



**ĐẠI HỌC CẦN THƠ - KHOA NÔNG NGHIỆP**  
**GIÁO TRÌNH GIẢNG DẠY TRỰC TUYẾN**

Đờng 3/2, Tp. Cần Thơ. Tel: 84 71 831005, Fax: 84 71 830814

Website: <http://www.ctu.edu.vn/knn> email: [dminh@ctu.edu.vn](mailto:dminh@ctu.edu.vn), [vtanh@ctu.edu.vn](mailto:vtanh@ctu.edu.vn)

---

**VI SINH ĐẠI CƯƠNG**

**CHƯƠNG 8:**  
**DI TRUYỀN VÀ BIẾN DỊ Ở VI SINH VẬT**

## CHƯƠNG VIII

**DI TRUYỀN VÀ BIẾN DỊ Ở VI SINH VẬT**

\*\*\*\*

**I. SỰ SINH SẢN HỮU TÍNH Ở VI SINH VẬT :**

Ngoại trừ virút, vi sinh vật Nhân Thực và vi sinh vật Nhân Nguyên đều có truyền các tính trạng di truyền của cha mẹ sang thế hệ con cháu. Tuy nhiên cách thức truyền các tính trạng di truyền có khác nhau nhiều ở hai nhóm vi sinh vật này vì sự khác nhau căn bản của chúng trong cấu trúc nhân tế bào.

**1. Sự sinh sản hữu tính ở vi sinh vật Nhân Thực :**

Ở vi sinh vật Nhân Thực, sinh sản hữu tính xảy ra một cách hoàn toàn (đầy đủ các giai đoạn, giống như ở sinh vật cao cấp hơn) do sự phối hợp nhiễm sắc thể của hai nhân mang hai tính khác nhau trên cùng cá thể hoặc trên hai cá thể khác nhau.

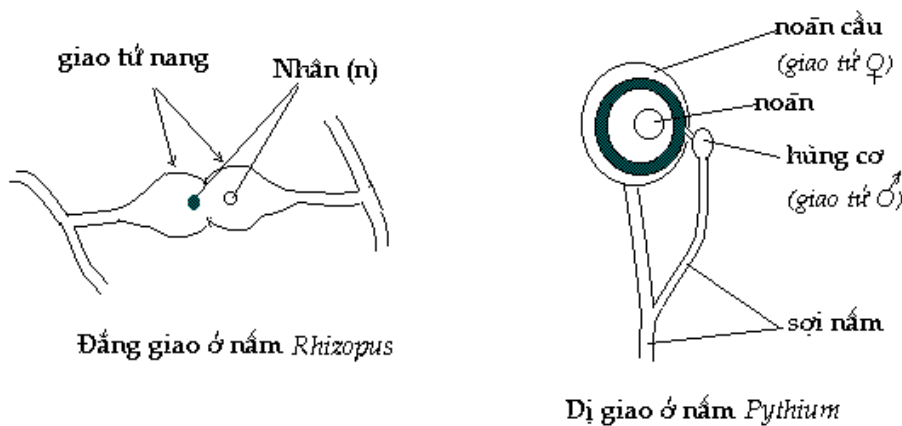
Sự sinh sản hữu tính xảy ra qua sự tiếp hợp của 2 tế bào giới tính. Tế bào giới tính này được gọi là giao tử (gamete) và thường được qui định là giao tử cái khi có hình dạng và kích thước to hơn và là giao tử đực khi có hình dạng và kích thước nhỏ hơn. Trong một số trường hợp giao tử cái là nội chứa hoặc mang các tế bào con hay bào tử sau này. Ở các trường hợp khác nữa, cả giao tử đực lẫn giao tử cái đều có kích thước và hình dạng như nhau và chúng ta tạm gán một giao tử là cái còn cái kia là đực.

Trước khi bước vào sinh sản hữu tính, vi sinh vật Nhân Thực thường có bước chuẩn bị bằng cách hình thành giao tử. Tùy thuộc loài vi sinh vật, các tế bào dinh dưỡng của vi sinh vật Nhân Thực có số lượng nhiễm sắc thể là một  $n$ , khi chuẩn bị đi vào sinh sản hữu tính sẽ biến đổi dần thành giao tử đực hoặc giao tử cái. Ở mỗi giao tử, tế bào có một nhân với số nhiễm sắc thể là  $n$ . Ở một số vi sinh vật khác, giao tử đực và giao tử cái không khác biệt nhau về hình dạng và kích thước và có thể có roi để di chuyển (bào tử động) hoặc không có roi. Ở các vi sinh vật khác nữa, giao tử đực luôn luôn nhỏ hơn giao tử cái, thậm chí rất nhỏ và được gọi là tinh trùng hay hùng tinh.

Sinh sản hữu tính thường xảy ra theo 4 giai đoạn :

a) Giai đoạn bào phối: Sự bào phối có thể đẳng giao hoặc dị giao (Hình 8-1). Trong trường hợp dị giao, sau khi tiếp xúc với nhau, nhân của giao tử đực tiến vào giao tử cái. Kết quả là giao tử cái trở thành tế bào có 2 nhân riêng rẽ. Còn trong trường hợp đẳng giao, khi hai giao tử nang tiếp xúc với nhau, vách phân cách của hai giao tử nang, phần tiếp xúc với nhau, bị biến mất, tế bào chất của hai giao tử nang hòa lẫn vào nhau và trở thành một tế bào có 2 nhân. Số lượng nhiễm sắc thể trong mỗi nhân là (n), và như thế, tế bào sẽ chứa (n+n) nhiễm sắc thể.

Phần giao tử đực không còn nhân nên sẽ thoái hóa dần (trường hợp dị giao). Trạng thái tế bào có 2 nhân này (n+n) có thể tồn tại rất ngắn ngủi hoặc tồn tại dưới dạng tiềm sinh một thời gian lâu dài trước khi chuyển sang giai đoạn kè. Nhưng có những trường hợp giao tử cái có 2 nhân (n+n nhiễm sắc thể) tiếp tục phân cắt nhân và hình thành các tế bào con cũng có 2 nhân và chúng tồn tại khá lâu dài trong vòng đời của mình. Thí dụ: Meo của nấm rơm *Volvaria esculenta* là những tế bào có hai nhân.



Hình 8.1: Bào phối theo lối đẳng giao và dị giao của nấm.

