

**CHƯƠNG 6****SINH THÁI HỌC VI SINH VẬT**

Chương này đề cập đến sự đa dạng trong các chiến lược sinh tồn và tăng trưởng cho phép vi sinh vật hiện diện trong nhiều môi trường khác nhau.

Vi sinh vật tham gia vào nhiều phản ứng cần thiết giúp cho sinh quyển tồn tại. Trong các môi trường tự nhiên, sự tổng hợp của một vi sinh vật với các đặc tính hóa, lý của môi trường và tổng hợp với các sinh vật khác sẽ quyết định vi sinh vật có khả năng tăng trưởng hoặc hay không.

**1. Mục tiêu của sinh thái học vi sinh vật và các nhiệm vụ của vi sinh vật trong tự nhiên****1.1. Dòng năng lượng và vật chất trong các hệ sinh thái, vai trò của vi sinh vật**

Năng lượng từ ánh sáng mặt trời chiếu xuống bề mặt trái đất, hợp chất hữu cơ hoặc hợp chất vô cơ từ khí quyển.

Trong hệ sinh thái có nguồn năng lượng là ánh sáng mặt trời, năng lượng được sử dụng bởi các sinh vật quang hợp để tổng hợp mọi các chất hữu cơ. Ngoài carbon, các chất hữu cơ này còn chứa N, P, S, Fe và các nguyên tố khác.

Các chất hữu cơ được tổng hợp bởi mọi các sinh vật khác (tự dưỡng hoặc dị dưỡng) và các hợp chất vô cơ từ khí quyển trở thành nguồn năng lượng và vật chất cho các hoạt động biến đổi của các vi sinh vật hóa năng hữu cơ và hóa năng vô cơ nhờ chuỗi thức ăn trong chương 4.

Các nguyên tố then chốt trong tế bào được chuyển hóa trong các chu trình sinh địa hóa (biogeochemical cycle) bao gồm các chu trình nước, carbon, nitơ, lưu huỳnh, phospho, và các nguyên tố khác (rắn, lỏng, khí). Vi sinh vật tham gia tích cực trong các chu trình này. Trong nhiều trường hợp, vi sinh vật là nhân tố duy nhất có thể tái tạo các dạng hợp chất thích hợp cho nguyên tố có thể sử dụng bởi các sinh vật khác, đặc biệt là thực vật.

**1.2. Mục tiêu của sinh thái học vi sinh vật**

Sinh thái học vi sinh vật nhằm có hai mục tiêu nghiên cứu như sau:

- (1) Nghiên cứu sự đa dạng sinh học của vi sinh vật trong tự nhiên, sự tổng hợp của các quần thể khác nhau trong quần xã. Tính đa dạng được nghiên cứu dựa trên các phương pháp phát hiện và phân loại vi sinh vật.

- (2) Năng lực hoạt động của vi sinh vật trong tự nhiên và giảm thiểu tác động của chúng lên hệ sinh thái.

Sự hiểu biết về tính đa dạng và hoạt động của vi sinh vật trong tự nhiên là cần thiết để đánh giá một quần xã vi sinh vật trong tự nhiên.

**1.3. Quần thể quần xã và quần xã**

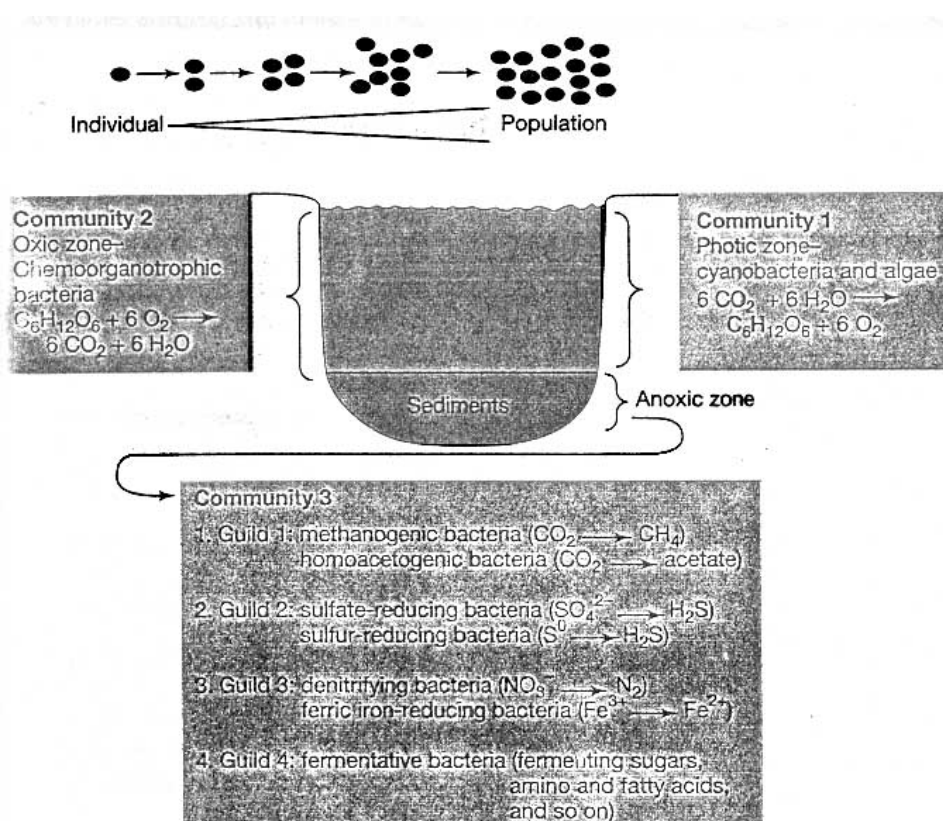
Trong tự nhiên, hệ vi sinh vật có thể phân thành các quần thể đơn bào, có thể chia thành các đơn vị nhỏ sau:

- Quần thể (population): quần thể là tập hợp của các tế bào cùng loài, có thể hình thành do sự tăng trưởng của các tế bào riêng biệt. Một tế bào hiện diện trong một môi trường.

trồng nhất nhình khi gặp nhiều kiến tăng trồng thua lỗ có thể tăng trồng thành quan  
thẻ (Hình 6.1).

- **Quản đồng (guild):** trong mỗi vì mỗi trường nhất định có sự tồn tại của nhiều loại côn trùng tính chung về nguồn chất dinh dưỡng, các yêu tố hoá lý. Các loài này hình thành các quản thể cùng tác động đến vào nguồn năng lượng, vật chất có ở môi trường. Các quản thể này hình thành nên vì quản đồng. Quản đồng nên gần nhất chỉ gồm một quản thể tuy nhiên, trường hợp này hiếm trong thực tế.

- **Quần xã (community):** nhiều quần đồng cùng hiện diện trong môi trường, tiến hành những quá trình sinh lý hoá trị nhau để cùng tăng trưởng hình thành nên và quản xã. Quần xã nhờ có giới hạn bởi nguồn năng lượng, phòng tích biến đồng carbon của vi sinh vật (quang năng, hoá năng, từ đồng, dị đồng), mối quan hệ với oxy (hiệu khí, kỵ khí), nhiệt độ...



