

细胞骨架和粘性多糖对坛紫菜壳孢子极性形成的影响

李琳¹, 严兴洪^{1,2*}

(1. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306;

2. 上海海洋大学省部共建水产种质资源发掘与利用教育部重点实验室, 上海 201306)

摘要: 应用解聚微丝和微管细胞骨架的特异性药物, 结合组织化学染色方法观察了坛紫菜壳孢子早期发育阶段中的细胞极性形成过程。观察结果表明, 坛紫菜壳孢子从放散入水作变形运动到萌发成二细胞的孢子苗共有两次细胞极性形成过程: 第一次发生在坛紫菜壳孢子作变形运动期间(形成前后轴); 第二次发生在壳孢子拉长呈椭圆形的一细胞萌发体期间(形成细胞的上下轴)。在这两次细胞极性形成过程中, 壳孢子外的粘性多糖, 尤其是硫酸化的酸性粘多糖主要聚集在运动壳孢子的后缘和壳孢子萌发体的下方, 说明粘性多糖有协同形成、稳定壳孢子细胞极性的作用。刚放散的壳孢子经高浓度的细胞骨架抑制剂处理后, 壳孢子的正常运动被阻止, 从而影响壳孢子的第一次细胞极性形成, 导致壳孢子不能萌发。运动后的壳孢子经高浓度的抑制剂处理后, 出现了假根形成和细胞分裂面不正常的畸形萌发体, 它们的基部均没有粘性多糖的显色。

关键词: 坛紫菜; 壳孢子; 细胞极性; 细胞骨架; 粘性多糖

中图分类号: S 917.3

文献标志码: A

细胞分裂前, 细胞内的某些胞质成分会按一定空间顺序不均等分布, 从而形成各种细胞内容的浓度梯度, 这种现象称为细胞极性, 正是由于细胞极性的存在, 使得细胞的不对称分裂成为可能^[1]。而细胞的不对称分裂是真核生物完成细胞功能分化和发育的基础, 母细胞(受精卵)只有在第一次细胞分裂时出现不对称分裂, 才能实现两个子细胞在结构和功能上的区分^[2-3]。许多真核细胞都具有极性表型, 具体表现为细胞的形状、细胞内各种细胞器和蛋白质等细胞内含物的不对称分布^[4]。

细胞骨架是真核细胞内由丝状蛋白多聚体构成的、遍布于整个细胞质的网络结构, 包括微丝、微管和中间纤维, 在植物细胞中是否存在中间纤维尚无定论^[5]。细胞骨架参与的细胞极性形成在陆地植物中已有相关报道^[6-7], 尤其在花粉管

和根毛的顶端生长过程中, 肌动蛋白微丝和微管起着举足轻重的作用^[8-9]。海洋植物中关于细胞极性的研究对象多集中在褐藻门墨角藻类, 其受精卵在光线照射或受精后, 肌动蛋白微丝首先会出现在背光面或受精孔相对的一面, 这一肌动蛋白微丝的极性分布决定了受精卵在第一次细胞不等分裂时的分裂面^[10]。紫菜的生殖孢子放散后, 总是要经历一段时间的变形虫运动后才能附着到基质上^[11], 没有运动能力或无法附着的孢子不能萌发, 只能保持浑圆状态直至分解死亡^[12]。但是关于紫菜生殖孢子的这种运动机理, 以及这种极性运动与附着之间的研究却不多见^[13-14]。

坛紫菜(*Pyropia haitanensis*)是我国的特有紫菜种, 生产上采苗时, 总有一部分壳孢子放散后无法正常萌发。藻类研究者一直关注生态因子和附着基质对紫菜孢子附着的影响^[15-18], 至今未见

收稿日期: 2013-04-12 修回日期: 2013-06-13

资助项目: 国家“八六三”高技术研究发展计划(2012AA10A411); 国家自然科学基金项目(31072208); 公益性行业(农业)科研专项(200903030); 上海市科委重点科技攻关项目(10391901100); 上海高校水产学一流学科建设项目; 上海海洋大学博士科研启动基金; 上海高校选拔培养优秀青年教师科研专项(SSC10002)

