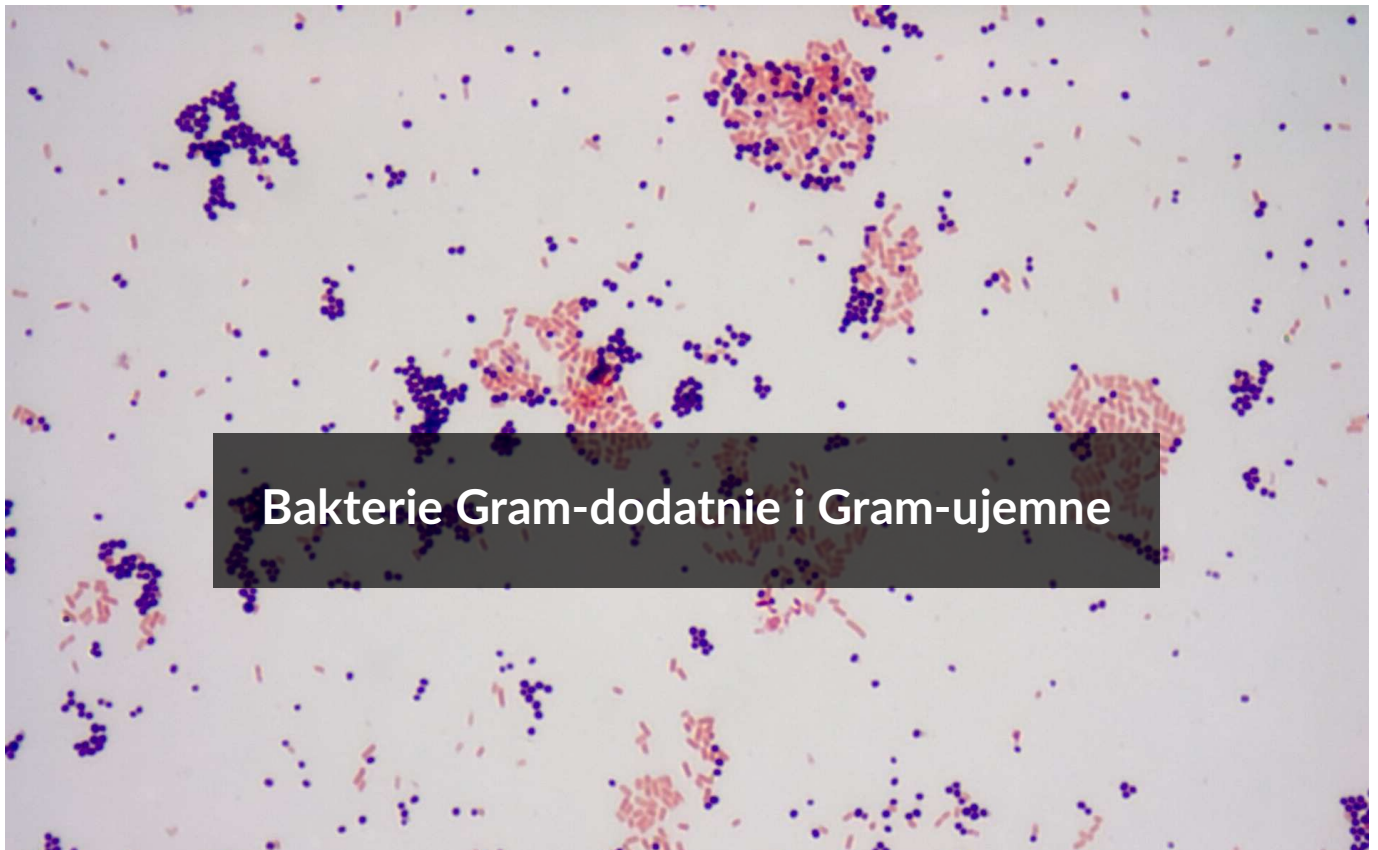


Bakterie Gram-dodatnie i Gram-ujemne

- [Wprowadzenie](#)
- [Przeczytaj](#)
- [Wirtualne laboratorium \(WL-I\)](#)
- [Sprawdź się](#)
- [Dla nauczyciela](#)



Bakterie Gram-dodatnie i Gram-ujemne

Bakterie Gram-dodatnie (fioletowe) oraz Gram-ujemne (czerwone) widoczne w mikroskopie świetlnym (powiększenie 1000×).

Źródło: Marc Perkins, Flickr, licencja: CC BY-NC 2.0.

