

TEMA 1. INTRODUCCIÓN A LA MICROBIOLOGÍA

Prof. Marleny Chavarri

Importancia y descubrimiento de los microorganismos. Pioneros de la microbiología. Debate sobre la generación espontánea. La polémica sobre los fermentos. La teoría germinal de las enfermedades. Clasificación de los vivos. Manejo del microscopio óptico compuesto.

Universidad Central de Venezuela, Facultad de Agronomía, Departamento de Química y Tecnología, Laboratorio de Microbiología. Maracay. 2024.

Definición

Se define microbiología como la rama de la biología que estudia los seres vivos diminutos que solo pueden estudiarse con ayuda del microscopio. También puede definirse como el estudio de organismos que son, con frecuencia, demasiado pequeños para observarlos directamente con el ojo humano. Se precisan técnicas especiales para aislarlos y cultivarlos. La microbiología además estudia las leyes que regulan la vida y la reproducción de los microorganismos y de las perturbaciones que estos provocan en los animales en las plantas y en la naturaleza inanimada. Este estudio comprende el conocimiento de la forma, la estructura, la reproducción, la fisiología, el metabolismo y la identificación de los microorganismos.

Historia

La microbiología se inició cuando el hombre comenzó a pulir lentes hechos con trozos de vidrio y a combinarlas para conseguir ampliaciones lo bastante grandes que le permitieran ver microorganismos. Los primeros hechos históricos que se conocen a este respecto, no tienen ningún fundamento científico, pues, eran ideas e hipótesis resultantes de observaciones y deducciones, pero que no se basaban ni en la experimentación ni en el estudio detallado de los mismos.

El comienzo de esta historia se puede relacionar con las ideas sostenidas por los filósofos griegos en el siglo XVI, quienes concibieron la hipótesis de que en el aire existían ciertos elementos vivos que eran los causantes de enfermedades en el hombre. Frascatorius en 1546 y Pienciz en 1762, cuya teoría sobre la intervención de los microbios puede considerarse como el primer paso dado en la lucha contra las enfermedades en el hombre y los animales, son los primeros nombres que se mencionan.

La Microbiología surge como ciencia cuando el holandés Antonio Van Leeuwenhoek (1632 - 1723) inventa el microscopio. Leeuwenhoek era de profesión Agrimensor, pero su tiempo libre lo

dedicaba a la pulitura de pequeños lentes de gran aumento (hasta 300X), con los cuales logró construir microscopios simples constituidos por una sola lente biconvexa montada sobre un soporte metálico. La invención de esos microscopios simples le permitió observar la existencia de una gran variedad de estructuras hasta ese momento desconocidas, la estriación de las fibras musculares, los glóbulos rojos, los espermatozoides humanos, etc. y también le permitieron poner en evidencia la existencia de un mundo viviente constituido por organismos infinitamente pequeños, tales como las bacterias, protozoarios, algas y nematodos.

Una vez que Leeuwenhoek puso en evidencia la existencia de la vida microscópica, los científicos de la época empezaron a preguntarse acerca del origen de la misma. Ello motivo el surgimiento de dos teorías:

1. **Generación Espontánea o Abiogénesis.** Según esta teoría, de la materia orgánica en descomposición se originaban organismos vivos; la carne en proceso de putrefacción originaba gusanos, las culebras se originaban a partir de los cabellos colocados en aguas estancadas, etc.
2. **Biogénesis.** Establecía que los microorganismos se originaban de "semillas" o "gérmenes" de los microbios presentes en el aire.

La teoría de la Generación Espontánea perduró durante muchos años ya que a los oponentes de esa teoría les era muy difícil, con los recursos técnicos disponibles para esa época, invalidarla.

Para esa época no se conocían las técnicas de aislamiento, los medios de cultivo, los métodos de esterilización, etc. Es por ello que la Microbiología Experimental surge muy lentamente. Sin embargo, ya en 1665 el médico italiano Francisco Redi había suministrado evidencias en contra de la generación espontánea. Redi demostró que la presencia de gusanos en la carne en descomposición no era más que una consecuencia de los huevos que las moscas depositaban en ella, puesto que cuando la misma se

colocaba en frascos cubiertos con una gasa fina, no se formaban los gusanos.

El verdadero desarrollo de la Microbiología como ciencia experimental en la cual se pudo correlacionar la existencia de ciertos fenómenos naturales como las fermentaciones y las enfermedades infecciosas con los microorganismos ocurre a partir de mediados del siglo XIX. Ello fue gracias a la intervención de una serie de científicos, quienes con su trabajo y tesón fueron superando las dificultades o limitaciones que se presentaban dentro del campo microbiológico. Aunque la historia de la Microbiología es rica en investigadores célebres, nosotros debido a las limitaciones de tiempo vamos a mencionar los más relevantes y a describir algunos de los aportes realizados.

