

## 天麻茎色形成相关 *bHLH* 基因的鉴定与分析

江雪<sup>1</sup>, 冉冉<sup>2</sup>, 王秀雯<sup>2</sup>, 张小波<sup>3</sup>, 欧小宏<sup>2,4</sup>, 潘洁<sup>5</sup>, 周涛<sup>2,4</sup>, 欧阳臻<sup>6\*</sup>, 徐娇<sup>2,4\*</sup>

(1. 江苏大学食品与生物工程学院, 江苏镇江 212013;

2. 贵州中医药大学, 贵阳 550025; 3. 中国中医科学院中药资源中心, 北京 100700;

4. 贵州道地药材种质创新与资源高效利用全省重点实验室, 贵阳 550025;

5. 中药功效成分发掘与利用全国重点实验室, 贵阳 550025; 6. 江苏大学药学院, 江苏镇江 212013)

**[摘要]** 目的: 天麻在适应不同海拔环境中, 植株演化出块茎节间缩小、花和果多元化呈色的生态类型, 研究不同生态型种质的遗传机制对指导不同种植产区品种选育有重要的意义。方法: 基于乌天麻和红天麻全基因组数据鉴定 *bHLH* 基因家族, 并对 *bHLH* 基因家族成员开展基因结构、染色体定位、顺式作用元件、基因共线性及系统发育分析, 结合转录组数据、实时荧光定量聚合酶链式反应 (Real-time PCR) 分析 *bHLH* 基因在不同生态型天麻茎中的表达模式, 并结合颜色相关性分析与验证, 挖掘调控天麻花茎颜色形成的关键 *bHLH* 基因。结果: 从乌天麻和红天麻分别鉴定出 63 个 *bHLHs* 基因, 不均匀分布于 17 条染色体上, 聚为 16 个亚家族, 部分基因家族成员发生了明显的数量扩张。2 种生态型天麻的 *bHLHs* 基因在同一染色体上存在明显倒位及跨染色体异位现象, 其中的 *bHLH62-3*、*bHLH74* 等 12 个基因与红天麻花茎的明亮黄色相关, *PIL13*、*UNE12* 和 *bHLH130* 等 9 个基因与乌天麻茎的红色相关, *bHLH48* 基因在红天麻的花、鳞片叶中的表达量显著高于乌天麻, *bHLH62-3* 在红天麻所有器官中的表达均显著高于乌天麻。结论: 天麻 *bHLH* 基因家族成员在乌天麻和红天麻不同染色体上的功能路径产生了分化, 21 个基因通过协同或拮抗其他基因, 参与了茎、花、果器官呈色代谢通路的调控。其中 *bHLH62-3* 基因在天麻茎色的花青素合成途径中参与了色泽分化的调控, 与天麻茎色形成相关, *GebHLH48* 正调控开花相关通路, 促进红天麻早花表型的形成, 这些研究天麻茎色形成的遗传调控机制奠定了基础。

**[关键词]** 红天麻; 乌天麻; *bHLHs* 基因; 花茎颜色; 染色体异位

**[中图分类号]** R282.5; R284.1; R289 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2026)08-0202-08

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20260117

**[网络出版地址]** <https://link.cnki.net/urlid/11.3495.R.20260113.1017.001>

**[网络出版日期]** 2026-01-13 16:22:34 **[增强出版附件]** 内容详见 <http://www.syfjxzz.com> 或 <http://cnki.net>



## Identification and Analysis of *bHLH* Genes Related to Color Formation of *Gastrodia elata* Stem

JIANG Xue<sup>1</sup>, RAN Dandan<sup>2</sup>, WANG Xiuwen<sup>2</sup>, ZHANG Xiaobo<sup>3</sup>, OU Xiaohong<sup>2,4</sup>,  
PAN Jie<sup>5</sup>, ZHOU Tao<sup>2,4</sup>, OUYANG Zhen<sup>6\*</sup>, XU Jiao<sup>2,4\*</sup>

(1. School of Food and Biological Engineering, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China;

2. Guizhou University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Guiyang 550025, China;

3. National Resources Center for Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China; 4. Guizhou Key Laboratory for Germplasm Innovation and Resource-Efficient

Utilization of Dao-di Herbs, Guiyang 550025, China; 5. State Key Laboratory of Discovery and

Utilization of Functional Components in TCM, Guiyang 550025, China;