Pierwszą obserwację bakterii przeprowadził w 1686 r. Antoni van Leeuwenhoek (czyt. *Lewenhuk*), który użył do tego własnoręcznie wykonanego mikroskopu. Dwieście lat później, w 1884 r., Hans Christian Gram opracował metodę barwienia komórek bakterii w celu rozpoznania budowy ich ściany komórkowej. Na tej podstawie możliwe jest zróżnicowanie bakterii na **Gram-dodatnie** lub **Gram-ujemne**. Obecnie **metoda Grama** jest standardową techniką wykorzystywaną w mikrobiologii.

Twoje cele

- Wyjaśnisz różnice w budowie ściany komórkowej bakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych.
- Przeanalizujesz etapy barwienia metodą Grama.
- Zaplanujesz i przeprowadzisz doświadczenie barwienia bakterii metodą Grama.

Przeczytaj

Bakterie (w języku greckim *baktērion* oznacza laseczkę) to organizmy jednokomórkowe o prostej budowie i wielkości od 0,2 do kilkudziesięciu mikrometrów (μm). Tworzą królestwo *Prokaryota*. Stanowią grupę mikroorganizmów bardzo zróżnicowanych i nie są ujęte w jednolity system klasyfikacji. W odróżnieniu od *Eukaryota* komórki bakterii nie zawierają wydzielonych struktur wewnątrzkomórkowych (organellów), takich jak mitochondria, lizosomy czy chloroplasty. Natomiast ważnym elementem strukturalnym komórek bakteryjnych jest sztywna ściana komórkowa.

Ciekawostka

Bakterie z rodzaju *Mycoplasma* są pozbawione ściany komórkowej.

Ściana komórkowa bakterii

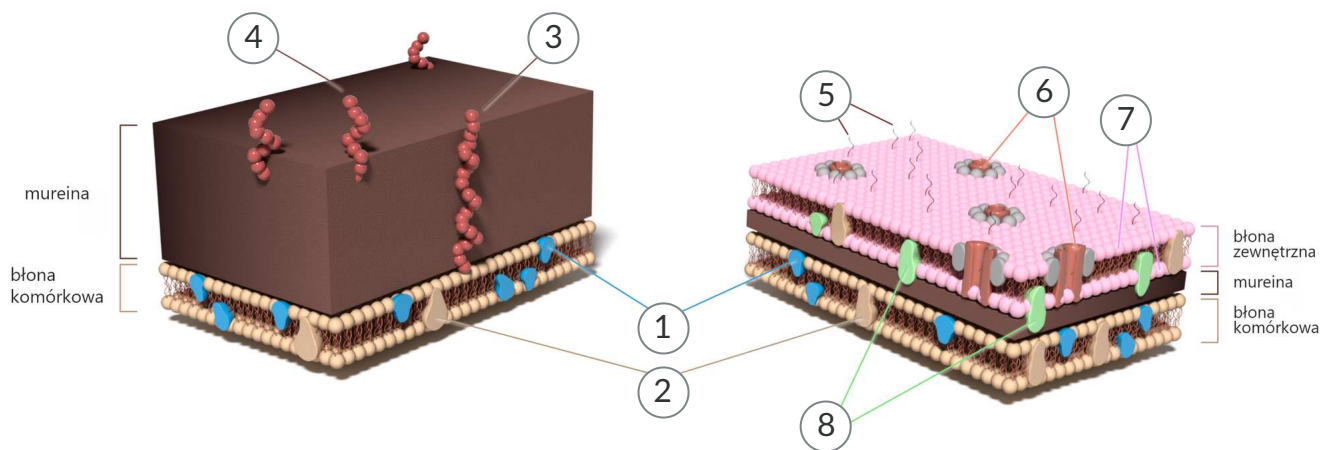
Ściana komórkowa to zewnętrzna warstwa komórki bakteryjnej. Podstawowym elementem budującym ścianę komórkową jest [mureina](#) (peptydoglikan), która otacza komórkę. Jest to polimer składający się z łańcuchów polisacharydowych połączonych łańcuchami peptydowymi. Ściana komórkowa bakterii pełni funkcję ochronną i odpowiada za kształt komórki.

Ważne!

Bakterie zostały podzielone na dwie grupy: archebakterie (*Archaeobacteria*) i eubakterie (bakterie właściwe, *Eubacteria*). Ściany komórkowe archebakterii **nie zawierają mureiny**.

Różnice w budowie ściany komórkowej bakterii wykorzystywane są do ich identyfikacji **metodą Grama**. Pozwala ona klasyfikować badane drobnoustroje jako

bakterie Gram-dodatnie lub Gram-ujemne.



1

Białka błonowe

2

Białka transbłonowe

3

Kwas lipotejchowy

4

Kwas tejchowy

5

Lipopolisacharyd (LPS)

6

Poryny

7

Fosfolipidy

8

Lipoproteiny

Budowa ściany komórkowej bakterii Gram-dodatnich (G+) (po lewej) i Gram-ujemnych (G-) (po prawej).

