

芥菜 *BjuMYB28-2* 的表达及其在抗虫抗病中的功能分析

王珊祎, 王晶静, 章丽利, 郁有健, 朱祝军, 许丽爱*

(浙江农林大学 园艺学院, 杭州 311300)

摘要: 为探究芥菜 *MYB28* 家族成员在生物胁迫防御中的功能, 该研究利用从叶用芥菜中克隆获得的 6 个 *BjuMYB28s* 同源基因, 明确了其亚细胞定位和转录激活活性, 并重点研究了 *BjuMYB28-2* 的表达模式及其对甜菜夜蛾和核盘菌的响应特征。结果表明: (1) *BjuAMYB28-1*、*BjuMYB28-1* 和 *BjuMYB28-3* 与前期研究的 *BjuAMYB28-2* 和 *BjuAMYB28-3* 一致, 均定位于细胞核和细胞质, 而 *BjuMYB28-2* 仅定位于细胞核, 6 个 *BjuMYB28s* 均具有转录激活活性。(2) *BjuMYB28-2* 主要在维管组织中特异性表达, 甜菜夜蛾取食和核盘菌侵染后 12~24 h 叶脉中 GUS 信号减弱, RT-qPCR 进一步验证了核盘菌侵染后其整体表达水平下降。(3) 异源表达 *BjuMYB28-2* 可使拟南芥对甜菜夜蛾与核盘菌的抗性显著提高, 表现为取食幼虫体重降低, 核盘菌侵染病斑缩小。(4) 转录组分析显示, 过表达株系中硫苷生物合成 3 个阶段的多个关键基因均上调表达。综上, *BjuMYB28-2* 可能通过协同上调硫苷生物合成通路关键基因的表达进而提高硫苷含量, 从而增强对甜菜夜蛾和核盘菌的抗性。该研究为理解芥菜 *MYB28* 家族成员的功能分化及其在抗虫抗病中的作用提供了理论依据。

关键词: 芥菜, *BjuMYB28-2*, 硫苷, 甜菜夜蛾, 核盘菌, 生物胁迫

中图分类号: Q943 文献标识码: A 文章编号: 空

Expression of *BjuMYB28-2* in mustard (*Brassica juncea*) and its functional analysis in pest and disease resistance

WANG Shanyi, WANG Jingjing, ZHANG Lili, YU Youjian, ZHU Zhujun, XU Liai*

(College of Horticulture, Zhejiang A & F University, Hangzhou 311300, China)

Abstract: To investigate the functional roles of the *MYB28* family members in biotic stress defense in mustard (*Brassica juncea*), this study utilized six *BjuMYB28s* homologous genes cloned from leaf mustard. Their subcellular localization and transcriptional activation activities were systematically characterized, with particular emphasis on the expression patterns of *BjuMYB28-2* and its responsiveness to *Spodoptera exigua* (beet armyworm) herbivory and *Sclerotinia sclerotiorum* infection. Our experimental results revealed several key findings. (1) Regarding subcellular distribution, *BjuAMYB28-1*, *BjuMYB28-1*, and *BjuMYB28-3* were localized in both the nucleus

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(32072557), 浙江省自然科学基金项目(LY24C150003)。

第一作者: 王珊祎 (1999—), 硕士, 主要从事园艺植物基因功能研究, (E-mail) 2021614022033@stu.zafu.edu.cn。

***通信作者:** 许丽爱, 博士, 讲师, 主要从事园艺植物分子生物学研究, (E-mail) xuliai@zafu.edu.cn。

and the cytoplasm, consistent with previously reported patterns for BjuAMYB28-2 and BjuAMYB28-3. In contrast, BjuBMYB28-2 exhibited an exclusive nuclear localization, suggesting potential functional specialization among these homologs. Notably, all six BjuMYB28 proteins demonstrated transcriptional activation activity in yeast assays, indicating their capacity to function as transcriptional regulators. (2) Tissue-specific expression analysis showed that *BjuBMYB28-2* was predominantly expressed in vascular tissues. Interestingly, GUS staining intensity in leaf veins markedly decreased at 12–24 h post-treatment with either insect feeding or fungal inoculation, implying a rapid down-regulation of promoter activity under stress conditions. This observation was further corroborated by RT-qPCR analysis, which confirmed a significant reduction in overall transcript abundance of *BjuBMYB28-2* following *S. sclerotiorum* infection. (3) Heterologous overexpression of *BjuBMYB28-2* in *Arabidopsis thaliana* conferred significantly enhanced resistance to both insect pests and fungal pathogens. Transgenic lines exhibited reduced larval body weights of *S. exigua* fed on overexpression plants, alongside diminished lesion areas resulting from *S. sclerotiorum* inoculation, compared to wild-type controls. (4) Transcriptomic profiling of overexpression lines revealed coordinated up-regulation of multiple key genes involved in all three stages of glucosinolate biosynthesis, including core structural and regulatory genes. Collectively, these findings strongly suggest that *BjuBMYB28-2* reinforces plant defense by synergistically up-regulating the glucosinolate biosynthetic pathway, leading to increased glucosinolate accumulation, which in turn contributes to enhanced resistance against both chewing insects and necrotrophic fungi. This comprehensive investigation not only provides mechanistic insights into how *BjuBMYB28-2* modulates biotic stress tolerance but also establishes a theoretical foundation for understanding the functional divergence among MYB28 family members in *B. juncea*, with potential implications for breeding programs aimed at improving pest and disease resistance in *Brassica* crops.

Key words: *Brassica juncea*, *BjuBMYB28-2*, glucosinolate, *Spodoptera exigua*, *Sclerotinia sclerotiorum*, biotic stress

芥菜 (*Brassica juncea*) 是我国及亚洲地区重要的蔬菜、油料和调味作物, 类型丰富, 在保障蔬菜周年供应、丰富膳食结构以及出口创汇等方面发挥着重要作用 (万正杰等, 2025)。然而, 芥菜生产常遭受甜菜夜蛾 (*Spodoptera exigua*) 和核盘菌 (*Sclerotinia sclerotiorum*) 等病虫害的严重威胁 (黄健超等, 2021; Khan et al., 2021)。因此, 深入研究芥菜对主要病虫害的抗性机制, 挖掘关键抗性基因, 对于培育抗虫抗病芥菜新品种、保障产业可持续发展具有重要的理论和实践意义。

硫代葡萄糖苷 (简称硫苷) 是十字花科植物特有的次生代谢产物, 在完整植物组织中储存于液泡, 与细胞质中的黑芥子酶空间隔离。组织受损时, 二者接触水解生成异硫氰酸酯等活性物质, 具有广谱抑菌、杀虫和拒食活性, 是十字花科植物化学防御的关键组分 (Bones & Rossiter, 1996; Lv et al., 2022)。硫苷的生物合成主要分为侧链延伸、核心结构合成和次级侧链修饰 3 个阶段 (Sønderby et al., 2010a; Nguyen et al., 2020), 该过程受到多个转录因子的精密调控, 其中 R2R3-MYB 家族转录因子发挥核心作用 (Seo & Kim, 2017; Mitreiter &

Gigolashvili, 2021)。因此，解析 R2R3-MYB 家族转录因子调控硫苷合成的机制，是挖掘芥菜内在抗性基因、开展抗性育种的重要前提。

在模式植物拟南芥中，R2R3-MYB 家族转录因子 AtMYB28、AtMYB29 和 AtMYB76 是脂肪族硫苷合成的关键正调控因子，三者形成复杂的调控网络，其中 AtMYB28 起主导作用（Sønderby et al., 2010b），三者均能直接激活硫苷合成关键基因的启动子，且 AtMYB28 的激活能力最强（Gigolashvili et al., 2007, 2008）。AtMYB28 表达受机械损伤瞬时诱导，其过表达可显著提高硫苷含量并增强对甜菜夜蛾的抗性，而 *myb28* 突变体中长链硫苷几乎缺失，短链硫苷也显著降低（Gigolashvili et al., 2007; Beekwilder et al., 2008）。AtMYB28 与 AtMYB29 功能部分冗余，双突变体中所有脂肪族硫苷完全消失，硫苷合成相关基因表达水平急剧下降（Beekwilder et al., 2008; Sønderby et al., 2010b）。Sønderby 等（2010b）进一步发现，AtMYB76 虽在单突变体中效应不显著，但其在 *myb28 myb29* 双突变体中过表达仍能诱导脂肪族硫苷合成，证明其具有独立于 AtMYB28 和 AtMYB29 的功能且可能通过调控 AtMYB29 参与网络整合。

