

中南林业科技大学学报

Journal of Central South University of Forestry & Technology

ISSN 1673-923X，CN 43-1470/S

《中南林业科技大学学报》2026年第10期

Doi:10.14067/j.cnki.1673-923X.2026.10.018

论文标题： 白桦*BpbZIP36*基因克隆及抗旱功能

作　　者： 王艳敏，项明月，李 静，等

收稿日期： 2025-09-15

引文格式： 王艳敏,项明月,李静,等.白桦*BpbZIP36*基因克隆及抗旱功能[J].中南林业科技大学学报 ，2026,46(10):200-209.

Wang Y M, Xiang M Y, Li J, et al. Cloning and drought resistance function of BpbZIP36 gene in *Betula platyphylla*[J]. Journal of Central South University of Forestry & Technology,2026, 46(10):200-209.

相关论文推荐

Recommended articles

转*BpTCP10*基因抑制表达白桦的耐盐性分析

Salt tolerance analysis of transgenic *Betula platyphylla* seedlings with inhibited BpTCP10 expression

刚毛柽柳*ThZFP3*基因的耐盐抗旱功能

Salt tolerance and drought resistance function of *ThZFP3* gene in *Tamarix hispida*

油茶*bHLH*基因家族鉴定与响应干旱胁迫的基因表达分析

Identification of *bHLH* gene family in *Camellia oleifera* and analysis of its expression under drought stress

寒温带多年冻土区白桦树干液流及对降雨的响应

Sap flow of *Betula platyphylla* and its response to rainfall in permafrost areas of the cold temperate zone

小兴安岭白桦次生林内红松光合对林隙大小与林隙内位置的适应性研究

Study on the photosynthetic adaptability of *Pinus koraiensis* to the forest gaps in different sizes and at various positions of the *Betula platyphylla* secondary forest in the Xiaoxing'an mountains

大兴安岭落叶松白桦混交林空间分布格局及其关联性对间伐强度的响应

Responses of spatial distribution patterns and associations of *Larix gmelinii* and *Populus davidiana* mixed forests in Daxing'an mountains to different tending thinning intensities

Doi:10.14067/j.cnki.1673-923x.2026.10.018 http: //qks.csuft.edu.cn

白桦 *BpbZIP36* 基因克隆及抗旱功能

王艳敏[1, 2, 3]，项明月[1]，李 静[3]，殷志辉[3]，李正华[3]，郭成博[3]，高彩球[1]，白 卉[3]，李海霞[3]

（1. 东北林业大学 a. 林学院；b. 林木遗传育种全国重点实验室，黑龙江 哈尔滨 150040；
2. 黑龙江省林业科学院 黑龙江 哈尔滨 150081；
3. 黑龙江省林业科学研究所 黑龙江省速生林木培育重点实验室，黑龙江 哈尔滨 150081）

摘 要：【目的】通过克隆 *BpbZIP36* 基因构建植物表达载体，获得稳定转化白桦转基因植株，对转基因株系进行干旱胁迫，探究 *BpbZIP36* 基因的抗旱功能。【方法】以白桦 cDNA 为模板克隆 *BpbZIP36* 基因，对测序获得的 *BpbZIP36* 基因序列进行生物信息学分析，构建 pROK2-*BpbZIP36* 植物表达载体后转入白桦苗中，得到稳定转化转 *BpbZIP36* 基因白桦，对转 *BpbZIP36* 基因过表达白桦植株及对照进行干旱胁迫，研究 *BpbZIP36* 基因的抗旱功能。【结果】从白桦基因组数据库中获得一条 *bZIP* 基因，开放读码框全长 1 269 bp，编码 422 个氨基酸。多序列结果显示，白桦 bZIP36 蛋白与其他各植物中 bZIP 蛋白具有相似性，都具有保守的 bZIP 结构域。qRT-PCR 研究结果显示，*BpbZIP36* 基因在根、茎、叶中均有表达，在茎和叶中，*BpbZIP36* 基因的表达量在胁迫 72 h 时达到峰值，而在根中胁迫处理 24 h 时表达量最高，表明 *BpbZIP36* 基因能够被干旱胁迫诱导表达。对转基因白桦植株进行干旱胁迫后，生理指标和组织化学染色分析结果显示：干旱胁迫条件下 3 个过表达白桦株系的 MDA、H_2O_2 含量和相对电导率低于野生型，细胞膜完整性较好；过表达白桦的 SOD、POD、CAT 活性、相对含水量高于野生型，在过表达的 3 个株系中 DAB 染色棕色斑点少、着色轻，说明过表达的 3 个株系中 H_2O_2 含量较少，继而反映出细胞受损程度低，过表达白桦抗旱能力强于野生型白桦。【结论】*BpbZIP36* 基因过表达能够提高转基因白桦的抗旱能力。

关键词：白桦；*BpbZIP36* 基因；基因克隆；抗旱功能

中图分类号：S792.18 **文献标志码：**A **文章编号：**1673-923X(2026)10-0200-10

Cloning and drought resistance function of *BpbZIP36* gene in *Betula platyphylla*

Wang Yanmin[1,2,3], Xiang Mingyue[1], Li Jing[3], Yin Zhihui[3], Li Zhenghua[3], Guo Chengbo[3], Gao Caiqiu[1], Bai Hui[3], Li Haixia[3]

(1.a.College of Forestry; b.State Key Laboratory of Tree Genetics and Breeding, Northeast Forestry University, Harbin 150040, Heilongjiang, China; 2. Forestry Research Academy of Heilongjiang Province, Harbin 150081, Heilongjiang, China; 3.Forest Research Institute of Heilongjiang Province, Key Laboratory of Fast-Growing Tree Cultivating of Heilongjiang Province, Harbin 150081, Heilongjiang, China)

Abstract:【Objective】By cloning the *BpbZIP36* gene, constructing a plant expression vector, and obtaining stable transgenic birch plants, this study aimed to investigate the drought resistance function of the *BpbZIP36* gene.【Method】Using birch as the experimental material, the *BpbZIP36* gene was cloned from birch cDNA as the template. Bioinformatics analysis was performed on the gene, and the pROK2-*BpbZIP36* plant expression vector was constructed and introduced into birch seedlings to obtain transgenic birch overexpressing *BpbZIP36*. The transgenic birch plants and wild-type were subjected to drought stress to study the drought resistance function of the *BpbZIP36* gene.【Result】A *bZIP* gene was obtained from the birch genome database, with an open reading frame (ORF) of 1 269 bp encoding 422 amino acids. The results of multiple sequence alignment showed that the BpbZIP36 protein was similar to the bZIP protein of other plants and a conserved bZIP structural domain. qRT-PCR results showed that the *BpbZIP36* gene was expressed in roots, stems, and leaves. In stems and leaves, the expression level of *BpbZIP36* peaked at 72 h, while in roots, the highest expression was observed at 24 h of stress treatment, indicating that the *BpbZIP36* gene could be induced by drought stress. Physiological index and histochemical staining analyses revealed that under drought stress, the transgenic birch overexpressing *BpbZIP36* exhibited lower MDA, H_2O_2 content,

收稿日期（Received）：2025-09-15 **修订日期**（Revised）：2025-12-31

基金项目：黑龙江省自然科学基金资助项目（LH2023C104）。

第一作者：王艳敏（wangyanmin1919@163.com），研究员，博士。

通信作者：白卉（baihui1979@163.com），研究员，博士。李海霞（lsbqf@163.com），副研究员，硕士。

引文格式：王艳敏 , 项明月 , 李静 , 等 . 白桦 *BpbZIP36* 基因克隆及抗旱功能 [J]. 中南林业科技大学学报 ,2026,46(10):200-209.

