



生命科学前沿及应用生物技术

# 微生物遗传育种的原理与应用

蒋如璋 著



科学出版社

生命科学前沿及应用生物技术

# 微生物遗传育种的原理与应用

蒋如璋 著



科学出版社

北京

## 内 容 简 介

全书内容由微生物资源开发和遗传育种两部分组成,而侧重微生物遗传在常规育种中的应用。对微生物变异、诱变剂的诱变机制和使用方法做了全面的介绍。对微生物诱变育种和杂交育种的原理和方法做了全面深入的讨论,并以实例为引线进行了深入的解析讲解,对菌种工作者的实验设计的思路和操作具有启发和指导作用。书中虽侧重常规育种,但也做到与时俱进,这体现在噬菌体、转座子、原核生物核外遗传因子的横向转移和原生质体融合与杂交育种等章节中。

本书不是教科书,但可作为教科书知识的扩展和补充,对微生物学、微生物遗传学、微生物育种学,以及资源微生物、环保、工业发酵等专业师生和相关科研人员具有重要参考价值。

### 图书在版编目(CIP)数据

微生物遗传育种的原理与应用/蒋如璋著. —北京:科学出版社,2017.1  
ISBN 978-7-03-050412-8

I. ①微… II. ①蒋… III. ①遗传育种-微生物遗传学 IV. ①Q933  
②S33

中国版本图书馆CIP数据核字(2016)第262781号

责任编辑:罗 静 王 静 高璐佳/责任校对:郑金红

责任印制:张 伟/封面设计:刘新新

科 学 出 版 社 出 版

北京东黄城根北街16号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

北京京华虎彩印刷有限公司印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

\*

2017年1月第一版 开本:720×1000 B5

2017年1月第一次印刷 印张:20 1/2

字数:400 000

定价:120.00元

(如有印装质量问题,我社负责调换)

## 序

虽然人类确认微生物的存在只不过 300 多年，但人类与微生物的密切关系却是与生俱来，而且可能不会与亡同去的。人类大约一万年的文明，包括了人类对微生物的利用成就，只不过在漫长的岁月中人类并不知道所以然罢了。

像对谷物或家畜的利用中不断选育优良品种一样，在人类确认了微生物对自己的健康和生活的的作用以后，对更有利于改善人类生活的微生物的选择便已经开始了。但那时只是凭借经验来选优汰劣，日积月累，便得到了一批较好的菌种。尽管直接挑选已有微生物中优良菌种的工作，即菌种筛选依旧在进行着，而且会持续下去，从 20 世纪 40 年代开始，由于遗传学和生物化学对微生物学的强力渗透，人们利用各种手段改变微生物的生命活动，使它们表现出更符合人类需要的性能。于是在微生物学这门学科中出现了一个分支学科：微生物遗传育种学。

按科学家的估计，地球上的微生物数量约为  $10^{33}$ ，其质量可达地球质量的千分之一左右，而微生物的种类究竟有多少，尚无确论，因为其中的大多数我们现在还无法窥见其庐山真面目，遑论其功能了。因此，在地球生物资源中，有待人类开发利用的，将主要是微生物。微生物的潜力几乎是无穷的，任何微生物的功能被人类发现与利用，都是不足为怪的。如何发现并应用具有特定功能的微生物，并且将这些功能稳定维持，是当代微生物学工作者的重要使命之一。

自采用纯培养技术以来的一百多年中，人类积累了数以万计的优良菌种，有关微生物遗传育种的著作，无论是理论阐述还是实验操作指南，在国内外出版过不少。可是，一些教师和实验室做具体工作的人们，在读过这些著作后的感觉常常是，实验指导未能顾及原理，因而只能照葫芦画瓢；专讲原理的，则根本未谈及实验操作。今天，我们终于见到了这样一本既简明解释原理，又提供具体操作指导的著作，真是久旱逢甘霖，相见恨晚。

该书作者，在大学里为微生物学，特别是为微生物遗传学的教学和科研奉献了一生，为国家培育产品和人才。现在这位八旬科学家把他数十年在课堂和实验室中的亲厉经验，结合那些经过自己理解与消化后的理论基础，集中浓缩在这本 30 万字的著作里。书中既有延续数十年的传统的育种方法，也有当代风行的技术。我想，无非是为后来者留下些珍贵的亲身体验，让微生物及微生物育种工作者在类似的工作中少走弯路，事半功倍。读者只要浏览该书个别章节，就会承认我并未浮夸。

