

doi:10.11733/j.issn.1007-0435.2026.01.002

引用格式:颜世伟,顾一舟,赵浩含,等.苧麻谷胱甘肽S-转移酶家族全基因组鉴定及其对镉胁迫的响应[J].草地学报,2026,34(1):10-22

YAN Shi-wei, GU Yi-zhou, ZHAO Hao-han, et al. Genome-wide Identification of Glutathione S-Transferases (GSTs) Gene Family and Its Responses to Cadmium Stress in Ramie (*Boehmeria nivea*) [J]. Acta Agrestia Sinica, 2026, 34(1):10-22

苧麻谷胱甘肽S-转移酶家族全基因组鉴定及其对镉胁迫的响应

颜世伟¹, 顾一舟¹, 赵浩含¹, 梁舒月¹, 高 钢¹, 陈 平¹, 朱爱国^{1,2,3}, 陈继康^{1,2,3*}

(1. 中国农业科学院麻类研究所, 湖南长沙 410221; 2. 农业农村部麻类生物学与生物加工重点实验室, 湖南长沙 410221; 3. 岳麓山实验室, 湖南长沙 410128)

摘要:谷胱甘肽S-转移酶(Glutathione S-Transferase, GSTs)在调控作物抵御胁迫环境中发挥着重要作用,但当前缺乏针对苧麻(*Boehmeria nivea*)的系统研究。本文通过生物信息分析,鉴定出43个苧麻GSTs家族成员,预测其大部分定位于细胞质中,归属于植物特有的Tau和Phi类;物种间共线性发现*BnGSTs*基因同双子叶植物间对比单子叶植物存在更多直系同源基因,物种内共线性发现*BnGSTs*成员中有5对旁系同源基因,来源于全基因组或片段复制,且Ka/Ks值均小于1,表明其受到纯化选择;顺式元件预测发现这些*BnGSTs*成员基因上游富含光反应、植物激素调控和胁迫反应元件,结合转录组数据筛选出的9个组织特异性表达候选基因,其在镉胁迫条件下出现显著变化($P<0.05$),且在根茎叶中呈现不同的表达模式,鉴定到*BnGST22*, *BnGST12*等2个基因上调变化显著且相对表达量较高,可作为目的基因进行进一步功能验证。本研究进一步丰富了苧麻抗逆功能基因库,为抗逆资源利用和品种选育提供了理论依据。

关键词:苧麻;谷胱甘肽S-转移酶;镉胁迫;生物信息分析

中图分类号:S813.3

文献标识码:A

文章编号:1007-0435(2026)01-0010-13

Genome-wide Identification of Glutathione S-Transferases (GSTs) Gene Family and Its Responses to Cadmium Stress in Ramie (*Boehmeria nivea*)

YAN Shi-wei¹, GU Yi-zhou¹, ZHAO Hao-han¹, LIANG Shu-yue¹, GAO Gang¹, CHEN Ping¹,
ZHU Ai-guo^{1,2,3}, CHEN Ji-kang^{1,2,3*}

(1. Institute of Bast Fiber Crops, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Changsha, Hunan Province 410221, China; 2. Key laboratory of Genetic Breeding and Microbial Processing for Bast Fiber Crops, MARA, Changsha, Hunan Province 410221, China; 3. Yuelushan Laboratory, Changsha, Hunan Province 410128, China)

Abstract: Glutathione S-transferases (GSTs) play an important role in the regulation of plants against stressful environments, but the systematic studies on Ramie were lack. In this paper, a total of 43 *BnGSTs* gene families were identified by bioinformatic analyses, most of which were predicted to be located in the cytoplasm and belonged to the plant-specific Tau and Phi class. Inter-species covariance analysis revealed that *BnGSTs* genes represented more orthologous genes in dicots than monocots; intra-species covariance analysis revealed that there were five pairs of paralogous genes among *BnGSTs*, all of which were derived from the whole genome or fragmentary gene duplication, and all of them were found that Ka/Ks ratios were less than 1, indicating that they were subjected to purifying selection. Cis-acting element prediction revealed that the upstream of these

收稿日期:2025-03-17;修回日期:2025-06-12

基金项目:湖南省自然科学基金(2024JJ7622);国家麻类产业技术体系(CARS-16);湖南省湖湘青年英才计划(2022RC1013)资助

作者简介:颜世伟(1997-),男,汉族,湖南衡阳人,硕士研究生,主要从事苧麻抗逆遗传育种与利用研究, E-mail: 15273496700@163.com;

*通信作者 Author for correspondence, E-mail: chenjikang@caas.cn

BnGSTs genes was rich in light-responsive, phytohormone-regulated and stress-responsive elements combined with transcriptome expression data, nine tissue-specific candidate genes were screened with significant ($P < 0.05$) changes on expression patterns in roots, stems and leaves under cadmium stress. Two genes, *BnGST22* and *BnGST12*, were identified as having significant up-regulation and high relative expression, which could be used as target genes for further functional verification. This study further enriched the functional gene pool of ramie and provided a theoretical basis for the use of anti-stress resources and variety selection.

Key words: Ramie; Glutathione S-transferases; Cadmium stress; Bioinformatic analysis

谷胱甘肽S-转移酶(Glutathione S-Transferases, GSTs)是催化多种外来物质与还原型谷胱甘肽(GSH)偶联的超家族二聚体蛋白酶。该蛋白酶于1960在动物中被首次发现,并于1970年在植物玉米(*Zea mays*)中发现,随后在其他植物中被不断挖掘出来^[1]。GSH能够清除细胞内有毒害作用的自由基^[2],许多植物中GSTs都被报道参与生物及非生物胁迫的响应,其功能在拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)、玉米、水稻(*Oryza sativa*)等模式及主粮作物中被广泛研究^[3-5]。其基因家族成员鉴定在其他植物也得到了陆续报道,包括88个茶叶(*Camellia sinensis*)CsGSTs^[6],46个铁皮石斛(*Dendrobium officinale*)DoGSTs^[7],73个小米(*Setaria italica*)SiGSTs^[8]等。GSTs主要存在于植物细胞质内,少量分布在叶绿体、细胞核中。该酶在抵御重金属^[9]、盐碱^[10]、干旱^[11]、低温^[12]、病菌感染^[13]等外界生物和非生物胁迫中发挥着重要作用^[14-15],而其表达受到生长素^[16]、脱落酸^[11]、乙烯^[17]等多种植物激素及光信号^[18-19]的调控,这些研究表明GSTs在作物抗逆育种领域具有重要应用价值,针对不同作物GSTs家族基因的鉴定有助于推动对相关遗传基础的解析和育种利用。

苎麻(*Boehmeria nivea*)是荨麻科(Urticaceae)苎麻属(*Boehmeria*)多年生草本宿根植物,是我国特色农作物,被誉为“中国草”。苎麻是典型的多用途工业原料作物,为纤维纺织、动物饲料、传统医药、植物修复等领域提供重要物质支撑^[20-22]。由于人均耕地资源严重不足,我国苎麻主要种植在瘠薄丘岗、低洼渍涝和重金属污染等土地中。为充分适应当前生产条件,挖掘和利用苎麻抗逆基因,培育优质抗逆品种成为提升苎麻生产水平、保障苎麻原料有效供给最有效和最经济的措施。近年来,依托于高通量测序和多组学技术,我国在挖掘干旱、盐、镉等多种胁迫下苎麻相关抗性基因方面取得了重要进展^[23-27],GSTs在植物响应生物及非生物胁迫中发挥重要作用,其基因功能已在多种植物中被验证^[9-15],而目前对苎麻*BnGSTs*仅有少量基因鉴定研究^[28-29],尚未见*BnGSTs*家族的系统研究报道。

本研究利用多个生物信息学工具对*BnGSTs*家族进行全基因组鉴定,对其基因结构、进化关系、保守基序、顺式作用元件等进行了分析,并通过不同植株部位转录组数据结合qRT-PCR验证分析其表达模式,为进一步筛选验证苎麻抗逆有关*BnGSTs*基因功能提供了理论依据。

1 材料与方法

1.1 苎麻GSTs基因家族成员鉴定和理化结构性质分析

从TAIR数据库^[30]中查找到53条拟南芥谷胱甘肽S-转移酶基因家族(*AtGSTs*)成员,通过NCBI数据库获取这53条*AtGSTs*成员CDS序列和蛋白序列,并下载拟南芥(GCF_000001735.4)、工业大麻(*Cannabis sativa*) (GCF_029168945.1)、水稻(GCF_034140825.1)、玉米(GCF_902167145.1)的全基因组及其注释数据文件。苎麻(2n=28)全基因组序列文件来源于本研究团队完成的三代测序染色体水平组装文件^[31]。通过Pfam数据库^[32]获取GSTs基因隐马尔科夫模型序列信息PF00043(GST_C)和PF02798(GST_N)的hmm文件。先将53条*AtGSTs*蛋白序列对比苎麻基因组蛋白序列文件进行blastp^[33],再通过hmmer3.0软件^[34],设置临界E-value为 1×10^{-5} ,利用PF00043和PF02798的hmm文件对苎麻基因组蛋白序列文件进行比对,鉴定出*BnGSTs*家族成员。对两种方法鉴定的结果取交集,再将鉴定的*BnGSTs*家族成员进行CD-search验证其结构域,最终鉴定到43条*BnGSTs*。

