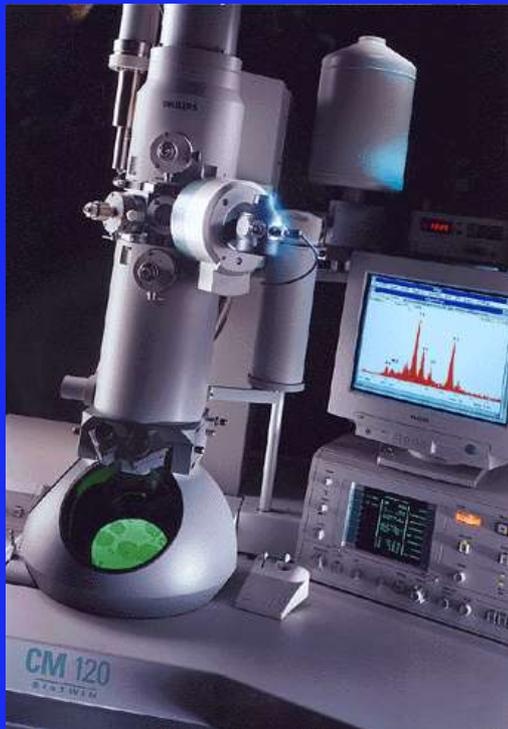


# MICROSCOPIA



# MÉTODOS DE ESTUDIO DE LO INVISIBLE AL OJO HUMANO

El estudio de la materia viva se puede realizar de dos formas:

## MACROSCÓPICAMENTE

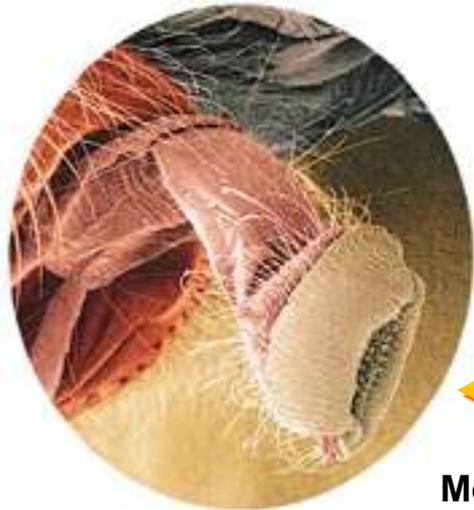
A simple vista



## MICROSCÓPICAMENTE

Análisis estructural

Análisis ultraestructural



Mediante  
microscopio electrónico.



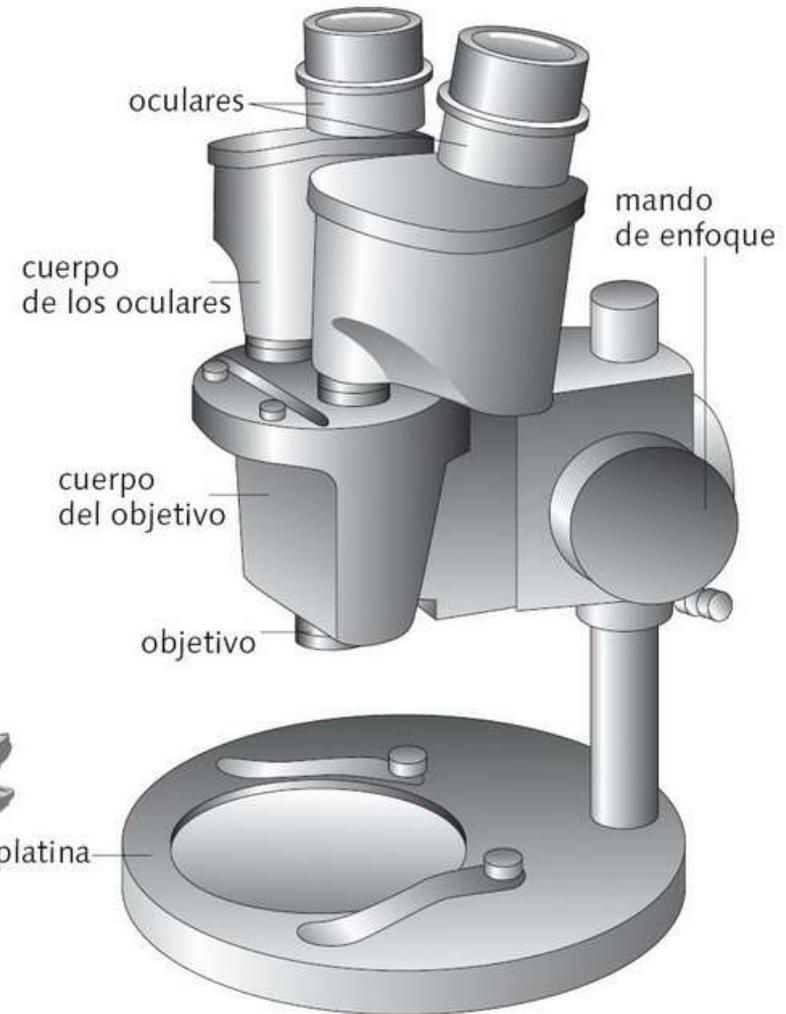
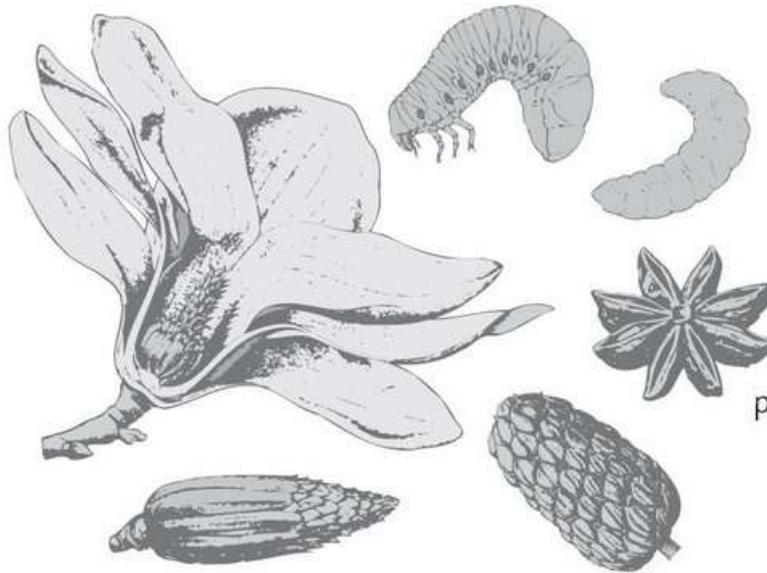
Mediante lupa o  
microscopio óptico.



# LUPA BINOCULAR PARA VER LOS DETALLES

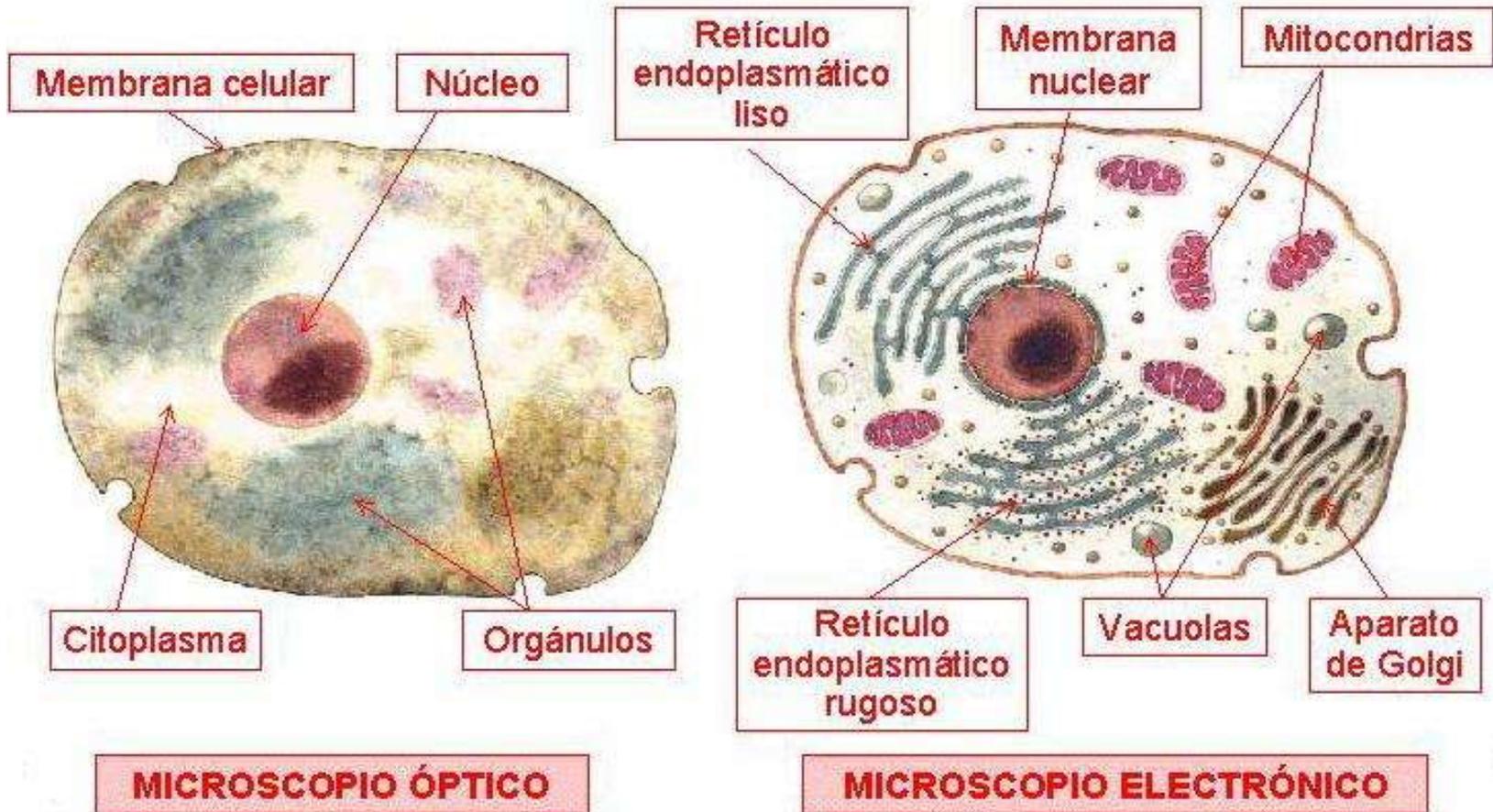
La lupa binocular es un aparato que permite aumentar la imagen de cualquier muestra. Consta de los siguientes elementos:

- **Oculares:** son dos lentes (una para cada ojo) con las que se realiza la observación.
- **Objetivo:** la lente está más cercana al objeto que se va a visualizar.
- **Platina:** sobre ella se coloca la preparación u objeto que se desea visualizar.
- **Mando de enfoque.**

