



Naturaleza de la luz

ÓPTICA **Microscopía**

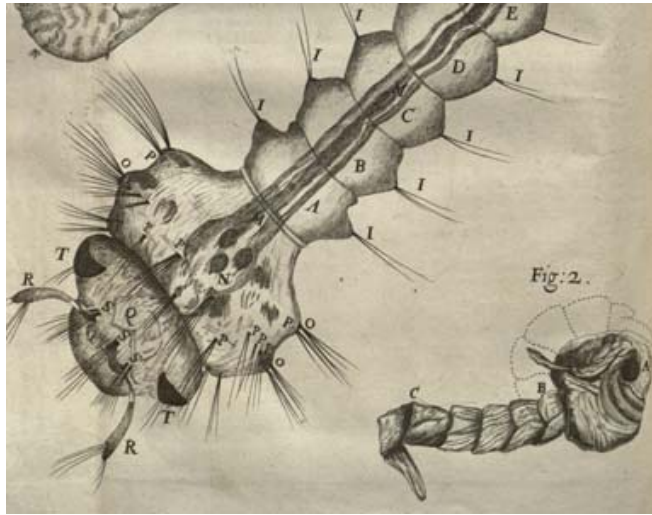
ANTONY VAN LEEUWENHOEK [Delft, 1632-1723]

Conmemorando el 375 aniversario del nacimiento de Van Leeuwenhoek ¿Qué le reveló su microscopio?

El 22 de octubre de 2007, Brian J. Ford conmemoró el 375 aniversario del nacimiento de Leeuwenhoek con una clase magistral en la Universidad de Cambridge. El profesor Ford mostró muchas imágenes inéditas que había obtenido tanto con microscopios originales como con réplicas modernas, que nos recuerdan el poder de una sola lente en las manos adecuadas. Aquí los actuales microscopistas rememoran y analizan las imágenes que se podían obtener hace más de tres siglos.

Antony van Leeuwenhoek nació en Delft, Países Bajos, el 2 de octubre 1632. Sus observaciones de microorganismos, cuando él era un entusiasta aficionado de mediana edad, sentaron las bases para la moderna ciencia de la **microscopía biológica**. Su carrera desmiente a aquellos que insisten en que la ciencia innovadora es competencia de los jóvenes o que es mejor trabajar en equipo: trabajó obsesivamente solo, a menudo se niega a recibir notables visitantes que comparten sus intereses, y no comenzó a trabajar en lo que más tarde sería el logro de su vida hasta que tuvo cuarenta años de edad. Sin embargo, - en el momento de su muerte, el 30 de agosto 1723 - había dedicado medio siglo a una investigación laboriosa, la fundación efectiva en la **microscopía observacional** y sentar las bases para la **experimentación microscópica**.

El registro bautismal de la Iglesia Vieja de Delft no confirmó los detalles anteriores, porque cambió su nombre, originalmente "Thonis", por el de Anthony con el que llegó a ser conocido (Antonij en holandés) y más tarde adoptó el 'van' para indicar la mejora de su situación social. Fue el quinto hijo de siete, pero perdió a su padre Philips a la edad de cinco años y fue enviado a la escuela en Warmond, cerca de Leiden, tras el nuevo matrimonio de su madre. Más tarde fue criado por su tío en Benthuisen hasta los dieciséis años, cuando se mudó a Ámsterdam, donde fue aprendiz de un comerciante de telas y se convirtió en tenedor de libros de la empresa.



2. Microscopio de Robert Hooke. El microscopio supuestamente utilizado por Hooke aparece representado en la lámina I de su *Micrographia*. Este elegante instrumento de madera recubierta de cuero repujado, fue hecho por Christopher Cock, un fabricante de instrumentos de Londres. Aunque es un instrumento válido, este microscopio compuesto produce imágenes de calidad inferior [imagen 8, abajo] a la necesaria y no pudo haber proporcionado la resolución requerida para los delicados detalles de los grabados publicados por Hooke [imagen 3, arriba derecha].