Źródło: Englishsquare.pl Sp. z o.o., licencja: CC BY-SA 3.0.

Ściana komórkowa bakterii Gram-dodatnich

Ściana komórkowa bakterii Gram-dodatnich jest gruba (od 15 do 80 nm), sztywna i ma prostą budowę. W przeciwieństwie do ściany komórkowej bakterii Gram-ujemnych pozbawiona jest [błony zewnętrznej](#). Mureina jest gęsto usieciowana i znajdują się w niej [kwasy tejchojowe](#) oraz niewielkie ilości białek i lipidów.

Bakterie Gram-dodatnie barwią się metodą Grama na kolor fioletowy.

Ciekawostka

Białka na powierzchni ściany komórkowej niektórych szczepów bakterii odpowiadają za ich właściwości chorobotwórcze. Zaliczamy do nich m.in. **białko A**, które odpowiada za [wirulencję](#) i [immunogenność](#) u gronkowca złocistego (*Staphylococcus aureus*).

Ściana komórkowa bakterii Gram-ujemnych

Ściana komórkowa bakterii Gram-ujemnych ma złożoną budowę i jest cienka (od 2 do 10 nm). Zbudowana jest tylko z jednej warstwy słabo usieciowanej mureiny. U bakterii tych dominującą część ściany tworzy **błona zewnętrzna**, w której znajdują się fosfolipidy, białka i lipopolisacharydy. Nie występują w niej kwasy tejchojowe.

Bakterie Gram-ujemne nie barwią się metodą Grama na kolor fioletowy, lecz na inne kolory, np. różowy.

Ciekawostka

Lipopolisacharyd (LPS) jest charakterystycznym składnikiem ściany komórkowej bakterii Gram-ujemnych. Nazywa się go **endotoksyną**, ponieważ może zostać uwolniony do organizmu w wyniku trawienia enzymatycznego komórek bakterii lub działania antybiotyków. Przejawia silne działanie immunogenne i prozapalne. Przyczynia się do powstawania sepsy, czyli zespołu ogólnoustrojowej reakcji zapalnej wywołanej zakażeniem. Sepsa jest jedną z najczęstszych przyczyn śmierci w zakładach intensywnej terapii.

Wybrane cechy charakterystyczne bakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych

Cechy bakterii	Gram-dodatnie	Gram-ujemne
mureina	obecna	obecna
grubość mureiny (nm)	15–80	2–10
warstwy mureiny	wielowarstwowa sieć	jednowarstwowa sieć
błona zewnętrzna	brak	obecna
kwasy tejchojowe	obecne	brak

Cechy bakterii	Gram-dodatnie	Gram-ujemne
wynik barwienia metodą Grama	fioletowe	różowe
przedstawiciel	gronkowiec złocisty (<i>Staphylococcus aureus</i>)	pałeczka okrężnicy (<i>Escherichia coli</i>)

Barwienie bakterii metodą Grama

Ciekawostka

Christian Hans Gram (1853–1938) był duńskim lekarzem, pracującym na Uniwersytecie w Kopenhadze. W 1884 r. wprowadził metodę barwienia bakterii różnicującego je na bakterie Gram-dodatnie i Gram-ujemne.

Barwienie metodą Grama pozwala zidentyfikować bakterie o odmiennych cechach biochemicznych i fizjologicznych (takich jak wrażliwość na antybiotyki i środki dezynfekcyjne), związanych z różnicami w budowie ściany komórkowej.

