

LÊ XUÂN PHƯƠNG

GIÁO TRÌNH
VI SINH VẬT HỌC MÔI TRƯỜNG



NXB ĐẠI HỌC QUỐC GIA HÀ NỘI -2008

PHẦN I

ĐẠI CƯƠNG VỀ VI SINH VẬT HỌC MÔI TRƯỜNG

CHƯƠNG I

HÌNH THÁI, CẤU TẠO VÀ CÁC ĐẶC TÍNH CƠ BẢN CỦA VI SINH VẬT

1.1. ĐẶC ĐIỂM CHUNG CỦA VI SINH VẬT

Vi sinh vật là một thế giới sinh vật vô cùng nhỏ bé mà ta không thể quan sát thấy bằng mắt thường. Nó phân bố ở khắp mọi nơi, trong đất, trong nước, trong không khí, trong thực phẩm ... Nó có mặt ở dưới những độ sâu tối của đại dương. Bào tử của nó tung bay trên những tầng cao của bầu khí quyển, chu du theo những đám mây. Nó sống được trên kính, trên da, trên giấy, trên những thiết bị bằng kim loại ...

Vi sinh vật đóng vai trò vô cùng quan trọng trong thiên nhiên cũng như trong cuộc sống của con người. Nó biến đá mẹ thành đất trồng, nó làm giàu chất hữu cơ trong đất, nó tham gia vào tất cả các vòng tuần hoàn vật chất trong tự nhiên. Nó là các khâu quan trọng trong chuỗi thức ăn của các hệ sinh thái. Nó đóng vai trò quyết định trong quá trình tự làm sạch các môi trường tự nhiên.

Từ xa xưa, con người đã biết sử dụng vi sinh vật trong đời sống hàng ngày. Các quá trình làm rượu, làm dấm, làm tương, muối chua thực phẩm ... đều ứng dụng đặc tính sinh học của các nhóm vi sinh vật. Khi khoa học phát triển, biết rõ vai trò của vi sinh vật, thì việc ứng dụng nó trong sản xuất và đời sống ngày càng rộng rãi và có hiệu quả lớn. Ví dụ như việc chế vaccine phòng bệnh, sản xuất chất kháng sinh và các dược phẩm quan trọng khác ... Đặc biệt trong bảo vệ môi trường, người ta đã sử dụng vi sinh vật làm sạch môi trường, xử lý các chất thải độc hại. Sử dụng vi sinh vật trong việc chế tạo phân bón sinh học, thuốc bảo vệ thực vật không gây độc hại cho môi trường, bảo vệ môi cân bằng sinh thái.

Trong thiên nhiên ngoài những nhóm vi sinh vật có ích như trên, còn có những nhóm vi sinh vật gây hại. Ví dụ như các nhóm vi sinh vật gây bệnh cho người, động vật và thực vật, các nhóm vi sinh vật gây ô nhiễm thực phẩm, ô nhiễm các nguồn nước, đất và không khí ... Nếu nắm vững cơ sở sinh học của tất cả các quá trình có lợi hay có hại trên, ta sẽ đưa ra được những biện pháp khoa học để phát

huy những mặt có lợi và hạn chế những mặt gây hại của vi sinh vật, đặc biệt là trong bảo vệ môi trường.

Vi sinh vật (microorganisms) là tên gọi chung để chỉ tất cả các sinh vật có hình thể bé nhỏ, muốn thấy rõ được người ta phải sử dụng tới kính hiển vi.

Virut (Virus) là nhóm vi sinh vật đặc biệt, chúng nhỏ bé tới mức chỉ có thể quan sát được qua kính hiển vi điện tử (electron microscope). Virut chưa có cả cấu trúc tế bào. Các vi sinh vật khác thường là đơn bào hoặc đa bào nhưng có cấu trúc đơn giản và chưa phân hoá thành các cơ quan sinh dưỡng (vegetative organs).

Vi sinh vật không phải là một nhóm riêng biệt trong sinh giới. Chúng thậm chí thuộc về nhiều giới (kingdom) sinh vật khác nhau. Giữa các nhóm có thể không có quan hệ mật thiết với nhau. Chúng có chung những đặc điểm sau đây:

1. Kích thước nhỏ bé

Mắt con người khó thấy được rõ những vật nhỏ hơn 1mm. Vậy mà vi sinh vật thường được đo bằng micromet (μm , micrometre), virut thường được đo bằng nanomet (nm, nanometre).