6. School of Pharmacy, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China)

**[收稿日期]** 2025-11-18

**[基金项目]** 国家重点研发计划项目(2024YPC3506702); 中国中医科学院科技创新工程项目(CI2021B013)

**[第一作者]** 江雪, 在读博士, 从事中药资源开发与利用, E-mail: 1017036604@qq.com

**[通信作者]** \* 徐娇, 副教授, 从事道地药材形成机制研究, E-mail: xujiao2008mzk@163.com;

\* 欧阳臻, 教授, 博士生导师, 从事分子生药学研究, E-mail: zhenouyang@ujs.edu.cn

**[Abstract]** **Objective:** *Gastrodia elata* has evolved ecological types with shortened rhizome internodes and diversified flower and fruit coloration in response to different altitudes. Studying the genetic mechanisms of different ecotype germplasm is significant for guiding variety breeding in different cultivation areas. **Methods:** The *bHLH* gene family was identified based on the whole-genome datasets of *G. elata* f. *elata* and *G. elata* f. *glauca*. Subsequently, the gene family members were subject to analysis, including gene structure, chromosomal localization, cis-acting elements, gene synteny, and phylogeny. Combined with transcriptome data and quantitative Real-time PCR, the expression patterns of *bHLH* genes in the stems of the different *G. elata* ecotype germplasm were analyzed. Finally, correlation analysis was conducted between gene expression patterns and color to obtain the key *bHLH* genes regulating the color formation of stem. **Results:** A total of 63 *bHLH* genes were identified in both *G. elata* f. *elata* and *G. elata* f. *glauca*, unevenly distributed across 17 chromosomes and clustered into 16 subfamilies, with significant expansion in some family members. Obvious inversions of *bHLH* genes on the same chromosome and interchromosomal translocations were detected in the two ecotype germplasm. Among these genes, 12 *bHLH* genes (such as *bHLH62-3* and *bHLH74*) were associated with the bright yellow color of *G. elata* f. *elata* stem, while 9 *bHLH* genes (such as *PIL13*, *UNE12*, and *bHLH130*) were correlated with the red color of *G. elata* f. *glauca* stem. Compared to *G. elata* f. *glauca*, the *bHLH48* expression level was significantly higher in flowers and scale leaves of *G. elata* f. *elata*, and the *bHLH62-3* expression level was significantly higher in all organs of *G. elata* f. *elata*. **Conclusions:** Functional pathway divergence of the *bHLH* family members has occurred across different chromosomes in *G. elata* f. *elata* and *G. elata* f. *glauca*. Through synergism or antagonism with other genes, 21 *bHLH* genes participate in the coloration metabolic pathway regulation of stems, flowers, and fruits. Specifically, *bHLH62-3* is involved in regulating stem color differentiation in the anthocyanin biosynthesis pathway of *G. elata*, thus relevant to the color formation of stem. Additionally, *GebHLH48* positively regulates flowering-related pathways to promote the early-flowering phenotype of *G. elata* f. *elata*. These findings have laid the foundation for analyzing the genetic regulatory mechanisms underlying the color formation of the *G. elata* stem.

**[Keywords]** *Gastrodia elata* f. *elata*; *G. elata* f. *glauca*; *bHLH* gene; stem color; chromosomal translocation

传统名贵中药天麻来源于兰科植物天麻 *Gastrodia elata* 的干燥块茎,具有息风止痉、平抑肝阳,祛风通络之功效<sup>[1]</sup>。现代研究证实,天麻中的天麻素和多糖类物质具有抗惊厥、镇静安眠、抗炎和神经保护等生物活性<sup>[2-3]</sup>。天麻植物包括红天麻 *G. elata* f. *elata*、乌天麻 *G. elata* f. *glauca*、绿天麻 *G. elata* f. *viridis*、黄天麻 *G. elata* f. *flavid* 和松天麻 *G. elata* f. *alba* 5种生态型<sup>[4]</sup>。这些形态是天麻植物在适应自然环境的过程中分化所致,可以根据植株花茎的颜色、块茎的环纹数直观判断,即乌天麻的花茎和花、果呈现乌棕色,红天麻的为红黄色,而绿天麻的为绿色、黄天麻为淡黄色。在生产上,乌天麻和红天麻为主要种植品种,其中乌天麻适宜海拔 1 600 m 以上区域生长,在贵州、云南乌蒙山区广泛种植,药材折干率高、品质优良;红天麻适宜于海拔 400~700 m 地区生长<sup>[5]</sup>,以湖北、安徽大别山为主要产区,药材产量高,但折干率较低。2023 年天麻纳入按照传统既是食品又是中药材的物质目录后,乌天麻因优良的口感成为鲜食及食品加工首选。

同一物种产生生态型分化现象,主要是种群在长期适应不同环境过程中,表型与基因型协同进化的结果。天麻花茎多色变化的遗传机制是什么,目前尚未有相关研究和报道。但在其他植物花色遗传机制的工作可见卓有成效的研究报道,如兰科植物碧玉兰 *Cymbidium lowianum* 中的 *MYB308-1* 可激

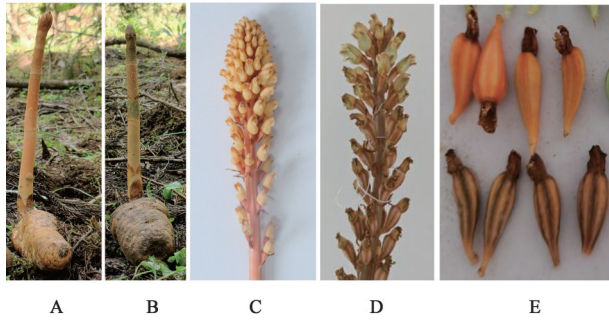
活类胡萝卜素合成基因 *BCH* 表达、*MYB14-1* 可通过激活花青素合成基因 *F3'H* 表达或抑制 *CHLI* 的表达来调控唇瓣花色的形成<sup>[6]</sup>。在紫薇花瓣发育早期, *Li-miR828z* 表达量低, *LiMYB114* 表达量高,后者促进花青素合成;后期 *Li-miR828z* 表达量增加后抑制了 *LiMYB114* 表达,防止花青素过度积累<sup>[7]</sup>。这些研究为开展天麻种内花色遗传机制的探索提供了借鉴与思考。

碱性螺旋-环-螺旋 (*bHLH*) 基因家族是真核生物中一类高度保守的转录因子家族,其核心特征是编码的蛋白质包含碱性 *bHLH* 结构域,这一结构决定了其 DNA 结合能力和蛋白二聚化能力,进而调控下游靶基因的表达<sup>[8]</sup>。研究表明 *bHLH* 基因不仅可调控根、茎、叶、花、种子等细胞的增殖与分化,实现植株器官形态的建成,还具有调节类黄酮和花青素的生物合成的功能<sup>[9-10]</sup>。本文利用乌天麻、红天麻基因组及转录组数据,挖掘到 *bHLH* 基因家族,通过分析调控天麻花茎色相关 *bHLH* 基因成员,锁定了参与调控天麻花茎颜色形成的基因,为解析不同生态型的天麻的适应性分化,并指导不同天麻产区天麻品种选育奠定科学基础。

## 1 材料

乌天麻采自贵州省毕节市七星关区,红天麻采自安徽省六安市金寨县。经贵州中医药大学江维克教授鉴定为乌天麻 *Gastrodia elata* f. *glauca* 和