Louis Pasteur (1822-1895). Químico y biólogo francés que fundó la ciencia de la Microbiología, demostró la teoría de los gérmenes como causantes de enfermedades (patógenos), inventó el proceso que lleva su nombre (Pasteurización) y desarrolló vacunas contra varias enfermedades, incluida la rabia. En 1847 obtuvo un doctorado en física y química por la École Normale de París. Tras convertirse en ayudante de uno de sus profesores, inició investigaciones que le llevaron a un descubrimiento significativo, comprobó que un rayo de luz polarizada experimentaba una rotación bien a la izquierda o a la derecha cuando atravesaba una solución pura de nutrimentos producidos naturalmente, mientras que si atravesaba una solución de nutrimentos orgánicos producidos artificialmente no se producía rotación alguna. No obstante, si se incorporaban bacterias u otros microorganismos a la segunda solución, al cabo de cierto tiempo también hacia rotar la luz hacia la izquierda o la derecha. Llegó a la conclusión de que las moléculas orgánicas pueden existir en una o dos formas, llamadas isómeros (formas levóginas y formas dextróginas).

Tras pasar varios años investigando e impartiendo clases en Dijon y Estrasburgo, en 1854 Pasteur marchó a la Universidad de Lille, donde fue nombrado catedrático de química y decano de la Facultad de Ciencias. Esta facultad se había creado en parte, como medio para aplicar la ciencia a los problemas prácticos de las industrias de la región, en especial a la fabricación de bebidas alcohólicas. Pasteur se dedicó de inmediato a investigar el proceso de fermentación. Aunque su convicción de que la levadura desempeñaba algún tipo de papel en este proceso no era original, logró demostrar, gracias a sus trabajos anteriores sobre la especificidad química, que la producción de alcohol en la fermentación se debe a las levaduras y que la indeseable producción de sustancias (como el ácido

láctico o el ácido acético) que agrian el vino se debe a la presencia de organismos como las bacterias. La acidificación del vino y la cerveza había constituido un grave problema económico en Francia; Pasteur contribuyó a resolver el problema demostrando que era posible eliminar las bacterias calentando las soluciones azucaradas iniciales hasta una temperatura elevada. Pasteur hizo extensivos estos estudios a otros problemas, como la conservación de la leche y propuso una solución similar: calentar la leche a temperatura y presión elevada antes de su embotellado. Este proceso recibe hoy el nombre de pasteurización.

Plenamente consciente de la presencia de microorganismos en la naturaleza, Pasteur emprendió una serie de experimentos diseñados para hacer frente a la cuestión de la procedencia de estos gérmenes ¿Se generaban de forma espontánea en las propias sustancias o penetraban en ellas desde el entorno? Pasteur legó a la conclusión de que la respuesta era siempre la segunda. Sus descubrimientos dieron lugar a un feroz debate con el biólogo francés Félix Pouchet y posteriormente con el bacteriólogo inglés Henry Bastión, el cual mantenía que, en las condiciones apropiadas, podían darse casos de generación espontánea. Estos debates, que duraron hasta bien entrada la década de 1870, a pesar que una comisión de la Academia de Ciencias aceptó oficialmente los resultados de Pasteur en 1864, dieron un gran impulso a la mejora de las técnicas experimentales en el campo de la microbiología.

En 1865 Pasteur salió de París, donde era administrador y director de estudios científicos de la École Normale, en auxilio de la industria de seda del sur de Francia. La enorme producción de seda del país se había visto muy afectada porque una enfermedad del gusano de seda, conocida como pebrina, había alcanzado dimensiones epidémicas. Al sospechar que ciertos objetos microscópicos hallados en los gusanos enfermos (y en las mariposas y sus huevos) eran los organismos responsables de la enfermedad. Pasteur experimentó con la cría controlada y demostró que la pebrina no solo era contagiosa sino también hereditaria. Llegó a la conclusión de que la causa de la enfermedad solo sobrevivía en los huevos enfermos vivos; por tanto, la solución era la selección de huevos libres de enfermedad. Merced a la adopción de este método, la industria de la seda se salvó del desastre.

Los trabajos de Pasteur sobre la fermentación y la generación espontánea tuvieron importantes consecuencias para la medicina, ya que Pasteur opinaba que el origen y evolución de las enfermedades eran análogos a los del proceso de fermentación. Es decir, consideraba que la

enfermedad surge por el ataque de gérmenes procedentes del exterior del organismo, del mismo modo que los microorganismos no deseados invaden la leche y causan su fermentación. Este concepto, llamado teoría microbiana de la enfermedad, fue muy debatido por médicos y científicos de todo el mundo. Uno de los principales razonamientos aducidos en su contra era que el papel desempeñado por los gérmenes en la enfermedad era secundario y carecía de importancia; la idea de que organismos diminutos fueran capaces de matar a otros inmensamente mayores le parecía ridícula a mucha gente. No obstante, los estudios de Pasteur mostraban que estaba en lo cierto y en el transcurso de su carrera hizo extensiva esta teoría para explicar las causas de muchas enfermedades. Descubre la existencia de la vida anaeróbica y fue el primero en utilizar los términos aeróbico y anaerobio para referirse a dos formas de vida.

