

利用激光扫描共聚焦显微镜研究拟南芥气孔发生与发育

汪 暖, 陈志雄, 刘向东*

(华南农业大学广东省植物分子育种重点实验室, 广州 510642)

摘 要: 通过激光扫描共聚焦显微镜, 利用不同种类(波长)的激光研究拟南芥叶片气孔发生与发育。结果表明, 利用紫外激光(351 nm)扫描可以清楚观察到拟南芥表皮各种细胞及其发生发育的形态变化, 包括表皮毛细胞、副卫细胞、保卫细胞、铺垫表皮细胞等。气孔发生过程中, 首先原表皮细胞不对称分裂产生拟分生组织和副卫细胞, 接着分化出保卫细胞母细胞, 进一步发育形成保卫细胞, 最终形成气孔器。气孔分化完成后, 保卫细胞在紫外激光下不产生荧光, 但利用蓝光激发(488 nm)辅助荧光素染色, 可清晰地看到保卫细胞。结果表明, 激光扫描共聚焦显微镜在拟南芥叶表皮细胞形态研究上有独特的功能。

关键词: 拟南芥; 气孔; 激光扫描共聚焦显微镜

中图分类号: Q942.4

文献标识码: A

文章编号: 1000-470X(2007)02-0109-03

Studies on Morphogenesis and Development of *Arabidopsis thaliana* Stomata Using Confocal Laser Scanning Microscope

WANG Nuan, CHEN Zhi-Xiong, LIU Xiang-Dong*

(Guangdong Provincial Key Laboratory of Plant Molecular Breeding, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: The morphogenesis and development of lamina stomata in *Arabidopsis thaliana* was studied, using confocal laser scanning microscope. The results showed that all types of cells, such as trichomes, subsidiary, guard and epidermal pavement cells, and their morphogenesis variation were observed clearly under UV laser (351 nm). During the formation of stomata, one protodermal cell produced a meristemoid and subsidiary cells by asymmetric division, followed by the formation of guard mother cell, which became two guard cells. Stomata were terminally differentiated. After the formation of stomata, guard cells could not emit fluorescence under UV laser (351 nm). So blue laser (488 nm) with staining by fluorescein was adopted and guard cells were seen clearly. It indicated that CLSM was a very novel tool to study the morphogenesis and development of lamina stomata.

Key words: *Arabidopsis thaliana*; Stomata; Confocal laser scanning microscope (CLSM)

气孔是植物进行气体与水分交换的门户, 对植物生长具有重要的作用。气孔的发生决定气孔的结构, 而气孔的结构是其功能的基础。所以, 研究气孔的发生过程对于进一步开展其调控的分子机理具有重要的意义^[1]。

拟南芥是双子叶的模式植物, 已有对其气孔发生发育的研究主要是采用固定的叶片通过光学显微镜^[2]和电子显微镜^[3,4]进行的。目前, 尚未见到直接利用活体材料通过激光扫描共聚焦显微镜(confocal laser scanning microscope, 简称 CLSM, 下同)观察拟南芥叶表皮形态和气孔发生发育的报道。我们拟利用拟南芥的活体叶片, 通过 CLSM 采用紫外和蓝光两种波长的激光研究气孔的发生发

育, 目的是弄清其发生发育的真实形态变化, 为进一步开展分子生物学研究提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

选取拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)“Columbia”生态型种子在4℃条件下春化5 d后, 先后用次氯酸钠溶液和70%乙醇分别消毒5 min和2 min, 无菌蒸馏水冲洗2次, 将消毒后的种子接种到1/2 MS培养基上, 在28℃光照培养箱中培养并萌发种子。取真叶为6~9片幼苗的叶片用于CLSM观察。

1.2 方法

选取拟南芥叶片, 上表皮朝上(以获取上表皮

收稿日期: 2006-10-05, 修回日期: 2006-11-30。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30270814); 教育部“高校青年教师奖”(2002383)资助。

作者简介: 汪暖(1982-), 女, 浙江金华人, 在读硕士生, 从事种质创新及细胞学研究; 刘向东(1965-), 男, 教授, 博导。

* 通讯作者(E-mail: xdlu@scau.edu.cn)。