

天麻分子生物学研究进展

涂 焱¹, 徐 哲¹, 张 磊¹, 董家红¹, 史志龙^{2,3}, 刘鸿高^{2,3}, 季鹏章^{1,2,3*}

- (1. 云南中医药大学南药研究院中药材栽培研究所, 云南 昆明 650500;
2. 昭通学院 云南省天麻与真菌共生生物学重点实验室, 云南 昭通 657000;
3. 昭通学院 云南省天麻绿色种植与加工工程研究中心, 云南 昭通 657000)

摘要: 分子生物学(molecular biology)是在核酸、蛋白质、脂质体等生物大分子的水平上阐述生物生命现象和本质的科学,其发展为中药资源的研究提供了新的技术和方法。天麻是重要的中药材,属于药食两用中药。当前对天麻分子生物学方面的研究逐渐深入,为了系统地阐明天麻分子基础研究进展,本文总结了近十多年来有关天麻分子生物学方面的最新研究进展,主要包括天麻分子标记技术、功能基因、转录组学、基因组学等。以期为天麻遗传多样性、种质资源鉴定、分子育种和栽培管理等研究提供理论依据。

关键词: 天麻;分子生物学;组学;分子标记;遗传多样性

中图分类号: R282

文献标志码: A

文章编号: 1000-2723(2025)04-0098-07

DOI: 10.19288/j.cnki.issn.1000-2723.2025.04.015

Progress in the Research of Molecular Biology of *Gastrodia elata*

TU Yi¹, XU Zhe¹, ZHANG Lei¹, DONG Jiahong¹, SHI Zhilong^{2,3}, LIU Honggao^{2,3}, JI Pengzhang^{1,2,3}

- (1. Institute of Medicinal Plant Cultivation, Academy of Southern Medicine, Yunnan University of Chinese Medicine, Kunming 650500, China; 2. Yunnan Key Laboratory of Gastrodia and Fungi Symbiotic Biology, Zhaotong University, Zhaotong 657000, China; 3. Yunnan Engineering Research Center of Green Planting and Processing of Gastrodia, Zhaotong University, Zhaotong 657000, China)

ABSTRACT: Molecular biology was the science that expounded the phenomena and nature of biological life at the level of biological macromolecules such as nucleic acids, proteins, liposomes and so on, and its development has provided new techniques and methods for the study of Chinese medicinal resources. *Gastrodia elata* was an important traditional Chinese medicine and belonged to the homology of food and medicine. At present, the research on the molecular biology of *Gastrodia elata* was gradually deepening. In order to systematically expound the progress of the basic molecular research of *Gastrodia elata*, this paper summarized the latest research progress on the molecular biology of *Gastrodia elata* in the past more than ten years, mainly including *Gastrodia elata* molecular marker technology, functional genes, transcriptomics, genomics and so on. It was expected to provide a theoretical basis for the research on the genetic diversity, identification of germplasm resources, molecular breeding and cultivation management of *Gastrodia elata*.

KEY WORDS: *Gastrodia elata*; molecular biology; omics; molecular marker; genetic diversity

天麻(*Gastrodia elata* Bl)是兰科(Orchidaceae)植物天麻的干燥块茎,具有祛风通络、息风止痉、平抑肝阳的作用^[1]。天麻及其有效成分在临床上多用于肢体麻木、头晕目眩、癫痫抽搐等症状的治疗。天麻又名

“赤箭”“鬼督邮”^[2],是云南省“十大云药”品种之一,在 2023 年 11 月被正式纳入既是食品又是中药材物质目录。在我国的云南、贵州、湖北、四川等省是天麻栽培的主要产区^[3],其中以云南昭通天麻品质最佳。

基金项目: 云南中医药大学高层次人才科学研究项目(30270104868);云南省天麻与真菌共生生物学重点实验室 2024 年度开放课题(TMKF2024A06);云南省南药可持续利用研究重点实验室开放课题(202105AG070012XS23021)

作者简介: 涂 焱(1997-),男,在读硕士研究生,E-mail: 15125450370@163.com

* **通信作者:** 季鹏章(1975-),男,研究员,研究方向:中药种质资源,E-mail: 466192110@qq.com

分子生物学作为研究植物资源遗传多样性、种质鉴别、系统进化、抗逆及植物生长发育和调控机制的重要手段,在天麻资源的利用和开发的研究中起到重要的作用。目前,分子生物学在天麻的研究中主要集中在分子标记、转录组学、基因组学等领域,关于功能基因的鉴别与验证、蛋白质组学和代谢组学方面的研究较少。本文从分子标记、转录组学、基因组学及功能基因等方面,对与天麻分子生物学研究相关的成果进行综述,以期为天麻植物资源的开发和保护提供科学参考。