通过ExPASy ProtParam^[35]对鉴定出的*BnGSTs*蛋白序列进行理化性质分析,使用CELLO^[36]进行亚细胞定位预测分析,利用SOPMA^[37]对其二级结构进行预测并统计其 α 螺旋、 β 转角等结构。

1.2 染色体定位及共线性分析

通过苎麻基因组注释文件对鉴定出的43条*BnGSTs*基因进行染色体定位。利用TBtools II^[38]

中 Show gene on chromosome 插件进行染色体位置可视化,并根据基因在染色体上的位置将其重命名为 *BnGST1~43*。有 2 个基因(*BnGST42, 43*)被鉴定在未组装到染色体的散在 Contig 上。通过 MCS-canX^[39]对苧麻和拟南芥、工业大麻、水稻、玉米进行两个物种间以及苧麻物种内进行染色体共线性和基因复制模式分析,并利用 TBtools II^[38]进行可视化,随后根据识别出的基因对结果利用 KaKs-Calculator^[40]计算 Ka 非同义替换率/Ks 同义替换率。

1.3 进化树构建及亚家族分类

使用 Mega 11^[41]将 53 条 AtGSTs 和 43 条 BnGSTs 蛋白序列共同构建进化树,通过 Clustal W 先对 96 条序列进行多重比对,利用 TBtools II^[38]的 trimAL wrapper 插件对比对序列进行首尾端及空白剪切。基于剪切好的多重比对序列,使用 NJ 最近邻法建树(设置 bootstrap 为 1000),并利用在线网站 evolview^[42]进行进化树可视化。按上述方法构建一个 43 条 BnGSTs 成员的进化树用于后续分析及可视化,根据进化树距离和 AtGSTs 亚家族对 BnGSTs 成员进行亚家族分类。

1.4 基因结构、保守基序及保守结构域分析

通过 MEME suite^[43]对 43 条 BnGSTs 序列进行保守基序分析,保存得到的 mast 文件;通过 CD-search 得到的保守结构域 hitdata 文件;基因结构基于苧麻基因组及注释文件,通过 TBtoolsII^[38]的 Gene structure view 插件,结合保守基序 mast 文件、保守结构域 hitdata 文件及 BnGSTs 系统发育进化树文件,将所有模块进行可视化。

1.5 顺式作用元件分析

利用苧麻基因组及注释文件提取出 43 条 BnGSTs 基因的上游 2000 bp 序列,通过 PlantCare^[44]对其进行启动子上游顺式作用元件分析。将网站预测结果中的启动子元件按照功能分类筛选,并统计所有 BnGSTs 基因每个元件的功能分类及数目。利用 R 软件绘制启动子顺式作用元件热图,利用 TBtools II^[38]中 Basic BioSequence Viewer 对所有元件进行可视化。

1.6 表达模式分析

转录组数据来源于课题组未发表数据。以苧麻三代基因组为参考对‘中苧 1 号’不同植物部位基

因表达量进行有参转录组测序,从中筛选并统计 43 条 BnGSTs 基因在根、茎、叶不同部位的表达量、计算 Tau 值。Tau 值用于判断基因的组织特异性表达程度,Tau 值越低恒定表达程度越高,Tau 值越高特异性表达程度越高,其计算公式参照^[45]:

$$\tau = \frac{\sum_{i=1}^N (1 - \frac{x_i}{\text{Max}(x)})}{N - 1}$$

其中 N 为表达部位的样本量数目, x_i 是样本中第 i 个表达值,Max(x)是所有样本中的最大表达值。 $0.15 < \text{Tau} < 0.85$ 为大部分基因的组织特异性, $\text{Tau} \leq 0.15$ 可视为偏向于恒定表达的管家基因, $\text{Tau} \geq 0.85$ 偏向于组织特异表达基因^[46]。

1.7 植物材料与胁迫处理

选用‘中苧 1 号’苧麻品种作为镉胁迫处理试验材料。苧麻苗通过嫩梢水培扦插繁育,插条来源于中国农业科学院麻类作物研究所。扦插苗成活后,选取长势一致的种苗移入装有有机质土壤的花盆中,置于温室中(相对湿度 60%,温度 25℃,光暗周期 16 h/8 h,光照强度 15 000 lx)培养三周。待幼苗长至 6~8 片真叶期,选择生长一致的幼苗进行镉胁迫处理。每个处理设 3 次重复。将分析纯 $\text{CdCl}_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$ 通过纯净水稀释配成镉含量为 $40 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的溶液^[28],将等量镉溶液均匀浇灌至盆栽土壤中,对照组盆栽均匀浇灌等量的水,在镉胁迫处理后的 3, 6, 12, 24, 48 h 时记录数据并采集对照和胁迫处理根、茎、叶不同部位样品。

1.8 RNA 提取与 qRT-PCR 验证

使用 SteadyPure 植物 RNA 提取试剂盒(湖南艾科瑞生物科技有限公司)从处理组和对照组的苧麻根茎叶中提取 RNA。使用 SynScript[®] III RT Super-Mix for qPCR(+gDNA Remover)一管式逆转录试剂盒(北京擎科生物科技股份有限公司)和 Artican[™] SYBR qPCR Mix 试剂盒(北京擎科生物科技股份有限公司)进行 cDNA 合成和 qRT-PCR 分析。将苧麻 18s 基因(Accession: EU747115)作为内参基因^[47],候选基因及内参引物设计如下(表 1)。使用 Bio-Rad CFX96 real-time PCR 仪进行 qRT-PCR 分析,用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算相对表达水平。每个样本重复三次。通过 SAS 软件进行相对表达量方差分析,采用 Fisher LSD 法进行均值多重比较($P < 0.05$),小写字母用于显著性水平标识;使用 Origin 2024 和 Adobe Illustrator 2025 进行图片制作和修改。

表 1 苧麻 GSTs 基因 qRT-PCR 引物序列
Table 1 Primer sequences of BnGSTs for qRT-PCR

基因名 Gene name	正向引物 序列(5'-3') Forward primer sequences(5'-3')	反向引物序列(5'-3') Reverse prime sequences(5'-3')
18s(<i>Actin</i>)	TGACGGAGAATTAGGGTTC	CCGTGTCAGGATTGGGTAATTT
<i>BnGST12</i>	CGAATTAGTCCCCGTCCCAG	CTTGTCGTACGAGGTCGGTG
<i>BnGST17</i>	AGTTAGCCCTGAAGCCGATG	CATCAAGGACCTTCGCCAGT
<i>BnGST21</i>	GTCAACTTGGAATGCGCGTTT	CTCGGTATCTTGCGATGGCT
<i>BnGST22</i>	TGAAGATCCCCAACACGCGAG	CTTGAAGCCGCTAAACACCG
<i>BnGST23</i>	CTGCGGAGAATCTCAGGTGG	GATCATGTTTGCGAGCCAGC
<i>BnGST26</i>	AGCGATTACTACTGGCTCG	CCGCAGGCACCTGTTTGAAG
<i>BnGST29</i>	AGAAGTCGGGGAGATGAAGC	TGCAGATTCCGTGGTTGGAA
<i>BnGST38</i>	AGGGAAAGAAGCTGTTCGGC	GTAAGGCTCACCACGTTTGC
<i>BnGST39</i>	TTTGCCATCGGTGTTAAGCG	CCGAACAGCTTCTTCCCCTT

2 结果与分析

2.1 基因家族成员的鉴定及理化结构分析

比对拟南芥已知的 53 条 GSTs, 在苧麻全基因组鉴定并验证得到 43 条 BnGSTs。对其蛋白序列进行理化结构预测发现(表 2), 43 条 BnGSTs 的氨基酸数目范围为 191~1359 AA, 分子量范围为 21 586.96~158 367.97 Da, 理论等电点范围为 5.18~8.37, 不稳定指数范围为 26.88~52.87, 脂肪族指数范围为 78.02~107.69。其总平均亲水性范围为 -0.389~0.027, 其中仅有 BnGST19 的总平均亲水性大于 0, 表现疏水性, 其余 42 个成员均表现为亲水性。亚细胞定位预测结果发现, 43 条 BnGSTs 大多数预测结果都位于细胞质(38 个), 只有 5 个蛋白被预测定位在细胞间质。二级结构预测结果表明, 43 条蛋白序列二级结构中, α -螺旋的占比最高, 平均个数为 153 个, 占比 52.64%; 其次是无规卷曲平均个数为 93 个, 占比 30.97%; 最后两个是延伸链(33 个, 11.72%) 和 β 转角(13 个, 4.67%)。有 32 个成员蛋白二级结构的 α 螺旋占比超过了 50%, 说明这些蛋白二级结构具有很好的稳定性。

