

COLUMNA DE WINOGRADSKY

**Espejo, Danna; Flórez, Sara; Gámez, Carolina; Londoño, Valentina; Molina, Salomé;
Sabas, Camila**

Ingeniería biotecnológica; Universidad EIA; Envigado

1. Introducción

La columna de Winogradsky 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 (López, 2008). Fue desarrollada inicialmente por el microbiólogo ucraniano Sergei Winogradsky (1856-1953), quien estudió la fisiología de las bacterias que llevan a cabo los procesos de nitrificación y fijación de nitrógeno en la biología del suelo (Fernández y Tamaro, 2019).

Se diferencian tres zonas características en base a su concentración relativa de oxígeno. La zona más cercana a la superficie, conocida como la zona aeróbica, dispone de una alta concentración de O_2 . Debajo de esta se localiza la zona de microaerófila, con una concentración parcial de O_2 . Por último, la zona anaeróbica o anóxica, constituye el lecho del lodo (Figura 1).

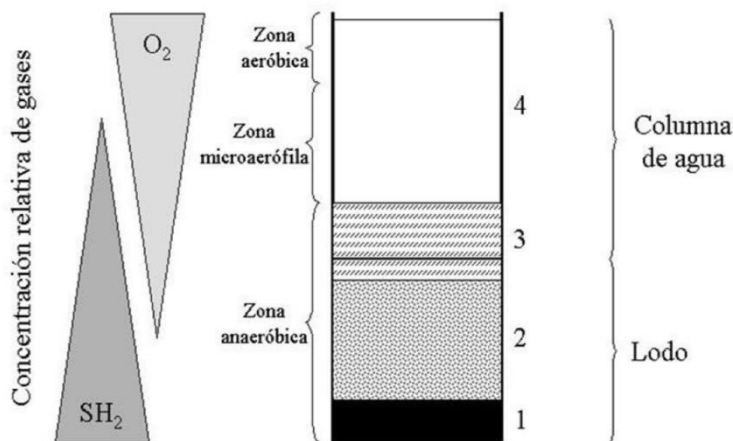


Figura 1. Zonas de una columna de Winogradsky.

Cuando la columna se expone a la luz solar, la abundancia de luz roja e infrarroja es absorbida por las clorofilas y bacterioclorofilas, desarrollándose las poblaciones de microorganismos fotosintéticos (López, 2008).

Su construcción es sencilla: en un cilindro de vidrio o plástico transparente se adiciona lodo, 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 (CaSO_4 , anhidrita o yeso) y un agente tamponador del pH (CaCO_3 , caliza), cubierto todo por arena de color claro y agua del charco donde se recogió el lodo.

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 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* (López, 2008). 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 interior. Se trata de algas y cianobacterias con las típicas coloraciones verdes propias de la clorofila (Figura 2.2).

Y al cabo de un tiempo, entre mes y medio a dos meses, se puede observar en la columna la incorporación de dióxido de carbono a compuestos orgánicos reducidos. Se pensaba que este era un hecho exclusivo de plantas superiores y algunas algas microscópicas. Pero el estudio de la columna de Winogradsky pone en evidencia 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 (López, 2008).

Hay que tener en cuenta que se requiere tapar la columna con el objetivo de evitar la evaporación del agua. Adicionalmente, si se parte de la base de la columna y se asciende, se podrá comprobar distintas coloraciones características de las diferentes zonas. En la Figura 2.1 se puede notar la diferencia poblacional en base a la variedad de colores que aparecen: (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, como los géneros *Desulfovibrio*, *Desulfotomaculum* o *Desulfomonas*. En esta zona inferior (de color negro intenso) la coloración se debe a la precipitación de sulfuro de metales pesados (hierro, manganeso).



Figura 2.1. Ejemplo de una columna de Winogradsky preparada en una botella de plástico transparente.

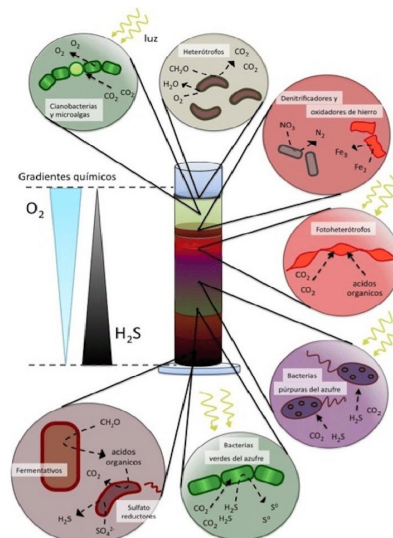


Figura 2.2. Microorganismos involucrados.

2. Desarrollo experimental

Materiales

- Botella alta y transparente
- Espátulas
- Tijeras o cuchillo
- Envoltura de plástico
- Banda elástica
- Beaker
- Cajas de Petri

Reactivos

- Hojas
- Avena
- Papel periódico
- Huevo crudo
- Peptona
- Levadura
- Leche en polvo descremada
- Agua destilada
- Almidón
- Avena

Muestras

- Tierra o lodo
- Agua de un arroyo, estanque, lago, charco de lluvia o agua de un río

2.2.1 Procedimiento columna Winogradsky

Con las muestras de lodo y tierra previamente recogidas, se mezclaron en un beaker junto con el papel de periódico y la yema de huevo (Figura 3.1), para proporcionar una fuente de celulosa y carbono. Una vez preparado el sedimento, se llenó la botella hasta un tercio de su capacidad. Luego, se agregó el agua estancada recogida hasta que la botella estuvo casi llena. Finalmente, se cubrió la botella con una envoltura de plástico y se aseguró con una banda elástica (Figura 3.2).

