

Fisiología Microbiana

Tarea de Aula 4B

Ecología Microbiana y comportamiento bacteriano comunitario

Trabajos Prácticos

TP-1: Técnicas generales de Microbiología.

- Manejo de material de laboratorio.
- Práctica de Técnicas Asépticas.
- Métodos de siembra y aislamiento.

TP-2: Aislamiento y análisis de microorganismos.

- Aislamiento a partir de diferentes nichos
- Enriquecimiento y repiques de colonias
- Observaciones microscópicas. Coloraciones
- Metabolismo.
- Producción de exoenzimas y antibióticos.

TP-3: Crecimiento

- Curva de crecimiento.
- CIM y antibiograma

TP-4: Ecología Microbiana y comportamiento bacteriano comunitario

- Winogradsky
- Cuerpos fructíferos, swarming, biofilms
- Matriz extracelular en biofilms

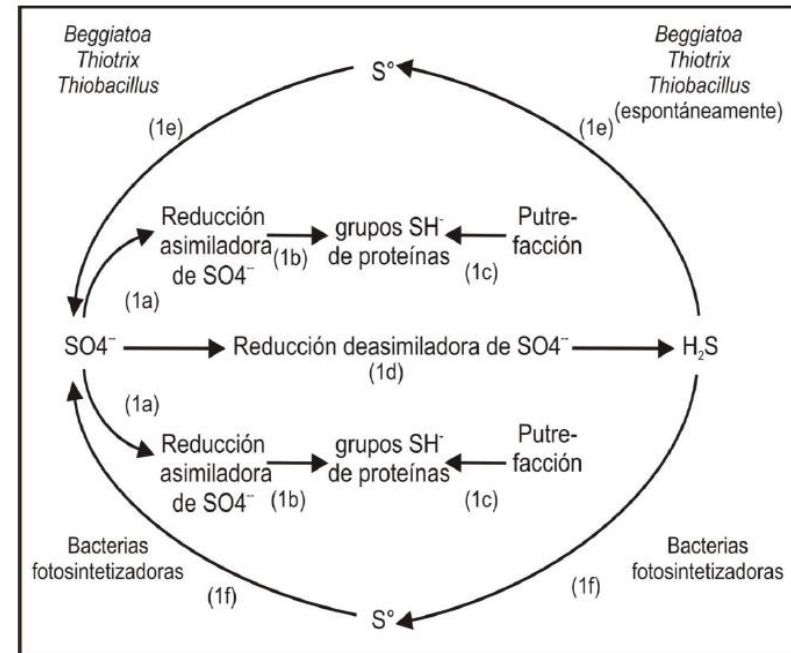
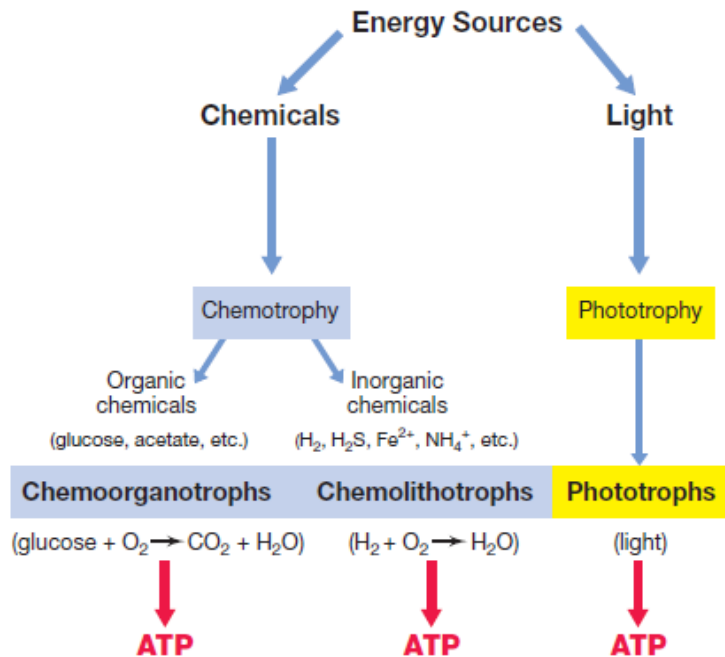
Trabajo Práctico N° 4: Ecología Microbiana y comportamiento bacteriano comunitario

OBJETIVOS:

- Observar y comprender la diversidad bacteriana que coexiste en un mismo nicho en un dado ecosistema y las interrelaciones que ocurren entre ellas mediante el empleo de la “Columna de Winogradsky”.
- Introducir al alumno en el concepto de comportamiento bacteriano social mediante el estudio de formas de crecimiento en comunidad tales como cuerpos fructíferos, biofilms y swarming.
- Afianzar el concepto de matriz extracelular y su papel en el desarrollo estructural y funcional de los biofilms.

Sergei Winogradsky (1856-1953)

- Estudios de microorganismos quimiolitotrofos y quimioautotrofos
- Bacterias fijadoras de nitrógenos y bacterias del azufre
- Padre de la microbiología ecológica y ambiental



Clasificación de medios de cultivo

Medios de enriquecimiento

Diagrama de enriquecimiento, aislamiento y caracterización de microorganismos

1. Fuente de inóculo
2. Caldo de enriquecimiento
3. Plaqueo para aislamiento
4. Caracterización e identificación

Dependiendo de la abundancia del microorganismo a estudiar

en la fuente de inóculo,

deberán utilizarse:



Medio de enriquecimiento

Medio de enriquecimiento selectivo

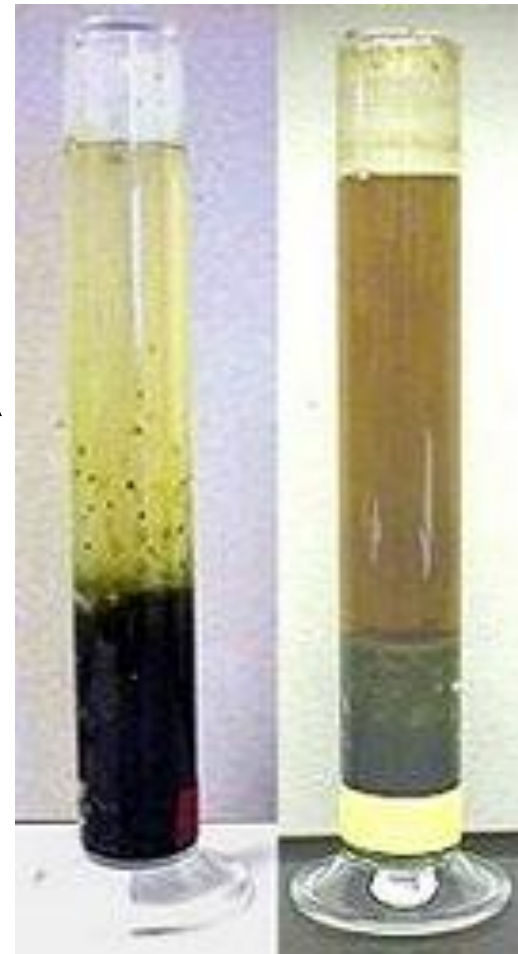
Medio de enriquecimiento: Columna de Winogradsky