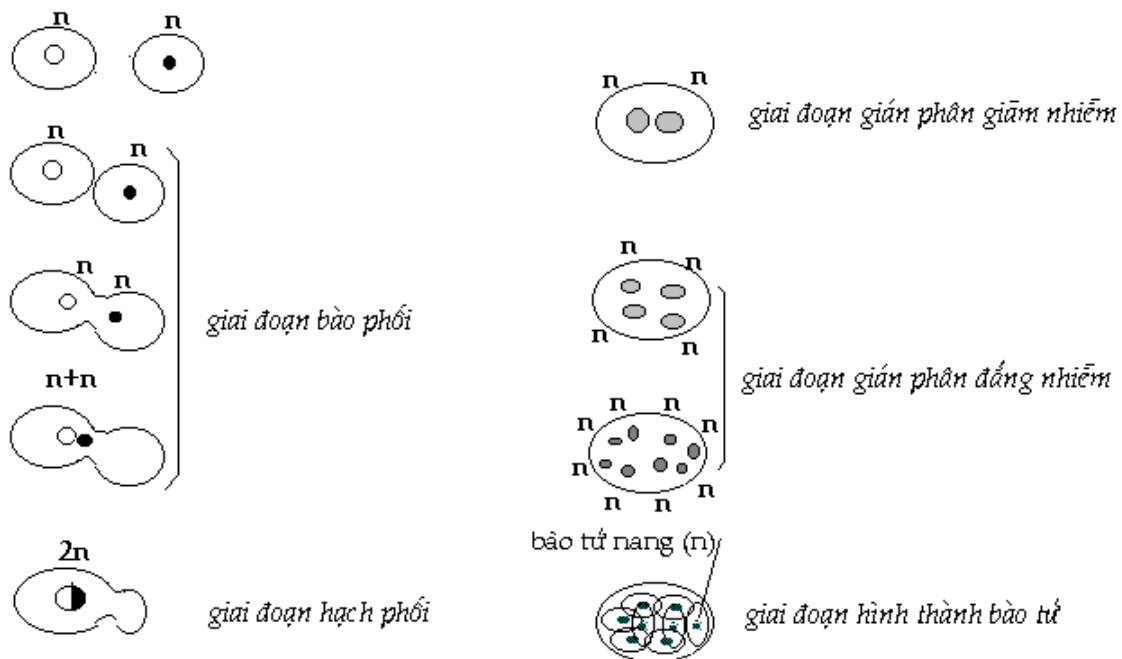
b) Giai đoạn hạch phối: hai nhân phối hợp nhau thành một nhân duy nhất có 2n nhiễm sắc thể. Đây là giai đoạn phối hợp các tín hiệu di truyền của cá thể cha và cá thể mẹ lại với nhau và chuẩn bị cho giai đoạn phân ly sau đó.

c) Giai đoạn gián phân: Nhân lần lượt trải qua nhiều lần gián phân :

- Lần đầu, gián phân giảm nhiễm (tức là phân chia các tín hiệu di truyền ra làm hai cho mỗi tế bào con một nửa) cho ra hai nhân con, mỗi nhân con chứa  $n$  nhiễm thể. Nhiệm vụ của gián phân giảm nhiễm là phân chia số nhiễm sắc thể cũng như số tín hiệu di truyền mang trên các nhiễm sắc thể ấy ra làm hai cho hai tế bào con, giúp sự phân ly tín hiệu di truyền từ hợp tử ra cho tế bào con. Và như thế hai nhân con này sẽ có các tín hiệu di truyền khác biệt nhau và cũng không hoàn toàn giống cha hoặc mẹ.

- Các lần kế tiếp, gián phân đẳng nhiễm, trong giai đoạn này, có sự tăng thêm chất liệu DNA cho các nhiễm sắc thể, để sau cùng mỗi nhiễm sắc thể được tách hai ra và cung cấp cho tế bào con số lượng tín hiệu di truyền bằng nhau, trên cùng số lượng nhiễm sắc thể giống nhau. Các lần gián phân đẳng nhiễm có nhiệm vụ nhân số nhân con lên nhiều lần để tăng mật số của cá thể con sau này hầu tăng cơ hội tồn tại cho các cá thể con, nhờ có mang các đặc tính mới.

d/ Giai đoạn thành lập bào tử: Tế bào chất tập trung quanh các nhân con và sau cùng, hình thành các tế bào con và được gọi là bào tử. (Hình 8-2).



Hình 8.2: Các giai đoạn sinh sản hữu tính ở nấm men rượu *Saccharomyces cerevisiae*

Trong sinh sản hữu tính trên đây giai đoạn hạch phối và gián phân giảm nhiễm là những giai đoạn phối hợp tính trạng di truyền của cha mẹ và phân ly tính trạng di truyền trong thế hệ con cháu.

## 2. Sự truyền các tính trạng di truyền ở vi khuẩn :

Hiện tượng sinh sản hữu tính của vi sinh vật Nhân Nguyên cũng chỉ mới được hiểu biết gần đây và chỉ trên vi khuẩn mà thôi. Từ trước, vi khuẩn và các vi sinh vật Nhân Nguyên khác, chỉ được biết là có sinh sản vô tính bằng cách phân đôi, đâm chồi. Hiện tượng tái tổ hợp các tính trạng di truyền ở vi khuẩn chỉ mới tìm biết gần sau này thôi.

Ở trong một số điều kiện, vi khuẩn cũng có thể tạo thành hợp tử (zygote), nhưng những hợp tử này không bao giờ được hình thành do sự hợp nhất hoàn toàn hai tế bào (như giai đoạn bào phối và hạch phối ở vi sinh vật Nhân Thực), mà chỉ hợp nhất một phần của tế bào cho (+) với tế bào nhận (-). Trường hợp này cho ra một hợp tử không hoàn toàn (merozygote). Các gen của tế bào cho gọi là gen ngoại sinh (exogienote), còn các gen của tế bào nhận gọi là gen nội sinh (endogienote)

Đoạn nhiễm thể của tế bào cho kết đôi với nhiễm thể của tế bào nhận ở đoạn tương ứng và các đoạn riêng lẻ của chúng trao đổi với nhau. Ở lần phân chia nhân và phân chia tế bào kế tiếp sẽ tạo ra những tế bào chỉ chứa các nhiễm sắc thể đã tái tổ hợp.

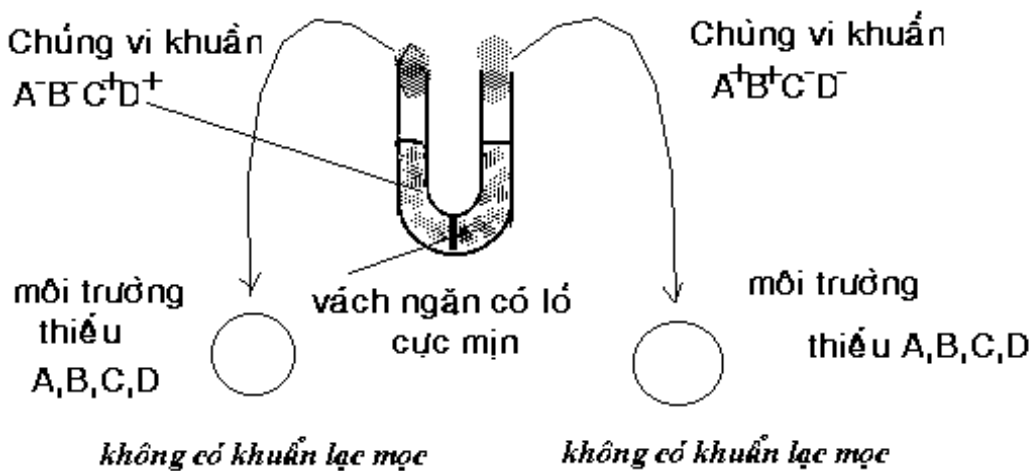
Hiện tượng di truyền các tính trạng di truyền từ tế bào cho sang tế bào nhận có thể được thực hiện theo 3 con đường cơ bản sau đây: tiếp hợp (conjugation), tải nạp (transduction) và biến nạp (transformation).

