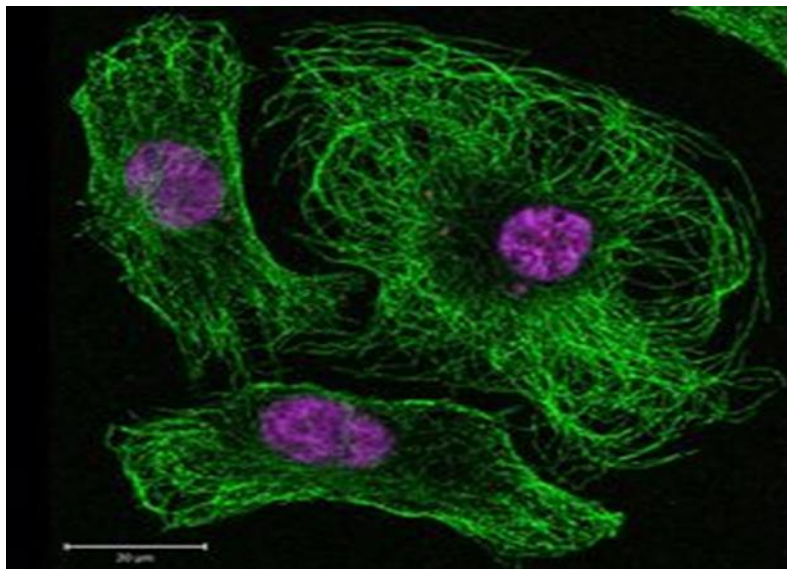


Fig 56 Técnica de epifluorescencia células endoteliales con microtúbulos del citoesqueleto. Recuperada de <https://www.intechopen.com>



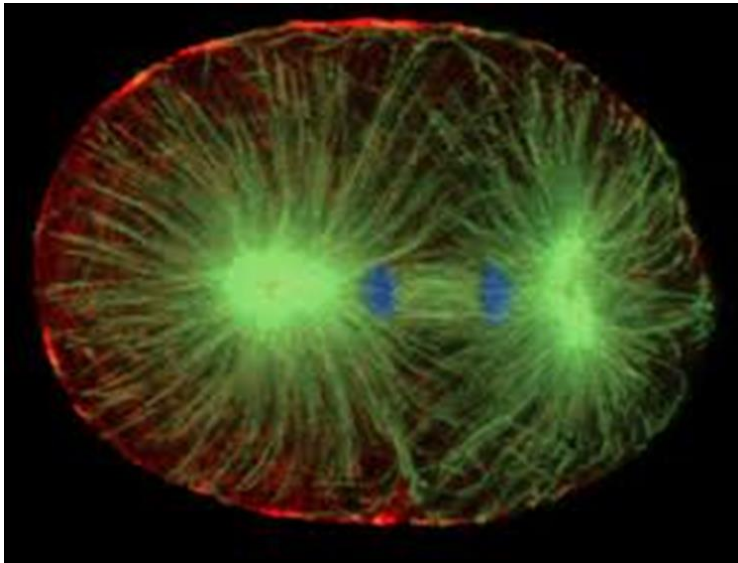


Fig 57 Técnica de epifluorescencia mitosis de un embrión de *C. elegans*. Recuperada de <https://www.intechopen.com>

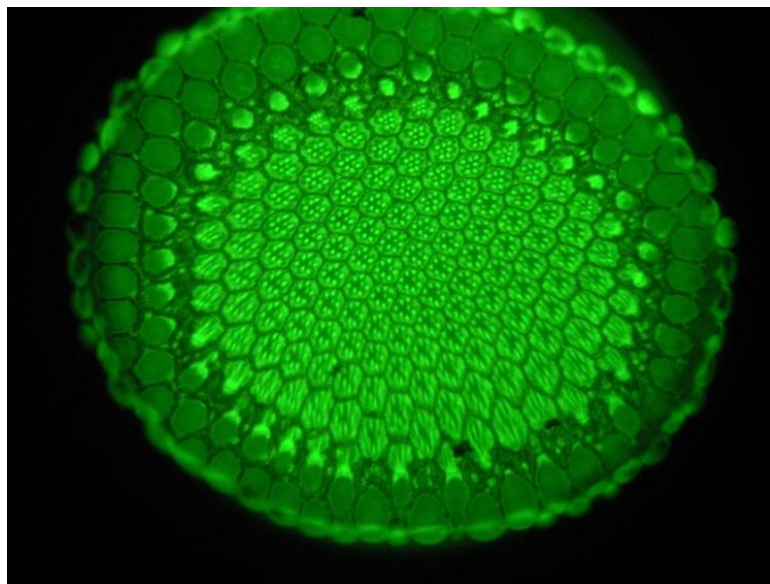


Fig 58 Técnica de epifluorescencia ojo de *Drosophila*. Recuperada de <https://www.intechopen.com>