Wang Y M, Xiang M Y, Li J, et al. Cloning and drought resistance function of *BpbZIP36* gene in *Betula platyphylla*[J]. Journal of Central South University of Forestry & Technology,2026,46(10):200-209.

and relative electrical conductivity compared to wild-type plants, indicating better cell membrane integrity. The SOD, POD and CAT activities, as well as relative water content, were higher in the transgenic birch. DAB staining showed the lightest coloration in the three overexpression lines, suggesting lower H_2O_2 accumulation and reduced cellular damage. These results demonstrated that the drought resistance capacity of the transgenic birch overexpressing *BpbZIP36* was stronger than that of wild-type.【Conclusion】Overexpression of the *BpbZIP36* gene enhances the drought resistance capability of transgenic birch.

Keywords: *Betula platyphylla*; *BpbZIP36* gene; gene cloning; drought-resistance function

干旱是影响植物生长、发育和繁殖的主要非生物胁迫之一[1]。在应对干旱胁迫的过程中，植物会表现出叶片萎蔫、根系伸长甚至提前开花结实等表观现象，也会表现出 SOD、POD 和 ABA 含量改变等生理学变化[2]。而无论表观或是生理学的变化，究其根本均是植物在接收到干旱胁迫信号后，其体内分子水平会立刻开启一系列的反应，这些反应按照有序的时空顺序发生，相互联系，形成了一整套由多基因控制的干旱应答体系[3]。研究植物抗干旱的分子机理，能够更加有效地了解抗干旱胁迫应答本质上的反应，继而通过调控相关基因的表达，改良和提高植物的抗干旱胁迫能力。

bZIP 转录因子家族是植物中最大的转录因子家族之一，在植物发育、应对各种生物和非生物胁迫中发挥着重要作用[4-5]。该家族包含一个高度保守的基本结构域和一个相对多变的亮氨酸拉链，它们能与目标基因启动子中的核心序列（如 G-box、C-box 和 A-box）相结合[5-6]。迄今为止，已在植物中鉴定出许多 bZIP 转录因子。例如，在 12 种蔷薇科植物中鉴定出 869 个 bZIP 蛋白，分为 9 个亚组[7]；在拟南芥中检测到 75 个 bZIP 蛋白，分为 13 个亚家族[8]；在穿心莲中发现 62 个 bZIP 成员，分为 12 个亚组[9]；玉米干旱转录组中发现 54 个 *bZIP* 基因，其中 15 个 ZmbZIPs 转录因子可能被诱导表达[10]，多个 bZIP 成员参与植物对盐胁迫、干旱等的耐受性。蓝莓 *VabZIP12* 作为一类转录因子基因，能够与 G-Box1 和 G-Box2 元件相结合，*VabZIP12* 基因的过量表达能够通过提高抗氧化酶的活性，并调节相关基因的上调表达来提高转基因拟南芥的抗盐性[11]。水稻 OsbZIP42 作为正向调节因子，通过 ABA 信号转导途径提高转基因水稻的抗旱性[12]。番薯 *IbABF4* 的过量表达能够通过 ABA 信号转导途径提高拟南芥的抗旱和耐盐能力[13]。

白桦 *Betula platyphylla* Suk. 生长迅速，适应性和抗逆性强，是国家科技计划研究的重要树种。本研究在白桦中克隆 *BpbZIP36* 基因，研究转 *BpbZIP36* 基因白桦的抗旱能力。本研究可为深入探讨 BpbZIP36 转录因子的调控机理提供理论基础。

1　材料与方法

1.1　白桦 *BpbZIP36* 基因的克隆

在白桦基因组数据库中找到一条 *bZIP36* 转录因子基因，使用 ORF Finder（http://www. ncbi. nlm.nih.gov/gorf.html）工具发现该基因全长包含完整的开放读码框，进一步设计引物 *BpbZIP36*-F 和 *BpbZIP36*-R（表 1），以白桦 cDNA 为模板进行 PCR，反应体系及反应程序参考文献 [14]，回

表 1　引物序列
Table 1　Primer sequence

引物名称 Primer name	序列（5′ → 3′）Sequence (5′ → 3′)	用途 Purpose
BpbZIP36-F	ATGAACTTGAAGAATTTCGGG	载体构建
BpbZIP36-R	TTACCATGGACCACTGAGTG	
pROK2-*BpbZIP36*-F	TCGAGCTCGGTACCCATGAACTTGAAGAATTTCGGG	
pROK2-*BpbZIP36*-R	CTCTAGAGGATCCCCTTACCATGGACCACTGAGTG	
pROK2 F	GGCGAACGTGGCGAGAAAGG	
pROK2 R	ACAGGTTTCCCGACTGGAAAGC	
BpbZIP36-RT-F	ATGAACTTGAAGAATTTCGG	实时荧光定量 RT-PCR
BpbZIP36-RT-R	GCCATAATGCTCTGAGCA	
Ubiquitin F	TCTGACAGGGAAGACCATA	
Ubiquitin R	TCAATTAGAGCTGACCACC	
Tubulin F	TGGCTCGAATGCACTGTTGG	
Tubulin R	TCAACCGCCTTGTCTCTCAGG	

收目的条带，连接到 T 载体，将连接产物进行大肠杆菌转化，获得阳性克隆后对单菌落进行摇菌操作，PCR 验证后将菌液送样测序验证。保存阳性克隆并提取质粒，将质粒命名为：pMD18-T-*BpbZIP36*。

1.2 序列分析

BpbZIP36 基因的开放阅读框（ORF）的查询采用 NCBI 网站中的 ORF Finder 程序。ProtParam 程序（http://au.expasy.org/tools/protparam.html）用于蛋白分子量、半衰期、理论等电点等信息的预测。氨基酸的亲、疏水性的分析采用 Expasy 工具（http://au.expasy.org/tools）中提供的 ProtScale 软件，保守结构域的查找通过 Pfam 27.0（http://pfam.sanger.ac.uk/）和 protein blast（http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi）软件进行，多序列比对采用 BioEdit 软件，MEGA 软件被用来构建系统发育树。

1.3 *BpbZIP36* 基因表达模式分析

根据 *BpbZIP36* 基因序列信息，设计定量引物：*BpbZIP36*-RT-F、*BpbZIP36*-RT-R，内参基因为白桦 *Tubulin*、*Ubiquitin* 基因（详细信息见表 1），进行实时荧光定量 RT-PCR（Quantitative real-time PCR，qRT-PCR）分析。对白桦苗进行干旱胁迫，提取根、茎、叶三个组织部位的 RNA，用反转录试剂盒将 RNA 逆转录为 cDNA，cDNA 作为 qRT-PCR 模板，检测 *BpbZIP36* 基因的表达情况。qRT-PCR 反应体系及程序见王艳敏等 [14] 的方法，采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算基因的相对表达量，设置 3 次重复。

