

## RESPUESTA DE MATERIALES BIOLÓGICOS A DISTINTOS MÉTODOS DE PROCESAMIENTO Y OBSERVACIÓN AL MEB

Cristina R. Salgado (1) y Ma. Cecilia Galíndez (2)

(1-2) Servicio de Microscopía Electrónica de Barrido. Universidad Nacional del Nordeste, Corrientes, Argentina.  
Email: meb@unne.edu.ar

El Microscopio Electrónico de Barrido [MEB] es una herramienta sumamente valiosa para el estudio de distintos materiales biológicos. Esto es posible, principalmente, a tres cualidades de este tipo de equipamiento: gran profundidad de campo facilitando el enfoque en casi toda la muestra, alta resolución permitiendo observar detalles muy amplificados y la relativamente fácil preparación de muestras. El objetivo de este trabajo consiste en comparar distintos métodos de procesamiento y observación a fin de hallar el más adecuado para cada tipo de muestra. Se seleccionaron los siguientes materiales de origen vegetal: granos de polen, tricomas glandulares y no glandulares, y granos de almidón. Los granos de polen fueron procesados, para observar la morfología externa, utilizando dos métodos: el primero consistió en lavarlos con una serie creciente de alcoholes y el segundo consistió en someterlos a la acción de lavados con ácido acético y sulfúrico. Para observar la estructura interna de la pared de los granos de polen, fueron sometidos a dos métodos de ruptura de los mismos: uno por acción mecánica y el otro, mediante el uso de esferas de vidrio agitadas con vórtex. En el caso de los tricomas glandulares y no glandulares se observaron muestras secas de hojas y tallos procedentes de material de herbario y frescas fijadas en FAA; las primeras fueron observadas directamente y también re-hidratadas, las últimas fueron deshidratadas con una serie creciente de alcoholes y acetonas y luego secadas a punto crítico. Para la observación de granos de almidón se hicieron cortes de tejido reservante de raíces y tubérculos, secados a estufa y a punto crítico, para verlos incluidos en el tejido como así también se realizó un extendido sobre un cubreobjetos. Todas las muestras fueron cubiertas con una fina lámina de oro. Se probaron diferentes métodos para la observación al MEB, trabajando a distintas distancias de trabajo y utilizando diferentes niveles de voltaje (5kV, 10kV, 15kV). Los resultados obtenidos muestran que los lavados con alcohol son suficientes para limpiar la superficie de granos de polen de la *Especie C*, mientras que para los granos de las *Especies A* y *B*, son más eficientes los lavados con ácidos para eliminar la sustancia lipídica que los aglutina; respecto del método de ruptura el más efectivo fue el mecánico. Para los tricomas glandulares la mejor opción fue usar material fijado y secado a punto crítico, en tanto que los tricomas no glandulares no se ven modificados por el tipo de secado utilizado. Para la observación de granos de almidón en órganos de reserva, el método más acertado fue el análisis de cortes secados a punto crítico. La mayoría de las muestras se observan mejor utilizando niveles bajos de aceleración de voltaje porque reduce el efecto de carga, sin embargo para obtener mayor fidelidad en la definición de microestructuras de los granos de polen fue necesario trabajar con valores altos de voltaje y mínima distancia de trabajo, a diferencia de los tricomas para los cuales fue necesario trabajar con valores bajos de voltaje y moderada distancia de trabajo. Luego de analizar y comparar las imágenes obtenidas podemos concluir que a pesar de que existen métodos estándar para el procesamiento y observación de materiales biológicos, las particularidades de cada uno de ellos requieren adaptaciones del protocolo; por lo que en la mayoría de los casos es necesario probar una serie de técnicas hasta encontrar la que mejor se ajusta a cada caso.

### REFERENCIAS

- [1] Goldstein J.I., Newbury D.E., Echlin P., Joy D.C., Romig A.D., Lyman C.E., Fiori Ch. y Lifshin E., (1992) “*Scanning Electron Microscopy and X-Ray Microanalysis*”, Segunda edición, New York.
- [2] Sorrivas de Lozano V, Yañez M J y Morales A., (2014) “*Principios y Práctica de la Microscopía Electrónica*”, UAT – CONICET. Bahía Blanca. Argentina.
- [3] Zarlavsky G., (2014) “*Histología Vegetal. Técnicas simples y complejas*”, Buenos Aires, Imprenta Grafica Arte.

