

MICROORGANISMOS

COMO MONTAR UMA COLUNA DE WINOGRADSKY

Os trabalhos de Louis Pasteur e Robert Koch na segunda metade do século XIX basearam-se tecnicamente na obtenção de cultivos bacterianos puros. Além de fundamentais do ponto de vista conceitual, esses trabalhos possibilitaram grande avanços nas áreas da medicina e da indústria. Em outra linha de pesquisa, Martinus Willen Beijerinck e Sergei Winogradsky estudaram as comunidades microbianas em seus ambientes naturais. Os estudos ecológicos permitiram compreender as características metabólicas dessas comunidades e esclarecer as etapas do ciclo de alguns elementos (carbono, nitrogênio, enxofre).

A construção de uma coluna de Winogradsky é um método simples de estudo da diversidade microbiana mediante a seleção de microrganismos com determinadas características metabólicas. Trata-se de enriquecer uma amostra de solo com nutrientes, de modo a favorecer o crescimento de algumas comunidades.

Existem numerosas variações e combinações possíveis na escolha das fontes de enriquecimento:

1. Fontes de carbono:
 - Materiais que liberam carbono rapidamente tais como carbonato de sódio, bicarbonato de sódio ou carbonato de cálcio (giz moído).
 - Materiais de origem vegetal que liberam carbono mais lentamente, tais como grama, feno, agulhas de pinho, papel jornal, papel higiênico, amido de milho, aveia, serragem etc.
2. Fontes de enxofre: Enxofre, sulfato de cálcio, sulfato de magnésio, ovos cozidos, queijo etc.
3. Fontes de ferro: Limalha de ferro, qualquer comprimido contendo ferro.
4. Fontes de fósforo e potássio: Ouro verde ou qualquer outro fertilizante para plantas com K_2HPO_4 Proporção: meia colher de chá/l.
5. Fontes de vitaminas: qualquer produto multivitamínico.

Uma modificação parcial ou total do modo de enriquecimento ou do tratamento permite selecionar microrganismos com características específicas: bactérias de ferro (ferro), bactérias do ciclo do nitrogênio (fertilizante em excesso), bactérias termófilas (incubação a temperatura elevada), bactérias halófilas (sal), bactérias acidófilas (vinagre), bactérias basófilas (fermento químico) etc. As variações parecem ser infinitas. Há quem coloque coca-cola no meio e quem acrescente um pedaço de casca de fruta para identificar os microrganismos capazes de colonizá-las.

Onde está a dimensão tecnológica? O método se aplica na prospecção de bactérias capazes de degradar algum contaminante. Em amostras de solo enriquecidas com essa substância, só crescerão aquelas que são capazes de metabolizá-la. Contextualizando biotecnologicamente o método, estaremos no caminho da biorremediação.

BIBLIOGRAFIA

MADIGAN, M.T. et al. *Microbiologia de Brock*. São Paulo, Pearson Education do Brasil, 2004.

Existem inúmeros e bons protocolos na Internet, sendo os meus preferidos:

Building a Winogradsky Column. An Educator Guide with Activities in Astrobiology.
http://quest.nasa.gov/projects/astrobiology/fieldwork/lessons/Winogradsky_5_8.pdf

Deacon, J. *The Microbial World*: Winogradsky column: perpetual life in a tube.
<http://www.biology.ed.ac.uk/research/groups/jdeacon/microbes/winograd.htm>

La colonne de Winogradsky. Illustration de la photosynthèse microbienne et du cycle du soufre.
<http://www2.ac-lyon.fr/enseigne/biotech/Winogradsky.html>

MICROORGANISMOS / COMO MONTAR UMA COLUNA DE WINOGRADSKY

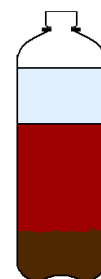
ATIVIDADE PRÁTICA

A coluna de Winogradsky é uma forma simples de selecionar e estudar os microrganismos existentes em qualquer ambiente. A coluna pode ser construída a partir de lodo ou solo de qualquer origem, com água proveniente da mesma fonte ou de uma fonte diferente.

A seleção de diferentes tipos de microrganismos se consegue mediante o acréscimo de alguns componentes (orgânicos e inorgânicos) e o ajuste do pH. A iluminação estimula o crescimento de fotótrofos (aeróbios e anaeróbios), que se desenvolvem formando um biofilme entre a parede da garrafa e o meio. Perto do topo da coluna crescerão os organismos aeróbios e microaerófilos, no fundo se multiplicarão os anaeróbios (*Clostridium*, bactérias metanogênicas).

OBJETIVO

Construir uma coluna de Winogradsky para observar os microrganismos do ambiente.



MATERIAIS BÁSICOS

1 bacia, garrafas plásticas transparentes de 2 l, 1 funil, 1 copo plástico, lodo ou amostra de terra do local analisado, água do mesmo local, uma fonte de celulose (10 g de papel higiênico), uma fonte de fósforo e potássio (1 colher de chá de fertilizante para plantas por litro), uma fonte de CO₂ (5 g de giz moído), uma fonte de enxofre (5 g de gema de ovo cozido) e, eventualmente, uma fonte de ferro, pedaços de pano para cobrir as garrafas, elásticos.

PROCEDIMENTO GERAL

1. Colocar em um recipiente cinco copos de lama, areia ou terra; retirar todas as pedras, ramos ou folhas.
2. Diluir uma colher das de chá de fertilizante em um volume equivalente de água do mesmo local.
3. Preparar com ambas partes uma mistura de consistência cremosa, suficientemente fluida para passar pelo funil.
4. Colocar no fundo da garrafa 10 g da fonte de celulose, 5 g da fonte de CO₂, 5 g da fonte de enxofre e, eventualmente, a fonte de ferro.
5. Acrescentar um pouco da mistura. Eliminar o ar, batendo com firmeza para assentar a mistura.
6. Colocar outras camadas de lodo, assentando-as como anteriormente, até que a garrafa esteja 90% cheia. Se for necessário, eliminar as bolhas existentes mexendo com uma vareta.
7. Aguardar 30 minutos. A camada de água na parte superior deverá medir pelo menos dois cm de altura. Acrescentar água, se for o caso. Observe-se que a proporção das camadas inferior de lodo e da camada superior de água pode variar.
8. Cobrir a garrafa com um pano e fechar com um elástico.
9. Incubar em um lugar onde receba suficiente luz, mas não sol direto.
10. Acompanhar semanalmente as variações, e acrescentar água quando necessário para não deixar secar a coluna.

MICROORGANISMOS / COMO MONTAR UMA COLUNA DE WINOGRADSKY

COMENTÁRIO

Os materiais e o procedimento descritos no protocolo permitem estudar os organismos envolvidos no ciclo do enxofre (meio enriquecido com celulose, enxofre e cálcio), como observado na figura abaixo.

Figura: Colunas de Winogradsky montadas com solo rico em ferro do NEDEA-ORT (Petrópolis) e com areia das praias da Urca (Rio de Janeiro) e de Angra dos Reis (RJ).



Colunas de Winogradsky



Duas amostras do NEDEA/ORT (Petrópolis)

Duas amostras de praias (RJ)

COMO MONTAR UM PROJETO

Comparar o desenvolvimento das comunidades bacterianas de uma amostra em colunas enriquecidas com diferentes quantidades de sulfato de cálcio.

Comparar o desenvolvimento das comunidades bacterianas de várias amostras em colunas enriquecidas do mesmo modo.

Comparar o desenvolvimento das comunidades bacterianas de uma amostra em colunas enriquecidas do mesmo modo, incubadas em diferentes condições de iluminação (ou de temperatura).