

## **TÍTULO: “A TRAVÉS DEL MICROSCOPIO...”**

*UNA PROPUESTA DE PRÁCTICAS SENCILLAS DE MICROSCOPIA PARA EL BACHILLERATO*

**PRIMER PREMIO DE EDUCACIÓN SECUNDARIA**

**AUTOR: ANTONIO GUILLÉN OTERINO**

**CENTRO: I.E.S. “VALLE DEL OJA”**

### **INTRODUCCIÓN.-**

El trabajo que ahora presentamos como una propuesta práctica, ha sido desarrollado durante los cursos 2000-2001 y 2001-2002 en el IES “Valle del Oja”, con los alumnos que cursan la asignatura “Biología y Geología” en 1º de Bachillerato y en menor medida con los de 3º de ESO en la asignatura de “Ciencias Naturales”. El hecho de que los destinatarios de estos pequeños trabajos de investigación hayan sido casi siempre alumnos de 1º de Bachillerato no significa que sus contenidos no puedan adecuarse a otros niveles, de hecho, un buen número de actividades podrían ser realizadas, y de hecho también se han realizado, con alumnos de 3º o 4º de ESO e incluso con los de 2º de Bachillerato; los requisitos para la realización de las actividades son elementales: contar con un laboratorio mínimamente equipado, un aula de informática y un número de alumnos en el grupo no excesivamente elevado, que nos permita trabajar en el laboratorio y con los equipos informáticos de una manera razonable. En nuestro caso se ha dado durante el curso 2001-2002 una doble y afortunada circunstancia: el contar en el primer curso de Bachillerato con un número de alumnos no muy numeroso, 15, y además con una predisposición general más que favorable hacia las Ciencias Naturales.

La idea para la realización de estos pequeños trabajos científicos partió de un hecho que hemos venido constatando a lo largo de nuestra labor como profesores de Ciencias Naturales: por un lado el general desconocimiento por parte de los alumnos del microscopio y de las técnicas microscópicas y por otro lado la falta de actividades prácticas asequibles y relacionadas con algunas de los contenidos más “áridos” de la disciplina y, en especial, con los del metabolismo. Teniendo en cuenta estas

consideraciones y las ventajas circunstanciales de un grupo altamente motivado y no muy numeroso iniciamos la estimulante tarea de idear algunas prácticas e irles dando forma y coherencia para trabajar con ellas en clase. Nuestra idea inicial pretendía conseguir un objetivo de fácil enunciado: elaborar unas prácticas de microscopía coherentes y globales que pudieran servir como un hilo conductor de la parte teórica de la asignatura. Sin duda nuestra experiencia durante este curso sólo ha cubierto de manera parcial una parte muy concreta de la disciplina, pero ha servido de punto de partida para afianzar conocimientos y, en muchos casos, ha constituido un importante estímulo para acercar a nuestros alumnos a problemas o cuestiones que parecen lejanas, -como si el mundo de la Ciencia fuera un mundo alejado del mundo en el que se desarrolla existencia-. Hemos comprobado como algunas de las actividades han facilitado la aproximación a cuestiones vistas como extrañas o lejanas, especialmente aquellas que tienen que ver con el metabolismo y en las que el exceso de fórmulas suele abrumar a nuestros alumnos que memorizan sin sentido tan rápidamente como después olvidan, otras veces asimilan conocimientos que en no pocas ocasiones son asumidos como dogmas sin más, sin saber el por qué o de dónde surgen. Hacer partícipe al alumno de pequeños descubrimientos es hacerle protagonista de la Ciencia y este ha sido nuestro reto. Aquí sólo se abordan algunas cuestiones muy elementales, pero siempre hemos tratado de dar coherencia al conjunto de las propuestas y así son fácilmente reconocibles dos bloques de actividades, en el primero se trata de profundizar en el conocimiento del microscopio y las técnicas microscópicas mientras que en el segundo las prácticas están interconectadas y tienen que ver con la organización celular y los procesos biológicos de la nutrición, relación y reproducción. En uno y otro caso se abordan desde diferentes perspectivas pero siempre con un nexo de carácter tangible e instrumental: el de la utilización del microscopio y para ello hemos propuesto la siguiente secuencia de trabajos:

- 1ª.- El microscopio y su historia.
- 2ª.- El microscopio compuesto.
- 3ª.- La construcción de un microscopio simple.
- 4ª.- Manejo virtual de un microscopio electrónico de barrido.
- 5ª.- Observación de organismos procariotas.
- 6ª (I).- Observación de células eucariotas: células animales.
- 6ª(II).- Observación de células eucariotas: células vegetales.
- 7ª.- Funciones de nutrición: respiración.

- 8ª.- Funciones de nutrición: fotosíntesis.
- 9ª.- Los procesos de nutrición: toma de alimento.
- 10ª(I).-Fermentaciones: fermentación láctica.
- 10ª(II).-Fermentaciones: fermentación alcohólica.
- 11ª.- Las funciones de relación.
- 12ª.-Las funciones de reproducción: cariocinesis y citocinesis.