红天麻 *G. elata* f. *elata*。12月将块茎移栽至室内进行假植,室温 15~25 °C,保持土壤湿润。次年3~4月天麻花茎生长时,取茎、鳞茎叶和花作为实验材料,液氮速冻后-80 °C保存。每种样品3次生物学重复。见图1。



注:A.红天麻植株;B.乌天麻植株;C.红天麻花序;D.乌天麻花序;E.红天麻与乌天麻果实

图1 天麻植株与果实

Fig. 1 Plants and fruits of *G. elata* f. *elata* and *G. elata* f. *glauca*

## 2 方法

**2.1 天麻 *bHLH* 基因家族的鉴定** 在 <https://www.cncb.ac.cn/> 下载乌天麻全基因组数据 (Accession: GWHBDNU00000000), 红天麻基因组数据由课题组自测; 在拟南芥信息资源中心 (TAIR, <https://www.arabidopsis.org/>) 下载拟南芥全基因组数据及拟南芥 AtbHLH 蛋白序列; 从蛋白质家族数据库 (Pfam, <https://pfam.xfam.org/>) 中获得 *bHLH* 结构域 (PF00010) 的隐马尔可夫模型 HMM 文件。

运用 TBtools v2.136 将天麻蛋白序列与拟南芥 AtbHLH 蛋白序列进行基本局部比对 (blast)<sup>[11]</sup>, 采用 TBtools 以 HMM 文件对天麻蛋白序列进行 Hmsearch 并验证保守结构域, 获得天麻 *bHLH* 基因家族成员, 以基因组注释信息及拟南芥同源基因的命名原则, 确定家族成员命名。以各基因的最长转录本作为代表, 开展后续分析。

**2.2 天麻 *bHLH* 基因结构、染色体定位、基因共线性分析** 运用 TBtools 软件对天麻 *bHLH* 基因家族成员的结构域、基序 (Motif) 及在染色体上的分布进行分析 and 可视化。分析拟南芥、红天麻和乌天麻 *bHLH* 间的共线性关系, 此外, 提取基因启动子上游 2 000 bp 的 DNA 序列, 于 PlantCARE<sup>[12]</sup> (<https://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>) 预测顺式作用元件, 通过 TBtools 进行可视化。

**2.3 天麻 *bHLH* 基因家族的系统发育进化树分析** 运用 MEAG 软件 11 对拟南芥、红天麻和乌天麻 *bHLH* 氨基酸序列进行 Clustalw 多重对比<sup>[13]</sup>, 以邻

位连接法 (自展值 1 000) 构建系统进化树, 其他参数使用默认值。

**2.4 天麻 *bHLH* 基因家族的表达分析** 从课题组保存的转录组数据库中提取天麻 *bHLH* 基因家族成员的表达数据, 以  $\log_2(\text{FPKM}+1)$  (fragments per kilobase per million mapped reads) 表示基因表达量, 据此绘制热图。使用核糖核酸 (RNA) 提取试剂盒 (上海普洛麦格生物产品有限公司) 提取红天麻和乌天麻茎、花及鳞片叶的总 RNA, 经 TaKaRa 逆转录试剂盒合成 cDNA。通过 Primer5 设计并合成实时荧光定量聚合酶链式反应 (Real-time PCR) 特异性引物 (北京擎科生物科技有限公司合成), 以天麻  $\beta$ -肌动蛋白 ( $\beta$ -actin) 为内参基因<sup>[14]</sup>, 用两步法扩增, 反应程序为 95 °C 预变性 30 s; 95 °C 变性 5 s, 60 °C 退火 30 s, 40 个循环。每个样本 3 个生物学重复, 以  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  方法计算相对表达量, GraphPad Prism 9 用于显著性分析和作图。见表 1。

表1 引物序列

Table 1 Primer sequences

引物	序列(5'-3')	长度/bp
<i>bHLH48</i>	上游 ACGAACGACGAAGAGGAAAGA	185
	下游 GCTCGGCTAAACTGTGGCTAT	
<i>bHLH62-3</i>	上游 CGACAGAGAGTAGTGATAAAACGG	137
	下游 AAGGCTATGGCTATCAGTGGC	
<i>bHLH74-1</i>	上游 TCAGTCATTACAGAAACAAGTGGAG	162
	下游 TGTGCCCTGAGTCCTGAACC	
<i>bHLH76</i>	上游 GCTACTAACAGCCACAGTCTTGC	127
	下游 TTTCATCCAGCATTACAGCCTTAC	
<i>bHLH93</i>	上游 ATGCCGACGCTTATTGCC	136
	下游 GCCTCTGCCTCCACCGAC	
<i>bHLH130</i>	上游 GGTTTCTTTGACAGCGGTTATTG	151
	下游 GAACGAAGCATCGCCCATT	
<i>PIL13-1</i>	上游 GGAGAAGAAGGGACAGGATCAA	189
	下游 ATTGCTGAGAATTGGGACATAAC	
<i>SCRM</i>	上游 TCGGGTAGAAGTAAGGGTGAGG	154
	下游 GGCAAAGCCATTGAAGCAG	
<i>UNE12-2</i>	上游 AGAGAGACAACGGCGAGAAAG	180
	下游 GCTACAGCACCAGTACCACCC	
$\beta$ -actin	上游 CCGCATGAGCAAGGAAATAAC	114
	下游 AGGGAGGCAAGGATAGAACCA	

**2.5 天麻茎色  $L^*$ 、 $a^*$ 、 $b^*$  参数值测定及相关性分析** 筛选具有典型茎色特征的 2 种生态型 (乌天麻和红天麻) 样品各 10 份, 将每个样品的茎平均分为 10 个检测位点, 确保覆盖从上到下各段颜色。参考付艳等<sup>[15]</sup> 方法进行拍照, 将照片导入 Adobe