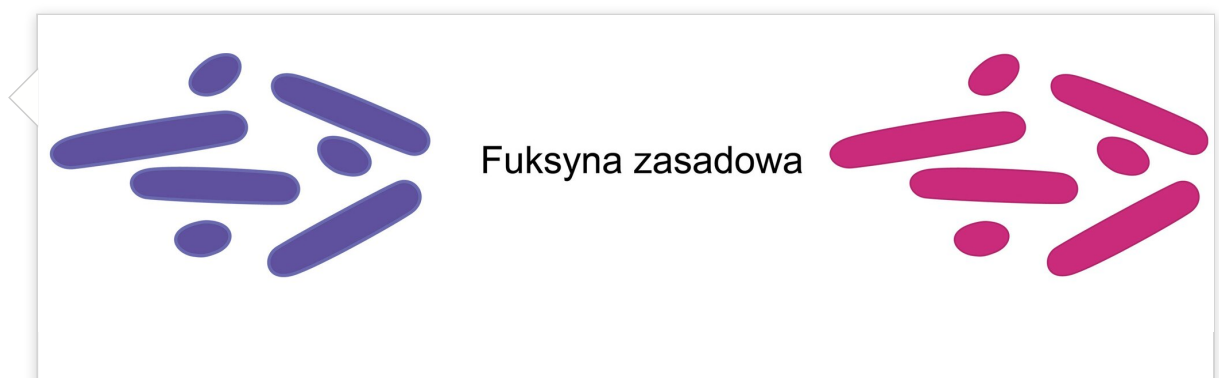
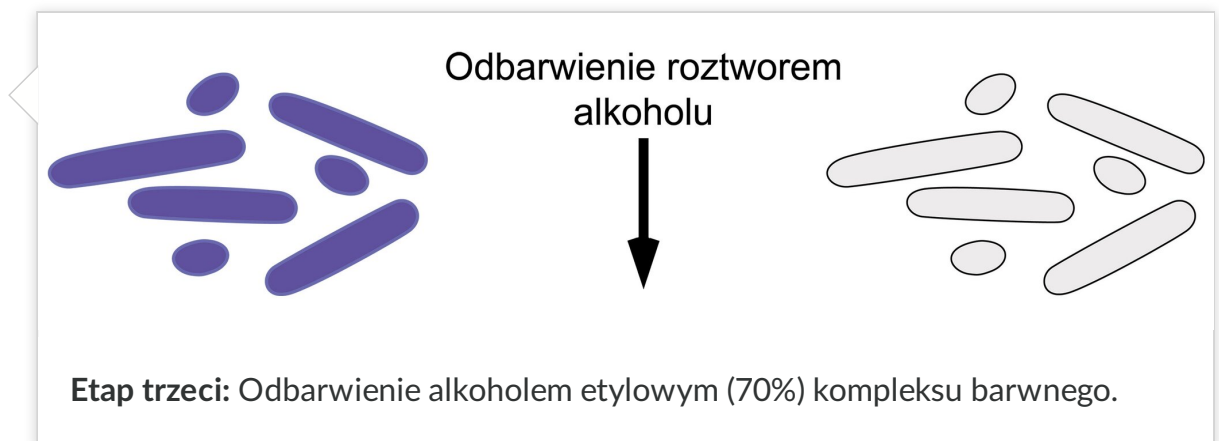
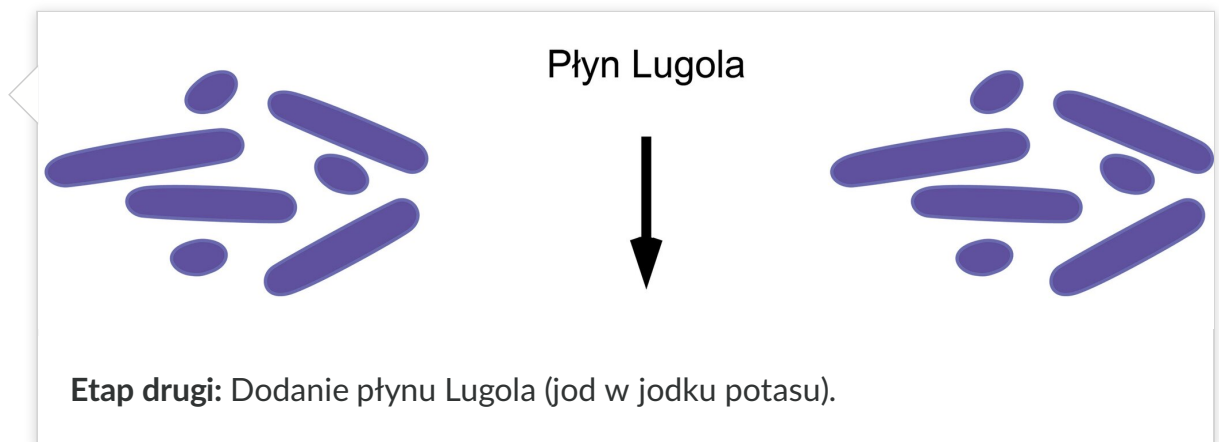
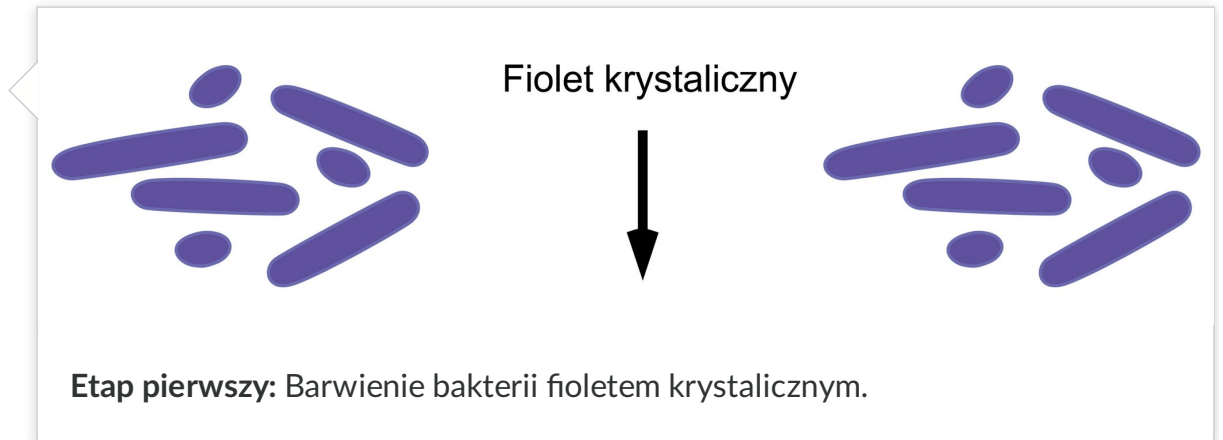