3. *Culex pipiens* [mosquito común] estudiados por Hooke. Los finos cilios representados en esta imagen, un detalle del mosquito común, son imposibles de percibir con la resolución del microscopio compuesto de varias lentes [imagen 2]. El profesor Ford concluye que Hooke debió utilizar microscopios simples de una lente única, de un modelo que él mismo describe en el prólogo de *Micrographia*. En la página 22 se puede leer : "...cuantas menos refracciones, más brillante y nítido se verá el objeto". A continuación proporciona detalles de un microscopio que se cree fue la inspiración de los microscopios fabricados por Leeuwenhoek

A los 21 años ya había regresado a Delft donde, el 29 de julio de 1654 se casó con Barbara de Mey en la Iglesia Nueva, tres años mayor que él, con la que tuvo cinco hijos, tres niños y dos niñas, murieron todos en la infancia excepto una niña, Maria, nacida el 22 de septiembre 1656. Tras doce años de matrimonio Barbara murió el 11 de julio de 1666. El 2 de Enero de 1671 se volvió a casar con Cornelia Swalmius, que murió en 1694. Desde esta fecha vivió atendido por su hija, quien siguió manteniendo correspondencia con la Royal Society tras la muerte de su padre a los 89 años de edad.

Leeuwenhoek y el Microscopio

Durante 1668 Leeuwenhoek visitó Londres en el ejercicio de su profesión. Fue su única visita a Inglaterra. En ese momento, *Micrographia* la gran obra de Robert Hooke estaba en su apogeo de popularidad. Ya había sido reimpressa. Este fue el popular "*libro de gran formato ilustrado*" de su tiempo, y contenía imágenes asombrosamente realistas de pulgas, piojos y ortigas - incluso Samuel Pepys, empedernido playboy y cronista, dijo que el libro lo había emocionado tanto que se quedó despierto toda la noche leyéndolo. Pepys solía permanecer despierto toda la noche, aunque normalmente no con un libro.

En el pasado, los estudiosos han argumentado que, dado que Leeuwenhoek no hablaba inglés, el libro habría permanecido desconocido para él. He demostrado que esta idea puede ser errónea. En primer lugar, a menudo se escribía con conocidos que podían traducirle del inglés al holandés. En segundo lugar, los especímenes de su primer envío a Londres eran exactamente los mismos que los especímenes descritos por Hooke, y - claramente más allá de la coincidencia - fueron descritos por Leeuwenhoek precisamente en el mismo orden. Además, Leeuwenhoek claramente tomó las descripciones de la estructura microscópica de Robert Hooke y escribió que "Cierta caballero" estaba equivocado - y

Leeuwenhoek lo corrigió. El "Caballero" era, por supuesto, Robert Hooke y fueron sus descripciones las que se propuso desafiar el holandés.



5. Microscopio de bronce de Leeuwenhoek [izquierda]. Durante muchos años este microscopio se exhibe en el vestíbulo de la **Technische Universiteit Delft**, en Holanda. A pesar de que no se conserva ninguna de sus lentes, su construcción es típica de los microscopios que los historiadores relacionan con Leeuwenhoek. Las placas miden 22 x 26 mm. Este microscopio fue propiedad de la familia Haaxman, descendientes de la familia Leeuwenhoek. En 1929 fue comprado por el *Nederlandsch Historisch Natuurwetenschappelijk* y fue cedido posteriormente en calidad de préstamo indefinido al Departamento de Microbiología de la Universidad de Delft.

6. El microscopio de plata de Munich [centro]. Muchos de los microscopios de Leeuwenhoek fueron hechos en plata, ya que son más fáciles de manipular y de dar forma. Este ejemplo se encuentra en el *Deutsches Museum en Munich*, Alemania, y tiene un perno de hierro forjado para fijar las muestras. Aunque por lo general no se publica, este es el tipo de microscopio que Leeuwenhoek legó a la Royal Society. Se utilizaron en microscopía hasta el siglo XIX, antes de que se perdiera.