## **MICROSCOPIO LASER CONFOCAL**

Esta técnica, está logrando excelentes resultados en la rama de la medicina, su éxito se debe a las ventajas que tiene sobre el microscopio óptico tradicional (imágenes de mayor nitidez y contraste, mayor resolución vertical y horizontal) Ofrece la posibilidad de obtener secciones ópticas de la muestra, lo que permite un estudio tridimensional. Aunque el principio de la microscopia confocal fue patentado hace varios años y los primeros microscopios basados en esta técnica que demostraron su validez fueron descritos por Petran et al. (1968), su gran aceptación y espectacular desarrollo no ha tenido lugar hasta hace pocos años con el desarrollo del láser y de los ordenadores personales (Hibbs, 2004).

La mayor parte de las muestras observadas en microscopia óptica son translucidas o, en el caso de ser opacas, su superficie de reflexión no se encuentra perfectamente pulida. En ambos casos la luz interacciona con la muestra a varias profundidades, por lo que la imagen que le llega al observador presenta áreas borrosas debido a la luz procedente de zonas fuera del plano de enfoque, lo que produce una degradación en el contraste y resolución de la imagen (Hibbs, 2004).

El principio de la microscopia confocal se basa en eliminar la luz reflejada o fluorescente procedente de los planos fuera de foco. Para ello se ilumina una pequeña zona de la muestra y se toma el haz luminoso que proviene del plano focal, eliminándose los haces procedentes de planos inferiores y superiores. El microscopio confocal cuenta con dos diafragmas , uno entre la fuente de luz y el objetivo y el otro entre el objetivo y el detector, ambos tienen que estar perfectamente alineados, de manera que el segundo únicamente deje llegar al detector la luz procedente del plano focal (Hibbs, 2004).

La utilización de un láser como fuente de luz permite focalizar la iluminación en una región muy pequeña de la muestra y con gran intensidad. Dado que solo se ilumina una pequeña parte de la muestra, para poder visualizarla se requiere de un sistema de barrido que permita muestrear todos los puntos y un sistema de formación de la imagen que recoja la información de cada punto observado (Fig 59) (Martínez, 2000).



Fig 59 Microscopio confocal de láser. Recuperada de <https://iie.fing.edu.uy/investigacion.com>

### **MICROSCOPIO ELECTRÓNICO DE TRANSMISIÓN (TEM)**

Es un microscopio sencillo parecido al óptico, ambos tienen lentes y condensadores para concentrar la iluminación sobre la muestra. Los rayos de iluminación atraviesan la muestra y son enfocados por las lentes del objetivo y de proyección para formar una imagen aumentada sobre una pantalla fluorescente. Sin embargo, el microscopio electrónico es más complejo. Para que los electrones puedan ser acelerados hasta la velocidad prefijada, debe trabajarse en condiciones de alto vacío. El sistema central del microscopio electrónico, incluyendo la pantalla fluorescente y el equipo fotográfico, lo constituye un tubo hueco. El equipo eléctrico que suministra la corriente necesaria generalmente se encuentra a una cierta distancia para evitar la interferencia de los campos magnéticos dispersados. La mayoría de estos microscopios cuentan con dispositivos de seguridad, que no permiten conectar el filamento de alto voltaje hasta que no se ha conseguido el vacío apropiado (Yañez, 2009).

Las lentes magnéticas de este microscopio están formadas por imanes en forma de herradura; el imán puede ser de tipo permanente o electromagnético. Variando la potencia de la corriente a la lente se consigue el efecto de variar la distancia focal de la lente continuamente, lo cual es muy similar al sistema de zoom, sin embargo, normalmente se preselecciona a la corriente deseada. Se pueden ajustar los voltajes de aceleración en una goma que incluye 40, 60, 80 y 100 K; ajustado este se consigue aumentar el contraste (Yañez, 2009).

