

## 连翘低温相关基因 *FsADH1* 的克隆、亚细胞定位及表达分析

邓萍<sup>1,2</sup>, 原梦<sup>1,2</sup>, 许家齐<sup>1,2</sup>, 李文文<sup>1,2</sup>, 李义龙<sup>1,2</sup>, 张红晓<sup>1,2</sup>, 吕淑芳<sup>1,2</sup>, 胥华伟<sup>1,2</sup>, 侯典云<sup>1,2\*</sup>

1. 河南科技大学农学院, 河南 洛阳 471023

2. 河南省药食兼用资源评价与创新利用工程研究中心, 河南 洛阳 471023

**摘要:** 目的 克隆连翘 *Forsythia suspensa* 的 *FsADH1* 基因, 初步探究蛋白定位以及在低温胁迫下该基因的表达模式。方法 参考连翘转录组数据, 克隆得到 *FsADH1* 基因, 并通过生物信息学方法对其编码蛋白的理化性质进行分析, 利用烟草叶片瞬时转化分析蛋白亚细胞定位、实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 技术分析在低温胁迫下的表达模式。结果 连翘 *FsADH1* 基因长度为 1 143 bp, 编码 380 个氨基酸, 为亲水性蛋白, 在连翘幼苗根、茎、叶中均有表达。 *FsADH1* 基因编码的蛋白定位在细胞质中, 低温胁迫下, 连翘幼苗 *FsADH1* 基因表达量呈先上升后下降的趋势, 第 3 天达到最高值。结论 *FsADH1* 基因受到低温胁迫显著诱导, 其可能参与连翘低温胁迫响应调控, 为后续研究 *FsADH1* 基因功能以及提高连翘抗寒能力的研究提供一定的参考基础。

**关键词:** 连翘; *FsADH1*; 生物信息学; 亚细胞定位; 表达分析

中图分类号: R286.12 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2025)15-5571-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.15.022

## Cloning, subcellular localization and expression analysis of low-temperature-related gene *FsADH1* in *Forsythia suspensa*

DENG Ping<sup>1,2</sup>, YUAN Meng<sup>1,2</sup>, XU Jiaqi<sup>1,2</sup>, LI Wenwen<sup>1,2</sup>, LI Yilong<sup>1,2</sup>, ZHANG Hongxiao<sup>1,2</sup>, LYU Shufang<sup>1,2</sup>, XU Huawei<sup>1,2</sup>, HOU Dianyun<sup>1,2</sup>

1. College of Agricultural, Henan University of Science and Technology, Luoyang 471023, China

2. Henan Engineering Research Center for Evaluation and Innovative Utilization of homology of medicine and food, Luoyang 471023, China

**Abstract: Objective** Cloning of the *FsADH1* gene from *Forsythia suspensa*, and a preliminary exploration of the protein localization and the expression pattern of this gene under low-temperature stress. **Methods** Based on the transcriptome data of *F. suspensa*, the *FsADH1* gene was cloned. The physicochemical properties of the protein encoded by this gene were analyzed using bioinformatics methods. The sub-cellular localization of the protein was analyzed through transient transformation in *Nicotiana tabacum* leaves, and the expression pattern under low-temperature stress was analyzed by real-time fluorescence quantitative PCR (qRT-PCR) technology. **Results** The *FsADH1* gene was 1 143 bp in length and encoded 380 amino acids, which was a hydrophilic protein, which was expressed in the roots, stems and leaves of *F. suspensa* seedlings. The protein encoded by *FsADH1* gene was localized in the cytoplasm, and the expression level of *FsADH1* gene in *F. suspensa* seedlings increased first and then decreased under low temperature stress, reaching the maximum value on the third day. **Conclusion** *FsADH1* gene is significantly induced by low temperature stress and may be involved in the regulation of *F. suspensa* low temperature stress response. This provides a certain reference basis for the subsequent studies on the function of the *FsADH1* gene and the improvement of the cold resistance of *F. suspensa*.

**Key words:** *Forsythia suspensa* (Thunb.) Vahl; *FsADH1*; bioinformatics; subcellular localization; expression analysis

乙醇脱氢酶 (alcohol dehydrogenase, ADH) 是一类具有高度保守性的氧化还原酶, 广泛存在于植

收稿日期: 2025-01-02

基金项目: 国家自然科学基金项目 (U1404829); 河南省自然科学基金项目 (202102110156); 河南省中央引导地方发展资金项目 (Z20241471030); 河南省中药材产业科技特派员服务团项目; 河南省科技攻关项目 (242102110325)

作者简介: 邓萍 (1999—), 硕士研究生, 主要从事药用植物分子生物学研究。E-mail: dengping01011@163.com

\*通信作者: 侯典云 (1975—), 教授, 博士生导师, 主要从事药用植物资源评价与利用。Tel: (0379)64282340 E-mail: dianyun518@163.com

