



Ảnh hưởng của các nhân tố môi trường đến sự sinh trưởng của vi sinh vật

Bởi:

Nguyễn Lâm Dũng

ẢNH HƯỞNG CỦA CÁC NHÂN TỐ MÔI TRƯỜNG ĐẾN SỰ SINH TRƯỞNG CỦA VI SINH VẬT

Như chúng ta đã biết vi sinh vật có khả năng đáp ứng với sự biến hóa của nồng độ chất dinh dưỡng, nhất là các chất dinh dưỡng hạn chế. Sự sinh trưởng của vi sinh vật chịu ảnh hưởng rất lớn đối với các nhân tố vật lý, hóa học của môi trường sống. Hiểu biết về ảnh hưởng của các nhân tố môi trường đối với sự sinh trưởng của vi sinh vật giúp ích rất nhiều cho việc khống chế vi sinh vật cũng như đối với việc nghiên cứu sự phân bố sinh thái của vi sinh vật. Đáng chú ý là một số vi sinh vật có thể sống được trong những điều kiện cực đoan (extreme) và khó sống (inhospitable). Các vi sinh vật nhân nguyên thủy (Procarvayotes) có thể sinh tồn tại ở mọi nơi có thể sinh sống. Nhiều nơi các vi sinh vật khác không thể tồn tại được nhưng vi sinh vật nhân nguyên thủy vẫn có thể sinh trưởng rất tốt. Chẳng hạn vi khuẩn *Bacillus infernus* có thể sống ở độ sâu 1,5 dặm dưới mặt đất, nơi không có oxy và có nhiệt độ cao đến 60°C . Những vi sinh vật có thể sinh trưởng được trong những hoàn cảnh hà khắc như vậy được gọi là các vi sinh vật ưa cực đoan.

Trong phần này chúng ta sẽ xem xét ảnh hưởng của một số nhân tố chủ yếu của môi trường đối với sự sinh trưởng của vi sinh vật (bảng 14.3)

Bảng 14.3: Phản ứng của vi sinh vật với các nhân tố môi trường

Thuật ngữ	Định nghĩa	Vi sinh vật đại diện
Hoạt tính của nước và dung chất		

Ảnh hưởng của các nhân tố môi trường đến sự sinh trưởng của vi sinh vật

Vi sinh vật ưa áp (Osmotolerant)	Có thể sinh trưởng trong một phạm vi rộng về hoạt tính của nước và nồng độ thẩm thấu.	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Saccharomyces</i>
Vi sinh vật ưa mặn (Halophile)	Cần sinh trưởng ở nồng độ NaCl cao, thường là từ 0,2 mol/L trở lên.	Halobacterium, Dunaliella, Ectothiorhodospira
pH		
Ưa acid (Acidophile)	Sinh trưởng tốt nhất trong phạm vi pH 0-5,5	<i>Sulfolobus</i> , <i>Picrophilus</i> , <i>Ferroplasma</i> , <i>Acontium</i> , <i>Cyanidium caldarium</i> .
Ưa trung tính (Neutrophile)	Sinh trưởng tốt nhất trong phạm vi pH 5,5- 8,0	Escherichia, Euglena, Paramecium
Ưa kiềm (Alkalophile)	Sinh trưởng tốt nhất trong phạm vi pH 8,5-11,5	<i>Bacillus alcalophilus</i> , <i>Natronobacterium</i>
Nhiệt độ		
Ưa lạnh (Psychrophyle)	Sinh trưởng tốt nhất ở 15 ⁰ C hay thấp hơn.	Bacillus psychrophilus, Chlamydomonas nivalis
Chịu lạnh (Psychrotroph)	Có thể sinh trưởng ở 0-7 ⁰ C nhưng sinh trưởng tốt nhất ở 20-30 ⁰ C, còn có thể sinh trưởng được ở khoảng 35 ⁰ C	Listeria monocytogenes, Pseudomonas fluorescens
Ưa ấm (Mesophile)	Sinh trưởng tốt nhất ở 25-45 ⁰ C.	Escherichia coli, Neisseria, Gonorrhoeae, Trichomona vaginalis.
Ưa nhiệt (Thermophile)	Có thể sinh trưởng ở nhiệt độ 55 ⁰ C hoặc cao hơn, nhiệt độ thích hợp nhất thường là giữa 55 và 65 ⁰ C	Bacillus stearothermophilus, Thermus aquaticus, Cyanidium caldarium, Chaetomium thermophile
Ưa nhiệt cao (Hyperthermophile)	Thích hợp phát triển ở nhiệt độ giữa 80 và khoảng 113 ⁰ C	<i>Sulfolobus</i> , <i>Pyrodictium</i> , <i>Pyrococcus</i> .
Nồng độ Ôxy		
Hiếu khí bắt buộc (Obligate aerobe)	Hoàn toàn dựa vào O ₂ của không khí để sinh trưởng	Micrococcus luteus, Pseudomonas, Mycobacterium, phần lớn

		Tảo, Nấm và ĐV nguyên sinh
Kỵ khí không bắt buộc (Facultative anaerobe)	Không cần O ₂ để sinh trưởng nhưng sinh trưởng tốt hơn khi có mặt O ₂ .	Escherichia, Enterococcus, Saccharomyces cerevisiae
Kỵ khí chịu Oxy (Aetolerant anaerobe)	Sinh trưởng như nhau khi có mặt hay không có oxy	Streptococcus pyogenes
Kỵ khí bắt buộc (Obligate anaerobe)	Bị chết khi có mặt O ₂	Clostridium, Bacteroides, Methanobacterium, Treponomas agilis.
Vi hiếu khí (Microaerophile)	Cần O ₂ ở mức độ thấp hơn 2-10% để sinh trưởng và bị tổn hại trong không khí (20%)	<i>Campylobacter</i> , <i>Spirillum volutans</i> , <i>Treponema pallidum</i>
Áp suất		
Ưa áp (Barophile)	Sinh trưởng nhanh hơn khi áp suất thủy tĩnh cao	Photobacterium profundum, Shewanella benthica, Methanococcus jannaschii

Hoạt tính của nước và dung chất

Vì tế bào vi sinh vật tách với môi trường của chúng bằng loại màng sinh chất có tính thẩm thấu chọn lọc cho nên vi sinh vật chịu ảnh hưởng của sự biến đổi nồng độ thẩm thấu trong môi trường. Nếu một vi sinh vật được đưa vào dung dịch có nồng độ thẩm thấu thấp thì nước sẽ xâm nhập vào tế bào, nếu không có sự khống chế hữu hiệu thì tế bào sẽ bị trương lên và vỡ ra. Nhờ có các thể nội hàm mà có thể giảm thấp nồng độ thẩm thấu của tế bào chất. Lúc tính thẩm thấu của môi trường thấp hơn tính thẩm thấu của tế bào chất, các vi sinh vật nhân nguyên thủy cũng có thể phá vỡ các kênh mẫn cảm với áp suất làm cho dung chất thẩm ra.

Phần lớn vi khuẩn, tảo và nấm thường có thành tế bào vững chắc, có thể duy trì hình thái và tính hoàn chỉnh của tế bào. Lúc đưa tế bào các vi sinh vật có thành tế bào vững chắc vào môi trường áp suất thẩm thấu cao thì nước sẽ thoát ra, màng sinh chất sẽ tách ra khỏi thành tế bào và tạo ra tình trạng co nguyên sinh. Sự mất nước này của tế bào sẽ tổn hại tới màng tế bào chất, tế bào sẽ mất khả năng trao đổi chất và ngừng sinh trưởng. Điều này liên quan đến việc bảo quản thực phẩm nhờ muối mặn hoặc tẩm đường (làm mứt, ngâm mật ong...).