$1 \mu\text{m} = 10^{-3} \text{ mm}$; $1 \text{ nm} = 10^{-6} \text{ mm}$, $1 \text{ \AA} (\text{angstrom}) = 10^{-7} \text{ mm}$. Vì vi sinh vật có kích thước nhỏ bé cho nên diện tích bề mặt của một tập đoàn vi sinh vật hết sức lớn. Chẳng hạn số lượng cầu khuẩn chiếm thể tích 1 cm^3 có diện tích bề mặt là 6m^2 .

2. Hấp thu nhiều, chuyển hoá nhanh

Vi sinh vật tuy nhỏ bé chất trong sinh giới nhưng năng lực hấp thu và chuyển hoá của chúng có thể vượt xa các sinh vật bậc cao. Chẳng hạn vi khuẩn lactic (*Lactobacillus*) trong 1 giờ có thể phân giải một lượng đường lactozơ nặng hơn 1000 - 10000 lần khối lượng của chúng. Nếu tính số $\mu\text{l O}_2$ mà mỗi mg chất khô của cơ thể sinh vật tiêu hao trong 1 giờ (biểu thị là - Q_{O_2}) thì ở mô lá hoặc mô rễ thực vật là 0,5 - 4, ở tổ chức gan và thận động vật là 10 - 20, còn ở nấm men rượu (*Sacharomyces cerevisiae*) là 110, ở vi khuẩn thuộc chi *Pseudomonas* là 1200, ở vi khuẩn thuộc chi *Azotobacter* là 2000. Năng lực chuyển hoá sinh hoá mạnh mẽ của vi sinh vật dẫn đến những tác dụng hết sức lớn lao của chúng trong thiên nhiên cũng như trong hoạt động sống của con người.

3. Sinh trưởng nhanh, phát triển mạnh

So với các sinh vật khác thì vi sinh vật có tốc độ sinh trưởng và sinh sôi nảy nở cực kỳ lớn. Vi khuẩn *Escherichia coli* trong các điều kiện thích hợp cứ khoảng 12 - 20 phút lại phân cắt một lần. Nếu lấy thời gian thế hệ (generation time) là 20 phút thì mỗi giờ phân cắt 3 lần, 24 giờ phân cắt 72 lần, từ một tế bào ban đầu sẽ sinh ra 4.722.366.500.000.000.000.000 tế bào (nặng 4711 tấn!). Tất nhiên trong thực tế không thể tạo ra các điều kiện sinh trưởng lý tưởng như vậy được cho nên số lượng vi khuẩn thu được trong 1ml dịch nuôi cấy thường chỉ đạt tới mức độ 10^8 - 10^9 tế bào. Thời gian thế hệ của nấm men *Saccharomyces cerevisiae* là 120 phút. Khi nuôi cấy để thu nhận sinh khối (biomass) giàu protein phục vụ chăn nuôi người ta nhận thấy tốc độ sinh tổng hợp (biosynthesis) của nấm men này cao hơn của bò tới 100.000 lần. Thời gian thế hệ của tảo *Chlorella* là 7 giờ, của vi khuẩn lam *Nostoc* là 23 giờ.

4. Năng lực thích ứng mạnh và dễ phát sinh biến dị

Năng lực thích ứng của vi sinh vật vượt rất xa so với động vật và thực vật. Trong quá trình tiến hoá lâu dài vi sinh vật đã tạo cho mình những cơ chế điều hoà trao đổi chất để thích ứng được với những điều kiện sống rất bất lợi. Người ta nhận thấy số lượng enzym thích ứng chiếm tới 10% lượng chứa protein trong tế bào vi sinh vật. Sự thích ứng của vi sinh vật nhiều khi vượt quá trí tưởng tượng của con người. Phần lớn vi sinh vật có thể giữ nguyên sức sống ở nhiệt độ của nitơ lỏng (-196°C), thậm chí ở nhiệt độ của hydro lỏng (-253°C). Một số vi sinh vật có thể sinh trưởng ở nhiệt độ 250°C , thậm chí 300°C . Một số vi sinh vật có thể thích nghi với nồng độ 32% NaCl (muối ăn). Vi khuẩn *Thiobacillus thiooxidans* có thể sinh trưởng ở pH = 0,5 trong khi vi khuẩn *Thiobacillus denitrificans* có thể sinh trưởng ở pH = 10,7. Vi khuẩn *Micrococcus radiodurans* có thể chịu được cường độ bức xạ tới 750.000 rad. Ở nơi sâu nhất trong đại dương (11034 m) nơi có áp lực tới 1103,4 atm vẫn thấy có vi sinh vật sinh sống. Nhiều vi sinh vật thích nghi với điều kiện sống hoàn toàn thiếu oxi (vi sinh vật kỵ khí bắt buộc - obligate anaerobes). Một số nấm sợi có thể phát triển thành váng dày ngay trong bể ngâm xác có nồng độ phenol rất cao.

