



GIÁO TRÌNH SINH HỌC
KỸ THUẬT VI SINH VẬT

Nhiều tác giả

**Giáo trình sinh học kỹ thuật
vi sinh vật**

NHÀ XUẤT BẢN THỐNG KÊ

Năm 2008

Chương 1

CƠ SỞ LÝ THUYẾT VỀ KỸ THUẬT VI SINH VẬT

1.1. NHỮNG KIẾN THỨC TỔNG QUÁT VỀ CÁC LĨNH VỰC VI SINH VẬT VÀ PHÂN LOẠI

Vi sinh vật (từ tiếng Hy Lạp mikros - nhỏ, bios - cuộc sống, logos - học thuyết) là một phần của ngành khoa học sinh học nghiên cứu hình thái, sinh hoá và sinh lý các tính chất có lợi và có hại của vi sinh vật nhằm sử dụng hiệu quả chúng trong hoạt động thực tiễn của con người. Quá trình phát triển ngành vi sinh học có liên quan chặt chẽ với hoạt động con người, đã hình thành nên những lĩnh vực vi sinh học độc lập với những định hướng và nhiệm vụ đa dạng. Những lĩnh vực sinh học bao gồm: đại cương, kỹ thuật, y tế thú y, nông nghiệp, nước, vũ trụ v.v. Trong đó vi sinh đại cương và kỹ thuật vi sinh có tầm quan trọng lớn lao trong đời sống xã hội.

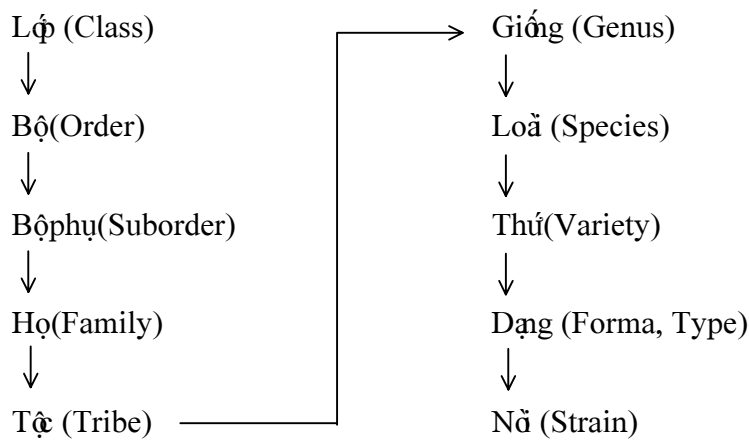
Sinh học đại cương nghiên cứu sự phát triển và hoạt động sống của vi sinh vật, vai trò của chúng trong tự nhiên. Những hiểu biết này rất cần thiết khi nghiên cứu các lĩnh vực khác nhau có liên quan đến vi sinh vật.

Kỹ thuật vi sinh là sự hoàn thiện các phương pháp thu nhận sinh khối vi sinh vật dạng công nghiệp và các quá trình nuôi cấy chúng. Các phương pháp hợp lý nhằm tổng hợp sản phẩm vi sinh cần thiết cho hoạt động thực tiễn của con người. Việc nghiên cứu các tính chất khác nhau của vi sinh vật đã đẩy mạnh và khám phá ra những loài trước đây chưa biết đến, số lượng các loài ngày càng nhiều dẫn đến sự cần thiết phải phân loại một cách khoa học và có cơ sở.

Hiện nay có hai cách phân loại vi sinh vật. Cách thứ nhất theo hệ thống, cách thứ hai dựa theo cấu tạo của nhân vi sinh vật.

Theo cách phân loại thứ nhất thì vi sinh vật được xếp trong ngành protophyta. Nó gồm ba lớp Schizomycetes (lớp vi khuẩn), Schizophyceace (lớp thanh tảo), Microtobiotes (lớp rickettsia và vi rút).

Hệ thống phân loại đã được đưa ra như sau:



Nòi là tên gọi vi sinh vật mà phân lập thuần khiết.