**Hình 6.1** Cấu trúc một quan xã gồm các quan đồng, quan theo một hệ sinh thái ao hồ

#### 1.4. Tuổi đời của vi sinh vật trong tự nhiên

Nhắc tính tăng trưởng của vi sinh vật trong môi trường có nhiều khác với những nhắc tính mà chúng thể hiện khi nuôi cấy thuần trong môi trường phòng thí nghiệm. Một số nhắc niệm có thể ghi nhận như sau:

- (1) Các điều kiện hóa lý trong vi môi trường (microenvironment) mà vi sinh vật đang sống có thể khác với điều kiện mà chúng ta đo đạc được (do kích thước lớn của mẫu). Ví dụ mỗi hạt đất nông kính khoảng 1cm có thể gồm nhiều vi môi trường khác nhau, nhờ sự khác biệt về nồng độ oxy (Hình 6.2).

- (2) Chất dinh dưỡng sẵn có trong môi trường nuôi cấy ảnh hưởng đến sự phát triển của vi sinh vật trong môi trường nuôi cấy; ngoài ra, nguồn chất dinh dưỡng khoáng cũng ảnh hưởng đến sự phát triển của vi sinh vật. Sự phát triển của vi sinh vật trong môi trường nuôi cấy phụ thuộc vào sự sẵn có của các chất dinh dưỡng (nhiều).

- (3) Vi sinh vật thường hiện diện trên bề mặt do nồng độ chất dinh dưỡng ở đây cao hơn trong môi trường chất dinh dưỡng bị giới hạn.

- (4) Các loài vi sinh vật cạnh tranh nhau về chất dinh dưỡng giới hạn trong môi trường. Loài thắng cuộc là loài có tốc độ phát triển nhanh nhất ở nồng độ chất dinh dưỡng thấp trở lại môi trường.

## 2. Các phương pháp nghiên cứu sinh thái học vi sinh vật

### 2.1. Nuôi cấy và phân lập

Sơ hiện diện và tính năng của vi sinh vật có thể được nghiên cứu bằng phương pháp phân lập và nuôi cấy vi sinh vật từ môi trường.

Nuôi cấy vi sinh vật hay nuôi cấy giàu (enrichment culture) là kỹ thuật nuôi cấy nhằm phân lập vi sinh vật có khả năng phát triển hoặc những khả năng chuyển hóa đặc biệt. Kỹ thuật này gồm việc sử dụng các môi trường chọn lọc thích hợp của môi trường và dùng một nguồn phân lập chọn vi sinh vật quan tâm để làm tăng mật độ của vi sinh vật trong nguồn phân lập.

Cột Winogradsky là một ví dụ về nuôi cấy vi sinh vật trong môi trường có tính không đồng nhất của môi trường vi sinh vật sẽ tạo nên môi trường cho việc chọn lọc nhiều vi sinh vật khác (Hình 6.3).

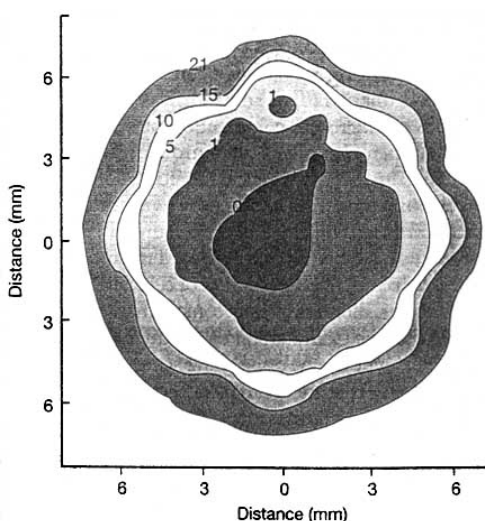
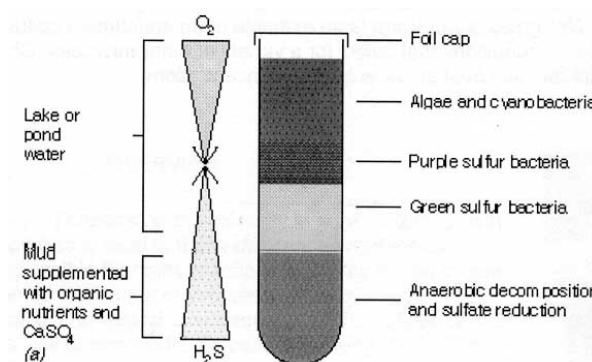


FIGURE 16.2 Contour map of  $O_2$  concentrations in a soil particle. The axes show the dimensions of the particle. The numbers on the contours are  $O_2$  concentrations (in percent; air is 21%  $O_2$ ). In terms of oxygen relationships for microorganisms, each zone can be considered a different microenvironment.

Hình 6.2 Các nồng độ oxy trong môi trường đất



Hình 6.3 Cột Winogradsky

Các hệ ổn định (chemostat) được sử dụng để làm giàu vi sinh vật hoạt động mạnh ở các nồng độ chất thấp.

Sau khi mẫu nước cấy lên qua nuôi cấy lũy, chúng vi sinh vật quan tâm cần được phân lập và làm thuần để trên một số kỹ thuật pha loãng nhỏ hợp ria, ống agar mềm và pha loãng huyền phù vi sinh vật.

Kỹ thuật hợp ria (streak plate) được sử dụng rất phổ biến để phân lập và làm thuần. Dịch chứa vi sinh vật từ nguồn phân lập được pha loãng ngẫu nhiên bằng cách ria trên bề mặt môi trường thạch chọn lọc và sử dụng nhiều kiến thức hợp. Sau khi cấy xuất hiện khuẩn lạc, chọn khuẩn lạc có dạng hình vệt khác biệt so với các khuẩn lạc khác. Từ khuẩn lạc này tiến hành lặp lại nhiều lần kỹ thuật ria sao cho tất cả khuẩn lạc xuất hiện đều nhỏ nhất.

Kỹ thuật ống agar mềm (agar shake tube) được dùng để phân lập và làm thuần một số vi sinh vật như nấm, ví dụ vi khuẩn lều huỳnh quang năng hay vi khuẩn khối sulfate). Đây là kỹ thuật pha loãng hỗn hợp chúng vi sinh vật trong một ống nghiệm chứa môi trường dinh dưỡng có agar nồng độ thấp. Khuẩn lạc xuất hiện bên trong agar. Tiến hành pha loãng liên tiếp sao cho thu được một pha loãng mà khuẩn lạc vi sinh vật tách rời nhau. Lặp lại các bước pha loãng này bằng cách cấy chúng vào ống chứa pha loãng cao nhất ở một pha loãng trước cho đến khi chỉ còn một loài khuẩn lạc tăng trưởng trong ống thạch mềm.

Kỹ thuật pha loãng huyền phù vi sinh vật là kỹ thuật pha loãng bậc 10 liên tiếp nguồn phân lập trong một môi trường dinh dưỡng lỏng cho đến pha loãng không còn có sự tăng trưởng của vi sinh vật. Sử dụng bậc pha loãng cao nhất còn sự tăng trưởng (chứa khoảng 10 tế bào vi sinh vật) làm nguồn giống, thực hiện lặp lại các bước pha loãng liên tiếp bậc 10 thì có thể thu được khuẩn thuần.