## Componentes

<b>Cañón electrónico:</b> El tipo de cañón eléctrico más usado consiste en un filamento de alambre de tungsteno, doblado de forma de v	<b>Lente intermedia:</b> Esta puede aumentar o disminuir la imagen. Esto se puede conseguir aumentando o disminuyendo la corriente de la potencia a esta lente
<b>Condensadores:</b> Los dos condensadores son capaces de dar una amplia gama de intensidad ajustando el cañón electrónico.	<b>Lente de proyección:</b> Su función es proyectar la imagen real sobre la pantalla fluorescente y permite una amplia gama de aumentos.
<b>Plataforma para colocar muestra:</b> Está situada frente al objetivo, se introduce la muestra en la columna del microscopio, a través de una abertura	<b>Cámara de observación:</b> Está situada en el fondo de la columna
<b>Objetivo:</b> Es la lente más importante del microscopio	<b>Cámara fotográfica:</b> Está situada debajo de la pantalla fluorescente.

### Microscopio electrónico de barrido (SEM)

El primer microscopio electrónico de barrido fue desarrollado en 1930 en Alemania, en 1949 en Estados Unidos y finalmente en Inglaterra en 1950. El primer modelo comercial fue presentado en The Cambridge Scientific Instrument Company; posteriormente otros fabricantes han desarrollado nuevos modelos (Vallejo, 2007).

El microscopio electrónico de barrido, es un instrumento capaz de ofrecer un variado rango de informaciones procedentes de la superficie de la muestra. Su funcionamiento se basa en barrer un haz de electrones sobre un área del tamaño que deseemos (aumentos) mientras en un monitor se visualiza la información que se ha seleccionado, en función de los detectores que hayan disponibles. El principio de este microscopio consiste en que si se hace incidir sobre la muestra un haz de electrones finalmente enfocado, emite una señal que puede registrarse en una pantalla mediante un tubo de rayos catódicos. Al alcanzar el haz la superficie de la muestra se generan principalmente las siguientes partículas, electrones retrodispersados y electrones secundarios (Vallejo, 2007).

Este tipo de microscopios, lo podemos utilizar en distintos campos como la construcción, la geología, biología.

El microscopio cuenta con los siguientes elementos.

**Fuente de energía:**

Lo más importante de la fuente de energía es el voltaje de aceleración, la intensidad de aceleración y el diámetro de haz

**Porta muestras:**

La muestra se monta sobre un soporte, la cual puede moverse en tres direcciones y puede ser calentada, enfriada y estirada.

**Sistema de amplificación :**

Recoge las señales y procesa la información procedente de la muestra

**MICROSCOPIO PETROGRÁFICO**

El microscopio petrográfico es una de las técnicas más utilizadas en los trabajos geológicos. Sirve para la determinación de las propiedades e identificación de los minerales, y clasificación de rocas. Es un microscopio compuesto basado (ver figuras más abajo) en la combinación de dos sistemas de lentes convergentes (Figura 60). El objetivo forma una imagen real del objeto y el ocular forma una imagen virtual aumentada, en una posición por debajo de la platina del microscopio. Se diferencia de los microscopios biológicos en que dispone de un sistema de polarización de luz, la platina es giratoria (Vallejo, 2007).



Fig 60 Microscopio petrográfico Olympus. Tomada de <http://www.ehu.es/mineralogiaoptica>

VII

NORMAS  
BÁSICAS PARA  
EL USO  
CORRECTO DEL  
MICROSCOPIO

## NORMAS BÁSICAS PARA EL USO CORRECTO DEL MICROSCOPIO

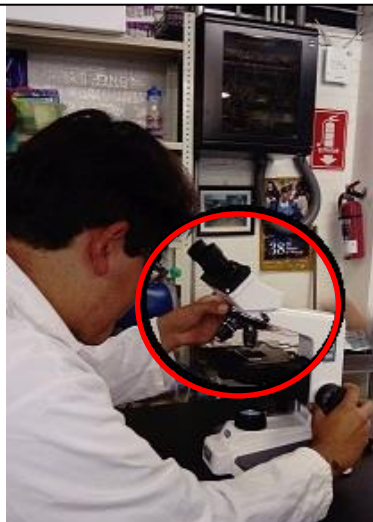
**1-** Retire la funda protectora del microscopio



**2-** Enchufe y encienda el microscopio



**3-** Coloque en primera instancia el objetivo de menor aumento para lograr un enfoque correcto, esto permitirá la observación de una panorámica del preparado y la ubicación de áreas de interés para su análisis posterior.