Năm 1979 nhà sinh vật học Trung Quốc Trần Thế Tương đưa ra hệ thống phân loại 6 giới và 3 nhóm giới sinh vật như sau:

I- Nhóm giới sinh vật phi bào:

1- Giới virus.

II- Nhóm giới sinh vật nhân nguyên thủy

2- Giới vi khuẩn.

3- Giới vi khuẩn lam (hay tảo lam).

III- Nhóm giới sinh vật nhân thật:

4- Giới thực vật.

5- Giới nấm.

6- Giới động vật.

Đáng chú ý là vi sinh vật tuy rất đơn giản về hình thái nhưng bao gồm các nhóm có đặc điểm sinh lý khác biệt nhau rất xa (hiếu khí, kỵ khí, dị dưỡng, tự dưỡng, hoại sinh, ký sinh, cộng sinh...). Trong khi đó các sinh vật bậc cao (thực vật, động vật) tuy có hình thái khác nhau rất xa nhưng lại rất gần gũi với nhau về đặc điểm sinh lý.

1.2. VAI TRÒ CỦA VI SINH VẬT TRONG TỰ NHIÊN VÀ TRONG NỀN KINH TẾ QUỐC DÂN

Vi sinh vật sống khắp mọi nơi trên Trái đất, ngay cả nơi mà điều kiện sống tương chừng há sự khắc nghiệt vẫn thấy có sự phát triển của vi sinh vật (ở đáy đại dương, ở nhiệt độ $85 \div 90^{\circ}\text{C}$, ở môi trường có pH = $10 \div 11$, trong dung dịch bão hòa muối, đồng hoá dầu mỏ phenol, khí thiên nhiên...).

Trong 1 g đất lấy ở tầng canh tác thường có khoảng $1 \div 22$ tỉ vi khuẩn; $0,5 \div 14$

triệu xạ khuẩn; 3 ÷ 50 triệu vi nấm; 10 ÷ 30 nghìn vi tảo... Trong 1 m³ không khí phía trên chuồng gia súc thường có 1 ÷ 2 triệu vi sinh vật, trên đường phố có khoảng 5000, nhưng trên mặt biển chỉ có khoảng 1 ÷ 2 vi sinh vật mà thôi.

Vi sinh vật sống trong đất và trong nước tham gia tích cực vào quá trình phân giải các xác hữu cơ biến chúng thành CO₂ và các hợp chất vô cơ khác dùng làm thức ăn cho cây trồng. Các vi sinh vật cố định nitơ thực hiện việc biến khí nitơ (N₂) trong không khí thành hợp chất nitơ (NH₃, NH₄⁺) cung cấp cho cây cố. Vi sinh vật có khả năng phân giải các hợp chất khó tan chứa P, K, S và tạo ra các vòng tuần hoàn trong tự nhiên.

Vi sinh vật còn tham gia vào quá trình hình thành chất mùn.

Vi sinh vật tham gia tích cực vào việc phân giải các phế phẩm công nghiệp, phế thải đô thị, phế thải công nghiệp cho nên có vai trò quan trọng trong việc bảo vệ môi trường. Các vi sinh vật gây bệnh thì lại tham gia vào việc làm ô nhiễm môi trường nơi có điều kiện vệ sinh kém.

Vi sinh vật có vai trò quan trọng trong năng lượng (sinh khối hoá thạch như dầu mỏ và khí đốt, than đá). Trong các nguồn năng lượng mà con người hy vọng sẽ khai thác mạnh mẽ trong tương lai có năng lượng thu từ sinh khối. Sinh khối là khối lượng chất sống của sinh vật.

Vi sinh vật là lực lượng sản xuất trực tiếp của ngành công nghiệp lên men bởi chúng có thể sản sinh ra rất nhiều sản phẩm trao đổi chất khác nhau. Nhiều sản phẩm đã được sản xuất công nghiệp (các loại axit, enzym, rượu, các chất kháng sinh, các axit amin, các vitamin...).