通信作者: 严兴洪, E-mail: xhyan@shou.edu.cn

关于坛紫菜壳孢子如何从一个细胞发育成为具有上下细胞极性萌发体的基础研究。本研究以坛紫菜壳孢子为实验材料,利用组织化学染色方法,观察坛紫菜壳孢子在萌发时的细胞极性形成过程,通过加入解聚微丝和微管细胞骨架的特异性药物,分析细胞骨架与坛紫菜壳孢子极性运动和细胞极性形成之间的关系。为丰富海洋藻类细胞极性研究,解决紫菜壳孢子附着问题奠定一定的理论基础。

1 材料与方法

1.1 坛紫菜贝壳丝状体的培育和促熟

取保存的坛紫菜野生种(PT-001)的自由丝状体,参照孙霖清等^[19]的自由丝状体移植方法,将坛紫菜野生种的自由丝状体接种到文蛤壳上,用富含MES培养基^[20]的灭菌海水作培养液,在温度为23℃,光密度40 $\mu\text{mol photons}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$,光周期10L:14D的条件下培养4周左右。当丝状体已布满整个文蛤壳的内壳面时,将培养温度升至 $(29 \pm 1)^\circ\text{C}$,光密度降至30 $\mu\text{mol photons}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$,光周期调至8L:16D,每7天更换一次N:P=1:10的灭菌海水以促进丝状体成熟。培养大约4周后,膨大藻丝大量形成,标志着丝状体已经成熟。

1.2 坛紫菜壳孢子放散和收集

将长满成熟丝状体的文蛤壳放入200 mL的烧杯中,加入50 mL富含MES培养基的灭菌海水,同时将温度降至 $(24 \pm 1)^\circ\text{C}$ 促进壳孢子放散。每天在中午12点之前收集壳孢子,并且在收集壳孢子之前,用灭菌海水将文蛤壳表面冲洗几遍,以除去先前放散的壳孢子,换入干净的烧杯中继续充气。大约15 min后,将烧杯中的海水用筛绢过滤至两个直径为9 cm的培养皿中,其中一个培养皿底部事先放置盖玻片用于附着壳孢子,这些壳孢子将用于细胞染色和药剂实验,另一培养皿中的孢子水立即在倒置显微镜下随机吸取至干净盖玻片上,放入六孔细胞培养板进行药剂处理实验。

1.3 组织化学染色观察坛紫菜壳孢子萌发过程

用甲苯胺蓝(Toluidine blue)和阿利新蓝(Alcian blue)对培养皿中盖玻片上处于不同发育时期的壳孢子进行染色,观察细胞外周粘性多糖的聚集位置。甲苯胺蓝的染色操作如下,取甲苯胺蓝粉末用去离子水制成0.1%的溶液;染色时,

用甲苯胺蓝溶液浸染1 min,然后用灭菌海水充分水洗后置于显微镜(Nikon Eclipse 90i)下观察并拍照。阿利新蓝染色时,取1 g阿利新蓝粉末溶于97 mL去离子水与3 mL醋酸的混合溶剂,使用之前过滤并调节 $\text{pH} = 2.5$ 。染色和观察方法同上。

1.4 细胞骨架抑制剂处理坛紫菜壳孢子

Latrunculin B(Lat B)和Nocodazole(Noc)的粉末溶于二甲亚砜溶液中,分别制成5 mg/mL的母液保存于 -20°C 冰箱中。用于处理刚放散的壳孢子时,取出母液融化后用MES培养液稀释成最终的药剂处理浓度。二甲亚砜的浓度不能超过1%(v/v),对照组培养液用含相同浓度二甲亚砜的MES培养液。用六孔细胞培养板在 $(24 \pm 1)^\circ\text{C}$,40 $\mu\text{mol photons}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$,光周期10L:14D条件下培养对照组和处理组的壳孢子,培养开始后3 h观察壳孢子的运动;48 h后计数萌发体和未萌发的壳孢子,每个处理组计数的壳孢子总数不少于100个,每组实验设定3个平行,取平均值计算壳孢子的萌发率,用t-test比较对照组与药剂处理组之间的显著性差异。待培养皿中盖玻片上的壳孢子开始变形运动后,用上述实验中的最高药剂浓度处理已经开始变形运动的壳孢子,培养48 h后观察这些壳孢子的萌发情况,培养方法和条件同上。