与模式植物拟南芥不同，十字花科芸薹属植物在进化过程中均丢失了 MYB76，但保留了多个 MYB28 和 MYB29 同源基因（Seo & Kim, 2017）。白菜中分离到 3 个 *BrMYB28* 同源基因，*BrMYB28.1* 和 *BrMYB28.2* 在叶片中表达量最高，在种子、雄蕊和根中不表达，*BrMYB28.3* 未检测到表达，但过表达均可显著提高白菜总硫苷含量（Seo et al., 2016）。Yin 等（2017）从芥蓝中克隆的 *BoaMYB28* 在茎中表达量最高，其通过正调控脂肪族硫苷合成通路中的关键基因 *MAMI/3* 和 *CYP79F1/2*，特异性地提高脂肪族硫苷含量。甘蓝型油菜中共鉴定出 6 个 MYB28 同源基因，表达模式存在差异，其中 *BnA9.MYB28* 与种子硫苷含量的主效 QTL 共定位，过表达可显著提高硫苷含量（Long et al., 2016）。另一研究证实，*BnaC2.MYB28* 通过直接激活多个硫苷合成基因正调控硫苷积累，是控制甘蓝型油菜种子硫苷含量的主效基因，该基因在低硫苷育种中受到了强烈的人工选择（Zhou et al., 2023）。在芥菜中，Augustine 等（2013）从油用芥菜中鉴定出 4 个 MYB28 同源基因，功能互补实验证实其均能恢复拟南芥 *myb28* 突变体的硫苷缺陷表型，表明其在硫苷合成调控中功能保守。通过 RNAi 技术沉默多个 MYB28 同源基因，成功获得种子总脂肪族硫苷含量显著降低的转基因株系，为低硫苷育种提供了重要种质资源。Yang 等（2021）在芥菜 A02 和 A09 染色体上定位到控制硫苷积累的关键位点，发现 MYB28 基因的拷贝数变异是导致芥菜种群硫苷积累差异的重要原因。课题组前期从叶用芥菜中分离鉴定了 6 个 MYB28 同源基因（*BjuAMYB28-1/2/3* 和 *BjuBMYB28-1/2/3*，统称为 *BjuMYB28s*），均在叶片中表达量最高。对 *BjuAMYB28-2*（*BjuAMYB28a*）和 *BjuAMYB28-3* 的初步研究表明，二者编码的蛋白均定位于细胞核和细胞质，受机械损伤诱导表达，且 *BjuAMYB28-3* 在拟南芥中异源表达可显著提高脂肪族硫苷含量（夏瑞，2023；王佳晨等，2026）。

尽管已有上述进展，但芥菜 *BjuMYB28s* 各同源基因的编码蛋白在亚细胞定位和转录激活活性方面是否存在功能分化，以及该家族成员如何响应生物胁迫，在响应昆虫取食和真菌感染中的具体功能尚不明确，这些都是有待深入研究的关键科学问题。因此，本研究在前期获得的 6 个芥菜 *BjuMYB28s* 同源基因基础上，系统分析其编码蛋白的亚细胞定位特征和转录激活活性，重点研究 *BjuBMYB28-2*。通过启动子驱动 *GUS* 表达分析其时空表达模式及响应甜菜

夜蛾取食和核盘菌侵染的响应特征；进一步构建 *BjuBMYB28-2* 过表达转基因拟南芥，评估其对甜菜夜蛾和核盘菌的抗性水平，并通过转录组测序分析其调控硫苷生物合成相关基因的表达变化。

1 材料与方法

1.1 试验材料

该试验以叶用芥菜品种‘建南水东’为材料，种子购自广州市翔启蔬菜种子有限公司。携带 H2B-RFP 核定位标记的转基因烟草及拟南芥野生型 (*Col-0*) 种子由实验室保存。所有植物材料均种植于浙江农林大学园艺学院人工气候培养室内，培养条件为：光周期 14 h 光照/10 h 黑暗，昼温 (24±2) °C、夜温 (20±2) °C，光照强度 8 000 lx。栽培基质按草炭：蛭石：珍珠岩= 3:2:1 的体积比配制。

1.2 主要试剂

限制性内切酶等购自 TaKaRa；高保真酶、同源重组试剂盒、质粒提取及 RNA 提取试剂盒等购自 Vazyme；GUS 染色试剂盒购自北京华越洋生物；pFGC-eGFP、pGBKT7、pBI121 载体由实验室保存；大肠杆菌 DH5 α ，根癌农杆菌 GV3101 和酵母菌 AH109 购自上海唯地生物技术有限公司；核盘菌菌株为实验室保存；甜菜夜蛾幼虫自行购买。引物由杭州有康生物科技有限公司合成，测序由南京擎科生物科技有限公司完成。

1.3 载体构建

前期已获得芥菜 *BjuMYB28s* 的 CDS 序列及克隆 (夏瑞, 2023)。以含该序列的质粒为模板，PCR 扩增目的片段，经同源重组分别连接至 pFGC-eGFP 和 pGBKT7 载体，获得亚细胞定位与转录激活分析载体。

基于 BRAD (<http://brassicadb.cn>) 数据库获得 BjuVB04G02480 (*BjuAMYB28-2*) 起始密码子上游约 2 500 bp 的启动子序列，以‘建南水东’芥菜基因组 DNA 为模板扩增后，同源重组至 pBI121 载体，获得 *GUS* 报告基因融合载体 pBI121-ProBjuBMYB28-2::GUS。另扩增 *BjuBMYB28-2* 的 CDS 片段，同源重组插入 pBI121，获得由 *CaMV35S* 启动子驱动过的表达载体 pBI121-CaMV35S::BjuBMYB28-2。

1.4 烟草瞬时表达

将 pFGC-eGFP-BjuMYB28s 载体转化农杆菌 GV3101，重悬至 OD₆₀₀ 约 1.0，28 °C 活化 2 h。注射 4 周龄烟草叶片，暗培养 2 d 后取注射孔周围组织，于激光共聚焦显微镜 (Leica SP8 MP, 德国) 观察荧光信号。

1.5 转录激活实验

将 pGBKT7-BjuMYB28s、pGBKT7-AD 及 pGBKT7 载体分别转化 AH109 酵母，涂布于 SD/-Trp 平板，28 °C 培养 3 d。挑取 6 个单菌落重悬，点样于 SD/-Trp 和 SD/-Trp-Ade-His 培养基，28 °C 培养 3 d 后观察拍照。

1.6 浸花法转化拟南芥及转基因植株的筛选与鉴定

将 pBI121-ProBjuBMYB28-2::GUS 和 pBI121-CaMV35S::BjuBMYB28-2 的农杆菌浸花法转

化拟南芥，卡那霉素筛选抗性苗，PCR 鉴定阳性植株；提取过表达株系总 RNA，反转录后 RT-qPCR 检测表达水平。

1.7 *BjuBMYB28-2* 的表达分析

对 *BjuBMYB28-2* 启动子-*GUS* 转基因拟南芥进行了 GUS 染色，包括 7 d 子叶期幼苗及开花结荚期的莲座叶、茎生叶、茎、花序和嫩角果。莲座叶期分别进行甜菜夜蛾幼虫接虫和核盘菌接菌处理：每株接 3 头二龄甜菜夜蛾幼虫，或叶片中央接种菌块，于 0、12、24、36 h 取样染色。芥菜接菌试验于四叶一心期接种核盘菌，同时时间点取叶片提取 RNA，反转录后以 *Actin* 为内参进行 RT-qPCR 分析，采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算相对表达量，设 3 次生物学重复。

1.8 甜菜夜蛾幼虫饲喂和核盘菌侵染试验

选取莲座叶期 *BjuBMYB28-2* 过表达株系（3 个）及野生型各 11 株，每株接 3 头二龄甜菜夜蛾幼虫。为减少幼虫逃逸或死亡带来的偏差，仅保留 3 头均完整存活的植株进行统计。饲喂 7 d 后称量幼虫体重，体视显微镜下观察并拍照。

将核盘菌接种于马铃薯葡萄糖琼脂（PDA）培养基平板上，22 °C 暗培养 3~5 d，用 5 mm 打孔器在菌落边缘切取菌丝块作为接种体。选取莲座叶期生长一致的 *BjuBMYB28-2* 过表达株系（3 个）及野生型各 6 株，在各植株第 3~5 片莲座叶中央放置菌丝块，菌丝面朝下，保湿后于 22 °C、16 h 光照/8 h 黑暗培养。接种 24 h 后拍照，用 Image J 软件测定病斑面积（mm²），评估抗性差异。

1.9 转录组测序

于莲座叶期采集 *BjuBMYB28-2* 过表达拟南芥及野生型莲座叶，委托武汉迈特维尔生物科技有限公司（MetWare Biotechnology Co., Ltd.）进行 Illumina 转录组测序，以拟南芥参考基因组（TAIR10）为参考，差异表达基因的筛选标准为 $|\log_2FC| > 1$ 且 $P < 0.05$ 。

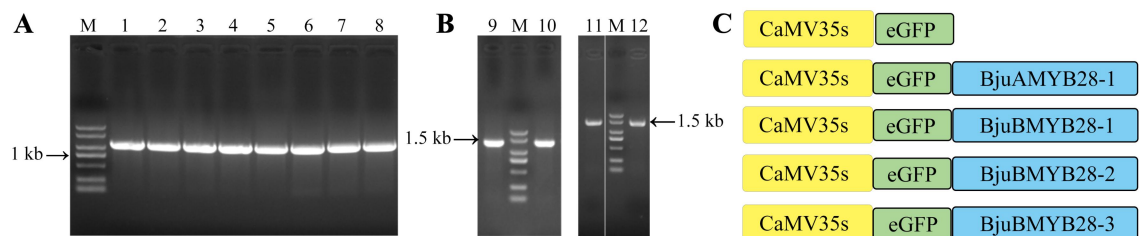
1.10 数据分析

使用 GraphPad Prism 8.0.2 软件进行统计分析。组间比较采用单因素方差分析（one-way ANOVA），若整体检验结果显著则进一步采用最小显著性差异（least significant difference, LSD）法进行事后多重比较，以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 *BjuMYB28s* 的亚细胞定位和转录激活活性

