

强光诱导叶片和盐藻在 505 nm 的 差示吸收和叶绿素荧光的变化

林植芳 彭长连 林桂珠 陈少薇

(中国科学院华南植物研究所, 广州 510650)

摘要 用分光光度计直接测定几种植物叶圆片和单细胞盐藻照强光 ($1500 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) 前后在 505 nm (玉米黄质吸收峰) 的光-暗差示吸收变化。短期照光的时间进程中, 芦荟 (*Aloe vera*)、芒果 (*Mangifera indica*)、白菜 (*Brassica chinensis*) 和苦苣菜 (*Sonchus oleraceus*) 的 ΔA_{505} 持续增高, 达最大值后有所下降。加入抗坏血酸能刺激光下 ΔA_{505} 增大。光诱导的 ΔA_{505} 可在暗下消失。单细胞盐藻 ΔA_{505} 受光诱导的变化趋势与高等植物叶片相似。研究表明, 强光下植物体内出现活跃的与紫黄质去环氧化反应有关的光保护机制的运行, 其状况可直接用 ΔA_{505} 作为检测指标。与白光相比, 红色强光只有照射 5 min 时才引起盐藻 ΔA_{505} 上升, 在 5-90 min 照光过程中对 Fv/Fm 的影响比白光小, 对 ΔA_{540} 的影响比白光大, 但两种光质对光合色素的影响没有差异。

关键词 强光; 差示吸收; 叶片; 盐藻; 光质; 叶绿素荧光; 玉米黄质

HIGH LIGHT-INDUCED CHANGES OF THE DIFFERENTIAL ABSORBANCE AT 505 nm AND CHLOROPHYLL FLUORESCENCE IN LEAVES AND IN GREEN ALGA *DUNALIELLA SALINA*

Lin Zhifang Peng Changlian Lin Guizhu Chen Shaowei

(South China Institute of Botany, Academia Sinica, Guangzhou 510650)

Abstract The increase of the differential absorbance at 505 nm (ΔA_{505}) induced by high light was measured in leaves of *Aloe vera*, *Mangifera indica*, *Brassica chinensis*, *Sonchus oleraceus* and unicellular green alga *Dunaliella salina* 1009. Absorbances of leaf discs and alga solution were measured directly by using a spectrophotometer after high light treatment. The differential absorbance was obtained from absorbent difference between the samples under high light and in the dark. Leaves were collected at 8 a.m. and reserved in the dark to ensure the high content of violaxanthin. During the high light ($1500 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) exposure period, ΔA_{505} increased gradually in all tested plant species and *Dunaliella salina*. The obvious increase of ΔA_{505} could be found after short time exposure (5-10 min). The maximum of ΔA_{505} was observed during the time of exposure for 30-

广东省自然科学基金资助课题

叶绿素荧光的测定得到陈贻竹先生的帮助, 特此致谢

1996-07-12 收稿; 1996-11-20 修回

50 min depending on the species tested, then it slightly decreased. The presence of ascorbic acid stimulated the light-induced ΔA_{505} increment in *Aloe* leaves and *Dunaliella* cells. The increase of ΔA_{505} in illuminated leaves of *Aloe* and *Sonchus* disappeared during the subsequent 5h-recovery in the dark. The result supported that ΔA_{505} is an useful and simple indicator of *in vivo* violaxanthin de-epoxidation, and the xanthophyll cycle operates actively in both higher and lower plants under high light condition. Red and white lights at the level of $1850 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ were chosen to irradiate the sample for comparing their effects on ΔA_{505} , ΔA_{540} (light scattering, an indicator of energy state of chloroplast) as well as pigments and chlorophyll fluorescence of *Dunaliella salina*. These two light sources led to the decrease of Fv/Fm, Fv/Fo and Fo, showing the characteristics of reversible photoinhibition during light exposure from 5 min to 90 min. No difference in pigment content or the ratio between chlorophyll and carotenoid was found under the two light sources. However, red light showed less effect on PS II primary photochemical efficiency and ΔA_{505} , but more effect on energy state as compared with white light.