21 世纪的生命科学将为人类带来难以预料的福音，而微生物会是相当重要的资源载体，因此，无论常规的或采用最先进的遗传育种技术都将是高效应用这些微生物的有力工具，活跃在大学或研究机构的从事微生物菌种选育等微生物实验的工作者，不

妨读读该书，它的最耀眼的特色，就是坚持“知行合一”的原则，让读者不仅了解了应该怎么做，还能基本了解为何要那样做，这样自然会做得更好。

我对该书在读后提出过不少意见，有些还比较尖锐，但我深深体会到，作者若没有对学科的热爱，对后辈的责任感和克服老迈造成的困难的毅力，没有朋友们的协助，怕是难以完成这本著作的。

作者嘱我为该书写点什么，这就算是读书心得吧，我实在不敢说是写序啊！

程之胜

丙申年立夏

于中国科学院微生物研究所

# 前 言

微生物资源开发始终是不同的领域应用微生物学家的一项重要任务，一个永恒的课题。因为总会有新的需求要向自然界索取。现今用于人类健康、工农业生产的所有菌种都是过去资源开发的成果。

现在，由于人类赖以生存的环境条件遭受到严重破坏，我们又面临着一项新的微生物资源开发任务，那就是寻找和挖掘修复被污染环境的生物资源，主要是微生物类群——真细菌域和古生菌域微生物，因为它们具有最多样的代谢类型，多样性核外可移动遗传因子，赋予它们极大的遗传变异性。它们是地球上物种数最多的类群，所蕴含的生物资源仍难以估量。

如何寻找和挖掘我们需要的微生物资源？又如何进行微生物菌种开发？

自 20 世纪 90 年代中期，随着嗜血流感杆菌基因组测序完成，此后在短短 30 年时间里完成了包括人类在内的上千种生物基因组的全序列分析，积累了海量的生物信息，进入了生物信息学时代，使分子生物学家具有了综合利用生物信息学和分子生物学技术跨域改造生物的能力——获得具新特性、产生新的对人类有用的生物产品能力。而事实也确实如此：如对大肠杆菌进行分子改造，使它成为为我们产生多种生物活性物质的平台（如利用大肠杆菌生产胰岛素）；通过转基因改变目标生物的某一特定性状，使之成为具新特性的生物品种（如转基因生物）；也可以通过精准分子育种构建高产菌株；代谢工程或称为基因组工程技术，在选定的受体菌中，建立一条新的代谢途径，用来产生目标产品；以及模块组合生物合成等重要应用成就等。而这还只是生物信息学时代的开始。

然而，这只是生物信息学时代生物资源利用的一个方面，而另一重要课题是对未知微生物资源的开发和利用。据估计地球上约有 200 万种原核生物，自 20 世纪 90 年代开始，科学家综合采用多种分子生物学新技术、新方法，开展未知微生物类群的研究，其结果已证明微生物在生物圈中所起的核心作用。预期将来对不同生境的微生物群的开发研究将是生物信息学研究的一个重要方向。

在现实应用上，如何提高已用于生产的生物资源生产能力，尤其是数百以至上千基因决定的产物产量有关的特性，仍难以以精准的分 子育种技术解决，对这些特性的改进，仍必须以生物整体为工作对象进行操作，这就是常规育种。

生物的常规育种的理论基础是扎根于经典遗传学发展的全过程之中的。据估计，现在大约 99% 的用于生产的动植物品种和微生物的高产菌株，都是采用常规育种的方法和技术育成的，而且至今这种成功的实例仍在不断增加，如袁隆平的杂交水稻等，可见常规育种在生物品种改良中的重要性和不可替代性。

虽然用现代生物技术可以克隆各种对工业、环境，对人类健康有用和有益的基因产品，但在工作中经常遇到不稳定和不确定性等诸多问题，在推广应用上有很大的局限性。常规育种技术与分子育种技术不同，它是对生物整体进行工作，方法的本质就是变异加人工选择，由自发和诱发突变型或分离子中选择产量和品质优良的子代个体。表面上看似笨而费时，但最终成果常常是惊人的。所以，切不可认为现代生物技术能取代传统育种技术。况且在许多情况下，工程菌株同样应该采用经典育种技术提高产物产量。

20世纪70年代，与重组体DNA技术几乎同时，通过原生质体融合获得单克隆抗体的研究（杂交瘤技术），发展为在细胞水平上突破生物种属界限，使人们能在实验室进行不同物种体细胞间实现全细胞融合形成异核体，再经核配和遗传重组，获得杂种分离子。这意味着专行无性生殖的生物的育种方法的大变革，使它们与具世代交替的真核生物一样，可按基因突变和杂交育种的模式开展育种工作。而这正是几十年来所期盼的微生物的育种模式。