**4-** Suba el condensador utilizando el tornillo correspondiente.



**5-** Coloque el preparado sobre la platina con el cubre – objetos hacia arriba.



**6-** Enfoque el preparado mirando a través del ocular y lentamente mueva el tornillo macrométrico.



**7.-** Cambie al objetivo de mediano aumento (20 X) y para lograr el enfoque siga moviendo lentamente el tornillo macrométrico. Al cambiar de objetivo, la imagen debe estar ligeramente enfocada gracias a que la mayoría de microscopios son parafocales, es decir, una vez logrado el primer enfoque, al pasar al objetivo de aumento inmediato superior la imagen queda en un foco aproximado y solo se debe realizar un ajuste.





**8-** Realice la observación y haga sus anotaciones. Determine cuál es la estructura que observara con mayor aumento y colóquela dentro del campo.



**9-** Cambie al objetivo de mayor aumento. Si realizó el enfoque de manera correcta con el objetivo anterior, al colocar el objetivo de mayor aumento la imagen solo se debe enfocar girando única y lentamente el tornillo micrométrico. Nunca se debe utilizar el tornillo macrométrico con los objetivos de mayor aumento, pues al estar este muy cerca de la muestra se corre el riesgo de partirla.

**10-** Al lograr el enfoque con el objetivo de mayor aumento debe realizar la observación moviendo constantemente el tornillo micrométrico para variar los planos de enfoque. De igual manera, abra o cierre el diafragma para regular la intensidad de luz y mejorar el contraste.

**11-** Una vez finalizada la observación, aleje la platina y coloque nuevamente el objetivo de menor aumento.

**12-** Limpie el lente objetivo si uso aceite de inmersión, apague y cubra el microscopio con su funda.



## Problemas al enfocar

El enfoque correcto de una preparación debe iniciarse siempre con el objetivo de menor aumento; se debe subir la preparación utilizando el tornillo macrométrico hasta llegar al tope, evitando que choque el objetivo con la preparación, después observando por el ocular se baja lentamente la platina hasta localizar el foco, es decir donde la preparación se enfoca nítidamente.

Si no es posible lograr correctamente el enfoque puede deberse a alguna de las siguientes causas:

Que el tornillo macrométrico ha llegado al tope.

Que las lentes estén sucias

Que el cubreobjetos sea demasiado grueso

Que la preparación este equivocadamente colocada con el cubre objetos hacia abajo.

(Willey, 2001).

## Forma correcta de transportar un microscopio

Cuidadosamente coloque una mano en el brazo del microscopio. Lentamente levántelo, y coloque su otra mano en la base para sostenerlo.

Camine despacio y mantenga el microscopio cerca de su cuerpo cuando lo cargue hacia su nuevo destino.



Figura 1



Apoye el microscopio con delicadeza en su nueva ubicación. Si es necesario, enchufe el cable a la toma eléctrica más cercana y con cuidado acomode el cable sobrante.



(Vallejo, 2007).

### **Observación con ambos ojos abiertos**

Si no se tiene un microscopio binocular para observar con ambos ojos a la vez, la observación se hará difícil con un solo ojo, se recomienda mantener siempre ambos ojos abiertos, aunque inicialmente se observen dos imágenes superpuestas, con el tiempo la imagen fuera del microscopio acabará por ser inhibida en el subconsciente; se recomienda este procedimiento debido a que es muy cansado mantener un ojo cerrado y el otro abierto en observaciones de tiempos muy prolongados, también se recomienda ocasionalmente cambiar la observación de un ojo a otro (Barrera *et al*, 2007).

#### **-Uso de gafas**

Existen dudas en las personas que usan gafas sobre la mejor manera de hacer observaciones al microscopio, la mejor solución a este problema es conservarlas puestas y utilizar oculares específicamente fabricados para este propósito, estos oculares son de distancia focal amplia, algunos oculares de este tipo tienen apoyos de goma que impiden que se rayen los cristales (Barrera *et al*, 2007).

## **Almacenamiento**

El microscopio se tiene que almacenar en las mejores condiciones, se debe asegurar que al ambiente donde se instale esté libre de polvo y humedad, el ambiente ideal para el microscopio es con aire acondicionado, ya que esto ayudara al control de la temperatura de una manera permanente. De igual manera se tiene que verificar que el lugar donde se instale el microscopio disponga de seguridad como puerta con chapa o alarma (Rovira, 2005).

