

• 药材与资源 •

乌天麻 *TIFY* 基因家族的全基因组鉴定及表达模式分析王秀雯¹, 冉丹丹¹, 欧小宏^{1,2}, 袁青松^{1,2,3}, 周涛^{1,2}, 江维克^{1,2}, 徐娇^{1,2*}

1. 贵州中医药大学 中药民族药资源研究院, 贵州 贵阳 550025

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

3. 道地药材品质保障与资源持续利用全国重点实验室, 北京 100700

摘要: **目的** 系统解析乌天麻 *Gastrodia elata* f. *glauca* *TIFY* 基因家族成员, 并探究其在乌天麻-蜜环菌 *Armillaria gallica* 互作过程中的潜在分子机制。 **方法** 基于乌天麻全基因组数据, 结合生物信息学方法系统分析其系统进化、基因结构及染色体分布, 通过 qRT-PCR 检测基因表达特征, 利用质谱检测茉莉酸 (jasmonic acid, JA) 含量, 分析基因表达与 JA 含量的相关性。 **结果** 共鉴定到 30 个乌天麻 *TIFY* 家族成员, 分属 *TIFY*、*JAZ*、*PPD* 与 *ZML* 4 个亚家族, 具有高度保守的蛋白基序和相似的外显子/内含子结构, 不均匀分布于 7 条染色体上, 与石斛 *Dendrobium nobile* 的保守同源基因对多于拟南芥 *Arabidopsis thaliana*, 存在特异性扩张。顺式作用元件分析发现, 乌天麻 *TIFY* 家族成员启动子区富集大量激素响应、胁迫响应及生长发育相关元件。转录组分析表明, 蜜环菌侵染诱导乌天麻 19 个 *TIFY* 家族成员差异表达, 母麻中 *GeJAZ4-3*、*GeJAZ8*、*GeJAZ1-1* 显著上调表达, 且多个成员表达量与 JA 含量呈显著正相关, 尤以 *GeJAZ4-3* 表达量变化最为显著。 **结论** 乌天麻 *TIFY* 基因家族呈现特异性扩张, *GeJAZ4-3* 作为关键调控因子, 通过介导 JA 信号通路调控乌天麻-蜜环菌互作平衡, 为天麻共生机制解析及抗病育种奠定重要基础。

关键词: 天麻; 乌天麻; *TIFY* 基因家族; 生物信息学; 茉莉酸; 表达模式

中图分类号: R286.12 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2026)02-0618-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.02.021

Genome-wide identification and expression pattern analysis of *TIFY* gene family in *Gastrodia elata* f. *glauca*WANG Xiuwen¹, RAN Dandan¹, OU Xiaohong^{1,2}, YUAN Qingsong^{1,2,3}, ZHOU Tao^{1,2}, JIANG Weike^{1,2}, XU Jiao^{1,2}

1. Resource Institute for Chinese & Ethnic Materia Medica, Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550025, China

2. Guizhou Key Laboratory for Germplasm Innovation and Resource-Efficient Utilization of Dao-di Herbs, Guiyang 550025, China

3. State Key Laboratory for Quality Ensurance and Sustainable Use of Dao-di Herbs, Beijing 100700, China

Abstract: **Objective** To systematically analyze the *TIFY* gene family members in *Gastrodia elata* f. *glauca* and explore their potential molecular mechanisms in the interaction between *G. elata* f. *glauca* and *Armillaria gallica*. **Methods** Based on the whole-genome data of *G. elata* f. *glauca*, bioinformatics methods were used to analyze the system evolution, gene structures, and chromosome distribution. The gene expression characteristics were detected by qRT-PCR, and the jasmonic acid (JA) content was detected by mass spectrometry. The correlation between gene expression and JA content was further analyzed. **Results** A total of 30 *TIFY* family members were identified in *G. elata* f. *glauca*, belonging to four subfamilies: *TIFY*, *JAZ*, *PPD*, and *ZML*. They have highly conserved protein motifs and similar exon/intron structures, and are unevenly distributed on seven chromosomes. The number of conserved homologous genes in *G. elata* f. *glauca* is more than that in *Arabidopsis thaliana*, indicating a specific expansion of the *TIFY* family. The cis-acting element analysis revealed that the promoter regions of the *TIFY* family members in *G. elata* f. *glauca* are enriched with a large number of hormone response, stress response, and growth and development-related elements. Transcriptome analysis showed

收稿日期: 2025-09-05

基金项目: 国家重点研发计划 (2023YFC3503803); 中央本级重大增减支项目 (2060302)

作者简介: 王秀雯 (2000—), 女, 云南镇雄人, 在读硕士研究生, 主要从事中药材分子生理研究。E-mail: 2973986109@qq.com

*通信作者: 徐娇 (1987—), 女, 湖北黄冈人, 博士, 副教授, 主要从事中药材道地性遗传机制研究。E-mail: xujiao2008mzk@163.com

that *A. gallica* infection induced differential expression of 19 TIFY family members in *G. elata* f. *glauca*. In the mother tubers, *GeJAZ4-3*, *GeJAZ8*, and *GeJAZ1-1* were significantly upregulated, and the expression levels of multiple members were significantly positively correlated with JA content, especially the expression level of *GeJAZ4-3*. **Conclusion** The *TIFY* gene family in *G. elata* f. *glauca* shows specific expansion. *GeJAZ4-3*, as a key regulatory factor, mediates the JA signaling pathway to regulate the balance of the interaction between *G. elata* f. *glauca* and *A. gallica*, laying an important foundation for the analysis of the symbiotic mechanism of *G. elata* and facilitating disease-resistant breeding.