7. Detalle del microscopio de Leeuwenhoek. El microscopio de bronce de Amberes mide 28 x 47 mm. El profesor Ford lo fotografió de cerca para mostrar los detalles de la placa, el perno de enfoque y la lente. Este pertenece a la colección de microscopios de la *Royal Antwerp Zoological Society* y se han planteado dudas acerca de su autenticidad. Aparece sin procedencia como parte de la colección privada del Dr. Henri van Heurck alrededor de 1900, lo que hace que su origen sea incierto.

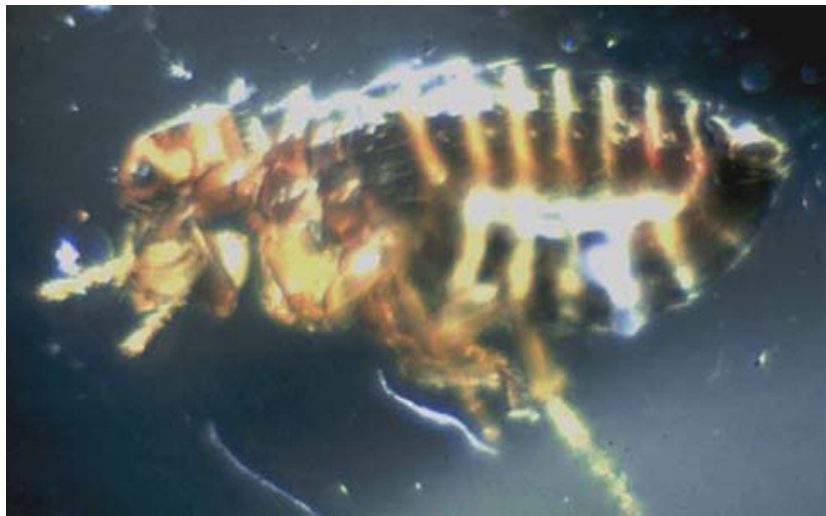
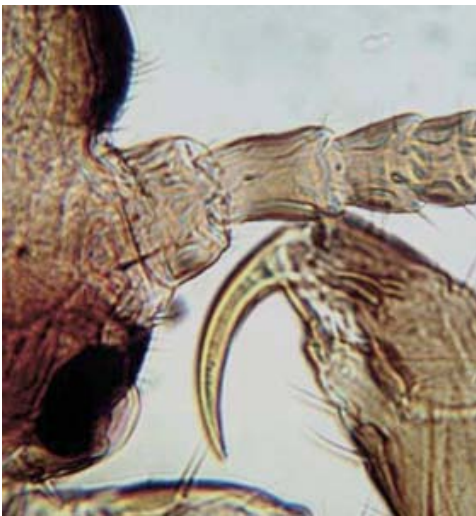
Estudiosos de la historia de la ciencia han llamado la atención sobre la disparidad entre el gran diseño del **microscopio compuesto** y bien equipado que Hooke utilizó y el diminuto y tosco instrumento **de un solo lente** utilizado por Leeuwenhoek. Los investigadores suelen llamar a estos **microscopios simples** "el diseño de Leeuwenhoek". Esto puede ser también un error, ya que en realidad fueron diseñados por Hooke. La descripción se oculta en el prólogo de su **Micrographia**. Debido a que las páginas están sin numerar [y por lo tanto no han podido ser citadas formalmente en referencias convencionales] el prefacio ha sido ampliamente ignorado, haciendo que los investigadores pasen por alto una parte crucial. En la página 22 del prólogo puede encontrarse el diseño de Hooke para un microscopio casero. La descripción fue una inspiración para Leeuwenhoek. *"Tomar un trozo muy transparente de un vidrio de Venecia roto, y sobre una llama derretir y estirar pequeños pelos o hebras. . . "*, Escribió. Y luego, fundirlos *"en una pequeña esfera ... frotar hasta que se vuelvan muy suaves, antes de montar los diminutos lentes en un ojo de la aguja en una placa delgada de latón. . . "* ¿Y cuál es el resultado? Un típico microscopio 'Leeuwenhoek'. En realidad, un microscopio de Hooke