1 天麻组学研究

1.1 转录组学 转录组学可揭示基因与植物生命现象的内在联系。目前,天麻转录组学研究主要集中在基因功能、次生代谢途径注释、抗逆信号通路挖掘、与真菌共生和生长发育机制等方面。天麻酚类物质作为天麻中主要的药用成分,参与其生物合成的基因功能探索已然成为天麻分子生物学的重点。Tasi 等^[4]比较天麻球茎和未成熟块茎的转录组差异,获得 2 个可能参与天麻素生物合成途径中羟基化和糖基化的 unigenes。Shan 等^[5]鉴定了天麻花、茎、块茎中 6 种主要酚类成分的含量。对获得的 unigenes 进行了功能注释,共鉴定出与天麻酚类生物合成相关的 76 个差异表达基因(differentially expressed genes, DEGs),编码 8 个关键酶。天麻次生代谢途径的注释主要集中在苯丙烷代谢途径。Wang 等^[6]对天麻未成熟和成熟块茎进行代谢组和转录组分析,从代谢组中检测出 76 种不同的氨基酸及其衍生物以及 34 种维生素,转录组中共测出 16 对 DEGs,且这些 DEGs 编码的酶促进或抑制天麻中氨基酸和维生素的生物合成。文欢等^[7]对刚采集的天麻及放置 5 d 后的天麻进行转录组测序分析,研究天麻次生代谢产物含量与相关酶活性的关系。研究结果表明,与刚采集的天麻相比,放置 5 d 的天麻大部分基因表达量下降。汪頌浩等^[8]对乌红杂交天麻种子和乌天麻(*Gastrodia elata* f. *glauca*)种子进行转录组测序分析。共获得 705 个 DEGs,其中有 10 个 DEGs 被 KEGG 数据库中的苯丙烷类合成途径注释。分析结果表明,与乌天麻种子相比,乌红杂交天麻种子的质量更佳。刘云霞等^[9]通过对箭麻和白麻进行转录组测序分析,研究天麻不同发育阶段生长代谢特征。研究结果表明,与箭麻相比,白麻生长代

谢中物质积累比较旺盛,可为箭麻的生长发育提供营养基础。周春燕等^[10]通过转录组和代谢组联合分析不同温度对天麻基因表达和代谢产物含量的影响,发现温度影响天麻代谢物相关基因的表达从而调控天麻生长发育。Gong 等^[11]通过对天麻转录组和 WGCNA 的联合分析,揭示了天麻能增加 DNA 修复相关的 *Mcm*、*Pold2*、*Pole*、*Rfc1*、*Dna2* 和 *Rpa2* 基因表达来提高 DNA 损伤修复能力。

天麻是一种完全真菌异养兰科植物,萌发菌(*Mycena*)和蜜环菌(*Armillaria mellea*)在天麻的生长发育过程中起到至关重要的作用。萌发菌在种子萌发和原球茎发育阶段充当共生体,提供其生长所需的营养物质。Liu 等^[12]从菌根的土壤中分离出 HPDA25 菌株。通过转录组测序和 qRT-PCR 分析发现,HPDA25 与高卢蜜环菌(*Armillaria gallica*)的共生培养增加了与果胶甲脂酶和疏水蛋白相关基因的表达,但降低了糖降解相关基因的表达。谭或文等^[13]通过比较乌天麻的块茎和蜜环菌的转录组数据,推测在蜜环菌与天麻共生的过程中,虽然蜜环菌的生命脆弱,但不受天麻块茎的胁迫。天麻种子萌发后生长发育所需的营养主要通过分解侵入天麻表层的蜜环菌获取。目前,关于天麻和蜜环菌相互作用分子机制相关的文献报道较少。曾旭等^[14]对与天麻共生的石斛小菇(*Mycena dendrobii*)、天麻成熟种子以及接菌后的天麻原球茎进行转录组分析,发现在天麻与真菌的共生过程中,释放寡糖因子相关的基因表达显著升高,这类基因在天麻种子对石斛小菇的防御过程中起到重要的作用。Ren 等^[15]通过分析天麻与蜜环菌动态共生过程中的转录组,发现天麻通过减少脱落酸(abscisic acid, ABA)的生物合成和阻断 ABA 信号传导,抑制天麻种子休眠。Zeng 等^[16]分析与菌根真菌共生的天麻种子在萌发过程中的转录组。发现网格蛋白介导的内吞作用参与天麻种子萌发并阐明内生真菌与天麻共生萌发的分子机制,对天麻种植技术的创新发展有很重要的指导意义。目前,天麻与萌发菌共生的研究主要集中在部分代谢产物变化及其变化过程中的 DEGs。

Wang 等^[17]从染病的乌天麻块茎中提取并鉴定出草酸青霉菌(*Penicillium oxalicum*),并对健康的乌天麻进行转录组测序分析,从中获得 10 个潜在的抗性基因,这些抗性基因主要依附于植物病原体相互作用

