

几种藻类蛋白核的超微结构研究

何培民¹ 吴维宁¹ 赵建华³ 陈根云² 张大兵³

(1. 上海水产大学, 上海 200090; 2. 中国科学院上海植物生理研究所, 上海 200032; 3. 上海农科院, 上海 201106)

摘要:应用电镜及免疫电镜技术对莱茵藻、小球藻、条浒苔和紫菜等藻类的叶绿体蛋白核的超微结构及主要组成成分进行了观察和研究。结果显示:不同藻类的蛋白核结构不同,显示了藻类蛋白核的多样性。蛋白核为球形或椭圆形,由蛋白质组成。莱茵藻、小球藻和条浒苔的蛋白核外围被淀粉鞘所包围,而紫菜的蛋白核外围无淀粉鞘而直接被叶绿体的类囊体所包围。淀粉鞘由淀粉组成,淀粉鞘的厚薄与藻体藻龄及培养状态有关系。在蛋白核中央,一般都具有由类囊体形成的孔道,使蛋白核与外界联系,小球藻和条浒苔蛋白核具有 1 条纵向孔道,而莱茵藻和紫菜为多条孔道。金相免疫技术检测结果显示 Rubisco 和 Rubisco 活化酶均在蛋白核及淀粉鞘区域中定位,表明蛋白核具有光合作用功能。

关键词:藻类;蛋白核;超微结构;分子定位

中图分类号: Q949.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3207(2002)04-0327-08

大部分藻类都具有蛋白核(Pyrenoid)结构^[1]。最近国外研究资料认为蛋白核可能涉及光合功能和 CCM(CO₂ 浓缩机制)^[2], Miyamura 等研究显示叶绿体 DNA 位于蛋白核中^[3]。可见,蛋白核在藻类叶绿体分子生物学、细胞生理及生物进化等方面都具有重要作用。为此,应用电镜技术对几种藻类蛋白核超微结构进行了观察,应用免疫电镜技术对 Rubisco 和 Rubisco 活化酶进行分子定位。

1 材料与方法

1.1 藻类来源 莱茵藻(*Chlamydomonas reinhardtii*)由中国科学院上海植物生理研究所徐春和教授赠送。中国小球藻(*Chlorella* spp. 640909)由上海水产大学张道南教授分离,长期用于海水养殖生产,它的分类地位目前还不清楚。条斑紫菜(*Porphyra yezoensis*)和条浒苔(*Enteromorpha clathrata*)从江苏启东吕泗海丰紫菜养殖海区采集。

1.2 莱茵藻培养 用 1000mL 三角烧瓶盛有 800mL 培养基进行充气培养,接种量为 10%。培养液参见文献^[4],光照强度 50—60μmol m⁻² s⁻¹,光照周期 12L: 12D,培养温度为 25℃。

收稿日期: 2001-04-10; 修订日期: 2001-11-30

基金项目: 上海市曙光计划资助项目(SG-98-032); 国家重点基础研究发展规划资助项目(G1998010100)

作者简介: 何培民(1959—),男,江西南昌人,主要从事藻类生物工程和分子生物学教学与科研

1.3 小球藻培养 藻种由上海水产大学藻类保种室提供, 用 200 mL 消毒培养液培养, 培养容器为 300 mL 三角烧瓶, 培养液为 F/2 配方, 接种量为 1/10。培养条件为: 光照强度 $37-57 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, 光照周期 12L: 12D, 培养温度为 $25-26^\circ\text{C}$ 。

1.4 条浒苔培养 用 1000 mL 三角烧瓶盛有 500 mL 消毒培养液充气培养, 培养液为 PES 培养液。光照强度 $37-57 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, 光照周期 12L: 12D, 培养温度为 20°C 。

1.5 Rubisco 和 Rubisco 活化酶抗体的制备 Rubisco 大亚基和全酶第一抗体由张大兵提供, 制备方法参阅文献[5]。离心收集培养的原始小球藻(*C. protothecoides*) 经液氮冻融、研磨、离心获上清液, 用 35%—55% 硫酸铵分部沉淀蛋白质, 经 Sephacryl S-300 柱和 DEAE-纤维素(DE-52) 柱层析及 NaCl 梯度洗脱, 获得纯化的 Rubisco。将 2mg 纯化的小球藻全酶、大亚基、分别和 1mL 弗氏完全佐剂混合, 给大白兔皮下注射, 并每隔一定时间进行加强, 40d 后, 制备出抗体。

