

## LA COLUMNA DE WINOGRADSKY. UN EJEMPLO DE MICROBIOLOGÍA BÁSICA EN UN LABORATORIO DE EDUCACIÓN SECUNDARIA

José Pedro López Pérez

IES "Felipe II". 30870. Mazarrón. Murcia.

Departamento de Genética y Microbiología, Facultad de Biología. Universidad de Murcia. 30100. Espinardo. Murcia. [jpedrolopez@terra.es](mailto:jpedrolopez@terra.es)

[Recibido en Noviembre de 2007, aceptado en Marzo de 2008]

**Palabras clave:** *microbiología; columna de Winogradsky; educación secundaria.*

Acercar la microbiología al laboratorio de ciencias naturales de un instituto de educación secundaria puede ser un tanto arduo. Por un lado, es necesario un equipo básico de microscopía, con requisito mínimo de objetivo de 100x e inmersión en aceite. Por otro, el uso de reactivos y materiales no siempre disponibles, caso de medios de cultivo para bacterias y compuestos químicos orgánicos específicos para microbiología básica. A pesar de ello, la microbiología puede llegar a los alumnos trabajando un apartado específico del currículo: los ciclos biogeoquímicos y, de modo particular, el ciclo del azufre y la fotosíntesis bacteriana mediante la conocida columna de Winogradsky.

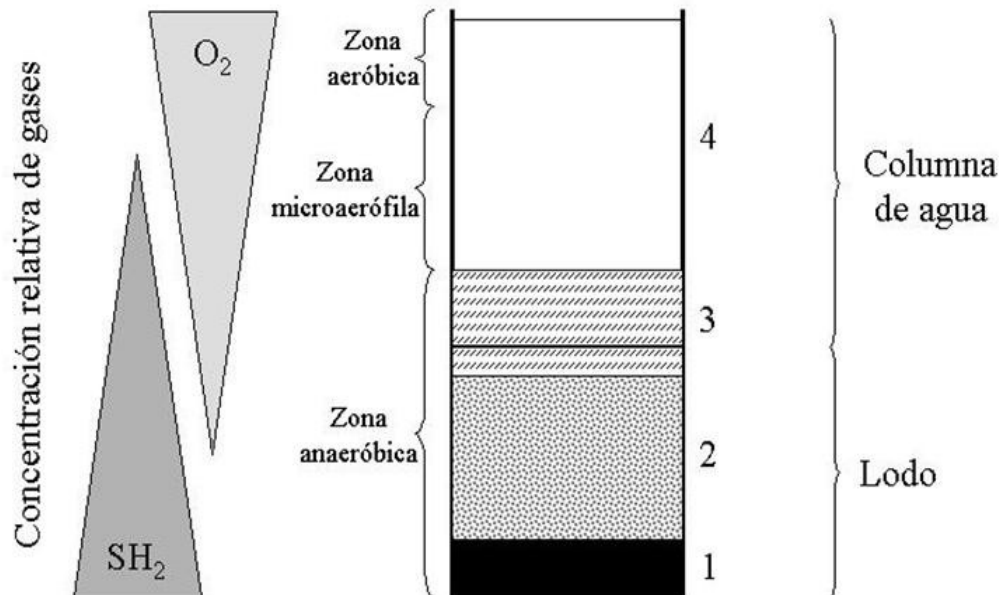
Desarrollada inicialmente por el microbiólogo ruso Sergey Winogradsky (1853-1956), constituye un modelo de ecosistema, similar a los tapetes microbianos que se hallan en aguas dulces o saladas, donde proliferan microorganismos del medio acuático y de los sedimentos, principalmente bacterias fotosintéticas.

El nombre de columna deriva de que se suelen emplear cilindros de vidrio o de plástico en su construcción. La altura de la misma permite diferenciar tres zonas características, en base a su concentración relativa de oxígeno. Por un lado, la zona cercana a la superficie o zona aeróbica dispone de una alta concentración de este gas. Inmediatamente debajo, se localiza la zona de microaerofilia, con una concentración parcial de O<sub>2</sub>. Por último, la zona anaeróbica o anóxica, constituye el lecho de lodo (Figura 1).

Cuando la columna se expone a la luz solar o la proporcionada por la incandescencia de un filamento de tungsteno de una lámpara de laboratorio, la abundancia de luz roja e infrarroja es absorbida por las clorofilas y bacterioclorofilas, desarrollándose las poblaciones de microorganismos fotosintéticos objeto del presente trabajo (Figura 2).

Su construcción es sencilla: en un cilindro de vidrio o plástico transparente se adiciona lodo de una charca, una fuente de carbono y energía para la cadena trófica

microbiana, que bien puede ser tiras de papel de filtro o periódico, una base de sulfato ( $\text{CaSO}_4$ , anhidrita o yeso) y un agente tamponador del pH ( $\text{CaCO}_3$ , caliza), cubierto todo por arena de color claro y agua de la propia charca donde se ha recogido el fango (ver dibujo esquemático en Figura 1).



**Figura 1.-** Dibujo esquemático de la construcción de una columna de Winogradsky<sup>1</sup>.

Transcurrido un período de tiempo entre mes y medio a dos meses, ¿qué es lo que puede observarse en la columna?. La incorporación de dióxido de carbono a compuestos orgánicos reducidos se pensaba que era un hecho exclusivo de plantas superiores y algunas algas microscópicas. La autotrofia en bacterias fotolitotrofas, es decir, la incorporación de este gas a la materia viva utilizando otros compuestos donadores de electrones distintos a la molécula de agua, caso del sulfuro de hidrógeno, sin la participación de la clorofila, es uno de los más fascinantes hechos que pone en evidencia el estudio de la columna de Winogradsky.