Observaciones Imposibles

Durante siglos, los investigadores han descrito los detallados grabados del gran

libro de Hooke y han concluido que éstas se basaban en observaciones realizadas con un microscopio compuesto. Para mí quedó claro desde el principio que esto no podía ser cierto. Los microscopios biológicos del siglo XVII se hacían con lentes relativamente toscas y las lentes dispuestas “en tren” magnifican las aberraciones e imperfecciones más que mejorar las imágenes. He utilizado estos instrumentos, y siempre he encontrado que no podían generar imágenes de la nitidez con que Hooke las ha representado.

Por ejemplo, miren su famoso dibujo del piojo: además del caparazón blindado de los artrópodos (que se puede ver con una lupa de mano), lo que sorprende es el detalle: los finos vellos de quitina en cada apéndice, los detalles de los ojos y las garras. Sin embargo, estas características no son resueltas por el microscopio compuesto. Las planchas publicadas por Robert Hooke contienen detalles que, si hubiese utilizado su famoso microscopio, los detalles hubieran sido invisibles. Esta extraordinaria paradoja ha sido convenientemente ignorada durante siglos. Así que, ¿cuál es la respuesta?



8. Análisis de la pulga de Roberto Hooke. Utilizando un microscopio de Cock Christopher del siglo XVII como el de Hooke se obtiene esta vista de un *Pulex*, una pulga común. Aunque en líneas generales este insecto de 3 mm de largo está bastante bien conseguido, las finas estructuras fibrilares están resuelta con >20 micras de ancho. Los finos pelos que Leeuwenhoek dibujo en sus estudios se reducen a 2 micras de diámetro, lo que demuestra que Hooke debe haber tenido otros muchos recursos de observación [por ejemplo, es decir, de una sola lente] además de este simple microscopio para estos estudios tan detallados [imagen 3].

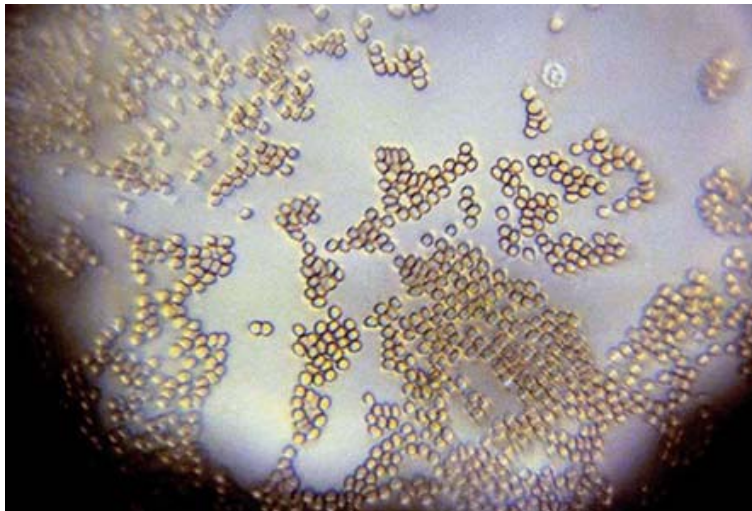
9. Un piojo visto a través de una lente única [arriba izquierda]. En esta vista a través de un microscopio simple de una lente, el profesor Ford selecciona un campo que cubre el ojo, el apéndice anterior y la antena de pediculus de la cabeza del piojo. La lente, por Horace Dall, muestra la mejor calidad de imagen que una lente única puede generar. El cristalino del ojo del piojo se aprecia perfectamente y los más finos pelos quitinosos resueltos son de apenas <2 micras de espesor. Notese que la aberración cromática tiene un efecto mínimo sobre la calidad de imagen. El ancho de la imagen es de 800 micras.

