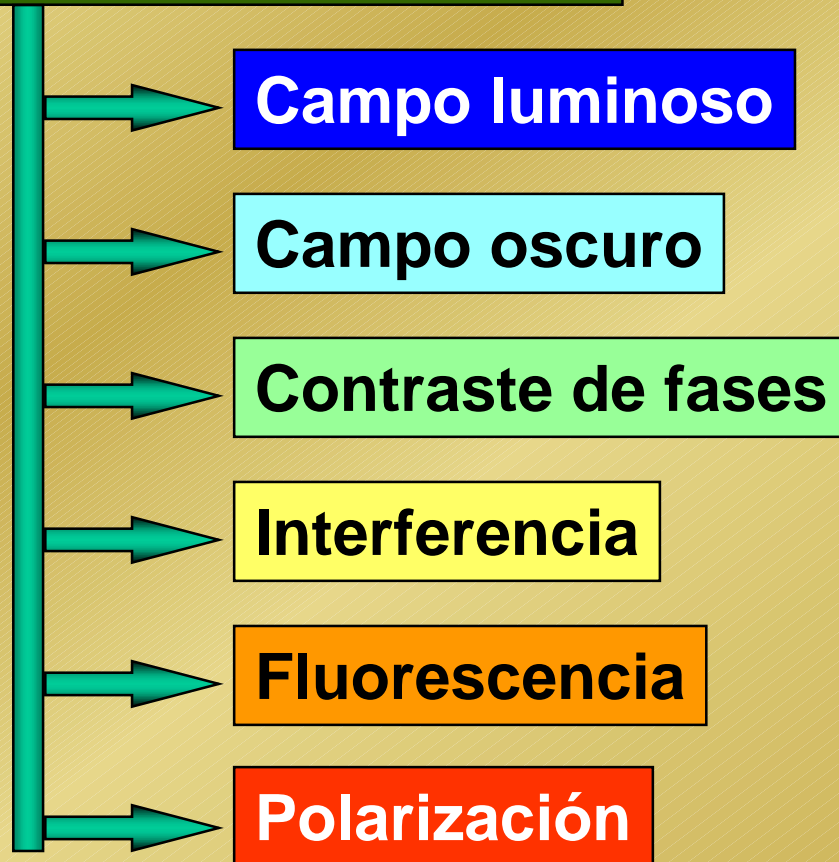


Práctica 1:
El Microscopio Óptico.
Observación
Microscópica de los
Organismos

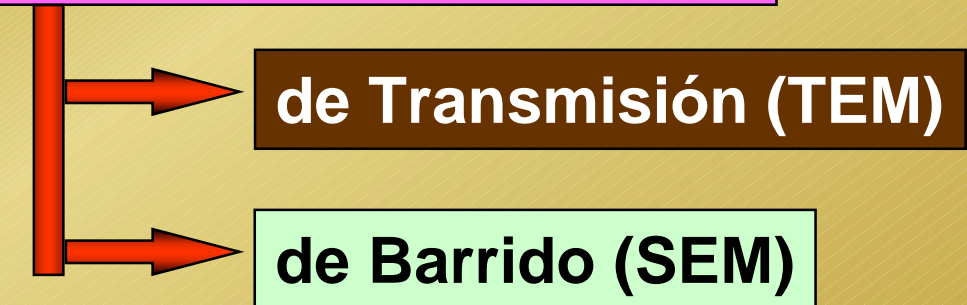


Tipos de microscopios

Microscopio óptico



Microscopio electrónico



Microscopio de campo luminoso

- El campo de observación se encuentra iluminado; los microorganismos aparecen más oscuros que el fondo debido a que absorben luz.
- Partes del microscopio óptico.
- Amplificación: La amplificación de un microscopio es el producto de número de aumentos del objetivo por los del ocular. Aumentos útiles: x1000 a x2000
- Poder de resolución: capacidad de una lente para mostrar dos objetos muy cercanos como distintos, discretos y separados.
- Apertura Numérica (AN): expresión matemática que describe la forma en que la luz es concentrada por el condensador y captada por el objetivo. $AN = n \times \text{sen } \theta$
 - $n =$ índice de refracción del medio entre las lentes y la muestra (1.0 para el aire; 1.56 para el aceite de inmersión).
 - $\theta =$ ángulo formado por el eje óptico y los rayos de luz más externos que son captados por el objetivo



Microscopio de campo luminoso

- **Límite de resolución (d)**: distancia más pequeña por la cual dos objetos pueden estar separados y ser todavía distinguibles como dos objetos separados.

- d, depende de la AN y de la longitud de onda de la luz empleada:

$$d = \lambda / (AN_{\text{obj}} + AN_{\text{cond}}) = \lambda / (2AN)$$

- Formas de reducir el límite de resolución:
 - ◆ Disminuyendo la longitud de onda.
 - ◆ Aumentando la Apertura Numérica.
- El límite de resolución máximo que se consigue en los microscopios de campo luminoso se sitúa en **0.22-0.25 μm .**

Microscopio de campo luminoso

- **Área de campo**: diámetro de la parte de la preparación que se está viendo al microscopio.
- **Profundidad de campo**: espesor de la preparación enfocada en cualquier momento (mayor a pequeños aumentos).
- **Distancia focal**: es la relación existente entre la longitud del tubo del microscopio empleado y la amplificación usada en un momento dado.

$$DF = \frac{\text{Longitud del tubo}}{\text{Amplificacion}}$$

- **Distancia de trabajo**: espacio existente entre el punto más bajo del objetivo y el objeto enfocado.
- **Características de los objetivos**. Resumen.

Observación de muestras al microscopio óptico

- [Epidermis de cebolla](#)
- [Hoja de musgo](#)
- [Pulpa de tomate](#)



Microscopía de campo luminoso

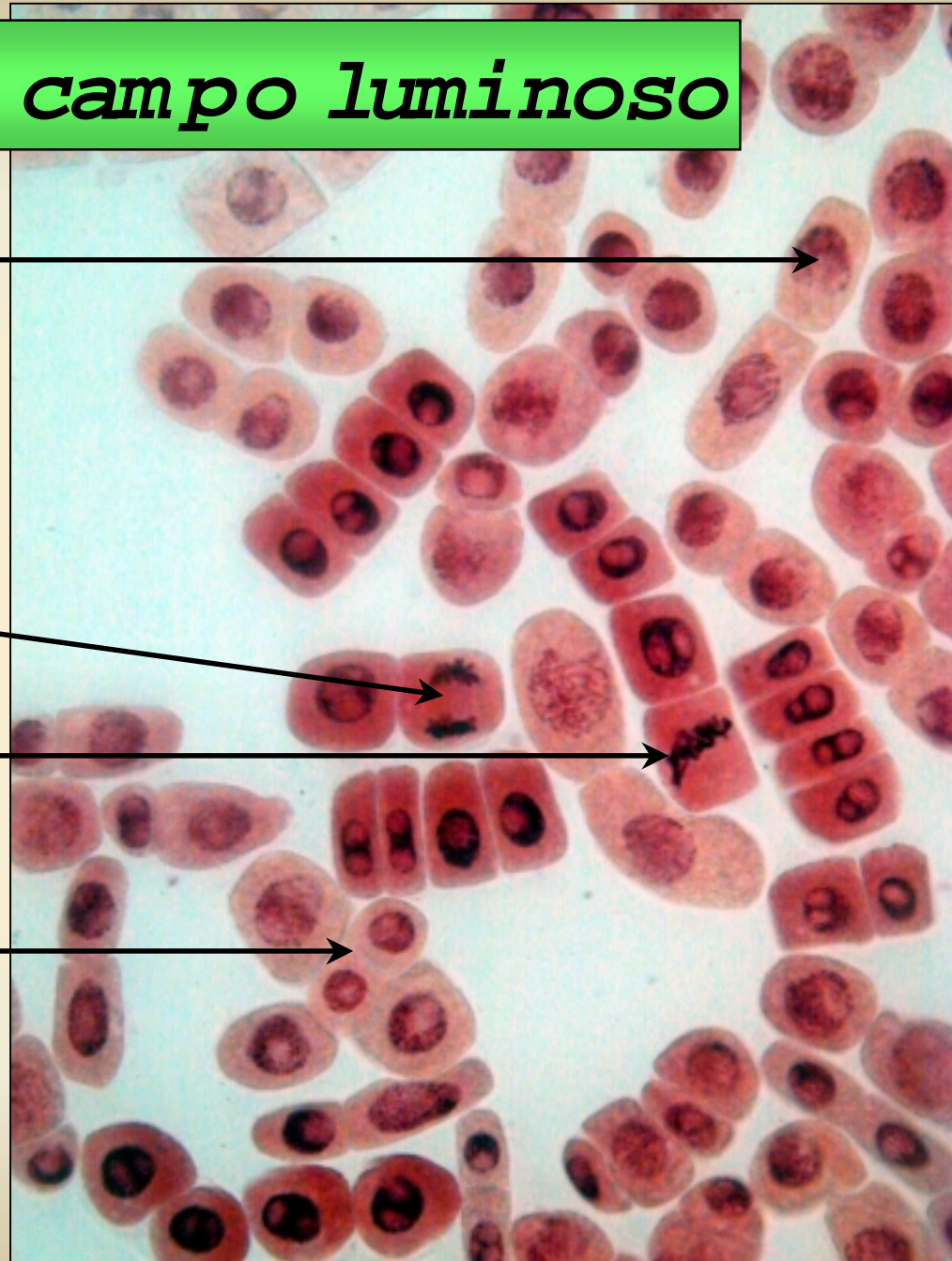
Profase

Anafase

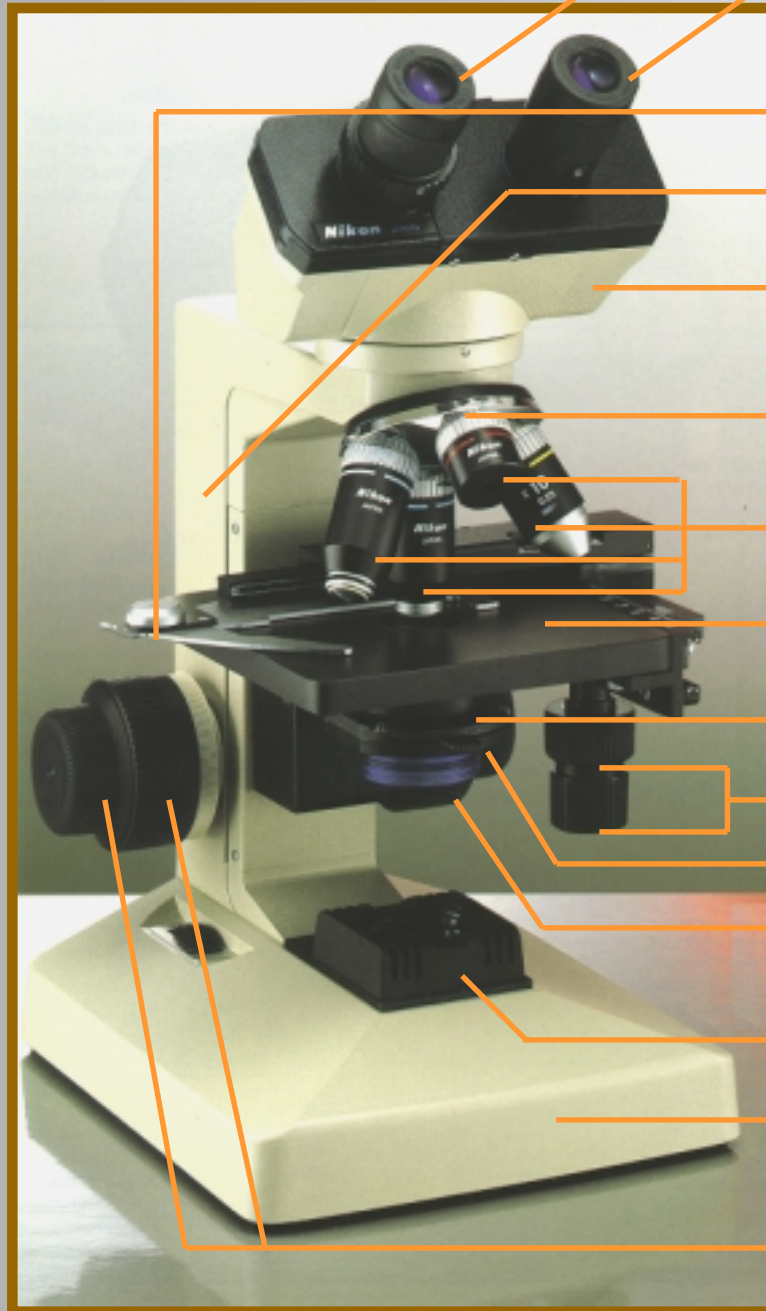
Metafase

Telofase

Micrografía de un squash de meristemo apical radical de cebolla teñido con orceína mostrando distintas fases de la mitosis.



