

WINOGRADSKY-OSZLOP KÉSZÍTÉSE

Szedlacsek Zsolt és Végh Bence



Temesvári Pelbárt Ferences Gimnázium és Kollégium
2015

Bevezetés

Projekt munkánk témájául a mikrobák anyagcseréjének változatos módjait bemutató Winogradsky-oszlop elkészítését tűztük ki célul. A mikroorganizmusok alkalmazkodásáról az oszlopban kialakuló különböző ökológiai környezethez (niche), tanárnőtől hallottunk először, amikor azon ötleteltünk, mi is legyen a közös - biológiát és kémiát is érintő - projektünk.

A mikrobák anyagcseréjének és a fizikai paramétereknek (úgy mint fény és oxigén mennyiség) a kombinációja különböző ökoszisztémák rétegződéséhez vezet. Az organizmusok egyik csoportjának anyagcsere terméke feltétele egy másik csoport anyagcseréjének, így 6-8 hét alatt láthatóvá válnak a baktérium rétegek, bár ennél hosszabb is lehet kísérletünk.

Szergej Nyikolajevics Vinogradszkij

A Winogradsky oszlop nevét egy orosz származású biológusról kapta, aki a mikrobák világának kutatására szentelte életét és erre egy különleges oszlopos kísérletet alkotott meg, amit ma Winogradsky oszlopnak hívunk. 1856. szeptember 1.-én született Kijevben, gazdag család gyermekeként. Görög és latin nyelvet tanult és a kijevi Egyetemen jogi tanulmányokat folytatott. Nem sokára a Szentpétervári egyetemre került, majd Zürichbe ment, ahol a Beggiatoa nevű baktérium kutatásával foglalkozott. Az Institute of Experimental Medicine igazgatója lett. Pár évvel az első világháború után hunyt el.

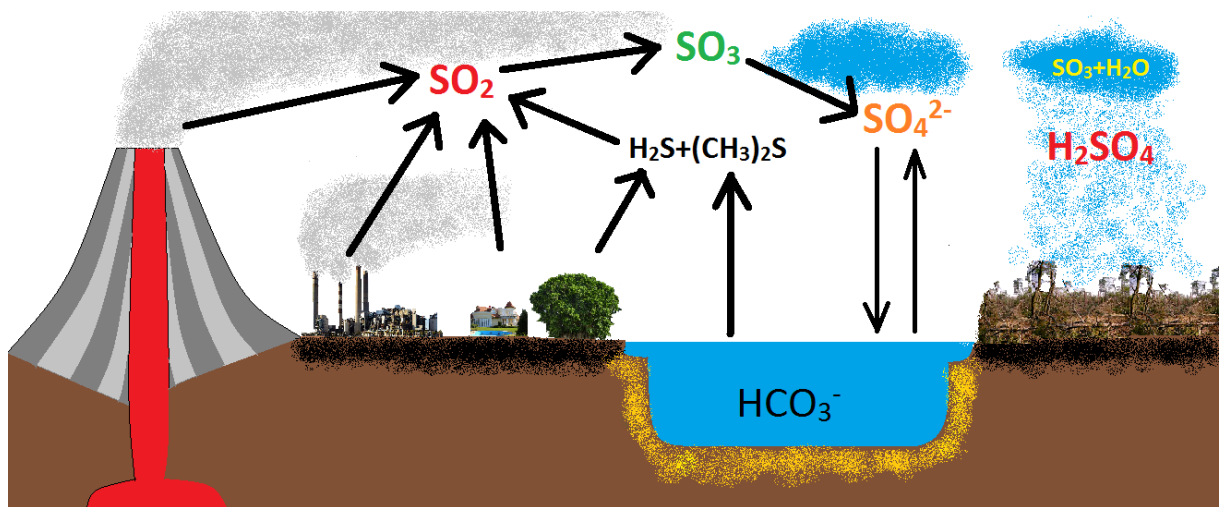
Kén körforgás

A Winogradsky oszlopban élő baktériumok a kén oxidációjával illetve redukációjával nyerik az életük fenntartásához szükséges energiát. A kénvegyületeknek nagy jelentősége van az élővilágban: megtalálhatók a fehérjékben, melyek az élőlények fontos építő elemei.