Key words High light; Differential absorbance; Leaf; *Dunaliella salina*; Light quality; Chlorophyll fluorescence; Zeaxanthin

强光胁迫是限制植物光合功能和正常生长发育的重要因子, 强光引起光合作用的光抑制, 光氧化损伤和光破坏作用。自然条件下强光的影响往往因其他伴随的水分、温度、盐渍化和环境污染胁迫而加剧。近年来的大量研究已证明植物对强光的响应过程包含着多种保护光合器免受强光损伤的生理生化机制, 只有激发能超过了植物对光能的利用和耗散过剩光能的保护能力时, 才引起光损伤作用^[1]。光保护机制中最受关注的是叶黄素循环参与的过剩激发能耗散的机制。叶黄素循环的色素组分存在于叶绿体膜上^[2]。在长期的适应过程中, 处于强光下的植物能提高其体内的总叶黄素类含量, 阳生性植物的叶黄素循环库约为阴生植物的3-4倍^[1,3]。在光的诱导下, 叶黄素循环中的紫黄质可通过去环氧化作用转化为玉米黄质, 当叶绿素吸收的光能不能充分地被利用于光合作用时, 玉米黄质起着光能猝灭剂的作用^[4,5]。因此, 玉米黄质含量被视为强光下出现光保护作用的一种重要的指标。对叶黄素循环组分的定量检测通常用HPLC或TLC法, 但Bilger等^[3]指出这两种方法皆有一些不足之处, 如TLC法的操作较复杂且费时, HPLC法虽较精确, 然而也不易将玉米黄质和黄体素(Lutein)完全分开。Yamamoto和Kamite根据玉米黄质在505 nm的吸收峰, 于1972年即提出测定叶绿体在505 nm吸收的变化是反映叶黄素循环的去环氧化和环氧化两个可逆过程的一种量度^[6]。随后Bilger等对棉花叶片的研究^[7,8]进一步确认 $\Delta A_{505 \text{ nm}}$ 吸收和叶黄素循环的去环氧化作用状态(ΔEPS)存在线性关系, 首次将 ΔA_{505} 差示吸收应用于绿色叶片光保护作用的研究上。然而, 这种较简便且为非破坏性的测定指标在其他高等植物叶片和水生藻类光保护中应用的可行性如何, 尚未有更多的报道。Bilger等用绿色叶片作差示光谱测定, 需要提供附加的专用光源和信号放大的附件。此一过程能否简化至利用普通的分光光度计直接测定? 为此, 本文以一些热带经济作物(芦荟、芒果), 叶菜类(白菜、苦苣菜)和单细胞海藻盐藻为材料, 研究了强光作用下505 nm差示吸收随照光时间延长而变化的动态, 暗下恢复状况, 以及不同

光质诱导盐藻的 ΔA_{505} 和叶绿素荧光 F_v/F_m 变化的差异, 以探索 ΔA_{505} 广泛应用的可能性, 并以此加深对强光下植物光保护功能与机理的理解。

1 材料与方 法

植物材料 芦荟 (*Aloe vera*)、芒果 (*Mangifera indica*)、白菜 (*Brassica chinensis*)、苦苣菜 (*Sonchus oleraceus*) 栽于华南植物所温室和田间。盐藻 (*Dunaliella salina* 1009) 来自天津塘沽轻工部制盐研究所, 培养于含盐度 2 mol/L 的 ASP_2 介质中, 20–25 °C, 光强 100 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 。