2.2 BnGSTs 染色体位置及共线性分析

通过基因组注释文件, 将 43 条 BnGSTs 进行染色体定位和可视化分析发现: 除 1 号染色体外, 其他 13 条染色体上都存在 BnGSTs(图 1)。有 2 条基因(*BnGST42, 43*)没有被注释到染色体上, 这可能与基因组文件组装质量有关。一半以上的 BnGSTs 被定位在 3 号(8 条)、6 号(7 条)和 13 号(7 条)染色体上。基于这些基因在染色体上的位置分布, 将其重命名为 *BnGST1~43*。

物种间染色体共线性分析发现, BnGSTs 基因

同双子叶植物存在更多的共线性关系(图 2)。BnGSTs 基因同拟南芥和工业大麻之间都存在 10 对直系同源基因, 而与单子叶植物的玉米和水稻的共线性关系较少, 分别存在 3 对、1 对直系同源基因。BnGSTs 基因物种内共线性分析共发现了 5 对旁系同源基因(图 3)。进一步对其复制模式、非同义替换和同义替换率进行分析发现, BnGSTs 有关的 5 对旁系同源基因都是全基因组或者基因片段复制(WGD or Segmental duplication)事件产生的, 其 Ka/Ks 值都小于 1, 表明这些基因在进化过程中受到了纯化选择(表 3)。

2.3 苧麻和拟南芥 GSTs 系统发育分析

对拟南芥和苧麻 GSTs 的蛋白质序列进行系统发育分析(图 4)。根据遗传距离, 结合 AtGSTs 亚家族分类, 将 BnGSTs 分为了 4 个亚家族, 其中 Tau 亚家族成员 29 个, Phi 亚家族成员 9 个, TCHQD 亚家族成员 4 个, Zeta 亚家族成员 1 个。

2.4 保守基序及基因结构分析

BnGSTs 蛋白序列保守基序分析进一步验证了 BnGSTs 成员的亚家族分类(图 5a)。4 类亚家族成员都拥有相似的保守基序, Tau 亚家族成员均有 Motif 1, 2, 4, Phi 亚家族成员均有 Motif 12, 13, 15, 16, TCHQD 亚家族成员均有 Motif 4, 9, 14。

对 BnGSTs 的保守结构域分布、编码序列以及非翻译区分布进行可视化发现, 所有成员都至少有一个 GST_N 或 GST_C 保守结构域(图 5b)。在 *BnGST11, BnGST4, BnGST5, BnGST41* 中发现存在多对 GST_N 和 GST_C 结构域, 且其保守基序也出现了模块重复的情况。进一步对基因结构进行统计发现(图 5c), 43 条 BnGSTs 编码序列(CDS)数

表 2 苕麻 GSTs 家族成员理化性质、二级结构及亚细胞定位预测

Table 2 Physicochemical property, secondary structure and subcellular localization prediction of BnGSTs

基因名 Gene name	氨基酸数目 Protein length/AA	分子量 Molecular Weight/Da	理论等电点 Theoretical pI	不稳定指数 Instability index	脂肪族指数 Aliphatic index	总平均亲水范围 Grand average of hydropathicity	α 螺旋 Alpha helix	β 转角 Beta turn	无规卷曲 Random coil	延伸链 Extended strand	亚细胞定位 Subcellular localization
<i>BnGST1</i>	223	25 849.85	5.73	32.83	86.10	-0.313	119	8	72	24	细胞质
<i>BnGST2</i>	420	47 682.91	5.79	35.75	78.02	-0.389	169	17	176	58	周质
<i>BnGST3</i>	221	26 095.17	5.89	39.34	86.88	-0.311	123	12	60	26	细胞质
<i>BnGST4</i>	607	71 025.59	5.38	43.41	91.50	-0.384	360	18	181	48	细胞质
<i>BnGST5</i>	415	48 193.95	6.81	48.12	95.13	-0.319	236	16	121	42	细胞质
<i>BnGST6</i>	220	25 249.03	5.21	41.19	82.86	-0.375	116	12	65	27	细胞质
<i>BnGST7</i>	221	25 561.38	5.33	39.07	84.21	-0.387	122	14	58	27	细胞质
<i>BnGST8</i>	219	25 429.35	5.61	38.61	84.06	-0.378	121	11	62	25	细胞质
<i>BnGST9</i>	218	25 540.51	5.60	34.84	82.20	-0.366	116	11	64	27	细胞质
<i>BnGST10</i>	191	21 586.96	5.66	29.05	98.59	-0.048	97	11	64	19	细胞质
<i>BnGST11</i>	1359	158 367.97	5.51	46.68	95.81	-0.287	790	52	413	104	细胞质
<i>BnGST12</i>	196	22 095.38	5.67	29.64	87.09	-0.128	100	9	61	26	细胞质
<i>BnGST13</i>	218	24 877.60	5.98	31.77	91.74	-0.149	106	12	73	27	细胞质
<i>BnGST14</i>	213	23 858.34	6.31	38.96	91.22	-0.234	97	12	75	29	细胞质
<i>BnGST15</i>	225	25 486.96	5.78	34.27	88.84	-0.352	113	11	74	27	细胞质
<i>BnGST16</i>	213	23 767.55	6.45	46.29	83.47	-0.162	102	14	69	28	周质
<i>BnGST17</i>	216	24 559.22	6.66	38.76	84.54	-0.270	104	10	72	30	细胞质
<i>BnGST18</i>	221	25 201.17	5.21	36.04	94.84	-0.097	117	13	65	26	细胞质
<i>BnGST19</i>	234	25 874.76	5.55	26.88	98.80	0.027	131	9	69	25	细胞质
<i>BnGST20</i>	222	25 355.29	5.40	28.60	104.59	-0.206	123	12	61	26	细胞质
<i>BnGST21</i>	222	25 331.18	5.71	35.27	96.71	-0.329	126	11	59	26	细胞质
<i>BnGST22</i>	221	25 400.56	5.57	41.76	107.69	-0.191	121	13	59	28	细胞质
<i>BnGST23</i>	237	27 293.70	6.87	41.61	97.09	-0.355	127	10	74	26	细胞质
<i>BnGST24</i>	225	25 997.76	5.77	52.87	81.91	-0.298	125	8	64	28	细胞质
<i>BnGST25</i>	327	38 144.21	5.98	47.78	97.80	-0.237	187	17	81	42	细胞质
<i>BnGST26</i>	230	26 558.80	6.46	40.38	90.70	-0.267	120	13	68	29	细胞质
<i>BnGST27</i>	220	24 771.14	6.43	42.77	81.18	-0.326	107	12	74	27	周质
<i>BnGST28</i>	253	29 487.05	5.37	46.29	98.66	-0.245	132	12	78	31	细胞质
<i>BnGST29</i>	225	25 742.95	5.31	37.29	95.33	-0.128	131	10	60	24	细胞质
<i>BnGST30</i>	211	24 095.91	5.29	37.64	95.59	-0.206	118	8	58	27	细胞质
<i>BnGST31</i>	221	25 867.91	5.55	39.69	93.94	-0.311	127	13	56	25	细胞质
<i>BnGST32</i>	220	25 462.49	5.78	40.74	93.95	-0.262	129	13	54	24	细胞质
<i>BnGST33</i>	225	25 744.72	5.33	37.59	87.07	-0.192	130	11	59	25	细胞质
<i>BnGST34</i>	267	31 679.63	8.37	31.23	93.82	-0.305	156	9	78	24	细胞质
<i>BnGST35</i>	363	40 933.23	5.76	35.23	82.53	-0.358	140	9	173	41	周质
<i>BnGST36</i>	658	74 741.73	5.36	40.03	92.49	-0.202	246	23	284	105	细胞质
<i>BnGST37</i>	222	25 447.26	5.18	27.53	100.63	-0.275	127	7	62	26	细胞质
<i>BnGST38</i>	222	25 331.18	5.71	35.27	96.71	-0.329	126	11	59	26	细胞质
<i>BnGST39</i>	221	25 439.60	5.90	40.10	107.69	-0.199	118	14	61	28	细胞质
<i>BnGST40</i>	221	25 316.45	6.02	38.93	104.62	-0.246	125	12	58	26	细胞质
<i>BnGST41</i>	430	49 119.68	5.78	48.35	106.84	-0.159	197	13	179	41	细胞质
<i>BnGST42</i>	426	48 356.75	5.68	35.93	80.85	-0.345	194	7	179	46	细胞质
<i>BnGST43</i>	220	24 756.13	6.90	42.05	81.18	-0.326	107	9	77	27	周质

目为 2~19 个;非编码区域分布上,15 个成员有 2 个 UTR,13 个成员有 1 个 UTR,9 个成员没有 UTR,3 个成员有 3 个 UTR。其中 *BnGST4*,*BnGST41* 和

BnGST11 基因长度相较于其他基因更长:*BnGST41* 有 19 个 CDS,*BnGST11* 有 14 个 CDS,*BnGST4* 有 7 个 CDS。

