

Contingut de les classes de Microbiologia. Primer curs.

# Introducció a la Microbiologia

Grau de Ciència i Tecnologia dels aliments i Grau de Veterinària

F. Javier Cabañes

Facultat de Veterinària, Universitat Autònoma de Barcelona.

## Contingut

<b>Metodologia docent de les classes teòriques.....</b>	<b>2</b>
<b>1. Introducció a la microbiologia .....</b>	<b>3</b>
1.1. Concepte .....	3
1.2. Evolució històrica .....	3
<b>2. Microorganismes procariotes i eucariotes .....</b>	<b>5</b>
<b>3. Els virus i els agents subvirals .....</b>	<b>6</b>
<b>4. Principis i tipus de microscòpia .....</b>	<b>6</b>
4.1. Microscopi simple.....	6
4.2. Microscopi compost.....	6
4.3. Microscòpia i teoria òptica.....	7
4.1. Microscòpia electrònica.....	8
4.1. Altres tipus de microscòpia .....	9
<b>Bibliografia.....</b>	<b>9</b>
<b>Exemples de preguntes de tipus test.....</b>	<b>10</b>

## **Metodologia docent de les classes teòriques**

En aquest curs, a les classes teòriques es realitzarà una introducció a la classe inversa, en el que s'inclouran dubtes o preguntes que els estudiants o els professors vulguin realitzar sobre els temes tractats. Els resums dels continguts a tractar en els diferents blocs es depositaran al Campus virtual abans de les diferents classes programades. Aquests resums poden incloure preguntes, recomanacions bibliogràfiques concretes dels llibres que els estudiants tinguin en obert, així com de altres fonts com publicacions i pàgines web, que es puguin consultar en obert. Els estudiants després de rebre aquesta informació la treballen i l'assimilen individualment. A la classe els estudiants proposen als professors els seus dubtes i preguntes sobre el material rebut. També poden donar respostes a les preguntes prèviament plantejades pel professor. El professor explica el contingut del tema i dona resposta als dubtes i preguntes dels estudiants.

**Important: Tots els vostres dubtes, les preguntes, les figures i els experiments, els podem comentar a la sessió d'aula corresponent.**

## 1. Introducció a la microbiologia.

### 1.1. Concepte.

La microbiologia és la ciència que estudia els microorganismes mitjançant unes tècniques que li són pròpies. La microbiologia es defineix doncs, tant per la mida dels organismes que estudia com per les tècniques que utilitza per estudiar-los.

Podem definir els microorganismes com aquells organismes que no són visibles a cop d'ull. El nostre ull difícilment pot veure de forma clara objectes que tinguin menys de 1 mm. La microbiologia estudia els organismes que tenen menys de 1 mm i poden arribar a tenir uns pocs nanòmetres. Per això necessitem diferents tipus de microscopis per poder veure'ls. La microbiologia estudia microorganismes com les algues, els bacteris, els fongs, els protozous i els virus.

Però com sempre hi ha algunes excepcions. Hi ha organismes més petits d'un mm que no són objecte d'estudi d'aquesta ciència.

Pregunta 1. Podries anomenar algun d'aquests organismes?

Per això, no només la mida d'aquests organismes defineix l'objecte d'estudi d'aquesta ciència, sinó també el mètode utilitzat, que inclou tècniques d'aïllament, d'obtenció de cultiu axènic, d'esterilització, entre altres que anirem estudiant al llarg d'aquest curs.

### 1.2. Evolució històrica.

Al segle XVII, Leeuwenhoek va ser el primer que va publicar descripcions precises de microorganismes, com bacteris i protozous, i els va anomenar "animalculus" (animals molt petits). Ho va fer utilitzant microscopis de tipus simple amb lents de molt bona qualitat que ell mateix construïa (Veure: figura 1.14 del llibre 2 o figures a: [https://ca.wikipedia.org/wiki/Antonie\\_van\\_Leeuwenhoek](https://ca.wikipedia.org/wiki/Antonie_van_Leeuwenhoek)).

També en aquest segle, però uns anys abans, Hooke havia publicat les primeres descripcions dels cossos fructífers d'algunes floridures, que presenten una mida molt més gran que els bacteris observats per Leeuwenhoek. En aquest cas, Hooke va utilitzar el seu microscopi compost (Veure figura 1.13 del llibre 2 o [https://es.m.wikipedia.org/wiki/Archivo:Hooke\\_Microscope.jpg](https://es.m.wikipedia.org/wiki/Archivo:Hooke_Microscope.jpg)).