途径和植物激素信号转导途径中的转录因子。

1.2 基因组学 一种植物的基因组里包含其所有的遗传物质和信息。近年来,天麻基因组学的研究内容主要包括天麻系统进化和遗传变异。Wang 等^[18]对红天麻(*Gastrodia elata* f. *elata*)、乌天麻和绿天麻(*Gastrodia elata* f. *viridis*)进行重测序,发现红天麻种群和乌天麻种群是两个独立的遗传谱系。并且在选择扫描基因组区域识别了一个 Phox/Bem1p(PB1)域编码生长素(AUX)、吲哚乙酸(IAA)和 3 个查尔酮合酶的基因,这表明乌天麻种群和红天麻种群的分化是通过选择与生长发育和光响应相关的基因来促进。Bea 等^[19]发现天麻中参与细胞组成和各种生物合成的基因明显减少,但在代谢过程中和菌根真菌关联的基因得到扩展,表明天麻对真菌异养生活方式的适应性进化。Zhao 等^[20]在全基因组范围内结合 qRT-PCR 和转录组,分析 SPL 转录因子对天麻、石斛(*Dendrobium chrysotoxum*)和惠兰(*Cymbidium goeringii*)在开花过程中花器官发育的作用。结果表明,大多数 SPL 转录因子的功能主要集中在花器官和茎的发育过程中,并且 *Dch-SPL9* 和 *GelSPL2* 在石斛和天麻的开花过程中高表达。

天麻是真菌完全异养的兰科植物。Xu 等^[21]比较了天麻和 4 种兰花、3 种寄生植物的基因组。比较结果表明,与 4 种兰花和 2 种寄生植物相比,天麻丢失了更多保守正交群,说明基因丢失与异养增加呈正相关。并且参与植物光合作用、养分吸收以及根和叶发育等对自养植物重要的基因,在天麻中都集体丢失,与 Chen 等^[22]的研究结果一致。Jiang 等^[23]组装了勐海天麻染色体水平的基因组,发现了与丛枝菌根真菌(arbuscular mycorrhizal fungi,AMF)定植有关的基因,还发现许多与天麻和共生真菌之间相互作用有关

的基因比能发生光合作用的兰花中的相关基因多很多。编码铵根转运蛋白和脂肪酸的基因高表达,表明共生真菌从天麻中获取营养物质。Park 等^[24]报道了韩国天麻品种中完整的叶绿体基因组,该基因组与被子植物中叶绿体基因组相比,缺少很多和光合作用相关的基因,并表现出高特异性变异。Kang 等^[25]发现韩国天麻品种中叶绿体的基因组比中国天麻的叶绿体基因组小 74 bp,且两种天麻基因组中存在 75 个 InDels 和 495 个 SNP 序列变异。

蜜环菌在天麻生长发育过程中发挥着不可或缺的作用。Cai 等^[26]对与天麻共生的高卢蜜环菌进行基因组组装。与其它 5 种蜜环菌的基因组相比,高卢蜜环菌基因组中与碳水化合酶家族相关的基因减少,但与糖基转移酶(glycosyl transferase,GT)相关的基因增多。Yuan 等^[27]对天麻进行基因组测序,发现在其它植物中用于进行光合作用的基因在天麻中大部分已经丢失。基因组的可塑性对天麻适应真菌异养这种生活方式可能包括拓展促进菌丝消化的糖苷水解酶(glycoside hydrolases)和脲酶(urease),以及有助于非典型能量代谢的 ATP 酶。

2 天麻功能基因研究

天麻生长发育的过程中,所有的生命现象都是由多种基因通过复杂的分子调控完成的。但目前关于天麻功能基因的报道较少,且多数研究仅仅只是分析基因的表达模式并推测该基因可能的功能。Wang 等^[28]研究天麻抗真菌蛋白(gastrodia antifungal protein, GAFP)在棉花(*Gossypium hirsutum*)中抵抗由大丽轮枝菌(*Verticillium dahlia*)引起的黄萎病的功能。结果表明,编码 GAFP 的基因能在棉花中高表达,提高棉花抗黄萎病的能力。陈英等^[29]成功的将 GAFP 基因

表 1 天麻功能基因列表

基因名	ORF (bp)	ORF 编码氨基酸数量(pcs)	相对分子质量	编码蛋白	功能	参考文献
<i>GAFP</i>	387		14	抗真菌蛋白	抗真菌瑞氏木酶	[29]
<i>GeDTC</i>	981	326	35.01	三羧酸载体蛋白	调控三羧酸外排通道并参与调控块茎发育	[30]
<i>GeGT1</i>	1503	500	55.5	糖基转移酶	催化巴利森苷等的糖基化反应	[31]
<i>GeSUT3</i>	1560	520	55.6	蔗糖转运蛋白		[32]
<i>GeSUT4</i>	1611	536	57.4	蔗糖转运蛋白	在细胞间和内稳态中主动转运蔗糖	[32]
<i>GeSCPL</i>	1665	463		丝氨酸羧肽酶	参与种子萌发中储藏蛋白的水解	[33]

