

# 植物的基因水平轉移：剪不斷理還亂的演化關係

吳宗賢、趙淑妙

## 前言

在自然界中，遺傳物質的傳播大多以父母傳給其子代的方式完成，也就是所謂的基因垂直轉移，然而充滿驚奇的生物演化卻也另闢蹊徑，發展出基因水平轉移（Horizontal gene transfer）或稱橫向基因轉移（Lateral gene transfer），系指生物個體間，不經過有性生殖的方式將遺傳物質互相或單向傳播給對方。基因水平轉移在微生物的演化上扮演至關重要的角色，微生物通過互相吞食或融合達到互換遺傳物質的現象相當普遍，此現象也解釋為什麼微生物可以在短時間演化出抗藥性，亦即非抗藥性的微生物可通過基因水平轉移，接納抗藥性微生物的遺傳物質，此種「立即使用」的概念，成為演化的利器，使微生物得以快速適應新的環境。

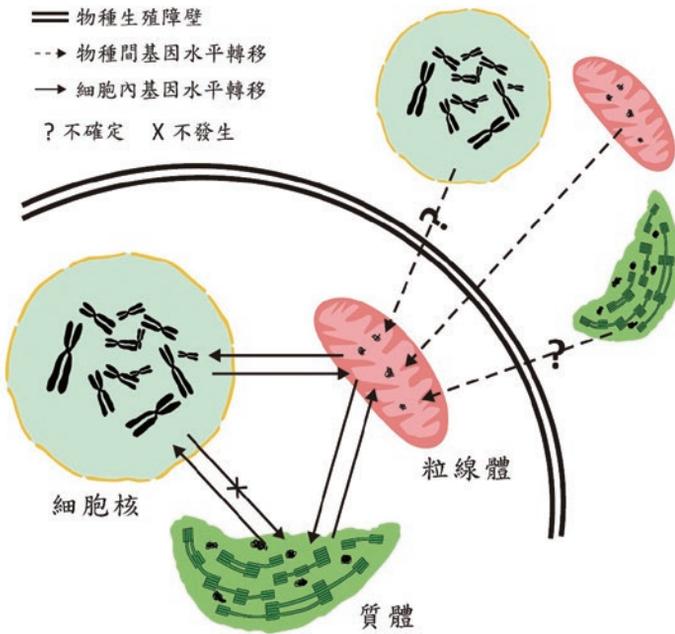
然而基因水平轉移現象，在多細胞生物之間是少見的，以種子植物為例，直至2003年才有相關的研究報導。自營植物的細胞內有三種胞器擁有各自的遺傳物

質或稱之為基因體，分別為：細胞核、粒線體、及質體（Plastid）。質體根據其功能又可細分為葉綠體、有色體、及蛋白質體等。近年來在DNA定序技術的發展下，學界陸續觀察到植物對植物的基因水平轉移現象，其中以粒線體的基因水平轉移最為頻繁，而質體僅有少數案例。本文以種子植物粒線體基因水平轉移現象為題，探討轉移基因的演化及其轉移的機制，並以我們的研究結果作為案例，闡述被子植物的粒線體基因水平轉移至裸子植物粒線體基因體的情形，以及造成基因水平轉移的機制。

## 細胞內的基因水平轉移

在探討物種之間的基因水平轉移前，我們要先釐清在細胞內，細胞核、粒線體、及質體之間的遺傳物質轉移是非常頻繁的，此現象稱為細胞內基因水平轉移（圖一）。

理論上，一例成功的基因水平轉移須符合以下條件：(1) 提供者的遺傳物質需要被釋出；(2) 接受者需要有管道納入被釋出的遺傳物質；(3) 被納入的遺傳物質要在被完全降解前嵌入接受者的基因體內；(4) 嵌入的DNA要能被垂直遺傳至後代並散佈至整個族群。這四項條件須一氣呵成，可見一例成功的基因水平轉移是多麼不容易。以下簡述各種細胞內基因轉移的途徑：



