

BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE PUEBLA

FACULTAD DE CIENCIAS FÍSICO
MATEMÁTICAS



ESTUDIO COMPARATIVO DEL COMPORTAMIENTO
DE NADO DE PROCARIONTES MAGNETICO
MULTICELULARES Y DE COCOS MAGNETOTÁCTICOS

Tesis presentada para obtener el título de Licenciado en Física

Presenta: Daniel Acosta Avalos

Asesor: Dr. Gerardo F. Torres del Castillo

Septiembre 2018

Título: ESTUDIO COMPARATIVO DEL COMPORTAMIENTO DE NADO DE PROCARIONTES MAGNETICOS MULTICELULARES Y DE COCOS MAGNETOTÁCTICOS

Estudiante: Daniel Acosta Avalos

COMITÉ

Dr. Gustavo Rodríguez Zurita
Presidente

Dr. José Noé Felipe Herrera Pacheco
Secretario

Dr. Carlos Robledo Sánchez
Vocal

Dra. María del Rosario Pastrana Sánchez
Suplente

Dr. Gerardo Francisco Torres del Castillo
Asesor

Resumen

Los microorganismos magnetotácticos tienen cadenas intracelulares que le dan a su cuerpo celular un momento magnético, lo que les permite alinear sus trayectorias de nado a las líneas del campo geomagnético. Esta propiedad es conocida como Magnetotaxia y hace que estos microorganismos sean apropiados para el estudio del movimiento bacteriano. La presente tesis estudia las trayectorias de nado de cocos magnetotácticos y del procarionte magnetotáctico multicelular '*Candidatus Magnetoglobus multicellularis*' para campos magnéticos menores de 90 μT . Es supuesto que las trayectorias son hélices cilíndricas y, a partir de esto, la velocidad axial, el radio de la hélice, la frecuencia y la orientación de las trayectorias relativa al campo magnético aplicado fueron determinadas a partir de las trayectorias experimentales. El principal resultado fue observar que los cocos magnetotácticos orientan sus trayectorias con la dirección del campo magnético total, como es predicho por la magnetotaxia clásica, pero los '*Candidatus Magnetoglobus multicellularis*' no nadan siguiendo la dirección del campo magnético, pudiendo significar que la percepción de la dirección del campo magnético es hecha con un mecanismo más complejo que no depende únicamente del torque magnético.

Índice general

1 Introducción

2 Metodología

2.1 Interpretación de las proyecciones bidimensionales de las trayectorias

3 Resultados y Discusión

4 Conclusiones

5 Bibliografía

1. Introducción

Las bacterias magnéticas (MTB) son microorganismos que biomineralizan nanopartículas magnéticas del óxido de hierro magnetita (Fe_3O_4) o del sulfato de hierro greigita (Fe_3S_4). Estas nanopartículas están dentro de una membrana y organizadas en cadenas lineales, dándole un momento magnético al cuerpo de la bacteria. Las bacterias magnéticas pueden ser cocos, vibriones, espirilas y también las formas multicelulares conocidas como procariontes magnéticos multicelulares (conocidos como MMPs) [1]. El MMP más estudiado es '*Candidatus Magnetoglobus multicellularis*' (CMM), el cual es un MMP esférico, conteniendo un número medio de 17 bacterias magnéticas, aconodadas lado a lado alrededor de un compartimiento central [2]. Las MTB usan su momento magnético para alinear su cuerpo con las líneas del campo geomagnético, comportamiento conocido como magnetotaxia. Las MTB usan la magnetotaxia junto con la aerotaxia (que es la respuesta a gradientes de oxígeno) para buscar las regiones con la mejor concentración de oxígeno para ellas: la zona de transición oxi-anóxica. Este último comportamiento es conocido como magneto-aerotaxia [3]. Las MTB son fácilmente identificadas por su respuesta a las inversiones de dirección del campo magnético local: después de la inversión de dirección una MTB comienza a nadar siguiendo la nueva dirección del campo magnético. Esto es interesante porque las MTB pueden ser usadas como un modelo para el estudio del nado de microorganismos. Las bacterias nadan en el régimen del bajo número de Reynolds, donde las fuerzas y torques viscosos anulan las fuerzas y torques inerciales resultantes [4]. En ese régimen varios microorganismos nadan siguiendo una trayectoria helicoidal [5] cuya parametrización en coordenadas cartesianas (x,y,z) en función del tiempo, considerando el eje de la hélice como el eje z , puede ser escrita como:

$$x(t) = R\cos(\omega t) \quad (1a)$$

$$y(t) = R\sin(\omega t) \quad (1b)$$

$$z(t) = Vt \quad (1c)$$

donde R es el radio de la hélice, V es la velocidad axial y $\omega = 2\pi f$ siendo f la frecuencia de la hélice.

