

激光共聚焦显微镜在地方农业院校中的应用研究

王美军, 陈文婷

湖南农业大学园艺学院 湖南 长沙 410128

[摘要]激光共聚焦显微镜等大型仪器有力驱动着研究工作的迅猛发展与创新突破,在地方农业院校中已然成为不可或缺的关键支撑力量,本文探讨了激光扫描共聚焦显微镜(LSCM)在地方农业院校湖南农业大学科研领域中的应用研究。在分子生物学中,LSCM 助力辣椒、黄瓜等作物基因功能解析与育种,精准定位关键基因推动遗传改良;在植物病理学方面,针对柑橘溃疡病,探究病菌侵染机制,为抗病育种和防治提供依据;在营养健康研究里,LSCM 深入观察细胞微观层面,挖掘药物和天然产物作用机制,助力治疗方案创新;在食品科学中,其对乳液、干酪等结构品质形成机制的解析,指导工艺优化;土壤生态学研究,中,LSCM 揭示土壤矿物-有机物-微生物界面互作奥秘,推动该领域发展。

[关键词]激光扫描共聚焦显微镜;多领域应用;科研进展

[中图分类号]TH79 **[文献标识码]**A **[文章编号]**1687-9534(2025)-0026-47 **[收稿日期]**2025-07-03

一、激光扫描共聚焦显微镜简介

LSCM 融合显微、高速激光扫描、电子摄像与计算机图像处理,具备高分辨率性能,能清晰呈现微观结构;三维成像可直观展现样品立体形态;通过减少背景干扰、多通道荧光检测及活细胞低损伤观察,可精准监测细胞与分子动态。

湖南农业大学于 2014 年购置 Zeiss LSM710 蔡司激光共聚焦显微镜,硬件部分配备电动荧光显微镜、扫描检测单元、激光器和电脑工作站。激光器配置涵盖紫外 Diode 固体激光器(405nm)、蓝激光 Argon 多线激光器(488nm、514nm、543nm)以及红激光 He-Ne 激光器(633nm)。电动荧光显微镜为倒置式,物镜包括低倍物镜(5 倍、10 倍、20 倍)、高倍物镜(40 倍),油镜则有 63

倍和 100 倍。

该激光扫描共聚焦显微镜属于通用设备范畴,自 2017 年起面向校内外开放共享,年均机时数约为 2400 机时,有效机时数充足,符合教育部在大型仪器设备评价考核中的要求,即一台大型仪器设备的年额定使用机时为 800 小时。开放共享校内主要服务对象为园艺学院、农学院、生物科学技术学院、食品科学技术学院、资源学院、水产学院等多个学院的师生群体,LSCM 技术在科研领域有着重要的地位。

二、在科研领域的应用

(一)在分子生物学研究中的应用

1.在辣椒方面的研究

王瑾^[1-3]等研究转录因子 CaBBX10 在辣椒果实发育中促进叶绿素和类胡萝卜素积累的

机制,借助 LSCM 技术证实 CaBBX10 显著提高了 CaCHLD 叶绿素合成基因启动子驱动的荧光素酶 (LUC) 相对表达量,从而促进叶绿素的合成;借助 LSCM 技术证实调控辣椒角质层生物合成 CaFCD1 基因定位于细胞膜和细胞核,为辣椒果实角质层形成的分子调控机制研究提供理论支持,也为培育耐贮辣椒品种提供基因靶点;通过对辣椒下胚轴颜色突变体 Cha1 的研究,确定 CaTTG1 基因调控辣椒下胚轴花青素积累,为辣椒育种提供新的分子标记和理论依据。

汤冰倩^[4]等通过借助 LSCM 技术对辣椒雄性不育系 9704A 和恢复系 Zhangshugang 的分析,鉴定出恢复基因 CaRf,有力支持 Caz06g28920 作为辣椒中的候选 Rf 基因。

2. 在黄瓜方面的研究

郝宁^[5]等在研究新细胞壁结构调控黄瓜蜡粉形成时,借助 LSCM 技术鉴定出影响蜡粉形成的新结构-环颈带,解析了黄瓜果实表面蜡粉形成的分子机制,为培育油亮型黄瓜品种、提高果实品质提供新的理论和材料基础,该成果发表在《Nature Plants》杂志。

高璐瑶^[6]等借助 LSCM 技术发现 COPII 囊泡的核心成分 CsSEC23 定位于高尔基体和内质网,推测其保守功能可能影响黄瓜 COPII 囊泡的功能,从而介导黄瓜光泽度,该研究发表在《The Plant Journal》杂志。

沈茜^[7-8]等借助 LSCM 技术揭示了 CsMYB36 通过直接激活细胞扩张蛋白 CsEXLA3 的表达进而调控黄瓜果把伸长的分子机制,为适宜的黄瓜新品种选育提供理论依据;验证了与