A kén körforgása a Földön állandó és folyamatos. Az egyensúlyát azonban gyakran megbontják a mesterségesen a környezetbe juttatott kén vegyületek (SO₂). Ezt a szennyezést a nagy kén mennyiséget felhasználó gyárak (gumi ipar), illetve bizonyos szerves anyagok égetésével foglalkozó létesítmények okozzák. A természetben előforduló kén vegyületek nagy része vulkáni tevékenységből származik. A vulkán kitörése során a légkörbe kerülő kénes gázok egy része azonnal kiválik kéntelepeket létrehozva a vulkánok környékén.

A kén körforgása a Földön állandó és folyamatos. Az egyensúlyát azonban gyakran megbontják a mesterségesen a környezetbe juttatott kén vegyületek (SO₂). Ezt a szennyezést a nagy kén mennyiséget felhasználó gyárak (gumi ipar), illetve bizonyos szerves anyagok égetésével

foglalkozó létesítmények okozzák. A természetben előforduló kén vegyületek nagy része vulkáni tevékenységből származik. A vulkán kitörése során a légkörbe kerülő kénes gázok egy része azonnal kiválik kéntelepeket létrehozva a vulkánok környékén. hatású sav nagy károkat okoz a növényzetben, a talajtakaróban, a vizek biokultúrájában és az épületekben. Kén-dihidrogént juttatnak a levegőbe a növények és a vizekben élő egyes élőlények, valamint az elpusztult élőlények fehérjéinek bomlása, amely a légkörben kén-dioxiddá alakul és bekerül a körforgásba. Kísérletünk a talajba kerülő kén vegyületeit felhasználó baktériumok anyagcsere folyamatait szemlélteti és e baktériumok szimbiózisát mutatja be.



Winogradsky-oszlop elkészítése

A kísérlet a prokarióták anaerob anyagkörforgalmi rendszerét modellezi. Az oszlop elkészítésének alapfeltétele, hogy kedvező életkörülményeket teremtsünk a mikroorganizmusoknak.

Meghatározott mennyiségű finom szemcsés iszaphoz kalcium-szulfátot, kalcium-karbonátot és cellulózt kell adni. A kalcium-szulfát tápanyagul szolgál az üveghenger alján élő szulfátredukáló mikroorganizmusoknak.

A kalcium-karbonát pufferoló anyagként, a cellulóz a fermentatív szervezetek energia forrásaként funkcionál a kísérletben. A krémszerű állag eléréséig óvatosan hígítjuk vízzel, majd a hengerek aljába töltjük, úgyhogy a kialakuló rétegben minél kevesebb levegő maradjon. Aztán minimum 15 cm magasan feltöltjük lehetőleg szulfidban gazdag iszappal az üveghengereket. A kiszáradás megakadályozása érdekében kevés vizet töltünk a hengerekbe rakott iszapra és frissen tartó fóliával fedjük le az oszlopok tetejét. Ezt követően nem túl napos, de világos közepesen meleg helyre helyezzük. A Winogradsky-oszlop készítésének eltervezett időpontja

2014 novemberének eleje volt, amely folyamatról részletes munkatervet készítettünk. (melléklet: munkaterv)

A kén ciklus mikrobák által kivitelezett fontosabb folyamatai

A kén különböző oxidációs állapotban fordul elő a vegyületekben. A természetben előforduló kén vegyületek közül legjelentősebbek a következők: szulfhidril csoport (R-SH), az elemi kén, és a szulfát-ion.