物、动物、原核生物以及真菌之中<sup>[1]</sup>。在植物中, ADH 属于 1 个小基因家族, 能够催化乙醛与乙醇之间的可逆反应<sup>[2]</sup>。ADH 可以使乙醛还原成乙醇, 避免乙醛在植物体内浓度过高时危害植物细胞; 而 ADH 则可以在生成还原性 NADPH 的同时, 将乙醇再氧化还原为乙醛, 提供植物代谢的中间产物。ADH 在植物生长发育、体内生理生化过程以及抵御非生物胁迫(如干旱、涝灾、冷害、低氧和盐害等)中发挥着重要作用<sup>[3-6]</sup>。

植物在受非生物胁迫时, 植物的表型和生理会发生变化, 也会通过上调或下调自身相关基因的表达来快速响应这种环境的胁迫<sup>[7]</sup>。醇脱氢酶在玉米<sup>[8]</sup>中被首次发现, 之后在甜瓜<sup>[9]</sup>、梨<sup>[10]</sup>、葡萄<sup>[11]</sup>、烟草<sup>[12]</sup>等植物中对 ADH 家族进行了鉴定和不同非生物胁迫下的基因表达分析。茶树的 *CsADHs* 基因在参与茶树的生长发育、响应非生物胁迫等方面发挥重要作用<sup>[13]</sup>。甘蔗 ADH 基因响应低温、盐、涝害胁迫<sup>[14]</sup>。通过对番茄基因组分析, *SlADHs* 基因对冷胁迫、盐胁迫、ABA 处理均有一定响应<sup>[15]</sup>。在低温、干旱、涝害等非生物胁迫中, 烟草的 *NtADHs* 基因被诱导表达<sup>[12]</sup>。甜瓜 *CmADHs* 在果实香气物质合成的过程中有着重要的作用<sup>[16]</sup>。

连翘 *Forsythia suspensa* (Thunb.) Vahl 始载于《神农本草经》, 为木犀科连翘属多年生木本植物<sup>[17]</sup>。连翘以干燥果实入药, 是许多中成药的重要原料。连翘作为早春优良观花灌木, 具有较高的园林观赏价值, 而且是国家推荐的防治水土流失的最佳经济作物之一。由于市场需求也不断增长, 近年来连翘已被人工广泛种植。而其人工栽培区种苗生长 3~4 月份, 就面临春季低温胁迫<sup>[18-19]</sup>, 从而造成连翘幼苗成活率低、产量下降。目前, 关于连翘非生物胁迫研究主要集中在不同品种之间的比较<sup>[20-21]</sup>, 与非生物胁迫响应相关基因的研究较少, 关于连翘 ADH 基因的研究也未见报道。

本研究基于分析连翘转录组数据基础上, 克隆 *FsADHI* 基因并进行生物信息学分析、结合蛋白亚细胞定位, 组织特异性表达分析和低温胁迫下的基因表达水平分析, 为进一步研究连翘 *FsADHI* 基因的功能提供理论基础。

## 1 材料与仪器

### 1.1 材料

研究所用的连翘种子购自三门峡市卢氏县双龙

湾镇, 本实验亚细胞定位试验的材料选用本氏烟草 *Nicotiana benthamiana*, 烟草种子由本实验室保存。

挑选出饱满的连翘种子, 浸泡在 0.5% 高锰酸钾水溶液中。静置 30 min 后, 将沉底的种子装在医用纱布中, 用自来水充分冲洗直到水澄清, 之后将种子浸泡在自来水中恒温 30 °C 催芽 8 h。将催过芽的连翘种子播种于含有营养土的穴盘中, 覆盖保鲜膜, 25 °C 温室, 光照 16 h、黑暗 8 h 培养。等待幼苗长出 2~4 片真叶后, 用相同基质移栽至营养钵 (13 cm×16 cm) 中继续培养, 每盆 3 株, 育苗实验在河南科技大学农学院一楼温室中进行, 待幼苗长至平均株高为 (18±3) cm, 可进行低温处理实验。

### 1.2 仪器

高通量组织研磨仪 (浙江美壁有限公司)、5415 R 型低温高速离心机 (Eppendorf)、JY04S-3D 型凝胶成像分析系统 (君意电泳有限公司)、NanoDrop 2000 型微量分光光度计、FV3000 型激光扫描共聚焦显微镜 (Olympus 有限公司)、Lightcycler96 型实时荧光定量 PCR 仪 (Roche 有限公司) 等。

