中国油料作物学报
Chinese Journal of Oil Crop Sciences
2026,48(4):104-118
doi:10.19802/j.issn.1007-9084.2026067

甘蓝型油菜BGLU基因家族鉴定及TGG参与硫代葡萄糖苷分解代谢的机制研究

朱思颖[1,2,3],毛舒香[2,3],贺春军[1,2,3],刘丽莉[1,3],谢丰武[1,2,3],文慧姿[1],张大为[1,2,3*],严明理[2,3*]
(1. 湖南科技大学,湖南 湘潭,411201;
2. 湖南省作物研究所,湖南 长沙,410125;
3. 岳麓山实验室,湖南 长沙,410128)

摘要:本研究利用HMMER 3.0软件在甘蓝型油菜X5A全基因组中筛选鉴定BGLU基因家族成员,并通过NCBI CDD和SMART得到验证;利用ExPASy、TBtools等工具分析*BnaBGLU*的理化性质;利用MEGA、TBtools、MEME、PlantCARE等对*BnaBGLU*进行系统进化树构建、基因染色体定位、基因结构分析、蛋白保守基序分析及其启动子顺式作用元件预测;利用转录组数据分析*BnaBGLU*在镉胁迫、盐胁迫及渍害处理下的表达特征;采用SWISS-MODEL和NetSurfP-3.0进行蛋白质结构预测。本研究在甘蓝型油菜基因组中鉴定到198个β-葡萄糖苷酶基因家族成员,不均匀分布于19条染色体上。系统发育分析将其划分为8个独立亚家族(Clade 1~8),其中负责硫代葡萄糖苷水解的典型黑芥子酶(TGG)特异性地聚集在Clade 6。基因结构分析显示家族成员外显子数量差异显著(1~10个),TGG亚家族成员普遍具有保守的基因结构和基序组成(Motif 1~5),TGG核心序列在多倍体化过程中高度保守。串联重复和片段重复共同促进了BGLU家族在油菜中的扩张。Ka/Ks分析揭示纯化选择主导家族进化,共线性分析证实了油菜与拟南芥、白菜及甘蓝间TGG基因的保守进化关系。表达谱与启动子分析表明,*TGG*同源基因富含茉莉酸和防御响应元件。综上,本研究揭示了*TGG*基因在异源多倍体背景下的扩张与功能特化模式,为深入理解甘蓝型油菜硫代葡萄糖苷代谢调控及抗逆分子育种奠定了基础。

关键词:甘蓝型油菜;β-葡萄糖苷酶(BGLU)基因家族;黑芥子酶;硫代葡萄糖苷;非生物胁迫
中图分类号:S565.4　　**文献标识码:**　　**文章编号:**1007-9084(2026)04-0104-15

OSID

BGLU gene family analysis and involvement of TGG in glucosinolate catabolism in *Brassica napus* L.

ZHU Si-ying[1,2,3], MAO Shu-xiang[2,3], HE Chun-jun[1,2,3], LIU Li-li[1,3], XIE Feng-wu[1,2,3], WEN Hui-zi[1],
ZHANG Da-wei[1,2,3*], YAN Ming-li[2,3*]
(1. *Hunan University of Science and Technology, Xiangtan* 411201, *China*; 2. *Hunan Crop Research Institute, Changsha* 410125, *China*; 3. *Yuelu Mountain Laboratory, Changsha* 410128, *China*)

Abstract: For stress resistance breeding in *Brassica napus*, β-glucosidase (BGLU) gene family members were identified across the *B. napus* genome using HMMER 3.0 and validated through NCBI CDD and SMART. The physicochemical properties of *BnaBGLU*s were analyzed using ExPASy and TBtools. Phylogenetic analysis, chromosomal localization, gene structure analysis, conserved motif identification, and promoter *cis*-acting element prediction were performed using MEGA, TBtools, MEME, and PlantCARE, respectively. Expression patterns under cadmium stress, salt stress, and waterlogging were examined using transcriptome data. Protein structures were predicted using SWISS-MODEL and NetSurfP-3.0. Totally 198 BGLU family members were identified distributing unevenly across 19 chromosomes. They were classified into 8 subfamilies (Clade 1-Clade 8) by Phylogenetic analysis. Notably, glu-

收稿日期:2026-03-02
基金项目:湖南省自然科学基金(2025JJ60173);岳麓山实验室人才计划(2024RC2071);国家重点研发计划(2023YFD1201403);湖南省科技创新计划(2023RC1077);国家自然科学基金(32071965);湖南省科技人才托举项目(2023TJ-Z09);湖南省农业科技创新项目(2025CX75)
作者简介:朱思颖(2001-),女,硕士研究生,研究方向为油菜遗传育种,E-mail: 1805496266@qq.com
* 通讯作者:张大为(1989-),博士,副教授,研究方向为油菜遗传育种,E-mail: zhangdawei@hnust.edu.cn;
严明理(1979-),博士,研究员,研究方向为油菜遗传育种,E-mail: ymljack@126.com

cosinolate-hydrolyzing typical myrosinase (TGG) specifically clustered in Clade 6. Gene structure analysis revealed substantial variation in exon numbers (1-10), yet TGG subfamily members exhibited conserved gene structures and motif compositions (Motif 1-5). TGG core sequences remained highly conserved during polyploidization. Both tandem and segmental duplications contributed to BGLU family expansion. Ka/Ks analysis indicated that purifying selection dominated the family's evolutionary trajectory. Synteny analysis confirmed conserved evolutionary relationships of *TGG* genes among *B. napus*, *Arabidopsis thaliana*, *B. rapa*, and *B. oleracea*. Expression profiling and promoter analysis revealed that *TGG* homologs are enriched in methyl jasmonate and defense-responsive cis-regulatory elements. In summary, this study elucidates the expansion and functional specialization patterns of *TGG* genes in an allopolyploid context, which might provide deeper understanding on glucosinolate metabolic regulation.

Key words: *Brassica napus*; BGLU gene family; myrosinase; glucosinolate; abiotic stress

在长期的进化历程中,十字花科植物演化出了以芥子油苷-黑芥子酶系统为核心的独特防御机制,该系统在植物应对生物胁迫、适应生态环境中发挥着不可替代的作用[1-4]。芥子油苷(glucosinolates,简称硫苷)是一类含硫的植物次生代谢物,主要存在于十字花科植物中,其核心结构由β-硫代葡萄糖基团、磺化醛肟基团和一个可变侧链组成,侧链来源于不同的氨基酸,具有重要的生理功能和生态意义[5-7]。

黑芥子酶(myrosinase)是一种β-硫代葡糖苷酶,属于糖苷水解酶家族1(GH1),是目前已知唯一可识别S-糖苷键的糖苷水解酶,其活性位点的催化碱基为谷氨酰胺,区别于典型β-O-葡糖苷酶的谷氨酸催化残基[8,9]。正常生理状态下,芥子油苷和黑芥子酶在植物细胞中是分离的[10];当植物受到昆虫取食、病原菌侵染或机械损伤时,细胞结构被破坏,两者接触并发生水解反应,生成具有防御功能的异硫氰酸酯等具有生物活性的产物[11-14]。该系统构成了植物中一种被动的、触发式的化学防御系统[15,16]。芥子油苷及其水解产物在植物防御系统、抗病虫害、风味形成和人体健康等方面发挥着关键作用[5]。这些水解产物不仅赋予了十字花科植物特有的辛辣风味,而且还具有抗癌、抗氧化和抗菌等药理活性,引起了人们的广泛关注[17-22]。

黑芥子酶的编码基因主要隶属于糖苷水解酶GH1家族的β-葡萄糖苷酶基因家族(β-glucosidase,BGLU),其中典型黑芥子酶TGG(thioglucoside glucohydrolase)是BGLU家族中功能高度特化的一个亚家族,也是十字花科植物中负责硫苷水解的核心成员[12]。在十字花科模式植物拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)中,全基因组共鉴定出47个BGLU家族成员,其中6个TGG基因(*AtTGG1*~*AtTGG6*)特异性聚类于独立的进化分支,是目前功能研究最为透彻的典型黑芥子酶编码基因[23]。功能型*AtTGG1*和*AtTGG2*主要在叶片等地上组织表达,*AtTGG4*、*AtTGG5*则在根部表达[24-27]。而*AtTGG3*和*AtTGG6*为假基因,仅在花粉中特异性表达[28]。BGLU家族是植物整合激素信号与非生物胁迫响应的关键节点[29]。其核心调控机制为水解植物激素的糖苷结合态前体,快速调控内源活性激素稳态,拟南芥*AtBGLU18*和A*tBGLU33*可特异性水解脱落酸葡萄糖酯(ABA-GE)释放活性ABA,*AtBGLU18*过表达株系内源ABA含量较野生型提升2倍以上,抗旱性大幅增强[30]。

甘蓝型油菜(*Brassica napus* L.)作为十字花科芸薹属的典型异源四倍体作物,由白菜(*Brassica rapa*,AA,2n=20)与甘蓝(*Brassica oleracea*,CC,2n=18)天然杂交后染色体加倍形成[31],作为世界上最重要的油料作物之一,其全球种植面积接近3800万公顷,年产量仅次于大豆,位居全球油料作物第二位[32,33]。硫苷含量是油菜品质育种的核心指标:双低油菜(低芥酸、低硫苷)的饼粕是优质高蛋白动物饲料,而硫苷及其水解产物又是油菜抗逆、抗虫防御系统的核心组分,如何平衡油菜品质改良与抗逆性提升,是当前油菜育种的关键科学问题[33]。此外,油菜还具有重要的生态功能,如作为覆盖作物抑制杂草、改善土壤肥力、修复重金属污染土壤以及通过生物炭固碳等[33]。因此,解析油菜芥子油苷-黑芥子酶系统的分子机制,明确BGLU基因家族尤其是典型黑芥子酶TGG的进化特征与功能分化,对油菜抗逆分子育种与品质改良具有重要的理论与实践意义。