## 2.2. Nhận dạng vi sinh vật

Mẫu nước vi sinh vật trong một mẫu tối thiểu có thể được xác định bằng các phương pháp nuôi cấy nhờ phương pháp nhuộm khuẩn lạc hoặc nhuộm trực tiếp trên kính hiển vi.

Trong trường hợp nhuộm trực tiếp trên kính hiển vi, vi sinh vật thường được nhuộm bằng các phẩm màu huỳnh quang nhỏ cam acridine (acridine orange) cho phép nhuộm tất cả các loài tế bào vi sinh vật hoặc nhuộm bằng kháng thể huỳnh quang hay màu đối nucleic acid để theo dõi một loài cụ thể.

Trong phương pháp nhuộm khuẩn lạc, cần nuôi cấy tế bào vi sinh vật trên một môi trường chọn lọc để pha loãng và nhiều kiến thức hợp sao cho các tế bào tách rời nhau và tăng trưởng thành các khuẩn lạc tách biệt. Phương pháp nhận dạng này còn cho biết nếu không phải tất cả vi sinh vật cùng hiện diện trong mẫu nếu có thể một số trong môi trường chọn lọc.

## 2.3. Phân tích đa dạng của vi sinh vật dựa trên vật liệu di truyền

Các phương pháp phát hiện và nhận dạng vi sinh vật nêu trên là các phương pháp nghiên cứu tính đa dạng, thành phần của quần xã vi sinh vật trong tối thiểu dựa trên kiểu hình của vi sinh vật (các đặc điểm sinh lý sinh thái).

Một cách tiếp cận khác môi nước thiết lập gần đây để tìm hiểu thành phần và cấu trúc của quần xã vi sinh vật trong một môi trường nhất định là trích ly DNA (hoặc

RNA) từ mẫu tự nhiên và phân tích thành phần loại dựa vào các thông tin di truyền này. Vật liệu di truyền thu được sẽ được phân tích và trên cơ sở đó mô tả các quần xã (Hình 6.4). Trong phương pháp này, tổng DNA được ly trích từ môi trường và được cắt bằng enzyme cắt giới hạn. Các đoạn cắt được gắn vào vector là phage  $\lambda$  tạo thành ngân hàng gen của quần xã vi sinh vật. Tiếp theo, các dòng plaque chứa DNA của SSU rRNA được phân lập từ ngân hàng gen bằng kỹ thuật lai plaque với mẫu dò toàn năng đặc trưng cho SSU rRNA. Kỹ thuật này cũng cho phép tách biệt các dòng theo ba giới khác nhau (vi khuẩn, vi khuẩn cổ và nhân thật). Giải trình tự các dòng này và xây dựng cây phát sinh chủng loại đặc trưng cho quần xã.

Phương pháp tiếp cận này không cần nuôi cấy thành công vi sinh vật và tránh được những biến đổi trong quần thể xảy ra do ảnh hưởng của việc nuôi cấy trên môi trường giàu chất dinh dưỡng trong điều kiện phòng thí nghiệm.

#### 2.4. Phương pháp đo lường hoạt tính vi sinh vật

Nhiều kỹ thuật có thể sử dụng để đo hoạt tính của vi sinh vật. Vấn đề khi nào cần giải quyết trong khi đo hoạt tính của quần thể vi sinh vật có kích thước nhỏ nên cần có các phương pháp đo lường nhạy cao. Hoạt tính của vi sinh vật có thể được thể hiện thông qua một số tăng trưởng, tích tụ sinh khối; tốc độ sử dụng cơ chất hoặc sản phẩm tạo ra. Hoạt tính của các enzyme quan trọng tham gia các phản ứng biến đổi cũng được dùng để đánh giá mức độ hoạt động của vi sinh vật.

Một số phương pháp được sử dụng gồm:

- Trò chơi ATP là chất chỉ thị sinh khối vi sinh vật sống hiện diện trong mẫu.
- Đo lường và phóng xạ cho phép đo hoạt tính của những phản ứng biến đổi chuyển biến do vi sinh vật.
- Đo lường về thành phần hóa học trong vi môi trường có thể được giảm sút bằng các vi điện cực (microelectrode) và được dùng nhiều trong nghiên cứu các quần xã lớp vi sinh vật (microbial mats).
- Hàm lượng các nồng độ bên trong các trầm tích của chất có thể được dùng để xác định xem các trầm tích này có nguồn gốc sinh học không. Hầu hết các phản ứng enzyme có khuynh hướng sử dụng nước và nhiệt độ nóng và lạnh. Việc phân tích tỷ lệ giữa hai dạng nóng và lạnh của một nguyên tố trong các trầm tích có thể cho phép xác định thời gian xảy ra những quá trình sinh học.

### 3. Hoạt động và vai trò của vi sinh vật trong các hệ sinh thái

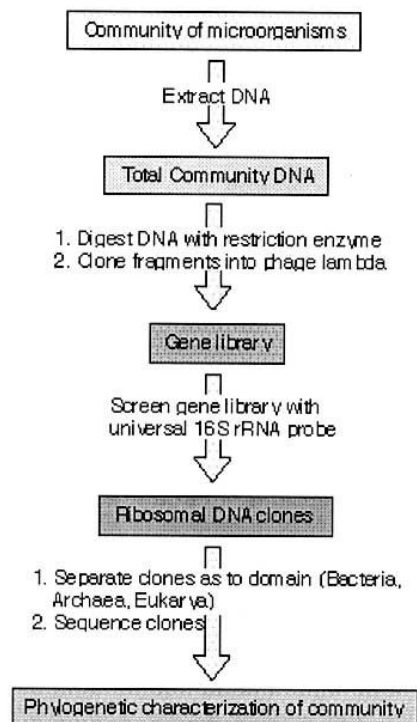
#### 3.1. Hệ sinh thái nước

Việc sản xuất các chất hữu cơ trong các hệ sinh thái nước chủ yếu do vi sinh vật quang dưỡng (quang năng tự dưỡng), tức là sinh vật sản xuất sơ cấp (primary producer). Vấn đề sản xuất sơ cấp phụ thuộc vào môi trường và ly và nguồn chất dinh dưỡng có sẵn. Ví dụ, chất dinh dưỡng trong nước ở biển khá ít hơn nhiều so với vùng gần bờ.