## 2 方法

### 2.1 连翘总 RNA 提取与 cDNA 合成

取 0.1 g 左右的连翘幼苗叶片, 快速置于液氮中, 用研磨仪将叶片破碎成粉末状态, 根据多糖多酚植物 RNA 试剂盒提取连翘总 RNA, 随后使用凝胶电泳及 Nanodrop 测定 RNA 质量和浓度, 选取条带明亮、边界清晰、无弥散条带的 RNA 为模板, 按照反转录试剂盒方法, 将 RNA 反转录为 cDNA, 储存于 -20 °C 冰箱备用。

### 2.2 *FsADHI* 基因的克隆与鉴定

以连翘转录组数据筛选得到的 *FsADHI* 序列为参考, 运用 Primer Premier 5.0 软件设计 *FsADHI* 基因的特异性引物 (表 1), 以连翘 cDNA 为模板进行 RT-PCR 扩增, 体系见表 2, 将 PCR 纯化产物与 pMD18-T 载体连接, 转化入大肠杆菌 TG1 感受态细胞中, 挑取阳性单克隆送公司测序, 将测序正确的菌液扩繁后加入 50% 的甘油, 做好标记后储存于超低温冰箱中, 备用。

表 1 *FsADHI* 基因 PCR 扩增引物

Table 1 PCR amplification primers for <i>FsADHI</i> gene	
引物名称	引物序列 (5'→3')
<i>FsADHI</i> -F	CCCCTCCACGTACATAACTG
<i>FsADHI</i> -R	CGGAACATACCAAAGCCATCC

表2 *FsADH1* 基因克隆体系  
Table 2 *FsADH1* gene amplification system

试剂	体积/ $\mu\text{L}$
2 × Phanta Max Master Mix (Dye Plus)	25.0
<i>FsADH1</i> -F(10 $\mu\text{mol/L}$ )	2.5
<i>FsADH1</i> -R(10 $\mu\text{mol/L}$ )	2.5
cDNA	2.0
ddH <sub>2</sub> O	>50.0

### 2.3 *FsADH1* 基因的生物信息学分析

使用 NCBI ORF Finder (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/orffinder/>) 分析 *FsADH1* 基因开放阅读框 (ORF); CD-Search 功能分析保守结构域; ProtParam tool 和 ProtScale 工具分析 *FsADH1* 蛋白的基本理化性质; TMHMM Server (<https://services.healthtech.dtu.dk/services/TMHMM-2.0/>) 预测蛋白质的跨膜结构; SOPMA (<http://npsa-prabi.ibcp.fr>) 和 SWISS-MODEL (<http://swissmodel.expasy.org/>) 分别预测蛋白质二级结构和三级结构。Cell-Ploc2.0 (<http://www.csbio.sjtu.edu.cn/bioinf/Cell-PLoc-2/>) 预测 *FsADH1*

蛋白在细胞中的亚细胞定位; 使用 MEGA 7.0 软件构建系统发育树。

### 2.4 亚细胞定位

使用 *Kpn* I 与 *Bam*H I 对表达载体 pCAMBIA 1300-GFP 质粒进行双酶切, 使用 CEII Design 软件结合目的基因开放阅读框设计同源引物, 引物设计需要去除终止密码子 (表 3)。以 pMD18-T-*FsADH1* 质粒为模板进行 PCR 扩增。利用同源重组试剂盒进行同源重组, 重组产物转入大肠杆菌感受态 TG1 中, 涂在抗性平板上培养 3 d。挑取单克隆菌落进行 PCR 鉴定后, 送公司测序验证, 将测序正确的菌液扩繁, 提取质粒 (pCAMBIA 1300-*FsADH1*-GFP)。随后, 转入农杆菌感受态 GV3101 中, 将含 pCAMBIA 1300-35S-UGPase-mcherry-NOS 的细胞质侵染液和含有 pCAMBIA 1300-*FsADH1*-GFP 侵染液等量分别混合后侵染烟草, 并以空载体作为对照。暗培养 2 d 后, 激光共聚焦显微镜观察蛋白亚细胞定位。其中, 488 nm 为绿色荧光蛋白激发波长, 583 nm 为细胞质标记蛋白带有红色荧光蛋白激发波长。

表3 亚细胞定位扩增引物

Table 3 Amplification primers for subcellular localization

引物名称	引物序列 (5'→3')
pCAMBIA 1300- <i>FsADH1</i> -F	cgggggactgagctcggtaccATGTCTAGCACTGCTGGTCAGGT
pCAMBIA 1300- <i>FsADH1</i> -R	catgtgactctagaggatccAGTTTCCATGTTTATGATGCAGCG
pCAMBIA 1300-Seq-F	CCGCTGACGTAAGGGATGACG
pCAMBIA 1300-Seq-R	CCGTCCAGCTCGACCAGGATG