近年来,随着基因组学和生物信息学技术的快速发展,BGLU基因家族在玉米[34]、白菜[35]和水稻[36]等多种植物中得到了鉴定和分析。然而,不同物种间BGLU基因在拷贝数、表达模式、功能分化等方面仍存在显著差异,其进化机制和生物学功能有待进一步研究[34,37]。

本研究旨在通过生物信息学方法系统分析甘蓝型油菜BGLU基因家族的结构特征、进化关系、表达模式及功能分化,揭示其在调控植物硫代葡萄糖苷代谢中的作用。该研究不仅有助于加深对硫代葡萄糖苷代谢分子机制的认识,而且为作物品质的改良和药用植物资源的开发提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 BGLU基因家族成员鉴定

以拟南芥硫苷水解酶BGLU(AT5G26000)和BGLU(AT5G25980)蛋白序列为模板,通过Pfam数据库(https://www.ebi.ac.uk/interpro/search/sequence/)获得BGLU基因家族Pfam号(PF00232),下载HMM模型。采用TBtools软件Simple HMM Search工具,在X5A基因组[38]和拟南芥基因组(TAIR10)中鉴定所有BGLU基因家族。利用TBtools软件和NCBI(https://www.ncbi.nlm.nih.gov/)网站进行双向BLAST比对筛选,经NCBI CDD和SMART蛋白结构域检测,进一步剔除不含BGLU基因家族保守功能结构域的基因。通过TBtools的Gene location visualize from GTF/GFF工具可视化基因在染色体上的位置。在后续系统发育分析中,将拟南芥已报道的功能型典型黑芥子酶基因*AtTGG1*(*AT5G26000*)、*AtTGG2*(*AT5G25980*)、*AtTGG4*(*AT1G47600*)、*AtTGG5*(*AT1G51470*)聚类于同一分支的*BnaBGLU*基因,定义为甘蓝型油菜典型黑芥子酶TGG基因,作为本研究后续重点分析对象。

1.2 BGLU基因家族的进化分析

使用Oligo7软件建BGLU进化总树,用TBtools软件建设多物种TGG进化树,利用在线网站Chiplot(https://www.chiplot.online/)进行修饰美化。

1.3 BGLU基因家族成员共线性分析

利用TBtools中的Advanced Circos插件对拟南芥、甘蓝型油菜、白菜和甘蓝中BGLU基因的同线性关系进行了分析,并通过比较基因组学进行了可视化。同时,利用TBtools中的Advanced Circos分析并可视化甘蓝型油菜中BGLU的基因组内共线性关系。

1.4 Ka/Ks和分化时间分析

利用种内共线性分析得到同源基因对,TBtools计算Ka/Ks比值,并探索选择压力对复制基因的作用。BGLU基因对之间的分歧时间采用公式T=Ks/(2λ×10^{-6})计算,其中λ为1.5×10^{-8},表示每年同义位点。

1.5 BGLU基因基序、保守结构域及基因结构分析

从甘蓝型油菜蛋白质库中筛选出198个目的蛋白,利用在线网站(https://meme-suite.org/meme/)的MEME程序进行motif分析(预测数量设置为10,其余设置均为默认),随后使用NCBI网站保守结构域数据库(https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/bwrpsb/bwrpsb.cgi,CDD)确定结构域的类型和位置,最后通过TBtools绘制了进化树、motif、结构域预测、基因结构四合一图,以直观地展现出不同家族成员的进化关系。

1.6 BGLU基因家族的蛋白理化性质分析

利用TBtools的ProteinParamterCalc(ProtParam-based)功能可实现批量分析蛋白质的理化性质,包括氨基酸数目、分子量、等电点、不稳定系数、脂肪系数和亲水指数。

1.7 BGLU基因家族顺式作用元件分析

利用TBtools提取BGLU成员启动子上游2000个碱基对的序列,并提交至PlantCARE在线工具进行顺式作用调控元件(CAREs)预测[39]。结果通过TBtools进行可视化,以便进一步分析。

1.8 蛋白质结构预测

利用生物信息学分析平台NetSurfP-3.0和SWISS-MODEL对甘蓝型油菜TGG蛋白进行结构预测。

1.9 不同胁迫条件下甘蓝型油菜BGLU基因表达

分析了多种处理下的转录组数据,包括Cd处理[40]、盐(NaCl)处理[41]、渍害处理[42]。表达量热图用TBtools软件创建。

1.10 重要TGG的克隆及亚细胞定位分析

提取甘蓝型油菜叶片总RNA,反转录成cDNA,根据*BnapChr5G00918910.1*、*BnapChr9G00197000.1*的CDS序列设计特异引物(表1)进行扩增,经纯化、回收,与1300-eGFP载体连接,转化DH5α,挑取阳性克隆进行检测,测序。通过冻融法,将1300-eGFP和1300-eGFP-8910、1300-eGFP-7000质粒转化农杆菌GV3101。将含有质粒1300-eGFP、1300-eGFP-8910的农杆菌液分别注射到生长良好的5~6周龄的本氏烟草(*Nicotiana benthamiana*)叶片中,暗培养24 h,转入光培养48 h,在激光共聚焦显微镜下观察拍照。

2 结果与分析

2.1 BGLU基因家族成员鉴定及染色体位置分析

根据基因组测序,甘蓝型油菜属于芸薹属

表 1　目的基因扩增引物信息

Table 1　Target gene amplification primer information

引物名称 Primer name	引物序列(5′-3′) Primer sequence (5'-3')
BnapChr5G00918910.1-F	AGGGGCCCGGGGTCGACATGCTCTCAACCATGGAAATTC
BnapChr5G00918910.1-R	TTCTCTTCGATCAGCAGGATTAG
BnapChr9G00197000.1-F	CAGGGGCCCGGGGTCGACATGAAGCTTCATGGACTAGCC
BnapChr9G00197000.1-R	GCCCTTGCTCACCATGGTACCTGCATCTGCGAGCTTCTT

AACC 基因组异源四倍体,其共有 19 对同源染色体,以 HMM 模型为基础,采用 TBtools 软件和 NCBI 网站进行双向 BLAST 序列比对筛选,最终在甘蓝型油菜基因组中共鉴定到 198 个家族成员。油菜 BGLU 家族成员物理定位在 chr1~19 染色体上(图 1),BGLU 家族成员在染色体间分布不均匀。其中 1 号、4 号染色体上各有 12 个成员,2 号、7 号和 12 号染色体上各有 6 个成员,3 号、9 号、11 号、16 号和 19 号染色体上各有 11 个成员,5 号染色体上有 21 个成员,6 号染色体上有 5 个成员,8 号、15 号染色体上各有 9 个成员,10 号染色体上有 3 个成员,13 号染色体上有 14 个成员,14 号染色体上有 25 个成员,17 号染色体上有 7 个成员,18 号染色体上有 8 个成员。根据 BGLU 家族成员在染色体上的位置信息,除了 10 号染色体外,其余染色体上 BGLU 家族成员发生了串联重复事件。

2.2　甘蓝型油菜 BGLU 基因家族系统进化分析

β-葡萄糖苷酶通过调控硫代葡萄糖苷水解及激素信号转导,在植物生长发育和逆境响应中发挥核心作用。在甘蓝型油菜 X5A 中鉴定到 198 个 BGLU 家族成员,利用其氨基酸序列与 154 个 ZS11BGLU 家族蛋白与拟南芥的 36 个 BGLU 家族蛋白序列

