

Sesión Teórico-Práctica 2

Fundamentos de Microscopía Óptica¹

PARTE PRÁCTICA²

2.A.- Manejo del microscopio óptico.

2.B.- Estudio y análisis de preparaciones microscópicas con diferentes tipos de microscopía óptica.

Objetivos

1. Conocer el funcionamiento del microestereoscopio y del microscopio óptico.
2. Adquirir destrezas en el manejo de estos instrumentos
3. Estudiar y diferenciar distintos tipos de preparaciones para la microscopía óptica.

Material

- Animal in toto teñido (ejemplo de Platelminto: *Dugesia* sp.)
- Animal in toto no teñido (ácaro)
- Animal despiezado (efemeróptero)
- Sección sagital de insecto teñido con hematoxilina-eosina (Corte de un efemeróptero)

Trabajo a realizar



En esta práctica se va tomar contacto con los instrumentos de microscopía óptica básicos en un laboratorio de carácter general, concretamente un microestereoscopio binocular provisto de luz diascópica y episcópica y un microscopio de campo claro. Aunque el microestereoscopio se ha utilizado en prácticas de otras asignaturas del Máster de Ciencias Forenses, el fundamento de esta práctica es identificar de primera mano los diferentes elementos que componen este instrumental, aprender a manejarlos y entrenarse en su funcionamiento mediante el análisis de preparaciones de microscopía procedentes de los fondos biológicos del Departamento de Zoología y Antropología Física. Para poder llevar a cabo este entrenamiento se presentan una serie de preparaciones con diferentes técnicas de montaje: ejemplares “*in toto*” (teñidos y despigmentados), ejemplares despiezados o desmontados (partes esqueléticas de un insecto), y secciones de tejidos animales (cortes sagitales de un insecto).

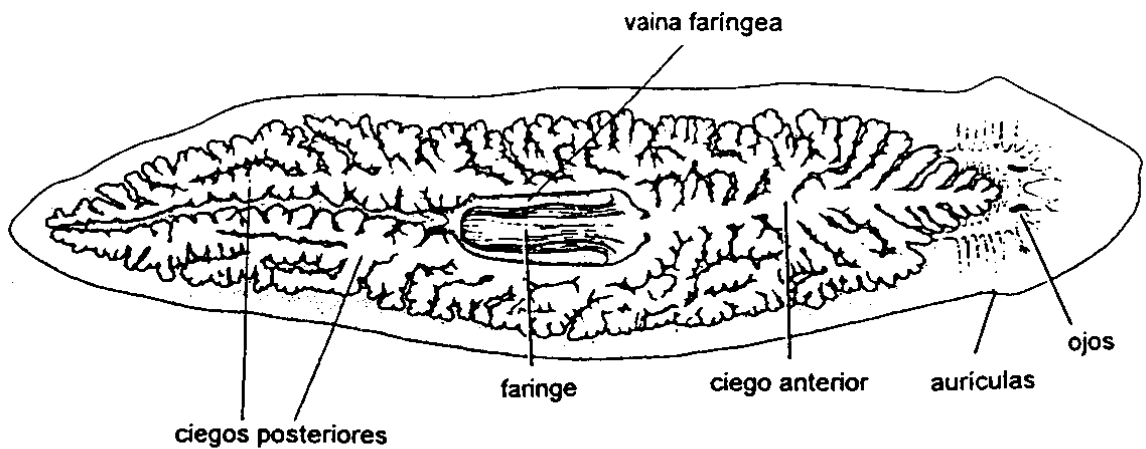
¹ Este documento está sujeto a una licencia Creative Commons



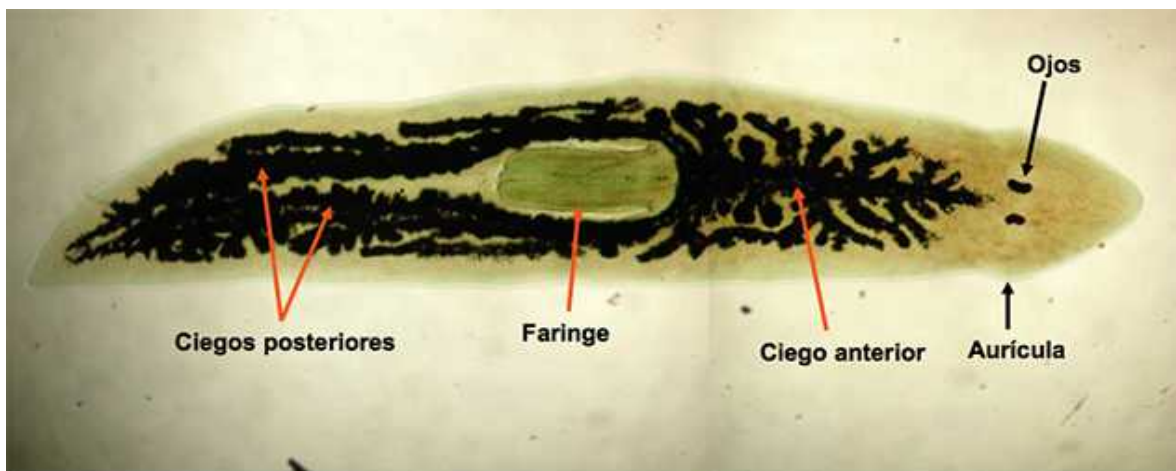
² La procedencia y autoría de las imágenes y esquemas utilizados se encuentra al final del texto