Malgrat la importància d'aquests descobriments, el desenvolupament de la microbiologia va quedar aturat durant més de 200 anys degut a la polèmica teoria de la generació espontània.

Pregunta 2. Què defensava aquesta teoria?

Diferents autors, com Redi al segle XVII i Schwann, Pasteur i Tyndall entre altres, al segle XIX, van contribuir a refutar aquesta teoria.

Segurament recordes els experiments de Redi (Consulta aquest experiment a [https://www.mun.ca/biology/scarr/4270\\_Red\\_i\\_experiment.html](https://www.mun.ca/biology/scarr/4270_Red_i_experiment.html)).

Pregunta 3. En què consistien aquests experiments?

Redi va utilitzar mosques en els seus experiments i va inspirar a altres científics a fer experiments semblants amb altres organismes, com va fer Pasteur al segle XIX amb microorganismes ([Consulta aquest experiment a la figura 1.17 del llibre 2](#)).

**Pregunta 4.** En què consistien aquests experiments?

A més a més, amb aquest experiment va contribuir a posar a punt tècniques d'esterilització que són bàsiques en microbiologia.

En el camp de les malalties, Bassi al 1835 va ser el primer en demostrar que un microorganisme podia causar una malaltia. En aquest cas, un fong, actualment anomenat *Beauveria bassiana* en el seu honor, era la causa d'una malaltia en els cucs de seda. Aquest descobriment va tenir una gran importància en la indústria de la seda en aquells moments.

En malalties humanes, Schönlein al 1839, va descriure per primera vegada que la causa d'una malaltia de la pell anomenada tinya, també era un fong.

**Pregunta 5.** Per què creieu que els fongs van ser els primers microorganismes en ser descrits com agents causals de malalties?

També en el àmbit de les malalties, però en un altre vessant, Lister al 1867 va ser el primer en aplicar amb èxit la cirurgia antisèptica. Es va inspirar amb els descobriments de Pasteur, que indicaven que els microorganismes estaven per tot arreu. Per protegir als malalts de les intervencions quirúrgiques, desinfectava el camp quirúrgic i el material a utilitzar amb fenol.

El primer bacteri descrit com agent causal d'una malaltia va ser descrit per Koch al 1876, al estudiar la malaltia del carboncle que estava afectant principalment al bestiar boví. El coneixem avui en dia com *Bacillus anthracis*. Per fer aquest descobriment, va haver de posar a punt diferents tècniques i materials d'aïllament i de cultiu utilitzades actualment en els laboratoris de microbiologia, com els medis sòlids que contenen agar-agar o les plaques de Petri. També va aprofundir en la caracterització dels bacteris patògens. Conjuntament amb Henle, van proposar unes normes que ha de complir un microorganisme per ser considerat l'agent causal d'una malaltia. Són quatre normes que les coneixem amb el nom de postulats de Koch ([Consulta aquests postulats a la figura 1.20 del llibre 2](#)):

**Postulat 1:** El microorganisme ha d'estar present en tots els casos de la malaltia i absent en animals sans.

**Postulat 2:** El microorganisme sospitós ha de poder ser aïllat i créixer en cultiu pur.

**Postulat 3:** La malaltia ha de poder ser reproduïda en un animal susceptible, per inoculació del microorganisme sospitós en cultiu pur.

**Postulat 4:** El microorganisme s'ha d'aïllar de l'animal inoculat i s'ha de demostrar que és el mateix que l'original.

Pasteur també va contribuir en el desenvolupament de la microbiologia en el camp del control de les malalties desenvolupant les primeres vacunes del còlera dels pollastres (1879), del carboncle (1881) o de la ràbia (1885), aquesta última la més coneguda i el seu major èxit. Va utilitzar tècniques d'atenuació

del poder patogen dels microorganismes. Amb aquestes tècniques els microorganismes perdien la capacitat de produir malaltia però no la seva capacitat de generar resposta immunitària en els animals inoculats amb aquestes vacunes.