Pasteur develó también la historia natural del carbunco, una enfermedad mortal en el ganado vacuno. Demostró que el carbunco está causado por un bacilo y sugirió que era posible inducir una forma leve de enfermedad en los animales vacunándolos con bacilos debilitados, lo que les inmunizaría contra ataques potencialmente letales. Con el fin de demostrar su teoría, empezó inoculando 25 ovejas; pocos días más tarde inoculó a estas y otras 25 más un cultivo especialmente poderoso y dejó sin tratamiento a 10 ovejas. Predijo que las segundas 25 ovejas perecerían y concluyó el experimento de forma espectacular mostrando a una multitud escéptica los cadáveres de las mismas dispuestas una junto a la otra.

Pasteur dedicó el resto de su vida a investigar las diversas causas de las enfermedades, como la septicemia, el cólera, la difteria, el cólera de las gallinas, la tuberculosis y la viruela y su prevención por medio de la vacunación. Es especialmente conocido por sus investigaciones sobre la prevención de la rabia, llamada también hidrofobia en la especie humana. Tras experimentar con la saliva de animales afectados por la enfermedad, Pasteur llegó a la conclusión que la enfermedad residía en los centros nerviosos: inyectando un extracto de la médula espinal de un perro rabioso a animales sanos, estos mostraban síntomas de rabia. Estudiando los tejidos de animales infectados, sobre todo los de conejos, Pasteur consiguió desarrollar una forma atenuada de virus que podía emplearse en vacunaciones.

En 1885 llegaron al laboratorio de Pasteur un muchacho y su madre. El joven había sufrido graves mordeduras de un perro rabioso y su madre le pidió a Pasteur que le tratara con su nuevo método. Al final del tratamiento, que duraba 10 días, el muchacho estaba siendo inoculado con el virus de la rabia más

potente que se conocía, se recuperó y conservó la salud. Desde entonces, miles de personas se han salvado de la enfermedad gracias a este tratamiento.

La investigación de Pasteur sobre la rabia inspiró la creación, en 1888, de un instituto especial para el tratamiento de la enfermedad en París. Este acabó llamándose instituto Pasteur y fue dirigido por él mismo hasta su muerte (el instituto sigue adelante y es uno de los centros más importantes del mundo para el estudio de enfermedades infecciosas y otros temas relacionados con los microorganismos, incluyendo la genética molecular). Muere en St. Cloud el 28 de septiembre de 1895; Pasteur ya era considerado un héroe nacional y había recibido todo tipo de honores.

Otro precursor de la Microbiología Experimental fue Roberto Köch (1843-1910), científico alemán galardonado con el premio Nobel, iniciador de la bacteriología médica moderna; aisló varias bacterias patógenas, incluida la de la tuberculosis y descubrió los vectores animales de transmisión de una serie de enfermedades importantes.

Köch se incorporó a la Universidad de Göttingen en 1862, donde estudió botánica, física y matemáticas e inició la carrera médica, que ocuparía el resto de su vida. Tras breves estancias en el hospital general de Hamburgo y en una institución para niños discapacitados psíquicos, comenzó a ejercer la medicina privada. Sus actividades profesionales no le impidieron desarrollar otros intereses como la arqueología, la antropología, las enfermedades ocupacionales, como el envenenamiento por plomo y el emergente campo de la bacteriología.

Su primer descubrimiento importante se produjo en la década de 1870, cuando demostró que el carbunco infeccioso solo se desarrollaba en los ratones cuando el material inyectado en su torrente sanguíneo contenía bastones o esporas viables de *Bacillus anthracis*. El aislamiento del bacilo del carbunco por parte de Köch constituyó un hito histórico, ya que por primera vez pudo demostrarse sin duda cual era el agente causante de una enfermedad infecciosa. Quedó claro que las enfermedades infecciosas no eran causadas por sustancias misteriosas, sino por organismos específicos, en este caso bacterias.

Köch demostró también como debe trabajar el investigador con dichos microorganismos, como obtenerlos a partir de animales infectados, como cultivarlos artificialmente y como destruirlos. Enunció los famosos postulados, los cuales permiten diferenciar un organismo saprófito de un patógeno; es decir, para que un microorganismo se pueda considerar patógeno debe cumplir con los siguientes requisitos: a) El microorganismo debe estar presente en el organismo enfermo; b) El microorganismo

debe aislarse del huésped enfermo y cultivarse al estado puro; e) La enfermedad específica debe producirse cuando un cultivo puro del microorganismo es inoculado en un huésped sano y d) Reaislamiento del microorganismo del huésped experimentalmente infectado.