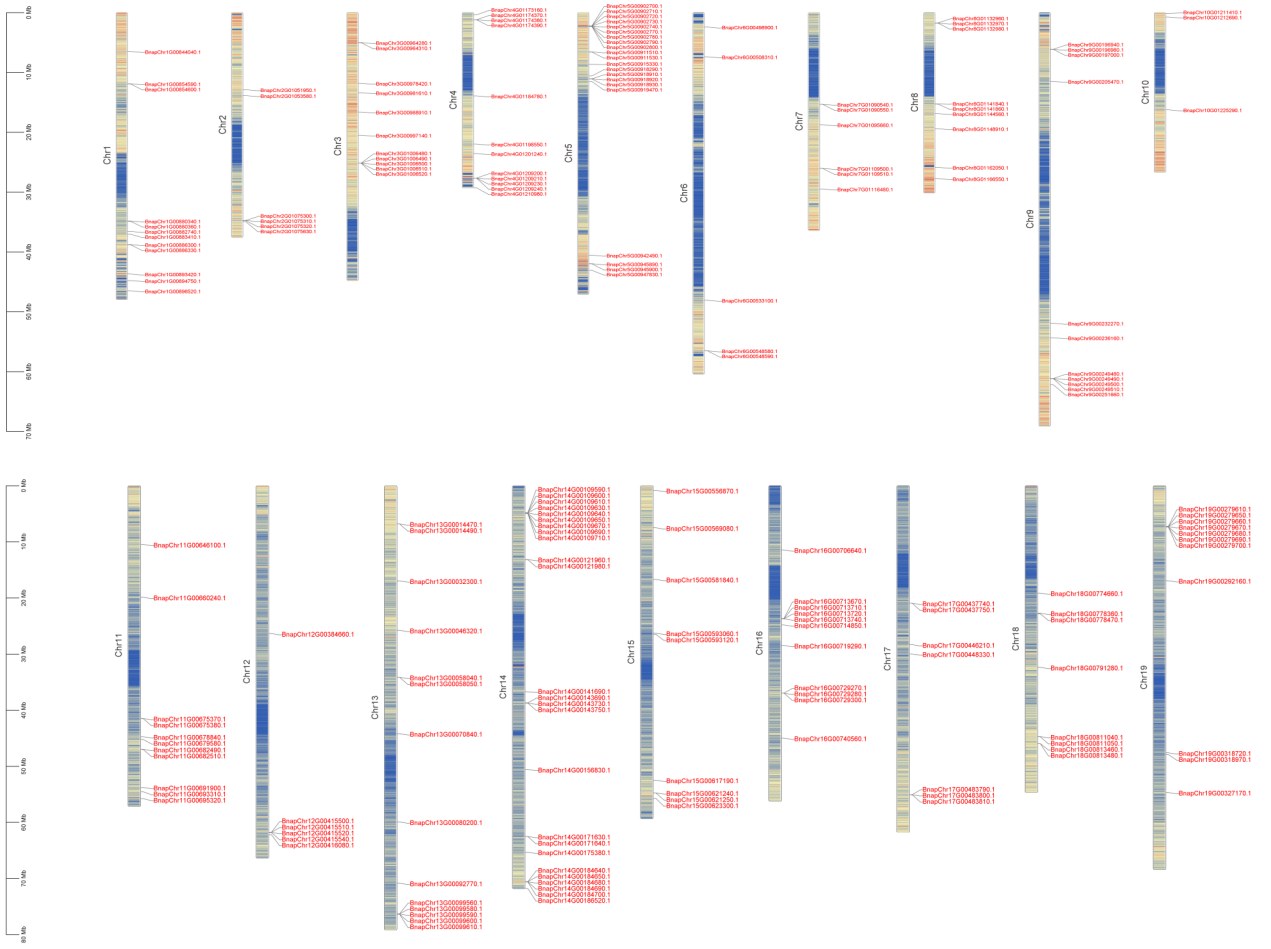


图 1　甘蓝型油菜 BGLU 基因在染色体上的定位

Fig. 1　Chromosomal Localization of *B. napus* BGLU genes

进行整合,采用最大似然法(ML)构建系统发育进化树(附图2),设置1000次bootstrap检验以确保树的可靠性。聚类结果显示,所有BGLU家族成员可清晰划分为8个独立亚家族(Clade 1~Clade 8),其中198个甘蓝型油菜BGLU成员分布于这8个亚家族中,Clade 8包含的甘蓝型油菜BGLU最多,为63个;Clade 1只含有3个甘蓝型油菜BGLUs。各亚家族内部分支bootstrap值普遍高于70%,表明分类结果具有较高可信度;亚家族内成员的序列相似性较高,而亚家族间分支距离较远,存在显著的序列分化。植物中参与硫代葡萄糖苷(GSL)水解、防御反应等关键生理过程的TGG基因,在系统发育树中集中聚于Clade 6,该分支包含51个甘蓝型油菜BGLU成员。

为进一步细化甘蓝型油菜TGG亚家族的进化关系,本研究选取Clade 6中与*AtTGG1*、*AtTGG2*、*AtTGG4*、*AtTGG5*亲缘关系较近的49个甘蓝型油菜TGG蛋白作为研究对象,同时整合8个拟南芥、3个ZS11、25个埃塞俄比亚芥、35个白菜、21个甘蓝、19个黑芥TGG以及2个芥菜TGG蛋白的氨基酸序列,构建了更为详细的系统发育进化树(图2)。所有TGG成员被划分为3个主要进化分支(Class Ⅰ-Ⅲ),49个甘蓝型油菜TGG家族蛋白分散于3个类群中,其中有28个甘蓝型油菜TGG成员与*AtTGG1*、

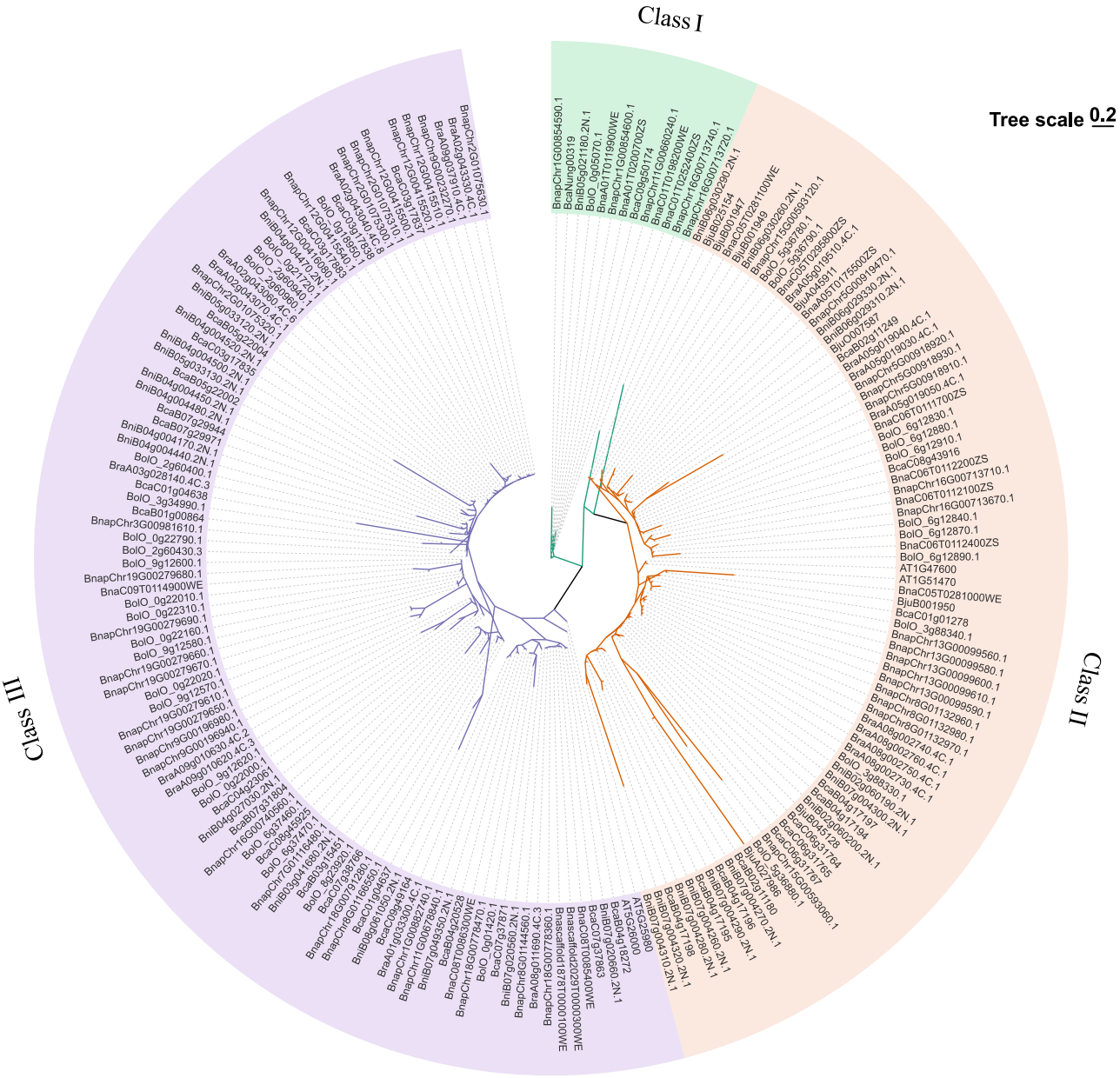


图2 8个物种TGG蛋白系统发育树

Fig. 2 Phylogenetic tree of TGG proteins from 8 species

AtTGG2 聚为一支,有 16 个甘蓝型油菜 TGG 成员与 *AtTGG4*、*AtTGG5* 聚为一支,暗示其保留了组织特异性的亚功能化分工。

2.3 共线性分析

在种间共线性分析中(附图 3,见首页 OSID 二维码),甘蓝型油菜与拟南芥的共线性图谱显示,拟南芥的 5 条染色体(At1~At5)均与甘蓝型油菜的染色体(Cn1、Cn12~Cn19 等)存在跨物种的共线性关联。作为十字花科模式植物,拟南芥与甘蓝型油菜在 BGLU 家族基因上的共线性匹配,反映了二者在进化上的亲缘关系及该基因家族的祖先遗传保守性,为基于拟南芥已知 BGLU 基因功能推断油菜同源基因功能提供了进化支撑。甘蓝型油菜与白菜的共线性分析显示,白菜的 10 条 A 亚组染色体(Ar01~Ar10)与甘蓝型油菜的 19 条染色体(Cn1~Cn19)形成了广泛且明确的共线性区块,这与油菜(AACC 基因组)起源于白菜(AA 基因组)和甘蓝(CC 基因组)杂交加倍的进化背景高度契合,表明甘蓝型油菜 A 亚组的 BGLU 基因在染色体定位上继承了白菜同源基因的遗传特征,未发生显著的染色体重排或基因丢失。而甘蓝型油菜与甘蓝的共线性图谱中,甘蓝的 9 条 C 亚组染色体(Co1~Co9)同样与甘蓝型油菜的 Cn1~Cn19 染色体呈现清晰的共线性关系,进一步验证了甘蓝型油菜 C 亚组 BGLU 基因与甘蓝同源基因的进化关联性,且白菜、甘蓝与甘蓝型油菜共有的染色体编号(如 Cn1、Cn3、Cn9 等)对应的共线性区域更为集中,提示这些区域的 BGLU 基因可能在十字花科物种分化过程中承担关键功能,因此保留了更为稳定的染色体定位。

甘蓝型油菜 BGLU 的基因种内共线性分析中(图 3),其自身染色体(Cn1、Cn12~Cn19 等)间存在明显的共线性信号,表明甘蓝型油菜在多倍体化过程中,BGLU 家族基因可能发生了基因复制事件,且复制后的同源基因在染色体上仍保持一定的连锁关系。这种种内共线性的存在,不仅丰富了甘蓝型油菜 BGLU 家族的基因多样性,也可能为该基因家族功能的分化与冗余提供了遗传基础,推测其在应对复杂环境胁迫、调控次生代谢等生理过程中发挥协同作用。