强光处理和差示吸收光谱的测定 以植物的成熟叶片钻取 10 mm 直径的叶圆片或叶表皮圆片(芦荟), 悬浮于少量水的小培养皿中, 强光处理前置于暗下。盐藻液离心 (1000 \times g 15 min), 下层藻细胞沉淀物重悬浮于新鲜介质中, 每 ml 藻液含叶绿素 28.5 μg 。强光处理的光源为冷光束投射灯, 光强 1500 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 。红光及白光不同光质处理的光强则为 1850 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 。红光是将白光通过一红色透明薄膜过滤而成, 此红色薄膜可吸收 510–550 nm 光波, 透过 640 nm 以上的红光。调节光源与样品的距离以使白光与红光的光强相等。差示吸收光谱测定时, 将叶圆片紧贴于石英比色皿的内表面, 叶片的上表面对分光光度计 (Beckman DU-7) 的入射光束, 或将藻液直接放入比色皿, 以未受强光照射的暗对照为本底, 作差示光谱 (450–600 nm) 扫描或差示吸收, 求出不同时间照光材料与暗对照在 505 nm 或 540 nm 的差示吸收值 ΔA_{505} 和 ΔA_{540} 。

抗坏血酸处理和 ΔA_{505} 测定 分别将抗坏血酸加入悬浮叶圆片的水溶液或藻液中, 最终浓度 30 mmol/L。以暗下加抗坏血酸的材料为本底, 求出在有抗坏血酸下 505 nm 的光-暗差示吸收值, 再减去对照的光与暗下的 ΔA_{505} 值, 得到的 ΔA_{505} 增值表示抗坏血酸对玉米黄质形成的促进作用。

叶绿素荧光测定 用脉冲调制荧光计 (PAM, Germany) 测定盐藻的叶绿素荧光。Fo 在暗适应后以 0.05 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 光诱导产生。Fm 以强饱和闪光 6000 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 激发, 闪光 2 s。计算 F_v/F_m 和 F_v/F_o 。

2 实验结果

2.1 强光诱导叶片和盐藻 ΔA_{505} 的变化动态

图 1 是上午 8:00 取样的芦荟叶表皮圆片和白菜叶圆片经 1500 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 强光照射不同时间的 ΔA_{505} 吸收变化进程。由于叶片中叶黄素循环呈昼夜动态变化, 早晨时叶黄素循环的主要成分是紫黄质, 中午时含有最大量的玉米黄质, 晚上则玉米黄质环氧化重新转化为紫黄质^[9], 故我们采用早晨叶片便于检测光诱导紫黄质转化而相应提高 ΔA_{505} 。图 1 中芦荟叶表皮的变化虽有些起伏, 但总的趋势是, 不论 CAM 植物芦荟或 C_3 植物白菜叶片, 在强光的诱导下, ΔA_{505} 吸收明显地随照光时间加长而增大, 表明两种植物皆发生了紫黄质的去环氧化作用而形成了玉米黄质, 照光时间延长则植物通过提高玉米黄质水平而增强光保护能力。

对另一种木本 C_3 植物芒果叶片的试验也观察到 ΔA_{505} 受照光时间的影响 (图 2A)。单细胞绿藻盐藻在强光照射 5 min 后, ΔA_{505} 迅速增大, 其水平随照光时间而变化的趋势 (图 2B) 与三种

高等植物相似。Young 和 Britton 曾观察到另一种盐藻 *D. parva* 19/9 在 $4000 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 白光照射 0–120 min 时玉米黄质含量增高, 紫黄质含量下降的现象^[10], 图 2B 的结果与其一致。从图 1 和 2 中尚可以看出, 照光时间较长则 ΔA_{505} 在达到最大值后有减少的趋势, 意味着强光较长时间处理可能影响了植物自身的代谢调节能力。不同植物的 ΔA_{505} 达到最大值的照光时间有一定的差别, 芦荟为 50 min, 白菜 40 min, 盐藻 30 min。芒果在照光 50 min 后, ΔA_{505} 比照光 20 min 者降低 24%。这些差别是否与植物种类之间对强光的敏感性不同有关, 尚不清楚。