圖一、植物細胞內及物種間基因水平轉移途徑。

## 粒線體及質體對細胞核的基因轉移

最知名的證據來自內共生起源論。真核生物的祖先在演化早期先後吞噬粒線體及質體的祖先，隨後大量的粒線體及質體的基因，經由細胞內基因水平轉移至細胞核。現今種子植物的粒線體僅保留約30~40個蛋白質基因，而質體則保留約60~80個蛋白質基因，但是粒線體與質體的姊妹群——變形菌及藍綠菌，其基因體擁有超過2,000個基因，顯見大部分的粒線體與質體的基因已被丟失或轉移至細胞核，而且這種細胞內基因轉移仍持續進行中。

在模式植物阿拉伯芥及水稻的核基因體被完整解序後，人們隨即發現這兩種植物的核基因體內含有大量的粒線體與質體的DNA片段，有些片段甚至涵蓋整個粒線體與質體的基因體。雖然這些細胞核內的粒線體與質體DNA片段中的基因大多不表現，並且成為假基因（Pseudogene）。此一發現揭示粒線體與質體對細胞核的基因轉移是以大片段DNA，甚至是整個基因體轉移的方式進行。

細胞核收留其他胞器基因的原因至今仍眾說紛紜，鑒於粒線體及質體是細胞內的能量工廠，氧化還原反應所產生的自由基會傷害DNA，細胞核收留其他胞器的基因可讓這些基因免於突變，但此論述無法解釋為何仍有少部分基因被保留在粒線體及質體內。另一種觀點則認為細胞核保留（或稱之為扣留）大部分的粒線體與質體的基因是為了控制及使役，屬於片利共生關係。

### 粒線體與質體之間的基因轉移

此類轉移通常發生於質體對粒線體輸入DNA。現今被解序的種子植物粒線體基因體皆存在或多或少的質體DNA片段，稱之為粒線體質體DNA。雖然大部分的粒線體質體DNA的基因都是假基因，但電腦預測的結果顯示部分的粒線體質體tRNA可能具備功能，可以彌補粒線體本身tRNA種類先天性的不足，然而此觀點仍需實驗數據佐證。

反之，粒線體對質體輸入DNA則相當罕見，現今學界推測的原因包含：(1) 質體基因體的基因密度相當緊實，沒有太多的基因間隙供外來基因嵌入；(2) 質體沒有演化出提供外來DNA輸入的通道；(3) 質體與質體不會互相融合，而粒線體互相融合及隨後的基因體重組卻常發生。但是上述的觀點無法解釋近年來發現的幾起粒線體DNA水平轉移至質體的案例，因此對於質體抗拒基因水平轉移的原因仍無一致性的結論。

### 細胞核對粒線體及質體的基因轉移

由於細胞核基因體的規模遠大於粒線體及質體的基因體，理論上，細胞核對粒線體及質體的基因轉移應該很常見，然而細胞核基因體絕大部分是沒有基因編碼的DNA，此類無基因編碼DNA轉移至粒線體或質體很難被現今的分析技術探知。

早期學界是把跳躍子（Transposable element）當成錨點，探查細胞核對粒線體基因轉移的痕跡。跳躍子普遍存在於植物的細胞核基因體，可經由一系列生化作用轉移至基因體的其他部位，因此若我們在粒線體或質體的基因體內發現一段未知DNA，而其周邊擁有跳躍子活動過的痕跡，就可以推測此未知DNA片段可能是被跳躍子攜帶，從細胞核遷移至其他胞器。然而上述的方法存在許多不確定性，近期的研究顯示種子植物，尤其是裸子植物，的粒線

體基因體也擁有許多的跳躍子，因此在判斷跳躍子的來源上著實困難——來源是細胞核或是粒線體本身？植物的粒線體基因體內存在非常多的未知DNA區域，但現今的分析技術仍無法解開它們的演化來源，相對地，未知DNA區域在質體基因體非常罕見，再次說明質體是基因水平轉移的抗拒戶，除非是透過人工基因轉殖技術，有興趣的讀者可查閱質體基因轉殖文獻，此技術是發展「綠色疫苗」的大利器。

