

真菌的系统发育和进化方面的研究进展

周与良 邢来君

(南开大学生物系,天津)

七十年代以来,由于生化解剖、比较酶学、核酸的硷基比率以及胞壁组分等分子水平上的研究结果,促进了真菌的系统发育和进化方面的研究。本文拟主要介绍真菌核酸方面的研究进展,并试图通过真菌核酸性质的梗概来讨论这些性质对于研究分类和系统发育的关系。

核酸的硷基组成

一、核 DNA 的硷基组成

核酸内鸟嘌呤与胞嘧啶的克分子含量百分比(以下简称 G-C%)已成为细菌分类学上有价值的工具,并做为常规列入分类类群的属性中。在真核微生物中,对一些真菌进行了广泛的研究,G-C% 同样揭示出一个与细菌相同的范围。细菌的 G-C% 范围为 25—75%,真菌为 27—70%,既然细菌的 G-C% 被列为分类的标准而真菌也就具有这种可能性^[1]。

真菌各纲的 G-C% 含量归纳如表 1, 从该表看出,接合菌纲 G-C 含量最低,而担子菌纲最高。子囊菌纲却分成两个类群,第一类群是半子囊菌亚纲(主要是产孢酵母) G-C 含量范围为 29—48.5%,与接合菌纲类似。第二类群是真子囊菌亚纲, G-C 含量范围为 48.5—60%。多数半知菌的平均 G-C 含量与子囊菌纲相似。

表 1 真菌各纲 G-C 含量的频率分布*

类 群	N ₁	N ₂	\bar{x}	R	S
担子菌纲	24	27	53.0	40.5—62.0	5.31
接合菌纲	66	155	42.6	27.5—59.0	7.62
半子囊菌亚纲	73	112	40.2	29.0—48.5	4.13
真子囊菌亚纲	69	90	53.4	48.5—60.0	2.47
半知菌纲	163	220	52.1	35.5—64.5	3.27
担子菌纲	42	62	55.0	44.0—59.5	3.59

* N₁, 供分析种的数目; N₂, 供分析的菌株数目; \bar{x} , G-C 克分子百分比的算术平均值; R, G-C 克分子百分比的变化范围; S, G-C 克分子百分比的标准偏差。

由此看出,伴随真菌由低等向高等的进化 DNA 的

G-C% 随之递增。按照真菌起源的单元论观点^[2], 其演化顺序是藻状菌→接合菌→子囊菌→担子菌。然而表 1 中,卵菌纲(藻状菌的一个主要纲)的 G-C% 是 53, 高于接合菌纲。同时有人对壶菌纲(也是藻状菌的一个主要纲)的八个种的分析表明它们的 G-C% 平均值是 51^[1]。这就是说从 DNA 的 G-C% 值看来藻状菌作为真菌进化的原始类群是值得怀疑的,这就暗示了真菌起源的单元论观点有必要考虑修改。另外,接合菌纲的 G-C% 平均值与半子囊菌纲的平均值比较接近,这种情况可以认为酵母菌是原始的而非退化类型。应该指出,酵母菌的起源迄今仍然是一个有争议的问题。一种观点认为酵母菌是丝状真菌的退化类型,而另一种观点认为酵母菌是接合菌纲和子囊菌纲的中间类型。尽管 G-C% 值本身对这一问题没有提供解答,但是酵母菌中与担子菌近亲的类型都具有像担子菌那样高的 G-C 含量,而与子囊菌有亲缘关系的酵母菌, G-C 含量是偏低的,接近于接合菌纲。看来似乎在子囊菌纲中出现一个二叉分枝,可以认为酵母菌是从真菌各纲派生的退化类型。

历来,因为用于丝状真菌分类的许多形态学和生活史中的特征对于酵母菌的情况是不适用的。所以酵母分类主要依赖于它们的生化指标及生理和形态特征。尽管长期以来酵母菌被认为是真菌,但是许多情况下要把它们归属到现在的分类类群中还有一些困难。DNA 硷基组成的研究则有助于改变这种情况。因此, DNA 硷基组成的分析对酵母菌和类酵母菌的分类更有意义。