Nhiều vi sinh vật sử dụng dung chất hỗn hợp (compatible solute) để làm cho nồng độ thẩm thấu của nguyên sinh chất cao hơn môi trường chung quanh, làm cho màng sinh chất vẫn gắn được với thành tế bào. Sở dĩ gọi là dung chất hỗn hợp là vì dung chất đó có thể thích hợp để tế bào sinh trưởng và phát triển ngay khi có nồng độ cao trong tế bào. Phần lớn vi sinh vật nhân nguyên thủy có thể nâng cao nồng độ thẩm thấu trong tế bào ở môi trường áp suất thẩm thấu cao là nhờ tổng hợp hoặc hấp thu choline, betaine, proline, acid glutamic và các acid amin khác. Việc nâng cao nồng độ K^+ cũng có thể ở một mức độ nào đó giúp nâng cao nồng độ thẩm thấu trong tế bào. Tảo và nấm thì sử dụng saccharose và các polyol, ví dụ như arabitol, glycerol, mannitol,... để đạt được mục đích như vậy. Polyol và acid amin là những dung chất lý tưởng để nâng cao nồng độ thẩm thấu trong tế bào bởi vì chúng không phá hủy cấu trúc và chức năng của enzym. Nhiều vi sinh vật nhân nguyên thủy như *Halobacterium salinarium* sử dụng K^+ để nâng cao nồng độ thẩm thấu trong tế bào, Na^+ cũng có tác dụng này nhưng không sử dụng được cao như K^+ . Các enzyme của *Halobacterium* cần nồng độ muối cao để duy trì hoạt tính. Động vật nguyên sinh do không có thành tế bào nên phải sử dụng các không bào (vacuoles) để bài xuất phân nước dư thừa khi sống trong môi trường có nồng độ thẩm thấu thấp.

Tác dụng tương hỗ giữa phân tử nước và phân tử dung chất được gọi là hiệu ứng thẩm thấu (osmotic effect) còn hiệu ứng cơ chất (matric effect) là biểu thị các phân tử nước bị hấp phụ (adsorption) trên bề mặt các chất rắn. Hai hiệu ứng này dẫn đến việc giảm sút phân tử nước có thể được vi sinh vật sử dụng. Vì nồng độ thẩm thấu trong môi trường có ảnh hưởng sâu sắc đối với vi sinh vật cho nên để định lượng khả năng sử dụng nước các nhà vi sinh vật học thường dùng khái niệm hoạt độ nước a_w (water activity a_w) để biểu thị tính hữu hiệu của nước. Cũng có thể dùng thế năng nước (water potential) tương quan với a_w để biểu thị tính hữu hiệu của nước. Hoạt độ nước của một dung dịch là 1/100 của độ ẩm tương đối của dung dịch này (tính theo %), cũng là tương đương với tỷ lệ giữa áp suất bay hơi của dung dịch này (P_{soln}) và áp suất bay hơi của nước tinh khiết (P_{water}):

$$a_w = \frac{P_{soln}}{P_{water}}$$

Hoạt độ nước của một dung dịch hay một chất rắn có thể xác định bằng cách đưa vào một vật chứa kín và đo độ ẩm tương đối sau khi hệ thống đạt tới trạng thái cân bằng (equilibrium). Ví dụ, một mẫu vật sau khi đạt tới trạng thái cân bằng trong hệ thống này mà không khí đạt tới 95% bão hòa, thì cũng tức là không khí chứa 95% độ ẩm khi đạt tới cân bằng ở cùng nhiệt độ với một mẫu nước thuần khiết, hoạt độ nước của mẫu vật này là 0,95%. Hoạt độ nước tỷ lệ nghịch với áp suất thẩm thấu, nếu áp suất thẩm thấu cao thì trị số a_w là thấp.

Ảnh hưởng của các nhân tố môi trường đến sự sinh trưởng của vi sinh vật

Các vi sinh vật khác nhau có năng lực thích ứng khác nhau rất lớn đối với môi trường có hoạt độ nước thấp (bảng 14.4)

Bảng 14.4: Trị số tương đối về hoạt độ nước (a_w) thấp nhất đối với sự sinh trưởng của vi sinh vật (theo A.D. Brown, 1976)

Hoạt độ nước	Môi trường	Vi khuẩn, Nấm, Tảo
1,00	Nước thuần khiết	Phần lớn VK Gram (-) không ưa mặn
0,95	Bánh mỳ	Phần lớn trực khuẩn Gram (-) <i>Basidiomycetes</i> <i>Fusarium</i> Phần lớn <i>Mucor</i> , <i>Rhizopus</i> , <i>Bacillus</i> .
0,90	Đùi gia súc	Phần lớn cầu khuẩn, Nấm men có bào tử túi.
0,85	Salami Ý	<i>Staphylococcus</i>
0,80	Thực phẩm muối	<i>Saccharomyces rouxii</i> (trong muối), <i>Penicillium</i>
0,75	Hồ muối Cá muối	Halobacterium, <i>Aspergillus</i> , <i>Dunaliella</i> , <i>Actinospora</i>
0,70	Ngũ cốc, kẹo, quả khô	<i>Aspergillus</i>
0,60	Sôcôla, mật ong, sữa bột	<i>Saccharomyces rouxii</i> (trong đường), <i>Xeromyces bisporus</i>
0,55	ADN bị phá hủy	

Có thể kể thêm vài ví dụ khác về trị số a_w : máu người- 0,995; quả tươi- 0,97-0,98; nước biển- 0,98; thịt gia súc tươi- 0,97; sirô- 0,90; giấm bông- 0,90; lạp xương- 0,85; mứt quả- 0,80; nước đường bão hòa- 0,76; bột mỳ- 0,65...

Vi sinh vật muốn giữ lượng nước bằng cách duy trì dung chất nội bào ở nồng độ cao khi sinh trưởng trong môi trường có hoạt độ nước thấp sẽ gặp khó khăn khá lớn. Những vi sinh vật có thể tồn tại trong những điều kiện như vậy được gọi là các vi sinh vật *chịu áp* (osmotolerant). Chúng có thể sinh trưởng được trong một phạm vi nồng độ thẩm thấu hoặc hoạt độ nước khá rộng. Ví dụ , vi khuẩn *Staphylococcus aureus* có thể nuôi cấy trên môi trường có nồng độ NaCl cao tới 3 mol/L. Chúng cũng có thể thích ứng sinh trưởng trên da người. Nấm men *Saccharomyces rouxii* có thể sinh trưởng trên dung dịch đường có hoạt độ nước thấp đến 0,6. Tảo lục *Dunaliella viridis* có thể chịu được nồng độ NaCl cao đến 1,7mol/L hoặc nồng độ bão hòa.

Mặc dầu một số ít vi sinh vật có thể thực sự chịu áp nhưng phần lớn vi sinh vật chỉ có thể sinh trưởng tốt ở hoạt độ nước khoảng 0,98 (tương đương với a_w của nước biển) hoặc cao hơn nữa. Lợi dụng điều này người ta sử dụng phương pháp sấy khô hay dùng muối, dùng đường để bảo quản thực phẩm, phòng tạp nhiễm bởi vi sinh vật. Tuy nhiên nhiều năm chịu áp vẫn có thể làm hư hỏng các thực phẩm đã sấy khô hoặc ướp muối, tẩm đường.

Vi sinh vật ưa mặn (Halophile) hoàn toàn thích ứng với môi trường cao áp (hypertonic), cần nồng độ NaCl cao để sinh trưởng. Phạm vi nồng độ muối cần thiết để sinh trưởng đối với nhóm vi khuẩn ưa mặn cực đoan (extreme halophilic bacteria) là 2,8-6,2 mol/L (nồng độ muối bão hòa). Tại Biển Chết (Dead Sea)- một hồ thấp nhất thế giới nằm giữa Israel và Jordan, và tại hồ Đại Diêm (Great Salt Lake) ở bang Utah (Hoa Kỳ) và tại các môi trường khác có nồng độ muối gần với bão hòa, có thể phân lập được các Cổ khuẩn (archeon) thuộc chi *Halobacterium*. Chúng cùng các vi khuẩn ưa mặn cực đoan khác không giống với phần lớn các vi sinh vật chịu áp (osmotolerant) ở chỗ không phải là đơn giản thông qua việc nâng cao nồng độ dung chất nội bào, mà chủ yếu là sửa đổi cấu trúc protein và màng của mình để thích ứng với nồng độ muối cao. Những vi khuẩn ưa mặn cực đoan này duy trì nồng độ kali nội bào sao cho áp suất thẩm thấu cao hơn môi trường sống; nồng độ K^+ nội bào có thể tới 4-7 mol/L. Các enzym, ribosom và protein vận chuyển của các vi khuẩn này cần nồng độ K^+ cao để duy trì tính ổn định và hoạt tính. Ngoài ra nồng độ Na^+ cao cũng giúp cho sự ổn định của tế bào và màng sinh chất của vi khuẩn *Halobacterium*. Nếu nồng độ Na^+ quá thấp thì thành tế bào và màng sinh chất sẽ hoàn toàn bị phá hủy. Vi khuẩn ưa mặn cực đoan thích ứng thành công với điều kiện môi trường muối cao, nơi có thể tiêu diệt hầu hết các sinh vật khác. Tuy nhiên chúng cũng đã biệt hóa (specialized), mất đi tính linh hoạt (flexibility) sinh thái và chỉ có thể sinh trưởng trong một ít môi trường cực đoan.