### **Procedimiento de limpieza**

La limpieza del microscopio tiene que ser una actividad rutinaria, ya que es de suma importancia para mantener al microscopio en condiciones óptimas. Para poder realizar esta actividad correctamente se requiere del siguiente material.

1. Una pieza de tela limpia, de textura similar a la de los pañuelos.
2. Una botella de líquido para limpieza de lentes. Se consigue en las ópticas. Normalmente no afecta los recubrimientos de los lentes y tampoco afecta los pegantes o cementos utilizados para el montaje de los mismos. Entre los líquidos de limpieza más utilizados se encuentran el xileno y la gasolina blanca.
3. Papel para limpieza de lentes. Se consigue normalmente en las ópticas. Si no es posible conseguir este material, se puede sustituir con papel absorbente suave o con algodón tipo medicinal. También puede utilizarse un trozo de seda suave.
4. Una pieza de gamuza muy fina. Se puede conseguir en peleterías.
5. Una pera de caucho para soplar aire. Se puede fabricar en el laboratorio un dispositivo con este propósito, acoplado a una pipeta tipo Pasteur, con la pera de caucho.
6. Una cubierta plástica. Se utiliza para proteger el microscopio del ambiente externo cuando no está en uso. También podría utilizarse una bolsa de tela de textura similar a la de los pañuelos.
7. Un pincel suave de pelo de camello o un pincel fino para pintura. Lo importante es que el pelo del pincel sea natural, de longitud uniforme, textura muy suave, esté seco y libre de grasa. En los almacenes que distribuyen artículos de fotografía, es posible conseguir este accesorio. También es posible encontrar un equivalente en tiendas especializadas en suministro de cosméticos.
8. Un paquete 250 g de material desecante (silica gel). Este material se utiliza para mantener controlada la humedad en la caja de almacenamiento del microscopio, si la misma es hermética. Este material cambia de color cuando se encuentra

saturado de humedad, aspecto que permite detectar si requiere ser sustituido o renovado. Cuando está en buen estado, por lo general, es de color azul; cuando se encuentra saturado de humedad, es de color rosado.

9. Bombillas y fusibles de repuesto. De la clase instalada por el fabricante o un equivalente de las mismas características del original.

Precaución: Algunos fabricantes recomiendan no utilizar alcoholes o acetonas, debido a que pueden afectar –disolver– los cementos o pegantes utilizados para fijar los lentes.

Nota: Todos los materiales requeridos para efectuar la limpieza deben mantenerse limpios y guardados en recipientes que los protejan del entorno externo (Rovira, 2005).

### **LIMPIEZA DE LAS LENTES**

Los elementos ópticos externos de los oculares, los objetivos, el condensador y el iluminador se limpian frotando suavemente la superficie de los mismos, con el pincel de pelo de camello. Esto remueve las partículas de polvo que hayan podido encontrarse depositadas sobre la superficie de los mismos (Rovira, 2005).

Se utiliza la pera para soplar chorros de aire sobre la superficie de los lentes y asegurar que los mismos queden libres de polvo. Si el polvo se encuentra adherido a la superficie óptica, se utiliza la pieza de tela limpia y de forma muy suave se efectúa un pequeño movimiento circular, sin ejercer mayor presión sobre la superficie del lente. Con la pera se sopla nuevamente la superficie del lente. Esto retira las partículas adheridas. Podría también utilizarse una pieza de gamuza fina (Rovira, 2005).

Si se detectan residuos de aceite de inmersión en la superficie de los lentes, este debe removerse utilizando papel especial para limpieza de lentes o algodón tipo medicinal. A continuación, la superficie del lente debe limpiarse con una solución compuesta de 80 % éter y 20 % de Propanol (Figura 61) (Rovira, 2005).



Figura 61 Limpieza de lentes. Recuperada de [www.photostore.com](http://www.photostore.com)

### Limpieza del cuerpo del microscopio

El cuerpo del microscopio puede ser limpiado con una solución jabonosa que resulta útil para remover la suciedad externa. La solución jabonosa corta la grasa y el aceite. La misma puede aplicarse con un cepillo pequeño. Después de que la grasa y la suciedad hayan sido removidas, debe limpiarse el cuerpo del microscopio con una solución 50/50 de agua destilada y etanol al 95 %.(Figura 62) (Barrera *et al*, 2007).