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. Tần số biến dị ở vi sinh vật thường là 10^{-5} - 10^{-10} . Hình thức biến dị thường gặp là đột biến gen (genemutation) và dẫn đến những thay đổi về hình thái, cấu tạo, kiểu trao đổi chất,

sản phẩm trao đổi chất, tính kháng nguyên, tính đề kháng ... Chẳng hạn khi mới tìm thấy khả năng sinh chất kháng sinh của nấm sợi *Penicillium chrysogenum* người ta chỉ đạt tới sản lượng 20 đơn vị penixilin trong 1ml dịch lên men. Ngày nay trong các nhà máy sản xuất penixilin người ta đã đạt tới năng suất 100.000 đơn vị/ml. Bên cạnh các biến dị có lợi, vi sinh vật cũng thường sinh ra những biến dị có hại đối với nhân loại, chẳng hạn biến dị về tính kháng thuốc. Năm 1946 tỷ lệ các chủng *Staphylococcus aureus* kháng thuốc phân lập được ở bệnh viện là khoảng 14%, năm 1996 đã tăng lên đến trên 97%.

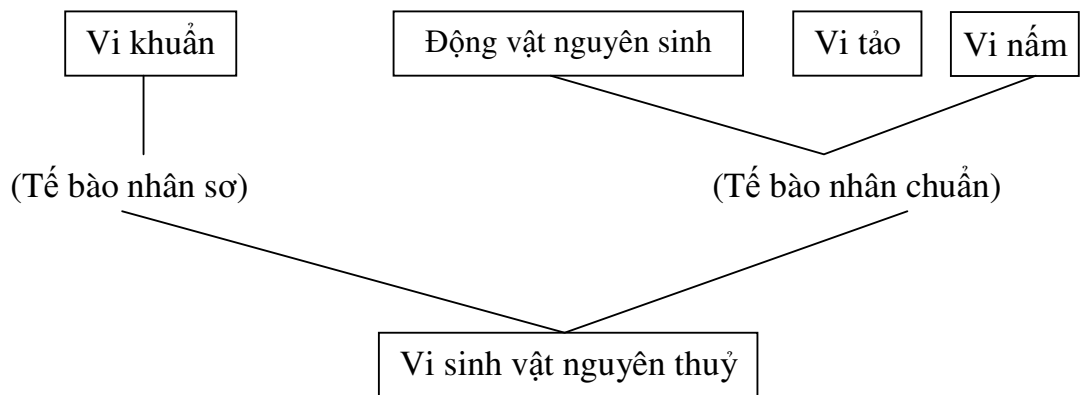
Người ta chỉ tiêm cho bệnh nhân mỗi ngày khoảng 100.000 đơn vị penixilin, ngày nay có lúc phải tiêm đến 10.000.000 - 200.000.000 đơn vị.

5. Phân bố rộng, chủng loại nhiều

Vi sinh vật phân bố ở khắp mọi nơi trên trái đất. Chúng có mặt trên cơ thể người, động vật, thực vật, trong đất, trong nước, trong không khí, trên mọi đồ dùng, vật liệu, từ biển khơi đến núi cao, từ nước ngọt, nước ngầm cho đến nước biển ...

Trong đường ruột của người thường có không dưới 100 - 400 loài sinh vật khác nhau, chúng chiếm tới 1/3 khối lượng khô của phân. Chiếm số lượng cao nhất trong đường ruột của người là vi khuẩn *Bacteroides fragilis*, chúng đạt tới số lượng 10^{10} - 10^{11} /g phân (gấp 100 - 1000 lần số lượng vi khuẩn *Escherichia coli*).