Si partimos de la base de la columna y ascendemos, podemos comprobar zonaciones características como consecuencia de distintas coloraciones (Figura 2).

<sup>1</sup> La descomposición de la materia orgánica y la reducción de sulfato en condiciones anóxicas en el lecho del lodo (1) genera un gradiente de sulfuro de hidrógeno. Las bacterias rojas y verdes del azufre (2) se estratificarán dependiendo de la tolerancia de las mismas al  $\text{SH}_2$ . En la zona 3 es posible que se localicen bacterias rojas no del azufre, aunque frecuentemente este estrato también es ocupado por bacterias rojas del azufre, caso del género *Chromatium* sp. Finalmente, en la zona más superficial de la columna, se disponen los microorganismos fotosintéticos, capaces de capturar el dióxido de carbono, romper la molécula de agua y desprender oxígeno al interno. Se trata de algas y cianobacterias con las típicas coloraciones verdes propias de la clorofila. NOTA: Es preciso tapar la columna con el objetivo de evitar la evaporación del agua.

La zona inferior, de color negro intenso, denota la presencia de microorganismos reductores de sulfato, caso de los géneros *Desulfovibrio*, *Desulfotomaculum* o *Desulfomonas*. La coloración es debida a la precipitación de sulfuro de metales pesados (hierro, manganeso), tal y como describe de forma parcial la siguiente reacción química:



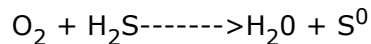
**Figura 2.-** Columna de Winogradsky preparada en un cilindro de plástico transparente. Denótese la diferencia poblacional en base a la variedad de colores que aparecen en el lecho de arena y columna de agua. (1) Algas fotosintéticas. (2) Bacterias rojas del azufre (*Chromatium* spp.). (3) Depósito de sulfuro de metales pesados asociado a la presencia de microorganismos reductores de sulfato. Barra= 1.5 cm.

Los sulfuros producidos por esta compleja comunidad microbiana, bajo condiciones anóxicas, son fuente de electrones para las bacterias fotosintéticas rojas y verdes del azufre alojadas en un estrato superior, caso de los géneros microbianos: *Chromatium*, *Thiocapsa* o *Thiospirillum*. Las bacterias rojas del azufre, mayoritarias en este tipo de modelo experimental, comprenden un grupo de microorganismos anaeróbicos, parcialmente sensibles a la presencia de oxígeno molecular y sulfuro de hidrógeno. Producen compuestos orgánicos reducidos a partir del dióxido de carbono. Dentro de este grupo se halla la familia Cromatiáceas, caracterizada por el género *Chromatium*.

Los acúmulos en masa de esta bacteria en la columna, generan zonas pigmentadas púrpura, como consecuencia de un pigmento carotenóidico, la okenona (caso especial en la especie *C. okenii*). *Chromatium* oxida el sulfuro y deposita gránulos de azufre elemental en el interior de su citoplasma (estructuras refringentes).

En la parte superior de la columna, cuando la producción de sulfuro de hidrógeno no es muy abundante, se desarrolla toda una variada comunidad microbiana caracterizada por cianobacterias y microalgas, que determinan la producción de oxígeno en su entorno más inmediato. Si por el contrario, es capaz de llegar procedente de las zonas profundas de la

columna cierta cantidad de sulfídrico, seremos capaces de observar algunas bacterias incoloras del azufre, *Beggiatoa* y *Thiothrix*. Ambos géneros acumulan gránulos de azufre en sus citoplasmas por oxidación del sulfuro de hidrógeno. De igual modo, si la concentración de este gas es elevada, de manera espontánea puede aparecer azufre elemental por combinación con el oxígeno molecular, en forma de una pequeña capa que tapiza la superficie. La reacción química que se lleva a cabo es la siguiente (reacción de Bunsen):



Finalmente, llama la atención si se deja proliferar el sistema, el hecho de que cuando la concentración de este gas sulfídrico es muy baja, los gránulos de azufre elemental intracitoplasmático presentes en *Beggiatoa* y *Thiothrix* empiezan a desaparecer por oxidación total a sulfato. El tiempo estimado para la realización de la explicación de esta experiencia es de 55 minutos (una clase). No obstante, el montaje y el desarrollo de la columna requiere -al menos- un mes. Es aconsejable la visión esquemática de la columna (Fig. 1) mediante la ayuda de un proyector de transparencias o aparato similar. Con ayuda de una pipeta Pasteur puede tomarse alícuotas de cada una de las zonas y realizar las observaciones pertinentes al microscopio óptico de campo claro o de contraste de fase.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Atlas, R.M. y R. Bartha. 2001. *Ecología microbiana y microbiología ambiental*. 4ª edición. Ed. Addison Wesley.
- Madigan, M.T., J.M. Martinko y J. Parker. 1997. *La Herencia de Winogradsky*. En "Brock: Biología de los microorganismos". 8ª edición. Prentice Hall. p. 493.
- Duró, A y J. Urmeneta. 2007. Manchas cromáticas o diversidad de microorganismos. *Investigación y Ciencia*. nº 366. Marzo.

#### THE WINOGRADSKY COLUMN. A BASIC MICROBIOLOGY EXAMPLE IN THE SECONDARY EDUCATION LABORATORY

**Keywords:** *microbiology; Winogradsky column; secondary education.*