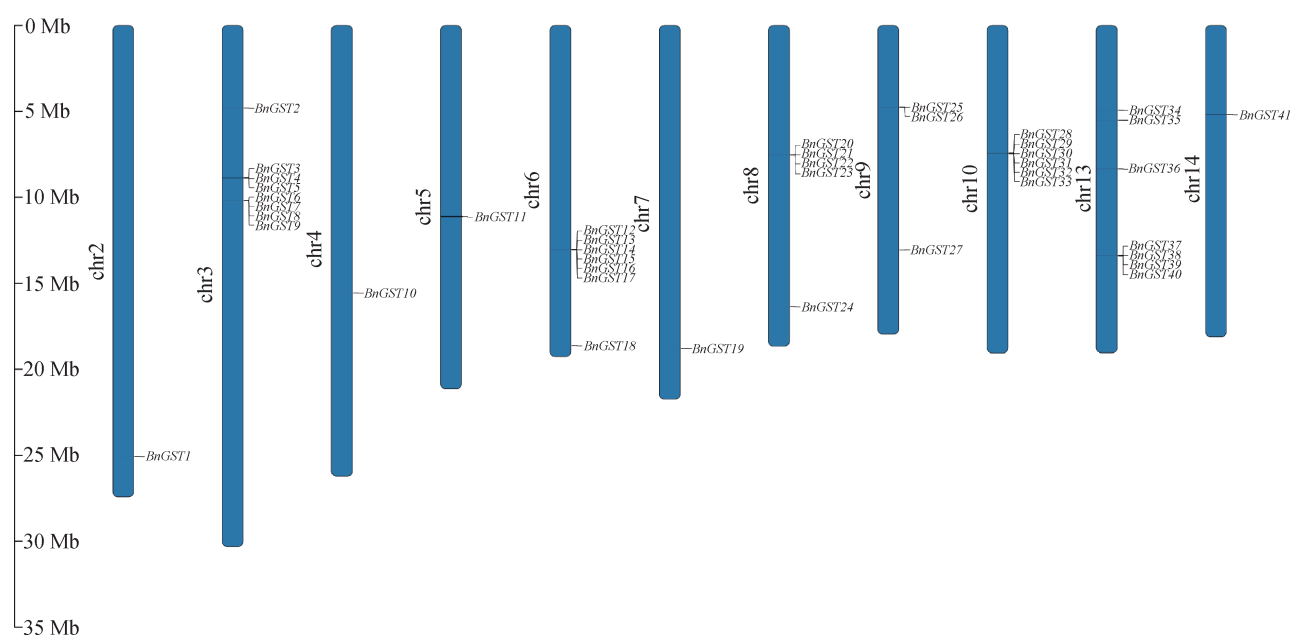


图 1 苧麻 GSTs 家族成员染色体定位
Fig. 1 Chromosome distribution of *BnGSTs*

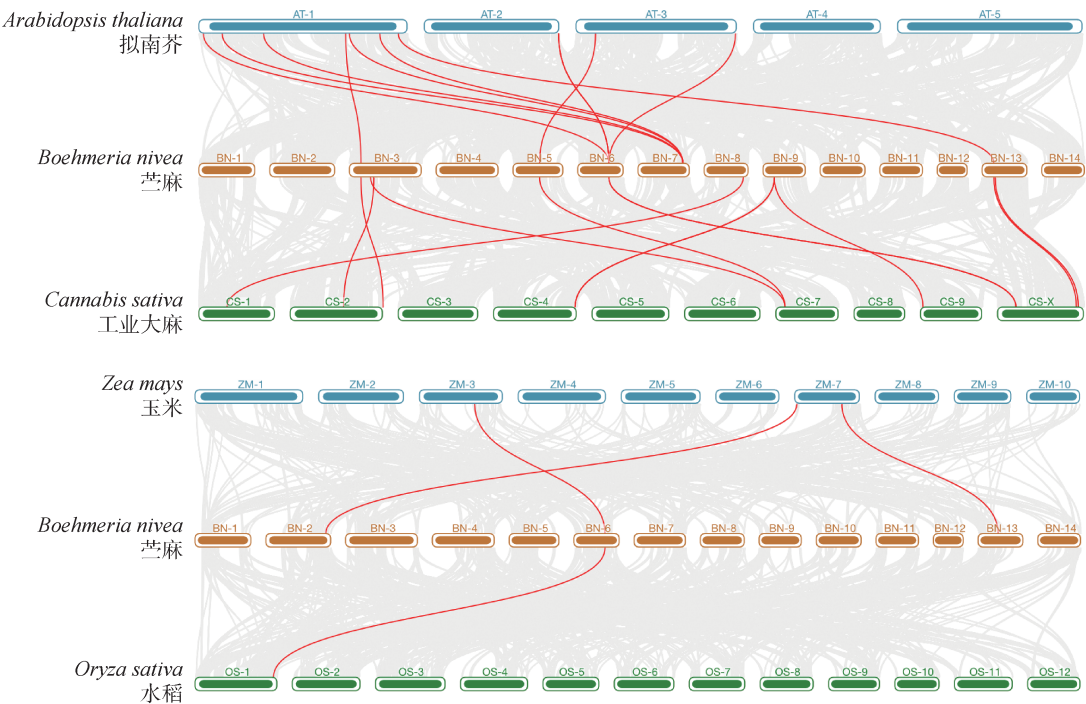


图 2 苧麻与其他物种间共线性分析

Fig. 2 The collinearity analysis between ramie and other species

2.5 启动子上游顺式作用元件分析

提取 *BnGSTs* 上游 2000 bp 序列,进行了启动子上游顺式作用元件分析(图 6)。研究发现,在这 43 个 *BnGSTs* 中,光反应顺式作用元件的数目最多(44.6%),其次是植物激素调控元件(33.3%),胁迫反应元件(16.7%)和生长发育相关元件(5.4%)。在胁迫反应元件中,除 *BnGST11* 外其他

42 个基因上游都存在胁迫反应顺式作用元件,表明这些基因都可能受胁迫诱导表达。其中 *BnGST25*, *BnGST19*, *BnGST41*, *BnGST34* 上游存在大量(>10)胁迫反应有关元件,涵盖低温诱导、低氧环境、干旱诱导以及压力防御等元件。在植物激素调控元件中,除了 *BnGST28* 外所有基因上游均有激素调控有关顺式元件,主要调控激素包括茉莉酸甲酯

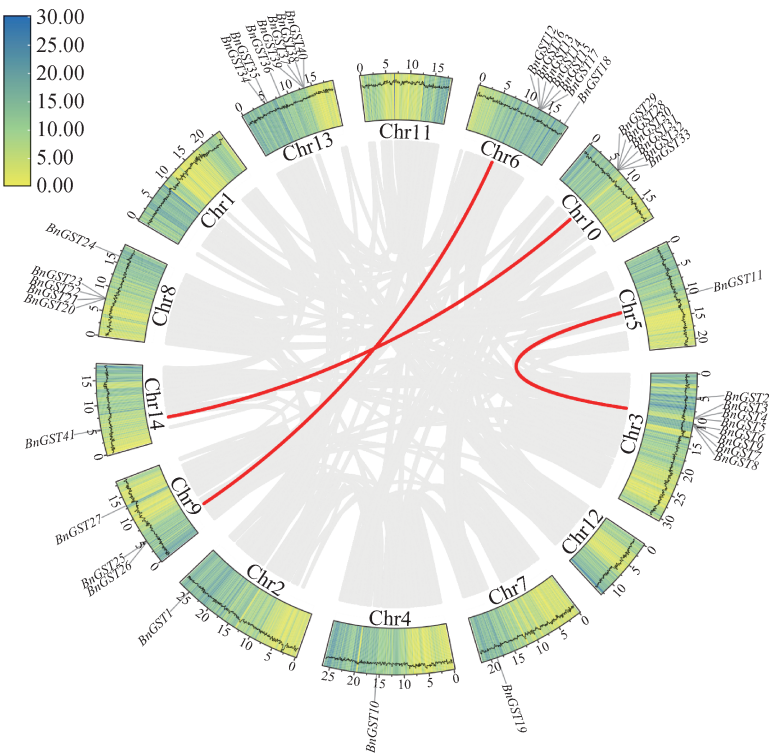


图 3 苎麻物种内共线性分析

Fig. 3 The collinearity analysis within ramie

注:染色体上的颜色表示基因密度,从黄到蓝密度逐渐增大,染色体上黑色的线条表示该位置的GC含量
Note: The colour on the chromosomes indicates the gene density, which increases gradually from yellow to blue, and the black lines on the chromosomes indicate the GC content in position

表 3 苎麻物种内同源基因对

Table 3 Intra-species homologous gene pairs of ramie

序列 1 Sequence 1	序列 2 Sequence 2	基因复制类型 Gene duplication mode	非同义替换率 Ka	同义替换率 Ks	Ka/Ks 比值 Ka/Ks ratio
<i>BnGST43</i>	<i>BnGST27</i>	WGD or Segmental	0.0040	0.0197	0.2008
<i>BnGST42</i>	<i>BnGST35</i>	WGD or Segmental	0.0024	0.0168	0.1402
<i>Maker00057635</i>	<i>BnGST41</i>	WGD or Segmental	0.0197	0.0536	0.3684
<i>BnGST3</i>	<i>BnGST11</i>	WGD or Segmental	0.0209	0.0528	0.3963
<i>Maker00083528</i>	<i>BnGST25</i>	WGD or Segmental	0.3717	2.1563	0.1724