2.2.2 Preparación medios de cultivo

Para analizar la columna, se prepararon tres medios de cultivo para estudiar los organismos presentes. Para el agar de leche, se añadieron 2.5 gramos de peptona, 3 gramos de extracto de levadura y 1 gramo de leche en polvo descremada, disolviendo la mezcla en 250 ml de agua destilada. Para el agar de almidón, se incorporaron 1.5 gramos de extracto de levadura, 2.5 gramos de peptona, 1 gramo de almidón soluble y 7.5 gramos de agar-agar, también disueltos en 250 ml de agua destilada. Luego, la mezcla se llevó a ebullición y se

agitó durante 3 a 4 minutos hasta su completa disolución, para luego enfriarla y esterilizarla (Figura 3.3). Para el agar de avena, se hirvieron 30 gramos de avena en 200 ml de agua durante 20 minutos, se filtró la mezcla y se completó el volumen a 250 ml, añadiendo la cantidad de agar-agar especificada por el fabricante para este volumen, y finalmente se esterilizó (Jimenez Salazar, Parra Serna, & Buriticá Herrera, 2017).

Para analizar la columna, se prepararon tres medios de cultivo para estudiar los organismos presentes. Para el agar de leche, se añadieron 2.5 gramos de peptona, 3 gramos de extracto de levadura y 1 gramo de leche en polvo descremada, disolviendo la mezcla en 250 ml de agua destilada. Para el agar de almidón, se incorporaron 1.5 gramos de extracto de levadura, 2.5 gramos de peptona, 1 gramo de almidón soluble y 7.5 gramos de agar-agar, también disueltos en 250 ml de agua destilada. Luego, la mezcla se llevó a ebullición y se agitó durante 3 a 4 minutos hasta su completa disolución, para luego enfriarla y esterilizarla (Figura 3.3). Para el agar de avena, se hirvieron 30 gramos de avena en 200 ml de agua durante 20 minutos, se filtró la mezcla y se completó el volumen a 250 ml, añadiendo la cantidad de agar-agar especificada por el fabricante para este volumen, y finalmente se esterilizó (Jimenez Salazar, Parra Serna, & Buriticá Herrera, 2017).

2.2.3 Aislamiento de microorganismos

Para aislar los microorganismos de la columna de Winogradsky, se separaron tres muestras correspondientes a aerobios, microaerobios y anaerobios, siguiendo un procedimiento específico. Para la zona aerobia, se tomó 1 ml del agua de la parte superior de la columna y se realiza diluciones seriadas en cuatro tubos de ensayo, mezclado con agua destilada hasta alcanzar una dilución de 10^{-3} . Luego, se sembraron 0.1 ml de esta dilución en cajas de Petri con diferentes medios de cultivo: agar avena, agar almidón, agar leche (Figura 3.4).

Para la zona anaerobia facultativa, se tomó 1 ml de agua de la zona intermedia de la columna y se realizaron diluciones seriadas similares a las del paso anterior hasta alcanzar una dilución de 10^{-3} . Posteriormente, se sembraron masivamente 0.1 ml de esta dilución en cada uno de los medios de cultivo previamente preparados, siguiendo el mismo procedimiento de siembra masiva para los aerobios (Jimenez Salazar, Parra Serna, & Buriticá Herrera, 2017).



Figura 3.1 Preparación del sedimento



Figura 3.2 Columna de Winogradsky terminada

2.2.4 Microscopía

Para observar la diversidad de microorganismos en la columna, se tomaron muestras de agua de las cinco diferentes capas observadas. Estas muestras se fijaron y se les realizó una tinción de Gram (Figura 3.5). Luego, cada muestra se observó al microscopio utilizando los objetivos de 40x y 100x (Figura 3.6).



Figura 3.3 Preparación de medios de cultivos



Figura 3.4 Aislamiento de microorganismos



Figura 3.5 Tinción de Gram

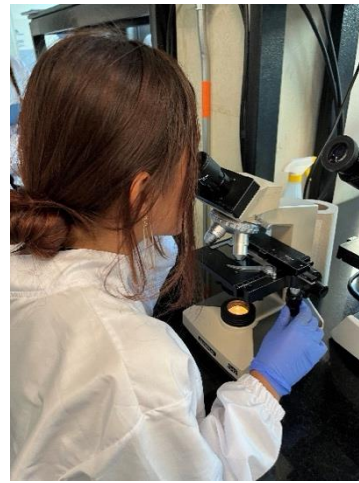


Figura 3.6 Observación de los microorganismos

3. Resultados

Al realizar este laboratorio se obtuvo como producto inicial la columna de Winogradsky, que se puede observar en la Figura 3.2. Este producto se dejó reposar durante algunas semanas, obteniendo los resultados mostrados en las Figuras 4.0-4.02



Figura 4.0. 1 semana



Figura 4.01. 2 semanas



Figura 4.02. 12 semanas

- **Resultados microscópicos:** En las Figuras 4.1-4.9 se observan los resultados microscópicos obtenidos.

Capa 1.