转座子及转座机制的阐明，为常规生物育种提供了一个分子水平上育种的操作工具，通过转座子质粒可将任何外源基因克隆并导入不同物种的基因组，获得转基因生物品种，这已被广泛用于生物工程菌株的构建；而可转移质粒及其离体转移机制的应用，成为分子克隆操作的重要而有效的手段，正被成功而广泛用于育种实践。所有这些都将在书中从原理与操作两个方面予以讨论。

在微生物育种中，通常是按计划针对某一具体的菌种开展工作，并按程序完成筛选过程，便能达到既定的目标，但经验告诉我们，其实也不是这样的简单。如果我们的经验和基础知识底蕴不足，时常会感到茫然不知所措而贻误工作。一个好的微生物菌种工作者，应该是一位微生物学、遗传学、生物化学和分子生物学知识底蕴深厚的实践家：①了解自然界生物的存在状态和它们之间的相互关联（系统发生）。各种生物种都有着特殊的物种生态学，自然界各生物种的存在都有其生态规律，都有它的自然地位。它们在自然界既互相依存，又在生物圈的物质循环中起着各自的独特作用，所有生物种都是进化过程中的动态实体，它们是人类赖以生存的活生生的生物群体，也是我们资源开发的源泉；②了解它们的代谢过程，它们如何通过化学的和物理的过程获得食物，并通过酶促生物化学反应合成生物大分子的元件，并建成自身；③了解生物的代谢过程及代谢链自身调节与全局性调控相契合，实现遗传特性与其生存环境的统一，实现营养生长与发育两种代谢途径的转换。④了解它们如何繁殖自己，将它们的形态和特性（哪怕是十分细微的特征和特性）世代相传的分子基础和传递机制；⑤了解导致生物遗传变异的生物因子（质粒、转座子、噬菌体）和理化因子，对生物体的作用和导致遗传变异的机制，以及如何将这些因子和规律用于育种实践。

本书的章节安排是将微生物资源开发分为资源微生物分离与微生物遗传育种作为两个阶段处理。第一部分介绍微生物的起源、进化和系统发生；微生物的主要类群及各类群微生物种类的富集分离方法。第二部分为微生物遗传育种，这是微生物资源开

发的延续。二者密切相关。在原理介绍方面，因篇幅所限而十分简明并只介绍与育种实践紧密相关的基础知识，同时随着分子生物学的新成就和新技术的出现，在常规育种方法中也与时俱进地介绍了多种新技术和新方法在育种中的应用，其中对质粒接合转移、转座子与分子育种、原生质体融合与杂交育种等的基本原理和应用，做了较为深入仔细的讨论，并以实例介绍这些新技术的应用操作，体现了分子生物学时代微生物经典育种技术重要发展和应用，从而体现了与时俱进，赋予常规育种新内涵。

书中所有章节的讲述都尽量遵循“知行合一”的原则处理和安排，使基本原理与应用紧密结合，以期达到学以致用、知行合一的效果。我期望通过对本书的阅读和理解，能使每位育种工作者都能成为活跃于微生物育种界的一个知行合一、立志创新的践行者。这乃是本书作者所期盼的。

在这里，作者感谢乔明强博士组织南开大学生命科学学院多名师生阅读修改书稿。感谢天津科技大学杨洪江博士对本书部分章节提出修改意见。感谢协助我检索文献资料、图表制作的同志们，他们是吴晓生博士（美国）、于秉彝博士（美国）和于利民高级工程师。最后，我还要特别感谢我的同行程光胜先生通读全稿，提出诸多重要修改意见和建议，并为本书撰写序言。

由于篇幅的限制在相关基本原理的阐明方面多显得过于简略，也有的因本人知识所限，难免出现错误，敬请读者批评指正。

著 者

于南开大学生命科学学院

2016年8月



# 目 录

序	
前言	
第一章 生命的起源与进化	1
第一节 原核生物的起源	2
第二节 蓝细菌与陆生生物的进化	5
第三节 生物的系统发生	11
参考文献	16
第二章 微生物基本类群概述	17
第一节 真细菌域	17
第二节 古生菌域	26
第三节 真核生物域——真核微生物	29
参考文献	31
第三章 微生物的营养和菌种的富集分离	32
第一节 微生物的营养	32
第二节 基础培养基的配制	35
第三节 有机培养基的组成和配制	39
第四节 真菌培养基	41
第五节 微生物物种生态学	42
第六节 微生物的富集分离	44
参考文献	48
第四章 微生物的代谢及其遗传调控	49
第一节 初生代谢物合成途径及其调控机制	50
第二节 次生代谢途径的遗传调控	65
参考文献	77
第五章 微生物的遗传性变异	79
第一节 基因突变与生物所处具体环境无关	79
第二节 自发突变的突变率	81
第三节 自发突变在育种中的应用	88
第四节 基因的诱发突变	92
第五节 诱变剂的类型	99
参考文献	100