Oculares



Portaobjetos cruzado acoplable

Brazo

Tubo binocular

Revolver

Objetivos

Platina portaobjetos

Condensador

Mandos movimiento de la platina

Diafragma iris

Filtro

Iluminación por proyección

Base o pie

Mandos de ajuste fino y grueso



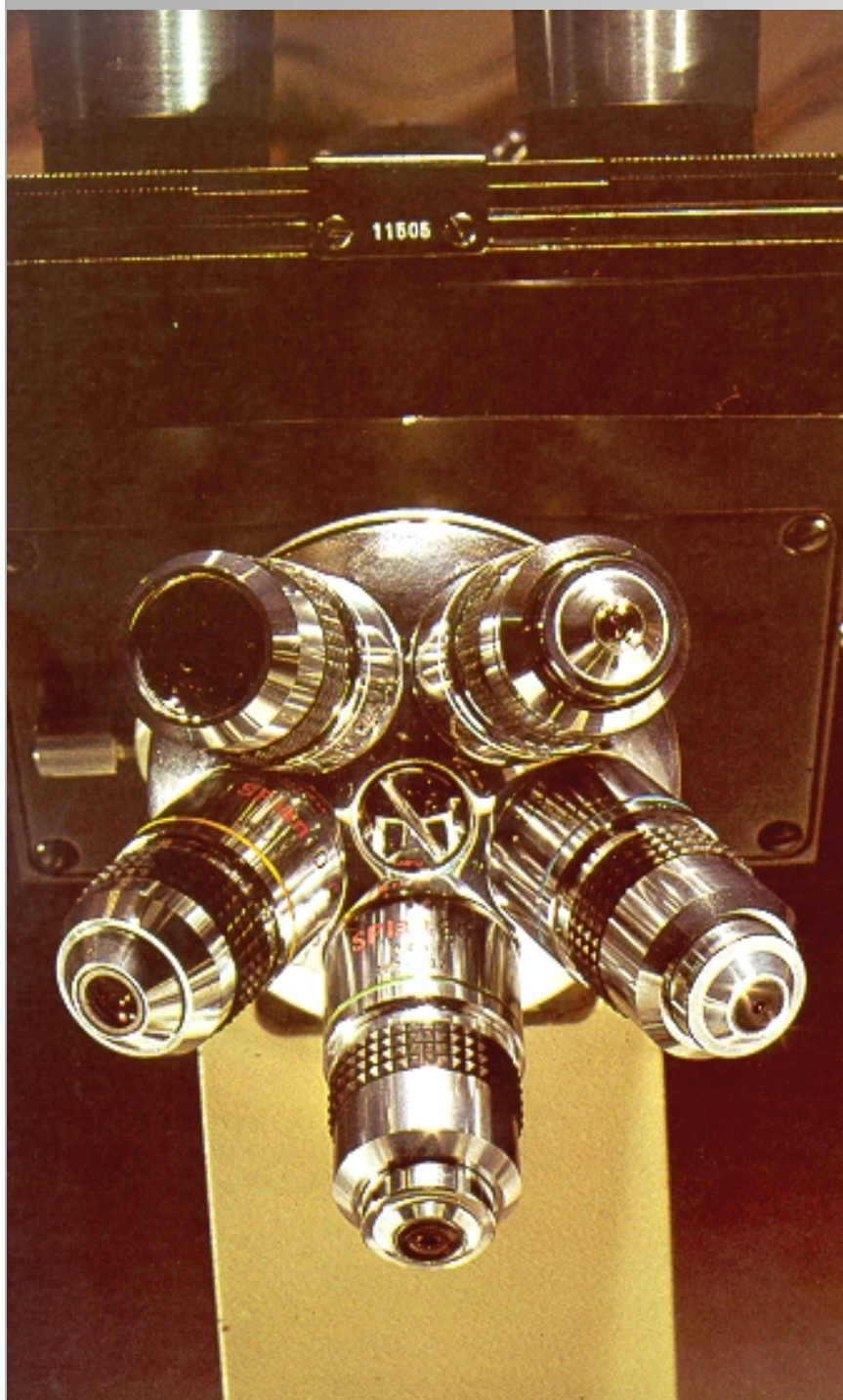
Fotografía del cabezal binocular de un microscopio.





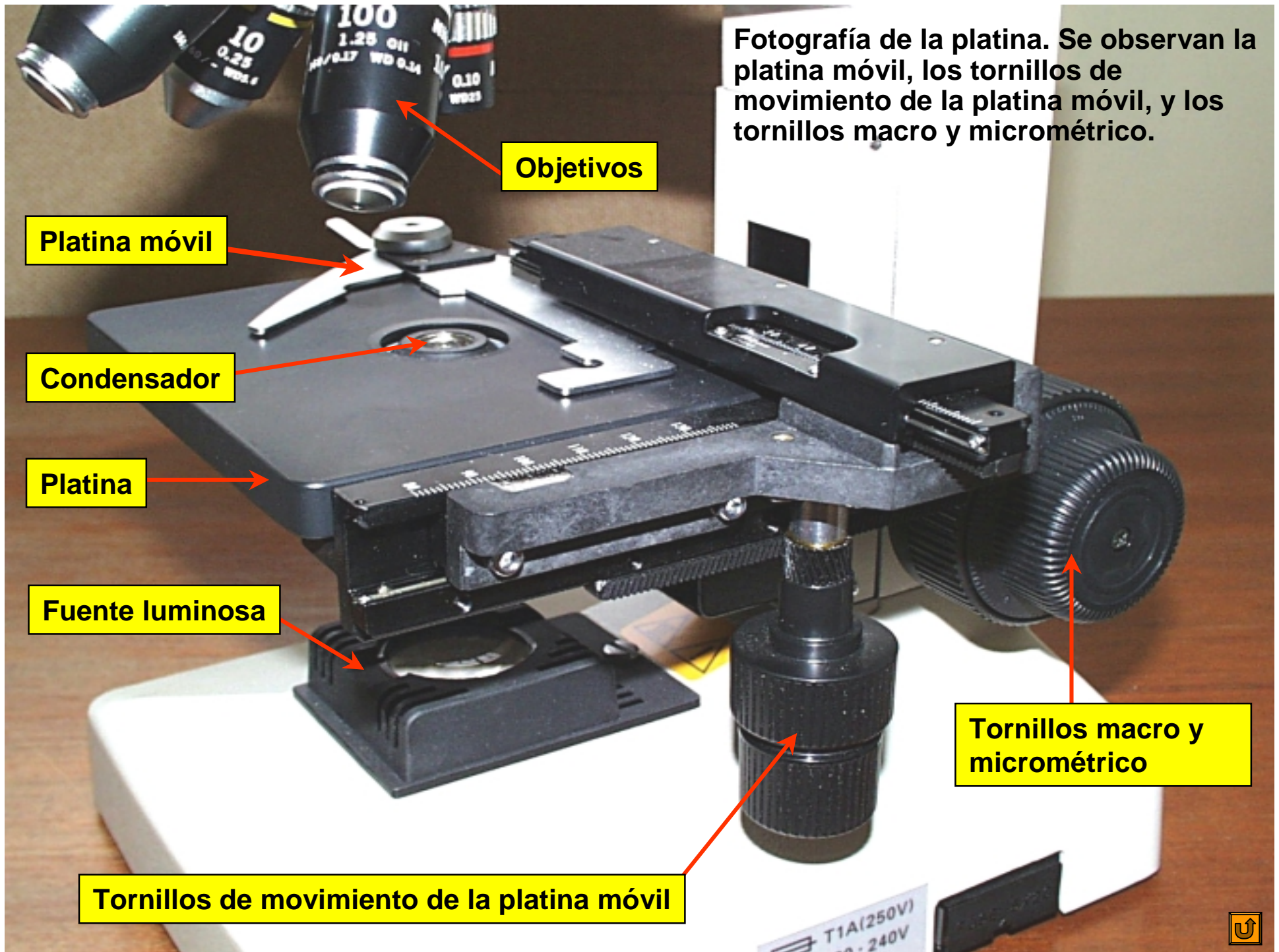
Vista lateral del revolver con los objetivos enroscados





Vista inferior del revolver, pieza donde se enroscan los objetivos de un microscopio.





Fotografía de la platina. Se observan la platina móvil, los tornillos de movimiento de la platina móvil, y los tornillos macro y micrométrico.

Objetivos

Platina móvil

Condensador

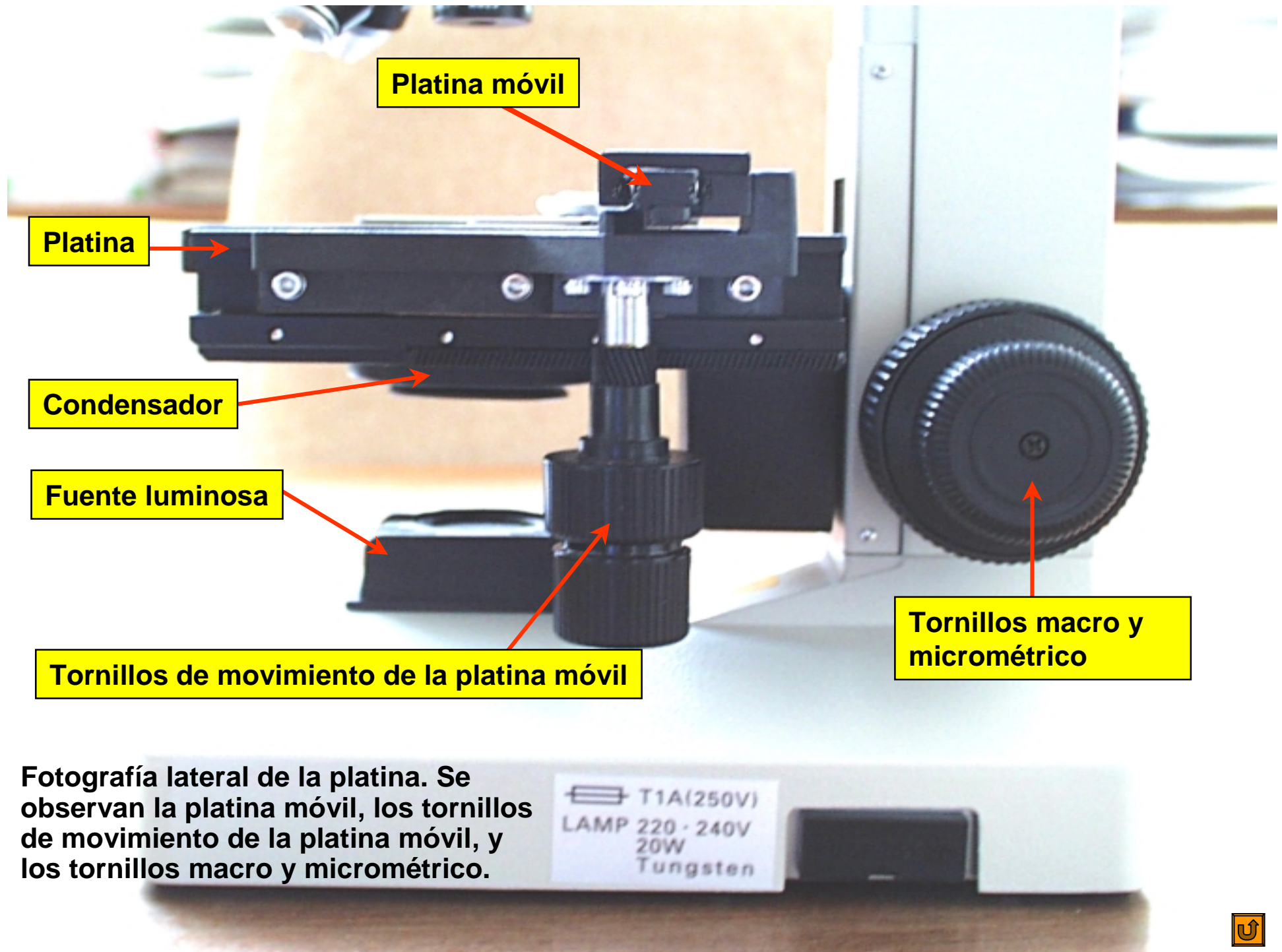
Platina

Fuente luminosa

Tornillos de movimiento de la platina móvil

Tornillos macro y micrométrico





Fotografía lateral de la platina. Se observan la platina móvil, los tornillos de movimiento de la platina móvil, y los tornillos macro y micrométrico.