### a/ Hiện tượng tiếp hợp ở vi khuẩn :

Đã từ lâu người ta nhận thấy có sự kết đôi ở vi khuẩn nhưng chưa hiểu rõ hiện tượng này. Sau này, nhờ kính hiển vi điện tử và nhờ những thí nghiệm tỉ mỉ làm trên các chủng vi khuẩn đột biến, mới làm sáng tỏ được vấn đề: vi khuẩn có thể truyền vật liệu di truyền thông qua sự tiếp xúc trực tiếp giữa hai tế bào. Các công trình đầu tiên về sự tái tổ hợp ở vi khuẩn là do Lederberg và Tatum (1946) thực hiện. Đầu tiên, hiện tượng này chỉ mới được phát hiện ở *Escherichia coli* với tần số tiếp hợp rất thấp ( $1 \times 10^{-6}$ ). Sau đó, nhờ nghiên cứu trên các chủng đột biến của vi khuẩn này, đã tìm được những chủng đột biến có tần số tiếp hợp rất cao, hàng ngàn lần so với chủng nguyên thủy.



Tuy nhiên sự tái tổ hợp này xảy ra bằng con đường nào, các tác giả trên chứng minh bằng thí nghiệm tiếp theo sau đây. Nuôi hai chủng khuyết dưỡng acid amin kể trên, mỗi chủng ở một bên của ống thủy tinh hình chữ U, mà giữa ống có một vách ngăn có lỗ cực nhỏ không cho vi khuẩn chui qua lọt, nhưng các phân tử lớn như DNA có thể chui qua. Sau đó đem nuôi cấy trên môi trường thiếu cả 4 acid amin trên, không có khuẩn lạc nào mọc cả (Hình 8-4).



Hình 8-4: Thí nghiệm thứ hai của Lederberg & Tatum (1946)

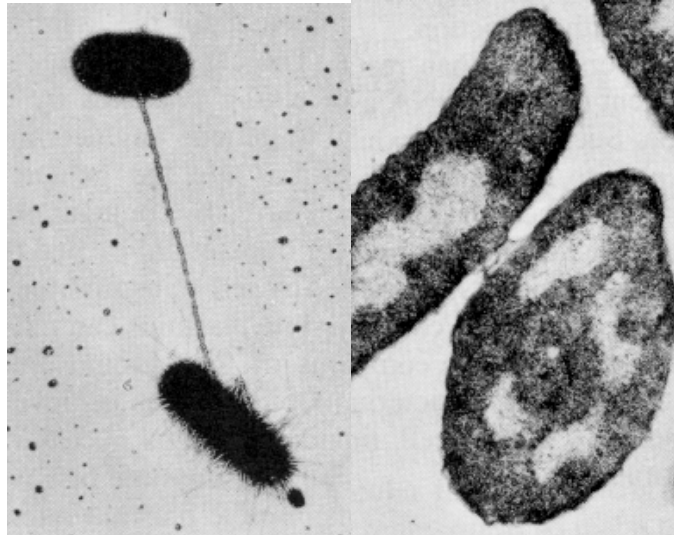
Thí nghiệm này chứng minh rằng sự tái tổ hợp các tính trạng di truyền của các chủng vi khuẩn trên đây chỉ xảy ra khi có sự tiếp xúc lẫn nhau giữa tế bào của hai chủng mà thôi.

Cách tái tổ hợp các tính trạng di truyền trên đây được gọi là hiện tượng tiếp hợp (conjugation).

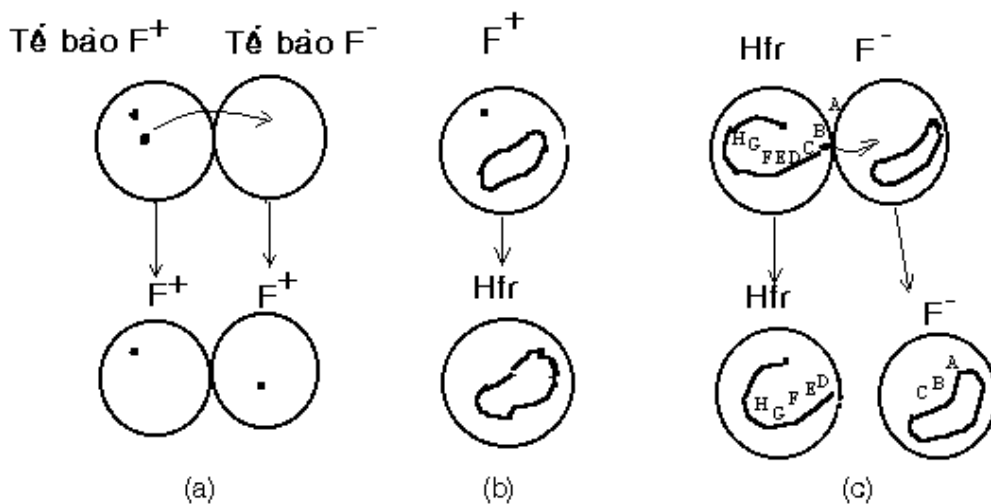
Thí nghiệm thứ ba, cho hai chủng tiếp hợp nhau, trong đó có một chủng kháng streptomycine, và khi nuôi cấy trên môi trường có streptomycine, thì sự tái tổ hợp gen chỉ xảy ra với tế bào nhận là chủng kháng streptomycine. Điều này có nghĩa là sự tái tổ hợp gen theo một hướng nhất định từ tế bào cho (doner, chủng đực) sang tế bào nhận (recipient, chủng cái), và quá trình tái tổ hợp và phân ly tính trạng xảy ra

trong tế bào nhận. (Trong thí nghiệm này tế bào nhận là chủng kháng streptomycin). Tế bào con sẽ mang phần lớn tính trạng của tế bào nhận và một số nào đó tính trạng của tế bào cho mà thôi.

Ngày nay hiện tượng tiếp hợp giữa hai chủng vi khuẩn *Escherichia coli* đã quan sát được qua kính hiển vi điện tử. Giữa hai tế bào cho và nhận hình thành một cầu nhỏ, theo đó DNA từ tế bào cho tuồn sang tế bào nhận (Hình 8-5).



**Hình 8-5:** Ảnh chụp qua kính hiển vi điện tử hiện tượng tiếp hợp của vi khuẩn *E. coli*



**Hình 8-6:** Tương quan giữa các tế bào mang yếu tố giới tính F<sup>+</sup>, F<sup>-</sup> và Hfr:

- (a) chuyển yếu tố F từ F<sup>+</sup> sang F<sup>-</sup> và tế bào F<sup>-</sup> trở thành F<sup>+</sup>
- (b) chuyển từ F<sup>+</sup> sang Hfr
- (c) chuyển một đoạn gen của Hfr sang F<sup>+</sup> vẫn giữ giới tính F<sup>-</sup>

Những tìm hiểu sâu hơn cho thấy sự tiếp hợp này có liên quan đến yếu tố giới tính F (tế bào  $F^+$ ) giữ vai trò tế bào cho lẫn nhận, còn tế bào không chứa yếu tố F (tế bào  $F^-$ ) chỉ giữ vai trò tế bào nhận mà thôi. Mỗi lần tiếp hợp tế bào  $F^+$  (tế bào cho) luôn luôn chuyển yếu tố giới tính F sang cho tế bào nhận, và tế bào nhận lúc bấy giờ sẽ chuyển sang mang  $F^+$ , và từ đây có thể giữ vai trò tế bào cho khi tiếp hợp với tế bào nhận khác (Hình 8-6).

Hiện tượng tiếp hợp chỉ có thể xảy ra giữa hai tế bào mang giới tính khác nhau (tức  $F^+$  và  $F^-$ ).