<b>第六章 诱变剂及其使用</b> .....	102
第一节 物理诱变剂及其诱变机制.....	103
第二节 实施诱变前要处理的若干共性问题.....	108
第三节 物理诱变剂的使用方法.....	111
第四节 化学诱变剂及诱变机制.....	113
第五节 DNA 损伤的修复.....	120
第六节 化学诱变剂的使用方法.....	126
第七节 诱变剂的复合处理.....	130
第八节 诱变剂和剂量选择问题.....	131
参考文献.....	133
<b>第七章 微生物诱变育种</b> .....	135
第一节 微生物初生代谢产物的诱变育种.....	135
第二节 次生代谢产物高产菌株的诱变育种.....	153
参考文献.....	165
<b>第八章 噬菌体与生物控制</b> .....	166
第一节 噬菌体及其生活周期.....	167
第二节 用作生物控制因子的噬菌体.....	181
第三节 噬菌体抗性菌株的筛选.....	186
参考文献.....	193
<b>第九章 原核生物基因的横向转移</b> .....	195
第一节 DNA 转化作用.....	195
第二节 噬菌体转导作用.....	200
第三节 接合作用和质粒生物学.....	203
第四节 非常见有机化合物降解的生物学机制.....	213
第五节 接合作用在生物工程研究中的应用.....	221
参考文献.....	226
<b>第十章 转座子与分子育种</b> .....	228
第一节 转座子.....	229
第二节 两种转座作用机制.....	231
第三节 转座子质粒的构建.....	234
第四节 转座子质粒载体在分子育种中的应用.....	236
第五节 离体转座系统的建立及应用.....	240
参考文献.....	248
<b>第十一章 微生物杂交育种</b> .....	250
第一节 微生物杂交育种技术的发展过程.....	251
第二节 酵母菌的有性杂交育种.....	251

---

第三节 丝状真菌的准性生殖与杂交育种·····	256
第四节 曲霉菌的杂交育种·····	264
第五节 抗生素产生菌的杂交育种·····	268
参考文献·····	272
<b>第十二章 原生质体融合与杂交育种·····</b>	<b>274</b>
第一节 原生质体融合技术的发明·····	275
第二节 原生质体融合的诱导因子·····	276
第三节 原生质体融合与基因组重组概述·····	277
第四节 原生质体融合和遗传重组最佳条件的确定·····	300
第五节 微生物育种的最终方案·····	306
参考文献·····	313

# 第一章 生命的起源与进化

微生物是极具吸引力的生物类群，虽然它们中的许多我们肉眼看不见，但是它们无处不在，对人类的生活和地球上的自然环境都极为重要。例如，地球上的生物量（biomass）一半以上是由微生物组成的，而植物占 35%，动物只占 15%。

微生物无处不在，有的甚至能在 100℃ 沸腾的温泉或 110℃ 以上的海底火山口环境生存；另一些可以生活在 0℃ 以下；有些微生物可以使用硫化物产生硫酸，生活在 pH1.0（相当于 0.05mol/L 的硫酸）的环境；也有的可以生活在饱和的盐溶液中，而另有些可以生活在高山湖泊的接近蒸馏水的环境。

它们在地球生物圈的形成演进中的影响非常深刻。有些微生物类群在地球演化过程中起到了关键性作用，例如，地质化学和化石证据表明，大气中氧气的产生就是由于蓝细菌（Cyanobacteria，或称为蓝绿藻）的释氧光合作用的结果。因为氧是所有高等动植物生命形式所必需，所以这对于地球上生物，尤其是真核生物的出现和进化，以及地球地质化学的影响是极其深刻的，可以说，如果没有蓝细菌开创的释氧光合作用，就不可能有高等生命形式的出现和进化。

微生物先于人类已在地球上生活进化了约 40 亿年，所以我们实际上是生活在它们的世界里，而后来它们也生活在我们的身体里。不管你愿意还是不愿意，它们生活、定殖在我们的皮肤、肠道及身体所有的腔穴内，它们中的多数与我们是共生关系，并保护我们不受病原菌侵入，如果没有它们这些天然的微生态菌群，我们就会生病以至死亡。