### 2.5 低温处理下 *FsADH1* 基因表达分析

提取连翘根、茎、叶的总 RNA, 经反转录获得 cDNA, 利用 qRT-PCR 检测 *FsADH1* 基因在连翘根、茎、叶组织中的表达情况。选取生长 4 个月龄、健壮无病虫害且生长情况一致的连翘幼苗, 进行 4 °C 模拟低温处理, 分别在不同时间 (0、0.25、0.5、1、2、3、5、7 d) 对连翘叶片进行取样, 液氮速冻, 提取 RNA 后反转录为 cDNA。设计 qPCR 的引物序列 (表 4), 以 cDNA 为模板进行 qRT-PCR 反应, 每个反应设计 3 个重复, *FsUKNI* 为内参基因, 采用  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  方法, 体系如下: 2 × Ultra SYBR Green qPCR Mix 5  $\mu\text{L}$ , 上下游引物各 0.5  $\mu\text{L}$ , 模板 1  $\mu\text{L}$ , RNase-free ddH<sub>2</sub>O 3  $\mu\text{L}$ , 检测低温胁迫下 *FsADH1* 基因表达情况, 数据用 IBM SPSS Statistics 25 ( $P \leq 0.05$ ) 进行显著性分析, 通过 GraphPad Prism 9 软件对统计好的数据绘图分析。

表4 *FsADH1* 基因 qRT-PCR 扩增引物

Table 4 qRT-PCR amplification primers of *FsADH1* gene

引物名称	引物序列 (5'-3')
q- <i>FsUNKI</i> -F	CAGACCAGCTTTGAGGAGTATC
q- <i>FsUNKI</i> -R	GGCCAGAAACCAGTAGTCAATA
q- <i>FsADH1</i> -F	GCACTGCTGGTCAGGTTATT
q- <i>FsADH1</i> -R	GTGTGGCAAAGGGAGGTAAA

## 3 结果与分析

### 3.1 *FsADH1* 基因序列的获得

以连翘 cDNA 为模板, 使用 *FsADH1*-F 和 *FsADH1*-R 引物进行 PCR 扩增, 扩增产物经电泳检测, 显示条带大小约 1 100 bp 的特异性条带 (图 1), 将纯化后的产物与 pMD18-T 载体相连后, 转化感受态, 进行菌液 PCR 验证 (图 2), 阳性菌液送公司测序, 测序结果与转录组序列一致, 序列长度为 1 143 bp。

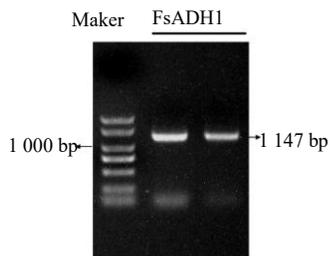


图1 *FsADH1* 基因的 cDNA 序列  
Fig. 1 cDNA sequence of *FsADH1* gene

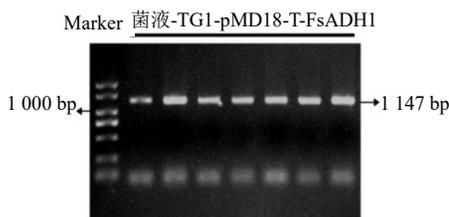


图2 TG1-pMD18-T-FsADH1 菌液 PCR 结果  
Fig. 2 PCR results of TG1-pMD18-T-FsADH1 bacterial solution