转化到烟草中,并经过体外抗菌实验证明转基因阳性植株对瑞氏木霉菌(*Trichoderma reesei*)具有抗性。赵建豪等^[30]克隆了天麻二羧酸-三羧酸载体蛋白(dicarboxylate tricarboxylate carrier, DTC)的编码基因*GeDTC*,并将其转化到马铃薯中。结果表明,与野生型的植株相比,阳性植株的有机酸含量更少,质量更轻,但淀粉的含量无明显差异,推测*GeDTC*可能控制三羧酸(tricarboxylate)的外通道并参与块茎大小的调节。刘梦丽等^[31]将天麻糖基转移酶基因(*GeGT1*)转化到大肠杆菌中。检测*GeGT1*在天麻不同组织中的表达量,发现*GeGT1*在天麻的花中表达量最高,其次是块茎。Ho等^[32]发现两个糖转运蛋白(sucrose transporter, SUT)样基因*GeSUT3*和*GeSUT4*在蜜环菌定植的块茎中高表达,推测*GeSUT4*在细胞内稳态和细胞间分配发挥主动运输的作用。曾旭和郭顺星^[33]以与内生真菌共生萌发的天麻种子为材料,获得了丝氨酸羧肽酶基因(*GeSCPL*)。亚细胞定位表明,该基因编码的蛋白主要在胞外和液泡内表达。qRT-PCR结果显示,天麻与内生真菌共生萌发的过程中,原球茎中的*GeSCPL*表达下降。Li等^[34]基于蜜环菌属541的转录组分析,获得了蜜环菌LysM结构域识别基因(*aLDRG*)。*aLDRG*在蜜环菌菌索和菌丝形成时高度表达,通过RNA原位杂交,将其定位在根茎的皮层细胞中。生物层干涉(biolayer interferometry, BLI)结果表明,*aLDRG*可以与真菌细胞的几丁质寡糖特异性结合。

3 天麻分子标记研究

分子标记是基于测序技术,能在分子水平上反映生物种群或个体间基因组中存在差异的特异性DNA片段。常用的分子标记技术有基于PCR的简单重复序列(SSR)、简单重复序列间区(ISSR)、单核苷酸多态性(SNP)、相关序列扩增多态性(SRAP)、扩增片段长度多态性(AFLP)、随机扩增多态性DNA(RAPD)等。目前,分子标记技术主要用于天麻的遗传多样性、亲缘关系、种质资源和种群的研究。

3.1 简单重复序列(simple sequence repeat, SSR)

SSR标记又称为微卫星DNA。张俊等^[35]、周天华等^[36]利用分子标记技术分析不同种质资源天麻的遗传多样性。研究结果表明,天麻的遗传多样性丰富且在不同变型间有强烈的遗传分化。种群聚类分析结果显示,SSR指纹图谱能有效的鉴别红天麻、乌天麻、绿

天麻,并且乌天麻与绿天麻的遗传距离最近。袁炎等^[37]对4种不同变型天麻进行转录组分析,共获得了9748个InDel位点和1423个SSR位点,且包含这些位点的基因主要集中DNA修复、RNA合成及调控等通路。此外,还发现了在这几种变型天麻中均存在的320个SSR和1062个InDel差异表达位点。Wang等^[38]对红天麻、乌天麻和绿天麻进行转录组分析。从转录组数据中共获得128921个SNP和3766个EST-SSR位点。Wang等^[39]对红天麻和乌天麻的杂交种进行转录组分析。转录组数据中被鉴定为候选转录因子的unigenes共4236个,包含至少1个SSR的unigenes共有2007个,在这些SSR中,共有498个AG/CT重复序列且出现频率最高。Tsai等^[40]利用磁珠富集法从夏天麻(*Gastrodia flabilabella*)中共获得257个SSR位点,其中的28个SSR位点中,共有16个SSR位点具有多态性,观察到的杂合度范围为0.02~1.00。还发现7、13和15个位点可对南天麻(*Gastrodia javanica*)、红天麻和八代天麻(*Gastrodia confusoides*)进行种间扩增。徐哲等^[41]对不同种质资源天麻茎秆进行转录组分析,从转录组数据中共筛选出20855个SSR位点,4861242个SNP位点和234372个InDel位点。结果表明,天麻中SSR、SNP和InDel位点数量多、类型丰富且多态性好。Chen等^[42]分析了天麻种群中8个SSR位点,发现天麻种群的变异水平比其它的兰科植物低。Xu等^[43]设计了32对SSR位点引物,分析8个天麻野生种群中的32个样本,发现其中的13个位点多态性好。陈琦等^[44]利用SSR技术分析贵州野生和栽培天麻的遗传多样性,发现贵州野生天麻和栽培天麻具有很近的亲缘关系。

3.2 简单重复序列间区(inter simple sequence repeat, ISSR) ISSR标记技术基于SSR技术且结合了RAPD标记技术的优势,能为研究提供更多的基因组DNA信息。关萍等^[45]利用ISSR分子标记技术,分析来自贵州的9个种群天麻的遗传多样性和遗传结构。共使用12对ISSR引物扩增出120条清晰的条带,其中97条具有多态性,表明在物种间有较高的遗传变异。POPGENEFE分析结果表明,种群间的遗传变异高于种群内的,这可能与种子的传播距离和地理隔离等因素有关。陈祖云等^[46]利用ISSR技术分析来自贵

州省 23 个居群天麻的遗传多态性,共获得 32 个 IS-SR 位点,其中 29 个位点具有多态性,通过 ISSR 构建的聚类图表明,不同地区的红天麻和黄天麻的遗传变异程度不大,但乌天麻和绿天麻之间的遗传变异程度较高。