Hiện tại người ta đã thực hiện thành công công nghệ di truyền ở vi sinh vật. Đó là việc chủ động chuyển một gen hay một nhóm gen từ một vi sinh vật hay từ một tế bào của các vi sinh vật bậc cao sang một tế bào vi sinh vật khác. Vi sinh vật mang gen tái tổ hợp nhiều khi mang lại những lợi ích to lớn bởi có thể sản sinh ở quy mô công nghiệp những sản phẩm trước đây chưa hề được tạo thành bởi vi sinh vật.

Trong công nghiệp tuyển khoáng, nhiều chủng vi sinh vật đã được sử dụng để hoà tan các kim loại quý từ các quặng nghèo hoặc từ các bã chứa xỉ quặng.

Vi sinh vật có hại thường gây bệnh cho người, cho gia súc, gia cầm, tôm cá và cây trồng. Chúng làm hư hao hoặc biến chất lương thực, thực phẩm, vật liệu, hàng hoá. Chúng sản sinh các độc tố trong đó có những độc tố rất nguy hiểm. Chỉ riêng sự tấn công của virus HIV cũng đủ gây ra ở cuối thế kỷ XX khoảng 30 ÷ 50 triệu người nhiễm HIV.

1.3. NHỮNG ĐẶC ĐIỂM VỀ HÌNH THÁI VÀ SINH LÝ CỦA CÁC NHÓM GIỚI VI SINH VẬT .

1.3.1. Hình thái và cấu tạo tế bào các vi sinh vật nhân nguyên thủy

Vi sinh vật nhân nguyên thủy bao gồm: Vi khuẩn thật (Eubacteria) và vi khuẩn cổ (Archaeobacteria). Trong vi khuẩn thật lại gồm rất nhiều nhóm khác nhau, chủ yếu là vi khuẩn (Bacteria), xạ khuẩn (Actinomycetes), vi khuẩn lam (Cyanobacteria) và nhóm vi khuẩn nguyên thủy *Mycoplasma* (*Mycoplasma*), *Rickettsia* (*Rickettsia*), *Chlamydia* (*Chlamydia*).

1.3.1.1. Vi khuẩn

Vi khuẩn có nhiều hình thái, kích thước và sắp xếp khác nhau. Đường kính của phần lớn vi khuẩn thay đổi trong khoảng $0,2 \div 2,0 \mu\text{m}$, chiều dài cơ thể khoảng $2,0 \div 8,0 \mu\text{m}$. Những hình dạng chủ yếu của vi khuẩn là hình cầu, hình que, hình dấu phẩy, hình xoắn, hình có ống, hình có sợi...

Ở vi khuẩn hình cầu (cầu khuẩn - coccus) tùy theo hướng của mặt phẳng phân chia và cách liên kết mà ta có song cầu khuẩn (*Diplococcus*), liên cầu khuẩn (*Streptococcus*), tực cầu khuẩn (*Graffkya*), tực cầu khuẩn (*Staphylococcus*).

Ở vi khuẩn hình que- trực khuẩn (*Bacillus*); *Bacterium* có thể gặp dạng đơn, dạng đôi, dạng chuỗi...

Ở vi khuẩn hình xoắn có dạng hình dấu phẩy: phẩy khuẩn (*Vibrio*), hình xoắn thưa (Xoắn khuẩn- *Spirillum*), hình xoắn khít (Xoắn thể *Spirochaetes*).