Hooke utilizó claramente una lente única, un microscopio simple para observar estos diminutos detalles. Si usted hace un microscopio simple en la forma en que se describe en su prólogo, entonces esos detalles pueden fácilmente ser observados. La mayoría de los especialistas de hoy en día llegan a la conclusión de que estos microscopios se hicieron con una gota de lente fundido, pero esto no es cierto. Hooke explicó claramente que se derrite hilos de vidrio para obtener una gota de vidrio y, a continuación, pulir “la cola” con pasta abrasiva de joyero. El resultado no es una gota en absoluto, sino una lente plano-convexa. Estas lentes (con la cara plana hacia la muestra) ofrecen una buena resolución y son sin duda muy superiores al conjunto de lentes compuestos. Hooke y otros, usaban microscopios compuestos hermosamente decorados, labrados a mano calzados en piel de zapa y hechos de madera pulida porque eran “objetos de deseo”. Eran juguetes de ejecutivos; símbolos de estatus. Un

simple microscopio no era más que una lente hecha a mano del tamaño de una cabeza de alfiler montado en una placa de metal en bruto, que no impresionaría a nadie.

Sin embargo, la evidencia es clara. Sólo con un pequeño microscopio de lente única Hooke podría haber discernido los detalles que publicó en sus grabados. Leeuwenhoek, que era un solitario y un entusiasta obsesivo, no tenía nada que ganar con un gran instrumento en su escritorio. Rara vez invitó a nadie a ver sus métodos de trabajo y, en todo caso, le importaba mucho más la observación de sus muestras que la complejidad del instrumento. Para él había dos ventajas del diseño de Hooke: estos pequeños microscopios eran baratos y fáciles de hacer, y revelaban el máximo detalle. Mi buen amigo, el fallecido Dr. J van Zuylen de Zeist en los Países Bajos examinó minuciosamente los lentes de Leeuwenhoek y publicó sus hallazgos en las Actas de la RMS (1983).

No habría nada que ganar retomando sus investigaciones definitivas de la distancia focal y la resolución de las lentes, sus resultados siguen siendo la última palabra en este campo. Sin embargo, los datos en sí - por toda su relevancia a las bellas normas de producción que Leeuwenhoek alcanzó - no abordan la cuestión que todos los microscopistas plantean: ¿qué podrían revelar los primeros microscopios al observador?



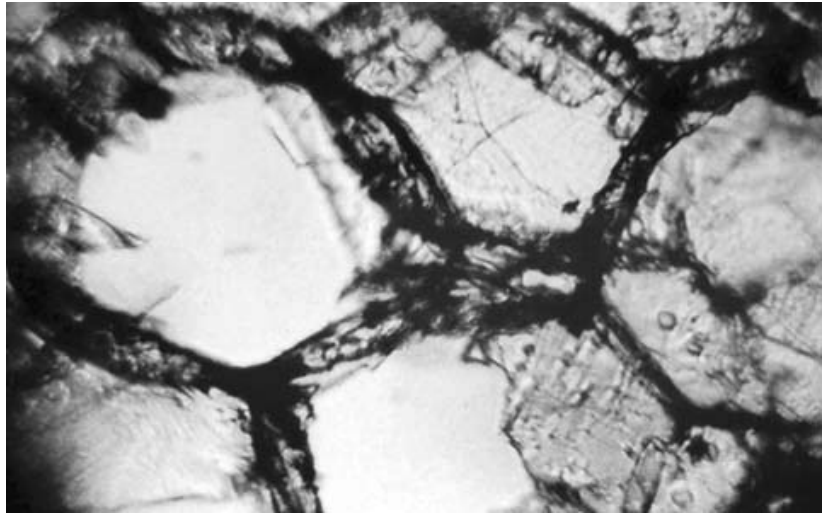
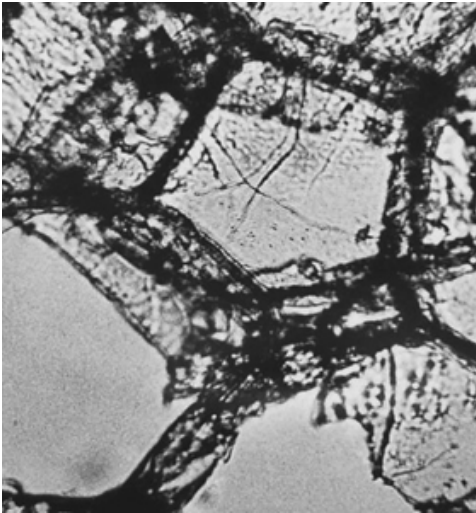
10. Las células sanguíneas y el microscopio Leeuwenhoek [abajo a la izquierda]. El Museo de la Universidad de Utrecht tiene los microscopios de Leeuwenhoek mejor conservados, el objetivo fue calibrado por J. van Zuylen según los procedimientos de la RMS 18 [2]: 118-124 [1983]. El investigador encontró que la potencia de aumento era de 266x y para ponerlo a prueba recurrió a una muestra de su propia sangre en el portaobjetos. Los resultados dieron vívidas imágenes de los eritrocitos [diámetro medio de 7,2 micras] y [arriba a la derecha, centro] se revela claramente un núcleo polimorfo granulocitos. Los lóbulos nucleares son aproximadamente de 2 micras de diámetro. Ancho de campo de 325 micras