Platina

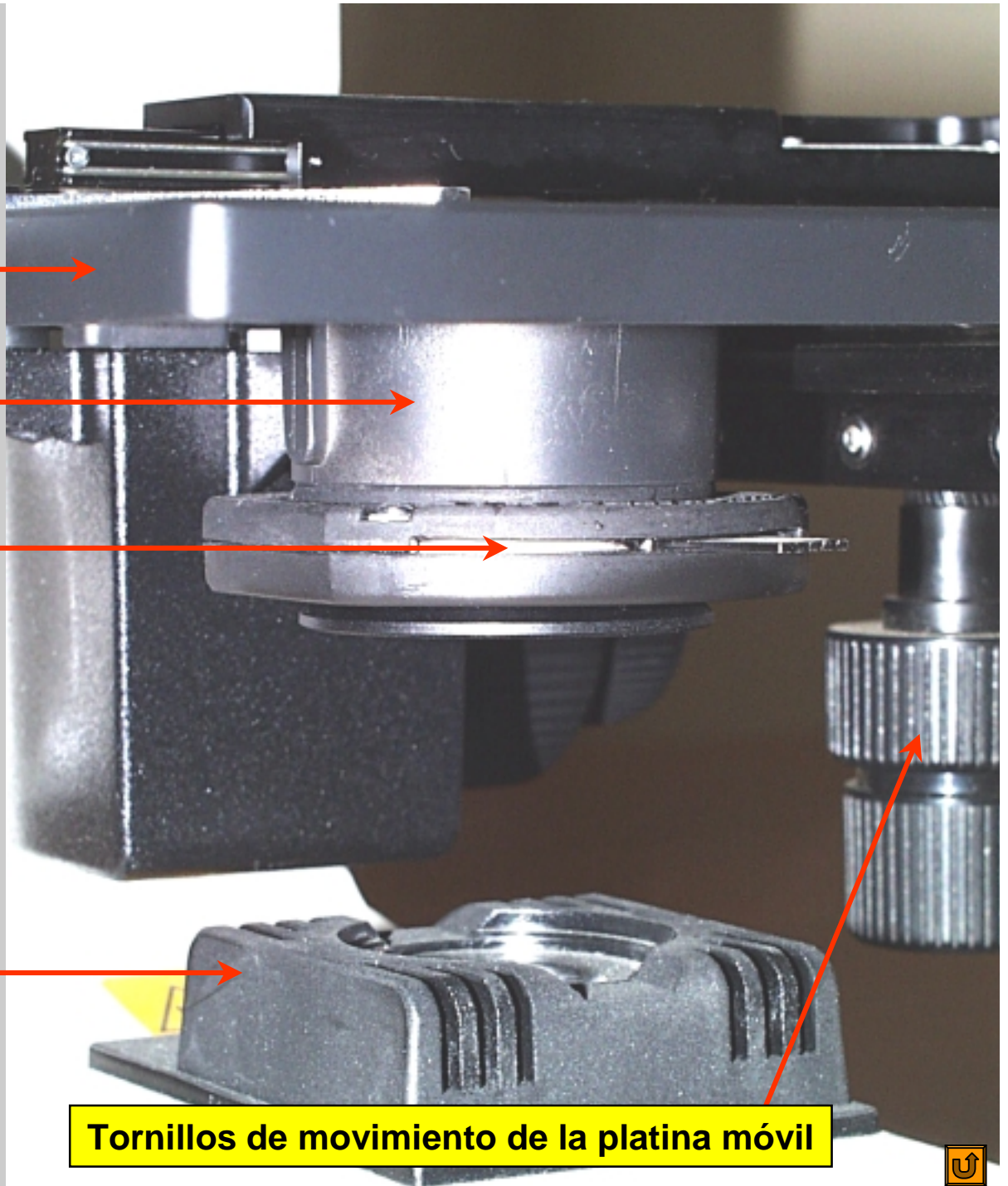
Condensador

Diafragma iris

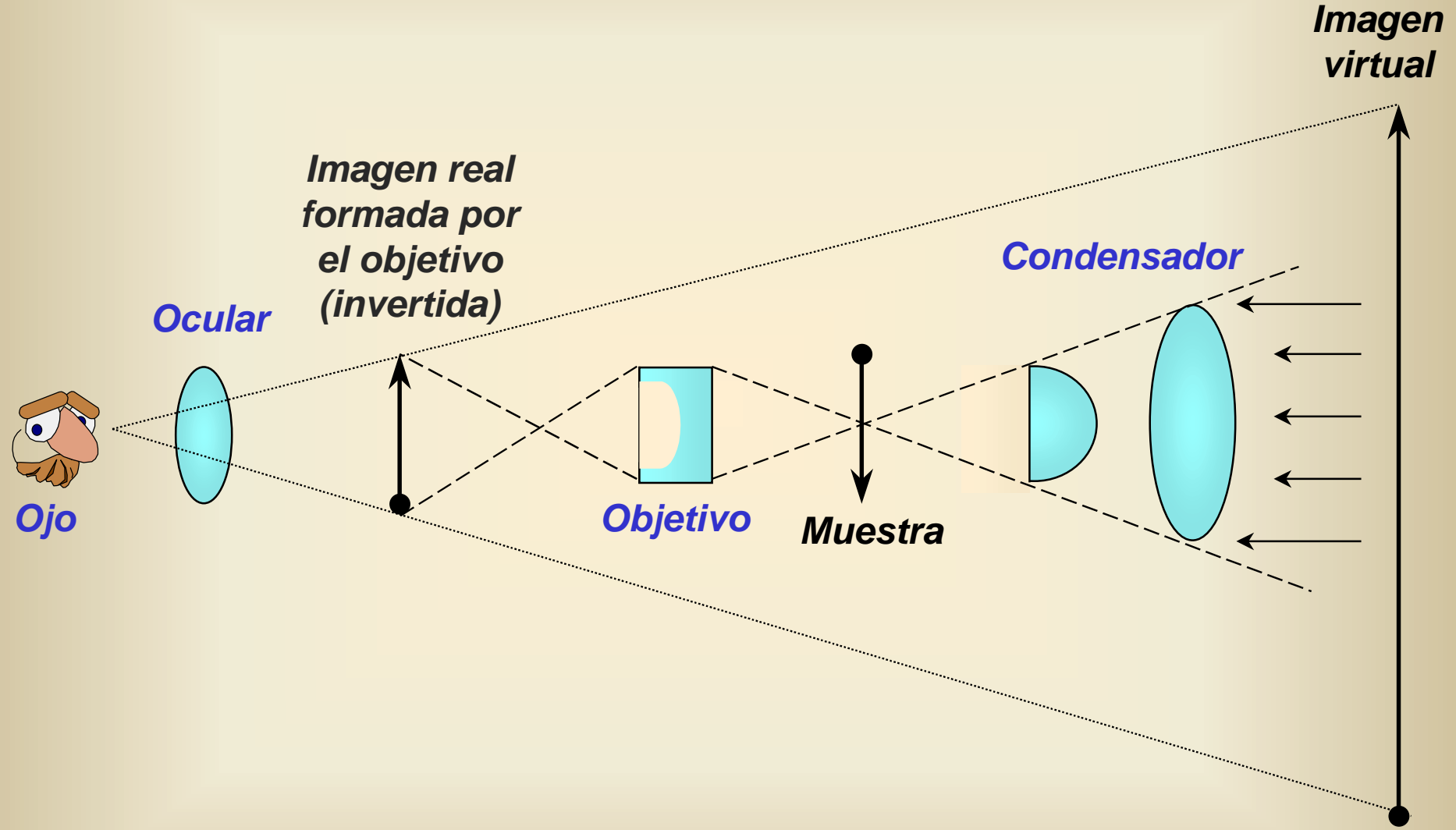
Fuente luminosa

Tornillos de movimiento de la platina móvil

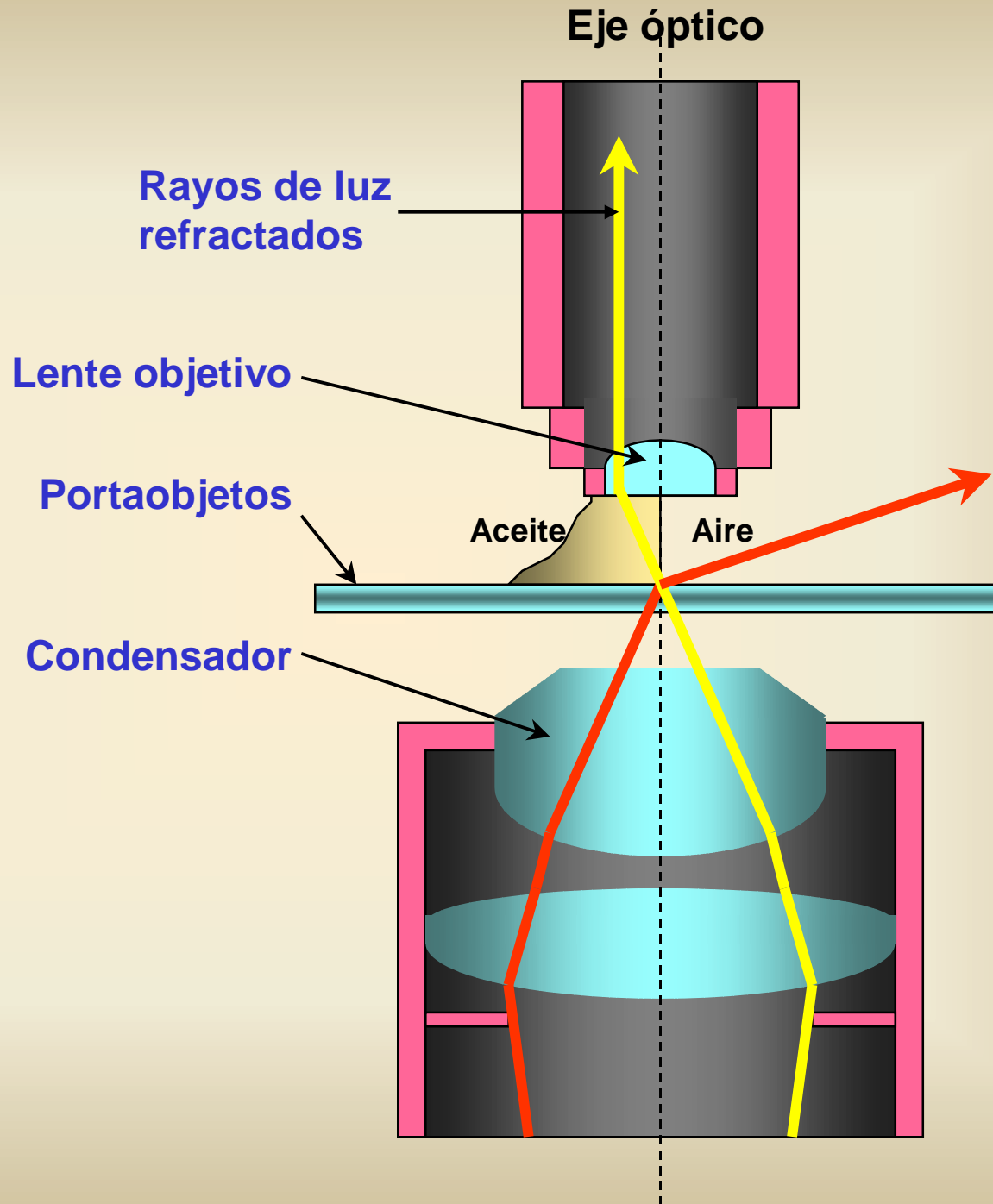
Detalle del condensador y la fuente luminosa.



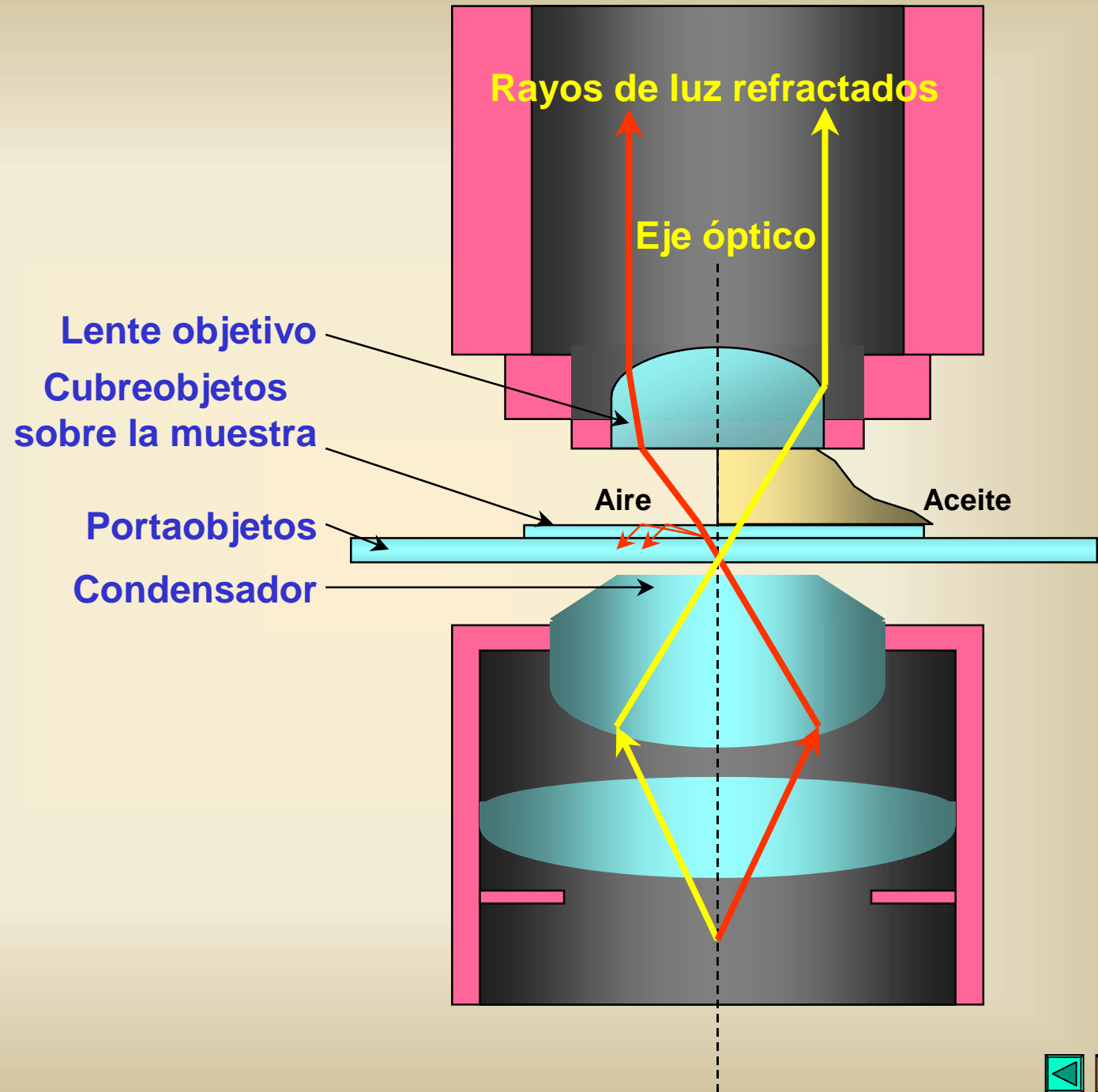
Amplificación en un sistema de dos lentes