Figura 62 Preparado para limpiar cuerpo de microscopio. Recuperada de [www.photostore.com](http://www.photostore.com)

Las partes mecánicas, integradas por los mecanismos de ajuste macro/micrométrico –ajuste grueso y fino–, el mecanismo de ajuste del condensador y los mecanismos del carro porta muestras o plataforma, deben ser lubricadas de forma periódica con aceite fino de máquina, para permitir su desplazamiento suave (Figura. 63) (Barrera *et al*, 2007).



Figura 63 Aceite para hidratar el cuerpo del microscopio. Recuperado de [www.photostore.com](http://www.photostore.com)

## **CONCLUSIÓN:**

Los microscopios han evolucionado junto con la tecnología, esto ha sido benéfico para el hombre, ya que desde los inicios de su invención el objetivo fue observar objetos demasiado pequeños para ser observados a simple vista y a través del tiempo no solo ayudo para observaciones simples, de hoy en día un microscopio nos ayuda de una manera clave en muchas áreas como las de la salud y la investigación, es por ello que el conocimiento y el buen manejo del microscopio, permite una calidad óptima en las observaciones de la muestra del usuario y con ello mejores imágenes y resultados. De igual manera se tiene una mayor probabilidad de durabilidad del aparato.

## LITERATURA CITADA

- Arenas Montalvo G y Alatorre Fernández R. (2005). *Contribuciones en la historia de la microscopía*. España: BICON.
- Barrera Escorcía H, Meyran Antonio J, Ruiz Puga P y Chazaro Olvera S. (2007). *Microscopía óptica virtual y fotografía digitalizada*. Estado de México: UNAM.
- Borcat Lanary J y Lanary Franco A. (2004). *Vida de Robert Hooke*. Scielo, 45, 19.
- Carmona Faber O. (2000). *Principios de microscopía*. Argentina: ALBATROS.
- Ford Bryan C. (2000). *El nacimiento del microscopio*. Cardiff universiti: ALBA.
- Galván García F. (2013). *Microscopía Óptica*. Madrid: TAURUS.
- Garrido Garrido B. (2010). *La importancia del microscopio*. Valencia España: UNE.
- Herrera Fernández J. (2004). *Historia de la microscopía*. México: TRILLAS.
- Hernández Chavarría F. (2002). *Una visión de la biología a través del microscopio*. JOURNAL, 19, 12.
- Hibbs Roan A. (2004). *Confocal microscopy for biologists*. Australia: CBG.
- Juárez Martínez J. (2015). *El microscopio óptico*. Costa Rica, 8, 22.
- Lancranfoni Murrieta M. (2008). *Historia de la microscopía*. Mar de Plata: ADVENTIST.
- Linares Portilla J. (2010). *Historia y recursos para la microscopía*. Inglaterra: AKAL.
- Locquin Marcel Fausto y Langeron Maurice F. (2003). *Manual de microscopía*. CIENCE, 18, 45.
- López Pérez J. (2000). *Del microscopio a la medicina microbiana*. México: PLANETA
- Martínez Nistal A. (2000). *Microscopía laser confocal*. Univesidad de Oviedo: UC.
- Medina García A. (2015). *Nociones de Óptica*. Madrid: UNIVERSIDAD LIBRE DE MADRID.

- Montalvo Arenas C. (2010). *Manual de microscopía*. Madrid: MONTENA.
- Naik Loranca O. (2000). *Fundamentos del microscopio óptico y su aplicación en la industria textil*. España: UNE.
- Navarro Barrón Simón y Araiza Fernández R. (2005). *Manual de microscopia*. Madrid: LIBRANDA.
- Ramírez Camacho R. y González Tallón I. (2008). *Microscopia ambiental*. España: CLIE.
- Ramírez Flores C. (2004). *Nociones básicas de la luz*. México. Trillas, p.p 22, 30.
- Rivera Hernández L. (2016). *Manual de microscopia electrónica*. México. Trillas, p.p 23, 65.
- Rodríguez Moreno O. (2014). *Aplicaciones de la microscopia en pacientes con trasplantes de córnea*. Scielo, 17, 12.
- Rovira Canales J. (2005). *Pequeño manual básico de microscopía*. España: CLIE.
- Sánchez Román J y Olivia Carmona D. (2005). *Historia del microscopio y repercusión en microbiología*. Humanidades médicas, 11, 10.
- Vallejo era A. (2007). *Manual de procedimientos y técnicas de laboratorio*. España: MINISTERIO DE SALUD.
- Wielley Lestón J. (2001). *Manual para el uso correcto de microscopio*. Colombia: GLENENT.
- Yáñez Flores C. (2009). *Análisis del grabado dental usando el microscopio y software*. Salud UIS, 16, 10.