1.4 *BpbZIP36* 过表达载体构建

委托苏州金唯智生物科技有限公司（https://www.genewiz.com.cn/）合成试验所需引物，以 pMD18-T-*BpbZIP36* 质粒为模板，pROK2-*BpbZIP36*-F、pROK2-*BpbZIP36*-R 为引物（引物序列见表 1），进行 PCR，引入 pROK2 质粒线性化末端的同源互补序列。反应体系及反应程序参考文献 [14]，回收 PCR 产物，用限制性内切酶 Sma*I* 对 pROK2 质粒进行单酶切。连接反应后将连接产物进行大肠杆菌转化，阳性克隆 PCR 检测后，挑取阳性克隆送至苏州金唯智生物科技有限公司测序。利用电击法将测序成功的重组质粒转化至根癌农杆菌 EHA105 中，保存农杆菌菌液，检测成功的菌种用于后续转基因试验。

1.5 转 *BpbZIP36* 基因白桦的获得

以白桦的嫩茎和叶片为外植体，通过农杆菌介导法转化野生型白桦组培苗，获得白桦 *BpbZIP36* 基因的过表达株系，具体过程分为以下 4 个步骤：1）侵染：活化超低温冰箱中保存的 EHA105 农杆菌菌种，重悬菌体至 OD 值约为 0.1 时用于侵染叶片。选长势健壮的白桦叶片作为侵染材料，叶片剪至大小约为 0.5 cm×0.5 cm；将其转入重悬菌液中浸染 5 min，侵染液中含有 150 μM 乙酰丁香酮（As）。2）暗培养：取出侵染的叶片，用灭菌的滤纸吸干叶片表面菌液；将叶片放在 WPM 固体分化培养基（含 1.0 mg/L 6-BA）上，封好培养皿后暗培养 2 ～ 3 d。3）光培养：在诱导培养基中分别加入终浓度为 200 mg/L 的头孢霉素（Cef）和羧苄青霉素（Car）、终浓度为 50 mg/L 卡那霉素（Kan），把暗培养平板上的叶片转接到诱导培养基上，置于组培室中培养（28 ℃，光照培养周期 16 h/8 h）。4）筛选：将生长旺盛的愈伤组织转到分化培养基中继续生长；将长至 2 ～ 3 cm 的不定芽转到 WPM 培养基中。通过 Kan 筛选过表达转基因白桦植株，得到抗性苗。

1.6 转 *BpbZIP36* 基因白桦检测

提取植株 DNA 进行 PCR 检测，含有 *BpbZIP36* 基因的为阳性转基因白桦株系，进一步对过表达转基因白桦株系中 *BpbZIP36* 基因的表达量进行 qRT-PCR。具体过程为：以白桦的 cDNA 为对照，以 *BpbZIP36* 基因定量引物和内参引物进行 qRT-PCR（引物及扩增程序同 1.3），分析后选取转基因白桦株系用于后续试验。

1.7 转 *BpbZIP36* 基因白桦抗旱功能分析

将 *BpbZIP36* 过表达白桦植株和野生型白桦植株移至土中，在人工气候室中培养一个半月后，将 *BpbZIP36* 过表达白桦植株和野生型白桦植株进行 7 d 干旱胁迫，观察各植株的干旱程度，根据表 2 统计的旱害指数 [15]，并对转 *BpbZIP36* 基因过表达白桦植株和野生型白桦植株进行生理生化指标测定及组织化学染色分析 [16]。

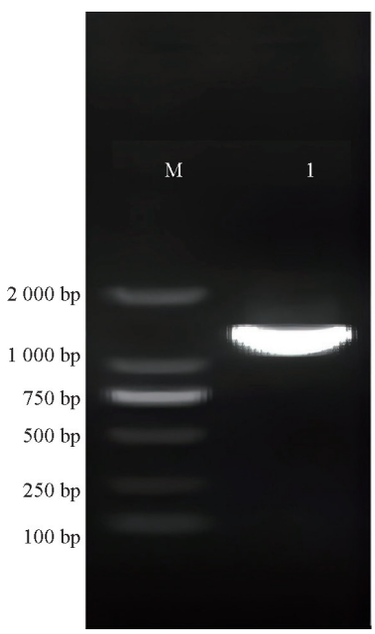
2 结果与分析

2.1 *BpbZIP36* 基因序列结构分析

以干旱胁迫处理 24 h 的 cDNA 为模板，利用 *BpbZIP36*-F、*BpbZIP36*-R 为引物，通过 PCR 扩增获得 1.2 kb 左右的特异片段（图 1）。

表 2　旱害指数分级
Table 2　Drought index classification

分级 Grade	症状 Symptom
0 级 Grade 0	植株叶色正常，叶尖、叶缘不向内反卷，无叶柄向下弯曲
1 级 Grade 1	叶片主叶脉向下弯曲，叶片无焦枯
2 级 Grade 2	叶片卷缩，叶尖、叶缘变色，叶片有焦枯迹象，少量叶片脱落
3 级 Grade 3	植株叶片大部分焦黄，皱缩严重，叶片大部分叶片脱落
4 级 Grade 4	大量叶片脱落，植株甚至枯死



M：DNA Marker DL 2000；1：*BpbZIP36* PCR 扩增产物。
M：DNA Marker DL 2000; 1: *BpbZIP36* PCR products.

图 1　*BpbZIP36* 基因的克隆
Fig. 1　Cloning of *BpbZIP36*

利用胶回收试剂盒回收特异片段后，将其连接到 T 载体上转化大肠杆菌，在抗性平板中挑取阳性克隆，PCR 验证后送样测序。测序结果显示，连接到 T 载体上的基因开放读码框 1 269 bp，编码 422 个氨基酸，运用 ExPASy 软件（https://au.expasy.org/resources/protparam）对该基因编码的蛋白质进行了基本理化性质的预测分析，等电点（pI）：9.21、分子量（MW）：44.84 kDa、负电荷残基（Asp+Glu）：39、正电荷残基（Arg+Lys）：44、分子式：C1920H3103N579O621S19、不稳定系数（II）：49.18、平均疏水性（GRAVY）：-0.569、脂肪系数（AI）：67.25。蛋白序列比对分析（http://pfam.sanger.ac.uk/search/sequence）发现，序列 C 端 340 ～ 406 氨基酸序列之间存在一个 bZIP 结构域（图 2）。

利用 Blast 程序（http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/）搜索 bZIP 序列，选择与 *BpbZIP36* 相似程度高的其他 6 种不同植物的 *bZIP* 基因氨基酸序列进行多序列比对，分别为 AtbZIP36（Q9M7Q4.1）、OsBZIP23（Q6Z312.1）、AtbZIP35（Q9M7Q5.1）、OsbZIP46（Q69TW5.1）、AtbZIP67（Q8RYD6.1）、AtbZIP15（Q9FMM7.1）。

采用 Clustal 软件进行同源性比较发现，白桦 bZIP36 蛋白序列与其他 6 种植物的 bZIP 蛋白的同源性分别为：56%、69%、48%、66%、41%、36%，同源性最高的为水稻 OsbZIP23，同源性为 69%（图 3）。白桦的 bZIP36 蛋白与其他植物中的 bZIP 蛋白具有相似性，都具有保守的 bZIP 结构域。系统进化树显示，白桦 BpbZIP36 与拟南芥 AtbZIP36 被聚为一类，亲缘关系最近（图 4）。