El movimiento de CMM ha sido estudiado para dos diferentes campos magnéticos aplicados ($390 \mu\text{T}$ and $2000 \mu\text{T}$), analizando las trayectorias con las ecuaciones (1) [6]. En aquel estudio fue mostrado que para $390 \mu\text{T}$ los parámetros de la hélice son: $R = 4.5 \pm 1.9 \mu\text{m}$, $V = 87 \pm 22 \mu\text{m/s}$ y $\omega = 6.3 \pm 1.7 \text{ rad/s}$, y para $2000 \mu\text{T}$ son: $R = 3.8 \pm 1.5 \mu\text{m}$, $V = 110 \pm 26 \mu\text{m/s}$ y $\omega = 8.0 \pm 2.1 \text{ rad/s}$. Es interesante observar que todos los parámetros muestran desvíos estándar grandes, lo que es característico en estudios con poblaciones de CMMs. En otro estudio hecho con el mismo MMP, con campos

magnéticos de 90 μT hasta 3200 μT , fue mostrado que para campos magnéticos más bajos que 390 μT los parámetros son muy diferentes: por ejemplo para 150 μT los parámetros son $R = 8.7 \pm 6.7 \mu\text{m}$, $V = 93 \pm 28 \mu\text{m/s}$ y $\omega = 7.9 \pm 3.7 \text{ rad/s}$ [7]. En el mismo estudio se muestra que las trayectorias de CMMs muestran un alto desvío estándar alrededor de la dirección del campo magnético para campos magnéticos más bajos que 500 μT , contrariando lo esperado por los modelos de magnetotaxia [8,9]. Para otros microorganismos magnetotácticos ha sido observado que la trayectoria bidimensional es similar a la proyección de una hélice tridimensional en el plano focal del microscopio óptico (ver por ejemplo figuras en las referencias 4, 10, 11 y 12).

El objetivo de la presente tesis es estudiar la trayectoria helicoidal de bacterias magnéticas naturales (cocos) y de CMMs para campos magnéticos bajos, y comparar los resultados con la comprensión actual de la magnetotaxia.

2. Metodología

Agua y sedimentos donde se puede encontrar el organismo CMM fueron colectados en la laguna de Araruama, estado de Rio de Janeiro, Brasil ($22^{\circ}55'24''\text{S}$, $42^{\circ}18'12''\text{W}$), y mantenidas en acuarios de vidrio en el laboratorio por varias semanas. MTB cocos fueron colectados en la laguna Rodrigo de Freitas ($22^{\circ}58'\text{S}$, $43^{\circ}12'\text{W}$), una laguna urbana localizada en la ciudad de Rio de Janeiro. Los sedimentos fueron colectados en 2007 y han sido mantenidos en un acuario de vidrio desde entonces, completando el nivel del agua del acuario periódicamente con agua corriente. Los parámetros del campo geomagnético local donde los CMMs y las MTBs se encuentran son: componente horizontal = 18 μT , componente vertical = -15 μT , intensidad total = 23 μT . Para aislar los microorganismos magnéticos para los experimentos, una muestra fue transferida para un frasco especialmente construido, conteniendo una abertura capilar lateral donde un imán pequeño genera un campo magnético alineado con este capilar [13]. Los microorganismos magnetotácticos estudiados son tipo Sur y nadan en la dirección del capilar cuando el polo Norte de un imán está de frente a él. Después de 5 minutos fueron colectados con una pipeta.

Para registrar el movimiento de estos microorganismos para posteriormente analizar las trayectorias, los mismos fueron observados con un microscopio digital (Celestron modelo 44340) equipado con un par de bobinas caseras fijas en una lámina de vidrio de microscopio, produciendo un campo magnético \mathbf{B} en el plano focal y perpendicular al eje óptico del microscopio (Figura 1A). Una lente con aumento de 10X fue usada para observar los CMMs y una amplificación digital extra de 4 veces fue usada para observar los cocos magnéticos. La tasa de cuadros de los vídeos fue de 10 fps. Una regla de calibración de microscopio, que consiste de una barra de 1 mm dividida en 100 partes, fue usada para convertir pixels a micrómetros. El campo magnético fue medido usando un magnetómetro fluxgate de 3 ejes (APS modelo 113). Una gota de

agua fue colectada del concentrador antes mencionado con una pipeta y fue colocada sobre la lámina de vidrio del microscopio donde un campo magnético ya estaba puesto. El registro del vídeo comenzó cuando los microorganismos estaban acumulados en el borde de la gota. El movimiento de los microorganismos magnetotácticos se inició cuando la dirección del campo magnético fue invertido, a través de la inversión de la corriente en las bobinas. Un número suficiente de gotas fue usado para obtener un número suficiente de trayectorias, que fue usualmente de más de 30.

Para los experimentos el microscopio fue orientado de tal manera que el campo geomagnético estaba orientado perpendicularmente al eje de la bobina en el plano focal. En otras palabras, suponiendo que el plano XZ corresponde con el plano focal y que el eje Y es el eje vertical, entonces: $\mathbf{B} = B \mathbf{k}$ y $\mathbf{B}_{\text{GEO}} = (18 \mu\text{T}) \mathbf{i} + (15 \mu\text{T}) \mathbf{j}$, donde \mathbf{i} , \mathbf{j} , \mathbf{k} son los vectores unitarios cartesianos (Figura 1B).

Las coordenadas de las trayectorias fueron obtenidas manualmente para cada microorganismo, a partir de los vídeos grabados separados cuadro a cuadro, usando el software *ImageJ* (NIH), y después las mismas coordenadas fueron analizadas con el software *MicroCal Origin*. Fue supuesto que las trayectorias observadas son proyecciones planas de hélices cilíndricas, siendo observado sólo las coordenadas X y Z de las Ecs. (1). Para cada trayectoria fue estimada la velocidad de translación V_T , la frecuencia de la hélice f y el radio de la hélice R . También para cada campo magnético fue calculada la distribución de ángulos de orientación θ alrededor de la dirección del campo magnético. Para calcular el ángulo θ fue usada la siguiente relación: $V_x/V_z = \tan\theta$ (ver más abajo). Los tests estadísticos fueron hechos con el software *GraphPad InStat*, pero para la estadística de los ángulos fue usado el software *Oriana 4.02*.