Key words: *Gastrodia elata* Bl.; *Gastrodia elata* Bl. f. *glauca* S. Chow *TIFY* gene family; bioinformatics analysis; jasmonic acid; expression pattern

天麻是我国传统名贵中药材,为兰科天麻属植物天麻 *Gastrodia elata* Bl.的干燥块茎,首载于《神农本草经》,以“赤箭”之名,被列为上品,具有息风止痉、平抑肝阳、祛风通络等功效^[1-2]。天麻包含乌天麻 *G. elata* Bl. f. *glauca* S. Chow、红天麻 *G. elata* Bl. f. *elata* 等多种变型,其中乌天麻是我国云贵高原地区主要的栽培变型^[3]。天麻作为真菌异养植物,其生长发育高度依赖与蜜环菌 *Armillaria gallica* 的共生,二者共同构成独特的共生平衡关系。在天麻生育周期中,蜜环菌侵染花芽未分化的白麻(母麻),可诱导天麻抗性相关基因表达,激活防御机制以抑制菌丝过度扩张^[4];与此同时,母麻消化蜜环菌获取的营养可为箭麻的生长发育提供物质基础^[5]。由此表明,蜜环菌与天麻的互作平衡是保障天麻生长发育的关键,挖掘参与乌天麻-蜜环菌互作的关键基因对解析其互作机制具有重要意义。

已有研究表明,茉莉酸(jasmonic acid, JA)信号通路作为植物免疫系统的核心调控网络,在植物应对病原真菌侵染过程中发挥多重调控作用^[6]。*TIFY* 基因家族尤其是 JAZ (Jasmonate ZIM-domain) 亚家族,作为 JA 信号通路的核心调控因子广泛参与植物抗病防御反应,如棉花 *GhTIFY9* 可通过调控 JA 信号途径增强木质素沉积,抑制黄萎病菌侵染^[7];玉米 *ZmJAZ17* 通过介导 JAZ-CO11 蛋白互作调控病原菌诱导的茎腐病抗性反应^[8];紫云英 *AsJAZ1* 蛋白降解会激活其 JA 信号通路,进而促进 β -1,3-葡聚糖酶等防御相关基因的表达,以增加对病原真菌的抗性^[9]。与植物-真菌互作类似,蜜环菌的侵染可激活天麻的防御反应机制,通过激活 JA 等激素信号来维持菌-麻共生关系的动态平衡^[10]。然而, *TIFY* 家族作为植物 JA 信号通路的关键调控因子,其在调节乌天麻-蜜环菌互作机制中的功能尚未得到系统阐明。

因此,本研究利用乌天麻基因组数据,系统鉴

定其 *TIFY* 家族成员,分析其系统发育关系、保守基序及启动子顺式作用元件,进一步结合乌天麻转录组分析 *TIFY* 家族在乌天麻-蜜环菌互作不同阶段的表达模式,为揭示乌天麻-蜜环菌互作平衡的调控机制提供理论基础。

1 材料与仪器

乌天麻箭麻和母麻均采集自贵州省毕节市七星关区,经贵州中医药大学江维克教授鉴定为乌天麻 *G. elata* Bl. f. *glauca* S. Chow 的新鲜块茎。

C1000 Touch TM Thermal Cycler 型 PCR 扩增仪(美国 Bio-Rad 公司); NanoDrop 2000 型微量核酸定量仪(美国 Thermo Scientific 公司); CFX96 Real-Time System 型实时荧光定量分析仪(美国 Bio-Rad 公司)。

2 方法

2.1 基因家族鉴定

2.1.1 基因家族成员鉴定与理化性质分析 在国家生物信息中心(<https://www.cnbc.ac.cn/>)下载乌天麻全基因组(GWHBDNU00000000)及基因注释文件。从 Pfam 数据库(<https://pfam.xfam.org/>)中获得 *TIFY* 结构域(PF06200)的隐马尔可夫模型(hidden markov model, HMM)文件,对乌天麻蛋白序列进行 HMM 搜索,筛选 $e\text{-value} \leq 1 \times 10^{-5}$ 的候选蛋白序列^[11];以 $e\text{-value} \leq 0.01$ 为条件,利用 TBtools v2.136 软件^[12]筛选乌天麻基因组与拟南芥 *TIFY* 蛋白同源的候选成员。

将 2 次获得的候选成员蛋白序列合并去重后提交至 InterPro 网站(<https://www.ebi.ac.uk/interpro/>)和 NCBI Batch CDD(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/bwrpsb/bwrpsb.cgi>),验证 *TIFY* 保守结构域,获得乌天麻 *TIFY* 家族成员。

利用 TBtools 分析乌天麻 *TIFY* 家族成员的氨基酸长度、相对分子质量(M_w)、理论等电点(pI)、不稳定指数、脂肪族指数及水溶性平均值等理化性

质，并通过在线网站 WOLF PSORT (<https://wolfsort.hgc.jp/>) 进行亚细胞定位预测分析。

2.1.2 基因家族成员保守基序、基因结构及系统进化分析 使用在线分析工具 MEME^[13] (<https://meme-suite.org/meme/>) 对乌天麻 TIFY 蛋白序列的保守基序进行鉴定，参数设置为最多 10 个基序。通过 TBtools 软件分析乌天麻基因组中 TIFY 成员的基因结构，并进行可视化。

基于 Ensembl Plants 数据库 (<https://plants.ensembl.org/index.html>)，获取拟南芥基因组数据。使用 MEAG 11^[14] 软件对拟南芥、乌天麻的 TIFY 蛋白序列进行 Clustalw 多重比对分析，以邻位连接法 (neighbor joining, NJ) 构建系统进化树。

2.1.3 基因家族成员染色体定位、共线性及顺式作用元件分析 使用 TBtools 对乌天麻染色体基因密度及 TIFY 家族成员在染色体上的分布进行分析和可视化。分别从乌天麻、拟南芥、石斛^[15] 基因组中获得 *GeTIFYs*、*AtTIFYs*、*DnTIFYs* 的序列信息，使用 TBtools 对乌天麻与拟南芥、石斛 TIFY 家族成员间的共线性关系进行分析和结果

可视化展示。

使用 TBtools 软件从乌天麻的 GFF 文件中分别提取乌天麻 TIFY 家族成员启动子上游 2 000 bp 的碱基序列，并通过 PlantCARE10^[16] 网站预测其顺式作用元件 (<https://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>)。

2.2 基因家族成员表达模式分析

从蜜环菌侵染天麻 3 个月 (3M) 和 5 个月 (5M) 的母麻转录组数据中提取乌天麻 TIFY 家族成员的的表达量，利用 TBtools 软件绘制基因表达热图。

使用 Promega RNA 提取试剂盒 (EasestTM Super Total RNA Extraction Kit) 提取不同发育时期的乌天麻母麻和箭麻的总 RNA，并使用 TaKaRa 反转录试剂盒 (PrimeScriptTM RT reagent Kit) 将其逆转录成 cDNA。利用 Primer 5 设计实时荧光定量 PCR 扩增引物 (表 1)，利用 BIO-RAD CFX96 检测基因的表达水平。每个样本至少设置 3 个生物学重复，*Actin* 为天麻内参基因^[17]，SPSS 27 和 GraphPad Prism 9 软件完成统计分析并作图。