A los comentaristas les gusta afirmar que Leeuwenhoek tenía técnicas secretas, o que exageró lo que había visto, e incluso que sus afirmaciones carecen de fundamento. Decidí tomar las muestras que él describió en sus voluminosos escritos y someterlas a la microscopía con lente única. Nunca ha habido ninguna duda seria de que Leeuwenhoek podía percibir microbios en el sentido general, ya que los ciliados son visibles a simple vista. No podemos dudar de que vio las células vivas, ya que se puede ver sin un microscopio en los pelos estaminales de *Tradescantia virginiana*, o sobre la superficie iluminada por el sol de una hoja de begonia.

En un recorrido por los museos europeos para ver los conocidos microscopios de Leeuwenhoek, tomé algunas fotomicrografías del microscopio Leeuwenhoek que se conserva en el Museo Universitario de Ciencias en Utrecht, Países

Bajos, usando tanto transparencias en color como en blanco y negro de 35 mm. Este microscopio es el más potente de los que se conservan, y es demasiado importante como para que no sea usado en la investigación moderada y no invasiva. Me limité a tomar fotografías de las muestras originales de Leeuwenhoek de médula de saúco (en blanco y negro) y de un frotis fresco de mi sangre sin mancha (en color). ¿Qué pasa con las bacterias? Sus descripciones, en la que se utilizan elementos como arena de grano fino o el musgo, pelos humanos como objetos de referencia, asegura haber visto criaturas del tamaño de bacterias y algunos de los dibujos publicados muestran una serie de diminutos organismos.

Para estudiar a estos especímenes, incluyendo bacterias vivas, espermatozoides y material botánico, utilicé una única lente hecha en época reciente. Estas lentes tienen propiedades ópticas similares a lentes más antiguas. Para mostrar la mejor imagen que se pueda obtener, traje lentes fabricados con mineral de espinela de baja dispersión del fallecido **Horace Dallo de Luton**. Horace era un gran amigo y un entusiasta de la óptica quién también fabricó espejos para **Sir Patrick Moore**. Sus pequeños lentes ofrecen la posibilidad de experimentar la máxima resolución posible con una sola lente de aumento.



11. Vista de una antigua muestra de Leeuwenhoek [arriba]. La vista corresponde a una muestra del 1600. Las células de la médula de una antigua *Sambucus nigra* [un arbusto conocido comúnmente como saúco] fueron estudiadas por Leeuwenhoek en secciones que cortó con una navaja de afeitar en 1674 y que envió a la Royal Society de Londres. Aquí las vemos a través del microscopio de Utrecht. Cada celda es de aproximadamente 80 micras de ancho, y la fina *phycomycete hyphae* son visibles [como resultado de tres siglos de almacenamiento] son 0,7 micras de ancho. Están claramente resueltos por esta lente diminuta, su apertura de sólo 0,7 mm de diámetro. El ancho de campo de 200 micras.