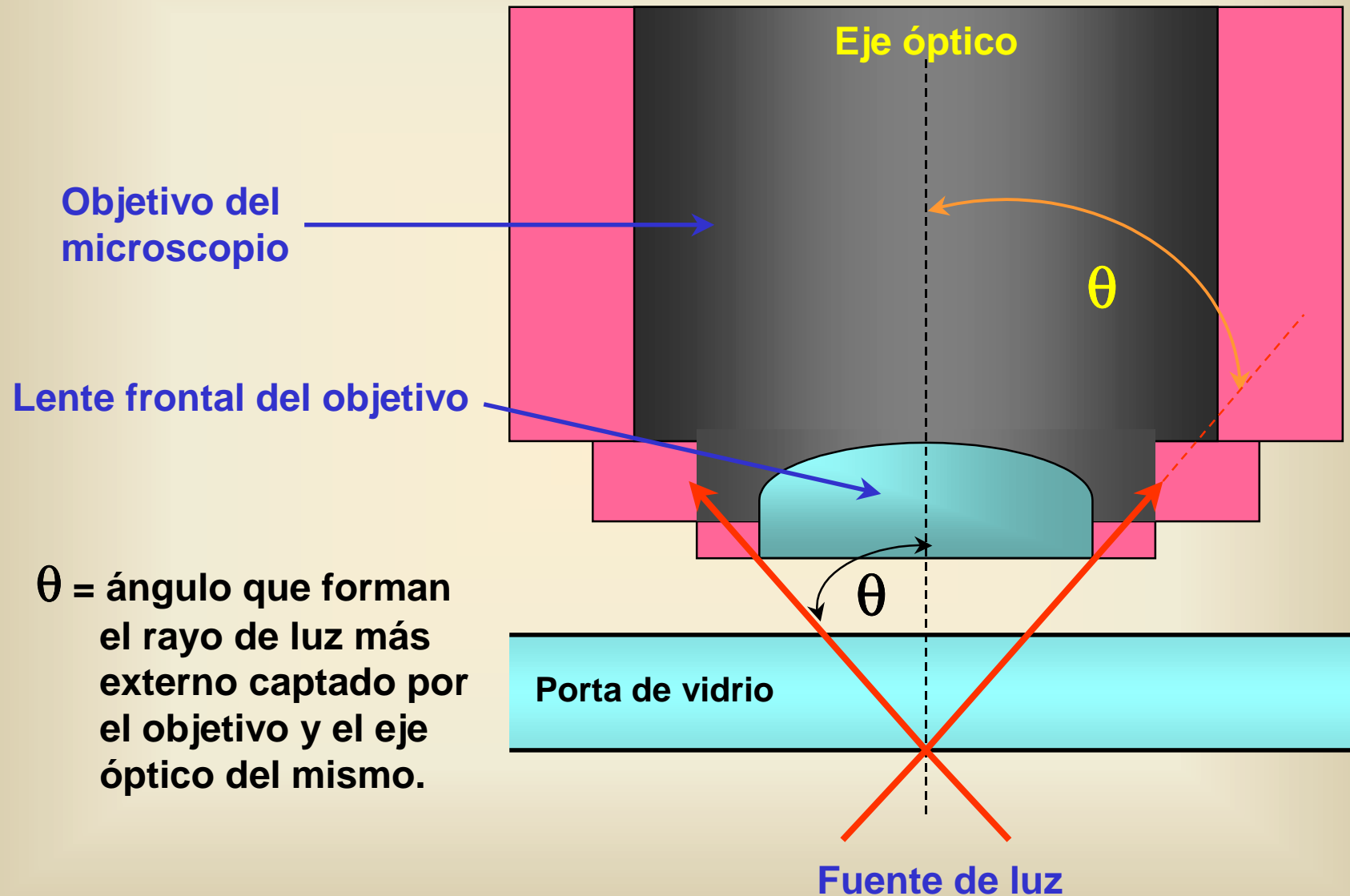
Refracción de la luz a través del aire y del aceite de inmersión-1



Refracción de la luz a través del aire y del aceite de inmersión-2



La apertura numérica



Determinación de la apertura numérica

$$AN = n \times \text{sen } \theta$$

Ejemplos:

Objetivo seco:

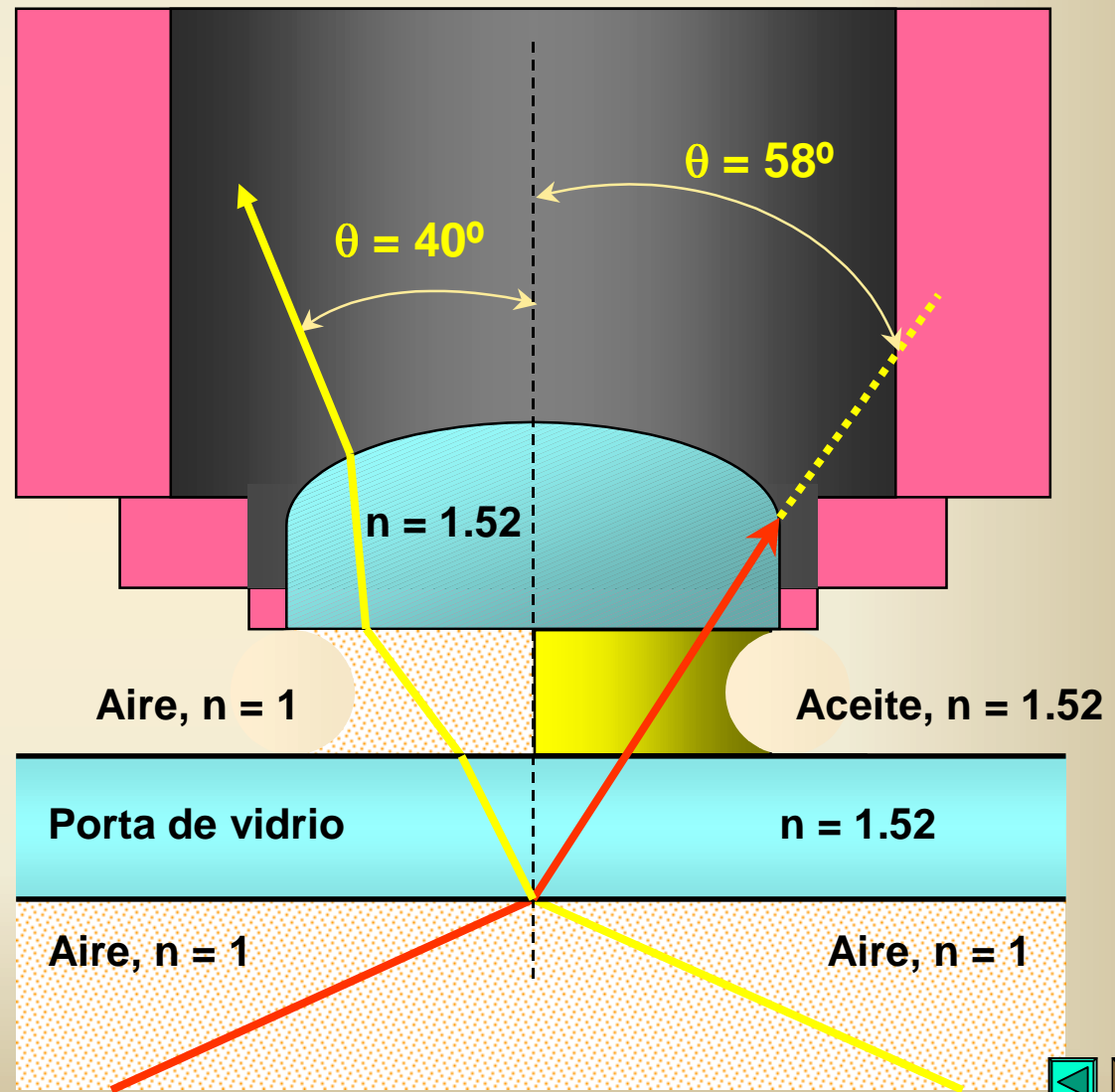
$$AN = 1.00 \times \text{sen } 40^\circ$$

$$AN = 0.64 (<1)$$

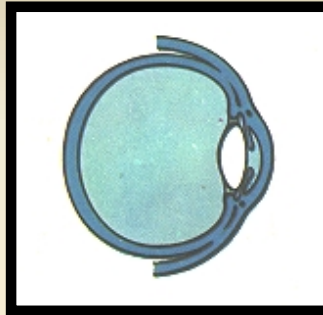
Objetivo de inmersión:

$$AN = 1.52 \times \text{sen } 58^\circ$$

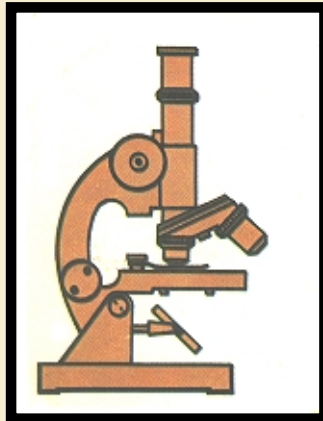
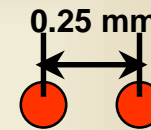
$$AN = 1.29 (>1)$$



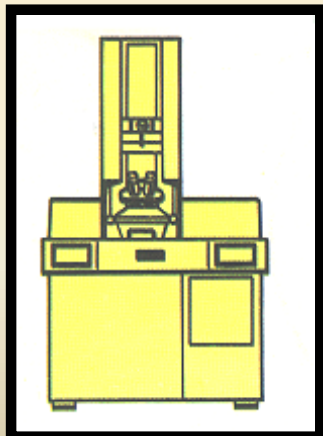
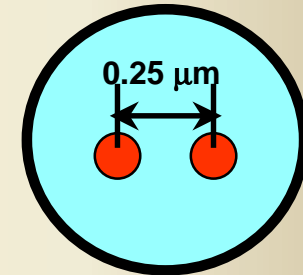
Poder de resolución



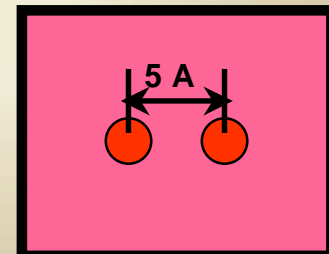
El ojo humano puede separar puntos distantes 0.25 mm



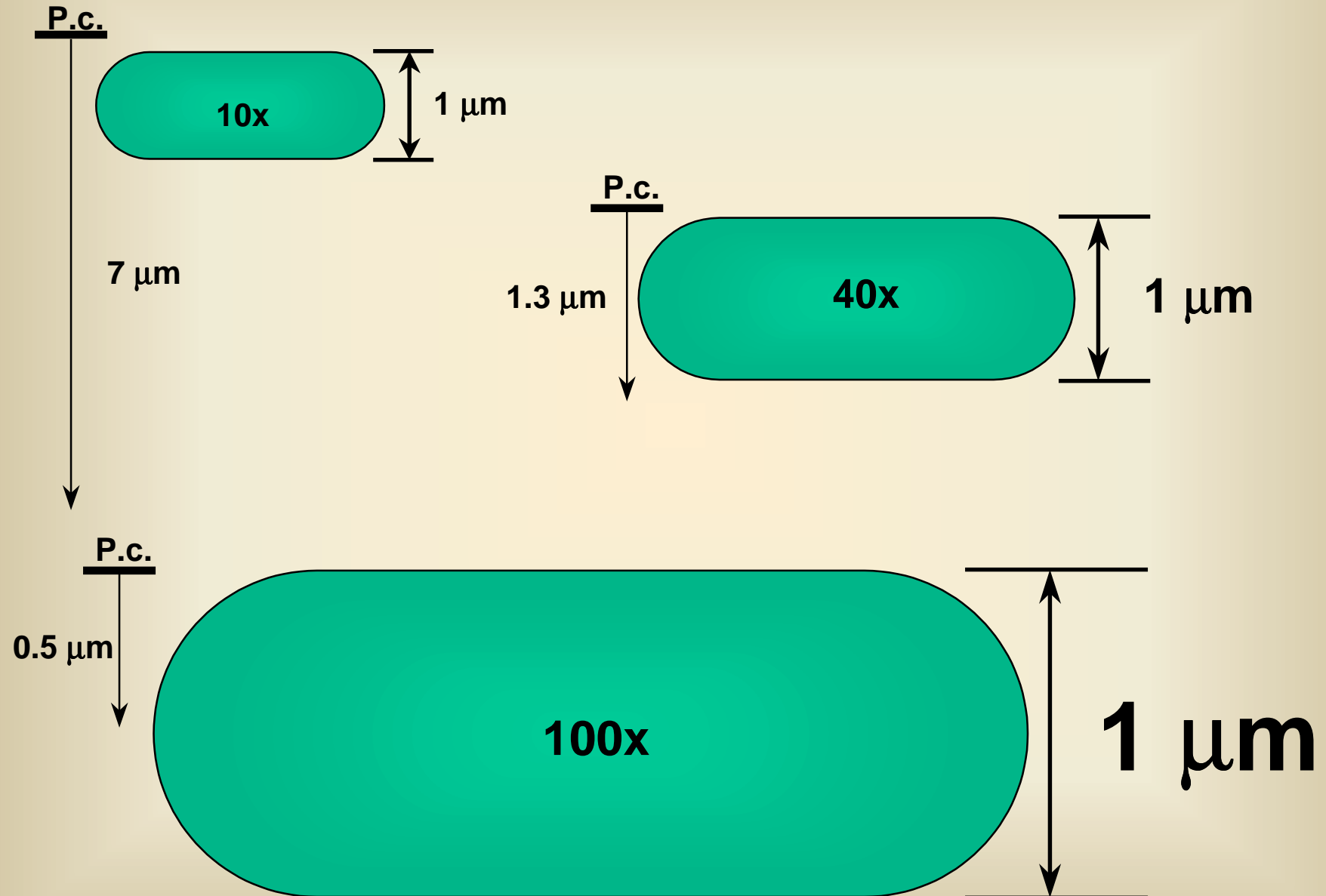
El microscopio óptico puede separar puntos de 0.25 μm de separación



El microscopio electrónico puede separar puntos de una distancia inferior a 5 unidades Angstrom.