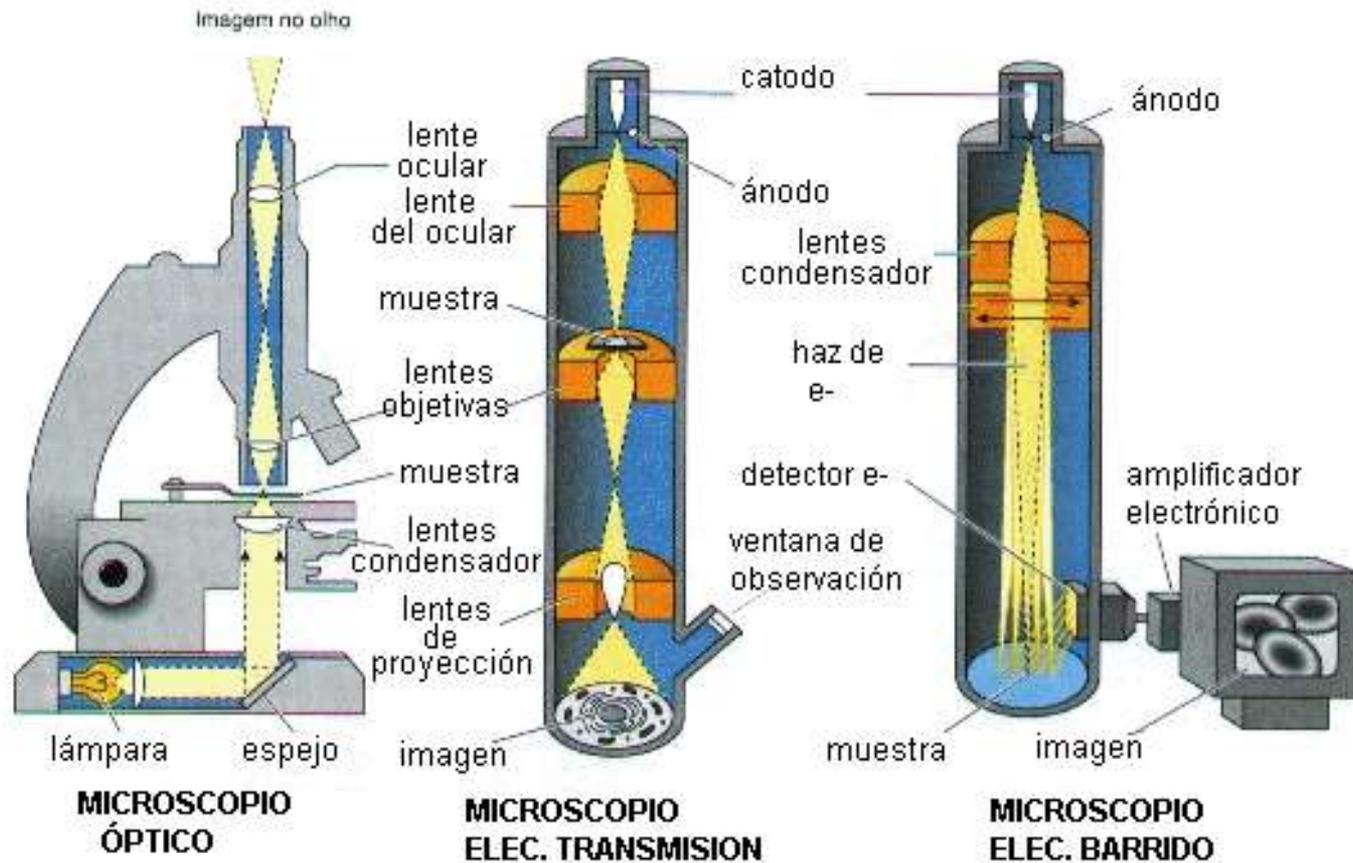


# EL MICROSCOPIO PERMITE VER LO INVISIBLE AL OJO HUMANO

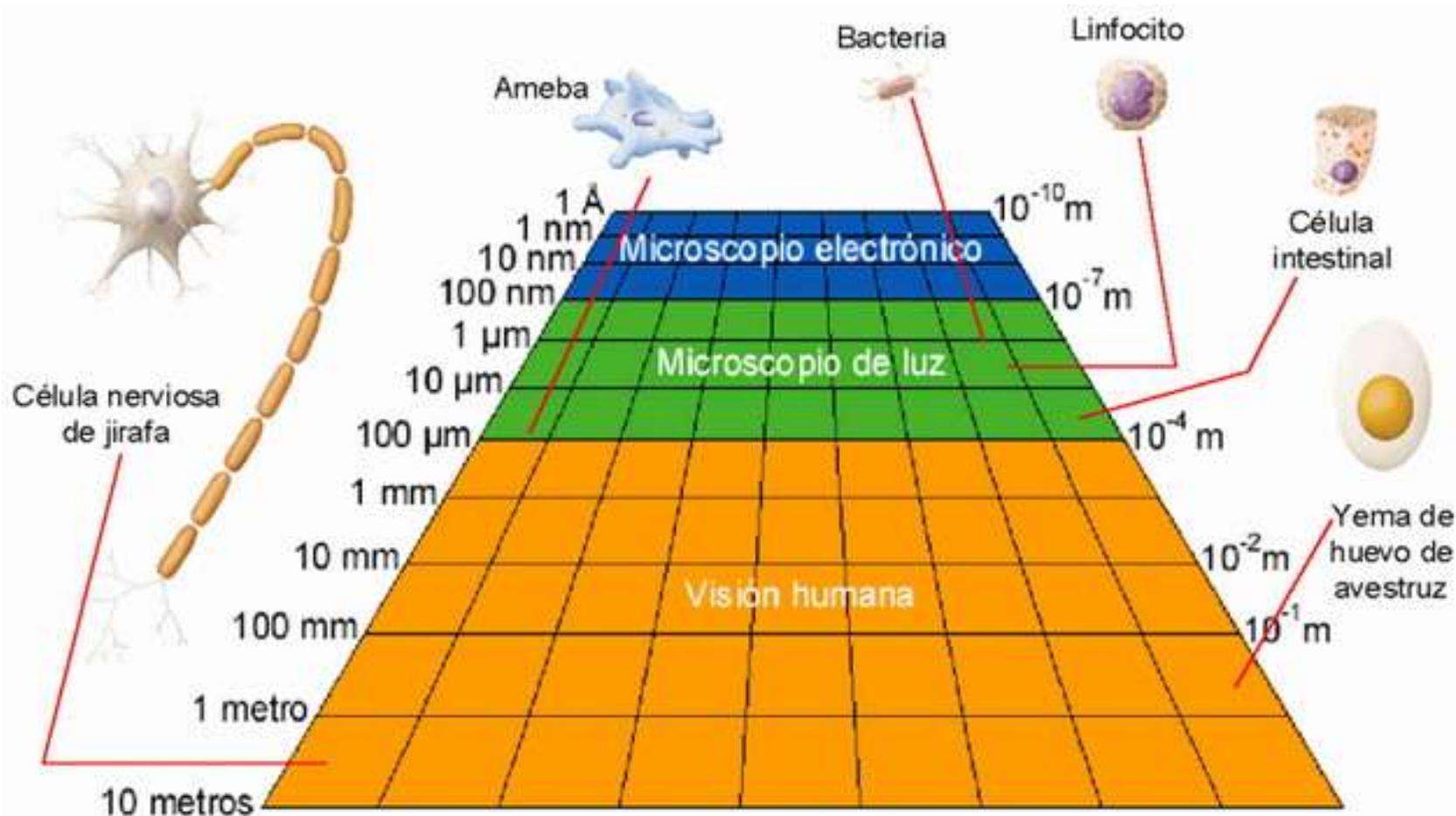
## LA CÉLULA A TRAVÉS DEL MICROSCOPIO



# TIPOS DE MICROSCOPIOS



# CAPACIDAD DE AUMENTOS



# Microscopio óptico

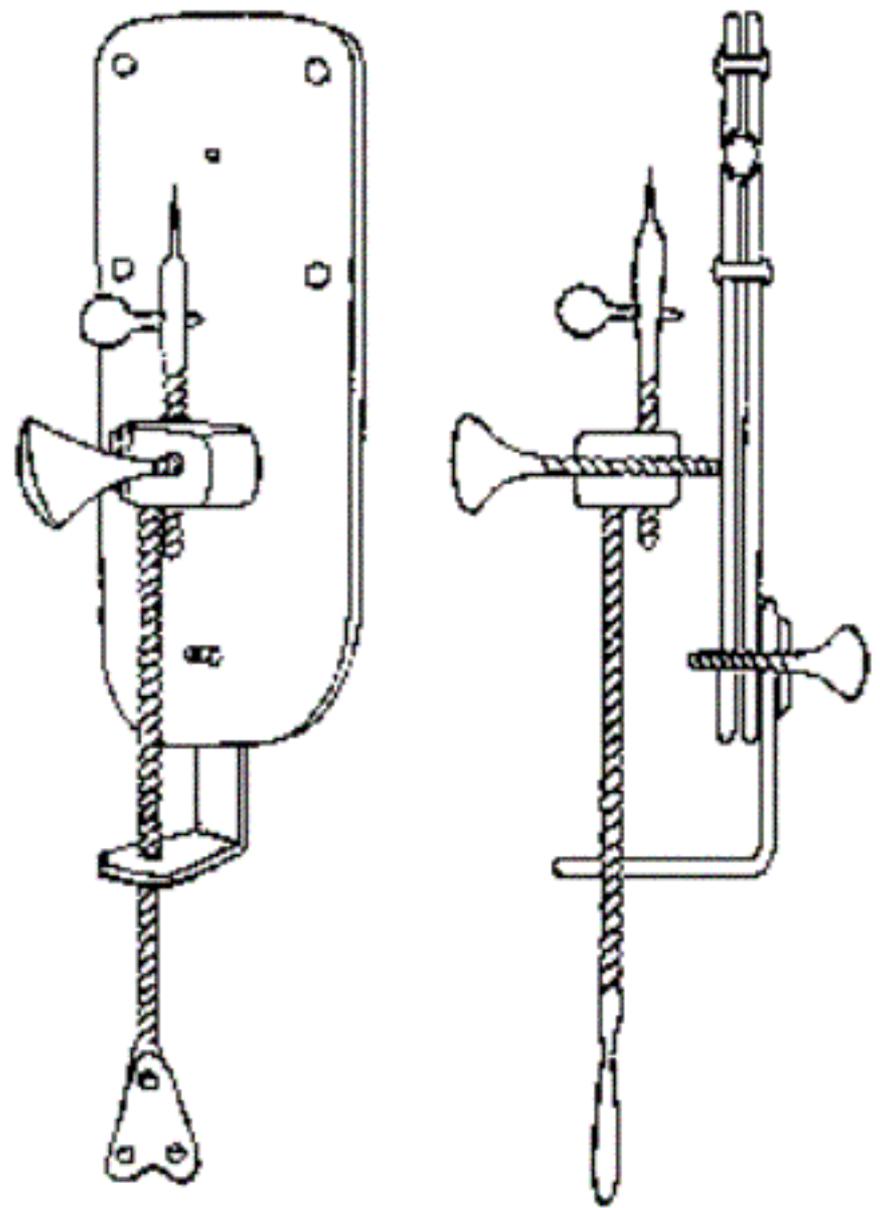


**El holandés  
Antonie van  
Leewenhoek  
(1632-1723)  
nacido en Delft,  
inventor del  
microscopio.**



El primitivo microscopio de Antony van Leeuwenhoek, que en realidad eran dos lupas combinadas con las que llegó a alcanzar 260 aumentos. Lo que le permitió visualizar algunos protozoos y otros microorganismos y estructuras microscópicas.

(M<sup>o</sup>. de Historia de las Ciencias Naturales. Leyden) .