### **OBJETIVOS.-**

Como objetivos generales de este trabajo práctico y con independencia de los que hemos establecido para cada una de las actividades, se han propuesto los que seguidamente se detallan:

- Acercar a los alumnos al mundo de los objetos y los seres más pequeños.
- Conocer el microscopio óptico simple y compuesto, sus partes ópticas y mecánicas y la función de cada una de ellas.
- Manejar con autonomía el microscopio óptico y aprender a interpretar las observaciones.
- Aprender a realizar preparaciones microscópicas sencillas con microorganismos, células, tejidos y estructuras animales y vegetales.
- Formular hipótesis y verificarlas mediante la práctica experimental.
- Elaborar informes y trabajos sobre las actividades propuestas.

### **METODOLOGÍA.-**

Si algo tienen en común las actividades propuestas es que pretenden hacer a los alumnos protagonistas de sus propios descubrimientos, para ello se han marcado en cada caso las pautas de actuación y señalado cuáles son los objetivos que se pretenden conseguir con cada una de las actividades, pero siempre dejando la libertad suficiente como para que los alumnos puedan desarrollar libremente alguna de sus ideas y estimular así la búsqueda de soluciones ante los problemas o cuestiones que se plantean. Las directrices generales para la realización de cada una de las actividades han sido entregadas por escrito a cada uno de los alumnos y explicadas con detalle a todos los alumnos en una sesión inicial.

***El sistema de trabajo.-*** En este proceso de trabajo y aprendizaje nos ha parecido adecuado que la realización de las actividades se desarrolle en equipo, las razones para

ello son varias, en primer lugar porque el proceso de investigación o el creativo puede verse enriquecido con las aportaciones de los diferentes componentes del grupo, en segundo lugar porque se puede repartir o compartir la realización de tareas y por último porque de este modo se pueden economizar medios materiales y espacio. Así los grupos de trabajo han estado formados en este caso por tres o cuatro personas. Este trabajo en equipo se ha visto complementado por el trabajo que individualmente debe realizar cada componente, de este modo, la visión personal de cada uno de los miembros del grupo queda recogida con independencia del trabajo que desarrolle el grupo. Tanto el trabajo individual como el trabajo de equipo llevan aparejado en casi todos los casos el desarrollo de habilidades manuales e instrumentales, desarrollo de dotes de observación y la aplicación práctica de los conocimientos teóricos adquiridos en el aula o en el laboratorio.

***Los espacios.-*** La mayor parte de las actividades han sido desarrolladas en el laboratorio de Ciencias Naturales, alguna de ellas en el aula de informática y de manera complementaria en la biblioteca.

***La temporalización.-*** El tiempo para la realización de cada una de las actividades oscila entre una y tres sesiones de clase aunque siempre se ha procurado explicar la documentación informativa en la sesión de clase anterior a la del desarrollo de la actividad.

***Búsqueda de información.-*** como complemento fundamental del trabajo práctico hemos considerado la búsqueda de información, para ello en cada una de las actividades se facilitan las referencias sobre bibliografía específica además de ciertas direcciones de Internet. Estimamos que el uso de las fuentes documentales tradicionales junto con las que se pueden obtener de las nuevas tecnologías puede resultar muy enriquecedora y de hecho ha dado muy buenos resultados, sobre todo en las actividades relacionadas con el conocimiento del microscopio.

### **PROCESO DE REALIZACIÓN.-**

La experiencia de clase y de laboratorio han sido fundamentales para marcar las pautas del proceso de realización de estas actividades. Un buen número de ellas se han ido elaborando durante los dos cursos pasados cuando decidíamos realizar con los

alumnos algún tipo de actividad práctica en un espacio diferente al habitual. La idea inicial se plasmaba en un guión de prácticas que se entregaba a los alumnos en el laboratorio junto con una propuesta de actividades. En función de las posibilidades reales y de los resultados de la actividad en el laboratorio esos guiones iniciales se han ido modificando, generalmente enriqueciendo con nuevas ideas; el resultado de todas esas modificaciones junto con el desarrollo real de la experiencia del curso pasado ha posibilitado la elaboración del material que ahora se presenta de una manera ordenada y pensamos que coherente.

### **RESULTADOS DE LA EXPERIENCIA.-**

Los resultados de la experiencia creemos que han sido enriquecedores tanto para los alumnos como para el profesor, en estos trabajos todas las personas implicadas hemos encontrado alicientes, la satisfacción de descubrir cosas nuevas y el alto grado de motivación de muchos alumnos han sido fundamentales para seguir trabajando en algo que empezó siendo una idea mucho más modesta. Creemos que además de los nuevos conocimientos que los alumnos pueden haber adquirido en el laboratorio a partir de unos objetivos concretos, se ha cumplido en buena medida nuestro deseo de hacer sentirse a los alumnos protagonistas de su propio aprendizaje y de sembrar en ellos alumnos la curiosidad por el saber y por conocer mejor y con otros medios la naturaleza que nos rodea.

### **BIBLIOGRAFÍA BÁSICA:**

- BERNAL, J. D. (1977) *El origen de la vida*. Ed. Destino. Barcelona.
- BERNIS MATEU, J. (1976) *Atlas de Microscopía*. Ed. Jover. Barcelona.
- BOZZO, M. G., DUFORT, M., MERCADÉ, N. (1975) *La vida microscópica*. Salvat Eds. Barcelona.
- BROCK, T. D. (1978) *Biología de los Microorganismos*. Ed. Omega. Barcelona.
- CID, F. (1980) *Historia de la Ciencia*. Ed. Planeta. Barcelona.
- COSTA PÉREZ-HERRERO, A., MIGUEL GONZÁLEZ y DEL CAÑIZO FERNÁNDEZ ROLDÁN, M. A. *Prácticas de Biología para Enseñanza Media: B.U.P., C.O.U. y F.P.* (1981) Instituto de Ciencias de la Educación de Salamanca.
- CUELLO SUBIRANA, J. & al. (1978) *Prácticas de Biología*. Ed. Fontalba. Barcelona.
- HEALEY, P. (1971) *Microscopios y vida microscópica*. Ed. Bruguera. Barcelona.

