

CAPÍTULO II

MICROSCOPIO COMPUESTO

Teoría del objetivo y del ocular. Doctrina de la visión microscópica según Abbe.

El *microscopio compuesto* consiste esencialmente en un tubo provisto en sus extremos de dos lentes: la superior que por aproximarse al ojo del observador se llama *ocular*; y la inferior que por dirigirse al objeto toma el nombre de *objetivo*.

MICROSCOPIO COMPUESTO TEÓRICO

Ópticamente, el microscopio compuesto funciona combinando los dos casos ó condiciones en que las lentes dan imágenes amplificadas: el objetivo opera como una máquina fotográfica, ó á la manera de un aparato de proyección, es decir, que, por residir el objeto más allá del foco principal, proyecta una imagen real, invertida y amplificada; y el ocular actúa como un microscopio simple, ó sea formando, de la imagen proyectada por el objetivo, una copia virtual todavía más grande, derecha con relación á aquélla, pero invertida con relación al objeto. Para que el ocular pueda funcionar como microscopio simple, es preciso que reciba la imagen de proyección entre el foco principal y la lente superior.

Conocida la teoría del ocular, pues, como acabamos de decir, no es otra que la del microscopio simple, diremos algo de la del objetivo, órgano fundamental del microscopio compuesto.

Teoría del objetivo. — Cuando el objeto está situado más allá del foco principal de una lente, pero sin llegar al doble de la distancia focal, prodúcese una imagen real invertida, y tanto más amplificada cuanto más cerca del foco principal se halla el ob-

jeto. Si éste se aparta hasta el doble de la distancia focal, la imagen será de tamaño natural.

Para construir la imagen (fig. 8), se trazan, como en la figura 1, el eje principal y los ejes secundarios *e, e*; se tiran luego dos rayos incidentes *r r*, los cuales, después de refractarse en la lente y aproximarse á la perpendicular, se entrecruzan, dibujando una imagen invertida y real. Esta imagen se halla justamente en el paraje en que los ejes secundarios *e, e*, después de atravesar la lente, cortan los rayos incidentes invertidos.

La imagen se acrece en tamaño y en distancia de proyección, á medida que el objeto se aproxima al foco. Si el objeto coincide

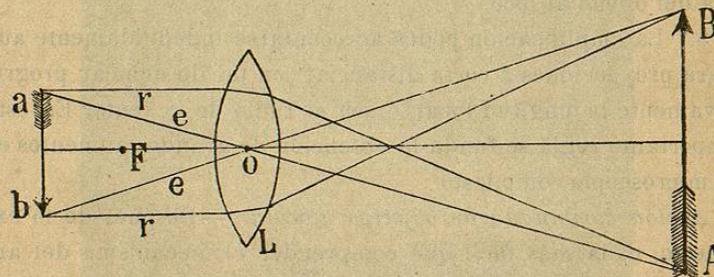


Fig. 8. — Marcha de los rayos luminosos en el objetivo: A, B, imagen; F, foco; e, ejes secundarios.

con el foco principal, no hay imagen, porque los rayos emergen de un modo paralelo de la superficie posterior de la lente.

El aumento se calculará con la fórmula que expresa las relaciones existentes entre el foco, la distancia del objetivo y la de la imagen.

Sea *i* la imagen proyectada, *o* el objeto, *D* la distancia de la imagen á la lente, *d* la de la lente al objeto, *f* la distancia focal y *A* el aumento. Tendremos:

$$A = \frac{i}{o} = \frac{D}{d} = \frac{f}{d-f}.$$

Si el objeto se coloca en el doble de la distancia focal, la imagen será de tamaño natural, porque siendo $d = 2f$ el último término de la ecuación, puede reducirse á

$$A = \frac{f}{2f-f} = \frac{f}{f} = 1.$$

El examen de la fig. 8 y la discusión de la fórmula citada nos darán á entender claramente que :

- 1.º La imagen ampliada es real é invertida.
- 2.º El aumento es tanto mayor cuanto más pequeña es la distancia focal.
- 3.º Cuanto más se acerque el objeto al foco, más grande resultará la ampliación, y á mayor distancia se proyectará la imagen.
- 4.º La imagen podrá acrecerse al infinito cualquiera que fuere la distancia focal, con tal de prolongar suficientemente la distancia de proyección, disminuyendo progresivamente la distancia del objeto al foco.