2.2　*BpbZIP36* 基因表达模式分析

对白桦土培苗进行模拟干旱处理，利用 qRT-PCR 研究干旱胁迫下白桦 *BpbZIP36* 基因在白桦不同组织部位（根、茎、叶）和不同胁迫处理时间（6、12、24、48、72 h）下的表达模式。结果显示，在白桦的根、茎、叶中均有 *BpbZIP36* 基因表达，在茎和叶中 *BpbZIP36* 基因的表达量在 72 h 时达到峰值，在根中胁迫处理 24 h 时表达量最高，表明 *BpbZIP36* 基因能够被干旱胁迫诱导表达（图 5）。

2.3　*BpbZIP36* 过表达载体构建

以阳性克隆 pMD18-T-*BpbZIP36* 质粒为模板，pROK2-*BpbZIP36*-F、pROK2-*BpbZIP36*-R 为引物进行 PCR 扩增，PCR 产物中含有 pROK2 质粒线性化末端的同源互补序列。回收含有 pROK2 质粒线性化末端的同源互补序列的 PCR 产物，对 pROK2 载体进行单酶切（利用 *Sma*I 内切酶）。连接载体与目的片段，连接产物转化大肠杆菌，菌液 PCR 检测成功后，挑取阳性克隆送样测序，将

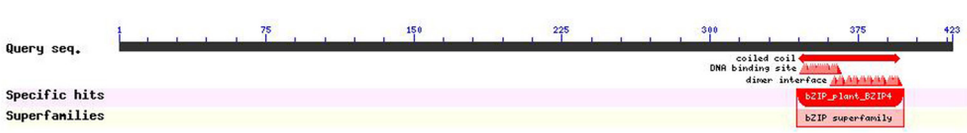
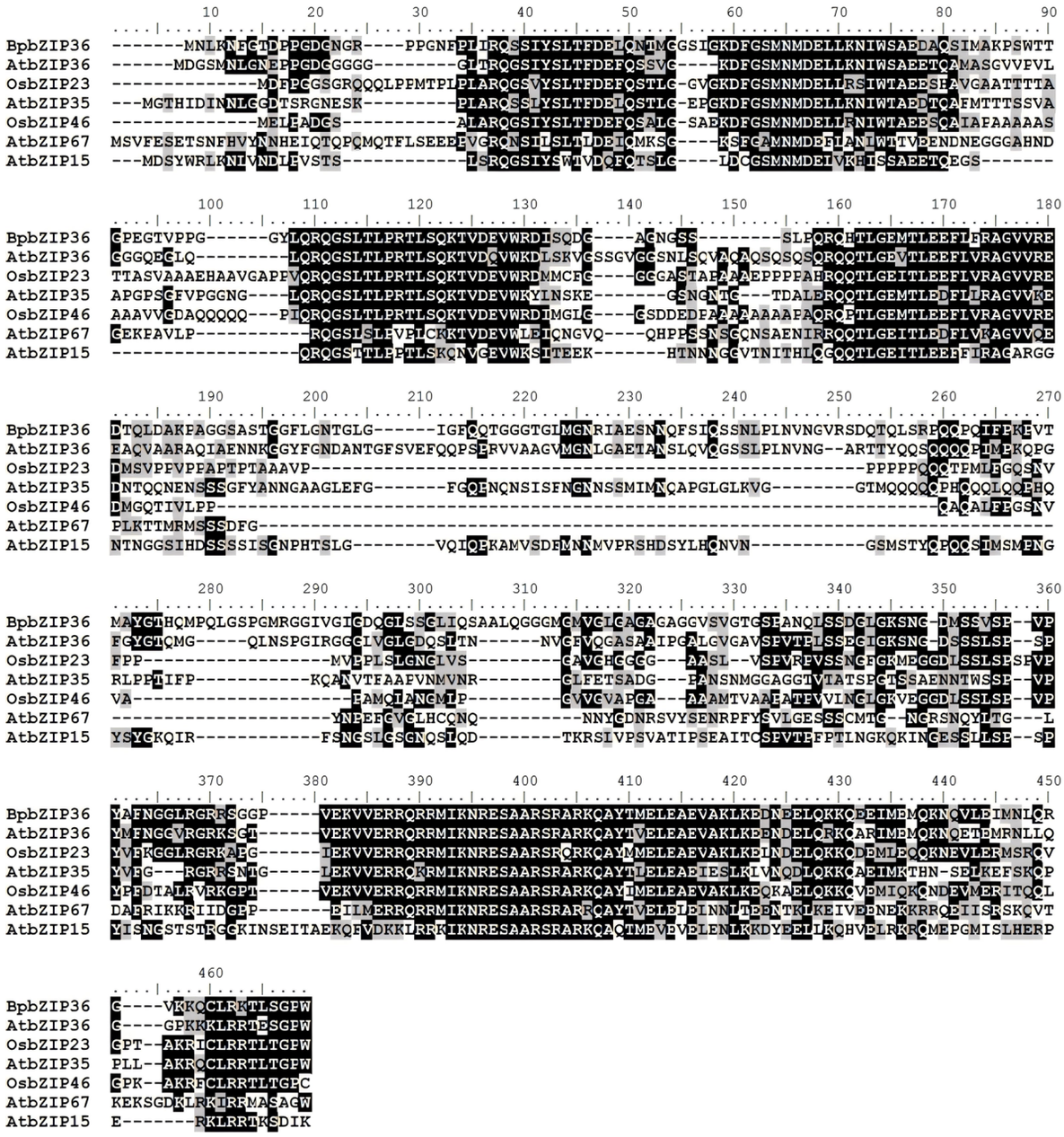


图 2　*BpbZIP36* 基因保守结构域预测
Fig. 2　Predicted conserved domain diagram of *BpbZIP36*



黑色序列为相同氨基酸残基、灰色序列为相似的氨基酸残基；AtbZIP36（Q9M7Q4.1）、OsbZIP23（Q6Z312.1）、AtbZIP35（Q9M7Q5.1）、OsbZIP46（Q69TW5.1）、AtbZIP67（Q8RYD6.1）、AtbZIP15（Q9FMM7.1）

图 3 多序列比对图

Fig. 3 Multiple sequence alignment map

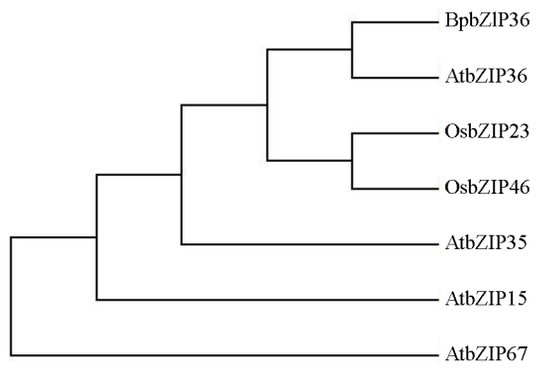


图 4 白桦 BpbZIP36 蛋白的系统进化树构建

Fig. 4 Phylogenetic tree analysis of BpbZIP36 protein

测序成功的重组质粒（pROK2-*BpbZIP36* 过表达载体）进行农杆菌转化，对农杆菌菌液进行 PCR 检测（图 6），保存农杆菌菌液检测成功的农杆菌菌种。

2.4 转 *BpbZIP36* 基因白桦的获得

利用农杆菌介导的植物遗传转化体系，以白桦的嫩茎、叶片为外植体，将植物过表达载体 pROK2-*BpbZIP36* 导入野生型白桦组培苗，获得白桦 *BpbZIP36* 基因的过表达株系。利用卡那霉素（Kan）筛选抗性白桦植株（图 7A ～ C）。提取植株 DNA 进行 PCR 检测，含有 *BpbZIP36* 基因的