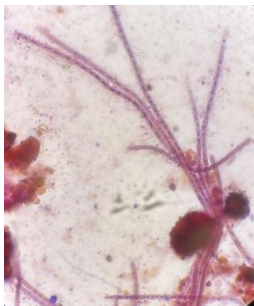


Figura 4.1. aumento 100x

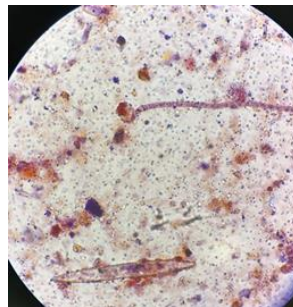


Figura 4.2. aumento 100x



Figura 4.3. aumento 100x

Capa 2.

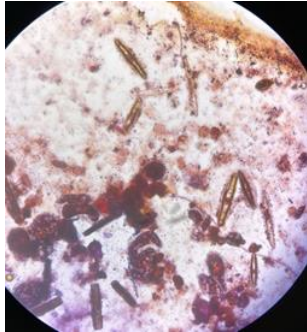


Figura 4.4. aumento 40x

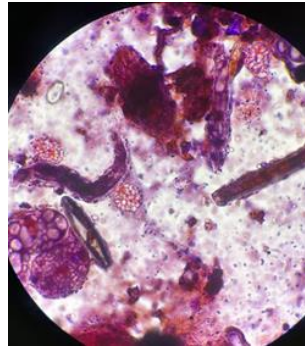


Figura 4.5. aumento 100x

Capa 3.

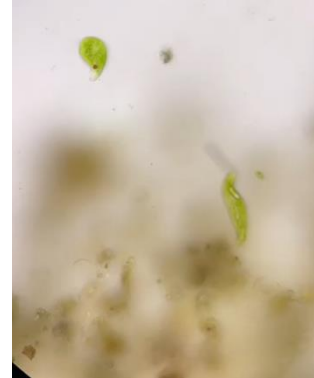


Figura 4.6. aumento 40x

Capa 3.



Figura 4.7. aumento 100x

Capa 4.



Figura 4.8. aumento 40x

Capa 5.

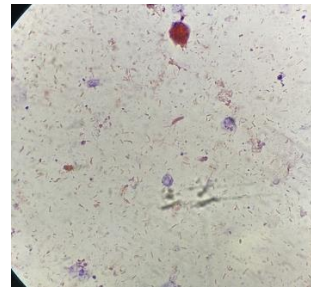


Figura 4.9. aumento 40x

- **Resultados macroscópicos (cultivos)**

Para este laboratorio se sembró una muestra de cada una de las capas categorizadas como Superficie, mitad y fondo, en 4 medios de cultivos diferentes (Mantequilla, leche, almidón y avena), cuyos resultados se muestran en las siguientes figuras, separadas según la capa de la columna a sembrar.

Capa "Superior"

