

# LA MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO COMO HERRAMIENTA PARA EL ESTUDIO DEL COMPORTAMIENTO DE CÉLULAS INMOVILIZADAS

**Enrique Durán-Páramo**, Fabián Robles Martínez, José Manuel Muñoz Aguilar y Marco A. Brito Arias.  
Departamento de Bioprocesos, Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología,  
Instituto Politécnico Nacional  
Ave. Acueducto s/n, La Laguna Ticomán, 07340 México, D.F. [eduran@acei.upibi.ipn.mx](mailto:eduran@acei.upibi.ipn.mx)

Palabras clave: *microscopía electrónica de barrido, inmovilización celular, Bacillus subtilis.*

**Introducción.** Las técnicas de inmovilización celular han sido utilizadas para la producción de diversas moléculas en el campo biológico. Algunos estudios han reportado diferencias relacionadas con el comportamiento fisiológico de células libres e inmovilizadas. Debido a que el proceso de inmovilización conlleva a modificaciones del micro-medio ambiente, algunos cambios metabólicos y morfológicos pueden ocurrir en las células. Por otro lado, existe un interés especial en la elucidación del comportamiento de microorganismos que se auto-inmovilizan, en donde se implica la producción de material de naturaleza polisacárida que sirve de adherente en las superficies, así como en el estudio de poblaciones microbianas. A este respecto, es de suma importancia la caracterización morfológica de las poblaciones microbianas después de inmovilización. Para tal efecto, la microscopía electrónica de barrido resulta ser una herramienta muy importante que puede ayudar a la elucidación de algunos comportamientos biológicos que se presentan en los sistemas de células inmovilizadas(3). El presente trabajo involucra un estudio visual por microscopía electrónica de barrido de la distribución espacial de células de *Bacillus subtilis* inmovilizadas en kappa-carragenina.

**Metodología.** En el presente estudio se utilizó la cepa *Bacillus subtilis* ATCC-21556. El medio de cultivo fue el Luria-Bertani. Se utilizó kappa-carragenina (2%) como soporte de inmovilización por inclusión. Se formaron partículas de gel de 3 mm de diámetro conteniendo las células inmovilizadas (2). Se realizó un cultivo continuo en reactor (1 L, Setric, France) con células inmovilizadas a una tasa de dilución de  $0.30 \text{ h}^{-1}$ . A intervalos de tiempo regulares se tomaron muestras de partículas conteniendo los microorganismos inmovilizados. Las esferas siguieron un tratamiento para ser observadas en el microscopio electrónico de barrido (2).

**Resultados.** Las observaciones microscópicas realizadas con muestras tomadas a intervalos de tiempo regulares nos permitieron constatar la distribución celular al interior de las partículas de inmovilización. Se observó una fuerte densidad celular en las capas periféricas de las partículas. Las colonias presentaron una morfología micro-esférica.

Por el contrario, observaciones realizadas en el núcleo de las esferas permitieron constatar un crecimiento celular menos abundante, las células presentan una morfología diferente y al parecer una sustancia pegajosa (de naturaleza pseudo-polisacárida) estaba presente alrededor de las células. Por otro lado, observaciones realizadas en fracciones de partículas fracturadas permitieron observar las cavidades ocupadas por las micro-colonias, se puede visualizar la alta compactación de la biomasa, ocupando casi todos los espacios disponibles de las partículas de inmovilización. Finalmente, se constató el fenómeno de liberación celular de la matriz de inmovilización.

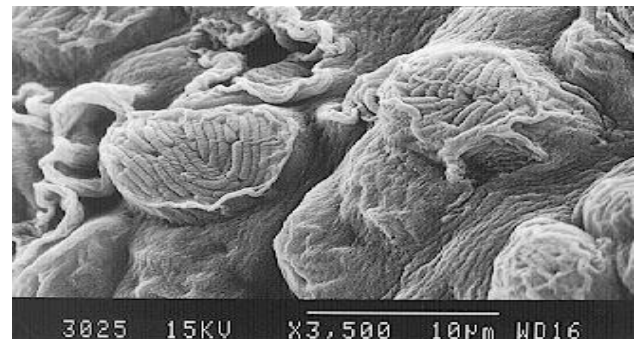


Figura 1. Micrografía de *Bacillus subtilis* inmovilizado en kappa-carragenina.

**Conclusiones.** La microscopía electrónica de barrido representa una herramienta muy importante en el estudio de microorganismos asociados a superficies. La utilización de ésta técnica microscópica en paralelo con otras técnicas permite elucidar fenómenos celulares relacionados con el micro-medio ambiente de inmovilización.

**Agradecimientos.** Apoyo financiero de CONACYT en México, de la SFERE y de la Université de Technologie de Compiègne en Francia.

#### **Bibliografía.**

1. Durán-Páramo, E. *et al* (2000), *Appl. Biochem. Biotechnol.* **84-86**, 479-485.
2. Durán-Páramo, E. (1997), PhD thesis, Université de Technologie de Compiègne, France.
3. Nava-Saucedo *et al.* (1994), *FEMS Microbiol. Reviews* **14**, 93-98.