HOOKE, R. (1665) *Micrographia* (traducción de Carlos Solís (1989)). Ed. Alfaguara. Madrid.

IZCO, J. & al. (1998) *Botánica*. Mc. Graw-Hill. Interamericana. Madrid.

LOCQUIN, M. & LANGERON, M. (1985) *Manual de Microscopía*. Ed. Labor. Barcelona.

MEGLISCH (1980) *Zoología de invertebrados*. Ed. Omega. Barcelona.

ROBERTSON, D. (1980) *El microscopio y la vida*. Ed. Destino. Barcelona.

STRASBURGER, E. & al. (1994) *Tratado de Botánica*. 8ª Edición. Ed. Omega. Barcelona.

WEISZ, P. B. & KEOGH, R. N. (1987) *La Ciencia de la Biología*. Ed. Omega. Barcelona.

ZARUR, P. (1973) *Tengo un microscopio ¿qué puedo observar?* Ed. Kapelusz. Buenos Aires.

## EJEMPLOS

### 1.- EL MICROSCOPIO Y SU HISTORIA.



*La evolución del microscopio y de sus imágenes: a la izquierda microscopio de Leeuwenhoek (SXVII); a la derecha microscopio electrónico de barrido actual e imágenes de sangre humana obtenidas con estos dos instrumentos.*

### INTRODUCCIÓN

El conocimiento de la Naturaleza nos sorprende a cada instante con imágenes nuevas. Sin embargo buena parte de las estructuras y de los procesos biológicos más relevantes son más pequeños de lo que el ojo humano puede ver sin ayuda. nuestro ojo puede alcanzar una resolución cercana a las 100  $\mu\text{m}$ , es decir podemos ser capaces de ver objetos de hasta una décima de mm, pero no los más pequeños.

La curiosidad innata al hombre ha hecho que este haya intentado saber más acerca de los objetos más lejanos, pero también de los más próximos, la astronomía es una ciencia ligada al hombre desde antiguo y casi en la misma medida que se desarrolla el instrumental óptico para acercar los objetos lejanos lo hace el que permite aumentar los objetos próximos.

¿Qué objetos somos capaces de ver a simple vista?

De gran tamaño: kilómetros de montañas o de mar; de tamaño humano: una persona, un animal...; de 1 centímetro: moscas, abejas...; de 1 milímetro: piojos, pulgas y otros insectos.

¿Qué podemos ver con el microscopio óptico? Amebas y protozoos: una décima de milímetro; glóbulos rojos y otras células: una centésima de milímetro; bacterias: milésimas de milímetro.

¿Qué podemos observar sirviéndonos del microscopio electrónico? Cromosomas: décimas de micra o diezmilésimas de milímetro; virus: centésimas de micra; moléculas: milésimas de micra, o nanómetros.

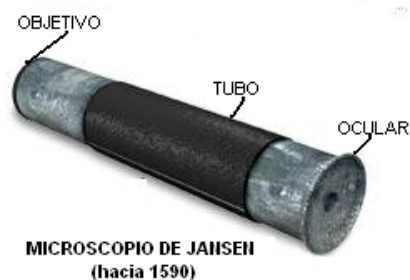
¿Qué vemos con los microscopios de efecto túnel y de fuerza atómica? Átomos: un ángstrom.

## OBJETIVOS

- Conocer los hitos más relevantes en el desarrollo del microscopio óptico.
- Comprender la utilidad de los diferentes tipos de microscopio.
- Saber relacionar algunos descubrimientos relevantes de la Biología con sus protagonistas principales y su relación con el microscopio.
- Entender las diferentes escalas de medida empleadas en microscopía y sus equivalencias.

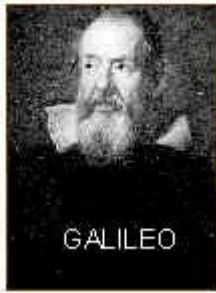
## UNA BREVE RESEÑA HISTÓRICA

El invento del microscopio parece remontarse al siglo XVI cuando en 1590 los hermanos Jansen en Holanda inventaron el microscopio compuesto, constaba de un tubo con dos lentes convexas en cada extremo y ampliaba más que las lupas, que existían desde la Edad Media, aunque daba una imagen borrosa.

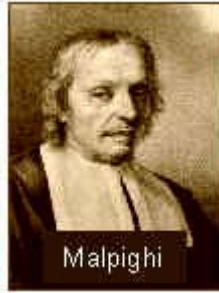


A principios del siglo XVII, en 1610, Galileo, construyó otro de similares características y desde entonces italianos y holandeses se disputan la autoría del invento. Lo que sí se hizo en Italia fue acuñar el término “microscopio” que se empleó por primera vez en la descripción de la anatomía externa de una abeja en un trabajo

publicado por los componentes de la "Academia dei Lincei", sociedad científica a la que pertenecía Galileo.