二、线粒体 DNA 的硷基组成

对线粒体 DNA 的浮力密度进行测定时,发现线粒体 DNA 和核的 DNA (只有少数种例外)的浮力密度几乎是一样的,一般地讲线粒体 DNA 仅稍低于核 DNA。核 DNA 的浮力密度为 1.699 g/cm³, 而线粒体 DNA 的浮力密度为 1.684 g/cm³。线粒体 DNA G-C% 的范围为 22—43, 而核 DNA 的 G-C% 是 23—61 (见表 2)^[1]。值得注意的是线粒体 DNA 的数量随着环境条件而变化。

需要谈到的是关于线粒体生源说的问题。近年来

表 2 线粒体 DNA 与核 DNA 的比较

类 群	浮力密度 (g/cm ³)		G-C%	
	核 DNA	线粒体 DNA	核 DNA	线粒体 DNA
接合菌纲:				
<i>Cunninghamella echinulata</i> 刺孢小克银汉霉	1.693	1.692	34	34
<i>Mucor fragilis</i> 易脆毛霉	1.698	1.692	39	38
<i>M. rouxii</i> 鲁氏毛霉	1.696	1.697	37	38
子囊菌纲:				
<i>Aspergillus nidulans</i> 构巢曲霉	1.711	1.685	51	30
<i>Candida lipolytica</i> 解脂假丝酵母	1.7011	1.685	50	28
<i>C. utilis</i> 产朊假丝酵母	1.704	1.685	46	26
<i>Ceratocystis ulmi</i>	1.715	1.699	56	40
<i>Chaetomium globosum</i> 球毛壳	1.717	1.698	58	34
<i>Neurospora crassa</i> 粗糙链孢菌	1.713	1.703	54	42
<i>N. sitophila</i> 好食链孢菌	1.714	1.702	55	43
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> 啤酒酵母	1.697	1.652	38	22
<i>Sordaria macarospora</i> 大孢粪壳	1.713	1.703	54	42
<i>Gelasinospora calospora</i> 麻孢壳	1.714	1.703	55	42
担子菌纲:				
<i>Daedalea confragosa</i> 粗糙迷孔菌	1.716	1.690	57	31
<i>Schizophyllum commune</i> 裂褶菌	1.720	1.687	61	28

有大量的资料^[3,47]讨论了线粒体基因组的自主性,支持了真核细胞内的线粒体是由原核生物演化而来的理论。在酵母菌的匀浆液中已分离出三种不同的 DNA 聚合酶,其中之一是线粒体聚合酶。线粒体 DNA 是线粒体聚合酶的最好的模板和引物。用多头绒泡菌分离的线粒体 DNA 证实了它本身具有合成 DNA 的自主系统^[9]。同样在真菌线粒体中也发现了依赖 DNA 的 RNA 聚合酶^[6]。酿酒酵母线粒体的提取物使用多聚核苷酸或 R₁₇ 病毒作为信使 RNA 合成了蛋白质。但是线粒体蛋白质的合成是在细胞质中还是在线粒体中合成,仍需要进行深入的研究。

三、RNA 的硷基组成

对真菌 RNA G-C 含量的研究结果综合在表 3 中^[11,7]。从表中看出,接合菌纲 G-C 含量最低而担子菌纲最高,子囊菌纲的 G-C 含量介于接合菌和担子菌纲之间,半知菌纲与子囊菌纲几乎相等。在子囊菌中, RNA 的 G-C 含量表明真子囊菌和半子囊菌亚纲之间也存在一个二叉分枝,这与 DNA 的情况是相似的。

表 3 真菌各纲和亚纲中总 RNA 的 G-C% 范围

类 群	分析种的数目	G-C% 范围
接合菌纲	9	44.1—51.1
子囊菌纲	12	46.8—55.0
半知菌纲	11	48.2—55.1
担子菌纲	8	50.2—60.5
半子囊菌亚纲	7	46.8—54.4
真子囊菌亚纲	5	50.2—55.0
所有的纲	40	44.1—60.5