## 物種之間的基因水平轉移

種子植物之間的基因水平轉移現象多發生在粒線體，尤其以寄生性的被子植物最為頻繁。植物根據其取得生活資源的方式可區分成：自營及非自營模式，前者利用光合作用獲取生活所需的碳水化合物，後者則喪失或只擁有部分光合作用能力，依靠奪取外界資源來維持生活，而根據其生存方式又可細分為寄生及腐生模式。

部分的寄生性被子植物的莖部演化出特殊的結構，稱之為吸器（Haustorium），此種類似「根」的結構可穿透宿主的細胞壁，掠奪養分。腐生性植物則依賴與其共生的真菌分解有機物質提供生活所需的養分。然而，至今只在寄生性植物觀察到粒線體基因水平轉移，腐生性植物則無。雖然近期的研究發現真菌對與其共生的蘭花水平輸入基因，此案例屬於核基因水平輸入，不是本文探討的範

疇。相對於粒線體，基因水平轉移發生在質體的案例甚少，且多為粒線體基因轉移至質體，質體對質體的案例目前仍未被報導過。

### 寄生性植物與宿主間之間的基因水平轉移

此類研究在本世紀起始即掀起龐大的研究熱潮，主要是因為DNA定序技術的進步及寄生性植物的特性。部分的寄生性植物具有宿主專一性，此特性對研究水平轉移基因及其來源的判斷提供相當的便利性。寄生性植物的吸器不僅奪取宿主的養分，也納入宿主的遺傳物質，這種長期的「親密性連結」增加宿主對寄主基因水平轉移的機會，因此寄生性植物被認為是研究基因水平轉移的模式物種。

有趣的是，寄生性植物與宿主間的基因水平轉移並非單向作用，研究指出在車前屬（*Plantago*）的粒線體發現外來基因，其來源為寄主菟絲子屬（*Cuscuta*）的粒線體基因，這種寄主對宿主水平輸入基因的案例也發生在泡囊草屬（*Physochlaina*）的粒線體。基因水平轉移的規模可小至單一基因，多至整套粒線體基因體，例如最近在寄生性植物裸花蛇菰（*Lophophytum mirabile*）的研究，發現約60%的粒線體DNA來自其宿主，此種大規模的水平轉移現象，說明大片段DNA，甚至是整套基因體轉移，是粒線體基因水平轉移的方式之一（Sanchez-Puerta *et al.*, 2019）。

研究寄主與宿主之間的基因水平轉移仍存在許多困難，其中以材料污染最常發生，因為植物性的寄主與宿主是以親密性連結的方式存在，在材料採集時不容易區分，進而在抽取DNA時將寄主與宿主的DNA混合，此類的潛在性錯誤容易在以PCR為主的研究發生，因為PCR具有放大目標基因的特性，即使污染源很少也會被放大至可偵測範圍，導致誤判。另一困難處是寄主與宿主的親緣演化關係若很接近，將無法明確判斷水平轉移基因，例如寄生性植物無根藤（*Cassytha*）也可以寄生在同科的樟科植物，倘若無根藤與其他樟科植物進行基因水平轉移，將可能無法明確區別出垂直或水平轉移基因。

### 非寄主與宿主之間的粒線體基因水平轉移

雖然沒有特化的寄生模式，也沒有演化出吸器，自營植物的粒線體也被發現擁有外來的DNA片段，此類研究以被子植物最早期的一個演化分枝—無油樟（*Amborella trichopoda*）的粒線體基因體為經典範例。無油樟擁有巨大，約3.9 Mb的粒線體基因體，在其中有197個蛋白質基因為水平轉移基因，其來源包含藻類、苔蘚、及其他被子植物。無油樟為孑遺植物，僅生存在南太平洋新喀里多尼亞（New Caledonia）地區的雨林。相關研究者認為無油樟常被其他被子植物覆蓋，植物體表附著大量的附生性植物及地衣，這種接觸容易使無油樟造成傷口，促成細胞與

細胞直接接觸，因而造成基因水平轉移事件，而此研究結果也導致「粒線體相容性融合」（Mitochondrial fusion-compatibility）假說問世，用以解釋大規模的粒線體水平基因轉移事件（Rice *et al.*, 2013）。