Rubisco 活化酶抗体从菠菜中提取和制备, 方法参见唐如航等文献^[6]。首先用 35% 的硫酸铵沉淀菠菜叶片的上清液蛋白, 再经 DEAE sephacel、MonoQ 和 FPLC system (Pharmacia 生产) 纯化出 Rubisco 活化酶, 然后制备出兔抗 Rubisco 活化酶抗血清, 并对其抗体用 Western 印迹鉴定。

1.6 免疫金电镜切片制作 Rubisco 免疫金电镜切片制作方法基本按照 Morita 文献描述方法进行^[7]。经培养 3—5d 的莱茵藻和小球藻经离心收集后, 用 3% 戊二醛在 4°C 固定; 条浒苔和紫菜直接用 3% 戊二醛(海水配制) 在 4°C 固定 1—2d, 固定后的藻体用 0.1mol/L 磷酸缓冲液(pH 7.4) 冲洗 3 次, 再用 2% 锇酸(磷酸缓冲液配制, pH 7.2), 固定 2h, 经磷酸缓冲液洗涤后, 莱茵藻和小球藻须通过离心沉淀, 用 2% 琼脂包埋及切成小块。条浒苔和紫菜则可直接经乙醇经 50%、70%、80%、90%、100% 的乙醇系列脱水(15min, 4°C), 用 Epon812 树脂包埋, 60°C 过夜聚合。使用玻璃刀进行超薄切片。胶体金染色在室温进行; 首先切片在 5% H_2O_2 浸泡 10min, 用 20mmol/L 磷酸缓冲液(pH 7.4) 冲洗 3 次, 在含有 5% BSA(牛血清蛋白)的磷酸缓冲液浸泡 30min, 磷酸缓冲液洗脱 3 次, 在含有原始小球藻 Rubisco 第一抗体(按 1:300 稀释) 及 1% BSA 的磷酸缓冲液中温育 30min。温育后, 用磷酸缓冲液洗涤 6 次, 再在含有第二抗体(1:20 稀释) 及含 1% BSA 的磷酸缓冲液温育 30min, 第二抗体为羊抗兔金标制剂(直径为 10nm, 为 Sigma 公司产品)。结束后用磷酸缓冲液洗涤 4—6 次, 并用蒸馏水洗涤, 在空气中干燥, 用 4% 醋酸铀染色 15min, 经蒸馏水洗涤 4 次后, 再用 2% 柠檬酸铅染色 30min, 经蒸馏水洗涤 4 次, 在滤纸上吸干, 自然干燥后即可用于电镜观察。

2 结果

2.1 藻类蛋白核结构

2.1.1 莱茵藻蛋白核超微结构 莱茵藻蛋白核位于叶绿体的中央, 夹于叶绿体类囊体之间。莱茵藻蛋白核为球形或多角形, 大小为 1000—1200nm, 1 个莱茵藻细胞仅有 1 个蛋白核。在蛋白核的外围被一薄层淀粉鞘所包围, 淀粉鞘电子密度高(图版 I: 1)。淀粉鞘成分为淀粉, 易被水溶液水解转变为低电子密度(图版 I: 2, 3)。在横切面上, 常可看到从蛋白核中央有数条由类囊体膜形成的孔道辐射状分布, 且孔道为空心状, 孔道壁为 2 层膜

性结构(图版 I : 1, 2)。这些孔道与叶绿体基质和类囊体相联系, 且淀粉鞘被这些孔道分隔成数片段(图版 I : 2, 单箭头所示)。有的切片上可看到许多类囊体聚集在蛋白核一侧, 这种现象仅见于莱茵藻(图版 I : 2, 双箭头所示)。

2.1.2 中国小球藻蛋白核结构 中国小球藻 *Chlorella* spp. 640909 的蛋白核位于叶绿体的中央, 被类囊体包围。蛋白核形状为椭圆形或球形, 其大小为 400—600nm(图版 I : 4)。1 个小球藻细胞仅有 1 个蛋白核。蛋白核被一层淀粉鞘所保护, 淀粉鞘为偏椭圆形, 横切面为 2 片船形结构, 合夹着蛋白核。淀粉鞘电子密度高, 为淀粉所组成, 是光合作用产物, 与莱茵藻一样遇水溶液易被溶解转变为低电子密度(图版 I : 5, 6)。在淀粉鞘和蛋白核横切面上, 常可看到有一条纵向通道, 把蛋白核与叶绿体类囊体区联系起来。小球藻蛋白核纵向通道由 1—2 条类囊体构成, 在蛋白核区段的纵向孔道是由 2 条类囊体所形成, 而在淀粉鞘区域则变为 1 条类囊体(图版 I : 4, 6)。