pH

pH là số đo hoạt tính ion hydrogen của một dung dịch và đó là số logarit âm của nồng độ ion hydrogen (biểu thị bằng nồng độ phân tử):

$$pH = -\log[H^+] = \log(1/[H^+])$$

Thang pH từ pH 0,0 ($1,0 \text{ mol H}^+$) đến pH 14,0 ($1,0 \times 10^{-14} \text{ mol H}^+$). Mỗi đơn vị pH đại biểu cho sự biến đổi 10 lần về nồng độ ion hydrogen. Hình 14.13 cho thấy nơi cư trú mà vi sinh vật có thể sinh trưởng là rất rộng, từ pH rất acid (pH 1-2) đến những hồ hay đất rất kiềm với pH giữa 2 và 10.

pH có ảnh hưởng rõ rệt đối với sự sinh trưởng của vi sinh vật. Mỗi vi sinh vật đều có một phạm vi pH sinh trưởng nhất định và pH sinh trưởng tốt nhất. Vi sinh vật ưa acid (acidophile) có pH sinh trưởng tốt nhất là pH 0-5,5 ; đối với vi sinh vật ưa trung tính là

Ảnh hưởng của các nhân tố môi trường đến sự sinh trưởng của vi sinh vật

pH 5,5-8,0 ; đối với vi sinh vật ưa kiềm (alkalophile) là pH 8,5-11,5. Vi sinh vật ưa kiềm cực đoan có mức sinh trưởng tối ưu ở pH 10 hay cao hơn nữa. Nói chung, các nhóm vi sinh vật khác nhau đều có phạm vi sinh trưởng riêng của mình. Phần lớn vi khuẩn và động vật nguyên sinh là ưa trung tính. Phần lớn nấm là ưa hơi acid (pH 4-6). Cũng có nhiều trường hợp ngoại lệ. Ví dụ, tảo *Cyanidium caldarium* và cổ khuẩn *Sulfolobus acidocaldarius* thường sống trong các suối nước nóng acid, chúng sinh trưởng tốt ở nhiệt độ cao và pH từ 1 đến 3. Cổ khuẩn *Ferroplasma acidarmanus* và *Picrophilus oshimae* có thể sinh trưởng ở pH=0 hay rất gần với 0.

Bảng 14.5: Thang pH

pH	[H ⁺] nồng độ phân tử	Ví dụ về môi trường	Ví dụ về vi sinh vật
0	10 ⁰ (1,0)	Acid nitric đậm đặc	<i>Ferroplasma</i> <i>Picrophilus oshimae</i>
1	10 ⁻¹	Dịch dạ dày, suối nước nóng axit	<i>Dunaliella acidophila</i>
2	10 ⁻²	Nước ép chanh Dịch axit ở mỏ	<i>Cyanidium caldarium</i> <i>Thiobacillus thiooxidans</i> <i>Sulfolobus acidocaldarius</i>
3	10 ⁻³	Giấm, Dứa	
4	10 ⁻⁴	Nước ép cà chua, cam Đất rất axit	
5	10 ⁻⁵	Pho mát, bắp cải Bánh mỳ	<i>Physarum polycephalum</i> <i>Acanthamoeba castellanii</i>
6	10 ⁻⁶	Thịt bò, thịt gà Nước mưa Sữa	<i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>E. coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Euglena gracilis</i> , <i>Paramecium bursaria</i>
7	10 ⁻⁷	Nước bọt Nước tinh khiết Máu	<i>Staphylococcus aureus</i>
8	10 ⁻⁸	Nước biển	<i>Nitrosomonas</i> spp.
9	10 ⁻⁹	Đất rất kiềm Hồ nước kiềm	
10	10 ⁻¹⁰	Xà phòng	<i>Microcystis aeruginosa</i> <i>Bacillus alcalophilus</i>
11	10 ⁻¹¹	Nước ammonia gia dụng	
12	10 ⁻¹²	Dung dịch Ca hydroxide bão hòa	
13	10 ⁻¹³	Thuốc tẩy trắng Thuốc tẩy ống cống	
14	10 ⁻¹⁴		

Mặc dầu vi sinh vật thường có thể sinh trưởng trong một phạm vi pH khá rộng, và xa với pH tốt nhất của chúng, nhưng tính chịu đựng (tolerance) của chúng cũng có giới hạn nhất định. Khi pH trong tế bào chất có sự biến hóa đột ngột sẽ làm phá vỡ màng sinh chất hoặc làm ức chế hoạt tính của enzyme hay protease chuyển màng, do đó làm tổn thương đến vi sinh vật. Vi sinh vật nhân nguyên thủy bị chết khi pH nội bào giảm xuống thấp hơn 5,0-5,5. Sự biến đổi pH của môi trường sẽ làm thay đổi trạng thái điện ly của phân tử các chất dinh dưỡng, làm hạ thấp khả năng sử dụng chúng của vi sinh vật.

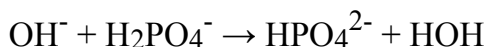
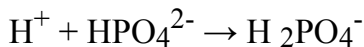
Khi pH trong môi trường có sự biến hóa tương đối lớn thì pH nội bào của phần lớn vi sinh vật vẫn gần trung tính. Nguyên nhân có thể là do tính thấm của H^+ qua màng sinh chất là tương đối thấp. Vi sinh vật ưa trung tính thông qua hệ thống vận chuyển đã sử dụng K^+ thay cho H^+ . Vi sinh vật ưa kiềm cực đoan như *Bacillus alcalophilus* dùng Na^+ nội bào thay thế cho H^+ của môi trường bên ngoài, giữ cho pH nội bào gần với trung tính. Ngoài ra hệ thống chất đệm nội bào (intering buffering) cũng có vai trò quan trọng trong việc duy trì pH ổn định.

Vi sinh vật phải có năng lực thích ứng với sự biến đổi pH của môi trường thì mới có thể sinh tồn. Đối với vi khuẩn, hệ thống vận chuyển ngược K^+/H^+ và Na^+/H^+ có thể dùng để khắc phục những biến đổi nhỏ về pH. Nếu pH quá acid các cơ chế sẽ phát huy tác dụng. Lúc pH giảm xuống tới pH 5,5-6,0 vi khuẩn thương hàn (*Salmonella typhimurium*) và *Escherichia coli* có thể tổng hợp ra một loạt các protein mới và được gọi là một phần của đáp ứng chống chịu acid. ATPase chuyển vị proton được dùng để sản sinh ra nhiều ATP hoặc bơm proton

Ra ngoài tế bào. Nếu pH bên ngoài giảm xuống còn 4,5 hay thấp hơn nữa vi khuẩn sẽ tổng hợp ra các phân tử đi kèm, chẳng hạn như các protein gây sốc acid (acid shock proteins) hay các protein gây sốc nhiệt (heat shock proteins). Chúng được dùng để phòng ngừa sự biến tính acid của các protein khác và giúp sửa chữa lại các protedins đã bị biến tính.

Vi sinh vật thường sinh ra các chất thải trao đổi chất có tính acid hay kiềm để làm thay đổi pH môi trường sống. Vi sinh vật lên men sử dụng nguồn carbohydrat để tạo ra các acid hữu cơ. Các vi sinh vật dinh dưỡng hóa năng vô cơ (chemolithotrophs) như *Thiobacillus* có thể ôxy hóa các hợp chất lưu huỳnh dạng khử để sinh ra acid sulfuric. Một số vi khuẩn khác thông qua việc phân giải các acid amin làm sinh ra NH_3 và làm kiềm hóa môi trường.