Agua estancada
o de Lago



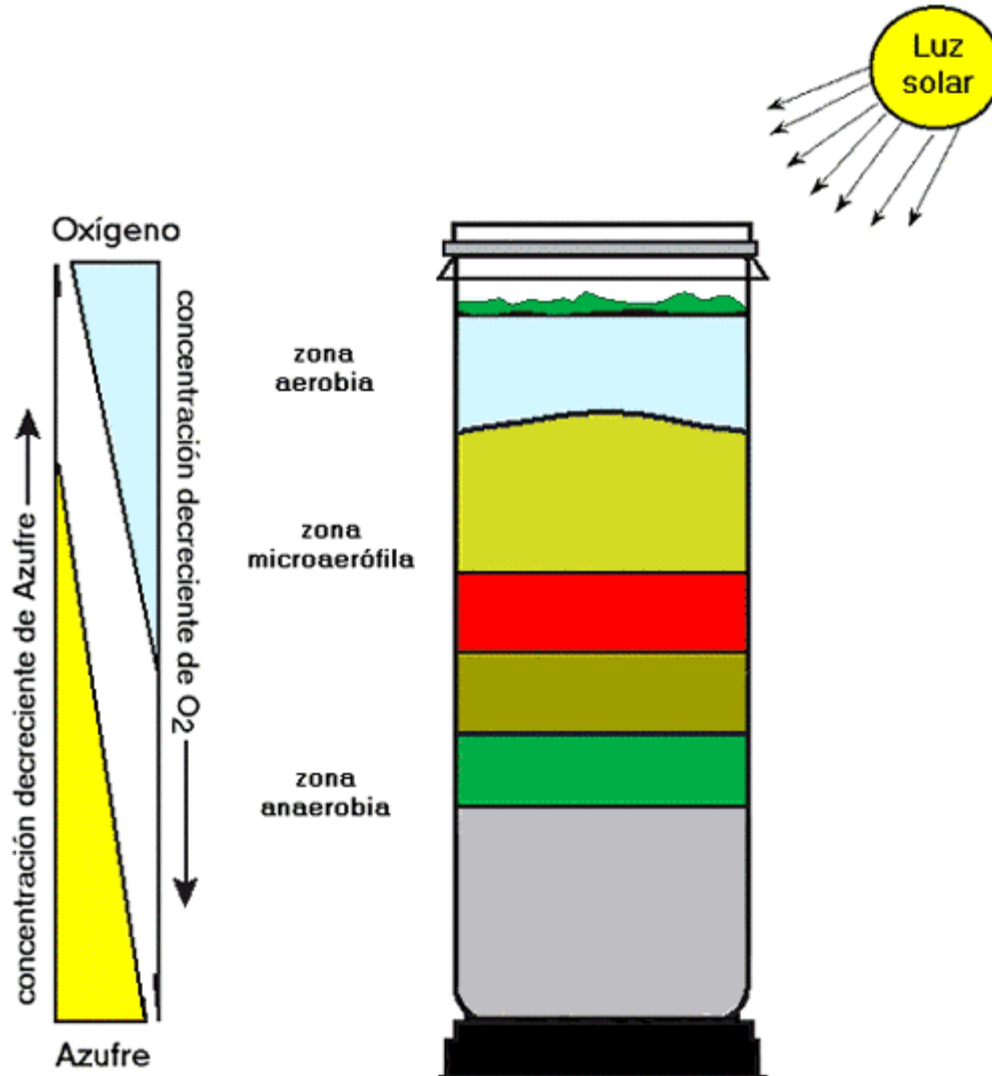
Barro



Luz

CO_3Ca
 SO_4Ca
 PO_4HK_2

Medio de enriquecimiento: Columna de Winogradsky



Medio de enriquecimiento: Columna de Winogradsky

The Winogradsky Column

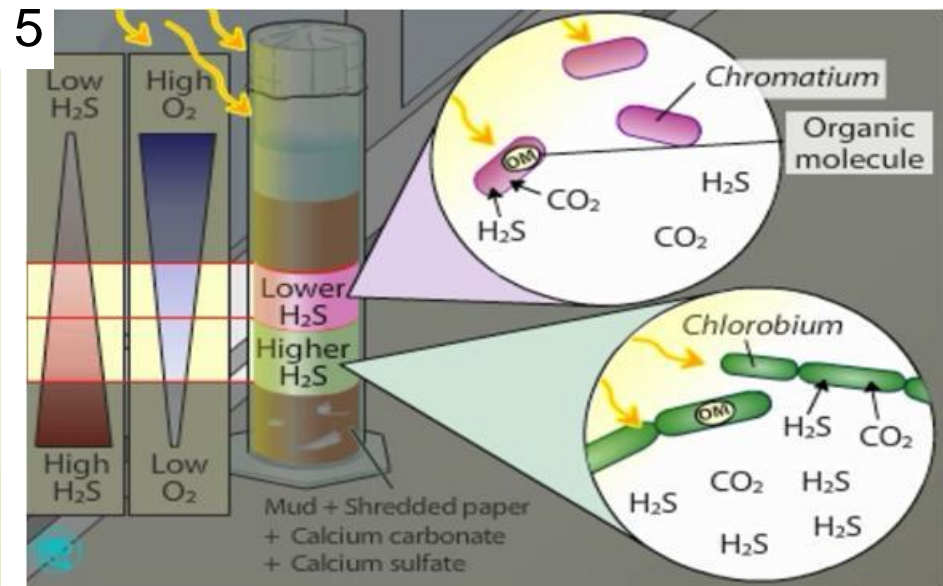
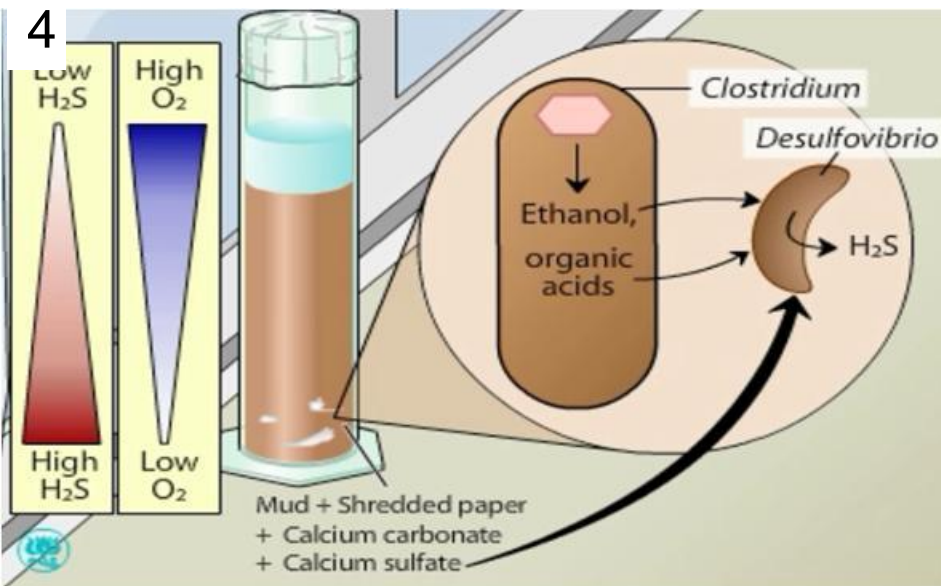
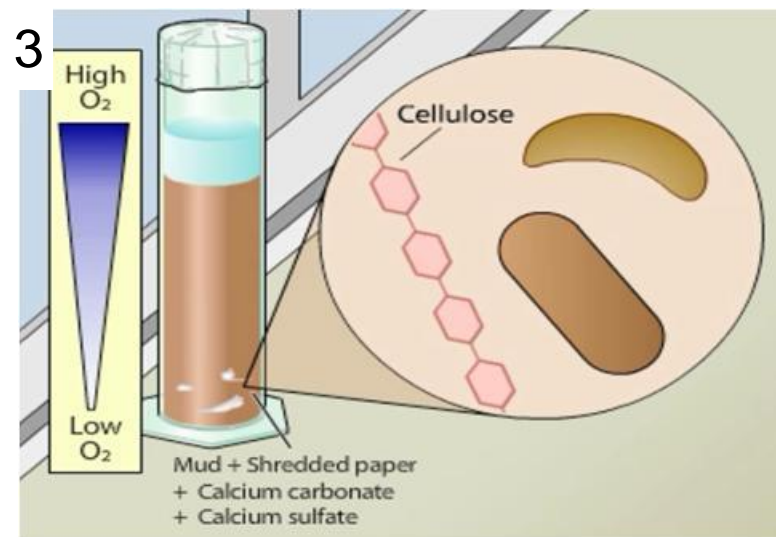
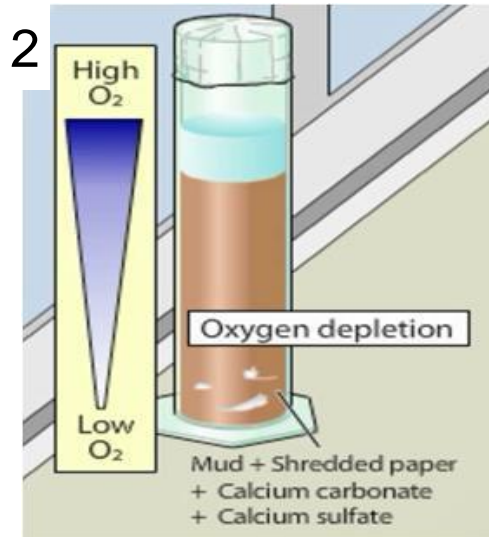
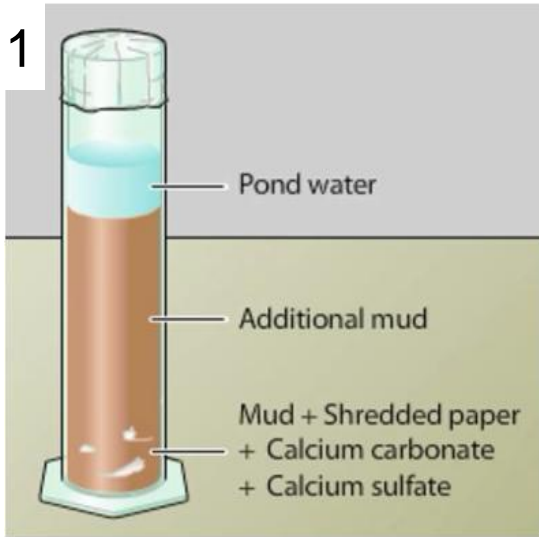
Written and produced by Sumanas, Inc. for