人体大约由  $10^{13}$  个细胞组成，而估计每个人体携带着约  $10^{14}$  细菌，其重量 1~2kg，最大菌群定殖于肠道，每克样品有超过  $10^{11}$  细菌，它们主要是厌氧微生物，其中许多是互惠共生的有益菌，它们共同组成肠道的微生物群落，与宿主机体的发育和生理代谢功能存在着互利共生关系。

微生物深刻地影响和控制着地球不同环境的生态系统、深刻影响着工农业生产的方方面面，影响着人类健康和生活。例如，对人类及模式动物小鼠肠道微生物区系（microbiota）的研究，发现微生物与人类的代谢、免疫、疾病发生和抗病能力都密不可分，菌群也随着人的年龄、食性、和体质状况等而处于动态变化之中，这种变化可用作疾病（包括癌症）的诊断和对健康状况评估的“探针”。进入生物信息学时代，已真正有可能对占 99% 的未知微生物种的研究做为工作主体，掌控和应用不同生境的微生物组（microbiome）必将对工农业生产、对提供可持续的能源、环境保护和修复，以及人类健康等问题的解决方面具有深刻影响和指导作用。

所以，就高等生物的遗传和代谢来说，实际上是宿主基因组与微生物群基因组互作的统合体，宿主基因组提供了各自的遗传体制和代谢类型，而微生物群基因组与宿

主基因组间的默契而高效地合作和互作，才确保了高等生物的生存和繁衍。

植物与微生物的关系更为密切，每种植物的生存都与特殊的微生物种群互相依存，根瘤菌是突出的与植物共生的例子，固定大气氮为宿主提供氮源。自生固氮菌利用大气中的氮为氮源，在大气氮循环中起着重要作用。

微生物的另一重要作用是地球化学过程——地球上出现的生物化学过程。大气中的  $\text{CO}_2$  经植物和光合微生物（藻类和蓝细菌）通过光合作用固定为有机化合物：



实际上所有生物（自然也包括人类）的能量归根结底都源自太阳能。食草动物不能利用无机物为能源，而只能依赖于植物，而一些动物则以食草动物为食。大气中的  $\text{CO}_2$  有 5%~10% 来自动植物的呼吸，而 90%~95% 来自生物降解作用 (biodegradation)，在此情况下，微生物利用有机物为碳源生长，使已有的有机物转变为  $\text{CO}_2$ ：



地球上，通过光合作用使  $\text{CO}_2$  转化为有机物，微生物又将几乎所有有机物，甚至某些化学合成的杀虫剂、除草剂等人工合成的化合物降解，返回为  $\text{CO}_2$ ，促成大气中碳循环和平衡。

在进化历程中，真细菌也早已融合为真核生物细胞组成的一部分——细胞器（线粒体和叶绿体），它们有自己的基因组和蛋白质合成机器，并与宿主细胞相对独立。在系统发生上，按它们的 16S rRNA 序列可归属于系统发生树的微生物的某一类群——变形杆菌门和蓝细菌门的某一进化早期类群。

综上所述，在生物起源和进化历程中，原核生物是地球上最早出现的，经历了地球形成后各种地质年代的变迁。数十亿年间，生物界遵循达尔文的“自然选择，适者生存”的法则，适应于各种不同的生境，进化出现了极为多样的遗传体制和代谢类型，成为我们现今的生物界。

## 第一节 原核生物的起源

地球形成初期是灼热的，经数亿年才逐渐冷却下来，后来自然力（雷电、紫外线、电离辐射）、水蒸气和其他气体成分相互作用，产生了最初的有机物，孕育了生命和其后的进化历程，最早生物必定是原始的原核生物。

地球的起源和地球上生命的进化经历了漫长的过程，地球及太阳系大约形成于 50 亿年前，这个时间长度是通过不受温度和压力影响的缓慢衰变的同位素的衰变率和衰变周期推定的。钾 ( $^{40}\text{K}$ ) 衰变为氩 ( $^{40}\text{Ar}$ ) 的半衰期为 1.26 亿年。放射性同位素衰变方法也用于推算地层中出现生物化石的沉积岩形成的时间。

19 世纪人们就知道沉积岩中保存有动植物化石，由于没有准确确定时间的方法，时间仅是被估算的。现在已知一些生物，如恐龙绝灭成为化石是约 6500 万年前（白垩

纪)发生的事。通过对化石的研究,古生物学家得出了以下几点有关生物进化的结论:接近地表的化石是最近沉积的,其中包含的化石物种比更深层的化石的结构复杂,说明近表面的化石生物是生命的更高等的类型。越深地层的生物化石结构越是简单,因而,由最古地层中的最简单的生物形式,到较近沉积岩中的较复杂生命形式间的梯度变化,证明复杂的动植物形式是由简单的生命形式进化来的。