为分析 *BjuMYB28s* 的亚细胞定位，构建了 *BjuAMYB28-1*、*BjuBMYB28-1*、*BjuBMYB28-2* 和 *BjuBMYB28-3* 与 eGFP 融合的表达载体 pFGC-eGFP-*BjuMYB28s*（图 1），并通过农杆菌注射法在表达核定位标记 H2B-RFP 的烟草表皮细胞中瞬时表达。结果（图 2）显示，eGFP-*BjuBMYB28-2* 的绿色荧光与红色荧光完全重合，表明其仅定位于细胞核；而 *BjuAMYB28-1*、*BjuBMYB28-1* 和 *BjuBMYB28-3* 在细胞核和细胞质中均有绿色荧光，表明它们同时定位于细胞核和细胞质。

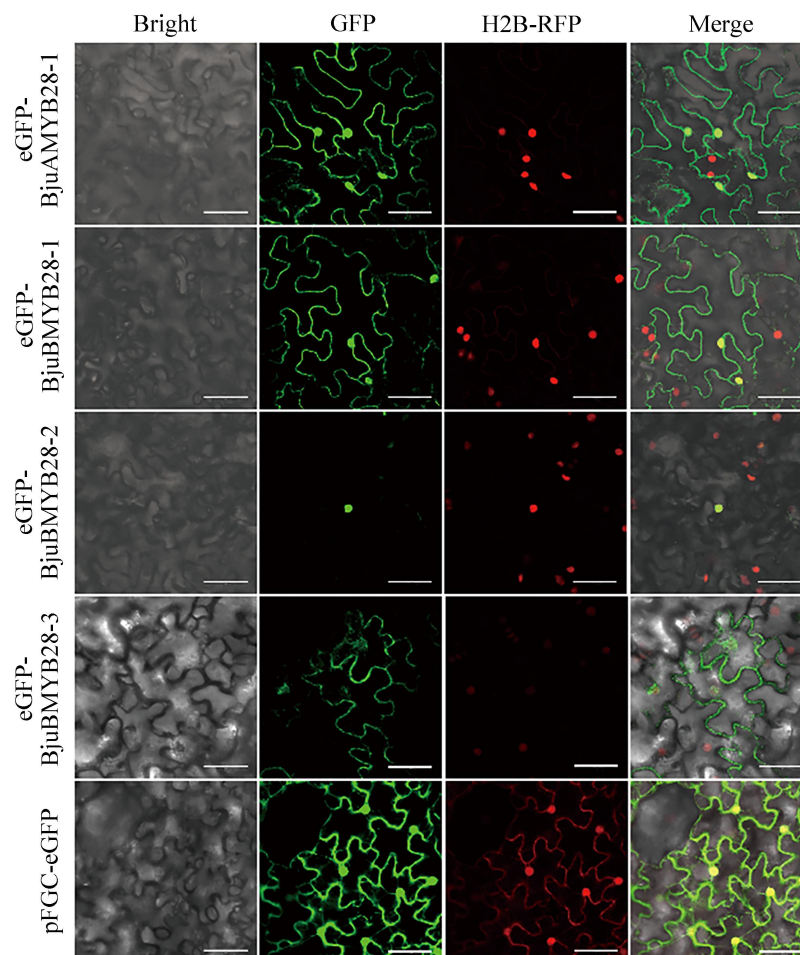


A. CDS 序列 PCR 扩增产物；**B.** 亚细胞定位表达载体转化农杆菌菌液 PCR 验证；**C.** 亚细胞定位表达载体模式图；**1、2、9.** *BjuBMYB28-3*；**3、4、10. *BjuAMYB28-1*；**5、6、11. *BjuBMYB28-1*；**7、8、12. *BjuBMYB28-2*；**M.** DL2000 DNA Marker。******

A. PCR amplification products of CDS sequences; **B.** Validation of *Agrobacterium*-mediated transformation of subcellular localization expression vectors by colony PCR; **C.** Schematic diagram of the subcellular localization expression vector; **1, 2, 9.** *BjuBMYB28-3*; **3, 4, 10. *BjuAMYB28-1*; **5, 6, 11. *BjuBMYB28-1*; **7, 8, 12. *BjuBMYB28-2*; **M.** DL2000 DNA Marker.******

图 1 *BjuMYB28s* 的 CDS 序列扩增和亚细胞定位表达载体的构建

Fig. 1 Amplification of the CDS sequences of *BjuMYB28s* and construction of subcellular localization expression vectors



Bright. 白场；**GFP.** 绿色荧光信号；**H2B-RFP.** 核定位红色荧光信号；**Merge.** 合并图像。标尺 = 50 μm 。

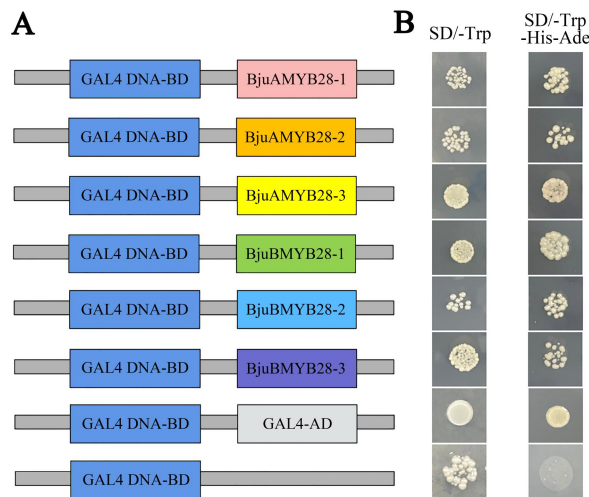
Bright. Bright field; **GFP.** Green fluorescent signal; **H2B-RFP.** Nuclear-localized red fluorescent signal; **Merge.** Merged image. Bars = 50 μm .

图 2 芥菜 *BjuMYB28s* 融合蛋白的亚细胞定位

Fig. 2 Subcellular localization of *BjuMYB28s* fusion proteins

2.2 BjuMYB28s 的转录激活活性

扩增 6 个 *BjuMYB28s* 的 CDS 序列，构建至 pGBKT7 载体，经 PCR 和测序验证，获得 BjuMYB28s 与 GAL4 的 DNA 结合结构域融合表达的载体 pGBKT7-BjuMYB28s（图 3：A）。以 pGBKT7-AD 为阳性对照，pGBKT7 为阴性对照，将载体 pGBKT7-BjuMYB28s 分别转化 AH109 酵母。结果显示，所有转化子在 SD/-Trp 培养基上均能生长；在 SD/-Trp-His-Ade 培养基上，除阴性对照外，其余均能正常生长（图 3：B）。以上结果表明，芥菜的 6 个 *MYB28* 同源基因的编码蛋白 BjuMYB28s 均具有转录激活活性，符合转录因子特性。



A. 转录激活表达载体模式图（GAL4 DNA-BD. GAL4 DNA 结合结构域；GAL4-AD. GAL4 的转录激活结构域；BjuMYB28s. 相应基因的 CDS 序列）；B. 经转化的酵母菌在不同筛选培养基上的生长状态。

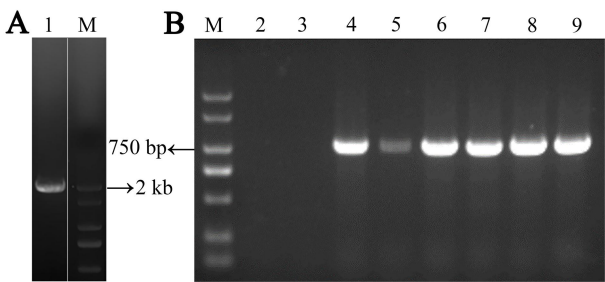
A. Schematic diagram of the transcriptional activation expression vector (GAL4 DNA-BD. GAL4 DNA-binding domain; GAL4-AD. Transcriptional activation domain of GAL4; BjuMYB28s. The CDS sequences of the corresponding genes); B. Growth status of transformed yeast strains on different selective media.