### 粒線體基因水平轉移至質體

早期學界認為在自然狀況下，質體基因體無法接納外來的DNA，但是隨著更多證據被發現，此觀點已被推翻。第一個粒線體DNA轉移至質體的案例在2012年被報導（Iorizzo *et al.*, 2012），隨後亦有類似的案例陸續被報導，但是被嵌入的粒線體DNA，其來源大多屬於細胞內轉移，或是沒有探討其轉移路徑，而不同物種間轉移的案例則甚少。

## 水平轉移基因的命運

理論上，被水平轉移的基因將以下列的狀態存在：

### 假基因化

若是屬於大片段DNA水平轉移事件，其轉移DNA片段內的大部分基因，在轉移初期應該擁有完整的遺傳資訊，然而在漫長的演化中，這些水平轉移基因若不被自然選擇，將在隨機突變率的操作下，基因結構被破壞並演化成假基因。假基因化是多數水平轉移基因的命運，最終將消

失在演化的長河中。

### 形成嵌合體基因

垂直與水平轉移基因經由同源重組作用，形成嵌合體基因的案例時常發生在植物粒線體基因體的演化上。然而，這類嵌合體基因是否具備基因功能性，仍欠缺實驗檢驗。在寄生性植物粒線體基因體的研究上，雖然有些案例顯示嵌合體基因具備轉錄RNA的能力（Garcia *et al.*, 2021）。但對其轉錄的RNA是否能轉釋成胺基酸，其胺基酸鍊是否能構成具功能性的蛋白質，在這方面的研究仍舊缺乏。

### 取代垂直轉移基因

水平轉移基因取代垂直轉移基因的途徑有二：(1) 垂直轉移基因被一物種丟失後，該物種隨後從其他物種獲得水平轉移基因；(2) 垂直及水平轉移基因同時存在，但水平轉移基因較被青睞，導致垂直轉移基因被淘汰。不過，在植物粒線體基因體的演化上，水平轉移基因取代垂直轉移基因的案例極為稀少。在寄生植物裸花蛇菰的粒線體基因體研究上，部分的水平轉移基因擁有極高的RNA表現量（Garcia *et al.*, 2021）。但這些高表現量的水平轉移基因是否取代原先的垂直轉移基因仍欠缺有力的證據。