一些学者分别对 tRNA 和 rRNA 的 G-C 含量进行了测定并与 DNA 的 G-C% 含量进行了比较^[8,9]。在黑曲霉、埃默森小芽枝霉、鲁氏毛霉、粗糙链孢菌、卡尔酵母和啤酒酵母等六种菌中,它们的 DNA 的 G-C% 的范围是 37—66,而 rRNA 仅是 47—53.0, tRNA 是 54.6—61.6。因此,在各种真菌中单一 RNA 的这种分析结果在分类学和系统发育上是否有价值有待进一步研究。

一些线粒体 RNA 的研究的可靠性与细胞质 RNA 进行了可能的比较,线粒体 RNA 的 G-C% 总是低于细胞质的 RNA^[10,11]。

核酸其它方面的研究与真菌分类和系统发育的关系

一、同源序列

研究核苷酸序列的同源性对认识真菌的系统发育和进化是很重要的。在这一方面研究所采用的方法主要是分子杂交技术或是重结合技术。

某一菌的单链 DNA 与另一菌的 RNA 或 DNA 杂交是可能的,而杂交的程度可以作为它们的亲缘关系在数量上的表示。早期有人用 DNA—琼脂法研究过几种真菌,发现在链孢菌属种间的 DNA—DNA 重结合的程度是恒定的,白纹鬼伞 (*Coprinus lagopus*) 的 DNA 用它本身的杂交比用粗糙链孢菌或间型链孢菌的 DNA 要好^[12]。后来有人在酵母属^[13]和假丝酵母属^[14]内也做了许多研究, DNA—DNA 重结合是由德

膜法测定的。即先把单链 DNA 固定在硝酸纤维膜上, 然后把它置于另一种带标记的单链 DNA 或 RNA 溶液里, 使其在膜上发生杂交或重结合。用这一方法对脉孢菌属测定结果是: 同源百分率的标准在粗糙脉孢菌 (*Neurospora crassa*) 中为 100 时, 间型脉孢菌 (*N. intermedia*) 为 84, 好食脉孢菌 (*N. sitophila*) 为 88, 四孢脉孢菌 (*N. tetrasporma*) 为 85, 而粗糙脉孢菌的 DNA 序列和白绒鬼伞 DNA 序列的同源率仅有 19%^[15]。

近期 Vanghan 等人^[16] 把 DNA 的硷基组成和 DNA-DNA 重结合测定同源序列用于酵母菌的鉴定中,

发现啤酒酵母、贝酵母、薛瓦酵母、意大利酵母、葡萄汁酵母的 G-C% 的范围是 38.5—39.5%, DNA-DNA 重结合表明有 90% 的硷基序列是相同的。所以认为后四个种应该归并为啤酒酵母。

DNA-RNA 杂交的研究与 DNA-DNA 重结合相比较, 给基因组中已知类群 RNA 的顺反子计数提供了可能性。这样的研究也为分类学和系统发育的分析提供了一个很好的工具。例如, 用 P³² 标记鲁氏毛霉 RNA 同其它真菌 DNA 的杂交度可用滤膜法测定^[17], 其结果列于表 4 中。

表 4 鲁氏毛霉 rRNA 和各种 DNA 的杂交

菌 名	G-C%	RNA(%) / DNA	$\bar{m} \pm \bar{s}$	同源度(%)
<i>Mucor rouxii</i> (1894) 鲁氏毛霉 1894	39	0.5500 0.4460 0.5259 0.5241 0.3912 0.4714 0.4815 0.3816 0.4826 0.4736	0.4745 ± 0.0554	100.0
<i>M. rouxii</i> (8097) 鲁氏毛霉 8097	43	0.3045 0.3767 0.2161 0.3366 0.2700	0.3002 ± 0.0462	63.4
<i>M. generensis</i> 日内瓦毛霉	40	0.2748 0.2529	0.3138 ± 0.0390	66.1
<i>Rhizopus oligosporus</i> 少孢黑霉	39	0.3662 0.4873	0.4040 ± 0.0416	85.1
<i>Cunninghamella echinulata</i> 刺孢小克银汉霉	26	0.2183		46.0
<i>Penicillium chrysogenum</i> 产黄青霉	51	0.4254		89.6
<i>Schizophyllum commune</i> 裂褶菌	59	0.2705		57.0
<i>Neurospora crassa</i> 粗糙脉孢菌	54	0.1683 0.2491 0.3245	0.2473 ± 0.0526	52.1
<i>Escherichia coli</i> 大肠杆菌	50	0.0000		0.00
Chick embryo cell 鸡胚细胞	42	0.0187		3.9