2.1.3 条浒苔蛋白核超微结构 大多数条浒苔电镜照片显示其细胞叶绿体中有 2 个蛋白核, 蛋白核位于周边叶绿体之中, 椭圆形或豆状, 其大小为 600—1000×1200—1500nm(图版 I : 7)。蛋白核被淀粉鞘所包围, 淀粉鞘片层厚度大约为 50—350nm, 其厚薄与藻体的大小和培养条件有关。淀粉鞘易被水溶液溶解成孔洞状。1 蛋白核中央有 1 条由类囊体形成的纵向孔道, 其类囊体膜状结构不明显, 为 1 层膜性结构。孔道腔中具有网状结构的基质, 且有时能见到纵向孔道的中段囊腔膨大(图版 I : 7, 9)。纵向孔道向两端伸展与叶绿体类囊体相联系(图版 I : 7, 9)。一般条浒苔淀粉鞘比较完整, 仅在孔道的两端处被隔断。但有时能见到在蛋白核中部也与叶绿体类囊体区相联系, 或纵向孔道在蛋白核的中部形成结点(图版 I : 8)。

2.1.4 紫菜蛋白核超微结构 条斑紫菜蛋白核位于叶绿体类囊体的中央。一个细胞含有一个蛋白核。蛋白核为椭圆形, 其大小为 1500—2600nm, 其周围没有淀粉鞘所包围, 直接与类囊体相邻接, 并被类囊体所包围(图版 I : 10)。蛋白核内没有纵向孔道, 但具有许多弯曲的单个类囊体不规则分布, 有的为开放的曲线状, 有的为封闭的圆圈状。蛋白核孔道有的部分为膨大中空, 其膜结构也不明显, 为单层膜性结构(图版 I : 10, 11)。

2.2 Rubisco 和 Rubisco 活化酶的分子定位

2.2.1 Rubisco 的分子定位 绿藻莱茵藻、小球藻和条浒苔 Rubisco 的金相免疫分子定位结果显示, Rubisco 大亚基的金标颗粒大部分都集中分布于蛋白核中, 在淀粉鞘区域也有一定的分布, 在类囊体区则只有少数分布(图版 I : 2, 5, 8)。按面积密度计算, 莱茵藻和小球藻的蛋白核大约占 82%, 淀粉鞘约 17.5%, 类囊体区为 0.5% 以下; 条浒苔的蛋白核约 72%, 淀粉鞘约为 27.8%, 类囊体区约为 0.2% 左右。另外小球藻 Rubisco 全酶的金标颗粒在蛋白核中有较多分布, 且主要分布于在蛋白核的表面, 在淀粉鞘区也有一定数量分布(图版 I : 6)。表明 Rubisco 主要分布于蛋白核和淀粉鞘区中。紫菜 Rubisco 的分子定位结果显示, Rubisco 大亚基的金标颗粒在蛋白核和类囊体区有较多分布(图版 I : 12)。

2.2.2 Rubisco 活化酶的分子定位 用菠菜 Rubisco 活化酶抗体对莱茵藻 Rubisco 活化酶进行金相免疫分子定位, 结果表明 Rubisco 活化酶的金标颗粒主要分布于蛋白核和淀粉鞘的表面(图版 I : 3)。说明 Rubisco 活化酶主要分布于蛋白核和淀粉鞘区。

3 讨论

3.1 关于蛋白核结构

根据蛋白核的有无,可以把藻类分为2类:有蛋白核的和无蛋白核的藻类。大多数藻类都具有蛋白核。莱茵藻、小球藻和紫菜细胞具有1个蛋白核,而条浒苔细胞具有1至多个蛋白核^[8]。不同的藻类其蛋白核结构有所不同,表现出藻类的多样性。莱茵藻蛋白核结构特点:蛋白核球形,有淀粉鞘。有多条类囊体形成分散或辐射排列的孔道,且蛋白核多处与类囊体区有联系。小球藻蛋白核结构特点:蛋白核椭圆形,有淀粉鞘。在蛋白核中央有1条很明显的纵向孔道,纵向孔道由2条类囊体膜结构形成。仅纵向孔道两端处把蛋白核与类囊体区联系起来。条浒苔蛋白核结构特点:与小球藻蛋白核结构十分相似。蛋白核椭圆形,有淀粉鞘。在蛋白核中央有1条很明显的纵向,但纵向孔道由1条类囊体膜结构形成,且有时膨大。纵向孔道除在两端处与类囊体区相联以外,在蛋白核中部也与类囊体区相联系。红藻紫菜蛋白核结构特点:蛋白核约椭圆形,无淀粉鞘。在蛋白核中有许多弯曲的条类囊体呈不规则地分布。