Yếu tố giới tính F chính là một đoạn DNA của phage tương ứng, và có khả năng tự tái tạo và duy trì suốt quá trình sinh sản của tế bào  $F^+$ , đồng thời có khả năng chuyển từ tế bào này sang tế bào khác một cách độc lập mà không liên quan đến các yếu tố di truyền khác. Khi tế bào  $F^-$  chuyển thành  $F^+$  (vì nhận được yếu tố F từ tế bào cho) nó vẫn giữ nguyên kiểu gen và các tính trạng khác. Điều đó cho thấy yếu tố F không gia nhập vào kiểu gen của vi khuẩn  $F^+$ , mà tồn tại độc lập như là một đoạn DNA nằm ngoài nhiễm sắc thể. Đoạn F này đã tạo ra lực tiếp hợp (mating force), để hình thành cầu nối giữa hai tế bào. Trong lúc tế bào cho truyền yếu tố F sang tế bào nhận, chưa có đoạn nhiễm sắc thể nào được truyền sang tế bào nhận.

Cũng trong năm 1946, Wollman đã phân lập được từ tế bào  $F^+$  một loại tế bào đột biến có khả năng tiếp hợp với tần số rất cao, hàng ngàn lần lớn hơn, và đặt tên là Hfr (High frequency of recombination).

Với chủng Hfr, yếu tố F trong tế bào cho, ngược lại, lại không được chuyển sang cho tế bào nhận  $F^-$  (Hfr là tế bào có mang yếu tố F) (Hình 8-6).

Từ hỗn hợp hai chủng Hfr và  $F^-$ , tác giả làm những thí nghiệm ngắt quãng quá trình tiếp hợp với những khoảng thời gian nhất định. Dùng máy khuấy mạnh để tách rời các tế bào đang tiếp hợp với nhau vào những thời điểm nhất định trên, xong cấy vào đĩa petri và nghiên cứu các chủng tái tổ hợp để biết được gen nào đã được truyền sang tế bào nhận.

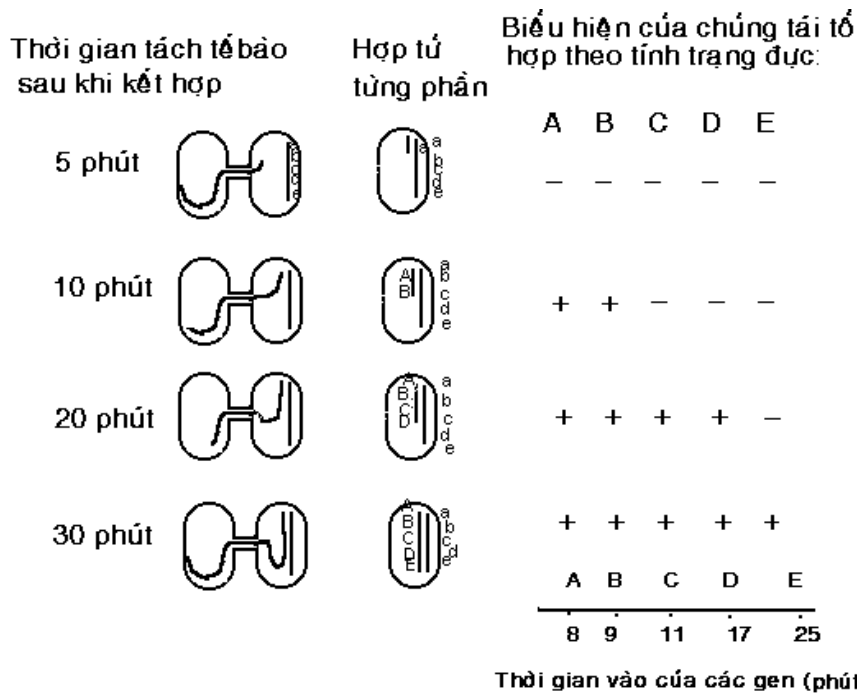
Kết quả cho thấy 5 phút đầu kể từ khi tiếp hợp vẫn không có gì xảy ra. Mỗi gen được chuyển sang tế bào nhận ở một thời điểm xác định. Thứ tự chuyển các gen theo một thời gian tương ứng với thứ tự sắp xếp của các gen trên nhiễm sắc thể của vi khuẩn (đúng với sơ đồ gen của vi khuẩn nhờ kết quả phân tích di truyền) (Hình 8-6). Điều đó có nghĩa là bất kỳ một tế bào Hfr nào của quần thể cũng chuyển nhiễm sắc thể của mình theo một kiểu giống nhau, bắt đầu từ đoạn xác định và theo một hướng nhất định. Những gen càng xa tế bào khởi đầu này thì càng sang tế bào nhận

chậm hơn. Sự chuyển hoàn chỉnh một nhiễm sắc thể của tế bào cho sang tế bào nhận kéo dài khoảng 90 phút.

Trong tế bào Hfr thì yếu tố giới tính F không ở trong trạng thái tự do mà gắn vào một điểm nào đó của hệ gen của tế bào. Vị trí yếu tố F gắn vào hệ gen (sợi DNA) qui định gen đi vào tế bào nhận sớm nhất vì yếu tố F của Hfr là vị trí đi vào tế bào nhận cuối cùng.

Ở đây cũng cho thấy tế bào Hfr khác với tế bào F<sup>+</sup> là do đột biến gắn đoạn F vào chuỗi DNA của tế bào. Ngoài ra tế bào Hfr cũng xảy ra đột biến trở lại, tức là trở về trạng thái F<sup>+</sup> (yếu tố giới tính F tách ra khỏi hệ gen và trở thành tự do trong tế bào chất). Đây là hiện tượng lại giống (reversion) sau khi bị đột biến.

Ngày nay hiện tượng tiếp hợp cũng được tìm thấy ở nhiều loại vi khuẩn khác nhau như *Salmonella typhimurium*, *Streptomyces coelicolor*, *Bacillus subtilis*, ...



**Hình 8-7:** Sơ đồ chuyển gen từ tế bào cho sang tế bào nhận ở các thời điểm khác nhau trong hiện tượng tiếp hợp ở vi khuẩn *E. coli*.

b/ Hiện tượng tái nạp : (transduction)

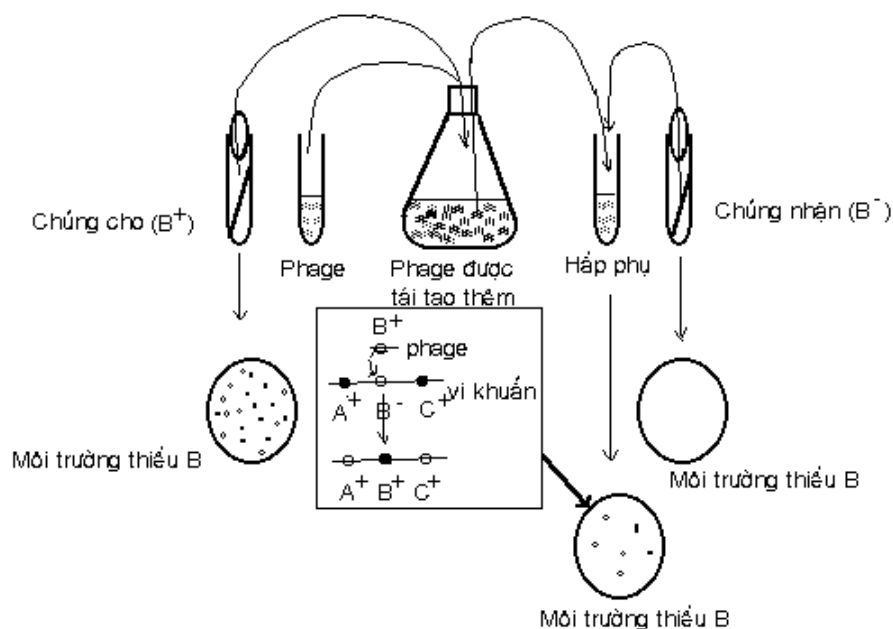
Tái nạp là hiện tượng chuyển một đoạn nhỏ DNA của tế bào cho sang tế bào nhận nhờ sự tham gia của một phage ôn hòa.