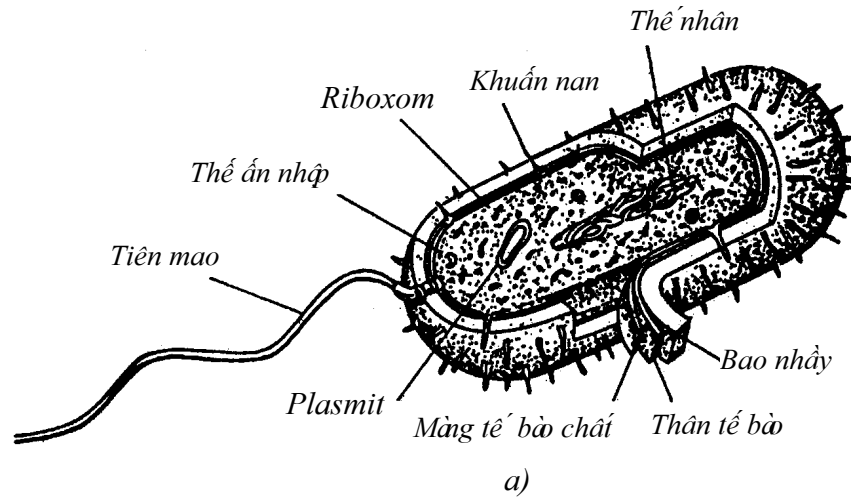
Ngoài ra, còn có thể gặp các hình dạng khác của vi khuẩn (hình khối vuông, khối tam giác, khối hình sao...). Chi *Beggiatoa* và *Saprospira* có tế bào nở dài dạng sợi, chi *Caryophanon* có tế bào hình đĩa xếp lồng vào nhau như một xâu các đồng xu.

Tế bào vi khuẩn dài rất nhỏ và rất nhẹ Một tỉ trực khuẩn đại tràng *Escherichia coli* nhỏ có 1 mg.

Tiên mao (hay lông roi) là những sợi lông dài, uốn khúc, mọc ở mặt ngoài của một số vi khuẩn có tác dụng giúp các vi khuẩn này có thể chuyển động trong môi trường lỏng.

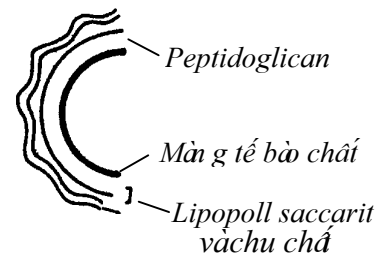
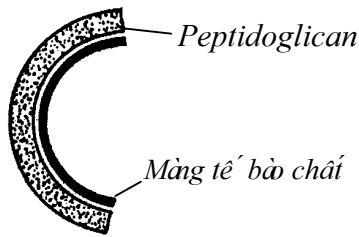
Vi khuẩn di động trong môi trường lỏng theo kiểu nào phụ thuộc vào nhiều lý do khác nhau, nhiều khi hoàn toàn ngẫu nhiên. Cũng không ít trường hợp là do tìm kiếm hay tránh khỏi một số yếu tố nào đó Ví dụ tìm kiếm nguồn thức ăn, tìm kiếm chỗ có ánh sáng, tránh chỗ có hoá chất độc hại.

Vi khuẩn Gram âm (G^-) thường có khuẩn mao, giúp vi khuẩn bám vào giá thể (màng nhầy của đường hô hấp, đường tiêu hoá...). Rất nhiều vi khuẩn G^- có khuẩn mao là các vi khuẩn gây bệnh.



VI KHUẨN Gram dương (G^+)
(*Arthrobacter crystlopoietes*)

VI KHUẨN Gram âm (G^-)
(*Lewthrix mucor*)



b)

c)

Hình 1.1. Sơ đồ cấu trúc tế bào vi khuẩn:

a- Cấu trúc tế bào vi khuẩn; b- Vi khuẩn G^+ ; c- Vi khuẩn G^-

So với các sinh vật khác, vi khuẩn có tốc độ sinh sản cao và điều kiện tối ưu, sự phát triển nhân đôi tế bào xảy ra trong vòng 20 ÷ 30 phút.

Vi khuẩn được sử dụng rộng rãi trong công nghiệp vi sinh khi sản xuất axit amin, vitamin, chất bảo vệ thực vật, làm sạch dòng nước thải bằng phương pháp sinh học. Dùng vi khuẩn để sản xuất các chế phẩm protein từ metan và hydro làm sạch trong những hướng có triển vọng.