关于蛋白核中孔道的结果也与藻类的种类有关。小球藻和条浒苔的蛋白核主要为1条纵向孔道,莱茵藻和紫菜则为多条孔道;条浒苔和紫菜的孔道为1个类囊体形成,其管壁为单层膜性结构,而莱茵藻和小球藻的孔道管壁为2层膜性结构,且小球藻为2个类囊体形成。

3.2 关于金相免疫分子定位

国外资料表明用高等植物的 Rubisco 抗体来检测绿藻的 Rubisco 分子分布效果较好,用于其他海藻则有时由于同源性较差难以进行标记^[9]。为此,特选用原始小球藻的 Rubisco 抗体来检测藻类 Rubisco 分子分布情况。通过对几种藻类 Rubisco 的 Western 印迹检测,结果表明小球藻 *Chlorella* spp. 640909、莱茵藻、条浒苔、条斑紫菜的 Western 印迹图谱均为一条带(资料未显示),表明它们与原始小球藻的 Rubisco 都具有很高的同源性。但紫菜的条带颜色较浅,三角褐指藻最浅(资料未显示),表明了它们与绿藻的亲缘关系有一定距离。同样在 Rubisco 金相免疫分子定位时,紫菜的金标颗粒的密度比其他几种绿藻较低(图版 I:12)。

3.3 关于蛋白核功能

早期认为蛋白核具储藏蛋白功能,储藏的蛋白在缺氮时可以调用^[10,11]。随着免疫化学分子技术的发展,越来越多的实验证明 Rubisco 主要是集中于蛋白核中^[12-14]。因此,现在更倾向蛋白核具有光合功能^[7,9,15,16]。本实验显示蛋白核和淀粉鞘是 Rubisco 主要分布区域,按照 Morita 等^[7]提供的金颗粒面积密度与体积密度转换公式计算及体积测量,莱茵藻蛋白核、淀粉鞘和类囊体区的金标颗粒占总数百分比分别为 95.73%、4.24% 和 0.03%;小球藻蛋白核、淀粉鞘和类囊体区金标颗粒占总数百分比分别为 91%、8%、0.5% 左右。可见 Rubisco 在蛋白核和淀粉鞘的分布达 99% 以上,其结果为 Morita 等^[7]研究结果相符。对莱茵藻 Rubisco 活化酶分子定位结果也表明 Rubisco 活化酶主要分布于蛋白核和淀粉鞘表面。Rubisco 活化酶的功能主要对 Rubisco 进行活化作用,它的存在表明该区域的 Rubisco 具有光合活性。另外对小球藻 Rubisco 全酶的分子定位也表明全酶在蛋白核的表面较

多的分布, 从而进一步证明蛋白核和淀粉鞘具有光合功能, 而且蛋白核的光合功能主要在其表面。蛋白核孔道的功能目前还不清楚, 可能涉及运输功能。在孔道中有时也能看到 Rubisco 金标颗粒分布。藻类 Rubisco 集中于蛋白核, 可能是长期适应水环境进化的结果, 且与藻类 CCM 有关^[16]。由于水中 CO₂ 较少, Rubisco 集中于蛋白核, 更有利于藻类的 Rubisco 高效固定浓度较低的 CO₂, 使 CO₂ 不被溢漏。因此, Rubisco 被认为是 CCM 重要组分^[2]。目前还不清楚藻类 Rubisco 如何集聚于蛋白核中。

总之, Rubisco 集中于蛋白核, 有利于藻类细胞对 CO₂ 的固定和光合作用。当藻类细胞处于饥饿时, 藻类细胞先消耗淀粉, 后消耗蛋白核中的蛋白质。

参考文献:

- [1] Holdsworth R H. The isolation and partial characterization of the pyrenoid protein of *Eremosphaera viridis* [J]. *J. Cell Biol.*, 1971, **51**: 499—513
- [2] Ramazanov Z, Henk C, Mason C, et al. The induction of the CO₂ concentrating mechanism is correlated with the formation of the starch sheath around the pyrenoid of *Chlamydomonas reinhardtii* [J]. *Planta*, 1994, **195**: 210—216
- [3] Miyamura S, Hori T, Ohya T, et al. Co localization of chloroplast DNA and ribulose 1, 5 biphosphate carboxylase/oxygenase in the so called pyrenoid of the siphonous green alga *Caulerpa lentillifera* (Cauleriales, Chlorophyta) [J]. *Phycologia*, 1996, **35**(2): 156—160
- [4] 陈雄文. 环境因子对莱茵藻(*Chlamydomonas reinhardtii*) 生长及其胞外碳酸酐酶表达的影响[D]. 南京农业大学硕士论文, 1997
- [5] 张大兵, 李立人, 缪有刚, 等. 小球藻 Rubisco 的纯化及其在异养向自养转变过程中的含量变化[J]. 植物生理学报, 1994, **20**(4): 346—352
- [6] 唐如航, 贾军伟, 李立人. 烟草 Rubisco 活化酶的纯化及其特性[J]. 植物生理学报, 1997, **23**(1): 89—94
- [7] Morita E, Kuroiwa H, Huroiwa T, et al. High localization of Ribulose 1, 5 biphosphate carboxylase/ oxygenase in the pyrenoids of *Chlamydomonas reinhardtii* (Chlorophyta), as revealed by cryofixation and immunogold electron microscopy [J]. *J. Phycol.*, 1997, **33**: 68—72
- [8] 李伟新, 朱仲嘉, 刘凤贤. 海藻学概论[M]. 上海: 上海科技出版社, 1982, 173—217
- [9] McKay RML, Gibbs SP. Composition and function of pyrenoids: cytochemical and immunocytochemical approaches [J]. *Can. J. Bot.*, 1991, **69**: 1040—1052
- [10] Fisher P, Klein U. Localization of nitrogen assimilating enzymes in the chloroplast of *Chlamydomonas reinhardtii* [J]. *Plant Physiol.*, 1998, **88**: 149—155
- [11] Osafune T, Yokota A, Ehara T, et al. Immunogold localization of ribulose 1, 5 biphosphate carboxylase with reference to pyrenoid morphology in chloroplasts of synchronized *Euglena gracilis* cells [J]. *Plant Physiology*, 1990, **92**: 803—808
- [12] Kerby NW, Evans LV. Pyrenoid protein from the brown alga *Pilayella littoralis* [J]. *Planta*, 1981, **151**: 469—475
- [13] Satoh H, Okada M, Nakayama K, et al. Purification and further characterization of pyrenoid proteins and ribulose 1, 5 biphosphate carboxylase oxygenase from the green alga *Bryopsis maxima* [J]. *Plant Cell Physiol.*, 1984, **25**: 1205—1214
- [14] Lacoste Royal G, Gibbs S P. Immunocytochemical localization of ribulose 1, 5 biphosphate carboxylase in the pyrenoid and thylakoid region of the chloroplast of *Chlamydomonas reinhardtii* [J]. *Plant Physiol.*, 1987, **83**: 602—606
- [15] Kuchitsu K, Tsuzuki M, Miyachi S. Characterization of the pyrenoid isolated from unicellular green alga *Chlamydomonas reinhardtii*: Particulate from Rubisco protein [J]. *Protoplasma*, 1988, **144**: 17—24
- [16] Vilarejo A, Isabel Orus M, Martinez F. Regulation of the CO₂ concentrating mechanism in *Chlorella vulgaris* UAM 101 by glucose [J]. *Physiologia Plantarum*, 1997, **99**: 293—301
- [17] Aizawa K, Miyachi S. Carbonic anhydrase and CO₂ concentrating mechanisms in microalgae and cyanobacteria [J]. *FEMS Microbiol. Rev.*, 1986, **39**: 215—223

STUDIES ON ULTRASTRUCTURE OF PYRENOID FROM SEVERAL ALGAE

HE Permin¹, WU Wei ning¹, ZHAO Jiar-hua², CHEN Gerryun², and ZHANG Da-bing³

(1. Shanghai Fisheries University, Shanghai 200090;