Người ta thường bổ sung các chất đệm (buffers) vào môi trường nuôi cấy để phòng ngừa sự ức chế quá trình sinh trưởng của vi sinh vật khi pH biến hóa quá lớn. Phosphat là chất đệm thường được sử dụng, điển hình là muối $H_2PO_4^-$ acid yếu và muối HPO_4^{2-} kiềm yếu :



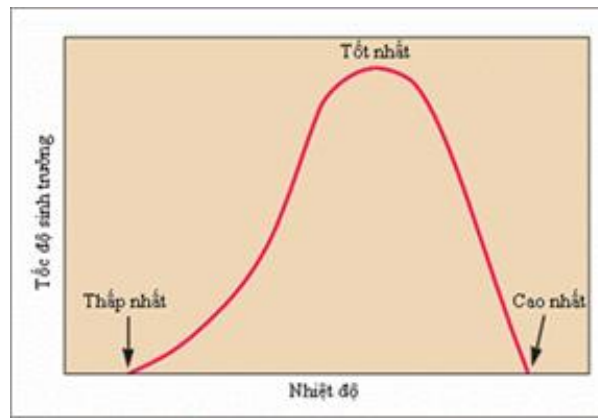
Nếu bổ sung H^+ vào hệ thống đệm nó sẽ kết hợp với HPO_4^{2-} để tạo ra acid yếu. Nếu bổ sung OH^- vào hệ thống đệm nó sẽ kết hợp với $H_2PO_4^-$ để tạo thành nước. Như vậy là

pH môi trường không bị biến hóa quá lớn. Trong các môi trường phức tạp thì peptid và các acid amin cũng có năng lực đệm (buffering effect) rất mạnh.

Nhiệt độ

Cũng giống như các sinh vật khác, nhiệt độ của môi trường cũng có ảnh hưởng rất lớn đối với vi sinh vật. Trên thực tế, do vi sinh vật thường là các sinh vật đơn bào cho nên chúng rất mẫn cảm với sự biến hóa của nhiệt độ, và thường bị biến hóa cùng với sự biến hóa về nhiệt độ của môi trường xung quanh. Chính vì vậy, nhiệt độ của tế bào vi sinh vật cũng phản ánh trực tiếp nhiệt độ của môi trường xung quanh. Một nhân tố quyết định ảnh hưởng của nhiệt độ đối với sự sinh trưởng của vi sinh vật đó là tính mẫn cảm với nhiệt độ của các phản ứng xúc tác nhờ enzym. Trong phạm vi nhiệt độ thấp, khi nhiệt độ tăng lên sẽ làm tăng tốc độ sinh trưởng của vi sinh vật, vì phản ứng xúc tác nhờ enzyme cũng giống như các phản ứng hóa học nói chung, khi nhiệt độ tăng lên 10^0C tốc độ phản ứng sẽ tăng gấp đôi. Vì các phản ứng trong tế bào đều tăng cho nên toàn bộ hoạt động trao đổi chất sẽ tăng lên khi nhiệt độ cao hơn, và vi sinh vật sẽ sinh trưởng nhanh hơn. Lúc nhiệt độ tăng lên đến một mức độ nhất định thì nhiệt độ càng tăng tốc độ sinh trưởng càng giảm. Khi nhiệt độ tăng quá cao vi sinh vật sẽ chết. Khi nhiệt độ quá cao sẽ gây ra sự biến tính của enzym, của các thể vận chuyển (transport carriers) và các protein khác. Màng sinh chất sẽ bị tổn thương vì hai lớp lipid sẽ bị hòa tan. Do đó mặc dầu ở nhiệt độ càng cao các phản ứng xúc tác tiến hành càng nhanh nhưng do các nguyên nhân nói trên mà tế bào bị tổn thương đến mức khó hồi phục và dẫn đến việc ức chế sinh trưởng. Tại điều kiện nhiệt độ rất thấp màng sinh chất bị kết đông lại, enzyme cũng ngừng hoạt động. Nói chung, nếu vượt quá nhiệt độ tốt nhất đối với vi sinh vật, chức năng và kết cấu tế bào đều bị ảnh hưởng. Nếu nhiệt độ rất thấp, tuy chức năng chịu ảnh hưởng nhưng thành phần hóa học và kết cấu không nhất thiết chịu ảnh hưởng.

Do ảnh hưởng hai mặt, vừa có lợi vừa có hại của nhiệt độ đối với vi sinh vật mà có thể xác định các loại nhiệt độ cơ bản (cardinal temperature) đối với sự sinh trưởng của vi sinh vật. Đó là nhiệt độ thấp nhất (minimum), nhiệt độ tốt nhất (optimum) và nhiệt độ cao nhất (maximum) đối với sự sinh trưởng.



Hình 14.13: Ảnh hưởng của nhiệt độ đối với tốc độ sinh trưởng của vi sinh vật (Theo sách của Prescott, Harley và Klein)

Mặc dầu đường biểu diễn ảnh hưởng của nhiệt độ đối với sinh trưởng của vi sinh vật là phụ thuộc vào từng vi sinh vật, từng điều kiện khác nhau nhưng nhiệt độ tốt nhất thường gần với nhiệt độ cao nhất hơn là so với nhiệt độ thấp nhất. Ba nhiệt độ cơ bản của cùng một loài vi sinh vật không phải là cố định mà thường phụ thuộc vào pH, thức ăn và các nhân tố khác. Chẳng hạn, một loại động vật nguyên sinh có tiên mao là *Crithidia fasciculata* sống trong đường tiêu hóa của muỗi có thể sinh trưởng trên môi trường đơn giản ở nhiệt độ 22-27⁰C nhưng ở nhiệt độ 33-34⁰C thì lại không sinh trưởng được nếu không bổ sung vào môi trường ion kim loại, acid amin, vitamin và lipid.

Nhiệt độ cơ bản của các vi sinh vật khác nhau là khác nhau rất nhiều. Nhiệt độ tốt nhất có thể thấp từ 0⁰C đến cao tới 75⁰C. Nhiệt độ thấp nhất để sinh trưởng có thể đến -20⁰C. Nhiệt độ cao nhất có thể vượt quá 100⁰C. Nhân tố chủ yếu quyết định phạm vi sinh trưởng này có thể là nước. Ngay trong điều kiện tối cực đoan thì vi sinh vật cũng cần có nước ở trạng thái dịch thể mới có thể sinh trưởng. Đối với số đông vi sinh vật thì phạm vi nhiệt độ sinh trưởng thường trong khoảng 30⁰C. Một số vi sinh vật (như Cầu khuẩn lậu - *Nisseria gonorrhoeae*) có phạm vi nhiệt độ sinh trưởng rất hẹp. Trong khi đó cũng có những vi sinh vật (như *Enterococcus faecalis*) lại có phạm vi nhiệt độ sinh trưởng rất rộng. Nhiệt độ sinh trưởng cao nhất là khác nhau giữa các nhóm lớn vi sinh vật. Nhiệt độ sinh trưởng cao nhất đối với động vật nguyên sinh (protozoa) là 50⁰C. Một số tảo và nấm có thể sinh trưởng ở nhiệt độ cao tới 55-60⁰C. Một số vi sinh vật nhân nguyên thủy có thể sinh trưởng ở 100⁰C (nhiệt độ nước sôi) hay gần như vậy. Gần đây người ta còn phát hiện thấy có những vi sinh vật sinh trưởng được ở cả những điều kiện nhiệt độ cao hơn 100⁰C. Đã có các thông báo cho biết đã phát hiện thấy các vi sinh vật nhân nguyên thủy tại dịch phun giàu sulphid (black smoker) ở vết nứt dưới đáy biển - nơi nhiệt độ nước cao tới 350⁰C. Những vi sinh vật này sinh trưởng, phát triển rất tốt ở nhiệt độ 113⁰C và còn có thể sinh trưởng, phát triển ở nhiệt độ cao hơn nữa. Áp suất cao ở miệng núi lửa dưới đáy biển làm cho nước ở nhiệt độ siêu cao vẫn tồn tại ở trạng thái dịch thể