(MeJA)、脱落酸(abscisic acid)、生长素(auxin)、水杨酸(salicylic acid)、赤霉素(gibberellin)等。而在光反应元件方面,每个 *BnGSTs* 基因上游都富含光反应元件。综合这些顺式元件的预测结果可以推测, *BnGSTs* 可能通过胁迫环境被诱导表达,同时又受到光信号和植物激素的表达调控。统计启动子上游 2000 bp 预测结果中的转录因子结合位点数目发现有 34 个 *BnGSTs* 家族成员基因上游存在 MYB 结合位点,且这些位点被描述为与干旱诱导、光反应和黄酮类生物合成有关。

2.6 基因表达量及组织特异性分析

通过对‘中苎 1 号’品种不同植株部位的转录组基因表达量情况进行筛选,得到 *BnGSTs* 的表达量情况(图 7)。计算基因组织表达特异性 Tau 值,发现有 12 条基因的组织表达特异性超过 0.85,而有一个基因(*BnGST1*)的 Tau 值低于 0.15。这 12 条 *BnGSTs* 中分别有 6 个在根中、5 个在叶片和 1 个在茎中存在组织特异性表达。结合其上游顺式元件预测结果,筛选出启动子上游存在胁迫元件以及 MYB 转录因子结合位点的 9 个基因,作为候选基因进行下一步验证。

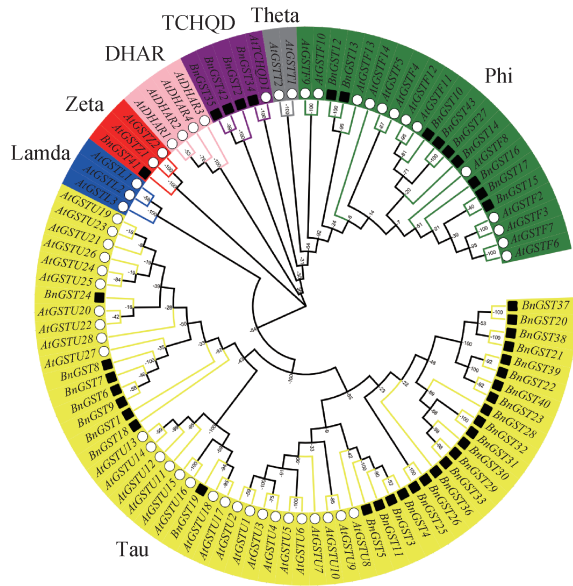


图 4 苎麻和拟南芥 96 条 GSTs 系统发育分析

Fig. 4 Phylogenetic tree constructed with 96 GSTs

sequences from *Arabidopsis thaliana* and *Boehmeria nivea*

注: 黑色方框代表苎麻 BnGSTs, 空心圆代表拟南芥 AtGSTs

Note: Black boxes represent members of the GSTs gene family in *Boehmeria nivea*, and hollow circles represent *Arabidopsis thaliana*

2.7 镉胁迫下苎麻 GSTs 基因表达模式分析

为了进一步验证候选基因是否参与苎麻镉胁迫响应, 研究开展了镉胁迫试验, 对不同处理时间以及不同部位的候选基因表达量进行了 qRT-PCR 验证分析(图 8), 前述 9 个候选基因大部分在镉胁迫后存在时空异质性表达, 但有少量基因整体相对表达量较低 (*BnGST39* 和 *BnGST17*)。从整体变化趋势来看, 镉胁迫后候选基因在根、茎、叶中呈现不同变化规律: 叶片中大部分候选基因在前中期表达量显著升高, 呈现先增后降的趋势, 但在根和茎中前期变化不显著, 直到后期才显著升高。其中, *BnGST22*, *BnGST12* 在镉胁迫处理后基因相对表达量显著大幅增加 ($P < 0.05$), 且出现超过 10 的情况, 可作为目的基因进一步开展功能验证。此外, 也有部分基因在胁迫后所有时期表达被抑制。镉处理后 *BnGST29* 根部相对表达量与对照组相比, 一直显著降低, 但该基因在叶片中表达出现后期升高趋势, 与其他候选基因完全不同, 其镉胁迫响应模式同其他候选基因存在较大差异。

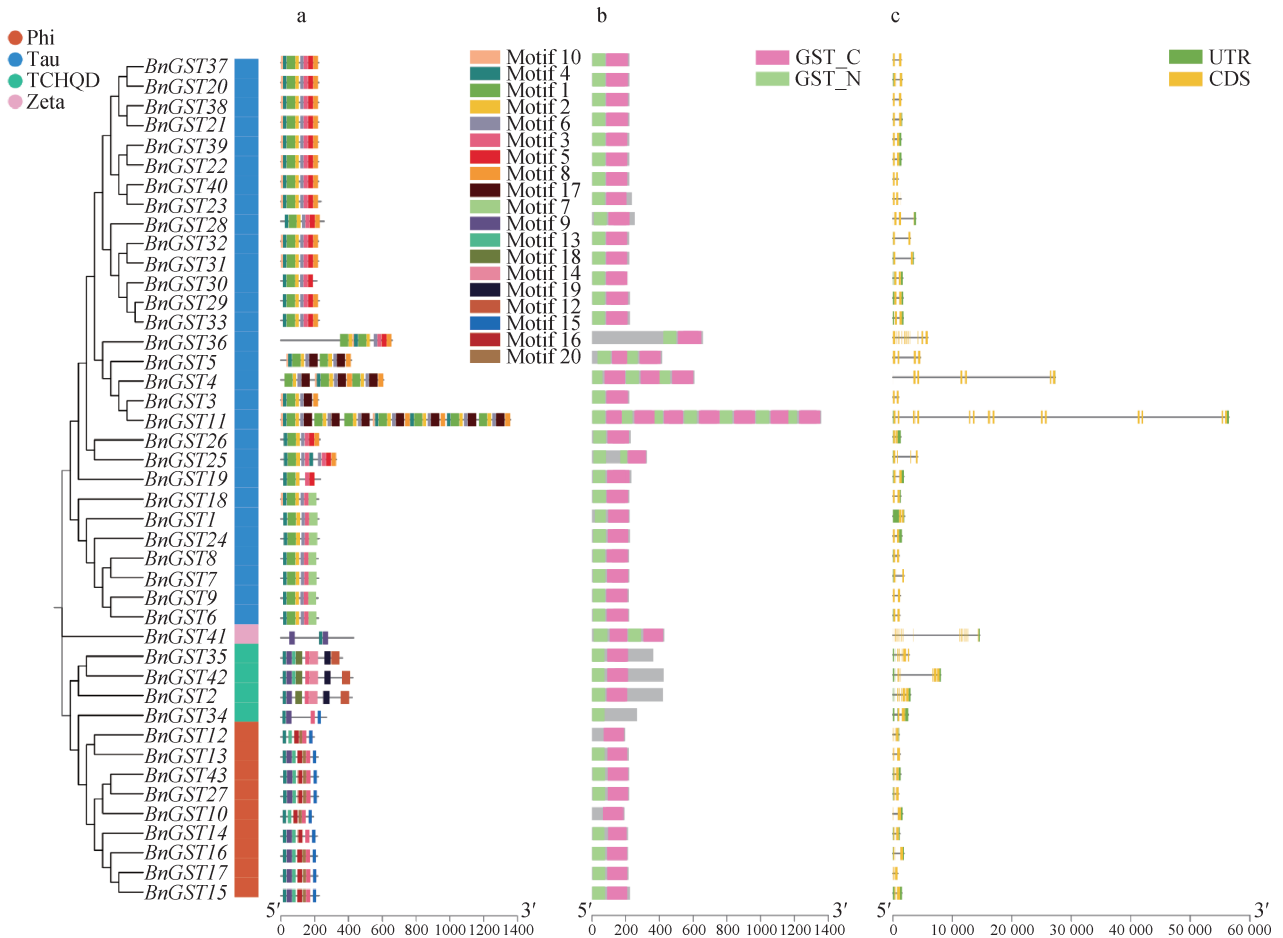


图 5 苎麻 GSTs 基因家族成员蛋白保守基序, 保守结构域和基因结构分析

Fig. 5 Protein conserved motif, domain and gene structure of *BnGSTs* gene family members

注: a 为蛋白质保守基序结构图, b 为保守结构域结构图, c 为基因结构图

Note: a denotes the protein conserved motif structure, b denotes the conserved structural domain structure, and c denotes the gene structure