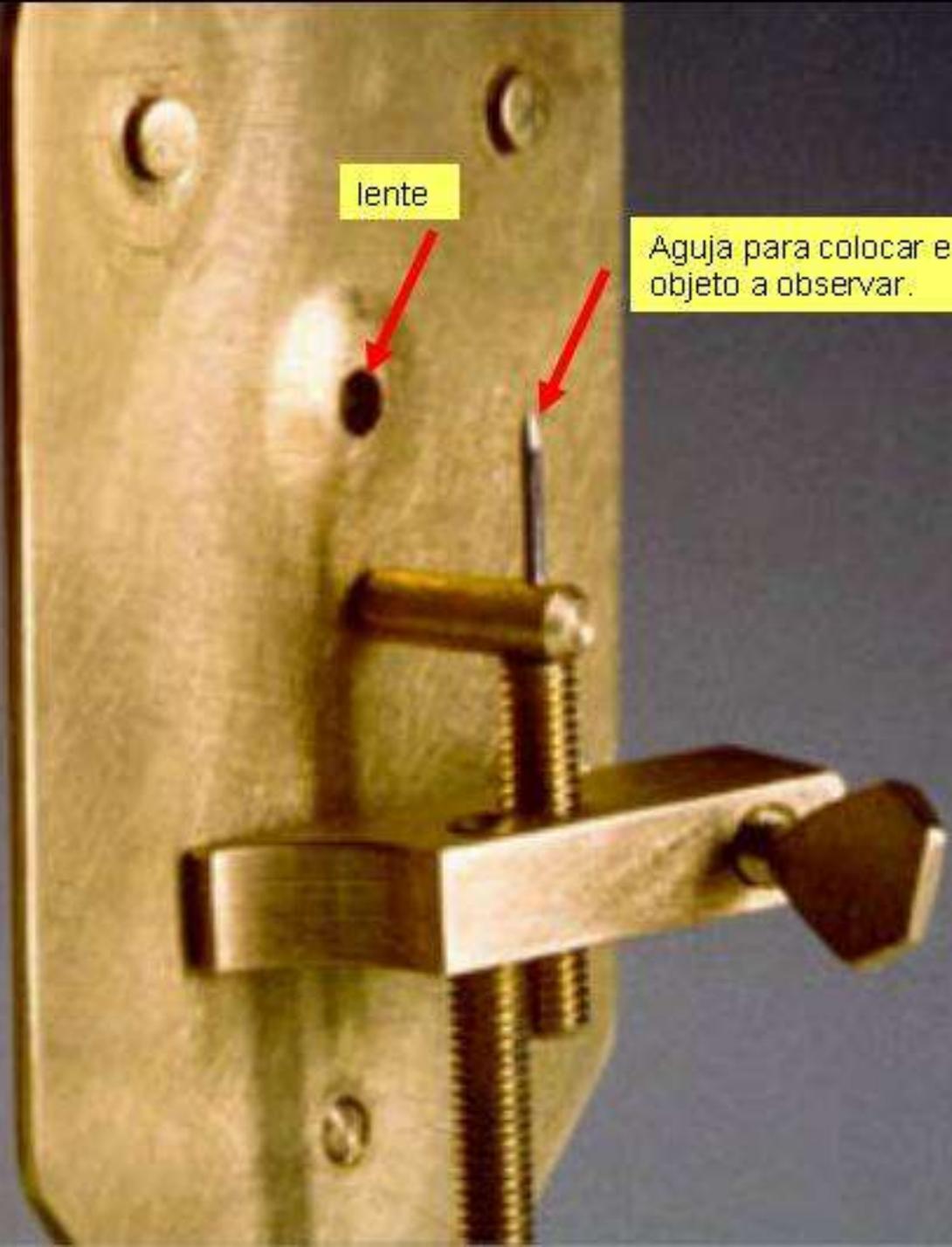


Con este microscopio Leeuwenhoek descubrió los espermatozoos, numerosas bacterias, los eritrocitos de la sangre y otros organismos microscópicos.

Detalle del  
microscopio de  
Antony  
van Leeuwenhoek

lente

Aguja para colocar el  
objeto a observar.



Robert Hooke, nacido el 18 de julio de 1635 en Freshwater, Inglaterra, murió el 3 de marzo de 1702, en Londres.

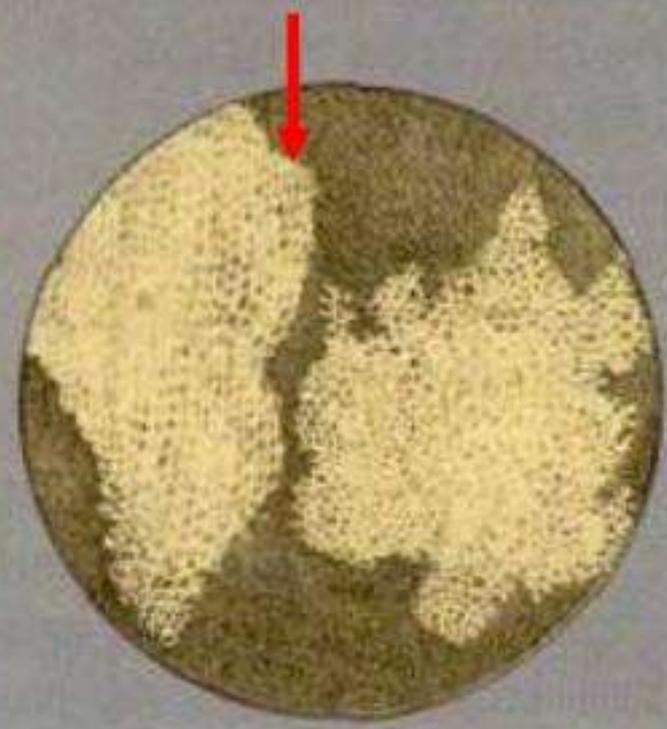
En 1665, Robert Hooke, al observar al microscopio, muy rudimentario en aquella época, un fragmento de corcho, descubre que está compuesto por una serie de estructuras parecidas a las celdas de los panales de las abejas, por lo que las llamó células.

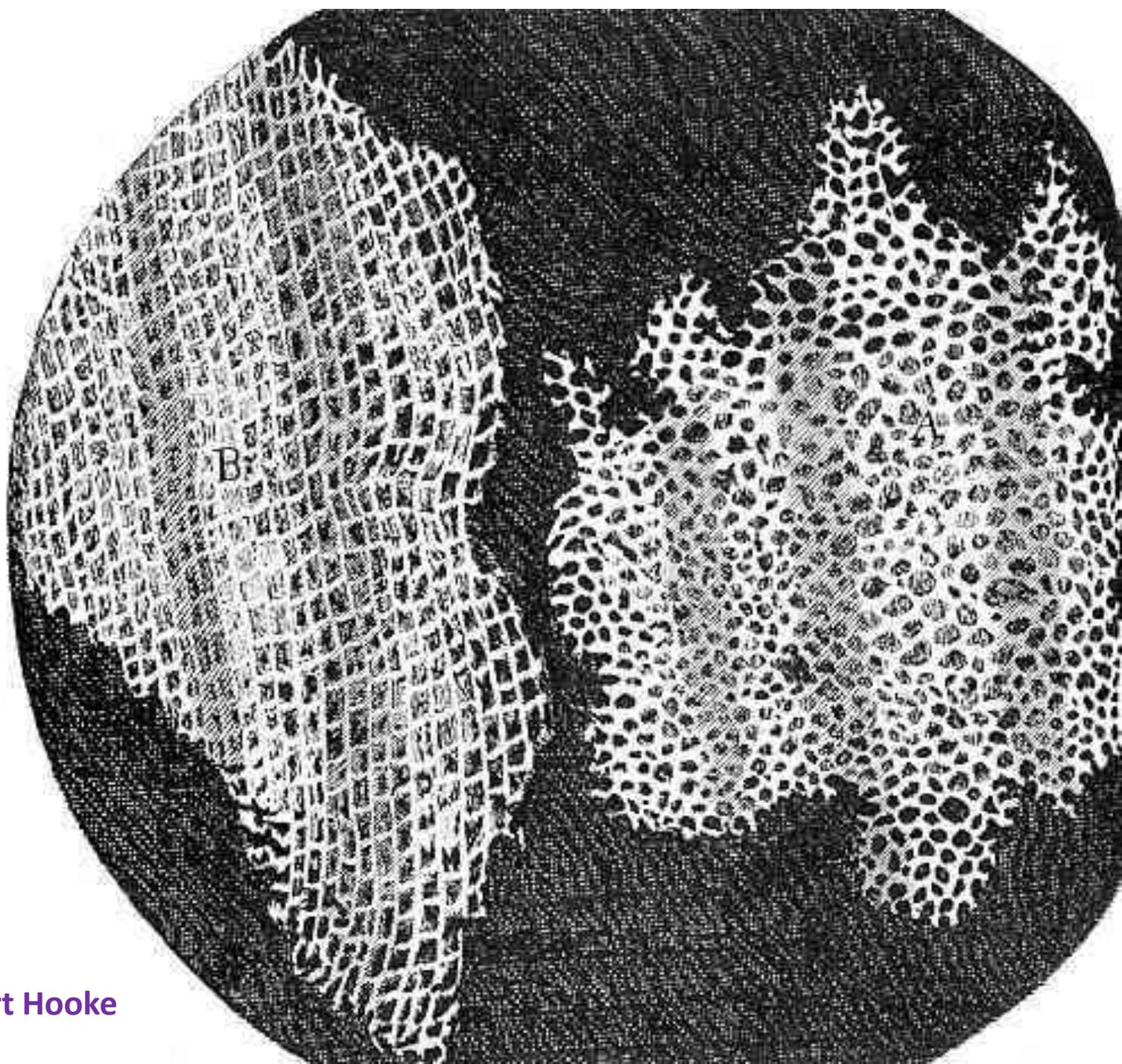


Microscopio de Robert Hooke y esquema de células del corcho realizado por él.