根系发育和养分吸收相关的关键基因

CsMYB36 的功能,为黄瓜及其他园艺作物根系发育相关基因的研究提供有力方法;鉴定了黄瓜紧凑株型突变体 cpa1 及其相关基因 CsHLS1,并揭示了其调控黄瓜紧凑株型的分子机制,为黄瓜高密度种植的理想株型培育提供理论依据和基因资源。

3. 在甘薯方面的研究

董文^[9]等对转录因子 IbMYB1-2 进行研究,为深入了解甘薯地下器官中花青素生物合成和积累的调控机制提供新的见解。

4. 在水稻方面研究

张立成^[10]等观察到水稻穗发育相关基因 OsQ828 定位在细胞核中,与预测结果定位于细胞质和叶绿体中不符,说明该基因可能作为一个转录因子其作用,调节植株的生长发育;验证了水稻抽穗期相关基因 OsDof6 特异定位于细胞核中,在细胞核中行使转录因子的功能。

5. 在其他植物方面的研究

吴琪^[11]等研究硒代谢途径关键基因 BoSMT 和硫苷代谢途径关键基因 BoMY 在亚硒酸钠处理应答中介导萝卜硫素合成的功能及其调控的作用机制。

(二) 在植物病理学研究中的应用

湖南农业大学柑橘团队通过 LSCM 技术系统研究了枸橼 C-05 抗溃疡病遗传规律和抗性种质,为柑橘抗病育种和病害防治提供重要的理论依据和实践指导。赵亚等详细阐述了 LSCM 在柑橘溃疡病菌侵染过程研究中的应用;符红艳^[12]等揭示了枸橼 C-05 在抑制

病菌入侵与定殖方面的时空动态特征；赵明明等致力于鉴定枸橼 C-05 中 Lob1 的上游调控因子，并探究其在抗病性方面所发挥的功能，相关研究成果发表在《Horticulture Research》期刊。

（三）在营养健康研究中的应用

1. 在糖尿病及细胞自噬领域

糖尿病作为全球性健康难题，是一种以持续高血糖症为特征的代谢紊乱疾病。湖南农业大学医学营养干预团队借助（LSCM）技术，在糖尿病及细胞自噬研究方面成果显著。胡涌泉^[13]等发现消渴平处理 36 小时后可使 II 型糖尿病患者胰腺 β 细胞自噬体增多、凋亡率降低，可能与诱导自噬有关；张玉^[14]等揭示了维生素 B3、B6、B12 对胰岛 β 细胞自噬和凋亡的作用机制，为 B 族维生素控制血糖提供思路；吴艳阳^[15]等探究大蒜硫化物对细胞自噬与凋亡的影响，为免疫调节研究带来新视角；吴艳阳等证实一定浓度飞燕草素（25–100 μM ）可诱导 RIN-m5F 细胞自噬溶酶体形成，保护高糖损伤的胰腺 β 细胞；周海燕等构建了稳定表达绿色荧光蛋白 GIP 受体融合蛋白的细胞模型，为糖尿病药物筛选开辟新途径；周佳丽等分析黄芩水提取物对胰岛 β 细胞自噬及胰岛素释放的作用，探讨黄芩抗糖尿病机制；赖灯妮等表明匙羹藤酸（GAI）能减轻高糖应激下小鼠胰岛 β 细胞 MIN-6 凋亡并诱导自噬；黎勇等阐明罗汉果可通过影响 nrf2 入核调节抗氧化性。

2. 在茶叶方面的研究

熊立瑰^[16]等探讨表没食子儿茶素没食子

酸酯（EGCG）对秀丽线虫寿命的调节作用及其潜在作用机制，得出绿茶和 EGCG 调节活体自然衰老的作用机制主要集中在抗氧化性和促氧化性上。鹿颜^[17]等研究 EGCG 调控线粒体和氧化还原动态平衡影响，发现 EGCG 能够促进秀丽线虫成年期的健康寿命，具有抗衰老生物活性。

（四）在食品科学研究中的应用

湖南农业大学食品科学与工程团队借助 LSCM 技术，深入剖析乳液、菜籽油、常温再制干酪及乳脂的结构品质与形成机理。

万铮^[18]等人以薯蓣皂素制备凝胶乳液，利用 LSCM 分析其接触角和界面张力，成功验证该乳液稳定性优异。

刘渝港^[19]以菜籽油为基质、熊果酸为对象，添加二者共同消化后，运用 LSCM 观察表观形态、接触角与界 / 表面张力等，证实熊果酸形成的 W/O 皮克林乳液储存稳定性良好。