5.º La ampliación podrá acrecentarse indefinidamente aun para proyecciones á corta distancia, con tal de achicar progresivamente la longitud focal, ó sea el radio de la lente. En esta importante regla se funda la obtención de grandes aumentos en el microscopio compuesto.

Acción combinada de objetivo y ocular.— Después de lo expuesto, nada más fácil que comprender el mecanismo del aumento del microscopio compuesto, como puede verse en la figura 9. Del objeto $a b$, proyecta el objetivo (*obj.*) una imagen real é invertida en $a' b'$, es decir, más allá del foco (F) principal del ocular (*oc.*). En consecuencia, esta última lente transforma la imagen real aumentada $b' a'$ en la virtual y todavía más extensa $B A$. El observador percibe, pues, la imagen en $B A$, punto donde los ejes secundarios que pasan por el ocular cortan la prolongación de la última dirección tomada por los emergentes $l p$ y $m o$, de un lado, y $k o$ y $n i$, de otro.

Del examen de esta figura y de la consideración de las fórmulas antes expuestas, se inferen fácilmente las siguientes proposiciones :

- 1.º La imagen crece conforme disminuye el foco del objetivo.
- 2.º La magnitud de la imagen con un mismo objetivo aumenta á medida que disminuye la distancia focal del ocular.
- 3.º La ampliación total del microscopio crece con el alejamiento del ocular del objetivo, lo que equivale á decir que, cuanto menor sea la distancia entre el objeto y el foco principal

del objetivo, más distante y más grande resultará la imagen proyectada que debe ampliar el ocular.

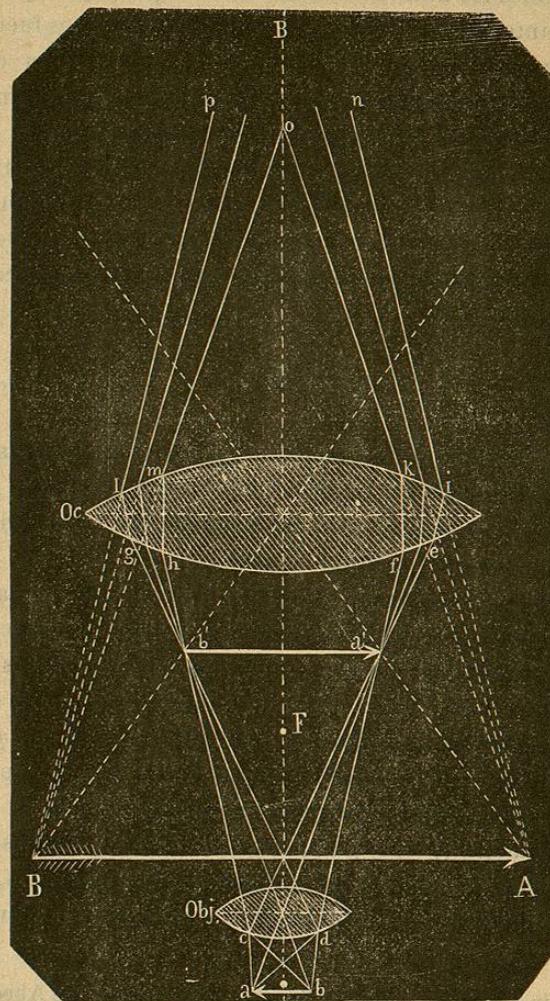


Fig. 9. — Marcha de los rayos y formación de las imágenes en el microscopio compuesto: *Obj.*, objetivo; *Oc.*, ocular; $a b$, objeto microscópico; $b' a'$, imagen real proyectada por el objetivo; $A B$, imagen virtual engendrada por el ocular.