3.3 单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphisms, SNP) SNP 多态性是指生物基因组中的单个核苷酸发生突变导致的基因序列的多态性。李慧等^[47]分析天麻的重测序结果,筛选并获得具有特异性的 SNP 位点,并利用 SNP 位点设计了两对引物,建立并优化了可准确鉴别红天麻、乌天麻及其杂交天麻的特异性 PCR 方法。丛琨等^[48]利用 SLAF 技术开发 4 种不同种质资源的 28 个天麻样品的特异性 SNP 位点,共获得 60 238 个 SNP 位点,并对其进行分析,结果表明,红天麻作为主要的栽培品种,在长期的种植过程中与其它种质资源的天麻产生了较大的遗传差异。

3.4 相关序列扩增多态性 (sequence-related amplified polymorphism, SRAP) SRAP 标记为显性标记,是基于 PCR 的扩增技术,对开放阅读框(open reading frame, ORF)中特定区域通过特异的双引物进行扩增,因不同物种和个体中所含的启动子、内含子与间隔区距离不同而引起的多样性。柴琨等^[49]利用 SRAP 技术研究红天麻、乌天麻、绿天麻、红乌杂交天麻及另外三种变型的天麻的遗传多样性。结果表明,红天麻样品间的差异较小,而乌天麻、绿天麻、红乌杂交天麻样品间差异较大。此外,还发现人工种植对天麻的遗传分化有影响,但不明显。邓薇等^[50]利用 7 对 SRAP 引物从 3 个不同种质资源的天麻中获得 145 条清晰条带,其中 110 条具有多态性。遗传关系分析表明,红天麻与绿天麻的亲缘关系较近,而两者与乌天麻的遗传关系较远。

3.5 内转录区间(internal transcribed spacer, ITS)

ITS 在亲缘关系很近的两种物种中能表现出明显的差异,因此常用于物种的分子鉴定及系统发育分析。王德信等^[51]利用特异性引物克隆出黄天麻、乌天麻和绿天麻中 DNA 的 ITS 区,并分析目标片段。结果表明,黄天麻与绿天麻的遗传距离小于两者与乌天麻的遗传距离。ITS 区序列分析可作为鉴别不同变型天麻的方法。

3.6 随机扩增多态性 DNA (random amplified poly-

morphic DNA, RAPD) RAPD 技术用随机合成的引物对不同的模板进行扩增,当一个模板中仅仅出现唯一的条带时,可以作为该模板的分子标记。王德信等^[52]利用 RAPD 技术分析乌天麻、黄天麻和绿天麻的遗传多样性,用 10 对重复性好的引物扩增 130 个天麻样品中的 DNA,共获得 54 条特异条带,其中多态性变异率 65.1%,说明天麻的变异程度高。邹佳宁等^[53]对贵州境内的野生和栽培天麻进行 RAPD 分析,共检测到的 93 个位点中 66 个具有多态性,多态位点的百分率为 70.97%,聚类分析表明,野生和栽培天麻的遗传变异较大,说明天麻的生长环境和地理分布是导致其遗传多样性的重要原因。陶钧等^[54]优化了 RAPD 序列的扩增条件,并得到适合用于天麻遗传分化研究和真伪鉴别的两对引物。

3.7 扩增片段长度多态性(amplified fragment length polymorphism, AFLP) AFLP 技术通过限制性内切酶酶切后得到的特定 DNA 片段,根据酶切位点设计引物,进行选择性的扩增,分析扩增片段的长度并检测出多态性。程纪伦等^[55]通过 AFLP 技术分析 23 份贵州野生天麻的遗传多样性,共获得的 552 条扩增条带中 396 条具有多态性,多态性百分率约为 72%,聚类分析结果表明,贵州野生天麻遗传多样性丰富。

3.8 特异位点扩增片段测序 (specific-locus amplified fragment sequencing, SLAF-seq) SLAF-seq 可简化基因组数据,避免重复序列,提供高准确性的基因变异标记信息。Xu 等^[56]利用 SLAF-seq 技术分析了四种不同种质资源天麻的遗传变异和分化,结果表明,天麻具有很高的遗传多样性,红天麻的种群多样性最高而绿天麻的种群多样性最低,且个体间存在明显的差异。

4 结语与展望

目前,利用转录组学和基因组学技术对天麻的功能基因的研究也取得了一定进展,但多数的相关文献仅仅只是分析基因的表达模式并推测该基因可能的功能,对于后续的基因功能验证仍然很少,特别是关于调控天麻中天麻素、巴利森苷类和对羟基苯甲醇等主要活性成分合成的相关基因。目前为止,已克隆获得的多个相关功能基因,主要包括天麻中天麻苷和有机酸的合成、共生菌、糖基转移酶及 GFP 等相关基因,对天麻生长发育、其它化学成分和胁迫基因的探