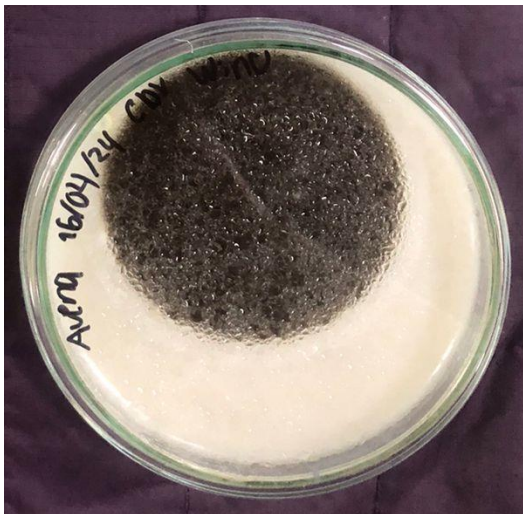


Figura 4.10. Medio Avena

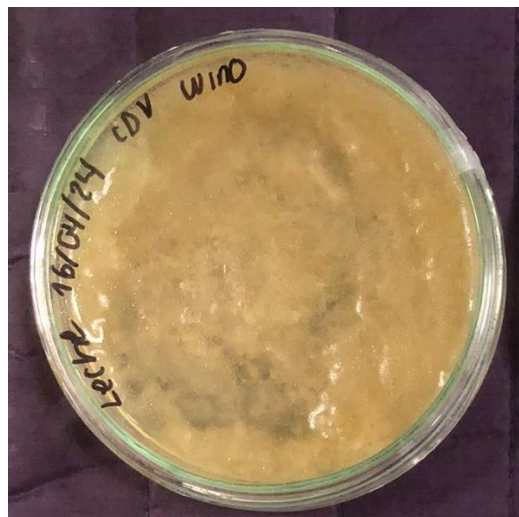


Figura 4.11. Medio Leche

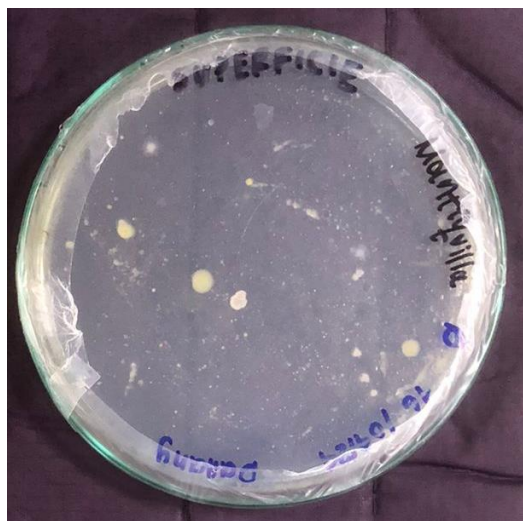


Figura 4.12. Medio Mantequilla

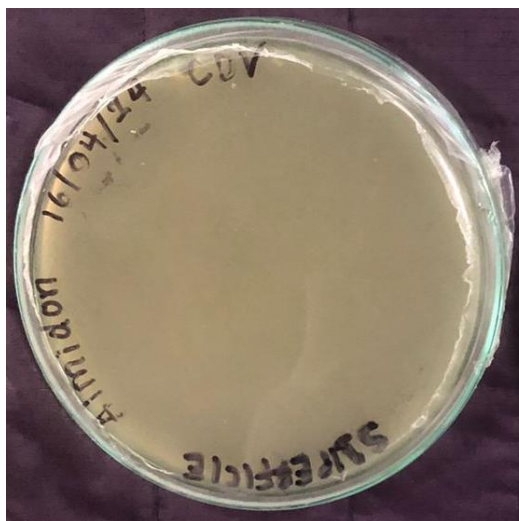


Figura 4.13. Medio Almidón

Capa "Medio"

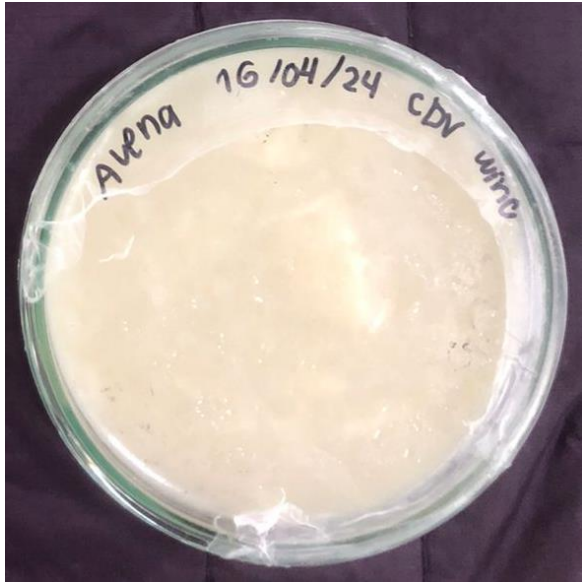


Figura 4.14. Medio Avena

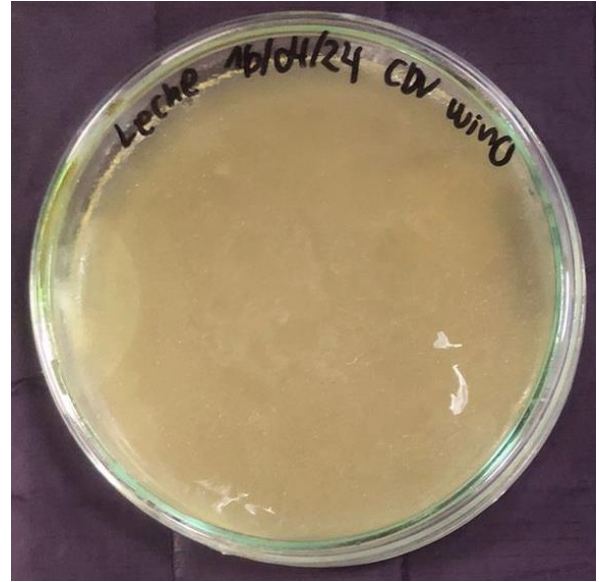


Figura 4.15. Medio Leche

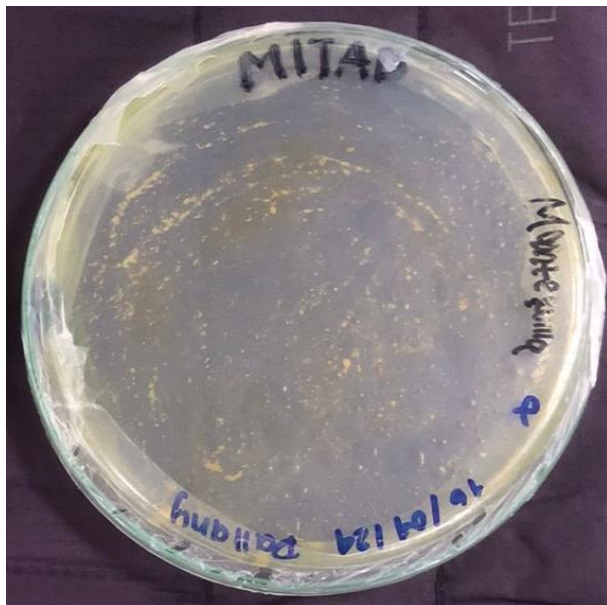


Figura 4.16. Medio Mantequilla



Figura 4.17. Medio Almidón

Capa "Fondo"