Introdujo el uso del agar y la gelatina como agentes solidificantes de los medios de cultivo. Fue el primero en utilizar las soluciones colorantes en las preparaciones microscópicas y en aislar y cultivar bacterias al estado puro. En 1880, tras finalizar un importante trabajo bacteriológico sobre infecciones en las heridas, fue nombrado consejero del gobierno en el Departamento Imperial de la Salud en Berlín, donde a partir de entonces, llevó a cabo la mayoría de sus investigaciones. En 1881 dio a conocer sus estudios sobre la tuberculosis y al año siguiente había aislado el bacilo responsable de tan temible enfermedad, identificándolo como *Mycobacterium tuberculosis*, conocido mundialmente como el bacilo de Köch. Sus hallazgos fueron confirmados por investigadores de todo el mundo. El descubrimiento permitió mejorar las técnicas diagnósticas mediante la identificación del bacilo en las excreciones corporales, especialmente en los esputos.

Köch dedicó entonces su atención al cólera, que en 1883 había alcanzado niveles de epidemia en la India. Identificó el bacilo causante de la enfermedad y descubrió que era transmitido a los seres humanos sobre todo a través del agua. Más tarde viajó a África, donde estudió las causas de las enfermedades transmitidas por insectos. En 1891 Köch fue nombrado director del Instituto de Enfermedades infecciosas de Berlín, creado para la investigación médica especializada. Permaneció al frente del mismo hasta el día de su jubilación en 1904. En 1905 obtuvo el Premio Nobel de Fisiología y Medicina. Murió el 27 de mayo de 1910 en el balneario alemán de Baden-Baden.

Si bien es cierto que hasta principios del siglo XX el motivo central de los estudios microbiológicos era el papel que los microorganismos jugaban como agentes causantes de enfermedades infecciosas, también es cierto que a partir de la última década del siglo XIX algunos científicos, utilizando como punto de apoyo las investigaciones adelantadas por Pasteur en el campo de las fermentaciones, pudieron visualizar el papel de los microorganismos en las transformaciones geoquímicas; es decir, las transformaciones químicas que los microorganismos realizan a nivel del suelo. Dos científicos que merecen mención especial como pioneros de la investigación microbiología del suelo son: Sergio Winogradsky, ruso (1856-1953) y Martín Beijerinck, holandés (1851-1931).

Beijerinck fue el primero en aislar de los nódulos de leguminosas la bacteria que fija nitrógeno, es decir, el *Rhizobium* que él llamó *Bacillus radicicola*. Aisló una bacteria de vida libre fijadora de nitrógeno que llamó *Azotobacter* o bacteria del Ázoe. Trabajó con las levaduras en las fermentaciones alcohólicas y con el virus productor del mosaico del tabaco. Junto con Winogradsky fue pionero en el establecimiento del papel tan importante que juegan los microorganismos en los ciclos de la materia sobre la tierra, especialmente en lo referente a los ciclos del carbono, nitrógeno y azufre.

Winogradsky, trabajando con las bacterias de la nitrificación del hierro y del azufre descubre un nuevo tipo de autotrofia hasta ese momento desconocido, ya que solamente las plantas eran conocidas como organismos autótrofos, es decir, que no requieren de sustancias carbonadas previamente elaboradas para obtener energía. Esas bacterias obtienen su energía por procesos oxidativos a partir de sustancias inorgánicas. En el campo de la fijación de N_2 , aisló una bacteria anaeróbica de vida libre capaz de fijar nitrógeno y que él llamó *Clostridium pasteurianum* en honor a Pasteur. Explica el mecanismo bioquímico mediante el cual *Azotobacter* fija el nitrógeno atmosférico. Demuestra la liberación de amonio a partir de los nódulos radicales de las leguminosas.

El extraordinario avance alcanzado por la Microbiología a partir de mediados del siglo XIX indujo a la división de esta disciplina en diferentes ramas para facilitar la comprensión de su contenido. Ahora bien, la Microbiología puede dividirse de diferentes maneras, dependiendo del criterio que se utilice.

Si el criterio de división es el de orientación taxonómica, la Microbiología puede dividirse en:

- Bacteriología: Estudia las bacterias.
- Protozoología: Estudia los protozoarios.
- Virología: Estudia los virus.
- Micología: Estudia los hongos.
- Ficología o Algología: Estudia las algas.

Si se considera como criterio de división el hábitat del microorganismo, entonces tendríamos:

- Microbiología del agua
- Microbiología del suelo
- Microbiología marina
- Microbiología del aire

Si el criterio que se va a utilizar es la actividad que realizan los microorganismos, las divisiones serían:

- Ecología Microbiana: Implica el rol de los microorganismos en los ecosistemas.
- Microbiología de patógenos: La Microbiología de patógenos, comprende:

- a. Microbiología Médica: Aquí se ubican aquellos microorganismos, especialmente bacterias, que son patógenos para el hombre y los animales.
 - b. Microbiología Sanitaria. Comprende el estudio de aquellos microorganismos que contaminan alimentos líquidos o sólidos, produciendo trastornos orgánicos y epidemias.
- Microbiología Industrial o Tecnológica. Estudia los microorganismos desde el punto de vista de su utilización industria en la fabricación de productos alimenticios y farmacológicos. Esta comprende las siguientes orientaciones:
- a. Industrias Lácteas: Comprende el estudio de la metodología utilizada en la conservación de la leche, así como también de los microorganismos que se utilizan en la fabricación de diferentes productos lácteos: mantequilla, queso, yogurt, etc.
 - b. Industrias Fermentativas: En esta orientación, como su nombre lo indica, se estudian todas aquellas fermentaciones que conducen a la obtención de diversos productos. Entre ellas se pueden mencionar: destileras que permiten la obtención de bebidas alcohólicas destiladas (ron, whisky, brandy, coñac, vinificación, cerveza), panificación, obtención de levadura prensada y en polvo; obtención de ácidos orgánicos, etc.
 - c. Industrias de Alimentos. El rápido desarrollo de la industria de alimentos conservados ha provocado o inducido la creación de esta orientación reciente de la Microbiología industrial. Estudia no solo los métodos de control microbiológico sino también los microorganismos causantes de alteraciones en alimentos frescos y conservados.
 - d. Industrias Farmacológicas: Comprende el estudio de aquellos microorganismos que tienen utilidad en la fabricación de productos medicinales como los antibióticos. Por supuesto, en esta orientación no solo se estudia el microorganismo sino también el proceso de fabricación del producto.

Reinos

Anteriormente, los organismos están ubicados en cinco reinos: Monera (bacterias), Protista (algas, protozoarios y algunos hongos menos evolucionados o inferiores), Animalia, Plantae y Fungi (hongos evolucionados o superiores). Durante muchos años existieron numerosas controversias en relación a la ubicación de los microorganismos en los reinos

animal y vegetal, algunos decían que los hongos por su morfología estaban ubicados en el reino vegetal; sin embargo, los hongos no tienen clorofila. También se decía que los protozoarios deberían estar en el reino animal por su semejanza con ellos; no obstante, la Euglena es un protozooario que tiene características de ambos reinos.

Todas estas controversias comenzaron a dilucidarse alrededor de 1950, dado que con la invención del microscopio electrónico; se puso en evidencia la existencia de dos clases de células radicalmente diferentes: a) Célula eucariota (núcleo verdadero): Esta constituye la unidad estructural de las plantas (de semilla, helechos, musgos), de los animales (vertebrados e invertebrados) y de las algas, protozoarios y hongos; b) Célula procariota (núcleo difuso): Es la unidad estructural únicamente de las bacterias. Las diferencias que existen entre estos dos tipos de células son varias y se resumen en el Cuadro 1, mientras que la Figura 1 muestra las estructuras que aparecen en los microorganismos procariotas y eucariotas (Anexo 3).

Actualmente, los organismos están ubicados en tres dominios (Eubacterias, Archaea y Eucarya), donde Eubacterias y Archaea son procariotas (bacterias) y Eucarya (Eucariotas), y siete reinos: Monera (bacterias), Protista o Protoctista (algunas algas, protozoarios y algunos hongos menos evolucionados o inferiores), Chromistas (algas con clorofila c), Animalia, Plantae y Fungi (hongos evolucionados o superiores). En la Fig. 2 se presentan los dominios y reinos antes mencionados.

El microscopio óptico compuesto

Historia del microscopio

El microscopio se invento, hacia 1610, por Galileo, según los italianos, o por Jansen, en opinión de los holandeses. La palabra microscopio fue utilizada por primera vez por los componentes de la "Accademia dei Lincei" una sociedad científica a la que pertenecía Galileo y que publicaron un trabajo sobre la observación microscópica del aspecto de una abeja.

Sin embargo, las primeras publicaciones importantes en el campo de la microscopía aparecen en 1660 y 1665 cuando Malpighi prueba la teoría de Harvey sobre la circulación sanguínea al observar al microscopio los capilares sanguíneos y Hooke publica su obra *Micrographia*.

A mediados del siglo XVII un comerciante holandés, Leenwenhoek, utilizando microscopios simples de fabricación propia describió por primera vez

protozoos, bacterias, espermatozoides y glóbulos rojos.

Durante el siglo XVIII el microscopio sufrió diversos adelantos mecánicos que aumentaron su estabilidad y su facilidad de uso, aunque no se desarrollaron mejoras ópticas. Las mejoras más importantes de la óptica surgieron en 1877 cuando Abbe publica su teoría del microscopio y por encargo de Carl Zeiss mejora la microscopía de inmersión sustituyendo el agua por aceite de cedro lo que permite obtener aumentos de 2000X. A principios de los años 30 se había alcanzado el límite teórico para los microscopios ópticos no consiguiendo en estos, aumentos superiores a 500X o 1000X. Sin embargo, existía un deseo científico de observar los detalles de estructuras celulares (núcleo, mitocondria, etc.).