甘蓝型油菜与拟南芥、白菜、甘蓝的种间共线性揭示了十字花科物种间 BGLU 家族基因的进化渊源,而甘蓝型油菜的种内共线性则反映了多倍体化过程中该基因家族的扩张与保守特征。这些共线性规律的解析,为后续 BGLU 基因的定位克隆、功能验证及分子育种应用提供了重要的染色体水平参考,也为深入探讨十字花科植物基因家族的进化机制提供了典型案例。

2.4 Ka/Ks 和分化时间分析

为阐明选择压力在甘蓝型油菜 BGLU 基因家族演化进程中的调控模式,本研究利用 TBtools 软件对其种内同源基因对的非同义突变率(Ka)、同义突变率(Ks)及 Ka/Ks 比值进行定量分析,并基于十字花科核基因的中性突变速率($r=1.5\times10^{-8}$ substitutions/site/year)推算分化时间(附表 1,见首页 OSID 二维码)。结果表明,该基因家族的扩张依赖多组基因复制事件,本研究共鉴定出多对有效同源基因对(如 *BnapChr1G00860400.1*/*BnapChr1G00860460.1*、*BnapChr1G00861830.1*/*BnapChr1G00861850.1* 等),提示基因复制是甘蓝型油菜 BGLU 家族扩增的核心分子机制。

该家族种内副同源基因对的 Ka/Ks 比值呈现典型的纯化选择特征:多数基因对的 Ka/Ks 值小于 1,这与植物基因家族演化中"纯化选择维持功能保守性"的普遍规律一致,暗示甘蓝型油菜家族的核心生物学功能(如代谢通路调控、非生物胁迫响应)在长期进化中受到稳定选择约束,有害突变被持续清除[43]。部分基因对(如 *BnapChr1G00862190.1*/*BnapChr1G00864960.1*)的 Ka/Ks 值(0.9994)接近中性进化阈值,推测其处于功能分化的过渡阶段。

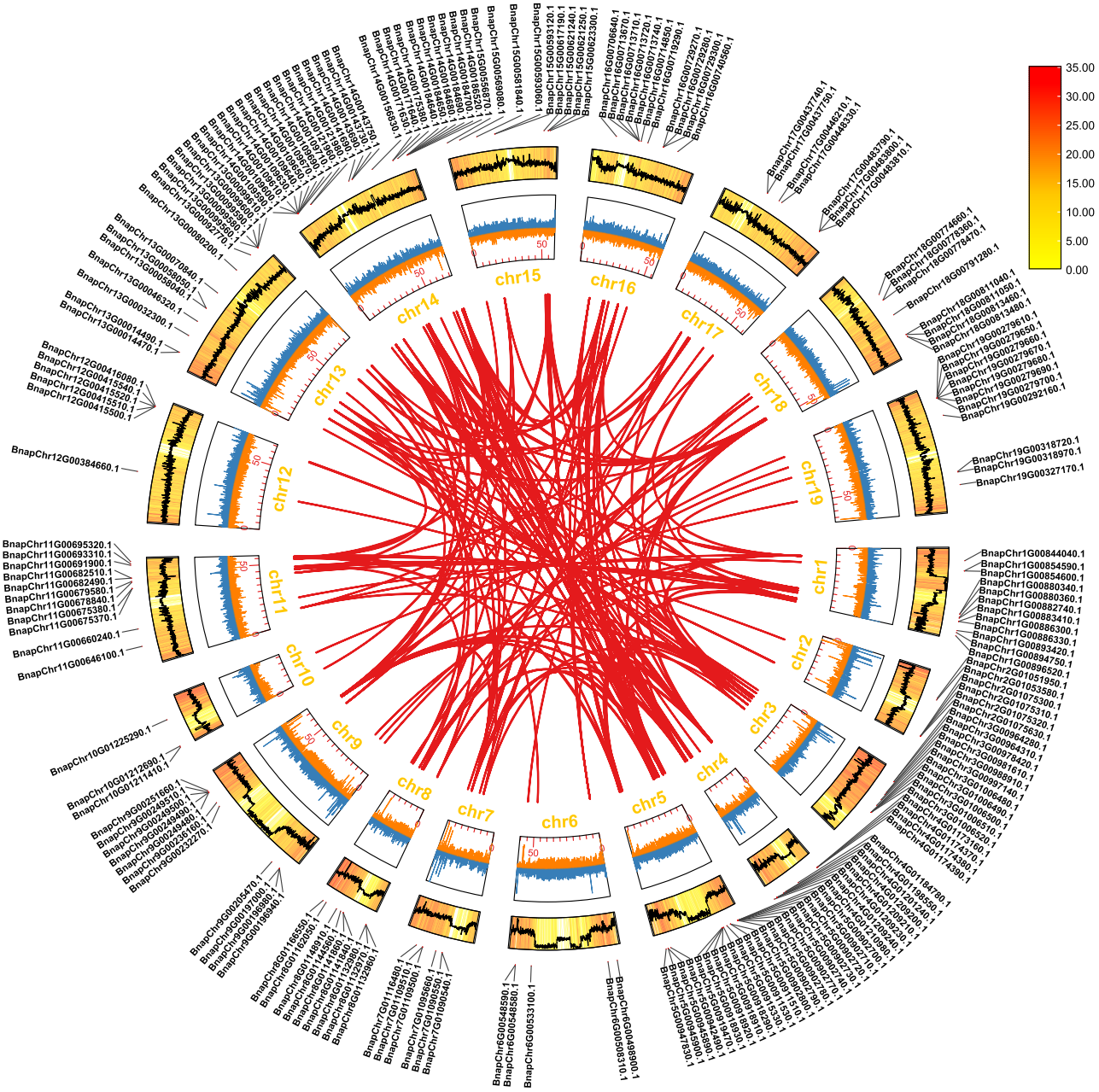
甘蓝型油菜 BGLU 基因家族的种内演化以纯化选择为主导驱动力,基因复制事件推动家族规模扩张,而选择压力的差异化分布则为其功能多样性的潜在形成奠定了分子基础,这一演化模式可能是该家族适应复杂环境的重要策略。

2.5 BGLU 基因基序、保守结构域及基因结构分析

为深入探究该蛋白的潜在生物学功能,我们对其氨基酸序列进行了保守结构域分析。结果表明,该蛋白是一个多结构域蛋白,包含多个在进化上高度保守的功能模块(图 4),暗示其可能参与复杂且关键的细胞过程。

通过对甘蓝型油菜材料中 BGLU 家族基因的结构特征进行系统分析,发现该家族基因在基因结构、motif 组成及保守结构域方面均表现出显著的功能保守性与一定的分化特征,与其作为 β-葡萄糖苷酶参与糖类代谢及植物胁迫响应的功能密切相关。

在基因结构方面,BGLU 家族成员外显子数量差异显著,从 1 个至 10 个不等,表明该家族可能经历了复杂的基因复制、内含子插入/缺失及可变剪接



注:最外围为BGLU基因的ID;第1圈(最外圈实体环形)为基因密度热图;第2圈为基因组GC含量分布;第3圈为染色体编号;中心红色连线为BGLU基因的种内共线性同源基因对。右侧色标为基因密度数值范围(0.00~35.00)

Note: The outermost layer represents the BGLU gene ID; the first circle (the outermost solid ring) is the gene density heat map; the second circle is the distribution of GC content in the genome; the third circle is the chromosome number; the red lines in the center represent the intraspecific collinear homologous gene pairs of the BGLU gene. The color scale on the right indicates the range of gene density values (0.00–35.00)

图3 甘蓝型油菜BGLU基因家族种内共线性Circos图

Fig. 3 Intraspecific synteny analysis of *B. napus* BGLU gene family

事件,在进化过程中可能承受了更强的功能分化压力,需通过结构多样性来适应不同底物或调控机制。

motif分析显示,BGLU家族成员普遍含有10个高度保守的motif(Motif 1~10),其中Motif 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10在大多数成员中均有分布,可能分别对应于催化活性中心、底物结合位点或蛋白互作区域,参与维持其基本的糖苷水解酶功能。部分成员存在特定motif缺失现象,如Motif 6或Motif 9的缺失,可能与其功能特化或组织特异性表达有关。

在保守结构域方面,所有BGLU家族成员均含有Glyco_hydro_superfamily结构域,明确其属于糖苷水解酶超家族,参与植物体内次生代谢物的降解与糖类信号调控。部分成员还含有LEA_2、START等