2.1 Interpretación de las proyecciones bidimensionales de las trayectorias

El movimiento de estos microorganismos ocurre en el régimen de bajo número de Reynolds, y una implicación de esto es que sus trayectorias deben ser hélices cilíndricas [4], cuyas ecuaciones parametrizadas en el tiempo son las ecs. (1) donde el eje Z coincide con el eje de la hélice.

El registro del nado de un microorganismo en un microscopio produce datos bidimensionales. Considerando que el eje Z es paralelo al eje de la hélice y está localizado en el plano focal junto con el eje X, la trayectoria observada debe ser una figura ondulada con ecuaciones paramétricas iguales a (1a) y (1c). Sin embargo, si el eje de la hélice no coincide con el eje Z y está inclinado por un ángulo θ , las ecuaciones paramétricas para las coordenadas X y Z deben ser:

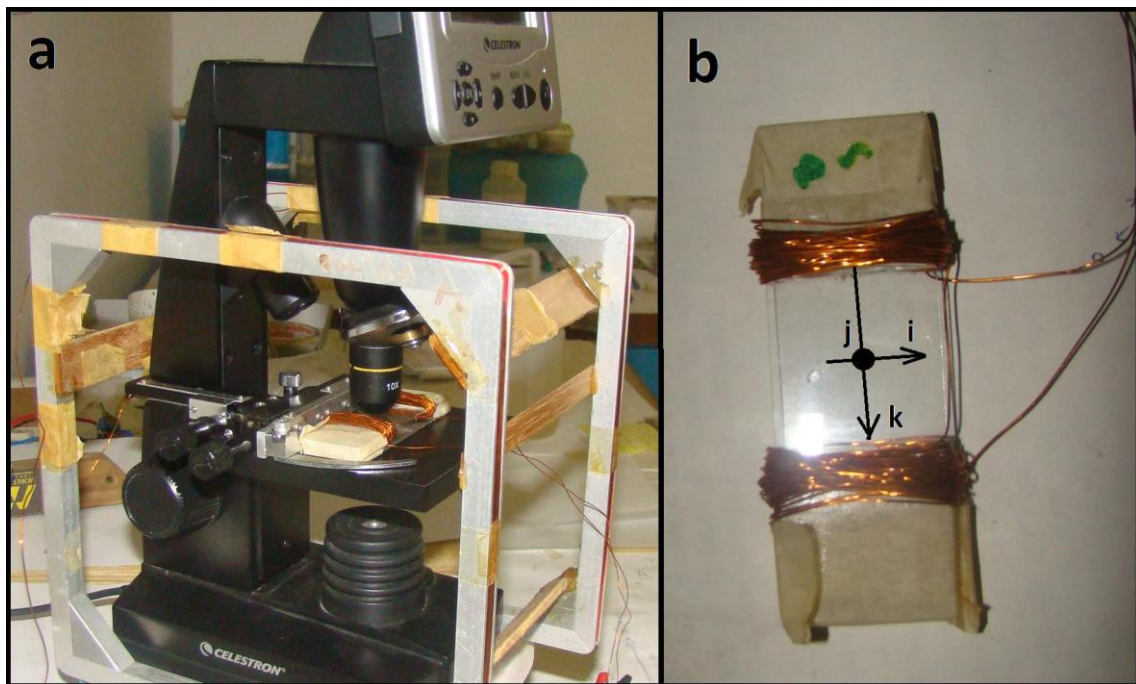


Figura 1: **A.** Esquema experimental. Sobre la plataforma del microscopio está un par de bobinas, fijas a una lámina de vidrio de microscopía, usadas para la generación del campo magnético. **B.** Representación del sistema de referencia usado para el análisis de las trayectorias, dibujado sobre la lámina de vidrio de microscopía. i , j y k son los versores cartesianos formando una base ortonormal. El círculo negro central representa una flecha apuntando para el observador y corresponde con el eje Y. El plano óptico corresponde con el plano X-Z y Y es el eje vertical dirigido para arriba.

$$Z' = Z\cos\theta + X\sin\theta = R\sin\theta\cos(2\pi ft) + V\cdot t\cdot\cos\theta \quad (3a)$$

$$X' = -Z\sin\theta + X\cos\theta = -R\cos\theta\cos(2\pi ft) + V\cdot t\cdot\sin\theta \quad (3b)$$

Las ecs. (3a) y (3b) representan líneas rectas con perturbaciones sinusoidales (Figura 2). Experimentalmente, el ángulo θ y los parámetros de la hélice V_T , R y f pueden ser calculados a través de las ecs. (3a) y (3b), considerando que para la video-microscopía la posición de la cámara fue ajustada de tal forma que el eje horizontal de cada cuadro estaba alineado con el campo magnético aplicado \mathbf{B} . En otras palabras, la línea $0^\circ - 180^\circ$ corresponde con el eje Z , siendo la dirección 0° dirigida para dentro de la gota, y la línea $90^\circ - 270^\circ$ corresponde con el borde de la gota. En la Figura 2A el borde de la gota está localizado a la derecha.