推测早期的地球慢慢冷却下来后,由于雷电等物理因素与水和类似现在的火山喷发释放出的气体(含有大量二氧化碳、氮、二氧化硫、硫化氢)作用,出现了含碳氮的有机化合物,集中在有水的区域,成为一种营养液,被称为原生汤(primordial soup)。随着时间的推移,原生汤的浓度及有机物的成分发生改变,出现了更近乎生物产生的化合物,在若干未知原因的推动下,出现了原始生命的迹象。例如,能选择性地吸收环境中的物质和具有原始的代谢功能,出现了原始的生命,开始了生物进化历程。也就是说地球环境孕育了生命。

据早期化石提供的证据,微生物在地球上的出现,是在地球形成后的10亿年内发生的。但对生命出现的早期情况知之甚少,诸如生命是如何起源的?生命的最初形式是什么?地球在什么条件下才可能产生生命?由于缺少证据,现在仍难以回答这些问题。但有些过程我们可以做部分合理的推测。例如,无水,生命不可能存在;大气是无氧的,氧气又不能化学地形成,因此早期生命是厌氧型的。生命起源的另一个条件是需要有机物,难以想象细胞可以在无有机物的情况下从头开始,那么一个重要问题是:有机化合物可以由非生命产生吗?

最早包含有生物化石的是叠层石(stromatolite),是由碳酸钙和丝状微生物化石组成的多层结构。这种叠层石至今仍然存在于地球上。典型的柱形的现存叠层石出现在海岸高低潮线之间的区域,如澳大利亚的西部海湾。这些现存的叠层石含有沉积在碳酸钙及其他无机物中的微生物。化石叠层石的其他前体物是微生物席状群落(mat community),它们广泛地出现在全世界海岸线高低潮线间的环境中。在这种席状生长的生物群体中,生活着处于相应进化阶段的各种生物。40亿年前的生物群落中,最先出现的是原核化学化能自养型微生物,并无光合细菌。大约在那个时期,在进化上,可能由于地理隔离,原核生物分为真细菌类(eubacteria)与古生菌类(archaeobacteria)两个分支。

### 1. 生物进化与生物地质化学

虽然我们并不知晓地球上哪种生物是第一个生命实体,然而,现代研究生物进化的科学家 Carl Woese 建立的生物系统发生理论(Woese, 1977; Whitman et al., 1998),认为生命的第一种形式最可能是厌氧和嗜热的原核生物。我们今天采用实验手段绘制的生物系统发生树上,真细菌和古生菌的最老的分支正是嗜热原核生物,这是这一理论的佐证。此外,已有证据表明早期的地球不仅是无氧的,而且很温暖并且火山活动频发。Woese 认为微生物生命的祖先为原生体(progenote),是一种原始型原核生物,

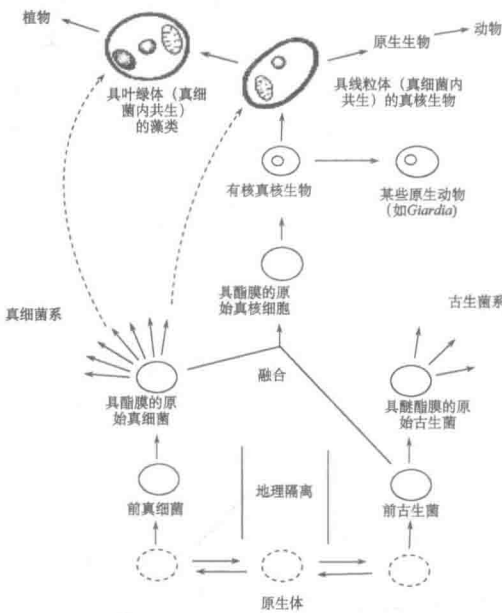


图 1.1 生物主系的进化 (Perry and Staley, 1997)。图中为原生体(进化系统树的根)到原核生物和真核生物可能的起源路线图。原生体(可能是无细胞膜的 RNA 型前细胞)发生地理隔离, 导致具不同膜结构的原始真细菌和原始古生菌独立进化。原始真细菌细胞与前古生菌之间出现融合, 产生原始真核生物。此后, 一种变形菌与某种早期的真核原生生物内共生, 并共进化为线粒体, 后来进化为动物。而现在有些原生动物系, 如梨形鞭毛虫 (*Giardia* spp.) 不具线粒体, 可能是在此内共生出现之前的进化分支。叶绿体也起源于真细菌(一种蓝细菌), 可能是通过与一种真核生物互惠共生, 先产生单细胞藻类, 再进化为高等植物