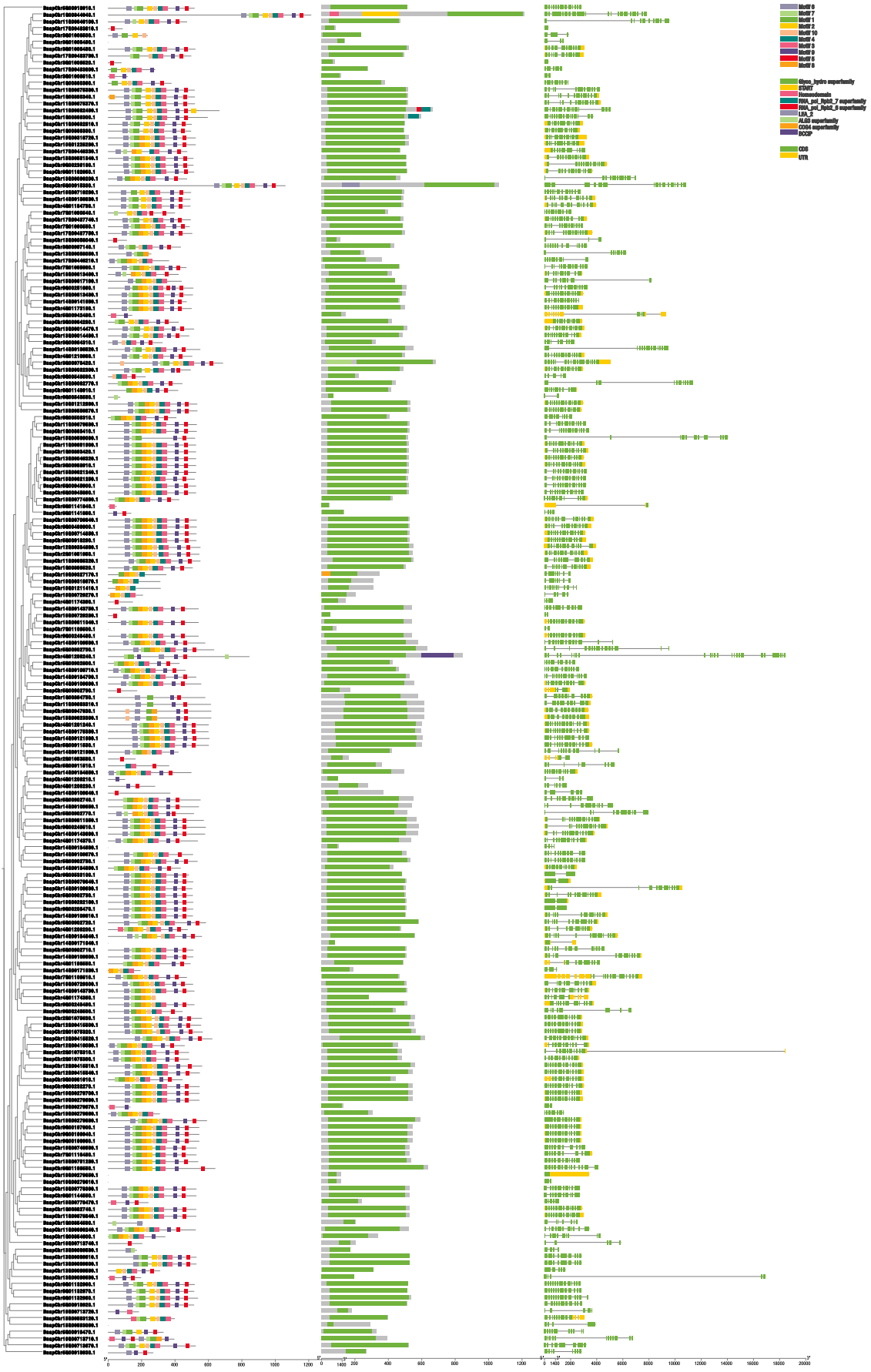


图 4　甘蓝型油菜BGLU基因基序、保守结构域及基因结构

Fig. 4　Integrated visualization of phylogenetic tree, conserved motifs, predicted domains, and gene structures of BGLU

结构域,提示其可能参与脂质代谢、胚胎发育或逆境响应过程,表明BGLU家族亦可能存在亚功能化趋势。

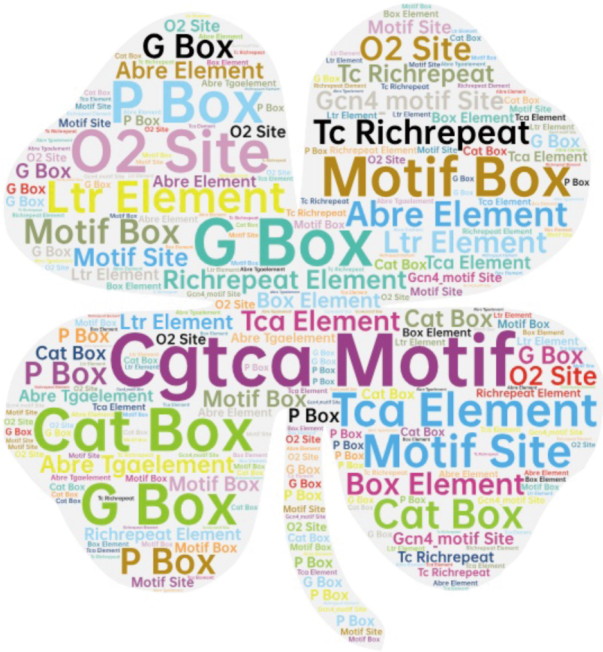
BGLU家族基因结构的复杂性与motif的高度保守性形成“结构多样-功能保守”的协同演化模式,体现了植物基因家族在维持核心功能的同时,通过结构变异拓展调控网络的进化策略。油菜BGLU家族基因在结构层面表现出较高的保守性与一定的分化特征,结合其功能域组成,推测其不仅在糖类代谢中发挥核心作用,也可能通过结构变异参与植物的胁迫响应与发育调控。

2.6 蛋白理化性质分析

对甘蓝型油菜BGLU家族蛋白的理化性质进行系统分析(附表2,见首页OSID二维码),共获得129条非冗余序列。该家族成员在蛋白长度、分子量及等电点等关键参数上表现出显著多样性:氨基酸残基数介于49-1213aa,对应分子量分布范围为5.77-135.79kDa,提示家族内部可能存在结构域增删或功能分化事件。等电点(pI)跨度为4.56-10.31,呈连续双峰分布,预示不同成员在生理pH条件下携带净电荷差异显著,可能影响其亚细胞定位及与膜系统的相互作用。稳定性预测显示,不稳定系数(II)为5.58-71.15,其中78.3%的蛋白II>40,表明整体热力学稳定性较低,可能依赖分子伴侣或翻译后修饰维持构象。脂肪系数(AI)介于49.8-98.48,均值73.4±8.7,提示脂肪族侧链占比适中,与植物胞质蛋白的平均AI水平一致。亲水指数(GRAVY)分布范围为-1.183~0.662,负值成员占87.6%,表明甘蓝型油菜BGLU家族整体表现为亲水性;仅*BnapChr14G00109640.1*等6条序列GRAVY<-1.0,为典型亲水蛋白,而*BnapChr14G00171630.1*等3条序列GRAVY接近0,呈弱疏水特征。

2.7 启动子分析

本研究通过对甘蓝型油菜BGLU基因家族启动子区顺式作用元件的系统性分析(图5,附图5,见首页OSID二维码),揭示了该家族成员可能参与多种生物学过程的复杂调控网络。如图所示,所有BGLU基因的启动子区均含有丰富多样的顺式作用元件。我们鉴定到大量与植物激素应答相关的元件,包括脱落酸(ABA)、生长素(Auxin)、赤霉素(GA)、茉莉酸甲酯(MeJA)和水杨酸(SA)响应元件。这表明BGLU基因不仅可能参与基础的生长发育调控,更可能作为一个枢纽,整合ABA、JA等多种激素信号,在植物应对环境变化时协调其生理响应。在逆境胁迫响应方面,BGLU基因启动子中含有数量可观的厌氧诱导、低温响应、干旱诱导型MYB结合位点以及防御与胁迫响应元件。这些元件的大量存在暗示BGLU基因家族在甘蓝型油菜应对淹水、低温和干旱等非生物胁迫过程中扮演着重要角色,可能是其抗逆性遗传改良的潜在靶点。我们还发现了与胚乳表达、分生组织活性、光响应及昼夜节律调控相关的关键元件。这预示BGLU基因的功能可能具有时空特异性,在特定的发育阶段(如种子萌发)或组织部位(如分生组织、胚乳)中精确调控细胞壁修饰或次级代谢,进而影响植物的生长发育与形态建成。



注:字体大小与相应的顺式作用元素的出现次数呈正相关

Note: Font size is positively correlated with the occurrence frequency of corresponding *cis*-acting elements

图5 甘蓝型油菜BGLU家族基因启动子中顺式作用元件频次

Fig. 5 Frequency of *cis*-acting elements in promoters of *Brassica napus* BGLU family genes

BGLU基因家族顺式作用元件的组成模式,与多个已被证实参与胁迫应答、激素信号转导及发育调控的基因家族具有显著的共性。本研究推测,甘蓝型油菜BGLU基因家族是一个功能多样化的基因家族,它很可能通过整合内源激素信号与外界环境胁迫(如淹水、低温、干旱)信号,并在不同组织与发育阶段进行精确的表达调控,从而在植物的抗逆性与生长发育平衡中发挥核心作用。这为后续利用基因编辑、过表达等手段深入解析关键BGLU基因的功能,为油菜抗逆育种提供了重要的理论依据和

候选基因资源。

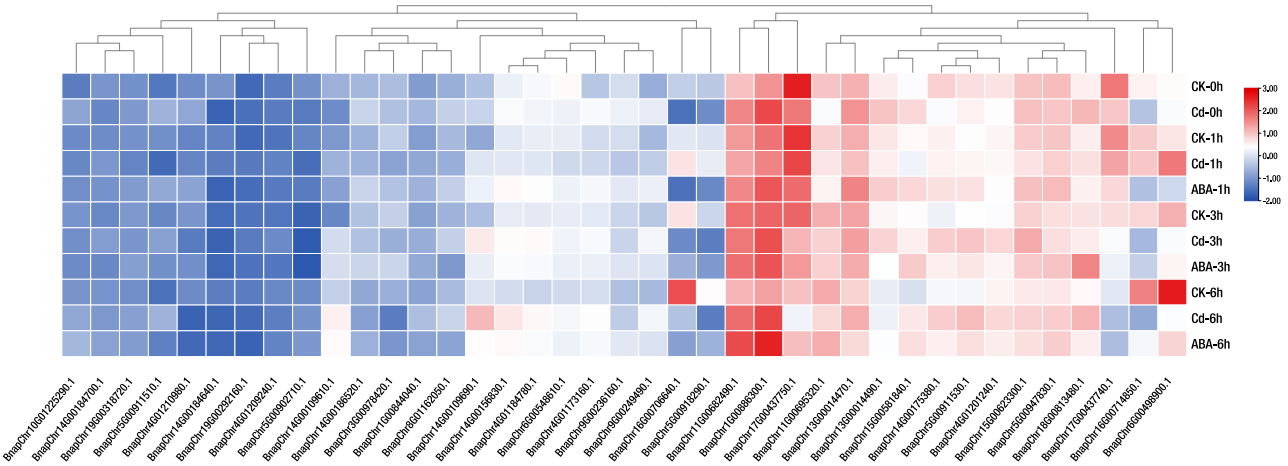
2.8　蛋白质结构预测

利用生物信息学分析平台对 TGG 蛋白进行结构预测(附表 3、附图 6,见首页 OSID 二维码)。二级结构分析结果显示,该家族蛋白的核心结构元件为无规则卷曲(68.09%~79.50%)与 β-折叠(8.36%~16.50%),二者累计占比均高于 85%,且未检测到 α-螺旋结构;β-转角(7.54%~16.09%)与延伸链(0.00%~0.34%)的占比则相对较低。三级结构建模结果表明,该家族成员的空间构象高度保守,暗示其在进化过程中结构功能具有较强的稳定性。