图 3 BjuMYB28s 的转录激活活性检测

Fig. 3 Transcriptional activation activity assay of BjuMYB28s

2.3 成功构建 *BjuBMYB28-2* 启动子融合 *GUS* 转基因植株

从芸薹属植物基因组数据库 BRAD 中获取 *BjuBMYB28-2*（BjuVB04G02480）基因起始密码子上游约 2 500 bp 的启动子参考序列，据此设计特异性引物，通过 PCR 扩增与测序获得长度为 1 852 bp 的启动子序列（图 4：A）。利用同源重组法将该启动子片段替换 pBI121 载体中的 *CaMV35S* 启动子，经 PCR 及测序验证，成功构建由 *BjuBMYB28-2* 启动子驱动 *GUS* 报告基因的表达式载体 pBI121-ProBjuBMYB28-2::GUS。将该载体通过农杆菌介导的浸花法转化野生型拟南芥，经卡那霉素抗性筛选和 PCR 鉴定，最终获得 6 个阳性转基因株系（图 4：B）。



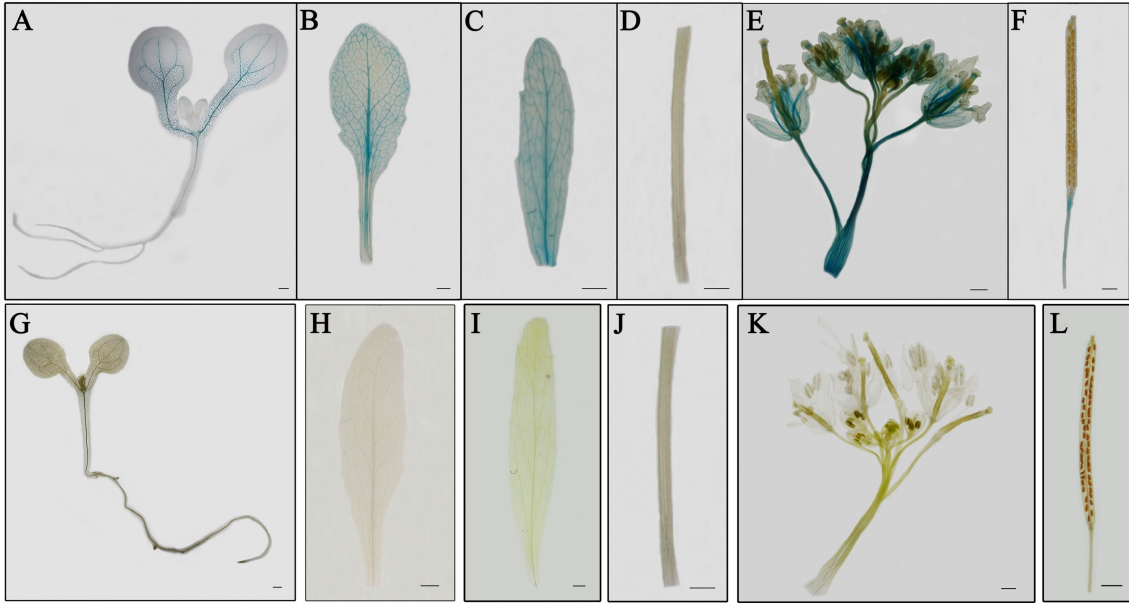
A. *BjuBMYB28-2* 启动子序列扩增; B. 转基因拟南芥 T₁ 代单株 PCR 验证; M. DL2000 DNA Marker; 1. *BjuBMYB28-2* 启动子 PCR 产物; 2. ddH₂O; 3. 野生型拟南芥; 4-9. 转基因拟南芥 PCR 产物。
A. Amplification of the *BjuBMYB28-2* promoter sequence; B. PCR validation of individual T₁ generation transgenic *Arabidopsis thaliana* plants; M. DL2000 DNA Marker; 1. PCR products of the *BjuBMYB28-2* promoter; 2. ddH₂O; 3. Wild-type *Arabidopsis thaliana*; 4-9. PCR products of transgenic *Arabidopsis thaliana*.

图 4 *BjuBMYB28-2* 启动子扩增和转基因拟南芥的鉴定

Fig. 4 Amplification of the *BjuBMYB28-2* promoter and identification of transgenic *Arabidopsis thaliana* plants

2.4 *BjuBMYB28-2* 的时空表达模式分析

在正常生长条件下对上述阳性转基因植株进行 GUS 组织化学染色分析, 结果显示, 子叶期幼苗中, GUS 信号集中于子叶叶脉和下胚轴上端, 根部无表达 (图 5: A)。开花期植株中, 莲座叶和茎生叶的主脉及次级叶脉均见明显 GUS 表达 (图 5: B, C), 茎部无信号 (图 5: D); 花蕾中 GUS 活性显著, 主要分布于花序梗、花柄、花丝和花瓣脉 (图 5: E), 角果柄亦有较弱活性 (图 5: F)。以上结果表明, *BjuBMYB28-2* 启动子可驱动 *GUS* 基因在维管及输导组织中特异性表达, 包括子叶叶脉、叶片叶脉、花序梗、花柄、花丝、花脉以及角果柄等部位。



A-F. *BjuBMYB28-2* 启动子驱动 *GUS* 表达的转基因拟南芥; G-L. 野生型拟南芥; A, G. 幼苗; B, H. 莲座叶; C, I. 茎生叶; D, J. 茎; E, K. 花序; F, L. 角果。标尺 = 400 μm。
A-F. Transgenic *Arabidopsis thaliana* expressing *GUS* driven by the *BjuBMYB28-2* promoter; G-L. Wild-type *Arabidopsis thaliana*; A, G. Seedlings; B, H. Rosette leaves; C, I. Cauline leaves; D, J. Stems; E, K. Inflorescences; F, L. Siliques. Bars = 400 μm.

图 5 *BjuBMYB28-2* 的时空表达模式分析

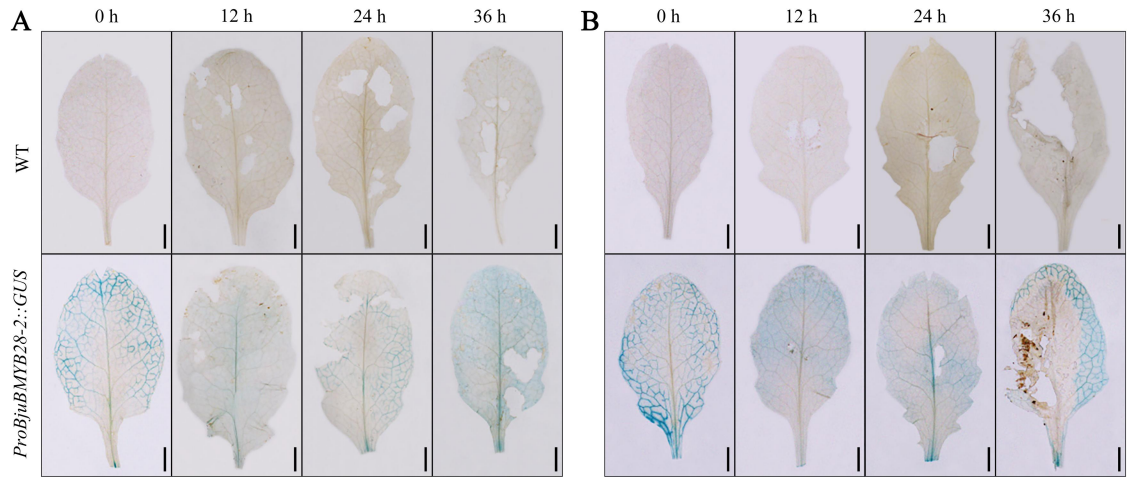
Fig. 5 Analysis of the spatiotemporal expression pattern of *BjuBMYB28-2*

2.5 生物胁迫处理诱导 *BjuBMYB28-2* 表达的模式分析

为探究 *BjuBMYB28-2* 是否响应生物胁迫, 对莲座叶期拟南芥叶片分别进行甜菜夜蛾幼虫接虫和核盘菌接菌处理。GUS 染色显示, 接虫前 *BjuBMYB28-2* 主要表达于叶脉。接虫 12 h 和 24 h 时, 叶脉中 GUS 信号明显减弱; 至 36 h 时, 信号呈弥散状分布于叶肉组织 (图 6: A),

表明甜菜夜蛾取食可抑制其在叶脉表达，并可能诱导其在叶肉组织中表达。核盘菌接菌呈现类似趋势：接菌 12 h 和 24 h 时，叶脉 GUS 信号减弱，叶肉中出现较弱信号；接菌 36 h 时，叶片边缘次级叶脉中可见较强表达（图 6：B），说明核盘菌侵染同样抑制 *BjuBMYB28-2* 在叶脉中表达并可能诱导其在叶肉中表达。

为进一步验证核盘菌接菌处理对 *BjuBMYB28-2* 表达的影响，在芥菜叶片接种核盘菌 12 h、24 h 和 36 h 时进行 RT-qPCR 分析。结果（图 7）显示，接菌后整体表达水平平均低于对照组。接菌 12 h 时表达量略有下降，但未达到显著水平；24 h 时表达显著低于对照组；36 h 时虽有所回升，但仍低于对照。这进一步验证了核盘菌处理对 *BjuBMYB28-2* 表达的抑制作用。

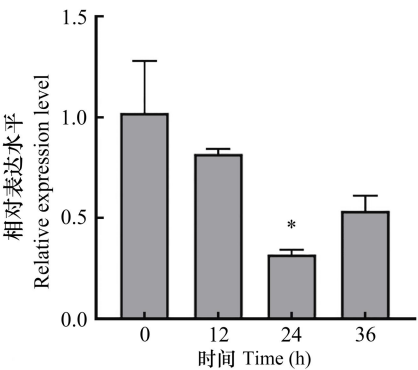


A. *ProBjuBMYB28-2::GUS* 响应甜菜夜蛾幼虫取食后的 GUS 染色；B. 核盘菌侵染后的 GUS 染色。标尺 = 1 mm。

A. GUS staining of *ProBjuBMYB28-2::GUS* after feeding by beet armyworm larvae; B. GUS staining after infection by *Sclerotinia sclerotiorum*. Bars = 1 mm.