Photoshop2024软件,利用颜色取样器对样本进行明亮度( $L^*$ )、红绿轴色品值( $a^*$ )、黄蓝轴色品值( $b^*$ )测定。单样本1个检测结果取平均值后,再分别计算2种生态型 $L^*$ 、 $a^*$ 、 $b^*$ 的平均值。通过Pearson和spearman检验计算 $Lab^*$ 值与差异表达基因(PFKM>1,  $|\log_2\text{Fold Change}|>1$ )之间相关性。

### 3 结果

**3.1 天麻  $bHLH$  基因家族成员的理化性质分析** 从红天麻、乌天麻基因组中分别鉴定到63个 $bHLH$ 基因家族成员,其氨基酸数均为142~641 aa,平均317 aa;相对分子质量在14 537.8~72 381.3 Da;理论等电点均为4.8~10,平均为6.7;不稳定性指数在38.4~77.4;脂肪族指数在56.7~1.9;亲水平均值均在-0.8~-0.1,平均为-0.4,见表2。结果表明,红天麻与乌天麻 $bHLH$ 基因家族成员的理化性质具有极高的相似度。

表2 天麻  $bHLH$  家族成员理化性质

Table 2 Physicochemical properties of  $bHLH$  in *G. elata*

种类	项目	蛋白长度/aa	相对分子质量/kDa	等电点	不稳定性指数	脂肪族指数	亲水平均值
红天麻	最小值	142	14 537.8	4.8	38.4	60.0	-0.8
	最大值	641	72 396.4	10.0	77.4	109.0	-0.1
	平均值	317	35 057.3	6.7	57.6	79.0	-0.4
乌天麻	最小值	142	16 210.4	4.8	40.0	56.7	-0.8
	最大值	641	72 381.3	10.0	76.6	109.0	-0.1
	平均值	318	35 258.4	6.7	57.1	79.1	-0.4

结构域分析显示,红天麻 $bHLH$ 基因(*GebHLH*)与乌天麻 $bHLH$ 基因(*GgbHLH*)成员均包含典型的 $bHLH$ 保守结构域,见图2、图3。结构域长度约50个氨基酸残基,在不同成员的蛋白质序列中分布于不同区域。基序(motif)分析显示,*GebHLH*与*GgbHLH*均含有2~7个Motif,其中Motif1和Motif2存在于所有*GebHLH*与*GgbHLH*成员中,二者在蛋白质序列中的位置与 $bHLH$ 保守结构域高度重合,表明这2个基序共同构成了 $bHLH$ 结构域。结果表明不同成员具备了功能分化。见增强出版附加材料。

**3.2 天麻  $bHLH$  基因家族的系统发育分析结果** 系统发育树分析将63个 $bHLH$ 家族成员划分为16个亚家族,XIX亚家族的分支最大,包含11对同源基因成员,分别有4个 $bHLH62$ 和2个 $bHLH74$ ,扩张效应明显;XI亚家族各有7对同源基因成员,均检测到3个 $bHLH94$ ;XV等9个亚家族仅各保留1个

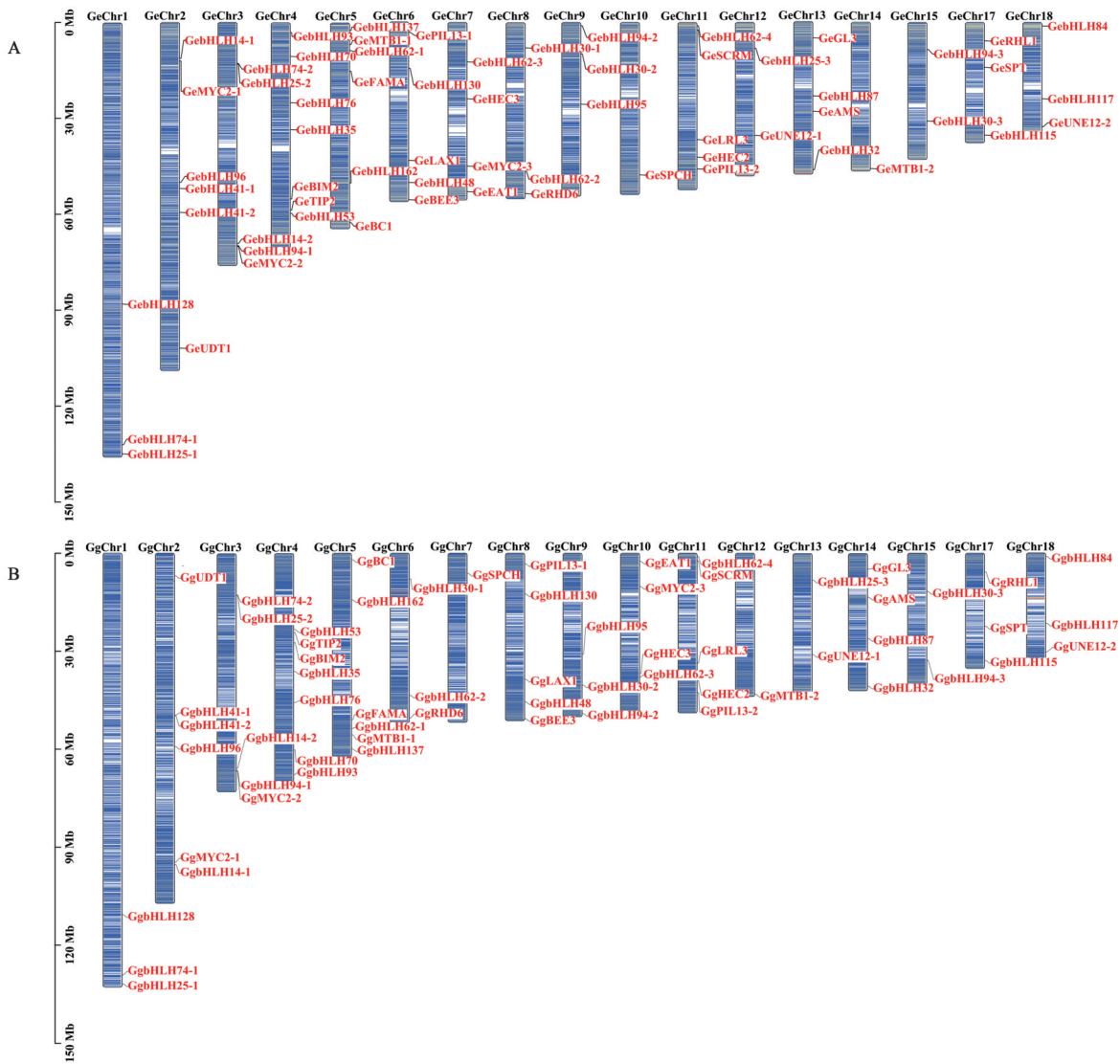
$bHLH$ 。分析结果表明,在进化过程中部分天麻 $bHLH$ 基因家族成员发生了明显的扩张。见增强出版附加材料。

