

[www.mientayvn.com](http://www.mientayvn.com)

Dịch tiếng anh chuyên ngành khoa học tự nhiên và kỹ thuật.

Dịch các bài giảng trong chương trình học liệu mở của học viện MIT, Yale.

Tìm và dịch tài liệu phục vụ cho sinh viên làm seminar, luận văn.

Tại sao mọi thứ đều miễn phí và chuyên nghiệp ???

**Trao i tr c tuy n t i:**

[www.mientayvn.com/chat\\_box\\_sinh.html](http://www.mientayvn.com/chat_box_sinh.html)

**TRƯỜNG ĐẠI HỌC CẦN THƠ  
KHOA THỦY SẢN**



**Giáo trình**

# **VI SINH ĐẠI CƯƠNG**

**Ts. Đặng Thị Hoàng Oanh**

**2008**

# **THÔNG TIN VỀ TÁC GIẢ**

## **PHẠM VI VÀ ĐỐI TƯỢNG SỬ DỤNG**

### **CỦA GIÁO TRÌNH**

#### **1. THÔNG TIN VỀ TÁC GIẢ**

Họ và tên tác giả: Ts. Đặng Thị Hoàng Oanh

Sinh năm 1969

Cơ quan công tác: Bộ môn sinh học và bệnh thuỷ sản, Khoa Thuỷ sản

Đại học Cần Thơ

E-mail:

#### **2. PHẠM VI VÀ ĐỐI TƯỢNG SỬ DỤNG**

Sinh viên ngành: Nuôi trồng thuỷ sản và bệnh học thuỷ sản

Dùng cho các trường Cao đẳng và đại học

Từ khoá: vi sinh vật, vi khuẩn, vi-rút, vi nấm, nguyên sinh động vật,

Vi khuẩn lam, vi sinh vật nước

Yêu cầu kiến thức trước khi học: sinh học cơ bản, sinh hoá

# MỤC LỤC

THÔNG TIN VỀ TÁC GIẢ .....	1
1. THÔNG TIN VỀ TÁC GIẢ .....	1
2. PHẠM VI VÀ ĐỐI TƯỢNG SỬ DỤNG.....	1
MỤC LỤC .....	2
GIỚI THIỆU .....	5
Chương 1 MỞ ĐẦU.....	6
1.1 VI SINH VẬT VÀ VI SINH VẬT HỌC .....	6
1.2 VAI TRÒ CỦA VI SINH VẬT TRONG TỰ NHIÊN VÀ ĐỐI VỚI ĐỜI SỐNG CON NGƯỜI.....	7
1.3 LỊCH SỬ PHÁT TRIỂN CỦA VI SINH VẬT HỌC .....	8
Chương 2 VI SINH VẬT NHÂN NGUYÊN.....	14
2.1 VI KHUẨN THẬT.....	14
2.1.1 Vi khuẩn .....	14
2.1.1.1 Kích thước và hình dạng .....	14
2.1.1.2 Cấu tạo tế bào.....	16
2.1.2 Xạ khuẩn.....	23
2.1.3 Vi khuẩn lam .....	24
2.1.4 Vi khuẩn nguyên thủy .....	26
2.1.4.1 Mycoplasma .....	26
2.1.4.2 Ricketxi .....	27
2.1.4.3 Clamydia .....	28
2.2 VI KHUẨN CỎ.....	28
2.2.1 Vi khuẩn sinh khí mêtan.....	28
2.2.2 Vi khuẩn ưa mặn .....	28
2.2.3 Vi khuẩn ưa nhiệt .....	29
Chương 3 VI SINH VẬT NHÂN THẬT.....	30
3.1 VI NẤM.....	30
3.1.1 Đặc điểm chung của vi nấm .....	30
3.1.2 Nấm men .....	31
3.1.2.1 Hình thái của nấm men .....	31
3.1.2.2 Sinh sản của nấm men.....	32
3.1.3 Nấm sợi.....	33
3.1.3.1 Hình thái và cấu trúc của nấm sợi .....	33
3.1.3.2 Sinh sản của nấm sợi.....	35
3.2 MỘT SỐ NGUYÊN SINH ĐỘNG VẬT .....	36
3.3 TẢO .....	38
Chương 4 VIRUT.....	41
4.1 LỊCH SỬ PHÁT HIỆN VIRUT .....	41
4.2 MỘT SỐ ĐẶC TÍNH CỦA VIRUT .....	41
4.3 HÌNH THÁI VÀ CẤU TẠO CỦA VIRUT .....	42
4.3.1 Kích thước và hình dạng của virut .....	42
4.3.2 Cấu tạo của virut.....	42
4.3.2.1 Axit nucleic (lõi) .....	42
4.3.2.2 Vỏ protein (capsit).....	43
4.3.2.3 Màng bao.....	44

4.3.3	Cấu tạo của thể thực khuẩn .....	44
4.3.4	Các dạng cấu trúc đối xứng của virut.....	44
4.3.4.1	Virut đối xứng xoắn .....	44
4.3.4.2	Virut đối xứng khối .....	46
4.3.4.3	Virut đối xứng phức hợp .....	47
4.4	CÁC HÌNH THỨC SAO CHÉP CỦA VIRUT .....	48
4.4.1	Sao chép ở virut động và virut thực vật .....	48
4.4.1.1	Giai đoạn hấp thụ trên bề mặt của tế bào ký chủ .....	48
4.4.1.2	Giai đoạn xâm nhập vào bên trong tế bào chủ .....	48
4.4.1.3	Giai đoạn tổng hợp các thành phần của virut.....	49
4.4.1.4	Giai đoạn lắp ráp .....	50
4.4.1.5	Giai đoạn phóng thích .....	50
4.4.2	Sự sao chép của thể thực khuẩn (phage) .....	51
4.4.2.1	Các giai đoạn của chu trình tan .....	51
4.4.2.2	Các giai đoạn của chu trình tiềm tan .....	52
Chương 5	DINH DƯỠNG CỦA VI SINH VẬT .....	55
5.1	DINH DƯỠNG CỦA VI SINH VẬT .....	55
5.2	NGUỒN THỨC ĂN CABON CỦA VI SINH VẬT .....	56
5.3	NGUỒN THỨC ĂN NITƠ CỦA VI SINH VẬT .....	57
5.4	NGUỒN THỨC ĂN KHOÁNG CỦA VI SINH VẬT .....	58
5.5	NHU CẦU VỀ CHẤT SINH TRƯỞNG CỦA VI SINH VẬT .....	58
5.6	CƠ CHẾ VẬN CHUYỂN CÁC CHẤT QUA MÀNG TẾ BÀO VI SINH VẬT .....	60
5.7	MÔI TRƯỜNG NUÔI CẤY VI SINH VẬT .....	60
Chương 6	SINH TRƯỞNG VÀ PHÁT TRIỂN CỦA VI SINH VẬT .....	61
6.1	ĐƯỜNG CONG SINH TRƯỞNG CỦA VI SINH VẬT.....	61
6.1.1	Giai đoạn chuẩn bị (pha lag): .....	62
6.1.2	Giai đoạn tăng trưởng nhảy vọt (pha log): .....	62
6.1.3	Giai đoạn ổn định (pha ổn định): .....	62
6.1.4	Giai đoạn chết (pha tử vong):.....	62
6.2	CÁC PHƯƠNG PHÁP XÁC ĐỊNH SỰ TĂNG TRƯỞNG VÀ PHÁT TRIỂN CỦA VI SINH VẬT .....	62
6.2.1	Các phương pháp xác định số lượng tế bào .....	62
6.2.2	Các phương pháp xác định sinh khối tế bào.....	63
6.2.2.1	Các phương pháp trực tiếp .....	63
6.2.2.2	Các phương pháp gián tiếp.....	64
6.3	ẢNH HƯỞNG CỦA CÁC YẾU TỐ BÊN NGOÀI LÊN SỰ PHÁT TRIỂN CỦA VI SINH VẬT.....	64
6.3.1	Cơ chế tác dụng của các yếu tố bên ngoài lên vi khuẩn.....	64
6.3.1.1	Phá hủy thành tế bào: .....	64
6.3.1.2	Biến đổi tính thấm của màng tế bào chất: .....	65
6.3.1.3	Thay đổi đặc tính keo của nguyên sinh chất: .....	65
6.3.1.4	Kìm hãm hoạt tính:.....	65
6.3.1.5	Hủy hoại các quá trình tổng hợp: .....	65
6.3.2	Các yếu tố vật lí.....	65
6.3.2.1	Độ ẩm .....	65
6.3.2.2	Nhiệt độ .....	65
6.3.2.3	Áp lực và áp suất thẩm thấu .....	67
6.3.2.4	Âm thanh .....	67

6.3.2.5	Sức căng bề mặt .....	67
6.3.2.6	Các tia bức xạ .....	67
6.3.3	Các yếu tố hoá học .....	68
6.3.3.1	Ảnh hưởng của pH môi trường: .....	68
6.3.3.2	Oxi .....	69
6.3.3.3	các chất diệt khuẩn (sát trùng) .....	69
6.3.4	Các yếu tố sinh học .....	70
Chương 7	DI TRUYỀN CỦA VI SINH VẬT .....	71
7.1	CÁC ĐẶC ĐIỂM CHUNG VỀ DI TRUYỀN CỦA VI SINH VẬT .....	71
7.2	DI TRUYỀN Ở VIRUT .....	72
7.3	DI TRUYỀN Ở VI KHUẨN .....	73
7.3.1	Hiện tượng biến nạp .....	73
7.3.2	Hiện tượng tải nạp .....	75
7.3.2.1	Tải nạp không đặc hiệu .....	75
7.3.2.2	Tải nạp đặc hiệu .....	75
7.3.3	Hiện tượng tiếp hợp .....	76
7.4	DI TRUYỀN Ở VI SINH VẬT NHÂN THẬT .....	78
7.5	ĐỘT BIẾN VÀ SỰ PHÁT SINH ĐỘT BIẾN .....	79
Chương 8	SINH CẢNH VÀ VAI TRÒ CỦA VI SINH VẬT NƯỚC .....	81
8.1	SINH CẢNH VÀ SỰ PHÂN BỐ CỦA VI SINH VẬT NƯỚC .....	81
8.1.1	Sinh cảnh của vi sinh vật nước .....	81
8.1.2	Sự phân bố của vi sinh vật trong thủy vực .....	82
8.2	VAI TRÒ CỦA VI SINH VẬT TRONG CÁC VÙNG NƯỚC .....	83
8.2.1	Tham gia phân giải chất hữu cơ trong thủy vực .....	83
8.2.2	Tham gia các vòng tuần hoàn vật chất trong thủy vực .....	84
8.2.2.1	Vòng tuần hoàn cac bon .....	84
8.2.2.2	Vòng tuần hoàn oxy .....	86
8.2.2.3	Vòng tuần hoàn nitơ .....	86
8.2.2.4	Vòng tuần hoàn lưu huỳnh .....	87
8.2.3	Vai trò của vi sinh vật trong chuỗi dinh dưỡng của thủy vực .....	88
8.2.4	Tham gia vào sự lắng cặn .....	89
8.2.5	Vi sinh vật và sự làm bẩn nước .....	90
8.2.6	Vi sinh vật là các tác nhân gây bệnh trong nước .....	91
8.2.7	Vi sinh vật và sự tự làm sạch các nguồn nước .....	91
Chương 9	MÀM BỆNH VI SINH VẬT VÀ CƠ CHẾ BẢO VỆ CỦA VẬT CHỦ .....	93
9.1	MÀM BỆNH VI SINH VẬT .....	93
9.1.1	Mầm bệnh vi khuẩn .....	93
9.1.2	Mầm bệnh nấm .....	94
9.1.3	Mầm bệnh virut .....	95
9.2	MIỄN DỊCH HỌC .....	96
9.2.1	Các loại miễn dịch .....	96
9.2.1.1	Miễn dịch tự nhiên (bẩm sinh) .....	96
9.2.1.2	Miễn dịch thu được .....	96
9.2.2	Các cơ chế miễn dịch trong cơ thể sinh vật .....	97
9.2.2.1	Miễn dịch do các tế bào đặc biệt .....	97
9.2.2.2	Kháng nguyên, kháng thể và các phản ứng huyết thanh .....	98

# GIỚI THIỆU

Vi sinh đại cương là môn học cơ sở cung cấp những kiến thức cơ bản cho sinh viên chuyên ngành nuôi trồng thủy sản và môi trường. Là cơ sở để sinh viên tiếp thu kiến thức các môn học chuyên ngành như bệnh học thủy sản, dinh dưỡng, quản lý môi trường và động thái ao nuôi thủy sản. Để học tốt môn vi sinh đại cương, sinh viên cần phải có kiến thức cơ bản về di truyền, sinh học và sinh hóa học đại cương.

Phần lý thuyết của giáo trình được biên soạn tập trung vào hai phần chính là phần vi sinh vật học đại cương và vi sinh vật nước. Nội dung môn học bao gồm những kiến thức về lịch sử quá trình phát sinh và phát triển của ngành vi sinh vật, những thành tựu đã đạt được và những triển vọng của ngành vi sinh vật đối với đời sống và sản xuất. Trọng tâm của môn học đi sâu vào những kiến thức về cấu trúc, chức năng và các hoạt động sống của vi sinh vật. Môn học cũng đề cập đến mối quan hệ giữa vi sinh vật với các yếu tố môi trường và vai trò của vi sinh vật trong môi trường nước.

Phần tài liệu tham khảo sử dụng để xây dựng giáo trình được trình bày sau mỗi chương. Sinh viên có thể tìm thấy các tài liệu này từ thư viện trung tâm hay thư viện Khoa Thủy sản.

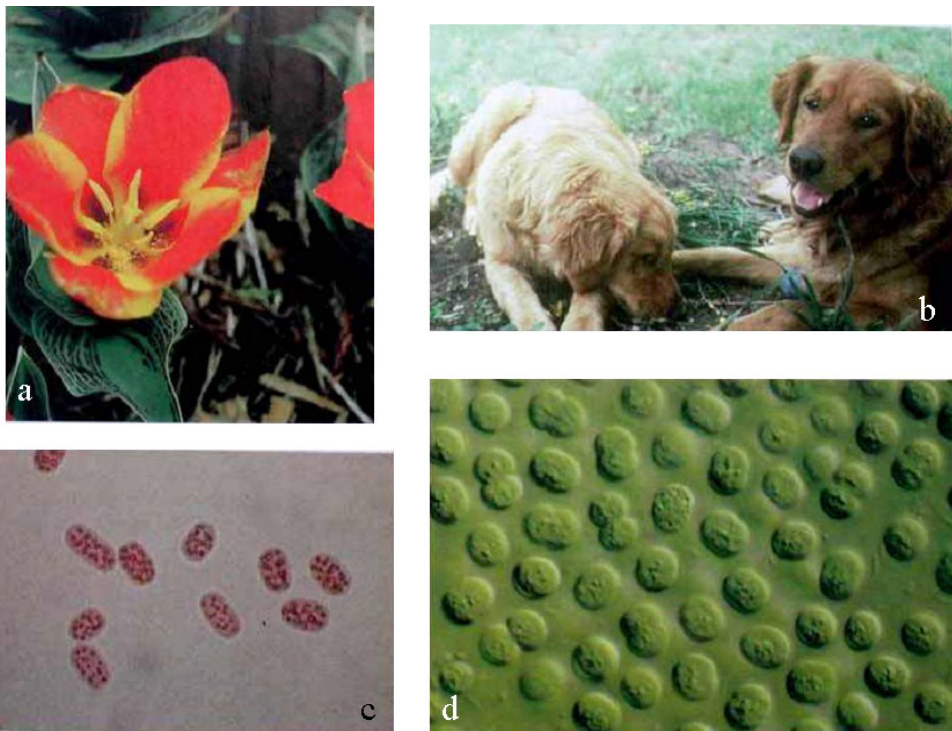
Phần thực hành vi sinh vật học cung cấp những kiến thức hỗ trợ cho phần lý thuyết và cũng là cơ sở để sinh viên tiếp cận các phương pháp cơ bản trong phân tích và nghiên cứu vi sinh vật dùng trong các chuyên ngành môi trường và nuôi trồng thủy sản.

# Chương 1 MỞ ĐẦU

## 1.1 VI SINH VẬT VÀ VI SINH VẬT HỌC

Vi sinh vật học là ngành khoa học chuyên nghiên cứu về vi sinh vật bao gồm: (1) cấu tạo và đời sống của vi sinh vật; (2) đa dạng sinh học và sự tiến hoá của vi sinh vật và (3) vai trò của vi sinh vật trong tự nhiên nhất là trong đời sống của động, thực vật và con người.

Vi sinh vật là các sinh vật có kích thước rất nhỏ muốn thấy rõ được chúng người ta phải sử dụng tới kính hiển vi. Vi sinh vật thường đo bằng micromet ( $\mu\text{m}$ ) hoặc bằng nanomet (nm). Các vi sinh vật thường là đơn bào hoặc đa bào nhưng có cấu trúc đơn giản và rất kém phân hoá. Khác với các tế bào động vật và thực vật, các tế bào vi sinh vật có khả năng sống, phát triển và sinh sản một cách độc lập trong tự nhiên (hình 1).



Hình 1. Cơ thể sinh vật như cây (a) và súc vật (b) có cấu tạo từ nhiều tế bào. Vi sinh vật là những sinh vật đơn bào (c & d).

Trong hệ thống phân loại tổng quát, vi sinh vật được chia thành các nhóm là vi sinh vật nhân nguyên thủy (gồm có vi khuẩn, xạ khuẩn, vi khuẩn lam và vi khuẩn nguyên thủy); vi sinh vật nhân thật (gồm có vi nấm, tảo và một số nguyên sinh động vật); và virút (virút là nhóm vi sinh vật đặc biệt chưa có cấu tạo tế bào và là các vi sinh vật có mức độ tiến hoá thấp nhất).



Các môn học chuyên sâu thuộc ngành vi sinh vật học được phân chia theo từng nhóm vi sinh vật riêng biệt bao gồm virút học, vi khuẩn học, nấm học, tảo học và ký sinh trùng học. Các chuyên ngành nghiên cứu những tính chất riêng biệt của vi sinh vật bao gồm tế bào học, phân loại học, sinh lý học, sinh hóa học, di truyền học vi sinh vật, v.v. Vi sinh vật học có chuyên ngành ứng dụng ở rất nhiều lãnh vực như vi sinh học y học, vi sinh học công nghiệp, vi sinh học thực phẩm, vi sinh học thú y, bệnh lý thực vật, vi sinh học đất, vi sinh học nước, vi sinh học không khí, v.v.

## **1.2 VAI TRÒ CỦA VI SINH VẬT TRONG TỰ NHIÊN VÀ ĐỐI VỚI ĐỜI SỐNG CON NGƯỜI**

Vi sinh vật phân bố ở khắp mọi nơi trên trái đất và rất đa dạng về chủng loài. Tuy nhỏ bé nhất trong sinh giới nhưng năng lực hấp thu và chuyển hóa của vi sinh vật vượt xa các sinh vật bậc cao và chúng có tốc độ tăng trưởng và sinh sôi nảy nở cực kì lớn. Trong quá trình tiến hóa lâu dài vi sinh vật đã tạo cho mình những cơ chế điều hòa trao đổi chất để thích ứng được với những điều kiện sống rất bất lợi. Năng lực thích ứng của vi sinh vật vượt rất xa so với động vật và thực vật. Vi sinh vật rất dễ phát sinh biến dị bởi vì thường là đơn bào, đơn bội, sinh sản nhanh, số lượng nhiều, tiếp xúc trực tiếp với môi trường sống. Do vậy mà vi sinh vật có vai trò quan trọng trong thiên nhiên cũng như trong hoạt động sống của con người.

Trong nông nghiệp, vi sinh vật sống trong đất và trong nước tham gia tích cực vào quá trình phân giải các xác hữu cơ thành  $CO_2$  và các hợp chất vô cơ dùng làm thức ăn cho cây trồng và các sinh vật khác. Các vi sinh vật cố định nitơ thực hiện việc biến khí nitơ trong không khí thành hợp chất nitơ cung cấp cho cây cối. Vi sinh vật còn có khả năng phân giải các hợp chất khó tan chứa P, chứa K, chứa S và tạo ra các vòng tuần hoàn trong tự nhiên. Vi sinh vật tham gia tích cực trong quá trình hình thành chất mùn. Vi sinh vật là nguồn thức ăn tự nhiên quan trọng trong các thủy vực, là thành phần chủ yếu của các chế phẩm sinh học dùng cho việc quản lý môi trường nuôi thủy sản. Một số nhóm vi khuẩn có tác dụng rất lớn trong các hệ thống lọc sinh học.

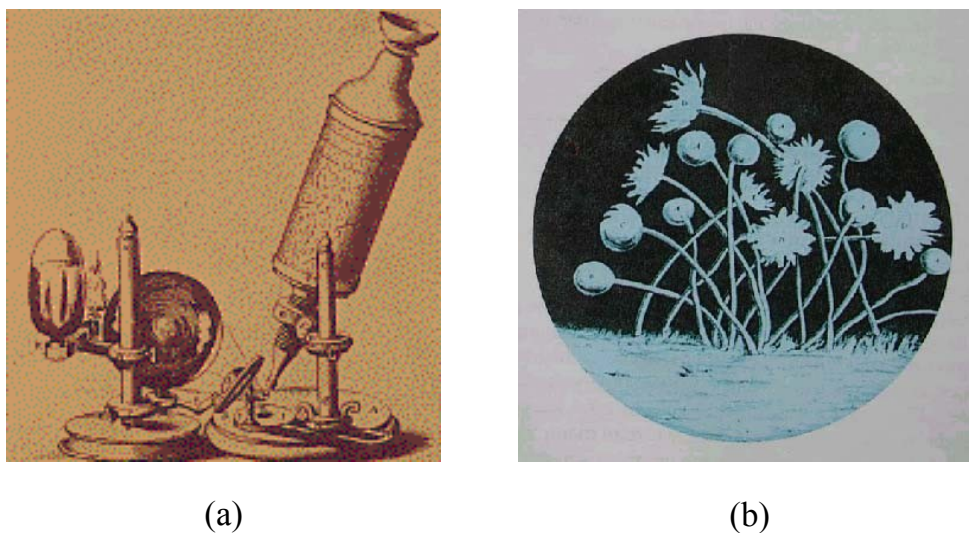
Trong công nghệ thực phẩm, vi sinh vật là lực lượng sản xuất trực tiếp của công nghiệp lên men. Vi sinh vật sinh ra rất nhiều sản phẩm trao đổi chất khác nhau trong số đó có nhiều sản phẩm đa được sản xuất lớn ở qui mô công nghiệp như men bánh mì, rượu etilic, riboflavin, vitamin  $B_2$ , penixilin, streptomixin, oxitetraxilin...

Trong các nguồn năng lượng mà con người có thể khai thác mạnh mẽ trong tương lai có năng lượng thu từ khối lượng chất sống của vi sinh vật. Vi sinh vật là động lực để vận hành các bể sinh khí sinh học. Vi sinh vật có vai trò quan trọng trong việc phân giải các phế thải nông nghiệp, phế thải đô thị, phế thải công nghiệp chúng đóng vai trò hết sức quan trọng trong việc bảo vệ môi trường.

Tuy nhiên, có không ít các vi sinh vật gây bệnh cho người, gia súc, gia cầm, tôm cá và cây trồng. Một số vi sinh vật gây ô nhiễm môi trường. Một số khác hư hao hoặc biến chất lương thực, thực phẩm, nguyên liệu, vật liệu, hàng hóa hay sản sinh các độc tố.

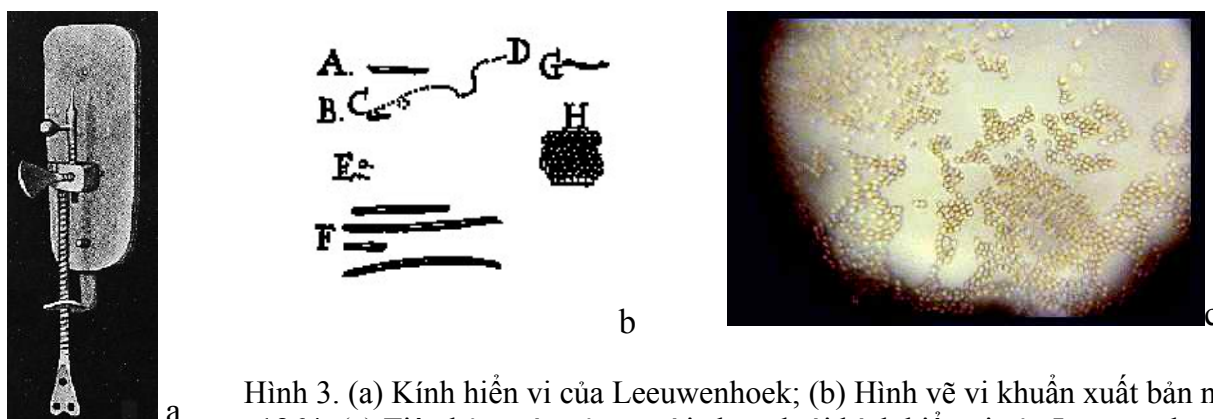
### 1.3 LỊCH SỬ PHÁT TRIỂN CỦA VI SINH VẬT HỌC

Từ cổ xưa, mặc dù chưa nhận thức được sự tồn tại của vi sinh vật, con người đã có kinh nghiệm trong việc lợi dụng các vi sinh vật có ích và phòng tránh các vi sinh vật có hại trong đời sống và sản xuất như nấu rượu, muối dưa, ủ phân. Ngay từ trước Công nguyên đã có những tài liệu đề cập đến bản chất sống của các tác nhân gây bệnh truyền nhiễm. Dần dần con người nhận ra sự có mặt của những sinh vật rất nhỏ không thể nhìn thấy bằng mắt thường, nhưng cho đến năm 1664 điều này mới được xác định khi Robert Hooke (1635-1703) lần đầu tiên mô tả các tế bào nấm mốc được quan sát dưới kính hiển vi (hình 2).



Hình 2. (a) Kính hiển vi do R. Hooke sử dụng mô tả các tế bào nấm mốc; (b) Tế bào nấm mốc mọc trên bề mặt da thuộc.

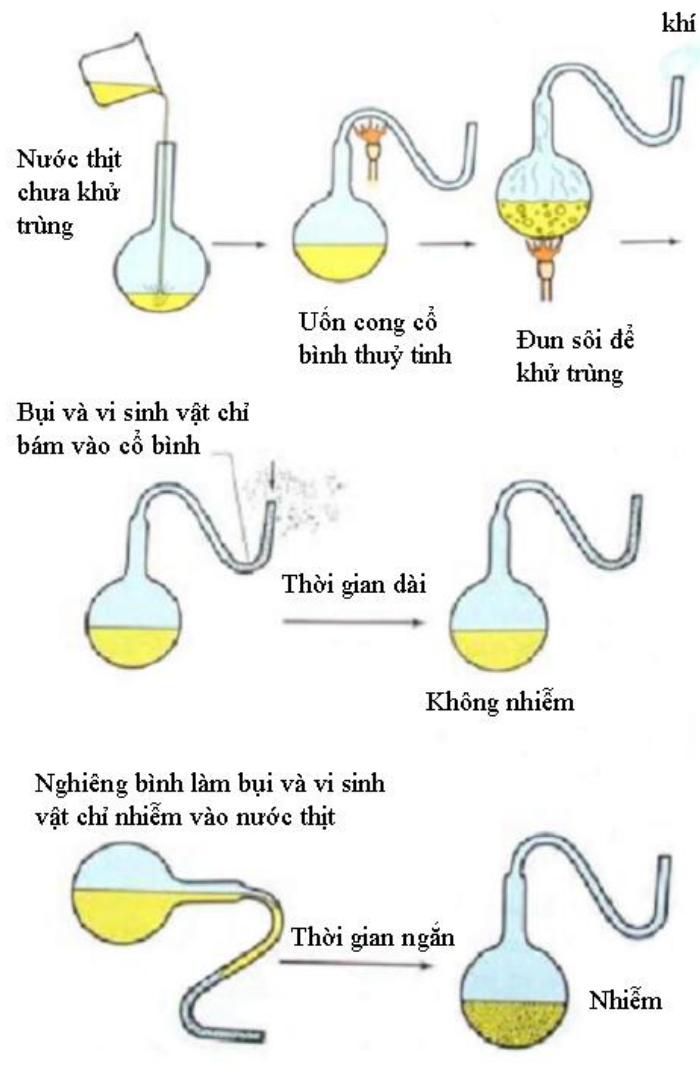
Người đầu tiên nhìn thấy và mô tả chi tiết hình thái nhiều loại vi sinh vật là Anton van Leeuwenhoek (1632-1723) người Hà Lan. Ông là người đầu tiên chế tạo ra những kính hiển vi thô sơ trong đó có những cái có thể phóng đại từ 270-300 lần và Ông đã lần lượt quan sát mọi thứ chung quanh mình và đã nhìn thấy vi khuẩn và ký sinh trùng. Tất cả các quan sát và miêu tả của ông đã được xuất bản vào năm 1684 (hình 3).



Hình 3. (a) Kính hiển vi của Leeuwenhoek; (b) Hình vẽ vi khuẩn xuất bản năm 1864; (c) Tiêu bản máu của người chụp dưới kính hiển vi của Leeuwenhoek.

Những quan sát của Leeuwenhoek được nhiều người khác tiếp tục khẳng định. Tuy nhiên vào thời kỳ này quá trình tìm hiểu về vi sinh vật và tầm quan trọng của chúng trong tự nhiên tiến triển rất chậm. Chỉ tới đầu thế kỷ thứ 19 cùng với sự ra đời của những chiếc kính hiển vi quang học hoàn chỉnh, nghiên cứu về vi sinh vật mới có những bước phát triển rõ rệt.

Người khai sinh ra ngành vi sinh vật học thực nghiệm là nhà khoa học người pháp Louis Pasteur (1822-1895). Ông đã chứng minh vi sinh vật không phải tự sinh ra (ngẫu sinh) bằng các thí nghiệm nổi tiếng với các bình cầu cổ cong (hình 4).



Hình 4. Thí nghiệm của Louis Partuer chứng minh vi sinh vật không phải tự sinh ra.

Ông nhận giải thưởng đặc biệt của Viện Hàn Lâm Khoa học Pháp (1862) về việc phủ nhận học thuyết tự sinh và chứng minh sự có mặt của vi sinh vật trong không khí. Các biện pháp vô trùng trong vi sinh vật học đặc biệt là trong y học và công nghệ thực phẩm đã được phát triển trên cơ sở các thí nghiệm của Ông. Pastuer đã có rất nhiều cống hiến cho vi sinh vật học, nông nghiệp và y học. Nổi bật nhất là việc việc phát triển vaccin phòng bệnh than, vaccin ngừa bệnh chó dại. Ông là người đầu tiên chứng minh cơ sở khoa học của việc chế tạo vaccin.

Tiếp theo Pastuer, nhà bác học Đức Robert Koch (1843-1910) là người có công lớn trong việc phát triển các phương pháp nghiên cứu vi sinh vật. Ông là người đầu tiên nuôi vi khuẩn bệnh than bên ngoài cơ thể sinh vật và chứng minh vi sinh vật là tác nhân gây bệnh.

R. Koch quan sát thấy vi khuẩn gây bệnh than *Bacillus anthracis* (hình 5) luôn có trong máu của bò bị bệnh. Ông lấy một ít máu tiêm vào chuột khỏe thì thấy chuột cũng bị bệnh than và chết. Ông lại lấy máu từ con chuột bị bệnh tiêm vào con chuột khỏe khác. Sau vài lần lập lại như vậy Ông đã có thể tái phân lập được vi khuẩn gây bệnh mà Ông lấy từ con chuột chết vì bệnh than. R. Koch là người đầu tiên chứng minh rằng mỗi loại vi khuẩn gây nên một loại bệnh đặc thù.

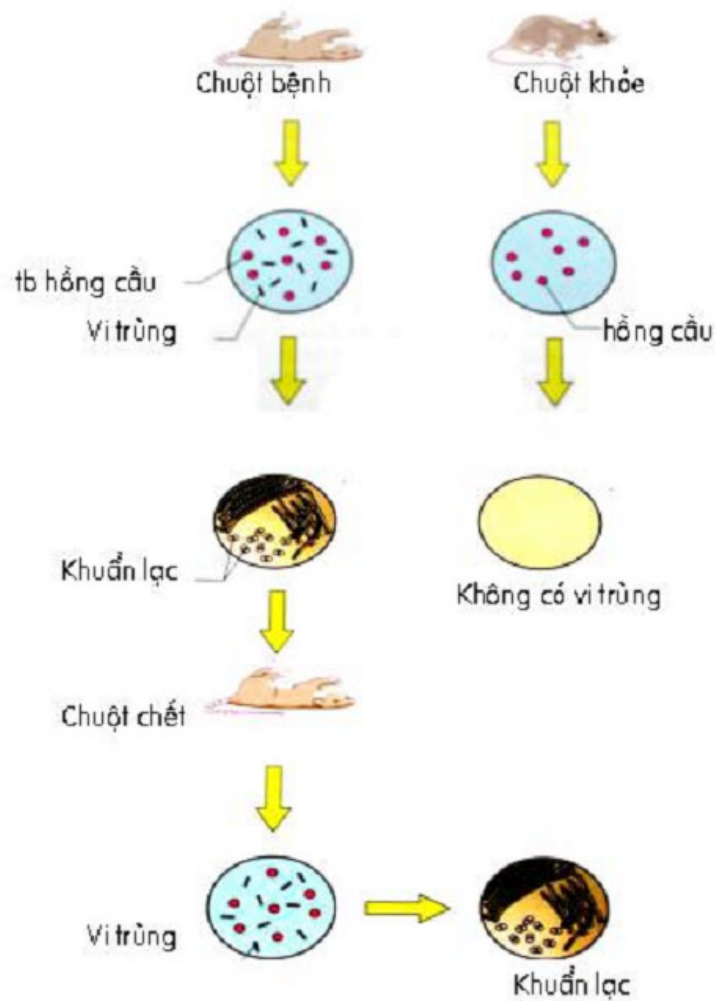


Hình 5. Ảnh chụp *Bacillus anthracis* của Robert Koch.

Năm 1884, R. Koch đưa ra 4 nguyên tắc về tác nhân gây bệnh (hình 6) mà cho đến ngày nay vẫn còn được áp dụng là nguyên tắc chuẩn để chứng minh khả năng gây bệnh đặc trưng của một loài vi sinh vật nào đó. Các nguyên tắc đó là:

- 1. Tác nhân gây bệnh phải luôn được tìm thấy trên sinh vật bị nhiễm bệnh nhưng không có ở sinh vật khỏe**
- 2. Tác nhân gây bệnh phải được nuôi trong điều kiện thực nghiệm bên ngoài cơ thể sinh vật**
- 3. Tác nhân gây bệnh phải có khả năng gây bệnh khi gây nhiễm vào con vật mẫn cảm**
- 4. Tác nhân gây bệnh phải được xác định từ kết quả tái phân lập.**

Các nguyên tắc này là cơ sở khoa học cho việc phòng và trị các bệnh truyền nhiễm có ý nghĩa quan trọng về mặt lâm sàng nhất là trong y học và thú y.



Hình 6. Nguyên tắc về tác nhân gây bệnh của R. Koch.

Năm 1882, R. Koch công bố công trình khám phá ra vi trùng gây bệnh lao (hình 7e) và đặt tên vi trùng này là *Mycobacterium tuberculosis*. Ngoài ra, ông còn tìm ra phương pháp phân lập thuần khiết vi sinh vật trên các môi trường đặc (hình 7 a-d) và đã phát hiện ra phương pháp nhuộm màu vi sinh vật. Ông được nhận giải Nobel y học vào năm 1905. Học trò của R. Koch là Julius Richard Petri (1832-1921) đã phát kiến ra loại hộp lồng làm bằng thủy tinh còn gọi là đĩa petri.

Nhà khoa học Hà Lan Martinus Beijerinck (1851–1931) là người tìm ra phương pháp nuôi tăng sinh bằng môi trường chọn lọc và là người đầu tiên phân lập nhiều loài vi sinh vật trong đất và nước trong đó có vi khuẩn cố định đạm hiếu khí *Azotobacter* (1901), vi khuẩn nốt sần *Rhizobium* (1888), vi khuẩn lên men butylic, vi khuẩn phân giải pectin và nhiều nhóm vi khuẩn khác. Nhà khoa học Pháp gốc Nga Sergei Winogradsky (1856–1953) là người đầu tiên phát hiện ra vi khuẩn sắt (1880), vi khuẩn lưu huỳnh (1887), vi khuẩn nitrat hoá (1890).



(a) *Serratia marcescens*



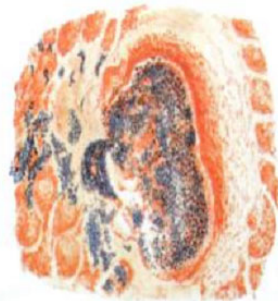
(b) khuẩn lạc chụp gần của *Serratia marcescens*



(c) *Pseudomonas aeruginosa*



(d) *Shigella flexneri*



Lát cắt tế bào phổi nhiễm bệnh lao



Vi trùng lao

(e)

Hình 7. (a-d) mẻ cấy thuần; (e) vi trùng lao

Nhà sinh lí thực vật Nga D. Ivanovskii (1864–1920) và M. Beijerinck là những người đầu tiên chứng minh có sự tồn tại của vi sinh vật nhỏ hơn vi khuẩn, qua được lọc bằng sứ xốp. Năm 1892 ông chứng minh các sinh vật siêu hiển này gây ra bệnh khảm ở thuốc lá. Các vi sinh vật nhỏ bé này được gọi là virut.

Người đầu tiên phát hiện ra chất kháng sinh là bác sĩ người Anh Alexander Flemming (1881–1955). Năm 1928, Ông tách được chủng nấm sinh chất kháng sinh penixilin, mở ra một kỉ nguyên mới cho khả năng đẩy lùi nhanh chóng các bệnh nhiễm khuẩn. Hàng loạt các chất kháng sinh quan trọng khác liên tiếp được phát hiện và được ứng dụng vào các năm tiếp theo.

Năm 1897, Eduerd Buchner (1860–1917) lần đầu tiên chứng minh được vai trò của enzym trong quá trình lên men rượu. Ông đã nghiền nát tế bào nấm men bằng cát thạch anh và lấy chất dịch vô bào chiết rút từ men đưa vào một dung dịch chứa 37% đường, sau nửa giờ đã bắt đầu thấy sản sinh CO<sub>2</sub> và rượu etylic. Khoa học về enzym hình thành và phát triển nhờ vào hàng loạt các thành công tiếp theo. Tính đến năm 1984 người ta đã biết đến 2477 loại Enzim khác nhau và enzym đã có mặt trong rất nhiều hoạt động sản xuất và đời sống của con người. Công nghệ enzym đã trở thành một trong các mũi nhọn của công nghệ sinh học.

Các nhà vi sinh vật còn tạo ra bước ngoặt của di truyền học như chứng minh quá trình biến nạp gen được thực hiện thông qua ADN và vai trò của axitnucleic trong việc chuyên giao thông tin di truyền ở virút. Hiểu biết về cấu trúc, chức năng và các qui luật vận động của vật liệu di truyền đã giúp các nhà khoa học có thể tạo ra các cơ thể hoàn toàn mới lạ một cách chủ động nhờ mang gen tái tổ hợp. Các chủng vi sinh vật được tạo ra nhờ thao tác di truyền có mặt trong đời sống con người ở nhiều lĩnh vực khác nhau như lương thực, thực phẩm, thuốc men và bảo vệ môi trường.

### **Tài liệu tham khảo:**

1. Madigan, M.T., Martinko, J.M. and Parker, J., 2002. Biology of Microorganisms. Tenth edition, Prenhall.
2. Phạm Văn Kim, 2001. Giáo trình vi sinh đại cương. Khoa Nông nghiệp, Đại học Cần thơ.
3. Nguyễn Lâm Dũng, 2000. Vi Sinh Vật học. Nhà xuất bản giáo dục.
4. <http://www.cartage.org.lb/en/themes/sciences/lifescience/generalbiology/microbiology: A brief history of microbiology>.

## Chương 2 VI SINH VẬT NHÂN NGUYÊN

Vi sinh vật nhân nguyên là nhóm vi sinh vật không có màng nhân được chia làm hai nhóm chính là nhóm vi khuẩn thật và nhóm vi khuẩn cổ.

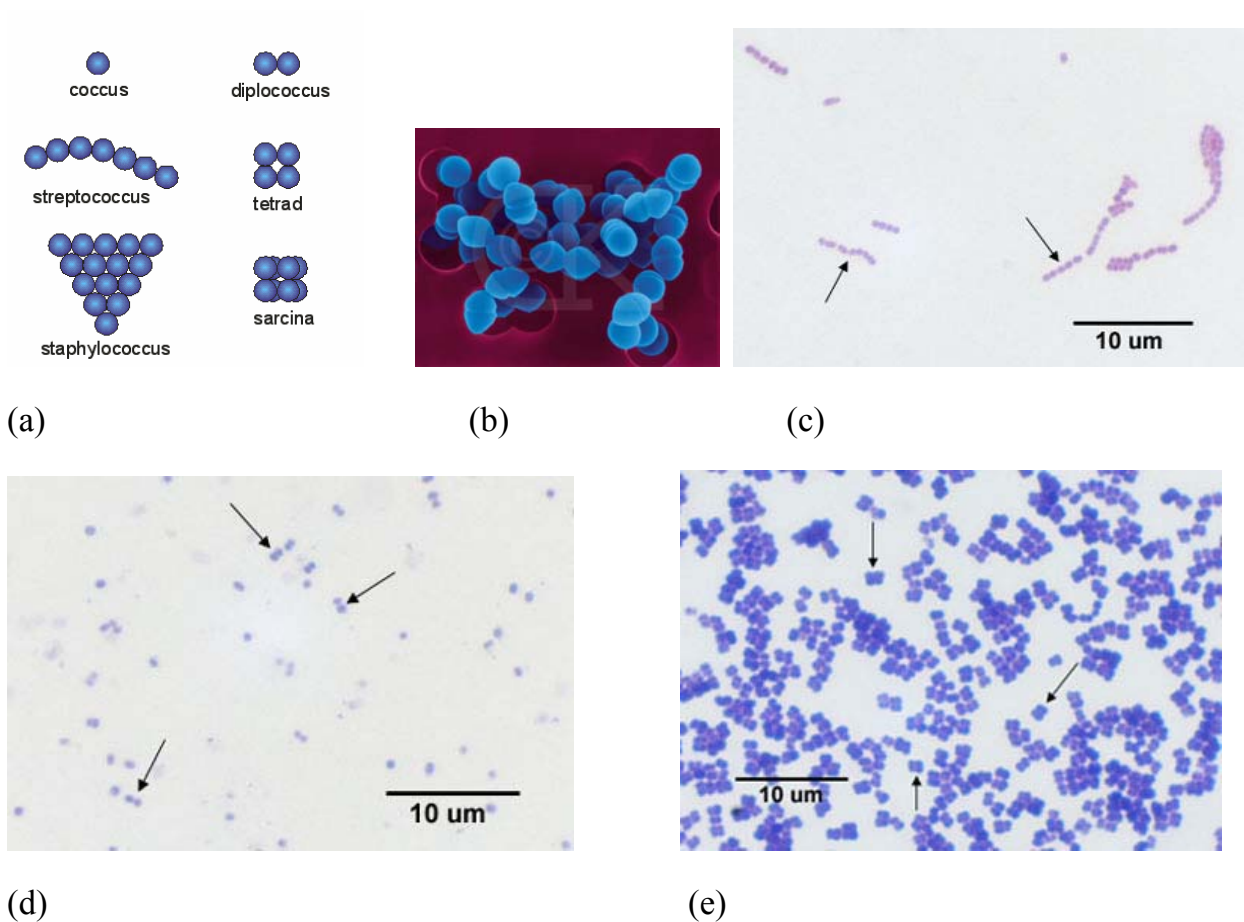
### 2.1 VI KHUẨN THẬT

Bao gồm những nhóm chủ yếu là vi khuẩn, xạ khuẩn, vi khuẩn lam và nhóm vi khuẩn nguyên thủy *Mycoplasma*, *Ricketxi* và *Clamydia*.

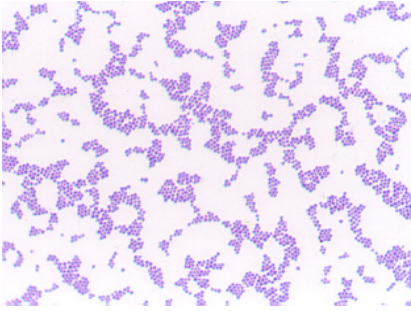
#### 2.1.1 Vi khuẩn

##### 2.1.1.1 Kích thước và hình dạng

Đường kính của vi khuẩn dao động từ 0,2-2,0  $\mu\text{m}$ , chiều dài cơ thể khoảng 2,0-8,0  $\mu\text{m}$ . Vi khuẩn có ba hình dạng chủ yếu là hình cầu, hình que và hình xoắn.

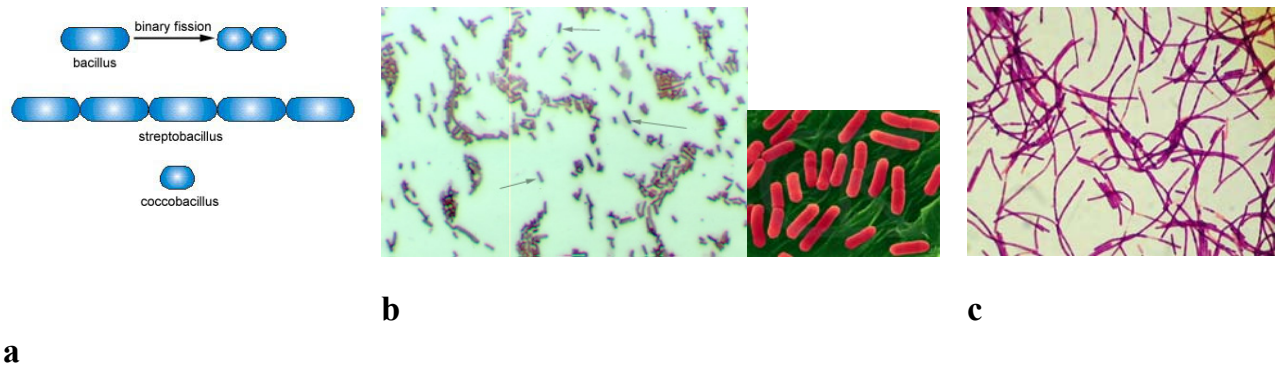




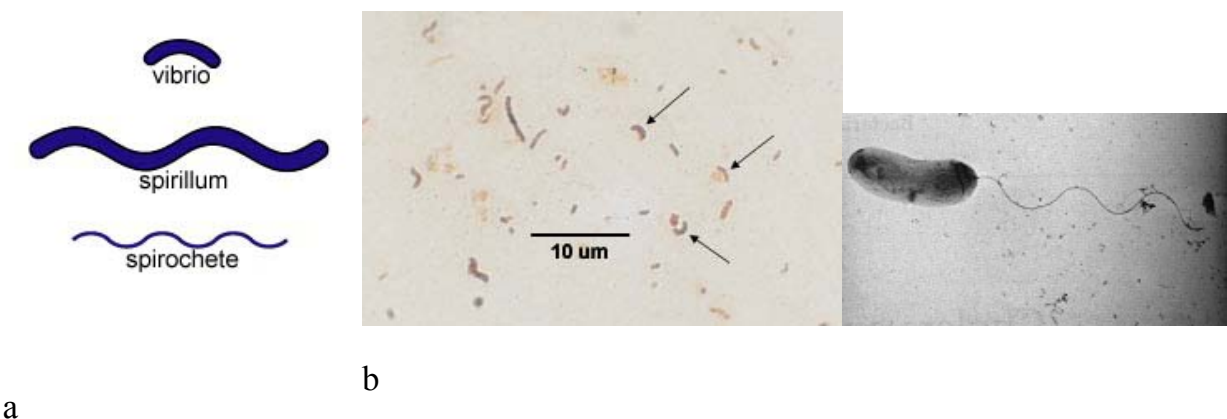


Hình 8. (a) Các dạng cầu khuẩn, (b) Cầu khuẩn *Enterococcus faecium*, (c) liên cầu khuẩn *Streptococcus*, (d) Song cầu khuẩn *Diplococcus*, (e) tứ cầu khuẩn, (f) tụ cầu khuẩn *Staphylococcus*.