(ở áp suất 265 atm nước biển sẽ sôi ở 460⁰C). Phát hiện này cho thấy protein, màng, acid nucleic của các vi sinh vật này có tính kháng nhiệt rất cao. Đây là những vật liệu rất tốt giúp cho việc nghiên cứu cơ chế ổn định của màng và các cao phân tử sinh học. Tương lai có thể nghĩ đến khả năng thiết kế các enzyme có thể phát huy tác dụng trong những điều kiện rất cao. Những enzyme bền nhiệt từ các vi sinh vật này sẽ có những ứng dụng rất quan trọng trong công nghiệp và trong nghiên cứu khoa học. Chẳng hạn men Taq polymerase nhận được từ cổ khuẩn *Thermus aquaticus* đã được ứng dụng rộng rãi trong phản ứng chuỗi polymerase. Rõ ràng là vi sinh vật nhân nguyên thủy có thể sinh trưởng được ở những nhiệt độ cao hơn vi sinh vật nhân thật. Đó là vì vi sinh vật nhân thật không có thể tạo ra được các màng cơ quan tử có chức năng tương ứng ở điều kiện nhiệt độ cao hơn 60⁰C. Ngoài ra các cơ quan quang hợp cũng hầu như không ổn định như vậy và do đó không phát hiện thấy có sự sinh trưởng của các vi sinh vật quang hợp trong môi trường nhiệt độ rất cao. Căn cứ vào phạm vi nhiệt độ sinh trưởng có thể chia vi sinh vật thành 5 nhóm.

Bảng 14.6: Phạm vi nhiệt độ (NĐ) đối với sự sinh trưởng của vi sinh vật

Vi sinh vật	NĐ thấp nhất	NĐ tốt nhất	NĐ cao nhất
VSV không quang hợp			
<i>Bacillus psychrophilus</i>	-10	23-34	28-30
<i>Micrococcus cryophilus</i>	-4	10	24
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	4	25-30	40
<i>Staphylococcus aureus</i>	6,5	30-37	46
<i>Enterococcus faecalis</i>	0	37	44
<i>Escherichia coli</i>	10	37	45
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	30	35-36	38
<i>Thermoplasma acidophilum</i>	45	59	62
<i>Bacillus stearothermophilus</i>	30	60-65	75
<i>Thermus aquaticus</i>	40	70-72	79
<i>Sulfolobus acidocaldarius</i>	60	80	85
<i>Pyrococcus abyssi</i>	67	96	102
<i>Pyrodictium occultum</i>	82	105	110
<i>Pyrolobus fumarii</i>	90	106	113

Ảnh hưởng của các nhân tố môi trường đến sự sinh trưởng của vi sinh vật

Vi khuẩn quang hợp và vi khuẩn lam			
<i>Rhodospirillum rubrum</i>	-	30-35	-
<i>Anabaena variabilis</i>	-	35	-
<i>Osillatoria tenuis</i>	-	-	45-47
<i>Synechococcus eximius</i>	70	79	84
Tảo nhân thật			
<i>Chlamydomonas nivalis</i>	-36	0	4
<i>Fragilaria sublinearis</i>	-2	5-6	8-9
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	-	25-26	29
<i>Euglena gracilis</i>	-	23	-
<i>Skeletonema costatum</i>	6	16-26	>28
<i>Cyanidium caldarium</i>	30-34	45-50	56
Nấm			
<i>Candida scottii</i>	0	4-15	15
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	1-3	28	40
<i>Mucor pusillus</i>	21-23	45-50	50-58
Động vật nguyên sinh			
<i>Amoeba proteus</i>	4-6	22	35
<i>Naegleria fowleri</i>	20-25	35	40
<i>Trichomonas vaginalis</i>	25	32-39	42
<i>Paramecium caudatum</i>		25	28-30
<i>Tetrahymena pyriformis</i>	6-7	20-25	33
<i>Cyclidium citrullus</i>	18	43	47

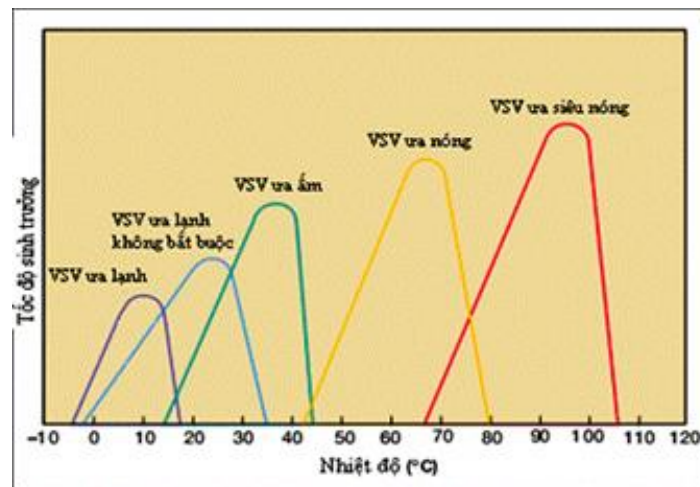
Vi sinh vật ưa lạnh (Psychrophile): Đó là các vi sinh vật có thể sinh trưởng ở 0⁰C, sinh trưởng tốt nhất ở 15⁰ C hay thấp hơn, nhiệt độ cao nhất chỉ là khoảng 20⁰C. Tại Nam cực và Bắc cực dễ dàng phân lập các vi sinh vật thuộc nhóm này. Vì có tới 90% nước biển thấp hơn hay bằng 5⁰C nên tại đó có lượng lớn các vi sinh vật ưa lạnh. *Chlamydomonas nivalis* là một loài tảo ưa lạnh, chúng sinh bào tử màu đỏ tươi làm cho khối băng tuyết có màu phấn hồng (pink). Phần lớn vi khuẩn ưa lạnh thuộc về các chi

Ảnh hưởng của các nhân tố môi trường đến sự sinh trưởng của vi sinh vật

Pseudomonas, *Vibrio*, *Alcaligenes*, *Bacillus*, *Arthrobacter*, *Moritella*, *Photobacterium*, và *Shewanella*. Cổ khuẩn *Methanogenum* ưa lạnh gần đây đã được phân lập tại hồ Ace ở Châu Nam cực. Vi sinh vật ưa lạnh thông qua nhiều loại phương thức để thích ứng được với môi trường lạnh. Chúng phát huy cơ chế rất tốt để tổng hợp protein, enzym, các hệ thống vận chuyển. Màng tế bào của vi sinh vật ưa lạnh có chứa nhiều các acid béo không bão hòa, có thể giữ được trạng thái chất bán lưu (semifluid) khi gặp lạnh. Tuy nhiên nhiều vi sinh vật ưa lạnh ở nhiệt độ cao hơn 20⁰C màng tế bào sẽ bị phá hại.

Nhiều vi sinh vật sinh trưởng tốt nhất ở nhiệt độ 20-30⁰ C, nhiệt độ cao nhất là cao hơn 35⁰C, nhưng chúng vẫn có thể sinh trưởng trong điều kiện 0-7⁰C. Chúng thuộc về nhóm **ưa lạnh không bắt buộc** (Psychrotrophs hay facultative psychrophiles). Những vi khuẩn và nấm thuộc nhóm này là nguyên nhân chính làm hư hỏng thực phẩm giữ lạnh.

Vi sinh vật ưa ấm (Mesophile): Đó là các vi sinh vật sinh trưởng tốt nhất ở 20-45⁰C, nhiệt độ sinh trưởng thấp nhất là 15-20⁰C. Nhiệt độ sinh trưởng cao nhất là khoảng 45⁰C hoặc thấp hơn. Phần lớn vi sinh vật là thuộc về nhóm này. Hầu như mọi vi khuẩn gây bệnh cho người đều là vi sinh vật ưa ấm, bởi vì thân nhiệt của người là 37⁰C.



Hình 14.14 :Phạm vi nhiệt độ sinh trưởng của vi sinh vật

(Theo sách của Prescott, Harley và Klein).