Galileo 1564-1642



Malpighi 1628-1694



Leeuwenhoek 1632-1723

Para obtener más información sobre la historia del microscopio puedes acceder a la siguiente página pinchando con el ratón el texto resaltado.:

[http://odontologia.iztacala.unam.mx/mod\\_instrumentacion/practicasi/microscopio/microH.htm](http://odontologia.iztacala.unam.mx/mod_instrumentacion/practicasi/microscopio/microH.htm)

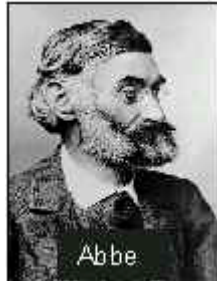
A este primer trabajo siguieron otras obras importantes, quizá la de mayor repercusión fue la *Micrographia* de Hooke, publicada en 1665, en la que se describen técnicas de microscopía muy elementales y se dibujan y comentan observaciones realizadas en un gran número de especímenes hechas con microscopio compuesto, del mismo tipo al inventado por los hermanos Jansen. También por estos mismos años, en 1660, Malpighi utiliza el microscopio y prueba la teoría de Servet y de Harvey sobre la circulación sanguínea al observarla con este instrumento en los capilares sanguíneos.



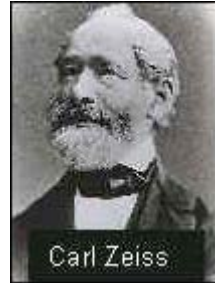
Por estas mismas fechas, hacia mediados del siglo XVII, Antony Van Leeuwenhoek, un comerciante de paños holandés, que no tenía formación científica, pero que era un hábil pulidor de lentes, fabricó microscopios de una sola lente y consiguió obtener aumentos próximos a los 200 y describir así por primera vez bacterias, protozoos, espermatozoides y glóbulos rojos, a los que llamó "animáculos" o pequeños animales. Mantuvo correspondencia científica a través de más de 300 cartas con la Royal Society de Londres.

Durante el siglo XVIII se introdujeron en el microscopio mejoras mecánicas que aumentaron su estabilidad y su facilidad de uso aunque no se desarrollaron mejoras ópticas. Las mejoras de más importancia y casi definitivas en la óptica llegaron en 1877 cuando Abbe publicó su teoría del microscopio; por encargo del óptico Carl Zeiss perfeccionó la microscopía de inmersión al sustituir el agua por aceite de cedro, con

mayor índice de refracción, lo que permitió obtener aumentos cercanos a los 2000. En el primer tercio del siglo XX ya se había conseguido alcanzar el límite teórico de aumentos para los microscopios ópticos sin rebasar ampliificaciones superiores a 500X o 1000X sin embargo existía un deseo científico de observar los detalles de estructuras celulares como el núcleo o los cloroplastos.

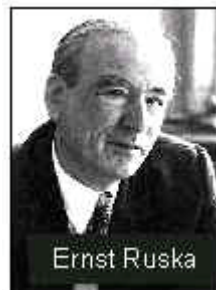


Ernst Abbe 1840 - 1905



Carl Zeiss 1816 - 1899

En 1931 Max Knoll y Ernst Ruska fabricaron en Alemania el microscopio electrónico de transmisión MET (T.E.M.), el primer tipo de **microscopio electrónico** que empleaba un haz de electrones en lugar de luz (fotones) para enfocar la muestra. Las imágenes obtenidas entonces eran muy deficientes y de calidad inferior a la que ofrecían los microscopios convencionales de la época, además sólo se consiguieron aumentos de hasta x2000 frente a los 10000000 actuales. Sin embargo poco tiempo después James Hillier consiguió construir un microscopio electrónico que superó a los convencionales; en 1937 se pasó de los 2000 a los 7000 aumentos. Con los años, el propio Hillier contribuiría a construir aparatos con una capacidad de 2 millones de aumentos, una dimensión totalmente fuera de las posibilidades de los microscopios tradicionales.



Ernst Ruska 1906 – 1988 junto al primer microscopio electrónico

Años más tarde, en 1942 se desarrolla el **microscopio electrónico de barrido** MEB (SEM) que permite observar la superficie de los especímenes a analizar y este instrumento se perfecciona notablemente en 1965.

En 1981. G. Binnig y H. Rother, desarrollan el llamado **microscopio de efecto túnel**. Con esta tecnología se consiguieron observar por vez primera moléculas e incluso átomos individualizados; en 1985 estos mismos autores ponen a punto el llamado **microscopio de fuerza atómica**, ya en 1998. S. Chou y P. Krauss consiguen, mediante el efecto túnel, realizar la grabación de datos de mayor densidad conocida: 65 gigabits por centímetro cuadrado.

Todos estos avances técnicos han permitido al hombre ir penetrando de forma progresiva en la constitución de los seres vivos y de la materia.

## ACTIVIDADES :

**Actividad n°1- El manejo de las dimensiones y las imágenes microscópicas**

Escribe las relaciones matemáticas entre las diferentes unidades de medida de las que se habla en la introducción.



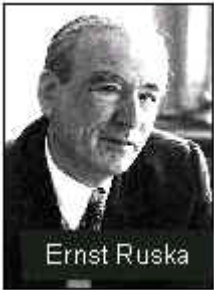

¿Sabrías decir con qué tipo de microscopio –microscopio óptico, microscopio electrónico, microscopio electrónico de barrido, microscopio de fuerza atómica- han sido obtenidas las imágenes siguientes?