表 1 用于 qRT-PCR 的引物序列
Table 1 Primer sequences for qRT-PCR

基因	正向引物 (5'-3')	反向引物 (5'-3')
<i>Actin</i>	CCGCATGAGCAAGGAAATAAC	AGGGAGGCAAGGATAGAACCA
<i>GeJAZ1-1</i>	CATACTGGGATTGGCAGAGAAGG	GTGCATACGGAGAAGAGTGATCG
<i>GeTIFY10A-1</i>	GAGGAGCAGGATTAGTGCGAAAG	TATTACAGCAGCCCAAGCAGAGT
<i>GeJAZ4-3</i>	TGATGGAAATGGCAAGCAGAGG	CTATGCAGAGAAGCCCTCCGTG
<i>GeJAZ8</i>	CATACTGGGATTGGCAGAGAAGG	CAGAAAAGAGCTGCAATAGAGGGA

2.3 JA 含量测定及相关性分析

各取 0.1 g 乌天麻母麻和箭麻样品，用 80% 冷甲醇提取过夜^[17]。参照 Liu 等^[18] 的测定方法对 JA 进行提取和定量分析。利用 R 语言 4.4.3 软件^[19] 中 Mantel-test 和 Pearson 相关分析，计算母麻中 JA 含量与 TIFY 家族成员表达量 [差异倍数 (|Fold Change|) > 1] 的相关系数并绘图。

3 结果与分析

3.1 基因家族成员鉴定与理化性质分析

在乌天麻基因组中共筛选得到 30 个乌天麻 TIFY 家族成员，分属 JAZ、TIFY、PPD 和 ZML 4 个亚家族。序列分析表明，乌天麻 TIFY 家族成员的氨基酸数目为 102~410 aa，相对分子质量为 11 581.29~43 763.32，蛋白理论等电点为 5.71~9.91，

不稳定指数为 29.67~108.82，脂肪族指数为 51.14~84.07，均为疏水性蛋白。亚细胞定位预测显示，大多数成员位于细胞核中 (表 2)。

3.2 基因家族成员基因结构和保守基序分析

系统进化分析表明，乌天麻 TIFY 亚家族成员与 JAZ 亚家族亲缘关系较近，而 ZML 和 PPD 亚家族成员各自聚类成独立的分支 (图 1-A)。外显子-内含子结构分析显示，亲缘关系较近的 TIFY 家族成员外显子/内含子分布相似性较高 (图 1-B)。结构域分析表明，所有乌天麻 TIFY 家族成员均包含 TIFY 结构域，其中 19 个成员的蛋白序列 C 端含有 Jas 结构域，3 个成员的氨基酸序列含有 ZnF_GATA 结构域，4 个成员含有 CCT 结构域 (图 1-C)。

表 2 乌天麻 TIFY 家族成员理化性质分析

Table 2 Analysis of physicochemical properties of members of TIFY family in *G. elata* f. *glauca*

基因名称	蛋白ID	亚族分类	氨基酸数目	相对分子质量	理论等电点	不稳定指数	脂肪族指数	水溶性平均值	亚细胞定位
<i>GeJAZ1-1</i>	GWHPBDNU005772	JAZ	194	21 282.37	8.4	53.69	69.48	-0.382	叶绿体
<i>GeJAZ1-2</i>	GWHPBDNU032667	JAZ	199	21 375.26	9.27	58.59	76.08	-0.271	细胞核
<i>GeJAZ1-3</i>	GWHPBDNU032668	JAZ	192	20 642.58	9.94	58.03	78.39	-0.193	叶绿体
<i>GeJAZ1-4</i>	GWHPBDNU032669	JAZ	178	19 120.77	9.46	64.44	79.61	-0.185	核膜
<i>GeJAZ1-5</i>	GWHPBDNU032670	JAZ	151	16 208.43	9.67	66.48	75.76	-0.255	叶绿体
<i>GeJAZ2-1</i>	GWHPBDNU017662	JAZ	159	17 690.18	9.59	61.70	76.16	-0.447	细胞核
<i>GeJAZ2-2</i>	GWHPBDNU017663	JAZ	143	16 032.34	9.51	65.38	76.43	-0.438	细胞核
<i>GeJAZ2-3</i>	GWHPBDNU032640	JAZ	182	20 558.69	9.73	40.65	71.98	-0.577	细胞核
<i>GeJAZ3-1</i>	GWHPBDNU033168	JAZ	143	15 618.62	9.10	68.38	77.2	-0.406	细胞核
<i>GeJAZ3-2</i>	GWHPBDNU033169	JAZ	142	15 494.53	9.91	66.16	70.28	-0.404	叶绿体
<i>GeJAZ4-1</i>	GWHPBDNU012148	JAZ	213	23 735.09	9.80	35.39	60.05	-0.815	细胞核
<i>GeJAZ4-2</i>	GWHPBDNU012149	JAZ	168	18 663.36	9.84	38.75	56.96	-0.748	线粒体
<i>GeJAZ4-3</i>	GWHPBDNU012151	JAZ	156	17 305.91	9.85	34.95	65.13	-0.721	线粒体
<i>GeJAZ4-4</i>	GWHPBDNU019546	JAZ	365	39 277.07	8.70	48.29	69.53	-0.362	细胞核
<i>GeJAZ4-5</i>	GWHPBDNU019547	JAZ	339	36 654.73	8.86	43.45	84.07	-0.062	细胞外基质
<i>GeJAZ4-6</i>	GWHPBDNU019548	JAZ	339	36 654.73	8.86	43.45	84.07	-0.062	细胞外基质
<i>GeJAZ4-7</i>	GWHPBDNU019549	JAZ	309	33 316.53	9.38	44.13	73.30	-0.291	细胞核
<i>GeJAZ8</i>	GWHPBDNU030043	JAZ	102	11 581.29	9.91	66.30	81.37	-0.645	细胞核
<i>GePPD2</i>	GWHPBDNU019904	PPD	324	35 383.80	7.60	68.89	71.70	-0.604	细胞核
<i>GeTIFY10A-1</i>	GWHPBDNU017664	TIFY	129	14 206.10	7.77	55.58	74.11	-0.408	细胞核
<i>GeTIFY10A-2</i>	GWHPBDNU017665	TIFY	129	14 206.10	7.77	55.58	74.11	-0.408	细胞核
<i>GeTIFY10C</i>	GWHPBDNU012150	TIFY	166	18 221.99	9.70	29.67	63.49	-0.561	细胞核
<i>GeTIFY1A</i>	GWHPBDNU019073	TIFY	350	38 673.49	9.73	53.43	68.34	-0.657	细胞核
<i>GeTIFY5A-1</i>	GWHPBDNU005738	TIFY	149	16 201.26	9.10	103.18	53.09	-0.723	细胞核
<i>GeTIFY5A-2</i>	GWHPBDNU005739	TIFY	118	13 027.80	9.17	108.82	58.73	-0.633	细胞外基质
<i>GeTIFY5A-3</i>	GWHPBDNU005740	TIFY	149	16 233.32	9.10	103.37	51.14	-0.739	细胞核
<i>GeTIFY8</i>	GWHPBDNU010630	TIFY	410	43 763.32	8.16	59.26	71.39	-0.35	细胞核
<i>GeZML2-1</i>	GWHPBDNU014070	ZML	258	27 947.67	7.68	58.62	70.70	-0.471	细胞核
<i>GeZML2-2</i>	GWHPBDNU014071	ZML	239	26 082.66	7.00	56.27	69.37	-0.372	细胞核
<i>GeZML2-3</i>	GWHPBDNU031485	ZML	332	35 568.93	5.71	42.27	65.27	-0.586	细胞核