Microbial Life, First Edition

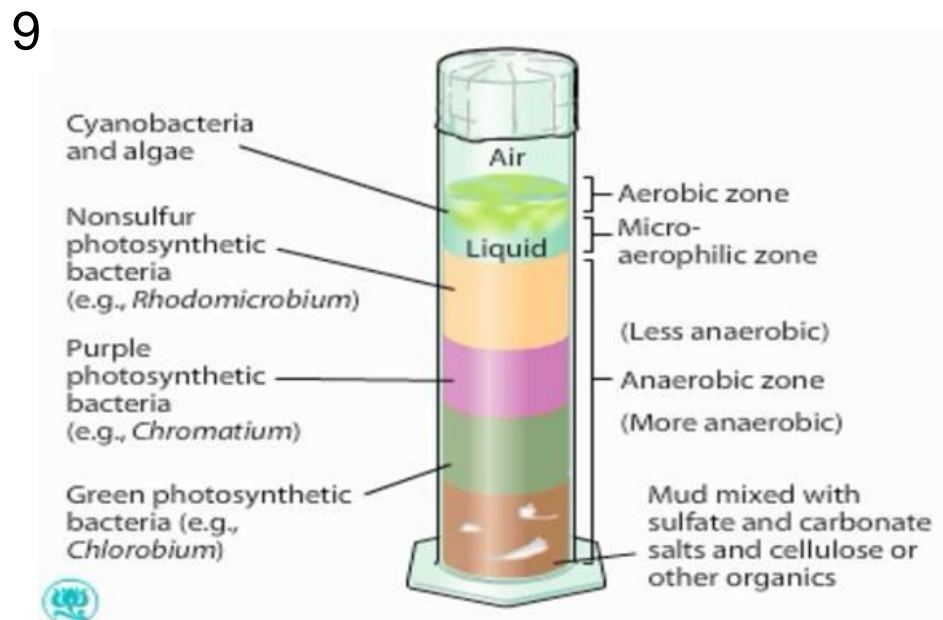
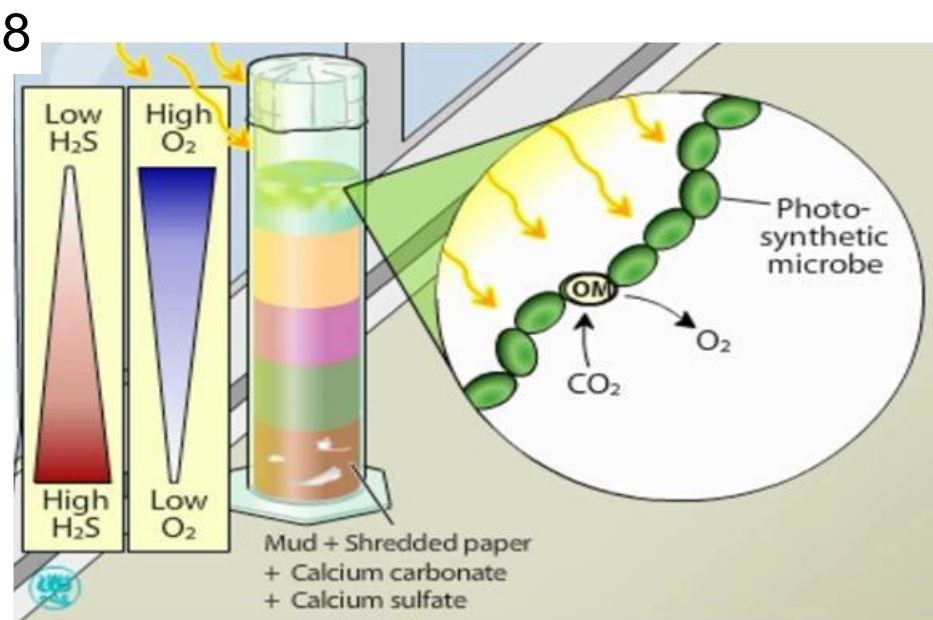
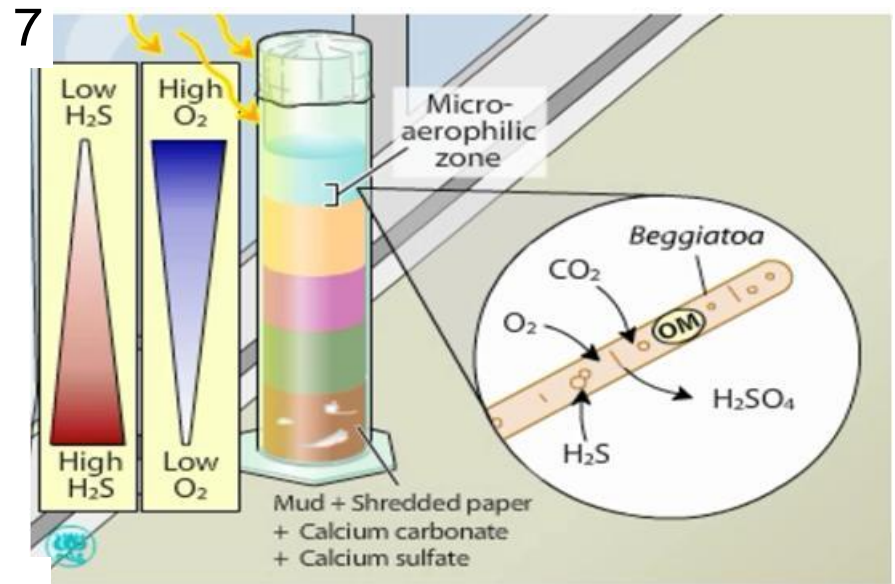
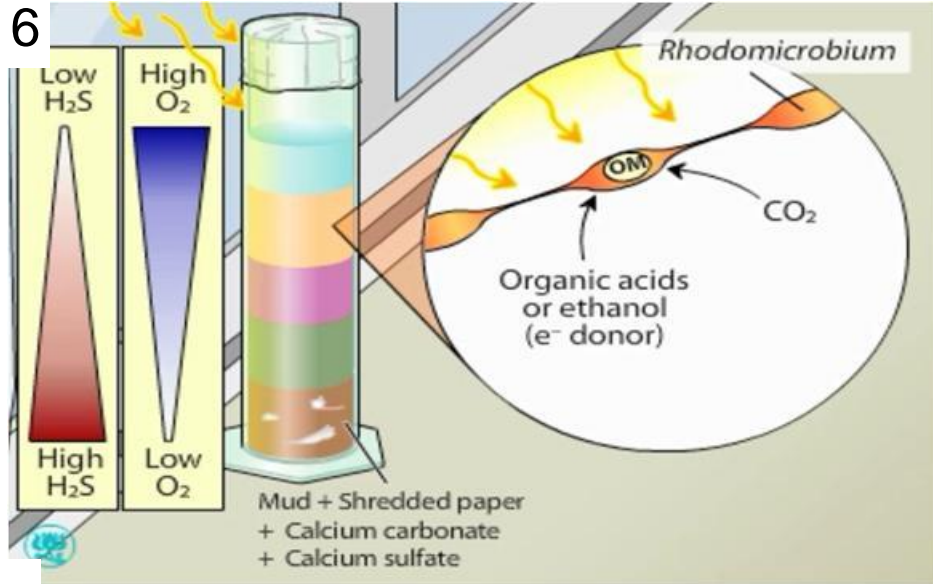
© 2002 Sinauer Associates, Inc.