El microscopio electrónico de transmisión (T.E.M.) fue el primer tipo de microscopio electrónico desarrollado este utiliza un haz de electrones en lugar de luz para enfocar la muestra consiguiendo aumentos de 1000.000 X. Fue desarrollada por Max Knoll y Ernst Ruska en Alemania en 1931. Posteriormente, en 1942 se desarrolla el microscopio electrónico de barrido (SEM), con aumento de 100.000 X

Términos que describen las características ópticas del microscopio

Aumento: relación entre el tamaño a simple vista y el tamaño observado con el microscopio (es el número de veces que se ve el tamaño de un objeto por encima de su valor real). En el microscopio compuesto se calcula multiplicando el aumento individual del objetivo por el aumento individual del ocular. Se expresa mediante un número seguido del signo "por" (x).

Contraste: diferencia en la absorción de luz entre el objeto estudiado y el medio que lo rodea. Puede aumentarse mediante procedimientos de tinción.

Poder de resolución (d): es la distancia mínima entre dos puntos que el sistema es capaz de separar, capacidad de mostrar distintos y separados dos puntos muy cercanos. Determina la máxima amplificación útil del microscopio. Depende de la longitud de onda (λ) y de la apertura numérica (AN): cuanto menor es λ y/o mayor la AN, mayor es la resolución ($d = \lambda/2AN$). La resolución máxima de un microscopio óptico es de 200 nm.

Apertura numérica (AN): capacidad del lente de captar los rayos más divergentes.

Partes del microscopio óptico compuesto

Sistema mecánico

- **Soporte:** Mantiene la parte óptica y lumínica. Tiene dos partes: el pie o base y el brazo.
- **Platina:** Lugar donde se coloca la preparación.
- **Cabezal:** Contiene los sistemas de lentes oculares. Puede ser monocular, binocular.
- **Revólver:** Contiene los sistemas de lentes objetivos. Permite, al girar, cambiar los objetivos.
- **Tornillos de enfoque:** Son tornillos de enfoque, mueven la platina hacia arriba y hacia abajo. El macrométrico lo hace de forma rápida y el micrométrico de forma lenta. Llevan incorporado un mando de bloqueo que fija la platina a una determinada altura. Macrométrico que aproxima el enfoque y micrométrico que consigue el enfoque correcto.

Sistema óptico

- **Ocular:** Lente situada cerca del ojo del observador. Amplía la imagen del objetivo, es una combinación de lentes biconvexas y tienen aumentos de 4X a 16X.
- **Objetivo:** Lente situada cerca de la preparación. Amplía la imagen de ésta. Está constituida por un sistema de lentes integrados de lentes planoconvexas, formando una lente compuesta de muy corta longitud focal. Proporcionado una imagen real y aumentada del objeto. Los objetivos se clasifican en secos (5X, 6X, 10X, 20X, 40X y 60X) y el de inmersión (100X).

Sistema lumínico

- **Transformador:** Regula la intensidad de los rayos luminosos (rayos de luz que pasan al microscopio).
- **Condensador:** Lente que concentra los rayos luminosos sobre la preparación.
- **Diafragma:** Regula la cantidad de luz que entra en el condensador.
- **Lámpara:** Dirige los rayos luminosos hacia el condensador.

Manejo y uso del microscopio óptico

1. Colocar el objetivo de menor aumento en posición de empleo y bajar la platina completamente. Si el microscopio se recogió

- correctamente en el uso anterior, ya debería estar en esas condiciones.
2. Colocar la preparación sobre la platina sujetándola con las pinzas metálicas.
 3. Comenzar la observación con el objetivo de 4X o 5X (ya está en posición) o colocar el de 10 aumentos (10X), abrir un poco el iris del diafragma.
 4. Para realizar el enfoque:
 - a. Acercar al máximo la lente del objetivo a la preparación, empleando el tornillo macrométrico. Esto debe hacerse mirando directamente y no a través del ocular, ya que se corre el riesgo de incrustar el objetivo en la preparación pudiéndose dañar alguno de ellos o ambos.
 - b. Mirando, ahora sí, a través de los oculares, ir separando lentamente el objetivo de la preparación con el macrométrico y, cuando se observe algo nítida la muestra, girar el micrométrico hasta obtener un enfoque fino o totalmente nítida.

Pasar al siguiente objetivo (debe abrir un poco más el iris de diafragma). La imagen debería estar ya casi enfocada y suele ser suficiente con mover un poco el micrométrico para lograr el enfoque fino. Si al cambiar de objetivo se perdió por completo la imagen, es preferible volver a enfocar con el objetivo anterior y repetir la operación desde el paso 3. El objetivo de 40X enfoca a muy poca distancia de la preparación y por ello es fácil incrustarlo en la preparación si se descuidan las precauciones anteriores.