3. Resultados y Discusión

Los microorganismos magnetotácticos nadan en trayectorias helicoidales que pueden ser aproximadas por hélices cilíndricas. Este tipo de análisis de trayectorias fue hecho solamente para CMMs en campos magnéticos mayores que $90 \mu\text{T}$ [6,7]. La Tabla I muestra los resultados de los parámetros de las trayectorias para los cocos magnéticos y para los CMMs como una función del campo magnético. Como el esquema experimental tiene dos componentes de campo magnético, entonces el campo magnético total corresponde a la suma del campo magnético aplicado \mathbf{B} y del campo geomagnético: $\mathbf{B}_T = (18 \mu\text{T}) \mathbf{i} + (15 \mu\text{T}) \mathbf{j} + B \mathbf{k}$. La Tabla I muestra también la intensidad del vector \mathbf{B}_T para cada valor de B . Para CMMs la velocidad aumenta discretamente para campos magnéticos mayores, y la frecuencia y el radio no cambian estadísticamente para los campos magnéticos usados. Para los cocos magnéticos los parámetros son estadísticamente similares para todos los campos magnéticos usados. Es interesante observar que el radio de la trayectoria está en el mismo orden de magnitud que el diámetro del cuerpo (para bacterias es alrededor de $2 \mu\text{m}$ y para los CMMs es alrededor de $7 \mu\text{m}$ [14]). Se puede observar también que las frecuencias de las trayectorias para las bacterias son ligeramente mayores que para los CMMs.

Otro parámetro analizado fue la orientación de la trayectoria relativa al campo magnético aplicado \mathbf{B} . La magnetotaxia se reconoce porque microorganismos magnetotácticos responden a cambios en la dirección del campo magnético aplicado, nadando en trayectorias paralelas a las líneas del campo magnético. Como la velocidad V_T tiene la misma dirección del eje de la trayectoria helicoidal, fue calculado el ángulo θ que la velocidad V_T hace con el eje Z , porque este eje corresponde a la dirección del campo magnético aplicado \mathbf{B} . El ángulo θ fue calculado usando las ecs. (3). El ángulo esperado θ_{MF} es el ángulo relativo al campo magnético total \mathbf{B}_T y fue calculado con la expresión $\arctan(B_{GEO}/B)$. Los resultados pueden ser vistos en la Tabla II.