2. Shanghai Institute of Plant Physiology, The Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200032;

3. Agriculture Institute of Shanghai, Shanghai 201106)

Abstract: This paper mainly dealt with the pyrenoid ultrastructure and gold immunolocalization of Ribulose 1, 5-bisphosphate carboxylase (Rubisco) and Rubisco activase in chloroplast of several algae: *Chlamydomonas reinhardtii*, *Chlorella* spp. 640909, *Enteromorpha clathrata* and *Porphyra yezoensis*. The results showed that there were different ultrastructure of pyrenoids among these different algae. Pyrenoid shaped in ball or ellipse, was composed by protein. The pyrenoid of *Chlamydomonas reinhardtii*, *Chlorella*, *E. clathrata*, was embedded by starch sheath, whereas the pyrenoid of *Porphyra yezoensis* had no starch sheath, and embedded by the thylakoids of chloroplast. The starch sheath was composed of starch, its side was related with the age and culture conditions of algae. There were channels in the middle of the pyrenoids, with which the pyrenoids connected the thylakoids of chloroplast. There was one portrait channel in the pyrenoid of *Chlorella* and *E. clathrata*, while there were several channels in the pyrenoids of *Chlamydomonas reinhardtii* and *Porphyra yezoensis*. The results of gold immunolocalization showed the Rubisco and Rubisco activase distributed in the pyrenoid and starch sheath region. It was demonstrated that the pyrenoid had close relation with photosynthesis.

Key words: Algae; Pyrenoid; Ultrastructure; Immunogold localization

图 版 说 明

图版 I

1 示莱茵藻叶绿体的蛋白核和淀粉鞘, $\times 8000$; 2 示莱茵藻蛋白核中的孔道和类囊体(双箭头)及蛋白核与类囊体的联系(箭头), Rubisco 大亚基的金标颗粒在蛋白核和淀粉鞘区的分布, $\times 40000$; 3 示莱茵藻蛋白核的孔道, Rubisco 活化酶的金标颗粒在蛋白核和淀粉鞘区的分布, $\times 40000$; 4 示小球藻蛋白核和淀粉鞘、蛋白核纵向孔道, $\times 50000$; 5 Rubisco 大亚基的金标颗粒在小球藻蛋白核和淀粉鞘区的分布, $\times 40000$; 6 示小球藻蛋白核的纵向孔道, Rubisco 全酶的金标颗粒在小球藻蛋白核和淀粉鞘区的分布, $\times 40000$; 7 示条浒苔蛋白核、淀粉鞘和蛋白核纵向孔道, $\times 25000$; 8 示条浒苔纵向孔道在蛋白核中央形成结点, Rubisco 大亚基的金标颗粒在蛋白核的分布, $\times 40000$; 9 示条浒苔蛋白核中段膨大的纵向孔道, $\times 40000$; 10 示条斑紫菜蛋白核及其弯曲的孔道, $\times 10000$; 11 示条斑紫菜蛋白核的孔道(箭头), $\times 40000$; 12 Rubisco 大亚基的金标颗粒在紫菜蛋白核中及类囊体区中的分布, $\times 40000$ 。