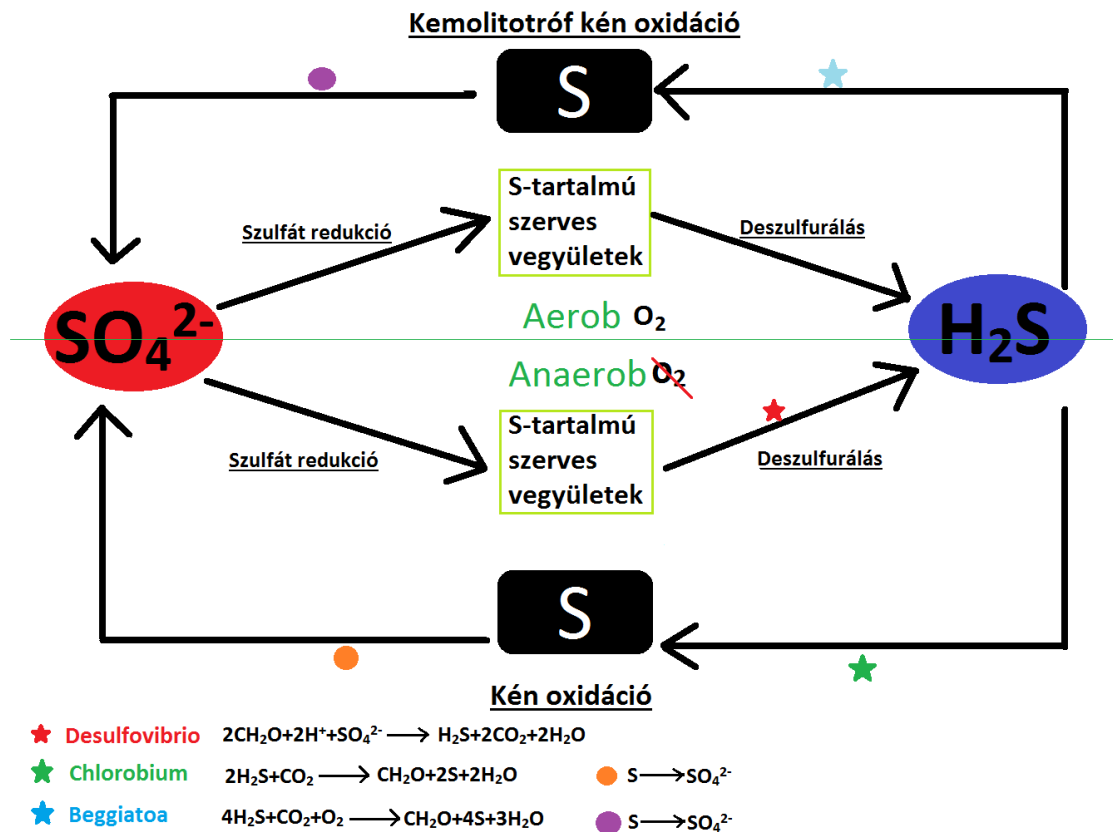
A baktériumok bizonyos csoportja oxigénmentes környezetben a szulfátot és más oxidált kénvegyületeket elektronakceptorként hasznosítja, miközben egyszerű szerves anyagokat (pl. tejsav, acetát stb.), vagy H_2 -t oxidál.

A felszabaduló hidrogén-szulfid toxikus lehet az élőlényekre, mert könnyen reagál a ferro-ionokkal, így gátolja a légzést a citokróm ferro-ionjához kötődve.

Anaerob környezetben, ahol fény és szulfid is van, elszaporodnak a zöld és bíbor kénbaktériumok, melyek szulfidoxidációval elemi ként termelnek.

Az aerob kénoxidálók pl. a *Beggiatoa*, változatos elektrontranszport rendszere révén könnyen alkalmazkodik a változó életkörülményekhez.

Az ábra az egyes baktérium törzsek életéről és az általuk végzett oxidációs és redukciós folyamatokról ad információt.



A Winogradsky-oszlop rétegei

A források alapján következtetni lehetett a baktériumok megjelenési sorrendjére, mert tudtuk, hogy az egyes baktériumok oxidálni vagy redukálni tudják a ként és a vegyületeit.

Az irodalmat tanulmányozva számos érdekes dolog derült ki a kísérletben megjelent baktériumok szimbiózisáról.

Az oszlopok legalsó anaerob környezetben fekete foltok formájában jelenik meg a Desulfovibrio baktérium a Clostridium nevű baktérium mellett.

A teljes körfolyamat a Clostridium életműködésével indul, amely folyamatban a cellulóz (a hozzáadott apró szeletekre szabdaltszűrőpapír) bontása közben etanol és szerves savak keletkeznek. Ezeknek a termékeknek a segítségével fog megtörténni a szintén hozzáadott CaSO₄ anionjának a Desulfovibrio baktérium által való hidrogén-szulfáttá való redukálása.

