



PRÁCTICA DE LABORATORIO BIOLOGÍA Y GEOLOGÍA 1º BACHILLERATO

OBSERVACIÓN DE BACTERIAS MEDIANTE TINCIÓN GRAM

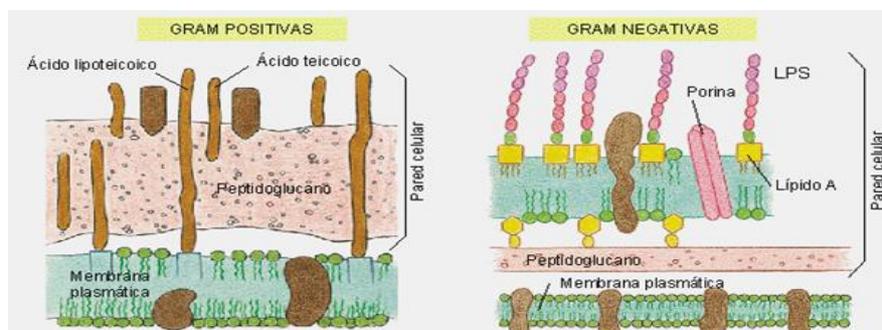
OBJETIVOS

- Identificar bacterias del yogur y/o del sarro dental mediante tinción diferencial de Gram.
- Iniciarse en las técnicas para microscopía óptica.

FUNDAMENTO

La pared celular de la mayor parte de las bacterias, las denominadas eubacterias, es de naturaleza mureínica, es decir, uno de sus componentes principales es el peptidoglicano. Dentro de las eubacterias, se distinguen dos tipos de pared celular: de tipo grampositivo y gramnegativo.

Las bacterias gramnegativas presentan dos membranas lipídicas entre las que se localiza una fina pared celular de peptidoglicano, mientras que las bacterias grampositivas presentan sólo una membrana lipídica y la pared de peptidoglicano es mucho más gruesa.



La tinción de Gram es un método de tinción diferencial que utiliza un colorante fundamental, el **crystal de violeta**, y un colorante de contraste, la **safranina** (de color rosáceo). Las células grampositivas se observan al microscopio de color violeta, mientras que las células gramnegativas, incapaces de retener el colorante fundamental tras la decoloración con alcohol, presentan color rosáceo.



MATERIALES

- Yogur natural
- Agua
- Portaobjetos
- Cubreobjetos
- Microscopio
- Cristal de violeta

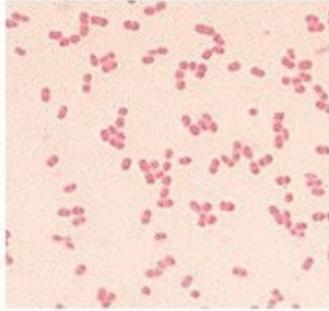
- Lugol
- Alcohol- acetona
- Safranina
- Mechero de alcohol

METODOLOGÍA

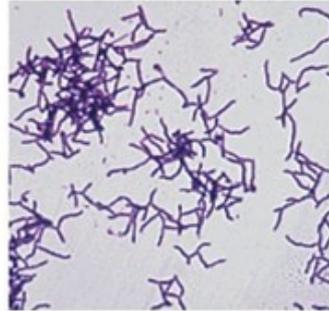
1. Se disuelve una pequeña cantidad de yogur y otra de sarro dental en sendas gotas de agua.
2. Se realiza un frotis sobre un portaobjetos limpio y se extiende bien la gota de agua que contiene las bacterias. Se deja secar al aire hasta que forme una película seca.
3. Se fija el frotis pasando rápidamente el portaobjetos varias veces por la llama de un mechero.
4. Tras la fijación, se tiñe la preparación con cristal de violeta y se deja actuar durante 1 minuto.
5. Lavar el exceso de colorante suavemente con agua corriente.
6. Cubrir la preparación con lugol, escurrir y volver a cubrirla dejando actuar el lugol durante 1 minuto.
7. Lavar con agua nuevamente.
8. Decolorar dejando caer alcohol- acetona gota a gota sobre el portaobjeto inclinado, hasta que no se desprenda color. No superar 1 minuto con la decoloración. Lavar con agua (opcional).
9. Cubrir la preparación con safranina dejando actuar durante 1 minuto y lavar suavemente con agua para eliminar el exceso de colorante.
10. Secar al aire o con ayuda de un papel de filtro. Colocar un cubreobjetos en cada preparación.
11. Observar las preparaciones al microscopio.

ACTIVIDADES

- 1) ¿Qué diferencias hay entre la pared bacteriana grampositiva y la pared bacteriana gramnegativa?
- 2) Explica por qué es necesario utilizar la safranina si anteriormente se han teñidos con cristal de violeta.
- 3) Pon dos ejemplos de bacterias de ambos tipos.
- 4) Haz un dibujo de las preparaciones observadas al microscopio e indica el número de aumentos con los que has hecho la observación.



Gram-negativo



Gram-positivo