

# CÁCH LÀM TIÊU BẢN VI SINH VẬT TRONG DẠY THỰC HÀNH SINH HỌC Ở TRƯỜNG THPT

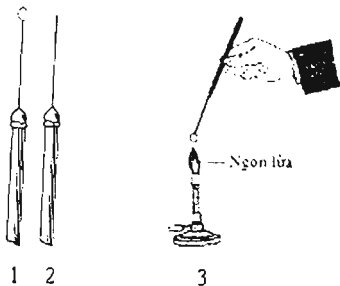
■ PGS, TS. Biên Văn Minh - Trường ĐHSP - Đại học Huế

Để quan sát được vi sinh vật (VSV) các giáo viên sinh học THPT phải biết cách làm tiêu bản. Tùy thuộc đối tượng dạy thực hành là vi khuẩn, xạ khuẩn, nấm mốc (nấm sợi) hay nấm men... mà có cách làm các dạng tiêu bản khác nhau. Có hai dạng tiêu bản phổ biến là tiêu bản tạm thời và tiêu bản cố định nhuộm màu.

Trong bài viết này chúng tôi muốn giới thiệu về cách làm tiêu bản VSV trong dạy thực hành sinh học ở trường THPT.

## 1. Chuẩn bị

a. Dụng cụ, thiết bị: Kính hiển vi, giá ống nghiệm, ống nghiệm; que cấy đầu tròn, que cấy đầu thẳng, đèn cồn, diêm,



Hình 1: 1. Que cấy vòng; 2. que cấy thẳng; 3. Khử trùng que cấy; 4. Ống giống; 5. Chậu rửa (a) và cầu rửa (b)

phiến kính (slide), lá kính (lamen - coverslip), chậu rửa, bình xịt nước cất, pipete loại 1ml và 5ml.

b. Nguyên liệu và mẫu vật:

- Ống giống chứa VSV: *E. coli*, *Bacillus subtilis*, *Streptococcus lactis*, *Aspergillus niger*, *Penicillium notatum*... (nếu không có ống giống có thể sử dụng các phẩm vật chứa VSV như nước dưa chua, sữa chua, men gây nở bột mì, hoa quả bị mốc, cơm bị mốc...)

- Môi trường nước chiết thịt - pepton để nuôi vi khuẩn, môi trường Sabouraud để nuôi vi nấm, môi trường Gause để nuôi xạ khuẩn... Các môi trường được khử trùng 0,8-1 atm/30 phút.

- Cồn đốt, giấy lọc, thuốc nhuộm xanh methylene 0,001%, fuchsin 0,001%, v.v...

## 2. Các dạng tiêu bản và cách lấy giống VSV để làm tiêu bản

a. Các dạng tiêu bản:

*Thứ nhất*, tiêu bản tạm thời: cách làm đơn giản và chỉ sử dụng một lần rồi bỏ đi, chỉ quan sát được các trạng thái sống của tế bào như sự chuyển động của tiên mao, sự sinh sản, sự hình thành bào tử.

*Thứ hai*, tiêu bản cố định: cách làm phức tạp, phải qua nhiều bước, giết chết VSV; tiêu bản thường có màu sắc đẹp, giữ được lâu, cho phép quan sát rõ ràng hình dạng, cấu tạo và đếm số lượng của tế bào. Không sợ lây nhiễm khi làm việc với VSV gây bệnh.

b. Cách lấy giống VSV để làm tiêu bản:

Các thao tác lấy giống VSV để làm vết bôi trên tiêu bản, theo trình tự sau:

*Thứ nhất*, đốt đèn cồn

*Thứ hai*, đặt ống giống có VSV vào giữa ngón cái và ngón trỏ của bàn tay trái, lòng bàn tay ngửa ra. Ống giống đặt hơi nghiêng nhưng không để canh trường VSV chạm vào nút bông.

*Thứ ba*, tay phải cầm que cấy và làm vô khuẩn nó trên ngọn đèn cồn. Để que cấy thẳng đứng trên ngọn lửa cho đến khi đầu vòng que cấy nóng đỏ rồi từ từ đặt và di chuyển que cấy theo chiều nằm ngang trên ngọn lửa.

*Thứ tư*, kẹp nút bông vào giữa ngón út và lòng bàn tay phải, xoay nhẹ nút một vòng và kéo nút ra. Giữ nút nguyên như vậy cho đến khi lấy xong mẫu mới đẩy nút vào.

*Thứ năm*, đốt và xoay miệng ống giống trên ngọn đèn cồn, nhẹ nhàng đưa que cấy (đã nguội) vào ống giống để lấy giống.

+ Nếu ống giống là môi trường đặc thì dùng que cấy đầu nhọn chấm nhẹ lên bề mặt thạch có các khuẩn lạc.

+ Nếu ống giống là môi trường lỏng chỉ cần nhúng đầu que cấy vòng vào canh trường.