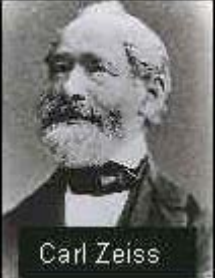

¿Qué imagen corresponde a cada una de las muestras?: esmalte dental, moho, mitocondria, mosquito.

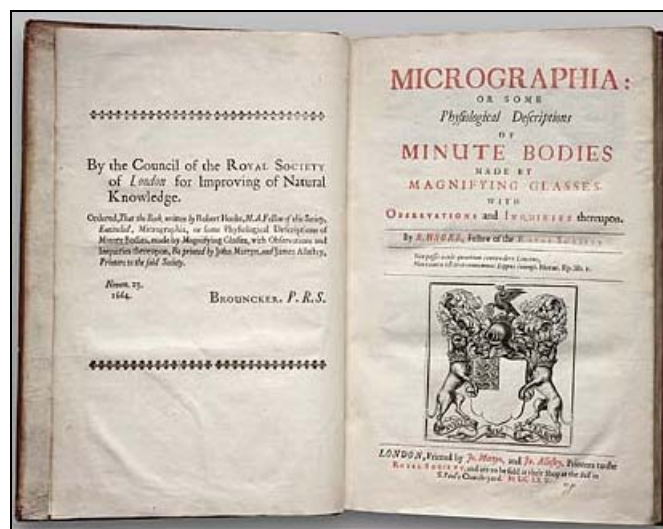


**Actividad n°2- Un repaso a la historia del microscopio.**

¿Sabrías relacionar correctamente los recuadros de las tres columnas?

 Galileo	Fabricó microscopios de una sola lente y observó por primera vez bacterias y protozoos.	
 Ernst Ruska	Construyó, unos años después que los hermanos Jansen, uno de los primeros microscopios ópticos compuestos.	

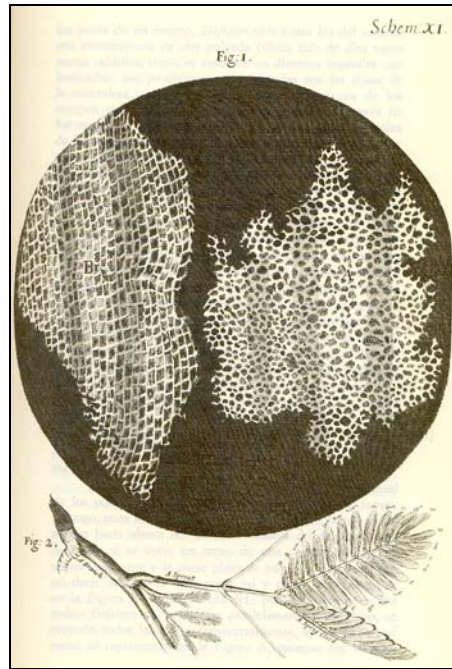
 <p>Leeuwenhoek</p>	<p>Realizó numerosas observaciones con el microscopio óptico y a él se debe el nombre de célula</p>	
	<p>Desarrolló hasta sus límites teóricos el microscopio óptico</p>	
 <p>Zeiss</p>	<p>Construyó el primer microscopio electrónico</p>	



Portada de la *Micrographia* de Hooke, el primer tratado de microscopía, publicado en Londres en el año 1665

### Actividad nº 3- Un fragmento “muy pequeño” de la *Micrographia* de Hooke.

El texto y el grabado que a continuación reproducimos corresponden a la obra *Micrographia* de Robert Hooke publicada en Londres en 1665:



**“Observación XVIII. De la estructura o textura del corcho y de las celdas y poros de algunos otros cuerpos esponjosos semejantes.**

*Cogí un trozo bien claro de corcho y con un cortaplumas tan afilado como una navaja de afeitar, corté un trozo, dejando su superficie extraordinariamente lisa. Al examinarlo luego con mucha diligencia con un microscopio pensé que podía ver cómo aparecía un poco poroso, pero no era capaz de distinguir los poros con suficiente claridad como para estar seguro de lo que eran, y mucho menos para estar seguro de cuál era su forma. Sin embargo, juzgando por la ligereza y blandura del corcho que sin duda su textura no podía ser tan delicada que, de recurrir a una mayor diligencia, no pudiera quizá hallar el modo de discernirla con el microscopio, con el mismo cortaplumas afilado separé de la anterior superficie lisa un trozo extraordinariamente delgado y, colocándolo en un portaobjetos negro, dado que se trataba de un cuerpo blanco, y proyectando sobre él la luz con una gruesa lente plano convexa, pude percibir con enorme claridad que estaba todo perforado y poroso, muy a la manera de un panal, aunque sus poros no eran regulares, si bien no difería de un panal en los siguientes aspectos:*

*Primero, en que tenía muy poca sustancia sólida en comparación con la cavidad vacía contenida en medio, tal y como aparece de manera más clara en las figuras A y B de la Plancha XI, pues los intersticios o paredes (como se pueden denominar) o particiones de dichos poros eran casi tan delgadas en relación a sus poros como esas láminas delgadas de cera de un panal (que encierran y constituyen las celdas exangulares) respecto a los suyos.*

*Luego en que los poros o celdas no eran muy profundos, sino que constaban de muchísimas cajitas separadas en un poro largo y continuado mediante determinados diafragmas, tal y como se ve en la figura B [de la Plancha XI], que representa una vista de los poros separados longitudinalmente...”*

Como hemos señalado anteriormente Robert Hooke publicó una de las más importantes obras de microscopía en 1665, *Micrographia*, he aquí un texto y uno de los grabados que acompañan a la descripción de sus observaciones.