Ở độ sâu 10.000 m của Đông Thái Bình Dương, nơi hoàn toàn tối tăm, lạnh lẽo và có áp suất rất cao người ta vẫn phát hiện thấy có khoảng 1 triệu - 10 tỉ vi khuẩn/ml (chủ yếu là vi khuẩn lưu huỳnh).



Hình 1.1. Sơ đồ phát sinh các nhóm vi sinh vật

6. Vi sinh vật có vai trò to lớn đối với hệ sinh thái cũng như đối với đời sống con người

- Vi khuẩn và vi nấm là sinh vật phân giải các chất hữu cơ thành các chất vô cơ trong chu trình chuyển hoá vật chất của hệ sinh thái.

- Một số vi khuẩn, vi nấm cũng như một số động vật nguyên sinh là những tác nhân gây nhiều bệnh cho cây trồng, vật nuôi cũng như con người.

- Một số vi khuẩn và vi nấm phá huỷ lương thực thực phẩm, vật liệu xây dựng, kiến trúc, công nghiệp, mỹ thuật.

- Vi sinh vật mang lại lợi ích cho con người trong nhiều lĩnh vực công nghệ chế biến thực phẩm, dược phẩm, công nghệ sinh học và môi trường.

1.2. CÁC NHÓM VI SINH VẬT CHÍNH

Vi sinh vật vô cùng phong phú cả về thành phần và số lượng. Chúng bao gồm các nhóm khác nhau có đặc tính khác nhau về hình dạng, kích thước, cấu tạo và đặc biệt khác nhau về đặc tính sinh lý, sinh hoá.

Dựa vào đặc điểm cấu tạo tế bào, người ta chia ra làm 3 nhóm lớn:

- Nhóm chưa có cấu tạo tế bào bao gồm các loại virus.

- Nhóm có cấu tạo tế bào nhưng chưa có cấu trúc nhân rõ ràng (cấu trúc nhân nguyên thủy) gọi là nhóm Procaryotes, bao gồm vi khuẩn, xạ khuẩn và tảo lam.

- Nhóm có cấu tạo tế bào, có cấu trúc nhân phức tạp gọi là Eukaryotes bao gồm nấm men, nấm sợi (gọi chung là vi nấm) một số động vật nguyên sinh và tảo đơn bào.

1.2.1. Virus

1.2.1.1. Đặc điểm chung

Virus là nhóm vi sinh vật chưa có cấu tạo tế bào, có kích thước vô cùng nhỏ bé, có thể chui qua màng lọc vi khuẩn. Nhờ có sự phát triển nhanh chóng của kỹ thuật hiển vi điện tử, siêu ly tâm, nuôi cấy tế bào ... những thành tựu nghiên cứu về virus đã được đẩy mạnh, phát triển thành một ngành khoa học gọi là virus học.

Virus không có khả năng sống độc lập mà phải sống ký sinh trong các tế bào khác từ vi khuẩn cho đến tế bào động vật, thực vật và người, gây các loại bệnh hiểm nghèo cho các đối tượng mà chúng ký sinh. Ví dụ như bệnh AIDS.

Virus là nhóm vi sinh vật được phát hiện ra sau cùng trong các nhóm vi sinh vật chính vì kích thước nhỏ bé và cách sống ký sinh của chúng. Người phát hiện ra virus lần đầu tiên là nhà bác học người Nga - Ivanôpski. Ông là một chuyên gia nghiên cứu về bệnh khảm cây thuốc lá. Khi nghiên cứu về bệnh này ông đã phát

hiện ra rằng: Dịch lọc của lá cây bị bệnh khi cho qua màng lọc vi khuẩn vẫn có khả năng gây bệnh. Từ đó ông rút ra kết luận: Nguyên nhân gây bệnh đốm thuốc lá phải là một loại sinh vật nhỏ hơn vi khuẩn. Phát hiện này được công bố năm 1892, 6 năm sau, năm 1898, nhà khoa học người Hà Lan Beijerinck cũng nghiên cứu về bệnh khảm thuốc lá và có những kết quả tương tự, ông đặt tên mầm gây bệnh khảm thuốc lá là virus. Tiếp đó người ta phát hiện ra một số virus khác gây bệnh cho động vật và người. Đến năm 1915 đã phát hiện ra virus ký sinh trên vi khuẩn, gọi là thực khuẩn thể (Bacteriophage).