# ANEXO

## **ANEXO**

### **Técnicas microscópicas**

Ayudaran a manipular el objeto de estudio que desea observar, de una manera más sencilla y clara, destacando la parte de la muestra de su interés.

-Preparación de agentes fijadores y endurecedores de muestras microscópicas

#### **Acético corrosivo.**

Cloruro de mercurio, solución acuosa saturada 95ml

Ácido acético glacial 5ml

#### **Ácido acético al 1 %**

Ácido acético glacial 1ml

Agua destilada 99ml

#### **Ácido cromo- acético**

Ácido crómico 0.3ml

Agua destilada 100ml

Ácido acético 1ml

#### **Alcohol acético (líquido de Carnoy)**

Ácido acético glacial 33ml

Alcohol absoluto 99ml

#### **Alcohol formalina**

Alcohol de 70 ° 100ml

Formaldehído 6ml

#### **Alcohol de Ranvier**

Alcohol de 90 ° 35ml

Agua destilada 70ml

### **Alcohol yodado**

Yodo 2g

Alcohol 98ml

### **Dicromato potásico**

Dicromato potásico 2 g

Agua destilada 98ml

### **Líquido de Bouin**

Ácido pícrico en solución acuosa saturada 75 ml

Formaldehído 25 ml

Ácido acético glacial 5 ml

### **Líquido de Müller**

Dicromato potásico 2,5 g

Sulfato sódico 1 g

Agua destilada 100 ml

### **Solución de Flemming**

Ácido crómico al 1% acuoso 90 ml

Ácido ósmico (tetróxido de osmio) al 2% acuoso 24 ml

Ácido acético glacial 6 ml

### **Ácido ósmico**

Tetróxido de osmio 0,25 g

Agua destilada 100 ml

**ATENCIÓN:** Algunos de los productos citados en esta y otras tablas pueden ser nocivos o tóxicos ya sea por contacto e incluso inhalación. Deben extremarse las precauciones. Seguir en todo momento las indicaciones del fabricante, así como las normas de comportamiento y trabajo en el laboratorio.

### Uso de los agentes fijadores y de endurecimiento

Agente fijador	Medio de lavado	Empleo
Acético corrosivo	Alcohol Yodado.	Tejidos animales
Ácido acético al 1 %	Alcohol de 50 °	Núcleos animales
Ácido cromo- acético	Agua y alcohol de 70 °	Tejidos de plantas
Líquido de Carnoy	Alcohol de 50 °	Tejidos de plantas
Alcohol formalina	Alcohol de 70 °	Tejidos de plantas
Alcohol de Ranvier	Alcohol de 50 °	Tejidos de plantas
Alcohol Yodado	Alcohol de 70 °	Tejidos de plantas
Dicromato potásico	Agua	Tejidos animales
Líquido de Bouin	Alcohol de 50 ° y 70 °	Plantas y animales
Líquido de Müller	Agua	Tejidos animales
Ácido ósmico	Agua	Protozoos

### Colorantes

Colorante	Uso
Acido- Alcohol	Decolorante para la tinción de Ziehl Neelsen.
Anilina Azul	Placas cribosas. Algas.
Anilina sulfato	Lignina en tinción temporal
Azul algodón	Preparaciones en fresco
Azul de Hoffmann	Placas cribosas
Azul de metileno	Bacterias, sangre
Azul de metileno para flagelos	Colorante de contraste
Azul de metilo	Celulosa
Colorante de Leifson	Colorante para flagelos
Colorante de Leishman	Sangre
Eosina acuosa	Tejidos animales y vegetales en general
Eosina alcohólica	Tejidos animales
Eosina para células sanguíneas	Observación de células sanguíneas
Floroglucina	Lignina en tinción temporal
Fucsina ácida	Sangre, tejido conjuntivo
Fucsina fenicada	Hongos y bacterias
De Mayer	Tejidos animales y vegetales
Hematoxilina de Delafield	Tejidos animales y vegetales
Hematoxilina de Ehrlich	Tejidos animales en general