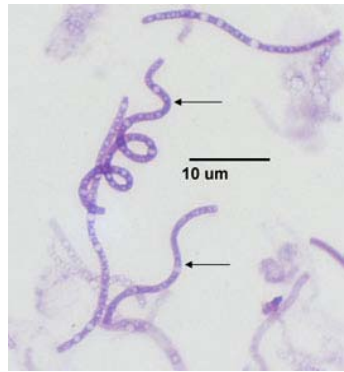
Ở vi khuẩn hình cầu (cầu khuẩn) tùy theo phương hướng của mặt phẳng phân cắt và cách liên kết mà ta có song cầu khuẩn, liên cầu khuẩn, tứ cầu khuẩn hay tụ cầu khuẩn (hình 8). Vi khuẩn hình que (trực khuẩn) cũng có dạng đơn, dạng đôi hay dạng chuỗi (hình 9). Ở vi khuẩn hình xoắn (còn gọi là xoắn khuẩn) có các dạng hình dấu phẩy (phẩy khuẩn), hình xoắn thưa (xoắn khuẩn), hình xoắn khít (xoắn thể) (hình 10). Ngoài ra còn các hình dạng khác như hình khối vuông, khối tam giác, vi khuẩn dạng sợi.



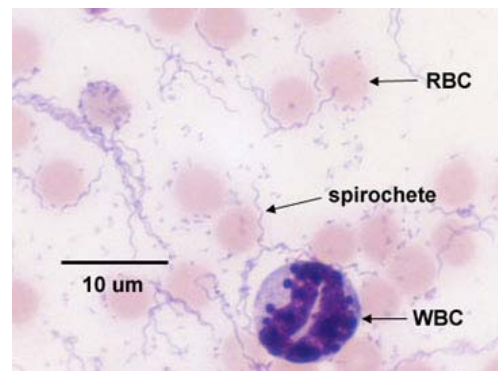
Hình 9. (a) Các dạng trực khuẩn, (b) trực khuẩn *E. coli*, (c) trực khuẩn dạng chuỗi.



Hình 10. (a) Các dạng xoắn khuẩn, (b) phẩy khuẩn *Vibrio cholera*, (c) xoắn khuẩn *Spirillum* (d) xoắn thể Spirochete.



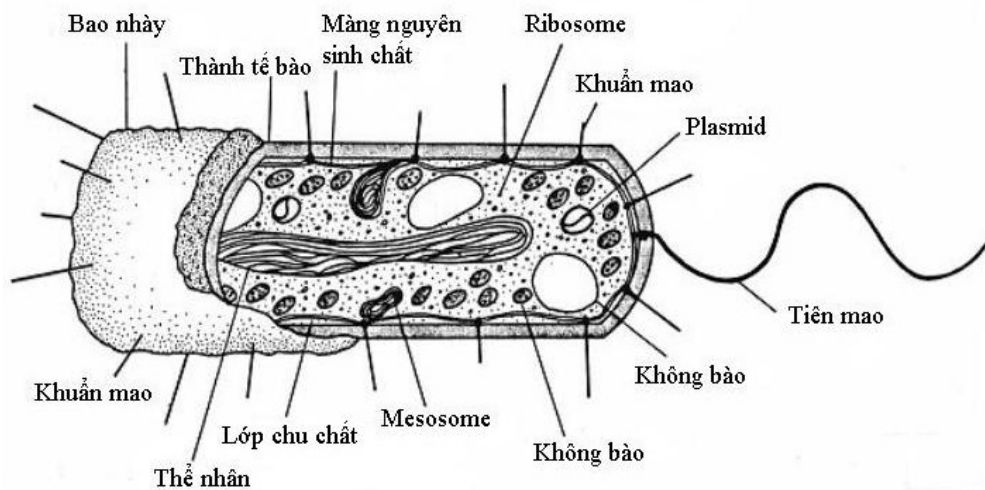
c



d

### 2.1.1.2 Cấu tạo tế bào

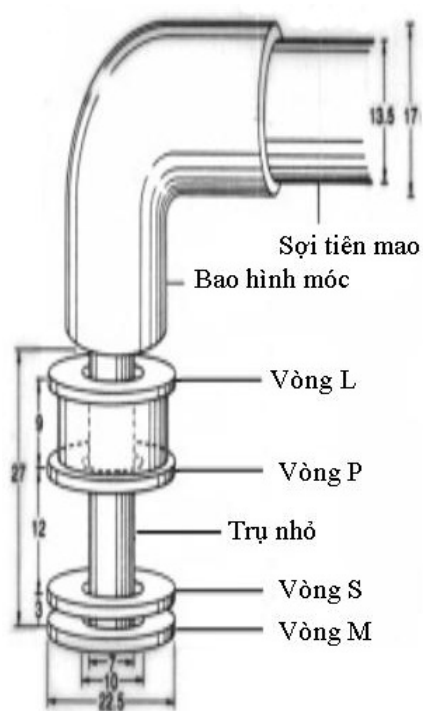
Về mặt cấu trúc, tế bào vi sinh vật nhân nguyên chia thành ba phần (hình 11). Phần vỏ bao gồm bao nhày, thành tế bào và màng tế bào chất. Phần tế bào chất bao gồm hệ gen của tế bào, ribosom và các thành phần khác. Phần gắn vào mặt ngoài tế bào có tiên mao và khuẩn mao.



Hình 11. Sơ đồ cấu trúc của tế bào vi sinh vật nhân nguyên.

#### 2.1.1.2.1 Tiên mao

Tiên mao (roi) là những sợi lông dài mọc ở mặt ngoài của vi khuẩn có tác dụng giúp cho chúng di chuyển trong môi trường lỏng. Đường kính của tiên mao thường là khoảng 20nm nên không thể quan sát dưới kính hiển vi thường.



Vi khuẩn có thể có hoặc không có tiên mao, số lượng và vị trí gắn của tiên mao trên tế bào vi khuẩn có giá trị trong phân loại và định tên vi khuẩn.

Các vị trí của tiên mao có thể là (hình 12b):

- không có tiên mao: vi khuẩn vô mao
- roi mọc ở cực: (1) mọc ở một cực (một roi hoặc chùm roi); (2) mọc ở hai cực (một roi hoặc chùm roi)
- mọc khắp xung quanh bề mặt tế bào
- mọc từ giữa tế bào

**a**



**b**

Hình 12. (a) Cấu tạo tiên mao vi khuẩn; (b) Các vị trí khác nhau của tiên mao trên tế bào vi khuẩn.

Tiên mao của vi khuẩn (hình 12a) có các phần chủ yếu là: (1) thể gốc xuất phát từ lớp ngoại nguyên sinh chất, phía bên trong màng nguyên sinh chất, gồm một trụ nhỏ gắn với 4 đĩa tròn có dạng vòng kí hiệu là L, P S và M; (2) bao bọc bên ngoài tiên mao ở phần phía ngoài lớp LPS là một bao hình móc và (3) các sợi tiên mao. Tiên mao hoạt động theo cách quay như kiểu vặn nút chai. Nhờ các phản ứng hoá học mà các vòng của thể gốc có thể làm quay tiên mao. Bao hình móc giữ cho sợi tiên mao quay đều đặn quanh một trục dọc.

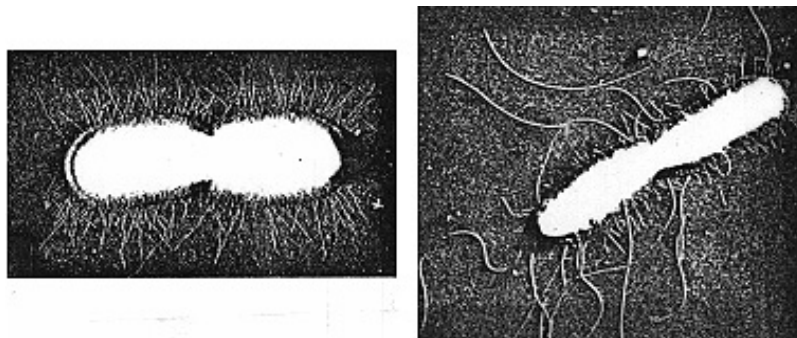
Khả năng di động của vi khuẩn là một trong những chỉ tiêu cơ bản dùng trong định danh và chẩn đoán vi khuẩn. Các phương pháp dùng để quan sát khả năng di động của vi khuẩn bao gồm: (1) nhuộm tiên mao để quan sát vị trí và số lượng tiên mao; (2) quan sát khả năng di động trên môi trường đặc và (3) quan sát trực tiếp vi khuẩn sống trên tiêu bản tươi.

Tốc độ và kiểu di động của vi khuẩn khác nhau tùy theo loài và vị trí của tiên mao. Tuy nhiên kiểu di động của vi khuẩn trong môi trường lỏng còn phụ thuộc vào nhiều yếu tố khác. Có khi hoàn toàn là ngẫu nhiên nhưng có trường hợp là để tìm đến hay tránh khỏi một yếu tố nào đó. Ví dụ như vi khuẩn tìm đến nguồn thức ăn, chỗ có ánh sáng, tránh chỗ

có axit hoặc có hoá chất độc hại. Điều này cho thấy vi khuẩn có tiên mao có nhiều lợi thế về mặt sinh thái để tồn tại hơn là vi khuẩn không có tiên mao.

#### 2.1.1.2.2 Khuẩn mao

Khuẩn mao là những sợi lông rất ngắn (7-9nm), rỗng giữa (đường kính 2-2.5nm), số lượng rất nhiều (250-300 sợi/tế bào), bản chất protein mọc trên bề mặt tế bào vi khuẩn (hình 13). Vi khuẩn G- thường có khuẩn mao, tuy nhiên một số vi khuẩn G+ và vi khuẩn cổ cũng có khuẩn mao. Khuẩn mao có chức năng giúp cho vi khuẩn bám giữ vào bề mặt cơ chất. Khuẩn mao còn giúp cho tế bào tăng bề mặt hấp thu chất dinh dưỡng.



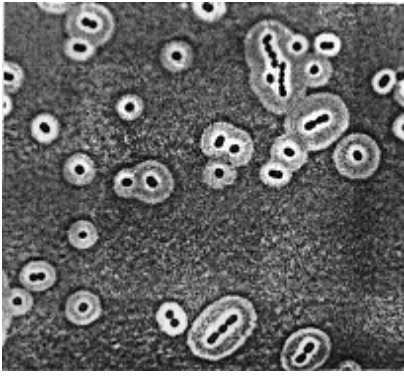
Hình 13. Khuẩn mao của vi khuẩn

Mỗi vi khuẩn còn có 1-4 khuẩn mao giới tính có công dụng làm cầu nối để chuyển những đoạn ADN từ tế bào này sang tế bào khác. Khuẩn mao giới tính còn là thụ thể để cho các thể thực khuẩn.

#### 2.1.1.2.3 Bộ phận bao che tế bào

Bao che bên ngoài tế bào vi khuẩn có hai lớp màng chính, từ ngoài vào trong lần lượt là thành tế bào và màng nguyên sinh chất. Một số lớn vi khuẩn còn có một lớp dịch nhày bao bọc bên ngoài thành tế bào.

#### 2.1.1.2.4 Bao nhày



Hình 14. Bao nhày của cầu khuẩn nhuộm với mực tàu.

Hầu hết vi khuẩn đều có một lớp vật chất dạng keo bên ngoài thành tế bào được gọi là bao nhày (hình 14). Phần lớn thành phần hoá học của bao nhày là nước (98%) và polisaccarit, ngoài ra còn có polipeptit và protein.

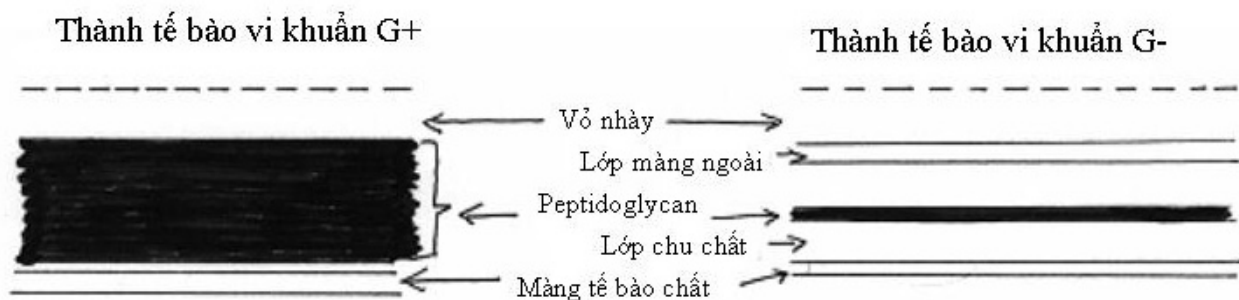
Bao nhày thường có chiều dày lớn hơn  $0.2\mu$  nên có thể nhìn thấy dưới kính hiển vi thường khi nhuộm bằng mực tàu. Nếu chiều dày nhỏ hơn  $0.2\mu$  thì được gọi là bao nhày mỏng phải quan sát bằng kính hiển vi điện tử mới thấy được.

Bao nhày có công dụng bảo vệ vi khuẩn tránh bị thương tổn khi khô hạn, tránh khỏi hiện tượng thực bào của bạch cầu và là nơi tích lũy chất dinh dưỡng của vi khuẩn.

#### 2.1.1.2.5 Thành tế bào

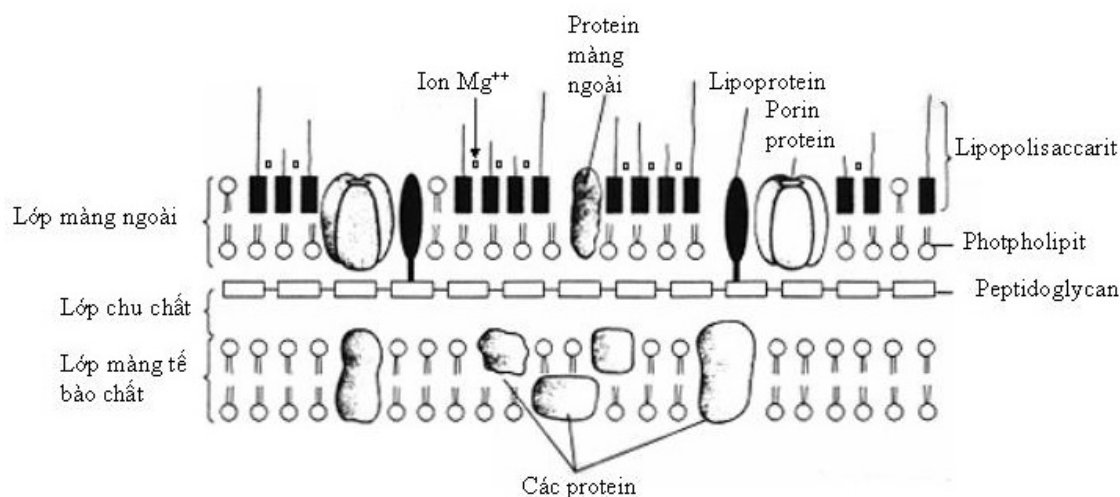
Thành tế bào vi khuẩn có chiều dày khác nhau tùy theo loài dao động từ 10-18nm. Thành tế bào có chiếm trọng lượng từ 10-20% trọng lượng khô của vi khuẩn. Cấu tạo hoá học của thành tế bào bao gồm hai chất dị cao phân tử là polisaccarit và peptidoglycan. Thành tế bào có độ rắn chắc nhất định để duy trì hình dạng của tế bào, cần thiết cho quá trình phân cắt bình thường của tế bào và bảo vệ tế bào đối với một số điều kiện bất lợi như giúp tế bào đề kháng với các lực tác động bên ngoài. Vi khuẩn có thể chịu được áp suất thẩm thấu từ 10-25 atm. Thành tế bào cho phép các chất dinh dưỡng đi qua nhưng lại có thể ngăn cản sự xâm nhập của một số chất có hại đối với tế bào như thuốc nhuộm, một số chất kháng sinh, muối mật, muối kim loại nặng, một số enzym phân giải. Thành tế bào của vi khuẩn có liên quan mật thiết đến tính tính gây bệnh cũng như tính miễn cảm với thể thực khuẩn và cũng là nơi quan trọng nhất tương tác với các chất kháng sinh.

Thành phần cấu tạo của thành tế bào của vi khuẩn rất phức tạp và cũng rất riêng biệt so với các sinh vật khác. Nhờ phương pháp nhuộm Gram do nhà do nhà vi khuẩn học Đan Mạch Hans Christian Gram (1853-1938) phát minh ra từ năm 1884, vi khuẩn được phân biệt thành hai nhóm lớn là vi khuẩn Gram dương (G+) và vi khuẩn Gram âm (G-) (hình 15).



Hình 15. Sơ đồ cấu tạo thành tế bào của vi khuẩn

Thành tế bào của vi khuẩn G<sup>+</sup> cấu tạo bởi lớp peptidoglycan dày bao bên ngoài màng tế bào chất. Axit teicoic là một thành phần đặc trưng của tế bào vi khuẩn G<sup>+</sup>. Trong khi vi khuẩn G<sup>-</sup> lại không có axit teicoic. Do tích điện âm Axit teicoic giúp cho việc vận chuyển các ion dương vào, ra tế bào và giúp tế bào dự trữ photphat. Ngoài ra axit teicoic còn liên quan đến kháng nguyên bề mặt và tính gây bệnh của một số vi khuẩn G<sup>+</sup>. Chúng còn gọi là thụ thể hấp phụ đặc biệt đối với một số thể thực khuẩn.



Hình 16. Sơ đồ cấu tạo lớp màng ngoài, thành tế bào và màng tế bào chất của vi khuẩn G<sup>-</sup>

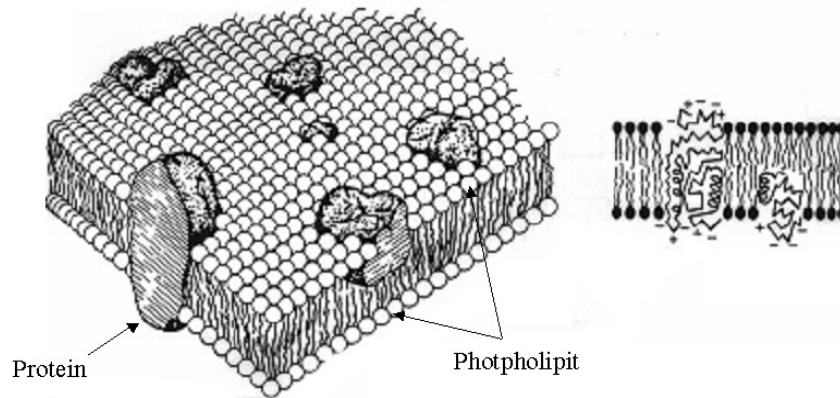
Vi khuẩn G<sup>-</sup> có thành tế bào với cấu trúc khá phức tạp. Trong cùng là một lớp PG mỏng. Cách một lớp không gian chu chất là lớp màng ngoài. Màng ngoài có cấu trúc gần giống với màng tế bào chất nhưng phospholipit hầu như chỉ gặp ở lớp trong, còn lớp ngoài là lipopolisaccarit (LPS). LPS dày khoảng 8-10nm có chứa lipit A là nội độc tố của vi khuẩn. Lớp LPS ở vi khuẩn G<sup>-</sup> còn có chứa kháng nguyên O quyết định nhiều đặc tính huyết thanh của các vi khuẩn có chứa LPS và là vị trí gắn (thụ thể) của thể thực khuẩn. Đặc biệt, màng ngoài của một số vi khuẩn G<sup>-</sup> còn có một số loại protein bao gồm protein cơ chất, protein màng ngoài và lipoprotein. Các protein ở vi khuẩn G<sup>-</sup> đã được chứng minh là có khả năng chống lại sự tấn công của các vi khuẩn khác (hình 16).

Ở vi khuẩn G<sup>-</sup> và G<sup>+</sup> đều có lớp không gian chu chất nằm ở giữa thành tế bào và lớp màng tế bào chất. Ngoài ra, ở giữa lớp màng ngoài và lớp PG mỏng ở thành tế bào chất của cả vi khuẩn G<sup>-</sup> cũng có một lớp không gian chu chất. Trong lớp này có nhiều thành phần như proteinaza, nucleaza, protein vận chuyển qua màng, protein thụ thể làm chỗ bám của thể thực khuẩn). Thành tế bào vi khuẩn G<sup>+</sup> có thể bị phá hủy hoàn toàn để trở thành thể nguyên sinh khi chịu tác động của lizozim (có trong lòng trắng trứng, nước mắt, nước muối, đờm của thể thực khuẩn). Thành phần tế bào vi khuẩn G<sup>-</sup> có sức đề kháng lớn hơn với lizozim do đó bị phá hủy ít hơn.

#### 2.1.1.2.6 Màng tế bào chất

Màng tế bào chất có chiều dày khoảng 5-10nm và chiếm khoảng 10-15% trọng lượng tế bào. Màng nguyên sinh chất có cấu tạo bởi 2 lớp phospholipit (PL), chiếm khoảng 30-40% khối lượng màng và các protein nằm phía trong, phía ngoài hay xuyên qua màng chiếm 60-70% khối lượng màng (hình 17). Mỗi phân tử PL chứa một đầu tích điện phân cực (đầu photphat) và một đuôi không tích điện, không phân cực (đầu hidrocarbon). Đầu phân cực tan trong nước nằm phía trong. Đầu photphat còn gọi là đầu háo nước, đầu

hidrocarbon còn gọi là đầu kỵ nước. Các PL trong màng làm màng hóa lỏng và cho phép các protein di động tự do. Sự hóa lỏng động học này là cần thiết cho các chức năng của màng. Cách sắp xếp của PL và protein như vậy gọi là mô hình khảm lỏng.



Hình 17. Sơ đồ cấu tạo màng tế bào chất của vi khuẩn

Màng nguyên sinh chất có các chức năng sau:

- Không chế sự vận chuyển trao đổi ra, vào tế bào của các chất dinh dưỡng, các sản phẩm trao đổi chất.
- Duy trì một áp suất thẩm thấu bình thường bên trong tế bào.
- Là nơi sinh tổng hợp của các thành phần tế bào (peptidoglycan, LPS, axit teicoic) và các polime của vỏ nhầy.
- Là nơi tiến hành các quá trình photphoryl oxi hóa và photphoryl quang hợp.
- Là nơi tổng hợp nhiều loại enzym như  $\beta$ -galactozidaza, các enzym liên quang đến tổng hợp thành tế bào, vỏ nhầy, các protein của chuỗi hô hấp.
- Cung cấp năng lượng cho sự vận động của tiêm mao

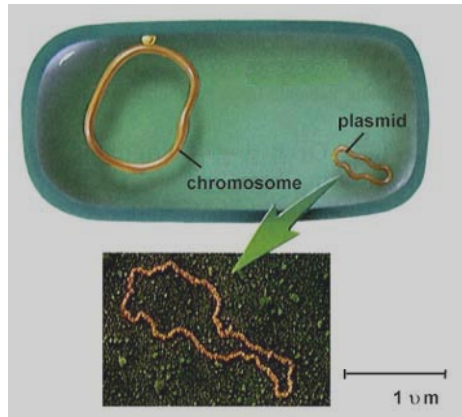
#### 2.1.1.2.7 Tế bào chất

Tế bào chất là thành phần chủ yếu của tế bào vi khuẩn. Thành phần hoá học chủ yếu của tế bào chất là lipoprotein. Trong tế bào chất có chứa ribosome, mesosome, không bào các hạt chất dự trữ, các hạt sắc tố và thể nhân của vi khuẩn. Tế bào chất có ba nhiệm vụ chính:

- Tạo ra các phân tử ban đầu hoặc các chất liệu kiến trúc cần thiết cho quá trình tổng hợp của tế bào
- Cung cấp năng lượng cho tế bào và
- Chứa đựng các chất bài tiết của tế bào.

#### 2.1.1.2.8 Thể nhân

Thể nhân là cơ sở vật chất chứa đựng thông tin di truyền của vi khuẩn. Thể nhân của vi sinh vật nhân nguyên chưa có màng nhân nên còn được gọi là nhân sơ hay nhân nguyên thủy. Thể nhân có hình dạng bất định và là một nhiễm sắc thể duy nhất có cấu tạo bởi một sợi ADN xoắn kép.



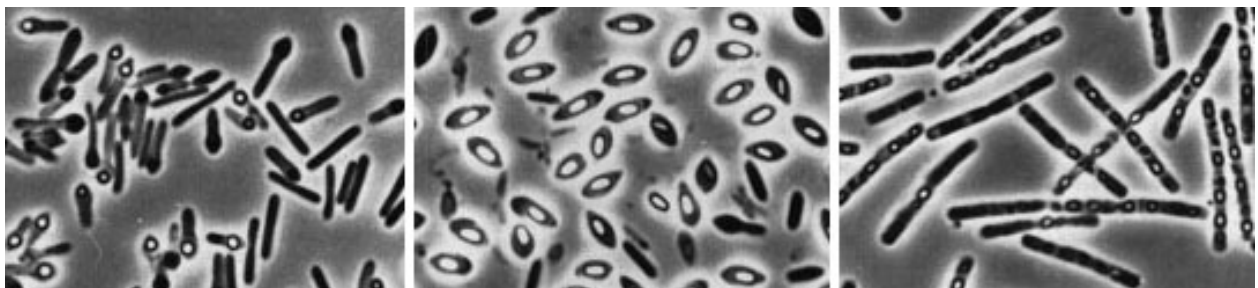
Hình 18. Thể nhân của vi khuẩn

Ngoài ra, đa số vi khuẩn còn có chứa ADN kép dạng vòng kín nằm ngoài nhiễm sắc thể được gọi là plasmid (hình 18). Plasmid thường chứa từ 2-30 gen và có khả năng sao chép độc lập.

#### 2.1.1.2.9 Nha bào

Nha bào là bộ phận lưu tồn đặc biệt, được hình thành ở những giai đoạn phát triển nhất định của một số loài vi khuẩn G<sup>+</sup> phần lớn là vi khuẩn hình que. Hai nhóm vi khuẩn chủ yếu có khả năng hình thành nha bào là nhóm vi khuẩn hiếu khí *Bacillus* có trong đất và nhóm vi khuẩn kỵ khí *Clostridium* có trong đất, chất mùn và trong ruột của động vật. Ngoài ra một số cầu khuẩn, phẩy khuẩn và xoắn khuẩn cũng có khả năng sinh nha bào.

Nha bào không thấm nước và thường được phân biệt dựa trên vị trí của chúng trong tế bào vi khuẩn trước khi chúng được phóng thích ra ngoài. Các vị trí này có thể nằm ở giữa, hoặc ở một phía của tế bào (hình 19). Ngoài ra người ta còn căn cứ vào sự trương to của tế bào mẹ lúc chứa các nha bào.

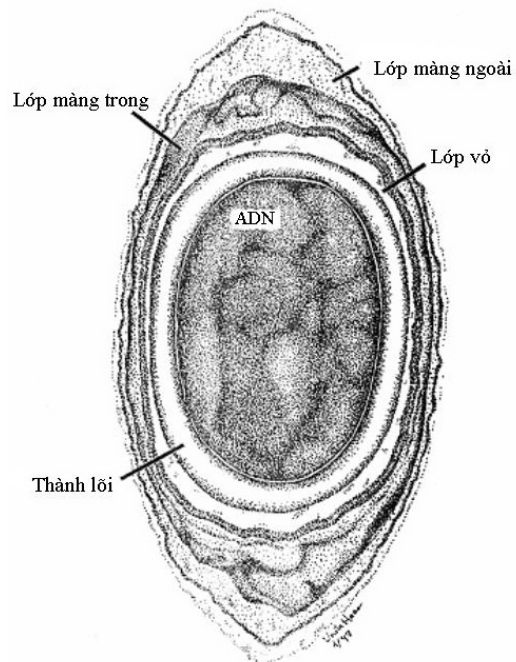


Hình 19. Nha bào ở vi khuẩn bacillus.



Cấu tạo của nha bào gồm nhiều lớp màng bao bọc. Ngoài cùng là lớp màng ngoài, kế đến là vỏ của nha bào có nhiều lớp có tác dụng ngăn chặn sự thâm thấu của nước và các chất hoà tan. Tiếp theo là lớp màng trong và trong cùng là lớp tế bào chất chỉ chứa hệ gen và một số ít ribosom và enzym (hình 20).

Nha bào không có nhiệm vụ sinh sản mà có khả năng đề kháng được với những điều kiện môi trường khắc nghiệt như nhiệt độ cao, tính axit cao, bức xạ, hóa chất và các chất tẩy trùng. Nha bào có thể tồn tại rất lâu trong điều kiện bất lợi và sẽ trở về trạng thái sinh vật bình thường khi điều kiện thích hợp.



Một số vi khuẩn hình thành nha bào là tác nhân gây bệnh ở động vật do chúng sản sinh độc tố. Điển hình là vi khuẩn *Bacillus anthracis* (hình 20) gây bệnh than ở bò và bệnh có thể lây sang người. Vi khuẩn *Clostridium botulinum* có khả năng gây ngộ độc thực phẩm. Vi khuẩn *Clostridium tetani* gây bệnh uốn ván.

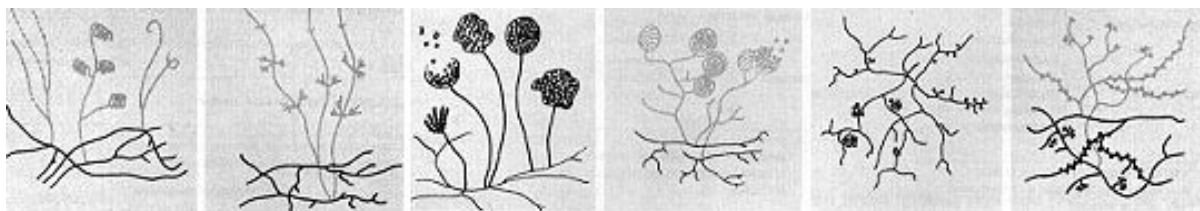
Hình 20. Cấu trúc của nha bào dưới kính hiển vi điện tử

### 2.1.2 Xạ khuẩn

Xạ khuẩn là nhóm lớn vi khuẩn G<sup>+</sup>, hiếu khí, sống hoại sinh và có cấu tạo dạng sợi phân nhánh. Xạ khuẩn phân bố rất rộng rãi trong đất, tham gia vào quá trình chuyển hoá tự nhiên của nhiều hợp chất trong đất.

Xạ khuẩn có thể sinh ra nhiều sản phẩm trao đổi chất quan trọng, đặc biệt là chất kháng sinh. Khoảng 80% thuốc kháng sinh đã biết có đến 80% từ xạ khuẩn. Trong đó quan trọng nhất là kháng sinh thuộc nhóm tetracyclines, macrolides và aminoglycosides. Xạ khuẩn còn có khả năng sinh ra các enzym, một số vitamin thuộc nhóm B và axit hữu cơ. Hai nhóm xạ khuẩn quan trọng là tác nhân gây bệnh ở người là *Mycobacterium tuberculosis* gây bệnh lao và *Corynebacterium diphtheriae* gây bệnh bạch hầu. Một số xạ khuẩn thuộc nhóm Mycobacteria và Corynebacteria sống cộng sinh ở động vật.

Trước đây xạ khuẩn được xếp chung nhóm với nấm do chúng có hình thức phát triển dạng sợi phân nhánh (hình 21). Ngày nay xạ khuẩn được xếp vào nhóm vi khuẩn thật do chúng có nhiều đặc điểm giống với vi khuẩn và khác với nấm như sau: (1) có giai đoạn đa bào và đơn bào; (2) kích thước rất nhỏ; (3) thể nhân là nhân nguyên thủy; (4) vách tế bào không chứa cellulose hoặc kitin; (5) không có giới tính và (6) sống hoại sinh hoặc ký sinh.



Hình 21. Các hình thức phát triển hệ sợi ở xạ khuẩn.

### 2.1.3 Vi khuẩn lam

Là nhóm vi sinh vật nhân nguyên thuộc vi khuẩn thật có cấu tạo gần gũi với cấu tạo của vi khuẩn G<sup>-</sup>. Trước đây vi khuẩn lam được gọi là tảo lam hay tảo lam lục. Vi khuẩn lam khác biệt rất lớn với tảo ở những đặc điểm: vi khuẩn lam không có lục lạp, không có nhân thực, có riboxom 70S, thành tế bào có chứa peptidoglican. Vi khuẩn lam có khả năng tự dưỡng quang năng nhờ chứa sắc tố quang hợp là chất diệp lục a, caroten  $\beta$  và các sắc tố phụ. Bộ phận thực hiện quá trình quang hợp trong tế bào vi khuẩn lam được gọi là tilacoit.

Vi khuẩn lam phân bố rất rộng rãi trong tự nhiên. Đại bộ phận vi khuẩn lam sống trong nước ngọt và tạo thành thực vật phù du của các thủy vực. Một số phân bố trong những vùng nước mặn giàu chất hữu cơ hoặc trong nước lợ. Một số sống cộng sinh. Nhiều vi khuẩn lam có khả năng cố định nitơ và có sức đề kháng cao với các điều kiện bất lợi cho nên có thể gặp vi khuẩn lam trên các bề mặt tảng đá hoặc trong vùng sa mạc, trong các suối nước nóng có nhiệt độ cao tới 87°C trong các vùng biển có nồng độ muối tới 0,7%. Một số vi khuẩn lam sống trong ao hồ thường phát triển mạnh vào mùa hè tạo ra hiện tượng “nước nở hoa”. Khi đó nước có màu xanh xỉn và có mùi vị khó chịu, làm giảm hiện tượng oxi trong nước, làm đổi động vật phù du, gây hại cho cá, nhiều khi ảnh hưởng tới nguồn nước cung cấp cho các đô thị, các khu công nghiệp (hình 22).

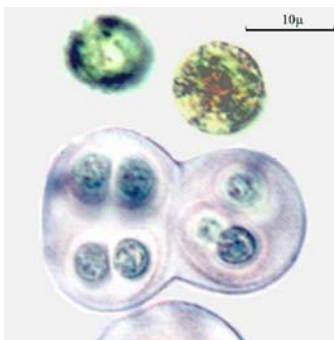


Hình 22. Hiện tượng nước nở hoa ở các ao hồ khi vi khuẩn lam phát triển quá mức

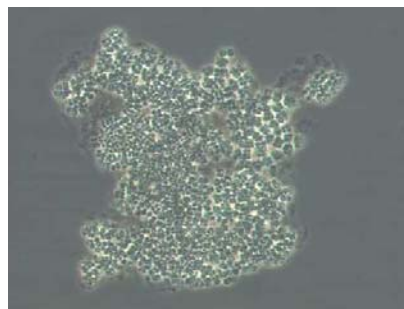
Một số vi khuẩn lam vì có giá trị dinh dưỡng cao, có chứa một số hoạt chất có giá trị y học, lại có tốc độ phát triển nhanh, khó nhiễm tạp khuẩn vì thích hợp được với các điều kiện môi trường khá đặc biệt (ví dụ *Spirulina* thích hợp với pH rất cao) cho nên đã được sản xuất với qui mô công nghiệp để thu nhận sinh khối. Việc nuôi *Spirulina* từ nước thải của các bể sinh học có thể phát triển rộng lớn ở các vùng nông thôn để vừa góp phần cải thiện điều kiện môi trường sống vừa tạo ra nguồn thức ăn bổ sung cho chăn nuôi hoặc cho nghề nuôi cá tôm.

Vi khuẩn lam có hình dạng và kích thước rất khác nhau. Chúng có thể là đơn bào hoặc ở dạng sợi đa bào. Theo hệ thống phân loại của Bergey (1994) thì vi khuẩn lam được xếp vào 5 bộ khác nhau khá rõ rệt về hình thái (hình 23):

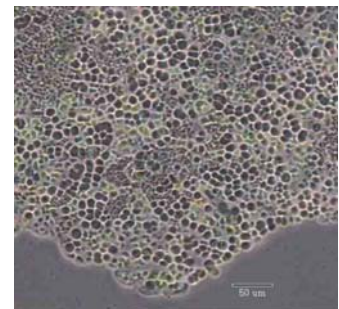
1. Bộ Stigonematales (gồm các chi *Chlorogloeopsis*, *Fischerella*, *Stigonema*, *Geitleria*): đa bào, dạng sợi phân nhánh thực hay phân nhánh lưỡng phân thường có dị tản, nghĩa là có sự phân hóa ngang và thẳng.
2. Bộ Chroococcales (gồm các chi *Chamaesiphon*, *Gloeobacter*, *Gloeotheca*): đơn bào hoặc sống thành tập đoàn, sinh sản theo lối chia đôi tế bào.
3. Bộ Pleurocapsales (gồm các chi *Dermocarpa*, *Xenococcus*, *Dermocarpella*, *Myxosarcina*, *Chroococidiopsis*): đơn bào phân cắt nhiều lần, có thể tạo thành dạng sợi, thường có dạng tản.
4. Bộ Oscillatoriales (gồm các chi *Spirulina*, *Arthrospira*, *Oscillatoria*, *Lyngbya*, *Pseudanabaena*, *Starrria*, *Crinalium*, *microcoleus*): đa bào, dạng sợi, không có tế bào dị hình.
5. Bộ Nostocales (gồm các chi *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Nodularia*, *Cylindrospermum*, *Nostoc*, *Sytonema*, *Calothrix*): đa bào, dạng sợi, có các tế bào dị hình tham gia vào hoạt động cố định nitơ.



*Gloeocapsa* sp.



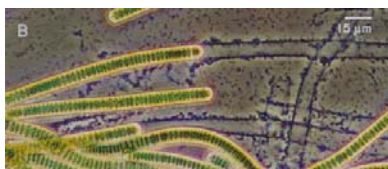
*Gloeobacter* sp.



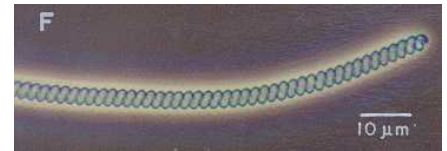
*Pleurocapsa* sp.



*Oscillatoria* sp.



*Lyngbya aestuarii*



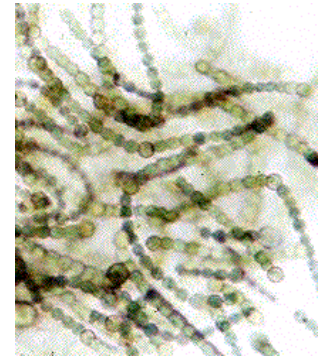
*Spirulina subsalsa*



*Anabaena scheremetievi*



*Aphanizomenon flos-aquae*



*Nostoc sp*



*Fischerella*



*Synechococcus*



*Calothrix sp.*

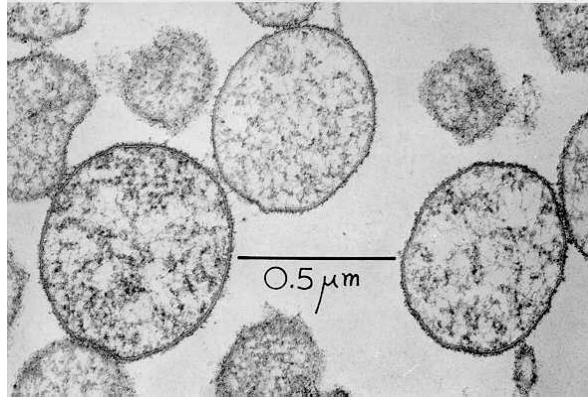
Hình 23. Một số loài vi khuẩn lam phổ biến

## 2.1.4 Vi khuẩn nguyên thủy

### 2.1.4.1 Mycoplasma

Mycoplasma là vi sinh vật nguyên thủy không có thành tế bào. Tế bào *Mycoplasma* được bao bọc bởi một màng đơn có ba lớp, bắt màu G- (hình 24). Kích thước ngang của *Mycoplasma* khoảng 0.2 - 0.3μm và là sinh vật nhỏ nhất trong sinh giới có đời sống dinh dưỡng độc lập. Khuẩn lạc trên môi trường của micoplasma rất nhỏ (0.1-1,0 mm). Chúng sinh sản theo phương thức cắt đôi. Có thể sinh trưởng trên các môi trường nuôi cấy nhân tạo giàu chất dinh dưỡng. Có thể phát triển cả trong điều kiện hiếu khí lẫn kỵ khí. *Mycoplasma* chịu ức chế bởi các chất kháng sinh ngăn cản quá trình sinh tổng hợp protein như: eritromixin, tetraxilin, lincomixin, gentamixin, kanamixin và rất mẫn cảm với các chất kháng sinh nistatin, amphoterixin, candixidin.

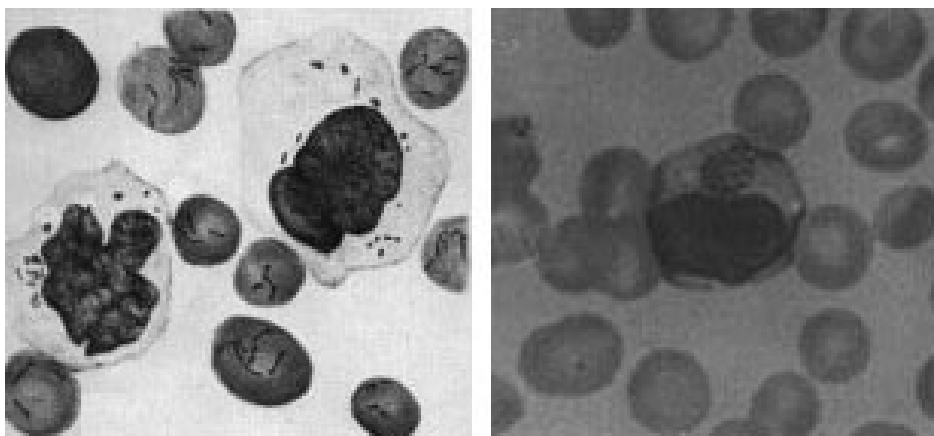
Một số *Mycoplasma* có đời sống hoại sinh, thường gặp trong đất, trong nước bẩn, trong phân ủ. Chúng có thể làm nhiễm bẩn các dung dịch dùng để nuôi cấy tổ chức động vật. *Mycoplasma pneumoniae* là tác nhân gây bệnh viêm màng phổi.



Hình 24. Tế bào mycoplasma chụp dưới kính hiển vi điện tử.

#### 2.1.4.2 *Ricketxi*

*Ricketxi* là vi sinh vật nhân nguyên thủy G<sup>-</sup> chỉ có thể tồn tại trong tế bào các sinh vật nhân thật. Chúng khác với *Mycoplasma* ở chỗ đã có thành tế bào và không thể sống độc lập trong các môi trường nhân tạo. Tế bào *Ricketxi* có kích thước thay đổi (0,25 x 1,0 μm; 0,6-1,2 μm; 0,8-2,0 μm) và có hình thái biến hóa (hình que, hình cầu, song cầu, sợi...). Chúng sinh sản bằng phương thức cắt thành hai phần đều nhau. *Ricketxi* mẫn cảm với các chất kháng sinh như penixilin, tetraxilin, chloramphenicol. Chúng có các chu trình trao đổi năng lượng không hoàn chỉnh và mẫn cảm với nhiệt độ. Chết ở nhiệt độ từ 56°C trở lên sau 30 phút. *Ricketxi* thường sống ký sinh trên côn trùng và lan truyền bệnh sang người qua các vết thương do côn trùng đốt. Ở người *Rickettsia prowazekii* là tác nhân gây bệnh sốt phát ban nguy hiểm.



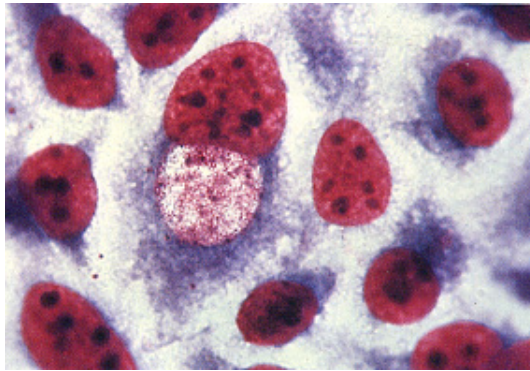
(a)

(b)

Hình 25. (a) tế bào bị nhiễm *Bartonella bacilliformis*, (b) tế bào bị nhiễm *Ehrlichia canis*.

### 2.1.4.3 *Clamydia*

*Clamydia* là một loại vi khuẩn nguyên thủy G<sup>-</sup> rất bé nhỏ, có hệ thống enzym không hoàn chỉnh, thiếu các enzym tham gia vào quá trình trao đổi sinh năng lượng, do đó bắt buộc phải ký sinh trong tế bào các sinh vật nhân thật. Sinh sản bằng cách phân cắt thành hai phần bằng nhau. Rất mẫn cảm với các chất kháng sinh và sunphamit. *Clamydia* mắt hột gây bệnh mắt hột ở người và chuột nhắt có tên là *Clamydia trachomatis* (hình 26).



Hình 26. Thể vùi *Clamydia trachomatis* bên trong tế bào

## 2.2 VI KHUẨN CỖ

Vi khuẩn cở là nhóm vi khuẩn lâu đời nhất trong nhóm vi sinh vật nhân nguyên. Chúng có những sai khác rõ rệt về cấu tạo thành tế bào và đặc tính sinh hóa so với nhóm vi khuẩn thật. Vi khuẩn cở sống trong các điều kiện môi trường rất đặc biệt mà các sinh vật bình thường không thể chịu đựng được (hình 27).

### 2.2.1 Vi khuẩn sinh khí mêtan

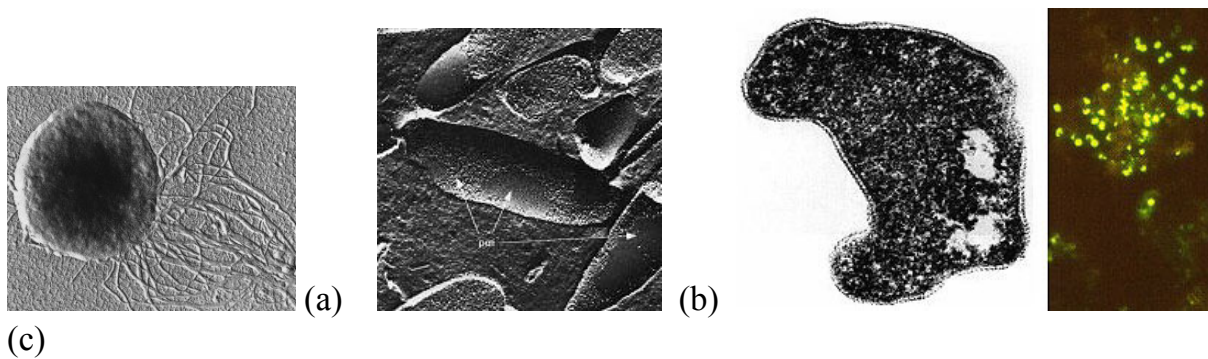
Vi khuẩn sinh metan là vi khuẩn kỵ khí bắt buộc. Vi khuẩn sinh mêtan thường thấy trong nền đáy các thủy vực nước ngọt và lợ mặn, trong đường ruột của động vật và trong các nguồn chất thải động vật. Vi khuẩn mêtan có khả năng sử dụng H<sub>2</sub> làm nguồn năng lượng và CO<sub>2</sub> làm nguồn cacbon để thực hiện quá trình trao đổi chất. Sản phẩm của quá trình trao đổi chất là khí metan được tích tụ trong môi trường. Vi khuẩn sinh khí mêtan có nhiều tiềm năng được sử dụng để tạo năng lượng sinh học từ chất thải nông nghiệp.

### 2.2.2 Vi khuẩn ưa mặn

Vi khuẩn ưa mặn là nhóm vi khuẩn có thể phát triển ở 4-5M NaCl (khoảng 25%) và ở độ mặn thấp hơn 3M NaCl thì chúng không phát triển được. Thành tế bào, ribosom và các enzym của nhóm vi khuẩn này đều được cân bằng bởi ion Na<sup>+</sup>.