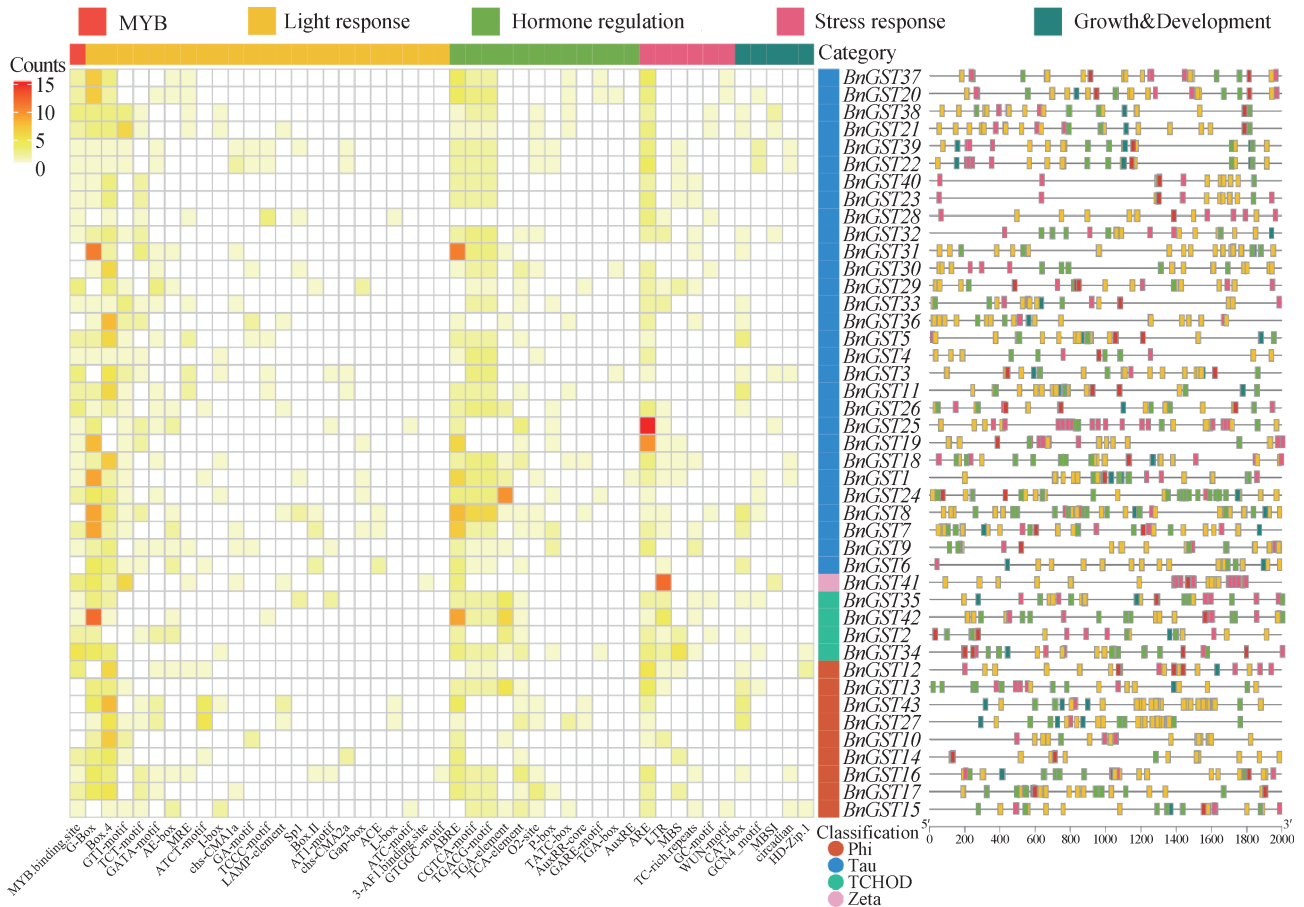


图 6 苎麻 GSTs 基因家族成员顺式作用元件预测结果

Fig. 6 Predicted Cis-acting elements of *BnGSTs* gene family members

3 讨论

3.1 苎麻 GSTs 基因的鉴定和分类

谷胱甘肽 S-转移酶(GSTs)由一个古老的大基因家族编码,是广泛存在于多种生物中的多功能酶^[48]。GSTs 主要分布于细胞质、微粒体和线粒体中,其中大部分位于细胞质中。根据起源、催化氨基酸残基、序列相似性和底物特异性,GSTs 被分为不同类别^[49-51]。在植物中发现的类别主要包括 DHAR, gamma, Lamda, Phi, Tau, TCHQD, Theta 和 Zeta 等 8 类,其中 Phi 和 Tau 为植物所特有且在植物中广泛存在^[52]。前期有部分研究在苎麻中发现了 GSTs 基因的存在,并初步发现与镉胁迫应答有关^[28-29],但是对于苎麻 GSTs 的系统鉴定仍属空白。本研究通过 53 个 AtGSTs 蛋白序列比对,在苎麻全基因组鉴定到 43 个 BnGSTs 成员。根据拟南芥的亚家族划分情况,BnGSTs 被分为 Tau, Phi, TCHQD 和 Zeta 四类,该分类通过保守基序与保守结构域分析得到了进一步验证。本研究发现

BnGSTs 大部分成员都属于 Tau 和 Phi 亚家族,且其亚细胞定位预测结果大部分位于细胞质。这些结果与其他植物中 GSTs 的鉴定结果相似^[6-8],弥补了苎麻 GSTs 缺乏系统鉴定研究的短板。

生物信息学分析发现,*BnGST11*,*BnGST4* 等几个成员基因长度远远超过了其他成员,且在保守结构域和保守基序上都存在着多个重复模块的现象(图 5)。这种现象说明在序列和结构上存在着片段重复的多个基因可能被标注成一个基因。由于缺乏针对性的研究,本文未能对相关基因进行校正,有待更高质量的全基因组数据为相关研究提供支撑。

3.2 苎麻 GSTs 基因响应镉胁迫特征分析

植物 GSTs 中的 Tau 和 Phi 亚家族成员被发现与干旱、盐、重金属、除草剂以及病原体侵染等多种胁迫环境反应有关^[53-55]。水稻中的研究已证实 OsGSTs 通过保持水稻中 GSH 和氧化还原的平衡来控制水稻镉的积累和抗性^[55]。本研究首次发现,

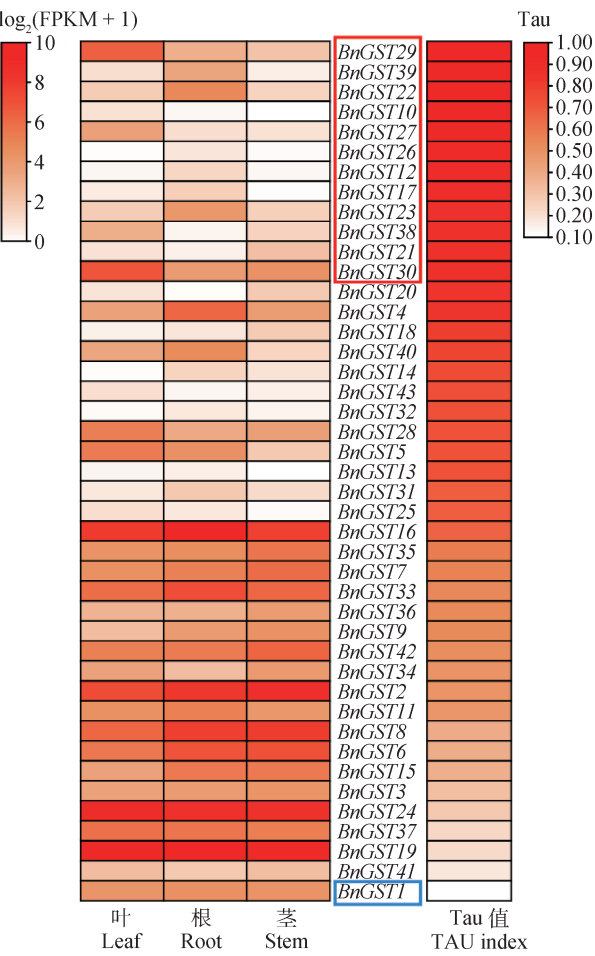


图 7 苎麻 GSTs 家族成员在不同植株部位的表达量

Fig. 7 Expression profiling of *BnGSTs* gene family members in different tissues

几乎所有 *BnGSTs* 成员上游都存在胁迫反应元件, 从而推测 *BnGSTs* 广泛参与逆境应答。进一步分析发现, 有 34 个 *BnGSTs* 成员基因上游都有转录调控因子 MYB 的结合位点, 而 MYB 转录调控因子在苎

麻中被发现与调控镉胁迫的植物应答机制有关^[56-57]。因此, 进一步推测 *BnGSTs* 是苎麻镉胁迫应答的重要调控因子。为验证这一猜想, 研究通过组织特异性分析, 从 43 条 *BnGSTs* 基因中筛选出了 9 个成员, 不仅具有高组织特异性特征, 且上游存在胁迫反应元件及 MYB 转录因子结合位点。qRT-PCR 结果表明, 这 9 个候选基因显著响应镉胁迫。这与已有报道的 *BnGSTU1* 基因^[28] 在镉胁迫下表达量升高, 且随镉浓度升高显著上升的整体趋势相似, 但具体到单个基因, 在根茎叶等不同组织中均表现出不同表达模式, 进一步研究需要关注这些不同的特征。 *BnGST22*, *BnGST12* 两个基因相在镉胁迫下显著上调表达, 且相对表达量高于其他 7 个成员, 可作为下一步研究的重点候选基因。本研究为深入理解苎麻耐镉机制提供了新的材料和依据。