Not for distribution

Columna de Winogradsky



Columna de Winogradsky



Armado de la Columna de Winogradsky (realizado en el TP1)

Objetivos del trabajo:

Los alumnos deberán:

- ***Armar una columna de Winogradsky .***
- ***Observar y describir la sucesión temporal de microorganismos en la columna***
- ***Tomar muestras a distintos niveles de la columna para identificar la composición microbiana (grupos de microorganismos).***
- ***Interpretar desde un punto de vista ecológico las interacciones existentes en el nicho que es objeto del estudio.***

A) Materiales:

2 Botellas plásticas transparentes sin color, de capacidad 1,5-2 litros.

Fuente de luz incandescente (60W).

Drogas: Ca_2SO_4 , Ca_2CO_3 , K_2HPO_4 (Se puede utilizar cáscara de huevo y tiza).

Papel de filtro o residuos vegetales.

Fango proveniente de pantano, zanja o río como fuente de inóculo. (Se aconseja una zona del río con aguas estancadas)

Seguimiento de la Columna de Winogradsky

- 1- Seguimiento de las columnas. Observar y discutir los cambios macroscópicos que fueron observando en la columna a lo largo de las semanas.
- 2- Registrar las observaciones.

Semana	Cambios macroscópicos observados	Ubicación en la columna	Proceso metabólico y/o químico	Fotografía
0				
1				
2				
3				
4				

Columna de Winogradsky

Recién armada, antes de cubrirla de la luz.



Columnas de Winogradsky

Luego de 2 semanas al abrigo de la luz.



Diferentes inóculos resultan en diferentes evoluciones



Evolución de las Columnas de Winogradsky en el tiempo

2 meses de evolución



Luz

3 meses de evolución



Luz

Columnas de Winogradsky al final del recorrido (~3 meses)

Oscuridad permanente



Iluminación permanente



TP4 - DÍA 1 y 2

Final del recorrido: análisis de la Columna de Winogradsky

Ejercicio: Examinación macro y microscópica de las columnas de Winogradsky (todos los grupos)

Día 1

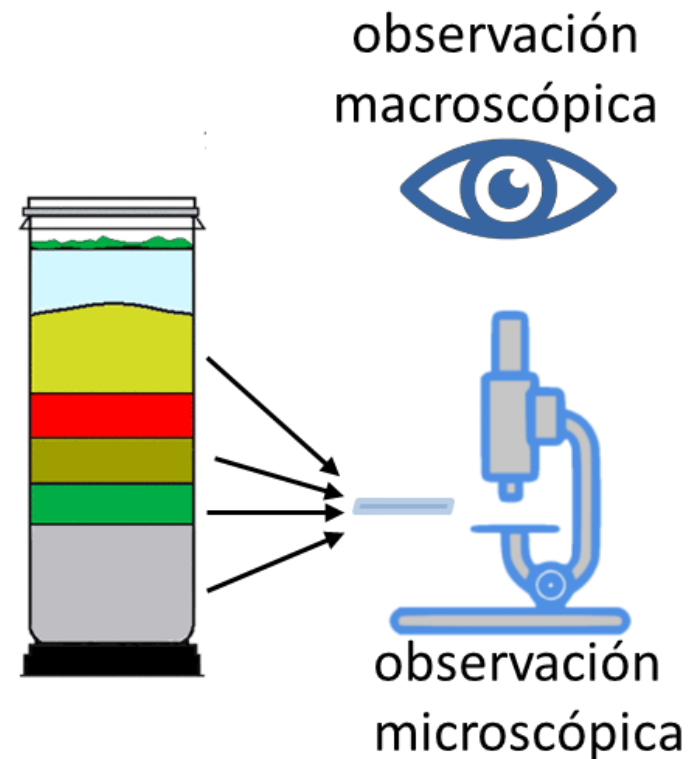
- Observar y discutir los cambios macroscópicos que fueron observando en la columna a lo largo de los trabajos prácticos.