A teljes körfolyamat a Clostridium életműködésével indul, amely folyamatban a cellulóz (a hozzáadott apró szeletekre szabdaltszűrőpapír) bontása közben etanol és szerves savak keletkeznek. Ezeknek a termékeknek a segítségével fog megtörténni a szintén hozzáadott CaSO₄ anionjának a Desulfovibrio baktérium által való hidrogén-szulfáttá való redukálása. 2S moláris

tömege nagyobb, mint a környező levegőé, ezért a gáz az oszlop alsóbb részeiben fog felgyülemelni, és fokozatosan fogyó mennyiséget fog mutatni felfelé haladva.

A Winogradsky oszlop következő elkülönülő szeletétől kezdve fotoszintetizáló baktériumokkal találkozunk. Az első ilyen élőlény, ami a fény energiáját is felhasználja kémiai folyamatainak lebonyolításához, az a zöldes színezetű Chlorobium (zöld kénbaktérium). Tovább haladva újabb szelettel találkozunk, amelyet a Chromatium (bíbor kén baktérium) alkot nagy százalékban.

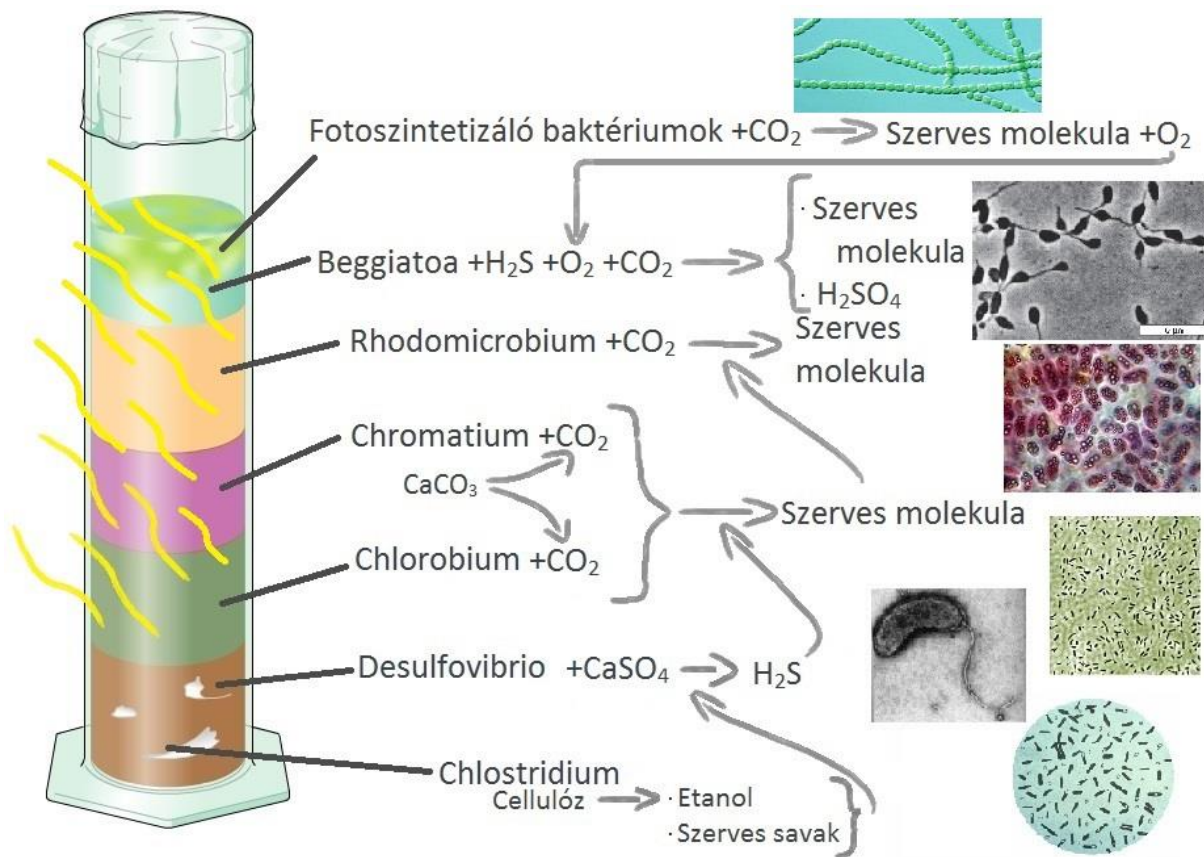
Az előbb említett két prokarióta (a zöld és a bíbor kén baktérium) az oszlophoz hozzáadott CaSO_4 -ot használja fel CO_2 mellett, és így szerves molekulákat képez, az itt jelenlévő hidrogén-szulfid gázból (elegendő H_2S jelenlétében) elemei kén (S) keletkezik.