El uso de preparaciones de microscopía con diferentes **técnicas de montaje** provoca diferentes problemas de visualización al microscopio, por lo que dependiendo de qué preparación estés observando tendrás que comprobar cuál es la mejor opción técnica para su observación. En definitiva, como un primer contacto con instrumental de microscopía básico se pretende que aprendas a manejar estos dos aparatos ópticos y obtengas un enfoque efectivo de la muestra y/o la búsqueda y estudio de determinadas estructuras, que te permitan resolver las cuestiones propuestas más adelante. Para ello, tendrás que utilizar el **macrométrico** y el **micrométrico**, mover la **platina**, cambiar de **objetivo**, manejar el **diafragma**, ajustar el **condensador**, etc. Los siguientes esquemas son orientativos de lo que se puede observar en cada preparación.

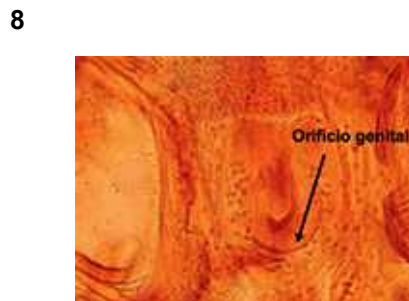
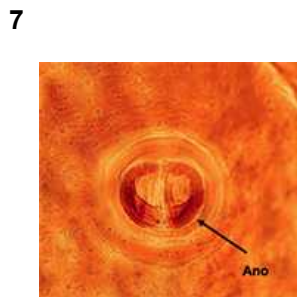
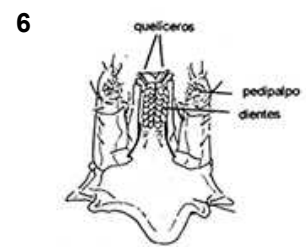
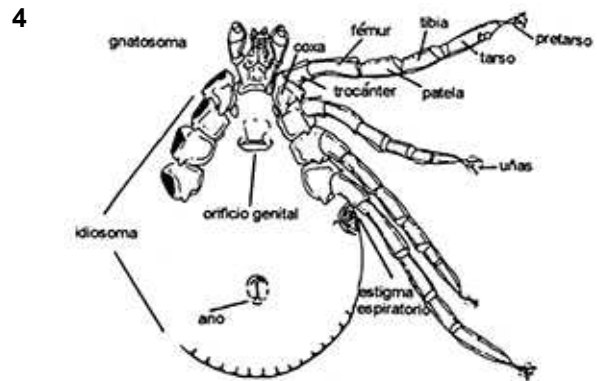
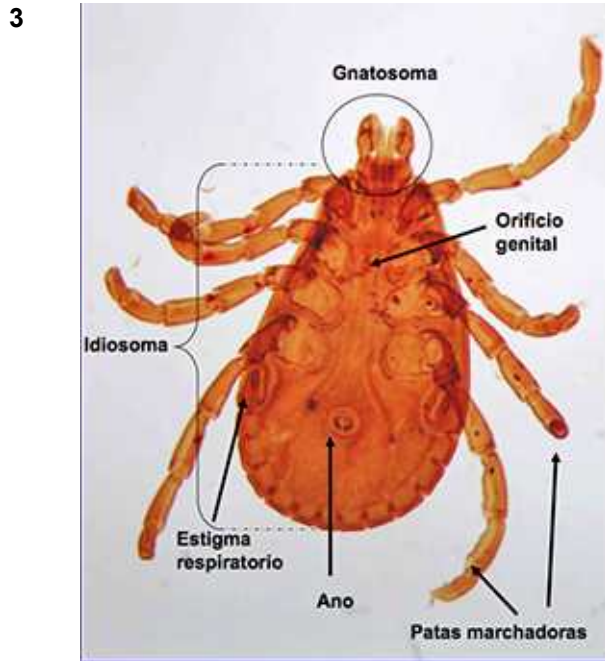
1



2



Preparación "in toto" de un Platelminto Turbelario, *Dugesia* sp., teñido. 1.- Esquema; 2.- Imagen microscopio óptico