1.3.1.2. Xạ khuẩn

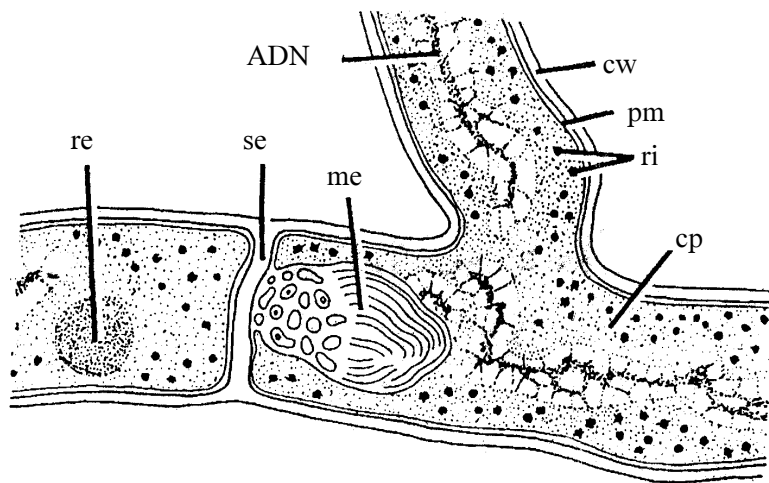
Xạ khuẩn được phân bố rất rộng rãi trong tự nhiên. Trong mỗi gam đất nó chung thường có trên một triệu xạ khuẩn. Phần lớn xạ khuẩn là tế bào Gram dương, hiếu khí,

hoạt sinh, có cấu tạo dạng sợi phân nhánh (khuẩn ti). Trong số 8000 chủng khoáng sinh hiện đã được biết đến trên thế giới thì trên 80% là do xạ khuẩn sinh ra. Xạ khuẩn còn được dùng để sản xuất nhiều loại enzym, một số vitamin và axit hữu cơ. Một số ít xạ khuẩn kỵ khí hoặc vi hiếu khí có thể gây ra các bệnh cho người, cho động vật và cho cây trồng. Một số xạ khuẩn (thuộc chi *Frankia*) có thể tạo nốt sần trên rễ một số cây không thuộc họ đậu và có khả năng cố định nitơ.

Hệ sợi của xạ khuẩn chia ra thành khuẩn ti cơ chất và khuẩn ti khí sinh.

Đường kính khuẩn ti xạ khuẩn thay đổi trong khoảng $0,2 \div 1,0 \mu\text{m}$ đến $2 \div 3 \mu\text{m}$. Đa số xạ khuẩn có khuẩn ti không có vách ngăn và không tự đứt đoạn. Màu sắc của khuẩn ti của xạ khuẩn hết sức phong phú có thể có các màu trắng, vàng, da cam, đỏ, lục, lam, tím, nâu, đen...

Khuẩn ti cơ chất phát triển một thời gian thì dãn ra trong không khí thành những khuẩn ti khí sinh.



Hình 1.2. Cấu trúc khuẩn ti ở xạ khuẩn:

cp- Tế bào chấ; *pm*- Màng tế bào chất *cw*- Thành tế bào;
me- Mezoxom; *se*- Vách ngăn; *ri*- Riboxom; *re*: Chấ dử trữ

Sau một thời gian phát triển, trên đỉnh khuẩn ti khí sinh sẽ xuất hiện các sợi bào tử. Sợi bào tử có thể có nhiều loại hình dạng khác nhau: thẳng, lượn sóng, xoắn, móc đơn, móc vòng... Một số xạ khuẩn có sinh nang bào tử bên trong có chứa các bào tử nang.

Khuẩn lạc của xạ khuẩn rất đặc biệt, nó không trơn ướt như ở vi khuẩn hoặc nấm men mà thường có dạng thô ráp, dạng phấn, không trong suốt, có các nếp toả ra theo hình phóng xạ, vì vậy mới có tên xạ khuẩn.