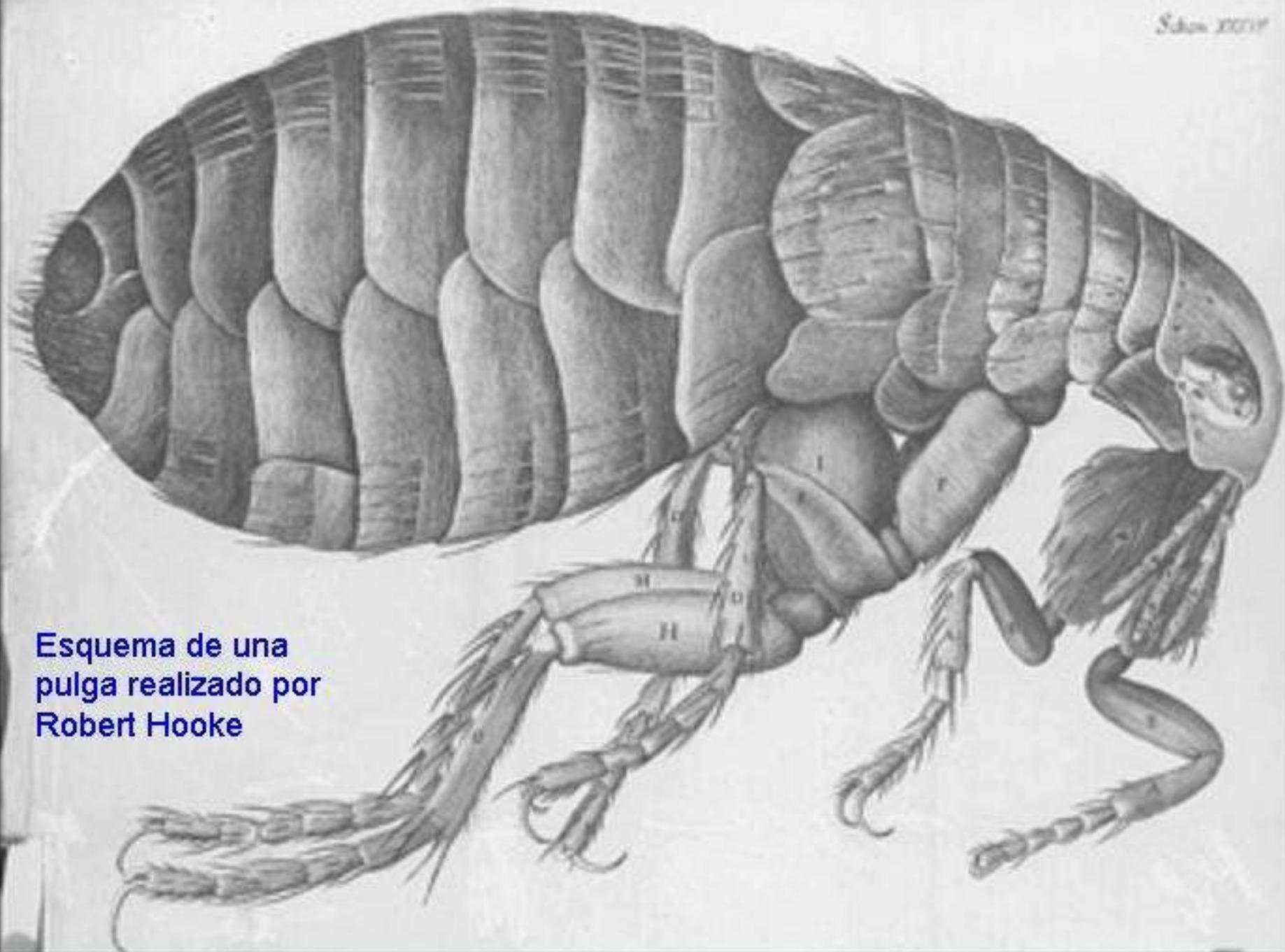


Células de corcho





Corcho.  
Grabado de Robert Hooke



Esquema de una pulga realizado por Robert Hooke

En los siglos XVIII  
y XIX el  
microscopio se  
perfecciona cada  
vez más y más.

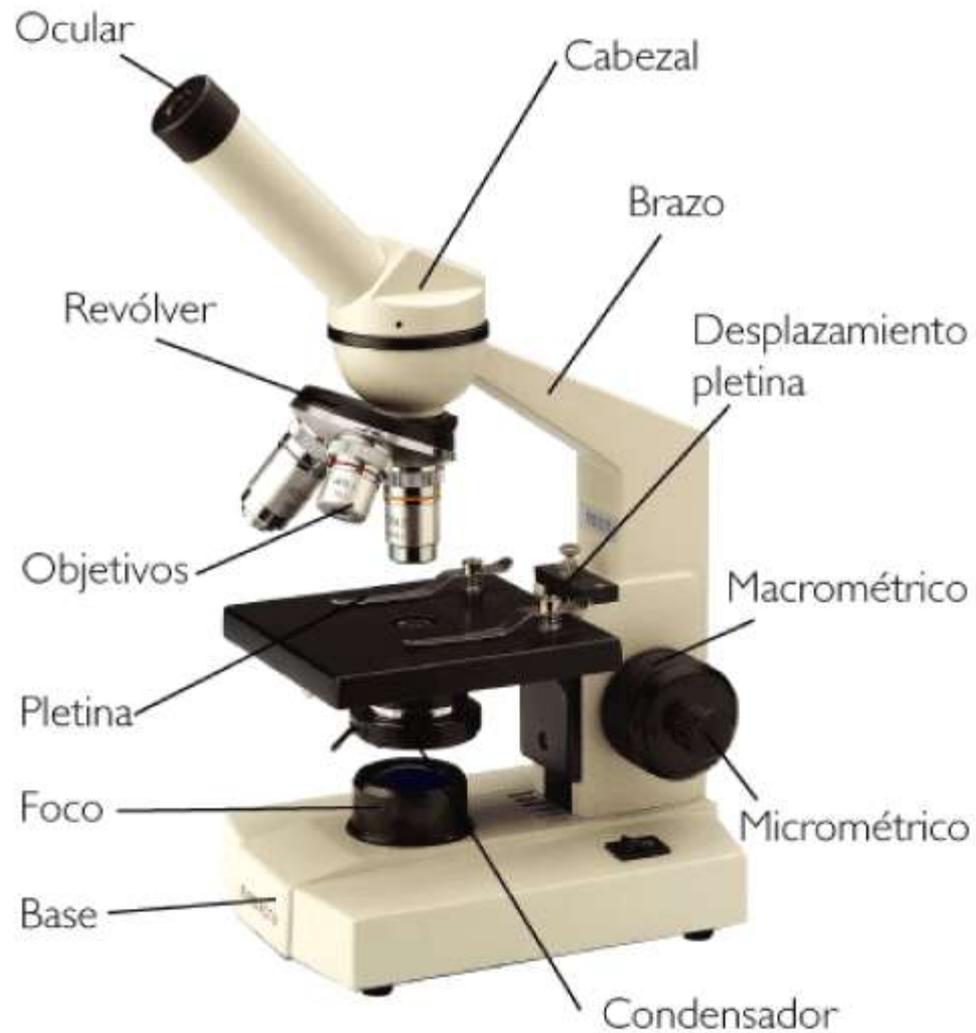
(microscopio del  
siglo XVIII)



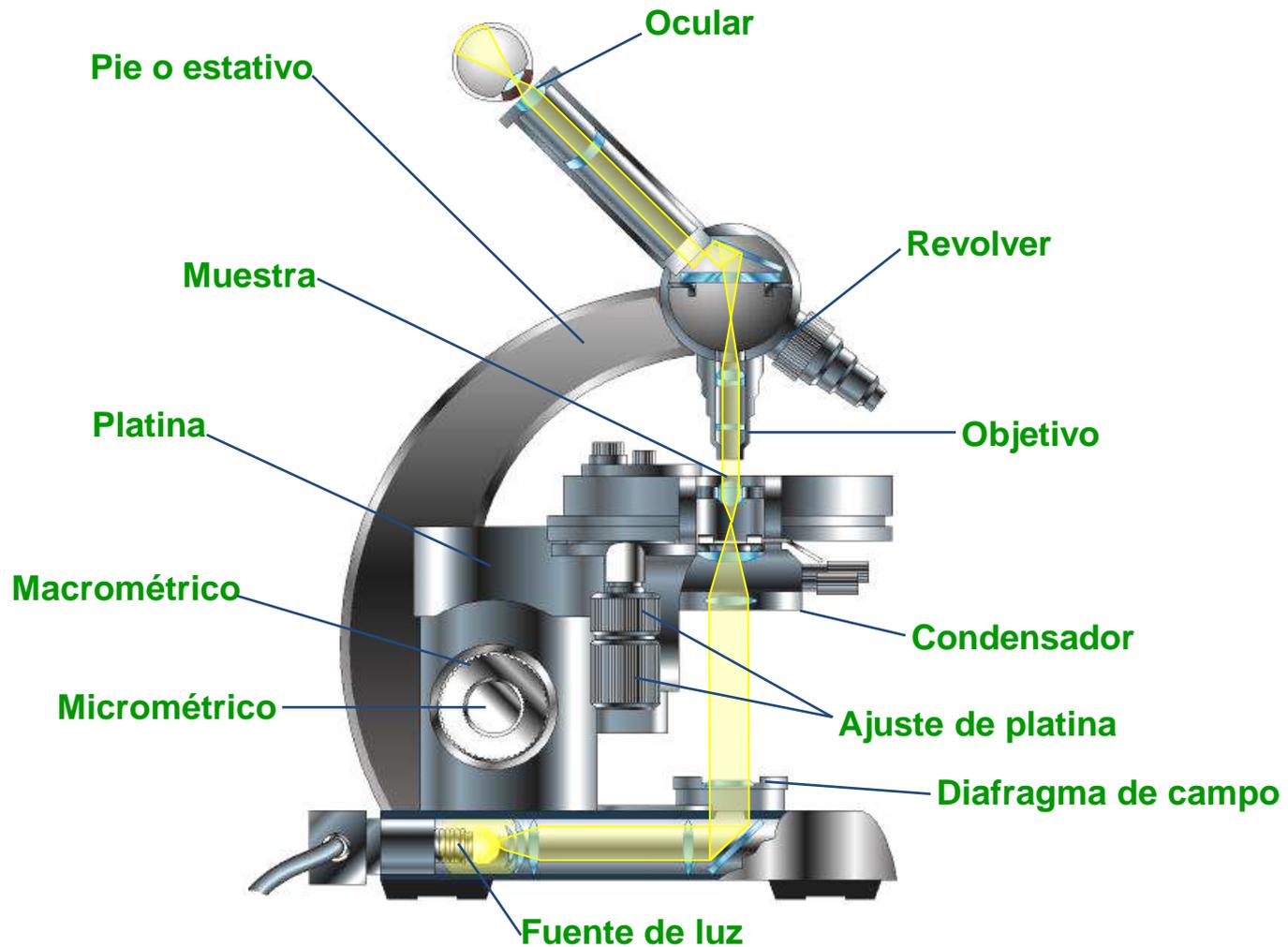
El desarrollo de la microscopía durante los siglos XVIII y XIX permitió que en 1838 Scheleiden y en 1839 Schwan, uno para los vegetales y el otro para los animales, planteasen la denominada TEORÍA CELULAR

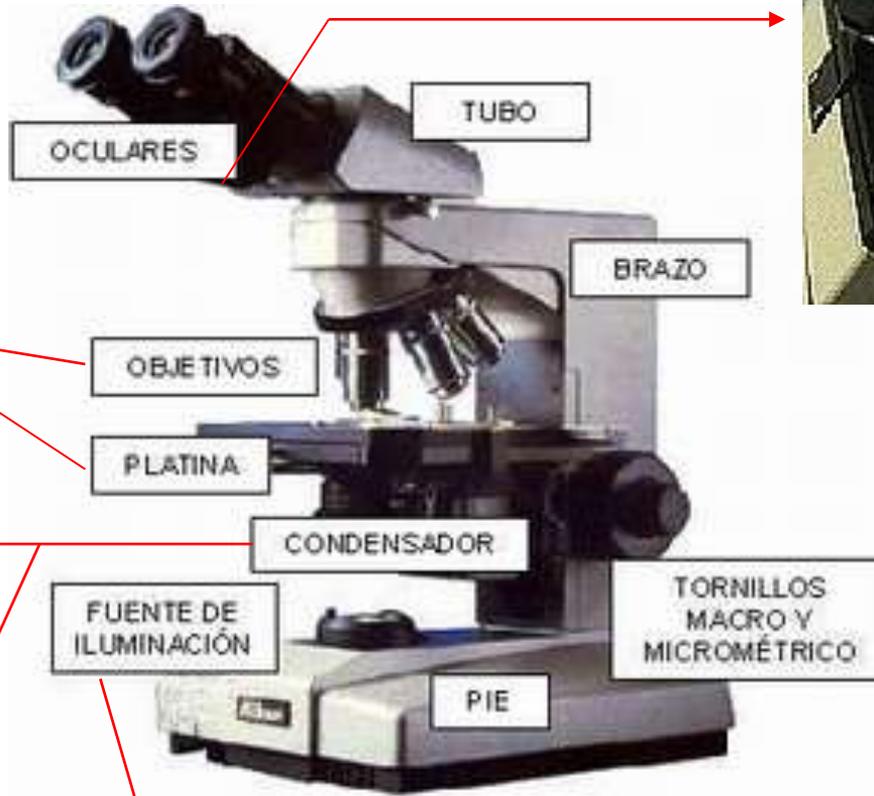
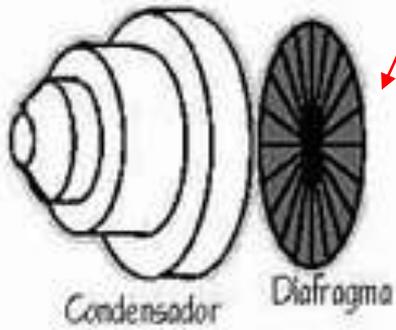