* \bar{m} : RNA 与 DNA 杂交百分率的平均值。 \bar{s} : 平均值的平均偏差。

从表 4 中看出,鲁氏毛霉 1894 菌系的 rRNA 完全不与大肠杆菌和小鸡的 DNA 杂交。而毛霉属内的杂交在三个种间均可发生。表现型易区别的两个鲁氏毛霉和日内瓦毛霉形成的杂交率几乎相等。该结果表明原来根据形态学和生理特征进行的种的分类,在大多数情况下与分子同源性的测定结果是一致的。而少孢根霉和产黄青霉的高的杂交率却无法解释。

二、DNA 的复性动力学

Britten 在 1968 年首先发表了一篇关于 DNA 重复序列的文章^[17],提出 Cot—曲线研究其重复序列。在两条变性的互补链复性时,复性的速度遵守二级反应动力学公式。DNA 复性动力学实质上就是对分子杂交这一技术引进精确的数量概念来用于研究 DNA 的重复序列^[18]。认为生物愈高级它的 DNA 就愈复杂,那么根据 Cot 值与 DNA 的复杂度成正比的概念,它的 Cot 值就愈大。反之,生物愈低级,它的 DNA 越简单, Cot 值就愈小。因而通过对 DNA 复杂度的研究在生物进化上可能有重要意义。这有待于进一步的研究才能得出结论。

G-C% 和其它生化标准同 真菌进化途径的修改

按照真菌起源的单元论观点,真菌起源于鞭毛生物。据此接合菌纲是子囊菌纲的直接前身,子囊菌纲又先于担子菌纲。但是近十年来除了 DNA 硷基组成外,对许多重要的化学和生化指标进行了研究,这些研究的结果也对单元论的观点提出了修改意见。

生化标准是根据生物合成的途径、比较酶学、胞壁组分等指标建立的。有人研究了赖氨酸生物合成的两种路线在 26 种真菌中的分布^[19]。第一条是二氨基庚二酸 (DAP) 途径,仅在丝壶菌纲和卵菌纲的代表种中发现。而另一条是氨基己二酸 (AAA) 途径,在所有真菌的其它各纲中都存在。在另一研究中曾经发现色氨酸生物合成酶的沉降图型可分为四个组群^[20],这些图型在真菌各纲的分配列于表 5 中。这一研究结果把壶菌纲与真子囊菌亚纲和无隔担子菌亚纲联系起来,共同属于同一图型。接合菌纲和有隔担子菌亚纲共同属于另一图型,半子囊菌亚纲和卵菌纲又各自属于另一图型。这导致了放弃接合菌纲和半子囊菌亚纲是壶菌纲和真子囊菌亚纲间的中间类型的意见。

细胞壁的多糖成分也已进行了广泛的研究。系统发育依赖于认识细胞壁各组分中两种多糖对的优势。这些成对的大分子在真菌各纲中分配情况描述在表 6 中^[21],通过表 6 可以看出与表 5 结果的相似性。壶菌纲、真子囊菌亚纲和无隔担子菌亚纲都具有几丁质- β -葡聚糖这一对多糖的胞壁组分。接合菌纲和半子囊菌

表 5 色氨酸生物合成酶的沉降图型

真菌类群	沉降图型的类型
壶菌纲	I
卵菌纲	IV
接合菌纲	III
半子囊菌亚纲	II
真子囊菌亚纲	I
有隔担子菌亚纲	III
无隔担子菌亚纲	I

表 6 细胞壁的多糖组成

真菌类群	多糖对
壶菌纲	几丁质- β -葡聚糖
卵菌纲	纤维素- β -葡聚糖
接合菌纲	几丁质-壳聚糖
半子囊菌亚纲	甘露聚糖- β -葡聚糖
真子囊菌亚纲	几丁质- β -葡聚糖
有隔担子菌亚纲	几丁质-甘露聚糖
无隔担子菌亚纲	几丁质- β -葡聚糖