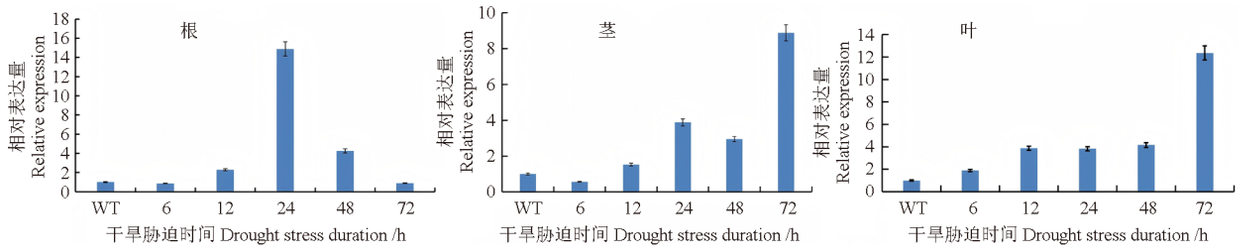
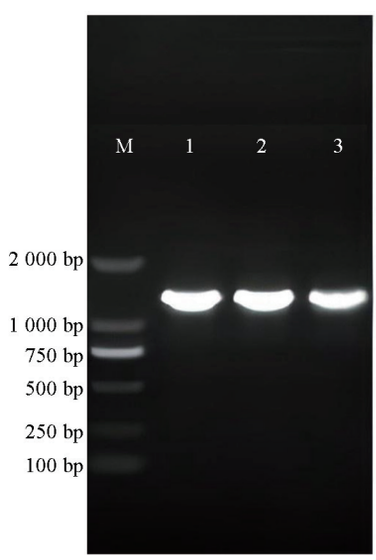


图 5　qRT-PCR 分析干旱胁迫下 *BpbZIP36* 基因表达模式
Fig. 5　Expression analysis of *BpbZIP36* under drought stress via qRT-PCR

为阳性转基因白桦株系。

进一步对过表达转基因白桦株系中 *BpbZIP36* 基因的表达量进行 qRT-PCR 分析，各株系中 *BpbZIP36* 基因表达量如图 7D 所示，选取 pROK2-*BpbZIP36* 转基因白桦 7 个株系中的 6 号、8 号、9 号株系用于后续试验的研究，并将它们分别命名为 OE6、OE8 和 OE9。



M：DNA marker DL2000；1 ～ 3：PCR 扩增产物。
M：DNA marker DL2000; 1-3:PCR products.

图 6　pROK2-*BpbZIP36* 载体转化农杆菌菌液检测
Fig. 6　PCR detection of *A. tumefaciens* transformed with pROK2-*BpbZIP36* vector

2.5　转 *BpbZIP36* 基因白桦植株干旱胁迫下的表型观测

将 *BpbZIP36* 过表达白桦、野生型白桦植株移至土中，在培养室中生长一个半月，观察各植株的长势情况，将 *BpbZIP36* 过表达白桦植株和野生型白桦植株进行干旱胁迫 7 d，结果如图 8 所示。在非胁迫条件下（对照），OE6、OE8、OE9 转基因白桦株系的生长状况与野生型白桦（WT）基本一致，各株系叶色正常，叶尖、叶缘、叶柄生长均无变化，旱害指数为 0 级；而在干旱胁迫条件下，野生型白桦（WT）受干旱胁迫影响严重，野生型白桦株系有 72.72% 的叶片呈现卷缩，叶尖、叶缘变色，有焦枯迹象及叶片脱落现象，旱害指数达到 2 级，而 3 个 *BpbZIP36* 基因的过表达株系长势明显优于野生型白桦（WT），与野生型白桦株系相比，仅 19.44% 的叶片主叶脉向下弯曲，叶片无焦枯，旱害指数为 1 级。试验结果表明，*BpbZIP36* 基因的过量表达能够提高白桦应对干旱胁迫的能力。

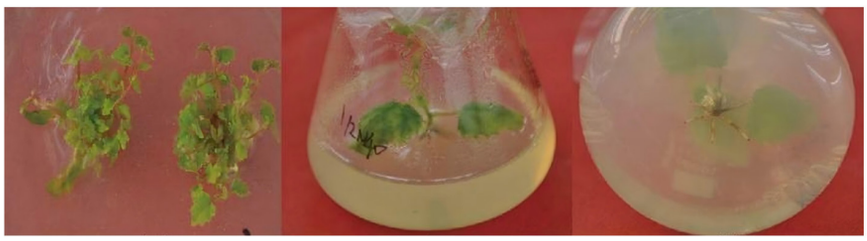
2.6　干旱胁迫下转 *BpbZIP36* 基因白桦的细胞膜受损程度分析

细胞膜受损伤情况能够间接反映植物细胞遭受逆境伤害的程度。细胞膜受损伤情况可以用丙二醛（MDA）含量、相对电导率这 2 个生理指标以及组织化学染色中的 Evans blue 染色程度来间接反映。在正常生长条件（对照）下，各株系间叶片 MDA 含量、相对电导率数值基本无明显差异，Evans blue 染色结果与 MDA 含量、相对电导率相符合。而在干旱胁迫条件下（干旱），转 *BpbZIP36* 基因白桦叶片中蓝色着色程度轻于对照，说明细胞膜损伤较轻，MDA 含量和相对电导率结果进一步验证，转 *BpbZIP36* 基因过表达植株中 MDA 含量及相对电导率明显低于对照植株（图 9）。结果表明，过表达 *BpbZIP36* 基因能够降低干旱胁迫对细胞膜的损伤，从而增强白桦的抗旱能力。

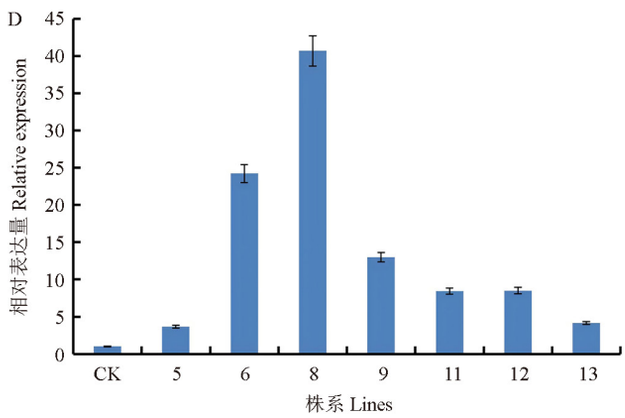
2.7　干旱胁迫下转 *BpbZIP36* 基因白桦的 ROS 水平分析

植物体内的过氧化氢（H_2O_2）和超氧阴离子（$O_2\cdot^-$）含量能够反映出植株 ROS 积累情况。过量的 ROS 会导致氧化应激，从而对细胞造成损伤。DAB 染色能够反映出过氧化氢（H_2O_2）和超氧阴离子（$O_2\cdot^-$）含量。