Empleo del objetivo de inmersión (100X):

1. Abrir totalmente el iris de diafragma para ver claramente el círculo de luz que nos indica la zona que se va a visualizar y donde se habrá de colocar el aceite.
2. Girar el revólver hacia el objetivo de inmersión dejándolo a medio camino entre éste y el de 40X.
3. Colocar una gota mínima de aceite de inmersión sobre el círculo de luz.
4. Terminar de girar suavemente el revólver hasta la posición del objetivo de inmersión.
5. Mirando directamente al objetivo. En ese momento se nota como si la gota ascendiera y se adosara a la lente.
6. Enfocar cuidadosamente con el micrométrico. La distancia de trabajo entre el objetivo de inmersión y la preparación es

- mínima, aun menor que con el de 40X por lo que el riesgo de accidente es muy grande.
7. Una vez se haya puesto aceite de inmersión sobre la preparación, ya no se puede volver a usar el objetivo 40X sobre esa zona, pues se mancharía de aceite. Por tanto, si desea enfocar otro campo, hay que bajar la platina y repetir la operación desde el paso 3.
 8. Una vez finalizada la observación de la preparación se baja la platina y se coloca el objetivo de menor aumento girando el revólver. En este momento ya se puede retirar la preparación de la platina. Nunca se debe retirar con el objetivo de inmersión en posición de observación.
 9. Limpiar el objetivo de inmersión con cuidado empleando un papel especial para óptica. Comprobar también que el objetivo 40X está perfectamente limpio.

Mantenimiento y precauciones

1. Al finalizar el trabajo, hay que dejar puesto el objetivo de menor aumento en posición de observación, asegurarse de que la parte mecánica de la platina no sobresale del borde de la misma y dejarlo cubierto con su funda.
2. Cuando no se está utilizando el microscopio, hay que mantenerlo cubierto con su funda para evitar que se ensucien y dañen las lentes. Si no se va a usar de forma prolongada, se debe guardar en su caja dentro de un armario para protegerlo del polvo.
3. Nunca hay que tocar las lentes con las manos. Si se ensucian, limpiarlas muy suavemente con un papel de filtro o, mejor, con un papel de óptica.
4. No dejar el portaobjetos puesto sobre la platina si no se está utilizando el microscopio.
5. Después de utilizar el objetivo de inmersión, hay que limpiar el aceite que queda en el objetivo con pañuelos especiales para óptica. En cualquier caso, se pasará el papel por la lente en un solo sentido y con suavidad. Si el aceite ha llegado a secarse y pegarse en el objetivo, hay que limpiarlo con una mezcla de alcohol-acetona (7:3). No hay que abusar de este tipo de limpieza, porque si se aplican estos disolventes en exceso se pueden dañar las lentes.
6. No forzar nunca los tornillos giratorios del microscopio (macrométrico, micrométrico, platina, revólver y condensador).
7. El cambio de objetivo se hace girando el revólver y dirigiendo siempre la mirada a la preparación para prevenir el roce de la lente

con la muestra. No cambiar nunca de objetivo agarrándolo por el tubo del mismo ni hacerlo mientras se está observando a través del ocular.

8. Mantener seca y limpia la platina del microscopio. Si se derrama sobre ella algún líquido, secarlo con un paño. Si se mancha

de aceite, limpiarla con un paño humedecido con alcohol-acetona (7:3).

9. Es conveniente limpiar y revisar siempre los microscopios al finalizar la sesión práctica y, al acabar el curso, encargar a un técnico un ajuste y revisión general de los mismos.

Referencias bibliográficas

- Agudo, J. 2016. pioneros de la microbiología: revisión bibliográfica. Trabajo de Grado Facultad de Farmacia Universidad de Sevilla, España. 40 p.
- Brock, T. 1973. Biología de los microorganismos. Ediciones Omega, S. A. Barcelona. pp. 19-29.
- Czerwińska-Główka D, Krukiewicz K. Guidelines for a Morphometric Analysis of Prokaryotic and Eukaryotic Cells by Scanning Electron Microscopy. Cells. 2021 Nov 25;10(12):3304.
- Dawnes, I. y Sutherland, I. 1978. Fisiología de los microorganismos. H. Blume Ediciones. Madrid. 236 p.
- Eme, L., Ford D., W. 2015. Archaea. Current Biology 25: R845-R875
- Li Y, Steenyk JL, Chang Y, Wang Y, James TY, Stajich JE, Spatafora JW, Groenewald M, Dunn CW, Hittinger CT, Shen XX, Rokas A. A genome-scale phylogeny of the kingdom Fungi. Curr Biol. 2021 Apr 26;31(8):1653-1665.
- Madigan, M. T., Martinko, J. M., and Parker, J. 1998. Brock Biología de los microorganismos. Prentice Hall, Madrid. 986 pp.
- Merrick WC, Pavitt GD. Protein Synthesis Initiation in Eukaryotic Cells. Cold Spring Harb Perspect Biol. 2018 Dec 3;10(12):a033092
- Prescott, L., Harley, P. y Klein, D. 2000. Microbiología. McGraw-Hill-Interamericana, España, 1005 pp.
- Richard, P. Agrios' Plant Pathology_2024. www.elsevier.com/permissions.
- Woese CR, Kandler O, Wheelis ML. Towards a natural system of organisms: proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eucarya. Proc Natl Acad Sci U S A. 1990 Jun;87(12):4576-9.