盛赵越^[20]针对不同蛋白原料的常温再制干酪，利用 LSCM 对其中蛋白质、脂肪和多糖进行荧光标记并分析相互作用及位置关系，结果显示蛋白质与多糖构成连续网络且脂肪填充其中，为干酪品质提升提供理论支撑。

沈建洋^[21]研究再制干酪拉伸性调控，通过 LSCM 观察乳化盐添加量、pH 值及马铃薯醋酸酯淀粉添加量对再制干酪微观结构的影响，发现这些因素改变蛋白质、脂肪和淀粉分布，进而影响拉伸性，为增强再制干酪拉伸稳定性奠定理论基础。

李芷茜借助 LSCM 观察不同组分脂滴界

面, 确认磷脂蛋白蛋层膜中磷脂与蛋白并存且稳定性良好, 为婴儿配方奶粉模拟母乳提供依据。

楚玲利用 LSCM 揭示食品危害物碳点破坏溶酶体致使细胞程序性坏死的机制。

(五) 在土壤生态学研究中的应用

湖南农业大学农业资源与环境团队致力于土壤矿物 - 有机物 - 微生物界面互作及土壤生物膜生态环境效应研究, 并取得了一定成果。鉴于土壤微生物多以生物被膜形式存在, 骆乐丹^[22]等人运用激光共聚焦扫描显微成像技术, 对土壤多物种生物被膜生长发育过程中的微菌落变化展开观测。研究发现, 经石灰和有机物处理后, 生物被膜生物量显著增加, 表面覆盖率得以扩大, 微菌落聚集形成短杆状微生物。

熊轩^[23]等则选取红黄泥田和酸紫泥田的多物种生物膜为研究样本, 以高岭石和针铁矿作为矿物相介质, 借助 LSCM 等技术, 深入观察矿物介导下生物膜的形貌结构特征与膜内细菌存活状况。研究表明, 高岭石能够刺激细菌分泌更多胞外物质, 进而有效促进了红黄泥田中多物种生物膜的形成, 为土壤生态学相关研究提供了重要的理论依据与实践参考, 有助于进一步理解土壤生态系统中复杂的生物物理化学过程及其相互关系。

三、结语

激光扫描共聚焦显微镜在湖南农业大学科学研究中发挥了重要作用, 它深度融入分子生物学、植物病理学等多学科研究, 为作物育种、病害防治、健康研究、食品研发及

土壤生态研究提供了关键技术支撑, 有力推动了地方农业科研发展。

展望未来, 随着技术持续升级, 其在农业科研领域的应用前景将更为广阔。湖南农业大学及其他地方农业院校应进一步强化仪器应用与创新研究, 促进学科交叉融合, 充分挖掘该技术潜力, 助力农业科研迈向新高度, 为农业现代化发展持续赋能。

作者简介: 王美军(1980-), 女, 汉族, 湖南南县, 高级实验师, 实验室管理; 陈文婷(1989-), 女, 汉族, 湖南澧县, 实验师(通讯作者), 实验室管理。

参考文献:

- [1]Jin Wang, Qingyun Shan, Qiaoling Yuan, et al, The transcription factor CaBBX10 promotes chlorophyll and carotenoid pigment accumulation in Capsicum annuum fruit[J]. Plant Physiology, 2024, 00, 1-15.
- [2]Jin Wang, Qingyun Shan, Ting Yi, et al, Fine mapping and candidate gene analysis of CaFCD1 affecting cuticle biosynthesis in Capsicum annuum L[J]. Theoretical and Applied Genetics (2023) 136 : 46.
- [3]Jin Wang, Yao Dai, Luzhao Pan, et al, Fine mapping and identification of CaTTG1, a candidate gene that regulates the hypocotyl anthocyanin accumulation in Capsicum annuum L[J] . Horticultural Plant Journal, 2023.
- [4] Bingqian Tang, Huiping Yang, Qinbiao Yin, et al, Fertility restorer gene CaRf and PepperSNP50K provide a promising breeding

system for hybrid pepper [J]. Horticulture Research, 2024, 11: 223.

[5] Ning Hao, Hongxin Yao, Michio Suzuki et al, lignin-based extracellular barrier in glandular trichome [J]. nature plants. 2024.

[6] Luyao Gao, Jiajian Cao, Siyu Gong, et al, The COPII subunit CsSEC23 mediates fruit glossiness in cucumber [J]. The Plant Journal (2023).

[7] Xi Shen, Ting Yang, Yalin Du, et al, Research on the function of CsMYB36 based on an effective hair root transformation system [J]. PLANT SIGNALING & BEHAVIOR 2024.

[8] Chunhua Wang, Jie Li, Kai Fang, et al, CsHLS1-CsSCL28 module regulates compact plant architecture in cucumber [J]. Plant Biotechnology Journal (2024).

