

## 8.- LA OBSERVACIÓN MICROSCÓPICA

Armando GUERRA DE LA CRUZ

*Profesor del Centro de Actividades Micológicas Populares.  
E-28025 MADRID (España)*

**Lactarius 6:** 112-117 (1997). ISSN: 1132- 2365

### EL MICROSCOPIO

Los primeros esbozos de observaciones microscópicas fueron a principios del siglo XVII según los ensayos realizados por los holandeses *Antony V. Leeuwenhoek*, (1632-1723) considerado como padre de la micología y que empujado por el entusiasmo de ver más allá de lo que se puede apreciar con el ojo humano creó un artilugio empleando unas lentes convexas pacientemente pulidas por los hermanos *Hans* y *Zacarías Janssen*, los cuales se dedicaban a la fabricación de lentes, y llegaron a fabricar más de 200 microscopios.

En el museo de *Middleburg*, en Holanda se conserva uno de los más antiguos microscopios y según los grabados de la época

realizados por A. V. *Leeuwenhoek*, podría ser uno de los fabricados por los hermanos *Janssen*.

Estos primitivos ingenios más que un microscopio lo podríamos calificar como lupas monoculares, pues solamente se podían observar microorganismos opacos y no por transparencia.

La técnica utilizada era muy sencilla, se trataba de dos tubos deslizantes con dos lentes en los extremos que según se alejaban o acercaban aumentaba o disminuía el tamaño de los elementos observados.

Gracias a este descubrimiento se abrió una nueva era en el campo de la investigación científica tanto microscópica como astronómica.

Según los grabados de A. V. *Leeuwenhoek* fue posible observarse por primera vez las levaduras y su proceso de multiplicación.

Las primeras observaciones auténticamente microscópicas se realizaron a finales del siglo XVII por el astrónomo italiano *Giuseppe Campani*.

Durante el siglo XVIII se realizaron grandes adelantos técnicos y mecánicos en la adaptación de este nuevo invento en el campo de la ciencia pero no en el perfeccionamiento de las lentes empleadas, esto no empezó a ocurrir hasta principios del siglo XIX con la aparición de la energía eléctrica que vino a suplir las ineficaces lámparas de aceite empleadas hasta entonces, y que dispersaban la luz en todas las direcciones.

En 1830 aproximadamente aparecieron por primera vez las lentes acromáticas las cuales reúnen las características correctas para las observaciones microscópicas, pero aún existía otro gran problema y era el causado por la aberración esférica que presentaba las imágenes desenfocadas, la solución a este proble-

ma vino en 1886 de manos de los alemanes *Ernst Abbe* y *Cari Zeiss* que fabricaron unas lentes apocromáticas que corregían la aberración cromática y esférica, en 1893 *August Kohler* incorporó un nuevo sistema de iluminación el cual es el que se utiliza hoy día en los modernos microscopios oculares.

En la actualidad se utilizan medios de observación microscópica ocular con técnicas muy sofisticadas como de contraste de fase que permiten ver microorganismos y caracteres en ciertas células de los hongos antes invisibles

### ***LOS INSTRUMENTOS ÓPTICOS ACTUALES***

Actualmente la lupa y el microscopio óptico son sin duda los instrumentos de trabajo más importantes en un laboratorio micológico, se emplea en el estudio de aquellos elementos que la vista no alcanza a ver. La forma de actuar estos instrumentos varía según el enfoque de luz sobre el objeto que se está estudiando.

## **LA LUPA**

La lupa puede ser monocular, binocular o triocular cuando cuenta un tercer ocular, con el fin de poder emitir a un monitor la imagen o fotografiarla.

La luz que recibe el objeto sometido a examen es con enfoque indirecto, y refleja los cuerpos opacos, sólidos y no transparentes.

La luz empleada puede ser de un foco normal o caliente o una luz fría (con fibra de vidrio).

El aumento máximo aconsejado en una lupa binocular no sobrepasa los 60  $\mu\text{m}$ .

## **EL MICROSCOPIO OCULAR**

Al contrario que la lupa el microscopio sirve para examinar cuerpos transparentes a través de la luz

El microscopio puede ser simple o compuesto, el primero consta de una sola lente y puede producir una imagen más o menos aumentada, pero limitada a la lente utilizada.

El microscopio compuesto consta de dos sistemas diferentes

de lentes, las del objetivo y las del ocular, u oculares si el microscopio es binocular, y el aumento que se observa es el resultado de la multiplicación del número de aumentos del objetivo por los del ocular.