4.º Teóricamente, todo microscopio podría dar aumentos variables al infinito, con sólo aumentar suficientemente la distan-

cia de proyección, lo que se logra aproximando progresivamente el objeto al foco del objetivo; pero en la práctica sólo son aprovechables los aumentos obtenidos con objetivos de foco corto, por cuanto solamente éstos suministran imágenes fuertemente amplificadas á distancias relativamente cortas. Por esta razón, se ha dicho, aunque incorrectamente, que el aumento está en razón inversa de la distancia focal del objetivo.

El aumento del microscopio compuesto se obtiene multiplicando el del objetivo por el del ocular, como expresa la fórmula siguiente, que comprendé una de las relaciones que sirven para calcular la ampliación del objetivo, junto con la tan conocida del microscopio simple

$$A = \frac{D}{d} \times \frac{D}{F}$$

Es decir, el aumento es igual á la relación entre las distancias de la imagen al objetivo (D) y la del objeto á la lente (*d*), multiplicada por la relación entre la distancia de la visión distinta (D) y la distancia focal del ocular (F).

Teoría de la visión microscópica de Abbe (1).—En la imagen del microscopio hay que distinguir dos elementos: la imagen dióptrica ó central que da por proyección los contornos y los colores de los objetos, y se rige por los principios anteriormente expuestos; y los espectros de difracción engendrados por los rayos incidentes al atravesar las finas rayas y asperezas de la preparación. Estos espectros, fundiéndose con el pincel central ó dióptrico en la imagen proyectada, revelan los finos detalles del objeto, de tal suerte que, si por circunstancias especiales, dichos rayos difractados son excluidos de la imagen, el microscopio

(1) *Archiv. f. mikros. Anatom.*, Bd. ix, 1873. La teoría de Abbe ha sido confirmada y expuesta por Stephenson: *Experiences à l'appui de la théorie du prof. Abbe sur la vision microscopique*, traducido por van Heurck para su libro *Le microscope*, 4.ª edic., 1891. Crisp ha publicado también un buen resumen: *On the influence of Diffraction in microscopique vision*, *Journ. Quek. mik. club.*, 1878. Se leerá también con provecho el estudio que á este interesante punto consagra Francotte en su *Manuel de Technique microscopique*, etc. Paris, 1889.

pierde su poder resolutivo, siendo incapaz de mostrarnos las estrias y otros pormenores delicados de las células y diatómeas.

Abbe ha probado que, si de preparaciones desiguales se admiten, á beneficio de diafragmas especiales, los mismos espectros de difracción, las imágenes aparecerán idénticas; y al revés, dos preparaciones que contengan rayas iguales, se mostrarán diferentes, con tal de admitir en la formación de la imagen distintos espectros.

Los espectros de difracción de una preparación con rayas (un micrómetro, por ejemplo, ó una diátomea), pueden observarse fácilmente en el microscopio, quitando el ocular y mirando en el interior del tubo. Suponiendo que las dis-

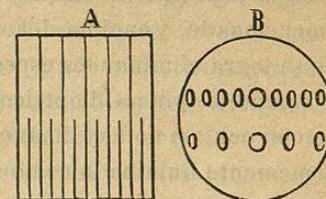


Fig. 10. — A, micrómetro objetivo con dos series de rayas; B, espectros de difracción que aparecen al examinar dicho micrómetro con un objetivo y sin ocular.

tancias separatorias de las estrias sean iguales, veremos en el centro del tubo el pincel luminoso principal dióptrico, y á los lados y en serie perpendicular á la dirección de las estrias, varios espectros de difracción. Cuanto más próximas y finas las rayas, tanto más separados se hallan los espectros (véase la fig. 10, B).