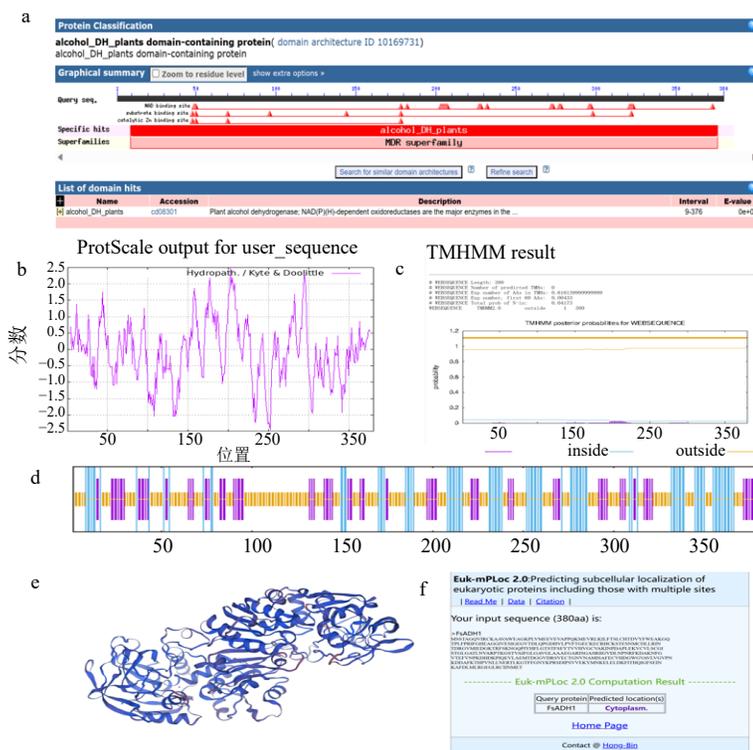
### 3.2 *FsADH1* 蛋白理化性质及结构预测分析

从相对分子量、等电点、亲疏水性等方面对 *FsADH1* 蛋白进行预测, 结果表明, *FsADH1* 基因编码 380 个氨基酸, 理论等电点为 5.85, 总亲水性均值为 -0.063, 不稳定系数为 30.31, 脂肪系数为 84.61。

*FsADH1* 蛋白属于中短链脱氢酶/还原酶 (dehydrogenase/reductase, MDR) 蛋白超家族成员之一 (图 3-a), MDR 蛋白超家族在维持机体正常生理功能和保护组织免受有害物质侵害方面发挥着一定作用。不存在跨膜结构域 (3-b), 不具有信号肽 (图 3-c)。

*FsADH1* 蛋白的二级结构预测结果见图 3-d, 主要由 3 种二级结构元件组成, 其中包括 24.47%  $\alpha$ -螺旋、23.68% 自由延伸和 51.84% 无规则卷曲, 由此可见无规则卷曲是 *FsADH1* 蛋白最主要的二级结构。

使用 SWISS-MODEL 在线网站架构 *FsADH1*



a-*FsADH1* 蛋白结构域; b-*FsADH1* 蛋白跨膜结构域; c-*FsADH1* 蛋白信号肽; d-*FsADH1* 蛋白二级结构; e-*FsADH1* 蛋白三级结构; f-*FsADH1* 蛋白亚细胞定位。

a-conserved domain of *FsADH1* protein; b-transmembrane domain of *FsADH1* protein; c-signal peptide of *FsADH1* protein; d-secondary structure of *FsADH1* protein; e-tertiary structure of *FsADH1* protein; f-subcellular localization of *FsADH1* protein.

图3 *FsADH1* 蛋白生物信息学分析

Fig. 3 Bioinformatics analysis of *FsADH1* protein

蛋白的三维结构模型, 其三维结构模型如图 3-e 所示, 用 4rqt.1.A 为模板, 蛋白覆盖率为 84.99%, 其

同源预测模型与二级结构很相似。预测 *FsADH1* 蛋白定位在细胞质 (图 3-f)。

### 3.3 FsADH1 氨基酸序列进化树分析

从NCBI数据库中获取不同物种的ADH1蛋白序列,对FsADH1同源蛋白进行系统发育树分析(图4)。结果显示,连翘FsADH1蛋白与木犀科的油橄榄同源基因聚类在同一小分支上,说明与油橄榄亲缘关系最近,其次是猕猴桃。

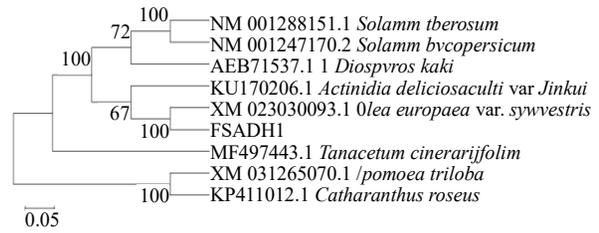


图4 FsADH1 系统进化树

### 3.4 FsADH1 蛋白的亚细胞定位分析

为明确FsADH1基因编码蛋白在细胞中发挥作用的部位,用pCAMBIA 1300-GFP、pCAMBIA 1300-FsADH1-GFP农杆菌菌液分别注射烟草下表皮,使用激光共聚焦显微镜观察结果见图5,以pCAMBIA-1300-GFP载体、细胞质标记mcherry-

Fig. 4 Phylogenetic tree of FsADH1

NOS为双对照,观察到pCAMBIA1300-FsADH1-GFP融合蛋白发出的绿色荧光集中在细胞质上,并与细胞质标记蛋白的红色荧光重叠,在叠加场(Merged)中发出黄色荧光,表明FsADH1蛋白定位在细胞质。