2.9　基于转录组数据对 BGLU 基因表达模式的分析

为了进一步探究 BGLU 基因的作用,我们利用转录组测序数据绘制热图(图 6、图 7、图 8)。结果显示,*BnapChr5G00911530.1*、*BnapChr14G00109690.1*、*BnapChr14G00109610.1* 基因对镉胁迫敏感,经 7 天预处理后仍持续被 Cd 诱导,可能是镉胁迫耐受的核心正向调控基因。值得注意的是,这些基因在 ABA 激素处理组中也呈现类似的上调趋势,暗示 ABA 信号通路可能参与介导镉胁迫响应。此外,部分基因如 *BnapChr5G00911530.1* 在 Cd-3h 和 Cd-6h 处理下表现出时间依赖性诱导,而在对照组中保持低表达水平,进一步证实了其对镉胁迫的特异性响应。另一个基因 *BnapChr18G00813480.1* 在耐渍极端材料 Y81 和不耐渍极端材料 Y129 中受到渍害后均会被诱导,但在耐渍材料 Y81 中的诱导幅度明显强于不耐渍材料 Y129,这表明该基因可能通过剂量效应参与耐渍调控。同样地,*BnapChr1G00886300.1* 在耐渍极端材料 Y81 中受到渍害后会被诱导表达,而在不耐渍材料 Y129 中诱导较弱或几乎不响应,呈现明显的材料特异性差异,这暗示该基因可能是耐渍性的关键正向调控因子。*BnapChr15G00556870.1*、*BnapChr14G00184700.1*、*BnapChr4G01209240.1* 在盐敏感材料 XYPL1 和耐盐材料 YC20 中盐处理后(NaCl 组)表达量均较对照组(CK 组)上调,表现为组成型盐胁迫响应基因。而 *BnapChr10G01225290.1*、*BnapChr14G00143690.1* 在盐敏感材料 XYPL1_NaCl 中上调,但在耐盐材料 YC20_NaCl 和 B1_NaCl 中上调幅度明显减弱或维持低表达,暗示这些基因的高表达可能与盐敏感性相关,或耐盐材料通过抑制其表达来增强耐受性。*BnapChr11G00679580.1*、*BnapChr15G00569080.1* 在盐敏感材料 XYPL1_NaCl 和耐盐材料 B1_NaCl 中均上调。相反,*BnapChr11G00695320.1*、*BnapChr11G00675370.1* 和 *BnapChr14G00109650.1* 在耐盐材料 YC20_NaCl 或 B1_NaCl 中特异性上调,而在盐敏感材料 XYPL1_NaCl 中诱导较弱,表明这些基因是耐盐性的正向调控因子,可作为耐盐育种的重要候选基因。特别值得注意的是,*BnapChr11G00682490.1* 在三种胁迫条件下均被诱导,呈现非生物胁迫广谱响应特性,可能位于多种胁迫信号的交汇点。

这些结果表明,BGLU 基因在应对非生物胁迫时的调控具有复杂性和特异性:不同胁迫类型诱导不同的基因子集,同一基因在不同耐性材料中呈现差异性表达模式,且处理组与对照组间存在显著的表达量差异。这些发现强调了 BGLU 基因在油菜中适应和恢复能力方面的潜在重要性,为分子育种提供了多组学依据。



注:热图展示数据为基因表达量的 Log_2(FPKM+1)标准化值。下同

Note: The data shown in heatmap are Log_2(FPKM+1) normalized values of gene expression levels Same as below

图 6　镉处理条件下 BGLU 的表达谱

Fig. 6　Expression profiling of *B. napus* BGLU family members under cadmium treatment

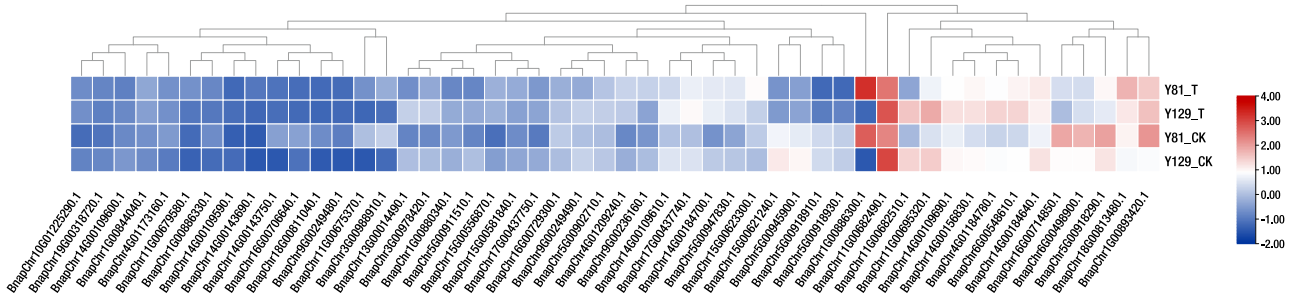


图7 渍害处理条件下BGLU的表达谱

Fig. 7 Expression profiling of *B. napus* BGLU family members under waterlogging stress

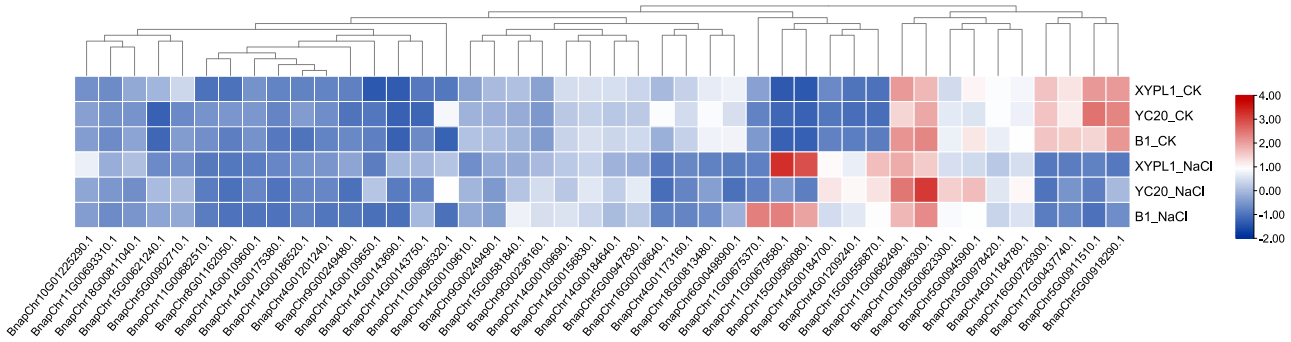


图8 盐处理条件下BGLU的表达谱

Fig. 8 Expression profiling of *B. napus* BGLU family members under salt treatment

2.10 油菜重要TGG克隆及其蛋白亚细胞定位

为了探讨和预测TGG基因可能发挥功能的部位,对油菜TGG1-2、TGG4-5亚支蛋白的亚细胞定位进行检测和观察。为了可视化TGG蛋白的亚细胞定位结果,我们利用农杆菌介导的烟草瞬时表达体系将蛋白渗透至适龄的本氏烟草叶片中,将单独表达GFP空载的烟草叶片作为阳性对照,并在注射60~72 h内于激光共聚焦显微镜下观察叶表皮细胞的绿色荧光信号,结果显示,TGG蛋白主要定位于细胞质内,且在保卫细胞中也有所分布(图9)。

3 讨论与结论

在模式植物拟南芥中,AtTGG共编码6个经典TGG家族基因,不同亚型具有显著的组织特异性与功能分化,适配不同器官的硫苷分解代谢需求:*TGG1*与*TGG2*是植物地上部分的核心功能亚型,在叶片、子叶、茎、花器官中广泛表达,二者功能高度冗余[24,25]。其中*TGG1*还在保卫细胞中特异性高表达,参与ABA介导的气孔关闭过程,调控气孔免疫,阻止病原菌通过气孔入侵[24,44]。*TGG4*与*TGG5*为根系特异性表达的亚型,具有完整的硫苷水解催化活性,负责根系硫苷的分解代谢,参与根系对地下害虫与病原菌的防御、根际微生物互作[27,45]。而*TGG3*和*TGG6*在花器官中特异性表达,为无催化活性的假基因,在进化过程中可能出现功能丢失[28]。

随着植物基因组测序计划的推进,BGLU基因家族已在多种植物物种中被鉴定,但关于十字花科异源多倍体作物中该家族,特别是典型黑芥子酶亚家族的系统演化与功能分化仍缺乏深入认识。例如,拟南芥中含有47个BGLU成员[23],水稻中含有40个*OsBGLU*基因[36],玉米中含有26个*ZmBGLU*成员[34],白菜作为油菜的二倍体祖先含有64个BGLU成员[35]。本研究在甘蓝型油菜(AACC基因组)中鉴定到198个BGLU家族成员,显著多于其祖先种及其他二倍体物种,这与油菜在7500年前由白菜(AA)与甘蓝(CC)天然杂交后经历的全基因组复制(WGD)及后续二倍化过程相符[31]。根据基因平衡假说,参与调控网络的关键基因在复制后倾向于保留多个拷贝以维持剂量平衡[44]。本研究揭示甘蓝型油菜BGLU家族显著扩张,且TGG亚家族(Clade 6)成员高达49个,暗示这些基因在异源多倍体背景下可能通过亚功能化或新功能化适应复杂的代谢调控需求。