Tovább haladva a kissé sárgás színű Rhodospirillum rubrumot (bíbor nem-kén baktérium) tudjuk azonosítani. Ez az előző két szelet által megtermelt szerves molekulákat és a CO_2 -t használja fel újabb szerves molekulák kialakítására.

A legfelső rétegben - ahol már az oszlop tetején lévő vízben található a baktériumok - élnek fotoszintetizálók, melyek szintén CO_2 felhasználásával állítanak elő szerves molekulákat, és hozzá oxigén molekulát.

Ezt az O_2 -t fogja a Beggiatoa (kén oxidáló baktérium) az itt már csekély mennyiségben jelen lévő H_2S -al, és CO_2 -al együtt további szerves vegyületekké, és kénsavvá alakítani.

Ez a folyamatot az alábbi ábra szemlélteti vázlatosan.



A Winogradsky-oszlop kísérlet eredménye, értékelése

A kísérletünket sikeresnek tekintjük, hiszen az oszlopokat tanulmányozva szemmel láthatóak a várt baktériumcsoportok.

Tekintve, hogy három oszlopot is készítettünk - 3 különböző mennyiségben adva hozzá a folyamatok beindításához szükséges anyagokat - az előzetes elvárásokkal egyezően az oszlopokon más és más mennyiségű és fajtájú baktériumok jelentek meg nagyobb számban. Az első oszlophoz adtuk hozzá a legtöbb CaSO₄-ot, CaCO₃-ot, és cellulózt (ezekkel az anyagokkal kevert iszap körülbelül az oszlop feléig ért), a másodikhoz ennél kevesebbet (körülbelül az oszlop harmadáig), a harmadikhoz a legkevesebbet (körülbelül az oszlop negyedéig).

Az első oszlopon gyakorlatilag nem jelent meg (illetve nagyon elenyésző mennyiségben) sem a Chlorobium, sem a Chromatium, sem a Rhodospirillum, és a Beggiatoa réteg sem ismerhető fel. Viszont jelentős mennyiségben szaporodott el a vasoxidáló baktériumok csoportja. Ezt az eredményt annak tudhatjuk be, hogy túl sok tápanyaggal indítottuk ezt az oszlopot (sok vas a földben, a tó másik feléből vettük a mintát).

A második oszlopon már gazdagabb kínálatot láthatunk. Elmondhatjuk, hogy majdnem az összes várt csoport megjelent, bár egyesek csak - a többihez képest - kisebb mennyiségben. A harmadikon is színesebb összképet láthatunk az elsónél, bár nem annyira, mint a másodiknál.

Mindhármat egyszerre tekintve közös jellemzőket vehetünk észre. Kísérletünkben a rétegek nem hagyományos értelemben vett "rétegekre" hasonlítanak, hanem inkább foltokra. Ez valószínűleg a vázánk felületének illetve fénytörésének tökéletlenségének a következménye. A továbbiakban észre vehetjük, hogy egyik oszlopunknál sem jelent meg kellő mennyiségben Chromatium, és Rhodomicrobium. Mivel ezek intenzívebb fotoszintézist folytatnak, valószínűsíthető, hogy nem megfelelő szögből, vagy nem elég mennyiségű fényt kaptak. Ez érthető is azáltal, hogy a kísérletet januárban állítottuk be.

Előre mutató

Tekintve, hogy a kísérlet alatt jegyzőkönyvet vezettünk, és betartottuk a haladási naplót, teljesen szakszerű kísérletet bonyolítottunk le sikeresen a Tanárnő segítségével. Beleláthattunk, és kipróbálhattuk, hogy milyen is egy alapos kísérlet megtervezése, levezénylése, és az eredményeinek kiértékelése. Elmondhatjuk, hogy mind ezek végrehajtásával értékes tapasztalatokat szereztünk, amelyek akár a későbbiekben kamatozhatnak is.

Irodalomjegyzék

http://www.mbio.ncsu.edu/MB452/Winogradsky_columns/wc.html

<http://www.sumanasinc.com/webcontent/animations/content/winogradsky.html>

<http://elte.prompt.hu/sites/default/files/tananyagok/prokariotak/ch09s03.html>