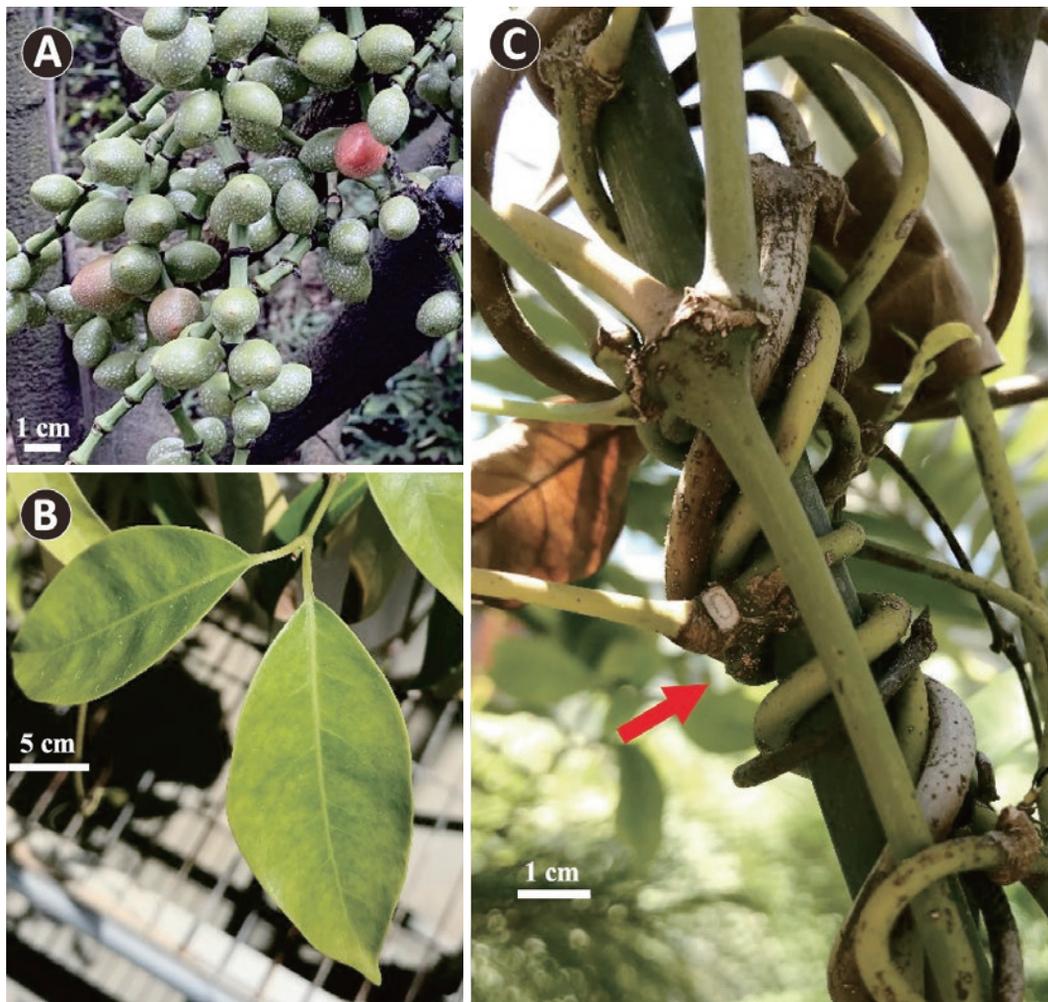
## 演化出新的功能性基因

許多研究指出水平轉移基因在植物演化上扮演關鍵的角色，例如幫助蕨類植物適應低光照環境及抵抗病蟲害、禾本科植物C4光合作用的適應性演化、及植物適應陸生環境等（Petersen *et al.*, 2020）。但上述的研究皆與細胞核基因水平轉移相關。粒線體基因水平轉移並演化出新功能的案例仍未被發現，原因可能是植物粒線體基因僅約30~40個蛋白質基因，其功能多與呼吸作用及基因表現相關，在這種少量的基因數量及單調的基因功能的情況下，即使水平轉移至其他物種，很難演化出創新功能的基因。

## 被子植物粒線體基因水平轉移至裸子植物粒線體

### 研究背景

目前報導的種子植物粒線體基因水平轉移事件多發生在被子植物，在裸子植物僅發現三件案例。裸子植物是被子植物的姊妹群，兩者在三億年前已分歧且獨立演化至今。現今存活的裸子植物包含：蘇鐵類、銀杏、柏類、松類、及買麻藤類。買麻藤是一群特殊的裸子植物，擁有類似被子植物的營養組織，例如：寬闊的葉子、網狀的葉脈、及導管等（圖二）。買麻藤現今約有40種，分布在亞



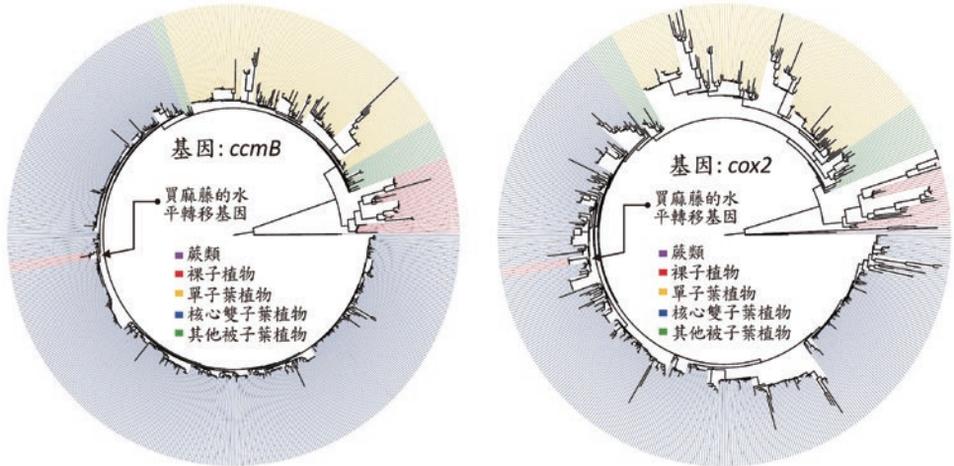
圖二、擁有類似被子植物外觀的裸子植物買麻藤。(A)買麻藤的毬果；(B)買麻藤的闊葉及網狀葉脈；(C)買麻藤的纏繞特性，紅色箭頭所指處。