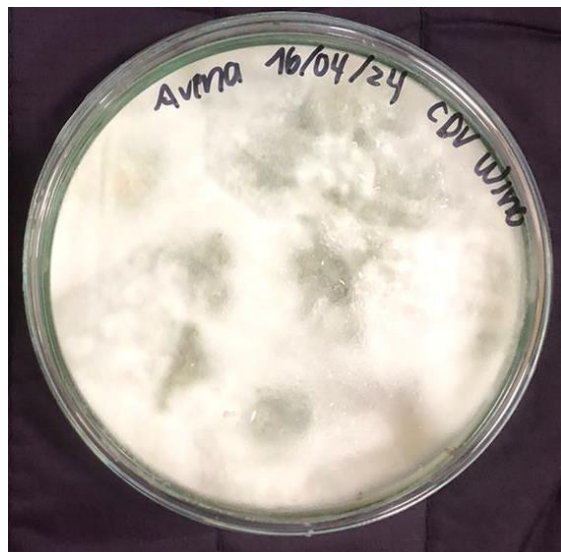


Figura 4.18. Medio Avena

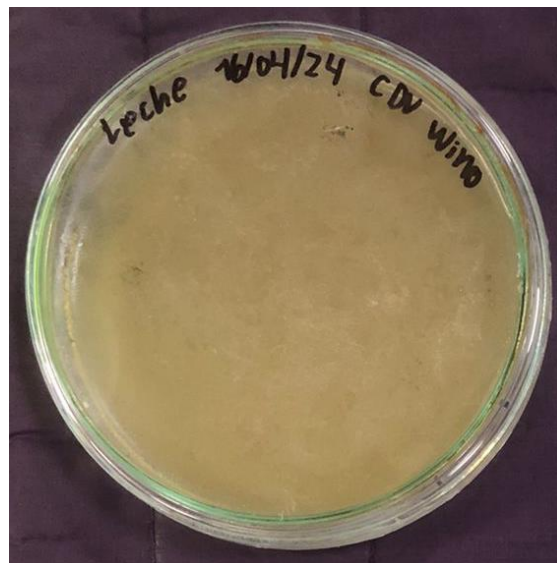


Figura 4.19. Medio Leche

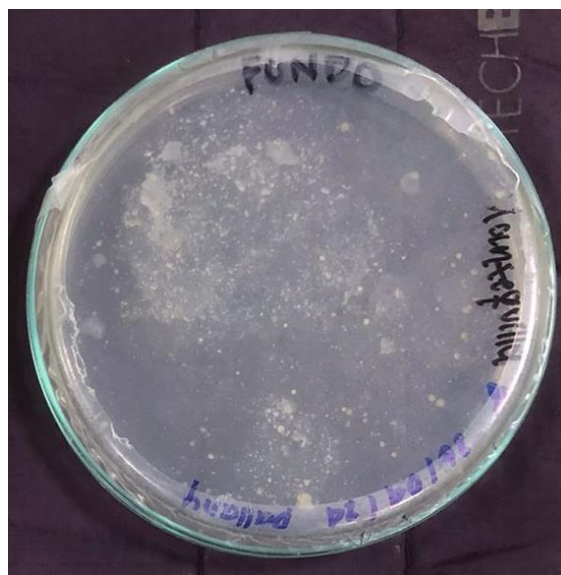


Figura 4.20. Medio mantequilla

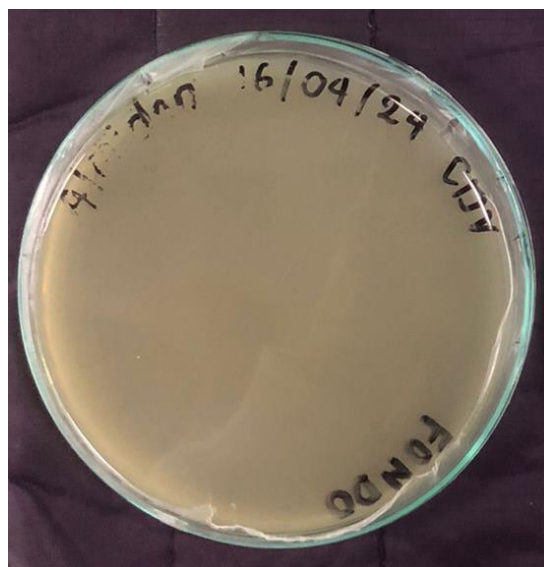


Figura 4.21. Medio almidón

4. Discusión

Región aeróbica

En la parte superior de la columna predominan los organismos aerobios (López, 2008), los cuales habitualmente se pueden encontrar en zonas acuáticas ricas en materia orgánica, como estanques poco profundos o arroyos contaminados (Buckley et al, 2015), que fueron precisamente una de las fuentes de materia prima para la realización de la columna de Winogradsky, tal como se esperaba se encontraron organismos aerobios, específicamente *Bacillariophyta* (Rogan et al, 2005), comúnmente conocidas como diatomeas, que son organismos fotosintéticos, acuáticos, eucariontes y unicelulares cuyo tamaño puede variar entre 10 a 200 μm (figura 4.2) (Caballero, 2020). Asimismo, en esta región aerobia es común el desarrollo de cianobacterias (Buckley et al, 2015), lo que se confirma con la Figura 4.1, donde se observan diversas agrupaciones de cianobacterias filamentosas con una coloración rosa tras la tinción de Gram, lo cual se debe a su naturaleza gram negativa (Hoiczky & Hansel, 2000).

Región microaerobia

En la zona intermedia de la columna, la luz es menos intensa y el oxígeno escasea un poco, es aquí donde aparecen los organismos microaerófilos, anaerobios facultativos y aerotolerantes, presentes en las capas 2 y 3 (Esteban et al., 2015). En esta zona disminuye la cantidad de bacterias quimioheterotróficas aeróbicas debido a la disminución de oxígeno molecular, ya que los organismos fotoautótrofos también disminuyen; entonces, aproximadamente el 51% de los microorganismos, son bacterias anaeróbicas y facultativas (Firouz et al., 2015).