图 6 *BjuBMYB28-2* 响应虫害和核盘菌侵染的表达模式

Fig. 6 Expression patterns of *BjuBMYB28-2* in response to insect herbivory and *Sclerotinia sclerotiorum* infection



*表示差异显著 ($P < 0.05$)。下同。

* indicates significant difference ($P < 0.05$). The same below.

图 7 芥菜叶片接种核盘菌后不同时间点 *BjuBMYB28-2* 的相对表达量

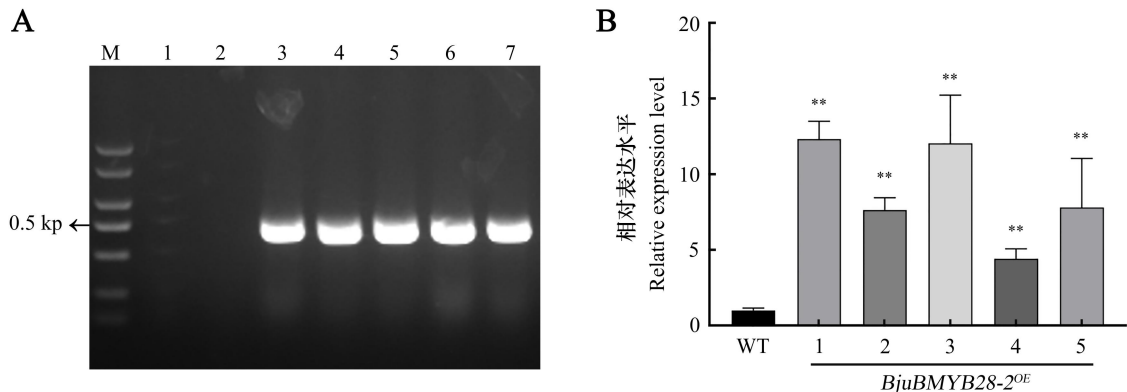
Fig. 7 Relative expression levels of *BjuBMYB28-2* in mustard leaves at different time points after inoculation with *Sclerotinia sclerotiorum*

2.6 *BjuBMYB28-2* 过表达转基因植株的构建与鉴定

成功构建由 *CaMV35S* 启动子驱动的 *BjuBMYB28-2* 过表达载体, 转化拟南芥后获得 5 株阳性植株 (图 8: A)。RT-qPCR 结果显示, 转基因植株中 *MYB28* (内源 *AtMYB28* 与异源 *BjuBMYB28-2* 总和) 表达量均显著高于野生型, 其中株系 *BjuBMYB28-2^{OE-1}* 和 *BjuBMYB28-2^{OE-3}* 表达量达野生型 10 倍以上, *BjuBMYB28-2^{OE-5}* 株系约 7.5 倍 (图 8: B), 表明已成功获得 *BjuBMYB28-2* 过表达转基因拟南芥。

2.7 过表达 *BjuBMYB28-2* 增强了拟南芥对甜菜夜蛾取食和核盘菌侵染的抗性

为探究 *BjuBMYB28-2* 在生物胁迫响应中的功能, 以过表达转基因拟南芥和野生型为材料, 进行甜菜夜蛾幼虫饲喂和核盘菌侵染实验。甜菜夜蛾幼虫饲喂 7 d 后, 取食转基因植株的幼虫体型小于取食野生型的幼虫 (图 9: A)。体重统计显示, 取食转基因植株的幼虫平均体重均低于野生型组, 其中取食 *BjuBMYB28-2^{OE-5}* 株系的幼虫体重显著降低 (图 9: B)。核盘菌接种 24 h 后, 野生型叶片开始出现黄化和水渍状, 病斑面积较大; *BjuBMYB28-2^{OE}* 转基因植株叶片受害程度较轻, 病斑扩展受限 (图 9: C)。病斑面积测定表明, 转基因植株的平均病斑面积均小于野生型, 其中株系 *BjuBMYB28-2^{OE-3}* 的病斑面积显著小于野生型 (图 9: D)。以上结果说明, 过表达 *BjuBMYB28-2* 能够增强拟南芥对甜菜夜蛾取食和核盘菌侵染的抗性。

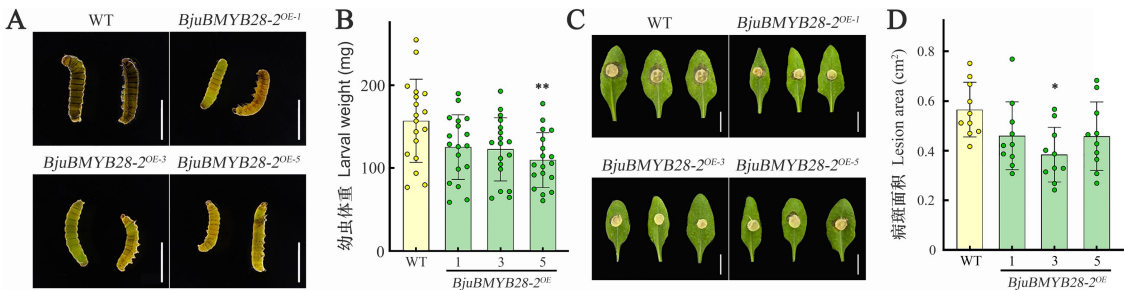


A. 转基因阳性苗的 PCR 鉴定 M. DL2000 DNA Marker; 1. ddH₂O; 2. WT; 3-7. *BjuBMYB28-2^{OE}*; B. *MYB28* 相对表达量分析。**表示差异极显著 ($P < 0.01$), 下同。

A. PCR identification of transgenic positive seedlings; M. DL2000 DNA Marker; 1. ddH₂O; 2. WT; 3-7. *BjuBMYB28-2^{OE}*; B. Relative expression analysis of *MYB28*. ** indicates extremely significant difference ($P < 0.01$), the same below.

图 8 *BjuBMYB28-2* 过表达拟南芥 T₁ 代阳性苗的鉴定及表达水平检测

Fig. 8 Identification and expression level analysis of T₁ generation *Arabidopsis thaliana* positive seedlings overexpressing *BjuBMYB28-2*



A. 取食野生型与 *BjuBMYB28-2^{OE}* 植株 7 d 后甜菜夜蛾幼虫的生长情况, 标尺=5 mm; B. 对应幼虫的体重统计; C. 野生型与 *BjuBMYB28-2^{OE}* 植株叶片接种核盘菌 24 h 后的病斑表型, 标尺=1 cm; D. 对应病斑面积统计。
A. Growth status of beet armyworm larvae after feeding on wild-type and *BjuBMYB28-2^{OE}* plants for 7 days, bars = 5 mm; B. Statistical analysis of larval weights; C. Lesion phenotypes of wild-type and *BjuBMYB28-2^{OE}* plant leaves at 24 h post-inoculation with *Sclerotinia sclerotiorum*, bars = 1 cm; D. Statistical analysis of lesion areas.

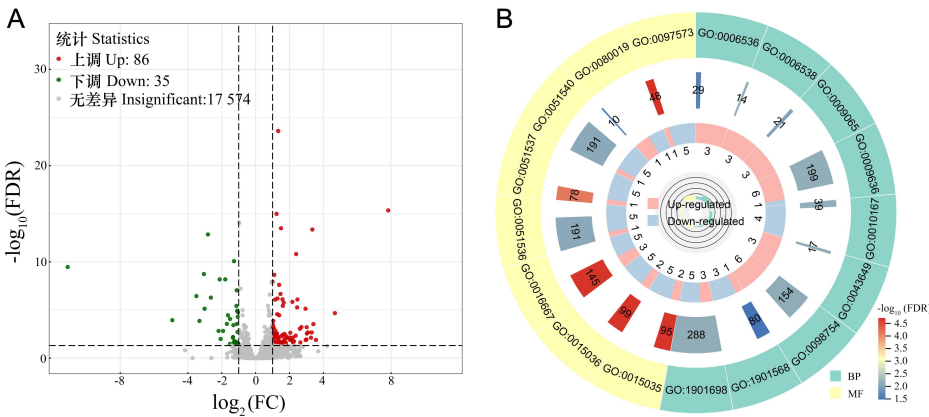
图 9 过表达 *BjuBMYB28-2* 增强拟南芥对甜菜夜蛾取食和核盘菌侵染的抗性

Fig. 9 Overexpression of *BjuBMYB28-2* enhances resistance of *Arabidopsis thaliana* to beet armyworm larvae feeding and *Sclerotinia sclerotiorum* infection