Ở các môi trường nước có sự phân tầng nhiệt (thermal stratification) thì môi trường tầng này trở nên kỵ khí (Hình 6.5). Các chất hữu cơ do quang tổng hợp tạo ra trong vùng nước bề mặt chìm dần xuống tầng này, các vi sinh vật dị dưỡng sẽ phân hủy các chất hữu cơ này và tiêu thụ  $O_2$ . Khi có nhiều chất hữu cơ chìm xuống tầng này, tại các nơi phân hủy sẽ tiêu thụ hết  $O_2$  và tạo ra môi trường kỵ khí. Sau đó các quá trình dị dưỡng



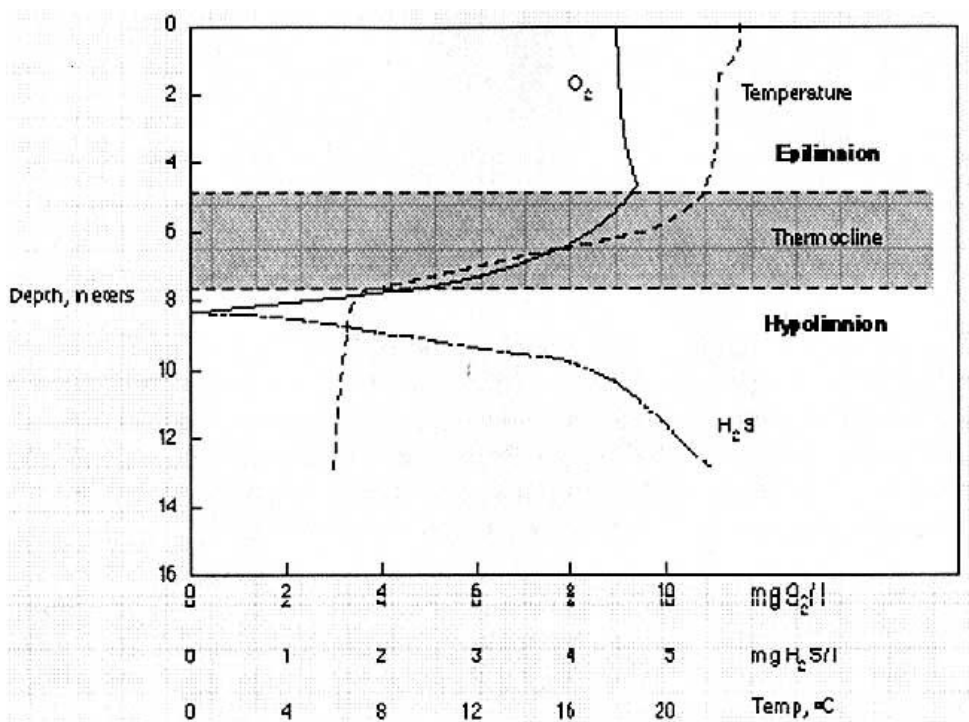
khí hoạt động. Môi trường khí ôxy tầng này không cho phép các loài vi khuẩn bậc cao hiện diện.



Hình 6.4 Các bước nghiên cứu thành phần quần xã dựa trên DNA

### 3.2. Hệ sinh thái biển khơi

Sản xuất sơ cấp ở biển khơi rất thấp. Do vậy, chế độ dinh dưỡng chủ yếu của sinh vật biển khơi là từ các chất hữu cơ chìm xuống nên ở biển khơi sâu hơn 1.000m. Ngoài ra, nhiệt độ ở các khu vực này chỉ khoảng 4°C và áp suất thủy tĩnh trên 100atm. Do vậy, hoạt tính sinh học ở các khu vực này nói chung rất thấp. Tuy nhiên có một số khu vực ở biển khơi có hoạt tính sinh học cao. Ví dụ nhờ khe thủy nhiệt (hydrothermal vent) nơi phun ra dòng nước nóng chứa nhiều khoáng chất. Nước này chứa các hợp chất khoáng của lưu huỳnh dùng làm nguồn năng lượng cho các vi khuẩn hóa năng và các loài sinh vật biển khơi. Các vi sinh vật này có khả năng tồn tại được, thực hiện chức năng giống như các sinh vật quang hợp ở bề mặt trái đất, nên là sinh vật sản xuất sơ cấp của hệ sinh thái. Do vậy, có thể hiện diện với mật độ cao các quần thể loài vi khuẩn không sống gần các khe thủy nhiệt. Các loài vi khuẩn này không ăn các vi khuẩn lưu huỳnh mà chúng cộng sinh với chúng.



Hình 6.5 Sự phân tầng nhiệt và hình thành các điều kiện khí trong ao hồ

Ví dụ nhờ giun ống *Riftia colimot* ở nông tiểu hoa lại nhờ rất tên là trophosome (dòng thể) chứa này các vi khuẩn lưu huỳnh này. Vi khuẩn oxi hóa lưu huỳnh cũng hiện diện trong miệng của các loài sứa trai ở khu vực này. Các động vật này sống dựa vào chất tiết hữu cơ và các chất thải của vi khuẩn. Mặc khác giun ống có một phần tế bào hemoglobin khác thường có thể vận chuyển  $H_2S$  nên vi khuẩn trong dòng thể tránh làm ngộ độc nhờ vật bồi dưỡng giàu của  $H_2S$  trong môi trường. Các nghiên cứu sinh thái học vi sinh vật ở môi trường nóng đến  $380^\circ C$  trong lòng biển khơi (các ống khói đen, black smoker) đã chứng minh nước nóng giới hạn chịu nhiệt của sự sống là dưới mức  $150^\circ C$ .

### 3.3. Hệ sinh thái đất

Sở dĩ hình thành đất bao gồm liên quan đến các quá trình vật lý, hóa học và sinh học.

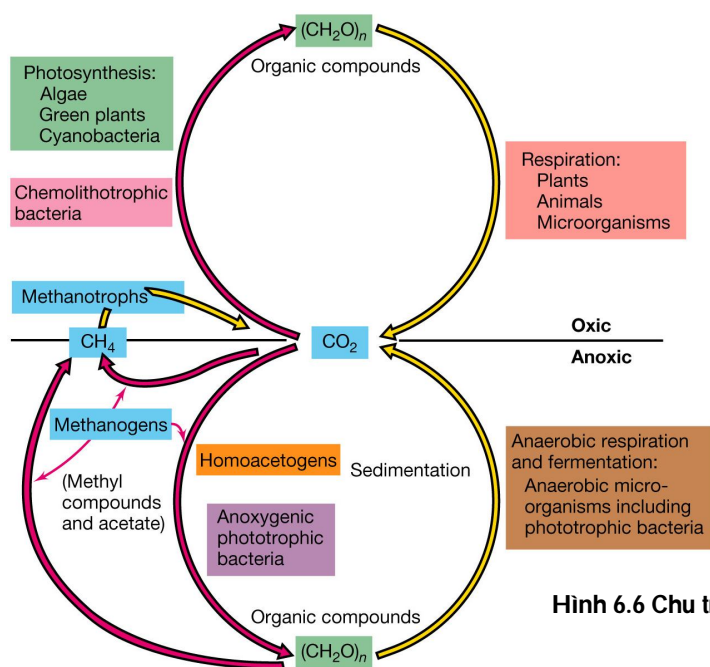
Vi sinh vật tạo ra chất hữu cơ nhờ chuyển hóa thành carbonic acid hoặc acid hữu cơ có thể dùng làm tan khoáng chất từ đất. Sở dĩ tạo thành đất từ đá mẹ mà cần thời gian nên hàng trăm năm. Vi sinh vật trong đất có vai trò kiểm soát nhiều chất dinh dưỡng quan trọng của thực vật. Do vậy, hoạt động của vi sinh vật trong đất có vai trò then chốt trong năng suất đất. Hoạt động của vi sinh vật trong đất bị giới hạn bởi nước hoạt tính trong nhiều kiến trúc đất cũng nhờ khoáng và bồi chất dinh dưỡng. Các công trình nghiên cứu gần đây cho thấy vi sinh vật có thể tồn tại ở môi trường hàng trăm mét dưới đất. Tuy nhiên người ta chưa biết mức độ hoạt động của vi sinh vật trong các môi trường như vậy.