# MICROSCOPIO ÓPTICO (vista exterior)



# MICROSCOPIO ÓPTICO (vista interna y de los rayos de luz)





# COMPONENTES DEL MICROSCOPIO ÓPTICO



# MANEJO DEL MICROSCOPIO ÓPTICO

## CÁLCULO DEL NÚMERO DE AUMENTOS EN EL MICROSCOPIO ÓPTICO

Cómo calcular el número de aumentos :

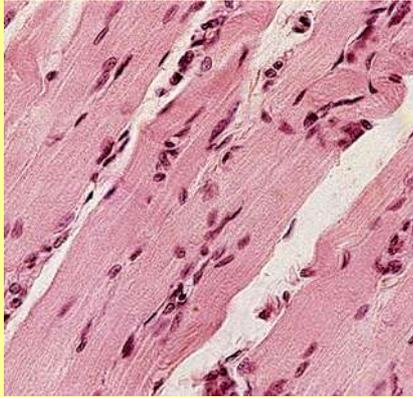
**Número de aumentos totales = número de aumentos del ocular x número de aumentos del objetivo**

Por ejemplo...

Cálculo del número de aumentos			
Objetivo \ Ocular	X 10	X 40	X 100
X 5	50	200	500
X 10	100	400	1000

# DIFERENTES IMÁGENES CON EL MICROSCOPIO ÓPTICO

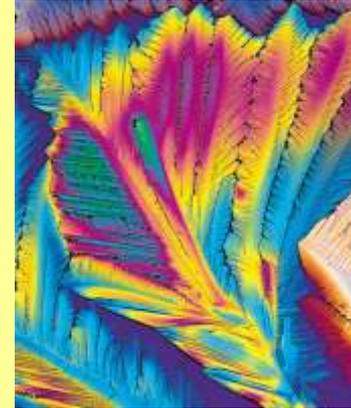
MICROSCOPIO DE CAMPO BRILLANTE O DE CAMPO CLARO



MICROSCOPIO DE CAMPO OSCURO



MICROSCOPIO DE POLARIZACIÓN



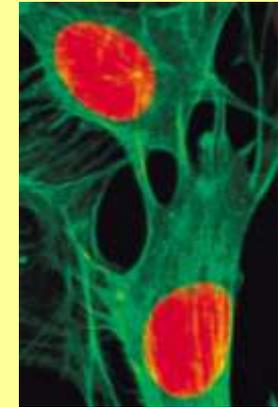
MICROSCOPIO DE CONTRASTE DE FASE



MICROSCOPIO DE INTERFERENCIA DIFERENCIAL

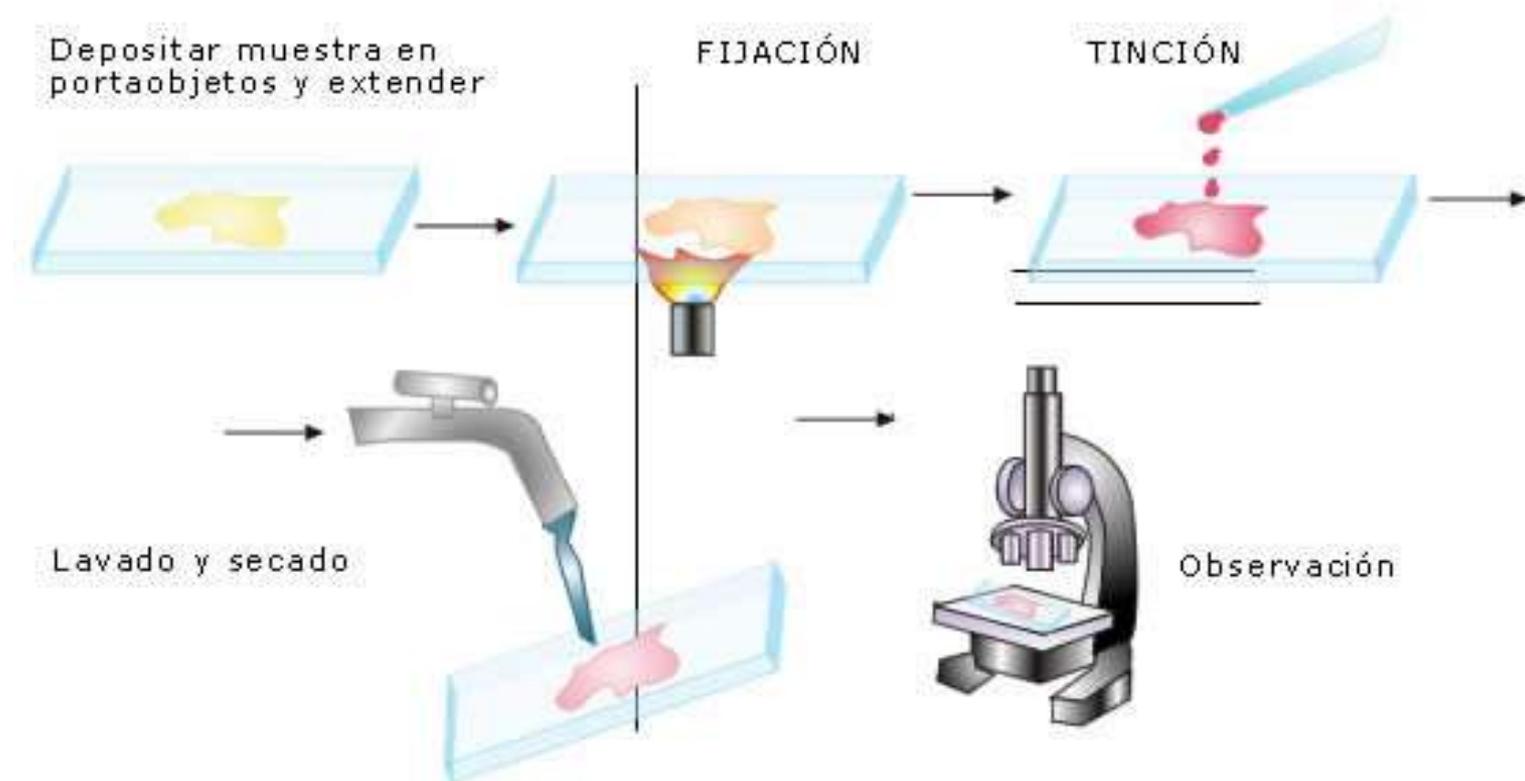
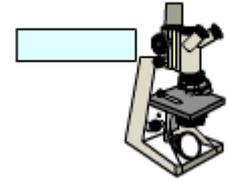


MICROSCOPIO DE FLUORESCENCIA O LUZ ULTRAVIOLETA

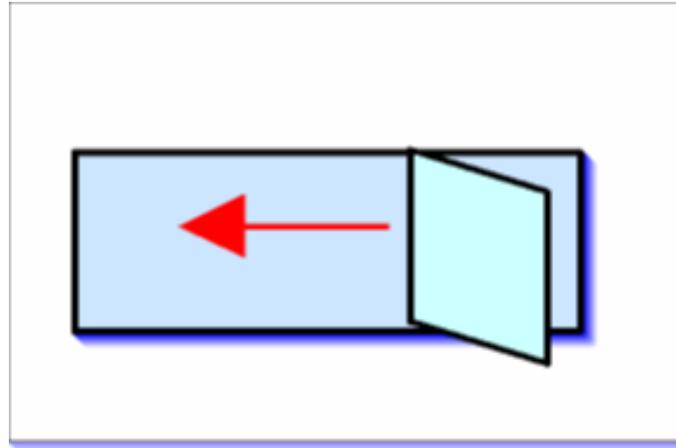


# Preparación de muestras para el microscopio óptico

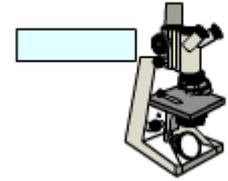
# PREPARACIÓN DE MUESTRAS SENCILLAS



# PREPARACIÓN DE MUESTRAS. FORMA DE PONER EL CUBRE



# PREPARACIÓN DE MUESTRAS SENCILLAS

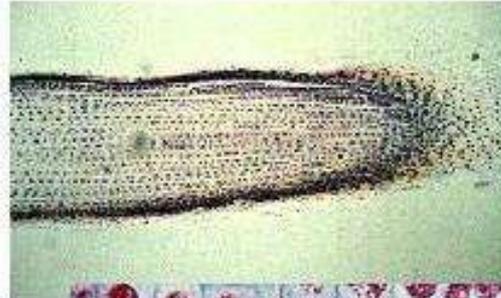


## Estudio al microscopio de material biológico

### TÉCNICA PARA CONFECCIONAR LAS PREPARACIONES MICROSCÓPICAS

#### 1.- FIJACIÓN

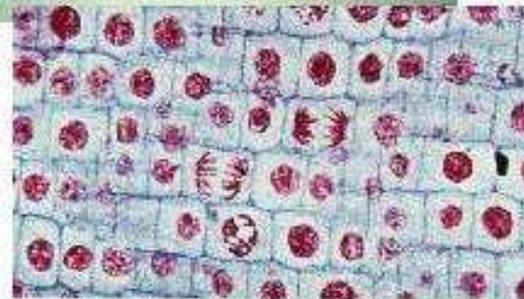
Se inmovilizan las estructuras celulares para que tratamientos posteriores no las distorsionen.



Microfotografía óptica del extremo apical de raíz de cebolla

#### 2.- TINCIÓN

Para realzar los contrastes se utilizan colorantes que reaccionan selectivamente con componentes concretos de las células.



Los colorantes permiten realzar los contrastes

#### 3.- OBTENCIÓN DE CORTES FINOS

La muestra debe ser atravesada por rayos de luz por ello debe tener de 1 a 10  $\mu\text{m}$  de espesor.

Instrumentos como el microtomo de mano permiten obtener cortes muy finos



# MÉTODO DE PREPARACIÓN DE MUESTRAS

## 1 Extracción de la muestra y fijación

## 3 Obtención de cortes y colocación en el portaobjetos

## 2 Deshidratación e inclusión en parafina



La muestra se sumerge en una serie de etanol de gradación creciente.