Vi sinh vật ưa nhiệt (Thermophile): Đó là các vi sinh vật sinh trưởng được ở nhiệt độ 55⁰C hay cao hơn nữa. Nhiệt độ sinh trưởng tốt nhất đối với chúng là 33-65⁰C. Thành phần chủ yếu của nhóm này là vi khuẩn (chủ yếu là xạ khuẩn), một ít tảo và nấm (bảng 14.6). Chúng phát triển trong đồng phân chuồng ủ, dưới đáy các cột rơm rạ hay cỏ khô, trong đường dẫn nước nóng, trong các suối nước nóng...Vi sinh vật ưa nóng khác với vi sinh vật ưa ấm ở chỗ chúng có hệ thống tổng hợp enzyme và protein bền nhiệt (heat-

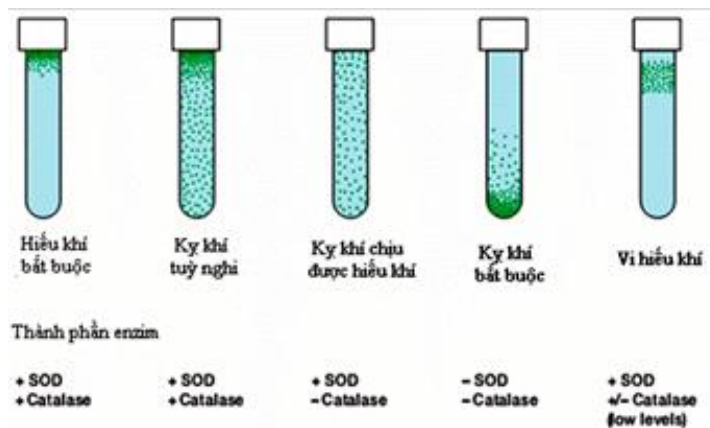
Ảnh hưởng của các nhân tố môi trường đến sự sinh trưởng của vi sinh vật

stable) và có thể hoạt động ở nhiệt độ cao. Màng sinh học của chúng có lipid bão hòa ở mức cao, có điểm sôi cao hơn và vì vậy vẫn giữ được nguyên vẹn ở nhiệt độ cao.

Có một số ít các vi sinh vật ưa nhiệt có thể sinh trưởng ở nhiệt độ 90°C hay cao hơn. Nhiệt độ sinh trưởng cao nhất là 100°C . Người ta xếp các vi sinh vật có nhiệt độ sinh trưởng tốt nhất ở $80-113^{\circ}\text{C}$ vào nhóm **Vi sinh vật ưa siêu nóng** (Hyperthermophiles). Chúng thường không thể sinh trưởng bình thường ở nhiệt độ thấp hơn 55°C . Vi khuẩn *Pyrococcus abyssi* và *Pyrodictium occultum* là ví dụ về những vi sinh vật ưa siêu nhiệt được tìm thấy ở những đáy biển nóng.

Nồng độ oxygen

Các vi sinh vật sinh trưởng trong điều kiện có oxygen được gọi là **vi sinh vật hiếu khí** (aerobe), còn các vi sinh vật sinh trưởng trong điều kiện không có oxygen được gọi là các **vi sinh vật kỵ khí** (anaerobe). Hầu hết các cơ thể đa bào đều phải cần sinh trưởng trong điều kiện có oxygen, chúng là các sinh vật **hiếu khí bắt buộc** (obligate aerobes). Oxygen là chất nhận điện tử cuối cùng trong chuỗi vận chuyển điện tử khi hô hấp hiếu khí. Ngoài ra, các vi sinh vật nhân thật (eucaryotes) hiếu khí còn dùng oxygen để tổng hợp sterol và các acid béo không bão hòa. Các vi sinh vật **kỵ khí không bắt buộc** (facultative anaerobes) không cần oxygen để sinh trưởng nhưng khi có oxygen thì sinh trưởng tốt hơn. Khi có oxygen chúng sử dụng phương thức hô hấp hiếu khí. Các vi sinh vật **kỵ khí chịu oxygen** (aerotolerant anaerobes) như vi khuẩn *Enterococcus faecalis* có thể sinh trưởng như nhau trong điều kiện có oxygen cũng như không có oxygen. Ngược lại, vi khuẩn *Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Clostridium pasteurianum*, *Methanococcus*.... sẽ bị chết khi có oxygen.



Hình 14.15: Oxygen và sự sinh trưởng của vi khuẩn

Chú thích: Các nhóm vi sinh vật xem trong bài

Ảnh hưởng của các nhân tố môi trường đến sự sinh trưởng của vi sinh vật

Mỗi chấm biểu hiện khuẩn lạc của vi khuẩn trong hay trên bề mặt môi trường. SOD và catalase là biểu thị vi khuẩn có tồn tại enzyme superoxide dismutase và catalase hay không?(Theo sách của Prescott, Harley và Klein)

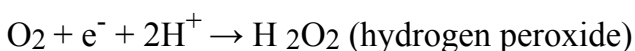
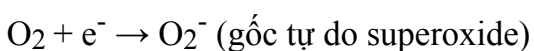
Vi sinh vật kỵ khí chịu oxygen và vi sinh vật kỵ khí bắt buộc không sinh năng lượng thông qua quá trình hô hấp, chúng thu được năng lượng thông qua quá trình lên men hay hô hấp kỵ khí (anaerobic respiration). Sau cùng, phải kể đến nhóm vi sinh vật **vi hiếu khí** (microaerophiles), chúng không sinh trưởng được trong điều kiện không khí bình thường (20% O₂) và cần sinh trưởng trong điều kiện nồng độ O₂ khoảng 2-10%. Quan hệ giữa vi sinh vật và oxygen có thể xác định bằng một thí nghiệm đơn giản như sau: nuôi cấy vi sinh vật trong ống nghiệm chứa môi trường đặc hoặc môi trường đặc biệt như môi trường chứa thioglycollate (là chất khử làm giảm nồng độ oxygen trong môi trường).

Cùng một nhóm vi sinh vật có thể có nhiều loại quan hệ khác nhau với O₂. Cả 5 loại hình đều có thể thấy ở vi sinh vật nhân nguyên thủy (prokaryotes) và động vật nguyên sinh. Nấm thường là hiếu khí, chỉ trừ một số loài đặc biệt, nhất là nấm men, thuộc loại kỵ khí không bắt buộc. Tảo hầu như đều thuộc loại hiếu khí bắt buộc. Đáng chú ý là năng lực có thể sinh trưởng cả trong môi trường hiếu khí lẫn môi trường kỵ khí làm cho vi sinh vật có tính linh hoạt cao và đó chính là một loại ưu thế sinh thái học.

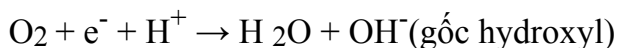
Mặc dầu O₂ có thể làm chết các vi sinh vật kỵ khí bắt buộc, nhưng trong môi trường hiếu khí vẫn có thể phân lập được chúng. Đó là do chúng thường sống chung với loại kỵ khí không bắt buộc và bộ này tiêu thụ hết O₂, tạo nên môi trường kỵ khí cục bộ giúp cho vi sinh vật kỵ khí bắt buộc có thể sinh trưởng được. Ví dụ trong khoang miệng vi khuẩn kỵ khí bắt buộc *Bacteroides gingivalis* có thể sinh trưởng được trong các khe kỵ khí quanh răng.

Sự khác biệt trong quan hệ của vi sinh vật với O₂ do nhiều nguyên nhân khác nhau, bao gồm việc bất hoạt của protein và tác dụng độc hại của O₂ trong điều kiện hiếu khí. Các enzyme có thể bị bất hoạt khi các nhóm mẫn cảm như sulfhydryls bị oxy hóa. Chẳng hạn như enzyme cố định đạm nitrogenase là loại rất mẫn cảm với O₂.

Vì hai điện tử bên ngoài của oxygen không thành cặp do đó rất dễ tiếp nhận điện tử và bị khử. Flavoprotein, một số thành phần tế bào khác và sự bức xạ đều có thể thúc đẩy việc khử oxy, tạo thành các sản phẩm khử như gốc tự do superoxide, hydrogen peroxide, gốc hydroxyl.

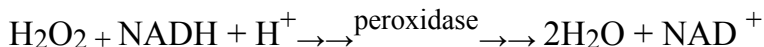
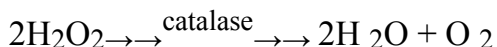
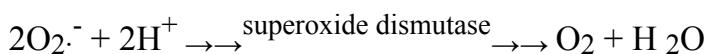


Ảnh hưởng của các nhân tố môi trường đến sự sinh trưởng của vi sinh vật



Các sản phẩm khử oxy này là cực kỳ có hại vì chúng là các chất oxy hóa mạnh và phá hủy nhanh chóng các thành phần tế bào. Vi sinh vật nào phải có năng lực tự chống lại được các sản phẩm khử này mới tránh khỏi bị tiêu diệt. Bạch cầu trung tính (neutrophils) và đại thực bào (macrophage) đã lợi dụng các sản phẩm độc hại này để tiêu diệt các vi sinh vật gây bệnh xâm nhập cơ thể.