### 2.2.3 Vi khuẩn ưa nhiệt

Vi khuẩn ưa nhiệt là nhóm vi khuẩn đòi hỏi nhiệt độ rất cao (từ 80-105°C) để phát triển. Các enzym và các mang chất ở nhóm vi khuẩn này đều được cân bằng ở nhiệt độ cao. Hầu hết vi khuẩn thuộc nhóm này còn đòi hỏi nguyên tố lưu huỳnh để phát triển. Cho nên nhóm vi khuẩn ưa nhiệt thường xuất hiện ở những nơi có nhiệt độ cao và giàu lưu huỳnh như miệng núi lửa, các thủy vực nước nóng hoặc ở đáy các đại dương. Vi khuẩn *Sulfolobus acidocaldarius* là vi khuẩn ưa nhiệt đầu tiên do Thomas D. Brock, thuộc đại học Wisconsin USA phát hiện năm 1970 cùng với vi khuẩn ưa nhiệt *Thermus aquaticus*. Các khám phá này đã khởi động các nghiên cứu về lãnh vực sinh học các sinh vật ưa nhiệt. Enzyme taq polymerase sử dụng trong các phản ứng trùng hợp (PCR) để khuếch đại ADN được lấy từ vi khuẩn ưa nhiệt *Thermus aquaticus* có nhiệt độ phát triển thích hợp là 70°C.



Hình 27. (a) Vi khuẩn sinh mêtan *Methanococcus jannischii*, (b) Vi khuẩn ưa mặn *Halobacterium salinarium*, (c) Vi khuẩn chịu nhiệt *Sulfolobus acidocaldarius* (bên trái: ảnh chụp dưới kính hiển vi điện tử (X85,000) vi khuẩn có dạng cầu không đều. Bên phải: ảnh chụp dưới kính hiển vi huỳnh quang cho thấy vi khuẩn bám vào các tinh thể lưu huỳnh).

#### **Tài liệu tham khảo:**

1. Kenneth Todar, 2003. Major groups of prokaryotes. Department of Bacteriology. University of Wisconsin-Madison.
2. Kenneth Todar, 2003. Structure and function of procaryotic cells. Department of Bacteriology. University of Wisconsin-Madison.
3. Gary E. K., 2002. Microbiology learning object 1: Introduction to microbiology, the prokaryotic cell (bacteria) and the eukaryotic cell.
4. Madigan, M.T., Martinko, J.M. and Parker, J., 2002. Biology of Microorganisms. Tenth edition, Prehall.
5. Phạm Văn Kim, 2001. Giáo trình vi sinh đại cương. Khoa Nông nghiệp, Đại học Cần thơ.
6. Nguyễn Lâm Dũng, 2000. Vi Sinh Vật học. Nhà xuất bản giáo dục.

## Chương 3 VI SINH VẬT NHÂN THẬT

Vi sinh vật nhân thật bao gồm các vi sinh vật có nhân rõ rệt. Các nhóm vi sinh vật có nhân thật bao gồm vi nấm, vi tảo và một số nguyên sinh động vật.

### 3.1 VI NẤM

#### 3.1.1 Đặc điểm chung của vi nấm

Vi nấm là các tế bào sinh vật nhân thật, phân bố rất rộng rãi trong đất, nước và cả trong không khí. Vi nấm sống hoại sinh và ký sinh trên các sinh vật khác nên cũng là tác nhân gây bệnh cho người và động vật. Trong số khoảng 100,000 loài nấm đã được biết đến có khoảng 100 loài có khả năng gây bệnh. Một số loài vi nấm làm hư hỏng thực phẩm hoặc tiết ra độc tố. Trong đất vi nấm có vai trò quan trọng trong việc phân hủy các chất hữu cơ thành các chất dinh dưỡng cho thực vật. Cấu trúc nên lớp mùn màu mỡ của đất, tham gia vào sự chuyển hoá các chất vô cơ trong đất. Một số loài nấm có khả năng lên men thực phẩm như men rượu (*Saccharomyces cerevisiae*), một số có khả năng sinh chất kháng sinh (*Penicillium sp*), enzym, các axit hữu cơ và nhiều chất khác.

Vi nấm gồm có nấm men và các nấm sợi không sinh thể quả lớn (còn gọi là mũ nấm), có các đặc điểm chung sau:

- Cơ thể của nấm là một tản, có bộ máy dinh dưỡng chưa phân hóa thành cơ quan riêng biệt. Tản của nấm có thể là đơn bào hoặc đa bào. Đa số có dạng sợi gọi là sợi nấm hay khuẩn ti, có hoặc không có vách ngăn, đường kính trung bình 5-10  $\mu\text{m}$ , có khi 25  $\mu\text{m}$  hoặc 1-2  $\mu\text{m}$ . Có sợi nấm trong suốt không màu, có sợi có màu. Đa số sợi nấm phân nhánh nhiều lần nhưng cũng có sợi nấm không phân nhánh.
- Từ một bào tử hay một đoạn sợi nấm gặp điều kiện thuận lợi sẽ phát triển ra cả ba chiều thành một khối sợi nấm (hệ sợi nấm hay khuẩn ti thể). Trên khuẩn ti thể người ta chia ra làm hai loại khuẩn ti là khuẩn ti dinh dưỡng là khuẩn ti cắm sâu vào môi trường và khuẩn ti khí sinh là khuẩn ti phát triển tự do trong không khí.
- Để thích nghi với các điều kiện sống khác nhau, hệ sợi nấm có thể biến hoá thành nhiều dạng khác nhau như: rễ giả, sợi hút, sợi áp, sợi bò hay thân bò, vòng nấm hay mạng nấm. Từ khuẩn ti khí sinh có thể mọc ra những sợi sinh sản vô tính hoặc hữu tính sau đây: đầu bào tử trần, nang bào tử kín, đảm, túi giá, cụm giá, đĩa giá, bó giá, hạch nấm, thể đệm, quả túi.
- Các vách ngang ở sợi nấm có vách ngăn đều có lỗ thông. Chất nguyên sinh và nhân tế bào có thể đi qua các lỗ thông này. Trừ các tế bào nấm men đơn bào, các sợi nấm chưa có cấu tạo tế bào điển hình như các tế bào vi sinh vật nhân thật. Mỗi tế bào trong sợi nấm chưa có hoạt động trao đổi chất độc lập vì chưa có giới hạn rõ rệt.
- Nấm có rất nhiều đặc điểm chung với các sinh vật có nhân thật, nhất là về cấu tạo của nhân. Nấm khác hẳn về nhiều mặt với các vi sinh vật thuộc nhóm nhân nguyên.



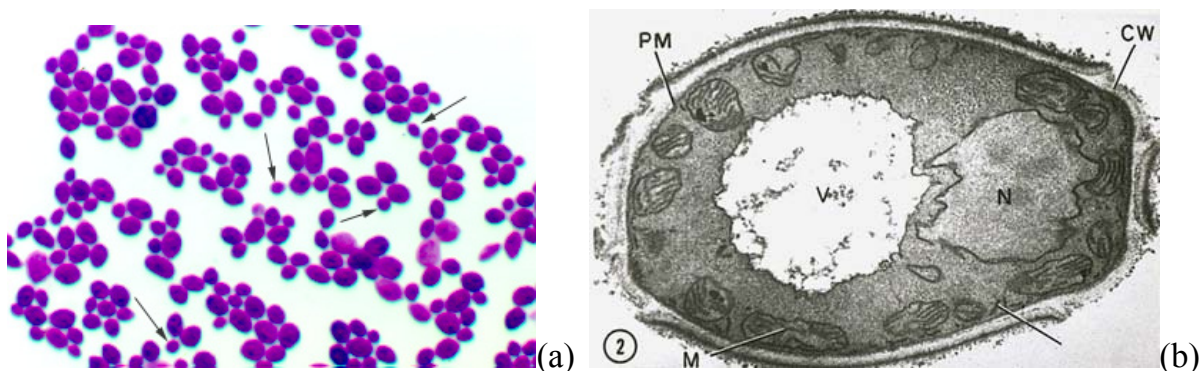
- Nấm có những đặc điểm riêng biệt về mặt hóa học tế bào. Không có cấu trúc thống nhất giữa các nhóm về thành phần của thành tế bào giữa các nhóm nấm. Chất dự trữ của nấm không phải là tinh bột như ở thực vật mà là glycogen như ở động vật. Nấm thành tế bào vững chắc cấu tạo bởi cellulose hoặc chitin. Một số nấm như nấm nhày không có thành tế bào mà chỉ có màng nguyên sinh chất nên chúng thường có hình dạng vô định.
- Nấm không chứa trong tế bào các sắc tố quang hợp vì vậy không có khả năng quang hợp, không có khả năng sống tự dưỡng. Nấm chỉ có đời sống hoại sinh, kí sinh hoặc cộng sinh.
- Sinh sản bằng bào tử vô tính và bào tử hữu tính.
- Nấm không có một chu trình phát triển chung. Có 5 kiểu chu trình phát triển là: (1) chu trình lưỡng bội; (2) chu trình hai thế hệ; (3) chu trình đơn bội; (4) chu trình đơn bội - song nhân và (5) chu trình vô tính.

### 3.1.2 Nấm men

Là nhóm nấm có vị trí phân loại không thống nhất nhưng có các đặc điểm chung sau: (i) có tồn tại trạng thái đơn bào; (ii) đa số sinh sôi nảy nở theo lối nảy chồi cũng có khi có hình thức phân cắt tế bào; (iii) nhiều loài nấm men có khả năng lên men đường; (iv) thích nghi với môi trường có chứa đường cao, có tính axit cao; (v) phân bố rất rộng rãi trong tự nhiên, môi trường có đường, pH thấp.

#### 3.1.2.1 Hình thái của nấm men

Nấm men là nấm đơn bào, có nhân thật, thường có hình bầu dục, tuy nhiên tùy loài mà tế bào nấm men có thể có hình cầu, hình trứng, hình elip... Kích thước tế bào nấm men lớn gấp 10 lần vi khuẩn, đường kính khoảng từ 1-5 $\mu$ m và dài khoảng 5-30 $\mu$ m (hình 28). Các loài nấm men có khuẩn ti hoặc khuẩn ti giả. Thành tế bào dày khoảng 25nm, cấu tạo bởi glucan hoặc kitin, khoảng 10% protein (một phần là các enzym) và một lượng nhỏ lipit. Màng tế bào chất cấu tạo chủ yếu là protein (50% khối lượng khô), còn lại là lipit (40%) và một ít polisaccarit. Nhân của tế bào nấm men được bao bọc bởi một màng nhân như ở các sinh vật có nhân thật khác. Màng nhân có cấu trúc hai lớp và có rất nhiều lỗ thủng. Ti thể của nấm men cũng giống như các nấm sợi và các sinh vật có nhân khác. Các tế bào nấm men khi già sẽ xuất hiện không bào chứa các enzym thủy phân, poliphosphat, lipoit, ion kim loại... Chúng là những vi sinh vật kỵ khí bắt buộc.



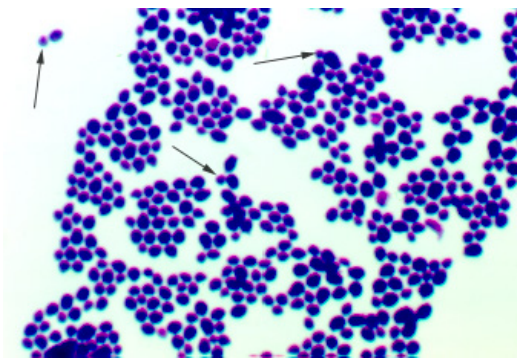
Hình 28. (a) nấm men *Saccharomyces cerevisiae* (b) ảnh chụp qua kính hiển vi điện tử tế bào *Candida albicans* (PM = màng tế bào chất; M = ty thể; N = nhân; V = không bào; CW = thành tế bào).

### 3.1.2.2 Sinh sản của nấm men

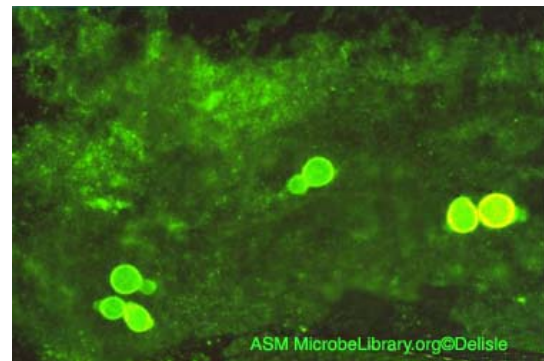
#### 3.1.2.2.1 Sinh sản vô tính

##### 3.1.2.2.1.1 Nảy chồi

Nảy chồi là hình thức sinh sản vô tính phổ biến nhất gặp ở hầu hết nấm men. Ở điều kiện thuận lợi nấm men sinh sôi nảy nở rất nhanh. Khi một chồi xuất hiện các enzym thủy phân sẽ làm phân giải phần polisacarit của thành tế bào làm cho chồi chui ra khỏi tế bào mẹ. Vật chất mới được tổng hợp sẽ được huy động đến chồi và làm chồi phình to dần lên khi đó sẽ xuất hiện vách ngăn giữa chồi và tế bào mẹ (hình 29). Thành phần của vách ngăn cũng tương tự như thành tế bào. Sau đó chồi tách khỏi tế bào mẹ.



(a)



(b)

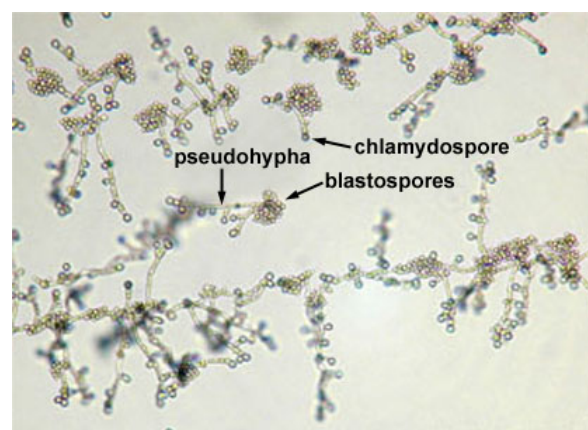
Hình 29. Sự nảy chồi (a) ở nấm men *Candida albicans*; (b) ở *Blastomyces dermatitidis*

##### 3.1.2.2.1.2 Phân cắt

Lối phân cắt ở các tế bào nấm men cũng tương tự như ở vi khuẩn. Tế bào dài ra, ở giữa mọc ra vách ngăn chia tế bào ra thành hai phần tương đương nhau mỗi tế bào con có một nhân. Hình thức sinh sản này thường gặp ở nấm men *Schizosaccharomyces*.

##### 3.1.2.2.1.3 Bằng bào tử

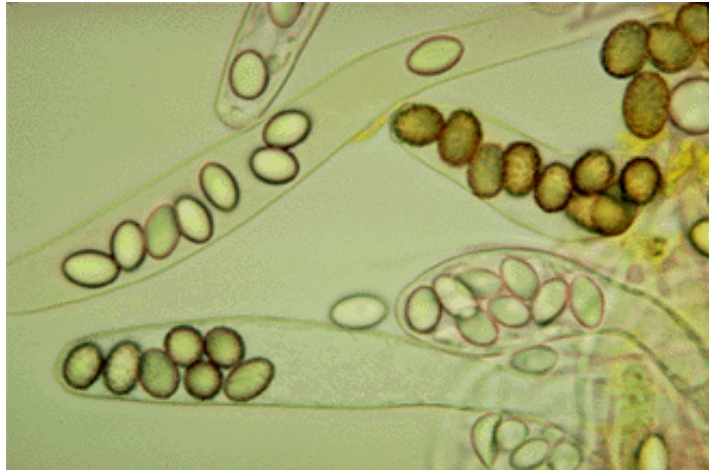
Bào tử áo như ở nấm men *Candida albicans* (hình 30) là bào tử đặc biệt hình thành từ một hoặc vài tế bào trên sợi nấm, thường mọc ở đỉnh của các khuẩn ti giả. Bào tử áo có vách dày nên có khả năng chịu đựng được điều kiện môi trường khắc nghiệt và sẽ nảy mầm cho ra sợi nấm mới khi gặp điều kiện thuận lợi.



Hình 30. Khuẩn ti giả (pseudohypha), bào tử chồi (blastospores), và bào tử áo (chlamydospore) ở *Candida albicans*

### 3.1.2.2 Sinh sản hữu tính

Sinh sản hữu tính ở nấm men thường ít xảy ra so với sinh sản vô tính, tuy nhiên nhờ có sinh sản hữu tính mà các hiện tượng tái tổ hợp các đặc điểm di truyền xảy ra. Ở nấm men có hình thức sinh sản hữu tính bằng bào tử nang. Bào tử nang được hình thành do sự tiếp nối của hai tế bào khác giới, chỗ tiếp nối sẽ tạo một lỗ thông và qua đó nguyên sinh chất có thể đi qua để tiến hành phối chất và nhân cùng đi qua để tiến hành phối nhân. Qua phân bào giảm nhiễm sẽ tạo thành các tế bào con (hình 31).



Hình 31: Bào tử nang ở nấm Ascomycota

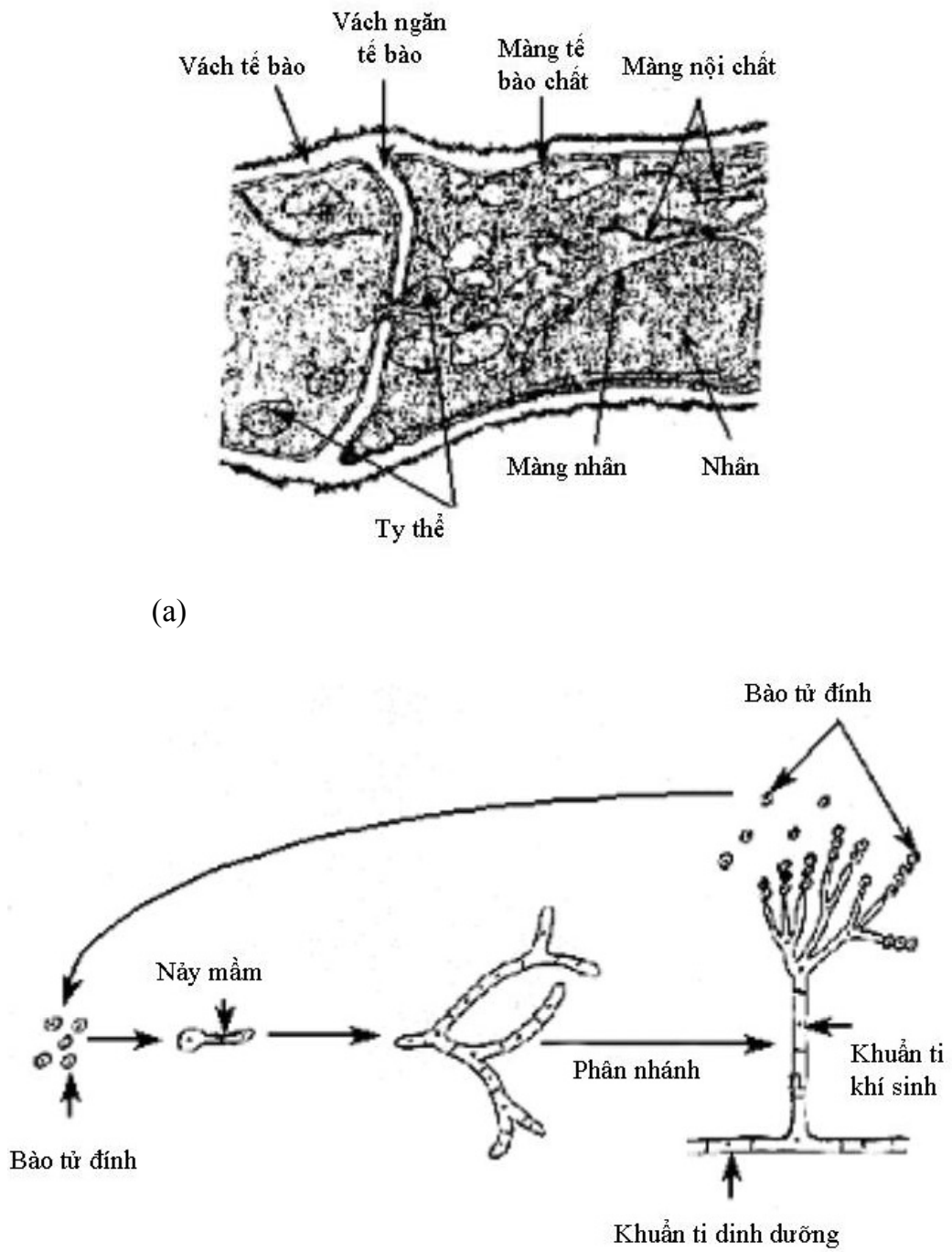
### 3.1.3 Nấm sợi

Là tất cả các nấm không phải là nấm men và không sinh mũ nấm. Tuy nhiên ở tất cả các giai đoạn chưa sinh mũ nấm thì khuẩn ti thể (hệ sợi nấm) của nấm lớn vẫn được coi là nấm sợi. Nấm sợi còn được gọi là nấm mốc mọc trên thực phẩm, chiếu, quần áo, giày dép, sách vở. Nhiều nấm sợi ký sinh trên người, động vật và thực vật gây ra các bệnh nguy hiểm. Một số nấm mốc có khả năng sinh ra độc tố.

Nấm sợi phân bố rộng rãi trong tự nhiên và tham gia tích cực vào các vòng tuần hoàn vật chất, nhất là quá trình phân giải chất hữu cơ và hình thành chất mùn. Rất nhiều loại nấm sợi đã được sử dụng trong công nghiệp chế biến thực phẩm, công nghiệp enzym, công nghiệp dược phẩm, sản xuất thuốc trừ sâu sinh học, kích thích tố sinh trưởng thực vật, làm chỉ thị xác định độ phì nhiêu và định lượng các chất hoạt động sinh học, sản xuất sinh khối phục vụ chăn nuôi và dinh dưỡng cho con người, xử lý ô nhiễm môi trường.

#### 3.1.3.1 Hình thái và cấu trúc của nấm sợi

Nấm sợi cấu trúc tương tự cấu trúc của tế bào nấm men (hình 33a). Ở một số loài nấm, khuẩn ti không có vách ngăn bên trong và có nhiều nhân. Khuẩn ti ở các loài nấm có vách ngăn có thể chứa một, hai nhân hoặc nhiều nhân. Bên ngoài có thành tế bào thường cấu tạo bởi chitin hoặc cellulose hoặc cả hai. Tế bào chất có nhân phân hóa. Màng nhân có cấu tạo hai lớp, trên màng có nhiều lỗ nhỏ.



Hình 33. (a) Cấu trúc khuẩn ti của nấm sợi; (b) Sinh sản vô tính ở nấm sợi

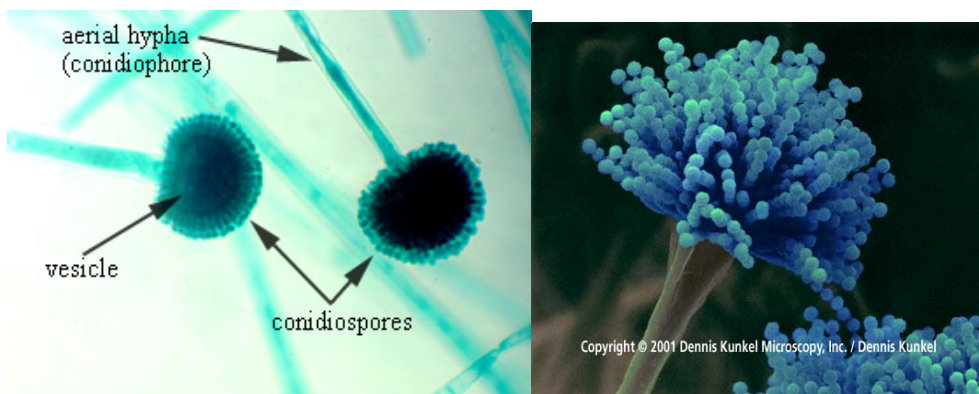
### 3.1.3.2 Sinh sản của nấm sợi

a. Nấm sợi sinh sản chủ yếu bằng hình thức vô tính (hình 33a) bằng các hình thức sau:

1. Bào tử đỉnh (bào tử cành): được sinh ra trên một sợi nấm gọi là đài/ cành (hình 34).



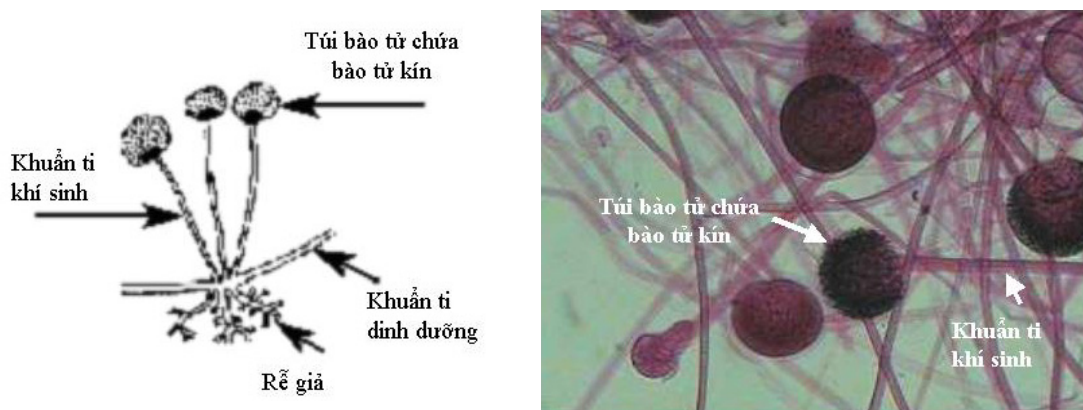
(a)



(b)

Hình 34. Bào tử đỉnh (conidiospores) (a) ở nấm *Penicillium*, (b) ở *Aspergillus*

2. Bào tử kín: bào tử được chứa trong túi (hay bọc) sinh ra trên một sợi nấm (hình 35).



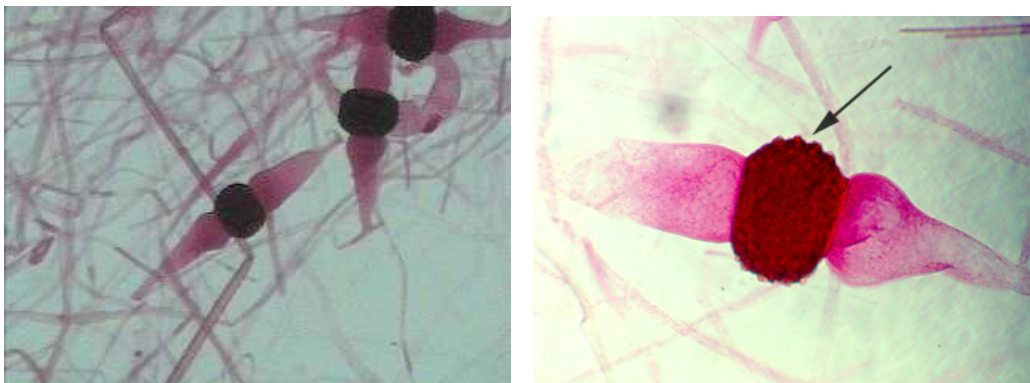
Hình 35. Các bào tử kín của nấm *Rhizopus* nằm trong túi bào tử

3. Bào tử đốt: bào tử được hình thành do sự phân đốt ở khuẩn ti dinh dưỡng (hình 36).



Hình 36: Bào tử đốt ở nấm *Coccidioides immitis*

b. Nấm sợi cũng có hình thức sinh sản hữu tính nhưng không phổ biến. Thường gặp nhất là hình thức sinh sản bằng bào tử tiếp hợp (hình 37).



(a)

(b)

Hình 37. (a) Nấm *Rhizopus*, (b) Bào tử tiếp hợp ở nấm *Rhizopus*

### 3.2 MỘT SỐ NGUYÊN SINH ĐỘNG VẬT

Nguyên sinh động vật là các vi sinh vật đơn bào, nhân thật, sống đáy và dinh dưỡng dị dưỡng. Thức ăn của chúng là các sinh vật đơn bào khác, vi khuẩn và mùn bã hữu cơ. Tế bào của nguyên sinh động vật thường không có vách tế bào, nên phần lớn nguyên sinh động vật không có hình dạng và kích thước nhất định. Tuy nhiên chúng thường có một lớp vỏ mỏng bao quanh tế bào. Một số nguyên sinh động vật sống cộng sinh. Một số sống ký sinh và có khả năng gây bệnh ở người và động vật. Hầu hết chúng có lông tơ, roi hoặc chân giả dùng để di chuyển.

Nguyên sinh động vật được phân thành 5 nhóm dựa theo cách di chuyển và bắt mồi của chúng.

## 1. Sarcodina/Rhizopoda

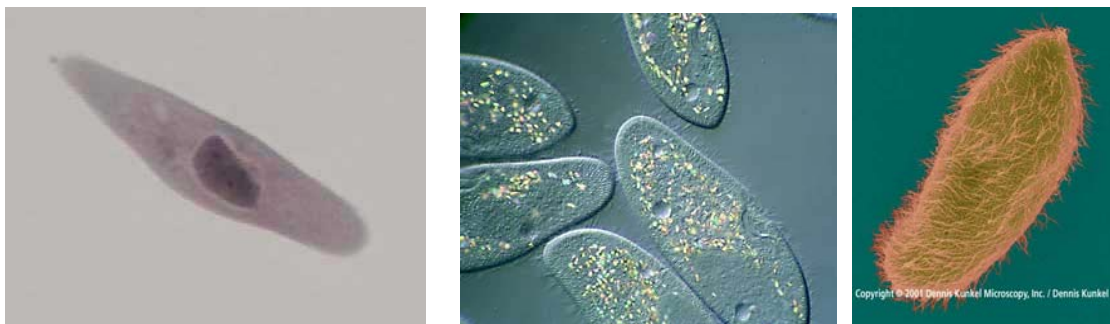
Gồm các nguyên sinh động vật di chuyển và bắt mồi bằng cách tạo ra các giả túc. Điển hình của nhóm này các amoeba (hình 38). Chúng dinh dưỡng bằng cách thực bào và phân bố rộng rãi trong đất và trong nước.



Hình 38. Amoeba proteus

## 2. Ciliophora

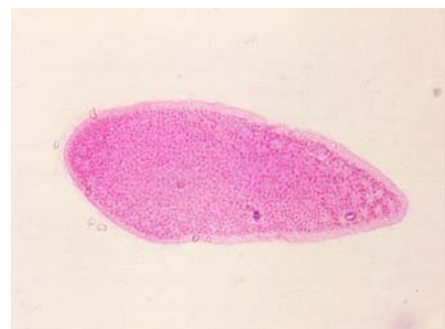
Gồm các nguyên sinh động vật di chuyển và bắt mồi bằng các lông tơ (hình 39). Các loài tiêu biểu của nhóm này là Paramecium. Chúng phân bố chủ yếu trong nước ngọt.



Hình 39. Paramecium (250X)

## 3. Sporozoa/Apicomplexa

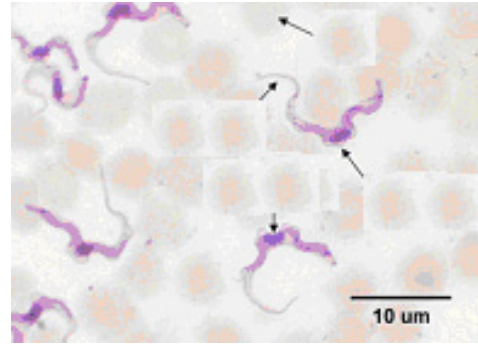
Sporozoa còn được gọi là Apicomplexa là nhóm nguyên sinh động vật có các cơ quan tử nằm ở phần đầu của tế bào có tác dụng giúp cho các sporozoa phá vỡ mô và tế bào ký chủ (hình 40). Tất cả các sporozoa là ký sinh trùng. Được biết đến nhiều nhất là các loài Plasmodium gây bệnh sốt rét ở người. Ở giai đoạn chưa trưởng thành sporozoa di chuyển bằng giả túc. Các giao tử đực di chuyển bằng roi.



Hình 40. Opalina (1200X)

#### 4. Zoomastigophora

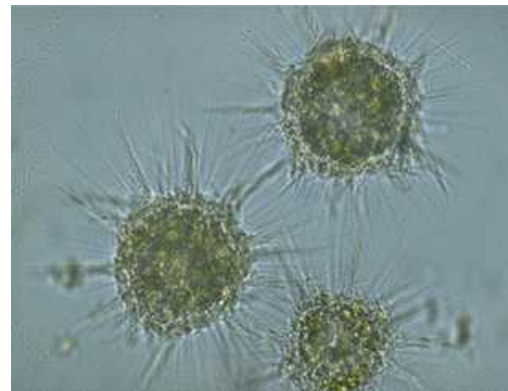
Là nhóm nguyên sinh động vật di chuyển bằng roi, có thể sống cộng sinh, ký sinh hay sống tự do. Hai loài phổ biến của nhóm này là *Trichonympha* sống cộng sinh trong ruột mối giúp chúng tiêu hóa các mẫu gỗ, và *Trypanosoma* có trong máu người mắc bệnh sốt ngủ châu phi. Chúng là những vi sinh vật dị dưỡng bắt mồi bằng hình thức thực bào (hình 41).



Hình 41. *Trypanosoma gambiense*

#### 5. Actinopoda

Actinopoda là nhóm nguyên sinh động vật có roi trục (chân giả sợi trục) mọc trên bề mặt tế bào (hình 42). Các chân giả này được các Actinopoda sử dụng để bắt mồi và để trôi nổi. Chúng được chia làm hai nhóm là heliozoans và radiozoans. Nhóm heliozoans thường phân bố trong nước ngọt và có các roi trục cứng. Nhóm radiozoans thường phân bố ở nước mặn và có vỏ giống thủy tinh. Cả hai nhóm đều là thành phần của phiêu sinh vật.



Hình 42. *Raphidiophrys pallida*

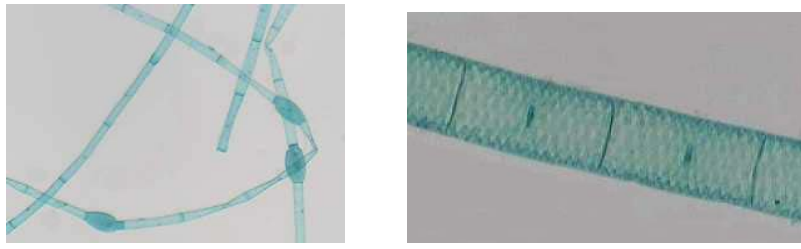
### 3.3 TẢO

Tảo là các vi sinh vật nhân thật có khả năng quang hợp bao gồm các loài tảo nước ngọt và tảo nước mặn. Tảo là nguồn thực phẩm quan trọng. Chlorophyll *a* có ở tất cả các loài tảo cùng với những sắc tố khác. Các sắc tố này qui định màu sắc của loài tảo đó.

#### Tảo lục

Tảo lục là tảo đơn bào do có chứa diệp lục tố (hình 43). Một số tảo lục đa bào có kích thước lớn. Chúng sống trong biển và trong nước ngọt. Một số sống trong đất ẩm, sống cộng sinh với nguyên sinh động vật, động vật không xương sống hoặc với nấm.

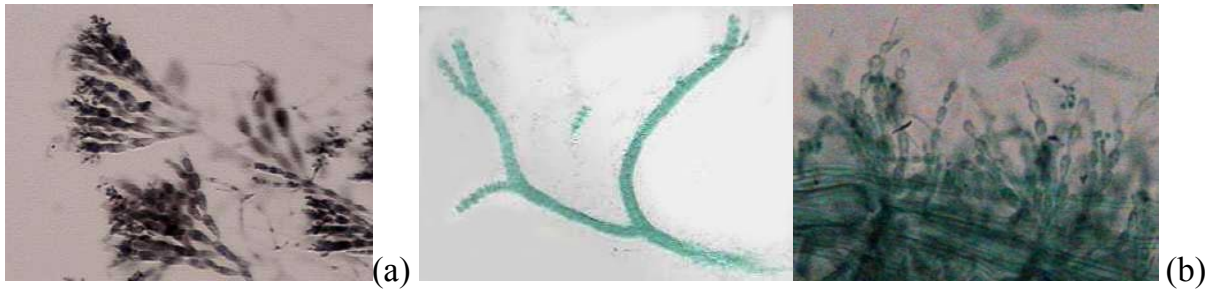




Hình 43. *Oedogonium macrandous* (100x)

### Tảo hồng

Tảo hồng là tảo đa bào bên cạnh diệp lục tố còn có sắc tố đỏ phycoerythrin. Hầu hết các loài tảo hồng phân bố ở môi trường biển ấm. Một số ở nước ngọt và ở trong đất. Có một vài loài tảo hồng sống ở độ sâu 260m dưới đáy biển.



Hình 44. (a) Tảo hồng *Nemalion* (250X); (b) Tảo hồng *Batrachospermum*

### Tảo nâu

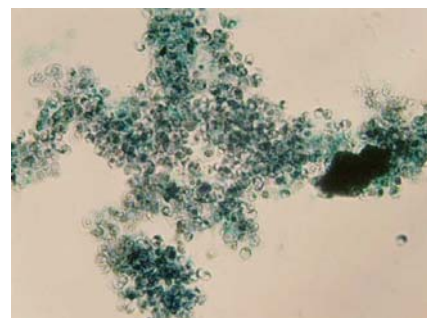
Tảo nâu là tảo đa bào, ngoài diệp lục tố còn có thêm sắc tố nâu fucoxanthin. Fucoxanthin che án màu của diệp lục tố có trong chúng. Chúng thường phân bố ở ven bờ biển ôn đới. Đa số các loài rong biển thuộc ngành tảo nâu.



Hình 45. Tảo nâu *Pylaiella* (1000X)

### Tảo vàng nâu

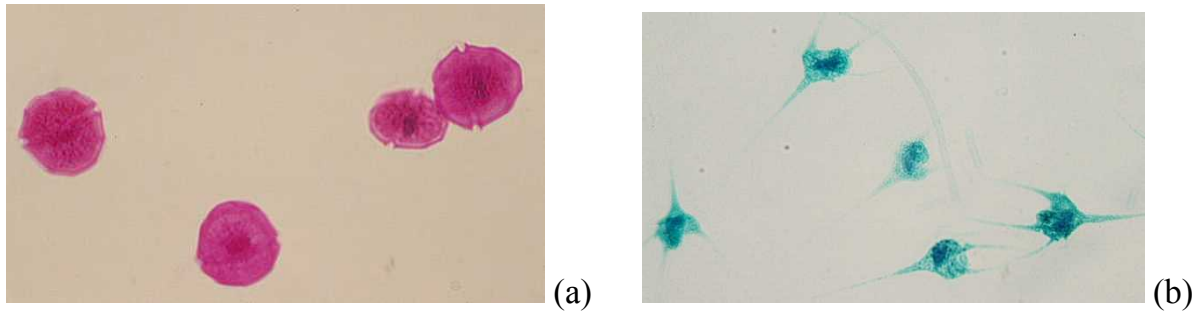
Tảo vàng nâu là tảo nước ngọt có màu vàng nâu do có sắc tố vàng, cam, nâu, carotenoid và xanthophyl. Hầu hết tảo vàng nâu có hai roi. Thường có mặt trong thành phần phiêu sinh vật nước ngọt. Chúng có thể tồn tại rất lâu trong các hồ nước lạnh hoặc khô hạn nhờ vào sự hình thành bào xác.



Hình 46. Tảo vàng nâu *Synura* 1100X

## Tảo hai roi (Dinoflagellata)

Là nhóm tảo di chuyển bằng cách xoay tròn cơ thể bằng 2 roi. Hai roi của chúng thường mọc vuông góc với nhau. Hầu hết các dinoflagellata có cấu tạo đơn bào. Một số sống thành tập đoàn. Chúng là thành phần của chuỗi sinh vật có hình thức dinh dưỡng dị dưỡng và có khả năng quang hợp. Hiện tượng triều đỏ xảy ra là do khi mật độ tảo tăng quá cao trong một thời gian ngắn. Các loài sinh vật có vỏ sử dụng dinoflagellates làm thức ăn sẽ tích tụ độc tố và sẽ gây ngộ độc cho các sinh vật sử dụng chúng làm thức ăn kể cả con người.



Hình 47. Tảo hai roi (a) *Peridinium*; (b) *Ceratium*

## Tảo silic (Diatom)

Diatom là các tảo đơn bào thuộc ngành tảo silic. Vách tế bào của chúng chứa silic nên trông giống thủy tinh. Trên tế bào diatom có rất nhiều lỗ nhỏ giúp cho việc di chuyển và trao đổi khí của chúng. Diatom phân bố ở nước ngọt và nước biển.



Hình 48. Một số diatom (250x )

## Tài liệu tham khảo:

1. Madigan, M.T., Martinko, J.M. and Parker, J., 2002. Biology of Microorganisms. Tenth edition, Prehall.
2. Gary E. K., 2002. Microbiology learning object 2: Fungi, protozoa, viruses, and the innate immune system.
3. Phạm Văn Kim, 2001. Giáo trình vi sinh đại cương. Khoa Nông nghiệp, Đại học Cần thơ.
4. Nguyễn Lâm Dũng, 2000. Vi Sinh Vật học. Nhà xuất bản giáo dục.

## Chương 4 VIRUT

### 4.1 LỊCH SỬ PHÁT HIỆN VIRUT

Từ xa xưa mặc dù chưa biết virus là nguyên nhân gây nên các bệnh hiểm nghèo con người đã có những nghiên cứu về tác nhân gây bệnh và tìm biện pháp để phòng bệnh. Những bằng chứng đầu tiên về bệnh bại liệt đã được tìm thấy ở Ai Cập khoảng 3750 năm trước công nguyên. Bệnh đậu mùa xuất hiện ở Trung Quốc khoảng 1000 trước công nguyên. Mãi cho đến những năm 1880 khi Louis Pasteur và Robert Koch chứng minh vi sinh vật là tác nhân gây bệnh truyền nhiễm, con người dần dần khám phá ra những bí ẩn của các bệnh hiểm nghèo xảy ra trước đó. Sau đó Pasteur đã có rất nhiều nghiên cứu về tác nhân gây bệnh dại và gọi đó là virus (tiếng Latin có nghĩa là độc) nhưng ông không tách biệt vi khuẩn với các tác nhân gây bệnh khác.

Vào năm 1892, một nhà sinh lý học thực vật người Nga tên là D.Ivanovskii, đã chứng minh mầm bệnh khảm ở thuốc lá sau khi được lọc qua các nén lọc vi khuẩn có kích thước nhỏ nhất vẫn có khả năng lây nhiễm trên các cây thuốc lá khác. Ông cho rằng đó là "độc tố vi khuẩn" hoặc "vi khuẩn cực tiểu". Đến năm 1898 nhà vi sinh học Hà Lan M.Beijerinck (1851-1931) cũng nghiên cứu một cách độc lập mầm bệnh của bệnh khảm thuốc lá và ông cũng thu được kết quả giống như Ivanovskii. Cùng năm đó F. Loeffler và P. Frosch phát hiện ra virus gây bệnh lở mồm long móng ở bò. Cho đến năm 1909, Landsteiner và Popper chứng minh bệnh bại liệt ở người là do virus gây nên, đây cũng là bệnh virus đầu tiên ở người được biết đến. Nhiều nhà khoa học khác tiếp tục phát hiện ra các virus khác gây ra bệnh sốt vàng ở người (1902), bệnh dại ở gà (1908), bệnh u ở niêm dịch thỏ, bệnh X ở khoai tây... Năm 1915 nhà khoa học Anh F. Twort (1877-1950) và năm 1917 nhà khoa học pháp F. d' herelle phát hiện ra virus ở vi khuẩn đã đặt tên cho loại virus này thể thực khuẩn.

Virus học phát triển rất nhanh kể từ khi kính hiển vi điện tử ra đời năm 1939. Năm 1940 lần đầu tiên nhà khoa học người Đức Kausche và cộng sự chụp được hình dạng của virus gây bệnh khảm trên cây thuốc lá (TMV) dưới kính hiển vi điện tử. Các nhà khoa học đã chứng minh vật chất di truyền ở thể thực khuẩn là ADN, mở đầu cho giai đoạn nghiên cứu sinh học phân tử ở virus (1952). Nhờ các thành tựu mới mẻ nhất trong nghiên cứu kỹ thuật di truyền ở virus mà con người đã làm ra được nhiều loại vaccin phòng bệnh virus hiểm nghèo ở người và gia súc, gia cầm.

### 4.2 MỘT SỐ ĐẶC TÍNH CỦA VIRUT

Virus thường được gọi là hạt virus vì chúng chưa có cấu tạo tế bào. Virus chứa những yếu tố di truyền là ADN hay ARN nằm trong một vỏ bọc protein và có thể có các hợp chất khác bao quanh bên ngoài vỏ. Ở trạng thái này virus còn được gọi là virion. Trong tế bào, virion được nhân lên dựa vào sự hiệp trợ của hệ thống trao đổi chất của vật chủ mà sao chép axit nucleic, tổng hợp các thành phần như protein, lipoprotein, photpholipit. Khi hệ gen của virus có mặt trong tế bào chủ và được nhân lên gọi là quá trình nhiễm virus.

Trong điều kiện ngoại bào ngoài chúng có thể tồn tại lâu dài ở trạng thái đại phân tử hóa học không sống và có hoạt tính truyền nhiễm.

Theo nhà virus học A. Lwoff (1966) thì virus khác biệt với các sinh vật khác chủ yếu ở chỗ chúng chỉ có một loại axit nucleic, hoặc là ADN hoặc là ARN, có thể tiến hành tái tạo axit nucleic nhưng không thể sinh trưởng, không phân cắt thành hai phần đều nhau, không có các enzym tham gia vào trao đổi năng lượng, không có ribosom của mình.

Vật chủ của virus bao gồm động vật, thực vật và vi khuẩn. Vì vậy virus cũng được phân loại theo vật chủ của tế bào mà chúng ký sinh là virus động vật, virus thực vật và virus vi khuẩn. Nhiều virus động vật có thể nuôi cấy được trong mô hoặc tế bào. Nuôi cấy tế bào là rất cần thiết cho việc nghiên cứu virus. Đối với virus vi khuẩn người ta dùng các vi khuẩn chuẩn thuần khiết để nuôi cấy chúng trên môi trường lỏng hoặc môi trường thạch.

Khi tế bào bị nhiễm virus có thể quan sát thấy dưới kính hiển vi quang học một đám lớn các hạt virus tập hợp lại với nhau tạo ra các thể bao hàm. Các vết làm tan vi khuẩn trên bản thạch đĩa gọi là vết thực khuẩn mắt thường cũng nhìn thấy được. Đó cũng là một tập hợp rất lớn các virus. Thể bao hàm có hình thái và kích thước không giống nhau. Đa số nằm trong tế bào chất của vật chủ nhưng cũng có một số ít nằm trong nhân tế bào. Có lúc thể bao hàm vừa tồn tại trong tế bào chất vừa tồn tại trong nhân.

## 4.3 HÌNH THÁI VÀ CẤU TẠO CỦA VIRUS

### 4.3.1 Kích thước và hình dạng của virus

Virus có kích thước rất nhỏ dao động từ 5-300nm ( $1\text{nm}=10^{-9}\text{m}$ ), nên không thể quan sát thấy virus qua kính hiển vi quang học. Muốn quan sát hình thái và đo kích thước virus phải sử dụng kính hiển vi điện tử và các kỹ thuật phụ trợ. Virus có bốn hình dạng chủ yếu là hình khối, hình khối cầu, hình que và hình tinh trùng (hay hình nòng nọc) (hình 49).

### 4.3.2 Cấu tạo của virus

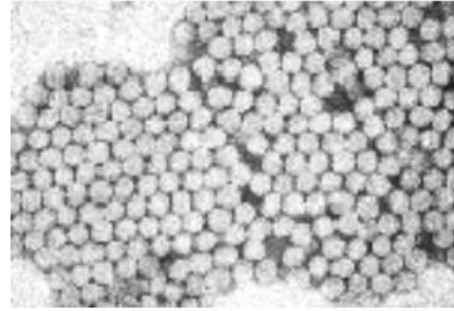
Thành phần chủ yếu của virus bao gồm axit nucleic được bao bọc bởi vỏ protein và ở một số virus còn có một số phân tử khác.