蛋白保守基序分析显示, 30 个乌天麻 TIFY 成员包含 10 个保守基序, 其中 Motif 1 在所有成员中广泛保守, 具有典型的 TIFY 核心基序 TIFYGG; Motif 2 为 JAZ、ZML 和 PPD 亚家族成员所共有 (图 1-D、E)。以上结果表明, 乌天麻 TIFY 家族成员的基因结构兼具家族保守性与多样性, 这种结构特性可能与其功能多样性密切相关。

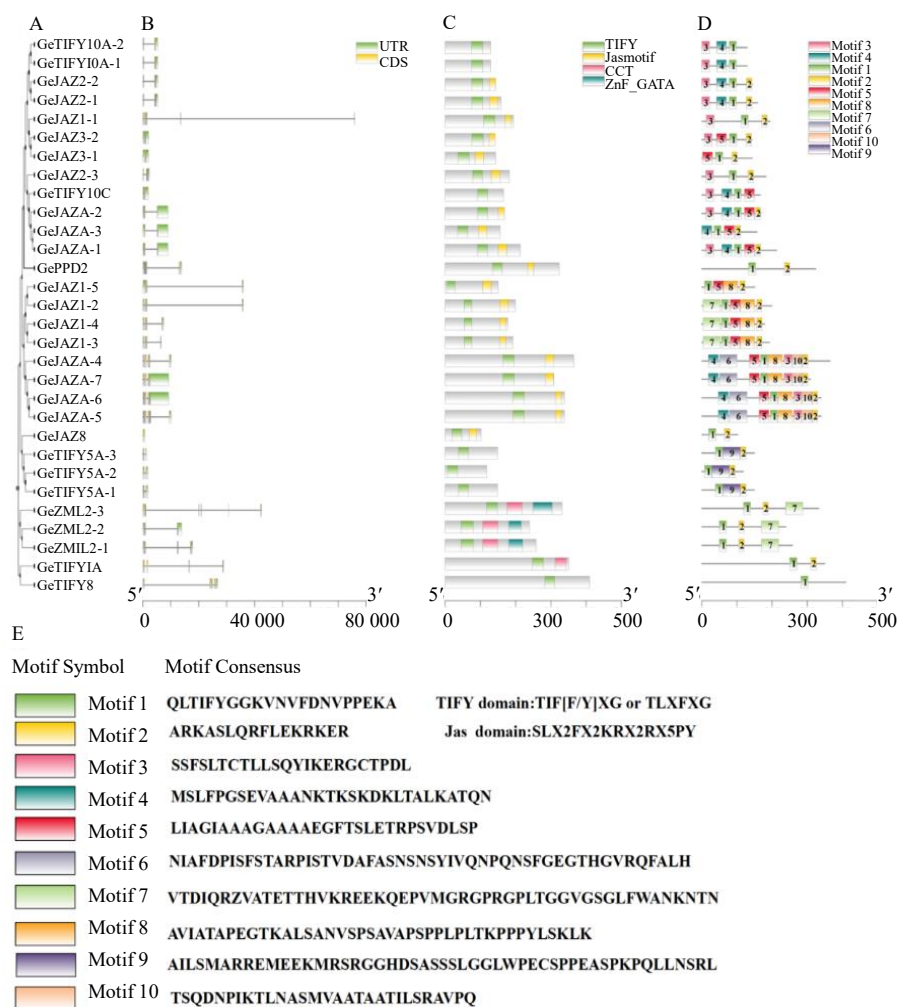
3.3 基因家族成员系统进化分析

系统发育树结果显示, 乌天麻 TIFY 家族成员分属 7 个组 (图 2)。第 I 组为 PPD 亚家族成员, 第 II 组包含 4 个 TIFY 家族成员, 第 III 组中 ZML 亚

族成员聚为独立分支, 第 IV 组仅包含 2 个 TIFY 亚家族成员, 而第 V、VI、VII 组富集大量 JAZ 亚家族成员, 与拟南芥 *AtJAZs* 表现出较高的序列相似性。其中, II 组 *GeJAZ8*、V 组 *GeJAZ4-7/4* 等 4 个 JAZ 亚家族成员与拟南芥生物胁迫响应相关基因 *AtJAZ3*^[20]、*AtJAZ8*^[21] 亲缘关系较近, VII 组 *GeJAZ4-3/2/1* 与拟南芥 JA 信号通路关键调控因子 *AtJAZ1* 同源^[22], 提示这些家族成员可能通过保守的 JA 信号通路参与天麻胁迫响应、防御机制激活及激素信号交叉调控过程。

3.4 基因家族成员染色体定位与共线性分析

图 3-A 染色体定位分析显示, 30 个乌天麻 TIFY



A-系统进化关系; B-基因结构, 绿色矩形表示非翻译区 (UTR), 黄色矩形表示外显子 (CDS), 黑线表示内含子; C-保守结构域, 共显示 4 个不同的保守结构域; D-保守基序分布; E-图 D 中各保守基序的氨基酸序列; 图 D、E 中 10 个不同颜色矩形代表 10 个不同的基序, 颜色标识相互对应。

A-Phylogenetic relationship; B-Gene structure, the green rectangle represents the untranslated region (UTR), the yellow rectangle represents the exon (CDS), the black line represents the introns; C-Conserved domains, a total of 4 different conserved domains are displayed; D-Conserved motif distribution; E-Amino acid sequences of each motif shown in fig.D; The color coding for the 10 motifs are identical in fig. D and E.