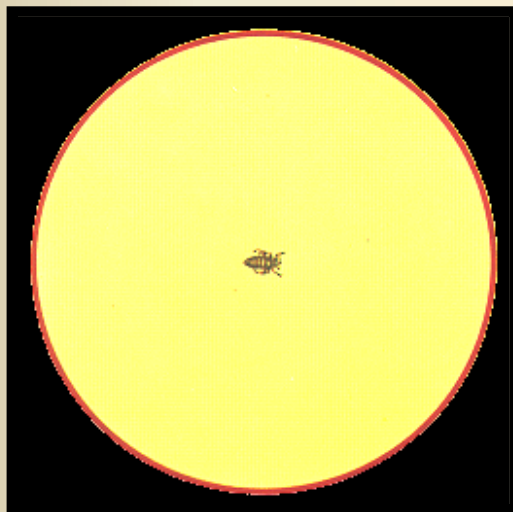
Profundidad de campo



Área de campo

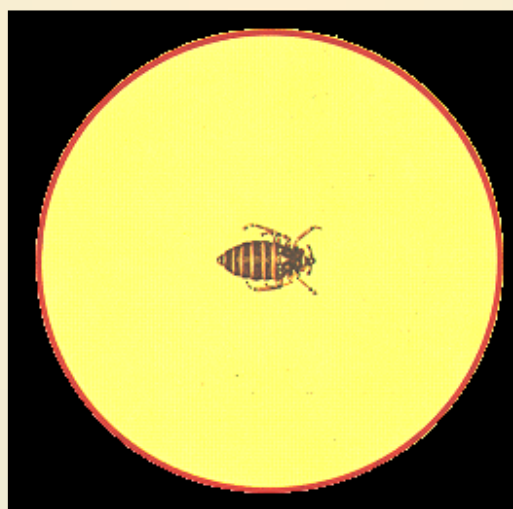
Aspecto del área de campo de una muestra. Observar como a medida que la amplificación aumenta, el objeto también lo hace, pero el área del campo disminuye.

x4



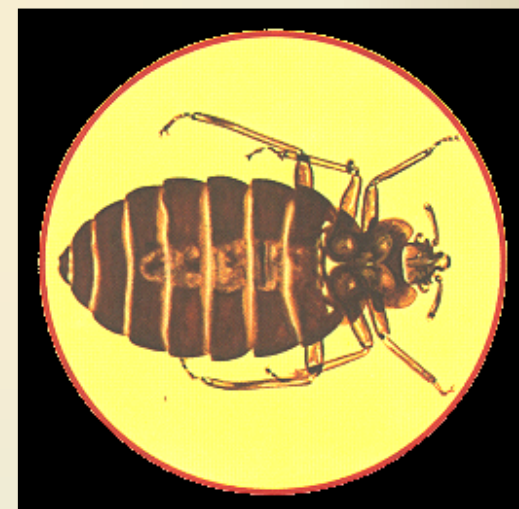
3.5 mm

x10



1,5 mm

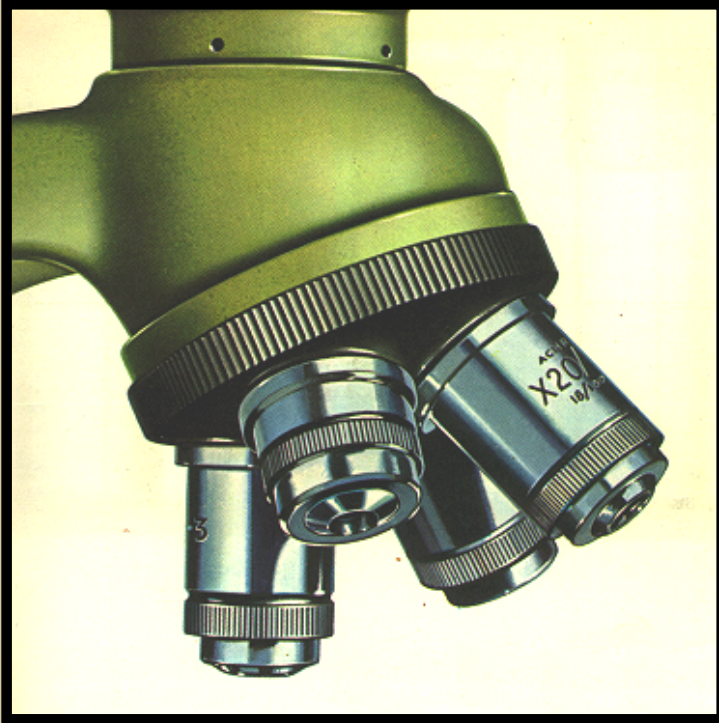
x40



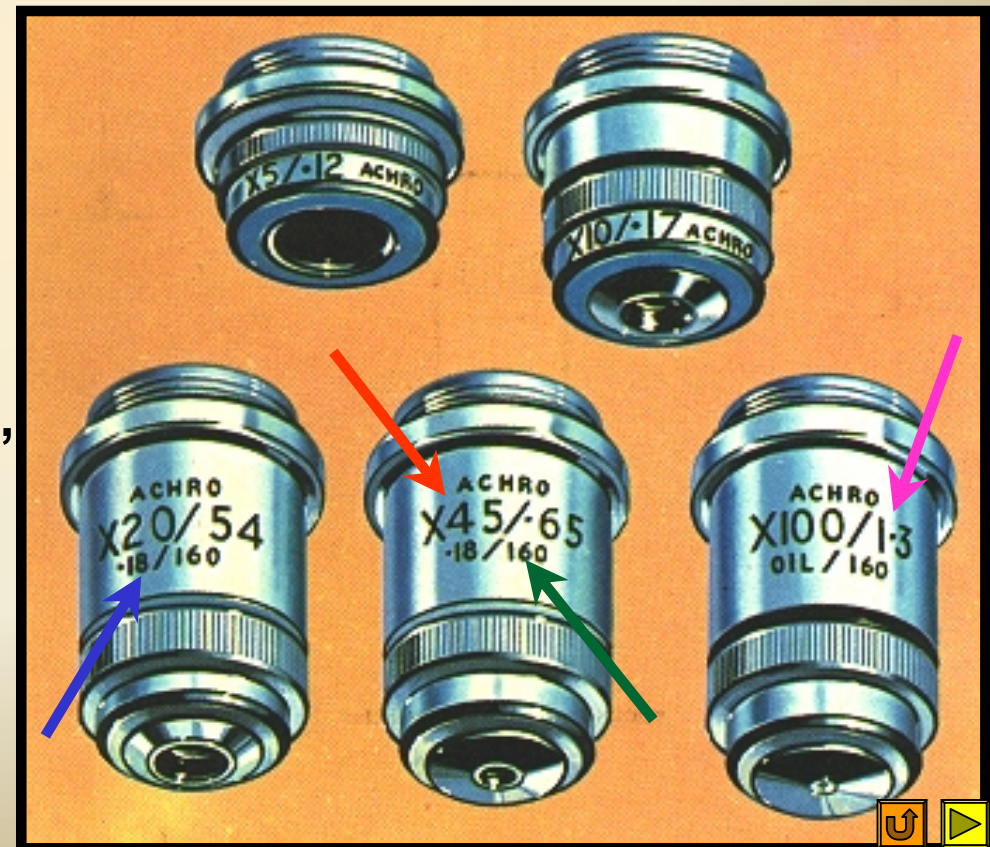
0.35 mm



Los objetivos



Aumentos: x 5, x10, x20, x45, x100
Apertura Numérica: 0.12, 0.17, 0.54,
0.65, 1.3
Longitud del tubo: 160 mm
Grosor del cubreobjetos: 0.18 mm



Características típicas de los objetivos

	Objetivos		
	Seco de pocos aumentos (10 x)	Seco de muchos aumentos (40 x)	De inmersión (100 x)
Amplificación (con un ocular de 10 x)	100 aumentos	400 aumentos	1000 aumentos
Distancia focal	16 mm	4 mm	1.8 mm
Distancia de trabajo	4 - 8 mm	0.2 - 0.6 mm	0.11 - 0.16 mm
Apertura Numérica	0.25	0.85	1.25
Límite de resolución	1.10 μm	0.32 μm	0.22 μm
Profundidad de campo	7.0 μm	1.3 μm	0.5 μm
Área de campo	1.5 mm	0.35 mm	0.17 mm