1.2.1.2. Hình thái và cấu trúc của virus

1.2.1.2.1. Hình thái và kích thước

Virus có kích thước rất nhỏ bé, có thể lọt qua màng lọc vi khuẩn, chỉ có thể quan sát chúng qua kính hiển vi điện tử. Kích thước từ 20 x 30 đến 150 x 300 nanomet ($1 \text{ nm} = 10^{-6} \text{ mm}$)

Nhờ kỹ thuật hiển vi điện tử, người ta phát hiện ra 3 loại hình thái chung nhất của virus. Đó là hình cầu, hình que và hình tinh trùng.

Hình que điển hình là virus đốm thuốc lá (virus VTL), chúng có hình que dài với cấu trúc đối xứng xoắn. Các đơn vị cấu trúc xếp theo hình xoắn quanh 1 trục, mỗi đơn vị gọi là capsome.

Loại hình cầu điển hình là một số virus động vật. Các đơn vị cấu trúc xếp theo kiểu đối xứng 4 mặt, 8 mặt hoặc 20 mặt.

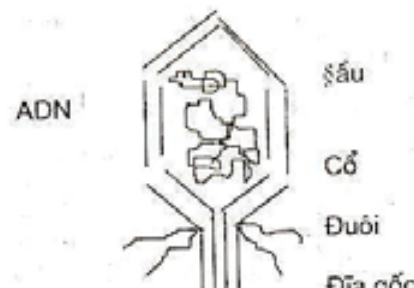
Loại có hình dạng tinh trùng phổ biến hơn cả là các virus ký sinh trên vi khuẩn gọi là thực khuẩn thể hoặc Phage. Loại hình dạng này phần đầu có cấu trúc đối xứng khối phân đuôi là có cấu trúc đối xứng xoắn.

1.2.1.2.2. Cấu trúc điển hình của virus

Kiểu cấu trúc phức tạp nhất của virus là cấu trúc của thực khuẩn thể (Phage). Sau đây ta nghiên cứu cấu trúc của thực khuẩn thể T₄ ký sinh trên vi khuẩn E. Coli.

Thực khuẩn thể T₄ có 3 phần: đầu, cổ và đuôi. Đầu có dạng lăng kính 6 cạnh, đường kính 65 nm dài 95 nm, cấu tạo bởi protein tạo thành vỏ capsit, vỏ capsit được cấu tạo bởi 212 đơn vị capsome. Bên trong phần đầu có chứa một phân tử AND 2 sợi có phân tử lượng $1,2 \cdot 10^8$.

Cổ là một đĩa 6 cạnh đường kính 37,5 nm có 6 sợi tua gọi là tua cổ. Đuôi



là một ống rỗng được bao bọc bởi bao đuôi, bao đuôi có cấu tạo protein tạo thành vỏ Capxit, kích thước 8 x 95 nm. Phần rỗng trong đuôi gọi là trụ có đường kính 2,5 - 3,5 nm.

Hình 1.2. Cấu trúc đơn của thực khuẩn thể (Phage)

Phần cuối cùng của đuôi là một đĩa gốc hình 6 cạnh giống như đĩa cổ từ đó mọc ra 6 sợi gai gọi là chân bám.

Hình trên là cấu trúc điển hình của thực khuẩn thể T4.