在正常生长条件（对照）下，细胞内没有过量积累 ROS，因此染色后的各植株叶片中没有颜色差异，说明植物中的 H_2O_2 和 $O_2\cdot^-$ 含量差异不大。在干旱胁迫条件（干旱）下，过表达植株叶片上的颜色比对照浅，结果表明，*BpbZIP36* 基因



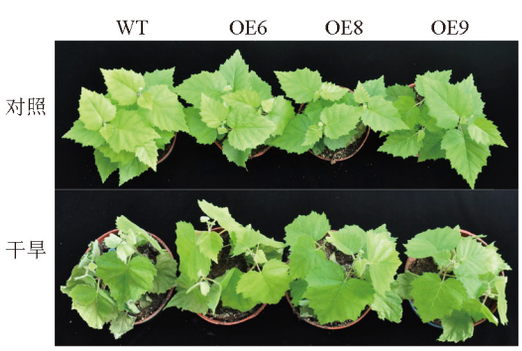
A 卡那抗性芽 Kan resistant bud　B 卡那抗性苗 Kan resistant seedlings　C 卡那生根苗 Kan resistant root seedlings



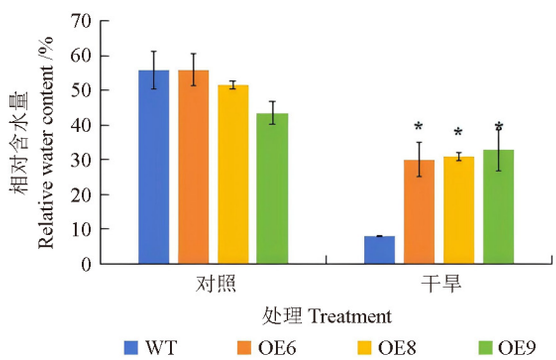
D 过表达转基因白桦植株定量分析
The relative expression of overexpression transgenic birch plants

A：卡那抗性芽；B：卡那抗性苗；C：卡那生根苗；D：过表达转基因白桦植株定量分析。
A: Kan resistant bud; B: Kan resistant seedlings; C: Kan resistant root seedlings; D: The relative expression of overexpression transgenic birch plants.

图 7　过表达转基因白桦植株鉴定
Fig. 7　Identification of overexpression transgenic birch plants



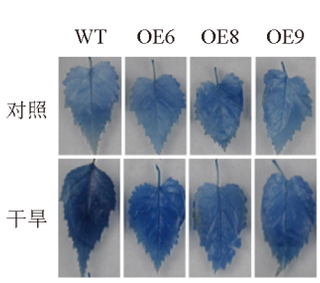
A 表型分析 Phenotypic analysis

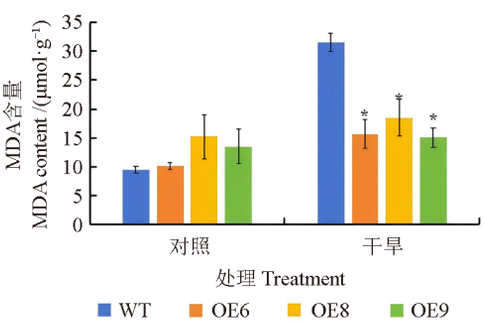


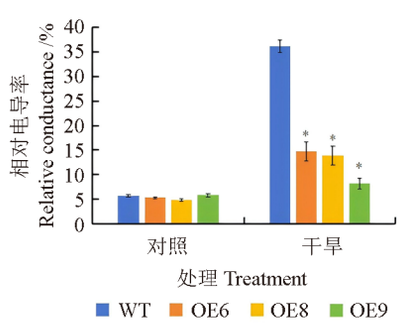
B 相对含水量测定 Relative water content analysis

A：表型分析；B：相对含水量测定。A: Phenotypic analysis; B: Relative water content analysis.

图 8　干旱胁迫下转基因白桦植株的抗旱能力分析
Fig. 8　Analysis of stress resistance of transgenic birch plants under drought stress



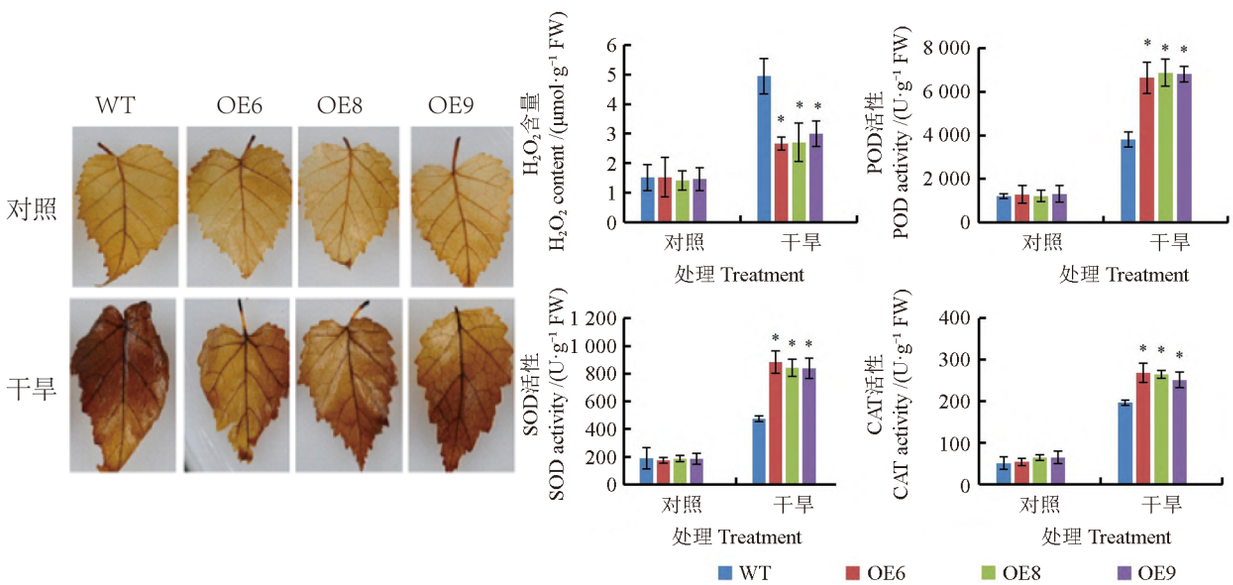




各处理间与 WT 相比，* 表示 $P < 0.05$。A：Evans blue 染色；B：MDA 含量；C：相对电导率。
Compared with WT, * indicates $P < 0.05$. A: Evans blue staining; B: MDA content; C: Relative electrical conductivity.

图 9　干旱胁迫下过表达转基因株系细胞膜受损情况
Fig. 9　Cell membrane damage of transgenic lines and wild type under drought stress

的过表达降低了植株内的 H_2O_2 和 $O_2^{\cdot-}$ 含量。进一步测定抗旱相关生理指标（H_2O_2、SOD、POD 和 CAT 含量）的变化情况（图 10），结果显示，干旱胁迫条件下过表达白桦的 H_2O_2 含量低于野生型，SOD、POD 和 CAT 含量高于野生型，表明 H_2O_2 含量较少，其细胞受损程度低，过表达白桦抗旱能力强于野生型白桦。以上结果间接验证了 *BpbZIP36* 基因的过量表达能够提高转基因白桦的抗旱能力。



各处理间与 WT 相比，* 表示 $P < 0.05$。A：DAB 染色；B：H_2O_2 含量；C：POD 含量；D：SOD 含量；E：CAT 含量。
Compared with WT, * indicates $P < 0.05$. A: DAB staining; B: H_2O_2 content; C: POD content; D: SOD content; E: CAT content.