*Thứ sáu*, rút que cấy ra, hơ nóng miệng ống nghiệm trên ngọn lửa đèn cồn, đẩy ống nghiệm lại và để ống giống vào giá. Đưa giọt canh trường ở vòng que cấy hay đầu que cấy nhọn có VSV dàn đều trên phiến kính để làm vết bôi.

**3. Cách làm tiêu bản**

*3.1. Làm tiêu bản tạm thời*

a. Phương pháp làm tiêu bản “giọt ép”

Dùng để xác định hình dạng, sự sắp xếp các tế bào cũng như khả năng di động của chúng.

*Cách làm:*

- Chọn một phiến kính và 1 lá kính sạch đặt lên giá đỡ, nhỏ 1 giọt nước sạch vô trùng lên phiến kính.

- Dùng que cấy vòng lấy một vòng dịch vi khuẩn đã pha loãng đặt vào giữa phiến kính.

- Nhẹ nhàng đẩy lá kính lên giọt dịch, tránh tạo thành các bọt khí.

- Thấm nhẹ lớp dịch trào ra xung quanh bằng giấy thấm.

Nếu quan sát trong thời gian dài, để tiêu bản không bị bốc hơi nước, các mép của lá kính cần phải được gắn kín bằng vazolin hoặc dịch sơn móng tay loại trong.

- Dùng khăn giấy lau nhẹ bề mặt lá kính cho khô.

- Đặt tiêu bản lên bàn kính. Quan sát ở vật kính 40x.

**b. Làm tiêu bản “ép lam”**

Dùng để nghiên cứu sự sắp xếp của tế bào một cách tự nhiên trong khuẩn lạc, như hình dạng chuỗi bào tử và cách sắp xếp cuống bào tử ở xạ khuẩn hay nấm mốc.

*Cách làm:*

Cấy bào tử mốc hay xạ khuẩn trên mặt môi trường đặc, cấy dày theo kiểu zích zắc, dùng dao con vô trùng cắt một ô thạch hay xẻ một rãnh. Lấy chỗ thạch này ra và đặt phiến kính vô trùng vào chỗ vừa cắt, đẩy hộp Petri và để vào tủ ẩm 28-30°C trong 3-5 ngày. Bào tử nấm mốc hay xạ khuẩn mọc từ mép thạch lan lên phiến kính.

Có thể cải tiến phương pháp “ép lam” thành phương pháp cài lá kính như sau: sau khi cấy VSV lên môi trường đặc, cài lá kính vô trùng vào mặt thạch chéo góc 45°, đẩy hộp Petri và để vào tủ ẩm 28-30°C, sau 3-5 ngày lấy lá kính ra đặt lên phiến kính và đem quan sát.

c. Làm tiêu bản nấm mốc sống với thuốc nhuộm loãng

Muốn quan sát rõ hình dạng hệ sợi nấm mốc (hay nấm sợi)

ta dùng thuốc nhuộm loãng như: xanh methylene hay fuchsin (1:1000) v.v...

*Cách làm:* nhỏ một giọt thuốc nhuộm lên phiến kính. Dùng que cấy đặt vào đó một ít hệ sợi nấm mốc, trộn đều, đẩy lá kính và đem quan sát với vật kính 40x.

Khi làm tiêu bản sống nấm mốc nên dùng lactophenol để thấm ướt sợi nấm, dung dịch này được chế theo tỉ lệ: phenic acid 10g, lactic acid 10g, glycerol 20g, nước cất 100ml. Cần trộn đều 3 thứ trước khi cho phenic acid vào. Dung dịch lactophenol lúc đầu không màu, về sau do tác dụng của ánh sáng nên biến màu, vì vậy nên bảo quản dung dịch này trong lọ màu có nút mài.

*3.2. Làm tiêu bản vi khuẩn cố định nhuộm màu theo các bước:*

*Thứ nhất*, làm vết bôi: chọn một phiến kính sạch và khô, dùng bút viết kính ghi kí hiệu tiêu bản vào một góc rồi đặt lên giá. Dùng que cấy đặt lên giữa phiến kính một vòng que cấy dịch huyền phù vi khuẩn, dàn mỏng 2-4cm<sup>2</sup>.

*Thứ hai*, làm khô vết bôi và cố định vết bôi: để vết bôi khô nhanh, hơ mặt phiến kính không có vết bôi phía trên cao ngọn lửa đèn cồn (mặt bôi hướng lên trên). Khi vết bôi đã khô, chao nhanh phiến kính qua ngọn lửa 2-3 lần để gắn chặt vi khuẩn vào phiến kính. Nhỏ lên vết bôi 1-2 giọt cồn 96°. Đốt cháy và dập tắt ngay khoảng 10 giây.

Cố định vết bôi nhằm 3 mục đích: giết chết vi khuẩn, gắn chặt vi khuẩn vào phiến kính và làm vết bôi bất màu tốt hơn vì các tế bào chết bất màu tốt hơn các tế bào sống.