¿A qué descubrimiento se alude en el texto?

¿Por qué Hooke colocó la muestra sobre un portaobjetos negro?  
¿Qué palabra quedó acuñada en esta descripción?  
¿Ese término tiene el mismo significado hoy que cuando Hooke realizó la observación?  
¿Por qué?

**TEMPORALIZACIÓN:** tres sesiones, una en el aula, otra en el laboratorio y otra en el aula de informática.

**DIRECCIONES DE INTERNET:**

<http://www.cienciaparaninos.com/genmol.htm>

Página con gran número de enlaces relacionadas con el mundo del microscopio.

<http://www.micro.magnet.fsu.edu/>

Excelente página en inglés con imágenes virtuales de microscopio, historia, etc.

<http://www.msa.microscopy.com/>

Página de la sociedad americana de microscopía con varios enlaces relacionados con la educación.

<http://www.csic.es/hispano/patrimo/micro1/microevo.htm>

Página del CSIC sobre los microscopios y el instrumental microscópico conservado en España.

**BIBLIOGRAFÍA BÁSICA:**

BERNAL, J. D. (1977) *El origen de la vida*. Ed. Destino. Barcelona.

BERNIS MATEU, J. (1976) *Atlas de Microscopía*. Ed. Jover. Barcelona.

BOZZO, M. G., DUFORT, M., MERCADÉ, N. (1975) *La vida microscópica*. Salvat Eds. Barcelona.

BROCK, T. D. (1978) *Biología de los Microorganismos*. Ed. Omega. Barcelona.

CID, F. (1980) *Historia de la Ciencia*. Ed. Planeta. Barcelona.

COSTA PÉREZ-HERRERO, A., MIGUEL GONZÁLEZ y DEL CAÑIZO

FERNÁNDEZ ROLDÁN, M. A. *Prácticas de Biología para Enseñanza Media: B.U.P., C.O.U. y F.P.* (1981) Instituto de Ciencias de la Educación de Salamanca.

CUELLO SUBIRANA, J. & al. (1978) *Prácticas de Biología*. Ed. Fontalba. Barcelona.

HEALEY, P. (1971) *Microscopios y vida microscópica*. Ed. Bruguera. Barcelona.

HOOKE, R. (1665) *Micrographia* (traducción de Carlos Solís (1989)). Ed. Alfaguara. Madrid.

IZCO, J. & al. (1998) *Botánica*. Mc. Graw-Hill. Interamericana. Madrid.

LOCQUIN, M. & LANGERON, M. (1985) *Manual de Microscopía*. Ed. Labor. Barcelona.

MEGLISCH (1980) *Zoología de invertebrados*. Ed. Omega. Barcelona.

ROBERTSON, D. (1980) *El microscopio y la vida*. Ed. Destino. Barcelona.

STRASBURGER, E. & al. (1994) *Tratado de Botánica*. 8ª Edición. Ed. Omega. Barcelona.

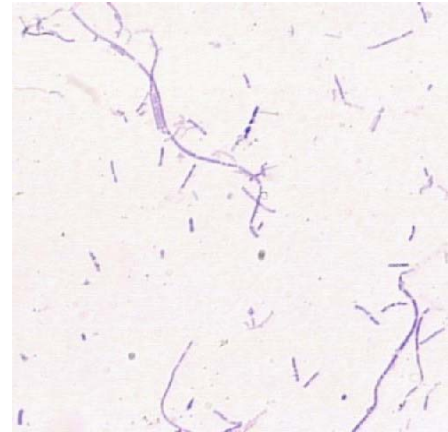
WEISZ, P. B. & KEOGH, R. N. (1987) *La Ciencia de la Biología*. Ed. Omega. Barcelona.

ZARUR, P. (1973) *Tengo un microscopio ¿qué puedo observar?* Ed. Kapelusz. Buenos Aires

## 10 (I).- FERMENTACIONES: LA FERMENTACIÓN LÁCTICA



*Lactobacillus casei*, imagen de MEB



*Lactobacillus bulgaricus*, imagen de M.O.