Las interesantes experiencias de Abbe, se han ejecutado utilizando como preparación un micrómetro provisto de dos series de rayas: anchas en número de 71 por milímetro; finas en cantidad de 142 por milímetro. Examinando este retículo (fig. 10, B) sin ocular, preséntanse, en consonancia con lo expuesto, además de dos pinceles dióptricos incoloros y centrales, dos líneas de espectros de difracción; de las cuales, la una, formada por cuatro de éstos, corresponden á las líneas finas, y la otra, constituida por un número doble, proviene de las rayas anchas. Examinando el preparado con el ocular, descúbrense claramente las estrias (fig. 10, A).

Esta primera observación atestigua ya que los espectros de difracción originados por rayas finas, puesto que se desvían mucho más del pincel central que los producidos por rayas an-

chas, exigen, si han de ser recogidos y aprovechados, objetivos de gran ángulo de abertura. Esto explica por qué los objetivos de poca abertura, cualquiera que sea su poder amplificante, son incapaces de mostrar las estrías y detalles demasiado próximos.

Las experiencias siguientes, son altamente demostrativas de la doctrina de Abbe:

Primera experiencia (fig. 11).—Colócase en la platina el retículo mencionado, y encima del objetivo un diafragma lineal, con el que se logra eliminar los espectros de difracción, dejando exclusivamente el pincel dióptrico. En estas condiciones, examinando con ocular, no hay imagen de rayos; el campo aparece uniformemente iluminado como si no hubiese preparación.

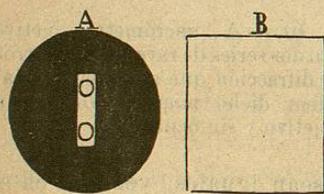


Figura 11.

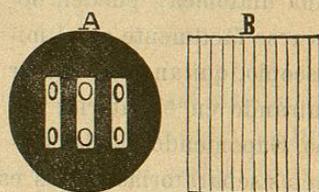


Figura 12.

Segunda experiencia.—Situando en el mismo paraje un diafragma de tres rendijas (fig. 12), de tal modo que sean admitidos a formar la imagen los mismos rayos de difracción de ambos retículos, el examen con ocular nos mostrará iguales las dos series de rayas, habiéndose duplicado las del retículo claro ó superior.

Tercera experiencia.—Si, á favor de otro diafragma (fig. 13) se excluyen los rayos de difracción más próximos al centro de ambos retículos, admitiendo exclusivamente los espectros más laterales, las rayas anchas quedan cuadruplicadas y duplicadas las estrechas.

Cuarta experiencia.—Mediante un diafragma cuadrilongo, se prescinde de los espectros de difracción del retículo estrecho; se admiten los del ancho, y se conservan los pinceles centrales. El resultado es la desaparición de las rayas finas, y la permanencia de las anchas (fig. 14).

En suma; las experiencias clásicas de Abbe patentizan: 1.º, que las imágenes de finas rayas y detalles minúsculos, no se de-

ben al pincel luminoso de proyección ó central, sino á los espectros originados en dichas estrías, mediante interferencias de los rayos incidentes que las atraviesan; 2.º, dado que, cuanto más apretadas están las rayas, más se desvían del pincel central sus espectros, no queda más remedio para lograr el ingreso de éstos en la imagen, que la aplicación de objetivos de grande abertura numérica; 3.º, que iguales objetos, dan imágenes desiguales, admitiendo distintos espectros de difracción, y, al revés, que objetos distintos, producen imágenes iguales, si son aceptados los mismos espectros; 4.º, que la imagen dióptrica dibujada por proyección de cada punto del objeto, forma solamente el fondo luminoso, el color y el contorno de las partes relativamente

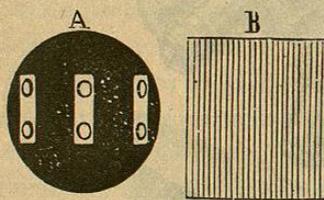


Figura 13.