En esta zona, como se observa en la Figura 4.02, se observan manchas de color óxido probablemente como resultado de las bacterias púrpuras no sulfurosas (PNS), organismos fotoheterótrofos que atrapan la energía luminosa y utilizan materia orgánica como fuente de electrones (Hairston, 1999). Los géneros más comunes de este tipo de bacteria encontrados en columnas de Winogradsky son *Rhodospirillum* y *Rhodopseudomonas*, anaerobios facultativos presentes en aguas dulces y saladas, que utilizan ácidos orgánicos como fuente de carbono, que descomponen y transforman en hidrógeno gracias a la luz solar, ya que el

exceso de electrones derivados de los ácidos reduce los protones producidos durante las fotorreacciones (Das y Veziroglu 2008).

Las PNS son intolerantes a las altas concentraciones de H_2S derivadas de la reducción de formas oxidadas de azufre por las bacterias púrpuras del azufre (PS); por esta razón, las PNS se encuentran en la zona microaerófila, a diferencia de las PS que crecen la zona anaerobia (Aparecida, 2013).

En esta zona no sólo hay presencia de bacterias, también hay ciertos protozoos que pueden vivir en condiciones bajas de oxígeno como las breviatas, amebas monoflageladas que, al carecer de mitocondrias, habitan en ambientes marinos con baja concentración de oxígeno (Lalla et al., 2021). Según Holmes et al. (2013), las breviatas se alimentan de espiroquetas que se ubican en las secciones más profundas de la columna, lo que explica el enriquecimiento de los protozoos en esta zona.

En la Figura 4.6 también se observan microorganismos que sin tinción se observan de color verde, y es que, Lalla et al. (2021) afirman que aún en la zona microaerófila, pueden encontrarse euglenas y otros protistas unicelulares que podrían adaptarse a condiciones con poco oxígeno, lo que sugiere que los microorganismos verdes de esta imagen son euglenas por su característica mancha ocular.

Zona anaerobia

En la zona inferior de la columna, se encuentra la **zona anóxica**, donde crecen microorganismos que son capaces de fermentar la materia orgánica y los que realizan respiración anaerobia, con la tarea principal de descomponer la materia orgánica y transformarla en ácidos orgánicos, alcoholes y H_2 (Perry, et al., 2002). Para esta parte inferior de la columna, las bacterias sulfato reductoras son las que predominan, las cuales utilizan el sulfato como aceptor de electrones en su respiración anaerobia. Sin embargo, según (Lalla et al., 2021) y (De Grado et al., n.d.), podrían encontrarse microorganismos como bacterias púrpuras del azufre, bacterias del género *clostridium*, *Desulfovibrio*, *Beggiatoa spp.*, *Thiobacillus spp*, bacterias Gram positivas como diversas especies de *Sulfobacillus sp*, entre otros.

Aunque la tinción de Gram no confirma ningún género, esta técnica que permite observar las morfologías presentes y su respuesta con respecto a los colorantes de Gram. Por lo que, observando la Figura 4.8, se puede observar algunos bacilos gram positivos, los cuales podrían tratarse de bacterias del género *clostridium*, bacterias que participan en el ciclo del carbono y son capaces de obtener energía fermentando compuestos orgánicos. (Corrales et al., 2015).

Por otro lado, en la Figura 4.7, debido a la morfología que se presenta, el microorganismo podría tratarse de euglenas (Lalla et al., 2021). Aunque estos microorganismos fotoautótrofos no pertenecen a esta zona, su aparición podría deberse a diversos factores como: la presencia de flagelos en su estructura que le permiten el movimiento libre desde una zona aledaña, especialmente en los casos donde las condiciones no son favorables en la zona fotótrofa (donde si pertenecen) debido a acumulación de sustancias tóxicas. Además de que estos también pueden comportarse como heterótrofos ya que puede consumir material orgánico muerto y lo descomponen, (Briggs G.,2022) o simplemente podría deberse a una de obtención incorrecta de la muestra con la pipeta.

También es esta Figura 4.7, se observa la presencia de protistas, probablemente del género Trebouxiophyceae, que según Lalla et al. (2021) podrían sobrevivir en condiciones anóxicas.

Entonces, en general, en esta columna se forma un ecosistema en miniatura en el que se forman relaciones entre diferentes microorganismos; estas relaciones conducen a la formación de ciclos de azufre y carbono, similar a los que ocurre en los ambientes de suelo y sedimentos (Paul, 2014).

Este ciclo se forma ya que, debido a la reducción de CO₂, los organismos fotoautótrofos proporcionan sustrato para los organismos quimioheterótrofos que se encuentran en capas inferiores mediante la oxidación de (H₂S). Así. la actividad respiratoria de las bacterias anaeróbicas reductoras de sulfato devuelve el CO₂ y el H₂S que necesitan las bacterias fotolitotróficas para su metabolismo (Firouz et al., 2015).

Cultivos

Con los medios de cultivo, tanto el agar almidón como el agar de leche descremada se implementaron con el fin de identificar colonias de bacterias descomponedores de material orgánico, específicamente aquellas bacterias amilolíticas y proteolíticas respectivamente (UNAM, 2012), se sabe que las actividades enzimáticas de los microorganismos del suelo son responsables de más del 80% de la descomposición de la materia orgánica, por ejemplo la actividad proteolítica bacteriana se correlaciona positivamente con la mineralización de N (Romillac et al., 2023), y los microorganismos amilolíticos, desempeñan una función esencial en el ciclo del carbono, siendo el almidón una de las fuentes más importantes de carbono en la naturaleza (Rosabal et al., 2021). Por lo tanto, se esperaba el desarrollo de tipos de estas bacterias, sin embargo, como se evidencia en los resultados, no hubo crecimiento en ninguno de estos medios, lo que puede estar relacionado con una incorrecta preparación, no brindando las condiciones necesarias para el desarrollo de las bacterias, igualmente un procedimiento incorrecto a la hora de diluir o tomar la muestra pudo haber influido en su desarrollo.