Preparación "in toto" de un Artrópodo Quelicerado, *Ixodes* sp. (ácaro), sin teñir. 3.- Imagen directa al microscopio; 4.- Esquema de la morfología externa del animal; 5.- Detalle del gnatosoma al microscopio; 6.- Esquema del gnatosoma; 7, 8 y 9.- Diferentes partes del animal observadas a diferentes aumentos con el microscopio



Haz un esquema de lo que has observado e intenta identificar las estructuras que se indican en las fotografías anteriores. ¿A qué aumentos has tenido que llegar para poder estudiar la morfología y características de cada una de las piezas? ¿Describe que es lo que ocurre cuando abres o cierras el diafragma? ¿Puedes distinguir alguna estructura con el diafragma completamente cerrado? ¿Por qué?

PROBLEMA: ¿Cuántos ácaros había en la preparación? La solución la encontrarás en el apartado de recursos complementarios.



Lámina 1: Preparación del despiece de un Artrópodo Insecto, *Serratella* sp. (efemeróptero), sin teñir. 1.- Primera pata o protorácica; 2.- Detalle de la uña de la pata; 3.- Parte de la cabeza con la antena en detalle; 4.- Labro; 5.- Mandíbula; 6.- Maxila.

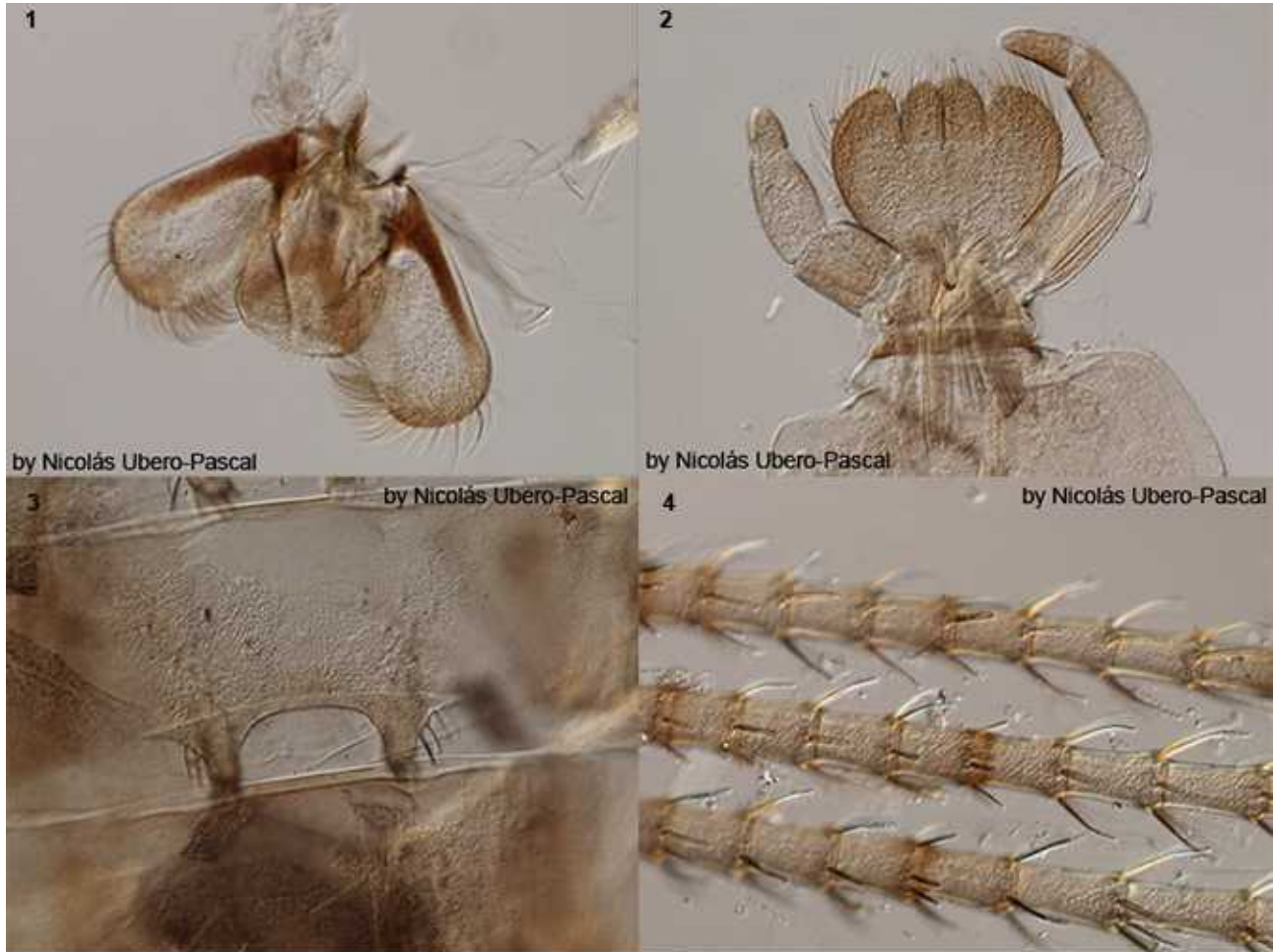


Lámina 2: Preparación del despiece de un Artrópodo Insecto, *Serratella* sp. (efemeróptero), sin teñir (continuación). 1.- Hipofarínge; 2.- Labio; 3.- Detalle de la parte dorsal del cuarto segmento abdominal; 4.- Filamentos caudales.