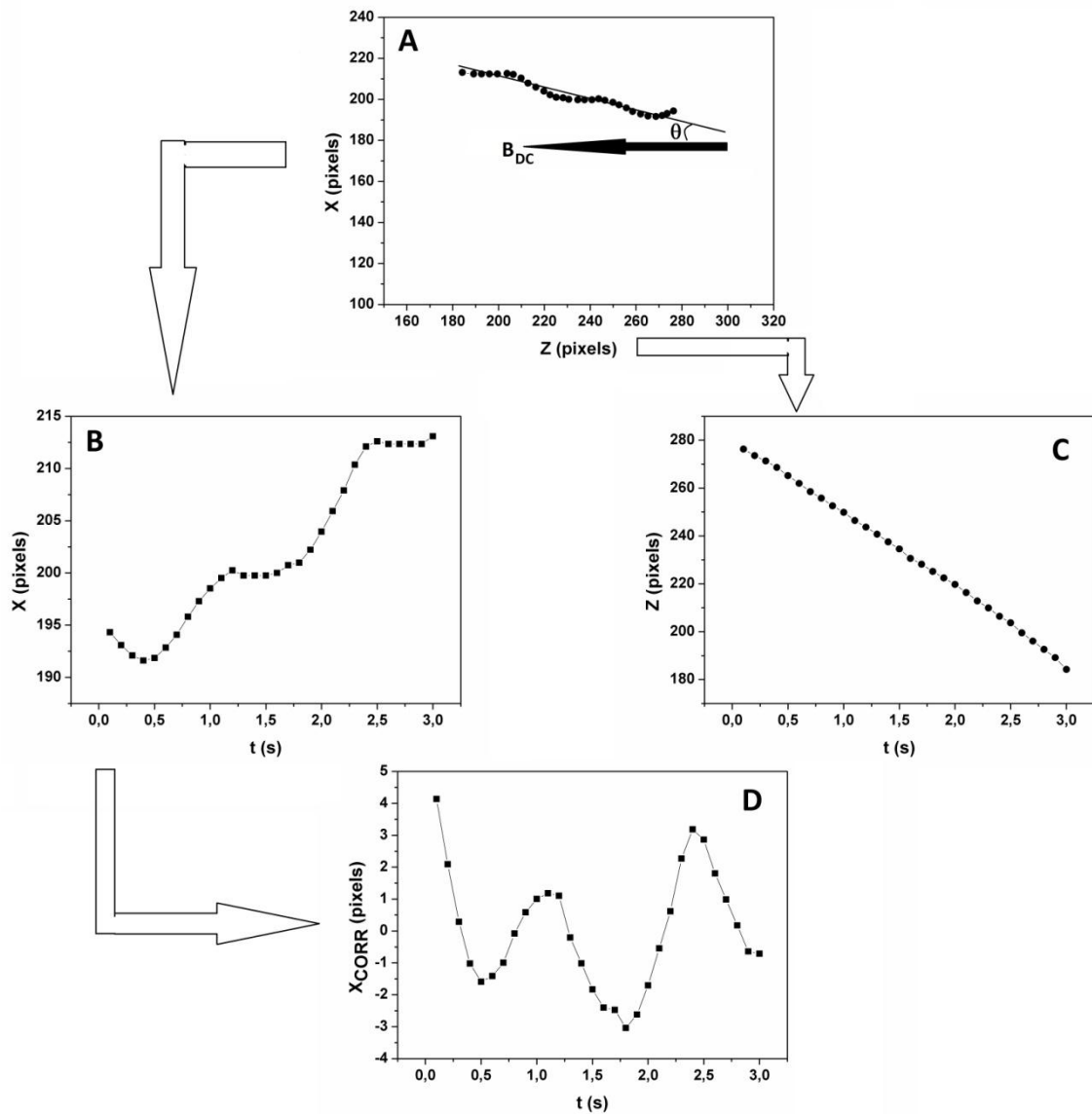


Figura 2: Ejemplo de análisis de una curva obtenida para un CMM. (A) Gráfica ZX de la trayectoria original. En esta figura el borde de la gota está del lado derecho, y el CMM se mueve de la derecha para la izquierda. También está representada en la figura la dirección del campo B y el ángulo θ entre la trayectoria y B . (B-C) Análisis de las coordenadas individuales Z y X (respectivamente) en función del tiempo. Un ajuste lineal de estas curvas fue hecho para calcular las velocidades V_x y V_z . (D) Curva resultante después de sustraer la tendencia lineal, $V_x t$, en la coordenada X. Un ajuste no-lineal para la ec. (3b) sin la tendencia lineal fue usado para calcular el radio R y la frecuencia f. En todas las figuras la distancia está medida en pixels y posteriormente fue convertida a micrómetros usando una regla de calibración para microscopio óptico.

Tabla I: Valores medios de los parametros V , R y f de las trayectorias helicoidales obtenidas a partir de los datos analizados usando las Ecs. (3) y el procedimiento mostrado en la Figura 2. B_T corresponde con la amplitud del vector de campo magnético obtenido a partir de la suma de \mathbf{B} y \mathbf{B}_{GEO} . SD es el desvío estándar. N es el número de trayectorias analizadas. En las columnas, la comparación estadística se muestra con letras superescritas (test de ANOVA con test de multi-comparación): letras iguales significan valores medios estadísticamente similares ($p > 0.05$) y letras diferentes significan valores medios estadísticamente diferentes ($p < 0.05$).

	B (μT)	B_T (μT)	$V \pm \text{SD}$ ($\mu\text{m/s}$)	$R \pm \text{SD}$ (μm)	$f \pm \text{SD}$ (Hz)	N
Bacteria						
	59	63	89 ± 42^a	2.4 ± 1.7^a	1.0 ± 0.7^a	43
	66	69	89 ± 33^a	2.7 ± 1.5^a	0.8 ± 0.6^a	40
	72	75	83 ± 20^a	2.5 ± 1.6^a	1.0 ± 0.6^a	48
CMM						
	59	63	80 ± 18^A	6.1 ± 3.2^A	0.8 ± 0.3^A	37
	66	69	81 ± 15^A	6.6 ± 3.8^A	0.7 ± 0.3^A	40
	72	75	93 ± 29^B	5.6 ± 2.6^A	0.9 ± 0.4^A	41

Tabla II: Estadística circular para los ángulos θ de las trayectorias (el ángulo entre la velocidad axial y el campo magnético \mathbf{B}). SD es el desvío estándar circular. θ_{MF} corresponde al ángulo entre el campo magnético total \mathbf{B}_T y el eje Z. Para todos los grupos de ángulos el test de Rayleigh da una probabilidad $p \ll 0.05$, lo que significa que los ángulos no están distribuidos uniformemente alrededor del círculo unitario y sí están concentrados significativamente alrededor del ángulo medio.

B_T (μT)	MTB $\theta \pm SD$ (deg)	CMM $\theta \pm SD$ (deg)	θ_{MF} (deg)
63	24 \pm 5.9	7.4 \pm 13	22
69	22 \pm 4.6	3.9 \pm 25	19
75	19 \pm 5.8	5.1 \pm 18	18

Puede verse que los cocos magnéticos estudiados nadan siguiendo la dirección del campo magnético total (\mathbf{B}_T), como es de esperarse para el comportamiento magnetotáctico [15], pero los CMMs nadan siguiendo direcciones diferentes de la dirección de \mathbf{B}_T , con direcciones angulares medias diferentes de θ_{MF} y desvíos estándar grandes (Figura 3). Es interesante observar en la Fig. 3 que existen CMMs nadando cerca de la línea $90^\circ - 120^\circ$, lejos del ángulo θ_{MF} . Esos microorganismos comienzan a nadar cuando el campo magnético \mathbf{B} invierte su dirección, pero ellos no siguen la dirección del campo magnético \mathbf{B} o \mathbf{B}_T . De alguna forma, los CMMs sienten la inversión de la dirección del campo magnético, siendo estimulados a nadar cuando esto sucede.

Los datos mostrados en la Tabla II no corresponden con los ángulos de orientación relativa a \mathbf{B}_T y no pueden ser usados para calcular el valor del coseno medio del ángulo de orientación como fue propuesto por Kalmijn [8] y por Mao et al. [9] para medir el grado de orientación. En vez de esto, calculamos el valor medio de $\cos(\theta - \theta_{MF})$ porque el ángulo $(\theta - \theta_{MF})$ mide la orientación relativa a \mathbf{B}_T . Los resultados para $\langle \cos(\theta - \theta_{MF}) \rangle$ y para la variancia σ^2 son mostrados en la Tabla III. Puede ser observado que las MTBs muestran valores de $\langle \cos(\theta - \theta_{MF}) \rangle$ de alrededor de 0.99 mientras que CMMs muestran valores menores. Mao et al. [9] reportaron valores similares para $\langle \cos(\theta) \rangle$ para cocos magnetotácticos y para *Magnetobacterium bavaricum* colectados en un lago alemán, para un intervalo de valores de campo magnético similar al mostrado en la Tabla III. Es interesante observar que en aquel estudio fue medido el momento magnético de aquellos microorganismos magnetotácticos, y *M. bavaricum* demostró tener un momento magnético 10 veces mayor que el momento magnético de los cocos magnéticos alemanes, mostrando ambos similares valores de $\langle \cos(\theta) \rangle$ para campos magnéticos mayores que $60 \mu\text{T}$. La Tabla III muestra que esto no es el caso para CMMs si son comparados con los cocos magnetotácticos brasileños, porque los valores de $\langle \cos(\theta - \theta_{MF}) \rangle$ para los CMMs son menores que los valores para los cocos. Se espera que CMMs muestren valores similares de orientación que las MTBs estudiadas, ya que los CMMs tienen un momento magnético de alrededor de 10 veces mayor que el momento magnético de una bacteria magnética común [14, 16].