4 结论

本研究从苎麻中鉴定到 43 个 *BnGSTs* 成员, 分布于除 1 号染色体外的其他 13 条染色体上。 *BnGSTs* 分属 Tau, Phi, TCHQD 和 Zeta 等 4 个类群, 大部分预测定位在细胞质, 且属于植物特有的 Tau 和 Phi 类。 *BnGST12*, *17*, *21*, *22*, *23*, *26*, *29*, *38*, *39* 等 9 个高组织特异性的 *BnGSTs* 同时存在胁迫反应元件和 MYB 结合位点, 在镉胁迫下显著差异表达。其中 *BnGST22*, *BnGST12* 两个基因显著上调表达, 且相对表达量最高, 可作为进一步研究的重点候选基因, 进一步丰富了苎麻抗逆功能基因库, 为抗逆资源利用和品种选育提供了理论依据。

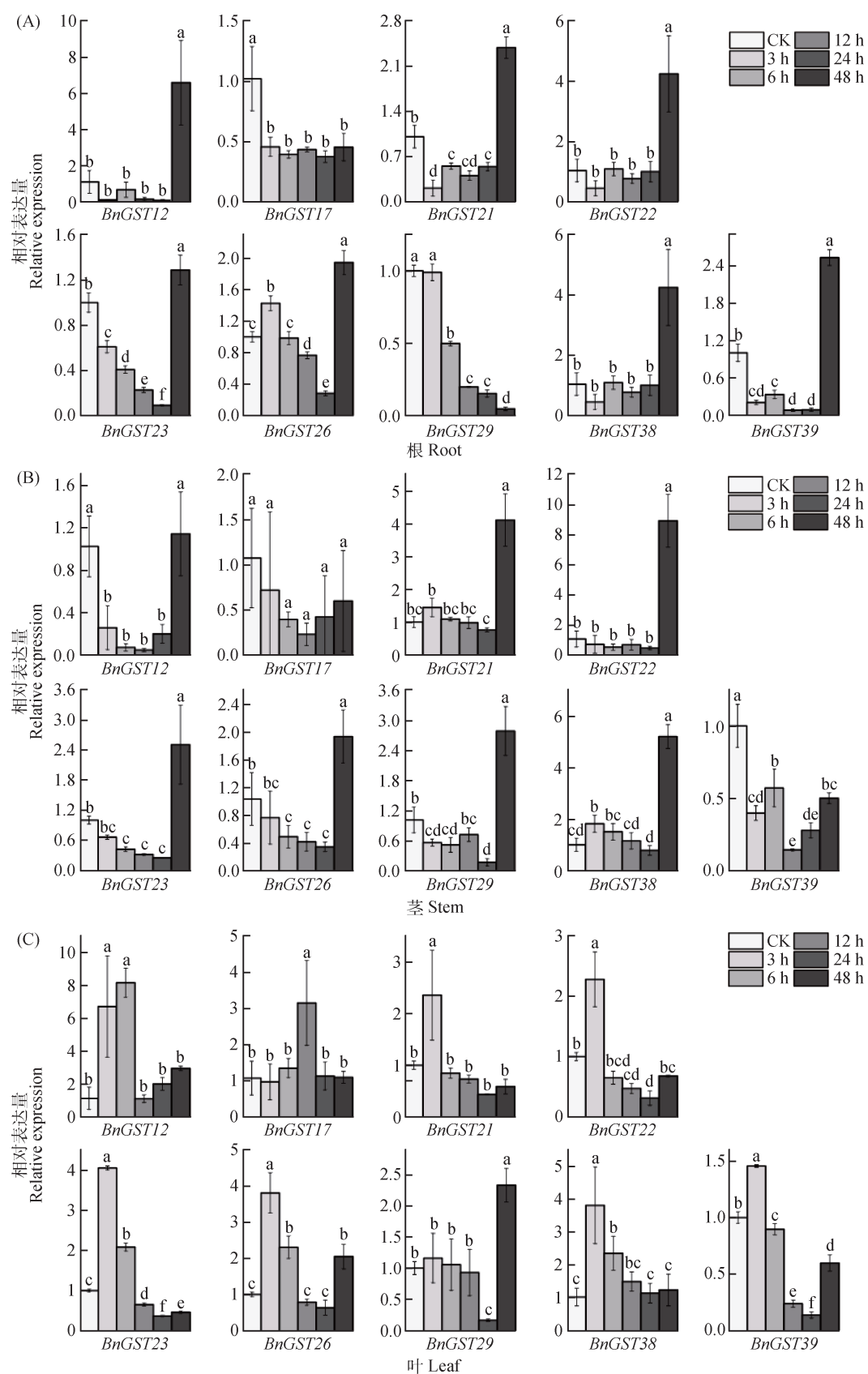


图 8 苘麻 GSTs 候选基因在镉胁迫下的表达模式

Fig. 8 Expression pattern of candidate *BnGSTs* genes under cadmium stress

参考文献

- [1] DIXON D, LAPTHORN A, EDWARDS R. Plant glutathione transferases[J]. *Genome Biology*, 2002, 3(3): reviews 3004.
- [2] 闫慧芳, 毛培胜, 夏方山. 植物抗氧化剂谷胱甘肽研究进展[J]. *草地学报*, 2013, 21(3): 428-434
YAN H F, MAO P S, XIA F S. Research progress in plant antioxidant glutathione (review) [J]. *Acta Agrestia Sinica*, 2013, 21(3): 428-434
- [3] NUTRICATIE, MICELI A, BLANDO F, et al. Characterization of two *Arabidopsis thaliana* glutathione S-transferases[J]. *Plant Cell Reports*, 2006, 25: 997-1005
- [4] MCGONIGLE B, KEELER S J, LAU S C, et al. A genomics approach to the comprehensive analysis of the glutathione S-transferase gene family in soybean and maize[J]. *Plant Physiology*, 2000, 124: 1105-1120
- [5] SORANZO N, SARI GORLA M, MIZZI L, et al. Organisation and structural evolution of the rice glutathione S-transferase gene family[J]. *Molecular Genetics and Genomics*, 2004, 271: 511-521
- [6] CAO Q, LV W, JIANG H, et al. Genome-wide identification of glutathione S-transferase gene family members in tea plant (*Camellia sinensis*) and their response to environmental stress[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2022, 205: 749-760
- [7] JIANG W, WANG T, ZHANG M, et al. Genome-wide identification of glutathione S-transferase family from *Dendrobium officinale* and the functional characterization of *DoGST5* in cadmium tolerance [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2024, 25: 8439
- [8] WANG L, FU H, ZHAO J, et al. Genome-wide identification and expression profiling of glutathione S-transferase gene family in foxtail millet (*Setaria italica* L.) [J]. *Plants*, 2023, 12: 1138
- [9] NIANIOU-OBEIDAT I, MADEIS P, KISSOUDIS C, et al. Plant glutathione transferase-mediated stress tolerance: functions and biotechnological applications [J]. *Plant Cell Reports*, 2017, 36: 791 - 805
- [10] GILL S S, TUTEJA N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2010, 48: 909-930
- [11] KUMAR S, ASIF M H, CHAKRABARTY D, et al. Expression of a rice Lambda class of glutathione S-transferase, *OsGSTL2*, in *Arabidopsis* provides tolerance to heavy metal and other abiotic stresses[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2013, 248-249: 228-237
- [12] SUN Y, TIAN Z, ZUO D, et al. *GhUBC10-2* mediates *GhGSTU17* degradation to regulate salt tolerance in cotton (*Gossypium hirsutum*) [J]. *Plant, Cell & Environment*, 2024, 47: 1606-1624
- [13] CHEN J, JIANG H, HSIEH E, et al. Drought and salt stress tolerance of an *Arabidopsis* glutathione s-transferase U17 knockout mutant are attributed to the combined effect of glutathione and abscisic acid[J]. *Plant Physiology*, 2012, 158: 340-351
- [14] TAKESAWA T, ITO M, KANZAKI H, et al. Over-expression of ζ glutathione S-transferase in transgenic rice enhances germination and growth at low temperature [J]. *Molecular Breeding*, 2002, 9: 93-101
- [15] HAN Q, CHEN R, YANG Y, et al. A glutathione S-transferase gene from *Lilium regale* Wilson confers transgenic tobacco resistance to *Fusarium oxysporum* [J]. *Scientia Horticulturae*, 2016, 198: 370-378
- [16] GEORGE S, VENKATARAMAN G, PARIDA A. A chloroplast-localized and auxin-induced glutathione S-transferase from phreatophyte *Prosopis juliflora* confer drought tolerance on tobacco [J]. *Journal of Plant Physiology*, 2010, 167: 311-318
- [17] SECKIN DINLER B, CETINKAYA H, SECGIN Z. The regulation of glutathione s-transferases by gibberellic acid application in salt treated maize leaves[J]. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 2023, 29: 69-85
- [18] LOYALL L, UCHIDA K, BRAUN S, et al. Glutathione and a UV light-induced glutathione S-transferase are involved in signaling to chalcone synthase in cell cultures[J]. *The Plant Cell*, 2000, 12: 1939-1950
- [19] JIANG H, LIU M, CHEN I, et al. A glutathione S-transferase regulated by light and hormones participates in the modulation of *Arabidopsis* seedling development [J]. *Plant Physiology*, 2010, 154: 1646-1658
- [20] REHMAN M, GANG D, LIU Q, et al. Ramie, a multipurpose crop: potential applications, constraints and improvement strategies[J]. *Industrial Crops and Products*, 2019, 137: 300-307
- [21] WU Z, TANG Q, WANG Y, et al. Ramie (*Boehmeria nivea*) as phytoremediation crop for heavy metal-contaminated paddy soil in southern China: variety comparison, Cd accumulation, and assessment of fiber recycling [J]. *Journal of Natural Fibers*, 2021, 19: 11078-11091
- [22] 张晓洋, 何思, 瞿宏悦, 等. 苎麻 CCCH 基因家族生物信息学及表达谱分析[J]. *草地学报*, 2024, 32(3): 703-713
ZHANG X Y, HE S, QU H Y, et al. Bioinformatic and Expression Profiling Analysis of the CCCH Gene Family in Ramie[J]. *Acta Agrestia Sinica*, 2024, 32(3): 703-713
- [23] LIU T, FU Y, LI G, et al. Transcriptomic and physiological responses of Qingye Ramie to drought stress[J]. *Agronomy*, 2024, 14: 301
- [24] AN X, CHEN J, ZHANG J, et al. Transcriptome profiling and identification of transcription factors in ramie (*Boehmeria nivea* L. Gaud.) in response to PEG treatment, using Illumina paired-end sequencing technology [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2015, 16: 3493-3511
- [25] BAO Y, HUANG X, REHMAN M, et al. Identification and expression analysis of the *PIN* and *AUX/LAX* gene families in ramie (*Boehmeria nivea* L. Gaud.) [J]. *Agronomy*, 2019, 9: 435
- [26] BAO Y, ZOU Y, AN X, et al. Overexpression of a ramie (*Boehmeria nivea* L. Gaud.) Group I *WRKY* gene, *BnWRKY49*, increases drought resistance in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plants*, 2024, 13: 379
- [27] MA Y, JIE H, ZHAO L, et al. *BnXTH1* regulates cadmium tolerance by modulating vacuolar compartmentalization and the cadmium binding capacity of cell walls in ramie (*Boehmeria nivea*) [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2024, 470: 134172
- [28] 朱守晶, 史文娟. 苎麻谷胱甘肽-S-转移酶基因 *BnGSTU1* 的克