2 结果

2.1 壳孢子运动及萌发过程

对坛紫菜壳孢子从放散入水到两细胞萌发体形成进行观察,结果发现:刚放散出来的坛紫菜壳孢子没有固定形状,在水体中漂浮,转移至培养器皿后不久孢子变得浑圆(图版I-1)。根据壳孢子的健康程度,经过大约30 min的停留,孢子开始伸缩或紧贴培养基质进行类似变形虫运动的爬行(图版I-2;图版II),此时,根据运动的方向能明显区分出孢子的前后。经过一段时间的运动,当壳孢子遇到合适的附着点之后,立即停止运动、直立并迅速拉长(可以区分壳孢子的上下),同时色素体移向顶端,而基部则聚集一些无色的颗粒物质(图版I-3),随着培养时间的延长,逐渐在基部无色颗粒聚集的位置伸出假根,形成了一细胞的壳孢子萌发体(图版I-4)。第一次的细胞不等分裂垂直于一细胞萌发体上假根与顶端假象的上下轴,将一细胞萌发体

分成上下两个形状不同的细胞(图版 I-5)。

2.2 壳孢子运动和附着时细胞外周粘性多糖的变化

利用甲苯胺蓝和阿利新蓝对红藻生殖孢子细胞外周粘性多糖的专一着色原理^[21],本研究对坛紫菜壳孢子从放散至细胞不等分裂这一过程中胞外粘性多糖的变化做了跟踪观察。刚放散出来的壳孢子外周显色并不明显,尤其是甲苯胺蓝染色的结果,几乎看不到多糖显色,说明刚放散出来的坛紫菜壳孢子粘性多糖不多(图版 I-6,10)。随着培养时间和壳孢子运动能力的增强,壳孢子外周的粘性多糖逐渐增加,主要集中在运动时与培养基质贴合的位置(图版 I-7,11),当壳孢子拉伸直立并长出假根形成一细胞萌发体时,虽然阿利新蓝着色的硫酸化酸性粘多糖可以在整个萌发体周围着色,但粘性多糖仍主要集中在假根周围(图版 I-8,9,12,13)。

2.3 Lat B 和 Noc 对坛紫菜壳孢子极性形成的影响

由于 Lat B 和 Noc 对细胞骨架中的微丝和微管细胞骨架具有特异的解聚作用^[22-23],因此,根据药剂处理后壳孢子的运动能力(前后轴)和萌发体形成(上下轴)的数量,判定这两种细胞骨架抑制剂对坛紫菜壳孢子细胞极性形成的影响。药剂处理后 3 h,观察发现 Lat B 和 Noc 在最高浓度组也不能完全抑制壳孢子的运动,但是浓度处理组之间壳孢子的运动强度有差异:随着浓度升高,爬行的壳孢子比例减少,原地伸缩的壳孢子比例增加,两种药剂的最高浓度组中仅观察到少量稍有变形的壳孢子。处理 48 h 后的壳孢子萌发率与药剂的浓度关系密切,尤其以 Lat B 效果显著,随着药剂浓度升高,壳孢子萌发率明显下降,而且 Lat B 处理组中最低浓度组(1 $\mu\text{g/mL}$)壳孢子萌发率与对照组中壳孢子萌发率差异极显著($P < 0.01$)。Lat B 最高浓度(20 $\mu\text{g/mL}$)处理坛紫菜壳孢子 48 h 后,壳孢子全部保持浑圆状态,不能形成萌发体(图 1)。Noc 在浓度小于 10 $\mu\text{g/mL}$ 处理壳孢子时,对壳孢子萌发率的影响区别不大,当 Noc 的处理浓度大于 10 $\mu\text{g/mL}$ 时,对壳孢子萌发的抑制能力明显提高,最大浓度组(40 $\mu\text{g/mL}$)处理壳孢子 48 h 后,壳孢子也不能形成萌发体;各 Noc 浓度处理组中壳孢子萌发率与对照组中壳孢子萌发率的比例差异极显著($P < 0.01$)(图 2)。