La combinación de $\langle \cos(\theta - \theta_{MF}) \rangle$ y σ^2 permite el cálculo de la razón de energías magnética y térmica $X = mB/kT$, donde mB es la energía magnética (siendo m el momento magnético del microorganismo y B el campo magnético local) y kT representa a la energía térmica (siendo k la constante de Boltzmann y T la temperatura absoluta). Kalmijn [8] muestra que: $\langle \cos(\theta - \theta_{MF}) \rangle = \coth(X) - 1/X$ y $\sigma^2 = 1 - \coth^2(X) + 1/X^2$. Cálculos simples permiten mostrar que:

$$X = (2\langle \cos(\theta - \theta_{MF}) \rangle) / (1 - \langle \cos(\theta - \theta_{MF}) \rangle^2 - \sigma^2) \quad (4)$$

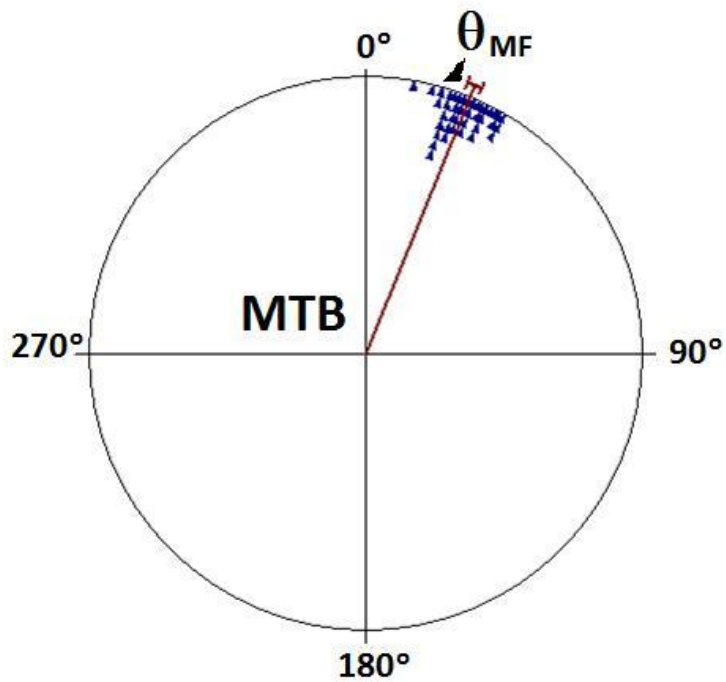
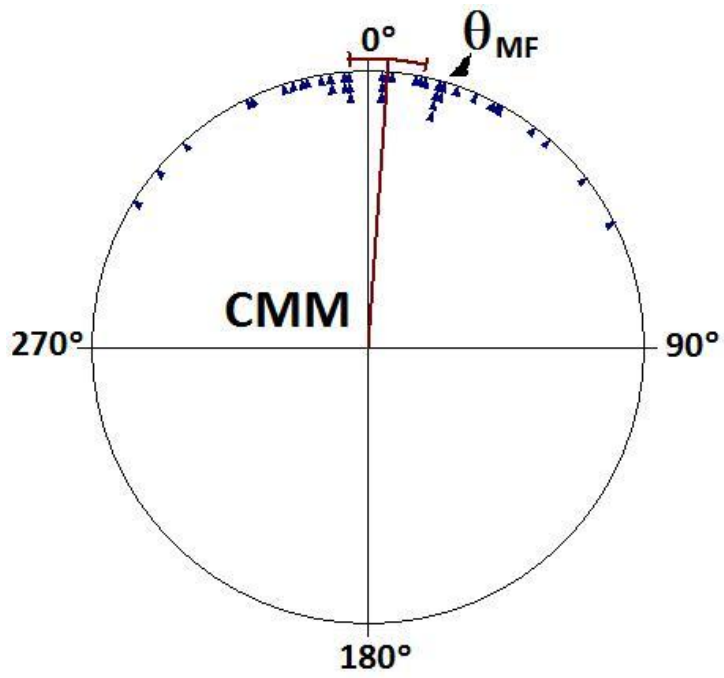


Figura 3: Ejemplo de histograma circular para CMMs y cocos magnetotácticos. Los datos corresponden con $B = 66 \mu\text{T}$. Los triángulos internos representan los ángulos. La punta de flecha externa representa la dirección del campo magnético total (θ_{MF}). La línea representa la posición del ángulo medio y la barra encima de este ángulo representa el desvío estándar circular.