1.3.1.3. Vi khuẩn lam

Vi khuẩn lam trước đây thường được gọi là tảo lam (Cyanophyta). Thực ra đây là một nhóm vi sinh vật nhân nguyên thủy thuộc vi khuẩn thật. Vi khuẩn lam có khả năng tự dưỡng quang năng nhờ chứa sắc tố quang hợp là chất diệp lục.

Quá trình quang hợp của vi khuẩn lam là quá trình phosphoryl hóa quang hợp phi tuần hoàn, giải phóng oxy như ở cây xanh. Quá trình này khác hẳn với quá trình phosphoryl hóa quang hợp tuần hoàn không giải phóng oxy ở nhóm vi khuẩn kỵ khí mà tia không chứa lưu huỳnh trong tế bào thuộc bộ *Rhodospirillales*.

Vi khuẩn lam không thể gọi là tảo vì chúng khác biệt rất lớn về tảo: Vi khuẩn lam không có lục lạp, không có nhân thật, có ribosome 70s, thành tế bào có chứa peptidoglycan do đó rất mẫn cảm với penicillin và izozim.

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 vùng nước mặn gần cửa biển hoặc trong nước lợ. Một số vi khuẩn lam 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 bề mặt các tảng đá hoặc trong vùng sa mạc.

Một số vi khuẩn lam vì có giá trị dinh dưỡng cao, có chứa một số hợp chất có giá trị y học, lại có tốc độ phát triển nhanh, khó nhiễm tạp khuẩn và thích hợp được với các điều kiện môi trường khá đặc biệt (*Spirulina* thích hợp với pH rất cao) cho nên đã được sản xuất ở quy mô công nghiệp để thu nhận sinh khối.

Vi khuẩn lam có hình dạng và kích thước rất khác nhau, chúng có thể là đơn bào hoặc dạng sợi đa bào.

1.3.1.4. Nhóm vi khuẩn nguyên thủy

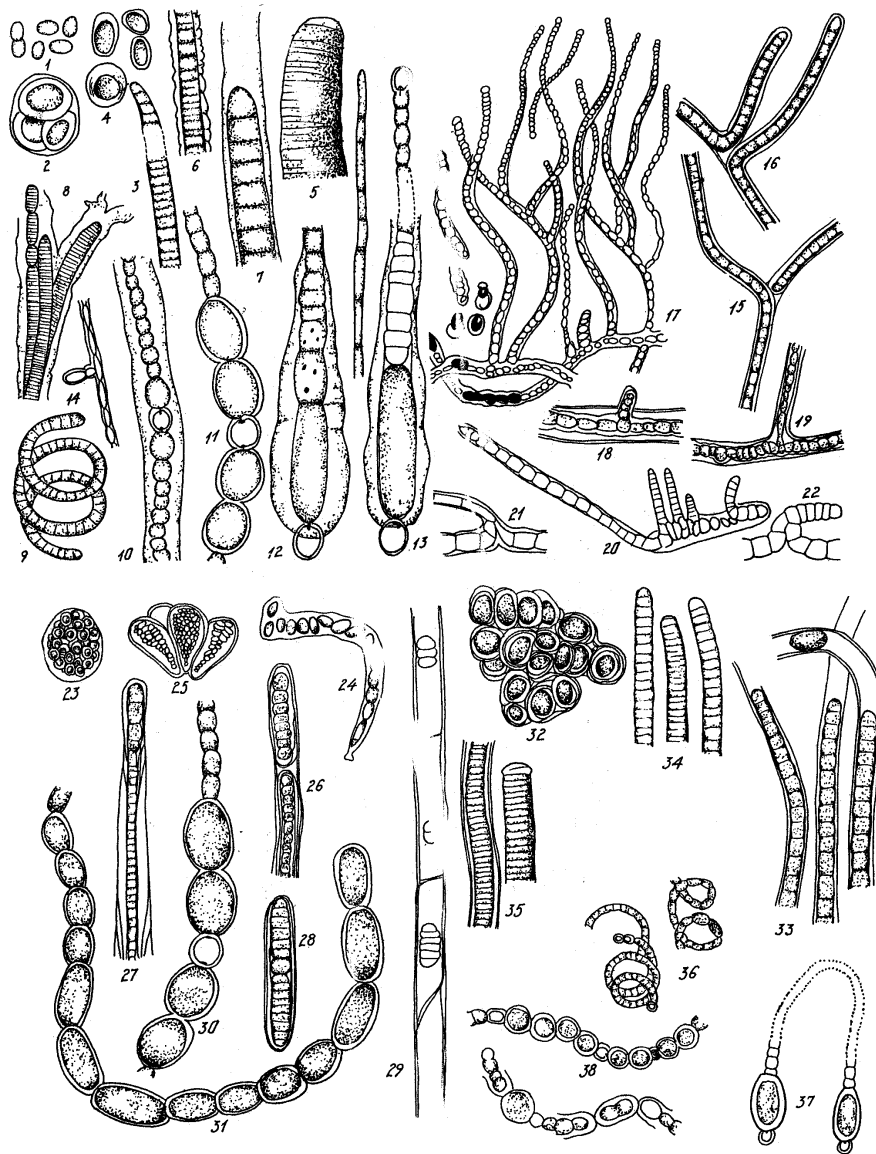
Nhóm vi khuẩn này có kích thước rất nhỏ bao gồm 3 loại: *Mycoplasma*, *Rickettsia* và *Chlamidia*.