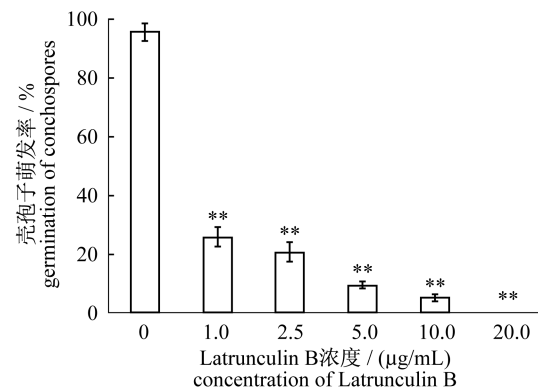


图 1 Latrunculin B 对坛紫菜壳孢子萌发的影响

图中“**”表示各 Latrunculin B 浓度处理组与对照组差异极显著($P < 0.01$)

Fig.1 The effect of Latrunculin B on the germination of conchospores in *P. haitanensis*

** indicates very significant difference

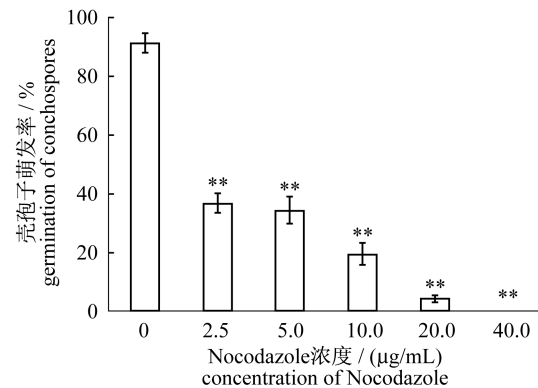


图 2 Nocodazole 对坛紫菜壳孢子萌发的影响

图中“**”表示各 Nocodazole 浓度处理组与对照组差异极显著($P < 0.01$)

Fig.2 The effect of Nocodazole on the germination of conchospores in *P. haitanensis*

** indicates very significant difference

分别用上述实验中的最高浓度(20 $\mu\text{g/mL}$ Lat B 和 40 $\mu\text{g/mL}$ Noc)处理已经开始运动的壳孢子,48 h 后发现壳孢子几乎都形成了萌发体,但是在这些萌发体中观察到一些为数不多的畸形表现:壳孢子长出两条假根(图版 I-14);壳孢子没有伸出假根之前进行了细胞分裂;分裂形成的两个细胞在大小和形状上几乎没有区别(图版 I-15);壳孢子萌发体的假根粗大(图版 I-15 ~ 17);细胞分裂面不与上下轴垂直等现象(图版 I-16,17)。同时,用甲苯胺蓝染色发现畸形萌发体的假根附着部位没有酸性多糖显色。

3 讨论

3.1 微丝与微管决定的坛紫菜壳孢子的第一次细胞极性形成

本研究利用细胞骨架的特异性抑制剂以及组织化学染色方法,对坛紫菜壳孢子从放散至萌发过程的极性形成问题做了初步探讨。放散出来的坛紫菜壳孢子必须经过一段时间的变形虫运动才能萌发,这一观察结果与教科书上所描述的红藻门藻类生殖孢子不能运动的说法相悖^[24]。对原生动物细胞和高等哺乳动物细胞的研究已经发现没有肌纤维的细胞之所以能运动是因为它们可以依靠细胞骨架在运动前沿不断聚合推动细胞膜前进,在基部靠近细胞体部位通过细胞骨架的不断解聚收缩,从而拖拉细胞向前运动^[25-26]。细胞骨架抑制剂处理后的壳孢子的运动能力受到影响,这一结果与已经报道的 *Porphyra pulchella* 的原孢子和条斑紫菜的单孢子运动依靠微丝和肌动蛋白牵引的结果相似^[13-14]。同时,观察发现这些抑制剂处理过的壳孢子因为无法正常运动导致最终不能附着萌发(图1,图2),这一结果证明细胞骨架抑制剂通过影响壳孢子的运动阻止了壳孢子发育过程中的第一次细胞极性形成。