由此进化分支产生了真细菌域和古生菌域, 后来经细胞内共生, 最终进化形成真核生物域。原生体应具有能力浓缩所需的化合物, 并进行简单的生化反应, 它可能含有 RNA, 但无蛋白质和 DNA。

有人推测原生体群体在地球早期进化中, 曾因地理隔离形成两个分支, 从而产生生物世系的两个主要体系——细胞膜中以酯键连接成拟酯的真细菌, 以及在细胞膜中以醚键连接成拟酯的古生菌。然而所有关于生命起源的理论, 尤其是微生物起源仍是不确定的 (图 1.1)。

## 2. 早期的真细菌和古生菌

乳酸细菌可以作为早期类型的一个异养代谢的例子。这些耐氧代谢的真细菌不需要氧气, 由糖酵解途径获得能量, 只需要少数种类酶, 不需要以 ATP 酶和电子传输系统传输能量, 只需由底物水平的磷酸化获得能量, 其反应为:



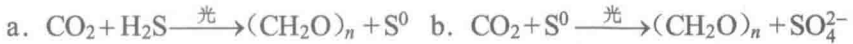
当然, 它们需要一些厌氧过程的酶和细胞膜。应该强调的是, 现在的乳酸菌已经比它们的祖先复杂得多, 似乎它们的合成代谢的特征已经暗示原始的无 DNA 和酯性细胞膜的某种原始的、非细胞实体的存在。

另一个可能的早期生命形式, 可能是其代谢类似于产甲烷微生物的古生菌。这些生物具有简单的营养要求, 有些能自养生长, 由氧化氢气产生能量并利用  $\text{CO}_2$  作为唯一碳源合成有机物。同时, 它们都是厌氧性、能生活在类似于地球早期环境的原核生物 (图 1.1)。

真细菌域和古生菌域都有氢细菌。有趣的是, 所有现存的嗜热氢细菌都需要氧, 尽管只需低浓度的氧, 这可理解为在自然力的作用下, 由水裂解产生微量氧的可能。

虽然, 光合成细菌不是最早的微生物, 但是人们相信它们是早期出现的。人们普遍认为用叶绿素型化合物进行光合成是在真细菌与古生菌分开为两个类群之后发

生的，古生菌中只有一个类群——极端嗜盐菌中包含有光合物种，它们使用视紫红质（rhodopsin）型化合物，而非叶绿素行光合作用。最初的光合生物在它们的代谢中，可能具有类似于真细菌的紫色或绿色硫细菌类群的光合成，这些细菌使用硫化氢作为固定  $\text{CO}_2$  的还原剂，进行厌氧光合作用。以下为未平衡的终反应：



式中， $(\text{CH}_2\text{O})_n$  代表有机化合物。

早期地球上火山喷发的气体，对上述生物是理想的生存环境，因为它提供了丰富的  $\text{CO}_2$  和硫化氢。这种类型的光合作用，被统称为不释氧光合作用（anoxygenic photosynthesis）。

那时，原核生物占据了几乎一切能够生存的空间，能利用一切可利用的有机质和能源，具有不同的能量代谢和物质代谢途径，这包括化能自养型、光合自养型、化能光合型、硝化/反硝化型、异养型等多样性的营养类型。在进化历程中它们是成功的。这些代谢类型和代谢途径的确立为真核生物进化奠定了基础。

## 第二节 蓝细菌与陆生生物的进化

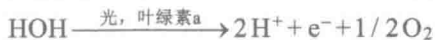
很多证据表明，自地球形成和生命起源，微生物是地球生物圈的主体。对此最为有力的证据来自有关地球上氧气产生的信息。这些事实清楚地证明地球孕育了生命，生命也改变了地球。

### 1. 蓝细菌与氧气产生

蓝细菌（cyanobacteria）也称蓝藻，属原核生物蓝细菌门，能进行Ⅱ型（ $\text{H}_2\text{O}$  裂解释放  $\text{O}_2$ ）的光合作用。光合色素为叶绿素 a，这与其他类型光合细菌不同，在细胞结构上也与一般异养原核生物有区别。在电子显微镜下，蓝细菌细胞质内可见到类似于叶绿体的结构分化（图 1.2）。为理解蓝细菌在氧气产生中的重要性，我们首先必须看一看它们的合成代谢。蓝细菌的光合成代谢与不释氧（Ⅰ型的）光合细菌的最大的区别是它们以水代替硫化氢作为氢供体，这与高等植物的光合成过程相同。所以，这种类型的光合作用为