[9] Wen Dong, Linfei Tang, Yali Peng, et al, Comparative transcriptome analysis of purple-fleshed sweet potato and its yellow-fleshed mutant provides insight into the transcription factors involved in anthocyanin biosynthesis in tuberous root Frontiers in Plant science [J]. Frontiers in Plant Science.

[10] Zhang L C. Preliminary study on the function of OsDof6 gene related to rice heading stage [D]. Changsha: Hunan Agricultural University, 2020.

[11] Qi Wu, Junwei Wang, Yuxiao Tian, et al, Selenocysteine methyltransferase SMT catalyzed the synthesis of Se-methylselenocysteine to regulate the accumulation of glucosinolates and

sulforaphane in broccoli [J]. Horticultural Plant Journal, 2024, 10 (5): 1151-1164.

[12] Fu, H.Y, Zhao, M.M, Xu, J, , et al, Citron C-05 inhibits both the penetration and colonization of Xanthomonas citri subsp. citri to achieve resistance to citrus canker disease [J]. Hort. Res. 2020, 7, 58–69.

[13] Hu Y Q, Hua Y Q, Zhou H Y, et al. Xiaoheping-induced autophagy protects pancreatic β -cells against apoptosis under high glucose stress [J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2018, 105: 407-412.

[14] Yu Z, Zhou X, Liu C, et al. Vitamin B6 Inhibits High Glucose-Induced Islet β Cell Apoptosis by Upregulating Autophagy Metabolites [J]. 2022, 12, 1048.

[15] Yanyang Wu, Yongquan Hu, Haiyan Zhou, et al. Organosulfur compounds induce cytoprotective autophagy against apoptosis by inhibiting mTOR phosphorylation activity in macrophages [J]. Acta Biochim Biophys Sin, 2018, 1–9.

[16] 熊立瑰. 茶叶中表没食子儿茶素没食子酸酯 (EGCG) 抗衰老的低促效应研究 [P]. 长沙: 湖南农业大学, 2015.

[17] 鹿颜. EGCG 调控线粒体和氧化还原动态平衡影响秀丽线虫幼虫发育作用研究 [P]. 长沙: 湖南农业大学, 2021.

[18] 万铮. 基于薯蓣皂素的低芥酸菜籽油凝胶制备及其特性研究 [D]. 长沙: 湖南农业大学, 2021: 33.

[19] 刘渝港. 植物油基质对熊果酸生物可及性和生物可利用度的影响机制研究 [D]. 长沙:

湖南农业大学, 2023: 16.

[20] 盛赵越, 王彩云, 韩仁娇, 张静, 蔡祥, 罗洁. 不同蛋白原料条件下常温再制干酪制品析水性和质构特性研究 [J]. 农业机械学报, 2024, 55 (6) : 343—352.

[21] 沈建洋, 盛赵越, 郭梦圆, 郭慧媛, 王鹏杰, 张颖, 张晓莹, 房习习, 王逸伦, 王彩云, 罗洁. 再制干酪拉伸性的调控机制 [J]. 食品科学, 2023, 44 (16) : 25—33.

[22] 骆乐丹, 赵升, 文翊, 严贵丽, 熊轩, 段良

霞, 欧阳凯. 不同农艺调控措施对稻田多物种生物被膜形成过程的影响 [J]. 微生物学通报, 2024, 51 (3) : 801—814.

[23] 熊轩, 李宇佳, 赵升, 严贵丽, 蒋宇, 汤宇晴, 刘单鹏, 欧阳凯. 土壤矿物介导下两种母质发育水稻土中多物种生物膜的形成 [J]. 微生物学通报.

Research on the Application of Laser Scanning Confocal Microscopy in Local Agricultural Universities

Wang Meijun, Chen Wenting

Horticulture College, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, Hunan, China

Abstract: Large instruments, such as laser confocal microscopes, have significantly driven the rapid development and innovation in research. They have become an essential support in local agricultural colleges. This paper explores the application of laser scanning confocal microscopy (LSCM) in the scientific research at Hunan Agricultural University, a local agricultural college. In molecular biology, LSCM aids in the genetic function analysis and breeding of crops like chili peppers and cucumbers, precisely locating key genes to promote genetic improvement. In plant pathology, it investigates the infection mechanisms of citrus canker, providing a basis for disease-resistant breeding and prevention. In nutritional health research, LSCM provides deep microscopic observations of cells, uncovering the mechanisms of drugs and natural products, which aids in the innovation of treatment plans. In food science, it analyzes the formation mechanisms of structures like emulsions and cheese, guiding process optimization. In soil ecology research, LSCM reveals the interaction secrets between soil minerals, organic matter, and microorganisms, promoting the development of this field.

Key words: laser scanning confocal microscope; multi-field application; scientific research progress