#### 4.3.2.1 Axit nucleic (lõi)

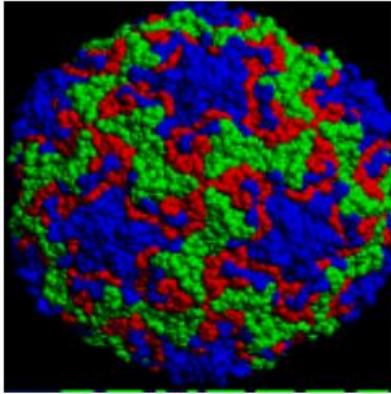
Axit nucleic là cơ sở lưu trữ, tái tạo mọi thông tin di truyền, vì vậy là thành phần quan trọng của mọi virus. Virus có nhiều loại hình axit nucleic và là cơ sở phân tử để phân loại virus. Các loại hình axit nucleic của virus được phân biệt dựa trên mấy điểm chủ yếu sau đây: (i) AND hay ARN, (ii) Chuỗi đơn hay chuỗi xoắn kép, (iii) Dạng sợi, dạng vòng kín hay dạng vòng hở và (iv) Hệ gen là một, hai hay nhiều thành phần.



Virut hình que



Virut hình khối



Virut hình cầu

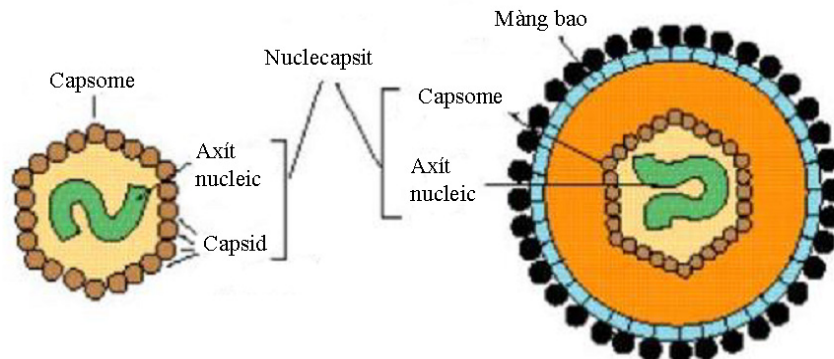


Thực khuẩn hình nòng nọc

Hình 49. Các hình dạng chủ yếu của virut

#### 4.3.2.2 Vỏ protein (capsit)

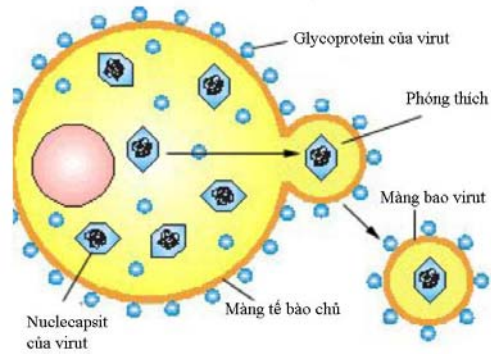
Capsit mang các thành phần kháng nguyên và có tác dụng bảo vệ lõi axit nucleic. Capsit cấu tạo bởi các đơn vị phụ gọi là hạt capsit hay capsome. Các capsome có thể do một chuỗi polypeptit tạo thành hoặc có thể tạo thành từ các đơn phân monomer protein đồng nhất, mà mỗi đơn phân này cấu tạo từ nhiều chuỗi polypeptit. Lõi và vỏ virut hợp lại tạo thành một nucleocapsit, đó là kết cấu cơ bản của mọi virut (hình 50).



Hình 50. So sánh virut có màng bao và virut không có màng bao

### 4.3.2.3 *Màng bao*

Một số virus bên ngoài capsit còn có một màng bao (hình 50) cấu tạo bởi photpholipit hay glycoprotein. Màng bao thường là màng nhân, màng tế bào chất hoặc là màng của các không bào của vật chủ bị virus cải tạo thành và mang tính kháng nguyên đặc trưng cho virus (hình 51).



Hình 51. Sự hình thành màng bao của virus

### 4.3.3 *Cấu tạo của thể thực khuẩn*

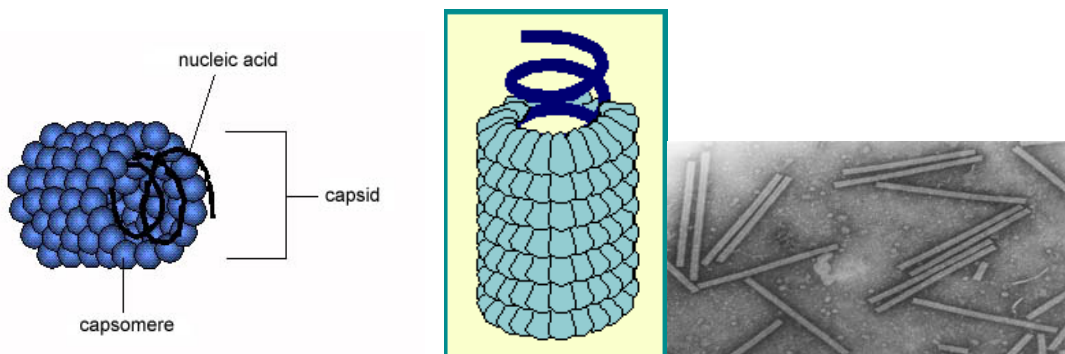
Thể thực khuẩn là virus ở vi khuẩn. Cấu trúc của thể thực khuẩn thường phức tạp hơn cấu trúc của virus. Thể thực khuẩn thường có cấu trúc hình nòng nọc hay hình tinh trùng ví dụ như thể thực khuẩn T4 cấu tạo bởi ba bộ phận: đầu, cổ và đuôi. Phần đầu bao gồm capsit và axit nucleic như ở virus không có màng bao. Đầu nối với đuôi qua cổ. Đuôi gồm có bao đuôi, ống đuôi, đĩa gốc, 6 mấu ghim và 6 sợi đuôi. Bao đuôi và ống đuôi cấu tạo bởi các capsome. Đĩa gốc cũng tương tự như đĩa cổ, trên đó mọc ra 6 sợi đuôi và 6 mấu ghim. Sợi đuôi cấu tạo bởi các phân tử protein (hình 56a).

### 4.3.4 *Các dạng cấu trúc đối xứng của virus*

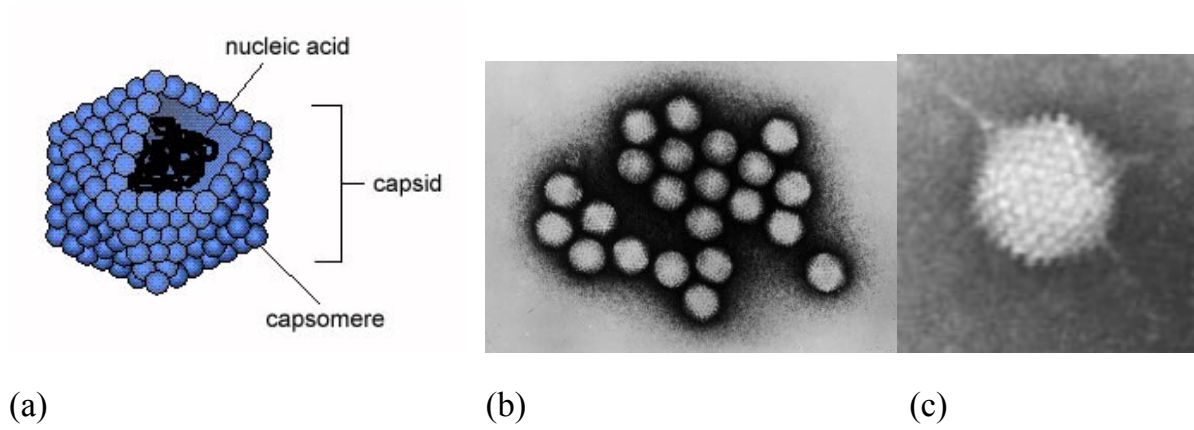
Nucleocapsit của virus luôn có cấu trúc đối xứng do sự sắp xếp của các protein cấu trúc. Virus thường có cấu trúc đối xứng xoắn, đối xứng khối và là đối xứng phức hợp. Mỗi loại đối xứng lại phân thành loại có màng bao và loại không có màng bao.

#### 4.3.4.1 *Virus đối xứng xoắn*

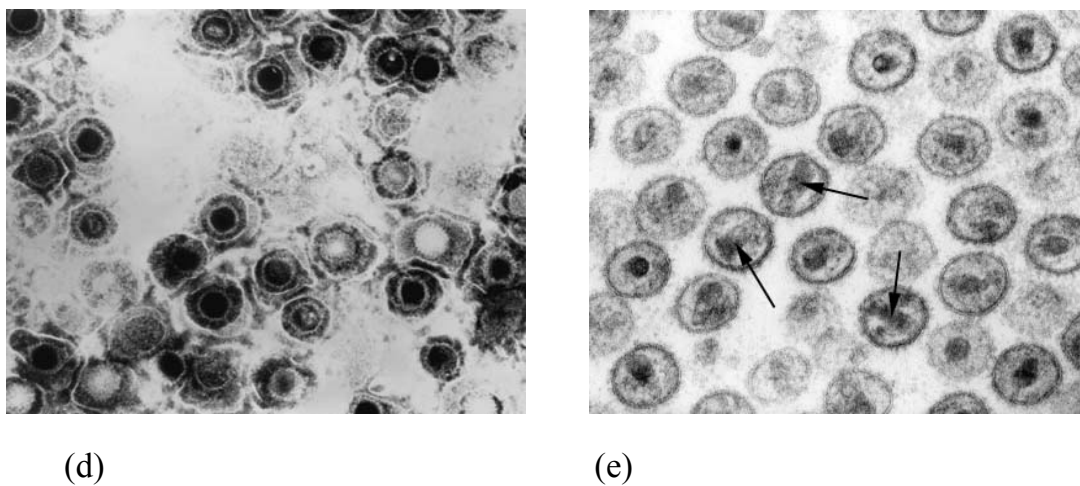
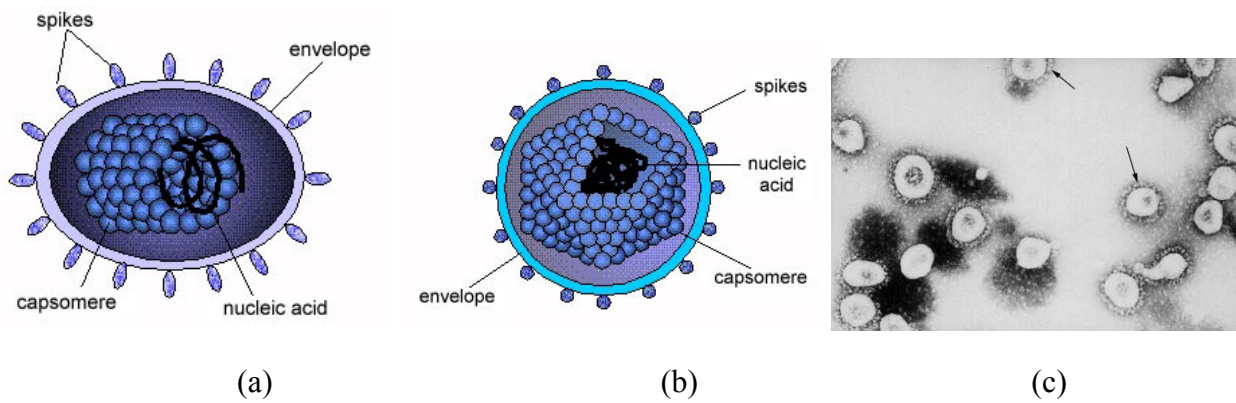
Điển hình như virus khảm thuốc lá (TMV) có hình que thẳng, dài 300nm. TMV có vỏ protein là capsit chứa 2130 capsome. Mỗi capsome cấu tạo bởi 158 gốc axit amin, khối lượng phân tử là 17500. Các capsome có đối xứng xoắn bao quanh và bám vào sợi ARN xoắn tròn ốc.



Hình 52. (a). Virus đối xứng xoắn (b) Virus khảm thuốc lá



Hình 53. (a) Virut đối xứng khối; (b) Ảnh Adenovirus qua kính hiển vi điện tử (c) Cấu trúc Adenovirus



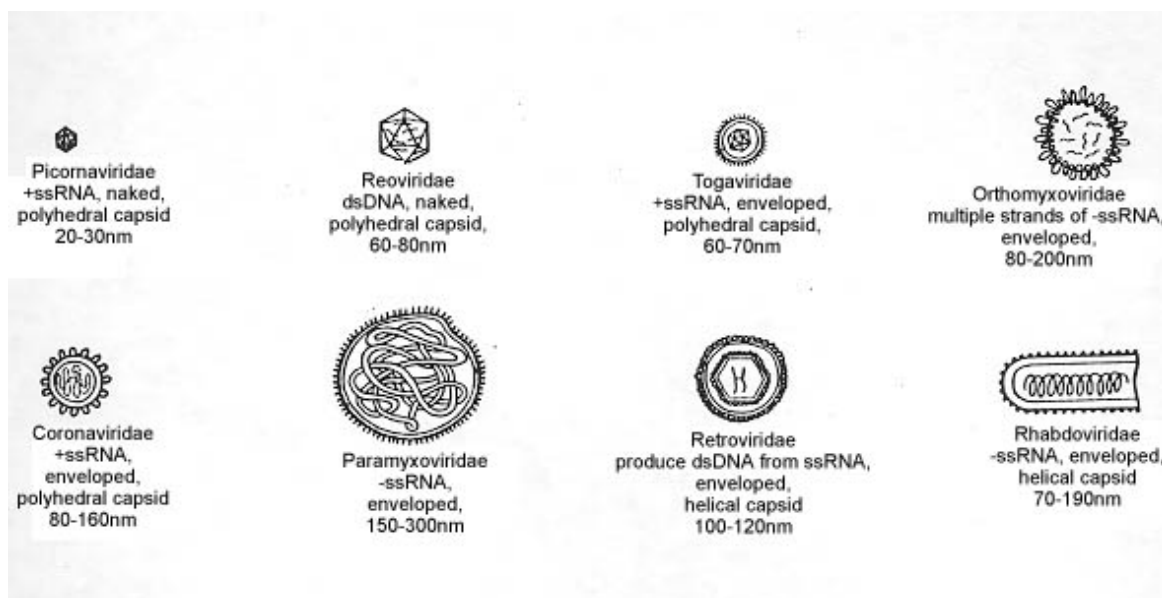
Hình 54. (a) Virut đối xứng xoắn có màng bao, (b) Virut đối xứng khối có màng bao, (c) Ảnh chụp Coronavirus qua kính hiển vi điện tử, (d) Ảnh chụp phức hợp Herpes virut qua kính hiển vi điện tử, (e) Ảnh chụp HIV qua kính hiển vi điện tử

TMV chứa 95% protein và 5% chuỗi đơn ARN. Có cả thảy 130 vòng xoắn. Mỗi vòng xoắn dài 2,3nm, trên đó có trung bình 16,33 capsome. Sợi đơn ARN có chứa 6390 đơn vị nucleotic, khối lượng phân tử là  $2 \cdot 10^6$ . Cứ 3 nucleotic thì kết hợp với 1 protein, mỗi vòng có 49 nucleotic (hình 52).

#### 4.3.4.2 Virut đối xứng khối

Điển hình như Adenovirus có hình cầu cấu trúc 20 mặt, gần giống hình cầu, không có màng bao, đường kính khoảng 70-80nm. Adenovirus có tất cả 12 góc, 20 mặt, 30 cạnh. Capsit cấu tạo bởi 252 capsome, trong đó có 12 thể ngũ lân có khối lượng phân tử 70.000, phân bố ở 12 góc và 240 thể lục lân có khối lượng phân tử 120.000, phân bố đều ở trên 20 mặt. Thể ngũ lân cấu tạo bởi 5 monomer protein, còn có thể lục lân cấu tạo bởi 6 protomer. Ở mỗi thể ngũ lân có một sợi protein mọc thẳng ra đầu có hình cầu (như hình đỉnh ghim), những sợi này được gọi là sợi ADN xoắn kép. Tất cả mọi Adenovirus đều có 6.500 đôi nucleotic (hình 53). Ngoài đối xứng 20 mặt một số virut còn có đối xứng 4 mặt và đối xứng 8 mặt.

Virut đối xứng xoắn và virut đối xứng khối có khi có màng bao (hình 54). Trên thực tế kích thước hình thái của virut rất đa dạng, tùy theo loại axitnucleic của virut và vật chủ của virut (hình 55)



(a)



(b)

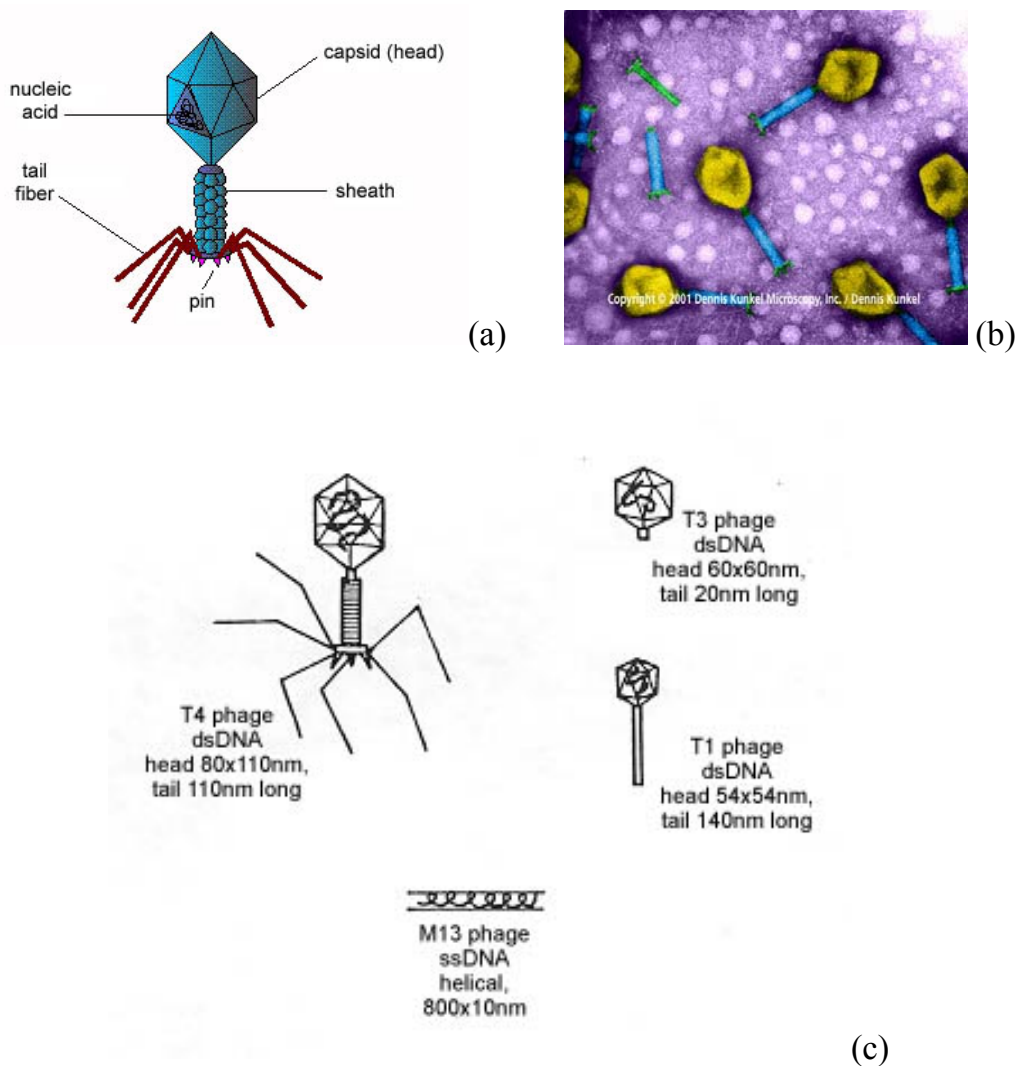
Hình 55. (a) Hình thái virut ARN ở động vật; (b) Hình thái virut ADN ở động vật



#### 4.3.4.3 Virut đối xứng phức hợp

Điển hình như thể thực khuẩn T4 của vi khuẩn *E. coli*. Thể thực khuẩn T4 cấu tạo bởi ba bộ phận: đầu, cổ và đuôi. Đầu có cấu trúc 20 mặt còn đuôi lại có cấu trúc đối xứng xoắn. Chính vì vậy mà người ta gọi là đối xứng phức hợp (hình 56).

1. Phần đầu dài 95nm, rộng 65nm, dưới kính hiển vi điện tử có thể thấy rõ 20 mặt. Capsit có cấu tạo bởi 8 loại protein, lượng chứa protein chiếm tới 76-81% trong thể thực khuẩn. Có cả thấy 212 capsome, mỗi capsome có đường kính là 8nm. Bên trong đầu có sợi ADN xoắn kép.
2. Phần cổ nối phần đầu với phần đuôi. Đó là một đĩa hình lục giác tạo thành, đường kính 37,5nm, có 6 tua cổ (cánh tu) mọc ra từ cổ.
3. Phần đuôi gồm có bao đuôi, ống đuôi, đĩa gốc, 6 mấu ghim và 6 sợi đuôi:



Hình 56. (a) Cấu tạo thể thực khuẩn, (b) Thực khuẩn T4 của vi khuẩn *E.coli*, (c) Các dạng hình thái của thể thực khuẩn

- Bao đuôi dài 95nm, có 24 vòng xoắn cấu tạo bởi 144 capsome (mỗi capsome có khối lượng phân tử là 55.000) cấu tạo nên. Ống đuôi dài 95nm, đường kính 8nm, ở giữa có lỗ thủng đường kính 2,5-3,5nm. Đây là con đường để dẫn ADN trong đầu của thể thực khuẩn xâm nhiễm vào tế bào vật chủ.
- Ống đuôi cũng cấu tạo bởi 24 vòng xoắn, tương ứng với 24 vòng xoắn trên bao đuôi.
- Đĩa gốc cũng tương tự như đĩa cổ, đó là một đĩa hình lục giác, rỗng ở giữa. Đường kính đĩa gốc là 30,5nm, trên đó mọc ra 6 sợi đuôi và 6 mấu ghim.
- Mấu ghim dài 20 nm có chức năng hấp phụ. Sợi đuôi dài 140nm có thể gấp lại ở chính giữa, đường kính 2nm.
- Sợi đuôi cấu tạo bởi 2 loại phân tử protein khá lớn và 4 loại phân tử protein khá nhỏ. Nó có tác dụng hấp thụ chuyên hóa vào vùng mẫn cảm của bề mặt tế bào vật chủ. Sau khi sợi đuôi hấp thụ đĩa gốc sẽ bị kích thích, dẫn đến việc co rút bao đuôi và làm cho ống đuôi đâm vào tế bào chủ.

## 4.4 CÁC HÌNH THỨC SAO CHÉP CỦA VIRUT

### 4.4.1 Sao chép ở virut động và virut thực vật

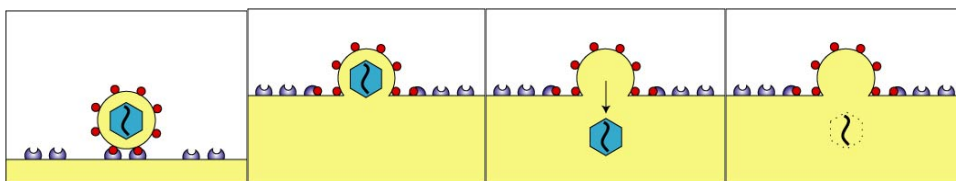
Ở virut động vật và virut thực vật, hình thức sao chép có những khác nhau theo từng loại virut, nhưng nhìn chung quá trình sao chép diễn ra qua các giai đoạn như sau:

#### 4.4.1.1 Giai đoạn hấp thụ trên bề mặt của tế bào ký chủ

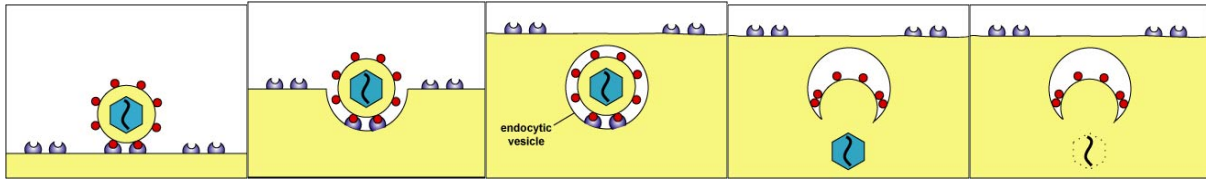
Sự hấp thụ của virut lên bề mặt của tế bào chủ thường xảy ra một cách thụ động, do ngẫu nhiên hay do một tác nhân lan truyền nào đó chứ không phải do virut chủ động. Để virut có thể được hấp thụ, trên bề mặt tế bào của ký chủ phải có các thụ thể phù hợp với loại virut đó và tế bào chủ còn phải có khả năng hỗ trợ cho quá trình sao chép của virut sau đó.

#### 4.4.1.2 Giai đoạn xâm nhập vào bên trong tế bào chủ

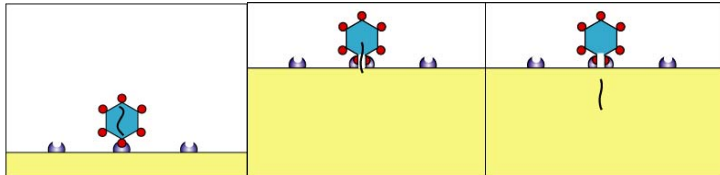
Virut có màng bao xâm nhập vào tế bào chủ bằng một trong hai cách: (1) Màng bao của virut kết hợp với màng bao của tế bào chủ tại vị trí của thụ thể và axit nucleic được giải phóng vào trong tế bào chất của tế bào chủ (hình 57a); (2) Virut xâm nhập bằng sự thực ẩm bào nhờ màng tế bào chất của tế bào chủ (hình 57b). Màng bao của virut sau đó được cởi bỏ nhờ các enzym và axit nucleic được giải phóng vào trong tế bào chất của tế bào chủ



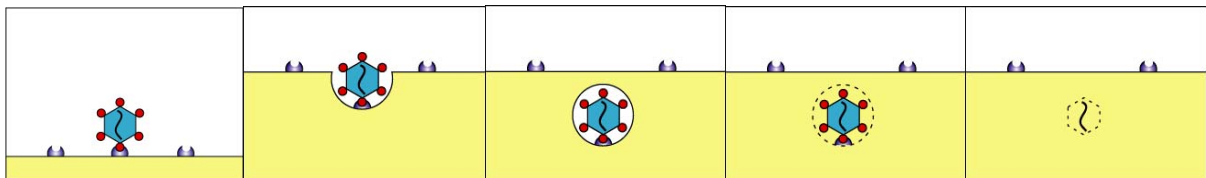
(a)



(b)



(c)



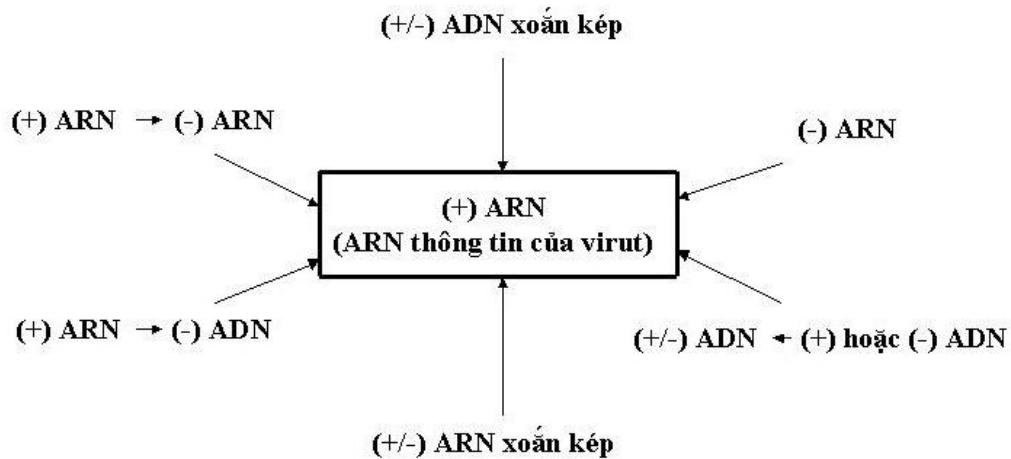
(d)

Hình 57. (a&b) Sự xâm nhập của virut không có màng bao; (c&d) Sự xâm nhập của virut có màng bao

Virut không có màng bao cũng xâm nhập vào tế bào chủ bằng một trong hai cách: (1) Capsit của virut kết hợp với màng tế bào chất của tế bào chủ để đưa axit nucleic của virut vào trong tế bào chất của tế bào chủ (hình 57c); (2) Virut xâm nhập bằng sự thực ẩm bào nhờ màng tế bào chất của tế bào chủ. Sau đó nhờ các enzym, axit nucleic được giải phóng vào trong tế bào chất của tế bào chủ (hình 57d).

#### 4.4.1.3 Giai đoạn tổng hợp các thành phần của virut

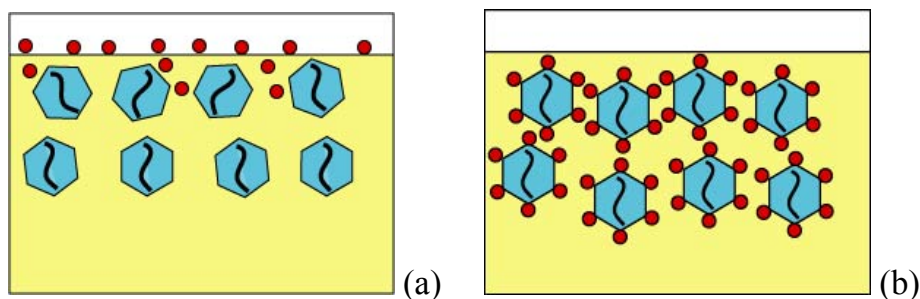
Quá trình tổng hợp các thành phần của virut được tiến hành nhờ vào hệ thống chuyên hoá trong tế bào chất của tế bào chủ từ các ribosomes, các ARN vận chuyển, các dưỡng chất, năng lượng và các enzym. Hệ gen của virut sẽ được phiên mã thành ARN thông tin (hình 58) và sẽ được ribosom của tế bào chủ giả mã thành protein và enzym của virut. Trong giai đoạn đầu của quá trình sao chép hệ gen của virut được nhân lên hàng ngàn lần. Ở giai đoạn sau, các thành phần cấu trúc của virut như protien lõi và protein vỏ và các enzym của virut được tổng hợp. Cũng trong giai đoạn này, các protein và glycoprotein của virut (trường hợp virut có màng bao) sẽ liên kết vào màng tế bào chất của tế bào chủ.



Hình 58. Sự phiên mã của axitnucleic của virus thành ARN thông tin; mạch (+) ARN được dịch mã thành protein. mạch (+) và (-) là các mạch bổ sung

#### 4.4.1.4 Giai đoạn lắp ráp

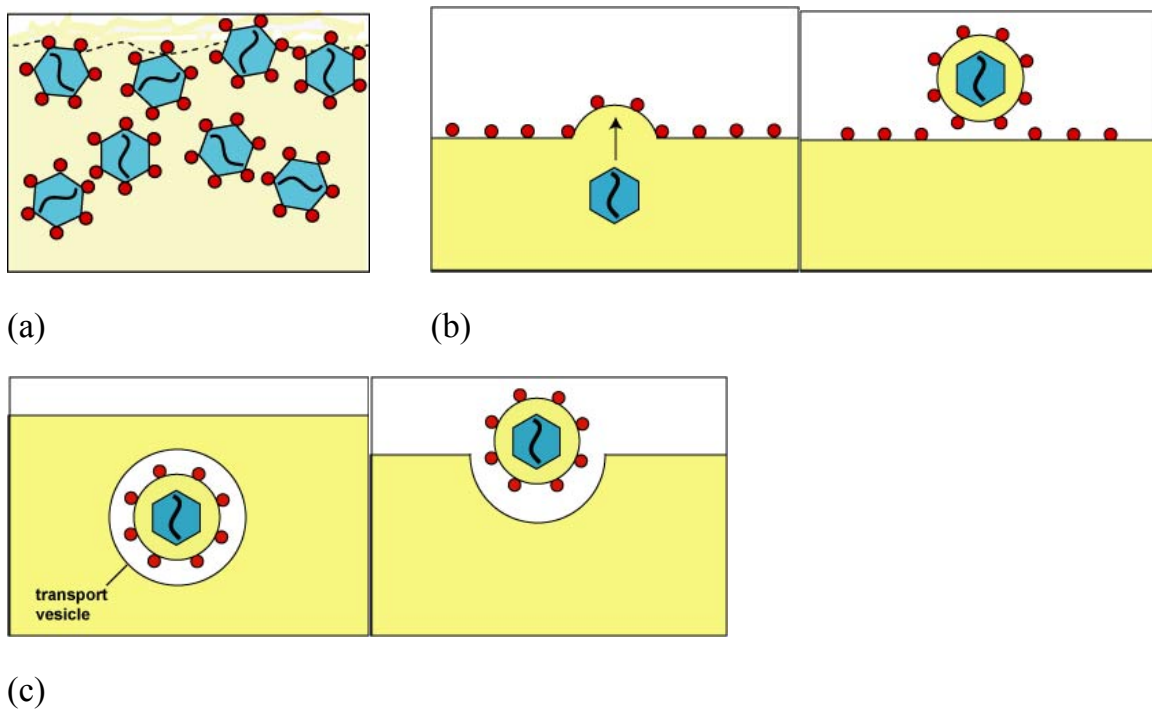
Ở giai đoạn này các phần của virus lắp ráp lại với nhau tạo thành nucleocapsit (hình 59). Ở virus có màng bao, các capsit bao lấy các axit nucleic rồi sau đó các nucleocapsit tiến đến gần màng tế bào chất của tế bào chủ để các protein và glycoprotein của virus ở dạng kết hợp với màng nguyên sinh chất của tế bào chủ bao lấy chúng hình thành virus có màng bao hoàn chỉnh. Ở virus không có màng bao, các capsit bao lấy các axit nucleic rồi sau đó các nucleocapsit tiến đến gần màng tế bào chất của tế bào chủ để thoát ra ngoài.



Hình 59. (a) Sự lắp ráp ở virus có màng bao, (b) Sự lắp ráp ở virus không có màng bao.

#### 4.4.1.5 Giai đoạn phóng thích

Virus có thể được phóng thích theo một trong ba cách: (1) tế bào chủ sẽ bị vỡ và virus thoát ra ngoài. Trường hợp này thường gặp ở virus không có màng bao (hình 60a), (2) virus tạo màng bao từ màng tế bào chất, màng nhân hoặc các màng khác của tế bào chủ theo phương thức nảy chồi (hình 60b), (3) Virus có màng bao thoát ra ngoài bằng sự vận chuyển kết hợp với màng nguyên sinh chất của tế bào chủ (hình 60c). Một số virus sau khi lắp ráp có thể chui từ tế bào này sang tế bào khác mà không cần có sự phóng thích chúng ra ngoài môi trường. Hiện tượng này xảy ra nhờ vào sự tiếp cận giữa các tế bào bị nhiễm và tế bào không bị nhiễm virus.



Hình 60. (a) Tế bào bị vỡ và virut thoát ra ngoài, (b) Virut được phóng thích theo phương thức nảy chồi, (c) Virut được phóng thích nhờ sự vận chuyển của màng nguyên sinh chất của tế bào chủ.

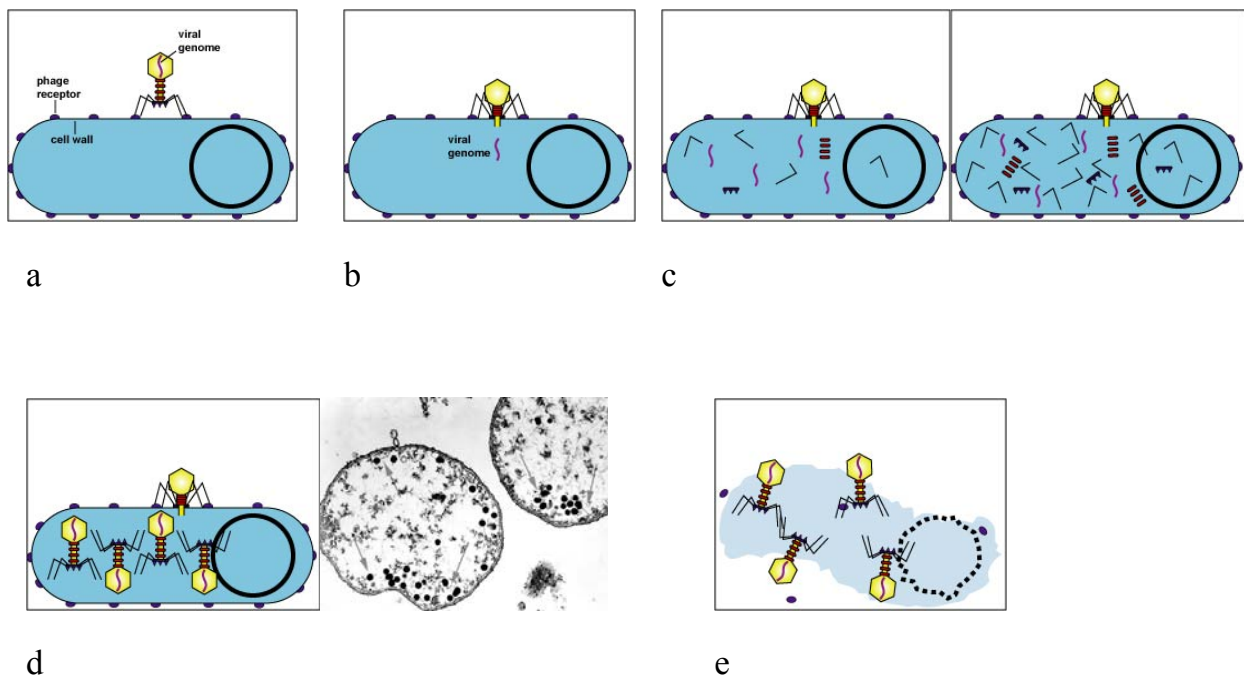
#### 4.4.2 Sự sao chép của thể thực khuẩn (phage)

Các virut của vi khuẩn cũng có quá trình sinh sản trải qua các giai đoạn giống như ở virut động và thực vật. Các nghiên cứu phage ký sinh ở tế bào vi khuẩn *E. coli* cho thấy chúng có 2 cơ chế sinh sản là: (1) chu trình tan và (2) chu trình tiềm tan. Ở chu trình tan các thể thực khuẩn làm chết tế bào chủ nên gọi là độc. Ở chu trình tiềm tan các virut có thể sinh sản mà không làm chết tế bào chủ nên được gọi là ôn hòa.

##### 4.4.2.1 Các giai đoạn của chu trình tan

1. Giai đoạn hấp thụ của phage lên bề mặt tế bào vi khuẩn: mỗi loại phage chỉ có thể hấp thụ lên bề mặt của một vài dòng của một loài vi khuẩn nhất định ((hình 61a). Sự hấp thụ của phage phụ thuộc vào các thụ thể trên bề mặt tế bào vi khuẩn. Các thể thực khuẩn khác nhau có các vị trí khác nhau về điểm hấp thụ. Ví dụ thể thực khuẩn T3, T4, T7 của vi khuẩn *E.colli* có điểm hấp thụ là lipopolisaccarit. Thể thực khuẩn T2 và T6 lại có điểm hấp thụ là lipoprotein. Việc hấp thụ chịu ảnh hưởng bởi nhiều nhân tố nội ngoại cảnh như số lượng thể thực khuẩn, các ion dương, các nhân tố bổ trợ như triptophan có thể xúc tiến sự hấp thụ của thể thực khuẩn T4, pH môi trường trung tính có lợi cho sự hấp thụ, nhiệt độ thích hợp cho sự phát triển cũng là thích hợp cho sự hấp thụ.
2. Giai đoạn xâm nhập: sau khi hấp thụ, đĩa gốc và sợi đuôi sẽ nhận được một sự kích thích, làm cho các capsome của bao đuôi sẽ có những vận động phức tạp. Chúng co lại chỉ còn một nửa chiều dài và đâm ống đuôi vào qua thành tế bào và màng tế bào chất. Trong quá trình này các men lizozim ở đầu ống đuôi có tác dụng làm hòa tan peptidoglican ở một bộ phận của thành tế bào. Phage không xâm nhập vào trong tế bào mà chỉ tiêm ADN của chúng vào tế bào chất của tế bào vi khuẩn (hình 61b).

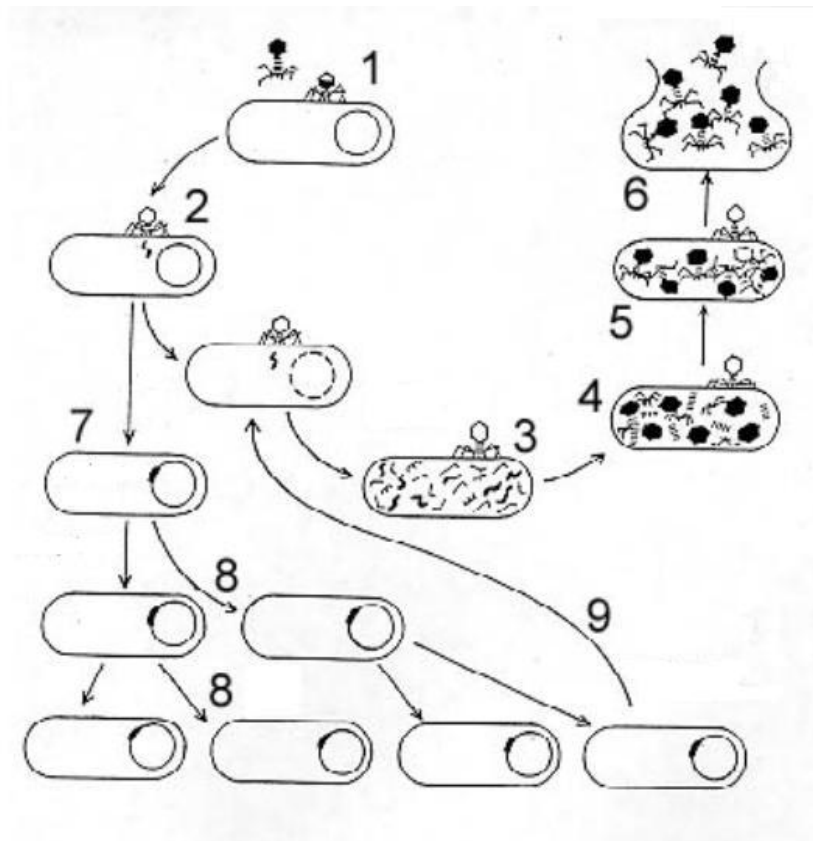
- Giai đoạn tổng hợp các thành phần của phage: đầu tiên phage cung cấp thông tin di truyền cho tế bào vi khuẩn và bắt tế bào này tổng hợp các enzym và các thành phần của phage dựa trên hệ thống trao đổi chất của tế bào vật chủ (hình 61c).
- Giai đoạn lắp ráp: sau khi đã được tổng hợp xong, các thành phần của phage sẽ lắp ráp lại thành các thể thực khuẩn hoàn chỉnh, đó là các thể thực khuẩn thế hệ “con” có kích thước như nhau (hình 61d).
- Giai đoạn phóng thích: Sau khi được lắp ráp xong, phage tiết ra men lizozim làm vỡ vách tế bào vi khuẩn và phage được phóng thích ra ngoài (hình 61e). Mỗi tế bào vi khuẩn bị nhiễm phage có thể phóng thích từ 50- 200 phage.



Hình 61. (a) Phage hấp thu vào bề mặt thành tế bào vi khuẩn tại vị trí của thụ thể, (b) phage tiêm axit nucleic vào tế bào chất của tế bào vi khuẩn, (c) sự sao chép các thành phần của phage, (d) sự lắp ráp các thành phần của phage tạo nên phage con, (e) quá trình làm tan tế bào và phóng thích phage.

#### 4.4.2.2 Các giai đoạn của chu trình tiềm tan

Chu trình bắt đầu khi phage gắn vào bề mặt tế bào vi khuẩn và tiêm ADN vào tế bào chất chúng hoặc có thể tham gia vào chu trình tan hoặc gắn vào nhiễm sắc thể của tế bào vi khuẩn để bước vào chu trình tiềm tan (hình 62). Có trường hợp ADN của phage không gắn vào nhiễm sắc thể của tế bào chủ mà sao chép độc lập giống như plasmid. Các giai đoạn của chu trình như sau:



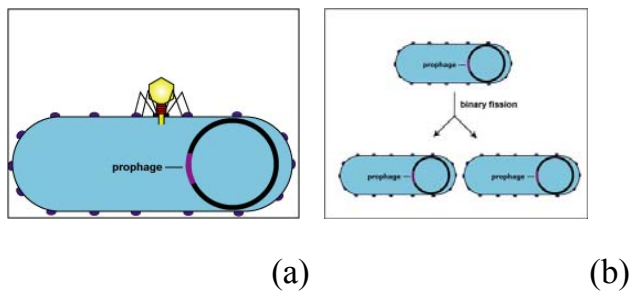
Hình 62. Chu trình tiềm tan ở thể thực khuẩn ôn hòa

1. Hấp thụ: phage hấp thụ vào bề mặt tế bào vi khuẩn tại vị trí của thụ thể
2. Xuyên nhập: phage tiêm ADN vào trong tế bào chất của vi khuẩn
3. Sao chép giai đoạn sớm: hệ gen của phage được sao chép và các thành phần của phage được tổng hợp
4. Sao chép giai đoạn sau: tiếp tục tổng hợp nên các thành phần của phage
5. Lắp ráp: các thành phần của phage được lắp ráp tạo phage hoàn chỉnh
6. Phóng thích: lysozyme của phage phá vỡ lớp peptidoglycan làm tan tế bào vi khuẩn

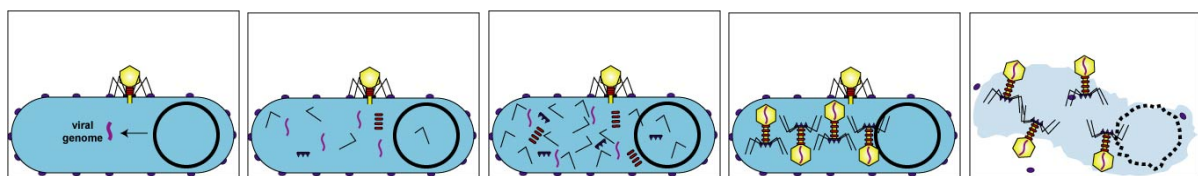
### Hoặc

7. Phage gắn ADN vào nhiễm sắc thể của vi khuẩn (hình 63). Phage lúc này được gọi là prophage
8. Khi tế bào vi khuẩn sống và sinh sản, prophage sẽ được sao chép cùng với nhiễm sắc thể của vi khuẩn.
9. Vi khuẩn chứa phage tiềm tan bị một tác động nào đó bị phá huỷ ADN, prophage sẽ tách khỏi nhiễm sắc thể chuyển sang chu trình tan sinh sản ra các phage mới và thoát ra khỏi tế bào (xem hình 64).

Số lượng virut nhiễm vào tế bào vi khuẩn và giai đoạn phát triển về sinh của chúng là các yếu tố quyết định cho các phage ôn hoà thực hiện chu trình tan hay tiềm tan. Tỷ lệ prophage tách khỏi nhiễm sắc thể chuyên sang chu trình tan là rất hiếm (phần tỉ).



Hình 63. (a) Phage gắn ADN vào nhiễm sắc thể của vi khuẩn (b) Khi tế bào vi khuẩn sống và sinh sản, prophage sẽ được sao chép cùng với nhiễm sắc thể của vi khuẩn.



Hình 64. (a) Gen của phage tách khỏi nhiễm sắc thể của vi khuẩn, (b) gene của phage sao chép và tổng hợp các thành phần của phage nhờ (c) phage tiếp tục tổng hợp các thành phần và các enzym (d) lắp ráp thành phage hoàn chỉnh (e) phage sử dụng enzym phá làm tan tế bào vi khuẩn và thoát ra ngoài.