Por su parte, la avena es un cereal con alto contenido de carbohidratos, aminoácidos, péptidos, vitaminas y minerales (Ali et al., 2020); el agar avena un medio que favorece el crecimiento de hongos, y particularmente la formación de macrosporas, esto debido a que los hongos tienen la capacidad de utilizar una gran variedad de materiales orgánicos, además, gracias a la vitamina B presente en el medio, se contribuye a la oxidación de la glucosa (Jiménez et al., 2017).

Este medio estimula la formación de conidias en muchos organismos fúngicos filamentosos (Sigmaaldrich, 2016) tal como se observa en las figuras 4.9 Y 4.17, probablemente pertenecientes al género *Aspergillus*; el primero, ubicado en la superficie, pudo crecer gracias a la presencia de oxígeno, sin embargo, el ubicado en el fondo de la columna, pudo ser el resultado de la presencia de una espora que se desarrolló al encontrar condiciones óptimas para su crecimiento.

Finalmente, para el último medio de cultivo se utilizó mantequilla, un producto lácteo elaborado a partir de la leche de vaca, está formada por un 80% de grasa y 20% de agua y lleva las vitaminas liposolubles de la leche como las vitaminas A, D y E principalmente.

(Flores P.,2015). Por lo que, Según (Salazar M., et al., n.d), al contar con un hábitat rica en nutrientes, es de esperarse que el crecimiento bacteriano sea favorecido al usar este tipo de agar.

En las tres zonas se puede detallar la formación de pequeños halos lipolíticos, aunque predominan en la zona anaerobia de la columna. En un medio de cultivo de cultivo sólido con mantequilla se observan halos transparentes que rodean al microorganismo que es capaz de hidrolizar la grasa (Alarcón, L. R.,2004). También se confirma en (Salazar M., et al., n.d), la posible presencia de bacterias del género *clostridium* y además de microorganismos fermentadores, los cuales producen halos pequeños.

5. Conclusiones

- La columna de Winogradsky permite la creación de un mini ecosistema en el que se forman ciclos de azufre y de carbono similares a los que ocurren en los ambientes de suelo
- Las condiciones creadas en la columna de Winogradsky permiten el asentamiento de microorganismos que se adaptan a las condiciones de cada capa
- La disminución de oxígeno molecular le abre espacio a los microorganismos anaerobios facultativos, microaerófilos y aerotolerantes en la zona microaerófila
- El medio de avena favorece el crecimiento de hongos, siendo llamativos los encontrados en la capa superficial y del fondo.
- En la parte superior de la columna se observaron organismos aerobios, incluyendo protozoos, cianobacterias y algas, que son fototrópicos. Estos organismos prosperan en condiciones donde el oxígeno y la luz están presentes, destacando su capacidad para realizar fotosíntesis y su importancia en el ciclo del carbono y la producción de oxígeno en el ecosistema.

6. Referencias

- Alarcón, L. R. (2004). Manual de prácticas de Microbiología básica y Microbiología de alimentos. Programa de Nutrición. México: Universidad Autónoma de Ciudad Juárez.
- Ali, H., Mohammed, S., & Aja, H. (2020). *PREPARATION OF A NEW CULTURE MEDIUM FROM AVENA SATIVA FOR CULTIVATION OF SOME MICROORGANISMS*. ResearchGate; Research Floor.
https://www.researchgate.net/publication/348480732_PREPARATION_OF_A_NEW_CULTURE_MEDIUM_FROM_AVENA_SATIVA_FOR_CULTIVATION_OF_SOME_MICROORGANISMS
- (Briggs G.,2022) 2.19: *Euglena- un alga unicelular*. LibreTexts Español.
[https://espanol.libretexts.org/Biologia/Bot%C3%A1nica/Vida_inanimada_\(Briggs\)/02%3A_Organismos/2.19%3A_Euglena-_un_alga_unicelular](https://espanol.libretexts.org/Biologia/Bot%C3%A1nica/Vida_inanimada_(Briggs)/02%3A_Organismos/2.19%3A_Euglena-_un_alga_unicelular)
- Caballero, M. (2020). Diatomeas | Lab de Paleolimnología | IGEF, UNAM.
https://www.geofisica.unam.mx/iframes/laboratorios/institucionales/paleolimnologia/sitio_web/diatomeas.html
- Daniel H. Buckley, David A. Stahl, John M. Martinko, Kelly S. Bender y Michael T. Madigan (2015) BROCK. BIOLOGÍA DE LOS MICROORGANISMOS. Pearson. ISBN: 9788490352793
- Das, D., Veziroglu, T. N. 2008. Advances in biological Hydrogen production processes. Int J Hydrogen Energ 33: 6046-6057.
- De Grado, P., Sofía, D., González, E., Muñoz, P., Directora, C., Rivera-Hoyos, C., AuraB., & Rodríguez, M. (n.d.). *Aislamiento de bacterias Sulfuro Oxidadoras a partir de Columnas de Winogradsky*.
<https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/51993/Tesis%20bacterias%20sulfuro%20oxidadoras%20.pdf?sequence=2&isAllowed=y>
- Esteban, D. J., Bledi Hysa, & Bartow-McKenney, C. (2015). Temporal and Spatial Distribution of the Microbial Community of Winogradsky Columns. *PloS One*, 10(8), e0134588–e0134588. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0134588>

Fernández, T. y Tamaro, E. (2004). *La filosofía de Aristóteles* [en línea]. Recuperado de <https://www.biografiasyvidas.com/biografia/v/vinogradski.htm> el 22 de mayo de 2024.