这是释氧光合作用的关键反应，在所有的藻类和高等植物中都进行同样的反应：



科学界推测蓝细菌出现于距今 35 亿年前~30 亿年前，那时地球大气仍然缺乏氧气。但是到了 25 亿年前~15 亿年前氧气已有积累，因为那时带状铁构成（banded iron formation）已在海洋中出现。在这种构成中，带状的毫米厚石英层和铁氧化物层交替存在。这些构成中含有部分氧化型的铁（ $\text{FeO}$  和  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ），这些化合物只能在有氧情况



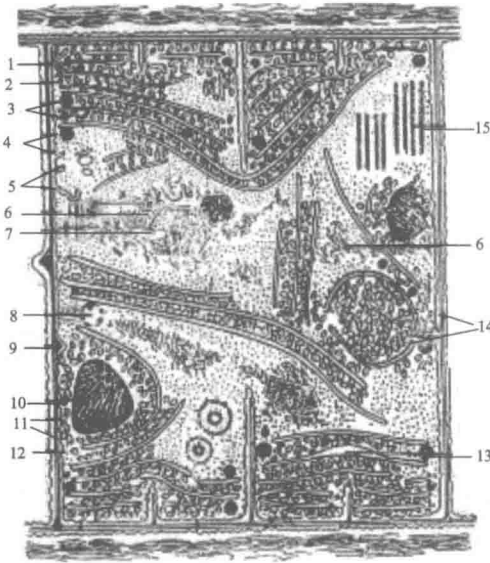


图 1.2 电子显微镜观察到的蓝细菌细胞和异型胞的构造（北京大学生命科学学院，2006）。1. 光合作用片层；2, 3. 各种不同的颗粒；4. 相邻细胞的胞间连丝；5. 原生质膜；6. 核质；7. 多角小体；8. 似液泡构成；9. 加厚的横壁；10. 结构颗粒体；11. 原生质膜；12. 横壁；13. 光合作用构成的圆盘；14. 藻胆体；15. 圆柱形小体

下产生，而且只能是在氧气积累的初期，在大气中游离氧浓度很低的条件下形成。根据相关信息，氧化铁的氧源自最初进行释氧光合成作用的蓝细菌。带状铁构造不能在今天形成，因为现时大气和海洋中的氧气浓度都已太高。所以现在的铁沉积物是红层（red bed）沉积岩，因为它们含有赤铁矿（ $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ），这是铁的更高氧化形式，因而呈红色。

当蓝细菌光合作用释氧时，地球上氧气的浓度长期保持在很低水平上，这是因为氧是化学上具高度活性的，它会与当时地球上存在的大量高度还原性的化合物化合，这些还原的化合物，如亚铁的铁和硫化物，会与游离氧反应而阻止游离氧在大气中快速积累。

据地质记录显示，自由氧的积累是极为缓慢的，经过约 15 亿年（距今约 20 亿年），大气中的氧分压才达到现在大气分压的 10%~15%。因而大气中的氧是经 20 亿~30 亿年才达到现在的约 20%的水平。

显然，蓝细菌类群在地球的演化中起着特别重要的作用。地球化学及化石证据表明，大气中氧气的产生是蓝细菌的释氧光合作用的结果。那已是在原生代（proterozoicera）（25 亿年前~6 亿年前），距今大约 25 亿年前发生的。而在此之前，厌氧细菌已在地球上生活进化了约 15 亿年。大气中氧气的出现和含量的增高，使极度还原性的地球环境逐渐改变，才进化出现了好氧微生物。

臭氧层的形成阻挡了强烈的紫外线辐射，对陆生动植物生存和进化具有关键性作用。特别有趣的是，多细胞真核生物生命形式一旦出现，地球上的生物类型出现了巨大的变化，单细胞生物在生物界的主导地位，很快被有先进生物形式的多细胞真核生物取代。而适应陆地生存环境的所有生物的进化仅在不到 6 亿年的时间内实现。与此同时，原核生物已在地球上生活和进化了超过 35 亿年。

现代，有关蓝细菌的最令人兴奋的发现，是其中有些物种也能进行上述不释氧的光合反应（反应 a）。这一发现表明蓝细菌可能是由不释氧光合成细菌（类似于紫色和绿色硫细菌）进化而来。然而，这些变异体必定已经进化了上百万年，才能以水取代硫化氢作为光合成的还原剂，并因而能分解水进行释氧光合作用（反应 c）。这个重要过程的进化是通过叶绿素相关基因的遗传变异和自然选择达到的。由蓝细菌产生