Có hai dạng tải nạp :

+ Tải nạp không đặc hiệu : là loại tải nạp có thể chuyển bất kỳ đoạn nào của DNA của tế bào cho sang tế bào nhận.

Lederberg và các cộng tác viên (1952) làm thí nghiệm với chủng đột biến của vi khuẩn *Salmonella typhimurium* như sau đây: nhiễm chủng B<sup>+</sup> của vi khuẩn này bằng P<sub>32</sub>, sau đó cho phage tương ứng vào và làm tan vi khuẩn này, kế đó tác giả chuyển phage vào huyền phù của chủng vi khuẩn B<sup>-</sup>, thì nhận được một số tế bào vi khuẩn có tính B<sup>+</sup> (Hình 8-8).

Cơ chế của sự tải nạp không đặc hiệu rất phức tạp, phage sinh sản trong tế bào cho và giải phóng ra một số phage con. Một số trong các phage con này, trong quá trình lắp ráp lại vô tình mang một đoạn DNA của vi khuẩn cho (thay vì DNA của phage). Phage này gọi là phage tải nạp. Nhờ sử dụng chất 5-brômôuraxin đánh dấu DNA, chứng minh được trong phage tải nạp chỉ chứa DNA của vi khuẩn cho.



**Hình 8-8:** Sơ đồ thí nghiệm tải nạp khi dùng chủng vi khuẩn tự dưỡng (B<sup>+</sup>) làm chủng cho và chủng luyết dưỡng (B<sup>-</sup>) làm chủng nhận. (Nguyễn thành Đạt, 1979)

Khi bị phage tải nạp hấp phụ, vi khuẩn nhận được phage tiêm DNA vào, nhưng không làm tan vi khuẩn, mà DNA của phage lại kết hợp với DNA của vi khuẩn nhận. Kết quả là bộ gen của vi khuẩn nhận được bổ sung một đoạn DNA của vi khuẩn cho nhờ phage tải nạp.

Hiện tượng tải nạp này chỉ bổ sung một gen (hoặc vài gen xếp cạnh gen này) của vi khuẩn cho mà thôi. Lý do là hệ gen của phage rất ngắn so với hệ gen của vi khuẩn, ngắn hơn đến 100 lần. Do đó chỉ có những gen nằm cách nhau không quá 1/100 chiều dài hệ gen của vi khuẩn mới có khả năng được phage tải đi cùng lượt với nhau. Do đó, rất hiếm trường hợp nhiều gen được phage tải đi cùng lượt với nhau. Trong thực nghiệm, phage chỉ tải nạp một tính trạng mà thôi.

+ Tải nạp đặc hiệu hay tải nạp định khu: Là loại tải nạp chỉ đụng chạm đến một đoạn DNA xác định. Nói khác hơn, trong trường hợp này phage chỉ tải đi một tính trạng nhất định nào đó mà thôi.

Cơ chế của hiện tượng tải nạp có thể hình dung đơn giản như sau: phage ôn hòa sau khi bơm DNA vào vi khuẩn sinh tan, không làm vỡ tan vi khuẩn mà đoạn DNA của phage lại gắn vào DNA của vi khuẩn. Trong lúc vi khuẩn phân cắt, DNA của phage cũng được tách ra theo với DNA của vi khuẩn. Cho đến lúc có tác nhân kích thích, DNA của phage tách ra khỏi DNA của vi khuẩn để sinh sản, thì đồng thời cũng lôi theo mình một đoạn DNA của vi khuẩn, trong khi đó một đoạn ngắn của phage lại nằm lại trên nhiễm sắc thể để bù vào đoạn đã lấy đi. Vì có sự nhầm lẫn này nên prophage không thể "sinh sản" được. Cần phải có sự nhiễm một phage bình thường nào đó để bổ sung cho phage tải nạp thì prophage mới thành một phage thực sự được. Sau đó khi phage tải nạp tiêm DNA vào tế bào nhận, một số trường hợp cá biệt DNA gắn vào chuỗi của DNA của tế bào nhận và nhân đó chuỗi DNA của tế bào nhận được bổ sung một đoạn gen của tế bào cho. Từ đó, có được chủng vi khuẩn tái tổ hợp do tải nạp.

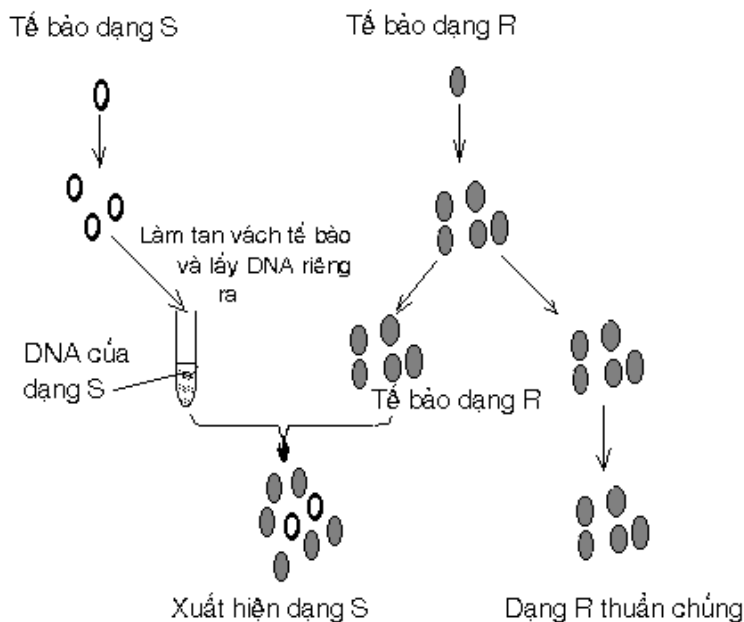
Hiện tượng tải nạp được nhận thấy lần đầu tiên năm 1952 trên vi khuẩn *Salmonella typhimurium*, nhưng về sau, hiện tượng này còn thấy xảy ra trên nhiều giống vi khuẩn khác như *Escherichia*, *Chigella*, *Baccillus*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Vibrio*.

c/ Hiện tượng biến nạp (transformation): Biến nạp là hiện tượng làm thay đổi tính trạng của vi khuẩn nhận, khi có DNA tự do của vi khuẩn cho xâm nhập trực tiếp vào vi khuẩn nhận. Ở đây gen của tế bào cho được chuyển sang tế bào nhận mà

không có sự tiếp xúc giữa hai tế bào (cho và nhận) và cũng không có sự tham gia của bất kỳ vật mang di truyền nào.