**3.3 天麻  $bHLH$  基因家族成员的染色体定位分析** 分析发现*GebHLH*与*GgbHLH*基因不均匀分布于17条染色体上,每条染色体有1~6个基因数,见图2。密度分析表明,染色体2(Chr2)上均为6个 $bHLH$ 基因,为直系同源基因对,但在染色体上的排布模式存在显著差异,如乌天麻Chr2上的*GgbHLH41-1*和*GgbHLH41-2*呈典型的串联重复分布特征,而红天麻中表现为分散分布。

对红天麻与乌天麻 $bHLH$ 同源基因对的染色体定位进行一致性比较,发现存在3种典型的分布模式:一是保守分布型,有19对同源基因对主要集中在Chr1、3、11、17、18染色体上;二是倒位型分布,有24对同源基因对存在染色体内部倒位现象,主要分布在Chr2、4、5、9、15染色体上,如位于Chr18上的*GebHLH94-3*与*GgbHLH94-3*虽位于同一条染色体,但排列方向相反;三是异位型分布,有22对同源基因对发生跨染色体异位,在Chr6、7、8、10、12、13、14这7条染色体,以Chr7上*GebHLH62-3*为代表。上述结果表明,红天麻与乌天麻 $bHLH$ 同源基因对的染色体定位,既保留了整体进化的保守性,又通过倒位、易位等遗传变异事件,形成了分别适应不同生态环境的种内特异性的特征。

**3.4 天麻  $bHLH$  基因家族成员共线性分析** 拟南芥*AtbHLH*基因<sup>[11]</sup>与天麻 $bHLH$ 基因间的共线性关系较弱,仅检测到7对同源共线基因对,表明天麻与拟南芥在 $bHLH$ 基因家族结构已有显著差异,见图3。红天麻与乌天麻存在62对 $bHLH$ 同源共线基因对,表现出多样化的共线性模式,包括染色体同位置共线性、同染色体倒位共线性及跨染色体易位共线性类型,其中,*GebHLH62-3*与*GgbHLH62-3*呈现共线性跨染色体易位,这与前述染色体定位分析中发现的倒位、易位等分布特征完全吻合,进一步印证了天麻在物种分化过程中, $bHLH62-3$ 可能经历了染色体重排(倒位、易位)等进化事件,这些特点为解析天麻物种特异性性状形成的基因组进化机制提供了有效参考。

**3.5 天麻  $bHLH$  基因家族顺式作用元件分析** 天麻 $bHLH$ 基因家族成员启动子中广泛分布着光响应、激素响应、胁迫响应及植物生长发育相关的多种顺式作用元件,见增强出版附加材料。其中光响应元件包含多种光信号感知与传导模块,激素响应



注:A.红天麻;B.乌天麻

图2 红天麻和乌天麻 *bHLH* 染色体定位分析

Fig. 2 Chromosomal localization of *bHLH* genes in *G. elata* f. *elata* and *G. elata* f. *glauca*

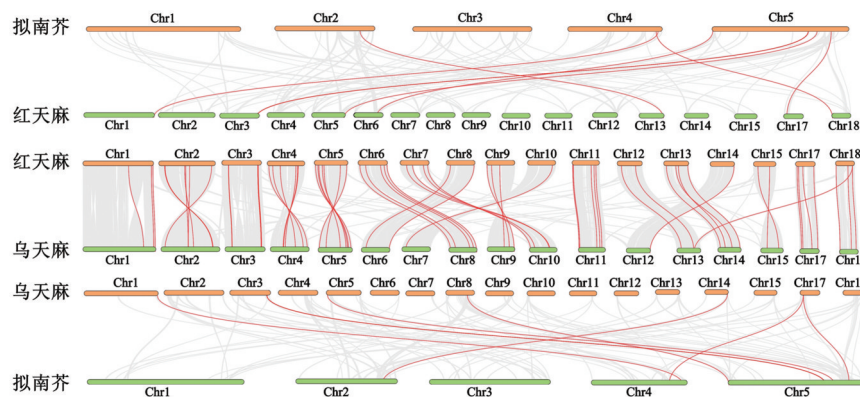


图3 红天麻与乌天麻 *bHLH* 基因家族成员共线性分析

Fig. 3 Synteny analysis of *bHLH* gene family members in *G. elata* f. *elata* and *G. elata* f. *glauca*