图 10　干旱胁迫下过表达转基因株系 ROS 水平分析
Fig. 10　Analysis of ROS levels of transgenic lines and wild type under drought stress

3　讨　论

非生物胁迫会促使植物体内生成大量 ROS，过量 ROS 会对植物组织产生氧化伤害，维持植物体内 ROS 动态平衡有利于植物应对各种非生物胁迫。超氧化物歧化酶（SOD）和过氧化物酶（POD）是植物抗氧化酶防御体系的关键组成部分，二者共同承担清除体内多余 ROS 的功能 [17-19]。具体而言，SOD 可将超氧自由基转化为过氧化氢（H_2O_2）来清除 ROS[20]；POD 则能消耗 ROS，减少其积累 [21]。已有研究证实，多种抗逆基因可通过调控 SOD 与 POD 的活性清除植物体内过量 ROS，进而增强植物对逆境的适应能力。因此，SOD 和 POD 活性较高的植物在抵御干旱、盐、冷等胁迫时更具优势 [22-23]。例如，植物遭遇干旱胁迫后，其体内 SOD 与 POD 活性会出现一定程度的提升 [24-25]。转入梨树 PtrABF 转录因子的烟草在干旱处理后，SOD 和 POD 活性明显高于野生型植株 [26]；在拟南芥中过量表达葡萄 VvABF2 转录因子会使转基因拟南芥的 SOD 与 POD 活性显著高于野生型，其干旱耐受能力也随之大幅增强 [27]；转入蒙古菊 *CmbZIP9* 基因的烟草在干旱胁迫下叶片中 POD 与 SOD 活性显著上升，抗逆表现优于野生型烟草 [28]。

丙二醛（MDA）是膜脂发生过氧化反应的主要产物，其含量高低可直接反映细胞膜脂过氧化的程度。在盐胁迫条件下，转入 *GmMYB84* 基因的大豆耐盐能力更强，且体内 MDA 含量显著低于野生型大豆，这表明该转基因大豆的细胞膜损伤程度更低 [29]。Cui 等 [30] 研究发现，转入番茄 *MYB49* 基因的拟南芥株系与野生型拟南芥相比 MDA 含量更低，说明 *MYB49* 基因可通过减轻细胞膜损伤增强植株对干旱和盐胁迫的耐受性。当细胞膜受到损伤时，其通透性会发生改变，导致大量电解质向外渗出，进而引起电解质渗透率的变化。例如，在白桦中过表达 *BpGRAS1* 基因可降低其在盐胁迫下的电解质渗透率，证明该基因具有保护细胞膜、避免膜损伤的作用 [31]；过表达 *BpHSFA4* 基因的植株，细胞膜受损程度较轻，电解质外渗量少，细胞膜结构完整性更高 [32]。MDA 含量和相对电导率可作为研究细胞膜损伤程度的重要指标，同时也能间接体现植物在非生物胁迫下的抗逆能力。

以往研究表明，转录因子能够结合靶基因启动子的顺式作用元件，调控下游功能基因的转录表达，从而提高植物的抗逆性 [33]。水稻 OsbZIP71

与渗透调控基因 *OsNHX1* 和 *COR413-TM1* 的启动子中的 G-box 元件结合，将细胞质中多余的 Na^+、K^+ 运至液泡，通过减少细胞质中 Na^+ 浓度，进而提高水稻耐盐性 [34]。低渗胁迫下，拟南芥 VIP1 与 bZIP29 可形成异源二聚体，该二聚体通过与低渗应答基因 *CYP707A1*、*CYP707A3* 启动子中的低渗响应元件（AGCTGK）结合，共同响应渗透胁迫 [35]。番薯 IbABF4 蛋白中含有一个典型的 bZIP 结构域和 5 个保守的磷酸化位点，IbABF4 与 ABRE 元件结合，并通过 ABA 信号转导途径提高番薯的抗旱性和耐盐性 [13]。本研究中，BpbZIP36 转录因子通过与下游调控因子启动子的哪些顺式作用元件互作，从而影响下游基因表达以提高白桦的抗旱性，还有待于进一步研究。

本研究通过获得过量表达 *BpbZIP36* 基因的白桦并对其进行干旱胁迫，过表达白桦体内 MDA 含量、相对电导率以及 Evans blue 染色强度均显著降低。这一结果表明，过表达 *BpbZIP36* 基因可减轻干旱胁迫对白桦细胞膜的损伤。干旱胁迫下，过表达 *BpbZIP36* 基因的白桦中 SOD 与 POD 活性高于对照，*BpbZIP36* 基因能够通过提高植物体内 ROS 的清除能力和减少膜脂损伤程度，增强白桦在干旱胁迫下的抗旱能力。在后续研究中，将进一步探究 BpbZIP36 转录因子与各类顺式作用元件的相互作用关系，深入解析该转录因子调控白桦抗旱性的分子机制。

4 结 论

本研究从白桦中克隆 *BpbZIP36* 基因，对其序列进行生物信息学分析。qRT-PCR 结果显示，*BpbZIP36* 基因在白桦根、茎、叶这三个组织部位中均有表达，但是 *BpbZIP36* 基因的表达模式有所不同，说明 *BpbZIP36* 基因能够被干旱胁迫诱导表达。进一步构建植物过表达载体，通过农杆菌介导法获得转基因白桦，对转基因白桦和对照的干旱胁迫试验结果显示，白桦对干旱胁迫的耐受性的提高源于 *BpbZIP36* 基因的过量表达。转 *BpbZIP36* 基因植株在受到干旱胁迫后，体内细胞膜受到的脂过氧化损伤有所降低，POD、SOD 和 CAT 活性有所升高，进而增强了 ROS 清除能力，从而提高白桦的抗旱能力。本研究可为林木抗逆基因工程育种提供抗旱优良无性系。

参考文献：

[1] Zhu J K. Salt and drought stress signal transduction in plants[J]. Annual Review of Plant Biology,2002,53:247-273.

[2] Manacorda C A, Gudesblat G, Sutka M, et al. TuMV triggers stomatal closure but reduces drought tolerance in *Arabidopsis*[J]. Plant Cell and Environment,2021,44(5):1399-1416.

[3] Chaves M M, Maroco J P, Pereira J S. Understanding plant responses to drought: from genes to the whole plant[J]. Functional Plant Biology,2003,30:239-264.

[4] Joo H, Baek W, Lim C W, et al. Post-translational modifications of bZIP transcription factors in abscisic acid signaling and drought responses[J]. Current Genomics,2021,22:4-15.

[5] Liang Y, Xia J Q, Jiang Y S, et al. Genome-wide identification and analysis of *bZIP* gene family and resistance of *TaABI5* (*TabZIP96*) under freezing stress in wheat (*Triticum aestivum*)[J]. International Journal of Molecular Sciences,2022,23:2351.

[6] An J P, Yao J F, Xu R R, et al. Apple bZIP transcription factor MdbZIP44 regulates abscisic acid-promoted anthocyanin accumulation[J]. Plant Cell and Environment,2018,41:2678-2692.

[7] Zhu L, Zhang M J, Yang X Y, et al. Genome-wide identification of bZIP transcription factors in 12 Rosaceae species and modeling of novel mechanisms of EjbZIPs response to salt stress[J]. Plant Genome,2024,17:e20468.