Mycoplasma là vi sinh vật nguyên thủy chưa có thành tế bào, là loại sinh vật nhỏ nhất trong sinh giới có đời sống dinh dưỡng độc lập.

Nhiều loại *Mycoplasma* gây bệnh cho động vật và người.

Mycoplasma có kích thước ngang khoảng $150 \div 300$ nm, sinh sản theo phương thức chẵn đôi. Chúng có thể sinh trưởng độc lập trên các môi trường nuôi cấy nhân tạo giàu dinh dưỡng, có thể phát triển cả trong điều kiện hiếu khí lẫn kỵ khí, nghĩa là có cả kiểu trao đổi chất oxy hóa lẫn kiểu trao đổi chất lên men.

Rickettsia là loại vi sinh vật nhân nguyên thủy G⁻ chỉ có thể tồn tại trong các tế bào nhân thật. Chúng đã có thành tế bào và không thể sống độc lập trong các môi trường nhân tạo.



Hình 1.3. Hình thái chung của vi khuẩn lam:

1- Dạng đơn bào không có màng nhầy; 2- Dạng tập đoàn; 3- Dạng sợi; 4- Hình trụ hình cầu, hình elip (có màng nhầy); 5- Oscillatoria; 6- Phormidium ; 7- Lyngbya; 8- Schizothrix , Hydrocoleus ; 9- Spirulina, Arthrospira. 10- Dạng sợi có tế bào dị hình; 11- Dạng sợi có bào tử 12- Sợi dính và bào tử 13- Sợi ốc cách xa bào tử 14- Tế bào dị hình ở bên cạnh sợi; 15- Nhánh giả đơn đũa; 16- Nhánh giả tầng đôi mật; 17- Sợi phân nhánh thụt; 18- Phân nhánh ở sợi có bao (nhánh mầm nảy sinh); 19- Phân nhánh ở sợi có bao (nhánh đã phát triển); 20- Phân nhánh bên; 21- Phân nhánh đôi; 22- Phân nhánh dạng chữ V ngược; 23- Vi tiểu bào nang (nannocyst); 24- Sự hình thành ngoại bào tử 25- Sự hình thành nội bào tử 26, 27- Hormocyst; 28- Pseudohormogonia; 29- Tổ đoạn (hormogonia); 30- Bào tử nghỉ (akinet) ở hai phía của tế bào dị hình; 31- Bào tử nghỉ ở xa tế bào dị hình; 32- Gloeocapsa; 33- Lyngbya; 34- Oscillatoria; 35- Phormidium; 36- Anabaenopsis; 37- Cylandrospermum; 38- Anabaena.