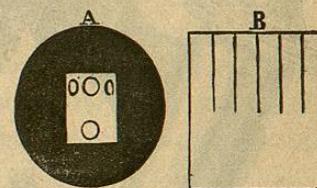


Figura 14.

gruesas de la preparación; los detalles delicados de ésta, y particularmente las estrías y granulaciones, se deben á los espectros de difracción.

MICROSCOPIO COMPUESTO EN LA PRÁCTICA

El modelo de microscopio, construido por la mayor parte de los fabricantes con destino á los trabajos serios de histología, encierra una porción de disposiciones y mejoras que vamos brevemente á reseñar. Conviene, desde luego, que distingamos en el microscopio compuesto *la parte mecánica y la parte óptica*.

Parte mecánica.—Comprende el pié, la columna, la platina, la pinza y el tubo principal (fig. 15).

El *pié* es el bloque de metal que sirve de sustentáculo al aparato; su forma suele ser de herradura con la abertura hacia adelante; su peso y solidez son notables, á fin de dar estabilidad al

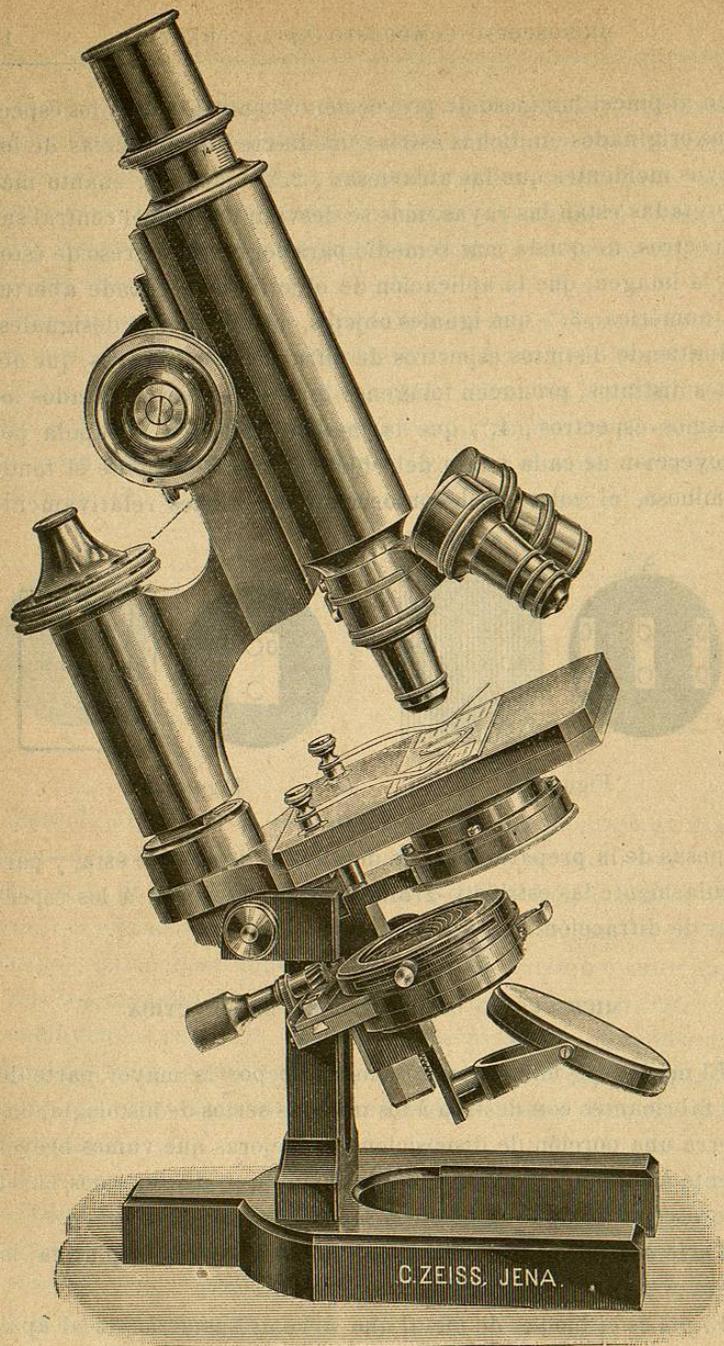


Fig. 15. — Microscopio compuesto, de Zeiss. Modelo IV a, con cremallera para el descenso rápido del tubo y aparato iluminador Abbe.

conjunto y consentir, sin pérdida del equilibrio, la inclinación horizontal del tubo.