La imagen ampliada por las lentes del primer sistema, es vista y aumentada por las del segundo sistema

Para este tipo de observación se necesita un potente cono de luz mayor cuanto mayor sea el aumento al que expondremos el objeto de estudio, este aumento de luz lo podemos conseguir con el desplazamiento de un condensador de luz situado en la parte inferior de la platina, los diafragmas se emplean para regular el paso de esta luz a nuestra voluntad.

Todos los mandos del microscopio deben de ser suaves, firmes y bien equilibrados, hay que examinar que las lentes estén limpias y sin ralladuras, la edad de un microscopio carece de importancia si ha sido conservado cuidadosamente pues tanto la maquinaria y las lentes bien cuidadas duran indefinidamente, El microscopio después de su uso

debe de ser cuidadosamente cubierto y protegido, y su traslado debe de realizarse en una caja apropiada.

### - El objetivo

El objetivo es la pieza más importante del microscopio, es la que nos proporciona la calidad de imagen y controla el aumento de la preparación, los microscopios actuales cuentan con un tambor giratorio o revólver con tres, cuatro o cinco objetivos.

Actualmente todos los objetivos cuentan con una rosca estándar de manera que todos los objetivos pueden ser utilizados por todos los revólveres, aunque es aconsejable utilizar siempre en un mismo microscopio, objetivos de la misma marca, porque si no es muy difícil que coincidan en la misma posición en el campo el cual se esté explorando.

El aumento de las lentes en los objetivos son de  $\times 1 \mu\text{m.}$ , a  $\times 100 \mu\text{m.}$ ; aunque los más frecuentes son  $\times 2.5 \mu\text{m.}$ ,  $\times 5 \mu\text{m.}$ ,  $\times 10 \mu\text{m.}$ ,  $\times 20 \mu\text{m.}$ ,  $\times 40 \mu\text{m.}$ ,  $\times 100 \mu\text{m.}$  Este último se utiliza con aceite de inmersión el cual forma una especie de almohadilla para

que no quede ningún espacio entre la lente y el cubreobjetos y evitar cualquier tipo de aberración óptica, a continuación debe de limpiarse con un paño blando el objetivo para evitar su deterioro.

### - El ocular

El ocular del microscopio examina y amplía la imagen producida por el objetivo. El aumento de los oculares oscila entre  $\times 5 \mu\text{m.}$ , y  $\times 16 \mu\text{m.}$ , aunque normalmente los oculares más comúnmente utilizados son de  $\times 10 \mu\text{m.}$ , siempre que se utilice un ocular de más aumento hasta  $\times 15 \mu\text{m.}$ , deberá ser con oculares de gran calidad, pues si no es así la observación no será todo lo satisfactoria que deseáramos, hoy día solo las lentes Zeiss, ofrecen una óptica satisfactoria con oculares de hasta  $\times 16 \mu\text{m.}$

El aumento de un microscopio tiene un límite. En la imagen óptica formada, cada punto producido del objeto observado se extiende sobre una pequeña área a causa de la difracción. Así, cada punto del objeto es representado por un disco co-

respondiente en la imagen. Al llegar a cierto aumento, el detalle del objeto es de dimensión igual al disco, y un aumento mayor no mejora el detalle.

### - El condensador

La luz que ilumina la preparación tiene su origen en la lámpara situada en la parte inferior del microscopio, esta pasa a través del condensador que manda un cono de luz de más o menos intensidad, este cono de luz puede controlarse gracias al montaje que está dispuesto de forma que el condensador pueda subir o bajar. En los microscopios de gran calidad incluso puede regularse la centralización del mismo. La lente del condensador regula la luz que llega a la lente del objetivo.

### - Los accesorios

Entre los accesorios más necesarios para la utilización correcta de un microscopio, podemos destacar; Portaobjetos =

(portas), cubreobjetos = (cubres), aceite de inmersión, lancetas para diseccionar, pinzas finas y cuchilla de afeitar o bisturí.

Los portaobjetos pueden ser de diversas medidas de grosor, es interesante utilizar el más adecuado en cada caso, por ejemplo; el grosor más frecuentemente utilizado es de 1 a 1'2 mm, pero con objetivos apocromáticos y condensadores de gran intensidad, deben de utilizarse de 0'8 mm, para una mayor precisión.

Los cubreobjetos también pueden ser de varias medidas y grosor, aunque el más comúnmente utilizado en micología, es el N° 1 de un espesor de 0' 17  $\mu$ m.

El estado de higiene y limpieza de estos dos elementos debe de ser total, y con más cuidado si ya han sido utilizados anteriormente y los hemos reciclado, para evitar la observación de elementos ajenos en la preparación que nos puedan desorientar y confundir el examen del objeto que deseamos estudiar.