3.2 微丝与微管干扰下的坛紫菜壳孢子的第二次细胞极性形成

如果壳孢子萌发过程中第一次细胞极性已经形成,即壳孢子开始运动后,用高浓度细胞骨架的特异性解聚药物处理壳孢子,发现壳孢子虽能形成萌发体,但在萌发体中出现了少量的畸形现象(图版 I -14 ~ 17)。壳孢子的这些细胞分裂、假根形状和数目不正常现象,与高等植物中用微丝和微管特异性药物阻断细胞不等分裂、花粉管和根丝细胞顶端生长的实验结果相类似^[2,8-9]。从而推测坛紫菜壳孢子在运动结束,附着于基质上开始拉长进行细胞分裂形成萌发体时,微丝和微管也参与了此时拉长壳孢子上下轴的极性形成。而壳孢子畸形萌发体较少的原因,可能是因为刚放散的壳孢子没有细胞壁^[11-12],壳孢子萌发过程中逐渐形成的细胞壁使得细胞骨架解聚药物的渗透能力下降,无法达到细胞骨架的有效处理浓度。对烟草和蚕豆叶肉细胞的微丝骨架研究也发现,没有细胞壁的原生质体是研究的最佳材料^[27]。

3.3 粘性多糖对坛紫菜壳孢子的运动和萌发的重要性

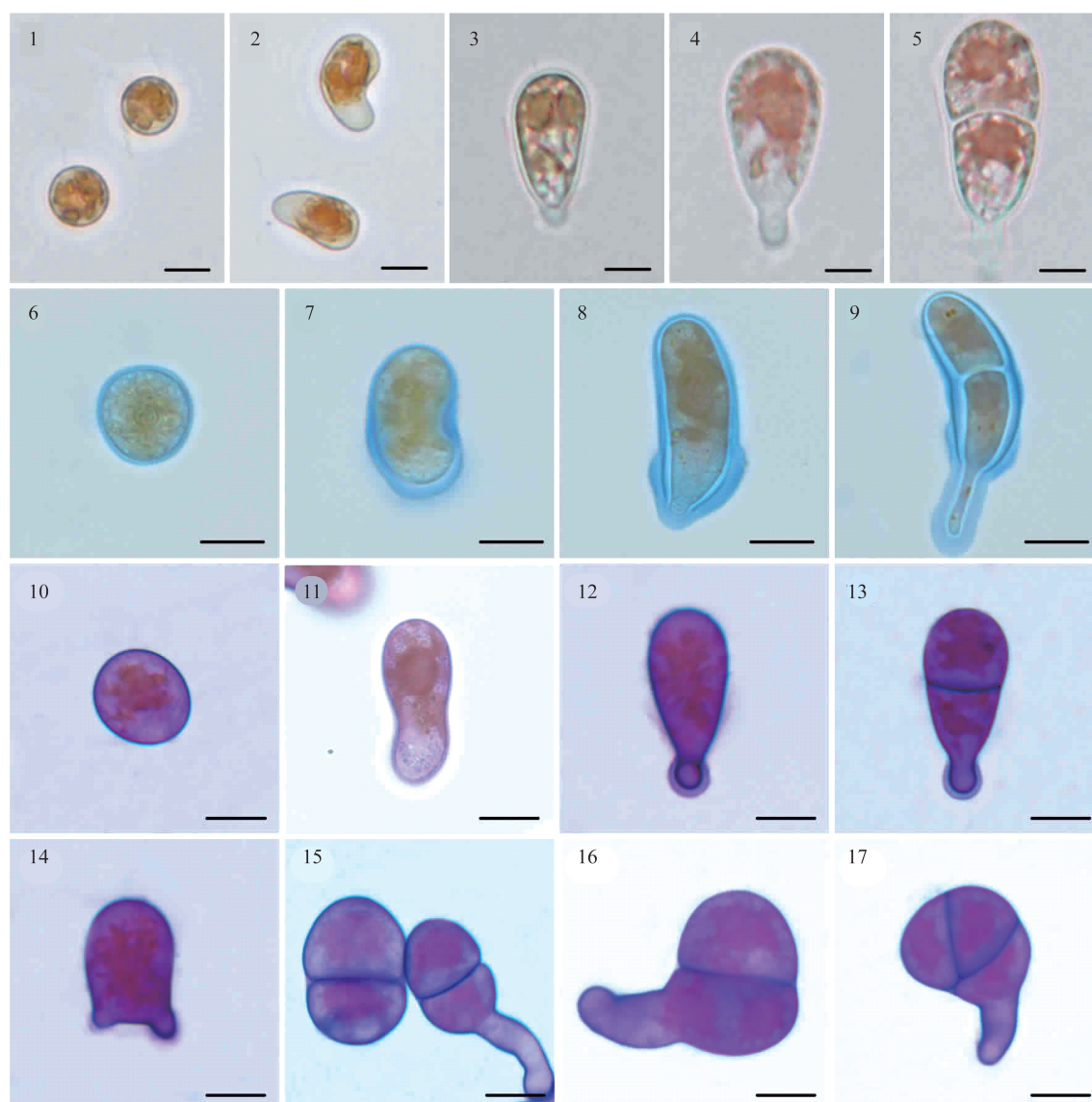
刚放散出来的壳孢子粘性多糖显色不明显(图版 I -6,10),这与刚放散的壳孢子在盖玻片上贴附不紧密,染色时容易脱落的现象相吻合。随着培养时间延长,开始运动的壳孢子在与盖玻片上贴附的位置有多糖显色,尤其是阿利新蓝染色的硫酸化酸性粘多糖着色明显(图版 I -7),附后的壳孢子均在假根周围聚集多糖(图版 I -8,9,12,13)。这些结果表明胞外的粘性多糖对壳孢子运动时协同形成孢子前后轴、附着时维持萌发体上下轴有重要作用。本研究也曾用 PAS (periodic acid-schiff) 染色坛紫菜壳孢子的中性多糖,但并没有观察到显色结果。红藻门真红藻纲中凹顶藻 (*Laurencia arbuscula*) 无性生殖产生的四分孢子,在放散出来时细胞外周就有明显的中性多糖和酸性多糖,而且随着孢子的附着和萌发,硫酸化的酸性多糖并不是聚集在假根,而是在壳孢子萌发体的上部^[21]。这些染色结果的差异表明红藻门中不同藻类的粘性多糖的成分和聚集位置可能与产生相应孢子的生殖方式和进化程度有关系。