### **Tài liệu tham khảo:**

1. Phạm Văn Kim, 2001. Giáo trình vi sinh đại cương. Khoa Nông nghiệp, Đại học Cần Thơ.
2. Nguyễn Lâm Dũng, 2000. Vi Sinh Vật học. Nhà xuất bản giáo dục.
3. Madigan, M.T., Martinko, J.M. and Parker, J., 2002. Biology of Microorganisms. Tenth edition, Prehall.
4. Gary E. K., 2002. Microbiology learning object 2: Fungi, protozoa, viruses, and the innate immune system.
5. Nguyễn Thị Chính và Ngô Tiến Hiền, 2001. Virut học. Nhà xuất bản Đại học Quốc gia Hà nội.
6. Alan J. C., 2002. Principles of Molecular Virology. Accademic Press.
7. Phạm Thành Hổ, 2001. Di truyền học. Nhà xuất bản giáo dục



## Chương 5 DINH DƯỠNG CỦA VI SINH VẬT

### 5.1 DINH DƯỠNG CỦA VI SINH VẬT

Quá trình vi sinh vật hấp thụ các chất dinh dưỡng để thỏa mãn mọi nhu cầu sinh trưởng và phát triển của chúng được gọi là quá trình dinh dưỡng. Các chất được vi sinh vật hấp thụ từ môi trường xung quanh và được chúng sử dụng làm nguyên liệu để cung cấp cho các quá trình sinh tổng hợp tạo ra các thành phần của tế bào hoặc để cung cấp cho các quá trình trao đổi năng lượng được gọi là chất dinh dưỡng. Trong điều kiện phòng thí nghiệm, vi sinh vật thường được nuôi cấy trong những môi trường nhân tạo gồm một thành phần các chất thích hợp cho loài vi sinh vật cần nuôi cấy phát triển. Tuy nhiên, không phải mọi thành phần của môi trường nuôi cấy nhân tạo đều là chất dinh dưỡng. Một số chất cần thiết cho vi sinh vật nhưng chỉ làm nhiệm vụ bảo đảm các điều kiện thích hợp về môi trường như pH, về áp suất thẩm thấu, về cân bằng ion.

Nhu cầu về các thành phần dinh dưỡng của vi sinh vật thường là để đáp ứng nhu cầu về các nguyên tố có trong thành phần hóa học của các tế bào (bảng 1).

Bảng 1. Thành phần, nguồn gốc và chức năng các nguyên tố chủ yếu trong tế bào vi khuẩn

Nguyên tố	% trọng lượng khô	Nguồn gốc	Chức năng
Cacbon	50	Các hợp chất hữu cơ hoặc CO <sub>2</sub>	Phần tử chủ yếu cấu tạo thành tế bào
Oxy	20	H <sub>2</sub> O, các hợp chất hữu cơ, CO <sub>2</sub> và O <sub>2</sub>	Phần tử chủ yếu cấu tạo nên các chất của tế bào, tham gia quá trình hô hấp
Nitro	14	NH <sub>3</sub> , NO <sub>3</sub> , các hợp chất hữu cơ, N <sub>2</sub>	Phần tử chủ yếu cấu tạo nên các amino axit, nucleic axit, nucleotit, các coenzim.
Hydro	8	H <sub>2</sub> O, các hợp chất hữu cơ, H <sub>2</sub>	Phần tử chủ yếu cấu tạo nên các hợp chất hữu cơ và nước của tế bào.
Photpho	3	Vô cơ photphat (PO <sub>4</sub> )	Phần tử chủ yếu cấu tạo nên các nucleic axit, nucleotit, phospholipit, LPS, axit teichoic
Lưu huỳnh	1	SO <sub>4</sub> , H <sub>2</sub> S, S <sup>0</sup> , hợp chất hữu cơ có lưu huỳnh	Phần tử chủ yếu cấu tạo nên cysteine, methionine, glutathione, một số coenzim
Kali	1	Các muối kali	Cation hữu cơ, thành phần phụ của enzym
Manhê	0.5	Các muối manhê	Cation hữu cơ, thành phần phụ cho phản ứng xúc tác của enzym
Canxi	0.5	Các muối canxi	Cation hữu cơ, thành phần phụ của enzym, thành phần của các nha bào.
Sắt	0.2	Các muối sắt	Là thành phần của cytochromes và một số nonheme iron-protein, thành phần phụ cho phản ứng xúc tác của enzym

Các vật chất cần thiết cho sự sống của vi sinh vật được chia thành hai nhóm chính là: (1) nước và các muối khoáng, (2) các chất hữu cơ.

- Nước chiếm đến 70- 90% khối lượng cơ thể vi sinh vật. Tất cả các phản ứng xảy ra trong tế bào vi sinh vật đều đòi hỏi có sự tồn tại của nước. Muối khoáng chiếm khoảng 2-5% khối lượng khô của tế bào. Trong tự nhiên chúng thường tồn tại dưới dạng các muối sunphat, photphat, cacbonat, clorua và trong tế bào chúng thường tồn tại ở dạng cation ( $Mg^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $K^+$ ,  $Na^+$ ...) hoặc dạng anion ( $HPO_4^{2-}$ ,  $SO_4^{2-}$ ,  $HCO_3^-$ ,  $Cl^-$ ...).
- Chất hữu cơ trong tế bào vi sinh vật chủ yếu cấu tạo bởi các nguyên tố C, H, O, N, P, S. Riêng 4 nguyên tố C, H, O, N là các nguyên tố chủ chốt để cấu tạo nên protein, axit nucleic, lipit, hydrat cacbon, đã chiếm 90 -97% toàn bộ chất khô của tế bào. Trong tế bào vi khuẩn các hợp chất đại phân tử thường chiếm tới 96% khối lượng khô, các chất đơn phân tử chỉ chiếm có 3,5 % và các ion vô cơ chỉ chiếm 1%. Trong tế bào vi sinh vật ngoài protein, peptit còn có những axit amin ở trạng thái tự do.

## 5.2 NGUỒN THỨC ĂN CABON CỦA VI SINH VẬT

Trong tự nhiên cũng như trong phòng thí nghiệm, vi sinh vật luôn có những nhu cầu nhất định về năng lượng, nguồn cac bon, các chất dinh dưỡng và các chất cần thiết để đảm bảo các điều kiện thích hợp về môi trường. Căn cứ vào nguồn cung cấp cacbon và năng lượng mà người ta chia vi sinh vật thành các nhóm sinh lí sau đây:

1. Vi sinh vật tự dưỡng: là những vi sinh vật có khả năng tự tạo ra chất hữu cơ cho tế bào bằng cách tiết ra các enzym xúc tác tổng hợp C từ  $CO_2$ . Lối dinh dưỡng của nhóm vi sinh vật này giống như ở cây xanh.
2. Vi sinh vật dị dưỡng: là những vi sinh vật không có khả năng tổng hợp chất hữu cơ từ nguyên tử C. Chúng sử dụng C từ các hợp chất hữu cơ có sẵn. Đây là nhóm vi sinh vật chiếm đa số và có lối dinh dưỡng giống như ở động vật.
3. Vi sinh vật quang dưỡng: là những vi sinh vật cần phải lấy năng lượng từ ánh sáng mới sống được. Nhóm vi sinh vật quang dưỡng được chia thành hai nhóm căn cứ vào nguồn C chúng sử dụng. Nhóm quang khoáng dưỡng lấy H từ  $H_2O$  trong quá trình quang hợp để khử O của  $CO_2$ . Nhóm quang hữu cơ dưỡng lấy H từ  $H_2S$  thay vì từ  $H_2O$ .
4. Vi sinh vật hoá dưỡng: là những vi sinh vật không cần ánh sáng vẫn sống được. Chúng lấy năng lượng từ các phản ứng hoá học xảy ra bên trong tế bào. Nhóm vi sinh vật hoá dưỡng lại được phân biệt thành hai nhóm nhỏ là (1) nhóm vi sinh vật hoá khoáng dưỡng hoá năng vô cơ (vi sinh vật nhóm này lấy năng lượng bằng cách oxyhóa các chất vô cơ) và (2) nhóm vi sinh vật hoá khoáng dưỡng năng hữu cơ (vi sinh vật nhóm này lấy năng lượng từ phản ứng oxy hoá chất hữu cơ).
5. Vi sinh vật hoại sinh: lấy nguồn C từ các chất hữu cơ còn nguyên vẹn ở chung quanh, nước cống rãnh hoặc từ các xác hữu cơ.
6. Vi sinh vật kí sinh: lấy nguồn C là chất hữu cơ trong cơ thể các sinh vật còn sống hoặc từ các tổ chức hoặc dịch thể của một cơ thể sống thường thấy ở các vi sinh vật

gây bệnh cho người, động vật và thực vật. Vi sinh vật được gọi là ký sinh bắt buộc khi chúng chỉ có thể sống ký sinh trên một mô còn sống của một sinh vật khác và chúng không thể sống hoại sinh hoặc trên môi trường nuôi cấy nhân tạo. Vi sinh vật được gọi là ký sinh tùy ý thì lại có thể sống ký sinh trong các trường hợp trên.

Tùy nhóm vi sinh vật mà nguồn cacbon được cung cấp có thể là chất vô cơ hoặc chất hữu cơ. Giá trị dinh dưỡng và khả năng hấp thụ các nguồn thức ăn cacbon của vi sinh vật khác nhau phụ thuộc vào 2 yếu tố: (1) thành phần hóa học và tính chất sinh lí của nguồn thức ăn, (2) đặc điểm sinh lí của từng loại vi sinh vật. Hầu như không có hợp chất cacbon hữu cơ nào mà không bị hoặc nhóm vi sinh vật này hoặc nhóm vi sinh vật khác phân giải. Vi sinh vật có khả năng tiết ra các enzym thủy phân để chuyển hóa những chất hữu cơ không tan được trong nước hoặc có khối lượng phân tử quá lớn thành hợp chất dễ hấp thụ như đường, acid amin, acid béo.

### 5.3 NGUỒN THỨC ĂN NITƠ CỦA VI SINH VẬT

Nguồn nitơ hấp thụ dễ dàng nhất đối với vi sinh vật là  $\text{NH}_3$  và  $\text{NH}_4^+$ . Hầu hết vi sinh vật đều có khả năng sử dụng muối amon. Muối nitrate là nguồn thức ăn nitơ thích hợp với nhiều loài tảo, nấm sợi và cũng thích hợp đối với nhiều loại nấm men và vi khuẩn. Tuy nhiên gốc  $\text{NH}_4^+$  thường bị hấp thụ nhanh hơn, rồi mới đến  $\text{NO}_3^-$ .

Một số vi sinh vật có khả năng chuyển hóa  $\text{N}_2$  thành  $\text{NH}_3$  nhờ hoạt động xúc tác của một hệ thống enzym có tên gọi là nitrogenaza. Người ta gọi các sinh vật này là sinh vật cố định nitơ còn quá trình này được gọi là quá trình cố định nitơ. Vi sinh vật có khả năng đồng hóa rất tốt nitơ chứa trong thức ăn hữu cơ nhưng không có khả năng hấp thụ trực tiếp các protein cao phân tử. Chỉ có các polipeptit chứa không quá 5 gốc axit amin mới có thể di chuyển trực tiếp qua màng tế bào chất của vi sinh vật. Rất nhiều vi sinh vật có khả năng sản sinh proteaza xúc tác việc phân hủy protein thành các hợp chất phân tử thấp có khả năng xâm nhập vào tế bào vi sinh vật.

Về axit amin người ta nhận thấy có thể có ba quan hệ khác nhau đối với từng loại vi sinh vật. Có những loại vi sinh vật không cần đòi hỏi phải được cung cấp bất kì loại axit amin nào. Chúng có khả năng tổng hợp ra toàn bộ các axit amin mà chúng cần thiết từ  $\text{NH}_4^+$  và các chất hữu cơ không chứa nitơ. Người ta gọi nhóm vi sinh vật này là nhóm tự dưỡng amin. Có những loại vi sinh vật ngược lại bắt buộc phải được cung cấp một hoặc nhiều axit amin mà chúng cần thiết. Chúng không có khả năng tự tổng hợp ra các axit amin này. Người ta gọi chúng là nhóm dị dưỡng amin. Loại thứ ba là loại các vi sinh vật không có các axit amin trong môi trường vẫn phát triển được, nhưng nếu có mặt một số axit amin nào đó thì sự phát triển của chúng sẽ được tăng cường hơn nhiều.

Nhu cầu axit amin của các loại vi sinh vật rất khác nhau ngay cả các loài vi sinh vật rất giống nhau về hình thái và rất gần nhau về vị trí phân loại có thể đòi hỏi rất khác nhau về các axit amin. Các axit amin mà các cơ thể sinh vật đòi hỏi phải được cung cấp gọi là các axit amin không thay thế. Không có các axit amin không thay thế chung cho tất cả các vi sinh vật. Loại axit amin cần thiết với loài vi sinh vật này có thể là hoàn toàn không cần thiết với loài vi sinh vật khác.

Các vi khuẩn gây bệnh, vi khuẩn gây thối, vi khuẩn lactic sống trong sữa thường đòi hỏi phải được cung cấp nhiều axit amin có sẵn. Các loài vi khuẩn sống trong đất thường có khả năng tự tổng hợp tất cả các axit amin cần thiết đối với chúng. Nấm mốc, nấm men và xạ khuẩn cũng thường không đòi hỏi các axit amin có sẵn. Tuy nhiên sự có mặt của các axit amin trong môi trường sẽ làm nâng cao tốc độ phát triển của chúng.

#### **5.4 NGUỒN THỨC ĂN KHOÁNG CỦA VI SINH VẬT**

Hàm lượng các chất khoáng chứa trong nguyên sinh chất vi sinh vật thường thay đổi tùy loài, tùy giai đoạn phát triển và tùy giai đoạn nuôi cấy. Thành phần khoáng của các tế bào vi sinh vật khác nhau thường là chênh lệch nhau rất nhiều. Nhu cầu khoáng của vi sinh vật cũng khác nhau tùy loài và tùy giai đoạn phát triển. Những nguyên tố khoáng mà vi sinh vật đòi hỏi phải được cung cấp với liều lượng lớn được gọi là nguyên tố đại lượng. Còn những nguyên tố khoáng mà vi sinh vật đòi hỏi với những liều lượng rất nhỏ thì được gọi là các nguyên tố vi lượng.

Các nguyên tố khoáng đa lượng của tế bào vi sinh vật bao gồm, P (chiếm tỉ lệ cao nhất khoảng (50% so với tổng số chất khoáng), S, Fe, Mg, Zn. Các nguyên tố khoáng vi lượng bao gồm Ca, Mn, Na, Cl, K. Sự tồn tại một cách dư thừa các nguyên tố khoáng là không cần thiết và có thể dẫn đến những ảnh hưởng xấu. Chẳng hạn việc thừa P có thể làm giảm thấp hiệu suất tích lũy của một số kháng sinh, thừa Fe làm cản trở quá trình tích lũy vitamin B<sub>2</sub> hoặc vitamin B<sub>12</sub>.

#### **5.5 NHU CẦU VỀ CHẤT SINH TRƯỞNG CỦA VI SINH VẬT**

Chất sinh trưởng là những chất hữu cơ cần thiết đối với hoạt động sống mà một loài vi sinh vật nào đó không tự tổng hợp được ra chúng từ các chất khác. Cùng một chất có thể hoàn toàn không cần thiết đối với loài sinh vật này vì chúng có thể tự tổng hợp được chất đó nhưng lại có tác dụng kích thích sinh trưởng với vi sinh vật khác nếu vi sinh vật đó tự tổng hợp được nhưng nhanh chóng tiêu thụ hết hoặc có thể là rất cần thiết đối với quá trình sinh trưởng của chúng nếu như chúng hoàn toàn không có khả năng tự tổng hợp chất đó. Nhu cầu về chất sinh trưởng ở vi sinh vật cũng giống như là nhu cầu vitamin ở người và động vật.

Đặc điểm của môi trường sống một mặt ảnh hưởng đến khả năng tổng hợp chất sinh trưởng của vi sinh vật, mặt khác ảnh hưởng hưởng đến đặc điểm trao đổi chất của chúng. Chính thông qua những ảnh hưởng này mà môi trường sống của từng loài vi sinh vật đã góp phần quyết định nhu cầu về chất sinh trưởng của chúng. Khi sống lâu dài trong môi trường thiếu chất sinh trưởng, vi sinh vật sẽ dần dần tạo ra khả năng tự tổng hợp các chất sinh trưởng mà chúng cần thiết. Mặt khác, do sống trong các điều kiện môi trường khác nhau, các loại vi sinh vật có thể sẽ có những kiểu trao đổi chất khác nhau cũng có nghĩa là đòi hỏi các hệ thống enzym khác nhau do đó đòi hỏi các chất sinh trưởng khác nhau. Việc một loại vi sinh vật không đòi hỏi một chất sinh trưởng nào đó có thể do hai nguyên nhân: một là vi sinh vật này không tự tổng hợp ra được chất sinh trưởng đó, hai là quá trình trao đổi chất của loại vi sinh vật này không có sự tham gia của loại coenzim chứa chất sinh trưởng đó.

Bảng 2. Một số vitamin cần thiết cho sự dinh dưỡng của vi sinh vật

Vitamin	Dạng coenzim	Chức năng
Tiamin (Anevrin, B <sub>1</sub> )	Tiamin pirophotphat (TPP)	Oxi hóa và khử cacboxyl, các ketoaxit, chuyển nhóm aldehyt
Riboflavin (Lactoflavin, B <sub>2</sub> )	Flavinmononucleoitit (FMN), flavin adenindinucleoitit (FAD)	Chuyển hidro
Axit Pantotenic (B <sub>3</sub> )	CoenzimA	Oxi hóa ketoaxit và tham gia vào trao đổi chất của axit béo
Niixin (A. Nicotinic, Nicotinamit, B <sub>5</sub> )	Nicotin adenindinucleoitit (FAD) và NADP	Khử hidro và chuyển hidro
Piridoxin (Piridoxal, Piridoxamin, B <sub>6</sub> )	Piridoxal photphat	Chuyển amin, khử amin, khử cacboxyla raxemin hóa axit amin.
Biotin (B <sub>7</sub> , H)	Biotin	Chuyển CO <sub>2</sub> và nhóm cacboxilic
Axit Folit (Folaxin, B <sub>9</sub> , M, Bc)	Axit tetrahydrofolic	Chuyển đơn vị 1 cacbon, chuyển CO <sub>2</sub> các nhóm cacboxilic
Axit APAB (Paraaminobenzoic, B <sub>10</sub> )	Axit tetrahydrofolic	Chuyển đơn vị 1 cacbon
Xianocobalamin (Cobalamin, B <sub>12</sub> )	Metilxianocobalamit	Chuyển nhóm metyl
Axit lipoic	Lipoamit	Chuyển nhóm axyl và nguyên tử hidro
Axit ascoebic (vitamin C)	-	Là cofacto trong hidroxyl hóa
Ecrocanxiferol (vitamin D <sub>2</sub> )	1,25-dihidroxicolecanxiferol	Trao đổi canxi và photpho

(Theo Nguyễn Lâm Dũng, 2000)

Cùng một loài sinh vật nhưng nếu được nuôi cấy trong các điều kiện khác nhau cũng có thể có những nhu cầu khác nhau về chất sinh trưởng. Chẳng hạn nấm mốc *Mucorouxi* được chứng minh chỉ cần biotin và tiamin khi phát triển trong điều kiện kỵ khí. Điều kiện pH và nhiệt độ của môi trường nhiều khi cũng ảnh hưởng rõ rệt đến nhu cầu và chất sinh trưởng của vi sinh vật. Sự có mặt của một số chất dinh dưỡng khác có khi cũng ảnh hưởng đến nhu cầu về chất sinh trưởng của vi sinh vật.

Thông thường các chất được coi là chất sinh trưởng đối với một loại nào đó có thể thuộc về một trong các loại sau: các gốc kiềm purin, pirimidin và các dẫn xuất của chúng, các acid béo và các thành phần của màng tế bào, các vitamin thông thường. Hàm lượng các chất sinh trưởng cần thiết cũng khác nhau giữa các loài vi sinh vật. Vi sinh vật có sự khác nhau rất lớn về nhu cầu vitamin. Vai trò của một số vitamin trong hoạt động sống của vi sinh vật được tóm tắt ở bảng 2.

## 5.6 CƠ CHẾ VẬN CHUYỂN CÁC CHẤT QUA MÀNG TẾ BÀO VI SINH VẬT

Tế bào vi sinh vật thường xuyên trao đổi vật chất và năng lượng với môi trường bên ngoài để nhận các chất dinh dưỡng cần thiết từ môi trường và thải ra các sản phẩm trao đổi chất. Tế bào vi sinh vật nhận và thải các chất qua màng tế bào chất một cách chọn lọc tuân theo một trong hai cơ chế: (1) khuếch tán đơn giản hay còn gọi là vận chuyển thụ động và (2) cơ chế vận chuyển không gian đặc biệt.

- Theo cơ chế khuếch tán thụ động các phân tử đi từ màng nhờ sự chênh lệch nồng độ trong trường hợp các hợp chất không điện phân hay chênh lệch điện thế (trong trường hợp các ion) ở hai phía của màng.
- Đa số các chất hòa tan qua màng do tác dụng của các cơ chế vận chuyển đặc biệt: những phân tử vận chuyển sắp xếp trong màng liên kết với các phân tử chất hoà tan rồi chuyển chúng vào bề mặt bên trong của màng, từ đây các phân tử chất hoà tan được chuyển vào tế bào chất. Sự vận chuyển đặc biệt các chất qua màng có thể cần hoặc không cần năng lượng của tế bào.

## 5.7 MÔI TRƯỜNG NUÔI CẤY VI SINH VẬT

Môi trường nuôi cấy vi sinh vật rất đa dạng về hình thức và thành phần tùy theo đặc tính sinh lý và sinh hoá của loài vi sinh vật và mục đích của quá trình nuôi cấy. Hai loại môi trường nuôi cấy vi sinh vật phổ biến nhất là:

**1. Môi trường nuôi cấy tự nhiên:** còn được gọi là môi trường thực nghiệm là những môi trường có sẵn trong tự nhiên như sữa, nước trích thịt bò, nước trích các loại rau củ hoặc ngũ cốc chứa đựng nhiều chất hữu cơ và vô cơ tan trong nước có thể đáp ứng được yêu cầu về dưỡng chất của một số lớn vi sinh vật. Môi trường nuôi cấy tự nhiên có ưu điểm là rẻ tiền nhưng có nhược điểm là không thể biết chính xác thành phần dinh dưỡng.

**2. Môi trường nuôi cấy tổng hợp:** có các thành phần dinh dưỡng của môi trường được biết rõ và được kiểm soát về hàm lượng và chất lượng. Môi trường này cho phép người nuôi cấy vi sinh vật theo dõi một cách dễ dàng tác động của chất dinh dưỡng đối với vi sinh vật, đặc biệt là những loài vi sinh vật đã được biết rõ. Tuy nhiên môi trường nuôi cấy tổng hợp rất đắt tiền, chỉ sử dụng cho từng loài vi sinh vật thích hợp, chuẩn bị khá phức tạp và tốn nhiều thời gian.

### **Tài liệu tham khảo:**

1. Kenneth Todar, 2001. Nutrient and growth of bacteria. Department of Bacteriology. University of Wisconsin-Madison.
2. Phạm Văn Kim, 2001. Giáo trình vi sinh đại cương. Khoa Nông nghiệp, Đại học Cần thơ.
3. Nguyễn Lâm Dũng, 2000. Vi Sinh Vật học. Nhà xuất bản giáo dục.
4. Madigan, M.T., Martinko, J.M. and Parker, J., 2002. Biology of Microorganisms. Tenth edition, Prehall.

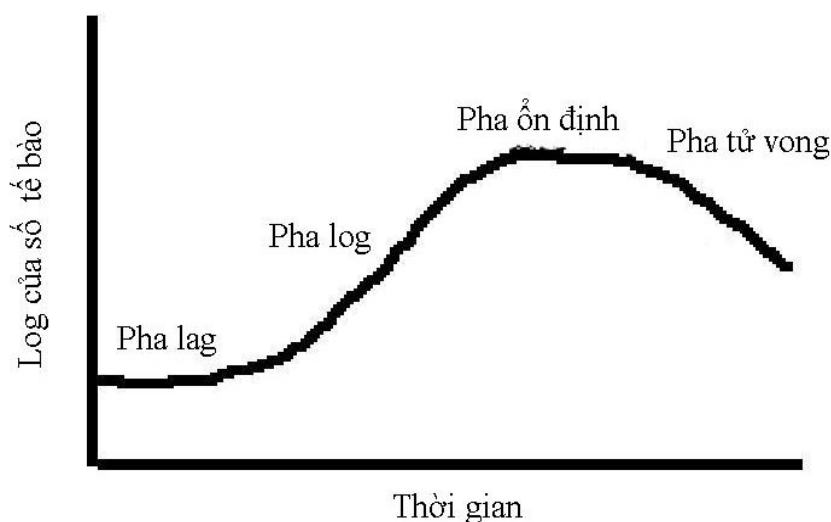
## Chương 6 SINH TRƯỞNG VÀ PHÁT TRIỂN CỦA VI SINH VẬT

Ở vi sinh vật, sinh trưởng là sự tăng kích thước và khối lượng tế bào, còn phát triển là sự tăng số lượng tế bào. Trong số các vi sinh vật thì sự sinh trưởng và phát triển của vi khuẩn được nghiên cứu sâu rộng. Sinh trưởng và phát triển ở các vi sinh vật khác, chủ yếu là ở vi sinh vật đơn bào, không khác lắm so với ở vi khuẩn, những kiến thức chung về sinh trưởng và phát triển ở vi khuẩn có thể ứng dụng vào các vi sinh vật khác. Điều cần chú ý là khi nói về sinh trưởng và phát triển của vi khuẩn tức là đề cập đến sinh trưởng và phát triển của một số lượng lớn tế bào của cùng một loại vi việc nghiên cứu ở một tế bào vi khuẩn quá nhỏ là rất khó.

Khi xác định số lượng hoặc khối lượng của vi khuẩn ta thường dùng dịch treo đồng đều của các tế bào trong môi trường dịch thể nào đó mà xác định *nồng độ vi khuẩn* (số tế bào/ml) hoặc *mật độ vi khuẩn* (mg/ml). Từ kết quả đó các chỉ số này có thể tính bằng hằng số tốc độ phân chia tế bào (thể hiện bằng số lần tăng đôi nồng độ vi khuẩn sau một giờ) và đại lượng ngược lại, *tức thời gian thế hệ* (thời gian cần cho số lượng tế bào trong một quần thể vi khuẩn tăng gấp đôi).

### 6.1 ĐƯỜNG CONG SINH TRƯỞNG CỦA VI SINH VẬT

Trong một mẻ nuôi cấy thích hợp vi khuẩn thường tăng trưởng theo 4 giai đoạn chính là giai đoạn chuẩn bị, giai đoạn tăng trưởng nhảy vọt, giai đoạn ổn định và giai đoạn chết (hình 65).



Hình 65. Đường cong sinh trưởng của vi sinh vật

### **6.1.1 Giai đoạn chuẩn bị (pha lag):**

Từ lúc bắt đầu cấy đến khi vi khuẩn đạt được tốc độ sinh trưởng cực đại. Ở giai đoạn này vi khuẩn chưa phân chia (chưa gia tăng mật số) nhưng thể tích và khối lượng tế bào tăng lên rõ rệt do quá trình tổng hợp các chất diễn ra mạnh mẽ. Có nhiều yếu tố ảnh hưởng đến sự phát triển của vi khuẩn trong giai đoạn này. Đáng lưu ý nhất là 3 yếu tố sau đây:

- Tuổi giống cấy: tuổi của quần thể giống cấy tức là chúng đang ở giai đoạn sinh trưởng nào. Thực nghiệm chứng minh nếu giống cấy ở pha lag thì pha lag sẽ ngắn. Ngược lại nếu giống cấy ở pha log hay pha tử vong thì pha lag sẽ kéo dài.
- Lượng cấy giống : lượng cấy giống nhiều thì pha lag ngắn và ngược lại.
- Thành phần môi trường: môi trường có thành phần dinh dưỡng phong phú (thường là có môi trường có cơ chất thiên nhiên) thì cho pha lag ngắn.

### **6.1.2 Giai đoạn tăng trưởng nhảy vọt (pha log):**

Vi sinh vật bắt đầu nhân mật số lên theo cấp số nhân. Kích thước của tế bào, thành phần hóa học, hoạt tính sinh lý của vi khuẩn không thay đổi theo thời gian. Tế bào ở trạng thái động học và được gọi như là “những tế bào tiêu chuẩn”.

### **6.1.3 Giai đoạn ổn định (pha ổn định):**

Mật số vi sinh vật không tăng thêm mà giữ ở mức ổn định. Trong pha này quần thể vi khuẩn ở trạng thái cân bằng động học, số tế bào mới sinh ra bằng số tế bào cũ chết đi. Kết quả là tế bào và cả sinh khối không tăng cũng không giảm. Tốc độ sinh trưởng bây giờ phụ thuộc vào nồng độ cơ chất.

### **6.1.4 Giai đoạn chết (pha tử vong):**

Mật số vi sinh vật sống giảm dần. Trong pha này số lượng tế bào có khả năng sống giảm theo lũy thừa (mặc dù số lượng tế bào sống tổng cộng có thể không giảm). Đôi khi các tế bào bị tự phân nhờ các enzym của tự bản thân. Ở các vi khuẩn sinh bào tử hình thành phức tạp hơn do qua trình hình thành bào tử.

## **6.2 CÁC PHƯƠNG PHÁP XÁC ĐỊNH SỰ TĂNG TRƯỞNG VÀ PHÁT TRIỂN CỦA VI SINH VẬT**

### **6.2.1 Các phương pháp xác định số lượng tế bào**

Trong một quần thể vi khuẩn không phải mọi tế bào đều có khả năng sống. Những vi khuẩn gọi là sống phải tạo thành khuẩn lạc trên hoặc trong môi trường thạch và phát triển trong môi



trường dịch thể. Do đó tùy theo mục đích thí nghiệm ta có thể xác định lượng tế bào vi khuẩn tổng cộng bao gồm tế bào sống và chết hoặc chỉ xác định số lượng tế bào sống.

1. Để xác định số lượng tế bào tổng cộng người ta thường dùng phương pháp đếm tế bào trực tiếp dưới kính hiển vi nhờ các buồng đếm.
2. Có thể dùng những kỹ thuật nhuộm đặc biệt để phân biệt tế bào sống và tế bào chết. Do tế bào sống có màng sinh chất hoạt động, không thấm thuốc nhuộm nên hai loại tế bào bắt màu không giống nhau. Chẳng hạn đồ congo chỉ nhuộm màu tế bào chết, còn tế bào sống không ăn màu.
3. Trong trường hợp xác định số tế bào sống người ta thường đếm số khuẩn lạc tạo thành bởi các vi khuẩn sống trong điều kiện sinh trưởng thuận lợi. Dịch treo vi khuẩn được pha loãng vào một thể tích nhất định được tán lên môi trường thạch trong đĩa petri. Sau khi nuôi cấy người ta đếm số khuẩn lạc mọc. Do mỗi tế bào sống sẽ tạo thành một khuẩn lạc, nên khi đếm số khuẩn lạc ta được số tế bào sống. Tuy nhiên điều này không đúng với các vi khuẩn mọc thành chuỗi, thành đôi hay thành đám hoặc đối với dịch treo vi khuẩn không đồng nhất.

Với một số loài vi khuẩn khó phát triển trên môi trường thạch thì kiểm tra số lượng vi khuẩn bằng phương pháp pha loãng liên tục, sau đó cấy từ mỗi độ pha loãng 1ml vào từng ống đựng môi trường chỉ thị. Có thể cấy vào 5 ống và lấy số liệu ở 3 độ pha loãng cuối có phản ứng dương tính rồi tra bảng để tìm ra số lượng gần đúng mật độ vi khuẩn. Phương pháp này được gọi là phương pháp đếm số lượng có khả năng nhất (MPN). Ngoài ra, còn có thể lọc chất dịch qua màng lọc vi khuẩn rồi đặt màng lọc lên đĩa petri chứa môi trường thạch để kiểm tra số khuẩn lạc mọc và suy ra mật độ vi sinh vật trong chất dịch.

## **6.2.2 Các phương pháp xác định sinh khối tế bào**

Việc chọn phương pháp để xác định sinh khối vi khuẩn tùy thuộc vào mục đích nghiên cứu. Chẳng hạn, muốn đánh giá sản lượng tế bào thì ta cần sinh khối tươi hoặc khô sau khi đã ly tâm tế bào. Muốn xác định cường độ trao đổi chất hay hoạt tính men, người ta tính hàm lượng protein hay nitơ. Trong thực tế có thể sử dụng các phương pháp trực tiếp hay gián tiếp:

### **6.2.2.1 Các phương pháp trực tiếp**

- Xác định sinh khối tươi hoặc sinh khối khô (phương pháp này kém chính xác)
- Xác định hàm lượng nitơ tổng số theo phương pháp micro-kjedal và phương pháp xác định  $\text{NH}_3$  hay hàm lượng cacbon tổng số theo phương pháp của Van Slike- Folch (các phương pháp này cho độ chính xác cao).
- Xác định hàm lượng protein của vi khuẩn bằng phương pháp Biure cải tiến hoặc phương pháp so màu. Các phương pháp vi lượng dựa vào việc đo số lượng các thành phần đặc trưng của protein như tirozin, triptophan (theo phương pháp của Lowry hoặc Folin-Ciocalteu). Xác định hàm lượng protein trong sinh khối là phương pháp thích

hợp nhất vì một mặt protein là thành phần chủ yếu của vật chất khô, mặt khác đó là những thành phần hoạt động trong sinh khối.

### **6.2.2.2 Các phương pháp gián tiếp**

- Đo độ đục của dịch treo tế bào. Đây là phương pháp rất thuận lợi. Trong thực tế người ta thường đo mật độ quang học của dịch treo (dịch huyền phù). Trong một số trường hợp người ta cũng xác định sự khuếch tán ánh sáng.
- Đo các chỉ số cường độ trao đổi chất như hấp thụ  $O_2$ , tạo thành  $CO_2$  hay axit, vì các chỉ số này liên quan trực tiếp tới sự sinh trưởng.

## **6.3 ẢNH HƯỞNG CỦA CÁC YẾU TỐ BÊN NGOÀI LÊN SỰ PHÁT TRIỂN CỦA VI SINH VẬT**

Quá trình sinh trưởng và trao đổi chất của vi sinh vật có liên quan liên quan chặt chẽ với các điều kiện của môi trường bên ngoài. Các điều kiện này bao gồm hàng loạt các yếu tố khác nhau, tác động qua lại với nhau. Đa số các yếu tố đó đều có một đặc tính tác dụng chung biểu hiện ở ba điểm hoạt động: tối thiểu (vi khuẩn bắt đầu sinh trưởng và mở đầu các quá trình trao đổi chất), tối thích (vi khuẩn sinh trưởng với tốc độ cực đại và biểu hiện hoạt tính trao đổi chất, trao đổi năng lượng lớn) và cực đại (vi khuẩn ngừng sinh trưởng và thường chết).

Ảnh hưởng của các yếu tố môi trường lên vi khuẩn có thể là thuận lợi hoặc bất lợi. Ảnh hưởng bất lợi sẽ dẫn tới tác dụng ức khuẩn hoặc diệt khuẩn. Do tác dụng ức khuẩn của yếu tố môi trường, tế bào ngừng phân chia, nếu loại bỏ yếu tố này khỏi môi trường vi khuẩn lại tiếp tục sinh trưởng và phát triển. Khi có mặt chất diệt khuẩn, trái lại vi khuẩn ngừng phát triển, sinh trưởng và chết nhanh chóng. Một số yếu tố chủ yếu là hóa chất thể hiện tác dụng ức khuẩn hoặc diệt khuẩn tùy theo nồng độ. Tác dụng kháng khuẩn của các yếu tố bên ngoài chịu ảnh hưởng của một số điều kiện như tính chất và cường độ tác dụng của bản thân yếu tố đó, đặc tính loài và trạng thái sinh lí của tế bào và đặc tính của môi trường.

### **6.3.1 Cơ chế tác dụng của các yếu tố bên ngoài lên vi khuẩn**

Các yếu tố của môi trường bên ngoài tác dụng lên tế bào vi khuẩn bao gồm ba loại yếu tố: yếu tố vật lý, yếu tố hóa học và yếu tố sinh học. Dù là yếu tố nào nhưng khi tác dụng bất lợi lên tế bào thì trước hết gây tổn hại đến cấu trúc quan trọng cho sự sống của tế bào. Những tổn hại đó dẫn đến phá hủy chức phận hoạt động của các cấu trúc và làm chết tế bào thể hiện chủ yếu ở những biến đổi sau đây:

#### **6.3.1.1 Phá hủy thành tế bào:**

Một số chất như liozim có khả năng phân hủy thành tế bào.

### **6.3.1.2 *Biến đổi tính thấm của màng tế bào chất:***

Một số chất không nhất thiết phải xâm nhập vào tế bào, nhưng vẫn gây tác dụng kháng khuẩn. Do tác dụng lên một hoặc một số bộ phận của màng tế bào chất làm hàng rào thẩm thấu tồn tại trong màng tế bào chất bị hư hại. Tác dụng kháng khuẩn của các chất oxy hóa và các chất khử là do ảnh hưởng của chúng lên các thành phần của màng tế bào chất.

### **6.3.1.3 *Thay đổi đặc tính keo của nguyên sinh chất:***

Các yếu tố vật lý cũng như hóa học đều có thể gây nên tác dụng này. Chẳng hạn, nhiệt độ cao làm biến tính và làm đông tụ protein. Do có khả năng khử nước nên ancol cũng làm đông tụ protein.

### **6.3.1.4 *Kìm hãm hoạt tính:***

Một số chất tác động vào các hệ thống sinh năng lượng của tế bào ví dụ như fluorit ngăn cản quá trình đường phân, dinitrophenol kìm hãm quá trình phosphoryl- oxy hóa. Các chất oxy hóa mạnh như  $H_2O_2$  phá hủy các hệ thống tế bào làm tổn hại đến chức phận của các bộ phận trao đổi chất. Các enzym khác có thể bị bất hoạt khi liên kết với các yếu tố kim loại như thủy ngân.

### **6.3.1.5 *Hủy hoại các quá trình tổng hợp:***

Sự có mặt của một số chất tương tự về mặt cấu trúc với các chất trao đổi tự nhiên (gọi là các chất antimetaboit) quá trình sinh tổng hợp có thể bị ức chế. Cơ chế tác dụng của các chất antimetaboit không giống nhau. Một số gắn với trung tâm hoạt động của enzym nhưng không tham gia vào phản ứng khiến enzym mất hoạt tính phân hủy cơ chất. Một số khác có thể tham gia vào phản ứng enzym và được lắp vào sản phẩm của phản ứng nhưng sau đó không được sử dụng trong trao đổi chất với cùng mức độ như trong trường hợp của cơ chất thực.

## **6.3.2 Các yếu tố vật lí**

### **6.3.2.1 *Độ ẩm***

Hầu hết các quá trình sống của vi khuẩn có liên quan đến nước do đó độ ẩm là một yếu tố quan trọng của môi trường. Đa số vi khuẩn thuộc nhóm sinh vật ưa nước nghĩa là chúng cần nước ở dạng tự do, dễ hấp thụ. Khi thiếu nước sẽ xảy ra hiện tượng loại nước khỏi tế bào vi khuẩn, trao đổi chất bị giảm và tế bào chết. Một số khuẩn cầu G<sup>-</sup> rất mẫn cảm với sự khô hạn, bị chết trong môi trường thiếu nước sau vài giờ.

### **6.3.2.2 *Nhiệt độ***

Hoạt động trao đổi chất của vi khuẩn có thể coi là kết quả của các phản ứng hóa học. Vì các phản ứng này phụ thuộc chặt chẽ vào nhiệt độ nếu yếu tố nhiệt độ ảnh hưởng sâu sắc đến quá trình sống của tế bào. Tế bào thu được nhiệt chủ yếu từ môi trường bên ngoài, một phần cũng do cơ thể thải ra do kết quả của trao đổi chất. Hầu hết tế bào sinh dưỡng của vi sinh vật bị chết ở nhiệt độ cao protein bị biến tính, một hoặc hàng loạt enzym bị bất hoạt. Sự chết của vi khuẩn ở nhiệt độ cao cũng có thể còn là hậu quả của sự bất hoạt hóa

ARN và sự phá hoại màng tế bào chất. Nhiệt độ thấp có thể làm bất hoạt quá trình vận chuyển các chất hòa tan qua màng tế bào chất.

Vi khuẩn thường chịu được nhiệt độ thấp. Ở nhiệt độ dưới điểm băng hoặc thấp hơn chúng không thể hiện hoạt động trao đổi chất rõ rệt. Nhiệt độ thấp có thể coi là yếu tố ức khuẩn nếu làm lạnh khá nhanh. Trong trường hợp làm lạnh dần xuống dưới điểm băng cấu trúc của tế bào bị tổn thương do các tinh thể được tạo thành nhưng kích thước nhỏ, do tế bào không bị phân hủy. Nếu làm lạnh trong chân không các tinh thể băng sẽ thăng hoa. Đó là phương pháp đông khô để bảo quản vi sinh vật.

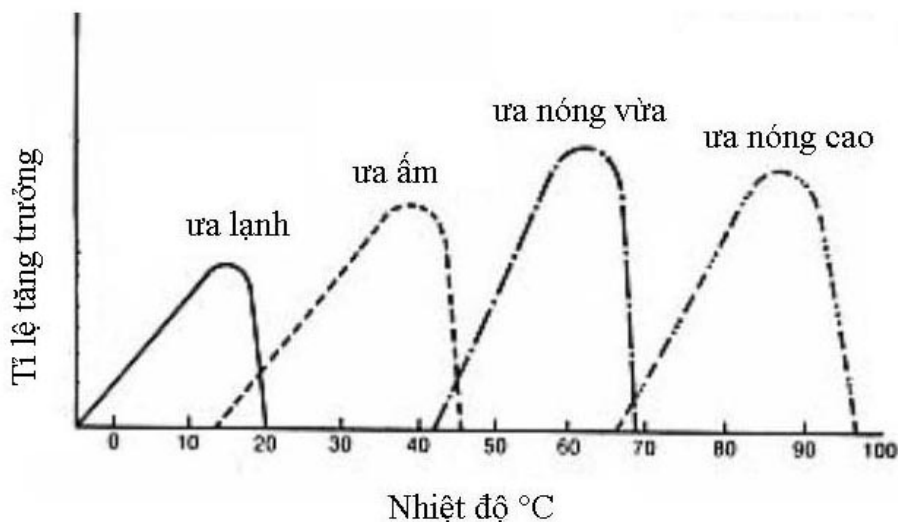
Giới hạn giữa nhiệt độ cực đại và nhiệt độ cực tiểu là vùng nhiệt sinh trưởng của vi sinh vật. Giới hạn này rất khác nhau giữa các loài vi khuẩn: tương đối rộng rãi ở các sinh vật hoại sinh, nhưng rất hẹp ở các vi khuẩn gây bệnh. Tùy theo quan hệ với vùng nhiệt có thể chia vi khuẩn thành một số nhóm.

*Vi khuẩn ưa lạnh:* Sinh trưởng tốt nhất ở nhiệt độ dưới 20°C, thường gặp trong nước biển, các hồ sâu và suối nước lạnh, chẳng hạn vi khuẩn phát quang, vi khuẩn sắt, hoạt tính trao đổi chất của các vi khuẩn này thấp. Trong điều kiện phòng thí nghiệm nhiều vi khuẩn ưa lạnh dễ dàng thích ứng với nhiệt độ cao hơn.

*Vi khuẩn ưa ấm:* Chúng chiếm đa số, cần nhiệt độ trong khoảng 20°C đến 40°C. Ngoài các dạng hoại sinh ta còn gặp các loài kí sinh, gây bệnh cho người và động vật, chúng sinh trưởng tốt nhất ở 37°C ứng với nhiệt độ của cơ thể người và động vật. Vi khuẩn ưa ấm ra thành hai nhóm: nhóm ưa nhiệt độ phòng (khoảng 25°C) và nhóm ưa thân nhiệt (khoảng 37°C).

*Vi khuẩn ưa nóng*

Nhóm sinh trưởng tốt nhất ở 55°C. Một số không sinh trưởng ở nhiệt độ dưới 30°C. Nhiệt độ sinh trưởng cực đại của các vi khuẩn ưa nóng dao động giữa 75-80°C (hình 66). Các vi sinh vật ưa nóng gồm chủ yếu là các xạ khuẩn, các vi khuẩn sinh bào tử, thanh tảo và nấm mốc. Thường gặp chúng trong suối nước nóng, trong phân ủ.



Hình 66. Nhiệt độ sinh trưởng của các nhóm vi khuẩn ưa ấm và ưa nóng

### **6.3.2.3 Áp lực và áp suất thẩm thấu**

Áp lực, áp suất thẩm thấu và áp suất thủy tĩnh có thể ảnh hưởng đến cấu trúc của tế bào vi khuẩn. Màng tế bào chất của vi khuẩn là bán thấm do các hiện tượng thẩm thấu và việc điều chỉnh thẩm áp đều có liên quan đến màng này. Trong môi trường ưu trương tế bào mất khả năng rút nước và các chất dinh dưỡng hòa tan bao quanh nên tế bào chịu trạng thái khô sinh lí, bị co sinh chất và có thể bị chết nếu kéo dài. Ngược lại khi cho vi khuẩn vào dung dịch nhược trương nước sẽ xâm nhập tế bào, áp lực bên trong sẽ tăng lên. Tuy nhiên do có thành tế bào cứng ở vi khuẩn không xảy ra vỡ sinh chất như ở tế bào thực vật. Đa số vi khuẩn sinh trưởng tốt trong môi trường chứa ít hơn 2% muối, nồng độ cao hơn có hại cho tế bào. Nhưng cũng có một số vi khuẩn lại sinh trưởng tốt nhất trong môi trường chứa tới 30% muối gọi là các vi khuẩn ưa muối.

Trong hoạt động sống của mình, vi khuẩn thường hoặc chịu ảnh hưởng của những thay đổi áp lực thủy tĩnh. Ở nhiệt độ bình thường áp lực thủy tĩnh có thể làm chậm hoặc làm mất khả năng di động, làm ngừng sinh trưởng, làm yếu động lực và làm thay đổi trao đổi chất nhưng không làm chết vi khuẩn. Tuy nhiên nhiều vi khuẩn ở đáy biển và các mỏ dầu có thể chịu áp lực thủy tĩnh tới 200-300 atm. Chúng được gọi là các vi khuẩn ưa áp.

### **6.3.2.4 Âm thanh**

Sóng âm thanh, đặc biệt trong vùng siêu âm (trên 20kHz) có ảnh hưởng rất lớn đến sinh trưởng của vi khuẩn. Các tế bào sinh dưỡng bị chết nhanh chóng, tế bào non mẫn cảm hơn so với tế bào già. Mẫn cảm nhất đối với tác dụng của siêu âm là các vi khuẩn hình sợi, ít mẫn cảm hơn là trực khuẩn và có sức đề kháng cao nhất là các cầu khuẩn. Đặc biệt, siêu âm hầu như không ảnh hưởng gì lên các tế bào vi khuẩn kháng axit. Do tác dụng của siêu âm mà độ nhớt của môi trường tăng lên, xuất hiện các chất nâng cao sức căng bề mặt và trong chất nguyên sinh hình thành các bọt khí nhỏ. Kết quả là tế bào bị hủy hoại.

### **6.3.2.5 Sức căng bề mặt**

Khi sinh trưởng trong môi trường dịch thể vi khuẩn chịu ảnh hưởng của sức căng bề mặt của môi trường. Những thay đổi mạnh mẽ sức căng bề mặt có thể làm ngừng sinh trưởng và làm tế bào chết. Khi sức căng bề mặt thấp, các thành phần của tế bào chất bị tách khỏi tế bào. Điều này chứng tỏ màng tế bào chất bị tổn thương. Các chất nâng cao sức căng bề mặt đa số là các muối vô cơ. Các chất làm giảm sức căng bề mặt chủ yếu là các axit béo, ancolol và các chất khác với chuỗi cacbon dài, thẳng và thơm. Các chất nói trên được gọi là các chất có hoạt tính bề mặt. Tác dụng của chúng thể hiện trong việc làm thay đổi các đặc tính bề mặt của vi khuẩn, trước hết là nâng cao tính thấm của tế bào.