图 1 乌天麻 TIFY 家族成员基因结构和保守基序分析

Fig. 1 Analysis of gene structure and conserved motifs of members of TIFY gene family members of *G. elata* f. *glauca*

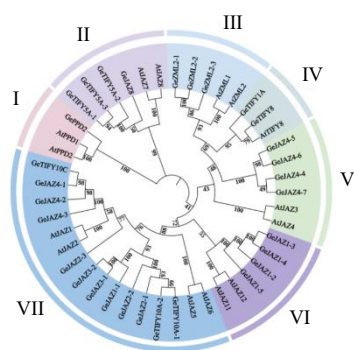


图 2 乌天麻 TIFY 基因家族成员系统发育树

Fig. 2 Phylogenetic tree of TIFY gene family members of *G. elata* f. *glauca*

家族成员在其 7 条染色体上随机分布, 其中 Chr09 分布最多最密集, 为 7 个, 占比 23.3%; 其次是 Chr03, 为 6 个, 占比 20.0%; Chr02、Chr11 和 Chr15 各分布 4 个, 占比 13.3%。此外, *GeJAZ4-3/2/1*、*GeJAZ1-5/4/3/2* 等基因存在明显的成簇分布现象, 表明这些基因在功能协同、表达调控及进化过程中存在密切关联。图 3-B 物种间共线性分析发现, 6 个乌天麻 *GeTIFYs* 基因与拟南芥 *AtTIFYs* 存在共线性关系, 10 个 *GeTIFYs* 基因与石斛 *DnTIFYs* 呈现显著共线性关系, 说明乌天麻与石斛亲缘关系更近。此外, 4 个 TIFY 家族成员同时与拟南芥 *AtTIFYs* 和

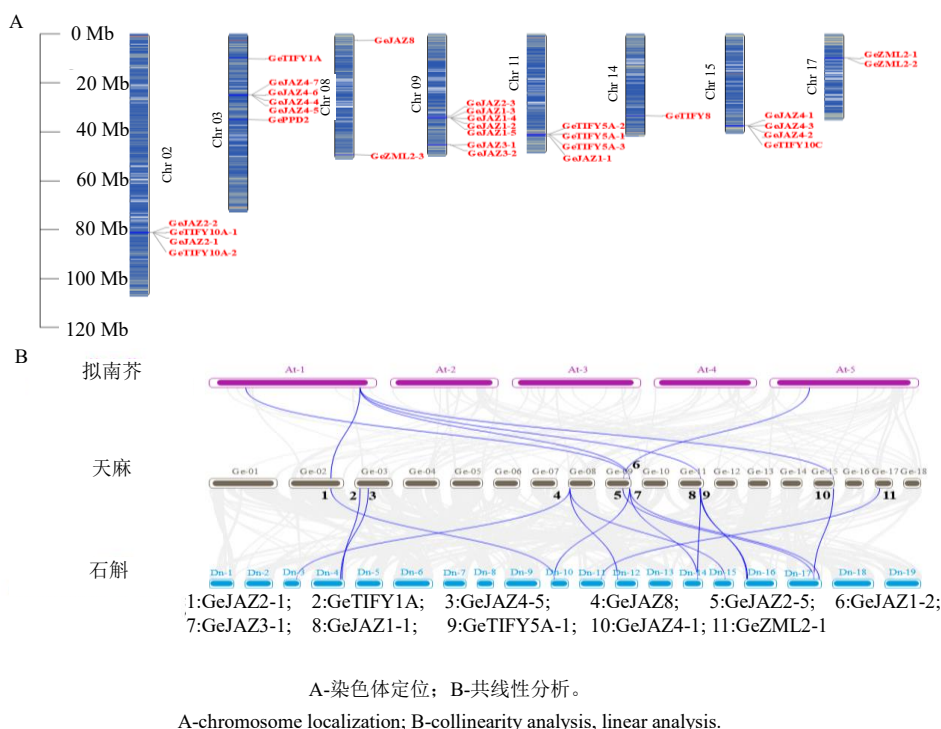


图 3 乌天麻 TIFY 家族成员的染色体定位与共线性分析

Fig. 3 Chromosome localization and Co-linearity analysis of TIFY family members of *G. elata* f. *glauca*

石斛 *DnTIFYs* 呈现共线性, 表明其具有较高保守性, 能够跨物种进化; 而 *GeJAZ4-3/2*、*GeJAZ1-5/4/3/2* 等 18 个 TIFY 家族成员与二者均未检测到共线性信号, 提示这些基因可能参与天麻特有的生物学过程, 特别是与蜜环菌互作相关的适应性进化。

3.5 基因家族成员顺式作用元件分析

顺式作用元件分析发现, 乌天麻 TIFY 家族成员启动子区域富含多种功能调控元件 (图 4)。

统计显示, *GeJAZ4-3/2/1*、*GeJAZ1-5/4/3/2/1*、*GeJAZ8* 等 21 个 TIFY 家族成员启动子区含有大量防御及胁迫响应相关元件 (TC-rich repeats), 18 个家族成员包含茉莉酸甲酯响应元件 (CGTCA/TGACG-motif), 26 个具有脱落酸响应元件 (ABRE), 17 个含赤霉素响应元件 (GARE-motif/P-box), 表明该家族成员广泛参与植物防御应激响应和激素信号转导过程。