Hans Christian Gram.

Źródło: Wikimedia Commons, domena publiczna.

Etapy barwienia metodą Grama

Metoda Grama polega na barwieniu utrwalonych bakterii za pomocą kolejno [fioletu krystalicznego](#), [płynu Lugola](#) i [fuksyny zasadowej](#) (albo [safraniny](#)),



Etap czwarty: Podbarwienie bakterii Gram-ujemnych barwnikiem kontrastującym, np. fuksyną zasadową.

Etapy barwienia bakterii Gram-dodatnich (po lewej) i Gram-ujemnych (po prawej) metodą Grama.

Źródło: Englishsquare.pl Sp. z o.o., licencja: CC BY-SA 3.0.

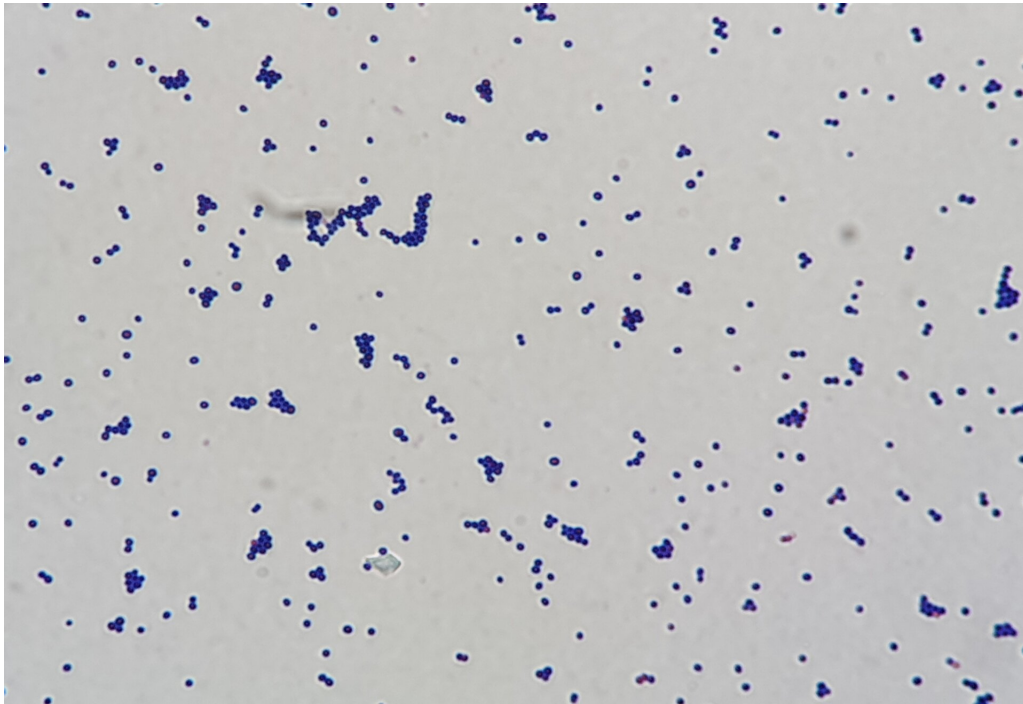
Film pt. *Barwienie bakterii metodą Grama*.

Źródło: Englishsquare.pl Sp. z o.o., licencja: CC BY-SA 3.0.

Wynik barwienia zależy od typu ściany komórkowej oraz grubości mureiny. Gruba warstwa mureiny bakterii Gram-dodatnich efektywnie zatrzymuje nierozpuszczalne w wodzie barwne kompleksy fioletu krystalicznego i jodu (zawartego w płynie Lugola). W przypadku bakterii Gram-ujemnych barwne kompleksy są skutecznie wymywane przez alkohol z cienkiej warstwy mureiny, dlatego do ich ukazania stosuje się barwnik kontrastowy, np. fuksynę zasadową.