Sức căng bề mặt thấp còn ngăn cản vi khuẩn gắn vào bề mặt cứng, tránh cho chúng khỏi cạnh tranh sinh trưởng. Việc thêm một lượng nhỏ chất có hoạt tính bề mặt như tween 80 vào môi trường nuôi cấy giúp cho vi khuẩn khuếch tán đều trong dung dịch. Các chất có hoạt tính bề mặt cũng được dùng để xác trùng, tẩy uế. Vi khuẩn gram dương mẫn cảm với các chất này hơn là vi khuẩn gram âm.

### **6.3.2.6 Các tia bức xạ**

Ánh sáng có thể gây ra những tổn thương sinh học cho tế bào vi sinh vật. Ngoại lệ có các vi khuẩn quang hợp sử dụng ánh mặt trời làm nguồn năng lượng. Mức độ gây hại của ánh

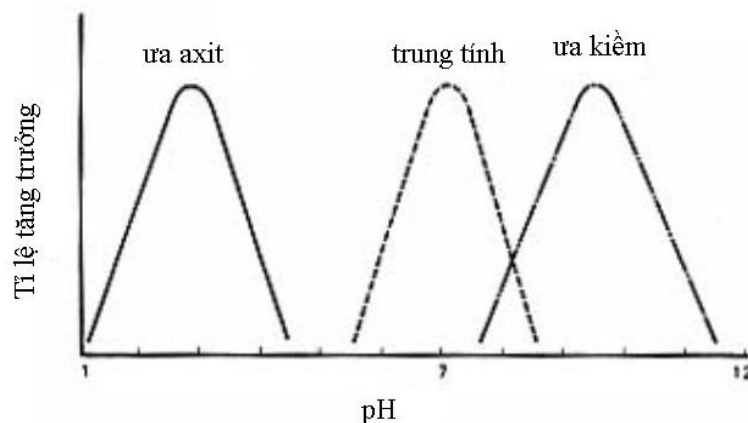
sáng phụ thuộc vào mức năng lượng trong lượng tử ánh sáng được hấp thụ. Mức năng lượng trong lượng tử lại phụ thuộc gián tiếp vào chiều dài sóng của tia chiếu. Các tia vũ trụ, tia gamma và tia X có năng lượng rất lớn.

So với các tia sáng khác thì tia tử ngoại có năng lượng nhỏ hơn. Tác dụng mạnh nhất của tia tử ngoại là ở vùng có chiều dài sóng khoảng 260 nm nghĩa là vùng hấp thụ cực đại của các axit nucleic và nucleoprotein. Dưới ảnh hưởng của tia tử ngoại vi khuẩn bị chết hoặc bị đột biến tùy theo loài vi khuẩn và liều lượng tia tử ngoại chiếu vào. Ngoại trừ bào tử của mốc có sức đề kháng cao. Dưới tác dụng của tia tử ngoại các nhánh timin của chuỗi ADN xuất hiện các liên kết cộng hóa trị. Quá trình dime-hóa timin như vậy một phần hoặc hoàn toàn ức chế sự nhân đôi của ADN. Tia ánh sáng mặt trời tuy có chứa một phần tia tử ngoại nhưng phần lớn tia này bị khí quyển giữ lại. Vì vậy ánh sáng có tác dụng diệt khuẩn nhỏ hơn so với tia tử ngoại dùng trong phòng thí nghiệm.

### 6.3.3 Các yếu tố hoá học

#### 6.3.3.1 Ảnh hưởng của pH môi trường:

pH của môi trường có ý nghĩa quyết định đối với sự sinh trưởng của nhiều vi sinh vật. Các ion  $H^+$  và  $OH^-$  là hai ion hoạt động lớn nhất trong tất cả các ion. Những biến đổi về nồng độ của chúng dù nhỏ cũng có ảnh hưởng mạnh mẽ đến vi sinh vật. Cho nên việc xác định pH thích hợp và việc duy trì pH cần thiết trong thời gian sinh trưởng của tế bào là rất quan trọng.



Hình 67. Các giá trị pH thích hợp cho các nhóm vi sinh vật

Các giá trị pH cực tiểu, tối thích và cực đại cần cho sự sinh trưởng và sinh sản của vi khuẩn tương ứng với các giá trị pH cần cho hoạt động của nhiều enzym. Giới hạn pH hoạt động đối với vi sinh vật ở trong khoảng 4-10. Đa số vi khuẩn sinh trưởng tốt ở pH 7 ví dụ như nhiều vi khuẩn gây bệnh do môi trường tự nhiên là máu và bạch huyết của cơ thể động vật phát triển tốt ở pH khoảng 7,4 (hình 67). Các vi khuẩn nitrat hoá, vi khuẩn nốt sần, xạ khuẩn, vi khuẩn phân giải urê ưa môi trường hơi kiềm. Một số vi khuẩn chịu axit như vi khuẩn lactic hay acetobacter, một số khác ưa axit như *Acetobacter acidophilus*,

*Thiobacillus thiooxydans* có thể oxy hóa lưu huỳnh thành  $H_2SO_4$ . Chúng có thể sinh trưởng ở pH <1. Nấm sợi và nấm men lại ưa axit (pH 4-6).

pH của môi trường không những ảnh hưởng mạnh đến sinh trưởng mà còn tác động sâu sắc đến các quá trình trao đổi chất. Màng tế bào chất của vi sinh vật tương đối ít thấm đối với các ion  $H^+$  và  $OH^-$ . Vậy mặc dù pH của môi trường bên ngoài dao động trong giới hạn rộng, nồng độ của hai ion nói trên trong tế bào chất nói chung vẫn ổn định. Ảnh hưởng của pH môi trường lên hoạt động của vi sinh vật có thể là do tác động qua lại giữa ion  $H^+$  và enzym chứa trong màng tế bào chất và thành tế bào.

### 6.3.3.2 Oxi

Oxi có vai trò hết sức quan trọng trong hoạt động sống của vi sinh vật. Tùy thuộc vào nhu cầu đối với oxi mà người ta chia vi sinh vật thành các nhóm sau đây:

- Hiếu khí bắt buộc: là các vi sinh vật chỉ sinh trưởng khi có mặt oxi phân tử ( $O_2$ ). Đa số vi nấm và phần lớn vi khuẩn thuộc nhóm này.
- Hiếu khí không bắt buộc: là các vi sinh vật có thể sinh trưởng được cả trong điều kiện có oxi lẫn không có oxi. Có oxi chúng sinh trưởng tốt hơn. Phần lớn nấm men và nhiều vi khuẩn thuộc nhóm này.
- Vi hiếu khí: là các vi sinh vật chỉ có thể sinh trưởng được trong điều kiện áp lực oxi rất thấp. Thuộc nhóm này có loài *Vibrio cholerae*, *Hydrogenomonas* spp., *Zyomonas* spp., *Bacteroides* spp.
- Kị khí chịu đựng: là các vi khuẩn kị khí nhưng lại tồn tại được khi có mặt oxi. Chúng không sử dụng oxi, không có chuỗi hô hấp nhưng sự có mặt của oxi không có hại đối với chúng. Thuộc nhóm này có *Streptococcus lactis*, *S. faecalis*, *Lactobacillus lactis*...
- Kị khí: đối với các vi sinh vật thuộc nhóm này sự có mặt của oxi phân tử là có hại. Chúng không sinh trưởng được trên môi trường đặc hoặc bán đặc khi để trong không khí hay có từ 10%  $CO_2$ . Chúng chỉ sinh trưởng được ở lớp dịch thể sâu nơi không có oxi, không có quá trình lên men hay quá trình photphoryl hóa quang hợp và quá trình metan. Nhóm kị khí có nhiều loài thuộc nhóm *Clostridium*, *Fusobacterium*, *Bifidobacterium*...

### 6.3.3.3 các chất diệt khuẩn (sát trùng)

Các chất diệt khuẩn thường dùng nhất là phenol và các hợp chất của phenol, các ancol, halogen, kim loại nặng,  $H_2O_2$ , các thuốc nhuộm, xà phòng và các chất tẩy rửa tổng hợp của các muối amon bậc bốn.

Phenol được dùng ở dạng dung dịch nước để sát trùng các dụng cụ bị nhiễm khuẩn. Tùy theo nồng độ mà phenol có tác dụng diệt khuẩn hay ức khuẩn. Hoạt tính của phenol bị giảm trong môi trường kiềm và có mặt chất hữu cơ. Trái lại tăng lên khi có mặt muối. Bào tử của vi sinh vật kháng với tác dụng của phenol. Một số dẫn suất của phenol như crezol và các hợp chất của phenol và hexachlorofen có hoạt tính mạnh hơn phenol. Hexachlorofen được dùng phối hợp với xà phòng để sát trùng da. Phenol và crezol tác dụng chủ yếu lên các lớp màng tế bào, phá hoại tính bán thấm của tế bào chất và làm biến tính protein.

Etanol thường được dùng để sát trùng da. Etanol không có tác dụng với bào tử. Metanol có tác dụng diệt khuẩn kém hơn etanol. Tác dụng diệt khuẩn của ancol tăng theo sự tăng sinh khối phân tử. Các ancol có khối lượng phân tử cao hơn thường khó tạo hỗn hợp trong nước nên không thể dùng để sát trùng. Propilancol và izopopanl ở nồng độ 40-80% được dùng để sát trùng da. Ancol tác dụng bằng cách gây đông tụ protein. Nhưng ancol dưới nồng độ cao khử nước mạnh, do đó rút nước khỏi tế bào, cản trở sự xâm nhập của ancol vào trong tế bào vì vậy chỉ có tác dụng ức khuẩn (etanol 70% có tác dụng sát trùng mạnh hơn etanol 90%).

Các halogen tác dụng độc đối với vi khuẩn. Khí clo dùng để sát trùng nước. Các hợp chất của clo như cloramin cũng có tác dụng diệt khuẩn. Tác dụng diệt khuẩn của clo và các hợp chất của clo là do việc hình thành axit clohidric và oxi. Oxi ở trạng thái vừa sinh ra là một chất oxi hóa mạnh do tác dụng của oxi các thành phần của tế bào bị phá hủy.

### **6.3.4 Các yếu tố sinh học**

Bên cạnh các yếu tố vật lý và hoá học còn có rất nhiều yếu tố sinh học tác động đến sự tăng trưởng và phát triển của vi sinh vật. Giữa các cá thể trong cùng một cộng đồng vi sinh vật sống cũng tồn tại những quan hệ tương hỗ về nhiều mặt có thể kích thích (trợ giúp) hoặc kiềm hãm (đối kháng) lẫn nhau. Có ý nghĩa rất quan trọng là sự cạnh tranh dinh dưỡng của sinh vật, kể cả giữa chúng với nhau cũng như với các sinh vật khác. bản thân vi sinh vật cũng bị các động vật bậc thấp sử dụng làm thức ăn. Bản thân vi sinh vật cũng bị virus, vi khuẩn và nấm tấn công ví dụ như trong trường hợp thể thực khuẩn tấn công vào tế bào vi khuẩn và phá hủy chúng.

Trong số các yếu tố sinh học có ảnh hưởng có hại đến vi sinh vật còn có các chất kích thích hoặc kiềm hãm do vi sinh vật sinh ra như vitamin, enzym và kháng sinh. Có ý nghĩa đặc biệt là vitamin. Một số vi sinh vật thuộc nhóm tảo biển, vi khuẩn và nấm không thể tự tổng hợp vitamin nên chúng cần được cung cấp vitamin nhờ các cơ thể khác. Trong khi đó một số tảo, vi khuẩn và nấm (nhất là nấm men) lại đóng vai trò quan trọng trong việc cung cấp vitamin.

#### **Tài liệu tham khảo:**

1. Kenneth Todar, 2001. Nutrient and growth of bacteria. Department of Bacteriology. University of Wisconsin-Madison.
2. Phạm Văn Kim, 2001. Giáo trình vi sinh đại cương. Khoa Nông nghiệp, Đại học Cần thơ.
3. Nguyễn Lâm Dũng, 2000. Vi Sinh Vật học. Nhà xuất bản giáo dục.
4. Madigan, M.T., Martinko, J.M. and Parker, J., 2002. Biology of Microorganisms. Tenth edition, Prenhall.



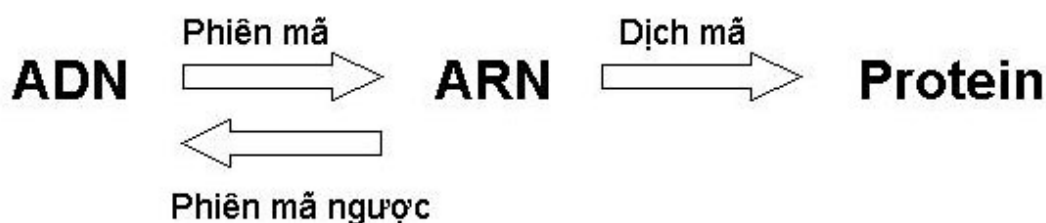
## Chương 7 DI TRUYỀN CỦA VI SINH VẬT

### 7.1 CÁC ĐẶC ĐIỂM CHUNG VỀ DI TRUYỀN CỦA VI SINH VẬT

Các đối tượng vi sinh vật bắt đầu được sử dụng vào nghiên cứu di truyền học từ những năm 40. Các nghiên cứu di truyền một mặt được tiến hành trên các vi sinh vật nhân thực có sinh sản hữu tính như nấm mốc, nấm men, vi tảo. Mặt khác trên các virus và vi khuẩn. Di truyền học của virus và vi khuẩn đã có những đóng góp đáng kể cho sự ra đời của các kỹ thuật di truyền làm bùng nổ công nghệ sinh học do chúng có nhiều ưu thế hơn hẳn các động vật và thực vật bậc cao như: vòng đời ngắn, tốc độ sinh sản nhanh, có sự tăng vọt số lượng cá thể, cấu tạo bộ máy di truyền đơn giản và dễ nghiên cứu bằng các kỹ thuật vật lý và hoá học.

Mỗi vi sinh vật đều giống tổ tiên ở hầu hết các đặc điểm nhờ sự di truyền duy trì các đặc điểm qua nhiều thế hệ. Gen cũng là đơn vị của di truyền của vi sinh vật như ở các sinh vật khác. Ở đa số vi sinh vật gen là một đoạn ADN đảm nhiệm một chức năng nhất định trong quá trình truyền thông tin duy truyền, chẳng hạn đọc mã cho một chuỗi polipeptit hay một loại ARN nào đó hoặc đóng vai trò điều khiển sự biểu hiện hoạt động của hệ gen ở loại vi sinh vật đó. Ở một số virus còn có chất duy truyền là ARN thì gen là một đoạn ARN đọc mã cho một protein xác định nhờ bộ máy phiên dịch của tế bào chủ. Phần lớn gen của các loài vi sinh vật nằm trong nhân tế bào. Ở một số vi sinh vật có yếu tố di truyền ngoài nhiễm sắc thể như plasmid và các yếu tố di truyền di động như transposon.

Bản thân chất di truyền (ADN hoặc ARN) có khả năng tự nhân lên, quá trình này được gọi là sao chép. Sau đó ADN được dùng làm khuôn để tổng hợp các ARN vận chuyển, ARN thông tin và ARN ribosome trong quá trình phiên mã. Một số virus chứa chất di truyền là ARN, nhưng để có thể lắp hệ gen của bản thân vào nhiễm sắc thể của tế bào chủ virus phải tổng hợp dạng ADN trung gian từ sợi khuôn ARN. Quá trình này được gọi là phiên mã ngược. Cuối cùng sinh tổng hợp protein hay dịch mã diễn ra trên phức hợp bao gồm sợi ARN thông tin, các riboxom chứa các ARN ribosome và các ARN vận chuyển mang các axit amin (hình 68).



Hình 68. Sự truyền thông tin di truyền ở vi sinh vật

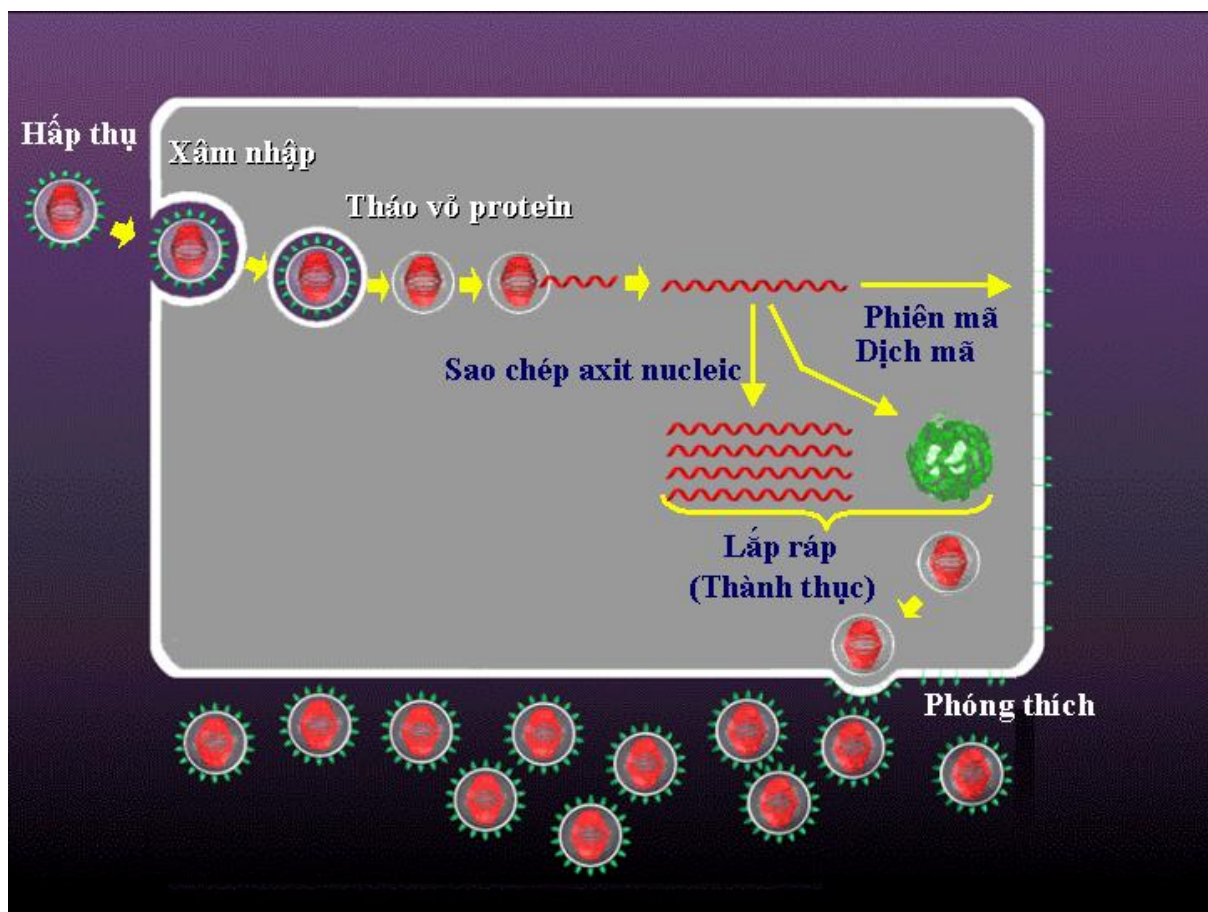
Khi nghiên cứu đặc điểm di truyền của vi sinh vật người ta thường nghiên cứu dòng của tế bào, tức tập hợp của nhiều tế bào bắt nguồn từ một tế bào ban đầu nhờ sinh sản vô tính

chứ không thể nghiên cứu từng tế bào riêng rẽ. Dòng tế bào mang một đặc tính di truyền nào đó được gọi là chủng.

Cũng như ở sinh vật bậc cao, vi sinh vật cũng chịu đột biến. Các đột biến ở vi sinh vật thường được phát hiện theo sự biến đổi các tính trạng về hình thái, đặc tính sinh hoá, kiểu hô hấp, kiểu dinh dưỡng, tính đề kháng và sự miễn nhiễm. Các đột biến có thể xuất hiện ngẫu nhiên hay do gây tạo nhờ các tác nhân gây đột biến. Mỗi gen của vi sinh vật có tần số đột biến đặc trưng.

## 7.2 DI TRUYỀN Ở VIRUT

Các hạt virut hay virion là những vật ký sinh nội bào bắt buộc. Virut chỉ biểu hiện các gen của chúng và sinh sản bên trong một tế bào khác. Sự sinh sản của virut không phải là sự sinh sôi nảy nở như ở các sinh vật khác mà là sự sao chép, tổng hợp và lắp ráp các thành phần như đã trình bày ở chương 4. Điểm nổi bật là virut tạo ra hàng trăm hay hàng ngàn virion trong mỗi thể hệ (hình 69).



Hình 69. Chu kỳ sinh sản của virut

Mặc dù có cấu tạo đơn giản nhưng virus rất đa dạng về kiểu của bộ gen. Sự sao chép của các bộ gen của virus tuy vẫn tuân theo nguyên tắc bán bảo tồn và bắt cặp bổ sung của các nucleotit, nhưng về chi tiết có những điểm khác nhau với các sinh vật có cấu tạo tế bào. Có 6 dạng axit nucleic ở virus được phân loại dựa theo các hình thức phiên mã thành ARN thông tin và dịch mã thành protein như sau:

1. ADN xoắn kép (+/-): mạch (-) ADN được dùng làm bảo sao để phiên mã thành ARN thông tin. Thường gặp ở hầu hết thể thực khuẩn, Papovavirus, Adenovirus, Herpesvirus.
2. Mạch (+) ADN hoặc mạch (-) ADN: khi vào bên trong tế bào sống sẽ chuyển thành mạch xoắn kép và mạch (-) ADN được dùng làm bảo sao để phiên mã thành ARN thông tin. Thường gặp ở thể thực khuẩn M13 và Parvovirus.
3. Mạch (+) ARN: mạch (+) ARN được sao thành mạch (-) ARN và phiên mã thành ARN thông tin. Thường gặp ở Picornavirus, Togavirus và Coronavirus.
4. Mạch (-) ARN: mạch (-) ARN được sao thành mạch (+) RNA có chức năng là ARN thông tin. Thường gặp ở Orthomyxovirus, Paramyxovirus và Rhabdovirus.
5. ARN xoắn kép (+/-): mạch (+) của ARN chức năng là ARN thông tin. Thường gặp ở Reovirus.
6. Mạch (+) ARN: mạch (+) ARN được phiên mã ngược tạo mạch (-) ADN và sau đó sao thành ADN xoắn kép theo qui tắc bắt cặp bổ sung. Mạch (-) ADN được dùng làm bảo sao để phiên mã thành ARN thông tin. Thường gặp ở Retrovirus.

### 7.3 DI TRUYỀN Ở VI KHUẨN

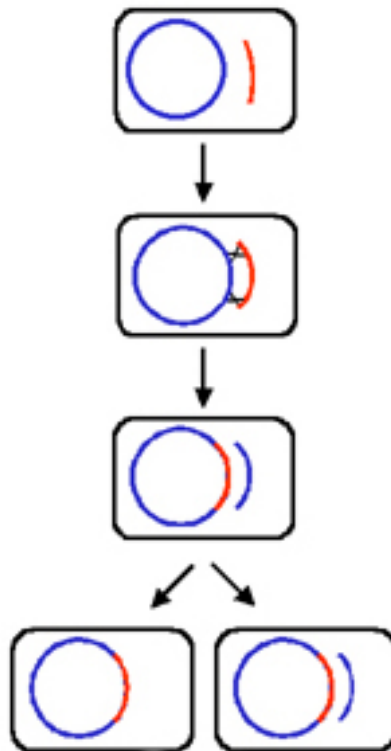
Trước đây người ta cho rằng ở vi khuẩn không có hiện tượng sinh sản hữu tính nên các nghiên cứu di truyền học chủ yếu được tiến hành ở sinh vật nhân thật. Vào những năm 40, tái tổ hợp ở vi khuẩn được chứng minh và những nghiên cứu về biến nạp, tải nạp và tiếp hợp ở vi khuẩn đã góp phần quan trọng cho sự phát triển của di truyền học phân tử và góp phần xây dựng nên kỹ thuật lắp ghép gen.

#### 7.3.1 Hiện tượng biến nạp

Biến nạp là hiện tượng truyền thông tin di truyền bằng ADN. Trong quá trình biến nạp, ADN từ một tế bào vi khuẩn này được truyền sang một tế bào vi khuẩn khác. Vi khuẩn có ADN được chuyển đi gọi là thể cho và vi khuẩn có ADN chuyển qua được gọi là thể nhận. Hiệu quả của quá trình biến nạp phụ thuộc vào 3 yếu tố là: (1) tính dung nạp của tế bào nhận, (2) kích thước của đoạn ADN và (3) nồng độ của ADN. Tuy nhiên, chỉ nếu ADN là tương đồng với hệ gen của vi khuẩn nhận thì mới được hợp nhất và từ đó làm thay đổi đặc điểm di truyền của tế bào nhận.

Các tế bào ở trạng thái có thể nhận được ADN phải có trạng thái sinh lý đặc biệt được gọi là khả năng dung nạp. Những tế bào dung nạp trên bề mặt có các nhân tố dung nạp

gặp ở các nhóm *Acinetobacter*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Haemophilus*, *Mycobacterium*, *Pseudomonas*, *Streptococcus* và *Synechococcus*. Khả năng dung nạp (khả nạp) là do các gen nằm trên nhiễm sắc thể đọc mã và được kích thích bởi một số điều kiện môi trường. Hiện tượng biến nạp có thể là tự nhiên hoặc có thể tạo ra bằng cách tạo ra những điều kiện nhất định cho sự tăng trưởng của tế bào. Phần lớn các vi khuẩn chỉ dung nạp trong một giai đoạn giới hạn của chu trình sống thường là ở giai đoạn tăng trưởng nhảy vọt.



Hình 70. Hiện tượng biến nạp ở vi khuẩn

Khả năng dung nạp cũng khác nhau tùy theo loài vi khuẩn ví dụ như ở *Streptococcus pneumoniae* có khoảng 30-80 điểm nhận trên tế bào nên chúng có khả năng gắn với ADN của bất cứ nguồn nào và có khả năng dung nạp như nhau các ADN từ các nguồn khác nhau. Trong khi đó *Haemophilus influenzae* chỉ có 4-8 điểm nhận nên chúng có khả năng dung nạp hạn chế hơn nhiều. Chỉ ADN tương đồng từ cùng một loài hoặc từ một loài rất thân thuộc của *H. influenzae* mới được xâm nhập tế bào.

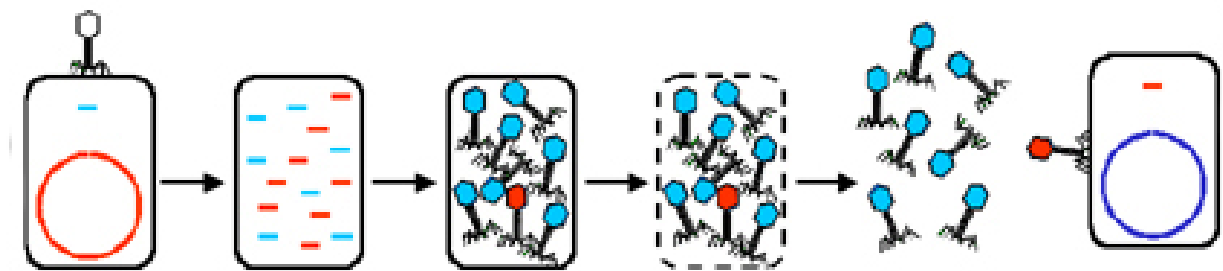
Ở các vi khuẩn khả nạp tự nhiên tính trạng được biến nạp thường là tính kháng độc tố và tính nguyên dưỡng đối với axit amin. ADN dùng trong quá trình biến nạp phải có mạch kép và đoạn ADN được biến nạp phải có trong lượng phân tử tối thiểu là 400.000 dalton. Nồng độ ADN cần cho sự chuyển nạp rất nhỏ: chỉ 0,1 g/ml huyền dịch tế bào đủ để chuyển nạp 5% quần thể tế bào nhận. Số lượng tế bào được biến nạp tăng tỉ lệ thuận với nồng độ của ADN cho đến khi các điểm nhận bão hòa cho các ADN gắn vào nhờ các protein đặc biệt thực hiện quá trình biến nạp. Nhờ những protein này mà các tế bào nhận thể hấp thụ ADN sợi kép vào bề mặt ngoài ở một số vị trí và phân giải nó thành các đoạn nhỏ hơn nhờ tác dụng của các enzym liên kết bề mặt. Sau đó một mạch của sợi ADN bị phân hủy, còn sợi kia bắt cặp bổ sung với đoạn ADN tương ứng trên một mạch của ADN của thể nhận lúc này sẽ biết tính tách rời hai mạch (hình 70).

### 7.3.2 Hiện tượng tải nạp

Tải nạp là sự truyền ADN từ tế bào cho sang tế bào nhận nhờ thể thực khuẩn (phage). Chỉ có một số phage có thể tải nạp và một số vi khuẩn được tải nạp. Thường chỉ một đoạn ADN nhỏ của tế bào cho được chuyển sang tế bào nhận. Có 2 loại tải nạp là tải nạp đặc hiệu và tải nạp không đặc hiệu.

#### 7.3.2.1 Tải nạp không đặc hiệu

Là kiểu tải nạp xảy ra khi phage mang một đoạn ADN bất kỳ nào của vi khuẩn này sang vi khuẩn khác. Tải nạp không đặc hiệu có được là do sự lắp ráp ngẫu nhiên ADN của tế bào chủ vào thể thực khuẩn trong giai đoạn trưởng thành. Quá trình tải nạp bắt đầu khi ADN của phage xâm nhập vào vi khuẩn, chúng cắt ADN của vi khuẩn thành nhiều đoạn, đồng thời ADN của phage cũng được sao chép thành nhiều phân tử con cùng với các thành phần khác của phage. Trong quá trình lắp ráp có khoảng 1-2% phage vô tình mang đoạn ADN của vi khuẩn có chứa gen. Sau khi làm tan tế bào vi khuẩn, phage mang gen của vi khuẩn này xâm nhập vào vi khuẩn khác, quá trình tái tổ hợp xảy ra làm gen của vi khuẩn chứa trong phage gắn vào bộ gen của vi khuẩn đó (hình 71).

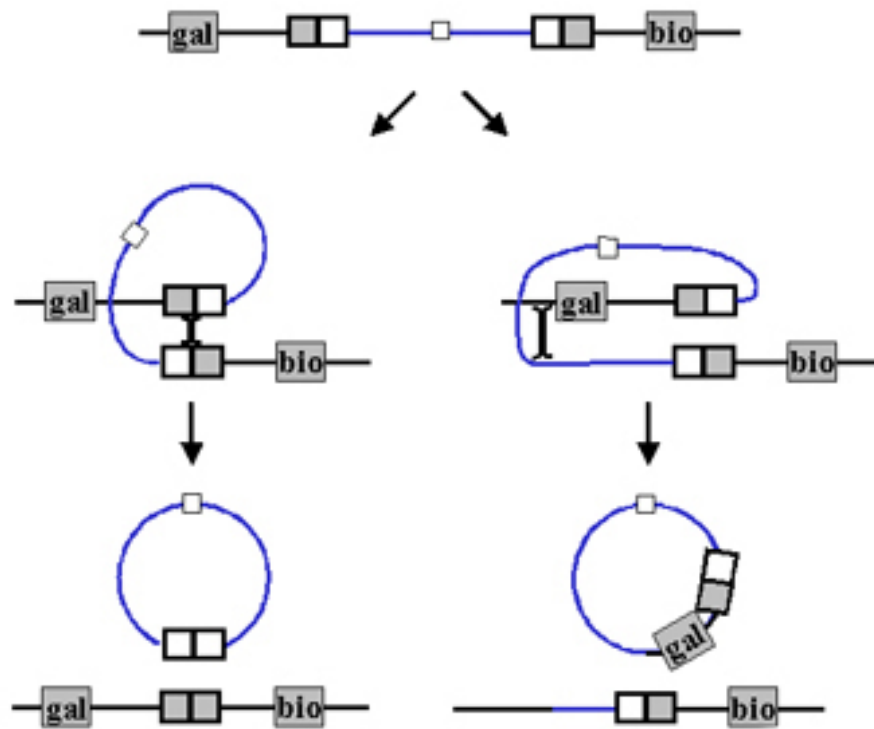


Hình 71. Hiện tượng tải nạp không đặc hiệu

#### 7.3.2.2 Tải nạp đặc hiệu

Tải nạp chuyên biệt là trường hợp phage chỉ mang một vài gen nhất định. Trong trường hợp này chỉ các đoạn ADN xác định được chuyển, ở đây một số gen của phage được thay thế bằng một số gen của chủ. Chẳng hạn, phage  $\alpha$  thường chỉ tải nạp các gen đồng hoá đường galactose (gal) và gen tổng hợp biotin (bio) từ vi khuẩn này sang vi khuẩn khác. Điểm gắn của ADN của phage  $\alpha$  vào vi khuẩn nằm giữa hai gen gal và bio. Do đầu của phage chỉ có thể chứa một lượng ADN giới hạn nên khi tiền phage tách ra khỏi ADN của vi khuẩn nó chỉ mang hoặc gen gal hoặc gen bio. Nếu phage tải nạp này nhiễm vào một tế bào nhận bị khuyết tật, chẳng hạn ở gen gal ( $gal^-$ ), tái tổ hợp có thể xảy ra qua trao đổi gen  $gal^-$  bằng gen tải nạp  $gal^+$ . Các thể tái tổ hợp hoặc các thể tải nạp tạo thành sẽ là  $gal^+$  (hình 72). So với tải nạp không đặc biệt thì sự xen kẽ của phage vào hệ gen của tế bào chủ trong tải nạp đặc biệt là tiền đề cho việc chuyển ADN đạt hiệu quả.

Trong một số trường hợp đoạn ADN tải nạp không tái tổ hợp mà nằm ngoài nhiễm sắc thể của tế bào chủ nên không được sao chép. Vì vậy, khi phân bào đoạn ADN của vi khuẩn cho chỉ được phân vào một tế bào con. Quá trình này được gọi là tải nạp sảy.



Hình 72. Hiện tượng tải nạp đặc hiệu

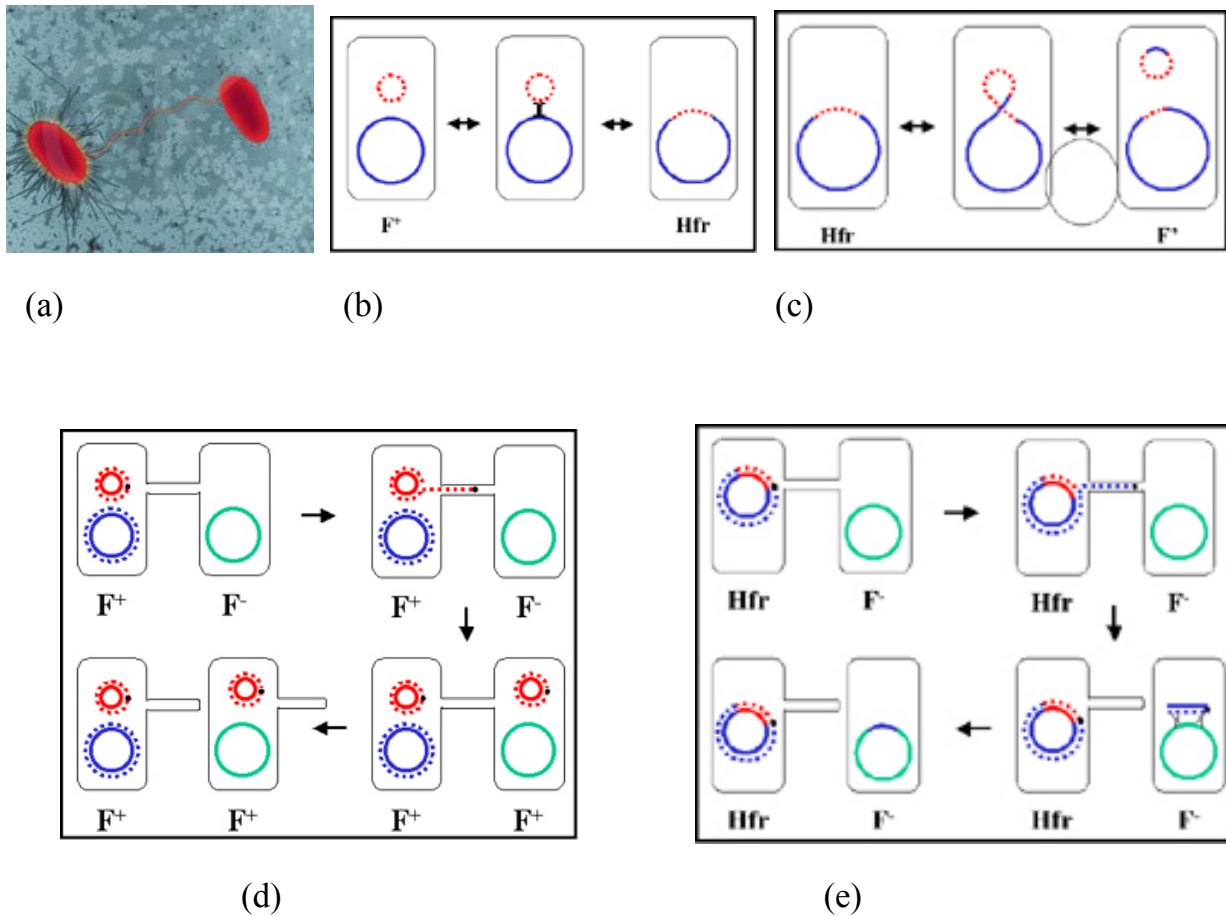
### 7.3.3 Hiện tượng tiếp hợp

Tiếp hợp là sự chuyển ADN qua tiếp xúc trực tiếp giữa hai tế bào vi khuẩn nhờ khuẩn mao giới tính (hình 73a). Sự chuyển ADN là định hướng từ tế bào cho sang tế bào nhận. Tế bào cho chứa một yếu tố ADN có thể di chuyển gọi là plasmid giới tính F (F<sup>+</sup>). Những tế bào thiếu plasmid F (F<sup>-</sup>) chỉ có thể dùng làm thể nhận. Khi tiếp hợp plasmid F được chuyển với xác suất 100% nhưng không tính trạng nào của nhiễm sắc thể của thể cho được chuyển (hình 73). Plasmid F có thể hợp nhất vào nhiễm sắc thể và khi tiếp hợp với ADN của nhiễm sắc thể sẽ được chuyển từ vi khuẩn cho sang vi khuẩn nhận với tần độ cao hơn hàng ngàn lần so với dùng chủng F<sup>+</sup>. Các plasmid này được gọi là các tế bào Hfr (high frequency of recombinants = tần số cao của các thể tái tổ hợp).

Plasmid F là phân tử ADN sợi kép, vòng kín có khả năng tự sao chép độc lập với nhiễm sắc thể. Chúng chứa các gen cần cho sự tiếp hợp và các gen xác định khuẩn mao giới tính F. Plasmid F cũng có một số đặc tính chung với các plasmid khác như chứa một số gen cho phép sao chép trong tế bào, thể hiện hiện tượng không tương hợp nghĩa là nếu một plasmid đã có mặt trong một tế bào thì việc sao chép của các plasmid thân thuộc sẽ bị kìm hãm. Tuy nhiên không phải tất cả các plasmid đều độc mã cho tính trạng tự chuyển như plasmid F và một số plasmid khác, được gọi chung là plasmid tiếp hợp.

Ngoài *E. coli* các plasmid tiếp hợp cũng gặp ở nhiều vi khuẩn G<sup>-</sup> khác, và ở nhiều chi vi khuẩn G<sup>+</sup> như *Bacillus*, *Clostridium*, *Nocardia*, *Staphylococcus*, *Streptococcus* và *Streptomyces*. Nhiều plasmid có phổ chủ khá hẹp chỉ có thể sao chép trong các loài rất

gần gũi. Tuy nhiên cũng có những plasmid thể hiện phổ chủ tương đối rộng. Các plasmid tiếp hợp có thể giúp cho các plasmid không tiếp hợp chuyển từ tế bào cho sang tế bào nhận. Quá trình này gọi là sự huy động plasmid.



Hình 73. Hiện tượng truyền tính trạng ở vi khuẩn: (a) tế bào vi khuẩn *E. coli* ở giai đoạn tiếp hợp; (b) Plasmid F hợp nhất với nhiễm sắc thể nhờ quá trình tái tổ hợp; (c) Plasmid F ở trạng thái tự do có mang gen của nhiễm sắc thể; (d) tiếp hợp F<sup>+</sup> X F<sup>-</sup>; (e) tiếp hợp Hfr X F<sup>-</sup>

Ý nghĩa sinh học của plasmid: Các tính trạng độc mã bởi plasmid thường cung cấp cho tế bào chủ ưu thế sinh trưởng và nhờ đó mà các tế bào này thu được ưu thế chọn lọc.

Plasmid kháng: các gen của plasmid R giúp cho vi khuẩn chủ kháng với sunphonamit, streptomixin, chloramphenicol, kanamixin và tetraxiclin. Một số plasmid R có tính kháng với 8 kháng sinh, số khác cho tính kháng với các kim loại nặng và độc như bạc, nicken, coban, cadimi, đồng, kẽm, crom, arsen, antimon, telur hoặc thủy ngân. Các plasmid R thường là tiếp hợp hoặc có thể huy động. Một số plasmid R có phổ chủ rộng và có thể được chuyển giữa một số chi vi khuẩn khác nhau, thuận lợi cho việc phổ biến của chúng. Tuy nhiên có 2 cơ chế kháng kháng sinh là do plasmid độc mã và kháng do nhiễm sắc thể độc mã. Từ đất và nước chứa hoặc nhiễm các muối kim loại nặng người ta đã phân lập được một số vi khuẩn kháng kim loại. Tính kháng kim loại có thể được đọc mã bởi plasmid hoặc bởi nhiễm sắc thể.

Nhiều vi khuẩn tạo thành các protein có khả năng giết chết hoặc kìm hãm sinh trưởng của các loài thân thuộc. Các protein có tác dụng đặc hiệu này được gọi là bacterioxin và do plasmid độc mã. Một số Bacterioxin đã được phân lập như từ *E. coli* (colixin), *P. aeruginosa* (pioxin), *B. megaterium* (megaxin). Một vi sinh vật có khả năng xâm nhập vì

chúng có các yếu tố gây bệnh và các yếu tố độc tính. Nhiều trong số các yếu tố này là do plasmid độc mã. Cũng vì vậy mà các yếu tố trên được phổ biến nhanh chóng.

Plasmid cũng có thể mang các gen thực hiện các phản ứng sinh hóa đặc biệt, trước hết là các gen xúc tác sự phân giải các chất được tổng hợp bằng con đường hóa học, không tồn tại trong sinh quyển, chẳng hạn các hợp chất thơm và dị vòng với gốc halogen thay thế, các chất này chỉ có thể được khoáng hóa bởi một số vi khuẩn. Trong số các chất trên, đáng chú ý nhất là chất diệt cỏ, chất trừ nấm và chất diệt côn trùng là các chất chỉ bị phân giải bởi các vi khuẩn mang plasmid dị hóa.

Ngoài ra còn có các plasmid khác, mang gen chịu trách nhiệm các phản ứng trao đổi chất phức tạp như cố định  $N_2$ , tạo thành nốt sần, tổng hợp axit indolaxetic và diaxetin, vận chuyển đường và các ion kim loại (nickel), tổng hợp hydrogenaza cũng như các enzym của quá trình phản Nitrat hóa. Các hệ thống hạn chế và cải biến bảo vệ vi khuẩn khỏi sự xâm nhập của ADN lạ cũng có thể do plasmid độc mã. Chẳng hạn ở một số chủng, các gen nói trên nằm trên nhiễm sắc thể, ở một số khác, lại nằm trên plasmid. Điều này gặp ở các chủng khác nhau của cùng một loài vi khuẩn cũng như của các chủng vi khuẩn rất gần gũi về chủng loại phát sinh. Sự định vị khác nhau của gen chứng tỏ gen hoặc toàn bộ phức hệ gen giữa nhiễm sắc thể và plasmid đã được trao đổi và plasmid đóng vai trò quan trọng trong sự tiến hóa của hệ gen ở sinh vật nhân nguyên thủy.

#### 7.4 DI TRUYỀN Ở VI SINH VẬT NHÂN THẬT

Các vi sinh vật nhân thật có chu trình sống rất đa dạng nên chúng cũng có nhiều cơ chế di truyền khác nhau. Một số vi nấm và vi tảo là đối tượng thuận tiện thường được sử dụng trong nghiên cứu về cấu trúc, chức năng và những điều hoà hoạt động của gen. Sự phối hợp nhiễm sắc thể của hai nhân mang hai tính khác nhau có thể xảy ra trên cùng cá thể hay trên hai cá thể khác nhau. Các tế bào này được gọi là tế bào giới tính và thường được qui định là giao tử cái khi có hình dạng và kích thước to hơn và giao tử đực khi có hình dạng và kích thước nhỏ hơn. Nếu như hai tế bào giới tính có hình dạng và kích thước giống nhau thì một trong hai tế bào được gọi là giao tử cái tế bào còn lại là giao tử đực. Trong một số trường hợp giao tử cái là cái nội chứa hoặc mang các tế bào con hay bào tử sau này.

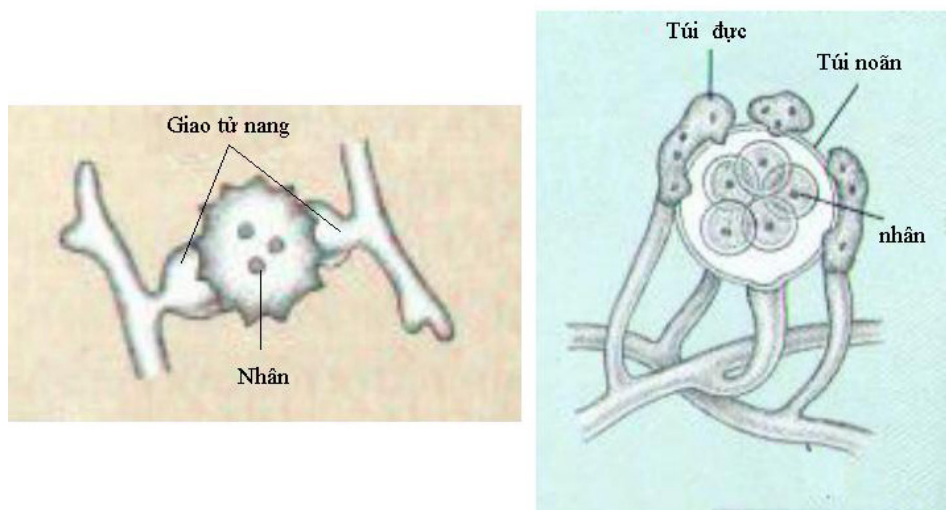
Tùy theo loài vi sinh vật trong thời kỳ sinh sản, các tế bào dinh dưỡng có một nhân với số lượng nhiễm sắc thể là  $n$  sẽ biến đổi dần dần thành giao tử đực và giao tử cái. Ở mỗi giao tử, tế bào cũng có một nhân với số lượng nhiễm sắc thể là  $n$ .

Ở vi sinh vật nhân thật sinh sản hữu tính xảy ra hoàn toàn qua bốn giai đoạn là: giai đoạn bào phối, giai đoạn hạch phối, giai đoạn gián phân và giai đoạn thành lập bào tử.

Sự bào phối ở vi sinh vật nhân thật có thể là đẳng giao hoặc dị giao. Trường hợp đẳng giao xảy ra khi hai giao tử tiếp xúc với nhau, vách phân cách của hai giao tử nơi tiếp xúc sẽ biến mất lúc đó tế bào chất của hai giao tử sẽ hoà lẫn vào nhau và trở thành một tế bào có hai nhân. Ở trường hợp dị giao, sau khi tiếp xúc nhân của giao tử đực tiến vào giao tử cái. Kết quả là giao tử cái trở thành tế bào có hai nhân riêng lẻ. Phần giao tử đực không có nhân sẽ thoái hoá.



Tiếp theo giai đoạn bào phôi là giai đoạn hạch phôi. Hai nhân lúc đó phối hợp nhau tạo thành một nhân duy nhất chứa 2n nhiễm sắc thể. Đây là giai đoạn phối hợp các tín hiệu di truyền để trải qua các quá trình gián phân để phân ly tính trạng vào các tế bào con (hình 74).