洲、非洲、及南美洲等熱帶與亞熱帶地區，亞洲是買麻藤的種化熱區，可再區分成亞洲分類群I及亞洲分類群II。

買麻藤是裸子植物中的異類，生活在低海拔雨林與被子植物為鄰，且大部分的買麻藤是木質藤本，經常攀爬纏繞鄰近的被子植物，現生的買麻藤僅有兩種為小灌木。Won及Renner（2003）在20年前，偶然發現亞洲買麻藤的粒線體擁有一段特殊的內含子拷貝，其序列的特性與被子植物的同源內含子相似，經過演化樹方法的檢驗，證實這個內含子為基因水平轉移的結果，其來源可能是被子植物茜草科或茄科植物，這一發現成為第一個被報導發生在裸子植物的基因水平轉移事件。但是這個早期研究是以PCR技術進行驗證，由於PCR的局限，無法以整個基因體的角度探討水平轉移基因，因此我們結合第二代與第三代定序技術，組裝5種亞洲買麻藤的粒線體基因體，配合已被發表的其他買麻藤粒線體基因體資料，較全面性地研究亞洲買麻藤的基因水平轉移事件。

## 亞洲買麻藤粒線體基因體的演化經歷過多次的基因水平轉移事件

我們團隊發現亞洲買麻藤粒線體基因體的大小呈現極大的差異——亞洲分類群II約是分類群I的2.5倍，造成此差異的部分原因是前者比後者擁有更多的外來DNA。這些外來DNA與被子植物的粒線體DNA同源，但不存在於買麻