## 4. Chu trình sinh địa hóa của các nguyên tố cần cho sự sống

### 4.1. Chu trình carbon

Sở dĩ chuyển hóa nguyên tố carbon có vai trò nhiều khiến hoạt động các chu trình chuyển hóa các nguyên tố khác vì các chu trình này cần năng lượng cung cấp bởi quang tổng hợp hoặc từ hóa các hợp chất carbon.

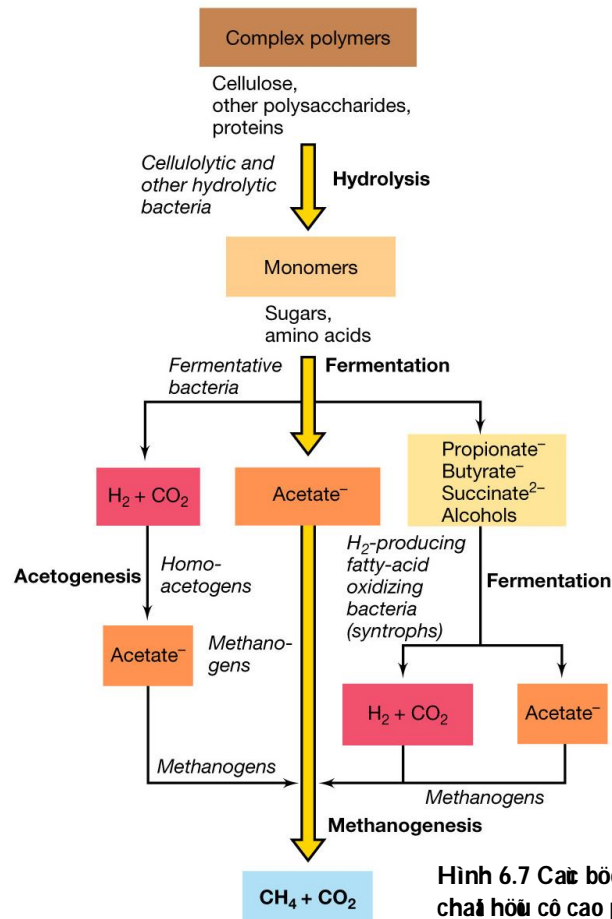
Dòng carbon quan trọng nhất là dòng thông qua  $CO_2$  của khí quyển và sinh khối sống và chết. Có dòng  $CO_2$  bởi quang tổng hợp và sự tạo ra  $CO_2$  do hô hấp là các cơ chế giúp các dòng C này đi qua hệ sinh thái (Hình 6.6).



Hình 6.6 Chu trình oxi hóa khử của carbon

Trong môi trường không có ôxi, sợi phân hủy khí khí hợp chất carbon hữu cơ cần có sợi tham gia của bốn nhóm vi khuẩn:

- (1) Nhóm vi khuẩn có hydrolase ngoài bào thủy phân các hợp chất cao phân tử nhỏ polysaccharide hoặc protein thành các monomer cấu thành.
  - (2) Nhóm vi khuẩn lên men chuyển các monomer này thành acid hữu cơ,  $H_2$  và  $CO_2$ .
  - (3) Nhóm vi khuẩn oxy hóa acid béo chuyển hóa acid hữu cơ thành acetate,  $H_2$  và  $CO_2$ .
  - (4) Nhóm vi khuẩn sinh methane sử dụng acetate,  $H_2$  và  $CO_2$  tạo  $CH_4$ .
- Sản phẩm cuối cùng của sợi phân hủy khí khí là  $CO_2$  và  $CH_4$  (Hình 6.7).



Hình 6.7 Các bước trong sợi phân hủy khí khí các chất hữu cơ cao phân tử

Vi khuẩn oxy hóa acid béo tăng cường nồng độ khí  $H_2$  do chúng tạo ra nước sôi dùng ngay cho phản ứng khác. Nhờ vậy, các vi khuẩn này tăng cường theo cơ chế truyền hydrogen giữa các loài (interspecies hydrogen transfer) trong nội các vi khuẩn khác nhờ methanogen sử dụng ngay  $H_2$  làm nguồn cho niên tố do vi khuẩn oxy hóa acid béo biến đổi ra.

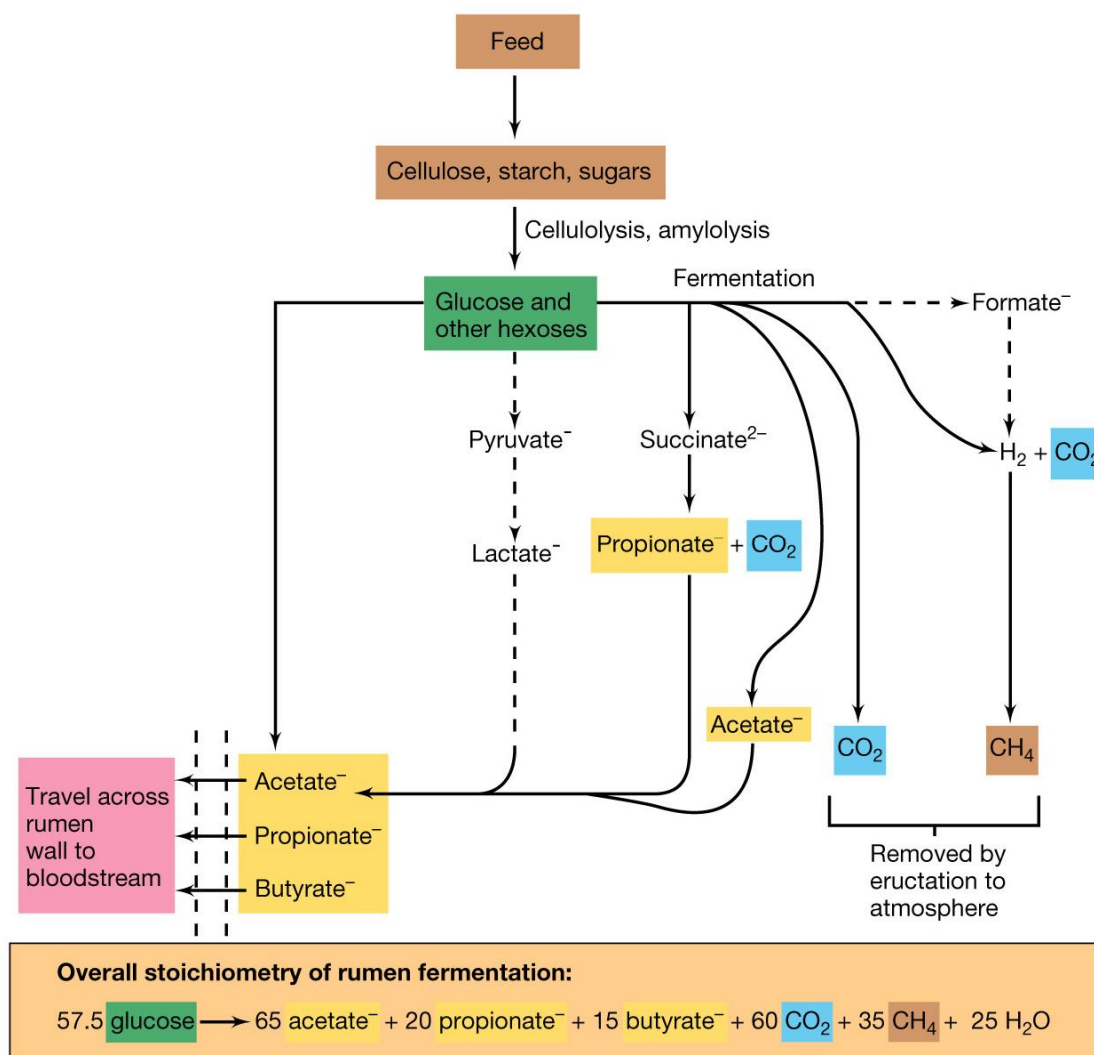
Sợi sinh methane xảy ra trong môi trường có hàm lượng sulfate hòa tan thấp nhờ môi trường nước ngoài khí (trần tích hoặc nổi ngập nước, nằm lầy), cũng nhờ trong dài có sợi và nhai lại.