亚纲可能是从这一主线演化而来的旁支。这些结果脱离了单元起源的图式。另有人综合了这一结果和色氨酸途径酶的图型以及赖氨酸生物合成途径的结果,提出了原始的壶菌纲演化为原始的子囊菌纲,原始的子囊菌纲又演化成原始的担子菌纲。从每一原始的纲又各自发展,即原始的壶菌纲发展成现在的壶菌纲和接合菌纲,原始的子囊菌纲发展成半子囊菌亚纲和真子囊菌亚纲,原始的担子菌发展成现在的有隔担子菌亚纲和无隔担子菌亚纲。

还有人把 DNA 的 G-C% 连同上面讨论的三个生化指标结合在一起,试图建立一个进化路线^[21]。这一路线主张一个单元起源序列:即壶菌纲到真子囊菌亚纲到无隔担子菌亚纲,而半子囊菌亚纲从真子囊菌亚纲而来。因此支持了酵母菌起源的退化理论。接合菌纲作为一个独立的,认为是从一个壶菌纲前身的“未知菌”进化而来的类群。对卵菌纲的分类地位提出了异议,是否划归为真菌需要进一步的讨论。

综上所述,真菌核酸方面的研究对真菌系统发育和进化的研究起了较大的推动作用,而且由于引进了分子生物学的标准而有所改进。其中 G-C% 的测定及核苷酸同源序列的研究对真菌分类和进化的探讨很有价值,特别是使酵母菌的分类进入了“分子生物学”年代,一个更能反应真菌进化关系的分类系统必将出现。

参 考 文 献

- [1] J. B. G. Kwapinski, In *Molecular Microbiology* p. 424—477, ed. John Wiley and Sons, Inc. New

York, 1974.

- [2] Gaumann, E. A., *Die Pilze Grunzuge Ihrer Entwicklung schichte Und Morphologie*
刘锡进译 «真菌——发展史及其形态学» 科学出版社, 北京, 1979.
- [3] Raver, P. H., *Science* 169: No. 3946, 1970.
- [4] Wagner, R. P., *Science* 163: No. 1026, 1969.
- [5] Brewer, E. N., et al., *Biochem. Biophys. Acta* 145: 686, 1967.
- [6] Wintersberger, E., *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 40: 1179, 1970.
- [7] Storek, R., *J. Bacteriol.* 90: 1260, 1965.
- [8] Comb. D. G., R. Brown, and S. Katz, *J. Mol. Biol.* 8: 781, 1964.
- [9] Moyer, R. C. and R. Storek, *Arch. Biochem. Biophys.* 104: 193, 1964.
- [10] Edelman, M., et al., *J. Mol. Biol.* 49: 67, 1970.
- [11] Fauman, H., et al., *Biochem. Biophys. Acta*, 182: 355, 1969.
- [12] Dutta, S. K., et al., *Genetics* 57: 719, 1967.
- [13] Bicknell, J. N., et al., *J. Bacteriol.* 101: 505, 1970.
- [14] Bak, A. L. and A. Stenderup, *J. Gen. Microbiol.* 59: 21, 1969.
- [15] Dutta, S. K., and P. K. Chakrabartty, *Neurosp. News.* 18, 1971.
- [16] Vaughan, Ann E., and A. Martinia, DNA Base Composition and DNA-RNA Reassociation of the "wine" Species of the Yeast Genus *Saccharomyces* Hansen, Vth International Symposium on Yeast, Ab'stracts Y--5.3.3(p), 1980.
- [17] Britten, R. J., et al., *Science* 161: No. 3841, 1968.
- [18] Harshey, R. M., et al., *Chromosoma*, 73: 143--151, 1979.
- [19] Hutter, R., and J. A. Demoss, *J. Bacteriol.* 94: 1861, 1967.
- [20] Bartnicki-Garcia, S., In *Phytochemical Phylogeny* B. Harborne, (ed.), Academic Press, New York, 1970.
- [21] Storek, R., In *Evolution of Genetic Systems*, Brookhaven Symposia 23: 371, 1972.