

DEMOLAB

Biologia. Els cianobacteris i el seu paper en el medi ambient

Competències específiques

3. Dissenyar, planejar i desenvolupar projectes de recerca seguint els passos de les metodologies científiques, tenint en compte els recursos disponibles de manera realista i cercant vies de col·laboració, per indagar en aspectes relacionats amb les ciències biològiques, geològiques i mediambientals.

Aquesta competència específica es connecta amb els següents descriptors: CCL5, STEM1, STEM2, STEM3, CD1, CD2, CPSAA3.2, CE3.

| 1 |

Cianobacteris

Els cianobacteris són uns dels organismes fotosintètics més primitius que hi ha a la Terra. La teoria endosimbiòtica postula que hi va haver un organisme heteròtrof que va engolir un cianobacteri primitiu i ambdós organismes varen treure profit de conviure. A partir d'aquí, varen evolucionar fins a donar lloc a les cèl·lules vegetals que coneixem avui, amb cloroplasts (els panells solars de les cèl·lules vegetals que contenen clorofil·la) provinents dels cianobacteris.

Avui també hi ha cianobacteris, els quals són responsables d'una quarta part de la fixació global del carboni. Com altres organismes fotosintètics, presenten un enzim essencial per a la vida: la Rubisco. Aquest enzim permet agafar CO₂ de l'atmosfera (el que nosaltres exhalam) i el converteix en sucres, que són essencials perquè els organismes fotosintètics creixin. Són organismes ubics. Es troben pràcticament en tots els hàbitats. Per exemple, en trobam formant part de la biodiversitat del fitoplàncton, com també en aigües dolces i, fins i tot, en indrets extrems.

Els estudis de la Rubisco en organismes primitius, com els cianobacteris, ens permeten avaluar el camí de l'evolució que ens ha portat a tenir arbres tan grossos com les sequoies gegants o plantes resistents a les condicions del desert com els cactus. A més, permeten saber quin serà l'efecte del canvi climàtic sobre les espècies que tenim avui i poder protegir-les de les altes temperatures que se'n deriven. Una altra aplicació dels cianobacteris és que es poden utilitzar com a matèria primera per produir biocombustibles i aliments i suplementos nutricionals (espirulina). Alguns també són candidats a colonitzar el planeta Mart transformant els materials d'aquest planeta en productes aprofitables per al consum humà, a més de produir oxigen.

Pràctica 1. Cultiu de cianobacteris en condicions d'esterilitat

Espècies de treball

Gloeobacter violaceus

Cyanobacterium aponinum

Oscillatoria acuminata

Mesures d'esterilitat

- 30 minuts abans de treballar a la campana de flux laminar cal encendre el llum UV, el ventilador i fer neta la superfície de treball amb etanol 70%.
- Prèviament cal haver autoclavat (20 minuts a 120 graus) tant el medi de cultiu com el material per manipular les cèl·lules.
- El medi de cultiu ha d'estar a temperatura ambient per poder-lo usar.
- Treballar amb les mans nues assegura l'esterilitat.
- Cal fer-se netes les mans abans d'entrar al laboratori.
- Cal fer-se netes les mans amb etanol abans de tocar qualsevol cosa que estigui dins la campana.
- Igualment cal fer net amb etanol qualsevol material que hagi d'entrar a la campana.
- No es pot parlar, tossir ni esternudar cap a la campana.
- Cal evitar el moviment de persones al voltant de la campana.
- No es poden passar les mans per damunt qualsevol recipient obert dins la campana.

- No es pot tornar a ficar qualsevol material que hagi estat en contacte amb les superfícies o cultius cel·lulars dins el medi de cultiu.
- No es pot treballar amb més d'una espècie a la vegada dins la campana, per evitar contaminació creuada.

A. Refresc de les cèl·lules

Ens permet obtenir biomassa de cianobacteris.

Material

Medi de cultiu BG11 autoclavat, pipeta o bureta autoclavada, puntes de pipeta autoclavades, flascons de creixement estèrils.