2.8 *BjuBMYB28-2* 协同上调硫苷生物合成相关基因的表达

为探究过表达 *BjuBMYB28-2* 对植株转录水平的影响, 对 *BjuBMYB28-2^{OE}-3* 与野生型叶片进行 RNA-seq 分析。以 $|\log_2FC| > 1$ 且 $P < 0.05$ 为筛选标准, 共鉴定出 121 个差异表达基因, 其中上调 86 个, 下调 35 个 (图 10: A)。GO 富集分析显示 (图 10: B), 差异基因主要富集于氧化还原活性相关条目, 如谷胱甘肽氧化还原酶活性 (GO:0097573) 和铁-硫簇结合 (GO:0051536), 以下调基因为主; 同时还富集于胁迫响应相关条目, 包括有毒物质响应 (GO:0009636) 和解毒作用 (GO:0098754), 以上调基因为主; 谷氨酸分解代谢 (GO:0006536) 及二羧酸分解代谢 (GO:0043649) 等相关条目中差异基因均上调。KEGG 通路富集分析表明, 差异基因显著富集于丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢通路 (ko00250), 涉及 5 个差异基因, 其中 4 个上调, 1 个下调。

值得注意的是, 硫苷生物合成通路中各基因的表达变化未达到 $|\log_2FC| > 1$ 的差异阈值, 但在 *BjuBMYB28-2^{OE}-3* 植株中多个基因的表达水平普遍高于野生型。其中, 侧链延伸阶段的 9 个基因中有 7 个呈上调趋势, 包括 *MAM1/3*、*BCAT4*、*IPM1/2*、*ILL1* 和 *IMDH1* (图 11: A); 核心结构合成阶段的 18 个基因中有 16 个呈上调趋势, 分别为 *CYP79F1/2*、*CYP79B2/3*、*CYP83A1*、*CYP83B1*、*CYTB5C*、*GGP1*、*GSTF9*、*GSTU20*、*SUR1*、*UGT74B1*、*UGT74C1* 和 *SOT16/17/18* (图 11: B); 侧链修饰阶段的 12 个基因中有 8 个呈上调趋势, 包括 *CYP81F2*、*IGMT1/5*、*FMO_{GS-OX1/2/3/7}* 和 *GSL-OH* (图 11: C)。上述结果表明, *BjuBMYB28-2* 可能通过广泛但微弱的转录激活作用, 协同上调硫苷合成通路中多个关键基因的表达, 累计增强硫苷的积累, 从而增强拟南芥对甜菜夜蛾幼虫取食及核盘菌侵染的抗性。



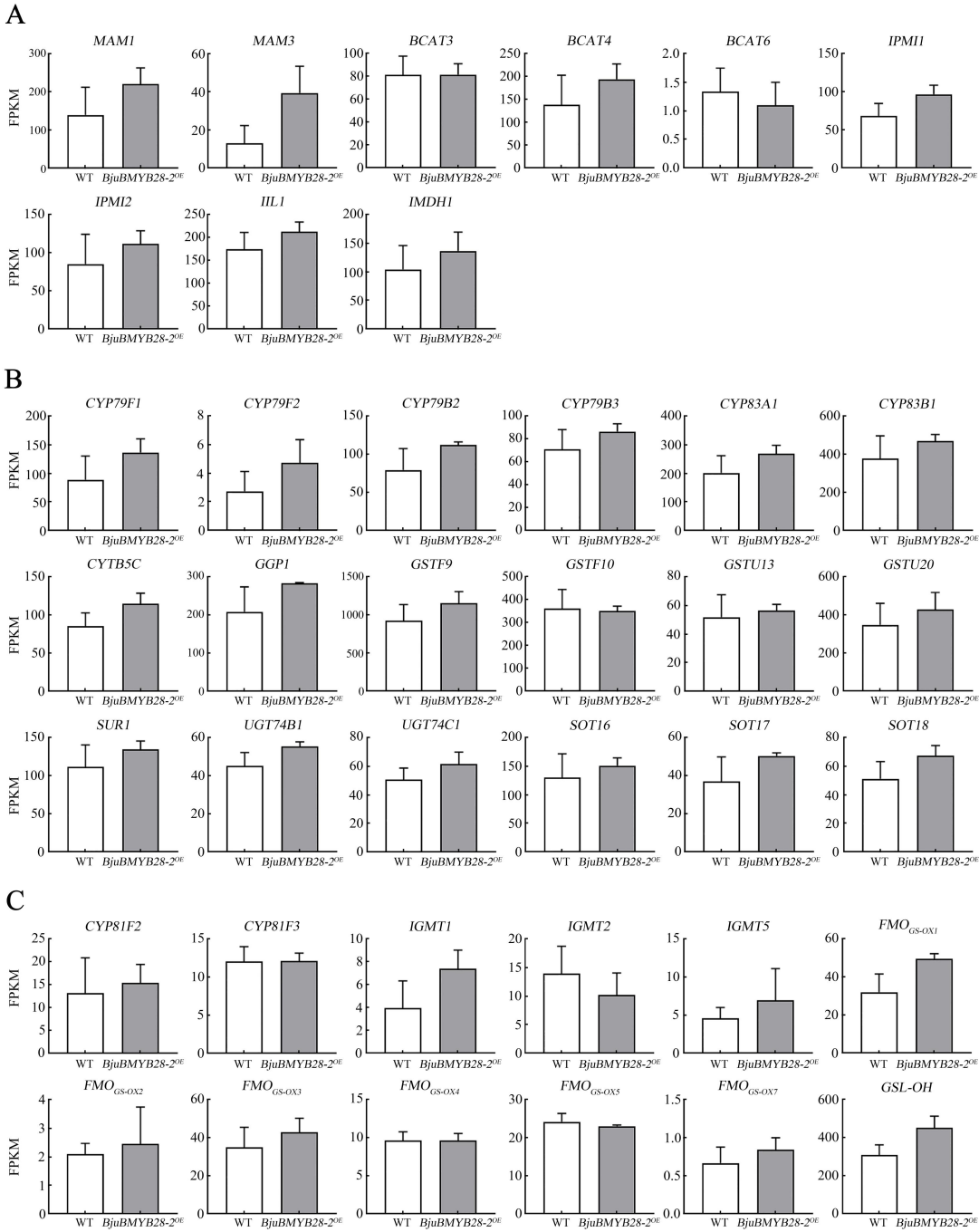
A. 差异表达基因火山图; B. 差异表达基因 GO 富集分析。从外到内依次为 GO 条目, 背景基因中该分类的数目与 FDR (条形越长基因越多, 条形颜色越红富集越显著); 上下调基因比例 (浅红色为上调比例, 浅蓝

色为下调比例，下方标注具体数值）。

A. Volcano plot of differentially expressed genes; **B.** GO enrichment circle plot of differentially expressed genes. From outer to inner circles: GO terms; the number of genes in each category in the background genome and FDR values (longer bars indicate more genes, redder colors indicate more significant enrichment); the proportion of up-regulated and down-regulated genes (light red for up-regulated proportion, light blue for down-regulated proportion, with specific values displayed below).

图 10 *BjuBMYB28-2* 过表达拟南芥叶片转录组差异表达分析

Fig. 10 Transcriptome differential expression analysis of *BjuBMYB28-2* overexpression *Arabidopsis thaliana* leaves



A. 侧链延伸阶段; **B.** 核心结构合成阶段; **C.** 侧链修饰阶段。图中数据为各基因平均 FPKM 值 ($n = 3$)。

A. Side chain elongation stage; **B.** Core structure synthesis stage; **C.** Side chain modification stage. Data shown are mean FPKM values for each gene ($n = 3$).

图 11 *BjuBMYB28-2* 异源表达拟南芥叶片中硫苷生物合成相关基因的表达分析

Fig. 11 Expression analysis of glucosinolate biosynthesis-related genes in leaves of *Arabidopsis thaliana* heterologously expressing *BjuBMYB28-2*

3 讨论与结论

芥菜为异源四倍体（AABB），其基因组由白菜（AA）和黑芥（BB）杂交加倍而成，导致多数基因存在多个同源拷贝（Yang et al., 2021）。课题组前期从叶用芥菜中鉴定并克隆出 6 个 *MYB28* 同源基因，数量多于油用芥菜中报道的 4 个（Augustine et al., 2013; 陆俊杏等, 2017），其中 *BjuAMYB28-3* 和 *BjuBMYB28-1* 为叶用芥菜新鉴定成员，其余 4 个基因与印度油用芥菜相应序列存在差异，表明芥菜不同变种间 *MYB28* 基因家族在序列水平上可能存在遗传分化。