元件响应水杨酸、茉莉酸甲酯、脱落酸、生长素和赤霉素等。分布频率显示,所有 *GebHLH* 与 *GgbHLH*

成员均有光响应元件;95%的 *GebHLH* 与92%的 *GgbHLH* 成员启动子中携带激素响应元件,可见在

天麻 *bHLH* 基因启动子区可以整合多元信号构建调控网络,调控天麻的生长发育进程,以适应复杂的自然环境。

**3.6 天麻 *bHLH* 基因家族表达模式** *GebHLH* 与 *GgbHLH* 成员具有明显的物种及组织表达特异性,见图4、图5;花青素合成调控基因 *bHLH62-3* 在红天麻茎、花、鳞片叶中均呈高表达,表明其可特异调控红天麻不同组织的色素形成;*UNE12-2*、*bHLH74-1* 分别在乌天麻的茎、花中特异高表达,推测其参与乌天麻的茎色、花色形成过程;*bHLH93*、*bHLH130*、*bHLH48* 分别在红天麻茎、鳞片叶、花中特异高表达,与红天麻茎色、花色、鳞片叶颜色调控及生长发育进程密切相关。此外,*PIL13-2*、*SCRM* 等基因表现出跨物种的组织差异表达特征:在红天麻的花中表达量显著高于乌天麻,而在乌天麻的茎、鳞片叶中的表达量更突出。在不同器官中的特异性表达模式表明这些基因参与了红天麻、乌天麻生态型发育过程的调控。

**3.7 天麻 *bHLH* 基因家族与茎色相关性分析** 颜色测定结果显示,红天麻茎的明亮度(*L\**值)和黄色调(*b\**值)均显著高于乌天麻,而在红色调(*a\**值)显著低于乌天麻,即红天麻茎整体色泽更明亮且偏黄,乌天麻则更偏向暗红色调,与表型观察结果一致,见图6、图7。将颜色参数值与22个 *bHLH* 差异表达基因进行相关性分析,发现 *bHLH62-3*、*bHLH74-1* 等13个 *bHLH* 基因与 *L\**值和 *b\**值呈显著正相关,而与 *a\**值呈负相关,提示其可能通过促进茎色明亮度及黄色成分积累、抑制红色成分的形成,塑造红天麻的明亮色泽。另外,*PIL13-1*、*UNE12-2* 和 *bHLH130* 等9个 *bHLH* 基因与 *a\**值呈正相关,而与 *L\**值和 *b\**值呈较为显著的负相关,提示其可能增强暗红色成分积累、抑制明亮度与黄色成分的形成,促进乌天麻棕红茎色的形成。结果表明 *bHLH* 基因家族通过调控色素相关成分积累,参与不同生态型天麻茎色表型的分化。

#### 4 讨论

天麻作为一个广布物种,在适应400~3000 m海拔自然生境的演化中,进化出块茎休眠长、花茎萌发晚的生物习性,在形态上对应分化出块茎节间缩短、花果颜色多元化的生态型特征。色泽上,红天麻花茎在花果期比较稳定,色泽明亮偏黄,乌天麻花茎在花与果期由红绿向棕红偏暗发展。

从本文研究结果来看,乌天麻和红天麻的 *bHLH* 基因家族成员的保守结构域具有高度一致

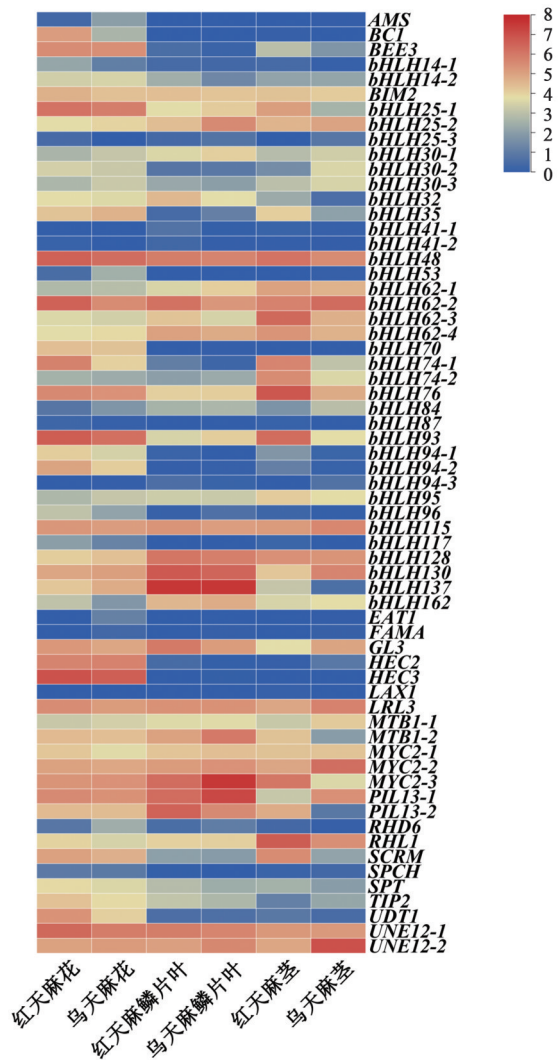
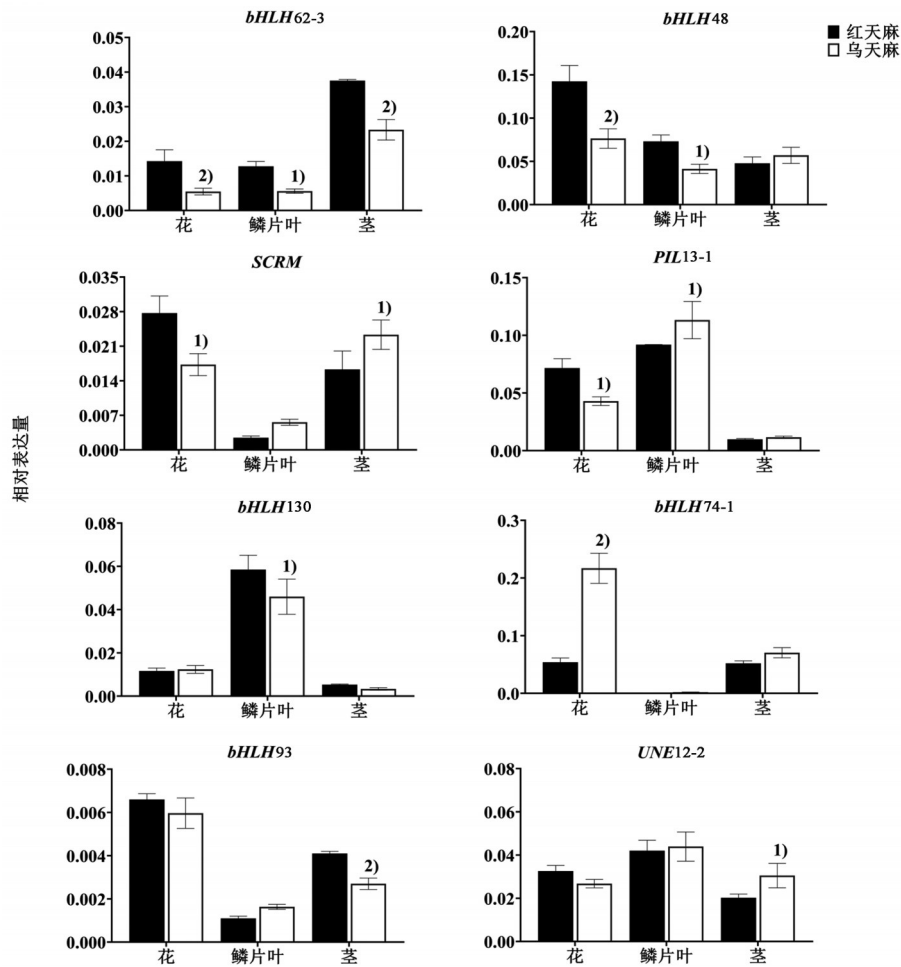