Procediment

1. Traieu els flascons de creixement de l'incubador anant amb cura que el líquid no toqui el tap.
2. Posau els flascons a un costat de la campana de flux.
3. Retolau els flascons nous on farem la dilució.
4. Enganxau una punta a la pipeta.
5. Obriu els flascons nous i els del cultiu.
6. Agafau 5mL de cultiu. Apujau i abaixau uns quants pics el líquid a la pipeta amb compte que no entri líquid a l'interior de la pipeta per poder homogeneïtzar el cultiu de cianobacteris. Les tres espècies tenen un creixement diferent: creixement en tel, en agregats i en suspensió.
7. Depositau els 5 mL de cultiu al flascó nou anant amb compte de no tocar amb la punta contaminada les voreres del tap ni l'exterior del flascó.
8. Tirau la punta i tancau el flascó de creixement antic.
9. Enganxau una punta neta i incorporau 20/40mL (segons l'espècie) de medi de cultiu fresc al nou flascó de cultiu.
10. Tancau el nou flascó i descartau la punta de la pipeta.
11. Posau-ho dins l'incubador.

12. Deixau créixer els cianobacteris a l'incubador a una temperatura de 24 graus i un cicle de llum:fosc de 12:12hores fins que la densitat cel·lular sigui elevada.

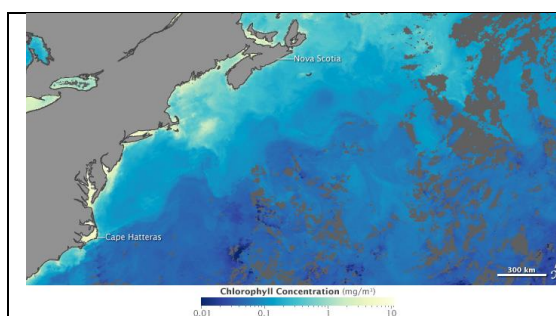
Activitats

1. Respon al següent qüestionari:

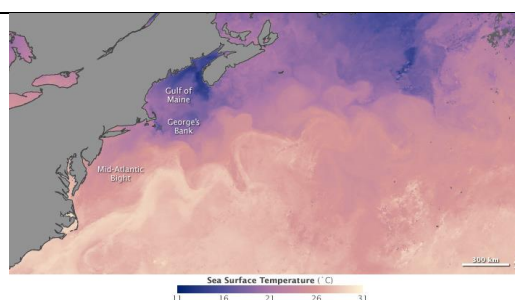
- Per què treballem a una campana de flux laminar?
- Per què treballem amb les mans nues?
- Per què els flascons de cultiu tenen un tap amb forats?
- Per quin motiu un dels principals component del medi de cultiu és el bicarbonat sòdic (Na_2CO_3)?
- Quines són les diferents morfologies que podeu observar a ull nu en els tres cultius diferents?

2. El fitoplàncton són organismes microscòpics, flotants que viuen en ecosistemes aquàtics. Utilitzen pigments fotosintètics per convertir l'energia solar en matèria orgànica. Per això, els satèl·lits de la NASA poden observar la quantitat de fitoplàncton a l'oceà mesurant les concentracions de clorofil·la.

- Observau els mapes de concentracions de clorofil·la de l'oceà i de temperatures. I, contestau les qüestions plantejades:



Mapa A. Concentracions de clorofil·la



Mapa B. Temperatures de la superfície de la mar

- a) Descriu que creus que representa la llegenda de la barra de colors del mapa A.
 - b) Descriu on observes les concentracions més altes de clorofil·la. I les més baixes?
 - c) Quins factors creus que controlen on es distribueix el fitoplàncton?
 - d) Si analitzau el mapa B de temperatures de la superfície de la mar, fixau-vos en la barra de colors, on s'observen les majors concentracions? I les més baixes?
- Visualitzau el següent vídeo: la clorofil·la i la temperatura de la superfície de la mar de 2002 a 2019 <https://www.youtube.com/watch?v=kuEHZyj4g74>
 - a) On es troben generalment les majors concentracions de clorofil·la?
 - b) Com canvien els valors de clorofil·la amb les estacions?
 - c) Per què creus que les regions polars experimenten aquests canvis durant la primavera/estiu?