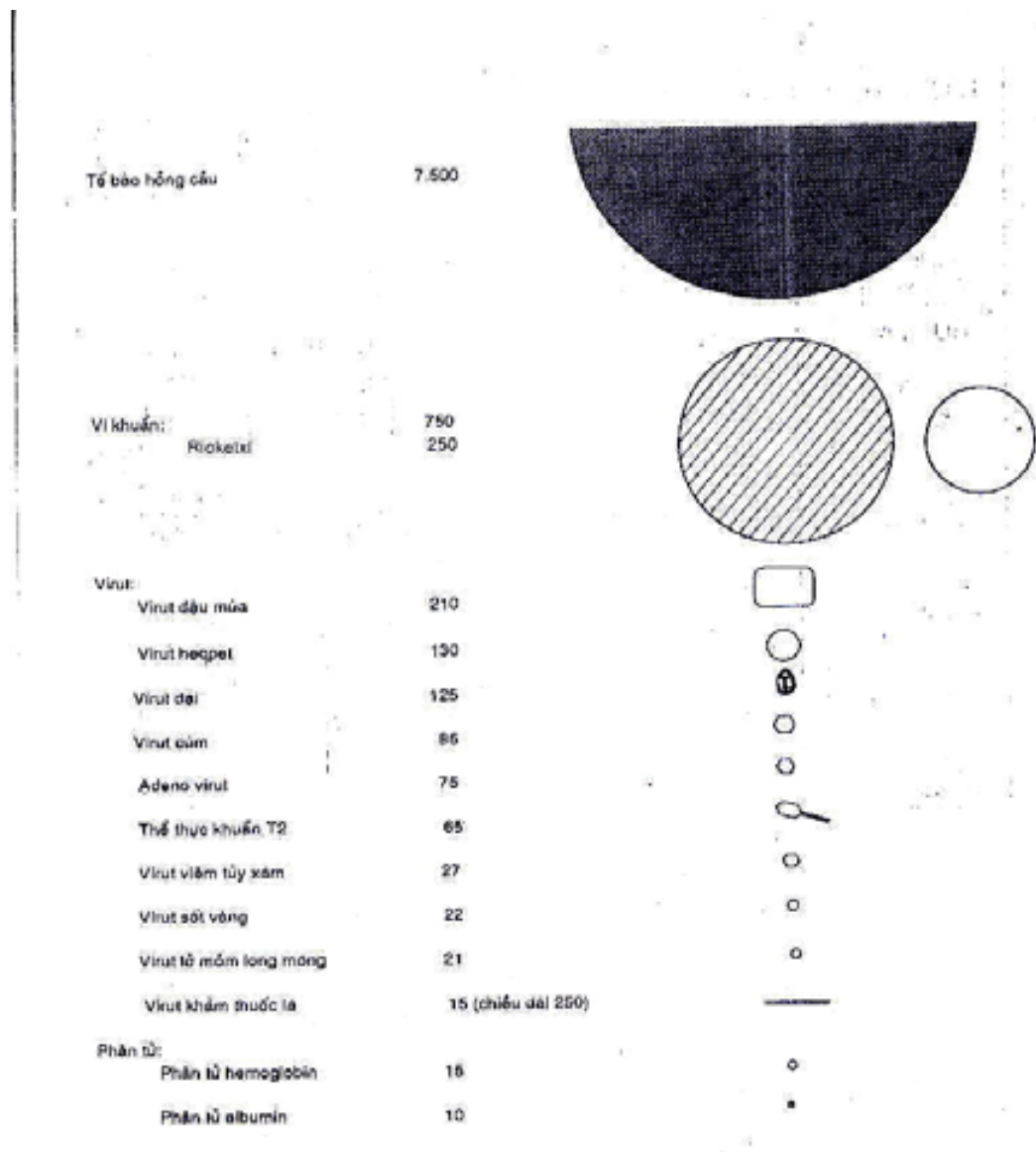
Dựa trên cấu trúc cơ bản đó, thiên nhiên đã tạo ra hàng trăm hàng nghìn loại virus khác nhau. Ví dụ như phần lõi không phải là tất cả các virus đều chứa AND, có rất nhiều loại chứa ARN, chủ yếu là các virus thực vật. Chính từ loại này người ta đã phát hiện ra quá trình sao chép ngược thông tin di truyền : ARN - AND. Sau đây là đặc điểm kích thước và cấu trúc của một số virus điển hình:

Bảng 1.1

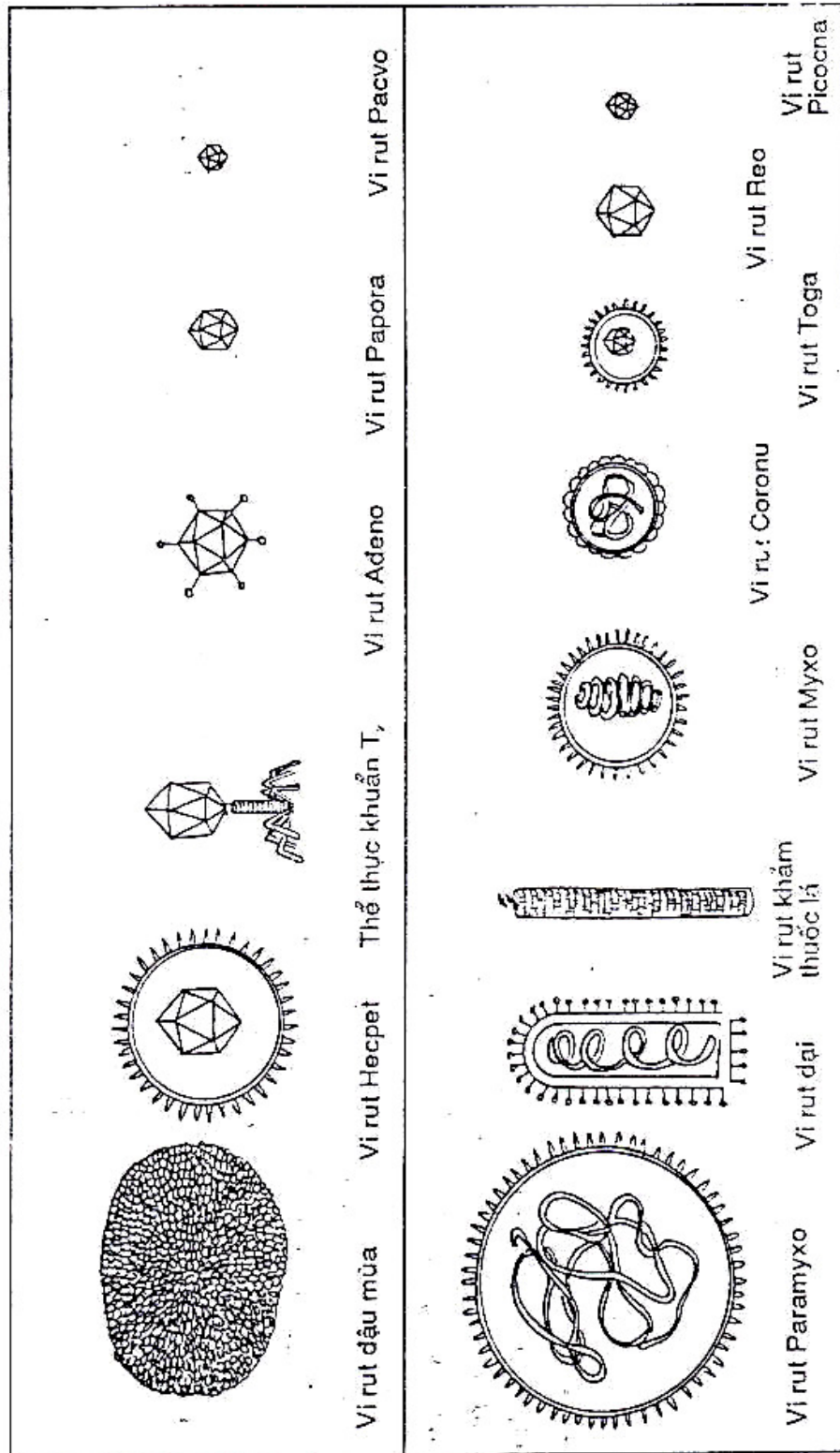
Virus	Axit nucleic	Kiểu đối xứng	Kích thước (nm)
VR đậu mùa	AND	Khối	230 x 300
VR cúm	ARN	Xoắn	80 x 200
VR đốm thuốc lá	ARN	Xoắn	200 x 300
VR khoai tây	ARN	Xoắn	480 x 500
TKT T ₄	AND	Khối và xoắn	Đầu : 65 x 95 Đuôi : 8 x 95

Trong thành phần Protein của virus có 2 loại - Protein cấu trúc và Protein men. Protein cấu trúc cấu tạo nên vỏ capxit từ các đơn vị hình thái capxome và vỏ trong ở một số loại virus có vỏ trong. Protein men bao gồm men ATP - aza và men Lizozym.

ATP - aza có chức năng phân huỷ ATP giải phóng năng lượng cho virus co rút lúc xâm nhập vào tế bào chủ. Lizozym có chức năng phân huỷ màng tế bào vật chủ



Hình 1.3 So sánh kích thước của virus với phân tử sống và vi khuẩn hồng cầu



Hình 1.4 : Cấu trúc của các loại vi rút khác nhau