La *columna* es ora simple, ora doble, y en los modelos regulares, puede doblarse en ángulo recto á beneficio de una charnela. Por abajo, fijase la columna en la porción posterior del pié, y por arriba, soporta el tubo del tornillo micrométrico y la platina.

La *platina* es una ménsula horizontal de vidrio ó de metal, donde, á beneficio de unas pinzas, se fijan las preparaciones microscópicas. En el centro, existe una perforación donde asoma el concentrador de la luz ó el diafragma cilíndrico, y sirve para dar paso á los rayos emanados del espejo. En los modelos de lujo, la platina suele ser giratoria, y aun movable en dos sentidos perpendiculares, lo que permite un recorrido casi automático de la preparación.

La *columna* es un cilindro que arranca de la parte posterior de la platina, y soporta la pinza ó tubo corto provisto de hendiduras donde se desliza el tubo principal del microscopio. En dicha columna se hallan los mecanismos que permiten el descenso rápido ó lento del tubo, y, por consiguiente, el del objetivo. El *movimiento rápido* se verifica, en los modelos económicos, por simple deslizamiento del tubo en su pinza; pero, en los más cómodos, se realiza á beneficio de un piñón y una cremallera. El *movimiento lento*, indispensable al minucioso enfocamiento de las preparaciones, se efectúa haciendo girar el botón que corona la columna, y el cual actúa sobre un tornillo micrométrico (figuras 15 y 17).

El *tubo*, órgano muy principal del microscopio, es de latón ennegrecido interiormente, y consta de dos cilindros enchufados, de los cuales el interior puede sacarse para alargar la extensión total del tubo. En el extremo superior entra, por simple deslizamiento, el ocular; en el inferior se monta, mediante rosca, el objetivo.

Parte óptica del microscopio compuesto. — La forman el espejo, los diafragmas, el aparato concentrador de la luz, el objetivo y el ocular.

Espejo. — Es generalmente doble, poseyendo, en una cara, un vidrio azogado plano, y, en la otra, otro cóncavo. Por virtud de

su modo de articulación á la columna, el espejo puede moverse en todas direcciones, lo que permite iluminar la preparación ya directa, ya oblicuamente.

Diafragmas. — Hace algunos años, casi todos los modelos de microscopio ofrecían debajo de la platina, y en su centro, un

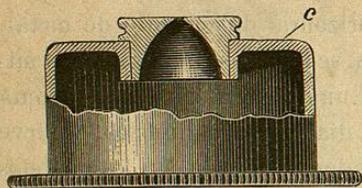


Fig. 16. — Diafragma cilíndrico.

tubo movable, donde se colocaban los diafragmas destinados á reglar la intensidad de la iluminación. La forma de los diafragmas solía ser cilíndrica, terminando en un disco taladrado (fig. 16).

En otros modelos, los diafragmas estaban representados por un disco giratorio horizontal, con agujeros de diverso diámetro, correspondientes al centro de la platina.

Actualmente, los diafragmas forman parte del aparato iluminador, haciéndose uso preferente del llamado *diafragma iris*, órgano que, merced al juego de una manecilla, permite angostar á voluntad el pincel luminoso destinado á la preparación.

Aparato concentrador de la luz (fig. 19). — En las observaciones á grandes aumentos, no suele bastar la luz suministrada por el espejo cóncavo, siendo indispensable la aplicación de sistemas de lentes que concentren poderosamente los rayos emanados del foco luminoso.