2.2 ΔA_{505} 的暗恢复和抗坏血酸对 ΔA_{505} 的影响

为了进一步验证 ΔA_{505} 的增高确为光诱导所致, 将照光不同时间使 ΔA_{505} 已明显增大的芦荟叶表皮圆片和苦苣菜叶圆片于暗下放置 5 h, 结果 ΔA_{505} 降低, 其降低值 ($-\Delta A_{505}$) 为原值的 84–96% (芦荟) 和 72.7–81% (白菜), 表明暗下进行环氧化作用将光诱导形成的玉米黄质重新转变为紫黄质(图 3), 即在绿色叶片中, 紫黄质的去环氧化和玉米黄质的环氧化是光控制的可逆反应。

抗坏血酸(AsA)是紫黄质去环氧化作用的一个辅助底物和还原剂^[4], 加入 AsA 到经强光照射的盐藻或芦荟叶圆片中, 与暗下加 AsA 材料的 ΔA_{505} 相比, 发现 ΔA_{505} 进一步增大(图 4)。这与从离体生菜叶绿体得到的结果一致^[6], 证明在叶片或完整细胞的体内试验 (*in vivo*) 中, 紫黄质的去环氧化作用受 AsA 的调节, ΔA_{505} 可反映这种叶黄素循环的变化。

2.3 红光和白光对盐藻 ΔA_{505} 和 ΔA_{540} 的影响

红光和白光对光诱导叶黄素循环的运转是否有差异, 目前尚不清楚。从同一光强 ($1850 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) 的红光和白光对盐藻照射不同时间的 ΔA_{505} 变化看来(图 5A), 白色强光照射 5–60 min, ΔA_{505} 增大 0.015–0.0305, 照光 90 min, 则 ΔA_{505} 成为负值。红色强光照射 5 min 时有明显的 ΔA_{505} 增大(0.0662), 但照光时间延长, ΔA_{505} 反而成为负值的生长。可见, ΔA_{505} 的光诱导增大与光质有关, 红强光只在短时照光才有正效应。

ΔA_{540} 可表示叶片的光散射特性, 反映叶片腺苷酸系统的磷酸化状态。低的 ΔA_{540} 即高的光

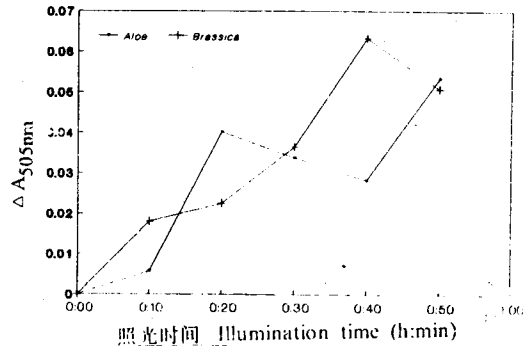


图 1 强光下芦荟和白菜叶圆片 ΔA_{505} 吸收的时间进程 ΔA_{505} 为 $A_{505\text{nm}}$ (光-暗) 的差示吸收, 光强 $1500 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$

Fig. 1 Time course of light-dark differential absorbance (ΔA_{505}) of leaf discs from *Aloe vera* and *Brassica chinensis* under high light intensity ($1500 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$)

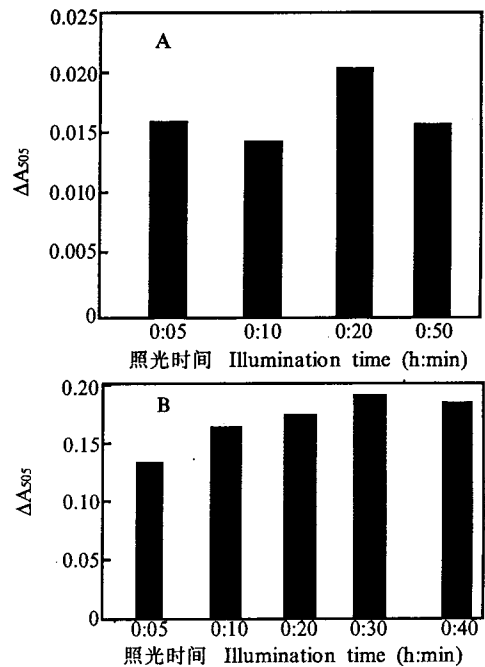


图 2 强光对芒果叶圆片(A)和盐藻(B) ΔA_{505} 吸收的影响

Fig. 2 Effect of high light on ΔA_{505} of leaf discs of *Mangifera indica* (A) and cells of *Dunaliella salina* (B)