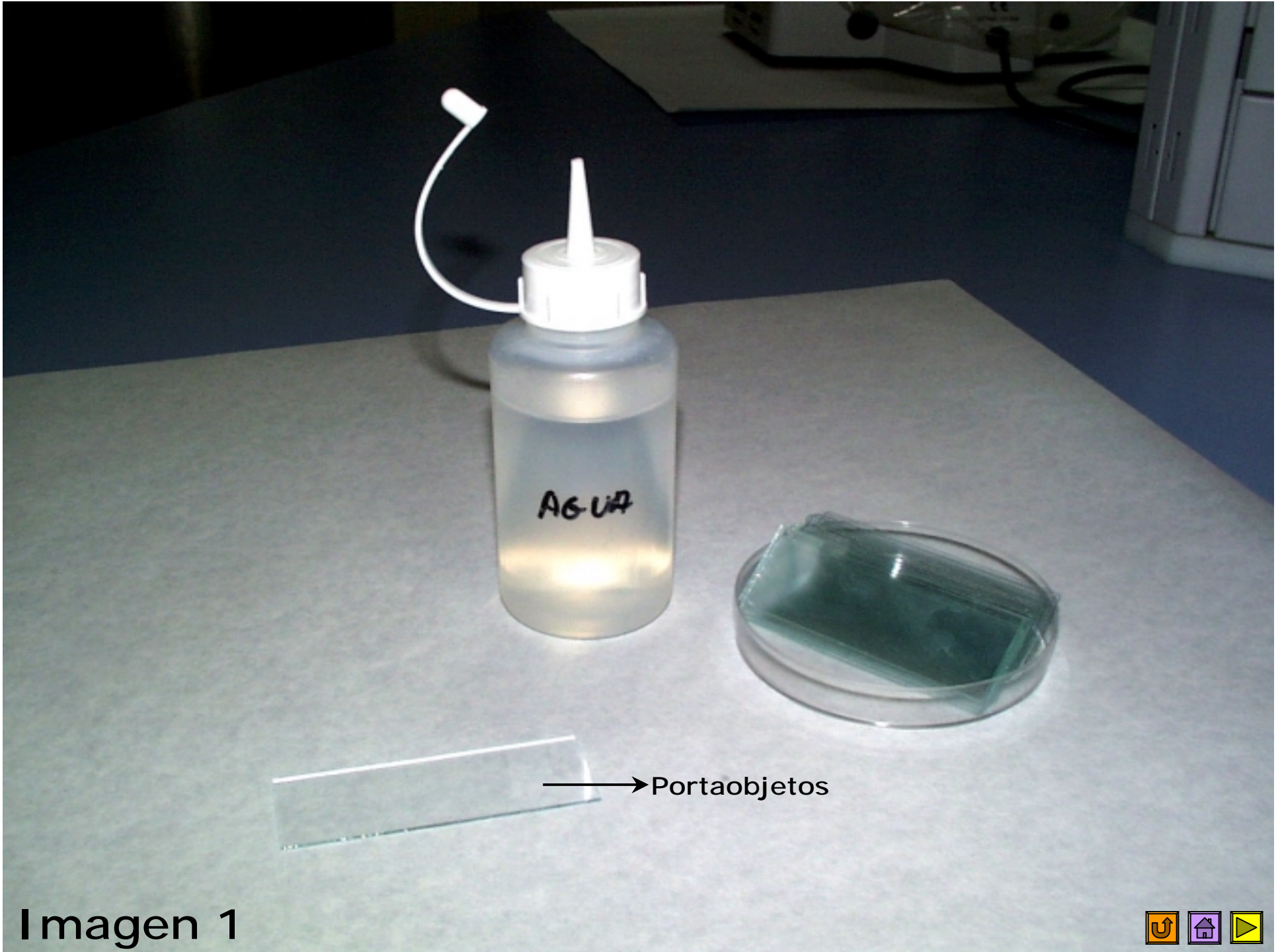


Imagen 1



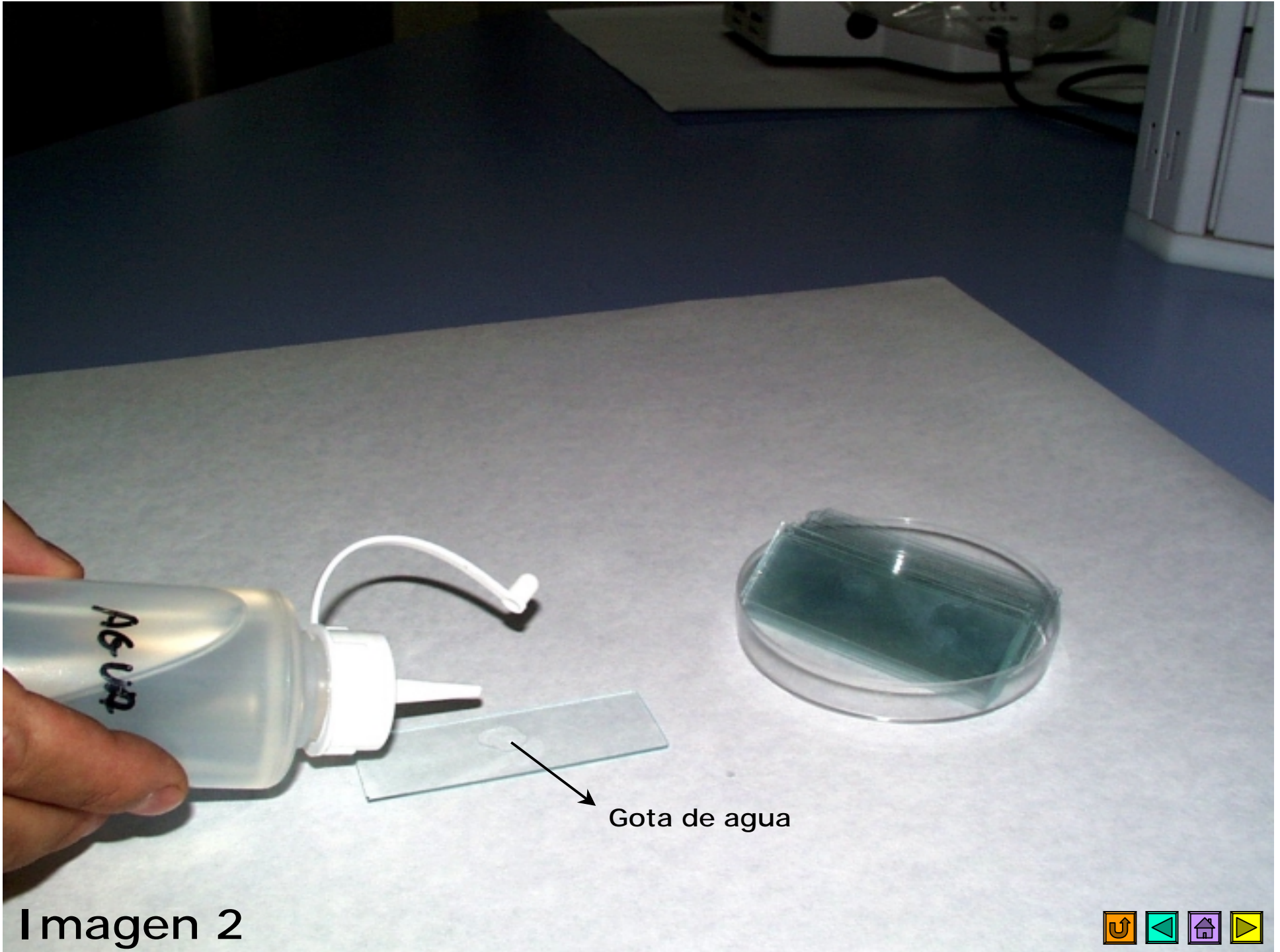


Imagen 2



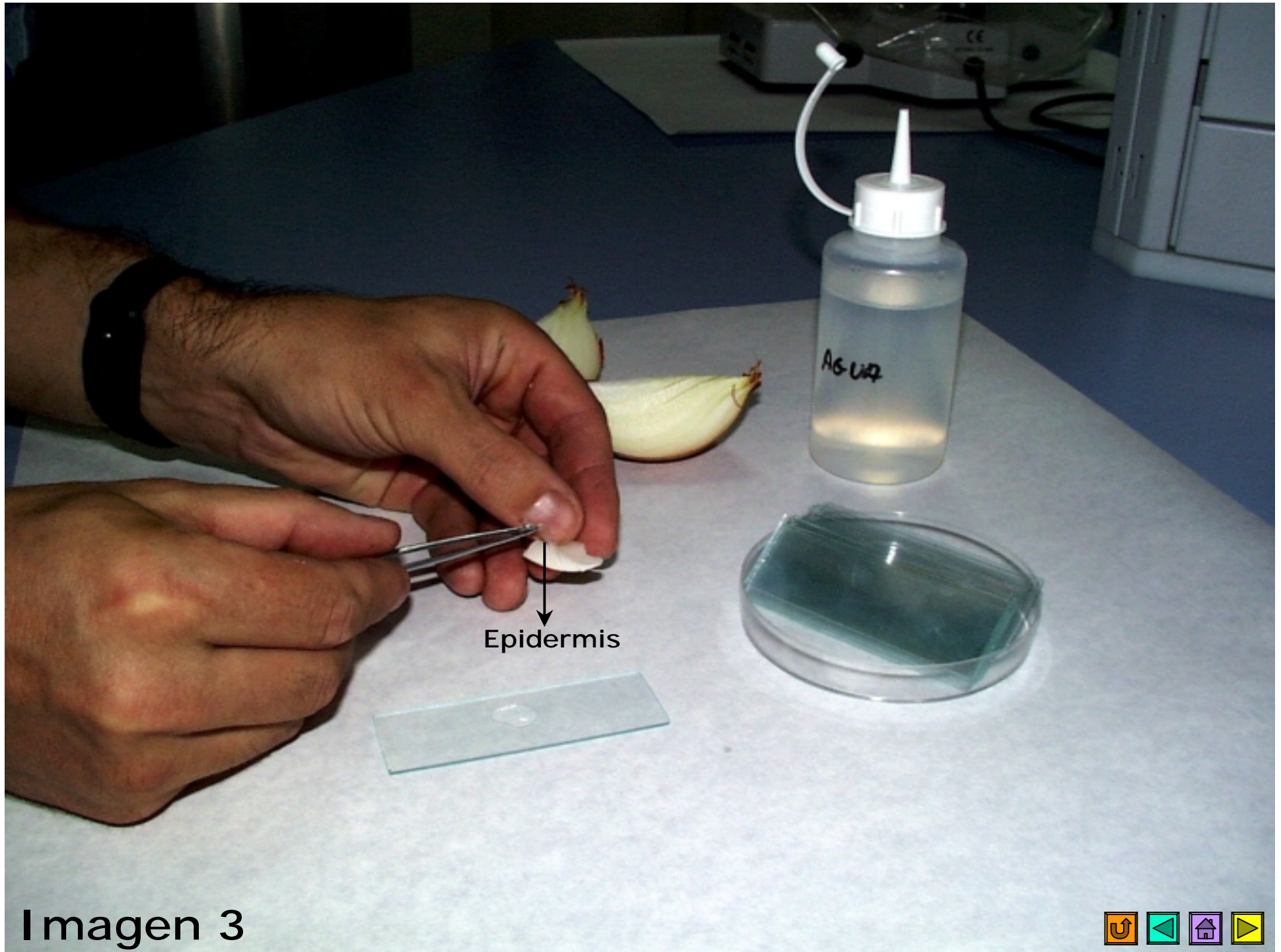


Imagen 3



Imagen 4

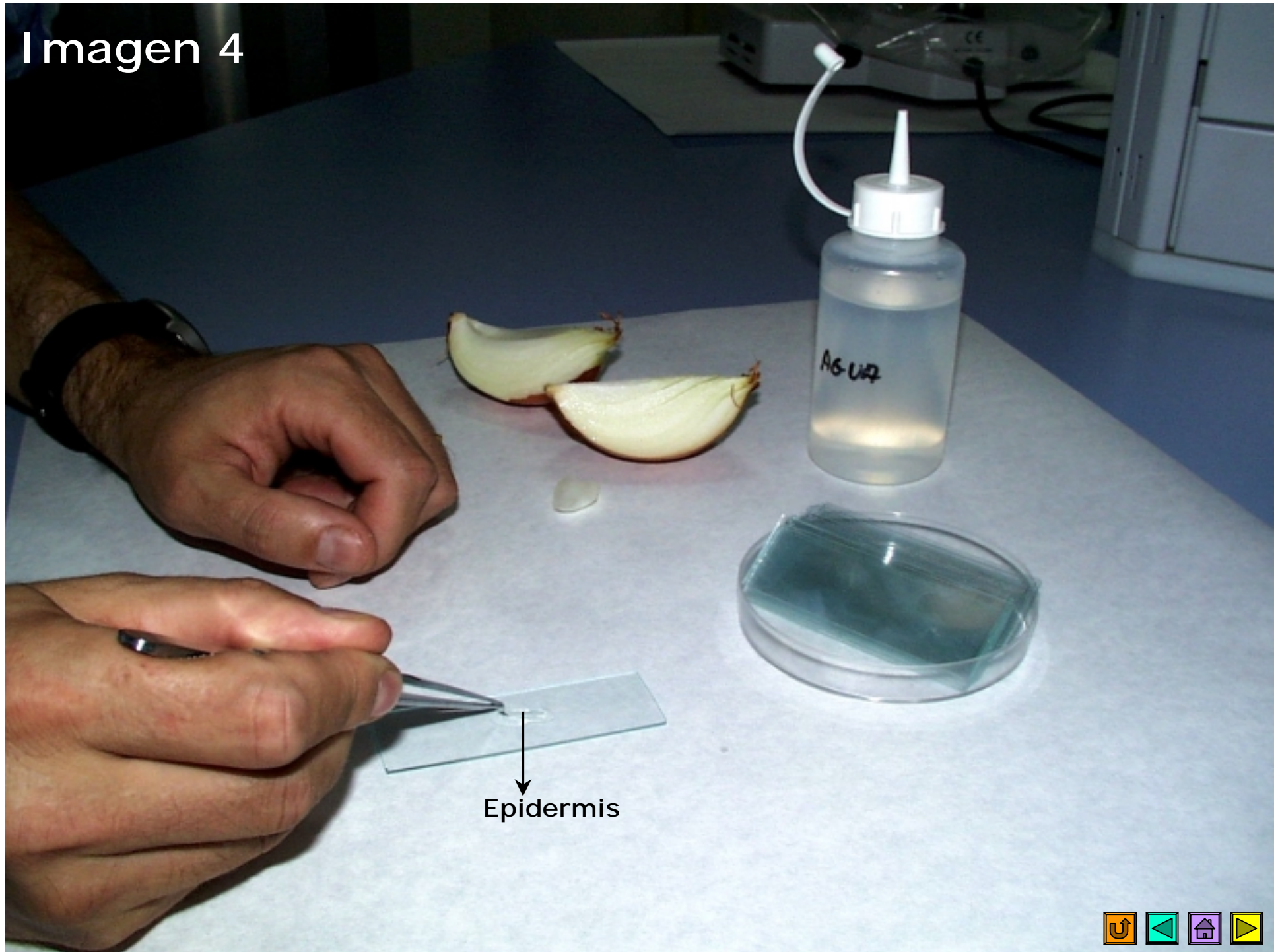


Imagen 5

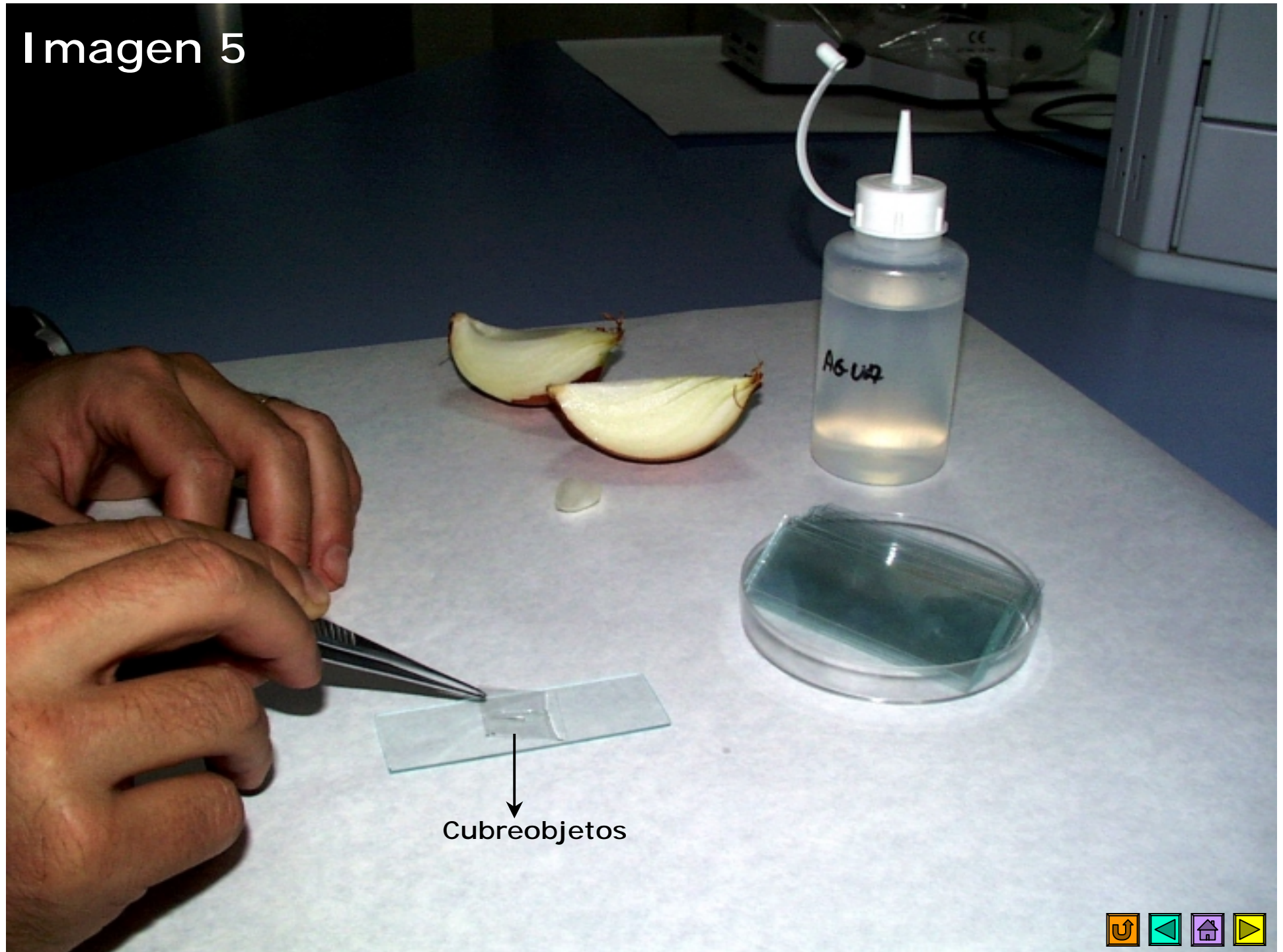
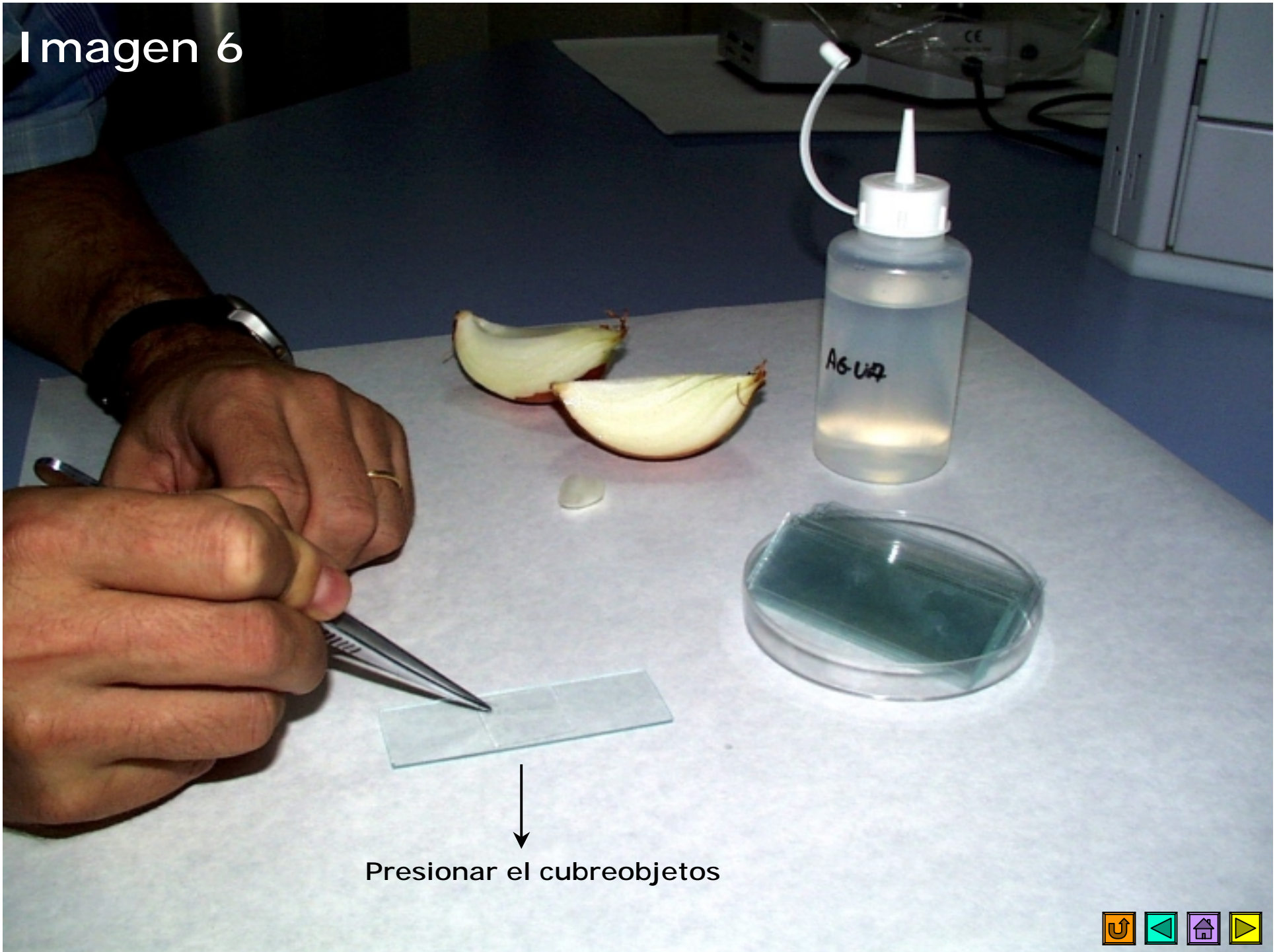
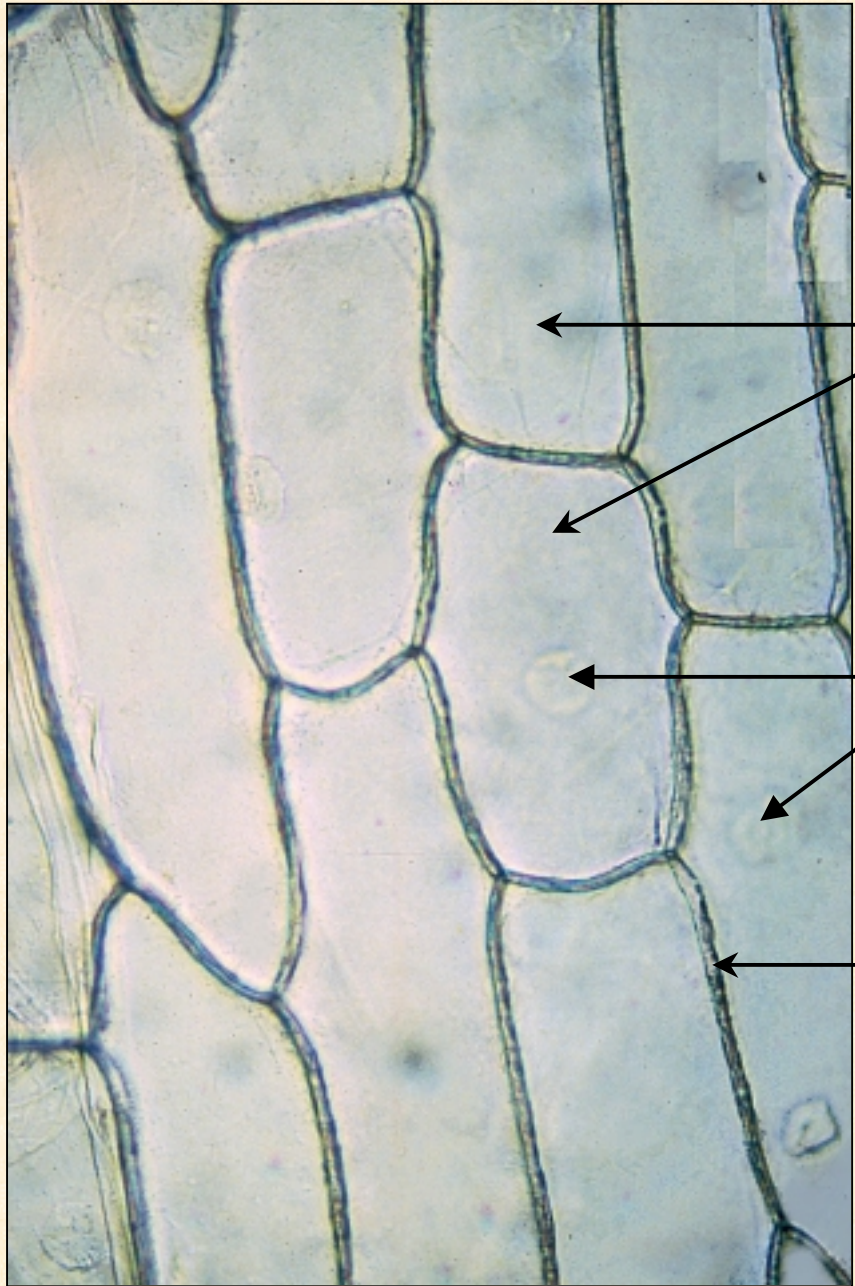