本研究第一次从细胞极性形成角度出发,利用细胞骨架特异性抑制剂探讨了细胞骨架和粘性多糖在坛紫菜壳孢子运动和附着时的作用。从上述这些观察结果可以推测,坛紫菜壳孢子萌发过程中细胞极性形成的大致模型:刚放散出来的壳孢子需要一段时间的粘性多糖积累,通过细胞骨架的聚合和解聚牵引壳孢子进行极性运动,在这个过程中逐渐分泌的粘性多糖协同壳孢子形成第一次的细胞极性;当壳孢子遇到合适的附着位置直立并逐渐拉伸时,粘性多糖在附着位置分泌,帮助壳孢子稳定已经形成的上下轴。

参考文献:

- [1] Cove D J. The generation and modification of cell polarity[J]. Journal of Experimental Botany, 2000, 51(346): 831 - 838.
- [2] Abrash E B, Bergmann D C. Asymmetric cell divisions: A view from plant development [J]. Developmental Cell, 2009, 16(6): 783 - 796.
- [3] Knoblich J A. Asymmetric cell division during animal development [J]. Nature Reviews Molecular Cell Biology, 2001, 2(1): 11 - 20.

- [4] 胡轶红,徐永华. 细胞极性的形成[J]. 细胞生物学杂志,2004,26(4):372-376.
- [5] 翟中和,王喜忠,丁明孝. 细胞生物学[M]. 3版. 北京:高等教育出版社,2007:265-279.
- [6] Hepler P K, Vidali L, Cheung A Y. Polarized cell growth in higher plants[J]. Annual Review of Cell and Developmental Biology, 2001, 17 (1): 159-187.
- [7] Staiger C J. Signaling to the actin cytoskeleton in plants[J]. Annual Review of Plant Biology,2000,51(1):257-288.
- [8] Fu Y, Wu G, Yang Z. Rop GTPase-dependent dynamics of tip-localized F-actin controls tip growth in pollen tubes[J]. The Journal of Cell Biology, 2001,152(5):1019-1032.
- [9] Sieberer B J, Ketelaar T, Esseling J J, et al. Microtubules guide root hair tip growth[J]. New Phytologist,2005,167(3):711-719.
- [10] Brownlee C, Bouget F Y, Corellou F. Choosing sides: Establishment of polarity in zygotes of fucoid algae[J]. Seminars in Cell & Developmental Biology,2001,12(5):345-351.
- [11] 范晓蕾. 紫菜壳孢子萌发过程及其世代差异研究[D]. 青岛:中国科学院海洋研究所,2007:38.
- [12] Hawkes M W. Ultrastructure characteristics of monospores formation in *Porphyra gardneri* (Rhodophyta) [J]. Journal of Phycology, 1980, 16 (2):192-196.
- [13] Ackland J C, West J A, Pickett-Heaps J. Actin and myosin regulate pseudopodia of *Porphyra pulchella* (Rhodophyta) archeospores [J]. Journal of Phycology,2007,43(1):129-138.
- [14] Li L, Saga N, Mikami K. Phosphatidylinositol 3-kinase activity and asymmetrical accumulation of F-actin are necessary for establishment of cell polarity in the early development of monospores from the marine red alga *Porphyra yezoensis* [J]. Journal of Experimental Botany,2008,59(13):3575-3586.
- [15] 孔晓锐,吴菲菲. 条斑紫菜壳孢子附着条件研究[J]. 现代农业科技,2012,579(13):236-237.
- [16] 陈美琴,郑宝福,任国忠. 温度对条斑紫菜壳孢子和单孢子附着的影响[J]. 海洋湖沼通报,1985,3:66-69.
- [17] 吕峰,严兴洪,王小红,等. 温度对条斑紫菜不同品系壳孢子放散、萌发和附着的影响[J]. 江苏农业科学,2013,41(1):233-235.
- [18] 孔晓锐. 环境因子对条斑紫菜壳孢子附着、萌发及幼苗生长的影响[D]. 青岛:中国海洋大学,2012.
- [19] 孙霖清,李琳,刘长军,等. 坛紫菜自由丝状体移植育苗的初步研究[J]. 上海海洋大学学报,2012,21(5):709-714.
- [20] 王素娟,张小平,徐志东,等. 坛紫菜营养细胞和原生质体培养的研究 I [J]. 海洋与湖沼,1986,17(3):217-221.
- [21] Bouzon Z L, Ouriques L C. Characterization of *Laurencia arbuscula* spore mucilage and cell walls with stains and FITC-labelled lectins [J]. Aquatic Botany,2007,86(4):301-308.
- [22] Spector I, Shochet N R, Blasberger D, et al. Latrunculins-novel marine macrolides that disrupt microfilament organization and affect cell growth: I. Comparison with cytochalasin D [J]. Cell Motility and the Cytoskeleton,2005,13(3):127-144.
- [23] Liao G, Nagasaki T, Gundersen G G. Low concentrations of nocodazole interfere with fibroblast locomotion without significantly affecting microtubule level: Implications for the role of dynamic microtubules in cell locomotion[J]. Journal of Cell Science,1995,108(11):3473-3483.
- [24] 李伟新,朱仲嘉,刘凤贤. 海藻学概论[M]. 上海:上海科学技术出版社,1982:26.
- [25] Pollard T D, Borisy G G. Cellular motility driven by assembly and disassembly of actin filaments [J]. Cell,2003,112(4):453-465.
- [26] 苗龙. 细胞运动、细胞迁移与细胞骨架研究进展[J]. 生物物理学报,2007,23(4):281-289.
- [27] 叶露飞,刘成科,孟春梅,等. 烟草 BY-2 细胞和蚕豆叶肉细胞原生质体微丝骨架及 latrunculin B 处理对其分布的影响[J]. 浙江大学学报:农业与生命科学版,2010,36(5):497-502.