[8] Dröge-Laser W, Snoek B L, Snel B, et al. The *Arabidopsis* bZIP transcription factor family: an update[J]. Current Opinion in Plant Biology,2018,45:36-49.

[9] Guan R, Xu S, Lu Z M, et al. Genomic characterization of bZIP transcription factors related to andrographolide biosynthesis in *Andrographis paniculata*[J]. International Journal of Biological Macromolecules,2022,223:1619-1631.

[10] Cao L R, Lu X M, Zhang P Y, et al. Systematic analysis of differentially expressed maize *ZmbZIP* genes between drought and rewatering transcriptome reveals bZIP family members involved in abiotic stress responses[J]. International Journal of Molecular Sciences,2019,20:4103.

[11] Qu D H, Wu F L, Zhao X H, et al. A bZIP transcription factor VabZIP12 from blueberry induced by dark septate endocyte improving the salt tolerance of transgenic *Arabidopsis*[J]. Plant Science,2022,315:111135.

[12] Joo J, Lee Y H, Song S I. OsbZIP42 is a positive regulator of ABA signaling and confers drought tolerance to rice[J]. Planta, 2019,249:1521-1533.

[13] Wang W B, Qiu X P, Yang Y X, et al. Sweetpotato bZIP transcription factor *IbABF4* confers tolerance to multiple abiotic stresses[J]. Frontiers in Plant Science,2019,10:630.

[14] 王艳敏 , 李静 , 殷志辉 , 等 . 大青杨 *PuICE1* 基因克隆及生物信息学分析 [J]. 林业科技 ,2024,49(4):23-28.
Wang Y M, Li J, Yin Z H, et al. Cloning and bioinformatics analysis of *PuICE1* in *Populus ussuriensis*[J]. Forestry Science &

Technology,2024,49(4):23-28.

[15] 李卓龙 , 毕宇 , 贾宝鹏 , 等 . 黑龙江省 9 个杨树品种的抗旱性分析 [J]. 森林工程 ,2025,41(6):1206-1217.
Li Z L, Bi Y, Jia B P, et al. Analysis of drought resistance in nine poplar varieties in Heilongjiang Province[J]. Forest Engineering, 2025,41(6):1206-1217.

[16] Wang Y M, Zhang Y M, Zhang X, et al. Poplar *PsnICE1* enhances cold tolerance by binding to different cis-acting elements to improve reactive oxygen species-scavenging capability[J]. Tree Physiology,2021,41:2424-2437.

[17] Elsayed A I, El-Hamahmy M A M, Rafudeen M S, et al. The impact of drought stress on antioxidant responses and accumulation of flavonolignans in milk thistle (*Silybum marianum* (L.) Gaertn)[J]. Plants,2019,8:611.

[18] Khan R, Ma X H, Zhang J, et al. Circular drought-hardening confers drought tolerance via modulation of the antioxidant defense system, osmoregulation, and gene expression in tobacco[J]. Physiologia Plantarum,2021,172:1073-1088.

[19] Wang H, Zhang Y T, Norris A, et al. S1-bZIP transcription factors play important roles in the regulation of fruit quality and stress response[J]. Frontiers in Plant Science,2021,12:802802.

[20] Willekens H, Chamnongpol S, Davey M, et al. Catalase is a sink for H_2O_2 and is indispensable for stress defence in C_3 plants[J]. The EMBO Journal,1997,16:4806-4816.

[21] Zheng C, Chen J P, Wang X W, et al. Reactive oxygen species in plants: metabolism, signaling, and oxidative modifications[J]. Antioxidants,2025,14:617.

[22] 李芳蕊 , 许思佳 , 刘霁广 , 等 . 转 *BpTCP10* 基因抑制表达白桦的耐盐性分析 [J]. 中南林业科技大学学报 ,2022,42(3):16-25,38.
Li F R, Xu S J, Liu J G, et al. Salt tolerance analysis of transgenic *Betula platyphylla* seedlings with inhibited *BpTCP10* expression[J]. Journal of Central South University of Forestry & Technology,2022,42(3):16-25,38.

[23] Wang B, Liu G Y, Wang C, et al. Molecular cloning and functional characterization of a Cu/Zn superoxide dismutase from jellyfish *Cyanea capillata*[J]. International Journal of Biological Macromolecules,2020,144:1-8.

[24] Liu Y H, He Z Q, Xie Y D, et al. Drought resistance mechanisms of *Phedimus aizoon* L.[J]. Scientific Reports,2021,11:13600.

[25] Song S, Qu Z P, Zhou X Y, et al. Effects of weak and strong drought conditions on physiological stability of flowering soybean[J]. Plants,2022,11:2708.

[26] Huang X S, Liu J H, Chen X J. Overexpression of *PtrABF* gene, a bZIP transcription factor isolated from *Poncirus trifoliata*, enhances dehydration and drought tolerance in tobacco via scavenging ROS and modulating expression of stress-responsive genes[J]. BMC Plant Biology,2010,10:230.

[27] Liu J Y, Chu J J, Ma C J, et al. Overexpression of an ABA-dependent grapevine bZIP transcription factor, VvABF2, enhances osmotic stress in *Arabidopsis*[J]. Plant Cell Reports, 2019,38:587-596.

[28] Wang X, Meng Y, Zhang S W, et al. Characterization of bZIP transcription factors in transcriptome of *Chrysanthemum mongolicum* and roles of *CmbZIP9* in drought stress resistance[J]. Plants,2024,13:2064.

[29] Zhang W X, Wang N, Yang J T, et al. The salt-induced transcription factor GmMYB84 confers salinity tolerance in soybean[J]. Plant Science,2020,291:110326.

[30] Cui J, Jiang N, Zhou X X, et al. Tomato MYB49 enhances resistance to *Phytophthora infestans* and tolerance to water deficit and salt stress[J]. Planta,2018,248:1487-1503.

[31] Li L, Zhang Q, Huang R K, et al. BpGRAS1 confers salt tolerance by mediating osmotic potential and reactive oxygen species scavenging capacity in *Betula platyphylla*[J]. International Journal of Biological Macromolecules,2025,334:149134.

[32] 刘中原 , 刘峥 , 徐颖 , 等 . 白桦 HSFA4 转录因子的克隆及耐盐功能分析 [J]. 林业科学 ,2020,56(5):69-79.
Liu Z Y, Liu Z, Xu Y, et al. Cloning and salt tolerance analysis of transcription factor HSFA4 from *Betula platyphylla*[J]. Scientia Silvae Sinicae,2020,56(5):69-79.

[33] Han X Y, Mao L C, Lu W J, et al. Positive regulation of the transcription of *AchnKCS* by a bZIP transcription factor in response to ABA-stimulated suberization of kiwifruit[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry,2019,67:7390-7398.

[34] Liu C T, Mao B G, Ou S J, et al. OsbZIP71, a bZIP transcription factor, confers salinity and drought tolerance in rice[J]. Plant Molecular Biology,2014,84:19-36.

[35] Van Leene J, Blomme J, Kulkarni S R, et al. Functional characterization of the Arabidopsis transcription factor bZIP29 reveals its role in leaf and root development[J]. Journal of Experimental Botany,2016,67:5825-5840.

[本文编校：吴　彬]