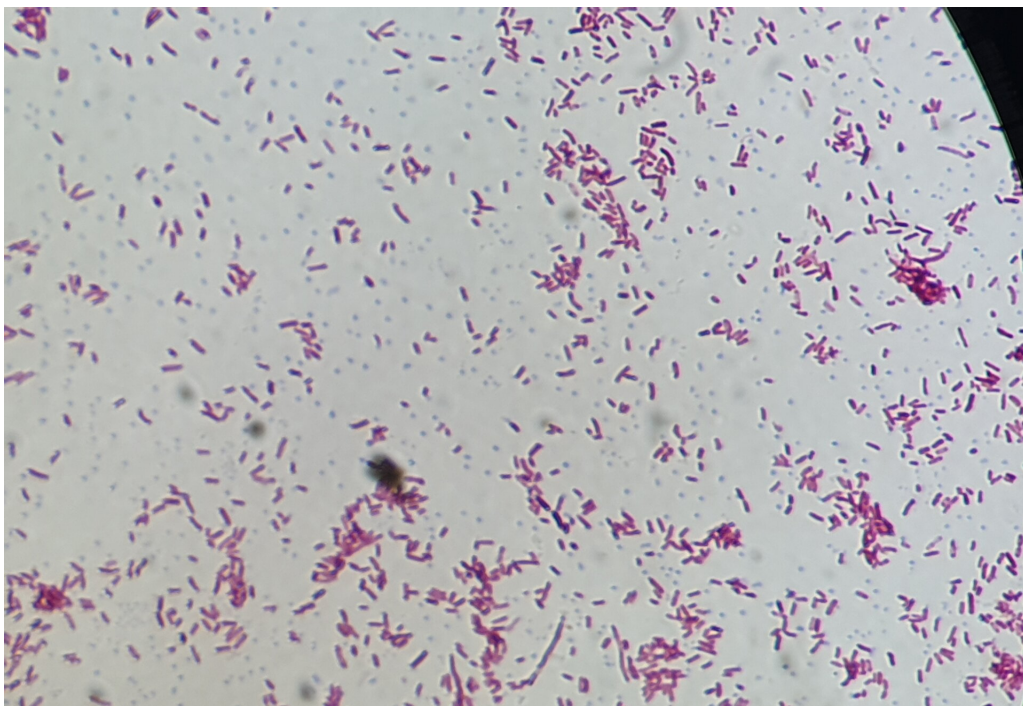
Komórki bakterii Gram-dodatnich przyjmują kolor fioletowy, a Gram-ujemnych różowy.

Efekt barwienia metodą Grama



Bakterie Gram-dodatnie (G+) wybarwiają się na fioletowo. Do tej grupy należą m.in. niektóre ziarniaki (np. z rodziny *Staphylococcaceae*), laseczki (np. z rodzaju *Bacillus*), maczugowce (*Corynebacteriaceae*) i promieniowce (*Actinobacteria*).

Źródło: Englishsquare.pl Sp. z o.o., licencja: CC BY-SA 3.0.



Bakterie Gram-ujemne (G-) przybierają barwę różową. Należą do nich m.in. pałeczki (np. z rodzaju *Pseudomonas*), przecinkowce (np. przecinkowiec cholery – *Vibrio cholerae*) i śrubowce (*Spirillum*).

Źródło: Englishsquare.pl Sp. z o.o., licencja: CC BY-SA 3.0.

Słownik

błona zewnętrzna

podwójna błona fosfolipidowa, charakterystyczna cecha ściany komórkowej bakterii Gram-ujemnych (G-); składa się z fosfolipidów, białek, lipopolisacharydu (LPS) oraz lipoprotein

fiolet krystaliczny

barwnik tryfenylometanowy; w połączeniu z fioletem metylowym tworzy mieszaninę zwaną fioletem gencjanowym

fuksyna zasadowa

rozanilina; syntetyczny barwnik zasadowy z grupy barwników triarylometanowych; substancja krystaliczna o metalicznym połysku; jej roztwór wodny ma barwę purpurową

immunogenność

zdolność wywoływania odpowiedzi immunologicznej wynikająca ze swoistej, rozpoznawanej przez limfocyty konfiguracji molekuł

mureina (peptydoglikan)

podstawowy element szkieletu ściany komórek bakteryjnych; polimer składający się z ułożonych naprzemiennie łańcuchów N-acetyloglucozamininy i kwasu N-acetylmuraminowego połączonych poprzecznie łańcuchami peptydowymi; biosyntezę mureiny hamują niektóre antybiotyki, np. antybiotyki β -laktamowe, do których należy penicylina

kwasy tejchojowe

organiczne, polimerowe związki chemiczne zbudowane z fosforanu glicerolu, fosforanu glukozy lub fosforanu rybitolu przyłączonego do grup fosforowych