Hiện tượng biến nạp được F. Griffith phát hiện từ năm 1926. Tác giả làm thí nghiệm trên vi khuẩn *Diplococcus pneumoniae*, vi khuẩn gây bệnh viêm phổi. Vi khuẩn này có hai dạng : chủng S có vỏ nhày và cho khuẩn lạc trơn, nhẵn (S từ smooth = trơn nhẵn) là chủng gây bệnh, còn chủng R không tạo được vỏ nhày nên khuẩn lạc khô và nhẵn nheo (R từ chữ rough = nhẵn nheo) không gây bệnh được vì bị bạch huyết cầu thực bào mau lẹ. Tác giả tiêm cho chuột liều vi khuẩn dạng S đã đun cho chết, thì chuột mắc bệnh chết. Từ máu những con chuột chết tác giả phân lập ra vi khuẩn dạng S. Như vậy vi khuẩn dạng S tuy đã chết vì nhiệt nhưng đã truyền khả năng tạo vỏ nhày cho vi khuẩn sống dạng R làm cho nó thành vi khuẩn dạng S.

Đến năm 1944, các tác giả Avery, Leod và Carty làm thí nghiệm như ở Hình 8-9 chứng minh rằng yếu tố biến nạp là DNA của tế bào cho xâm nhập vào tế bào nhận.



**Hình 8-9:** Sơ đồ mô tả thí nghiệm biến nạp ở vi khuẩn *Diplococcus pneumoniae*.

Hiện tượng biến nạp chỉ xảy ra với các đoạn DNA có trọng lượng phân tử vừa phải, từ  $10^6$  -  $10^7$ . Các đoạn nhỏ hơn  $10^5$  hoặc lớn hơn  $10^8$  đều không có khả

năng biến nạp. Mỗi đoạn DNA biến nạp tương đương với một đoạn bằng 1/200 - 1/500 hệ gien của tế bào cho. Có nghĩa là phải cắt đứt chuỗi DNA của tế bào cho ra làm 200 - 500 đoạn nhỏ, các đoạn này mới có khả năng biến nạp.

Nghiên cứu với vi khuẩn *Haemophilus* thì vi khuẩn này có khả năng tiếp nhận chừng 10 đoạn DNA biến nạp. Và như thế, người ta nghĩ rằng trên bề mặt của tế bào nhận có các thụ thể (receptor) tiếp nhận một cách chọn lọc các DNA có trọng lượng phân tử tương ứng.

Mặt dù bất kỳ đoạn DNA nào có trọng lượng phân tử tương ứng đều có khả năng xâm nhập vào tế bào, nhưng ở trong tế bào, chỉ có những đoạn DNA của các chủng vi khuẩn gần gũi nhau mới có thể gắn vào hệ gien của tế bào nhận.

Ngày nay được biết có nhiều chi vi khuẩn có hiện tượng biến nạp như: *Haemophilus*, *Neisseria*, *Rhizobium*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Agrobacteriumra diobacter*, *Escherichia Coli* ...

### III. ĐỘT BIẾN Ở VI SINH VẬT :

#### 1. Định nghĩa :

Đột biến (mutation) là sự biến đổi nhảy vọt của tính di truyền, tức là sự biến đổi kiểu gien (genotype) ở tế bào vi sinh vật. Mỗi biến đổi của gien đều dẫn đến sự thay đổi một tính trạng làm cho chúng đột biến khác với tế bào ban đầu.

Từ đột biến được De Vries sử dụng từ năm 1901 khi ông nghiên cứu tính biến dị ở thực vật và về sau được Boijerinck dùng trên vi khuẩn.

Vi sinh vật có biến đổi thích nghi với môi trường sống, đây là biến đổi kiểu hình (phenotype). Sự biến đổi thích nghi của kiểu hình thì cùng một lúc tác động đến quần thể vi sinh vật, đến mọi cá thể. Trong khi đó, những biến đổi kiểu gien chỉ ảnh hưởng đến một số tế bào trong quần thể đó mà thôi.

#### 2. Tính vô hướng của đột biến :

Đột biến ở vi sinh vật xảy ra một cách ngẫu phát chứ không do điều kiện của môi trường sống thúc đẩy, đó là tính vô hướng của đột biến ở vi sinh vật.

Để chứng minh tính vô hướng của đột biến các tác giả sau đây đã thực hiện 3 thí nghiệm điển hình :

a/ Thử nghiệm dao động của Luria và Delbruck (1943):

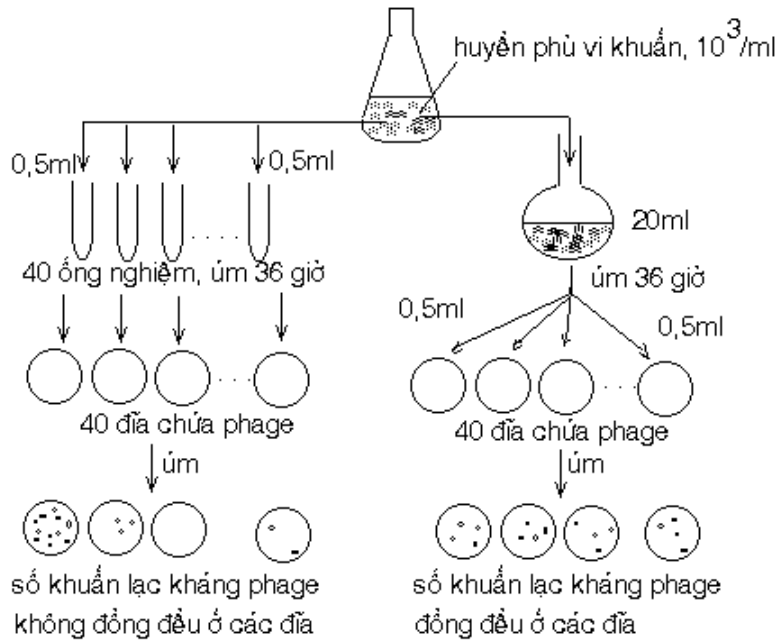
Tác giả nuôi cấy phage  $T_1$  vào *Escherichia coli* B thì toàn bộ vi khuẩn bị tan. Nhưng nếu trộn chung phage  $T_1$  với một số lớn tế bào vi khuẩn rồi dùng đĩa nuôi cấy xoa đều (và nhiều) lên mặt thạch của môi trường dinh dưỡng, thì có một số tế bào vi khuẩn không bị tan và mọc thành một số khuẩn lạc. Các vi khuẩn này là vi khuẩn đột biến kháng phage.

Để chứng minh tính đột biến kháng phage xảy ra tự phát không phụ thuộc vào sự tiếp xúc của vi khuẩn với phage tương ứng, tác giả làm thí nghiệm sau :