4° Congreso de la Asociación Argentina de Microscopía (SAMIC 2016)

**AGRADECIMIENTOS**

Las autoras agradecen a la SGCyT por facilitar el uso del equipamiento del Servicio de Microscopia Electrónica de Barrido de la Universidad Nacional del Nordeste para la realización de este trabajo y por el apoyo financiero.

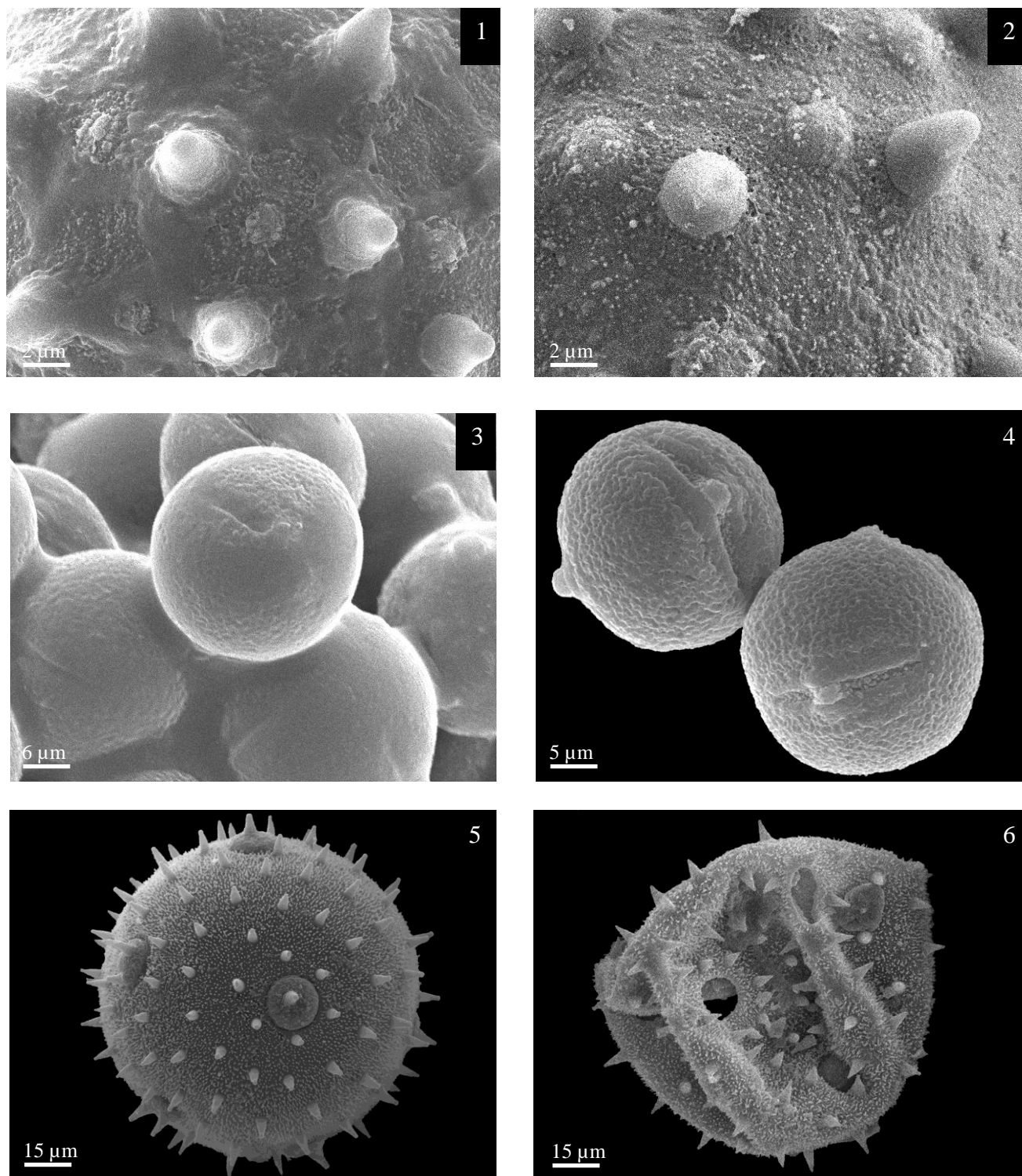


Figura 1. Granos de polen con diferentes tratamientos. Especie A: *Hibiscus rosa-sinensis*, n/v rosa china o sinensia (1, 2). Especie B: *Carica papaya*, n/v mamón, papaya (3, 4). Especie C *Cucurbita maxima*, n/v zapallo (5, 6). 1, 3 y 5 Granos lavados con alcoholes. 2, 4 y 6 Granos lavados con ácido acético y sulfúrico.