Imagen 6



Observación al microscopio (x40)



Células epidérmicas
de cebolla (*Allium* sp)

Núcleos

Pared celular

Imagen 7

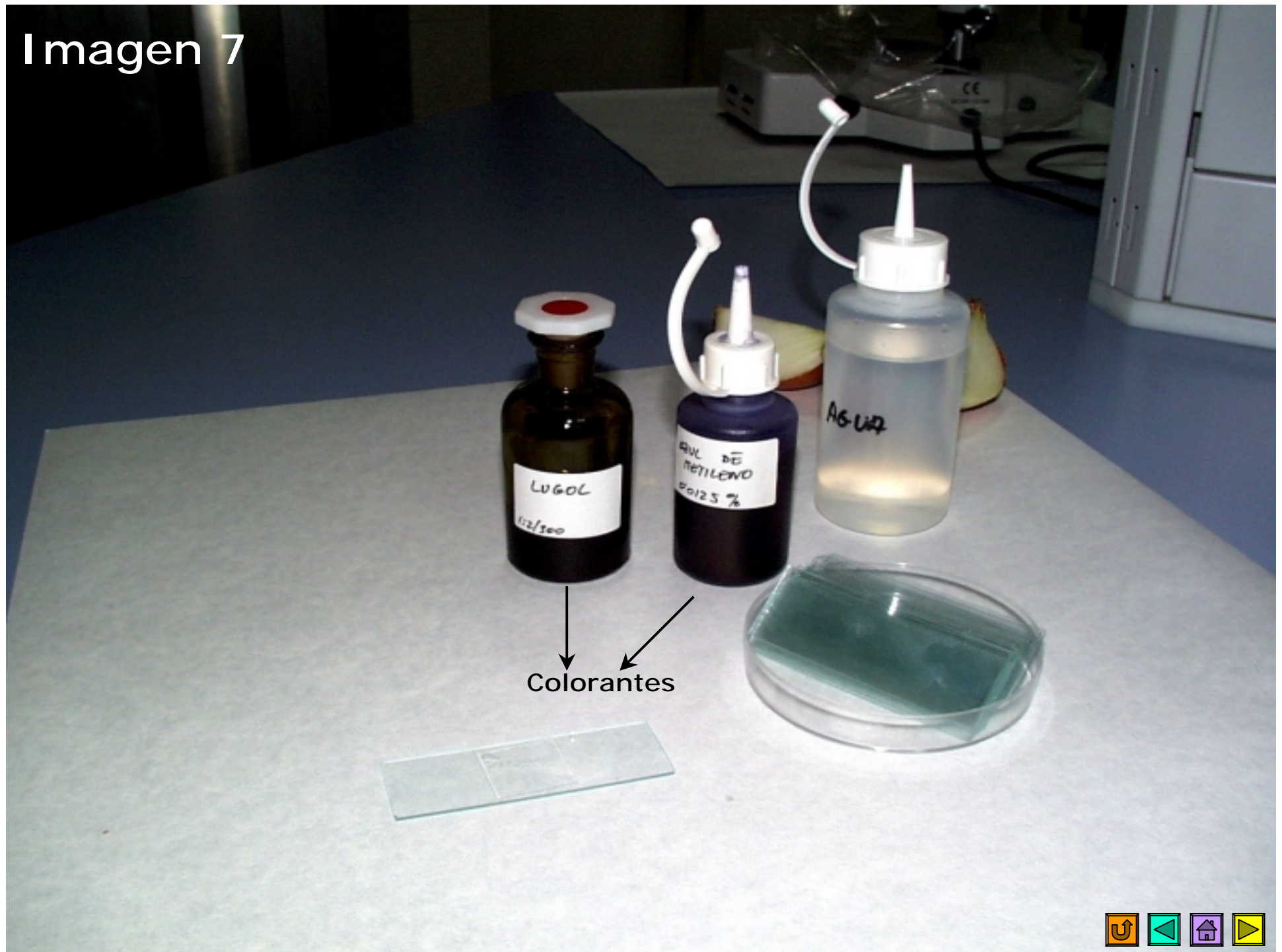
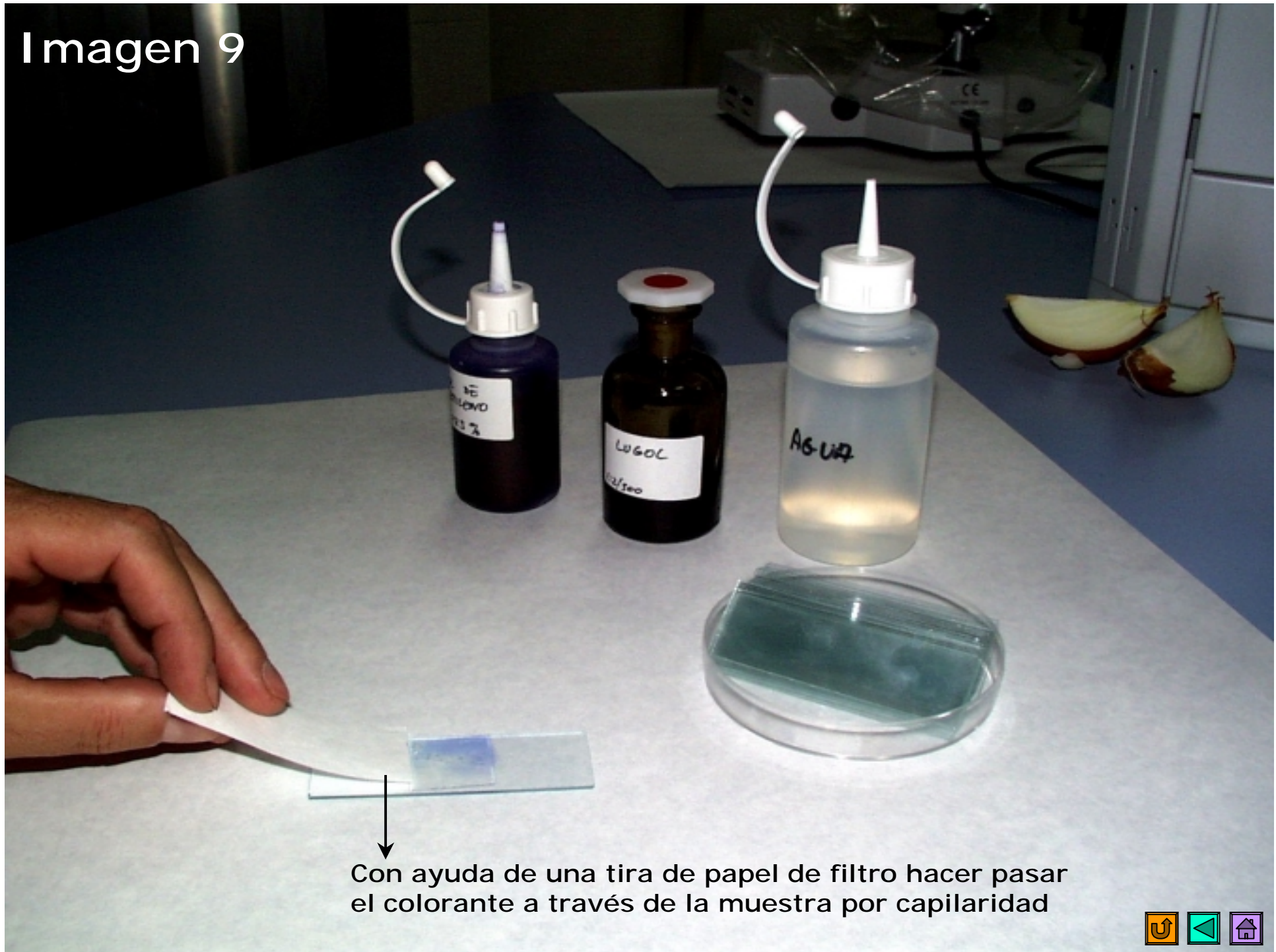


Imagen 8



Imagen 9



Con ayuda de una tira de papel de filtro hacer pasar el colorante a través de la muestra por capilaridad