Ngôic lai, trong môi trường khí có hàm lượng sulfate cao ở nhô trong nước biển, vi khuẩn khử sulfate thắng vi khuẩn sinh methane trong cuộc cạnh tranh sử dụng acetate và  $H_2$ . Do vậy, vi khuẩn khử sulfate thúc đẩy các phản ứng cuối cùng của quá trình phân hủy khí khí hợp chất carbon hữu cơ trong môi trường nước biển.

Năng vật nhai lai có cấu trúc dài có thể diễn ra quá trình lên men khí trong ruột tiêu hóa. Vi sinh vật trong ruột tiêu hóa cellulose và các polysaccharide khác thành các acid béo bay hơi nhô hấp thụ qua thành ruột và dùng làm nguồn năng lượng và vật chất cho năng vật nhai lai. Sô biển đường khí khí này cho ra sản phẩm là  $CO_2$  và  $CH_4$ . Vi sinh vật trong ruột có thể tiêu hóa nhô nhô nhai lai, cung cấp amino acid và vitamin cho các năng vật này.

Vi sinh vật trong ruột gồm có vi khuẩn và các năng vật nguyên sinh có khả năng thủy phân cellulose thành glucose. Nhiều loại vi sinh vật khí khác tiếp tục biến đổi glucose hoặc các chất biến đổi của glucose thành acid hữu cơ,  $H_2$  và  $CO_2$ .  $H_2$  và  $CO_2$  nhô vi khuẩn lên men methane chuyển nhô thành methane và acid hữu cơ (acetate, propionate và butyrate) nhô hấp thụ nhô nhai lai (Hình 6.8).



Hình 6.8 Các phản ứng sinh hóa trong ruột nhô nhai lai

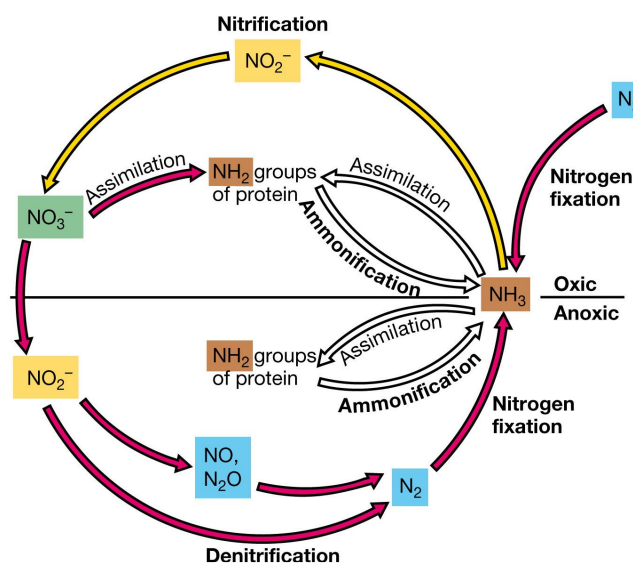
## 4.2. Chu trình nitrogen

Nguyên tố nitrogen hiện diện ở một số trạng thái oxy hóa khác nhau (Hình 6.9). Một số chuyển hóa oxy hóa khử của các hợp chất nitrogen chỉ có thể được thực hiện bởi vi sinh vật.  $N_2$  trong khí quyển là nguồn dồi dào nitrogen chủ yếu. Một số prokaryote có khả năng cố định nitrơ trong môi trường  $N_2$  để tạo thành  $NH_3$  cần năng lượng. Chu trình chuyển hóa nitrogen thông thường có sự tham gia của  $NH_3$  và  $NO_3^-$ . Một số vi sinh vật có thể oxy hóa  $N_2$  thành  $NO_2^-$  và  $NO_3^-$  bằng con đường hóa học hoặc những 85% có thể là  $N_2$  là một hoạt tính của vi sinh vật.

Phản nitrate hóa (denitrification) là con đường sinh học chủ yếu để tạo ra  $N_2$ . Quá trình này làm giảm nồng độ nitrogen có thể sử dụng cho thực vật.

Số phân hủy các chất hữu cơ sẽ dẫn đến quá trình amon hóa tạo ra  $NH_3$ . Trong nhiều điều kiện kỵ khí,  $NH_3$  được tích tụ nhưng trong nhiều điều kiện hiếu khí, thực vật sẽ nhanh chóng oxy hóa  $NH_3$  thành amino acid.

Vi khuẩn hóa năng vô cơ có thể chuyển hóa  $NH_3$  thành nitrate trong môi trường hiếu khí bằng quá trình nitrate hóa (nitrification). Do nitrate dễ bị rửa trôi khỏi đất hơn là  $NH_3$  nên quá trình này không có lợi cho nông nghiệp.



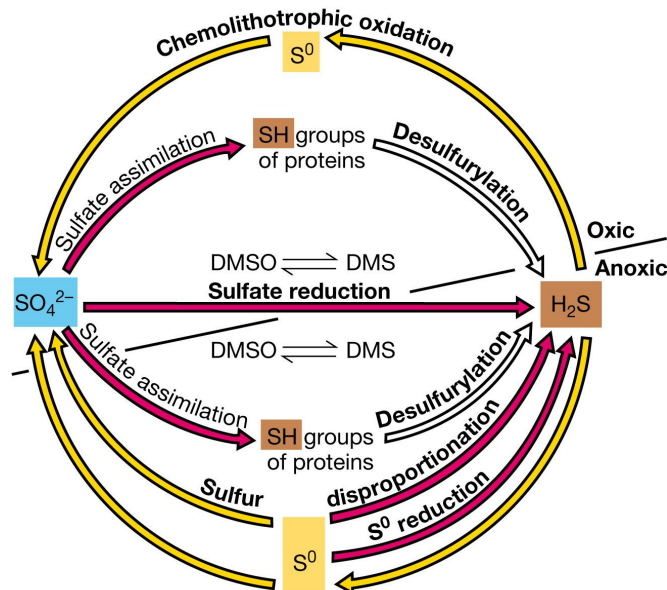
Hình 6.9 Chu trình oxy hóa khử của nitrogen

## 4.3. Chu trình lưu huỳnh

Giống như nitrogen, lưu huỳnh có thể tồn tại ở một số trạng thái oxy hóa khác nhau. Tuy nhiên, một số chuyển hóa oxy hóa khử của lưu huỳnh tạo ra một cách hóa học hoặc không cần có sự tham gia của xúc tác sinh học. Ba trạng thái oxy hóa quan trọng nhất là sulfide (sulfhydryl), lưu huỳnh nguyên tố và sulfate (Hình 6.10).