系统发育分析显示,油菜BGLU基因家族可明确划分为8个亚家族,其中TGG成员特异性聚集在Clade 6,并可进一步分为与拟南芥*AtTGG1*/*AtTGG2*和*AtTGG4*/*AtTGG5*相对应的两个主要分支。基因复制事件后的功能分化是基因家族进化的重要特征。

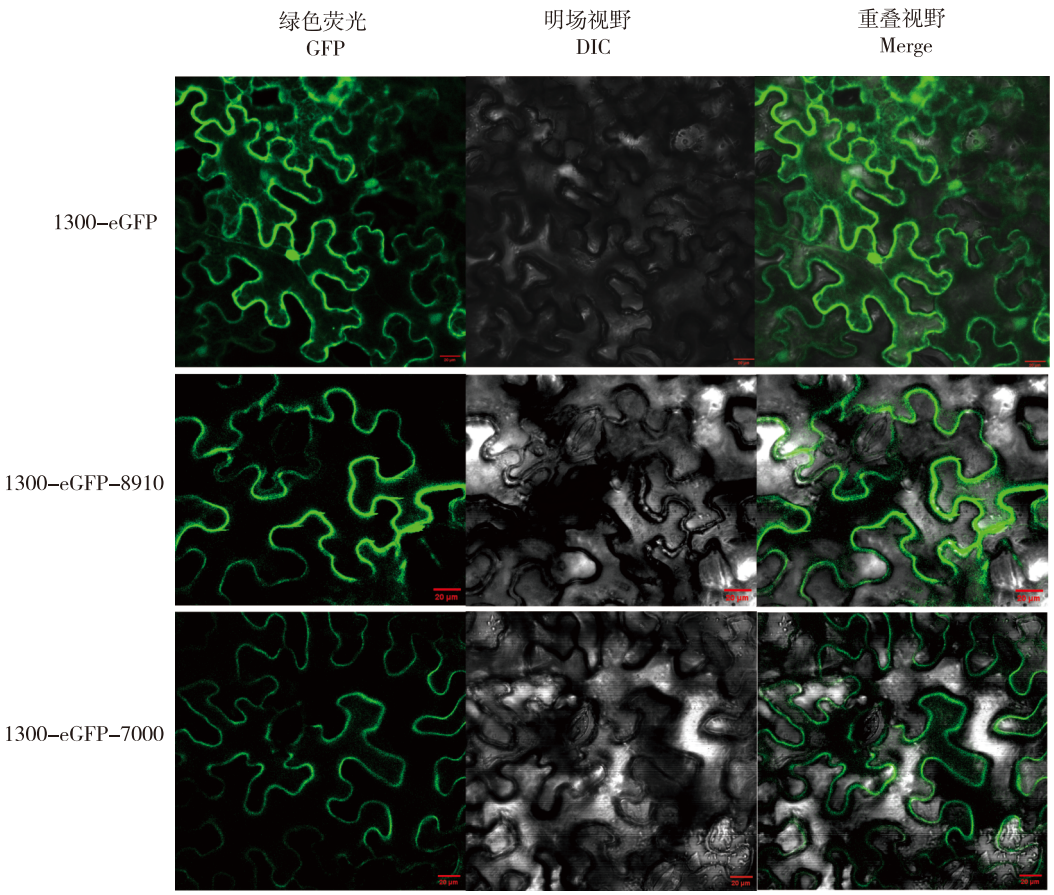


图 9　*BnapChr5G00918910.1*、*BnapChr9G00197000.1* 蛋白的亚细胞定位情况

Fig. 9　Subcellular localization of *BnapChr5G00918910.1* and *BnapChr9G00197000.1* proteins

本研究鉴定的复制基因对(如位于 14 号染色体的串联重复簇)在不同组织和胁迫条件下表现出不平衡的表达模式,暗示这些重复基因可能经历了亚功能化或新功能化。例如,拟南芥中的假基因 *TGG3* 和 *TGG6*(尽管无功能)在花粉中特异性表达[28],这可能反映了油菜在繁殖器官中硫代葡萄糖苷代谢的特化。值得注意的是,尽管大多数 BGLU 基因在各种组织中可检测到表达,但部分成员(如某些内含子贫乏型基因)在转录组数据中未显示明显信号,暗示其在进化过程中可能发生了表达沉默或假基因化。Ka/Ks 分析显示纯化选择(Ka/Ks<1)主导家族进化,特别是催化核心结构域高度保守,这与 BGLU 参与基础代谢和防御的多功能性相一致。基因结构分析显示家族成员外显子数量差异显著(1~10 个),暗示内含子的获得与丢失驱动了 BGLU 家族的进化分化。通常认为内含子贫乏基因可能通过内含子丢失起源于内含子丰富基因[46],这种结构分化可能与功能特化相关,例如参与胁迫响应的基因往往具有较少的内含子以实现快速转录调控[47]。本研究中,TGG 亚家族成员相对保守的基因结构(主要为内含子丰富型)暗示其在硫代葡萄糖苷代谢这一基础防御途径中的功能保守性。

本研究中,*BnapChr5G00911530.1*、*BnapChr14G00109690.1*、*BnapChr14G00109610.1* 基因在镉胁迫下上调,暗示其可能保留了对重金属胁迫的响应功能。众多研究表明,BGLU 基因在植物激素信号转导和逆境响应中扮演重要角色。在拟南芥中,*AtBGLU18*(BG1)和 *AtBGLU33*(BG2)分别从内质网和液泡中水解脱落酸葡萄糖酯,快速释放活性 ABA 以响应干旱和盐胁迫。*AtBGLU26*/PEN2 通过水解吲哚族芥子油苷产生抗真菌物质,参与非寄主抗性[29,48]。本研究中,转录组数据显示 *BnapChr1G00886300.1* 在渍害处理下被诱导,而 *BnapChr15G00556870.1*、*BnapChr14G00568700.1* 和 *BnapChr4G01209240.1* 在盐胁迫下差异表达,暗示油菜 BGLU 基因通过整合激素(ABA、SA、JA)信号参与非生物胁迫响应。

为进一步验证 BGLU 及 TGG 基因功能,仍需开展异源表达、酶活性测定、CRISPR/Cas9 基因编辑及蛋白互作等实验,以明确其在硫代葡萄糖苷代谢网

络中的具体作用。特别是针对Clade 6中响应多种胁迫的TGG基因,可作为候选基因用于标记辅助选择和基因编辑,助力培育具有耐盐、耐重金属及耐渍能力的油菜新品种。综上所述,本研究为甘蓝型油菜BGLU-TGG信号通路的功能研究奠定了理论基础,为通过分子育种手段改良油菜品质与抗逆性提供了重要的基因资源和理论依据。

参考文献:

[1] Bones A M, Rossiter J T. The myrosinase-glucosinolate system, its organisation and biochemistry [J]. Physiol Plant, 1996, 97(1): 194-208. DOI: 10.1111/j.1399-3054.1996.tb00497.x.

[2] Wittstock U, Gershenzon J. Constitutive plant toxins and their role in defense against herbivores and pathogens [J]. Curr Opin Plant Biol, 2002, 5(4): 300-307. DOI: 10.1016/s1369-5266(02)00264-9.

[3] Hopkins R J, van Dam N M, van Loon J J A. Role of glucosinolates in insect-plant relationships and multitrophic interactions [J]. Annu Rev Entomol, 2009, 54: 57-83. DOI: 10.1146/annurev.ento.54.110807.090623.

[4] Abuyusuf M, Rubel M H, Kim H T, et al. Glucosinolates and biotic stress tolerance in Brassicaceae with emphasis on cabbage: a review [J]. Biochem Genet, 2023, 61(2): 451-470. DOI: 10.1007/s10528-022-10269-6.

[5] Fahey J W, Zalcmann A T, Talalay P. The chemical diversity and distribution of glucosinolates and isothiocyanates among plants [J]. Phytochemistry, 2001, 56(1): 5-51. DOI: 10.1016/s0031-9422(00)00316-2.

[6] Halkier B A, Gershenzon J. Biology and biochemistry of glucosinolates [J]. Annu Rev Plant Biol, 2006, 57: 303-333. DOI: 10.1146/annurev.arplant.57.032905.105228.

[7] Sønderby I E, Geu-Flores F, Halkier B A. Biosynthesis of glucosinolates-gene discovery and beyond [J]. Trends Plant Sci, 2010, 15(5): 283-290. DOI: 10.1016/j.tplants.2010.02.005.

[8] Xue J P, Jørgensen M, Pihlgren U, et al. The myrosinase gene family in *Arabidopsis thaliana*: gene organization, expression and evolution [J]. Plant Mol Biol, 1995, 27(5): 911-922. DOI: 10.1007/BF00037019.

[9] Burmeister W P, Cottaz S, Driguez H, et al. The crystal structures of *Sinapis alba* myrosinase and a covalent glycosyl-enzyme intermediate provide insights into the substrate recognition and active-site machinery of an S-glycosidase [J]. Structure, 1997, 5(5): 663-676. DOI: 10.1016/s0969-2126(97)00221-9.

[10] Andréasson E, Jørgensen L B, Höglund A S, et al. Different myrosinase and idioblast distribution in *Arabidopsis* and *Brassica napus* [J]. Plant Physiol, 2001, 127(4): 1750-1763. DOI: 10.1104/pp.010334.