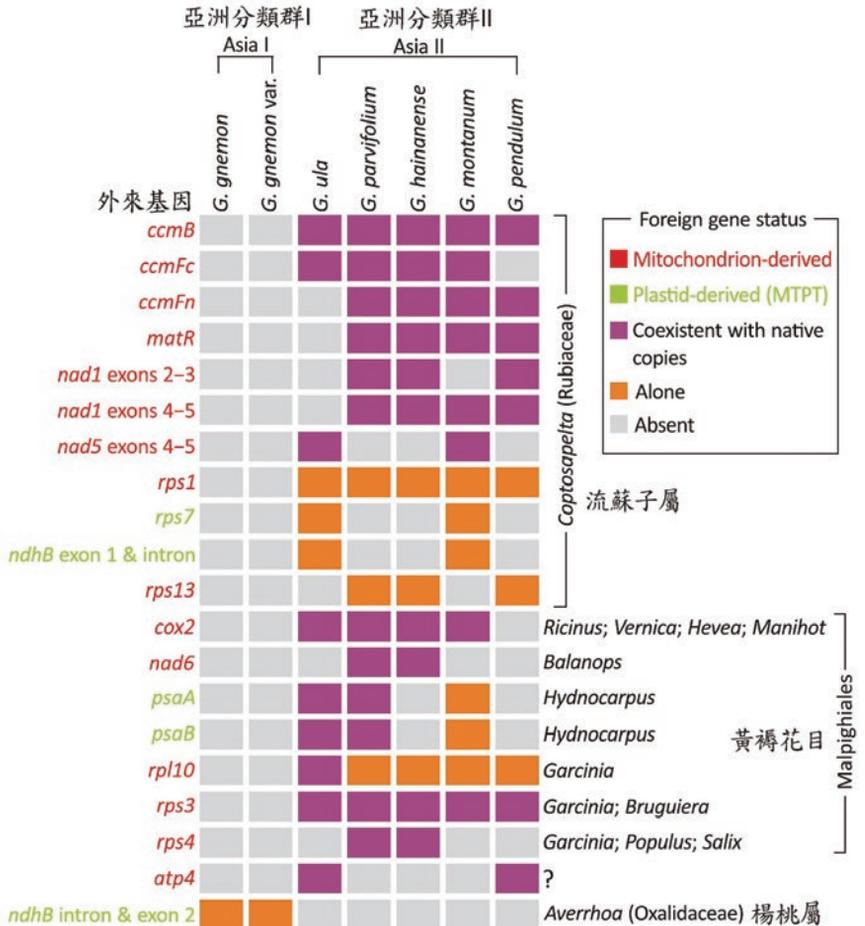


圖三、演化樹分析法驗證水平轉移基因。以粒線體基因 $ccmB$ 及 $cox2$ 為例。

藤以外的裸子植物。我們從這些外來DNA中鑑定出20個基因，其中1個基因為亞洲分類群I所專有，剩下的19個為分類群II所專有。

RNA資料分析的結果顯示這20個外來基因的表現量極低，甚至不表現，且多數的外來基因不具備完整的序列，也偵測不出有RNA編輯的活動，因此判斷這20個外來基因已被假基因化。

將這20個外來基因進行演化樹分析（圖三），其中有19個基因的歸屬具有統計意義上的支持度，並可分成三大群：流蘇子屬（*Coptosapelta*）衍生群、黃耨花目（Malpighiales）衍生群、及楊桃屬（*Averrhoa*）衍生群（圖四），而黃耨花目衍生群中的7個基因又各自與該目底下的不同屬呈現姊妹關係，表示這7個外來基因是不同來源的，也就是來自獨立的基因水平轉移事件。



圖四、20個在買麻藤粒線體基因體偵測到的外來基因及它們的水平轉移來源。外來基因被標示在左邊；中間的彩色方塊代表外來基因與本土基因的存在關係（參閱右上方框內說明）；外來基因的水平轉移來源則標示在右邊。水平轉移來源不具備統計意義則以“？”表示。

總結上述的發現，我們認為亞洲買麻藤粒線體基因體的演化經歷過多次的基因水平轉移事件，而這些外來DNA的提供者包含多種被子植物。這些獨立的基因水平轉移事件造就亞洲買麻藤的粒線體有複雜的基因體結構，這種現象未曾在其他裸子植物的粒線體基因體演化上被報導過。

### 以DNA為主導的基因水平轉移

當基因體的雙股DNA斷裂後，外來的DNA就有機會侵入斷裂處，經過DNA修復作用後，即完成外來DNA的嵌入。然而，RNA經過逆轉錄後可形成互補DNA（Complementary DNA），此互補DNA亦可嵌入基因體內，這種以RNA為主導的基因水平轉移通常具有一些特性——嵌入的基因不具備內含子，並且有明顯的RNA編輯痕跡。此外，串聯且同源的嵌入基因可視為一種證據，支持以DNA為主導的基因水平轉移事件，這是因為RNA的成熟化須經過後修飾作用，此作用會將串聯基因的轉錄分子切割成單一基因且各自游離的轉錄單元，因此若是RNA為主導的基因水平轉移，我們很難看到串聯在一起的嵌入基因。有趣的是，買麻藤的20個外來基因有8個擁有內含子，1個座落於其他基因的內含子內，其他的11個基因不是串聯在一起，不然就是沒有RNA編輯過的痕跡，表示這些外來基因的移入是由DNA所主導的基因水平轉移。

## 藤蔓纏繞誘導的基因水平轉移模型

我們在亞洲買麻藤粒線體內檢測到大量的水平轉移基因，但這現象未曾在其他裸子植物的粒線體內被觀察到，此種差異讓我們提出一個演化的問題：為什麼買麻藤會遭遇到這麼多次的基因水平轉移事件？近期在嫁接植物的研究發現，當接穗與砧木接觸後，傷口處所形成的癒傷組織細胞（Callus cell）的細胞壁會產生擾動並開始形成原生質絲（Plasmodesmata），這些原生質絲穿透過細胞壁並串聯不同的細胞，而在生成原生質絲的前期，可觀察到相鄰兩細胞之間的質體及粒線體輸送，這種以細胞與細胞對接輸送質體及粒線體的方式，可以用來解釋物種間的基因水平轉移機制（Hertle *et al.*, 2021）。