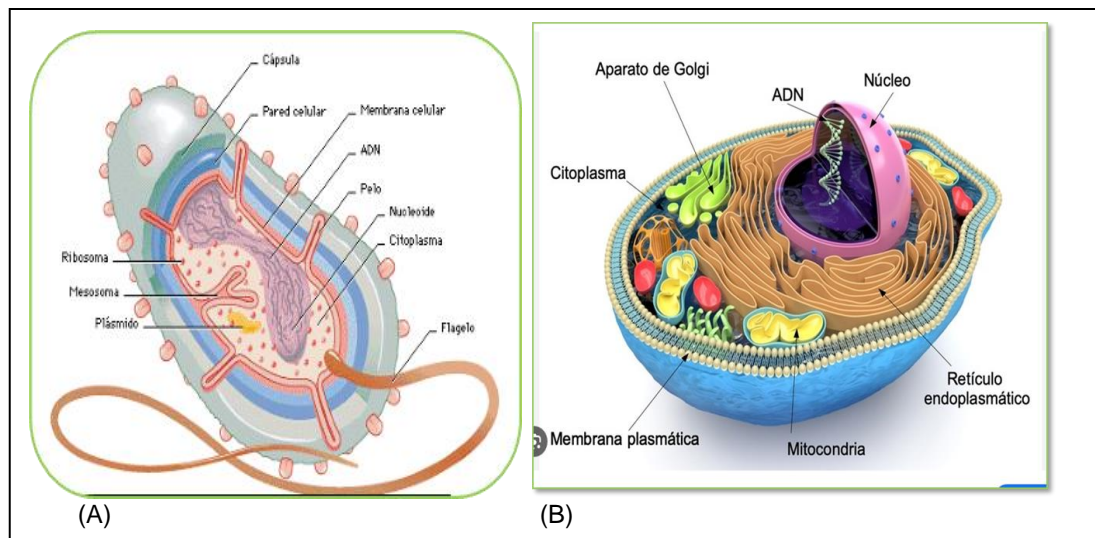


Figura 1. Célula procariota (A) y eucariota (B). Algunas de las estructuras representadas pueden a veces no aparecer, como sucede con las cápsulas, flagelos, invaginaciones de la membrana, fimbrias, gránulos de reserva, vacuolas y cloroplastos.

Cuadro N° 1. Diferencias entre las células procariotas y eucariotas.

Características	Célula Procariota	Célula Eucariota
Motilidad	Flagelos con estructura fibrilar simple	Flagelos con estructura fibrilar complicada
Pared celular	Varios polímeros (peptidoglucano)	Varios polímeros orgánicos (no peptidoglucano)
Membranas	Una sola: la citoplasmática	Varias
Vacuolas	Raras veces. Solo vacuolas de gas	Muy frecuentes. Diversos tipos y funciones
Núcleo	Poco diferenciado sin membrana nuclear	Bien diferenciado con membrana nuclear
Ribosomas	70S	80S
Aparato Golgi	Ausente	Presente
Cloroplastos y mitocondrias	Ausentes	Presentes
Reproducción sexual	Rara o fragmentaria	Presenta
Proteínas histonas (ADN)	No	Si
Disposición del ADN	Un cromosoma circular	Varios cromosomas lineales
Unidad de transcripción y traducción	En el citoplasma	En el núcleo (transcripción) Y citoplasma (traducción)
Esteroles	Presentes	Ausentes
Células	Bacterias	Animales, plantas, protozoarios, hongos y algas

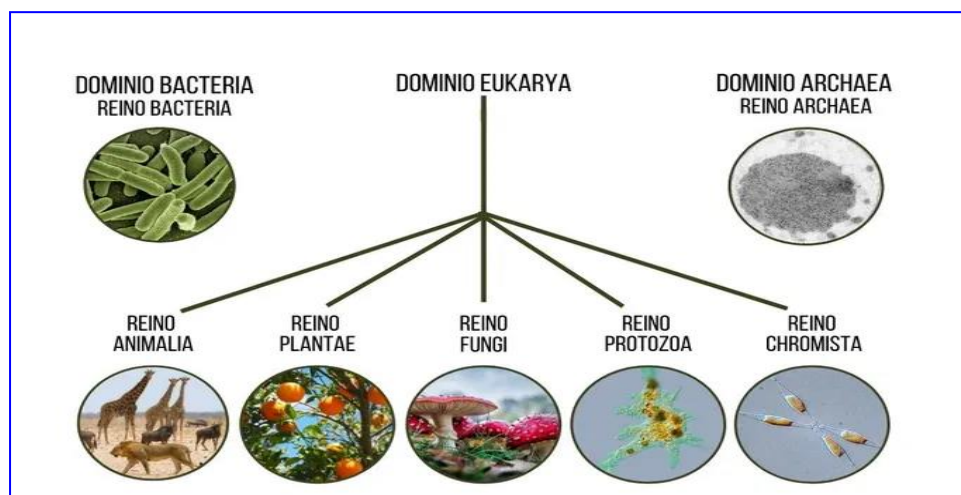


Figura 2. Dominios y reinos de los organismos.