La vacuna del còlera aviari, la varen descobrir per casualitat, quan estaven fent experiments de reproducció d'aquesta malaltia en pollastres. Avui en dia, coneixem que aquesta malaltia mortal esta causada per *Pasteurella multocida*. També sabem que els cultius d'aquest bacteri perden ràpidament la seva viabilitat i moren. Però Pasteur i els seus col·laboradors en aquell temps no ho sabien i van inocular uns cultius vells d'aquest bacteri als pollastres i aquests no varen morir. Més tard, van repetir l'experiment utilitzant aquests pollastres i altres de nous amb un cultiu fresc del bacteri. El resultat va ser que només van morir els pollastres nous. Els altres els havien vacunat, sense saber-ho, en el primer experiment.

Començava l'època daurada de la microbiologia on es van aïllar els principals bacteris productors de malalties i es van dissenyar vacunes per moltes d'aquestes. També es varen començar a fer aportacions valuoses en molts altres camps de la microbiologia.

## 2. Microorganismes procarïotes i eucariotes.

Els organismes que estudien els microbiòlegs presenten una gran diversitat. En funció de la seva organització cel·lular poden ser unicel·lulars, típica de molts bacteris i els llevats, multicel·lular o pluricel·lular, típica de molts fongs filamentosos que formen hifes septades, o cenocítica, característica d'alguns fongs filamentosos que no tenen septes. En aquest últim cas, les divisions nuclears no van acompanyades de divisions cel·lulars.

Poden ser procarïotes, que presenten cèl·lules sense nucli, o eucariotes amb nucli. Les característiques més detallades d'aquests dos tipus de microorganismes els descriurem més endavant en aquest curs. En relació a la seva taxonomia, fins fa no gaires anys s'utilitzava la classificació de Whittaker (1969) o la dels 5 regnes, basada en el tipus cel·lular, nivell organització i tipus nutricional dels organismes estudiats (Veure Figura 12.1. del llibre 2). Els microorganismes cel·lulars s'inclouen en els regnes Monera, Protista i Fungi.

El sistema més recolzat actualment és el que es va definir amb els estudis de Woese basats en la comparació de seqüències 16S rRNA dels diferents organismes i conegut amb el nom de l'arbre de la vida o dels tres dominis (1990) (Veure Figura 1.6. del llibre 2).

Woese, a l'any 1977, va descobrir que no tots el microorganismes procarïotes eren iguals, diferenciant el domini Bacteria, que inclou els veritables bacteris, del domini Archaea, que inclou els arqueus. L'altre domini, Eucarya, inclou tots els organismes eucariotes.

Actualment, la complexitat d'aquest arbre s'ha incrementat amb el descobriment de nous tipus de microorganismes, la gran majoria d'ells fins ara no cultivables, mitjançant les noves tècniques de metagenòmica. Opcional: Pots fer-te una idea de la complexitat d'aquest nou arbre de la vida consultant la figura 1 inclosa en el següent article:

Hug, L., Baker, B., Anantharaman, K. *et al.* A new view of the tree of life. *Nat Microbiol* **1**, 16048 (2016).  
<https://doi.org/10.1038/nmicrobiol.2016.48>

En aquest curs estudiarem fonamentalment alguns del principals microorganismes del domini Bacteria, que majoritàriament presenten paret cel·lular amb peptidoglican. Un primer grau de

diferenciació d'aquests microorganismes es basa amb la caracterització del tipus de paret que presenten, mitjançant la tinció de Gram. D'aquesta forma podem diferenciar els bacteris Gram positius dels Gram negatius. ([Consultar el manual de pràctiques](#)). Els micoplasmes no tenen paret cel·lular.

En el domini Archaea s'inclouen procariotes que es diferencien dels bacteris per tenir seqüències de 16S rRNA molt diferents dels bacteris, lípids peculiars a la membrana cel·lular i no tenir peptidoglican a la paret. Molts d'ells viuen en ambients extrems. Per exemple, alguns són termòfils extrems, amb temperatures òptimes de cultiu superiors als 100°C. Altres són acidòfils i necessiten ambients molt àcids per créixer (p.e. pH: 0,7), halòfils que viuen en les salines a concentracions de sal molt elevades (p.e. 25%). Altres amb el seu metabolisme generen gas metà i s'anomenen metanògens. Aquest tipus de microorganismes s'anomenen extremòfils i podem trobar també alguns en els altres dos dominis.

El domini Eucarya agrupa un grup molt divers de microorganismes eucariotes, com els fongs, els protozous i les algues, entre molts altres organismes.