Día 2

- Tomar muestras de diferentes zonas de interés de la columna utilizando pipetas Pasteur y/o espátulas. Como alternativa, extraer muestras perforando las columnas con jeringas o bisturí.

- Preparar el material extraído para observaciones microscópicas en fresco y/o con tinciones.

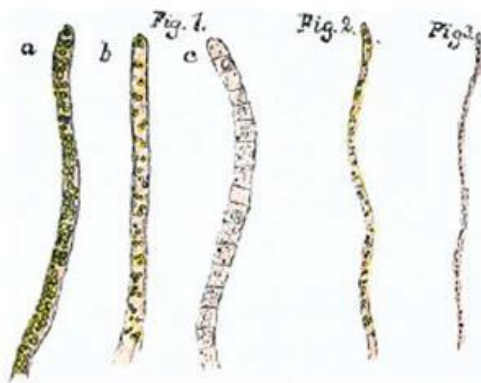
- Examinar las preparaciones al microscopio óptico, registrar imágenes con celulares y anotar las observaciones.



Grupos bacterianos del azufre



(a)

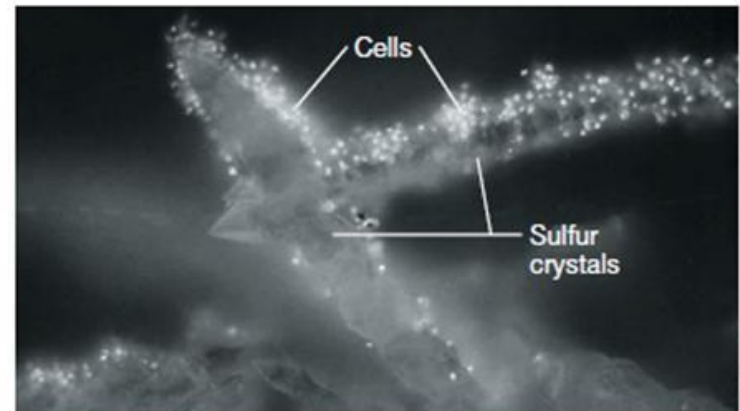


From Winogradsky, S. 1949.
Microbiologie du Sol.
Masson, Paris.

Figure 1.22 Sulfur bacteria. The original drawings were made by Sergei Winogradsky in the late 1880s and then copied and hand-colored by his wife H el ene. (a) Purple sulfur phototrophic bacteria. Figures 3 and 4 show cells of *Chromatium okenii* (compare with photomicrographs of *C. okenii* in Figures 1.5a and 1.7a). (b) *Beggiatoa*, a sulfur chemolithotroph (compare with Figure 1.14).



(a)



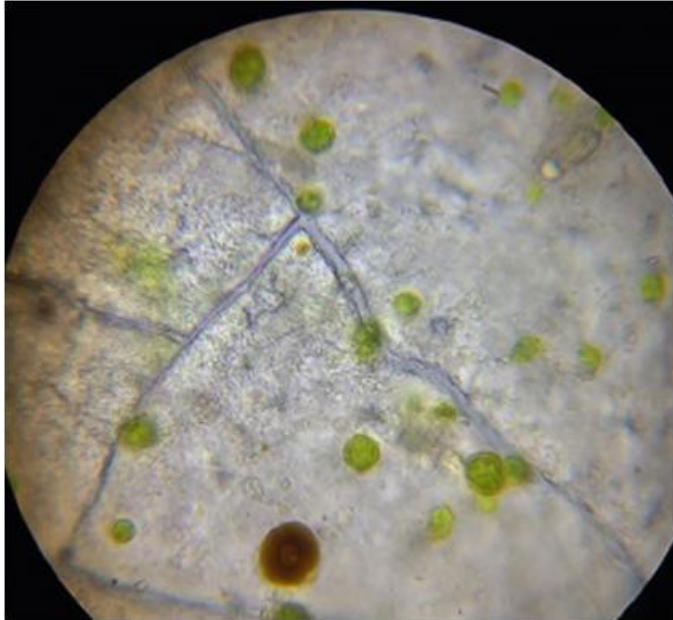
(b)

T.D. Brock

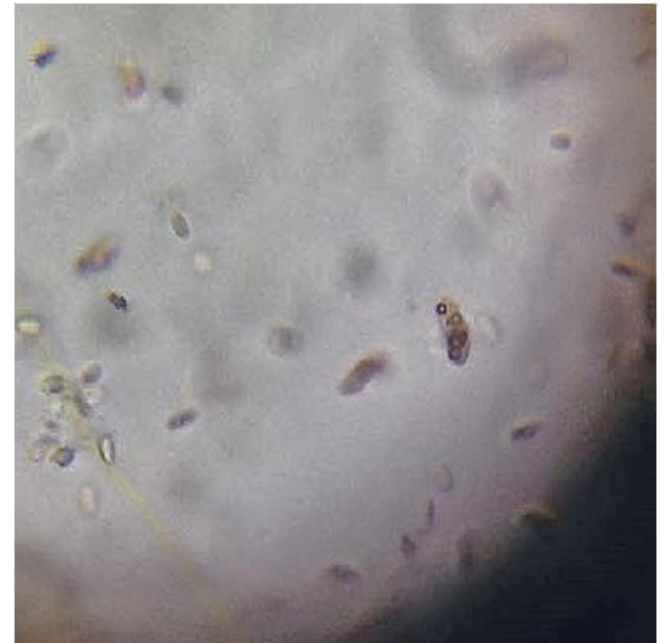
Figure 13.21 Sulfur bacteria. (a) Internal sulfur granules in *Beggiatoa* (arrows). (b) Attachment of cells of the sulfur-oxidizing archaeon *Sulfolobus acidocaldarius* to a crystal of elemental sulfur. Cells are visualized by fluorescence microscopy after being stained with the dye acridine orange. The sulfur crystal does not fluoresce.