索甚少。且天麻素等主要有效成分生物合成的途径也是未知。天麻中已开发的多种分子标记,主要用于其遗传多样性、亲缘关系、种质资源和种群等的研究。

天麻具有重要的药用、食用和经济价值。长期跨地区引种、无性繁殖、有性杂交育种,造成市场上种质资源混乱,不同变型的天麻中主要有效成分含量的差异也很大。人工种植数代后,天麻的质量与产量都显著下降,种质退化,因此需要不断地选育优良新品种。随着分子生物技术的不断发展,挖掘天麻中重要的功能基因和分子标记是后续天麻相关研究工作的重点。应联合利用转录组学、蛋白组学和代谢组学等多组学的技术手段和分子标记技术加快对天麻功能基因的探索,为天麻分子育种、优质种质资源的筛选和遗传进化研究提供科学依据。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 一部. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 59.
- [2] 沈涛, 刘鸿高, 王元忠. 天麻本草考证与现代资源利用问题探讨[J]. 中草药, 2023, 54(18): 6106–6117.
- [3] 刘大会, 龚文玲, 詹志来, 等. 天麻道地产区的形成与变迁[J]. 中国中药杂志, 2017, 42(18): 3639–3644.
- [4] TSAI C C, WU K M, CHIANG T Y, et al. Comparative transcriptome analysis of *Gastrodia elata* (Orchidaceae) in response to fungus symbiosis to identify gastrodin biosynthesis-related genes[J]. BMC genomics, 2016, 17: 212.
- [5] SHAN T Y, YIN M Z, WU J X, et al. Comparative transcriptome analysis of tubers, stems, and flowers of *Gastrodia elata* Blume reveals potential genes involved in the biosynthesis of phenolics[J]. Fitoterapia, 2021, 153: 104988–104988.
- [6] WANG Y, SHAHID M Q. Insights into the nutritional properties and molecular basis of biosynthesis of amino acids and vitamins of *Gastrodia elata* offered by metabolomic and transcriptomic analysis[J]. Frontiers in Plant Science, 2023, 14: 1183139.
- [7] 文欢, 张大燕, 彭成, 等. 天麻苯丙烷代谢途径的转录组学分析[J]. 中药材, 2017, 40(4): 789–796.
- [8] 汪顺浩, 文欢, 张大燕, 等. 两种天麻种子的转录组学分析[J]. 中药材, 2017, 40(12): 2759–2764.
- [9] 刘云霞, 狄永国, 仇全雷, 等. 基于转录组测序初步揭示天麻生长代谢的分子机制[J]. 中草药, 2014, 52(3): 827–837.
- [10] 周春艳, 狄永国, 仇全雷, 等. 转录组和代谢组联合分析低温胁迫对天麻生长发育的影响[J]. 分子植物育种, 2023, 21(1): 110–122.
- [11] GONG X H, CHENG J, ZHANG K S, et al. Transcriptome sequencing reveals *Gastrodia elata* Blume could increase the cell viability of eNPCs under hypoxic condition by improving DNA damage repair ability [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2022, 282: 114646–114646.
- [12] LIU T R, HUA Z Y, HAN P J, et al. Mycorrhizosphere Bacteria, *Rhizoglyphus* sp. HPDA25, Promotes the Growth of *Armillaria gallica* and Its Parasitic Host *Gastrodia elata* [J]. Frontiers in Microbiology, 2022, 13: 842893.
- [13] 谭或文, 包焱, 操璟璟, 等. 蜜环菌与天麻共生分子机制的转录组分析[J]. 中草药, 2018, 49(17): 4125–4130.
- [14] 曾旭, 杨建文, 凌鸿, 等. 石斛小菇促进天麻种子萌发的转录组研究[J]. 菌物学报, 2018, 37(1): 52–63.
- [15] REN L Y, ZHAO H, LIU X L, et al. Transcriptome reveals roles of lignin-modifying enzymes and abscisic acid in the symbiosis of mycelium and *Gastrodia elata* [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2021, 22(12): 6557–6557.
- [16] ZENG X, LI Y Y, LING H, et al. Transcriptomic analyses reveal clathrin-mediated endocytosis involved in symbiotic seed germination of *Gastrodia elata* [J]. Botanical Studies, 2017, 58(1): 31.
- [17] WANG Y H, GAO Y G, ZANG P, et al. Transcriptome analysis reveals underlying immune response mechanism of fungal (*Penicillium oxalicum*) disease in *Gastrodia elata* Bl. f. *glauca* S. chow (Orchidaceae) [J]. BMC plant biology, 2020, 20(1): 445.
- [18] WANG Y S, SHAHID M Q. Genome sequencing and re-sequencing identified three horizontal gene transfers and uncovered the genetic mechanism on the intraspecific adaptive evolution of *Gastrodia elata* Blume [J]. Frontiers in Plant Science, 2022, 13: 1035157.
- [19] BAE E K, AN C, KANG M J, et al. Chromosome-level genome assembly of the fully mycoheterotrophic orchid *Gastrodia elata* [J]. G3 (Bethesda, Md.), 2022, 12(3): 433.
- [20] ZHAO X W, ZHANG M M, HE X, et al. Genome-Wide identification and expression analysis of the SPL gene family in three orchids [J]. International Journal of Molecu-