買麻藤是裸子植物中唯一的藤蔓類植物，經常攀爬纏繞鄰近的被子植物（圖二）。這種藤蔓纏繞作用將使藤蔓及被纏繞的植物產生傷口，讓各自的形成層組織接觸。因此，我們提出的假說如下：因纏繞作用而受傷的形成層誘發癒傷組織，相鄰但不同源的癒傷組織細胞接觸後開始形成原生質絲並交換質體與粒線體，而外源與本土的粒線體發生融合後，促使外源DNA進入本土粒線體，由於傷口處的細胞損傷會造成DNA斷裂，這些斷裂的缺口提供外源DNA嵌入的機會，隨後，攜帶外源DNA的癒傷組織分化成新枝條並產生種子，使水平轉移的DNA垂直遺傳至下一代，再通過遺傳漂變作用（Genetic drift），這些水平轉移

DNA最終散播至整個族群。

相對地，質體並不會進行融合反應，且質體也無演化出DNA輸入通道，這也解釋即使有外來質體輸入，但質體基因體卻沒有鑲嵌外來DNA的現象。

## 結語

基因水平轉移是一個非常有趣的演化議題，這種自然界存在的現象打破孟德爾的遺傳定律，凸顯出網狀化的生命樹形式。早期學界認為基因水平轉移只在微生物之間發生，但隨著定序技術的發展，定序資料的快速累積，在進入21世紀時，我們也意識到高等植物之間亦會進行DNA遺傳物質交換。然而，目前在植物基因水平轉移的研究上仍以寄生性植物及其宿主為大宗。我們在裸子植物買麻藤粒線體基因體的研究結果，以及其他為數不多的先驅研究報告，皆指出自營性植物之間亦會進行大量的基因水平轉移。雖然粒線體融合解釋大量基因水平轉移的機制，但是植物與植物之間的交互關係，它們的生活方式，也在基因水平轉移上佔有重要的地位。研究多樣性的基因轉移機制，將使我們更加了解生物的自然演化。

## 參考文獻

1. Garcia LE, *et al.* 2020. *New Phytol.* 229:1701-1714.
2. Hertle AP, *et al.* 2021. *Sci Adv.* 7:eabd8215.
3. Iorizzo M, *et al.* 2012. *Mob. Genet. Elements* 2:261-266.
4. Petersen G, *et al.* 2020. *Mitochondrion* 52:173-182.
5. Rice DW, *et al.* 2013. *Science* 342:1468-1473.
6. Sanchez-Puerta MV, *et al.* 2019. *Mol Phylogenet Evol.* 132:243-250.
7. Won H, Renner SS. 2003. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 100:10824-10829.

## 後記

「天地不仁，以萬物為芻狗」，這是闡述道家自然無為的經典語錄，也是生物演化最貼切的寫照。「不仁」即「一視同仁」，也就是說「萬物」沒有貴賤之分，「天地」任其自然發展，也就是這種不被約束的自然發展，方能造就出繽紛璀璨的生物多樣性。基因水平轉移為遺傳多樣性開啟了一扇窗，也為生物的演化另闢蹊徑。人生不也是如此，虛心求教，包容萬物，才能在「不仁」的天地之間脫穎而出。

## 作者簡介



### 吳宗賢

台灣大學博士，中研院博士後研究員。研究領域包含分子親緣演化學、轉錄體學、及基因體學。閒暇之餘喜好釣魚及探訪神秘釣點，是一個被植物科學耽誤的魚類愛好者。



### 趙淑妙

美國杜蘭大學生態暨演化生物學系博士。專注從基因體學角度探究現生種子植物的演化。業餘喜好管閒事，例如有關栽培未來的女性科技人、科普寫作、及人造光源污染的立法等議題。