Algunas observaciones microscópicas

Región superior



Región inferior

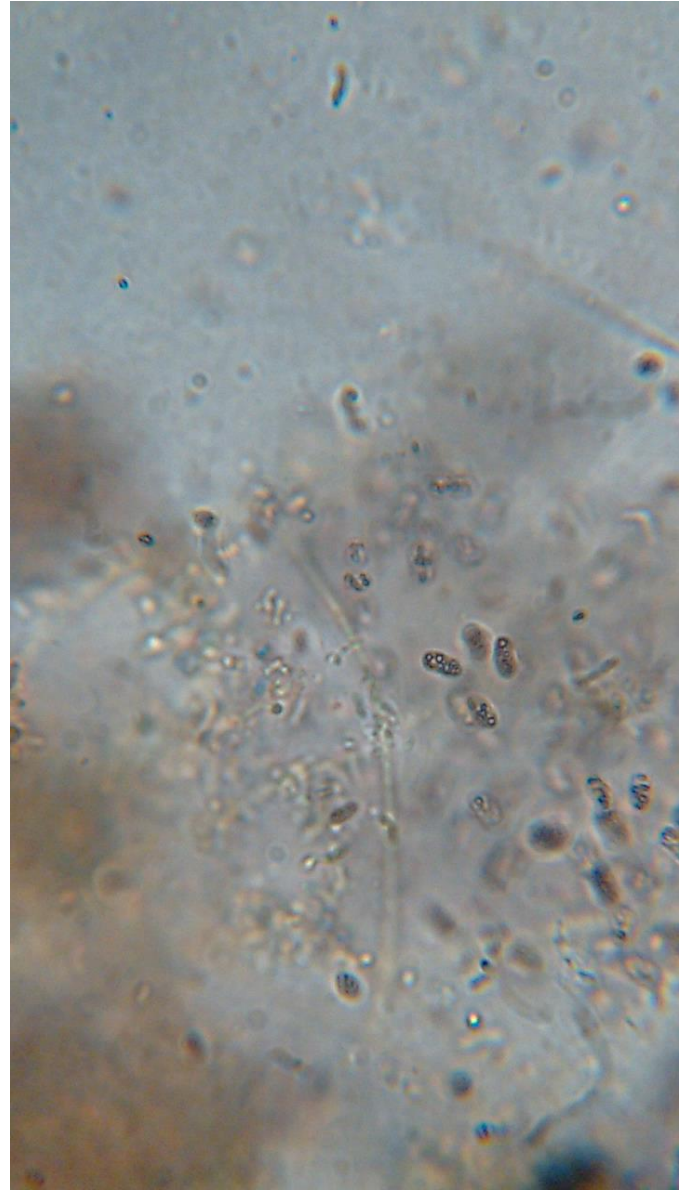
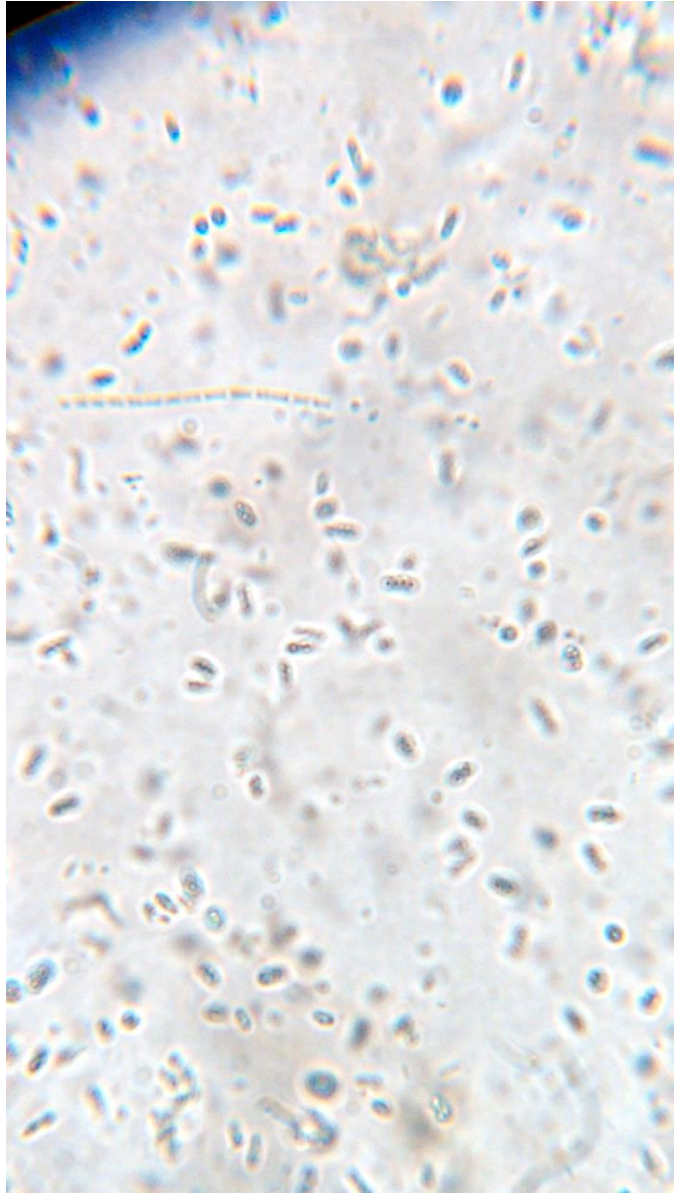