Nhiều vi sinh vật sinh ra các enzyme để chống lại các sản phẩm khử độc hại này. Vi khuẩn hiếu khí bắt buộc và vi khuẩn kỵ khí không bắt buộc thường chứa các enzyme như superoxide dismutase (SOD) và catalase, chúng phân biệt xúc tác việc phá hủy gốc superoxide và hydrogen peroxide. Peroxidase cũng có thể dùng để phá hủy hydrogen peroxide:



Vi sinh vật kỵ khí chịu oxygen có thể thiếu catalase nhưng hầu hết luôn có superoxide dismutase. Vi khuẩn kỵ khí chịu oxygen *Lactobacillus plantarum* dùng ion Mn^{2+} thay thế SOD để phân giải gốc tự do của superoxide. Tất cả các vi sinh vật kỵ khí bắt buộc đều không có hai loại enzyme nói trên hoặc có với nồng độ rất thấp và do đó không có năng lực chống chịu được với oxygen.

Vì vi sinh vật hiếu khí cần O_2 , trong khi vi sinh vật kỵ khí lại bị chết vì O_2 , cho nên việc nuôi cấy hai nhóm này phải bằng các phương pháp hoàn toàn khác nhau. Lúc nuôi cấy khối lượng lớn vi sinh vật hiếu khí phải nuôi cấy trên máy lắc hay phải thổi không khí vô khuẩn vào bình (hay nồi) nuôi cấy. Còn khi nuôi cấy vi khuẩn kỵ khí thì phải loại bỏ hết O_2 . Có thể dùng các phương pháp sau đây:

- Sử dụng môi trường kỵ khí đặc biệt, có chứa các chất khử như thioglycolate hay cysteine. Khi chế tạo môi trường cần đun lên để làm tan các thành phần và cũng đồng thời loại trừ hết O_2 hòa tan trong môi trường. Khi đó vi sinh vật kỵ khí có thể mọc được lên trên bề mặt môi trường.

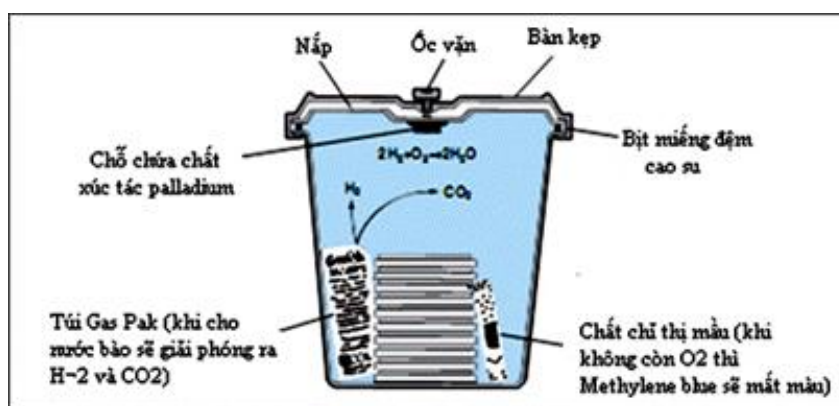
- Nuôi cấy trong các tủ nuôi cấy kỵ khí (anaerobic work chamber) đã hút chân không và bổ sung bằng khí nitrogen. Thường còn cần bổ sung cả khí CO_2 bởi vì nhiều vi khuẩn kỵ khí sinh trưởng tốt khi có tồn tại một lượng nhỏ khí CO_2 .

Ảnh hưởng của các nhân tố môi trường đến sự sinh trưởng của vi sinh vật

- Một phương pháp rất phổ biến khi nuôi cấy một lượng nhỏ vi sinh vật kỵ khí là dùng bình kỵ khí (Gas Pak jar). Trong hệ thống này lợi dụng H_2 và chất xúc tác palladium để làm cho O_2 kết hợp với H_2 tạo thành nước để không còn O_2 trong môi trường. Các chất khử đưa vào môi trường thạch cũng có thể giúp loại bỏ O_2 .

- Có thể dùng túi nhựa để tạo ra các môi trường kỵ khí khi nuôi cấy một lượng nhỏ các vi sinh vật kỵ khí. Trong túi nhựa chứa $CaCO_3$ và chất xúc tác để tạo ra điều kiện kỵ khí giàu CO_2 . Một dung dịch đặc biệt được đưa vào túi nhựa sau đó đưa hộp lồng (hộp Petri) hay các dụng cụ nuôi cấy khác vào và hàn kín túi nhựa lại.

Tùy từng trường hợp cụ thể mà sử dụng các phương pháp nuôi cấy kỵ khí khác nhau.



Hình 14.17: Nuôi cấy vi sinh vật kỵ khí trong các bình kỵ khí.(Theo sách của Prescott,Harley và Klein).

Áp suất (Pressure)

Phần lớn vi sinh vật có thể sống trên lục địa hay trên bề mặt nước, là những nơi có áp suất không khí là 1 atm (atmosphere) và không chịu ảnh hưởng rõ rệt gì của áp suất này. Nhưng đáy biển (nơi có độ sâu 1000m trở lên) lại chiếm đến 75% thể tích đại dương. Ở những nơi đó áp suất cao đến 600-1000m, nhiệt độ lạnh tới 2-3 °C. Trong môi trường cực đoan (extreme) như vậy vẫn có một số vi sinh vật thích ứng để tồn tại. Phần lớn thuộc về nhóm **chịu áp** (barotolerant). Tuy áp suất tăng lên cao sẽ có ảnh hưởng đến chúng, nhưng ảnh hưởng bất lợi này nhỏ hơn nhiều khi so với các vi sinh vật **không chịu áp** (nontolerant). Một số vi khuẩn sống trong đường tiêu hóa của những động vật không xương sống ở dưới biển sâu (như amphipods và holothurians) là những vi khuẩn **ưa áp** (barophilic). Chúng sinh trưởng càng nhanh trong điều kiện áp suất cao. Chúng có vai trò quan trọng trong vòng tuần hoàn các chất dinh dưỡng dưới đáy biển. Tại khe biển Mariana gần Philippine (sâu khoảng 10 500m) người ta đã phân lập được những vi khuẩn ưa áp có thể sinh trưởng trong điều kiện 2°C với áp suất khoảng 400-500atm. Những vi khuẩn này hiện đã biết là thuộc về các chi *Photobacterium*, *Shewanella*, *Colwellia*... Một số thuộc về Cổ khuẩn **vừa ưa áp vừa ưa nhiệt** (thermobarophiles), chẳng hạn như *Pyrococcus* spp., *Methanococcus jannaschii*...

Bức xạ (Radiation)

Thế giới mà chúng ta đang sống đầy các loại bức xạ điện từ trường (electromagnetic radiation). Các bức xạ này hình thành như sóng trên mặt nước và lan truyền trong không khí. Cự ly giữa hai đỉnh sóng hay cuối sóng được gọi là độ dài sóng (wavelength). Khi độ dài sóng giảm đi thì năng lượng bức xạ tăng lên. Tia gamma hay tia X có năng lượng cao hơn bức xạ của ánh sáng nhìn thấy (ánh sáng khả kiến) hay tia hồng ngoại. Bức xạ điện từ trường còn giống như một dòng năng lượng hợp bởi các photon (quang tử). Mỗi photon đều có năng lượng nhất định, năng lượng cao hay thấp quyết định bởi độ dài sóng của bức xạ.