Hình 74. Đẳng giao và dị giao

## 7.5 ĐỘT BIẾN VÀ SỰ PHÁT SINH ĐỘT BIẾN

Đột biến là sự biến đổi kiểu gen dẫn đến sự thay đổi tính trạng làm cho tế bào bị đột biến khác với tế bào ban đầu. Cũng như ở sinh vật bậc cao, vi sinh vật cũng chịu đột biến. Ở vi sinh vật có sự phân biệt về bộ máy di truyền của một tế bào (kiểu gen) với biểu hiện bên ngoài của bộ máy trên (kiểu hình). Vi sinh vật có thể có những biến đổi thích nghi với môi trường sống, đây là những biến đổi về kiểu hình. Sự biến đổi thích nghi của kiểu hình thì cùng một lúc tác động đến quần thể vi sinh vật hay nói khác hơn là đến mọi cá thể. Trong khi đó sự biến đổi kiểu gen chỉ ảnh hưởng đến một số tế bào trong quần thể đó mà thôi.

Trong một quần thể vi sinh vật luôn xuất hiện các đột biến mà không cần có sự can thiệp của thực nghiệm. Đó là các đột biến ngẫu nhiên và các tế bào tương ứng gọi là các thể đột biến ngẫu nhiên. Một trong những nguyên nhân của đột biến ngẫu nhiên có lẽ là do sự sai sót ngẫu nhiên khi liên kết nucleotit trong quá trình sao chép.

Tần độ thể đột biến (số lượng các thể đột biến trong một quần thể tế bào) khác nhau tùy loài vi sinh vật, điều kiện môi trường, loại tính trạng đột biến và hàng loạt các yếu tố khác. Tần số đột biến có thể dao động từ  $1.10^{-4}$  đến  $1.10^{-11}$ . Tần số đột biến phụ thuộc vào tốc độ đột biến. Tốc độ đột biến ngẫu nhiên đối với một gen xác định là khoảng  $10^{-5}$  với một cặp nucleotit xác định là khoảng  $10^{-8}$ .

Nguyên nhân của sự đột biến là do có sự thay đổi trật tự của các nucleotit trên sợi ADN của nhiễm sắc thể. Có hai dạng đột biến là đột biến điểm và đột biến mất đoạn. Đột biến điểm xảy ra khi có một nucleotit trên ADN bị thay bằng một nucleotit khác hoặc có một nucleotit được thêm vào trên chuỗi ADN hay một nucleotit trên chuỗi ADN bị mất đi. Đột biến điểm tuy có làm thay đổi tính trạng nhưng trong một số điều kiện có thể có sự đột biến ngược lại lúc đó tính trạng đã mất có thể được phục hồi. Đột biến mất đoạn xảy

ra do hiện tượng mất từ hai nucleotit trở lên. Đột biến này có tính vĩnh viễn vì không có trường hợp đột biến trở lại tình trạng cũ.

**Tài liệu tham khảo:**

1. Madigan, M.T., Martinko, J.M. and Parker, J., 2002. Biology of Microorganisms. Tenth edition, Prehall.
2. Phạm Văn Kim, 2001. Giáo trình vi sinh đại cương. Khoa Nông nghiệp, Đại học Cần thơ.
3. Phạm Thành Hồ, 2001. Di truyền học. Nhà xuất bản giáo dục.
4. Nguyễn Lâm Dũng, 2000. Vi Sinh Vật học. Nhà xuất bản giáo dục.

## Chương 8 SINH CẢNH VÀ VAI TRÒ CỦA VI SINH VẬT NƯỚC

### 8.1 SINH CẢNH VÀ SỰ PHÂN BỐ CỦA VI SINH VẬT NƯỚC

#### 8.1.1 Sinh cảnh của vi sinh vật nước

Vi sinh vật có thể được tìm thấy trong hầu hết các thủy vực, ngay cả các thủy vực nằm dưới lòng đất. Đa số vi sinh vật nước là những sinh vật dị dưỡng, sống hoại sinh. Ngoài ra trong các thủy vực còn có các vi sinh vật quang và hóa tự dưỡng có khả năng quang hợp.

Do điều kiện vật lý hóa học và cộng đồng sinh vật khác nhau tùy theo loại hình thủy vực nên thành phần loài vi sinh vật cũng khác nhau. Ở bất kỳ loại hình thủy vực nào, bên cạnh các vi sinh vật có nguồn gốc từ chính thủy vực đó còn có những vi sinh vật bắt nguồn từ các sinh cảnh khác. Thành phần của khu hệ vi sinh vật phụ thuộc vào loại hình thủy vực trong đó các nhân tố quan trọng có tính quyết định là hàm lượng muối và chất hữu cơ, pH, độ đục, nhiệt độ và các nguồn nhiễm bẩn.

Trong các nguồn nước ngầm và suối do nghèo chất dinh dưỡng và gần như vắng hẳn các thực vật và động vật bậc cao nên chỉ chứa một khu hệ vi sinh vật rất nghèo nàn về loài. Chủ yếu là tảo và vi khuẩn là sống được trong các con suối. Số lượng và thành phần loài vi sinh vật ở loại hình thủy vực này do thành phần hoá học và nhiệt độ của nước quyết định.

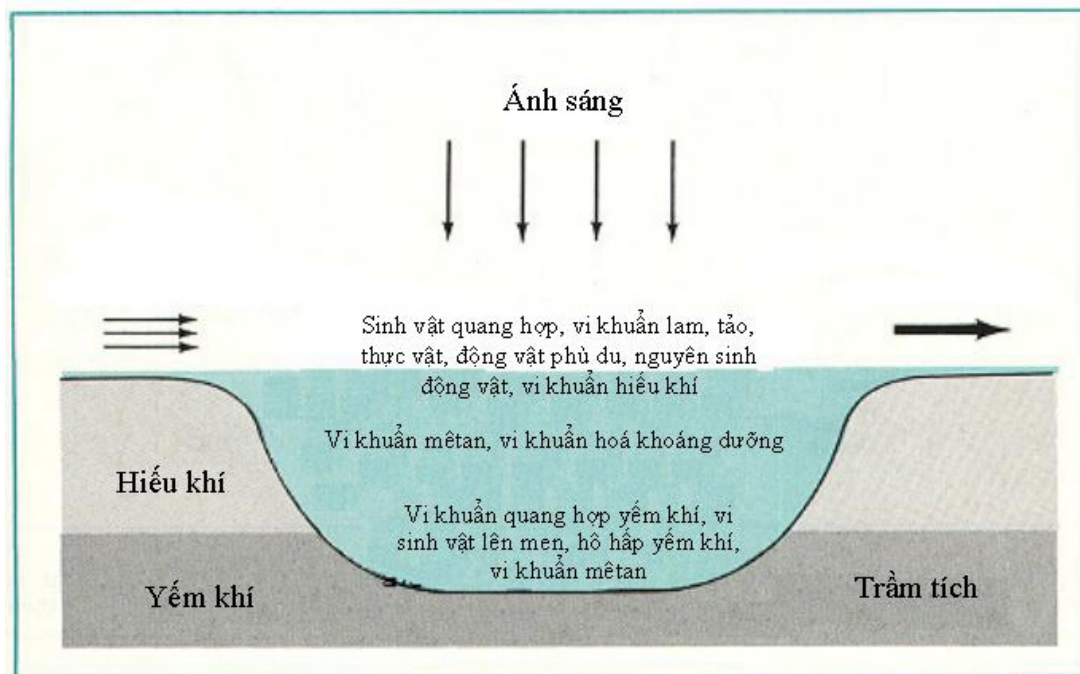
Ở sông hồ và biển do giàu dinh dưỡng và có khu hệ động thực vật phong phú nên cũng có giàu về thành phần loài vi sinh vật. Nhiều dòng sông chứa một lượng phù sa lớn và thường tích tụ ở những vùng cửa sông. Các hạt phù sa có thể mang lại một khu hệ vi sinh vật bám phong phú và vì vậy chúng có ý nghĩa quan trọng trong việc nghiên cứu vi sinh vật của các dòng sông. Ngoài ra mật số và thành phần loài vi sinh vật trong các dòng sông cũng phụ thuộc vào lưu lượng nước, hàm lượng muối khoáng, tốc độ dòng chảy cũng như những điều kiện vật lý hoá học khác. Trong các loại hình thủy vực thì hồ là nơi có thành phần loài sinh vật điển hình và thay đổi điều kiện địa lý, địa chất cũng như điều kiện khí hậu của hồ.

Ở các thủy vực nước ngọt khu hệ vi sinh vật có mối liên quan nhất định với khu hệ vi sinh vật trong đất. Mối liên hệ này càng chặt chẽ ở các nguồn nước chảy ra từ đất. Đa số vi sinh vật của nước mạch, nước suối và nước nguồn cũng có mặt trong đất. Tuy nhiên nhu cầu dinh dưỡng của vi sinh vật sống trong đất nhất là ở lớp đất bề mặt thường cao hơn vi sinh vật sống trong các thủy vực nói trên. Số lượng vi sinh vật đất trong các thủy vực nước chảy tương đối cao tùy thuộc vào các vùng đất mà nước chảy qua như đất trồng trọt hay các khu công nghiệp. Sông và suối là các thủy vực bề mặt có ảnh hưởng mạnh nhất của đất. Trong khi đó khu hệ vi sinh vật của các hồ nối với sông chịu ảnh hưởng bởi khu hệ vi sinh vật của dòng sông chảy vào. Tuy nhiên các hồ nước mạch thì ảnh hưởng bởi khu hệ vi sinh vật của nước mạch và tùy thuộc vào điều kiện vật lý hóa học của hồ.

Thành phần vi sinh vật ở biển rất đa dạng biến động theo hàm lượng muối, thành phần của các nguyên tố khoáng vi lượng, áp lực thủy tĩnh, ánh sáng, pH, nhiệt độ, v.v... Đặc biệt các thủy vực gần bờ là những môi trường sống rất đa dạng phụ thuộc vào điều kiện địa lý và khí hậu ở nơi đó. Do ảnh hưởng của đất liền nên các thủy vực này thường rất giàu dinh dưỡng, có khu hệ động và thực vật rất phong phú nên tạo nên khu hệ vi sinh vật cũng phong phú.

## 8.1.2 Sự phân bố của vi sinh vật trong thủy vực

1. Vai trò của vi sinh vật trong vòng tuần hoàn vật chất có thể hình dung ở qui mô nhỏ lấy ví dụ như ở thủy vực dạng hồ (hình 75). Ở tầng mặt luôn có đầy đủ ánh sáng vào ban ngày và môi trường ở đó là thoáng khí. Trong khi đó ở tầng đáy và trong lớp bùn đáy thì thiếu hẳn ánh sáng và điều kiện môi trường ở đây là yếm khí.



Hình 75. Sự phân bố của vi sinh vật ở các tầng nước trong thủy vực dạng hồ

Giả sử nguồn dinh dưỡng được cung cấp vào hồ ổn định và không có sự xáo trộn giữa các tầng nước thì hệ sinh thái trong hồ cũng sẽ ổn định với sự tuần hoàn vật chất giữa các cơ thể sống diễn ra như sau:

2. Ở tầng mặt do có đầy đủ ánh sáng và  $O_2$  nên  $CO_2$  được cố định và  $O_2$  được tạo ra nhờ vào sự quang hợp của thực vật, tảo và vi khuẩn lam. Vi khuẩn lam còn có thể cố định nitơ phân tử. Sinh vật sống ở tầng mặt bao gồm các vi khuẩn hiếu khí, côn trùng, động vật và thực vật nổi.
3. Ở tầng đáy và trong lớp trầm tích ở đáy do thiếu ánh sáng và oxy nên phần lớn là sự hoạt động của nhóm vi khuẩn lên men tạo các axit béo,  $H_2$  và  $CO_2$ . Các hợp chất này lại được các vi khuẩn sinh metan sử dụng tạo  $CH_4$ . Các vi khuẩn yếm khí sử dụng  $NO_3$  và  $SO_4$  để sinh  $NH_3$  và  $H_2S$ . Kết quả là có nhiều loại khí được thải vào môi trường nước bao gồm:  $H_2$ ,  $CO_2$ ,  $CH_4$ ,  $NH_3$  và  $H_2S$ .

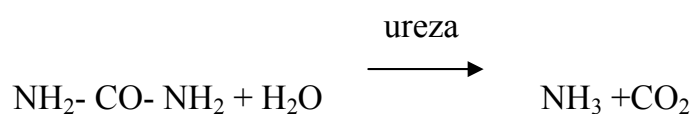
Các quá trình sinh học ở tầng giữa nhất là nơi giao lưu giữa tầng mặt và tầng đáy xảy ra rất phức tạp. Ở tầng này có các vi khuẩn yếm khí quang hợp sử dụng các tia sáng có bước sóng dài có thể xuyên qua tầng mặt và không bị các thực vật có chlorophyll ở tầng mặt hấp thụ. Các vi sinh vật dinh dưỡng metan phân bố ở vùng hiếu khí của tầng này sử dụng  $CH_4$  được sinh ra từ tầng đáy làm nguồn cacbon và giải phóng  $CO_2$ . Các vi sinh vật khoáng dưỡng nitơ và lưu huỳnh hoạt động giống nhau là sử dụng  $NH_3$  và  $H_2S$  sinh ra từ lớp trầm tích ở đáy tạo nên  $NO_3$  và  $SO_4$ .

## 8.2 VAI TRÒ CỦA VI SINH VẬT TRONG CÁC VÙNG NƯỚC

### 8.2.1 Tham gia phân giải chất hữu cơ trong thủy vực

Trong các thủy vực, nhóm vi khuẩn gây thối lớn nhất là *Pseudomonas* và nấm, chúng có thể sử dụng các chất có protein làm thức ăn. Quá trình thủy phân được thực hiện nhờ các enzym ngoại bào. Các oligopeptit và các polypeptit mà tế bào vi sinh vật hấp thu từ quá trình thủy phân sau đó lại bị phân hủy thành các axit amin nhờ các peptidaza. Các axit amin này hoặc được sử dụng vào việc xây dựng nên các protein của tế bào vi sinh vật hoặc bị khử amin giải phóng amoniac ( $\text{NH}_3$ ).

Ure được đưa vào các thủy vực do sự bài tiết của động vật được một số lớn vi sinh khuẩn có ureaza phân hủy thành amoniac và cacbondioxyt theo phương trình hoá học:



Quá trình này còn gọi là sự khử amin thủy phân. Phần  $\text{NH}_3$  được vi sinh vật sử dụng mà không làm chua môi trường như đối với các muối amon. Nhiều khi để nuôi cấy vi sinh vật bằng nguồn nitơ là ure người ta phải bổ sung thêm muối amon (như amon sulfat) nhằm mục đích cung cấp thức ăn có nitơ để hấp thụ cho vi sinh vật đã phát triển thì chúng mới có thể sản sinh ra được ureaza để thủy phân ure.

Phân hủy các đường đơn giản là khả năng của nhiều vi khuẩn, xạ khuẩn và nấm. Ở nơi thoáng khí các đường đơn này trước hết bị thủy phân thành các chất chứa ba cacbon và sau đó các chất này bị biến đổi thành axit pyruvic rồi sau khi bị khử carboxyl qua chu trình tricacbonic thì cuối cùng bị oxy hoá thành cacbondioxyt. Trong môi trường yếm khí thì quá trình này thường xảy ra không hoàn toàn. Khi đó tùy theo điều kiện môi trường mà có thể hình thành nên các ancol, các axit hữu cơ, hydro và cacbondioxyt.

Trong các thủy vực sự thủy phân tinh bột thường xảy ra rất nhanh nhờ các vi khuẩn thuộc nhóm *Pseudomonas*, xạ khuẩn, các loài *Bacillus* khác nhau và các nấm bậc cao. Trong các phần lắng đọng yếm khí thì tinh bột chủ yếu bị phân hủy nhờ các loài *Clostridium* khác nhau. Tinh bột được các vi sinh vật thủy phân nhờ các enzym ngoại bào (amylaza) hình thành nên disacarit mantozơ, chất này sau đó được thủy phân thành glucozơ nhờ enzim mantaza.

Trong môi trường thoáng khí thì xenlulozơ trong các thủy vực bị thủy phân trước hết bởi các *Myxobacterium* và các nấm bậc cao. Vi khuẩn các loài *Cytophaza* và *Sporocytophaga* là hai nhóm vi khuẩn phân hủy xenlulozơ quan trọng nhất. Ở các thủy vực dạng hồ, ngoài hai nhóm vi khuẩn nói trên, các *Myxobacterium*, *Vibrio*, xạ khuẩn, các nấm bậc thấp và bậc cao cũng tham gia phân hủy xenlulozơ. Quá trình phân hủy xenlulozơ được vi sinh vật thực hiện nhờ enzym ngoại bào tạo thành các disacarit hoặc thậm chí thành monosaccarit. Ở trong bùn do điều kiện yếm khí nên quá trình phân hủy xenlulozơ thường chỉ nhờ các loài *Clostridium* khác nhau để tạo thành các etanol, axit formic, axit axetic, axit lactic, hydro và cacbondioxyt.

Một số vi khuẩn của các giống *Pseudomonas*, *Vibrio*, *Flavobacterium*, *Bacillus* và *Cytophaga* có khả năng làm tan agar nhờ enzym agaraza.

Vi khuẩn giống *Pseudomonas*, *Vibrio* và một vài loại nấm phân hủy kitin nhờ enzym kitinaza.

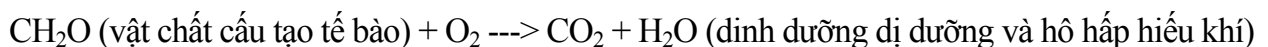
Chất béo được hàng loạt vi khuẩn và nấm phân hủy nhờ men lipaza chủ yếu là vi khuẩn nhóm *Pseudomonas*, *Vibrio* và *Bacillus*.

## 8.2.2 Tham gia các vòng tuần hoàn vật chất trong thủy vực

Đa số vi sinh vật trong nước là những cơ thể dị dưỡng. Chỉ có một nhóm nhỏ vi khuẩn quang tự dưỡng và hóa tự dưỡng là có thể tự tạo ra chất hữu cơ nên sự tham gia của chúng vào việc tạo ra chất hữu cơ trong thủy vực rất nhỏ. Vi khuẩn dị dưỡng và nấm cần chất hữu cơ để làm thức ăn. Những chất này được vi sinh vật sử dụng để thu nhận các tiền chất cho việc xây dựng nên các chất trong tế bào cũng như thu nhận năng lượng cho quá trình sống của chúng. Khi đó các vật chất hữu cơ được biến đổi thành các chất nghèo năng lượng và cuối cùng trong những điều kiện phù hợp thì chuyển hóa ngược trở lại thành các chất vô cơ ban đầu. Việc tái vô cơ các chất hữu cơ chính là chức năng chủ yếu của vi sinh vật trong việc biến đổi vật chất trong thủy vực. Nhờ vậy mà các chất dinh dưỡng được đưa vào vòng tuần hoàn chất tạo nên sự sinh trưởng của sinh vật trong thủy vực. Tuy nhiên tốc độ phân hủy các chất hữu cơ của vi sinh vật tùy thuộc vào thành phần của chúng và điều kiện môi trường chẳng hạn như sự phân hủy chất hữu cơ thường diễn ra rất nhanh ở vùng gần bề mặt của thủy vực vào mùa hè. Trong khi ở các hồ sâu và nhiệt độ thấp thì sự phân hủy diễn ra rất chậm.

### 8.2.2.1 Vòng tuần hoàn cacbon

Cacbon là thành phần cơ bản của tất cả các phân tử hữu cơ và có mặt trong tất cả các hợp chất hữu cơ. Các vi sinh vật tự dưỡng trong thủy vực thường sử dụng CO<sub>2</sub> là dạng cacbon vô cơ phổ biến nhất để làm nguồn cacbon tạo ra chất hữu cơ. Trong khi đó các vi sinh vật dị dưỡng lại sử dụng cacbon hữu cơ có sẵn và quá trình oxy hoá các hợp chất cacbon hữu cơ của chúng sẽ tái tạo cacbon vô cơ trong thủy vực. Vòng tuần hoàn cacbon vì vậy được tạo thành theo phương trình hoá học như sau:



Các vi sinh vật tự dưỡng là các sinh vật sản xuất sơ cấp trong chuỗi dinh dưỡng của thủy vực vì chúng có khả năng chuyển hoá các hợp chất vô thành thành các hợp chất hữu cơ cho được các sinh vật dị dưỡng sử dụng. Các vi sinh vật thuộc nhóm vi khuẩn lam, vi khuẩn khoáng dưỡng hoá năng vô cơ và nhóm vi khuẩn sinh mêtan là những vi sinh vật tham gia tích cực vào việc cố định một lượng CO<sub>2</sub> khổng lồ trong chu trình cacbon trên trái đất.

Vi khuẩn sinh mêtan tham gia tích cực trong chu trình cacbon. Trong tự nhiên chúng sinh sống ở những nơi kị khí nhưng giàu CO<sub>2</sub> và H<sub>2</sub>. CO<sub>2</sub> được nhóm vi khuẩn này sử dụng bằng hai cách khác biệt nhau. Khoảng 5% CO<sub>2</sub> mà chúng hấp thu được sử dụng cho việc tạo ra các thành phần tế bào trong quá trình sống và phát triển. 95% CO<sub>2</sub> còn lại được sử dụng để sinh năng lượng cho hoạt động của tế bào và giải phóng khí mêtan theo phương trình hoá học:



Khí mêtan tích tụ ở rất nhiều nơi như trong đá dưới dạng khí tự nhiên, trong dạ cỏ của bò, trong ruột mồi, trong bùn, các sinh vật tiêu thụ chất thải, các vùng đầm lầy, v.v...

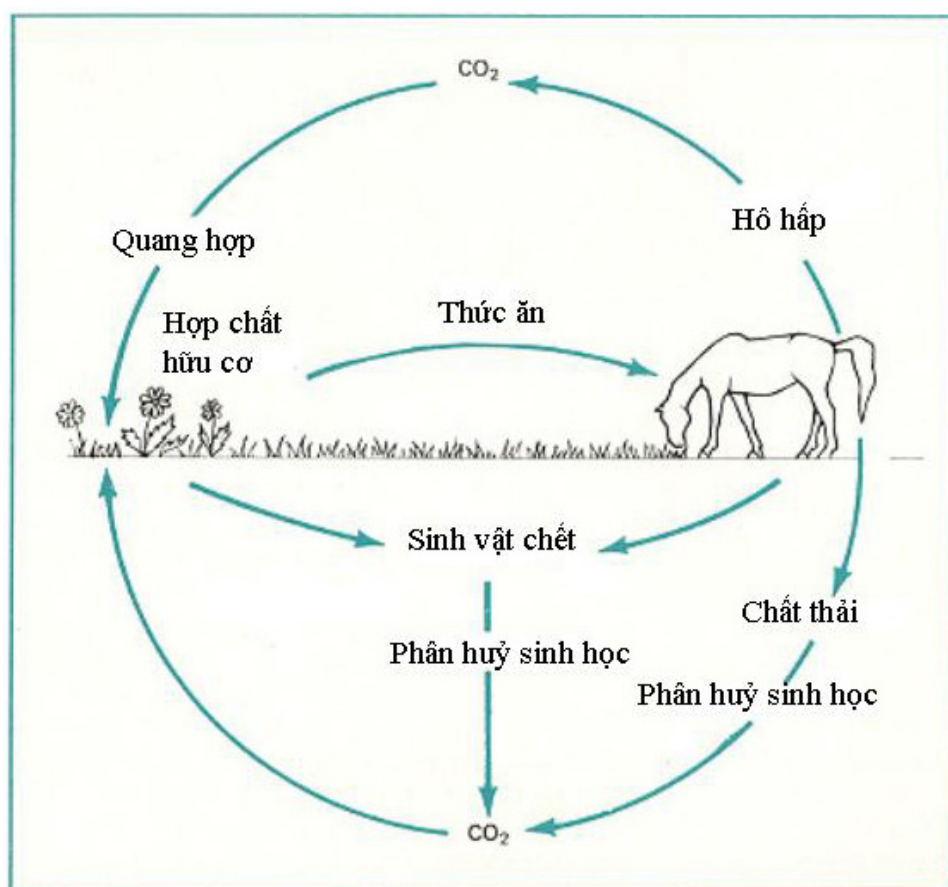
Sự phân hủy sinh học là trọng tâm của vòng tuần hoàn cacbon ở đó vi sinh vật có vai trò hết sức quan trọng. Đây là quá trình phân huỷ vật chất hữu cơ ( $\text{CH}_2\text{O}$ ) thành  $\text{CO}_2$  và  $\text{H}_2\text{O}$ . Trong môi trường đất, nấm là các vi sinh vật có vai trò quan trọng trong quá trình này, mặc dù các vi sinh vật khác cũng chiếm vị trí quan trọng. Quá trình phân huỷ thường xảy ra trước hết với các polymer sinh học như cellulose, lignin, protein, polysaccharit nhờ các enzym ngoại bào tiếp theo đó là quá trình oxi hoá các phân tử polymer để tạo ra các sản phẩm cuối cùng là  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{H}_2$  và có khi là  $\text{NH}_3$  hoặc  $\text{H}_2\text{S}$ . Các sản phẩm này sẽ được các vi sinh vật khoáng dưỡng và tự dưỡng sử dụng.

Các vi sinh vật quan trọng tham gia quá trình phân huỷ sinh học trong tự nhiên bao gồm xạ khuẩn, *Clostridia*, *Bacilli*, *Arthrobacters* và *Pseudomonas*. Vai trò của vi sinh vật trong sự phân huỷ sinh học là vô cùng quan trọng. Không có một hợp chất tự nhiên nào không có vi sinh vật có khả năng phân huỷ chúng. Quá trình phân huỷ sinh học diễn ra theo các phương trình hoá học sau:

Các polymer ---> các monomer (quá trình thối rữa)

Các monomer ---> các axit béo +  $\text{CO}_2$  +  $\text{H}_2$  (quá trình lên men)

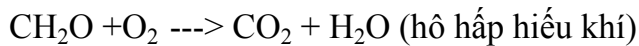
monomers +  $\text{O}_2$  --->  $\text{CO}_2$  +  $\text{H}_2\text{O}$  (quá trình hô hấp hiếu khí)



Hình 76. Vòng tuần hoàn Cacbon

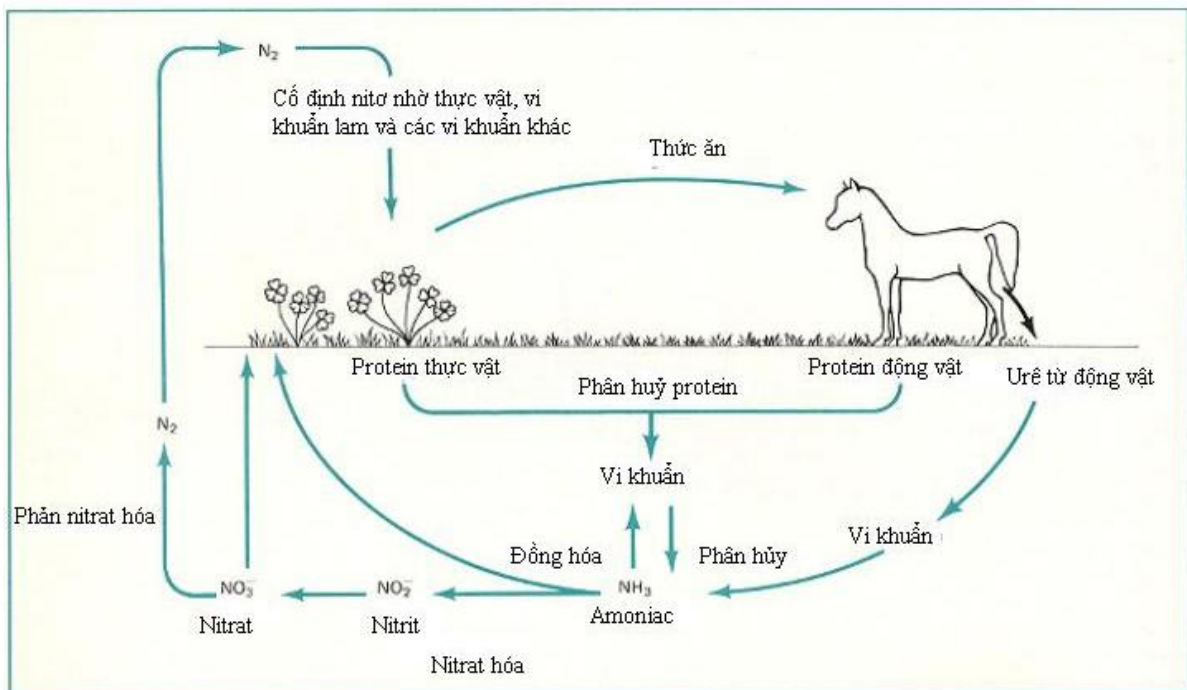
### 8.2.2.2 Vòng tuần hoàn oxy

Trong thủy vực  $O_2$  được sinh ra nhờ sự quang phân phân tử  $H_2O$  qua quá trình quang hợp và rồi  $O_2$  lại được chuyển trở lại dạng  $H_2O$  trong qua trình hô hấp. Vi khuẩn lam, tảo và thực vật là các sinh vật có vai trò chủ yếu tạo ra  $O_2$  trong khí quyển. Rõ ràng có mối quan hệ mật thiết giữa sinh vật tự dưỡng và sinh vật dị dưỡng trong việc cung cấp  $O_2$  và  $CO_2$  qua lại cho nhau. Sự quan hệ này được thể hiện qua phương trình hoá học như sau:



### 8.2.2.3 Vòng tuần hoàn nitơ

Vòng tuần hoàn nitơ là vòng tuần hoàn phức tạp nhất trong các vòng tuần hoàn sinh học do nitơ là một trong những nguyên tố quan trọng cho sự sống với tư cách là hợp phần của protein. Trong các thủy vực nitơ được thực vật hấp thu trước hết dưới dạng amoniac và nitrat. Tuy nhiên hàm lượng amoniac và nitrat trong nước thường rất thấp nên nitơ thường là nhân tố tối thiểu cần thiết cho đời sống của thủy sinh vật. Trong các môi trường giàu dinh dưỡng hầu như toàn bộ nitơ được liên kết trong protein của các cơ thể sống. Khi các sinh vật này chết đi sẽ được vi khuẩn gây thối phân hủy và giải phóng amoniac trở lại môi trường.



Hình 77. Vòng tuần hoàn nitơ

**Quá trình cố định nitơ phân tử:** thường xảy ra nhờ sự tham gia của các nhóm vi khuẩn sống tự do trong nước như *Clostridia*, *Azotobacters*, vi khuẩn lam và các vi khuẩn sống cộng sinh trong rễ cây như *Rhizobium* và *Frankia*. Các sinh vật này có khả năng liên kết  $N_2$  tự do trong không khí tạo  $NH_3$  (ammoniac) theo phương trình hoá học:  $N_2 \rightarrow 2 NH_3$  (cố định nitơ)

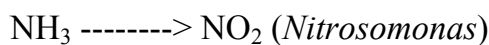


**Quá trình hô hấp yếm khí:** quá trình này liên quan đến việc sử dụng các dạng oxy hoá của nitơ là  $\text{NO}_3$  và  $\text{NO}_2$  để nhận các điện tử dùng cho quá trình hô hấp. Vi khuẩn thường gặp trong đất như *Bacillus* và *Pseudomonas* thì sử dụng nitrat ( $\text{NO}_3$ ) để khử thành  $\text{NO}_2$  (nitrit) và sau đó thành dạng khí nitơ như  $\text{N}_2$ ,  $\text{N}_2\text{O}$  hoặc  $\text{NH}_3$ . Quá trình này gọi là sự phản nitrat hoá.

Các vi khuẩn thực hiện sự khử nitrat là những vi khuẩn hiếu khí không bắt buộc. Trong điều kiện có oxy chúng sẽ hô hấp hiếu khí nhưng nếu thiếu  $\text{O}_2$  chúng sẽ thay thế bằng hô hấp yếm khí bằng cách sử dụng  $\text{NO}_3$  theo phương trình phản ứng:



**Sự nitrat hóa:** là quá trình oxy hoá amoniac thành nitrit khi có  $\text{O}_2$ . Nitrit sau đó lại được oxy hoá thành nitrat. Các vi khuẩn nitrat hoá tự dưỡng như *Nitrosomonas* oxy hoá  $\text{NH}_3$  thành  $\text{NO}_2$ . Trong khi đó vi khuẩn *Nitrobacter* lại oxy hoá  $\text{NO}_2$  thành  $\text{NO}_3$ . Quá trình xảy ra theo phương trình hoá học như sau:



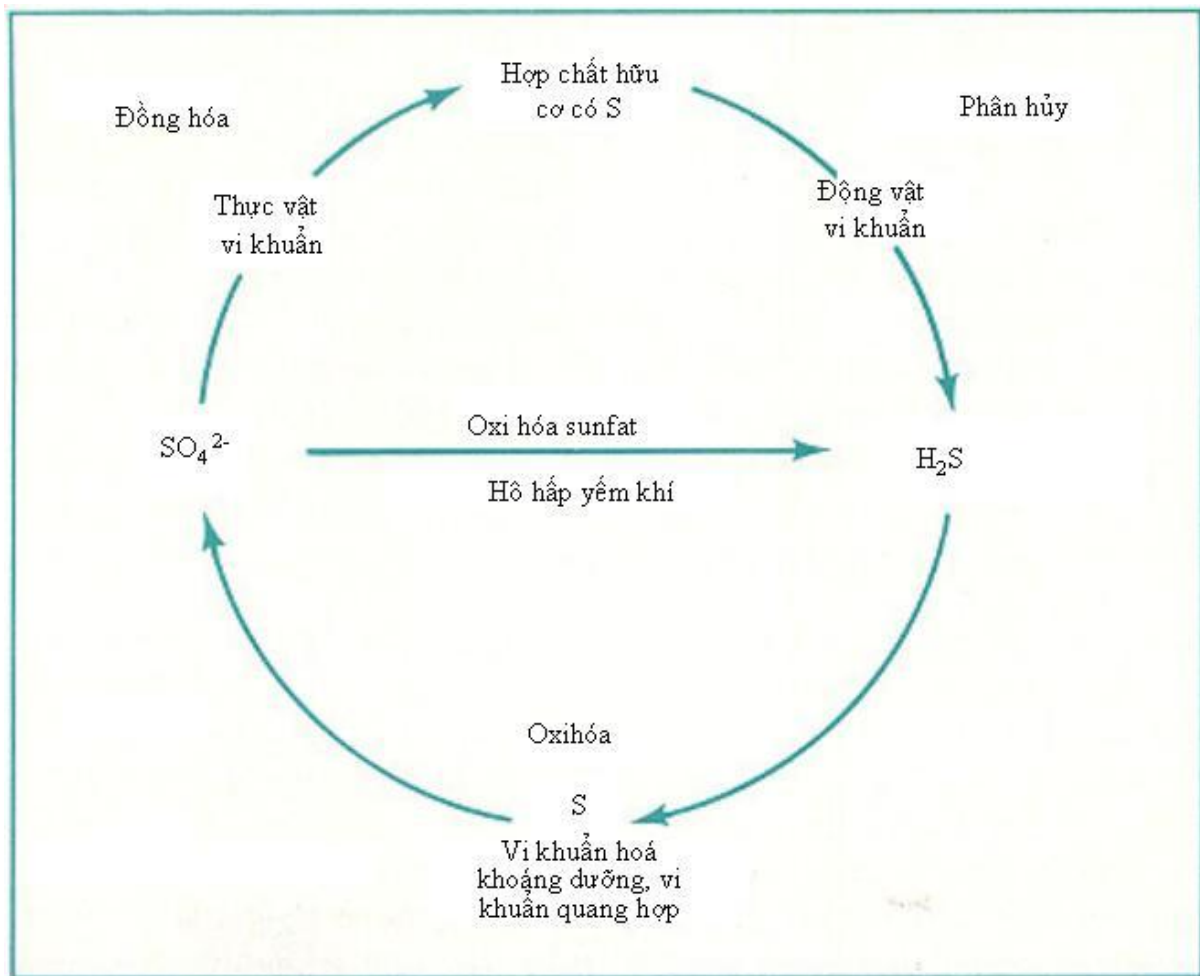
**Sự amon hoá:** có tầm quan trọng trong vòng tuần hoàn nitơ cũng như đối với các hoạt động sống trong thủy vực bởi vì nhờ quá trình này mà các hợp chất hữu cơ có nitơ được phân huỷ và vòng tuần hoàn amoniac trong thủy vực luôn được phục hồi. Nhiều vi khuẩn gây thối và nấm có khả năng này. Thực vật, động vật và các sinh vật khác trong đó có vi sinh vật sử dụng các hợp chất có nitơ trong làm chất dinh dưỡng góp phần khép kín chu trình nitơ. Các hợp chất có nitơ này thường ở dạng  $\text{NO}_3$ , các nhóm amino axit hoặc amoniac (hình 77)

#### 8.2.2.4 Vòng tuần hoàn lưu huỳnh

Lưu huỳnh là thành phần của một số vitamin và các chất chuyển hoá. Lưu huỳnh cũng có mặt trong hai amino axit là cysteine và methionine. Trong quá trình làm thối rửa protein bên cạnh amoniac được giải phóng còn có một lượng nhỏ sunfua hydro ( $\text{H}_2\text{S}$ ) được giải phóng. Khả năng giải phóng  $\text{H}_2\text{S}$  có ở một số nhóm vi sinh vật gây thối được chia làm hai nhóm.

Khả năng giải phóng  $\text{H}_2\text{S}$  có ở một số nhóm vi sinh vật gây thối được chia làm hai nhóm. Nhóm thứ nhất oxy hoá  $\text{H}_2\text{S}$  thành S bao gồm các vi khuẩn lưu huỳnh màu tía và màu lục quang tự dưỡng. Nhóm thứ hai oxy hoá S thành  $\text{SO}_4$  bao gồm các vi khuẩn lưu huỳnh thuộc nhóm vi khuẩn cổ và các vi khuẩn lưu huỳnh không màu. Các vi khuẩn này có khi có khả năng oxy hoá hoàn toàn từ  $\text{H}_2\text{S}$  thành  $\text{SO}_4$  theo phương trình hoá học:  $\text{H}_2\text{S} \text{ --> } \text{S} \text{ --> } \text{SO}_4$  (hoá tự dưỡng và quang tự dưỡng).

Các vi sinh vật tự dưỡng khoáng vô cơ bao gồm một số vi khuẩn và vi khuẩn cổ có khả năng oxy hóa các hợp chất hữu cơ có N và S nên chúng có vai trò quan trọng trong vòng tuần hoàn N và S. Các vi sinh vật này chiếm ưu thế trong các môi trường giàu lưu huỳnh như trầm tích ở đáy biển. Vi khuẩn oxy hóa lưu huỳnh thì thường gặp ở những môi trường có nhiệt độ cao như miệng núi lửa hay trong các suối nước nóng. Nơi biển sâu gần các miệng núi lửa rất giàu lưu huỳnh. Chúng cũng có thể sống ở những môi trường có tính axit vì chúng có khả năng axit hóa môi trường chúng sống do sinh ra axit sulfuric. Chúng được xem là những sinh vật sản xuất chất hữu cơ sơ cấp quan trọng trên trái đất.



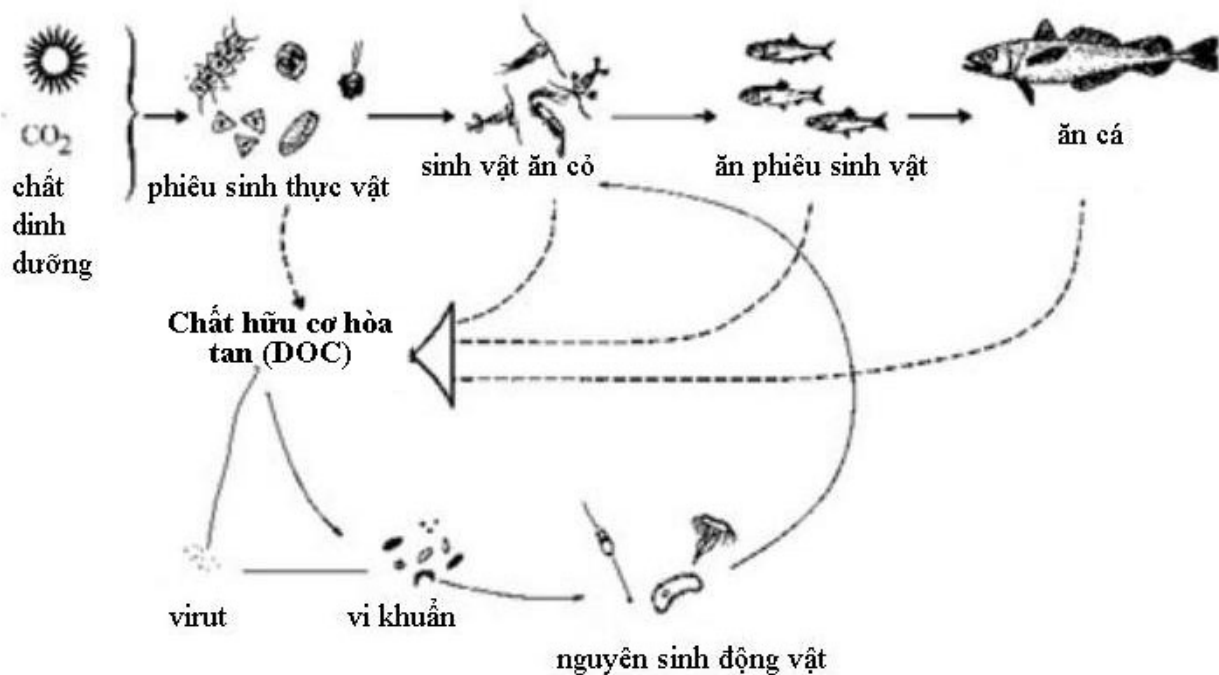
Hình 78. Vòng tuần hoàn lưu huỳnh

SO<sub>4</sub> và S được vi khuẩn lưu huỳnh sử dụng để trao đổi điện tích trong quá trình hô hấp. Chúng có thể sinh ra H<sub>2</sub>S trong điều kiện yếm khí giống như quá trình phản nitrat hóa. Việc sử dụng SO<sub>4</sub> là cho hô hấp yếm khí thường làm cho môi trường nhất là trong đất và trong trầm tích ở các thủy vực có hàm lượng H<sub>2</sub>S cao.

Vi khuẩn và thực vật có khả năng đồng hoá lưu huỳnh ở dạng SO<sub>4</sub> thành các hợp chất có lưu huỳnh. Động vật và các vi khuẩn khác có thể phân hủy các hợp chất có lưu huỳnh từ các nguồn chất hữu cơ có lưu huỳnh góp phần khép kín vòng tuần hoàn (hình 78).

### 8.2.3 Vai trò của vi sinh vật trong chuỗi dinh dưỡng của thủy vực

Vai trò của vi sinh vật trong các vòng tuần hoàn đã nói lên ý nghĩa của chúng trong các hệ sinh thái của thủy vực. Vi sinh vật thuộc về các hợp phần cơ bản của gần như toàn bộ các hệ sinh thái.



Hình 79. Vị trí của vi sinh vật trong chuỗi dinh dưỡng của thủy vực

Các chuỗi dinh dưỡng chiếm vị trí quan trọng trong các hệ sinh thái tự nhiên của thủy vực. Trong tất cả các thủy vực, vi sinh vật có những chức năng quan trọng trong chuỗi dinh dưỡng. Chúng hấp thu các chất hữu cơ hòa tan phần lớn là do các sinh vật sơ cấp tức là các sinh vật nội địa thải vào nước. Ngoài ra còn có các chất có nguồn gốc từ động vật và từ nước hoặc từ đất của các thủy vực nội địa và từ bờ biển. Các chất này được vi sinh vật chuyển hoá rất nhanh thành dạng hạt và phần lớn được các động vật khác tiêu hoá, nhờ đó chúng xâm nhập được vào chuỗi dinh dưỡng.

Khả năng hấp thu những chất hữu cơ có nồng độ thấp của vi sinh vật đóng vai trò rất quan trọng. Nhờ có vi sinh vật mà những chất hữu cơ có nồng độ quá thấp gần như không sử dụng được lại được đưa vào chuỗi dinh dưỡng. Vi sinh vật cũng có vai trò quan trọng trong việc cung cấp CO<sub>2</sub> cho các thực vật nổi thực hiện quá trình quang hợp tạo O<sub>2</sub> trong các thủy vực. Bản thân vi sinh vật sau đó được nhiều động vật khác nhau dùng làm thức ăn và chính vi sinh vật lại thuộc về một mắt xích thức ăn khác trong chuỗi dinh dưỡng (hình 79). Vi khuẩn và nấm dị dưỡng có vai trò đặc biệt quan trọng trong việc làm thức ăn cho các sinh vật khác.

#### 8.2.4 Tham gia vào sự lắng cặn

Vi sinh vật có những ảnh hưởng nhất định đến sự tạo thành các chất sa lắng trong thủy vực. Do vi sinh vật thường sống trong các chất phù du có bản chất vô cơ hay hữu cơ nên chúng có thể làm thay đổi kích thước và hình dạng của các chất này dẫn đến làm thay đổi tốc độ sa lắng cũng như sự tích tụ các hạt sa lắng trong thủy vực. Do sự trú ngụ của vi sinh vật mà các hạt phù du có thể bị phá hủy từng phần hoặc hoàn toàn thông qua việc chúng được vi sinh vật sử dụng làm thức ăn hoặc tan vào dung dịch qua các phản ứng vô cơ.

Sự bám của vi sinh vật thường làm tăng kích thước của các hạt sa lắng. Vi sinh vật cũng có tác dụng hợp nhất nhiều hạt nhỏ lại thành hạt lớn. Chẳng hạn như trường hợp ở nấm nhờ rễ giả hoặc sợi nấm có thể giữ được nhiều hạt và cuối cùng liên kết chúng lại với nhau. Tác dụng tương tự ở nhóm vi khuẩn có tiên mao và khuẩn mao có khả năng gây ra sự kết đám các hạt cực nhỏ. Các vi sinh vật này có vai trò quan trọng trong sự kiến tạo nền đáy của các thủy vực.

Vi sinh vật cũng có thể gây nên các quá trình sa lắng thông qua các hoạt động trao đổi chất của chúng. Chẳng hạn như sự kết tủa của vôi trong các vùng biển nông nhiệt đới là do sự thay đổi pH trong hàng loạt quá trình vi khuẩn học khác nhau gây nên.

Trong đa số các phần lắng cặn của các thủy vực nội địa và các vùng biển, nhất là các vùng giàu các chất hữu cơ dễ bị phân giải, luôn diễn ra các hoạt động phong phú của vi sinh vật. Do tác động của vi sinh vật mà hàm lượng tổng số các chất hữu cơ trong phần lắng cặn giảm và thành phần của chúng cũng bị biến đổi. Trong các phần lắng cặn giàu chất dinh dưỡng thuộc các thủy vực giàu thức ăn thường xuất hiện các vùng yếm khí do việc tiêu thụ oxy hoá mạnh của vi sinh vật để phân giải chất hữu cơ.

Ở các vùng yếm khí này xảy ra các quá trình lên men như phản nitrat hoá hoặc phản sunphat hoá.  $H_2S$  sinh ra từ sự khử sunphat sẽ liên kết với Fe tạo thành FeS dẫn đến việc tạo thành chất bùn sunfua sắt màu đen có mùi khó chịu. Bùn này thường được tích lũy rất nhiều ở các đầm hồ và các vùng bị nhiễm nước thải.

### 8.2.5 Vi sinh vật và sự làm bẩn nước

Vi sinh vật thường xâm nhập vào các nguồn nước qua rác và nước thải. Một lượng lớn chất hữu cơ và vô cơ xâm nhập vào các thủy vực cũng qua con đường này và tác động lên sự phát triển của vi sinh vật. Nước thải sinh hoạt thường chứa rất nhiều vi khuẩn. Chủ yếu là vi khuẩn nhóm *Pseudomonas*, *Bacillus cereus*, *Aerobacter*, *Zooglea*, vv... Ngoài ra còn có đại diện của các nhóm vi sinh vật phân giải đường, mỡ, urê và xenlulozơ. Đặc biệt vi khuẩn thuộc nhóm *E. coli* thường được xem là chỉ thị quan trọng của độ nhiễm phân trong nước.