płyn Lugola

1% roztwór jodu I₂ w 2% wodnym roztworze jodku potasu KI; stosowany do wykrywania skrobi (w jej obecności roztwór zabarwia się na kolor ciemnoniebieski) oraz w leczeniu jako zewnętrzny środek odkażający (do płukania gardła i pędzlowania skóry) i wewnętrznie (w chorobach tarczycy, miażdżycy naczyń)

safranina

zasadowy barwnik organiczny; trwały, odporny na działanie światła, wody, mydła; używany do farbowania włókien, skóry, papieru

wirulencja

zespół cech umożliwiających drobnoustrojom chorobotwórczym wniknięcie do organizmu gospodarza, przeżycie w nim i namnożenie się; zależą od gatunku bakterii, szczepu bakteryjnego oraz sił odpornościowych zaatakowanego organizmu

Wirtualne laboratorium (WL-I)

Laboratorium 1

Przeprowadź doświadczenie w laboratorium mikrobiologicznym w celu zbadania barwienia bakterii metodą Grama. Opisz dokonane obserwacje i otrzymane wyniki, a następnie sformułuj wnioski.

Temat: Barwienie bakterii metodą Grama

Problem badawczy: Czy gronkowiec złocisty (*Staphylococcus aureus*) i pałeczka okrężnicy (*Escherichia coli*) barwią się tak samo przy zastosowaniu metody Grama?

Hipoteza: W wyniku barwienia metodą Grama gronkowiec złocisty (*Staphylococcus aureus*) i pałeczka okrężnicy (*Escherichia coli*) barwią się na kolor fioletowy.

Sprzęt laboratoryjny:

Źródło: Englishsquare.pl Sp. z o.o., licencja: CC BY-SA 3.0.

Odczynniki:

- szalka Petriego ze szczepem np. gronkowca złocistego (*Staphylococcus aureus*) – bakterią Gram-dodatnią;
- szalka Petriego ze szczepem np. pałeczki okrężnicy (*Escherichia coli*) – bakterią Gram-ujemną;
- sól fizjologiczna;
- zestaw do barwienia metodą Grama (fiolet krystaliczny, płyn Lugola, odbarwiacz – etanol skażony 70%, fuksyna zasadowa);
- woda destylowana;
- olejek immersyjny;
- kawałek mydła;
- bibuła.

Instrukcja wykonania doświadczenia:

1. Załóż rękawiczki jednorazowe.
2. Wykonaj utrwalony preparat. Odtłuść szkiełko podstawowe mydłem, a następnie oczyść bibułą.
3. Podpisz preparat markerem, oznaczając go jako „1”.
4. Na środek szkiełka pipetą nanieś kroplę soli fizjologicznej.
5. Wyżarz eżę, trzymając ją pionowo przez kilka sekund w płomieniu palnika. Poczekaj do jej ostygnięcia.
6. Za pomocą eży przenieś jedną kolonię bakterii z szalki *S. aureus* i delikatnie rozmaż ją w kropli.
7. Suchy preparat chwyć pęsetą. Utrwal go w płomieniu palnika, przez trzykrotne przesunięcie szkiełka nad płomieniem. Odłóż preparat i czekaj, aż ostygnie.
8. W taki sam sposób przygotuj preparat z szalki *E. coli*. (Powtórz punkty od 2 do 7).
9. Wykonaj barwienie. Przygotuj wanienkę do barwienia w zlewie. Na jej metalowych rurkach umieść szkiełko podstawowe z utrwalonymi preparatami.
10. Preparaty zalej fioletem krystalicznym, odczekaj 60 sekund.
11. Na preparaty nanieś płyn Lugola, odczekaj 30 sekund.
12. Opłucz preparaty wodą destylowaną przy pomocy tryskawki.
13. Preparaty odbarw etanolem skażonym. Poczekaj ok. 10 s.
14. Opłucz preparaty wodą destylowaną przy pomocy tryskawki.
15. Na preparaty nanieś fuksynę zasadową, odczekaj 30 sekund.
16. Opłucz preparaty wodą destylowaną przy pomocy tryskawki.
17. Osusz preparaty bibułą. Pozbawione wilgoci oglądaj pojedynczo w mikroskopie świetlnym z obiektywem immersyjnym, powiększenie 100×.






Zasób interaktywny dostępny pod adresem <https://zpe.gov.pl/a/DxliI7CB6>

Źródło: Englishsquare.pl Sp. z o.o., licencja: CC BY-SA 3.0.

Polecenie 1

W zeszycie wykonaj schematyczny rysunek obu obserwowanych obiektów w preparatach mikroskopowych. Jakie różnice w kształcie bakterii można zaobserwować w mikroskopie świetlnym?