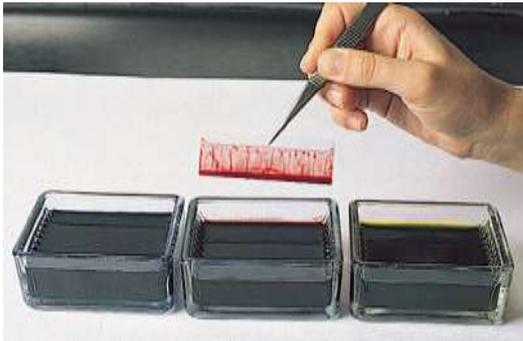


Los cortes se realizan mediante un microtomo

## 4 Desparafinado, hidratación y tinción

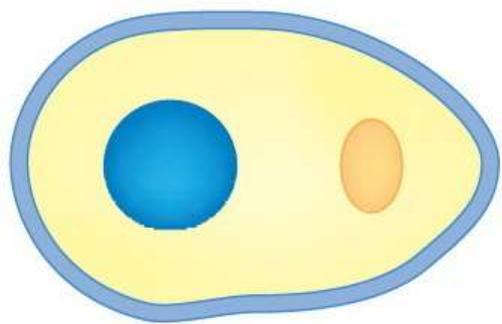
## 5 Deshidratación y montaje

Para poder visualizar la muestra al microscopio es necesario teñirla.

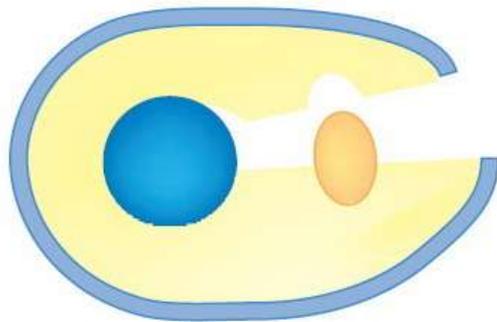


Se coloca el cubreobjetos y se monta con resinas naturales.

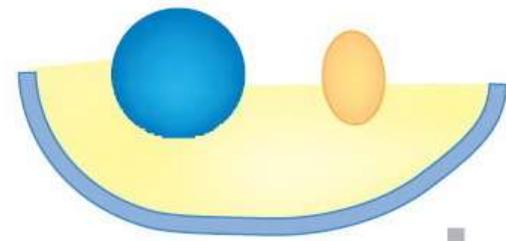
# PREPARACIÓN DE MUESTRAS POR CRIOFACTURA



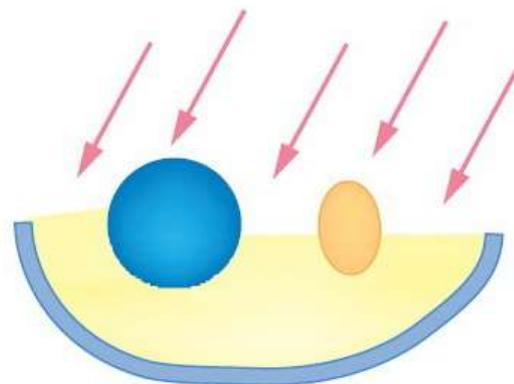
Célula congelada



Fractura



Célula fracturada



Sombreado por platino



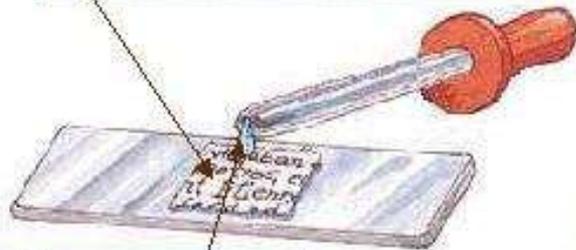
Limpieza de réplica



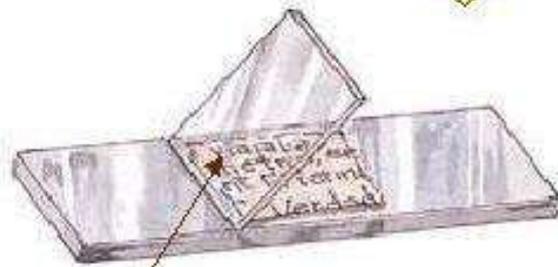
Réplica

# MANEJO DEL MICROSCOPIO ÓPTICO

1 Poner la muestra en la parte central de un portaobjetos



2 Añadir una gota de agua



3 Colocar un cubreobjetos

9 Mejorar el enfoque con el tornillo micrométrico

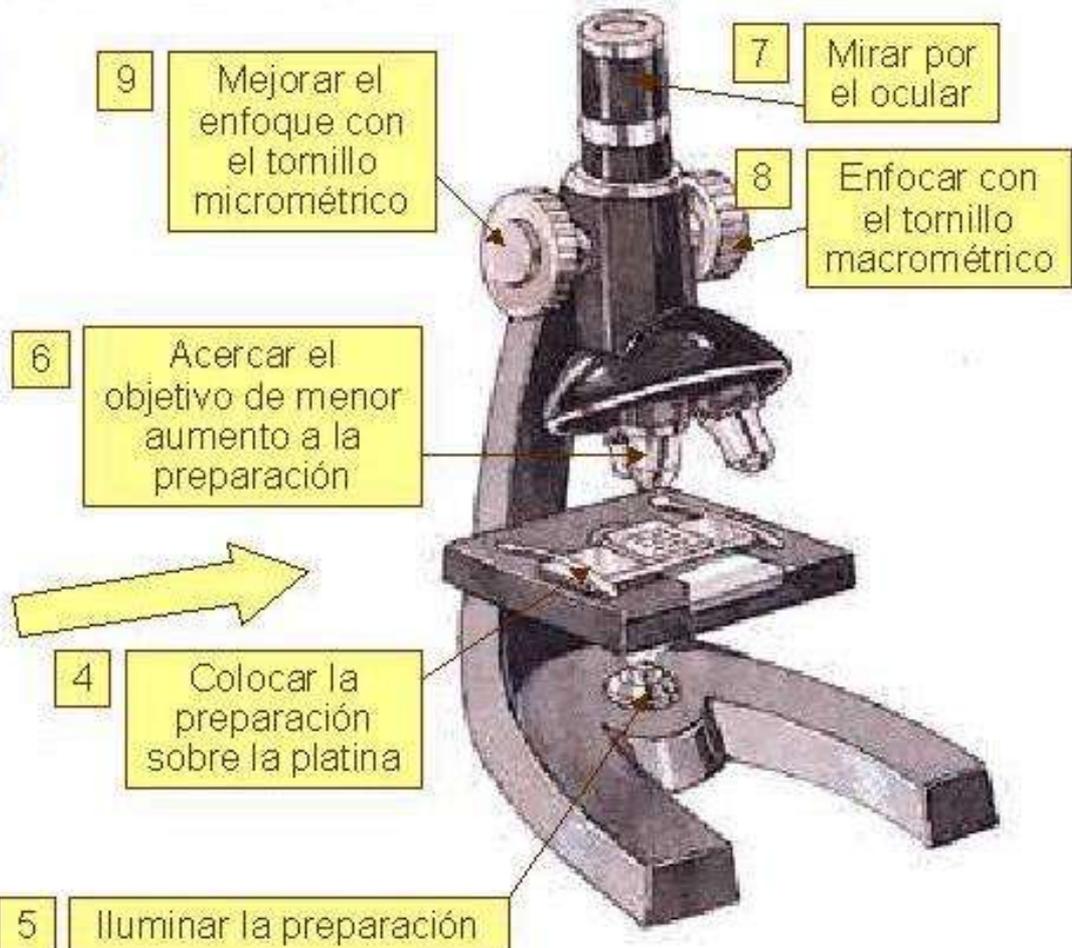
6 Acercar el objetivo de menor aumento a la preparación

4 Colocar la preparación sobre la platina

5 Iluminar la preparación

7 Mirar por el ocular

8 Enfocar con el tornillo macrométrico



# Microscopio electrónico

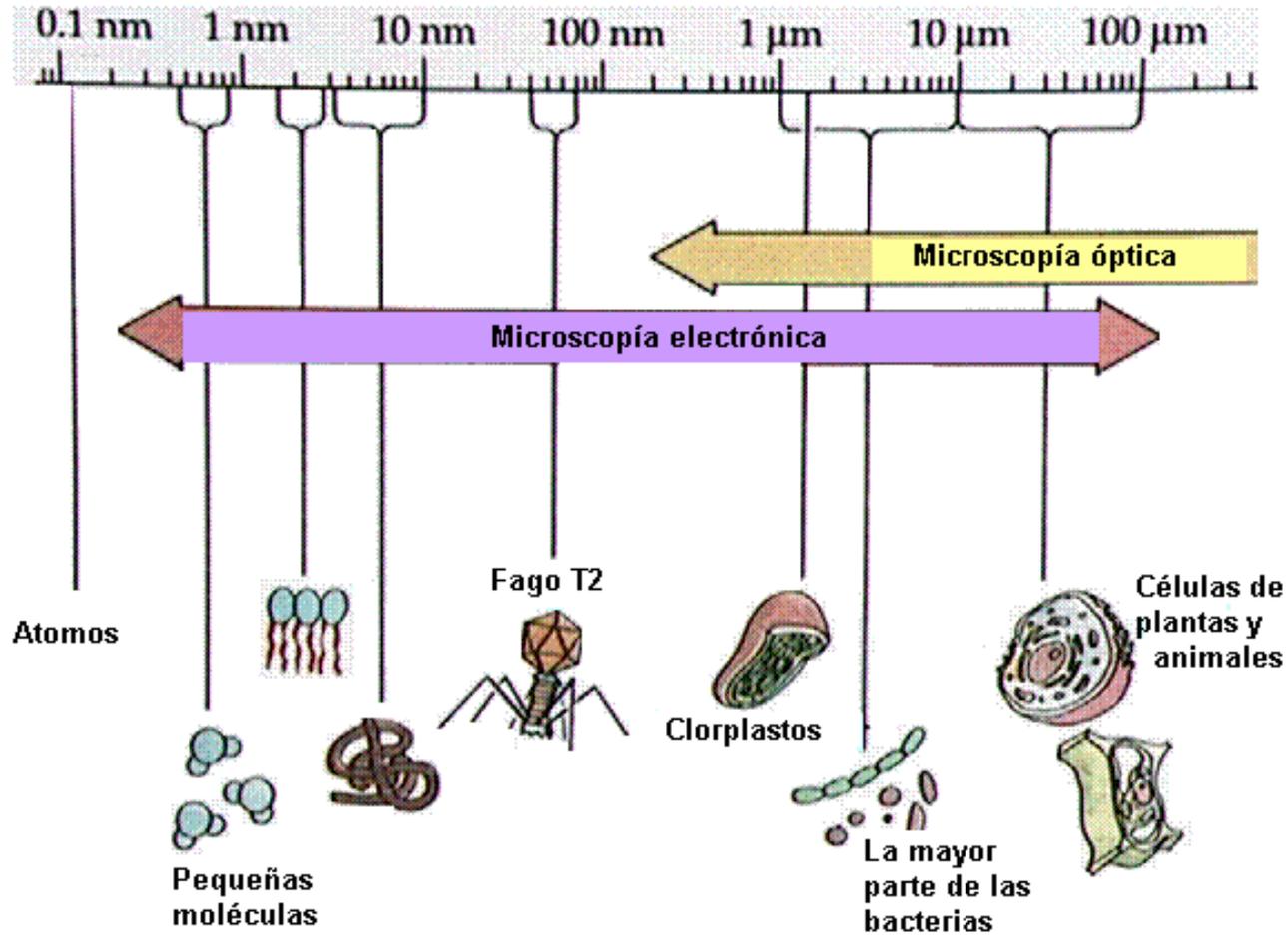
Para observar la ultraestructura de las células se necesitan los grandes aumentos del microscopio electrónico. Pues de otra manera no se pueden observar en detalle los diferentes orgánulos celulares, que apenas se aprecian con el microscopio óptico.