3. Investiga com els cianobacteris contribueixen en la producció de biomassa dels ecosistemes aquàtics (tenen impactes negatius, com contribueixen en el cicle de la biomassa...) i proposa una estratègia per preservar i mantenir la productivitat en els ecosistemes aquàtics tenint en compte la importància del fitoplàncton i els cianobacteris.

Pràctica 2. Preparacions in vivo de cianobacteris

Els cianobacteris són organismes unicel·lulars procariotes amb diferents morfologies. A l'interior no presenten orgànuls ni un nucli diferenciat, com sí que tenen les cèl·lules eucariotes. Tot i això, hi ha algunes espècies de cianobacteris en què les cèl·lules individuals s'agrupen per formar tètades o, fins i tot, els anomenats biofilms (tels de cianobacteris que s'enganxen a les superfícies).

Espècies de treball

Gloeobacter violaceus

Cyanobacterium aponinum

Oscillatoria acuminata

Material

Microscopi òptic, portaobjectes, cobreobjectes, pipeta de Pasteur de plàstic.

Procediment

1. Col·locau una gota de la mostra al centre del portaobjectes utilitzant la pipeta de Pasteur.
2. A continuació, col·locau el cobreobjectes evitant que es formin bombolles d'aire.
3. Col·locau la preparació al microscopi òptic.
4. Observau la mostra a diferents augments.
5. Observau les diferents morfologies.

Activitats

1. Les espècies de cianobacteris presenten diferents morfologies. Observau-les a nivell macroscòpic i associau cadascuna d'elles a una espècie. Podeu fer una foto i adjuntar-la.

Foto	Foto	Foto
<i>Gloeobacter violaceus</i>	<i>Cyanobacterium aponinum</i>	<i>Oscillatoria acuminata</i>

Observau al microscopi òptic les diferents morfologies i, associau cadascuna d'elles a una espècie. Podeu fer una foto i adjuntar-la.

Foto	Foto	Foto
<i>Gloeobacter violaceus</i>	<i>Cyanobacterium aponinum</i>	<i>Oscillatoria acuminata</i>

2. Què és un biofilm i quina importància mediambiental tenen?

Pràctica 3. Extracció i separació de pigments dels cianobacteris amb cromatografia en capa fina (TLC)

Els cianobacteris, a més de la clorofil·la (pigment verd), produeixen pigments fotosintètics blaus coneguts com a ficobiliproteïnes: la ficocianina i la ficoeritrina. Les ficobiliproteïnes són pigments polars, a diferència dels clorofil·lics, apolars. Les ficobiliproteïnes permeten que els cianobacteris creixin en condicions de poca llum. També produeixen pigments accessoris com els carotenoides: carotè (pigment taronja) i xantofil·les (pigment groc). Els pigments clorofil·lics formen part del fotosistema I (PSI) i del fotosistema II (PSII), mentre que les ficobiliproteïnes es troben formant part del complex captador de llum (LHC).

Espècies de treball

Gloeobaceter violaceus

Cyanobacterium aponinum

Oscillatoria acuminata

Material i reactius

Sonicador, microcentrífuga, tubs d'Eppendorf, pipetes automàtiques, puntes, vas de precipitats de 250 mL, paper d'alumini, plaques TLC, tampó d'extracció, èter:acetona (3:1).

Procediment

A. Extracció de pigments

1. Posau biomassa de cianobacteris dins un tub d'Eppendorf.
2. Afegiu-hi 1mL de tampó d'extracció.
3. Sonicau-ho, sobre gel, 4 vegades durant 30 segons amb intervals de 30 segons.
4. Centrifugau-ho a velocitat màxima, a 4 graus durant 3 minuts.
5. Recolliu el sobrenedant en un altre tub d'Eppendorf (aquesta serà la mostra de treball).