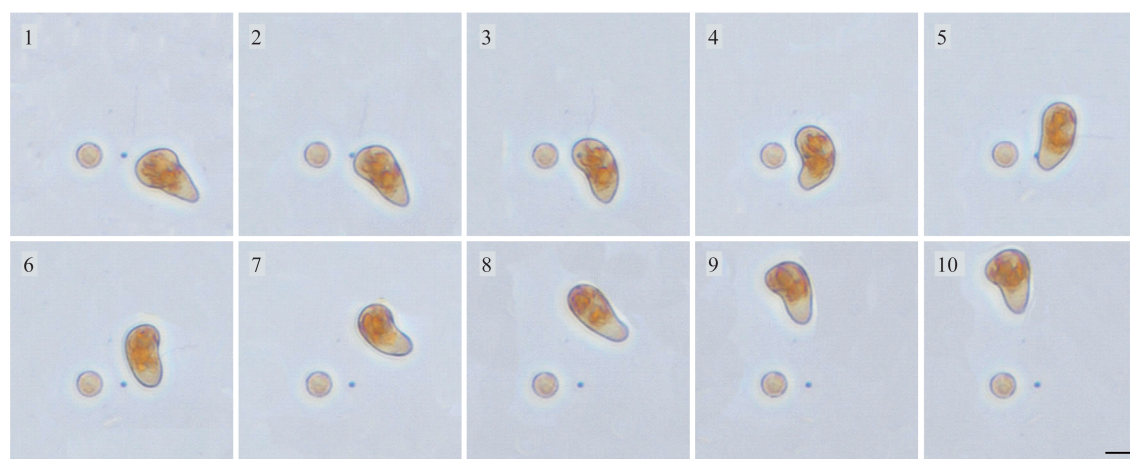


图版 I 坛紫菜壳孢子早期发育过程中的细胞极性形成

1~5:坛紫菜壳孢子的萌发过程。1. 刚放散的壳孢子, 2. 运动中的壳孢子, 3. 附着直立的壳孢子, 4. 假根形成的一细胞萌发体, 5. 细胞不等分裂后的2细胞萌发体。6~9. 阿利新蓝对壳孢子染色。6. 刚放散的壳孢子, 7. 运动中的壳孢子, 8. 一细胞萌发体, 9. 二细胞萌发体。10~13: 甲苯胺蓝对壳孢子染色。10. 刚放散的壳孢子, 11. 运动中的壳孢子, 12. 一细胞萌发体, 13. 二细胞萌发体。14~17: 细胞骨架抑制剂处理运动中壳孢子的结果。14, 15 经 Lat B 处理, 图 16, 17. 经 Noc 处理。图中标尺为 10 μm

Plate I The cell polarization of conchospores in *P. haitanensis*

1-5. The early development of conchospores of *P. haitanensis*. 1. Released conchospores; 2. Migrating conchospores; 3. Up-righted conchospore; 4. One-celled conchospore germling with rhizoid; 5. Two-celled conchospore germlings after asymmetric cell division; 6-9. Conchospores were stained with alcian blue; 6. Released conchospore; 7. Migrating conchospore; 8. One-celled conchospore germling; 9. Two-celled conchospore germling; 10-13. Conchospores were stained with toluidin blue; 10. Released conchospore; 11. Migrating conchospore; 12. One-celled conchospore germling; 13. Two-celled conchospore germling; 14-17. Cytoskeleton inhibitors treated migrated conchospores stained with toluidin blue; 14, 15. Lat B treated conchospores; 16, 17. Noc treated conchospores. Scale bars = 10 μm



图版 II 坛紫菜壳孢子的一组变形虫运动

1 ~ 10. 拍摄时间为 7 min, 图中标尺为 10 μm

Plate II The ameba movement of conchospore in *P. haitanensis*

The conchospore spent 7 minutes to move from the position in figure 1 to figure 10, Scale bar = 10 μm

Cytoskeleton and mucilage involved in the cell polarization of conchospores in *Pyropia haitanensis*

LI Lin¹, YAN Xinghong^{1,2*}

(1. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

2. Key Laboratory of Exploration and Utilization of Aquatic Genetic Resources, Ministry of Education, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: The specific inhibitors of cytoskeleton and histochemical stain were used to investigate formation of cell polarization during the early development of conchospores in *Pyropia haitanensis*. Polarized conchospores were observed twice: Anterior-posterior axis is formed in migrating conchospores. After migration, conchospores adhere to the substratum and then apical-basal axis is established. Meanwhile, composition of mucilage around conchospores was studied, and acidic polysaccharides and sulfated polysaccharides were found at the rear end in migrating conchospores and basal portion of up-righted conchospores. These results indicate that mucilage is involved in formation and maintenance of the cell polarization in conchospores. Inhibitors of cytoskeleton prevented the released conchospores from germinating through disturbing the anterior-posterior axis formed in migrating conchospores. It was found that they also affected the establishment of apical-basal axis for abnormal germinations in the inhibitors-treated migrated conchospores. These results indicate that cytoskeleton and mucilage are involved constantly in twice cell polarization formation of conchospores in *P. haitanensis*.

Key words: *Pyropia haitanensis*; conchospores; cell polarization; cytoskeleton; mucilage

Corresponding author: YAN Xinghong. E-mail: xhyan@shou.edu.cn