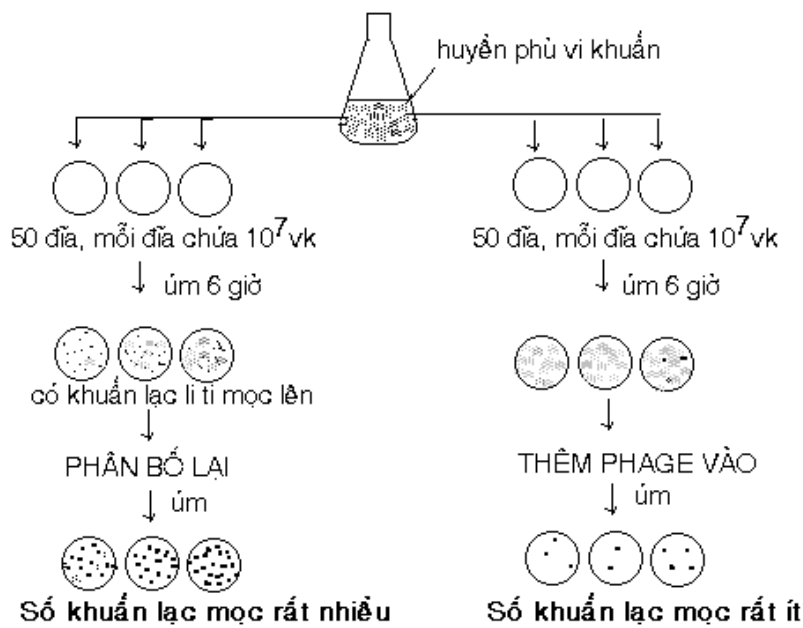
Dùng huyền phù *E. coli* B trong nước canh thịt với mật số  $10^3$  tế bào trong 1ml. Qua kiểm tra thấy tất cả vi khuẩn đều mẫn cảm với phage  $T_1$ . Sau đó lấy 20ml huyền phù vi khuẩn chia đều vào ống nghiệm (0,5ml cho mỗi ống nghiệm) gọi là lô A. Lấy 20ml huyền phù vi khuẩn còn lại được cho vào bình nón (lô B). Đem cả lô vào tủ úm trong 36 giờ, sau đó đem 40 ống nghiệm của lô A đổ vào mặt thạch của 40 đĩa petri có chứa sẵn phage  $T_1$  và lấy lô B phân bố ra trên 40 đĩa petri khác có chứa  $T_1$ , mỗi đĩa được 0,5ml huyền phù vi khuẩn (mỗi ống nghiệm ở lô A lẫn lô B đều có mật số vi khuẩn bằng nhau). Sau khi nuôi cấy, đếm số lượng khuẩn lạc mọc trên mặt các đĩa petri của cả hai lô A và B. Các khuẩn lạc này mọc từ các vi khuẩn kháng phage. Kết quả cho thấy số lượng khuẩn lạc mọc trên các đĩa ở lô A rất khác nhau, trong khi ở lô B gần như nhau (Hình 8-10).

Kết quả trên cho thấy trong 40 ống nghiệm ở lô A, vi khuẩn trước khi tiếp xúc với phage  $T_1$  đã có đột biến kháng phage và đột biến này không đồng đều ở các ống nghiệm nên có ống nghiệm có nhiều đột biến, có ống không có đột biến kháng phage. Trong khi đó, ở lô B vì chứa chung trong bình nón, hiện tượng đột biến có xảy ra, nhưng khi phân phối cho các đĩa petri thì số vi khuẩn đột biến kháng phage được phân phối đồng đều trên các đĩa, do đó số khuẩn lạc kháng phage trên các đĩa gần bằng nhau (Hình 8-9).

Thí nghiệm này chứng minh rằng hiện tượng đột biến kháng phage xảy ra khi vi khuẩn chưa tiếp xúc với phage. Như vậy, đột biến ở vi khuẩn xảy ra một cách ngẫu nhiên chứ không do điều kiện ngoại cảnh hướng dẫn.



**Hình 8-10:** Sơ đồ thí nghiệm dao động của Luria & Delbruch.



**Hình 8-11:** Sơ đồ thí nghiệm phân bố lại của Newcomb.

*b/ Thí nghiệm phân bố lại của Newcomb (1949):*

Newcomb cũng làm thí nghiệm với vi khuẩn *Escherichia coli* chủng B mẫn cảm với phage  $T_1$ . Ông xoa đều vi khuẩn lên mặt 100 đĩa pétri (có dinh dưỡng), với mật số  $10^7$  tế bào/đĩa. Sau 6 giờ úm ở tủ nuôi cấy, ông lấy ra 50 đĩa (lúc bấy giờ đã có khuẩn lạc li ti mọc lên) và xoa đều vi khuẩn trở lại khắp mặt đĩa (phân bố lại), gọi các đĩa phân bố lại là lô A. Còn 50 đĩa kia thì để yên, không phân bố lại, gọi là lô B. Đồng thời ông cấy vào tất cả các đĩa, huyền phù phage  $T_1$  bằng nhau.

Sau thời gian úm trong tủ nuôi cấy, ông lấy ra và đếm số khuẩn lạc mọc trong các đĩa. Các khuẩn lạc này là các chủng vi khuẩn kháng phage  $T_1$  do đột biến trong quá trình nuôi cấy.

Kết quả là số lượng khuẩn lạc ở các đĩa ở lô A nhiều hơn lô B.

Kết quả này càng củng cố thêm tính vô hướng trong đột biến của vi khuẩn. Bởi vì nếu vi khuẩn đột biến do "cảm ứng" khi có phage thì sự phân bố lại vi khuẩn ở lô A không có ảnh hưởng gì đến đột biến, và như thế số khuẩn lạc ở hai lô phải gần bằng nhau. Ở đây kết quả ngược lại, lô A có khuẩn lạc nhiều hơn, đó là do trong 6 giờ nuôi cấy đầu (chưa có phage) thì đã có một số vi khuẩn đột biến và mang tính trạng kháng phage. Sự phân bố lại các khuẩn lạc ở lô A đã làm tăng số khuẩn lạc kháng phage lên. Như vậy, hiện tượng đột biến của tính trạng đã xảy ra dù chưa có sự hiện diện của phage. Nói khác hơn, sự đột biến xuất hiện một cách ngẫu phát, không cần tiếp xúc với các tác nhân hướng dẫn đột biến (Hình 8-11).

*c/ Phương pháp chọn gián tiếp các chủng đột biến bằng cách in vết:*

Phương pháp này do Lederberg thực hiện vào năm 1952, ông dùng nhiều khúc gỗ hình trụ tròn có đường kính nhỏ hơn đường kính đĩa pétri một chút. Một đầu của khúc gỗ có bọc một mảnh nhung đã vô trùng. Các khúc gỗ bọc nhung này dùng để in vết các khuẩn lạc trên mặt đĩa pétri sang mặt thạch của một đĩa khác. Như thế các khuẩn lạc mọc ra ở đĩa sẽ có vị trí giống in ở đĩa một và vi khuẩn của các khuẩn lạc ở đĩa hai có cùng đặc tính với khuẩn lạc cùng vị trí ở đĩa một.

Đầu tiên, Lederberg dùng một huyền phù chứa vi khuẩn *Escherichia coli* B, mẫn cảm với phage  $T_1$ , với mật số  $10^8$  vk/ml. Ông cấy huyền phù vi khuẩn vào mặt thạch của một đĩa pétri. Dem úm đến khi vi khuẩn mọc đầy đĩa, ông dùng khúc gỗ bọc nhung ấn vào mặt vi khuẩn trong đĩa để lấy vết và dem in vào mặt thạch của một đĩa pétri thứ hai (II) và một đĩa pétri thứ ba (III). Ở đĩa pétri III có phage  $T_1$ . Dem úm trong tủ nuôi cấy. Sau đó, đĩa hai có vô số vi khuẩn mọc ra, còn ở đĩa ba chỉ có



### 3. Nguyên nhân của đột biến :

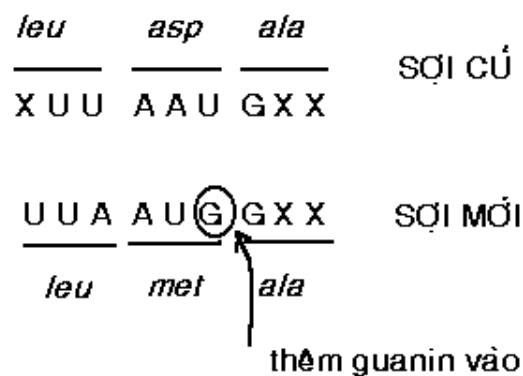
Đột biến là do có sự thay đổi trật tự của các nuclêotid trên sợi ADN của nhiễm sắc thể. Tùy theo sự thay đổi này có hai loại đột biến :

a/ Đột biến điểm : Khi sự thay đổi này chỉ đưng đến một nuclêotid của sợi DNA. Đột biến điểm có thể xuất hiện do :

+ Thay một nuclêotid này bằng một nuclêotid khác. Thí dụ : Timin (T) thường ở dạng xêto, ở dạng này nó cặp đôi với Adênin (A) ta có cặp A - T. Nhưng trong quá trình nhân đôi DNA, có một yếu tố nào đó tác động vào làm cho Timin chuyển sang dạng ênol, thì nó kết đôi với xitôxin, chứ không với timin. Do đó dẫn đến việc thay thế cặp A - T bằng G - X.