Tabla III: Estadística para la orientación relativa al campo magnético \mathbf{B}_T . $\langle \cos(\theta - \theta_{MF}) \rangle$ es el valor medio de $\cos(\theta - \theta_{MF})$ y σ^2 es la variancia. Usando la ecuación (4) se calculó la razón de energías magnética y térmica $X = mB/kT$ para cada valor del campo magnético total.

B_T (μT)	MTB	CMM	X	
	$\langle \cos(\theta - \theta_{MF}) \rangle \pm \sigma^2$	$\langle \cos(\theta - \theta_{MF}) \rangle \pm \sigma^2$	MTB	CMM
63	0.993 ± 0.0003	0.944 ± 0.005	152	18
69	0.994 ± 0.00004	0.882 ± 0.054	198	9
75	0.994 ± 0.0001	0.931 ± 0.014	183	15

Los resultados para X en función del campo magnético B_T son mostrados en la Tabla III. A partir de los valores de X es posible calcular m/kT para cada valor del campo magnético. Considerando que a temperatura ambiente $kT \approx 4.1 \times 10^{-21}$ J entonces los siguientes valores medios para m/kT pueden ser obtenidos: $\approx 2.4 \times 10^6$ para los cocos magnetotácticos y $\approx 0.2 \times 10^6$ para CMMs, lo que produce valores para el momento magnético de $m \approx 9 \times 10^{-15}$ Am² para cocos magnetotácticos y $m \approx 8 \times 10^{-16}$ Am² para CMMs. Ambos valores calculados están superestimados para los cocos magnetotácticos y sobreestimados para los CMMs, pero estos resultados muestran que el comportamiento de nado de los CMMs bajo estímulos magnéticos es extremadamente diferente del mismo comportamiento observado para las MTBs.

Los organismos magnetotácticos viven bajo la influencia del campo geomagnético. El valor medio mundial para B_{GEO} es alrededor de 50 μ T, pero Rio de Janeiro, Brasil, se encuentra localizado en la region de la Anomalia del Atlántico Sur, donde el campo geomagnético tiene sus menores valores de alrededor de 22 μ T [17]. Es interesante el estudio del comportamiento de microorganismos magnetotácticos bajo la influencia de campos magnéticos de bajas intensidades, similares a las de B_{GEO} . En la presente tesis se estudia por primera vez el comportamiento de nado de microorganismos magnetotácticos para campos magnéticos menores que 80 μ T [7]. Las frecuencias de las trayectorias observadas para los cocos magnetotácticos son mucho más bajas que aquellas asociadas al batimiento flagelar, que es de cerca de 100 Hz [18]. Para los cocos magnetotácticos se observa un período en la trayectoria de alrededor de 1 s (frecuencia de alrededor de 1 Hz) y para los CMMs es de cerca de 1.2 s, que corresponde con una frecuencia de más o menos 0.8 Hz.

Los CMMs muestran radios de trayectoria mayores que aquellos de las MTBs. Es un hecho que los CMMs tienen mayores tamaños que las MTBs, en una relación de aproximadamente 4 veces de diametro [2]. Los resultados del presente estudio sugieren que microorganismos con mayores radios corporales presentan mayores radios de trayectoria. Como estos microorganismos nadan en grupo, una posible estrategia para evitar colisiones es nadar en una trayectoria helicoidal con diámetro interno similar a aquel de cualquier otro microorganismo vecino. Como las trayectorias medidas fueron obtenidas a través de la obtención de las coordenadas de posición del centro geométrico del microorganismo, un radio de trayectoria de más o menos el diámetro del microorganismo corresponde a un espacio libre dentro de la hélice del tamaño de otro microorganismo. Esto es una hipótesis que necesita ser explorada en futuros experimentos.

La velocidad axial medida para ambos microorganismos está de acuerdo con la velocidad medida en otros microorganismos magnetotácticos (ver por ejemplo las referencias 8, 6, 19, 7). Los CMMs tienen velocidades menores (de cerca de 80 μ m/s) que las velocidades de los cocos magnetotácticos (de cerca de 90 μ m/s), y esto debe

estar relacionado a los tipos de flagelo presentes en cada de microorganismo: los CMMs presentan flagelos cortos distribuidos alrededor de su cuerpo esférico y los cocos magnetotácticos generalmente presentan un flagelo largo o un agrupamiento único de flagelos largos [20,21]. Cada CMM se mueve como un único microorganismo con movimiento flagelar altamente coordinado entre todos los MTBs que componen el CMM [20].

La orientación magnetotáctica determinada por el ángulo θ parece ser efectiva en el caso de las MTBs como se muestra en la Figura 3, donde se observa que las trayectorias bacterianas siguen la dirección del campo magnético B_T . Por otro lado, los CMMs parece que no siguen la dirección del campo magnético, pero responden a la inversión del mismo, presentando una alta dispersión alrededor de la dirección escogida. Parece que el torque magnético es más efectivo en las MTBs para determinar la dirección de nado, y que en CMMs el torque magnético no es efectivo lo suficiente para determinar la dirección de nado. Los CMMs tienen una distribución compleja de cadenas de magnetosomas alrededor del eje de una hélice esférica [16], produciendo un momento magnético resultante en la dirección del eje y también un torque magnético resultante. Es importante mencionar que un CMM tiene un momento magnético 10 veces mayor que el momento magnético de una bacteria magnetotáctica [8, 14], significando que el torque magnético debe ser mayor también. Probablemente en los CMMs el torque magnético sea comparado con otros estímulos mientras nada, y la dirección de nado observada sea el resultado de una análisis de varias pistas ambientales, como ha sido propuesto en un estudio reciente de Keim et al. [7]. Los presentes resultados sugieren que para los CMMs la inversión de la dirección del campo magnético representa un estímulo para nadar pero la selección de la dirección de nado depende de otros estímulos ambientales. Parece como si los CMMs no presentaran su magnetotaxia como una taxia pasiva, determinada únicamente por el torque entre el momento magnético de la cadena de magnetosomas y el campo magnético aplicado [4, 15]. Se sabe que los CMMs están en el centro de las discusiones sobre procesos de magnetorecepción en microorganismos magnetotácticos, desde el análisis del comportamiento de ping-pong [22] hasta el descubrimiento de un mecanismo de pares radicales que ha sido asociado a la magnetorecepción dependiente de luz [23]. Es interesante observar que el comportamiento de orientación de los CMMs es similar a aquel observado para animales en experimentos de magnetorecepción (ver como ejemplo los histogramas circulares mostrados en la referencia 24).