系统进化分析显示，6 个 *BjuMYB28s* 均具有典型的 R2R3-MYB 结构域，与 *AtMYB28* 高度同源，暗示功能保守（夏瑞，2023）。转录激活活性是转录因子发挥调控功能的关键属性。拟南芥中 *AtMYB28*、*AtMYB29* 和 *AtMYB76* 均具有转录激活活性，其中 *AtMYB28* 的激活能力最强（Gigolashvili et al., 2007, 2008; Sønderby et al., 2010b）。在芸薹属植物中，*MYB28* 的转录激活功能同样保守。白菜 *BrMYB28*、芥蓝 *BoaMYB28* 及甘蓝型油菜 *BnaA9.MYB28* 均能上调硫苷合成相关基因的表达（Long et al., 2016; Seo et al., 2016; Yin et al., 2017）；*BnaC2.MYB28* 不仅具有激活能力，还存在等位基因间的功能差异，高硫苷亲本 G120 来源的等位基因对部分靶基因的激活能力显著强于低硫苷亲本 ZY50 来源的等位基因（Zhou et al., 2023）。本研究发现叶用芥菜中 6 个 *BjuMYB28s* 均具有转录激活能力，进一步表明芸薹属 *MYB28* 作为典型的 R2R3-MYB 转录因子，具备调控下游靶基因表达的基本功能，但各成员之间是否存在激活能力差异仍有待探究。亚细胞定位方面，前期研究发现 *BjuAMYB28-2* 和 *BjuAMYB28-3* 定位于细胞核与细胞质（王佳晨等, 2026; 夏瑞, 2023）。本研究进一步发现，*BjuBMYB28-2* 仅定位于细胞核，而其余 3 个成员（*BjuAMYB28-1*、*BjuBMYB28-1*、*BjuBMYB28-3*）则同时定位于细胞核和细胞质。已有研究报道，*AtMYB28* 在拟南芥原生质体中定位于细胞核（Gigolashvili et al., 2007），*BjuB.MYB28.2*（对应本研究 *BjuBMYB28-3*）在洋葱表皮细胞中也仅定位于细胞核（Augustine et al., 2013）。上述定位差异可能与实验材料或检测体系不同有关，也可能反映了真实的功能分化。值得注意的是，*BjuBMYB28-2* 在烟草表皮细胞中表现出独特的核定位模式，提示其可能仅在细胞核内发挥转录调控作用，而其他 5 个成员可能兼具核内转录调控与细胞质中未知的生物学功能。

已有研究表明，芥菜 *MYB28* 家族成员对硫苷合成的贡献存在差异。Augustine 等（2013）从表达水平和细胞特异性推测油用芥菜中 A 基因组的 *MYB28* 可能发挥更强功能，Yang 等（2021）通过 GWAS 和 CNV 分析直接证明 A02 和 A09 染色体上的 *MYB28* 是控制硫苷积累的主效位点。在拟南芥中，*AtMYB28* 主要在维管组织中表达，是脂肪族硫苷合成的核心调控因子（Gigolashvili et al., 2007; Sønderby et al., 2010）。*AtMYB29* 和 *AtMYB76* 也参与调控，但贡献相对较小，其中 *AtMYB76* 需极高过表达水平才能达到与 *AtMYB29* 相近的效果（Gigolashvili et al., 2008; Sønderby et al., 2010）。在芸薹属植物中，*MYB28* 对硫苷的贡献同样存在差异。白菜中 *BrMYB28.1* 贡献最大，过表达可使总硫苷含量提高约 4.7 倍，*BrMYB28.2* 次之，*BrMYB28.3* 虽正常条件下不表达，但过表达后仍具功能（Seo et al., 2016）；甘蓝型油菜中

BnaC2.MYB28 和 *BnaA9.MYB28* 均为控制硫苷积累的主效基因 (Long et al., 2016; Zhou et al., 2023)。本研究聚焦于叶用芥菜 B04 染色体上的 *BjuBMYB28-2*, 发现其主要在维管组织中表达, 包括子叶叶脉、叶片主脉及次级叶脉, 该模式与拟南芥 *AtMYB28* 在维管束中的表达相似 (Gigolashvili et al., 2007), 但与油用芥菜中同源基因 *BjuB.MYB28.1* 在叶片边缘和叶肉中表达, 叶脉中无信号的特征不同 (Augustine et al., 2013)。鉴于硫苷主要在维管组织中合成 (Nintemann et al., 2017), 芥菜不同变种间同源基因表达模式的差异可能预示着功能的分化。此外, *BjuBMYB28-2* 在花柄、花丝和花瓣脉中均有较强表达, 暗示其可能在生殖生长期防御中发挥作用。

研究发现, 甜菜夜蛾取食可显著改变 *BjuBMYB28-2* 的表达模式。取食初期叶脉中 GUS 信号减弱, 与转录组数据显示的 *BjuMYB28s* 普遍下调一致 (Xia et al., 2023)。同为脂肪族硫苷调控因子的 *BjuMYB29s* 在取食后却被诱导表达 (Zhang et al., 2025), 表明 *MYB28* 与 *MYB29* 家族成员在响应虫害胁迫时可能扮演不同角色。与此不同的是, 有研究表明白菜 *MYB28* 在甜菜夜蛾取食后呈上调表达, 其表达量在取食 1 h 后显著升高, 48 h 后达到峰值, 同时硫苷合成相关基因也同步上调, 促进硫苷积累 (郝娇娇等, 2023)。本研究结果与上述报道存在差异, 推测可能源于物种间的功能分化, 也可能是本研究首次取样为 12 h, 未能捕捉到取食初期的瞬时上调表达。尽管如此, *BjuBMYB28-2* 在取食后期叶肉组织中的表达有所增强。这一动态变化可能与硫苷的“源-库”转运机制相关 (Nour-Eldin & Halkier, 2009)。拟南芥中, 硫苷在维管组织 (源) 合成后转运至叶肉和叶片边缘 (库) 储存 (Shroff et al., 2008)。当叶片遭受虫害或病原菌侵染时, 储存于叶肉中的硫苷迅速水解, 释放活性物质抵御胁迫 (Halkier & Gershenzon, 2006)。据此推测, 胁迫后期叶肉组织中 *BjuBMYB28-2* 的表达增强, 可能是响应叶肉中硫苷消耗的反馈调控, 以启动新的硫苷合成。在核盘菌侵染方面, 本研究发现侵染后 *BjuBMYB28-2* 表达下降。核盘菌作为腐生型病原菌, 植物对其防御主要依赖茉莉酸 (JA) 和乙烯 (ETH) 信号通路, 而非水杨酸 (SA) 通路, 且 SA 与 JA 之间存在拮抗作用 (Zhang et al., 2025)。在甘蓝型油菜中, 池鹏等 (2020) 发现 SA 可抑制 *BnaMYB28-2* 的表达, 且根肿菌侵染后该基因同样下调。本研究中, *BjuBMYB28-2* 在核盘菌侵染后也呈现表达下调, 两者表现出相似的变化趋势。由此推测, 病原菌侵染可能通过激活 SA 信号通路, 进而抑制特定 *MYB28* 成员的表达。*BnaMYB28* 不同成员对 SA 和根肿菌的响应存在分化, SA 诱导 *BnaMYB28-1* 和 *BnaMYB28-3* 表达, 却抑制 *BnaMYB28-2*; 根肿菌侵染全程诱导 *BnaMYB28-1*, 早期诱导 *BnaMYB28-3*, 而 *BnaMYB28-2* 表达量低且受抑制 (池鹏等, 2020)。鉴于芥菜中存在 6 个 *BjuMYB28s* 同源成员, 推测不同成员之间可能也存在类似的响应分化, 值得进一步探究。此外, 侵染后 12 h 首次取样, 无法评估侵染初期的表达动态, 其早期的变化规律有待后续设置更密集的时间点进行验证。

过表达 *BjuBMYB28-2* 可增强拟南芥对甜菜夜蛾取食的抗性, 与拟南芥 *AtMYB28* 过表达增强抗虫性的报道一致 (Gigolashvili et al., 2007; Beekwilder et al., 2008)。基因表达分析进一步揭示, *BjuBMYB28-2* 过表达株系中硫苷生物合成 3 个阶段的多个关键基因均上调表达, 这一广泛激活的模式与 *AtMYB28* 调控的基因网络高度相似 (Sønderby et al., 2010b), 表明两者在

功能上高度保守。硫苷水解产物异硫氰酸酯具有广谱抑菌活性，可抑制链格孢菌等病原真菌的生长（Zeng et al., 2025）。本研究 *BjuMYB28-2* 过表达同样增强了对核盘菌的抗性，提示硫苷或其水解产物可能参与对该病原菌的防御。本研究为理解芥菜 MYB28 家族成员的功能分化及其在抗虫抗病中的作用提供了科学依据。

本研究明确了叶用芥菜中 6 个 *BjuMYB28s* 的转录激活活性和亚细胞定位差异，首次揭示了 *BjuMYB28-2* 响应甜菜夜蛾取食和核盘菌侵染的时空表达特征，并证实其过表达可通过上调硫苷合成通路关键基因，增强拟南芥对两种生物胁迫的抗性。上述发现揭示了芥菜 MYB28 家族成员间存在亚细胞定位分化，其中 *BjuMYB28-2* 具有独特的核定位模式，其维管组织特异性表达及胁迫下的动态变化为理解硫苷代谢调控提供了新视角，也为十字花科作物抗虫和菌核病抗性育种提供了候选基因。需要指出的是，亚细胞定位及抗性评估主要基于异源表达体系，其真实功能仍有待利用芥菜自身遗传转化体系进一步验证；此外，胁迫处理的时间点设置较稀疏，害虫取食或真菌侵染初期的动态表达规律尚不明确，后续研究应设置更密集的取样时间点，并深入解析其直接调控的靶基因及分子互作网络。