图4 红天麻与乌天麻 *bHLH* 基因表达热图

Fig. 4 Hot map of *bHLH* gene family members in *G. elata* f. *elata* and *G. elata* f. *glauca*

性,但家族内不同成员的 motif 在分布和结合对象上表现出显著差异性,亚家族成员呈现特异性扩张,表明基因成员发生了功能的分化,这为解释天麻适应不同生态环境提供了分子证明。启动子分析发现 *GebHLH* 与 *GgbHLH* 基因家族成员均包含多种光响应顺式作用元件,表明其表达可能受到光信号的调控。已有研究发现,菊花转录因子 *CmbHLH16* 可通过响应红光和远红光比值,调节花青素合成通路关键基因的表达,进而影响花瓣色泽<sup>[16]</sup>。因此,天麻虽然是异养植物,其 *bHLH* 基因仍保留对光照的响应能力,推测该类基因可能通过调控茎中花青素等非光合色素的合成参与茎色形成。

进一步分析发现,红天麻 *GebHLH62-3*、乌天麻 *GgbHLH62-3* 基因与拟南芥调控花青素合成通路的 *AtbHLH62* 基因高度同源<sup>[17]</sup>,推测可能同样参与了



注:与红天麻比较<sup>1)</sup> $P < 0.05$ ,<sup>2)</sup> $P < 0.01$ (图6、图7同)

图5 红天麻与乌天麻 *bHLH* 基因表达分析

Fig. 5 Expression patterns of *bHLH* gene in *G. elata f. elata* and *G. elata f. glauca*

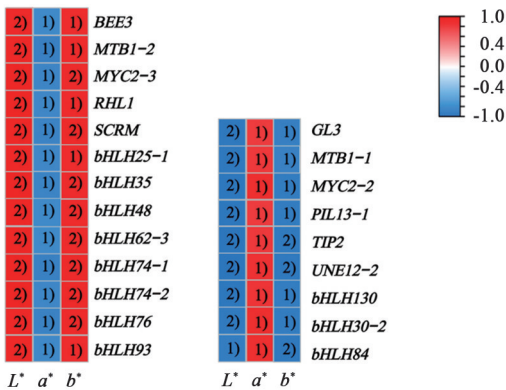


图6 红天麻与乌天麻茎色  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  分析

Fig. 6  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  analysis of *bHLH* genes of stem color in *G. elata f. elata* and *G. elata f. glauca*

调控天麻茎中的花青素合成途径。同时,二者存在跨染色体异位现象,表明2种生态型在不同染色体上的功能路径产生了分化,其中,*bHLH62-3*、*bHLH74-1*等12个*bHLH*基因与红天麻花茎的明亮黄色相关,*PIL13-1*、*UNE12-2*和*bHLH130*等9个

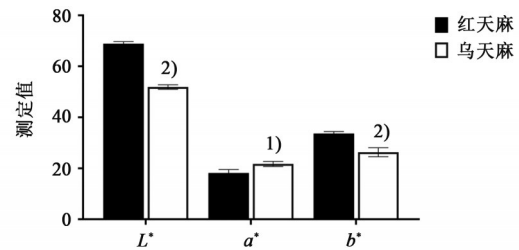


图7 红天麻与乌天麻 *bHLH* 基因与茎色相关性分析

Fig. 7 Correlation analysis of *bHLH* genes of stem color in *G. elata f. elata* and *G. elata f. glauca*

*bHLH* 基因与乌天麻茎的红色相关。本文基因表达与表型关联分析结果也初步验证了 *bHLH* 基因家族在花茎分化中具有调控作用;*bHLH93*、*bHLH130* 分别在红天麻茎、鳞片叶特异表达,尤其是 *bHLH48* 在红天麻的花、鳞片叶高表达,表达量显著高于乌天麻。已有文献研究证实,当拟南芥中 *bHLH48* 过表达时,可促进植株提前开花<sup>[18]</sup>,推测红天麻中 *GebHLH48* 可通过正向调控开花相关通路,促使红