4. Conclusiones

Como conclusión afirmamos que la presente tesis muestra las primeras mediciones de los parámetros de las trayectorias helicoidales de cocos magnetotácticos y de CMMs bajo la influencia de campos magnéticos con intensidades menores que $90 \mu\text{T}$. El radio

de la trayectoria es similar al diámetro de los microorganismos, probablemente como una estrategia para evitar colisiones con otros microorganismos nadando en el mismo microambiente. Los cocos magnetotácticos orientan sus trayectorias de nado como es predicho por la magnetotaxia clásica, pero los CMMs no nadan siguiendo la dirección del campo magnético, pudiendo significar que en los CMMs la percepción de la dirección del campo magnético es hecha con un mecanismo complejo no únicamente asociado al torque magnético.

5. Bibliografía

- [1] Yang C, Chen C, Ma Q, Wu L and Song T. *Journal of Bionic Engineering* **9**, 200 (2012)
- [2] Abreu F, Martins J L, Silveira T S, Keim C N, Lins de Barros H G P, Gueiras-Filho F and Lins U. *Int J Syst Evol Microbiol* **57**, 1318 (2007)
- [3] Lefevre C T, Bennet M, Landau L, Vach P, Pignol D, Bazylinski D A, Frankel R B, Klunpp S and Faivre D. *Biophys J* **107**, 527 (2014)
- [4] Nogueira F S and Lins de Barros H G P. *Eur Biophys J* **24**, 13 (1995)
- [5] Crenshaw H C. *Amer Zool* **36**, 608 (1996)
- [6] Almeida F P, Viana N B, Lins U, Farina M and Keim C N. *Antonie van Leeuwenhoek* **103**, 845 (2013)
- [7] Keim C N, De Melo R D, Almeida F P, Lins de Barros H G P, Farina M and Acosta-Avalos D. *Environmental Microbiology Reports* DOI: 10.1111/1758-2229.12640 (2018)
- [8] Kalmijn A J. *IEEE Transactions on Magnetics* **MAG-17**, 1113 (1981)
- [9] Mao X, Egli R, Petersen N, Hanzlik M and Zhao X. *Geochem Geophys Geosyst* **15**, 255 (2014)
- [10] Lefevre C T, Bernadac A, Yu-Zhang K, Pradel N and Wu L F. *Environmental Microbiology* **11**, 1646 (2009)
- [11] Zhang W Y, Zhou K, Pan H M, Yue H D, Jiang M, Xiao T and Wu L F. *Applied Environmental Microbiol* **78**, 5606 (2012)
- [12] Chen Y R, Zhang R, Du H J, Pan H M, Zhang W Y, Zhou K, Li J H, Xiao T and Wu L F. *Environmental Microbiology* **17**, 637 (2015)
- [13] Lins U, Freitas F, Keim C N, Lins de Barros H, Esquivel D M S and Farina M. *Braz J Microbiol* **34**, 111 (2003)
- [14] Perantoni M, Esquivel D M S, Wajnberg E, Acosta-Avalos D, Cernicchiaro G and Lins de Barros H. *Naturwissenschaften* **96**, 685 (2009)

- [15] Frankel R B and Blakemore R P. *Jour Mag Mag Mat* **15-18**, 1562 (1980)
- [16] Acosta-Avalos D, Azevedo L M S, Andrade T S and Lins de Barros H. *Eur Biophys J* **41**, 405 (2012)
- [17] Pinto Jr O, Gonzalez W D, Pinto I R C A, Gonzalez A L C and Mendes Jr O. *Journal of Atmospheric and Terrestrial Physics* **54**, 1129 (1992)
- [18] Berg H C. *Annu Rev Biochem* **72**, 19 (2003)
- [19] Zhang S D, Petersen N, Zhang W J, Cargou S, Ruan J, Murat D, Santini C L, Song T, Kato T, Notareschi P, Li Y, Namba K, Gue A M and Wu L F. *Environmental Microbiology Reports* **6**, 14 (2014)
- [20] Silva K T, Abreu F, Almeida F P, Keim C N, Farina M and Lins U. *Microscopy Research and Technique* **70**, 10 (2007)
- [21] Lefevre C T, Santini C L, Bernadac A, Zhang W J, Li Y and Wu L F. *Molecular Microbiology* **78**, 1304 (2010)
- [22] Greenberg M, Canter K, Mahler I and Tornheim A. *Biophys J* **88**, 1496 (2005)
- [23] De Melo R D and Acosta-Avalos D. *Antonie Van Leeuwenhoek* **110**, 177 (2017)
- [24] Wiltschko R and Wiltschko W. *BioEssays* **28**, 157 (2006)