Els microorganismes sembla ser que van aparèixer a la Terra fa més de 3.800 milions d'anys ([Veure Figura 1.4. del llibre 2](#)). Uns dels primers van ser els cianobacteris, que van contribuir a oxigenar l'atmosfera terrestre. D'aquests tenim registre fòssil en forma d'estromatòlits, que són estructures rocoses de tipus sedimentari i laminades, formades pel creixement d'aquests bacteris ([Veure figures 12.6 i 12.7 del llibre 2](#)).

### **3. Els virus i els agents subvirals.**

Els virus són entitats acel·lulars que necessiten cèl·lules per poder-se replicar. En general, la seva mida és inferior a la resta de microorganismes (10-400 nm). El seu material genètic pot ser de DNA o RNA. Existeixen altres agents infecciosos més simples que els virus com els viroides o els virusoides. Tots aquests microorganismes els veurem en un proper curs.

### **4. Principis i tipus de microscòpia.**

Per superar la dificultat d'observació que presenten els microorganismes, necessitem fer ús de diferents tipus de microscopis i realitzar determinades tincions. ([Algunes d'aquestes últimes les podeu consultar en el manual de pràctiques i les farem al laboratori](#)).

#### **4.1. Microscopi simple**

El microscopi simple, també anomenat lupa, és aquell que conté només una lent o sistema de lents. Tal com ja hem comentat, al segle XVII, Leeuwenhoek va veure bacteris amb un microscopi de tipus simple amb lents de molt bona qualitat que ell mateix construïa ([veure figura 1.14 del llibre 2](#)).

#### **4.2. Microscopi compost**

El microscopi compost és aquell que conté dos o més lents o sistemes de lents. El microscopi de Hooke, també del segle XVII, és un exemple d'aquest tipus de microscopi. Presenta dos lents anomenades ocular i objectiu. Tal com ja hem comentat, malgrat ser un microscopi més complex que el de Leeuwenhoek, Hooke no va poder descriure bacteris. No obstant, va publicar les primeres descripcions de fongs microscòpics. Nosaltres si que veurem bacteris amb un microscopi compost actual que utilitzarem a pràctiques, que consta de diferents sistemes de lents (p.e. oculars, objectius, condensadors) i podrem fer observacions més còmodes i amb major resolució de las que va poder fer Leeuwenhoek amb el seu microscopi.

Pots consultar les parts del microscopi al Guió de pràctiques (pràctica 1); també veure figura 2.3 del llibre 1 o figura 2.1 del llibre 2.

Si vols practicar una mica d'anglès i treballar amb un microscopi virtual també pots fer-ho a "Virtual microscope": <http://www.ncbionetwork.org/jet/microscope/>

### 4.3. Microscòpia i teoria òptica.

L'ull humà té un límit de resolució d'uns 0,2 mm. Això vol dir que objectes més petits de 0,2 mm no els podem veure a cop d'ull. Per poder entendre com funciona un microscopi hem de conèixer alguns dels conceptes que va definir Abbe relacionats amb la teoria òptica, concretament, el poder de resolució i el límit de resolució. D'aquesta manera podrem saber quina mida han de tenir els microorganismes per poder veure'ls amb els diferents tipus de microscòpia. El poder de resolució és la capacitat que té un microscopi de mostrar separats dos punts que es troben molt propers. Quan la resolució és més gran, millor és la definició de l'objecte observat.

Pregunta 6. Què passaria si amplien dos punts molt propers amb una fotocopiadora mil vegades?

El límit de resolució és la distància més petita entre dos punts que pot ser resolta i observada amb un determinat microscopi. També la podem definir com el diàmetre de l'objecte més petit que pot ser discriminat amb un determinat microscopi. L'equació d'Abbe enuncia que aquesta distància mínima (**d**) depèn de longitud d'ona de la llum utilitzada (**λ**) i l'obertura numèrica (**ON**), que és una característica de la lent que ens mesura la capacitat que té per captar llum. La ON s'expressa matemàticament com: **n x sin μ**. Resumint podem saber quina és aquesta distància mínima utilitzant aquesta equació:

$$d = \lambda / 2 \times (n \times \sin \mu)$$

on **n** és l'índex de refracció de la matèria que hi ha entre l'objectiu i la mostra a observar i **μ** és el semiangle d'obertura, que és la meitat de l'angle que forma el conus format pels raigs de llum que entren a lent de l'objectiu des de la mostra. Aquest angle és més gran quan més a prop està l'objectiu de la mostra a observar (veure figura 2.4 del llibre 1). Arrodonint números, si estem treballant amb microscòpia de camp clar amb llum visible blava de **λ: 500 nm**, treballant en sec, o sigui amb aire entre l'objectiu i la mostra (**n: 1**) i amb l'objectiu molt a prop de la mostra on **μ** seria 90º, aquesta distància mínima que podríem veure seria:

$$d = 500 \text{ nm} / 2 \times (1 \times \sin 90^\circ) = 250 \text{ nm}$$

Si treballem amb l'objectiu d'immersió (100x), o sigui amb oli d'immersió entre l'objectiu i la mostra (**n: 1,5**) (veure figura 2.5 del llibre 1), aquesta distància mínima que podríem veure seria:

$$d = 500 \text{ nm} / 2 \times (1,5 \times \sin 90^\circ) = 167 \text{ nm}$$

Pregunta 7. Si estem observant unes cèl·lules de *Escherichia coli* que tenen aproximadament 1-1,5 μm de llarg per 0,5 μm d'ample, ¿Les podríem veure amb aquest microscopi?

Pregunta 8. Si estem treballant amb un microscopi amb uns oculars de 10x i un objectiu de 100x observant unes cèl·lules de *Escherichia coli* que tenen aproximadament 1-1,5 μm de llarg per 0,5 μm d'ample, ¿Quina mida aproximada tindrà la imatge que veus per l'ocular d'aquestes cèl·lules?



Dos conceptes molt pràctics quan estem utilitzant el microscopi són el de la profunditat i de l'àrea de camp. La profunditat de camp és el gruix de la preparació que tenim enfocada, i l'àrea de camp és el diàmetre de la preparació que s'està observant amb un augment determinat. Tots dos seran més grans quan utilitzem objectius de petits augments, ideals per rastrejar la preparació.

Pregunta 9. Si estem treballant amb un microscopi amb uns oculars de 10x i un objectiu de 100x observant unes cèl·lules d'espироquetes que podem tenir aproximadament 10 µm de llarg per menys de 0,1 µm d'ample, ¿Les podríem veure amb aquest microscopi? ¿Per què?

En aquest cas observem aquestes cèl·lules utilitzant una microscòpia de camp fosc (veure figura 2.6 del llibre 1). Aquest microscopi té un condensador de camp fosc. Quan obrim el llum, aquesta no passa a l'objectiu si no hi ha mostra a la preparació, i ho veiem tot fosc. Si hi ha mostra la llum incideix des dels costats, entrant a l'objectiu aquella que és dispersada per la mostra. Les cèl·lules es veuen brillants per la llum dispersada i els voltants foscos (veure figura 2.7 del llibre 1).

Pregunta 10. Podries veure la pols que hi ha en suspensió a la teva habitació?

Pregunta 11. Si utilitzem en lloc de llum visible, llum ultraviolada ¿aconseguiríem límits de resolució més petits? Per què? Quins problemes podríem tenir al fer observacions amb aquest tipus de microscòpia?

El microscopi de fluorescència, també utilitza llum ultraviolada per irradiar la mostra. Però en aquest cas, aquesta radiació és eliminada per un filtre abans d'arribar a l'observador. La llum ultraviolada s'utilitza per excitar determinats materials fluorescents naturals que tenen les cèl·lules o colorants fluorocroms que hem afegit al fer una determinada tinció. Aquesta excitació provoca la emissió de radiació visible acolorida i fluorescent que és la que veiem al fer l'observació. (veure figures 2.13a i b del llibre 1)

#### 4.4. Microscòpia electrònica.

Pregunta 12. Com afecta a la fórmula  $d = \lambda / 2 \times (n \times \sin \mu)$  el fet d'utilitzar electrons en lloc de llum visible?

El microscopi electrònic utilitza electrons en lloc de llum visible per aconseguir més augments i una resolució molt més gran de les imatges que es generen (veure figura 2.9 del llibre 1). Amb aquest tipus de microscòpia podem arribar a veure objectes de menys d'un nm de grandària i aconseguir més de 100.000 augments. Per poder utilitzar electrons aquests tipus de microscopi han de treballar al buit i utilitzar lents electromagnètiques en lloc de lents de vidre. Les imatges es veuen en pantalles fluorescents o de rajos catòdics segons els tipus, que es poden fotografiar.