Imagen 10

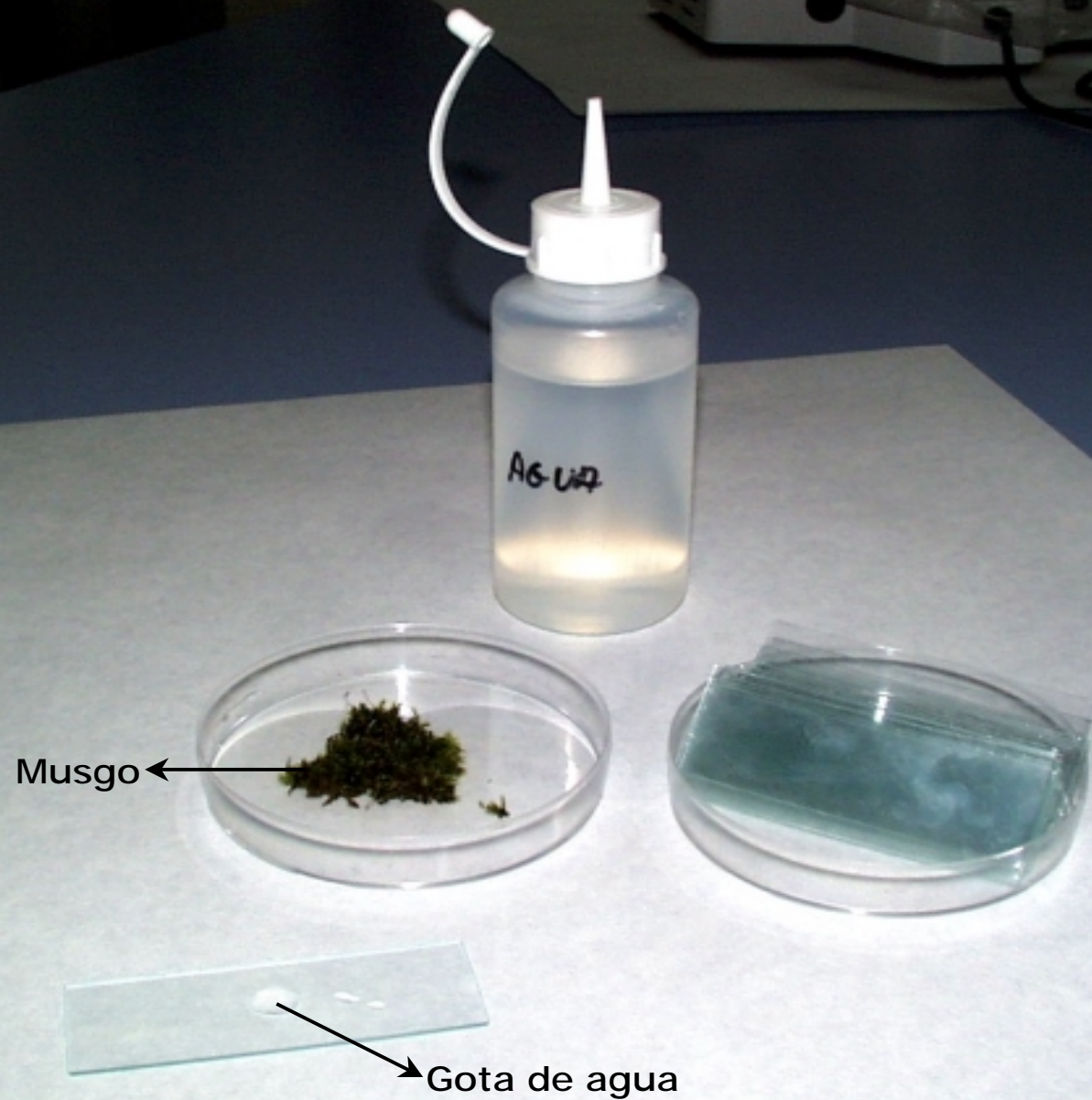


Imagen 11



Imagen 12



Imagen 13



Imagen 14

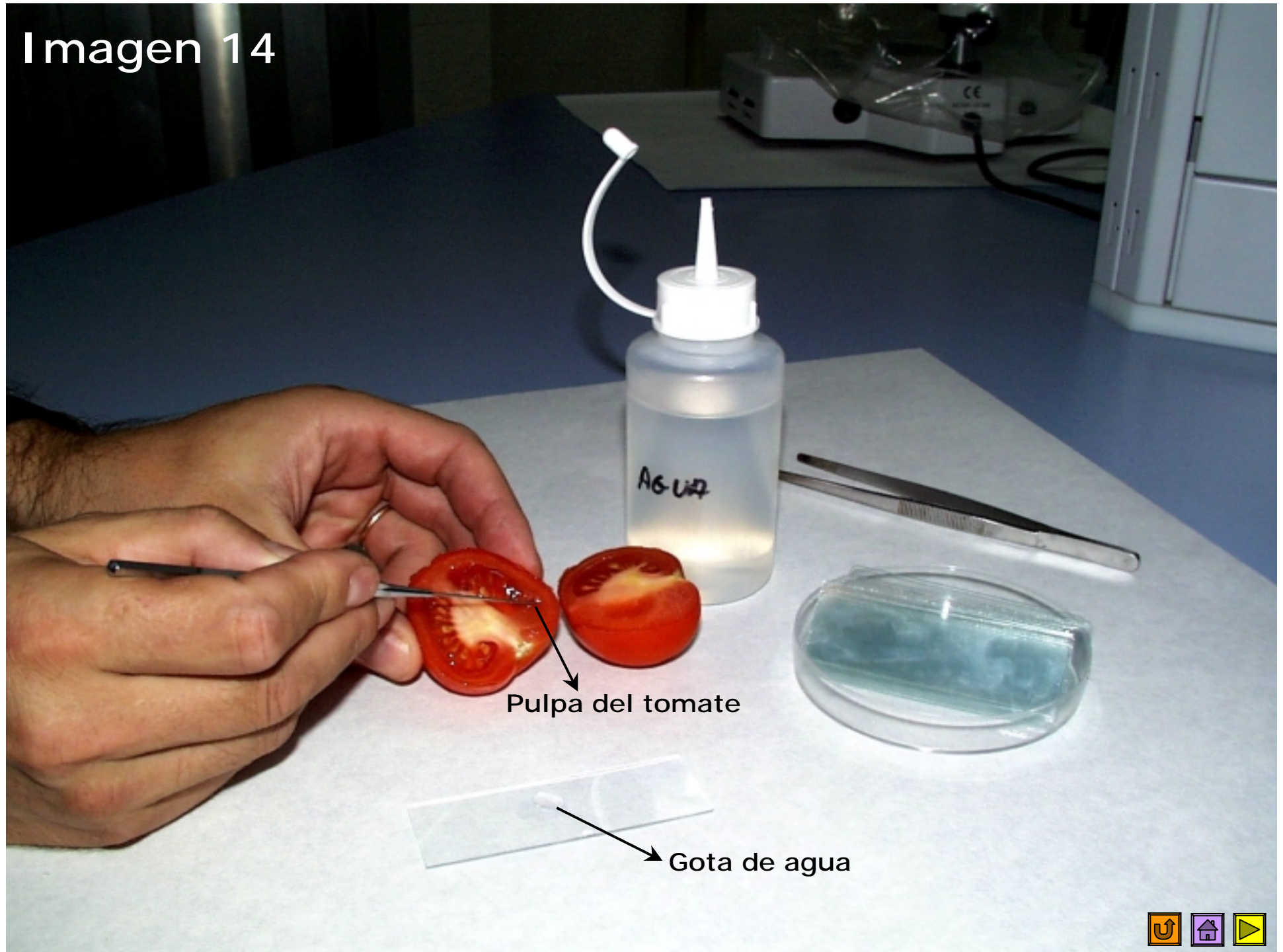


Imagen 15

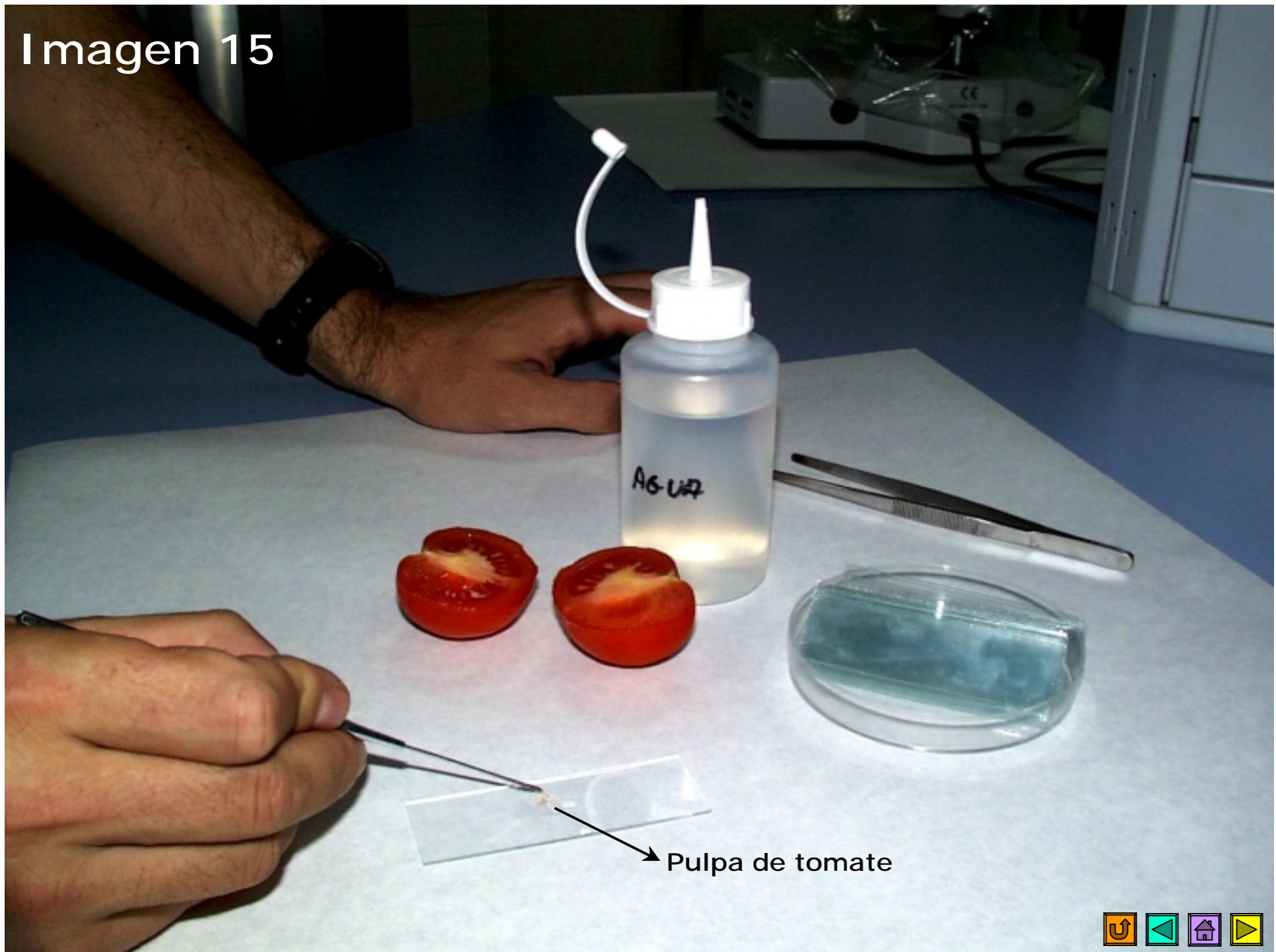
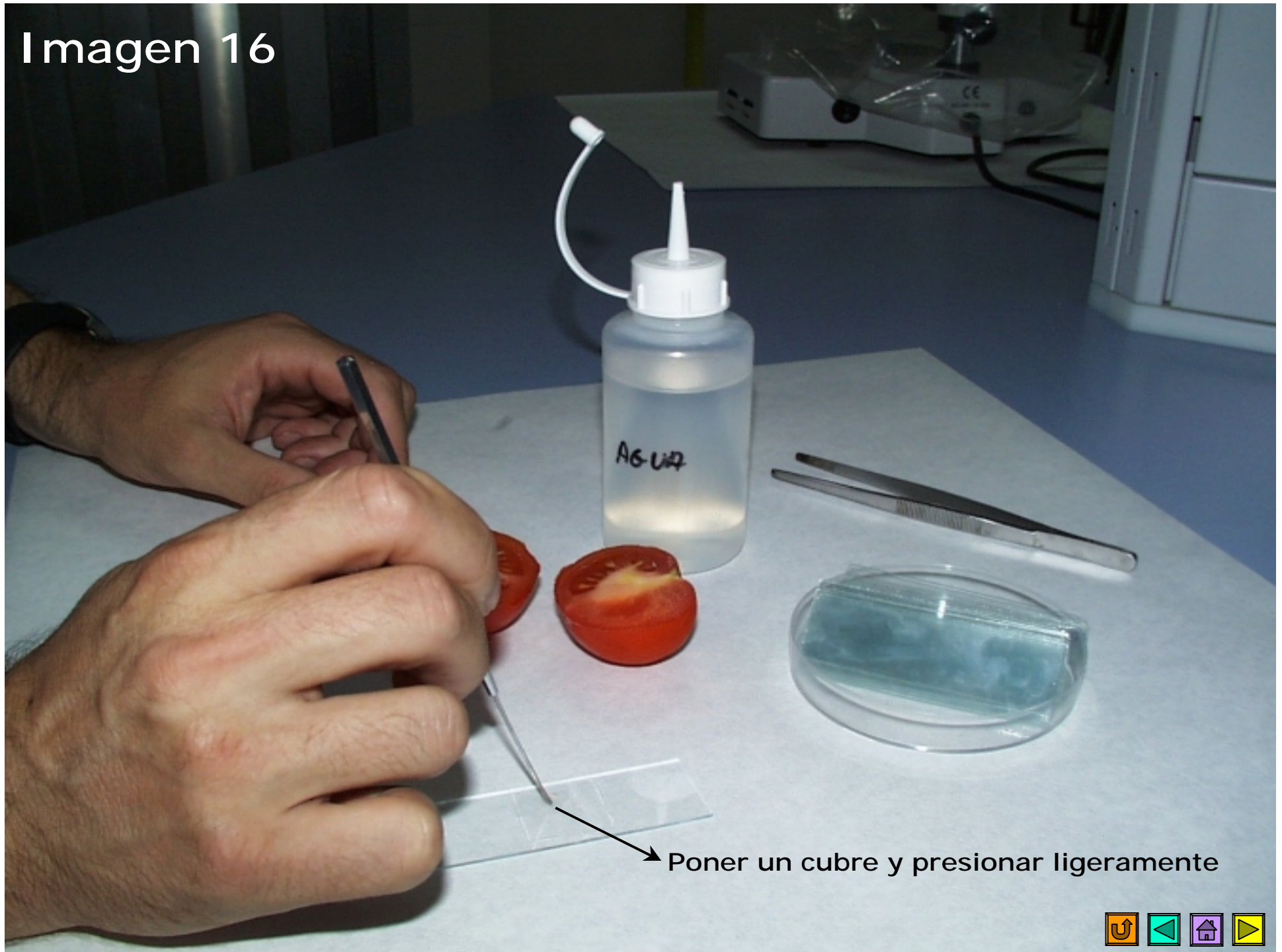


Imagen 16



→ Poner un cubre y presionar ligeramente

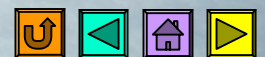


Imagen 18