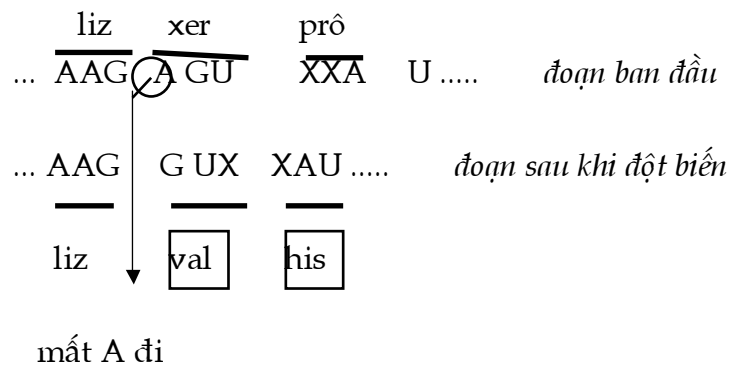
Còn nếu xitôxin bị khử amin thì uraxin sau khi hình thành sẽ kết đôi với adêmin chứ không với guanin, do đó cặp G - X sẽ chuyển thành A - T.

+ Do thêm một nuclêotid vào chuỗi DNA. Thí dụ : guanin được thêm vào vị trí Asp trong sợi DNA như ở Hình 8-13.



Hình 8.13: Đột biến do thêm guanin vào sợi DNA

+ Hoặc do mất một nuclêotid. Thí dụ : mất adenin của gien Xêr (Hình 8-14)



**Hình 8-14** : Đột biến do mất adenin của gien Xêr.

Đột biến do mất hoặc thêm một nuclêotid vào chuỗi DNA có hệ quả nghiêm trọng vì mã thông tin từ nơi bị đột biến bị đọc sai đi.

*b/ Đột biến mất đoạn* : khi hiện tượng đột biến xảy ra do việc mất từ hai nuclêotid trở lên.

Đột biến mất đoạn có tính vĩnh viễn vì không có trường hợp đột biến trở lại tính trạng cũ.

Còn đột biến điểm tuy có làm thay đổi tính trạng nhưng trong một số điều kiện sẽ có sự đột biến ngược lại, tức là có thể khôi phục lại những tính trạng đã mất do đột biến trước gây ra. Nếu đột biến trở lại để khôi phục các tính trạng ban đầu thì gọi là sự lại giống (reversion), và đột biến kiểu này gọi là đột biến lại giống.

Ở đột biến mất đoạn không có sự lại giống vì là loại đột biến bền vững.

#### 4. Tần số đột biến trong thiên nhiên :

Trong thiên nhiên, một quần thể vi sinh vật có thể phát sinh đột biến với tần số dao động từ  $1.10^{-4}$  -  $1.10^{-11}$ . Mức dao động này tùy thuộc vào loài vi sinh vật, điều kiện môi trường, loại tính trạng đột biến và hàng loạt yếu tố khác.

#### 5. Tác nhân gây đột biến nhân tạo ở vi sinh vật :

Có rất nhiều tác nhân gây nên đột biến ở vi sinh vật với tần số cao hơn ở ngoài thiên nhiên :

a/ Các hóa chất gây đột biến nhân tạo : Có rất nhiều hóa chất có thể gây nên đột biến, trong đó các chất gây đột biến mạnh nhất gồm có : metylmêtansunfônát, êtylmêtansunfônát, dimêtylsunfat, dietylsunfat, êtylênimin, metylnitrônitrozôguanidin,...

b/ Các tia phóng xạ như tia  $\alpha$ ,  $\beta$ , röntgen và tia tử ngoại có tác dụng gây nhiều loại đột biến, thường dùng trong phòng thí nghiệm. Tia tử ngoại với bước sóng 260nm có hiệu quả cao trong việc gây đột biến cho vi sinh vật, tác dụng chủ yếu lên các bazơ pirimidin.

### 6. Sự biểu hiện các tính trạng do đột biến :

Ngoài thiên nhiên, hiện tượng đột biến xảy ra trên vi sinh vật rất thường xuyên. Tuy không phải đột biến nào cũng biểu hiện ra tính trạng bên ngoài. Lý do là vi sinh vật thường ở dạng nhiều nhân hoặc đối với vi khuẩn thì vùng nhân phân tán thành nhiều vùng trong tế bào chất. Nếu đột biến có tính trội, thì tính trạng đột biến sẽ thể hiện ngay. Nhưng nếu gen đột biến có tính lặn thì tính trạng đột biến không thể hiện ra ngay mà nằm trong trạng thái lặn khá lâu. Chỉ cá có thể con cháu nào, ở những thế hệ sau, nhận được thì cá thể đó mang đột biến thôi, và tính trạng đột biến mới thể hiện được. Trong trường hợp này ta có tính trạng đột biến thuần chủng so với chúng ban đầu.

Trong phòng thí nghiệm chỉ có một số ít chủng đột biến có thể quan sát được mà thôi. Vì chúng ta chỉ quan sát được một số ít tính trạng như khả năng sinh sắc tố, tốc độ tăng trưởng, hình thù khuẩn lạc, kháng thuốc kháng sinh, kháng phage, khuyết dưỡng dưỡng chất, ...

### 7. Lợi ích của đột biến :

Ngày nay loài người đã lợi dụng triệt để sự đột biến của vi sinh vật để phục vụ cho nhu cầu nghiên cứu, trong y khoa, trong nông nghiệp, trong sản xuất, công nghiệp chế biến ...

Thí dụ : chủng đột biến Hfr của vi khuẩn *Escherichia coli* có tần số tiếp hợp rất cao, hàng ngàn lần cao hơn chủng cha mẹ, nhờ đó các nhà nghiên cứu đã tìm hiểu rất rõ các hiện tượng tiếp hợp ở vi khuẩn.

Trong công nghiệp chế tạo các acid amin như bột ngọt, ... ngày nay với các chủng đột biến, năng suất nhà máy tăng lên rất nhiều lần. Với các chủng *Penicillium*

đột biến, năng suất sinh ra penicilline tăng lên đến 180 lần, nhờ đó mới có đủ các loại thuốc kháng sinh để cung cấp cho nhu cầu trị bệnh của nhân loại.

**Tài liệu đọc thêm:**

1. Nguyễn Thành Ân, 1979. Vi sinh học đại cương. Trang 263 - 290.
2. Frobisher, M., 1968. Fundamental of Microbiology. W. B. Saunder Co.. Trang 170-176.
3. Jawetz, E. & all, 1989. Medical Microbiology. Prentice Hall International Inc. Trang 80-91.