Amb el microscopi electrònic de transmissió necessitem treballar amb talls molt fins de la mostra fixats i tenyits amb colorants d'alt pes molecular per poder dispersar els electrons (p.e. plom, osmi). En les imatges obtingudes, les regions més denses es veuen més fosques i les més transparents als electrons més clares (veure figura 2.10a del llibre 2).

Amb el microscopi electrònic de rastreig podem veure imatges tridimensionals molt augmentades. Les mostres després de ser fixades es cobreixen amb or en pols. En aquest cas els electrons en lloc de travessar l'objecte a observar, la escombren diverses vegades i els electrons secundaris emesos per la capa de metall són recollits i projectats en una pantalla de rajos catòdics (veure figura 2.27 del llibre 1).

#### 4.5. Altres tipus de microscòpia.

Altres tècniques utilitzades actualment són les de microscòpia làser confocal, que utilitza un raig làser per il·luminar la mostra, normalment tenyida amb colorants fluorescents, i obtenir seccions. La informació digitalitzada d'aquestes seccions són tractades amb un ordinador que, per exemple, pot reconstruir de forma tridimensional la mostra observada (veure figura 2.15f del llibre 1).

Altres tècniques més sofisticades i complexes com la microscòpia de sonda de rastreig (p.e. microscopi d'efecte túnel, microscopi de força atòmica) permeten obtenir imatges de molècules i àtoms. Poden aconseguir augments de fins 100 milions (veure figures 2.29 i 2.31 del llibre 1).

## Bibliografia

### Libres de consulta:

Per poder consultar aquest llibres des de casa podeu utilitzar el servei ARE. El servei ARE permet accedir des de qualsevol dispositiu amb connexió a internet situat fora de la UAB als recursos electrònics subscrits:

<https://www.uab.cat/web/que-oferim/acces-als-recursos-electronics-des-de-fora-de-la-uab-1345727672556.html>

**Llibre 1:** Willey JM, Sandman KM, Wood D. 2020. 11a ed. "Prescott's Microbiology". McGraw-Hill Higher Education.

[https://www-ingebook-com.are.uab.cat/ib/NPcd/IB\\_Escritorio\\_Visualizar?cod\\_primaria=1000193&libro=11835](https://www-ingebook-com.are.uab.cat/ib/NPcd/IB_Escritorio_Visualizar?cod_primaria=1000193&libro=11835)

**Llibre 2:** Madigan MT, Martinko JM, Dunlap PV, Clark DP. 2015. 14a ed. "Brock Biología de los microorganismos". Pearson Educación, S.A. **Capítols principals: 1 i 2.**

[https://www-ingebook-com.are.uab.cat/ib/NPcd/IB\\_BooksVis?cod\\_primaria=1000187&codigo\\_libro=5850](https://www-ingebook-com.are.uab.cat/ib/NPcd/IB_BooksVis?cod_primaria=1000187&codigo_libro=5850)

## Exemples de preguntes tipus test

- Leeuwenhoek va fer la descripció dels primers microorganismes al segle XVII.
- La majoria dels procariotes són organismes pluricel·lulars.
- Woese va agrupar els organismes en tres dominis: Archaea, Bacteria i Animalia.
- El microscopi compost és aquell que conté només una lent o sistema de lents.
- S'entén per poder de resolució el diàmetre de l'objecte més petit que pot ser discriminat.

-La microbiologia estudia els:

- A) Bacteris B) Virus C) Fongs D) Tots els anteriors

-Si un patògen no es cultivable incompleix el Postulat de Koch:

- A) Primer B) Segon C) Tercer D) Quart

-El límit de resolució d'un microscopi depèn de la longitud d'ona de la llum utilitzada i de:

- A) Àrea de camp B) Obertura numèrica C) Profunditat de camp D) Aberració esfèrica

-A la fórmula del límit de resolució el fet d'utilitzar electrons en lloc de llum visible fa que disminueixi:

- A) L'índex de refracció B) La longitud d'ona C) L'obertura numèrica D) Cap de les anteriors

-Quins dels següents tipus de microscòpia utilitzen la llum visible?

- I) Camp clar II) Fluorescència III) Electrònica de transmissió IV) Camp fosc

- A) Només I B) I i II C) I i IV D) III i IV