Firouz Abbasian, Lockington, R., Megharaj Mallavarapu, & Naidu, R. (2015). A pyrosequencing-based analysis of microbial diversity governed by ecological conditions in the Winogradsky column. *World Journal of Microbiology & Biotechnology Incorporating the MIRCEN Journal of Applied Microbiology and Biotechnology/World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 31(7), 1115–1126. <https://doi.org/10.1007/s11274-015-1861-y>

Flores P.(2015). *Propiedad Intelectual de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN AGUSTIN FACULTAD DE INGENIERIA DE PROCESOS ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERIA DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS “ELABORACION DE MANTEQUILLA”*
Monografía Para a la obtención del título de: Presentado por.
<https://repositorio.unsa.edu.pe/server/api/core/bitstreams/e5621aac-77fa-413c-96b7-c45481578baa/content>

Hairston, R. V. (1999). *The Winogradsky Column & Biofilms: Models for Teaching Nutrient Cycling & Succession in an Ecosystem. The American Biology Teacher*, 61(6), 453–459. doi:10.2307/4450728

Hoiczyk, E., & Hansel, A. (2000). Cyanobacterial Cell Walls: News from an Unusual Prokaryotic Envelope. *Journal of Bacteriology*, 182(5), 1191–1199. <https://doi.org/10.1128/jb.182.5.1191-1199.2000>

Holmes, D. E., Ludovic Giloteaux, Williams, K. H., Wrighton, K. C., Wilkins, M. J., Thompson, C. A., Roper, T. J., Long, P. E., & Lovley, D. R. (2013). Enrichment of specific protozoan populations during *in situ* bioremediation of uranium-contaminated groundwater. *the α ISME Journal*, 7(7), 1286–1298. <https://doi.org/10.1038/ismej.2013.20>

Jiménez M, Parra, L., & Buriticá, H. (2017). *Identificación de microorganismos a partir de la elaboración de la columna de Winogradsky*. ResearchGate; Universidad Libre.

<https://www.researchgate.net/publication/331763285> Identificación de microorganismos a partir de la elaboración de la columna de Winogradsky

Lalla, C., Calvaruso, R., Dick, S., & Reyes-Prieto, A. (2021). Winogradsky columns as a strategy to study typically rare microbial eukaryotes. *European Journal of Protistology*, 80, 125807–125807. <https://doi.org/10.1016/j.ejop.2021.125807>

López Pérez, J. P., (2008). La columna de Winogradsky. un ejemplo de microbiología básica en un laboratorio de educación secundaria. Revista Eureka sobre Enseñanza y Divulgación de las Ciencias, 5(3), 373-376. <https://www.redalyc.org/pdf/920/92050311.pdf>

Oatmeal agar. (2016). *Sigmaaldrich.com*. <https://doi.org/dogri>

Perry, et al.(2002) *Microbial Life*, primera edición, publicado por Sinauer Associates. *Microbial Life* está disponible en [Oxford University Press](https://www.oxforduniversitypress.com). Animación © 2002 Sinauer Associates y Sumanas, Inc. <https://www.sumanasinc.com/webcontent/animations/content/winogradsky.html>

Raquel Aparecida Loss, Maria Luiza Fontes, Valéria Reginatto, & Regina Vasconcellos Antônio. (2013). Biohydrogen production by a mixed photoheterotrophic culture obtained from a Winogradsky column prepared from the sediment of a southern Brazilian lagoon. *Renewable Energy*, 50, 648–654.

<https://doi.org/10.1016/j.renene.2012.07.011>

Rogan, B., Lemke, M., Levandowsky, M., & Gorrell, T. (2005). *Exploring the Sulfur Nutrient Cycle Using the Winogradsky Column*. *The American Biology Teacher*, 67(6), 348–356. doi:10.1662/0002-7685(2005)067[0348:etsncu]2.0.co;2

Romillac, Nicolas, Sophie Slezack-Deschaumes, Bernard Amiaud, and Séverine Piutti. (2023). “Soil Microbial Communities Involved in Proteolysis and Sulfate-Ester Hydrolysis Are More Influenced by Interannual Variability than by Crop Sequence” *Agronomy* 13, no. 1: 180. <https://doi.org/10.3390/agronomy13010180>

Rosabal Ayan L, Macías Coutiño P, Maza González M, López Vázquez R, Guevara Hernández F. (2021) Microorganismos del suelo y sus usos potenciales en la

agricultura frente al escenario del cambio climático. Magna Sci. UCEVA [Internet]. [citado 22 de mayo de 2024];1(1):104-17. Disponible en: <https://revistas.uceva.edu.co/index.php/magnascientia/article/view/20>

Salazar M., Serna. V & Herrera. M. (s.f) Identificación de microorganismos a partir de la elaboración de la columna de Winogradsky.

https://revistas.unilibre.edu.co/index.php/mente_joven/article/view/3667

UNAM (2012) Protocolo de prácticas, Microbiología experimental. Departamento de Biología

https://amyd.quimica.unam.mx/pluginfile.php/1760/mod_resource/content/1/Protocolosdepracticas2012_18791.pdf