- lar Sciences, 2023, 24(12):10039.
- [21] XU Y X, LEI Y T, SU Z X, et al. A chromosome-scale *Gastrodia elata* genome and large-scale comparative genomic analysis indicate convergent evolution by gene loss in mycoheterotrophic and parasitic plants[J]. The Plant Journal: For Cell and Molecular Biology, 2021, 108(6):1609–1623.
- [22] CHEN S S, WANG X, WANG Y Z, et al. Improved de novo assembly of the achlorophyllous Orchid *Gastrodia elata*[J]. Frontiers in Genetics, 2020, 11:580568.
- [23] JIANG Y, HU X D, YUAN Y, et al. The *Gastrodia menghaiensis* (Orchidaceae) genome provides new insights of Orchid mycorrhizal interactions[J]. BMC Plant Biology, 2022, 22(1):179.
- [24] PARK J, SUH Y, KIM S A. complete chloroplast genome sequence of *Gastrodia elata*(Orchidaceae) represents high sequence variation in the species[J]. Mitochondrial DNA B Resour, 2020, 5(1):517–519.
- [25] KANG M J, KIM S C, LEE H R, et al. The complete chloroplast genome of Korean *Gastrodia elata* Blume, mitochondrial DNA part B[J]. Resources, 2020, 5(1):1015–1016.
- [26] CAI J, MUHAMMAD I, CHEN B, et al. Whole genome sequencing and analysis of *Armillaria gallica* Jzi34 symbiotic with *Gastrodia Elata*[J]. BMC genomics, 2023, 24(1):275.
- [27] YUAN Y, JIN X H, LIU J, et al. The *Gastrodia elata* genome provides insights into plant adaptation to heterotrophy[J]. Nature Communications, 2018, 9(1):1615.
- [28] WANG Y Q, LIANG C Z, WU S J, et al. Vascular-specific expression of *Gastrodia* antifungal protein gene significantly enhanced cotton verticillium wilt resistance[J]. Plant Biotechnology Journal, 2020, 18(7):1498–1500.
- [29] 陈英, 王义琴, 诸葛强, 等. 转天麻抗真菌蛋白 GFP 基因烟草的获得及离体抑菌活性检测[J]. 植物资源与环境学报, 2002(2):1–5.
- [30] 赵建豪, 陈虞超, 华中一, 等. 天麻二羧酸–三羧酸盐载体蛋白基因的克隆及功能初探[J]. 中国中药杂志, 2023, 48(12):3140–3148.
- [31] 刘梦丽, 余函纹, 单婷玉, 等. 天麻中糖基转移酶基因 GeGT1 的克隆及原核表达分析[J]. 中草药, 2021, 52(14):4327–4333.
- [32] HO L H, LEE Y I, HSIEH S Y, et al. GeSUT4 mediates sucrose import at the symbiotic interface for carbon allocation of heterotrophic *Gastrodia elata*(Orchidaceae)[J]. Plant, Cell & Environment, 2021, 44(1):20–33.
- [33] 曾旭, 郭顺星. 天麻种子共生萌发中 SCPL 基因的克隆与分析[J]. 分子植物育种, 2018, 16(13):4211–4218.
- [34] LI B, LIU L, ZHANG D, et al. Hallmarks of comparative transcriptome between rhizomorphs and hyphae of *armillaria* sp.541 participating in fungal symbiosis with emphasis on LysM domains [J]. Microorganisms, 2023, 11(8):1914.
- [35] 张俊, 于涵, 李召辉, 等. 基于 SSR–HRM 技术的 4 种药用天麻变型遗传多样性及遗传结构分析[J]. 中草药, 2023, 54(9):2898–2906.
- [36] 周天华, 丁家玺, 徐皓, 等. 天麻种质资源的 SSR 指纹图谱研究[J]. 西北植物学报, 2018, 38(5):830–838.
- [37] 袁炎, 栗忠祥, 许宇星, 等. 基于全基因组重测序的天麻多态性分子标记开发及特征分析[J/OL]. 分子植物育种, 1–11[2024–09–22]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20230506.1033.010.html>.
- [38] WANG Y, SHAHID M Q, GHOURI F, et al. Development of EST-based SSR and SNP markers in *Gastrodia elata* (herbal medicine) by sequencing, de novo assembly and annotation of the transcriptome[J]. Biotech, 2019, 9(8):292.
- [39] WANG Y, SHAHID M Q, GHOURI F, et al. De novo assembly and annotation of the juvenile tuber transcriptome of a *Gastrodia elata* Hybrid by RNA sequencing: detection of SSR markers[J]. Biochemical Genetics, 2020, 58(6):914–934.
- [40] TSAI C C, WU P Y, KUO C C, et al. Analysis of microsatellites in the vulnerable Orchid *Gastrodia flavilabella*: the development of microsatellite markers, and cross-species amplification in *Gastrodia*[J]. Botanical Studies, 2014, 55(1):72.
- [41] 徐哲, 钱华丽, 陈小磊, 等. 不同种质资源天麻转录组的 SSR、SNP 和 InDel 特征分析[J/OL]. 分子植物育种, 1–15[2024–09–22]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20221102.1748.006.html>.
- [42] CHEN Y Y, BAO Z X, QU Y, et al. Genetic diversity and population structure of the medicinal Orchid *Gastrodia elata* revealed by microsatellite analysis[J]. Biochemical Systematics and Ecology, 2014, 54:182–189.