Entre los concentradores conocidos, el más usado actualmente es el del profesor Abbe (fig. 19). Consiste este aparato substancialmente en dos ó tres lentes de gran abertura, sujetas en una misma montura, y las que, á la manera de un objetivo fotográfico de foco muy corto, proyectan en el centro de la platina, y precisamente en el espesor de la preparación, una imagen real muy brillante de la luz que sirve á la iluminación (la llama de una lámpara, por ejemplo). Con diafragmas moderadamente anchos, la claridad es tan grande, que permite trabajar cómodamente aun con los objetivos de foco más corto y de mayor potencia amplificante. Por debajo de las lentes, dicho concentrador lleva un anillo giratorio, donde se instalan los

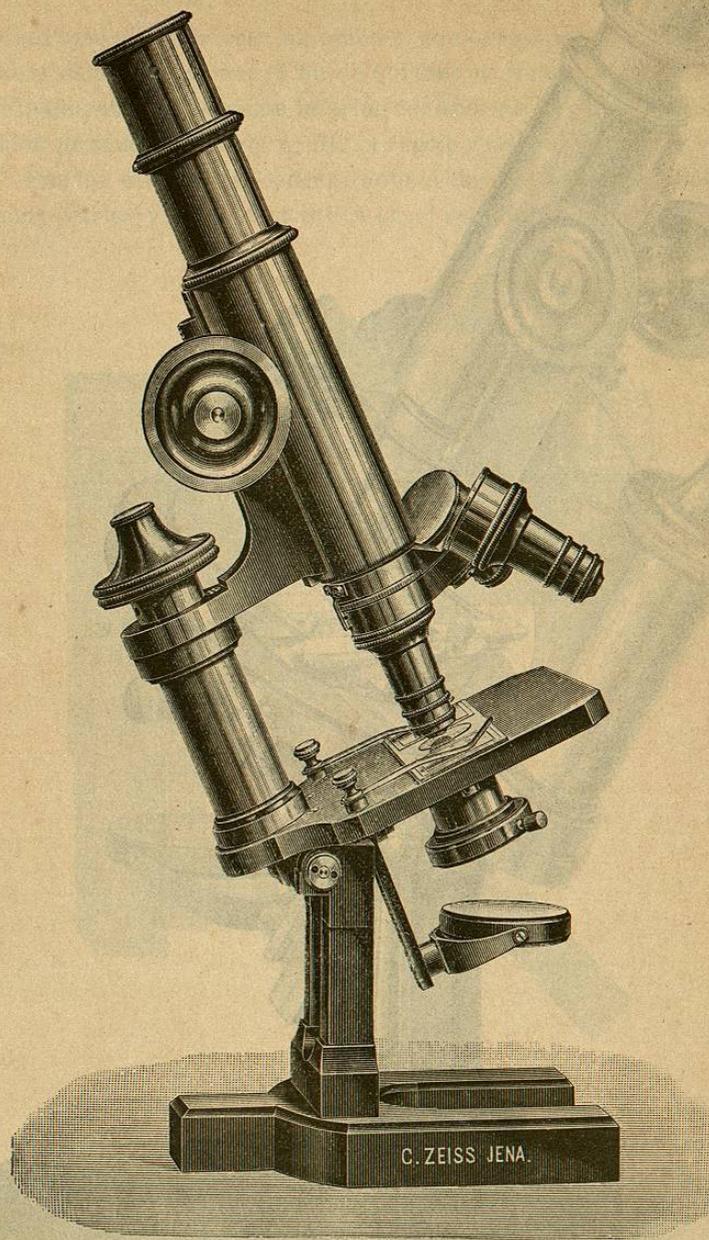


Fig. 17. — Microscopio compuesto, de Zeiss. Modelo VI a, más económico que el precedente, pues no posee aparato concentrador Abbe, sino porta-diafragma cilíndrico con diafragma iris.