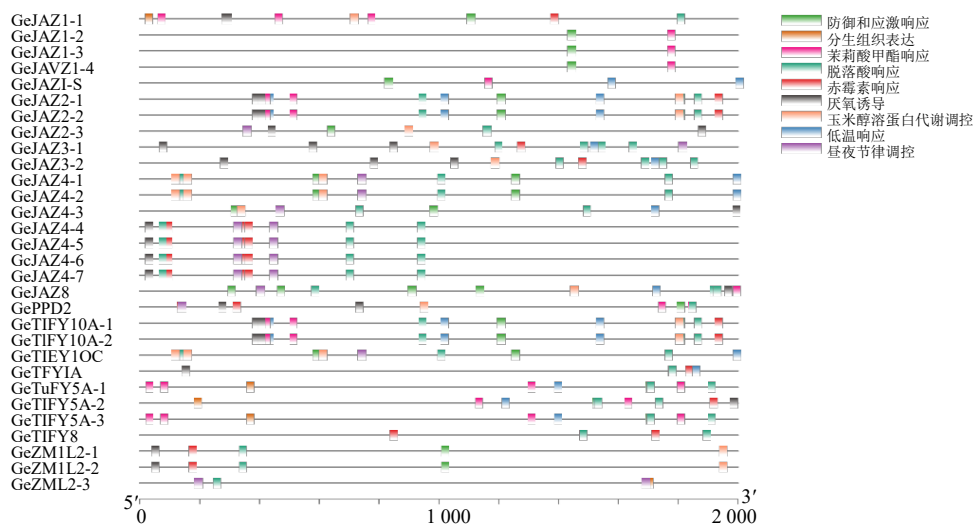


图 4 乌天麻 TIFY 家族成员顺式作用元件分析

Fig. 4 Analysis of cis-acting elements of TIFY family members of *G. elata* f. *glauca*

3.6 基因家族成员表达模式分析

进一步分析乌天麻 TIFY 各家族成员在乌天麻-蜜环菌互作中的组织表达模式 (图 5)。转录组分析发现, *GeJAZ2-3*、*GeTIFY1A* 等 11 个基因在乌天麻-蜜环菌互作过程中几乎不表达, 19 个基因在 3M 和 5M 时期差异表达, 其中 16 个基因上调, 以 *GeJAZ4-3*、*GeJAZ8* 变化较为明显。qRT-PCR 验证显示, 母麻中 *GeJAZ4-3*、*GeJAZ1-1*、*GeJAZ8* 等基因受蜜环菌感染后显著上调; *GeJAZ4-3*、*GeTIFY10A-1* 等基

因在箭麻中呈下调表达, 其中 *GeJAZ4-3* 在乌天麻箭麻和母麻中的表达趋势相反, 呈现出明显的组织表达特异性。上述结果表明, 蜜环菌感染可诱导乌天麻 TIFY 家族成员发生差异表达, 其中多数成员在母麻中表达上调。

图 6-A 表明, 与 3M 时期相比, 5M 时期箭麻和母麻 JA 含量均显著上升, 分别增加了 0.2 倍和 1.9 倍。进一步关联分析发现, 乌天麻母麻中 *GeJAZ4-3*、*GeTIFY10C*、*GeJAZ3-1/2* 的表达水平与

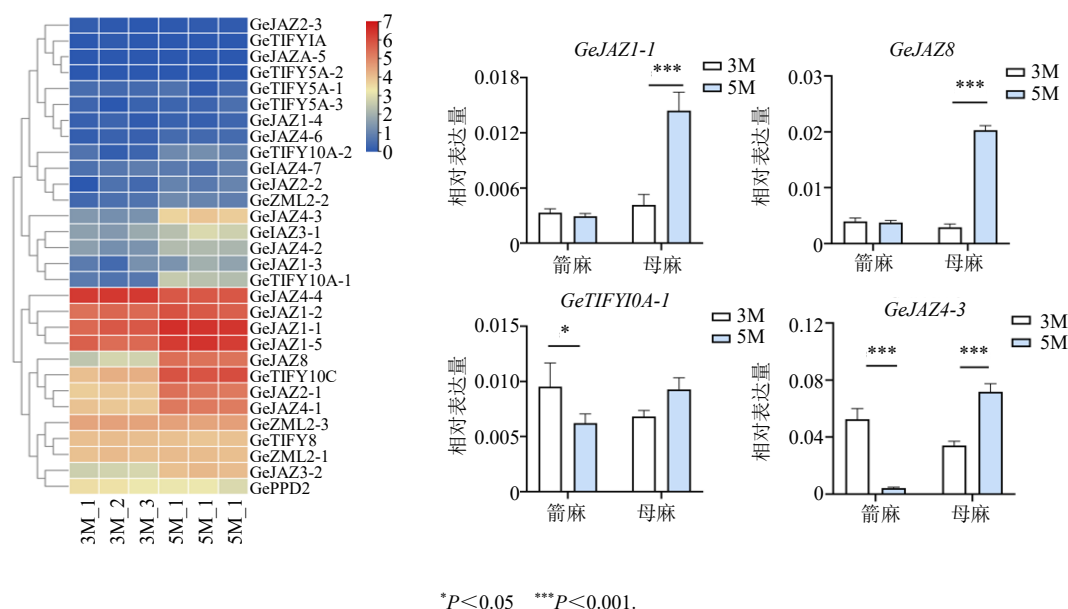
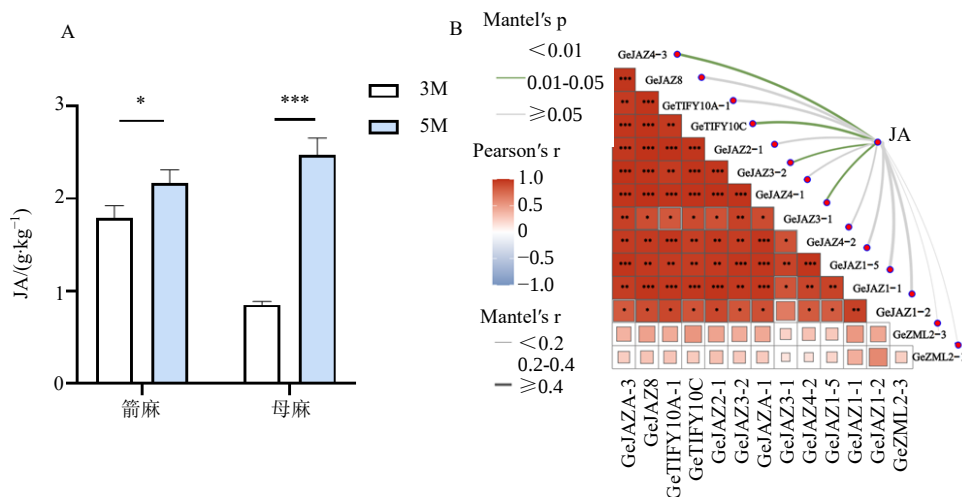


图 5 乌天麻 TIFY 家族成员在乌天麻不同发育时期的表达量

Fig. 5 Expression levels of members of TIFY family of *G. elata f. glauca* at different developmental stages