散射表示叶绿体中高的酸化状态和低的叶绿素荧光^[11,12]。 ΔA_{540} 的变化是由于类囊体腔的酸化作用引起叶绿体构象的变化, 从而改变了对光的散射特性^[13]。图 5B 显示白强光照射盐藻 5-30 min, ΔA_{540} 甚少变化, 说明此时叶绿体构象和能量化状态未有明显的改变。照光超过 60 min, ΔA_{540} 减少。90 min 后减少较明显, 反映了光散射强烈增大, ATP/ADP 比升高, 光下形成的 ATP 未能及时消耗。红光作用下, ΔA_{540} 的时间进程变化趋势与同一条件下 ΔA_{505} 的变化相似, 照光 15 min 以上, ΔA_{540} 持续降低。但与白光相比, 红光诱导 ΔA_{540} 变化的效应比白光要强。

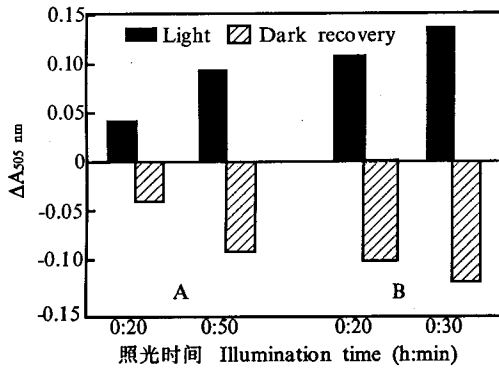


图 3 芦荟及苦苣菜叶圆片照强光及暗恢复时 ΔA_{505} 的变化
Fig. 3 Changes of ΔA_{505} in leaf discs of *Aloe vera* and *Sonchus oleraceus* under high light and the subsequent recovery in the dark duration

A. 芦荟照光 ($1500 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) 20 min 和 50 min, 暗恢复 5 h
B. 苦苣菜照光 ($1500 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) 20 min 和 30 min, 暗恢复 5 h
Illumination at $1500 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ for 20 and 50 min for *Aloe vera* (A), for 20 and 30 min for *Sonchus oleraceus* (B), then recovery in the dark for 5 h.

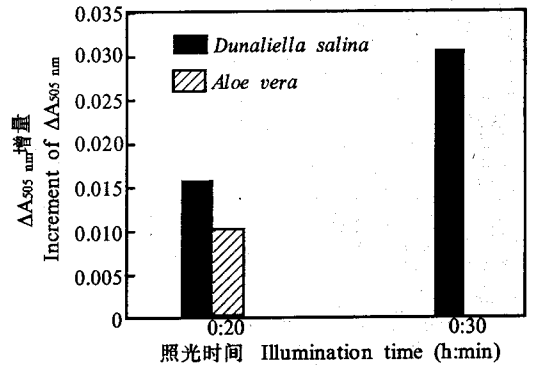


图 4 抗坏血酸 (30 mmol/L) 对强光下芦荟叶片和盐藻 ΔA_{505} 的影响
Fig. 4 Effect of ascorbic acid (30 mmol/L) on ΔA_{505} in *Aloe vera* leaves and *Dunaliella salina* under high light intensity