Sprawdź się

Pokaż ćwiczenia:   

Ćwiczenie 1



Ćwiczenie 2



Ćwiczenie 3



Ćwiczenie 4



Ćwiczenie 5



Źródło: Englishsquare.pl Sp. z o.o, licencja: CC BY-SA 3.0.

Ćwiczenie 6



Ćwiczenie 7



Ćwiczenie 8



Dla nauczyciela

Scenariusz lekcji

Autor: Zyta Sendecka

Przedmiot: biologia

Temat: Bakterie Gram-dodatnie i Gram-ujemne

Grupa docelowa: uczniowie III etapu edukacyjnego – kształcenie w zakresie rozszerzonym

Podstawa programowa:

Zakres rozszerzony

Treści nauczania – wymagania szczegółowe

VI. Bakterie i archeowce. Uczeń:

1) przedstawia budowę komórki prokariotycznej, z uwzględnieniem różnic w budowie ściany komórkowej bakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych;

Kształtowane kompetencje kluczowe:

- kompetencje w zakresie rozumienia i tworzenia informacji;
- kompetencje matematyczne oraz kompetencje w zakresie nauk przyrodniczych, technologii i inżynierii;
- kompetencje cyfrowe;
- kompetencje osobiste, społeczne i w zakresie umiejętności uczenia się.

Cele operacyjne:

Uczeń:

- opisuje różnice w budowie ściany komórkowej bakterii;
- przeprowadza barwienie metodą Grama;
- rozpoznaje na preparacie mikroskopowym bakterie Gram-dodatnie i Gram-ujemne;
- wyjaśnia zasadę podziału bakterii na dwie grupy: Gram-dodatnich i Gram-ujemnych;
- uzasadnia znaczenie barwienia bakterii metodą Grama.

Strategie nauczania:

- konstruktywizm;
- strategia eksperymentalno-obszawacyjna.

Metody i techniki nauczania:

- modelowanie, pokaz;
- wirtualne laboratorium;
- obserwacja bezpośrednia.

Formy pracy:

- praca indywidualna;
- praca w grupach;
- praca w parach;
- praca całego zespołu klasowego.

Środki dydaktyczne:

- komputery z głośnikami i dostępem do internetu, słuchawki;

- zasoby multimedialne zawarte w e-materiale;
- tablica interaktywna/tablica, pisak/kreda;
- preparaty trwale wybarwionych bakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych;
- mikroskopy świetlne.

Przed lekcją

Wykorzystując wiedzę zdobytą na poprzedniej lekcji, uczniowie przygotowują w grupach z dowolnych materiałów model ściany komórkowej bakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych.

Przebieg zajęć

Faza wstępna

1. Nauczyciel wybiera grupę, która demonstruje i opisuje model budowy wylosowanej ściany komórkowej bakterii: Gram-dodatniej lub Gram-ujemnej. Inna wybrana grupa przedstawia i omawia drugi rodzaj ściany komórkowej bakterii. Nauczyciel ocenia prace uczniów. Uczniowie wykonują ćwiczenia interaktywne nr 1 i 2.

Faza realizacyjna

1. Nauczyciel prezentuje postać Hansa Christiana Grama.
2. Uczniowie, pracując indywidualnie, przeprowadzają doświadczenie opisane w wirtualnym laboratorium. Na przygotowanych kartach pracy uzupełniają wyniki i wniosek z doświadczenia.
3. Każda para uczniów przeprowadza obserwację mikroskopową preparatu trwałego bakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych. Zadaniem uczniów jest wykonanie na karcie pracy dokumentacji obserwacji w postaci rysunku biologicznego. Karty pracy oddają nauczycielowi do oceny.

Faza podsumowująca

1. Nauczyciel prosi uczniów, aby wyszukali (np. w internecie) i zaprezentowali informacje na temat praktycznego zastosowania barwienia metodą Grama.
2. W ramach podsumowania nauczyciel prosi uczniów, by każdy z nich ułożył pytanie testowe jednokrotnego wyboru. Pytanie ma odnosić się do zagadnień poruszanych na lekcji. Następnie uczniowie w parach wymieniają się zadaniami. Nauczyciel czuwa nad poprawnością wykonania zadania.

Praca domowa

Uczniowie wykonują ćwiczenia nr 7 i 8.

Materiały pomocnicze

Załącznik 1. Karta pracy.

Plik o rozmiarze 78.87 KB w języku polskim

Wskazówki metodyczne opisujące różne zastosowania wirtualnego laboratorium

Wirtualne laboratorium powinno zostać wykorzystane w fazie realizacyjnej lekcji. Każdy uczeń powinien samodzielnie, w określonym przez nauczyciela czasie, przeprowadzić wirtualne barwienie bakterii.