B. Separació de pigments

1. Posau dins un vas de precipitats una quantitat del dissolvent èter:acetona (3:1) que no superi 1 cm de profunditat i tapau-ho amb paper d'alumini.
2. Mentre el vapor es distribueix per la cambra, prepareu la placa de silicagel de la manera següent:
 - Retallau la placa de silicagel a la mida de la cambra (evitau tocar-ne la part blanca).
 - Feu una marca a 1 cm de la base i col·locau, per capil·laritat, una microgota (10 microlitres) de la mostra de cianobacteris.
 - Es poden posar diverses mostres a una distància mínima d'1 cm.
3. Introduïu la placa en el vas de precipitats i tapau-lo. Protegiu-lo de la llum. El vas de precipitats es col·locarà a la campana de gasos.
4. Quan el front del dissolvent s'aproximi a la part de dalt de la placa, heu de treure el cromatograma.
5. Ràpidament, marcau el front del dissolvent i localitzau els pigments.

Activitats

1. La cromatografia en capa fina és una tècnica de separació i identificació de substàncies químiques que es fonamenta en la separació d'un solut (pigments

fotosintètics) entre dues fases, una de mòbil i una d'estacionària en funció de la seva diferent polaritat.

- a) Dibuixau la placa amb els resultats obtinguts.
- b) Indicau la composició química de la fase estacionària i de la mòbil i, la seva polaritat.

2. La migració relativa d'una substància (R_f) a una fase mòbil (dissolvent) i estacionària (placa) determinada es constant. Aquesta característica ens permet, mitjançant la comparació amb patrons, la identificació de la substància en una mescla. El valor del recorregut relatiu (R_f) d'un compost és una manera de la migració d'aquest compost en comparació amb la migració de l'eluent.

R_f = distància recorreguda pel compost des de l'origen / distància recorreguda pel compost des de l'origen

- a) Calculeu el R_f de cadascun dels components separats i identifica'ls utilitzant fonts bibliogràfiques.

3. La presència dels pigments fotosintètics depèn de l'estructura morfològica de l'espècie de cianobacteri. Investiga la localització dels pigments fotosintètics de les diferents espècies.

Pràctica 4. Obtenció de biocarburant a partir de cianobacteris

Els biocombustibles es consideren una energia renovable produïda a partir de biomassa cultivada. Els cianobacteris, com a organismes fotosintètics, poden participar en la fixació de carboni i la producció de substàncies químiques orgàniques en convertir CO_2 en biomassa i produir sucres, lípids i alcohols, els quals són una font renovable de biocombustible.

Material i reactius

Tub d'assaig, bufador o encenedor de Bunsen, campana de gasos, pinces.

Procediment

1. Col·locau biomassa de cianobacteris en un tub d'assaig. La mostra conté aigua, hidrogen, monòxid de carboni i altres composts, els quals produeixen biocarburant.
2. Posau el tub d'assaig a la flama dins la campana de gasos.
3. Observau què passa:
 - S'evapora aigua i es formen gotetes d'oli que també es vaporitzen
 - Es forma un precipitat de carboni i sucres.
4. Recol·liu les gotetes d'oli en una cullera.
5. Observau que els lípids són inflamables.

Activitats

1. Respon el següent qüestionari:
 - Els cianobacteris són organismes increïbles. Quins components necessiten per produir aliment?
 - Si les plantes superiors també poden produir aliment, perquè és millor utilitzar cianobacteris?
 - Què passa quan escalfam el sediment de cianobacteris?
 - Quin compost recollim? I quina propietat presenta?
 - Quin compost ha precipitat durant el procés d'escalfament? Quins usos té?
2. El petroli cru s'obté a partir d'algues que van créixer fa molt de temps i la Terra les ha processat en composts. Investiga com obtenir cianobacteris en un sistema tancat que funcioni tot l'any i com processar-les per utilitzar-les, com a font de biocarburant, sense haver d'esperar milions d'anys. Indica els avantatges i inconvenients que té per el medi ambient.