(下转第 112 页)

- 究[J]. 中国中医药信息杂志, 2016, 23(7): 104–107.
- [51] 倪文澎, 朱敏, 周琴妹. HPLC-ELSD 法测定滋肾通关胶囊中 2 种知母皂苷类成分[J]. 江苏中医药, 2012, 44(11): 69–70.
- [52] 周琴妹, 张登山, 陈晓斌. HPLC 指纹图谱技术用于滋肾通关胶囊提取工艺评价研究[J]. 中国药房, 2011, 22(11): 1005–1007.
- [53] 翟红莉, 孙连娜, 来威, 等. HPLC 法测定知母药材及其相关制剂中芒果苷和新芒果苷的含量[J]. 解放军药学报, 2007, 23(6): 472–474.
- [54] 代睿欣, 白遵光, 胡萍, 等. 滋肾通关片治疗良性前列腺增生症的临床研究[J]. 中华中医药学刊, 2013, 31(7): 1614–1616.
- [55] 陈伟. 滋肾丸的二次开发[D]. 长春: 吉林农业大学, 2011.
- [56] 张成, 王杰, 卫禹辰, 等. 滋肾凝胶贴膏剂的制备及其体外透皮吸收研究[J]. 医药导报, 2024, 43(12): 2013–2020.
- [57] 孔伟浩, 徐依桐, 徐达峰, 等. 靶向垂钓技术在中药活性成分筛选中的研究进展[J]. 中国现代应用药学, 2021, 38(18): 2288–2295.
- [58] 黄彦昌, 边澈, 杨燕云, 等. 质谱成像技术在中药材质量鉴定和生合成途径研究进展[J/OL]. 中华中医药学刊, 1–13[2024–11–12]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/21.1546.R.20240805.1121.008.html>.
- [59] JIANG H Y, ZHANG Y X, LIU Z G, et al. Advanced applications of mass spectrometry imaging technology in quality control and safety assessments of traditional Chinese medicines[J]. J Ethnopharmacol, 2022, 284: 114760.
- [60] CHEN X, WANG Y T, MA N. Target identification of natural medicine with chemical proteomics approach: probe synthesis, target fishing and protein identification [J]. Signal Transduct Target Ther, 2020, 5(1): 72.
- (收稿日期: 2024–10–08)

(上接第 104 页)

- [43] XU Y Q, WANG Y, LI Z Z, et al. Characterization of polymorphic microsatellite loci in a traditional Chinese medicinal plant, *Gastrodia elata*[J]. Molecular Ecology Notes, 2006, 6(2): 316–318.
- [44] 陈琦, 刘巍, 程纪伦. 贵州野生与栽培天麻种质资源的 SSR 分析[J]. 现代中药研究与实践, 2011, 25(2): 26–28.
- [45] 关萍, 马丹炜, 王贵侠, 等. 利用 ISSR 标记对天麻的贵州种群遗传多样性分析 [J]. 北京林业大学学报, 2007(6): 35–40.
- [46] 陈祖云, 王晓丽, 宋聚先. 贵州天麻遗传多态性的 ISSR 初步分析[J]. 中华中医药杂志, 2007(7): 436–439.
- [47] 李慧, 钱润, 田娜, 等. 红天麻、乌天麻及其杂交天麻的 PCR 鉴别[J]. 中国中药杂志, 2020, 45(15): 3666–3671.
- [48] 丛琨, 朱新焰, 石亚娜, 等. 四种天麻基于 SLAF 测序的 SNP 标记开发与分析[J]. 分子植物育种, 2020, 18(5): 1578–1584.
- [49] 柴锟, 刘红昌, 李金玲, 等. 基于 SRAP 分子标记的天麻遗传多样性研究[J]. 中草药, 2014, 45(20): 2974–2981.
- [50] 邓薇, 马逾英, 宗露, 等. 天麻 3 个不同变型遗传关系的 SRAP 分析[J]. 华西药学杂志, 2016, 31(6): 593–595.
- [51] 王德信. 天麻 ITS 序列分析及变异类型鉴定[J]. 生物技术, 2010, 20(6): 33–35.
- [52] 王德信. 随机扩增多态 DNA 技术在天麻遗传多样性分析中的应用[J]. 中国农学通报, 2010, 26(4): 19–24.
- [53] 邹佳宁, 宋聚先, 常楚瑞, 等. 贵州天麻种质资源的 RAPD 分析[J]. 中药材, 2006(9): 881–883.
- [54] 陶钧, 罗志勇, 刘水平, 等. RAPD 条件优化及天麻基因组 DNA 多态性分析 [J]. 生命科学研究, 2005 (2): 150–155.
- [55] 程纪伦, 范爱辉, 苟占平, 等. 贵州野生天麻遗传多样性的 AFLP 指纹分析[J]. 时珍国医国药, 2009, 20(11): 2866–2868.
- [56] XU Z, SHI Y L, ZHANG L, et al. Genome-wide assessment of genetic variation and differentiation for *Gastrodia elata* germplasm based on SLAF sequencing[J]. Genetic Resources and Crop Evolution, 2023, 70(7): 1971–1984.
- (收稿日期: 2024–09–23)