[11] Wittstock U, Burow M. Glucosinolate breakdown in *Arabidopsis*: mechanism, regulation and biological significance [J]. Arab Book, 2010, 8: e0134. DOI: 10.1199/tab.0134.

[12] Rask L, Andréasson E, Ekbom B, et al. Myrosinase: gene family evolution and herbivore defense in Brassicaceae [J]. Plant Mol Biol, 2000, 42(1): 93-114. DOI: 10.1023/A: 1006380021658.

[13] Sharma S, Rani H, Kaur G, et al. Comprehensive overview of glucosinolates in crucifers: occurrence, roles, metabolism, and transport mechanisms: a review [J]. Phytochem Rev, 2025, 24(3): 2417-2444. DOI: 10.1007/s11101-024-10021-5.

[14] Chhajed S, Mostafa I, He Y, et al. Glucosinolate biosynthesis and the glucosinolate-myrosinase system in plant defense [J]. Agronomy, 2020, 10(11): 1786. DOI: 10.3390/agronomy10111786.

[15] Lüthy B, Matile P. The mustard oil bomb: Rectified analysis of the subcellular organisation of the myrosinase system [J]. Biochem Und Physiol Der Pflanz, 1984, 179(1/2): 5-12. DOI: 10.1016/s0015-3796(84)80059-1.

[16] Ratzka A, Vogel H, Kliebenstein D J, et al. Disarming the mustard oil bomb [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2002, 99(17): 11223-11228. DOI: 10.1073/pnas.172112899.

[17] Zhang Y, Talalay P, Cho C G, et al. A major inducer of anticarcinogenic protective enzymes from broccoli: isolation and elucidation of structure [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1992, 89(6): 2399-2403. DOI: 10.1073/pnas.89.6.2399.

[18] Fahey J W, Haristoy X, Dolan P M, et al. Sulforaphane inhibits extracellular, intracellular, and antibiotic-resistant strains of *Helicobacter pylori* and prevents benzo [*a*] pyrene-induced stomach tumors [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2002, 99(11): 7610-7615. DOI: 10.1073/pnas.112203099.

[19] Xiao D. Allyl isothiocyanate, a constituent of cruciferous vegetables, inhibits proliferation of human prostate cancer cells by causing G2/M arrest and inducing apoptosis [J]. Carcinogenesis, 2003, 24(5): 891-897. DOI: 10.1093/carcin/bgg023.

[20] Bones A, Rossiter J. The enzymic and chemically induced decomposition of glucosinolates [J]. Phytochemistry, 2006, 67(11): 1053-1067. DOI: 10.1016/j.phytochem.2006.02.024.

[21] Aires A, Mota V R, Saavedra M J, et al. The antimicro-

bial effects of glucosinolates and their respective enzymatic hydrolysis products on bacteria isolated from the human intestinal tract[J]. J Appl Microbiol, 2009, 106(6): 2086-2095. DOI: 10.1111/j. 1365-2672.2009.04180.x.

[22] Tse G, Eslick G D. Cruciferous vegetables and risk of colorectal neoplasms: a systematic review and meta-analysis [J]. Nutr Cancer, 2014, 66(1): 128-139. DOI:10.1080/01635581.2014.852686.

[23] Xu Z W, Escamilla-Treviño L, Zeng L H, et al. Functional genomic analysis of *Arabidopsis thaliana* glycoside hydrolase family 1[J]. Plant Mol Biol, 2004, 55(3): 343-367. DOI:10.1007/s11103-004-0790-1.

[24] Islam M M, Tani C, Watanabe-Sugimoto M, et al. Myrosinases, TGG1 and TGG2, redundantly function in ABA and MeJA signaling in *Arabidopsis* Guard cells[J]. Plant Cell Physiol, 2009, 50(6): 1171-1175. DOI: 10.1093/pcp/pcp066.

[25] Oumaima K, Hossain M S, Ye W X, et al. TGG1 and TGG2 mutations impair allyl isothiocyanate-mediated stomatal closure in *Arabidopsis thaliana*[J]. Protoplasma, 2025, 262(4): 1023-1027. DOI:10.1007/s00709-025-02039-z.

[26] Barth C, Jander G. *Arabidopsis* myrosinases TGG1 and TGG2 have redundant function in glucosinolate breakdown and insect defense[J]. Plant J, 2006, 46(4): 549-562. DOI:10.1111/j.1365-313x.2006.02716.x.

[27] Andersson D, Chakrabarty R, Bejai S, et al. Myrosinases from root and leaves of *Arabidopsis thaliana* have different catalytic properties[J]. Phytochemistry, 2009, 70(11/12): 1345-1354. DOI: 10.1016/j. phytochem.2009.07.036.

[28] Wang M, Sun X P, Tan D G, et al. The two non-functional myrosinase genes *TGG3* and *TGG6* in *Arabidopsis* are expressed predominantly in pollen[J]. Plant Sci, 2009, 177(4): 371-375. DOI: 10.1016/j. plantsci.2009.06.003.

[29] Bednarek P, Piślewska-Bednarek M, Svatoš A, et al. A glucosinolate metabolism pathway in living plant cells mediates broad-spectrum antifungal defense[J]. Science, 2009, 323(5910): 101-106. DOI: 10.1126/science.1163732.

[30] Lee K H, Piao H L, Kim H Y, et al. Activation of glucosidase *via* stress-induced polymerization rapidly increases active pools of abscisic acid[J]. Cell, 2006, 126(6): 1109-1120. DOI:10.1016/j.cell.2006.07.034.

[31] Chalhoub B, Denoeud F, Liu S Y, et al. Early allopolyploid evolution in the post-Neolithic *Brassica napu s*oilseed genome[J]. Science, 2014, 345(6199): 950-953. DOI:10.1126/science.1253435.

[32] Waszak K, Banaś K, Broniarz J, et al. Multi-trait evaluation of oilseed rape varieties[J]. Plant Soil Environ, 2025, 71(12): 860-872. DOI:10.17221/337/2025-pse.

[33] Mohamed I A A, Shalby N, El-Badri A M, et al. Multipurpose uses of rapeseed (*Brassica napus* L.) crop (food, feed, industrial, medicinal, and environmental conservation uses) and improvement strategies in China [J]. J Agric Food Res, 2025, 20: 101794. DOI: 10.1016/j.jafr.2025.101794.

[34] Gómez-Anduro G, Ceniceros-Ojeda E A, Casados-Vázquez L E, et al. Genome-wide analysis of the beta-glucosidase gene family in maize (*Zea mays* L. var B73) [J]. Plant Mol Biol, 2011, 77(1): 159-183. DOI: 10.1007/s11103-011-9800-2.

[35] Dong X S, Jiang Y, Hur Y. Genome-wide analysis of glycoside hydrolase family 1 β-glucosidase genes in *Brassica rapa* and their potential role in pollen development[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(7): 1663. DOI: 10.3390/ijms20071663.

[36] Opassiri R, Pomthong B, Onkoksoong T, et al. Analysis of rice glycosyl hydrolase family 1 and expression of Os4bglu12 β-glucosidase[J]. BMC Plant Biol, 2006, 6(1): 33. DOI:10.1186/1471-2229-6-33.

[37] Niu F Q, Bu Y N, Tang S M, et al. Comprehensive analysis of glycoside hydrolase family 1 β-glucosidase genes in wheat reveals TaBGLU81 functions in pollen development and fertility conversion[J]. Plant Growth Regul, 2024, 104(1): 215-231. DOI: 10.1007/s10725-024-01117-1.

[38] Li B, Yang Q, Yang L L, et al. A gap-free reference genome reveals structural variations associated with flowering time in rapeseed (*Brassica napus*)[J]. Hortic Res, 2023, 10(10): uhad171. DOI:10.1093/hr/uhad171.

[39] 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 Res, 2002, 30(1): 325-327. DOI:10.1093/nar/30.1.325.

[40] Mao S X, Cui J M, He C J, et al. Bna.GSH1 mediate the ABA signal to promote the tolerance of cadmium in *Brassica napus* L[J]. Ind Crops Prod, 2026, 239: 122312. DOI:10.1016/j.indcrop.2025.122312.

[41] Wang S, Zhu Y. Transcriptome data of individual rapeseed varieties subjected to salt treatment[DS/OL]. 2026. DOI: 10.6084/m9.figshare.31949013.

[42] Liu J. Transcriptome data of stress treatments for some rapeseed varieties[DS/OL]. 2026. DOI: 10.6084/m9.figshare.31948887.

[43] Lynch M, Conery J S. The evolutionary fate and conse-

quences of duplicate genes [J]. Science, 2000, 290 (5494): 1151-1155. DOI: 10.1126/science.290.5494.1151.

[44] Zhang K X, Su H Z, Zhou J X, et al. Overexpressing the myrosinase gene *TGG1* enhances stomatal defense against *Pseudomonas syringae* and delays flowering in *Arabidopsis* [J]. Front Plant Sci, 2019, 10: 1230. DOI: 10.3389/fpls.2019.01230.

[45] Lv Q Q, Li X F, Fan B F, et al. The cellular and subcellular organization of the glucosinolate-myrosinase system against herbivores and pathogens [J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(3): 1577. DOI:10.3390/ijms23031577.

[46] Belshaw R, Bensasson D. The rise and falls of introns [J]. Heredity, 2006, 96(3): 208-213. DOI:10.1038/sj.hdy.6800791.

[47] Jeffares D C, Penkett C J, Bähler J. Rapidly regulated genes are intron poor [J]. Trends Genet, 2008, 24(8): 375-378. DOI:10.1016/j.tig.2008.05.006.

[48] Lipka V, Dittgen J, Bednarek P, et al. Pre- and postinvasion defenses both contribute to nonhost resistance in *Arabidopsis* [J]. Science, 2005, 310 (5751): 1180-1183. DOI:10.1126/science.1119409.

(责任编辑:郭学兰)