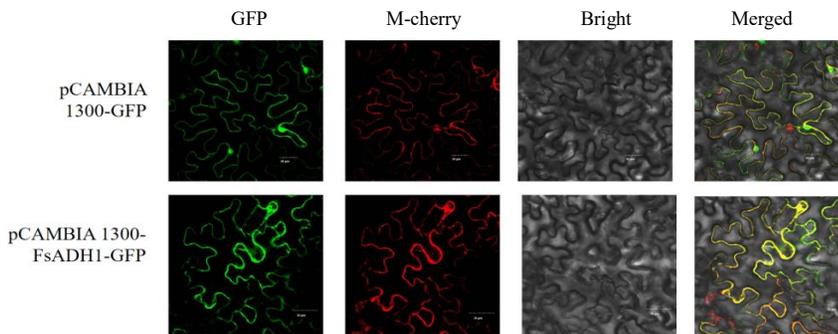
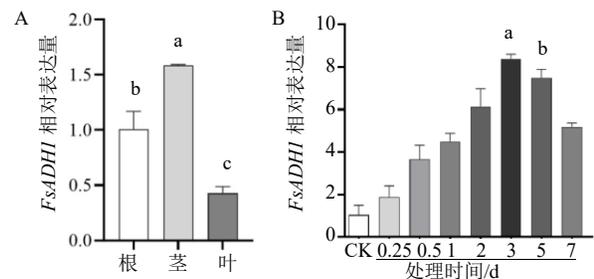


图5 FsADH1 蛋白亚细胞定位

Fig. 5 Subcellular localization of FsADH1 protein

### 3.5 FsADH1 基因的表达分析

通过qRT-PCR,检测了连翘FsADH1基因在根、茎、叶等组织中的表达。实验结果显示,该基因在各组织中均有表达,其中茎部表达最高,根部次之,叶部最低(图6-A)。



A-FsADH1 组织特异性分析; B-低温胁迫下FsADH1 基因表达水平; 不同字母表示差异显著  $P < 0.05$ ; CK-对照。  
a-tissue-specific analysis of FsADH1; b-expression level of the FsADH1 gene under low-temperature stress; Different letters indicate significant differences ( $P < 0.05$ ); CK-control.

图6 FsADH1 基因的表达分析

Fig. 6 Expression analysis of FsADH1 gene

将健壮且长势一致的连翘幼苗进行低温胁迫处理,取不同时间(0、0.25、0.5、1、2、3、5、7 d)的连翘叶片,进行RNA提取并反转录成cDNA,通过实时荧光定量(qRT-PCR)技术分析低温胁迫下基因的表达水平,结果如图6-B所示,FsADH1基因显著受低温诱导,表达水平随低温处理时间呈上升后下降的趋势,第3天达到峰值,较对照组提升近8倍,随后逐渐下降。

## 4 讨论

ADH广泛分布在植物的许多部位,在植物的生长发育和逆境胁迫中都发挥着重要作用。在适宜的环境中,植物ADH表达水平较低,但当植物受到胁迫时,其表达水平会明显上升,在ADH缺失的植株中,细胞逆境损伤程度更为严重,表明逆境胁迫诱导ADH的表达,ADH与植物适应

逆境存在一定的关系<sup>[22]</sup>。

在拟南芥中过表达AtADH1可提高植物对干旱胁迫、冷胁迫等耐受性<sup>[23]</sup>。对花生ADH基因家族进行鉴定和表达分析<sup>[24]</sup>,花生ADH基因家族与低温和干旱胁迫联系更紧密。研究发现在黄芪中<sup>[25]</sup>,SbADH1、SbADH1等多个基因的启动子区都含有低

温响应元件 (LTR), 推测其可能发挥抗寒功能。在草莓的叶中<sup>[26]</sup>, 研究发现草莓在面对低温胁迫时, ADH 表达水平显著提高。

本研究基于连翘转录组测序的基础上, 筛选并克隆得到 *FsADH1* 基因, 长度为 1 143 bp, 编码 380 个氨基酸。保守结构域显示 *FsADH1* 蛋白属于 MDR 超家族。对蛋白三级结构显示, 其构象符合 ADH 蛋白构象<sup>[27]</sup>。 *FsADH1* 编码蛋白的氨基酸序列与木犀科的橄榄的 ADH1 聚类在同一小分支上, 同源性最高, 其次是猕猴桃。本研究发现 *FsADH1* 在连翘幼苗的根、茎、叶中均有表达, 表达量不相同, 茶树<sup>[22]</sup>中的大多数 *CsADH* 在根、茎、叶组织中均有表达, 南通小方柿<sup>[28]</sup>*DkADH1* 基因在茎、叶、花、果实等器官中均有表达, 与本研究结果一致。

使用在线网站先对 *FsADH1* 蛋白进行预测, 其预测在细胞质中, 这与茶树 ADH1 蛋白分析结果一致<sup>[29]</sup>。因此使用激光共聚焦显微镜检测到 *FsADH1* 蛋白定位在细胞质中, 这也与山鸡椒<sup>[30]</sup>中 *LcADH28*、*LcADH29* 蛋白的亚细胞定位研究结果一致, 因此推测连翘 *FsADH1* 蛋白在细胞质中发挥作用。