天麻花期提前。实际生产上,红天麻适种于低海拔地区,花期4~5月,乌天麻适种于高海拔区域,花期6~7月,这使得不同生态型的天麻适应环境形成了与茎色表现同步的生理机制。

天麻 *bHLH* 基因家族成员可能通过协同或拮抗其他基因,参与了天麻茎、花、果器官中呈色代谢通路的调控,从而塑造了红天麻、乌天麻生态型具有显著差异的茎色表型,这为天麻花茎呈色的遗传调控机制提供了候选基因研究线索。后续将通过异源表达、蛋白互作等实验进一步揭示天麻 *bHLH* 转录因子在天麻花茎颜色及花发育过程中的功能,为天麻生态型品种的定向选育提供理论指导。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[致谢] 江维克教授提供天麻植物原图。

#### [参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2020:59.  
Pharmacopoeia Commission of People's Republic of China. Pharmacopoeia of the People's Republic of China: Volume I [M]. Beijing: Chinese Pharmaceutical Technology Publishing House,2020:59.

[2] WANG L L, HU M, FU Y, et al. Ginger processing remodels the metabolome profile of *Gastrodia elata* and potentiates its neuroprotective effects[J]. *Phytomedicine*,2025,48:157469.

[3] 席蕴文,康利平,孙建辉,等. 赤箭和天麻调节免疫功能和肠道菌群作用比较[J]. *中国实验方剂学杂志*,2021,27(12):117-124.  
XI Y W, KANG L P, SUN J H, et al. Comparison of effect of Chijian and *Gastrodiae Rhizoma* on regulating immune function and intestinal microflora[J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*,2021,27(12):117-124.

[4] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志(第十八卷)[M]. 北京:科学出版社,1999:31.  
Editorial Committee of Flora of China, Chinese Academy of Sciences. Flora of China: Vol. 18[M]. Beijing: Science Press, 1999:31.

[5] 江维克,肖承鸿. 天麻生产加工适宜技术[M]. 北京:中国医药科技出版社,2017.  
JIANG W K, XIAO C H. Suitable technologies for the production and processing of *Gastrodia elata* [M]. Beijing: China Medical Science Press,2017.

[6] DONG X M, ZHANG W, TU M L, et al. Spatial and temporal regulation of flower coloration in *Cymbidium lowianum* [J]. *Plant Cell Environ*,2025,48(6):3844-3860.

[7] NI L J, WANG J F, ZHOU F W, et al. Integrated multi-omics reveals Li-miR828z-LiMYB114 regulatory module controlling

anthocyanin biosynthesis during flower color development in *Lagerstroemia indica* [J]. *Ind Crops Prod*,2025:234,121524.

[8] 安昌,陆琳,沈梦千,等. 植物 *bHLH* 基因家族研究进展及在药用植物中的应用前景[J]. *生物技术通报*,2023,39(10):1-16.  
AN C, LU L, SHEN M Q, et al. Research progress of *bHLH* gene family in plants and its application prospects in medical plants[J]. *Biotechnol Bull*,2023,39(10):1-16.

[9] 陈景鲜,卢超,郑钧屏,等. 西洋参中8个 *bHLH* 类转录因子的克隆及表达分析[J]. *中国中药杂志*,2022,47(14):3756-3764.  
CHENG J X, LU C, CHENG J P, et al. Cloning and expression analysis of 8 *bHLH* transcription factors in *Panax quinquefolius* [J]. *Chin J Chin Mater Med*,2022,47(14):3756-3764.

[10] 刘菁菁,王舒文,杨旭锐,等. *bHLH* 转录因子在植物花青素合成中的调控作用[J]. *植物遗传资源学报*,2025,26(5):844-853.  
LIU J J, WANG S W, YANG X R, et al. The regulatory role of *bHLH* transcription factors in plant anthocyanin biosynthesis [J]. *J Plant Genet Resour*,2025,26(5):844-853.

[11] CHEN C, CHEN H, ZHANG Y, et al. TBtools: An integrative toolkit developed for interactive analyses of big biological data [J]. *Mol Plant*,2020,13(8):1194-1202.

[12] LESCOT M, DÉHAIS P, THIJS G, et al. PlantCARE, a database of plant cis-acting regulatory elements and a portal to tools for in silico analysis of promoter sequences[J]. *Nucleic Acids Res*,2002,30(1):325-327.

[13] TANURA K, STECHER G, KUMAR S. MEGA11: Molecular evolutionary genetics analysis version 11 [J]. *Mol Biol Evol*, 2021,38(7):3022-3027.

[14] YUAN Y, JIN X, LIU J, et al. The *Gastrodia elata* genome provides insights into plant adaptation to heterotrophy [J]. *Nat Commun*,2018,9(1):1615.

[15] 付艳,周涛,许清清,等. 基于熵权法和层次分析法优选天麻趁鲜切制方法[J]. *中草药*,2024,55(5):1493-1501.  
FU Y, ZHOU T, XU Q Q, et al. Optimization of *Gastrodiae Rhizoma* fresh-cut processing method based on entropy method and analytic hierarchy process [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*,2024,55(5):1493-1501.

[16] ZHOU L, WANG Y, WANG Y, et al. Transcription factor *CmbHLH16* regulates petal anthocyanin homeostasis under different lights in *Chrysanthemum* [J]. *Plant Physiol*,2022,190:1134-1152.

[17] DU Y, LIN Y, ZHANG K, et al. The chemical composition and transcriptome analysis reveal the mechanism of color formation in tea (*Camellia sinensis*) pericarp [J]. *Int J Mol Sci*, 2023,24(17):13198.

[18] LI Y, WANG H, LI X, et al. Two *DELLA*-interacting proteins *bHLH48* and *bHLH60* regulate flowering under long-day conditions in *Arabidopsis thaliana* [J]. *J Exp Bot*,2017,68(11):2757-2767.

[责任编辑 顾雪竹]