12. Vista de una antigua muestra de Leeuwenhoek con un microscopio moderno [arriba a la izquierda]. La misma área de la médula de *Sambucus nigra* fue seleccionada para su examen a través de un microscopio Leitz Dialux con 25 x objetivo Fluotar y 200 mm de fuelle con la cámara Olympus OM2n de 35 mm. La máxima resolución de un microscopio moderno convencional es de alrededor de 0,2 micras, y por lo tanto podemos ver que los instrumentos de Leeuwenhoek no tiene paralelo en la historia de la instrumentación científica. Ancho de campo de 200 micras.



13. Bacteria espiral observada con una lente única [arriba]. El trabajo de Leeuwenhoek con bacterias vivas ha despertado mucho escepticismo. A muchos investigadores les parece imposible que dicha muestra diminuta pueda resolverse satisfactoriamente con una sola lente. La lente de espinela aquí se ha utilizado para resolver células vivas de *Spirillum volutans* que se encontraron en un estanque que contiene hojas de *haya abscised*. Los resultados son sorprendentemente buenos, y fundamentan las observaciones de Leeuwenhoek. Cada célula bacteriana es de 20 micras de longitud total. Ancho de campo de 200 m.

14. Visualización de Giardia con un microscopio simple. En una carta a la Royal Society de fecha 1681, Leeuwenhoek envió vívidas descripciones de un tipo de parásito intestinal llamado *Giardia*. No hubo dibujo adjunto para registrar lo que veía. En una conferencia sobre Giardia en Amsterdam se propuso que el profesor Ford debía tratar de repetir las observaciones con una réplica moderna de un microscopio simple. Las células binucleadas y sus flagelos están claramente resueltos. Al igual que las otras micrografías en este documento, el contraste y el brillo de las imágenes se han normalizado usando Adobe Photoshop CS. Ancho de campo de 110 m.

Retomando el nacimiento de la Microscopía

El resultado muestra cuán extraordinariamente claras son las imágenes creadas por una lente simple. Libre de la degradación de la imagen impuesta por elementos de aumento adicionales en la trayectoria de la luz, permiten lograr resultados luminosos y definidos. La aberración esférica no es un factor delimitante. Para ser más precisos, tampoco la aberración cromática le resta mucho a la claridad de los resultados

Las explicaciones corrientes han degradado las imágenes obtenidas por los microscopios pre-acromáticos por ser confusas y borrosas, llenas de bordes irisados que hacen impracticable las observaciones. Como revelan las micrografías resultantes, esto simplemente no es cierto. Las imágenes revelan un cierto cromatismo, es cierto, pero la micrografía moderna es a menudo tan mala o incluso peor. El beneficio real de la corrección cromática, dado a conocer en la década de 1830, no era tanto la claridad de la imagen como la eliminación de los tintes falsos en pequeños detalles. Tenían realmente algunos de los citoplasmas incluidos un tono lila o amarillo pálido? El microscopio acromático confirmó que los vivos eran incoloros.

Leeuwenhoek escribió que al principio quedó intrigado al mirar los acantilados blancos [de la Isla británica], preguntándose que era lo que causaba ese tono blanco [no hace falta decir que la microscopía del acantilado blanco fue descrito por Hooke en su *Micrographia*]. La primera vez que Leeuwenhoek empezó a interesarse en la vida microscópica fue después de un viaje en barco a través de un lago rico en algas que crecían en su superficie, lo que le llevó a la sorprendente e inimaginable revelación de una enorme población de microbios escondidos entre nosotros. En su laborioso trabajo reconoció el núcleo, documentó el movimiento Browniano, estudió el espermatozoides vivo y descubrió la Hydra.