低温胁迫连翘幼苗, 发现 *FsADH1* 受低温诱导表达, 表达量并呈现先上升后下降的趋势, 并且在冷处理第 7 天时, 其基因表达量仍高于对照。高山离子芥<sup>[31]</sup>在低温胁迫下检测 *CbADH1* 表达量, 其在 24、48 h 处理下分别升高 3.9、8.2 倍。在对香蕉幼苗施加逆境胁迫的实验中发现, *MaADH* 在遭受盐胁迫和低温胁迫的香蕉苗中呈现上调表达的趋势<sup>[32]</sup>。同样地, 日本结缕草中的 *ZjADH* 能够对低温、干旱以及高盐等环境胁迫产生响应。对棉花 *ADH* 基因家族进行全基因组鉴定和表达分析显示大部分 *GhADHs* 对 ABA、淹水、低温和高温等 1 种或多种胁迫表现出显著应答, 提示 *GhADHs* 在抵抗非生物胁迫中可能发挥重要作用<sup>[33]</sup>。将 *ZjADH* 基因转入拟南芥后, 转基因拟南芥植株抵御低温的能力得到了显著增强, 这些研究结果中都显示 *ADH* 基因是受低温诱导的, 与本研究结果一致。

本研究克隆得到 *FsADH1* 基因, 并且对其进行了生物信息学分析。该基因在连翘幼苗根、茎、叶中均有表达。对 *FsADH1* 蛋白进行亚细胞定位, 其定位在细胞质中, 与预测结果一致。并且初步探究了在低温胁迫下 *FsADH1* 基因的表达模式, 在低温胁迫第 3 天时, *FsADH1* 基因表达量与对照组相比

上调近 8 倍, 表明 *FsADH1* 基因受到低温胁迫诱导。这些研究结果为后续研究 *FsADH1* 基因功能以及提高连翘抗寒能力的研究提供一定的参考基础。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] Fukuda T, Yokoyama J, Nakamura T, *et al.* Molecular phylogeny and evolution of alcohol dehydrogenase (Adh) genes in legumes [J]. *BMC Plant Biol*, 2005, 5: 6.
- [2] Li M Y, Zhang J J, Cheng L L, *et al.* Food-derived alcohol dehydrogenase activating peptides: Production, identification, structure-activity relationship, and mechanism of action [J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2025: 12: 1-14.
- [3] Käsbauer C L, Pathuri I P, Hensel G, *et al.* Barley ADH-1 modulates susceptibility to Bgh and is involved in chitin-induced systemic resistance [J]. *Plant Physiol Biochem*, 2018, 123: 281-287.
- [4] 古咸彬, 高憬, 陆玲鸿, 等. 桃 ADH 家族涝害响应成员的筛选及鉴定分析 [J]. *分子植物育种*, 2024: 12: 1-14.
- [5] 李婉雪. 茶树 ADH 基因家族的鉴定和 *CsADH17* 基因表达模式分析 [D]. 贵阳: 贵州大学, 2022: 6.
- [6] 张计育, 王刚, 黄胜男, 等. 乙醇脱氢酶基因家族在植物抵抗非生物胁迫过程中的作用研究进展 [J]. *中国农学通报*, 2015, 31(10): 246-250.
- [7] 陈佳茜, 郭广洋, 谭新杰, 等. 连翘多胺氧化酶基因家族的鉴定及干旱和盐胁迫下的表达分析 [J]. *中草药*, 2024, 55(9): 3077-3084.
- [8] 沙向红. 盐胁迫对玉米幼苗根系乙醇脱氢酶与乙醛脱氢酶表达的影响 [J]. *贵州农业科学*, 2015, 43(3): 47-50.
- [9] Jin Y Z, Zhang C, Liu W, *et al.* The alcohol dehydrogenase gene family in melon (*Cucumis melo* L.): Bioinformatic analysis and expression patterns [J]. *Front Plant Sci*, 2016, 7: 670.
- [10] Zeng W W, Qiao X, Li Q H, *et al.* Genome-wide identification and comparative analysis of the ADH gene family in Chinese white pear (*Pyrus bretschneideri*) and other Rosaceae species [J]. *Genomics*, 2020, 112(5): 3484-3496.
- [11] Tesnière C, Verriès C. Molecular cloning and expression of cDNAs encoding alcohol dehydrogenases from *Vitis vinifera* L. during berry development [J]. *Plant Sci*, 2000, 157(1): 77-88.
- [12] Wang R Q, Du C F, Gu G, *et al.* Genome-wide identification and expression analysis of the ADH gene family under diverse stresses in tobacco (*Nicotiana*