Ánh sáng mặt trời là nguồn bức xạ chủ yếu trên trái đất, bao gồm ánh sáng khả kiến (visible light), tia tử ngoại (ultraviolet), tia hồng ngoại (infrared rays) và sóng radio (vô tuyến điện). Ánh sáng khả kiến là loại thường thấy và quan trọng nhất trong môi trường chung quanh chúng ta: mọi sự sống đều phụ thuộc vào các cơ thể có khả năng quang hợp dựa vào năng lượng của mặt trời. Bức xạ mặt trời có 60% nằm ở vùng tia hồng ngoại chứ không phải ở vùng ánh sáng khả kiến. Tia hồng ngoại là nguồn nhiệt lượng chủ yếu của trái đất. Ở tầng mặt biển chỉ thấy có rất ít bức xạ tử ngoại 290-300nm (nanometre). Tia tử ngoại có bước sóng thấp hơn 287nm hấp thụ bởi oxygen trong không khí và tạo ra tầng ozone (O₃) ở độ cao cách mặt đất khoảng 25-50km. Tầng ozone hấp thụ các tia tử ngoại bước sóng tương đối dài và giải phóng ra O₂. Bởi vì tia tử ngoại rất có hại cho sinh vật nên việc tầng ozone tiêu trừ bớt tia tử ngoại là có tác dụng rất quan trọng đối với sự sống trên trái đất. Vì các loại bước sóng trong ánh sáng mặt trời phân bố đồng

Ảnh hưởng của các nhân tố môi trường đến sự sinh trưởng của vi sinh vật

đều trong phạm vi ánh sáng khả kiến cho nên ta thấy ánh sáng mặt trời cơ bản có màu “trắng”.

Nhiều bức xạ điện từ trường là rất có hại đối với vi sinh vật, nhất là các bức xạ có bước sóng ngắn, cao năng lượng là các bức xạ ion hóa (ionizing radiation), chúng làm nguyên tử mất đi điện tử (electron) hoặc ion hóa (ionize). Có hai loại bức xạ ion hóa. Một là, tia X tạo ra bởi con người, hai là, tia gamma (tia γ) sinh ra trong quá trình tan rã các đồng vị phóng xạ (radioisotope). Bức xạ ion hóa mức thấp sẽ làm sản sinh các đột biến (mutations) và gián tiếp làm chết vi sinh vật. Bức xạ ion hóa cao sẽ trực tiếp giết chết vi sinh vật. Mặc dầu vi sinh vật có tính đề kháng cao hơn về các bức xạ ion hóa so với các sinh vật khác, nhưng với liều lượng đủ cao chúng sẽ giết hết vi sinh vật. Chính vì vậy có thể dùng bức xạ ion hóa để diệt khuẩn. Tuy vậy, một số sinh vật nhân nguyên thủy (như vi khuẩn *Deinococcus radiodurans* và các vi khuẩn sinh vật sinh bào tử) có thể vẫn tồn tại được ngay cả ở các mức bức xạ ion hóa khá cao.

Bức xạ ion hóa gây cho tế bào rất nhiều biến hóa, có thể phá vỡ liên kết hydro, oxy hóa liên kết đôi, phá hủy cấu trúc vòng, cao phân tử hóa một số phân tử. Oxygen có thể làm tăng các hiệu ứng này, có thể là do việc sản sinh gốc tự do hydroxyl (OH-)... Mặc dầu có rất nhiều thành phần tế bào chịu ảnh hưởng, nhưng nguyên nhân quan trọng nhất gây chết là sự phá hủy ADN.

Vì bước sóng ngắn (10-400nm) có năng lượng cao cho nên bức xạ tử ngoại (Ultraviolet radiation) có thể tiêu diệt các loại vi sinh vật. Bức xạ tử ngoại (UV) mạnh nhất ở bước sóng 260nm. Chúng dễ bị ADN hấp thụ, làm cho trên 1 sợi đơn ADN hình thành những song phân tử (dimers) thymine, chúng làm ức chế quá trình tái tạo (replication) và công năng của ADN. Thiệt hại này có thể được sửa chữa qua một số con đường. Theo con đường quang hoạt hóa một loại enzyme quang hoạt hóa sử dụng ánh sáng xanh lam để tách song phân tử thymine. Trong hoạt hóa tối một đoạn ngắn ADN có chứa các song phân tử thymine có thể bị cắt rời và đổi chỗ để thành một đoạn ADN bình thường. Thiệt hại này cũng có thể sửa chữa nhờ các protein recA trong quá trình tái tổ hợp (recombination) hoặc quá trình SOS. Thiệt hại không có thể được khắc phục nếu như liều lượng UV quá lớn, tạo nên những tổn thất quá nặng.

Mặc dầu bức xạ UV quá nhỏ (thấp hơn 290 và 300nm) khó có thể lọt xuống bề mặt trái đất, bức xạ UV nhưng bước sóng 325-400nm cũng có thể gây hại cho vi sinh vật. Chúng phân cắt tryptophan thành những quang sản phẩm (photoproducts) độc hại. Những sản phẩm này tác dụng đồng thời với các bức xạ gần tử ngoại làm phá vỡ sợi ADN. Cơ chế cụ thể của tác dụng này không giống với cơ chế tác dụng của UV với bước sóng 260nm.

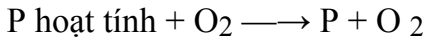
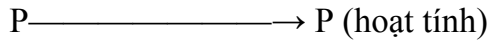
Ánh sáng khả kiến là nguồn năng lượng chủ yếu của quá trình quang hợp.

(photosynthesis) vì vậy rất cần cho các sinh vật. Nhưng nếu ánh sáng khả kiến quá mạnh sẽ có thể gây hại hay làm chết vi sinh vật. Tham gia vào quá trình này có một loại sắc

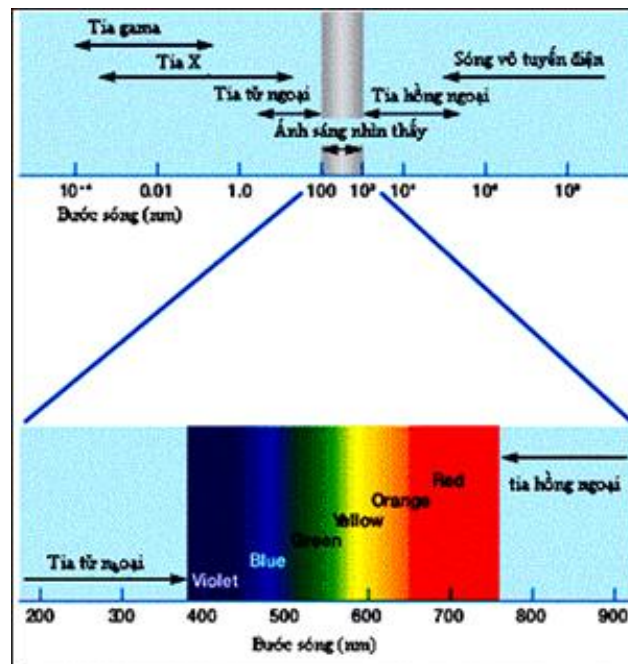
Ảnh hưởng của các nhân tố môi trường đến sự sinh trưởng của vi sinh vật

tổ gọi là chất quang mẫn (photosensitizers) và oxygen. Các sắc tố ở vi sinh vật như chlorophyll, bacteriochlorophyll, cytochromes, và flavin có thể hấp thụ ánh sáng mặt trời và bị kích hoạt tạo ra các chất quang mẫn. Các chất quang mẫn (P) khi bị kích hoạt có thể chuyển năng lượng cho O_2 để làm ra oxygene đơn - singlet oxygen (1O_2).

Ánh sáng



Oxygeng đơn là chất có hoạt tính rất mạnh, là chất oxy hóa mạnh có thể phá hủy nhanh chóng tế bào, chúng cũng là nhân tố chủ yếu được các đại thực bào (phagocytes) dùng để diệt khuẩn.



Hình 14.18: Phạm vi bước sóng của các bức xạ điện từ trường - Phân ánh sáng khả kiến được trình bày phía dưới. (Theo sách của Prescott, Harley và Klein).

Nhiều vi sinh vật trong không khí hoặc sống trên bề mặt các vật tiếp xúc với không khí sử dụng sắc tố carotenoid để bảo vệ chống lại với quang oxy hóa (photooxidation). Carotenoid có thể làm phá hủy các oxygen đơn, hấp thụ năng lượng của oxygen đơn và biến thành trạng thái phi hoạt tính. Cả các vi sinh vật quang hợp lẫn vi sinh vật không quang hợp đều sử dụng sắc tố vào mục đích này.