### INTRODUCCIÓN:

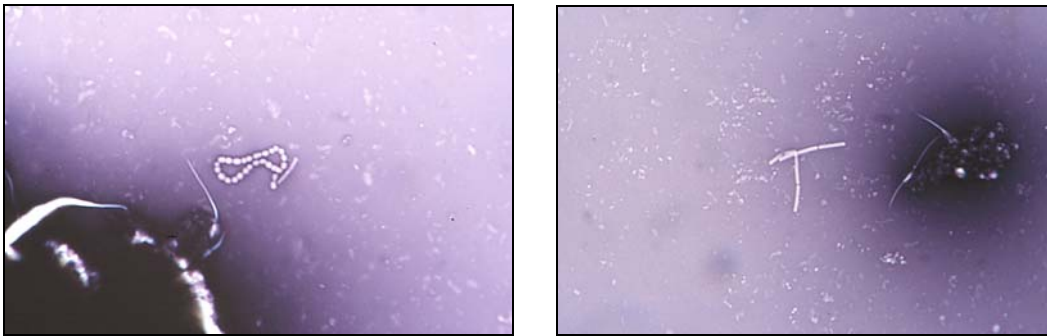
Uno de los procesos más primitivos empleado por los microorganismos para obtener energía de una manera alternativa al de la respiración es el de la fermentación anaerobia, es decir, en ausencia de oxígeno. Aquellos que comparten esta posibilidad de obtener energía mediante respiración, si hay oxígeno, o fermentación si no lo hay, son los organismos anaerobios facultativos. Sin embargo, otros, sólo pueden vivir en ausencia de oxígeno, son los anaerobios estrictos. Dentro de las fermentaciones las dos modalidades más importantes son las de la fermentación láctica y las de la fermentación alcohólica. En ambos casos el combustible empleado por la célula es el mismo que en la respiración: la glucosa, sin embargo el rendimiento energético de las fermentaciones es muchísimo más bajo que el de la respiración. Tanto en la fermentación láctica como en la alcohólica, la glucosa, en una primera fase se rompe en dos moléculas de tres átomos de carbono: el ácido pirúvico, siguiendo un conjunto de reacciones que reciben el nombre de glicolisis (destrucción de la glucosa). Sin embargo, la segunda fase del proceso de fermentación difiere en la láctica de la alcohólica, en la láctica el ácido pirúvico se transforma en otro compuesto de 3 átomos de carbono, el ácido láctico, mientras que en la alcohólica cada molécula de pirúvico perderá una molécula de CO<sub>2</sub> y se convertirá en etanol (alcohol etílico).

## OBJETIVOS:

- Observar qué ocurre cuando actúan sobre la leche algunos microorganismos que llevan a cabo la fermentación láctica.
- Reconocer las bacterias responsables de la fermentación láctica y presentes en el yogur.
- Tratar de cuantificar cómo tras la fermentación aumenta el número de bacterias.

## MATERIAL NECESARIO:

1 yogur natural.  
Envase de plástico de botella de agua de 33cl.  
Agua destilada.  
Alcohol metílico.  
Azul de metileno.  
Agua destilada.  
Pipeta.  
Mechero Bunsen.  
Portaobjetos y cubreobjetos.  
Microscopio.  
Estufa de cultivos.



*Frotis bacteriano de yogur donde se aprecian distintos tipos de bacterias responsables de la fermentación láctica x1000*

*Montaje y fotografía en el laboratorio del Instituto.*

## ACTIVIDADES:

### **Actividad n°1 Observación y recuento de bacterias antes de la fermentación**

El objetivo de esta primera actividad será la realización de un frotis bacteriano para identificar formas bacterianas y hacer un recuento aproximado del número de bacterias por unidad de volumen, para ello, disolveremos en 200cl. de agua 1cl. de yogur; con una pipeta tomaremos una muestra de 0,01ml de esta disolución, que depositaremos en un extremo de un portaobjetos. Apoyando el borde corto de otro portaobjetos sobre la gota, la extenderemos presionando y arrastrando hacia el otro extremo del porta de una sola pasada. Cuando la muestra esté seca se añadirán unas gotas de alcohol metílico para fijar la preparación. Secaremos la muestra agitándola ligeramente y teniendo la precaución de no poner los dedos sobre la superficie donde están extendidos los microorganismos; añadiremos sobre la extensión bacteriana unas

gotas de azul de metileno que se dejarán actuar durante 2 ó 3 minutos. Después se lavará la preparación con un fino chorro de agua, y se dejará escurrir y secar perfectamente, cuando esto ocurra la preparación estará lista para su observación en el microscopio.

Para realizar la observación bacteriana tendremos que utilizar el objetivo de inmersión procediendo del siguiente modo: con un palillo o bastoncito de plástico colocaremos una gota de aceite de inmersión en la lente frontal del objetivo de inmersión, moveremos lentamente el tornillo macrométrico hasta que la gota de aceite entre en contacto con el cubreobjetos y observando por el ocular y manipulando el tornillo de enfoque micrométrico mejoraremos el enfoque realizando después los ajustes pertinentes en el regulador de la intensidad lumínica y en el diafragma para obtener la suficiente luz; dibujaremos los tipos bacterianos que hayamos podido diferenciar.



*Tinción del frotis para realizar una primera observación de las bacterias de la fermentación láctica*

El recuento de bacterias se puede hacer realizando un frotis sobre un porta especial con cámaras destinado a contar el nº de células sanguíneas, pero podemos efectuar uno aproximado así: se recortará una hoja de papel milimetrado del mismo tamaño del porta y se colocará debajo de él; también se puede fotocopiar el papel milimetrado sobre una hoja de acetato para fotocopiadora. Contaremos el número de cuadrículas por las que se extienden las bacterias -coincidirán con las zonas teñidas de azul-, colocaremos después la hoja de acetato o el papel milimetrado con cinco cuadrículas aleatoriamente recortadas con un cúter sobre la platina del microscopio y bajo la preparación y contaremos así las bacterias que se extienden en un área de 5mm<sup>2</sup>, de este modo podremos saber cuántas se extienden por todas las cuadrículas, que son las mismas que existen en 0,01ml de disolución.