Hematoxilina para células sanguíneas	Observación de células sanguíneas
Lactofenol	Preparaciones en fresco de mohos
Lactofenol al azul algodón	Tinción de mohos
Lugol	Para tinción de Gram
Orange G	Celulosa
Orceína	Inulina
Orceína A	Tinción de cromosomas
Orceína B	Tinción de cromosomas
Pardo de Bismarck	Bacterias, celulosa y núcleos
Picro carmín	Tejidos animales en genera
Rojo Congo	Hongos parásitos, hifas de hongos
Safranina	Núcleos
Safranina para Gram	Esporas

### Otros reactivos usados en microscopia

**Agua destilada** -Disolvente de uso general para los colorantes y los reactivos.

**Agua acética al 1%**- Decolorante en tinciones de microscopía.

**Agua acética al 0,02 %**- Estudio de los tactismos de los infusorios.

**Alcohol etílico absoluto**- Fijador para los frotis de sangre y deshidratante general.

**Alcohol etílico acético al 1%**- Diferenciador y decolorante para tinciones en microscopía.

**Alcohol etílico- Cloroformo al 50%**- Limpieza y desengrasado de los porta objetos, donde se haya realizado un frotis de sangre sangre.

**Ácido nítrico al 1%**- Descalcificación del tejido óseo.

**Carbonato sódico al 10%**- Neutralizador del ácido en los procedimientos de descalcificación del hueso.

**Cloruro sódico en disolución al 30%**- Para observar fenómenos de plasmósis celular.

**Euparal**- Resina para montaje definitivo de preparaciones.

**Formol al 40%**- Para conservar y fijar.

**Glicerina neutra al 50%** Para el montaje de preparaciones microscópicas.

**Lugol**- Fijador y colorante.

**Vaselina-** Utilizado como protector de instrumental frente a la corrosión durante largos periodos sin uso. Para pegar cubres sobre el portaobjetos.

Algunas técnicas básicas de microscopía

Tinciones

Tinción simple

Tras la preparación de la muestra y el fijado, el proceso de tinción ayuda a distinguir las estructuras que de otro modo sería casi imposible observar.

La tinción directa o simple consiste en utilizar un único colorante que tiña, o bien la generalidad de la muestra o determinadas estructuras.

Tinción indirecta o negativa

Se utiliza principalmente en bacteriología. Consiste en realizar una suspensión para frotis en un colorante que inunde el campo, pero deje sin teñir las bacterias. Esto permite ver a las bacterias de una manera mas clara. Para esta técnica los colorantes usados son tinta china.

Tinción diferencial

Se utiliza más de un colorante. En bacteriología es de gran interés ya que permite clasificar a las bacterias en Gram + y Gram –

Tinción selectiva

Se trata de aplicar un colorante cuya afinidad por determinada estructura no resulta conocida. También pueden combinarse los colorantes en una misma preparación. Esta técnica permite diferenciar unos tejidos de otros.

## Algunas técnicas de preparación

### Preparación en fresco

Es la más sencilla pero no permite observaciones de un tiempo prolongado, ya que el agua que contiene la muestra se evapora hasta la desecación total.

Se deposita una gota de la suspensión sobre el centro del portaobjetos. Después se coloca el cubreobjetos, cuidando de no capturar burbujas de aire que dificultaran la observación.

### Frotis

Para realizar un frotis se requiere de:

Tomar dos portaobjetos limpios, en uno de ellos se coloca una gota de material a extender, posteriormente se toma el otro portaobjetos por un lado y se coloca de modo oblicuo sobre el anterior, desplazándolo lentamente y sin ejercer presión y de esa manera obtenemos un frotis

### Cortes finos

#### Piezas pequeñas y cortes sin micrótopo

Las piezas de tamaño pequeño que no podemos cortar para su observación, podemos verlas directamente en el microscopio, pues son lo suficientemente translúcidas para ello. Algunas ocasiones requerimos de observarlas con el microscopio estereoscópico.

En otras ocasiones lo más habitual es ir separando las piezas que observamos en la misma preparación. Para ello se suele utilizar una ajuga fina.

### Cortes con micrótopo

Para poder realizar un corte fino visible al microscopio, debemos recurrir al uso del micrótopo, estos aparatos nos permiten realizar cortes finos de material incluido en un medio más duro. Para ello se incluye la muestra en parafina o médula de sauco.

El más sencillo de utilizar es el micrótopo de mano. Se trata de un soporte en forma de T, con un tornillo micrométrico en su base, un hueco para la muestra y una superficie deslizante para pasar un instrumento cortante como navaja, escápelo u hoja de afeitar. (Robira, 2005).