Haz un esquema de lo que has observado e intenta identificar el tipo de estructura según su similitud con las fotografías anteriores. ¿A qué aumentos has tenido que llegar para poder estudiar la morfología y características de cada una de las piezas? ¿Has conseguido enfocar mejor abriendo o cerrando el diafragma?



Lámina 3: Larva de Insecto efemeróptero (*Serratella* sp.) y preparación de cortes sagitales de *Baetis* sp. teñidas con hematoxilina-eosina. 1.- Ejemplar completo; 2.- Corte sagital completo; 3.- Detalle del ojo compuesto; 4.- Detalle del cerebro; 5.- Región torácica con tejidos muscular, cuerpo graso y epitelio digestivo; 6.- Detalle de la región abdominal mostrando uno de los tubos traqueales.



Haz un esquema de lo que observas intentando distinguir tejidos u órganos por su forma y estructura. No te preocupes si no conoces su nombre, sólo tienes que diferenciarlos por su morfología. ¿Qué es lo que ocurre en este tipo de preparaciones cuando abres o cierras el diafragma?

Cuestiones

1. *¿Qué tipo de preparación te ha resultado más difícil de estudiar? ¿En alguna de ellas es más útil el microestereoscopio que el microscopio?*
2. *¿Cuál ha sido el principal problema o ventaja que has encontrado al estudiar un ejemplar “in toto”? ¿Te ha resultado difícil discriminar los planos de enfoque? ¿Has podido detectar la estructuras indicadas en el esquema y por qué?*
3. *¿Cuál ha sido el principal problema o ventaja que has encontrado al estudiar el ejemplar despiezado? ¿Es similar a los encontrados en el ejemplar “in toto”?*
4. *¿Cuál ha sido el principal problema o ventaja que has encontrado al estudiar la preparación de cortes histológicos?*
5. *¿Crees que se consiguen los mismo resultados con los tres tipos de técnicas de montaje estudiadas? ¿Para qué utilizarías cada una estas técnicas?*

Créditos fotográficos

1. El logo del encabezamiento proceden de la página web <http://ocw.um.es/>
2. Figuras 1, 4 y 6 extraídas “Romera, E.; Arnaldos, M.I.; García, M.D. y Soler A.G. 2004. Elementos prácticos de Zoología. Diego Marín, Librero-Editor. Murcia”.
3. Figuras 2, 3, 5, 7 y 9 extraídas de “García M.D.; Arnaldos M.I. y Presa J.J. 2007. Guía Visual de las Prácticas de Zoología (CD). Editum, Servicio de Publicaciones de la Universidad de Murcia”.
4. Láminas 1, 2 y 3 con fotografías de Nicolás Ubero-Pascal

Ejemplos de Virtual Lab de microscopía óptica y diferentes técnicas de contraste físico de la imagen

Las muestras se pueden descargar de <http://virtual.itg.uiuc.edu/data/>



Tardigrade (dorsal and sagittal views): Los tardígrados, también llamados osos de agua debido a su aspecto y hábitat, son un grupo animal que comprende organismos de pequeño tamaño (0,2-0,5 mm), que son morfológicamente cercanos a los artrópodos. Se suelen estudiar “*in toto*” y sin teñir, para lo que las técnica de contraste físico de la muestra son muy interesantes. En este caso se ha utilizado contraste de fases.



Diatoms: Las diatomeas son algas unicelulares, que pueden formar colonias, con una cubierta de sílice que suele estar muy ornamentada. La muestra es de una preparación “*in toto*” vista en campo oscuro.



Volvox: Esta especie de algas verdes unicelulares forman colonias de mucílago microscópicas. Cada célula tiene un flagelo que ayudan al movimiento de la colonia en el agua. La preparación es observada con DIC.



Tapeworm: la preparación consiste en unas proglótides de tenia que han sido teñidas con un solo colorante y han sido preparadas al microscopio óptico

Trabajo a realizar

Utilizando el microscopio virtual de la ITG observa las muestras anteriores y determina que diferencias encuentras.

Créditos fotográficos

1. Figuras de la tabla extraídas de la página web del Virtual Microscope <http://virtual.itg.uiuc.edu/data/>.