A-乌天麻不同发育时期 JA 含量; B-JA 含量与乌天麻 TIFY 家族成员表达量的皮尔逊相关性分析; * $P<0.05$ *** $P<0.001$ 。

A-JA content at different developmental stages of *G. elata f. glauca*; B-Pearson correlation analysis between JA content and expression levels of TIFY Family members in *G. elata f. glauca*; * $P<0.05$ *** $P<0.001$ 。

图 6 乌天麻 TIFY 家族成员表达模式分析

Fig. 6 Analysis of expression patterns of members of TIFY family of *G. elata f. glauca*

其内源 JA 含量呈现显著正相关(图 6-B)。由此说明,随着蜜环菌与天麻互作时间的延长,箭麻和母麻的防御系统均被激活,会诱导 JA 积累和 JAZ 基因表达上调。

4 讨论

TIFY 基因家族是参与植物生长发育、激素信号和胁迫响应的重要调控因子,是 JA 信号的关键分子开关,可介导 JA 信号转导以调控植物-病原菌互作平衡^[23-24]。本研究鉴定得到 30 个乌天麻 TIFY 家族成员,其中 JAZ 亚族成员数量最为丰富(表 2),与丝瓜^[25]、苜蓿^[26]等植物中 JAZ 亚族成员占比特征一致。系统进化分析显示, *GeJAZ4*、*GeJAZ8* 等成员与拟南芥 *AtJAZ1/AtJAZ3/AtJAZ8* 等胁迫响应相关基因高度同源(图 2)。已有研究发现,拟南芥中 *AtJAZ1*^[22]和 *AtJAZ3*^[20]可通过抑制 MYC2、AP2/ERF 等转录因子活性,调控 JA 介导的防御反应与胁迫应答;*AtJAZ8* 过表达可上调病原相关基因 *AtPR1* 的表达以增强对细菌的抗性^[21],同时通过抑制 WRKY 转录因子对防御基因 *PDF1.2* 的激活避免过度防御导致的组织损伤^[27]。由此推测,乌天麻 JAZ 亚族成员调节天麻防御相关基因表达,维持其与蜜环菌的互作平衡。此外,随着天麻规模化种植,天麻褐腐病等严重影响天麻生产^[28],该亚族基因有望作为重要的抗病资源,为天麻抗病品种选育提供候选基因与理论依据。

基因复制推动基因家族扩张,对植物功能多样性及进化至关重要^[29]。研究显示,拟南芥基因组含 18 个 TIFY 家族成员^[30],铁皮石斛中鉴定到 20 个^[31],而本研究发现乌天麻中该家族成员数量增至 30 个(表 2),规模呈现显著扩张,暗示其经历了谱系特异性基因复制事件。此外,基因复制可通过可变剪切异构体增加蛋白多样性^[32],本研究发现乌天麻 *GeJAZ4-3/2/1* 等家族成员在染色体上成簇分布(图 3),也反映基因复制是驱动植物 TIFY 家族演化的重要机制。种间共线性分析表明,乌天麻 TIFY 家族与同科石斛的同源基因对数量显著多于拟南芥,这一特征符合兰科植物的近缘系统发育关系。其中, *GeJAZ1-1*、*GeJAZ2-1* 等 4 个基因与拟南芥和石斛均呈现共线性关系,表明 TIFY 家族中 JAZ 亚族成员在不同物种间进化较为保守,可能发挥相似功能。进一步分析发现, *GeJAZ4-3/2* 等基因在拟南芥和石斛中均未检测到共线性信号,可能源于种内复制后的功能分化,参与天麻特有的生物学过

程,尤其是与蜜环菌互作相关的适应性进化,这些结果与天麻基因组中观察到的局部基因家族扩张现象相一致^[33]。

研究表明,植物响应病原菌侵染时,其 JAZ 基因表达会显著上调,同时伴随 JA 积累^[34]。本研究发现,随着蜜环菌对天麻侵染时间的延长,母麻中 TIFY 家族(尤其是 JAZ 亚族)基因的表达水平呈现时序性上调(图 6),同时内源 JA 含量也显著增加,其中以 *GeJAZ4-3* 变化最为显著。由此本研究推测,异养植物天麻的正常发育依赖蜜环菌的侵染,侵染初期母麻中 JAZ 基因低表达可能利于蜜环菌定殖,后期显著上调则可能通过增强 JA 信号促进次生代谢以维持共生平衡,这与木豆 *CcJAZ19* 响应真菌诱导的表达模式相似^[35]。结合 JA 含量测定结果,未受蜜环菌侵染的箭麻仍检测到 JA 积累,提示 JA 信号可能由母麻向箭麻传递,赋予其系统获得性抗性,这一现象与拟南芥中 JA 介导的局部-系统防御信号传递机制类似^[36]。此外,本研究发现天麻 TIFY 家族成员启动子区域含有大量防御和应激响应元件(图 4),进一步佐证母麻能够通过自我防御响应抑制蜜环菌的过度侵染;同时,也增强其对病原菌的抗性,为天麻的抗病育种奠定重要的理论基础。

本研究基于乌天麻基因组数据,系统鉴定到 30 个 TIFY 基因家族成员,分属 TIFY、JAZ、PPD 与 ZML 4 个亚家族,这些成员随机分布在 7 条染色体上,且与同科植物石斛亲缘关系较近。JAZ 亚家族成员数量最多,其表达受蜜环菌侵染诱导后呈现显著差异表达,其中关键成员 *GeJAZ4-3* 介导 JA 信号通路是乌天麻-蜜环菌互作中分子调控枢纽。本研究为阐明乌天麻 TIFY 基因家族成员生物学功能及乌天麻-蜜环菌互作的内在分子机制奠定了理论基础,并为选育高产、抗病天麻新品种提供了关键的候选基因资源与分子靶点。未来可结合基因功能验证与田间栽培试验,推动天麻的抗病育种。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 59-60.
- [2] 马继兴. 神农本草经辑注 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2013: 62.
- [3] 胡艺镞, 李胜男, 徐娇, 等. 基于叶绿体基因组 SSR 分子标记开发鉴定 5 种生态型天麻 [J]. 中草药, 2025, 56(5): 1747-1754.
- [4] 黄万兵, 桂阳, 卢颖颖, 等. 利用 cDNA-SRAP 技术分