Microscopio óptico 1000 X

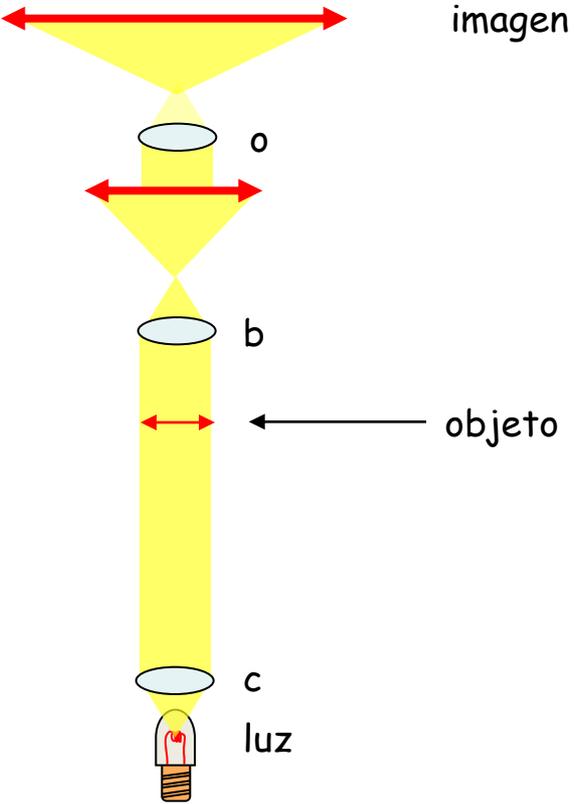
Microscopio electrónico 100 000 x



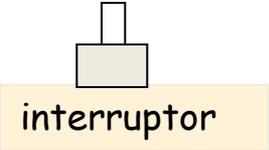
# CAPACIDAD DE AUMENTOS



# Fundamento del microscopio óptico y del microscopio electrónico



Microscopio óptico



# TIPOS DE MICROSCOPIOS ELECTRÓNICOS

Microscopio electrónico de transmisión (MET)



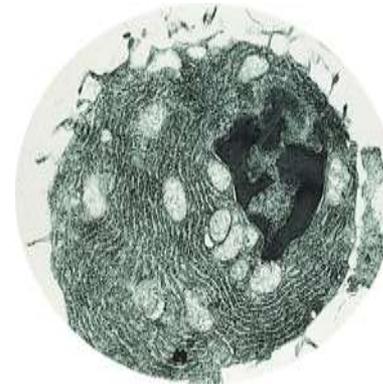
Microscopio electrónico de barrido (MEB)



# MICROSCOPIO ELECTRÓNICO DE TRANSMISIÓN



Linfocito a MET



# PREPARACIÓN DE MUESTRAS PARA EL MET

## 1 Extracción de la muestra y fijación

## 2 Deshidratación e inclusión en resinas



La muestra se incluye en una resina epoxi para poder realizar cortes finos.

## 3 Obtención de cortes mediante un ultramicrotomo

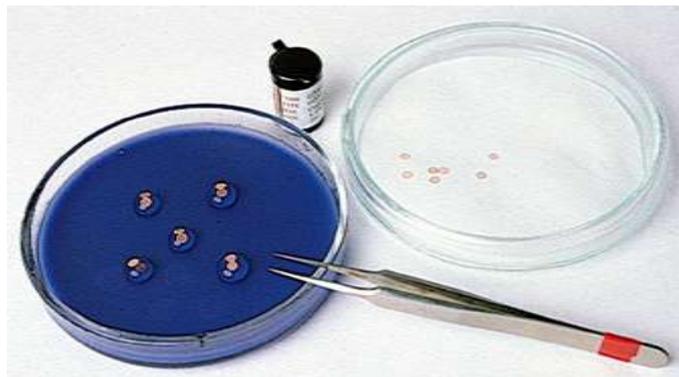


Los cortes son muy finos, de 50 o 100 nm de grosor.

Estos cortes se adhieren a una rejilla circular.

## 4 Contrastado de los cortes

Los cortes se exponen a sales de metales pesados como el uranio o el plomo.



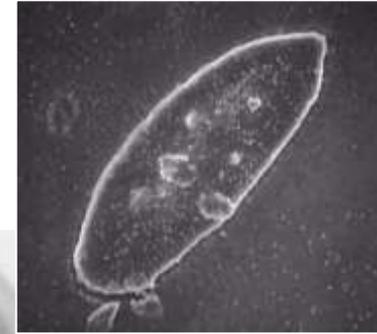
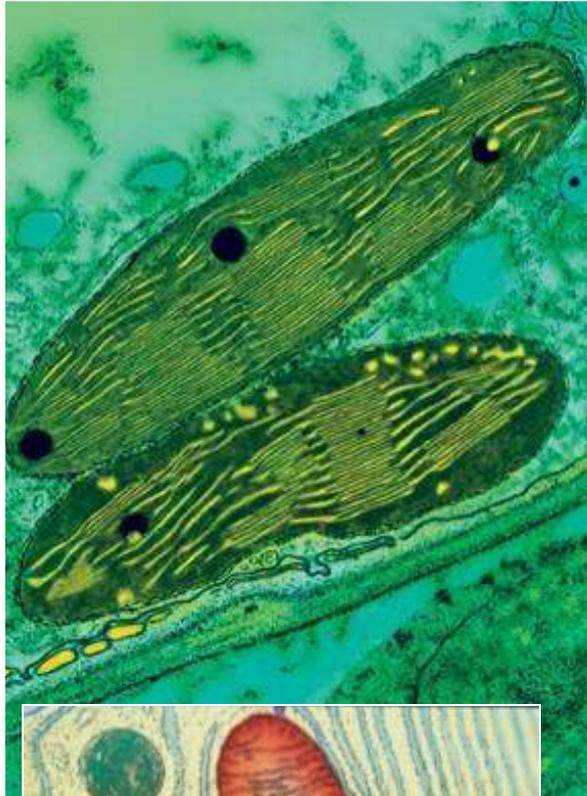
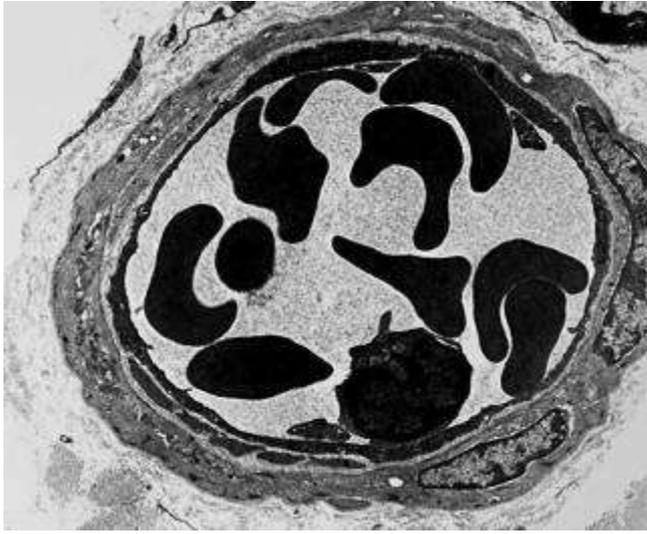
## 5 Observación de la muestra



Las rejillas se colocan en un soporte que se introduce en el ME.



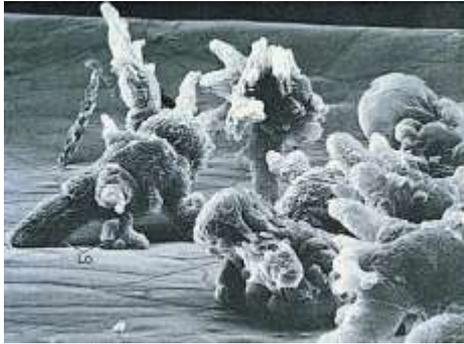
# Fotografías de microscopio electrónico de transmisión (MET)



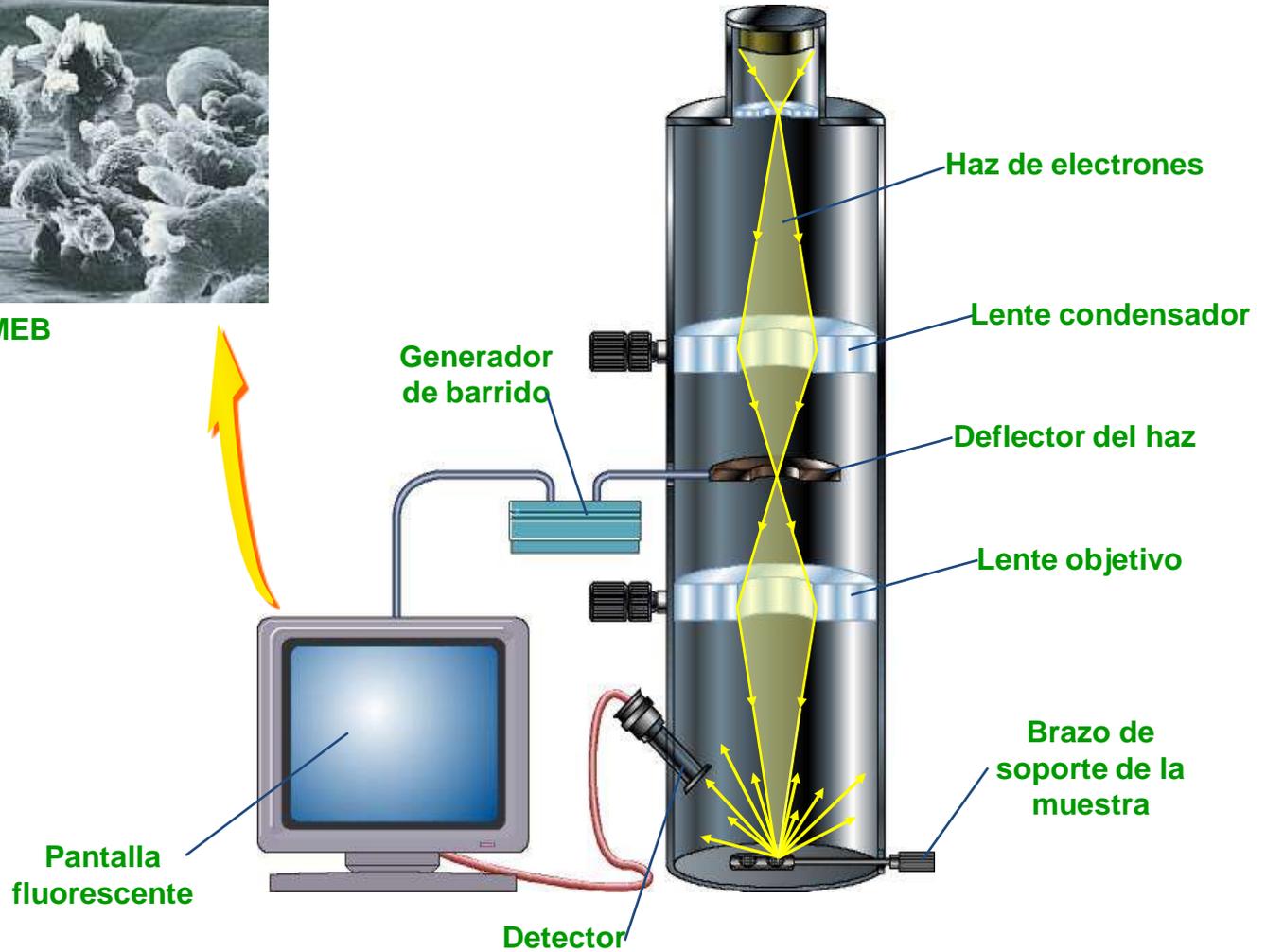
# Mitochondria (MET)