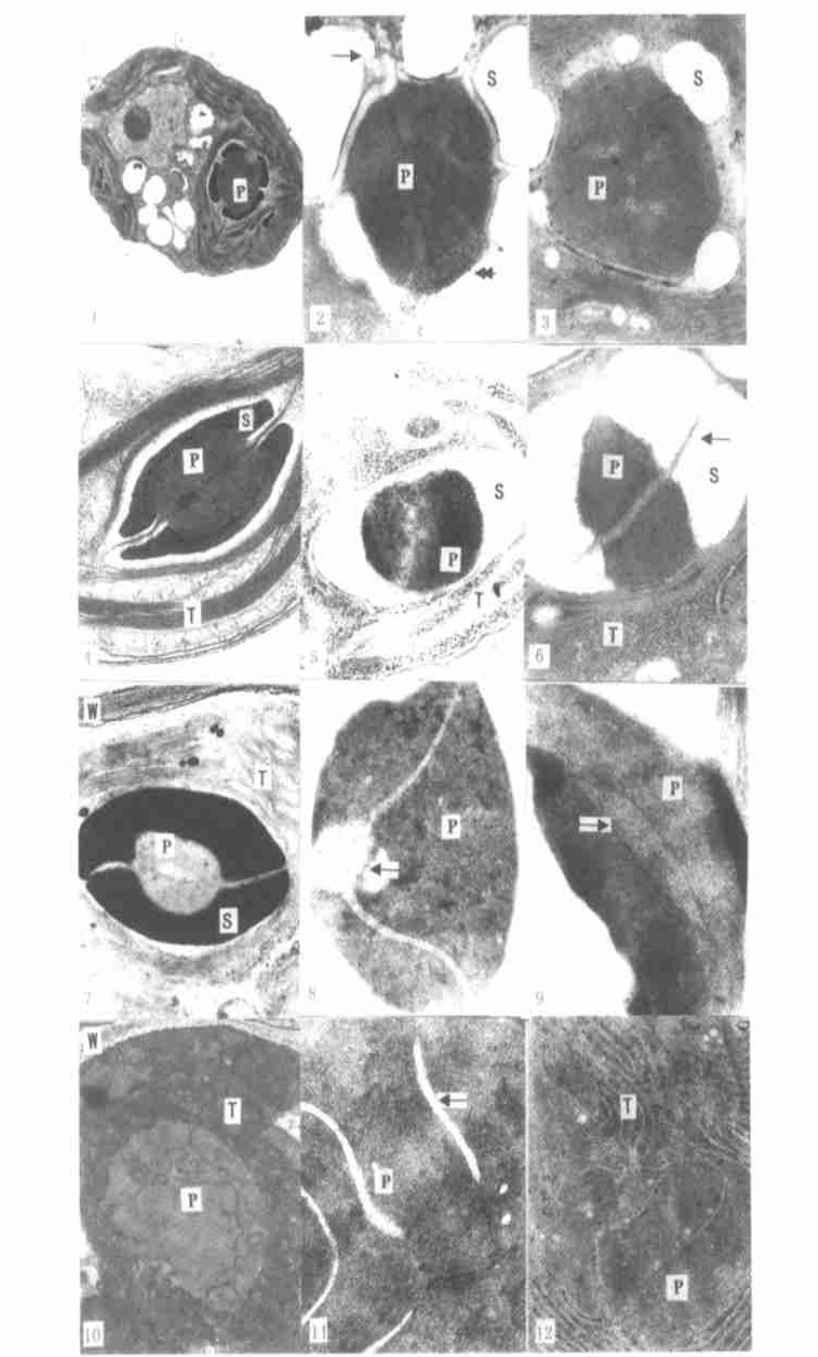
C: 叶绿体; N: 细胞核; P: 蛋白核; S: 淀粉鞘; T: 类囊体; W: 细胞壁

Explanation of Plate

Plate I

1 Showing the pyrenoid and starch sheath in chloroplast of *Chlamydomonas reinhardtii*. $\times 8000$; 2 Showing the channels and thylakoids (arrow) in pyrenoid and connection (double arrow) between pyrenoid and thylakoids in chloroplast of *Chlamydomonas reinhardtii*, and the Rubisco large subunit gold particles labeling the pyrenoid and starch sheath, $\times 40000$. 3 Showing the channel of pyrenoid, and the Rubisco activase gold particles labeling the pyrenoid and starch sheath, $\times 40000$; 4 Showing the pyrenoid and starch sheath, portrait channel in pyrenoid of *Chlorella* spp., $\times 50000$; 5 Showing the Rubisco large subunit gold particles labeling the pyrenoid and starch sheath. in *Chlorella* spp. $\times 40000$; 6 Showing portrait channel in pyrenoid, and the Rubisco gold particles labeling the pyrenoid and starch sheath in *Chlorella* spp. $\times 40000$; 7 Showing the pyrenoid and starch sheath, portrait channel in pyrenoid of *Enteromorpha dathrate*, $\times 25000$; 8 Showing the portrait channel bond formed in middle of the pyrenoid, and the Rubisco large subunit gold particles labeling the pyrenoid in *Enteromorpha clathrata*, $\times 40000$; 9 Showing the enlargement (arrow) of the portrait channel in the pyrenoid middle, $\times 40000$; 10 Showing the pyrenoid and its winding channel in *Porphyra yezoensis*, $\times 10000$; 11 Showing the channel (arrow) of *Porphyra yezoensis*, $\times 40000$; 12 Rubisco gold particles labeling the pyrenoid and thylakoids in the chloroplast of *Porphyra yezoensis*, $\times 40000$.

C: chloroplast; N: nucleus; P: pyrenoid; S: starch sheath; T: Thylakoid; W: wall



图版 I