صبغ الابواغ Spores staining

الابواغ Spores : وهي تراكيب خلوية هاجعة (غير فعالة ايضياً) تتكون في طور الثبات (الطور الثالث من اطوار دورة حياة البكتريا) نتيجة لنفاذ المواد المغذية في الوسط وخصوصاً C و N .

والابواغ مقاومة لظروف الاجهاد البيئي كانعدام المغذيات والحرارة العالية والواطئة والملوحة والحموضة والابواغ في البكتريا من النوع الداخلي (سبورات داخلية Endospores) اي تتكون داخل الخلية الام وتتحرر بعد موتها وتحللها . والابواغ اكثر كسرا للضوء من الخلية البكتيرية لذلك تبدو اكثر لمعاناً وبريقاً.
واشهر الاجناس البكتيرية المكونة للسبورات :

Bacillus, Clostridium, Sporosarcina, Sporolactobacillus, Desulfomoculatum

ان مقاومة السبور للظروف البيئية القاسية يعود لـ :

1- جدار السبور سميك يتالف من اربع طبقات ويحتوي كمية قليلة من الماء الحر .

2- قلة الماء بالسايتوبلازم .

3- وجود مادة Calcium Dipicolinate في جدار السبور، ويعزى اليه تحمل الحرارة العالية .

4- تحتوي انزيمات ثابتة بالحرارة Thermo stable Enzymes والمادة النووية DNA (صفات الام) ولاتحتوي mRNA .

موقع السبورة في الخلية البكتيرية:

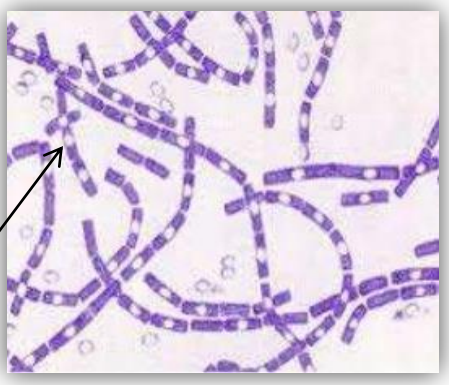
ان مكان السبور مهم ويساعد في تشخيص بعض انواع البكتريا ويقسم حسب الموقع الى :

1- السبور النهائي terminal spore او الطرفي وهو موجود في نهاية الخلية الخضرية وتكون البكتريا تشبه عصا الطبل drumstick مثل بكتريا ***Clostridium tetani*** المسببة لمرض الكزاز.

السبور الطرفي في بكتريا الكزاز

2- السبور شبه النهائي Sub terminal spore البوغ قرب نهاية الخلية كما في *Bacillus subtilis*

3- السبور المركزي Central spore كما في بكتريا الجمرة الخبيثة *Bacillus anthracis* .



(السبور المركزي في بكتريا ***Bacillus anthracis***)

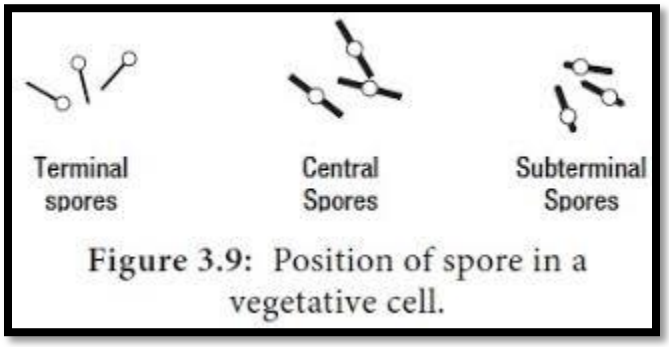


Figure 3.9: Position of spore in a vegetative cell.

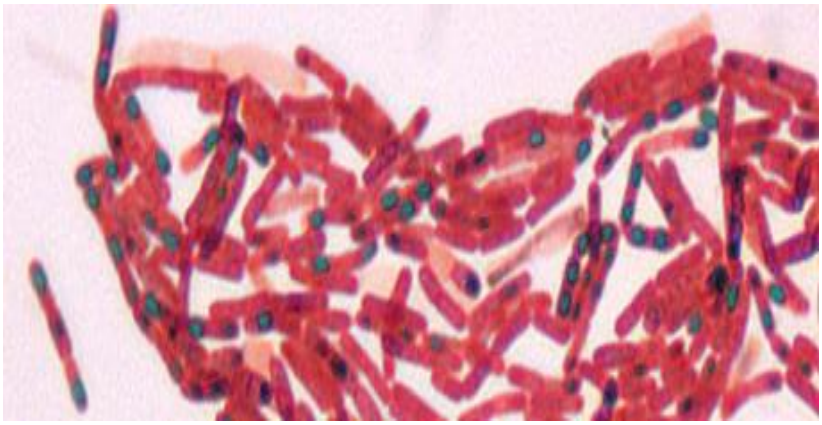
طريقة العمل Procedures :

1- نحضر غشاء من بكتريا Bacillus .

2- نضيف صبغة Malachite green الخضراء تركيز 5% .

3- يوضع السلايد على مصدر حراري لغرض التثبيت لمدة 5-10 دقائق ، مع عدم ترك الصبغة تجف ثم نبرد الشريحة بدرجة حرارة الغرفة ثم نغسل بالماء لمدة نصف دقيقة .(تستعمل الحرارة لاجل دخول الصبغة الى داخل البوغ).

4- نضيف الصبغة الحمراء السفرانين لمدة 1-2 دقيقة ونجفف ونفحص تحت العدسة الزيتية. فيظهر السبور باللون الاخضر والخلايا حمراء .



الابواغ في بكتريا ***Bacillus subtilis*** كما تبدو تحت المجهر

ملاحظة :الجدول التالي يوضح نوع الصبغة واللون الذي يظهر فيه كل من السبور والخلايا الخضرية .

	نوع الصبغة	لون البوغ	لون الخلية الخضرية
1-	الكاربول فوكسين (فوشين)	احمر	زرقاء
2-	صبغة گرام	عديم اللون (شفاف)	حمراء
3-	المالاكايت الاخضر	اخضر	احمر