- tabacum* L.) [J]. *BMC Genomics*, 2024, 25(1): 13.
- [13] 李婉雪, 吕立堂, 田时雨, 等. 茶树 CsADH 基因家族的鉴定和表达模式分析 [J]. 分子植物育种, 2022, 20(1): 93-104.
- [14] Su W H, Ren Y J, Wang D J, *et al.* The alcohol dehydrogenase gene family in sugarcane and its involvement in cold stress regulation [J]. *BMC Genomics*, 2020, 21(1): 521.
- [15] Zhu Q D, Han Y D, Yang W T, *et al.* Genome-wide identification and characterization of ADH gene family and the expression under different abiotic stresses in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) [J]. *Front Genet*, 2023, 14: 1186192.
- [16] Guo K D, Zhao J T, Fang S Y, *et al.* The effects of different rootstocks on aroma components, activities and genes expression of aroma-related enzymes in oriental melon fruit [J]. *PeerJ*, 2024, 12: e16704.
- [17] Tan X J, Chen J X, Zhang J Q, *et al.* Gene expression and interaction analysis of *FsWRKY4* and *FsMAPK3* in *Forsythia suspensa* [J]. *Plants*, 2023, 12(19): 3415.
- [18] 李永, 王帆, 王淑晨, 等. 低温胁迫对连翘幼苗叶片生理特性的影响 [J]. 植物科学学报, 2023, 41(1): 102-111.
- [19] 栗谦. 连翘同源四倍体的诱导及其对低温和干旱胁迫的响应 [D]. 郑州: 河南农业大学, 2022.
- [20] 回彦哲, 袁小亚, 牛芳芳, 等. 连翘和美国金钟连翘的抗寒性分析 [J]. 河北农业大学学报, 2013, 36(2): 36-39.
- [21] 徐洋, 赵峥焄, 吴雨桐, 等. 连翘属种质资源抗寒性评价 [J]. 东北林业大学学报, 2023, 51(6): 33-39.
- [22] 高晨, 郑玉成, 周珍, 等. 茶树乙醇脱氢酶基因 CsADH2 的克隆与表达分析 [J]. 福建农业学报, 2018, 33(12): 1257-1263.
- [23] Shi H T, Liu W, Yao Y, *et al.* Alcohol dehydrogenase 1 (ADH1) confers both abiotic and biotic stress resistance in *Arabidopsis* [J]. *Plant Sci*, 2017, 262: 24-31.
- [24] 简昌歌, 王爱勤, 肖冬, 等. 花生乙醇脱氢酶基因家族的鉴定及其表达分析 [J]. 分子植物育种, 2024, 22(25): 23-26.
- [25] 化文平, 刘伟黎, 胡苏莹, 等. 黄芩 ADH 基因家族成员的鉴定及表达分析 [J]. 分子植物育种, 2024, 22(25): 36-42.
- [26] Davik J, Koehler G, From B, *et al.* Dehydrin, alcohol dehydrogenase, and central metabolite levels are associated with cold tolerance in diploid strawberry (*Fragaria* spp.) [J]. *Planta*, 2013, 237(1): 265-277.
- [27] Chen F F, Wang P, An Y, *et al.* Structural insight into the conformational change of alcohol dehydrogenase from *Arabidopsis thaliana* L. during coenzyme binding [J]. *Biochimie*, 2015, 108: 33-39.
- [28] 陈小云, 张仕杰, 屠煦童, 等. ‘南通小方柿’乙醇脱氢酶基因 DkADH1 的克隆及表达分析 [J]. 园艺学报, 2014, 41(10): 2001-2011.
- [29] 辛肇军, 孙晓玲, 陈宗懋. 茶树醇脱氢酶基因的表达特征及番茄遗传转化分析 [J]. 西北植物学报, 2013, 33(5): 864-871.
- [30] Zhao Y X, Chen Y C, Gao M, *et al.* Alcohol dehydrogenases regulated by a MYB44 transcription factor underlie Lauraceae citral biosynthesis [J]. *Plant Physiol*, 2024, 194(3): 1674-1691.
- [31] 刘丽君. 冷胁迫下高山离子芥表观遗传修饰变化和 ADH1 功能研究 [D]. 兰州: 兰州大学, 2017.
- [32] 贾彩红, 金志强, 王绍华, 等. 香蕉乙醇脱氢酶基因的克隆及其逆境胁迫表达 [J]. 中国农学通报, 2014, 30(7): 109-115.
- [33] 李常凤, 徐道青, 韩文兵, 等. 陆地棉 ADH 基因家族的全基因组鉴定及表达分析 [J]. 分子植物育种, 2018, 16(7): 2065-2077.

[责任编辑 时圣明]