Sulfate được sử dụng làm nguồn lưu huỳnh bởi nhiều vi sinh vật bằng cách khử sulfate thành nhóm sulfhydryl trong các hợp chất lưu huỳnh hữu cơ. Vi khuẩn khử sulfate sử dụng các hợp chất hữu cơ hoặc  $H_2$  làm nguồn năng lượng để tiến hành phản ứng khử sulfate thành  $H_2S$  trong môi trường kỵ khí.

Sulfide bị oxy hóa hóa học bởi  $O_2$ . Số oxy hóa sinh học của sulfide bởi vi khuẩn hóa năng vô cơ diễn ra ở tầng đáy của môi trường có sự giao thoa lên nhau của gradient thế năng của  $H_2S$  và  $O_2$ . Trong nhiều điều kiện kỵ khí, vi khuẩn quang hợp lưu huỳnh có thể oxy hóa sulfide.



Hình 6.10 Chu trình oxy hóa khử của lưu huỳnh. DMSO: dimethylsulfoxide; DMS: dimethylsulfide

#### 4.4. Chu trình sắt

Trạng thái của nguyên tố sắt trong môi trường tự nhiên chịu ảnh hưởng của pH và oxygen.

Oxi phản ứng oxy hóa hoặc  $\text{Fe}^{2+}$  thành  $\text{Fe}^{3+}$ . Ion sắt tan dễ dàng trong nước ở pH acid. Tuy nhiên, ion này có thể kết tủa trong môi trường kiềm tan trong dung dịch bằng cách tạo thành phức hợp với các hợp chất hữu cơ. Ion sắt có thể bị oxy hóa hoặc bởi vi sinh vật hoặc bởi  $\text{H}_2\text{S}$  (Hình 6.11).

Ở pH acid, *Thiobacillus ferrooxidans* sử dụng  $\text{Fe}^{2+}$  làm nguồn năng lượng tạo ra  $\text{Fe}^{3+}$ . Phản ứng này là nguyên nhân của hiện tượng nước rỉ chứa acid ở các mỏ khoáng và giúp cho việc lọc kim loại từ quặng. Cả hai quá trình đều có các phản ứng hóa học và các phản ứng vi sinh vật học. Trong nhiều kiến hiệu khí và môi trường acid, *T. ferrooxidans* oxy hóa  $\text{Fe}^{2+}$  thành  $\text{Fe}^{3+}$ . Ion sắt tan sẽ oxy hóa hoặc pyrite để tạo nhiều ion  $\text{Fe}^{2+}$  và sulfuric acid (Hình 6.12).

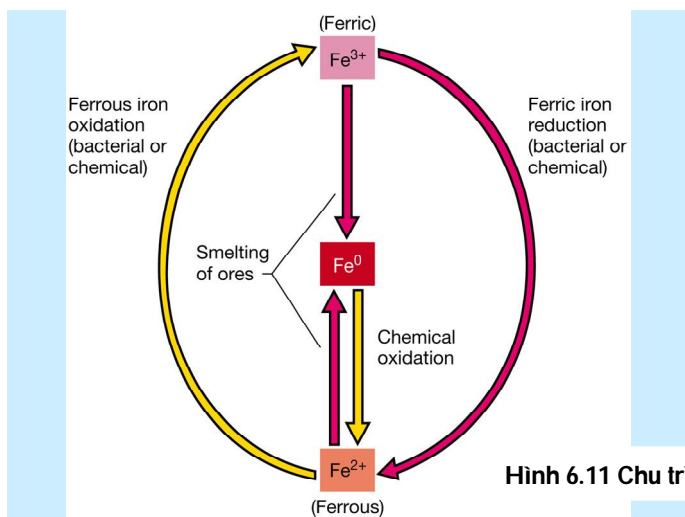
Nước thải acid khu vực có thể có pH thấp nên giá trị 2. Nhiều kiến acid này giúp hòa tan các kim loại ví dụ như nhôm. Tính acid và ion nhôm đều có tính độc với thủy sinh vật. Có thể ngăn ngừa hiện tượng nước thải mỏ acid bằng cách lắp hoặc che quặng pyrite không cho tiếp xúc với ánh sáng vì *T. ferrooxidans* cần oxy phản ứng để oxy hóa ion  $\text{Fe}^{2+}$ .

Trong số lọc khoáng bởi vi sinh vật, sự oxy hóa hoặc bởi vi sinh vật hoặc pyrite tạo thành ion  $\text{Fe}^{3+}$  có vai trò oxy hóa hoặc quặng kim loại và làm tan kim loại. Quá trình này nước sử dụng trong công nghiệp để thu hồi năng lượng và uranium từ các quặng chất lỏng thấp.

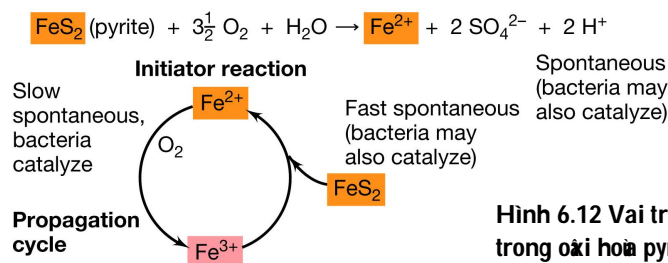
#### 4.5. Chuyển hóa thủy ngân

Ion  $\text{Hg}^{2+}$  có tính độc với sinh vật do phản ứng mạnh với nhóm sulfhydryl trong protein. Một số vi khuẩn không tính thủy ngân bằng cách chuyển ion này thành

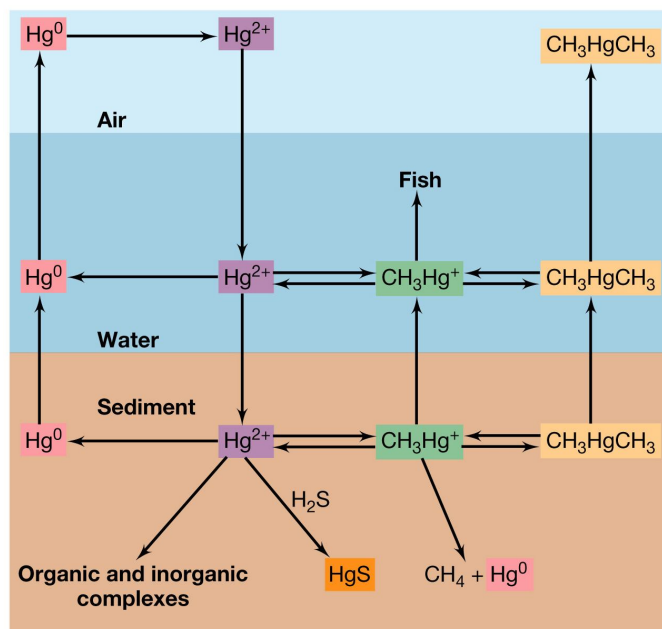
methymercury hoặc dimethylmercury. Hai hợp chất thủy ngân hữu cơ này tích tụ trong môi trường sống và va chạm tính mạnh hơn caibản thân  $\text{Hg}^{2+}$  (Hình 6.13).