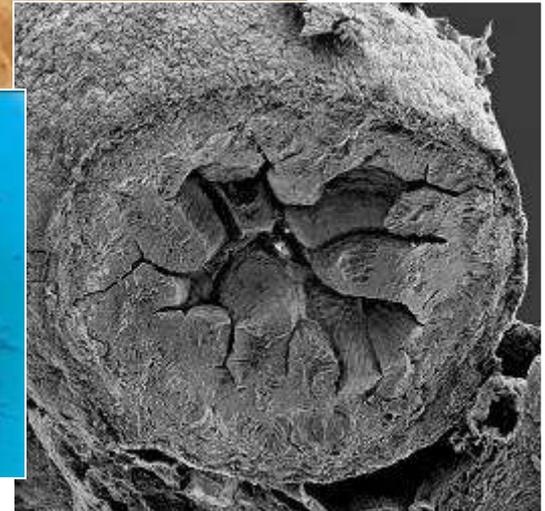
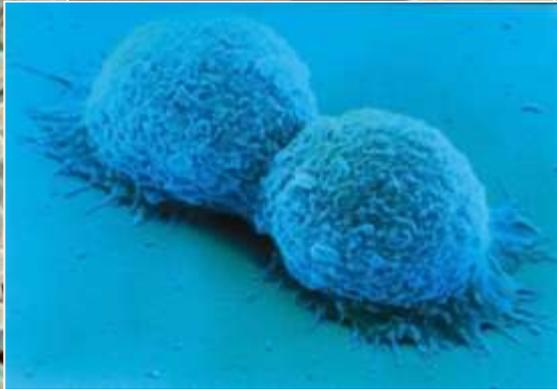
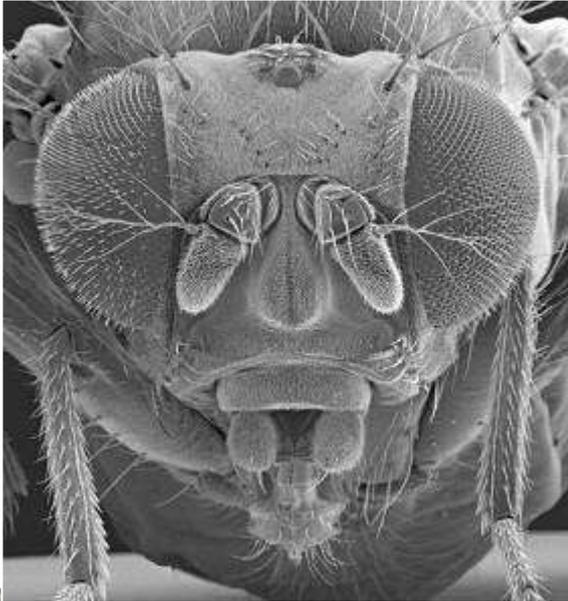
# MICROSCOPIO ELECTRÓNICO DE BARRIDO (MEB)



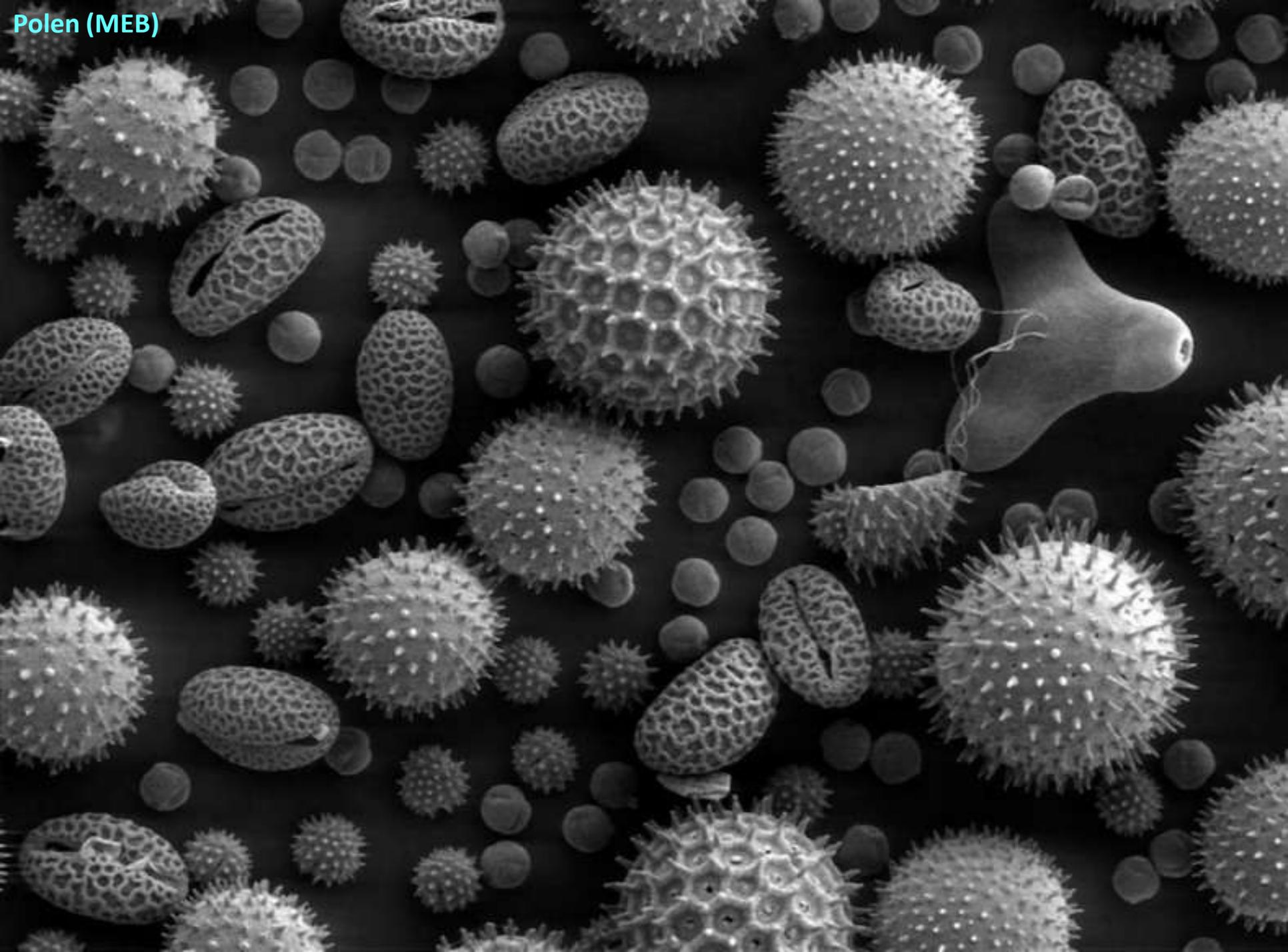
Ameba a MEB



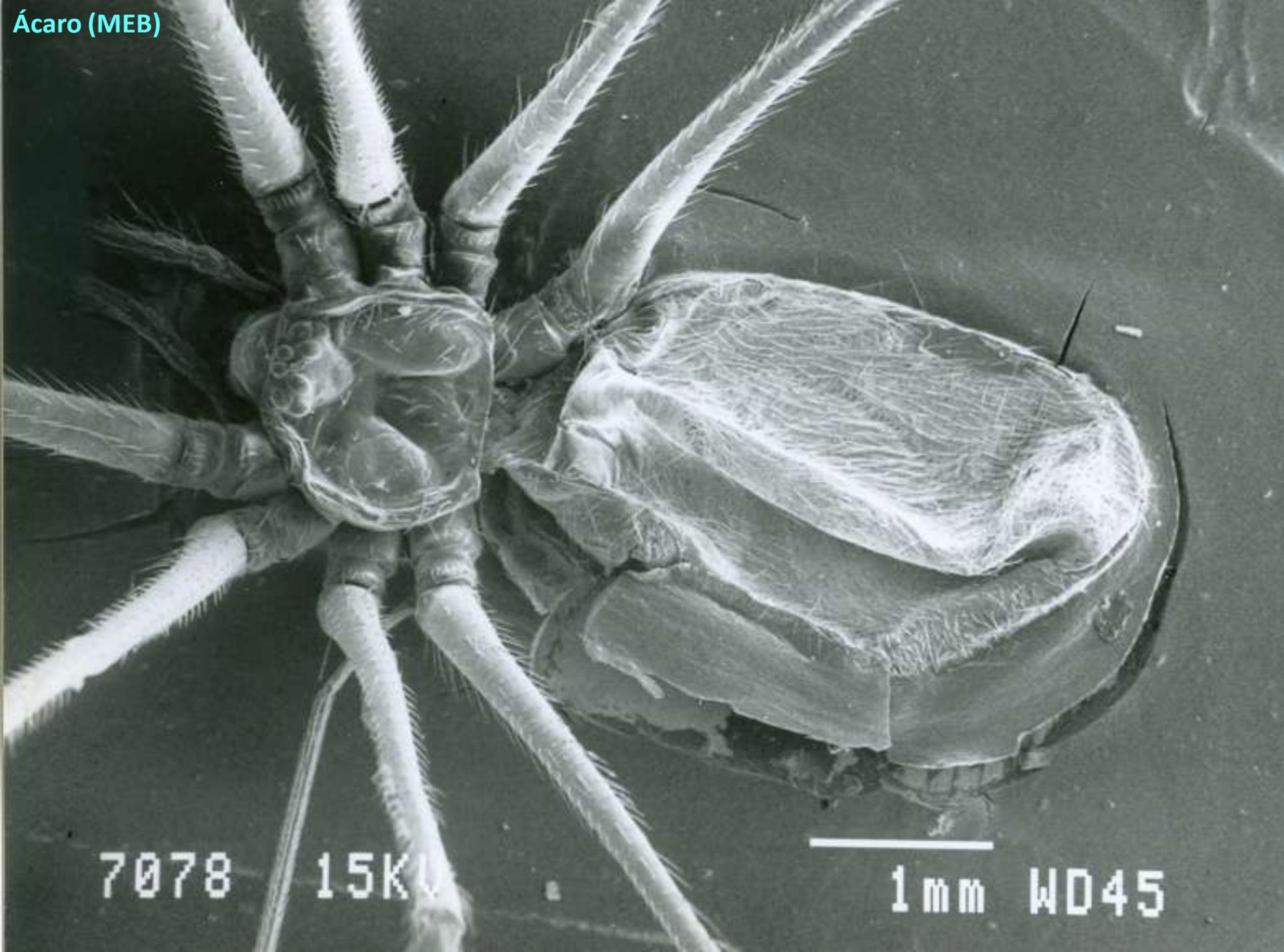
# Fotografías de microscopio electrónico de barrido (MEB)



Polen (MEB)



Ácaro (MEB)



7078

15KV

1mm

WD45

# RESUMEN COMPARATIVO DE LOS TIPOS DE MICROSCOPIOS

Característica	MO	MET	MEB
Portátil	sí	no	no
Aumento	x 2 500	x 500 000	x 20 000
Tamaño mínimo observable	120 nm	1 nm	10 nm
Fotografía	B/N y color	B/N	B/N
Observación <i>in vivo</i>	sí	no	no

FIN