- 隆和表达分析[J]. 植物遗传资源学报, 2018, 19(6): 1197-1204
- ZHU S J, SHI W J. Cloning and expression analysis of a glutathione-s-transferase gene *BnGSTU1* from ramie (*Boehmeria nivea* (L.) Gaudich.) [J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2018, 19(6): 1197-1204
- [29] 张英, 石朝艳, 汪娅梅, 等. 不同苧麻品种镉胁迫下谷胱甘肽硫转移酶基因的表达特征[J]. 分子植物育种, 2022, 20(21): 6975-6985
- ZHANG Y, SHI C Y, WANG Y M, et al. Expression characteristics of Bn-glutathione transferases gene in different ramie (*Boehmeria nivea*) varieties under cadmium stress[J]. Molecular Plant Breeding, 2022, 20(21): 6975-6985
- [30] LAMESCH P, DREHER K, SWARBRECK D, et al. Using the *Arabidopsis* Information Resource (TAIR) to find information about *Arabidopsis* genes[J]. Current Protocols in Bioinformatics, 2010, 30: 1-51
- [31] CHEN K, MING Y, LUAN M, et al. The chromosome-level assembly of ramie (*Boehmeria nivea* L.) genome provides insights into molecular regulation of fiber fineness[J]. Journal of Natural Fibers, 2023, 20: 2168819
- [32] MISTRY J, CHUGURANSKY S, WILLIAMS L, et al. Pfam: The protein families database in 2021[J]. Nucleic Acids Research, 2020, 49: D412-D419
- [33] JOHNSON M, ZARETSKAYA I, RAYTSELIS Y, et al. NCBI BLAST: a better web interface [J]. Nucleic Acids Research, 2008, 36: W5-W9
- [34] MISTRY J, FINN RD, EDDY SR, et al. Challenges in homology search: HMMER3 and convergent evolution of coiled-coil regions[J]. Nucleic Acids Research, 2013, 41: e121
- [35] ARTIMO P, JONNALAGEDDA M, ARNOLD K, et al. ExPASy: SIB bioinformatics resource portal [J]. Nucleic Acids Research, 2012, 40: W597-W603
- [36] YU C, CHEN Y, LU C, et al. Prediction of protein subcellular localization[J]. Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics, 2006, 64: 643-651
- [37] GEOURJON C, DELÉAGE G. SOPMA: significant improvements in protein secondary structure prediction by consensus prediction from multiple alignments[J]. Bioinformatics, 1995, 11: 681-684
- [38] CHEN C, WU Y, LI J, et al. TBtools-II: A “one for all, all for one” bioinformatics platform for biological big-data mining [J]. Molecular Plant, 2023, 16: 1733-1742
- [39] WANG Y, TANG H, DEBARRY J D, et al. MCSanX: a toolkit for detection and evolutionary analysis of gene synteny and collinearity[J]. Nucleic Acids Research, 2012, 40(7): e49
- [40] WANG D, ZHANG Y, ZHANG Z, et al. KaKs_Calculator 2.0: A toolkit incorporating gamma-series methods and sliding window strategies[J]. Genomics, Proteomics & Bioinformatics, 2010, 8: 77-80
- [41] TAMURA K, STECHER G, KUMAR S. MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11 [J]. Molecular Biology and Evolution, 2021, 38: 3022-3027
- [42] SUBRAMANIAN B, GAO S, LERCHER M J, et al. Evolview v3: a webserver for visualization, annotation, and management of phylogenetic trees [J]. Nucleic Acids Research, 2019, 47: W270-W275
- [43] BAILEY T L, BODEN M, BUSKE F A, et al. MEME SUITE: tools for motif discovery and searching [J]. Nucleic Acids Research, 2009, 37: W202-W208
- [44] LESCOT M. PlantCARE, a database of plant cis-acting regulatory elements and a portal to tools for in silico analysis of promoter sequences[J]. Nucleic Acids Research, 2002, 30: 325-327
- [45] KRYUCHKOVA-MOSTACCI N, ROBINSON-RECHAVI M. A benchmark of gene expression tissue-specificity metrics [J]. Briefings in Bioinformatics, 2017, 18(2): 205-214
- [46] YANAI I, BENJAMIN H, SHMOISH M, et al. Genome-wide midrange transcription profiles reveal expression level relationships in human tissue specification [J]. Bioinformatics, 2005, 21: 650-659
- [47] SHAO D, ABUBAKAR AS, CHEN J, et al. Physiological, molecular, and morphological adjustment to waterlogging stress in ramie and selection of waterlogging-tolerant varieties [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2024, 216: 109101
- [48] MARRS K A. The functions and regulation of glutathione s-transferases in plants [J]. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 1996, 47: 127-158
- [49] HAYES J D, FLANAGAN J U, JOWSEY I R. Glutathione transferases[J]. Annual Review of Pharmacology and Toxicology, 2005, 45: 51-88
- [50] FROVA C. The plant glutathione transferase gene family: genomic structure, functions, expression and evolution [J]. Physiologia Plantarum, 2003, 119: 469-479
- [51] OAKLEY A J. Glutathione transferases: new functions [J]. Current Opinion in Structural Biology, 2005, 15: 716-723
- [52] KUMAR S, TRIVEDI P K. Glutathione S-transferases: Role in combating abiotic stresses including arsenic detoxification in plants[J]. Frontiers in Plant Science, 2018, 9: 751
- [53] LO CICERO L, MADESIS P, TSAFTARIS A, et al. Tobacco plants over-expressing the sweet orange tau glutathione transferases (CsGSTUs) acquire tolerance to the diphenyl ether herbicide fluorodifen and to salt and drought stresses[J]. Phytochemistry, 2015, 116: 69-77
- [54] XU J, TIAN Y, XING X, et al. Over-expression of *AtGSTU19* provides tolerance to salt, drought and methyl viologen stresses in *Arabidopsis* [J]. Physiologia Plantarum, 2015, 156: 164-175
- [55] GUO R, LI S, GAO Y Q, et al. A novel *OsGST* gene encoding 9 glutathione reductase negatively regulates cadmium accumulation in rice [J]. Journal of Hazardous Materials, 2024, 476: 135126
- [56] ZHU S, LI W, YAN S, et al. Transcriptomic analysis of differentially expressed genes in *Arabidopsis thaliana* overexpressing *BnMYB2* from *Boehmeria nivea* under cadmium stress[J]. Catalysts, 2023, 13: 662
- [57] ZHU S, SHI W, JIE Y, et al. A MYB transcription factor, *BnMYB2*, cloned from ramie (*Boehmeria nivea*) is involved in cadmium tolerance and accumulation [J]. PLoS One, 2020, 15: e0233375