- 析天麻与蜜环菌共生时差异表达基因片段 [J]. 中药材, 2019, 42(6): 1267-1272.
- [5] 杨世林, 兰进, 徐锦堂. 天麻的研究进展 [J]. 中草药, 2000, 31(1): 66-69.
- [6] Macioszek V K, Jęcz T, Cierieszko I, *et al.* Jasmonic acid as a mediator in plant response to necrotrophic fungi [J]. *Cells*, 2023, 12(7): 1027.
- [7] 李秀青, 胡子曜, 雷建峰, 等. 棉花黄萎病抗性相关基因 *GhTIFY9* 的克隆与功能分析 [J]. 生物技术通报, 2022, 38(8): 127-134.
- [8] 王石. 茉莉酸/乙烯途径参与调控玉米茎腐病/粒腐病抗性的研究 [D]. 南京: 南京农业大学, 2017.
- [9] Li Y X, Xu M, Wang N, *et al.* A JAZ protein in *Astragalus sinicus* interacts with a leghemoglobin through the TIFY domain and is involved in nodule development and nitrogen fixation [J]. *PLoS One*, 2015, 10(10): e0139964.
- [10] 王燕华. 长白山乌杆天麻病害防御相关基因的发掘与功能分析 [D]. 长春: 吉林农业大学, 2021.
- [11] 祁稼民, 许春苗, 肖斌. 马铃薯 TIFY 基因家族的全基因组鉴定及表达分析 [J]. 作物学报, 2024, 50(9): 2297-2309.
- [12] Chen C J, 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.
- [13] Bailey T L, Johnson J, Grant C E, *et al.* The MEME suite [J]. *Nucleic Acids Res*, 2015, 43(w1): W39-W49.
- [14] Tamura K, Stecher G, Kumar S. MEGA11: Molecular evolutionary genetics analysis version 11 [J]. *Mol Biol Evol*, 2021, 38(7): 3022-3027.
- [15] 于相丽, 刘雅银, 李勇慧, 等. 金钗石斛 *AP2/ERF* 基因家族的鉴定和表达分析 [J]. 江苏农业科学, 2024, 52(17): 47-57.
- [16] 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.
- [17] Xu J, Hu Z P, He H, *et al.* Transcriptome analysis reveals that jasmonic acid biosynthesis and signaling is associated with the biosynthesis of asperosaponin VI in *Dipsacus asperoides* [J]. *Front Plant Sci*, 2022, 13: 1022075.
- [18] Liu H B, Li X H, Xiao J H, *et al.* A convenient method for simultaneous quantification of multiple phytohormones and metabolites: Application in study of rice-bacterium interaction [J]. *Plant Methods*, 2012, 8(1): 2.
- [19] Makowski D, Ben-Shachar M, Patil I, *et al.* Methods and algorithms for correlation analysis in R [J]. *J Open Source Softw*, 2020, 5(51): 2306.
- [20] Liu X, Zhao C B, Yang L M, *et al.* Genome-wide identification, expression profile of the TIFY gene family in *Brassica oleracea* var. *capitata*, and their divergent response to various pathogen infections and phytohormone treatments [J]. *Genes*, 2020, 11(2): 127.
- [21] Li S J, Xu B L, Niu X L, *et al.* JAZ8 interacts with VirE3 attenuating *Agrobacterium* mediated root tumorigenesis [J]. *Front Plant Sci*, 2021, 12: 685533.
- [22] Aerts N, Pereira Mendes M, Van Wees S C M. Multiple levels of crosstalk in hormone networks regulating plant defense [J]. *Plant J*, 2021, 105(2): 489-504.
- [23] 练从龙, 兰金旭, 杨晶凡, 等. 基于冬凌草全长转录组的 TIFY 基因家族鉴定与表达分析 [J]. 福建农业学报, 2024, 39(3): 290-301.
- [24] Tao J J, Jia H M, Wu M T, *et al.* Genome-wide identification and characterization of the TIFY gene family in kiwifruit [J]. *BMC Genomics*, 2022, 23(1): 179.
- [25] 刘同金, 刘振洋, 班秋妍, 等. 丝瓜 TIFY 基因克隆及组织表达分析 [J]. 西北植物学报, 2024, 44(11): 1752-1759.
- [26] Chen Q, Dai R, Shuang S, *et al.* Genome-wide investigation of the TIFY transcription factors in alfalfa (*Medicago sativa* L.): Identification, analysis, and expression [J]. *BMC Plant Biol*, 2024, 24(1): 840.
- [27] Chen L G, Zhang L P, Xiang S Y, *et al.* The transcription factor WRKY75 positively regulates jasmonate-mediated plant defense to necrotrophic fungal pathogens [J]. *J Exp Bot*, 2021, 72(4): 1473-1489.
- [28] 唐鑫, 张进强, 江维克, 等. 天麻褐腐病病原菌的分离鉴定及致病性研究 [J]. 中国中药杂志, 2022, 47(9): 2288-2295.
- [29] Bai Y H, Meng Y J, Huang D L, *et al.* Origin and evolutionary analysis of the plant-specific TIFY transcription factor family [J]. *Genomics*, 2011, 98(2): 128-136.
- [30] Andrade Galan A G, Doll J, Saile S C, *et al.* The non-jaz tify protein tify8 of *Arabidopsis thaliana* interacts with the hd-zip iii transcription factor revoluta and regulates leaf senescence [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(4): 3079.
- [31] 胡睿, 郭建秀, 郭小强, 等. 铁皮石斛 *DoTIFY* 基因家族全基因组鉴定及在原球茎发育过程中的表达 [J]. 生物学杂志, 2021, 38(5): 53-58.
- [32] Lambert M J, Cochran W O, Wilde B M, *et al.* Evidence for widespread subfunctionalization of splice forms in vertebrate genomes [J]. *Genome Res*, 2015, 25(5): 624-632.
- [33] Yuan Y, Jin X H, Liu J, *et al.* The *Gastrodia elata* genome provides insights into plant adaptation to heterotrophy [J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 1615.
- [34] Dai Z N, Dong S Y, Miao H, *et al.* Genome-wide identification of TIFY genes and their response to various pathogen infections in cucumber (*Cucumis sativus* L.) [J]. *Sci Hortic*, 2022, 295: 110814.
- [35] 李娜, 宋治华, 范雨欣, 等. 木豆 JAZ 基因家族鉴定及其响应致病真菌 Cc1-1 侵染的表达分析 [J]. 农业生物技术学报, 2021, 29(8): 1495-1505.
- [36] 程世亚, 袁澍, 席德慧, 等. 植物系统获得性抗性的分子机理 [J]. 生命的化学, 2008, 28(3): 256-259.

[责任编辑 时圣明]