Sau khi cố định, nếu mật độ tế bào vừa phải vết bôi có màu trắng nhạt. Nếu vết bôi trắng quá có nghĩa là mật độ tế bào dày đặc, cần phải làm lại.

*Thứ ba, nhuộm màu.*

Cách làm:

- Đặt phiến kính có vết bôi lên cầu rửa gác trên chậu thủ tinh.

- Nhỏ vài giọt thuốc nhuộm fuchsin hoặc xanh methylene ngập vết bôi, giữ khoảng 1 phút, rửa nước đến khi không còn màu trôi ra.

- Thấm nhẹ bằng khăn giấy rồi hong khô trên ngọn

lửa đèn cồn. Nếu nhuộm và rửa tốt thị trường sạch và sáng, chỉ có tế bào vi khuẩn được nhuộm màu.

- Soi ở vật kính dầu 100x.

#### 4. Kết luận

- Muốn quan sát VSV trên kính hiển vi có thể làm tiêu bản tạm thời tế bào còn sống hoặc tiêu bản đã được cố định (tế bào chết).

- Các tiêu bản tạm thời như tiêu bản “giọt ép” được sử dụng để xác định hình dạng, sự sắp xếp các tế bào cũng như khả năng di động, tiêu bản “ép lam” chỉ dùng để nghiên cứu sự sắp xếp của tế bào một cách tự nhiên trong khuẩn lạc, như hình dạng chuỗi bào tử và cách sắp xếp cuống bào tử ở xạ khuẩn hay nấm mốc.

- Các tiêu bản cố định rất thuận tiện vì giữ được lâu, được sử dụng để phát hiện các đặc điểm hình thái, cấu trúc và đếm số lượng VSV.

- Khi sử dụng ngọn lửa đèn cồn (hay đèn ga) phải điều chỉnh sao cho không có khói. Chỗ nóng nhất của ngọn lửa đèn cồn là phần ngọn lửa xanh.

- Ngoài phương pháp cố định tiêu bản như trên còn có thể cố định tiêu bản bằng hóa chất: ngâm tiêu bản trong acetone 5 phút, trong dung dịch 40% formaline vài giây v.v...

#### Tài liệu tham khảo

[1] Vũ Thị Minh Đức (2001), *Thực tập vi sinh vật học*, NXB Đại học Quốc gia Hà Nội.

[2] Lansing M. Prescott, John P. Harley, Donal A. Klein (2005), *Microbiology*, Mc Graw Hill.

## Quy trình thiết kế Website... (Tiếp theo trang 21)

kiến thức mới nên việc cập nhật là không thể thiếu trong quy trình xây dựng Website.

\*\*\*

Việc nghiên cứu, tìm hiểu kỹ thuật xây dựng Website hỗ trợ DH, người thiết kế cần hướng tới những mục tiêu cần đạt được trong Website về mặt sư phạm, về kỹ thuật, mỹ thuật và nội dung kiến thức. Lựa chọn phần mềm xây dựng Website hiện đại đáp ứng được yêu cầu mục tiêu thiết kế đặt ra, đáp ứng được yêu cầu của người sử dụng.

Khả năng ứng dụng Website DH trong trường phổ thông có

tính khả thi cao, nó có khả năng góp phần hỗ trợ tích cực cho quá trình dạy học. Với trình độ tin học THPT hiện nay việc tiếp cận thường xuyên với máy vi tính sẽ giúp HS tiếp cận nhanh với Website. Sử dụng Website DH sẽ tạo ra môi trường học tập mới, góp phần nâng cao chất lượng học tập của HS trên nhiều mặt: kích thích động cơ hứng thú học tập, tạo sự chú ý, tăng cường ghi nhớ, mở rộng, đào sâu kiến thức, phát triển tư duy, bồi dưỡng các phương pháp nhận thức, tăng cường khả năng tự học, tự tìm tòi...

#### Tài liệu tham khảo

1. Ban chấp hành TW Đảng, *Báo cáo của Ban chấp hành Trung ương Đảng khóa IX về phương hướng, nhiệm vụ phát triển kinh tế - xã hội 5 năm 2006-2010*. Hà Nội.

2. Bộ chính trị (2006), *Văn kiện Đại hội đại biểu toàn quốc lần thứ X*, NXB Chính trị Quốc gia, Hà Nội.

3. Bộ Giáo dục và Đào tạo (2007), *Chỉ thị số 9854/BGDĐT-CNTT về việc hướng dẫn thực hiện nhiệm vụ năm học 2007 - 2008 về CNTT*, Hà Nội.

4. Quốc hội nước Cộng hòa XHCN Việt Nam (2005), *Luật Giáo dục*, NXB Chính trị, Hà Nội.

5. Lê Công Triêm (2005), *Sử dụng MVT trong DH vật lý*, NXB Giáo dục, Hà Nội.