### **Actividad nº2 Observamos los efectos de la fermentación.**

En esta segunda fase de la práctica disolveremos en 200cl. de leche 5 cl. de yogur; humedeceremos un trocito de papel tornasol en el líquido para averiguar el pH e introduciremos esta disolución en una botella de agua mineral vacía de 33cl. Con cuidado iremos aplastando la botella hasta que el líquido quede enrasado con la boca, posteriormente cerraremos la botella y la introduciremos en la estufa de cultivos a 30°C, donde la tendremos durante 24 horas. Observaremos qué ha ocurrido con la botella, con el líquido de su interior y qué pasa al abrir la botella. Introduciremos ahora el papel tornasol en el líquido resultante y anotaremos el valor de pH.



*Preparación del cultivo, realización de un frotis y fijado de la muestra tras la fermentación.*

### **Actividad nº3 Observación y recuento de bacterias después de la fermentación**

Con una pipeta volveremos a tomar una muestra de 0,01ml y la extenderemos sobre un porta siguiendo los mismos pasos que en 1) y en 2). Finalmente después de completar el recuento de bacterias las observaremos con el objetivo de inmersión. Después de ser utilizado deberá limpiarse bien con un pañuelo fino ligeramente humedecido en xilol.



*Aspecto que presentan las botellas tras la fermentación láctica, izquierda, y alcohólica, derecha*

#### **Propuesta de trabajo:**

- Explica qué transformaciones ha sufrido la botella tanto en su aspecto externo como en su interior antes y después de haberla introducido en la estufa de cultivos.
- ¿Por qué utilizamos un colorante para realizar la observación?
- Dibuja la forma de las bacterias que hayas podido observar ¿Cuántos tipos distintos has podido reconocer?
- ¿Cuántas bacterias había en 1cc de cultivo antes de la fermentación? ¿y después? explica cómo lo has podido calcular
- ¿Cómo a variado el pH a lo largo del experimento? ¿Por qué?
- Trata de dar una interpretación científica al experimento.

### **TEMPORALIZACIÓN**

Tres o cuatro sesiones de laboratorio bastarán para realizar esta práctica y la siguiente.

### SUGERENCIAS

Es muy interesante la comparación de los procesos de fermentación láctica y alcohólica, por lo que recomendamos la realización de esta práctica al mismo tiempo que la siguiente.

### DIRECCIONES DE INTERNET

<http://omega.ilce.edu.mx:3000/sites/ciencia/volumen1/ciencia2/43/htm/elmundo.htm>

Página mejicana dedicada al mundo de la microbiología, bastante completa y asequible.

<http://www.ucm.es/info/mfar/presenta.htm>

Página principal del Departamento de microbiología de la Facultad de Farmacia en la Universidad Complutense de Madrid. Numerosos y excelentes enlaces e información variada.

<http://www.microbe.org/espanol/experiment/yeast.asp>

Experimentos con levaduras y otros microorganismos.

<http://www.microbelibrary.org/>

Página de la sociedad americana de microbiología con numerosos recursos.

<http://www.microbelibrary.org/C3Search.asp?SubmissionType=v>

Página para buscar cualquier texto o imagen relacionada con microorganismos: excelente.

### BIBLIOGRAFÍA BÁSICA:

BERNAL, J. D. (1977) *El origen de la vida*. Ed. Destino. Barcelona.

BERNIS MATEU, J. (1976) *Atlas de Microscopía*. Ed. Jover. Barcelona.

BOZZO, M. G., DUFORT, M., MERCADÉ, N. (1975) *La vida microscópica*. Salvat Eds. Barcelona.

BROCK, T. D. (1978) *Biología de los Microorganismos*. Ed. Omega. Barcelona.

CID, F. (1980) *Historia de la Ciencia*. Ed. Planeta. Barcelona.

COSTA PÉREZ-HERRERO, A., MIGUEL GONZÁLEZ y DEL CAÑIZO

FERNÁNDEZ ROLDÁN, M. A. *Prácticas de Biología para Enseñanza Media: B.U.P., C.O.U. y F.P.* (1981) Instituto de Ciencias de la Educación de Salamanca.

CUELLO SUBIRANA, J. & al. (1978) *Prácticas de Biología*. Ed. Fontalba. Barcelona.

HEALEY, P. (1971) *Microscopios y vida microscópica*. Ed. Bruguera. Barcelona.

HOOKE, R. (1665) *Micrographia* (traducción de Carlos Solís (1989)). Ed. Alfaguara. Madrid.

IZCO, J. & al. (1998) *Botánica*. Mc. Graw-Hill. Interamericana. Madrid.

LOCQUIN, M. & LANGERON, M. (1985) *Manual de Microscopía*. Ed. Labor. Barcelona.

- MEGLISCH (1980) *Zoología de invertebrados*. Ed. Omega. Barcelona.
- ROBERTSON, D. (1980) *El microscopio y la vida*. Ed. Destino. Barcelona.
- STRASBURGER, E. & al. (1994) *Tratado de Botánica*. 8ª Edición. Ed. Omega. Barcelona.
- WEISZ, P. B. & KEOGH, R. N. (1987) *La Ciencia de la Biología*. Ed. Omega. Barcelona.
- ZARUR, P. (1973) *Tengo un microscopio ¿qué puedo observar?* Ed. Kapelusz. Buenos Aires.