Hình 6.11 Chu trình oxy hóa khử của sắt



Hình 6.12 Vai trò của vi khuẩn oxy hóa sắt trong oxy hóa pyrite



Hình 6.13 Chu trình sinh hóa của thủy ngân

1. Sự chuyển hóa thủy ngân trong môi trường tự nhiên

Mạch hydrocarbon trong dầu thải có thể bị tấn công bởi vi khuẩn và nấm men trong nhiều kiện hiếu khí. Trong nhiều kiện yếm khí, một dầu khoáng bị thủy phân.

Khí tự nhiên (methane) nước dùng nguồn năng lượng bởi các vi khuẩn ăn methane trong nhiều kiện hiếu khí không lại bên trong nhiều kiện kỵ khí.

Các hợp chất tổng hợp và nước sử dụng với số lượng lớn bởi con người nhờ thuốc trừ sâu, thuốc diệt cỏ, hóa chất tổng hợp... nước gọi là những chất độc sinh (xenobiotics) có tính bền vững vì sinh vật khác nhau. Một số khác biệt nội tại trong cấu tạo hóa học của chất độc sinh làm thay đổi nhiều nên khả năng chịu sự phân hủy sinh học của hợp chất, như trường hợp của 2,4-D và 2,4,5-T.

Sở dĩ loài trở thành toàn các chất độc sinh ra khỏi môi trường là cần thiết nếu chúng không được tích tụ. Các chất độc sinh có thể bị loại khỏi môi trường do bay hơi, các phản ứng hóa học ngẫu nhiên, lọc và phân hủy sinh học.

Nhiều chất độc sinh chưa môi hiện diện trong môi trường trong khoảng 50 năm. Do vậy, việc xuất hiện những vi sinh vật có khả năng biến đổi các hợp chất này sẽ giúp con người hiểu thêm về tốc độ tiến hóa của vi sinh vật, ví dụ nhờ sự xuất hiện nhanh chóng các chủng gây bệnh kháng thuốc, các chủng vi khuẩn phân hủy thuốc trừ sâu. Ở chủng *Pseudomonas* nước phân lập từ hệ ô nhiễm với các hợp chất tri- và di-chlorophenoxyacetic acid (2,4,5-T và 2,4-D) là nguồn carbon duy nhất, khả năng phân hủy 2,4,5-T và nước chứng minh là do sự tái tổ hợp lại của một phân plasmid cho khả năng kháng 2,4-D.

#### 4.7. Các tầng tác động của vi sinh vật

Thức ăn là môi trường sống của vi sinh vật. Ở thức ăn có hai môi trường nội môi vi sinh vật tầng trophic (rhizosphere) và tầng quyển (phyllosphere).

Cần quyển là vùng bề mặt bên ngoài của rễ nơi có nhiều chất tiết từ thức ăn nhờ nước, amino acid, hormone, vitamin. Do vậy, vùng này thường có sự tăng trưởng mạnh và mật độ cao của vi sinh vật nhờ vi khuẩn, nấm, hình thành các khuẩn lạc li ti ở bề mặt rễ cây.

Diep quyển là vùng bề mặt lá. Ở nhiều kiện ẩm ướt nhờ trong rừng ẩm ướt nóng hoặc ôn đới, hệ vi sinh vật ở diep quyển khá đa dạng với nhiều loại vi khuẩn và nấm mốc.

Trong nhiều trường hợp, giữa vi sinh vật và thức ăn hình thành tầng tác, các biệt là mối quan hệ cộng sinh giúp cho cả hai đều tồn tại và phát triển.

Nấm y (lichen) là sự liên kết chặt chẽ của các tế bào nấm mốc cộng sinh với tảo. Hình dạng nấm y do nấm mốc quyết định. Nhiều nấm y khác nhau có chung một thành phần tảo giống nhau. Trong nấm y, tảo quang tổng hợp, cung cấp chất hữu cơ dùng làm chất dinh dưỡng cho nấm. Ngược lại, nấm tảo che chở nấm khỏi ánh sáng, nước, bảo vệ khỏi sự khô hạn của môi trường. Nấm hấp thu nước và các khoáng chất và cô lập lichenic acid. Nước và các chất khoáng này nước cung cấp cho các hoạt động biến đổi của tảo.

Cần khuẩn (mycorrhizae) là dạng cộng sinh giữa rễ cây và nấm. Nấm liên kết với rễ và tăng khả năng hấp thu chất dinh dưỡng. Nấm có thể sống bên ngoài hoặc bên trong rễ nhận chất dinh dưỡng dạng nước phân giải vitamin từ dịch tiết của rễ các chất



khoảng 100 năm. Ngõoc lại, nấm sản sinh ra kích thích tố tăng trưởng làm ờng sợi hình thành hình dạng đặc biệt của cân khuẩn, giúp cho cây hấp thu chất dinh dưỡng tốt hơn nhất là ở những bậc màu.

Vi khuẩn *Agrobacterium tumefaciens* tạo u sùi (crown gall) ở cây có ờng tác rất chặt chẽ với cây. Plasmid Ti có khả năng chuyển một phần gen của plasmid gọi là T-DNA vào bộ gen của thực vật. Sợi chuyển T-DNA được kiểm soát bởi gen vir trên plasmid và sợi thể hiện của gen này được cảm ờng bởi các phản ứng do cây tạo thành ở các vết thương, ví dụ như acetosyringone, p-hydroxybenzoic acid, vanillin... T-DNA mã hóa một enzyme cần cho tổng hợp opin có vai trò trong sợi tạo u sùi ở thực vật. Plasmid của vi khuẩn *Agrobacterium tumefaciens* được ứng dụng mạnh mẽ trong kỹ thuật di truyền ở thực vật.

Một dạng cộng sinh quan trọng và phổ biến nhất giữa thực vật và vi sinh vật là sợi cộng sinh giữa cây họ đậu và vi khuẩn cố định đạm *Rhizobium*. Vi khuẩn này cảm ờng sợi hình thành nốt sần ở rễ và quá trình cố định đạm diễn ra. Cây họ đậu cung cấp các chất hữu cơ làm nguồn năng lượng cho vi khuẩn, ngược lại vi khuẩn cố định đạm cung cấp đạm cho nhu cầu tăng trưởng của cây. Vi khuẩn cố định đạm đóng vai trò quan trọng trong nông nghiệp do nhiều cây trồng trong nông nghiệp thuộc họ đậu.