Vi khuẩn dạng ống *Sphaerotilus* thường có mặt trong các nguồn nước giàu chất hữu cơ và làm nguồn nước cực kỳ bẩn do chúng sử dụng protein làm chất dinh dưỡng và tiêu thụ rất nhiều oxy để phân giải protein. Một khi loài vi khuẩn này xuất hiện nhiều thường gây bên tình trạng bão động về oxy trong thủy vực và khi oxy bị mất hoàn toàn thì loài vi khuẩn này cũng chết đi và bị thối rữa làm xuất hiện  $H_2S$  cùng những chất khác. Ngoài vi khuẩn dạng ống, một số vi khuẩn khác cũng tham gia làm bẩn nước như: vi khuẩn phản sunphat *Desulfovibrio desulfuricans*, vi khuẩn oxy hóa lưu huỳnh (nhất là nhóm *Thiobacillus*, *Thiothrix* và *Beggiatua*), vi khuẩn sinh mêtan và vi khuẩn sắt.

Trong nước thải cũng thường có nhiều loài nấm đặc biệt là nấm men thuộc giống *Saccharomyces*. Ngoài ra còn có bào tử và sợi nấm. Nấm nước tiêu biểu là *Leptomitia lacteus* và *Furarium aquaeductuum*. Giống như vi khuẩn dạng ống, các loại nấm nước có khả năng gây bẩn rất nhanh nhất là những khu công nghiệp có sản phẩm thải là xenlulozơ vì nguồn dinh dưỡng chủ yếu của chúng là hydrat cacbon.

### 8.2.6 Vi sinh vật là các tác nhân gây bệnh trong nước

Các vi sinh vật gây bệnh cho người và động vật cũng có khả năng xâm nhập vào các thủy vực bằng nước thải. Đa số vi sinh vật gây bệnh không tồn tại lâu trong nước do đặc tính sống ký sinh bắt buộc của chúng, hoặc do điều kiện môi trường nước không thích hợp cho sự phát triển của chúng. Tuy nhiên cũng có những tác nhân gây bệnh tồn tại được lâu trong nước hoặc trong các thủy sinh vật. Một số tác nhân gây bệnh thường gặp trong nước bao gồm:

- Các vi khuẩn gây bệnh đường ruột ở người như *E. coli*, *Salmonella typhi* và *S. paratyphi* gây bệnh thương hàn, các vi khuẩn lỵ *Shigella*, bào tử của các *Clostridium* gây bệnh, phẩy khuẩn *Vibrio cholerae* và *V. alginolitycus*.
- Các nấm gây bệnh ngoài da.
- Một số virus gây bệnh như polyovirus gây bệnh bại liệt ở trẻ em, các virus gây bệnh đường ruột ở người, virus gây bệnh cúm, các virus hepatitis.

### 8.2.7 Vi sinh vật và sự tự làm sạch các nguồn nước

Sự tự làm sạch các nguồn nước ở các thủy vực được thực hiện nhờ các quá trình vật lý và hoá học như hiện tượng sa lắng và oxi hóa. Tuy nhiên các quá trình sinh học vẫn có vai trò quyết định. Tham gia vào quá trình tự làm sạch nước trong các thủy vực có rất nhiều sinh vật từ chim, cá và các vi sinh vật. Chim và cá có thể nhặt những mẫu chất thải lớn làm thức ăn, tuy nhiên vai trò của chúng trong việc làm sạch các nguồn nước là rất nhỏ. Các động vật bậc thấp mà trước hết là các ấu trùng của côn trùng, giun và nguyên sinh động vật có vai trò lớn hơn chim và cá vì chúng có thể sử dụng các hạt chất thải nhỏ và cực nhỏ. Vi sinh vật giữ vai trò quyết định vì chúng có thể phân giải các hợp chất hữu cơ tồn tại dưới dạng thể rắn hay tan trong nước thành các chất vô cơ. Trong các điều kiện thích hợp vi sinh vật có khả năng tái khoáng hoá nhiều chất bản hữu cơ. Protein, đường và tinh bột được vi sinh vật phân hủy nhanh nhất. Mỡ, sáp, xenlulozơ và kitin bị phân giải chậm hơn nhiều và thường không hoàn toàn. Do vậy quần thể vi sinh vật cũng thay đổi theo tiến độ của sự tự làm sạch. Thêm vào đó nồng độ các chất và sự cung cấp oxy trong thủy vực cũng giảm theo quá trình làm sạch.

Tuy nhiên sự tự làm sạch tự nhiên chỉ xảy ra ở những địa điểm mà thành phần và số lượng các chất bản phù hợp với lực tự làm sạch của các thủy vực. Lực này rất khác nhau tùy theo nguồn nước và đạt trị số lớn nhất ở những nơi chuyển động mạnh của nước chia đều nước thải và sự trao đổi khí với không khí của khí quyển xảy ra mạnh. Lực tự làm sạch nước trong các tháng mùa nóng lớn hơn trong các tháng mùa lạnh. Khi nhiệt độ cao hoạt động của phần lớn vi sinh vật được kích thích, đồng thời do được chiếu sáng các thực vật nổi được cung cấp thêm oxy.

Ở các thủy vực bị nhiễm quá nhiều nước thải và rác rưởi so với khả năng mà thủy vực có thể tự xử lý, ngay cả trong những điều kiện thuận lợi nhất, thì khả năng tự làm sạch của thủy vực sẽ bị phá vỡ và điều này thường dẫn đến những hậu quả rất xấu về môi trường. Do việc sử dụng oxy quá lớn để phân giải chất thải sẽ làm xuất hiện những khu vực yếm khí trong thủy vực, ở đó do quá trình thối rữa, phản ứng sunphat hoá và H<sub>2</sub>S được tạo

thành. Gần như toàn bộ các sinh vật bậc cao và vi sinh vật đều chết, một quần thể vi sinh vật nghèo nàn về chủng loại được phát triển và chúng chỉ có thể phân giải một phần nhỏ chất hữu cơ trong thủy vực.

Việc phá vỡ sự tự làm sạch của các thủy vực cũng có thể xuất hiện do sự cung cấp trực tiếp các chất độc, trước hết là do nước thải và rác rưởi của các nhà máy thủ công hay công nghiệp đưa vào làm chết các sinh vật than gia vào các quá trình tái khoáng hoá. Các chất độc này bao gồm trước hết là các hợp chất kim loại nặng, các axit và các chất độc hữu cơ.

### **Tài liệu tham khảo:**

1. Phạm Văn Kim, 2001. Giáo trình vi sinh đại cương. Khoa Nông nghiệp, Đại học Cần thơ.
2. Nguyễn Lân Dũng, 2000. Vi Sinh Vật học. Nhà xuất bản giáo dục.
3. Madigan, M.T., Martinko, J.M. and Parker, J., 2002. Biology of Microorganisms. Tenth edition, Prehall.
4. Kiều Hữu Anh và Ngô Tự Thành, 1985. Vi sinh vật học của các nguồn nước (Dịch từ nguyên bản tiếng Đức). Nhà xuất bản Khoa học và kỹ thuật Hà nội.
5. Ford. T. E., 1994. Aquatic Microbiology.

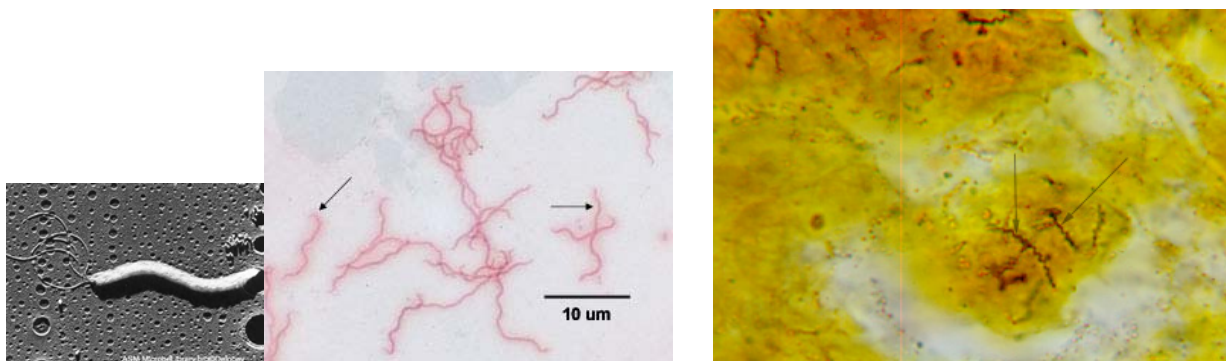
# Chương 9 MÂM BỆNH VI SINH VẬT VÀ CƠ CHẾ BẢO VỆ CỦA VẬT CHỦ

## 9.1 MÂM BỆNH VI SINH VẬT

### 9.1.1 Mâm bệnh vi khuẩn

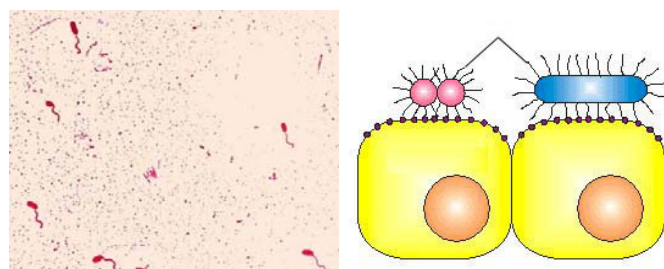
Vi khuẩn có mặt ở hầu hết các môi trường sống, đa số vi khuẩn là có lợi, chỉ có một số loài vi khuẩn là có khả năng gây bệnh cho người và động vật. Để có thể gây bệnh cho một sinh vật nào đó vi khuẩn phải có những khả năng: (1) ủ bệnh trong các ổ dịch bệnh trong môi trường hay trong cơ thể vật chủ trước và sau khi gây bệnh (2) có khả năng xâm nhập vào tế bào chủ mới (3) lây nhiễm khắp cơ thể và (4) gây tổn thương cơ thể vật chủ. Tuy nhiên khả năng gây bệnh của vi khuẩn còn phụ thuộc vào khả năng đề kháng và tình trạng sức khỏe của vật chủ mà chúng gây bệnh.

Vi khuẩn có thể tiếp xúc với vật chủ nhờ vào khả năng di chuyển bằng roi. Vi khuẩn có roi thường có nhiều khả năng gây bệnh hơn vi khuẩn không có roi. Vi khuẩn còn có thể sử dụng roi để xâm nhập vào bên trong cơ thể vật chủ (hình 80).

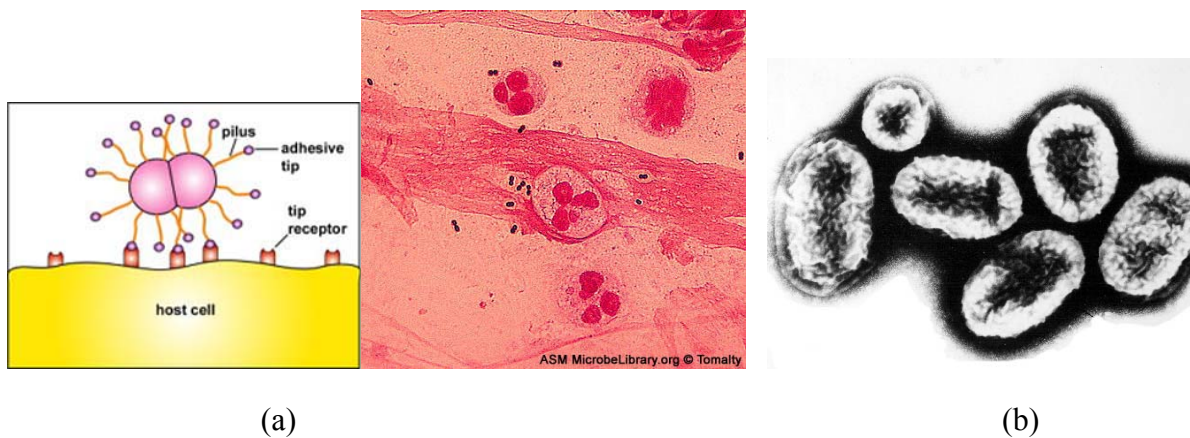


Hình 80. Xoắn thể trong mô tế bào.

Trong cơ thể vật chủ, các vi khuẩn gây bệnh có khả năng bám vào các mô cơ quan của vật chủ để tránh bị các hàng rào vật lý của vật chủ đào thải. Chúng có thể thực hiện việc này bằng cách sử dụng các khuẩn mao (hình 81) hoặc nhờ vào các protein bám liên kết với các thụ thể của tế bào chủ (hình 82a). Một số vi khuẩn sử dụng bao nhày để bám (hình 82b)

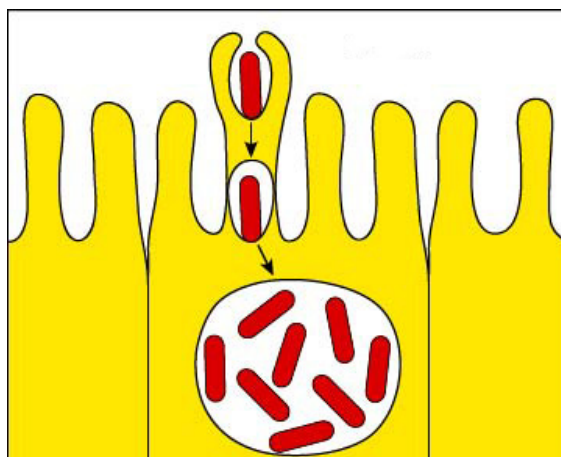


Hình 81. Vi khuẩn bám vào cơ thể vật chủ nhờ khuẩn mao



Hình 82. (a) vi khuẩn sử dụng các protein bám liên kết với các thụ thể của tế bào chủ; (b) vi khuẩn sử dụng bao nhày để bám.

Khả năng gây bệnh và làm tổn thương cơ thể vật chủ của vi khuẩn thường nhờ vào khả năng tạo các phân tử giúp vi khuẩn tấn công tế bào còn gọi là chất invasin. Những phân tử này làm hoạt hóa tế bào chủ để giúp vi khuẩn xâm nhập vào tế bào nhờ hiện tượng thực bào. Khi vào được bên trong tế bào chất của tế bào chủ thì vi khuẩn được cung cấp chất dinh dưỡng và được bảo vệ bởi các cơ chế bảo vệ của tế bào (hình 83).



Hình 83. Một dạng xâm nhập của vi khuẩn vào tế bào chủ nhờ invasin

### 9.1.2 Mầm bệnh nấm

Khả năng gây bệnh ở nấm cũng có hai dạng là khả năng tiếp cận và xâm nhập vào cơ thể vật chủ và khả năng lây nhiễm bệnh bên trong cơ thể. Tuy nhiên, các khả năng này ở nấm chưa được nghiên cứu tường tận như là ở vi khuẩn.

Khả năng tiếp cận và xâm nhập vào các tế bào của vật chủ là một trong những nhân tố gây bệnh quan trọng ở nấm. Một số loài nấm gây bệnh có khả năng sinh ra vỏ nhày để tránh ự phát hiện của bạch cầu như nấm *Cryptococcus neoformans* và *Histoplasma capsulatum*. Một số nấm như *Candida albicans* lại có khả năng kích thích việc tạo cytokin GM-CSF để ức chế khả năng sinh ra các bộ thể của các tế bào mono và đại thực bào làm hạn chế khả năng bảo vệ cơ thể của chúng. Nấm *C. albicans* còn có khả năng lấy Fe từ các tế bào hồng cầu. Một số mầm có khả năng phản kháng với sự thực bào của bạch



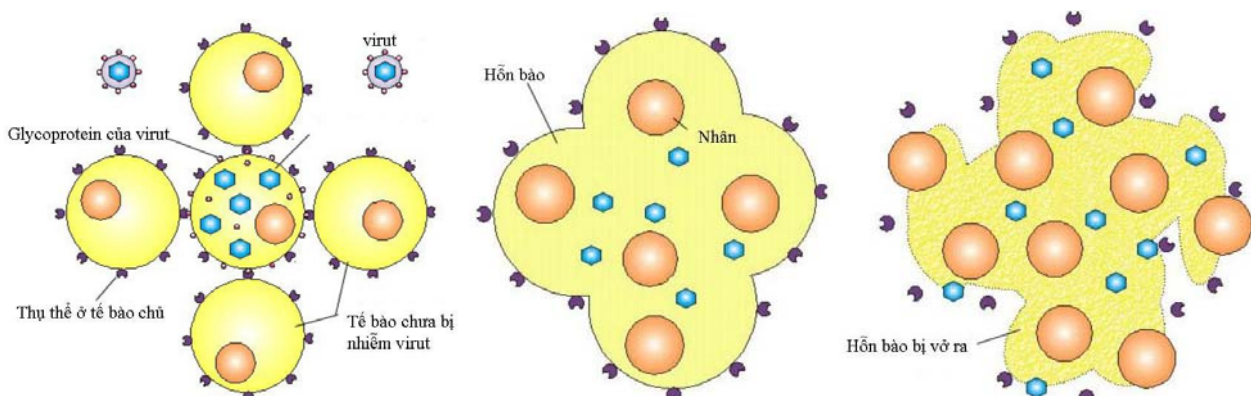
cầu do chúng có các khuẩn ti thể làm bạch cầu khó thực bào hoặc sinh ra những chất độc có dạng ống xâm nhập vào màng chất làm chết các đại thực bào.

Sau khi xâm nhập vào cơ thể vật chủ, nấm tiết ra các loại men để tiêu hoá tế bào gây tổn thương cơ thể vật chủ. Rất nhiều loại nấm còn có khả năng tiết độc tố như các loài *Aspergillus* tiết độc tố Aflatoxins.

### 9.1.3 Mầm bệnh virut

Mầm bệnh virut có thể gây tổn thương hay làm hại tế bào chủ bằng nhiều hình thức:

1. Ức chế quá trình sao chép thông tin di truyền trong nhân tế bào chủ hoặc làm ảnh hưởng đến quá trình sinh tổng hợp protein dẫn đến những biến đổi về cấu trúc và chức năng của tế bào chủ.
2. Làm tổn thương nhiễm sắc thể của tế bào chủ như trường hợp virut gây bệnh sởi Đức
3. Protein và glycoprotein của virut làm thay đổi tính kháng nguyên bề mặt của màng tế bào chất và làm ảnh hưởng đến khả năng đáp ứng miễn dịch của vật chủ.
4. Làm cạn kiệt nguồn vật chất cần thiết cho các hoạt động sống của tế bào chủ do quá trình sao chép và sinh tổng hợp các thành phần của virut.
5. Tấn công cả hệ miễn dịch của tế bào chủ
6. Gây viêm nhiễm tế bào chủ
7. Liên kết các tế bào chủ lân cận lại với nhau tạo thành những tế bào đại phi có rất nhiều nhân và hậu quả là tế bào sẽ bị trương to và vỡ ra (hình 84) như trường hợp nhiễm cytomegalovirus (CMV) hay HIV.
8. Làm cho các tế bào bình thường trở nên ác tính và cuối cùng hủy hoại tế bào chủ.



Hình 84: virut liên kết các tế bào chủ lân cận lại với nhau tạo thành những tế bào đại phi có rất nhiều nhân và hậu quả là tế bào sẽ bị trương to và vỡ ra.

## 9.2 MIỄN DỊCH HỌC

Tính miễn dịch là khả năng bảo vệ của cơ thể chống lại các tác nhân gây bệnh từ bên ngoài. Các tác nhân gây bệnh có thể là các yếu tố truyền nhiễm bệnh như vi sinh vật, côn trùng, ký sinh trùng và các protein lạ gây độc cho cơ thể. Mọi loài sinh vật đều có khả năng tự bảo vệ chống lại sự xâm nhập của bất kỳ vật lạ bên ngoài nào. Sự nhận biết này có được là do khả năng tương tác của một phức hệ các tế bào trong hệ miễn dịch của người và động vật.

### 9.2.1 Các loại miễn dịch

Quá trình nhận biết chất lạ và hậu quả của sự nhận biết đó trong một cơ thể sinh vật được gọi là đáp ứng miễn dịch. Tất cả các đáp ứng miễn dịch của cơ thể trước tiên bao gồm sự nhận biết các tác nhân gây bệnh hoặc những chất lạ, tiếp theo đó là những phản ứng nhằm loại chúng ra khỏi cơ thể. Đáp ứng miễn dịch ở người và động vật được chia làm hai loại là miễn dịch tự nhiên và miễn dịch thu được.

#### 9.2.1.1 Miễn dịch tự nhiên (*bẩm sinh*)

Miễn dịch bẩm sinh còn gọi là miễn dịch không đặc hiệu là khả năng tự bảo vệ có sẵn từ khi được sinh ra và mang tính chất di truyền trong các cơ thể cùng loài. Miễn dịch bẩm sinh không đòi hỏi phải có sự tiếp xúc trước của cơ thể với mầm bệnh hay vật lạ. Diễn hình như nhiều loài động vật không mắc bệnh của người và ngược lại. Ví dụ gà không mắc bệnh than, trâu bò không mắc bệnh giang mai và thương hàn của người.

#### 9.2.1.2 Miễn dịch thu được

Miễn dịch thu được còn gọi là miễn dịch đặc hiệu là trạng thái miễn dịch xuất hiện sau khi cơ thể tiếp xúc với kháng nguyên và có phản ứng sinh ra kháng thể đặc hiệu chống lại chúng. Miễn dịch thu được có hai đặc điểm khác cơ bản với miễn dịch tự nhiên là khả năng nhận dạng và trí nhớ đặc hiệu về kháng nguyên (vật lạ). Hệ thống miễn dịch đặc hiệu có thể ghi nhớ lại các tác nhân gây bệnh và ngăn cản tác động gây bệnh của chúng ở lần tiếp xúc lặp lại tiếp theo. Miễn dịch đặc hiệu lại được chia ra làm hai loại dựa vào phương thức tạo ra tình trạng miễn dịch:

Miễn dịch chủ động:

- Miễn dịch *chủ động tự nhiên* là trạng thái miễn dịch do tiếp xúc ngẫu nhiên với kháng nguyên và vi sinh vật có trong môi trường xung quanh.
- Miễn dịch *chủ động nhân tạo* là trạng thái miễn dịch thu được nhờ tiêm vaccin hoặc do truyền tế bào limpho thường hoặc limpho miễn dịch, ít khi là do ghép.

Miễn dịch thụ động:

- Miễn dịch thụ động tự nhiên là trạng thái miễn dịch thu được do kháng thể ghép hoặc truyền từ sữa mẹ

- Miễn dịch thụ động nhân tạo là miễn dịch nhờ kháng thể chuyển từ bên ngoài do truyền kháng huyết thanh.

## 9.2.2 Các cơ chế miễn dịch trong cơ thể sinh vật

### 9.2.2.1 Miễn dịch do các tế bào đặc biệt

Hệ thống miễn dịch bao gồm nhiều cơ quan và nhiều loại tế bào nằm rải rác khắp cơ thể, tác động qua lại với nhau theo nhiều cách để dẫn đến đáp ứng miễn dịch cuối cùng.

Tế bào chủ chốt tham gia vào đáp ứng miễn dịch miễn dịch là tế bào limpho. Bất kì tổ chức nào chứa tế bào limpho và tham gia vào đáp ứng miễn dịch đều được xem như tổ chức limpho. Các tế bào limpho có nguồn gốc từ các tế bào nguồn, còn gọi là tế bào gốc, không biệt hóa trong tủy xương. Từ tế bào nguồn, nhiều dòng tế bào có chức năng khác nhau được biệt hóa rồi sau đó trải qua quá trình thành thực hay chín khi kết hợp với các tổ chức chuyên hóa.

#### Tế bào limpho

Limpho bào phân tán khắp cơ thể trong hệ tuần hoàn máu và bạch huyết và là một trong những tế bào thịnh hành nhất của động vật có vú. Có hai loại tế bào limpho: limpho bào B (gọi tắt là tế bào B) và limpho bào T (gọi tắt là tế bào T) cần cho đáp ứng miễn dịch. Tuy cả hai đều được biệt hóa từ tế bào nguồn nhưng quá trình chín của tế bào B được thực hiện trong tủy xương. Ở gia cầm, tế bào B chín trong một cơ quan chức năng chuyên hóa, gọi là túi Bursa Fabricicus là một tuyến ở ống tiêu hóa phía dưới. Tế bào T chín trong cơ quan chức năng là tuyến ức. Do tủy xương và tuyến ức có vai trò lớn trong sự phát triển ban đầu và chín của tế bào B và tế bào T, nên chúng được gọi là các cơ quan limpho trung tâm.

Sau khi chín, tế bào T và B phân tán khắp cơ thể thông qua hệ tuần hoàn máu và bạch huyết, rồi đến cư trú tại hạch limpho hoặc lách. Các cơ quan này được gọi là cơ quan limpho ngoại vi. Chúng nằm trong hệ tuần hoàn máu và bạch huyết và hoạt động như một bộ máy lọc. Đại thực bào làm nhiệm vụ bẫy kháng nguyên khi chúng đi qua các cơ quan này và cũng ở đây các tế bào B và T thực hiện đáp ứng miễn dịch.

Tế bào B thực hiện tương tác với kháng nguyên và tạo kháng thể. Tế bào B khác với tế bào T ở chỗ trên bề mặt của nó có chứa kháng thể. Kháng thể bề mặt này sẽ dùng để sao ra các kháng thể mà chúng sẽ sinh ra trong quá trình phát triển sau này. Trên bề mặt tất cả tế bào T đều có thụ thể đặc hiệu kháng nguyên cho nên nó có khả năng tương tác đặc hiệu với kháng nguyên.

Quần thể tế bào T lại được biệt hóa thành các tiểu quần thể có chức năng khác nhau gọi là các quần thể tế bào T phân lớp. Có 2 quần thể phân lớp chính của tế bào T phân biệt với nhau bởi sự có mặt của các protein thụ thể CD<sub>4</sub> và CD<sub>8</sub>. Quần thể tế bào TCD<sub>4</sub> lại được biệt hóa thành hai phân lớp nữa có chức năng khác nhau. Một loại gọi là tế bào T hỗ trợ, kí hiệu là TH có nhiệm vụ kích thích tế bào B sản xuất nhiều kháng thể. Một loại là tế bào T quá mẫn muộn, kí hiệu là TD. Tế bào TD tham gia vào các phản ứng trung gian tế bào T, nhưng không tương tác với tế bào B mà chịu trách nhiệm hoạt hóa các tế bào không đặc hiệu, ví dụ như đại thực bào.

Quần thể tế bào TCD8 cũng biệt hóa ít nhất ra làm hai phân lớp. Một loại là tế bào T độc, kí hiệu là TC làm nhiệm vụ tương tác và phá hủy trực tiếp các tế bào có kháng nguyên trên bề mặt. Có một loại tế bào T ức chế, kí hiệu là TS làm nhiệm vụ điều hòa đáp ứng miễn dịch, ức chế tác động của các tế bào miễn dịch như tế bào B.

### **Đại thực bào**

Đại thực bào là các tế bào có kích thước lớn có khả năng bắt giữ, nuốt và phá hủy kháng nguyên. Đại thực bào hợp tác với các tế bào limpho để sản xuất kháng thể đặc hiệu. Thực bào có hai phân nhóm: các tế bào đơn nhân và các tế bào đa nhân có hạt (hay bạch huyết cầu đa nhân). Tế bào đa nhân có thể biệt hóa thành đại thực bào. Thuật ngữ đại thực bào chủ yếu dùng để mô tả các thực bào gắn cố định trên bề mặt tổ chức, còn thuật ngữ bạch cầu đơn nhân dùng để mô tả thực bào lưu động tự do. Đại thực bào có nhiều trong tổ chức limpho và lách, còn bạch cầu đơn nhân có nhiều trong máu và bạch huyết.

Khi một kháng nguyên xâm nhập vào biểu mô sẽ tiếp xúc với thực bào. Các thực bào này sẽ bắt giữ, nuốt các tế bào có kích thước lớn như vi khuẩn và tiết ra enzym thủy phân như proteinaza, nucleaza, lipaza và lizozim để tiêu hóa chúng. Khi tế bào vi khuẩn bị phân hủy sẽ giải phóng ra các kháng nguyên và được chứa trong đại thực bào. Các kháng nguyên này cùng với các kháng nguyên do đại thực bào nuốt trực tiếp từ bên ngoài sẽ được dùng để bắt đầu giai đoạn sớm của quá trình tổng hợp kháng thể. Ở đây đại thực bào làm nhiệm vụ tế bào trình diện kháng nguyên vì chúng đẩy kháng nguyên lạ ra bề mặt tạo điều kiện cho kháng nguyên tiếp cận với tế bào B và tế bào T.

Sự nhận mặt kháng nguyên của hai loại tế bào này là bước khởi đầu của sự tạo thành kháng thể. Khác với tế bào B và T, đại thực bào và các tế bào đơn nhân không có khả năng phân biệt kháng nguyên, do đó không mang tính đặc hiệu. Chúng bắt giữ và nuốt bất cứ vật lạ nào mà chúng gặp bất kể có tính kháng nguyên hay không. Tuy nhiên trong thực tế vì nhiều cao phân tử là kháng nguyên và các tế bào lạ có chứa nhiều kháng nguyên, cho nên phần lớn các hạt lạ do các tế bào này nuốt cũng là kháng nguyên.

Động tác trình diện kháng nguyên của đại thực bào đóng vai trò rất quan trọng trong sản xuất kháng thể, bởi vì một số lớn kháng nguyên chỉ có thể kích thích các tế bào limpho thông qua đại thực bào.

#### ***9.2.2.2 Kháng nguyên, kháng thể và các phản ứng huyết thanh***

##### **Chất sinh miễn dịch và kháng nguyên**

Một chất được gọi là chất sinh miễn dịch khi đưa vào cơ thể động vật ở điều kiện thích hợp sẽ gây ra đáp ứng miễn dịch. Bất cứ một chất nào khi gắn với thành phần của đáp ứng miễn dịch (kháng thể hoặc tế bào limpho hoặc cả hai) đều được gọi là kháng nguyên. Tất cả các chất sinh miễn dịch đều là kháng nguyên, tuy nhiên một số chất được coi là kháng nguyên nhưng không gây đáp ứng miễn dịch. Như trường hợp của Hapten là các chất có khối lượng phân tử thấp có thể gắn với kháng thể đặc hiệu nhưng bản thân nó không kích thích tạo kháng thể. Hapten bao gồm các phân tử đường, axit amin, các polime nhỏ và nhiều loại chất kháng sinh.

## **Điều kiện bắt buộc của một chất sinh miễn dịch**

Một chất muốn có tính sinh miễn dịch phải đạt ba tiêu chuẩn: tính lạ, khối lượng phân tử lớn và cấu trúc đủ phức tạp. Nếu thiếu một trong ba tiêu chuẩn này thì cũng phải gắn với chất mang để làm tăng khối lượng phân tử hoặc có mức độ phức tạp về cấu trúc.

- Tính lạ: Chất được coi là kháng nguyên trước hết phải là một chất lạ với cơ thể vì bình thường cơ thể không đáp ứng bảo vệ với các chất của bản thân. Chất càng lạ thì khả năng kích thích tạo kháng thể càng mạnh.
- Khối lượng phân tử: Nhìn chung kháng nguyên có khối lượng phân tử >10000 dalton. Nếu nhỏ hơn thì thường không có tính sinh miễn dịch. Từ 1000 đến 6000 dalton như trường hợp của insulin thì có thể có hoặc không có khả năng tạo đáp ứng miễn dịch.
- Cấu trúc phân tử phức tạp: Một chất có tính sinh miễn dịch phải là chất có cấu trúc hóa lý phức tạp. Các chất có cấu trúc càng phức tạp thì tính sinh miễn dịch càng cao.

## **Tính đặc hiệu của kháng nguyên**

Sự liên kết giữa kháng nguyên với kháng thể hay giữa kháng nguyên với tế bào limpho luôn mang tính đặc hiệu cao, nghĩa là phải luôn khớp với nhau như khóa với chìa. Kháng thể hay tế bào limpho không phải liên kết với toàn bộ phân tử kháng nguyên mà chỉ với những phần nhất định của kháng nguyên, gọi là quyết định kháng nguyên hay epitop. Phần tương ứng với nói trên mỗi kháng thể gọi là vị trí kết hợp kháng nguyên hay paratop. Phần tương ứng với quyết định kháng nguyên nằm trên tế bào limpho gọi là thụ thể. Mỗi epitop chỉ gắn đặc hiệu với một paratop của kháng thể và chỉ sinh ra một dòng kháng thể đặc hiệu. Một kháng nguyên có nhiều epitop khác nhau sẽ tạo thành nhiều dòng kháng thể khác nhau tương ứng với từng epitop.

## **Kháng thể**

Kháng thể là các globulin trong máu của động vật, có khả năng liên kết đặc hiệu với kháng nguyên đã kích thích sinh ra nó và được gọi là kháng thể miễn dịch hay kháng thể đặc hiệu. Kháng thể chủ yếu được tìm thấy trong huyết thanh của động vật, do vậy huyết thanh chứa kháng thể đặc hiệu kháng nguyên được gọi là kháng huyết thanh.

Kháng thể cũng có thể được tìm thấy trong các thể dịch khác của cơ thể, như sữa. Những kháng thể có sẵn trong sữa hay huyết tương của người và động vật trước khi có sự tiếp xúc với kháng nguyên được gọi là kháng thể tự nhiên hay kháng thể không đặc hiệu.

## **Bản chất và tính chất của kháng thể**

Kháng thể là  $\gamma$ -globulin có trong huyết thanh của người và động vật có vú. Bản chất kháng thể là protein nên các tác nhân vật lý và hóa học như nhiệt độ, axit, kiềm... làm biến tính protein thì cũng có thể phá hủy kháng thể. Hoạt tính của kháng thể phụ thuộc vào pH môi trường và nhiều yếu tố khác.

Kháng thể thường được ký hiệu là Ig (**I**mum**n**oglobulin). Có 5 loại kháng thể Ig là IgG, IgA, IgM, IgD, và IgE.

## Cấu trúc của kháng thể miễn dịch

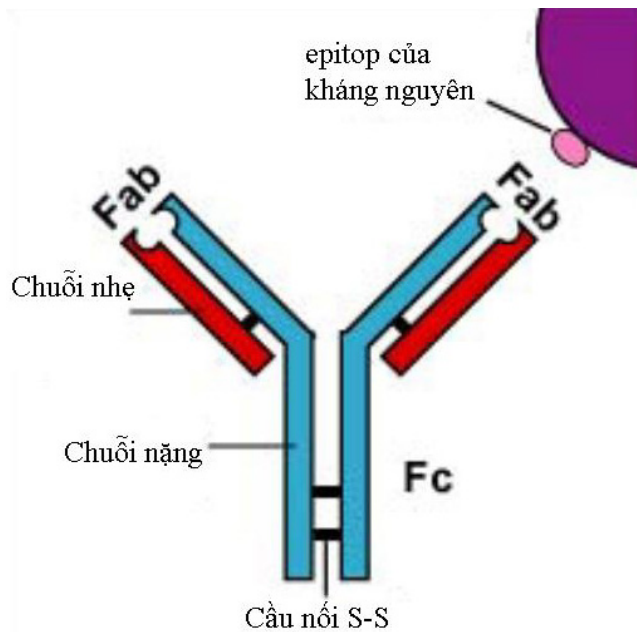
Tất cả các Ig đều có cấu trúc giống nhau. Điển hình như là IgG là kháng thể lưu hành phổ biến nhất chiếm 80% tổng số Ig trong huyết thanh người, có khối lượng phân tử 160.000. IgG chứa 4 chuỗi polipeptit. Hai chuỗi nhẹ (ngắn) kí hiệu là L và hai chuỗi nặng (dài) kí hiệu là H, được gắn với nhau bởi cầu disunphua (S-S). Trình tự axit amin ở kháng thể giống hệt nhau theo từng đôi chuỗi nặng và từng đôi chuỗi nhẹ. Mỗi chuỗi nhẹ chứa 212 axit amin, còn chuỗi nặng chứa khoảng 450 axit amin. Cả phân tử có cấu tạo đối xứng.

Dưới tác dụng của enzym phân giải protein-papain phân tử được phân giải thành ba mảnh nhỏ. Hai mảnh nhỏ chứa toàn bộ chuỗi nhẹ cộng với nửa chuỗi nặng có đầu amin ( $\text{NH}_2$ ). Đây là nơi gắn với kháng nguyên và được gọi là đoạn Fab (từ chữ Fragment of antigen binding). Mảnh còn lại là hai nửa có đầu carboxyl ( $\text{COOH}$ ) của hai chuỗi nặng. Phần này không gắn được với kháng nguyên nhưng có khả năng kết tinh nên gọi là phần Fc (từ chữ Fragment crystallizable).

Như vậy phân tử IgG chứa hai vị trí kết hợp kháng nguyên do đó có hai hóa trị. Vị trí này chiếm khoảng 1% diện tích bề mặt của IgG. Vị trí kết hợp kháng nguyên nằm ở phần nhỏ phía đầu amin của hai chuỗi nặng và nhẹ. IgG cũng còn chứa một lượng nhỏ carbon hydrat, gồm chủ yếu là đường hexozơ và hexozamin. Carbon hidrat không liên quan đến vị trí kết hợp kháng nguyên.

Mỗi chuỗi nhẹ của IgG chứa hai vùng axit amin. Một vùng nằm ở phía đầu amin mà trật tự axit amin có thể thay đổi gọi là vùng biến đổi. Vùng này. Vùng còn lại nằm ở phía đầu cacboxyl có trật tự amin không thay đổi, gọi là vùng cố định. Trật tự axit amin vùng cố định của chuỗi nhẹ luôn giống nhau kể cả ở các IgG kết hợp với các kháng nguyên khác nhau. Sở dĩ như vậy vì ở phần cố định này chỉ có một trong hai kiểu trật tự axit amin: Trật tự lamda ( $\gamma$ ) hoặc trật tự kappa ( $\text{K}$ ). Một phân tử IgG chỉ chứa hoặc hai chuỗi nhẹ lamda hoặc hai chuỗi nhẹ kappa mà không bao giờ chứa cả hai loại. Ngược lại, ở vùng biến đổi của chuỗi nhẹ, trật tự axit amin luôn khác nhau, kể cả đối với các Ig do cùng một tế bào sinh ra.

Mỗi chuỗi nặng IgG chứa bốn vùng axit amin, một vùng biến đổi và ba vùng cố định. Cũng tương tự như ở chuỗi nhẹ, tất cả các globulin miễn dịch thuộc lớp IgG có trật tự axit amin ở đoạn đầu carboxyl giống nhau được kí hiệu là CH1, CH2 và CH3. Ở mỗi chuỗi nặng, đoạn có đầu amin (nơi có vị trí kết hợp kháng nguyên) có trật tự axit amin biến đổi, do vậy bảo đảm tính đa dạng của phân tử được kí hiệu là VH. Vùng nằm giữa CH1 và CH2 của chuỗi nặng gọi là khớp nối, có tác dụng như chiếc bản lề, làm cho phân tử có cấu tạo hình chữ Y, nên có thể điều chỉnh dãn ra hay khép lại giúp cho việc gắn, phù hợp với hai quyết định kháng nguyên.



Hình 85: Cấu tạo của kháng thể IgG

Các globulin miễn dịch khác:

- IgM chiếm 5-10% tổng globulin của huyết thanh và là globulin lớn nhất, có khối lượng phân tử 900.000, hằng số lắng 19S và chứa 10% cacbon hidrat. IgM có cấu tạo gồm hai chuỗi nhẹ kappa hoặc lamda và hai chuỗi nặng muyn nên được kí hiệu là  $K_2\mu_2$  hoặc  $\gamma_2\mu_2$ . Năm globulin cụm lại với nhau thành ngôi sao năm cánh nhờ cầu nối disunphua và chuỗi peptit nhỏ (chuỗi J) nên IgM có tới 10 vị trí kết hợp kháng nguyên và vì thế hoạt tính hơn hoạt tính IgG từ 60 đến 180 lần. IgM xuất hiện sớm, đầu tiên trong các bệnh virut, sau đó IgG xuất hiện muộn và thay thế IgM. IgM cũng đáp ứng với polisaccarit vỏ nhầy của nhiều loài vi khuẩn nên được dùng để chống các vi khuẩn này. IgM dạng đơn (monome) có trên bề mặt limpho B và làm nhiệm vụ như thụ thể dành cho kháng nguyên. Trong máu của một số loài động vật, IgM ở dạng monome, ở một số loài khác là tetrame hoặc hexame.
- IgA có khối lượng phân tử từ 140.000-300.000, hằng số lắng 7S. Cấu tạo gồm hai chuỗi nhẹ kappa hoặc lamda và hai chuỗi nặng  $\alpha$  nên được kí hiệu là  $K_2\alpha_2$  hoặc  $\gamma_2\alpha_2$ . Trong huyết thanh người có ít IgG ở dạng dime hoặc trime gắn với nhau nhờ chuỗi peptit J, còn chủ yếu chúng có trong dịch nhầy. Chúng được tổng hợp chủ yếu nhờ tế bào B trong niêm mạc ruột, đường hô hấp và thực hiện chức năng chống vi khuẩn trên bề mặt niêm mạc.
- IgD chiếm 0.2-1% tổng globulin và có nồng độ trong huyết thanh rất thấp (0.5-40 mg/100ml). Cấu tạo gồm hai chuỗi nhẹ kappa hoặc lamda và hai chuỗi nặng delta, nên được kí hiệu là  $K_2\delta_2$ ,  $\lambda_2\delta_2$ . IgD có trên bề mặt tế bào B, nên có thể làm nhiệm vụ như thụ thể dành cho kháng nguyên.
- IgE có khối lượng phân tử 180.000, hằng số lắng 8S. Cấu tạo gồm hai chuỗi nhẹ kappa hoặc lamda và hai chuỗi nặng epsilon, nên được kí hiệu là  $K_2\epsilon_2$ ,  $\lambda_2\epsilon_2$ . Nồng độ trong huyết thanh rất thấp, chỉ bằng 1/50.000 nồng độ IgG, nhưng sẽ được tăng lên nhanh khi bị dị ứng hoặc nhiễm trùng do kí sinh (giun).

## Các phản ứng huyết thanh

Nhiều phản ứng miễn dịch phụ thuộc vào phản ứng kháng nguyên, kháng thể. Như ta đã biết, kháng thể phản ứng đặc hiệu với kháng nguyên kích thích sinh ra nó. Kháng thể có trong huyết thanh, do đó những nghiên cứu về tương tác giữa kháng nguyên và kháng thể có sử dụng huyết thanh được gọi là huyết thanh học.

Kháng thể chỉ có thể được xác định chúng khi gắn với kháng nguyên đặc hiệu. Phản ứng kháng nguyên, kháng thể có thể được xác định thông qua sự kết tủa, ngưng kết, cố định bổ thể, sự phát huỳnh quang, hoạt tính enzym và gắn với đồng vị phóng xạ. Có nhiều phương pháp khác nhau để xác định mối tương quan giữa kháng nguyên và kháng thể.

1. *Phản ứng kết tủa*: khi cho kháng thể đặc hiệu phản ứng với kháng nguyên hòa tan ở liều lượng chuẩn sẽ xuất hiện được kết tủa nhìn thấy được bằng mắt thường. Phản ứng này được dùng phổ biến để phát hiện kháng nguyên khi đã có sẵn kháng thể đặc hiệu hoặc để phát hiện kháng thể khi có kháng nguyên hòa tan đặc hiệu. Phản ứng kết tủa bị ức chế khi có quá thừa kháng nguyên hoặc kháng thể. Sự kết tủa tối ưu khi có nồng độ kháng nguyên phù hợp với kháng thể.
2. *Phản ứng ngưng kết*: thực hiện với những kháng nguyên hữu hình, đó là kháng nguyên có kích thước lớn như hồng cầu và tế bào vi sinh vật. Kháng nguyên hữu hình có epitop bề mặt có thể liên kết chéo với các kháng thể tạo thành từng cụm có thể nhìn thấy được bằng mắt thường. Kháng thể trong phản ứng này gọi là kháng thể gây ngưng kết. Phản ứng ngưng kết nhạy hơn phản ứng kết tủa nên được dùng để định tính và bán định lượng kháng thể trong huyết thanh.
3. *Phản ứng kết hợp bổ thể*: Trong phản ứng này có hai hệ thống .

*Hệ thống 1*: bao gồm kháng nguyên- kháng thể- bổ thể. Nếu kháng nguyên đặc hiệu với kháng thể sẽ kết hợp được với bổ thể, còn nếu không đặc hiệu với kháng thể thì sẽ không kết hợp được với bổ thể, nên bổ thể ở dạng tự do. Do phản ứng không nhìn thấy được nên phải dùng hệ thống 2 làm chỉ thị.

*Hệ thống 2*: bao gồm hồng cầu cừu, huyết thanh kháng thể hồng cầu cừu đã đun nóng để phá vỡ bổ thể. Nếu ở hệ thống một kháng nguyên đặc hiệu với kháng thể thì sẽ không có bổ thể ở trạng thái tự do. Khi thêm hệ thống hai vào phản ứng, hồng cầu cừu không bị tan cho phản ứng dương tính. Ngược lại nếu ở hệ thống 1 kháng nguyên không đặc hiệu với kháng thể thì sẽ không kết hợp với bổ thể. Khi thêm hệ thống 2 vào phản ứng, bổ thể tự do sẽ kết hợp với hệ thống 2 và làm tan hồng cầu cừu cho phản ứng âm tính.

4. *Kỹ thuật huỳnh quang miễn dịch*: kháng thể (hoặc kháng nguyên) được đánh dấu bằng thuốc nhuộm huỳnh quang, dựa trên tính chất của thuốc nhuộm khi được kích thích bởi bức xạ có bước sóng đặc hiệu sẽ phát sáng. Kháng thể gắn thuốc nhuộm huỳnh quang gọi là kháng thể đánh dấu hoặc kháng thể huỳnh quang. Kỹ thuật đánh dấu huỳnh quang miễn dịch có thể là trực tiếp hay gián tiếp:
  - *Kỹ thuật huỳnh quang miễn dịch trực tiếp*: kháng nguyên và kháng thể tạo ra hai lớp của phản ứng. Một trong hai thành phần được gắn trực tiếp với thuốc nhuộm huỳnh quang.



- *Kỹ thuật miễn dịch gián tiếp*: ngoài hai thành phần chính là kháng nguyên và kháng thể đặc hiệu tạo ra hai lớp của phản ứng còn có một thành phần nữa được gắn với thuốc nhuộm huỳnh quang, tạo lớp thứ ba.
- 5. *Thí nghiệm miễn dịch phóng xạ* (Radioimmunoassay-RIA): dựa trên sự cạnh tranh giữa kháng nguyên đánh dấu đồng vị phóng xạ (ví dụ  $^{125}\text{I}$ ) với kháng nguyên không đánh dấu đồng vị phóng xạ gắn vào với kháng thể đặc hiệu.
- 6. *Kỹ thuật chất hấp phụ miễn dịch gắn enzym* (ELISA): là kỹ thuật khá nhạy và đơn giản, cho phép xác định kháng nguyên hoặc kháng thể ở nồng độ rất thấp (khoảng 0,1 ng/ml). So với kỹ thuật phóng xạ thì kĩ thuật này rất rẽ tiền và an toàn hơn mà vẫn chính xác như nhau. Nguyên tắc của kỹ thuật này thì giống như kỹ thuật miễn dịch huỳnh quang, nhưng khác ở chỗ thay vì kháng thể gắn thuốc nhuộm huỳnh quang thì người ta gắn kháng thể với một enzym. Khi cho thêm cơ chất thích hợp vào phản, enzym sẽ thủy phân cơ chất này thành một chất có màu. Sự xuất hiện màu chứng tỏ xảy ra phản ứng đặc hiệu giữa kháng nguyên với kháng thể, và thông qua cường độ màu mà biết được nồng độ của kháng nguyên cần phát hiện. ELISA được dùng để xác định nhiều tác nhân gây bệnh như virus, vi khuẩn, nấm sợi, kí sinh.

#### **Tài liệu tham khảo:**

1. Phạm Văn Kim, 2001. Giáo trình vi sinh đại cương. Khoa Nông nghiệp, Đại học Cần thơ.
2. Nguyễn Lâm Dũng, 2000. Vi Sinh Vật học. Nhà xuất bản giáo dục.
3. Madigan, M.T., Martinko, J.M. and Parker, J., 2002. Biology of Microorganisms. Tenth edition, Prenhall.
4. Đỗ Ngọc Liên, 1999. Miễn dịch học cơ sở. Nhà xuất bản Đại học Quốc gia Hà nội.