参考文献:

- Augustine R, Majee M, Gershenzon J, et al., 2013. Four genes encoding MYB28, a major transcriptional regulator of the aliphatic glucosinolate pathway, are differentially expressed in the allopolyploid *Brassica juncea* [J]. *Journal of Experimental Botany*, 64(16): 4907-4921.
- Beekwilder J, van Leeuwen W, van Dam N M, et al., 2008. The impact of the absence of aliphatic glucosinolates on insect herbivory in *Arabidopsis* [J]. *PLoS ONE*, 3(4): e2068.
- Bones A & Rossiter J T, 1996. The myrosinase-glucosinolate system, its organisation and biochemistry [J]. *Physiologia Plantarum*, 97(1): 194-208.
- Chi P, Zeng L Y, Liu F, et al., 2020. Response characteristics of MYB28 in *Brassica napus* to *Plasmodiophora brassicae* and salicylic acid [J]. *Chinese Journal of Oil Crop Sciences*, 42(4): 658- 666. [池鹏，曾令益，刘凡，等， 2020. 甘蓝型油菜 MYB28 转录因子对根肿菌和水杨酸的响应特征 [J]. *中国油料作物学报*, 42(4): 658- 666.]
- Gigolashvili T, Engqvist M, Yatusovich R, et al., 2008. HAG2/MYB76 and HAG3/MYB29 exert a specific and coordinated control on the regulation of aliphatic glucosinolate biosynthesis in *Arabidopsis thaliana* [J]. *New Phytologist*, 177(3): 627-642.
- Gigolashvili T, Yatusovich R, Berger B, et al., 2007. The R2R3-MYB transcription factor HAG1/MYB28 is a regulator of methionine-derived glucosinolate biosynthesis in *Arabidopsis thaliana* [J]. *The Plant Journal*, 51(2): 247-261.
- Halkier B, Gershenzon J, 2006. Biology and biochemistry of glucosinolates [J]. *Annual Review of Plant Biology*, 57: 303-333.

- Hao J J, Ma Y H, Lu Y C, et al., 2023. Molecular mechanism of glucosinolate-mediated *Brassica campestris* ssp. *chinensis* against feeding stress of *Spodoptera exigua* larvae [J]. Journal of Zhejiang A&F University, 40(1): 81-88. [郝娇娇, 马永华, 陆彦池, 等, 2023. 硫苷介导的白菜抵御甜菜夜蛾幼虫取食胁迫的分子机制 [J]. 浙江农林大学学报, 40(1): 81-88.]
- Huang J C, Kuang M L, Liang W G, et al., 2021. Species of pests and its integrated control technologies in Brassicaceae vegetable [J]. Vegetables (9) : 58-61. [黄健超, 邝美玲, 梁伟光, 等, 2021. 十字花科蔬菜害虫种类及综合治理技术 [J]. 蔬菜 (9) : 58-61.]
- Khan I, Rawal P, Singh R, 2021. Incidence, yield losses and symptomatology of sclerotinia stem rot (SSR) of Indian mustard (*Brassica juncea* L.) incited by *Sclerotinia sclerotiorum* [J]. International Journal of Plant Sciences, 16(2): 103-108.
- Lu J X, Bai H Y, Zhang T, 2017. Molecular Evolution of MYB28 Gene Family in *Brassica* Species (*B. napus*, *B. rapa*, *B. oleracea*, *B. juncea*, *B. nigra*) [J]. Molecular Plant Breeding, 15(2): 393-403. [陆俊杏, 白辉扬, 张涛, 2017. 芸薹属物种 (*B. napus*, *B. rapa*, *B. oleracea*, *B. juncea*, *B. nigra*) MYB28 家族的分子进化 [J]. 分子植物育种, 15(2): 393-403.]
- Long L, Wang J, Wang Y Y, et al., 2016. Comparative analysis of MYB28 homologs and development of a MYB28-specific maker in *Brassica napus* L. [J]. Molecular Breeding, 36:126.
- Lv Q Q, Li X F, Fan B F, et al., 2022. The cellular and subcellular organization of the glucosinolate-myrosinase system against herbivores and pathogens [J]. International Journal of Molecular Sciences, 23(3): 1577.
- Mitreiter S, Gigolashvili T, 2021. Regulation of glucosinolate biosynthesis [J]. Journal of Experimental Botany, 72(1): 70-91.
- Nguyen V P T, Stewart J, Lopez M, et al., 2020. Glucosinolates: natural occurrence, biosynthesis, accessibility, isolation, structures, and biological activities [J]. Molecules, 25(19): 4537.
- Nintemann S, Hunziker P, Andersen T G, et al., 2017. Localization of the glucosinolate biosynthetic enzymes reveals distinct spatial patterns for the biosynthesis of indole and aliphatic glucosinolates [J]. Physiologia Plantarum, 163(2): 138-154.
- Nour-Eldin H H, Halkier B, 2009. Piecing together the transport pathway of aliphatic glucosinolates [J]. Phytochemistry Reviews, 8(1): 53-67.
- Seo M S, Jin M, Chun J H, et al., 2016. Functional analysis of three *BrMYB28* transcription factors controlling the biosynthesis of glucosinolates in *Brassica rapa* [J]. Plant Molecular Biology, 90: 503-516.
- Seo M S, Kim J S, 2017. Understanding of MYB transcription factors involved in glucosinolate

- biosynthesis in Brassicaceae [J]. *Molecules*, 22(9): 1549.
- Shroff R, Vergara F, Muck A, et al., 2008. Nonuniform distribution of glucosinolates in *Arabidopsis thaliana* leaves has important consequences for plant defense [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(16): 6196-6201.
- Sønderby I E, Geu-Flores F, Halkier B A, 2010a. Biosynthesis of glucosinolates — gene discovery and beyond[J]. *Trends in Plant Science*, 15(5): 283-290.
- Sønderby I E, Burow M, Rowe H C, et al., 2010b. A complex interplay of three R2R3 MYB transcription factors determines the profile of aliphatic glucosinolates in *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiology*, 153(2): 348-363.
- Wan Z J, Fu W Y, Yu C C, et al., 2025. Progress and prospects of mustard (*Brassica juncea*) breeding in China [J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 52(5): 1180-1188. [万正杰, 付文苑, 余长春, 等, 2025. 中国芥菜育种进展与展望 [J]. *园艺学报*, 52(5): 1180-1188.]
- Wang J C, Xu L A, Zhu Z J, 2026. Cloning and Expression Characteristic Analysis of *BjuAMYB28a* in *Brassica juncea* [J]. *Molecular Plant Breeding*, 24(1): 32-39. [王佳晨, 许丽爱, 朱祝军, 2026. 芥菜 *BjuAMYB28a* 的克隆与表达特征分析 [J]. *分子植物育种*, 24(1): 32-39.]
- Xia R, 2023. Transcriptome analysis of beet armyworm chewing on *Brassica juncea* and the preliminary study of *BjuAMYB28-3* expression and function [D]. Hangzhou: Zhejiang A & F University. [夏瑞, 2023. 甜菜夜蛾取食芥菜的转录组分析及 *BjuAMYB28-3* 表达和功能的初步研究 [D]. 杭州: 浙江农林大学.]
- Xia R, Xu L, Hao J, et al., 2023. Transcriptome dynamics of *Brassica juncea* leaves in response to omnivorous beet armyworm (*Spodoptera exigua*, Hübner) [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(23): 16690.
- Yang J H, Wang J, Li Z P, et al., 2021. Genomic signatures of vegetable and oilseed allopolyploid *Brassica juncea* and genetic loci controlling the accumulation of glucosinolates [J]. *Plant Biotechnology Journal*, 19(12): 2619-2628.
- Yin L, Chen H C, Cao B H, et al., 2017. Molecular characterization of MYB28 involved in aliphatic glucosinolate biosynthesis in Chinese Kale (*Brassica oleracea* var. *alboglabra* Bailey) [J]. *Frontiers in Plant Science*, 8: 1083.
- Zeng Q, Liu X F, Yan X M, et al., 2025. Novel regulators and their epistatic networks in *Arabidopsis*' defence responses to *Alternaria alternata* infection [J]. *Molecular Plant Pathology*, 26: e70058.
- Zhang P Y, Jackson E, Li X, et al., 2025. Salicylic acid and jasmonic acid in plant immunity [J]. *Horticulture Research*, 12(7): uhaf082.

- Zhang L L, Wang J J, Wang S Y, et al., 2025. Differential expression of *MYB29* homologs and their subfunctionalization in glucosinolate biosynthesis in allotetraploid *Brassica juncea* [J]. *Agronomy*, 15(12): 2770.
- Zhou X M, Zhang H Y, Xie Z Q, et al., 2023. Natural variation and artificial selection at the *BnaC2.MYB28* locus modulate *Brassica napus* seed glucosinolate [J]. *Plant physiology*, 191(1): 352-368.