Algunas observaciones microscópicas

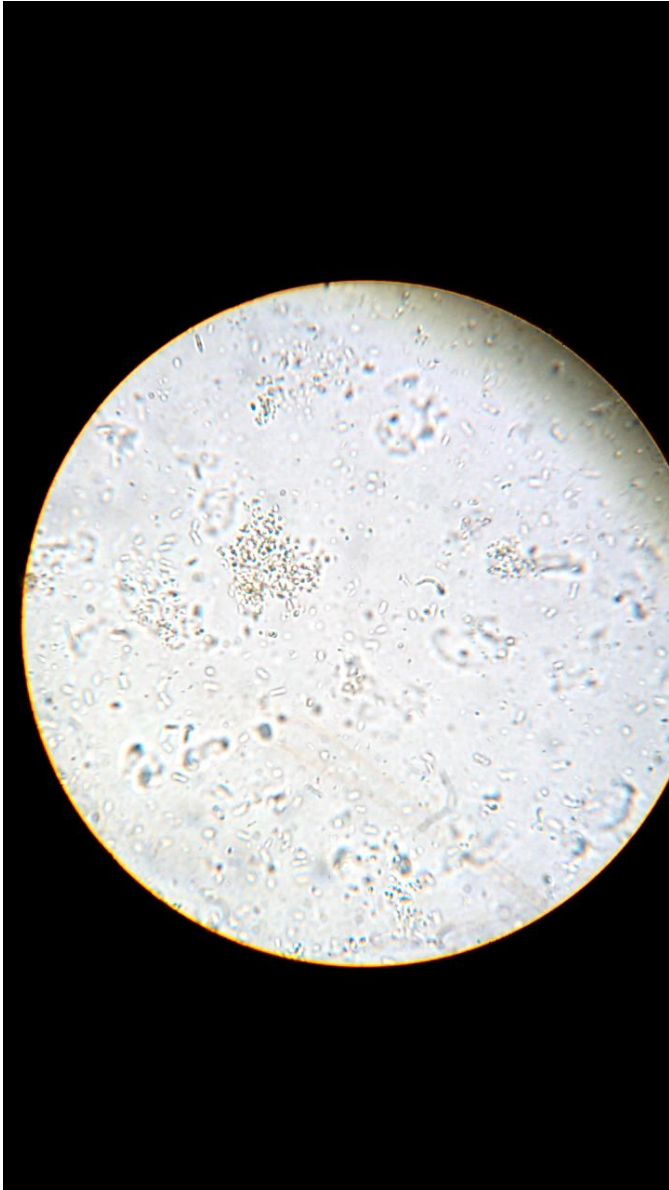
Región superior



Algunas observaciones microscópicas



Algunas observaciones microscópicas



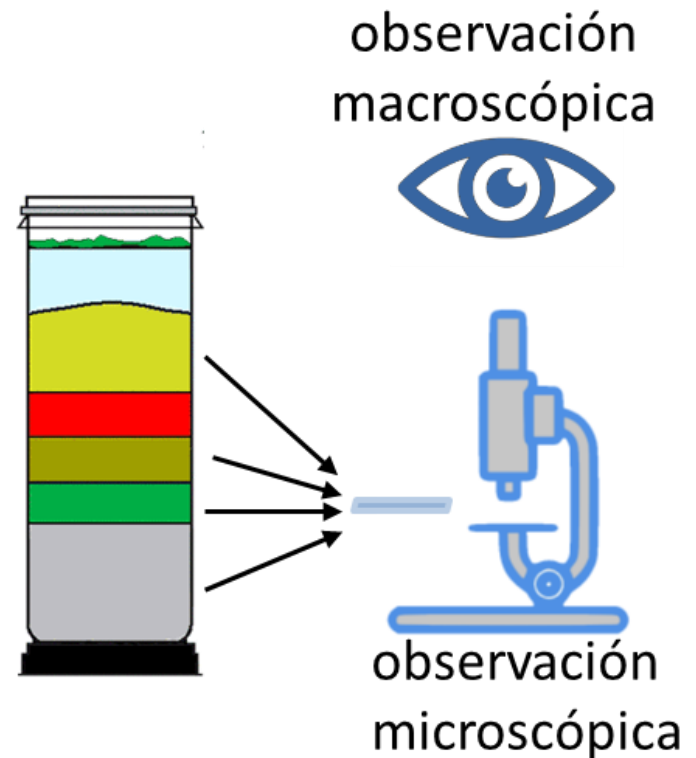
Actividades para TP4
Análisis de la columna de Winogradsky

DÍA 1: Examinación macro y microscópica de las columnas de Winogradsky.

1) Observar y discutir los cambios macroscópicos que fueron observando en la columna a lo largo de los trabajos prácticos.

2) Tomar muestras de distintas regiones interesantes de la columna utilizando pipetas Pasteur y espátulas. Realizar observaciones al microscopio óptico.

3) Colocar las columnas adentro de palanganas y extraer muestras perforando las columnas con la ayuda de jeringas y agujas. Realizar observaciones al microscopio óptico.



CUESTIONARIO GUIA

- 1) ¿Cuál es la importancia de la selección de una fuente de luz incandescente? ¿Puede ser sustituida por otra fuente lumínica?
- 2) ¿Cuál es el rol que cumple cada droga (incluido el papel de filtro) incorporado por usted en el desarrollo del ecosistema? ¿Es posible prescindir de alguna de ellas? Justifique.
- 3) ¿Qué conveniencia le asigna usted al origen del inóculo utilizado? Explique probables consecuencias del uso de muestras provenientes de aguas de libre curso.
- 4) ¿Qué resultado hubiese tenido si ilumina las columnas desde el principio, contrariamente a lo que indica la guía?
- 5) Defina medio de enriquecimiento. Discutir columna de Winogradsky en este contexto.
- 6) ¿Qué son los biofilms? ¿Qué beneficios le otorgan a las bacterias?
- 7) ¿Cuál es la diferencia entre el swarming y el nado bacteriano?
- 8) ¿Mediante qué proceso conoce por el cual es regulado el comportamiento social bacteriano?
- 9) Defina cuerpos fructíferos ¿Qué ventajas otorga a las bacterias este modo de especialización?
- 10) ¿Qué rol desempeña la matriz extracelular en la formación y el mantenimiento de los biofilms?