Hay una última e importante diferencia que señalar entre Hooke y Leeuwenhoek. Robert Hook se limitó mayormente a aumentar lo que ya era conocido – dibujó mosquitos gigantes, aumento el moho, pelos del tamaño de troncos.

El legado de Leeuwenhoek fue diferente. Usando el diseño de Hooke de un microscopio con un solo lente, pasó a conocer el universo microbiano. Leeuwenhoek nos dio nuestra primera visión del mundo de las células vivas y los microorganismos que son comunes hoy en día. No fue el padre del microscopio (microscopio de una especie habían estado en existencia desde el la década de 1590) pero seguramente sí la comadrona de la microbiología.

El gran libro de Hooke, aunque no fue el primero en dar cuenta de microscopía, fue la primera obra dedicada a los estudios detallados de objetos familiares y *Micrographia* es sin duda la primera obra de divulgación científica como nos gustaría definir el término hoy. Pero para Leeuwenhoek, el reto era el microscopio de alta potencia. Los microscopios que hizo le permitiría visualizar micro fibrillas de hasta 0,7 micras de diámetro – esto se encuentra dentro de un factor de cuatro de la resolución de los grandes lentes y microscopios de latón que iban a seguir.

Los logros de Leeuwenhoek no tienen parangón en la microscopía, y su 375 aniversario nos puede dar a todos la oportunidad de reflexionar sobre la grandeza de sus logros.

Lectura adicional

DOBELL, CLIFFORD, 1932, Antony van Leeuwenhoek and his "Little Animals", London: John Bale, Sons & Danielsson [available in reprint, 1960, New York: Dover Publications Inc].

FORD, BRIAN J., 1991, The Leeuwenhoek Legacy, Bristol: Biopress & London: Farrand Press.

FOURNIER, MARIAN, 1996, The Fabric of Life, Microscopy in the Seventeenth Century, Baltimore & London: The Johns Hopkins University Press.

HOOK, ROBERT, 1665, Micrographia, etc., London: Martyn & Allestry [available in reprint, 1961, New York: Dover Publications Inc., and on CD-ROM 1998, Palo Alto: Octavo Editions].

RUESTOW, EDWARD., 1996, The Microscope in the Dutch Republic, the Shaping of Discovery, Cambridge: University Press.

Celebrating Leeuwenhoek's 375th birthday
What could his microscopes reveal?

Brian J Ford

Rothay House, Mayfield Road, Eastrea,
Cambridge PE7 2AY
Email: mail@brianjford.com



Brian J. Ford fue elegido a Fellowship of the RMS en 1962 y ha publicado sus artículos con la Society desde 1965. Su trabajo sobre la historia de la microscopía le llevó a desarrollar las primeras técnicas experimentales de reconstrucción, y los resultados han demostrado que los primeros instrumentos eran capaces de proporcionar imágenes de alta calidad. Sus trabajos en este campo han sido publicados a nivel internacional y sus libros incluyen The Revealing Lens (1973), Optical Microscope Manual (1973), Single Lens, Story of the Simple Microscope (1985), Leeuwenhoek Legacy (1991) y, para niños, Using the Digital Microscope (2002). Ford es Visiting Professor en la Leicester University, a Fellow at Cardiff University and former Fellow at the Open University.

Este artículo fue presentado por primera vez en formato PowerPoint, con ejemplos en vídeo de microorganismos vistos a través de una única lente, en la Cambridge Society for the Application of Research at Churchill College, Cambridge.

Ford, Brian J en wikipedia



ILUSTRACIÓN CIENTÍFICA EN EL SIGLO XVIII
por Brian J Ford [*]



ROBERT HOOKE: MICROGRAPHIA
o algunas descripciones fisiológicas de los organismos menudos...
Londres, 1665



EL SIGLO DE ORO HOLANDES EN DELFT:
Vermeer, Van Leeuwenhoek y Spinoza...



EL SIGLO DE ORO HOLANDES
La Edad de Oro de la Pintura