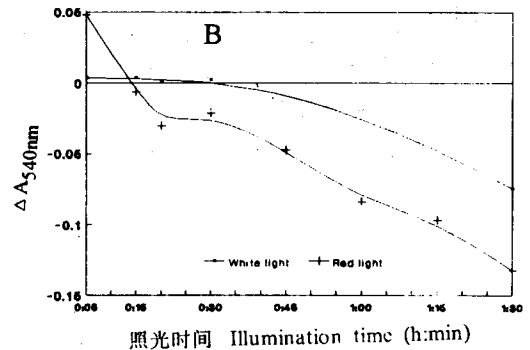
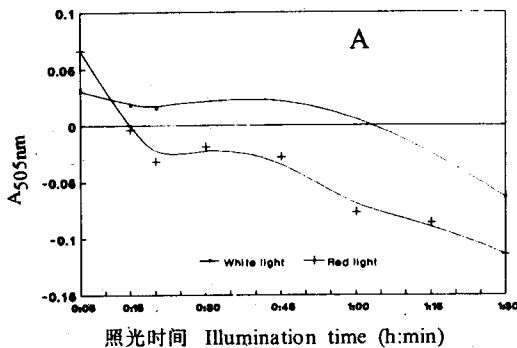


图 5 白光和红光诱导盐藻 ΔA_{505} (A) 和 ΔA_{540} (B) 变化的时间进程的比较 (光强 $1850 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$)
Fig. 5 Comparison of time courses of ΔA_{505} (A) and ΔA_{540} (B) changes in *Dunaliella salina* induced by white light and red light at $1850 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$

2.4 红光和白光对盐藻叶绿素荧光和色素组成的影响

图 6 是两种光质强光对盐藻 Fv/Fm 和 Fv/Fo 的影响。强红光和白光作用的时间进程中, PS II 原初光化学效率 Fv/Fm 和 PS II 潜在活性 Fv/Fo 持续下降。从开始照光到 90 min 内, 白光

下 F_v/F_m 的下降速率为 -0.04808 , 红光下 F_v/F_m 的下降速率为 -0.02509 。红光对 PS II 原初光化学效率的影响比白光小, 经白光照射 90 min, F_v/F_m 降低 50%, 而红光照射同样时间, F_v/F_m 仍可维持处理前的 73% 左右。这种低至原值约 75% 的 F_v/F_m , 在白光照射 30 min 时已出现。 F_v/F_o 的变化比 F_v/F_m 大, 但趋势相同。比较两种光质对叶绿素荧光的影响, 看出白光对 PS II 的影响比红光大。然而, F_v/F_m 和 F_v/F_o 下降时并没有伴随 F_o 的上升, 相反, F_o 还有所下降(数据未列出), 显示在上述条件下出现的光抑制是一种光保护作用的调节机制。

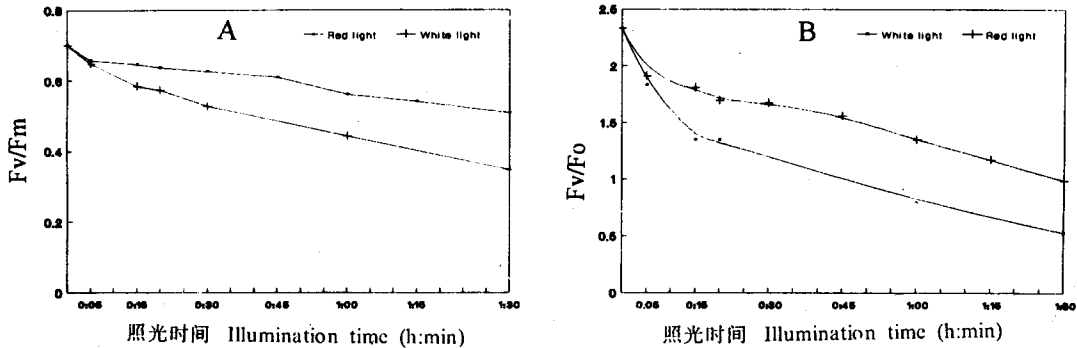


图6 白光和红光对盐藻 F_v/F_m (A) 和 F_v/F_o (B) 的影响
Fig. 6 Effects of white light and red light on F_v/F_m (A) and F_v/F_o (B) of *Dunaliella salina*

叶绿素和类胡萝卜素含量随照光时间延长而减少(表1), 照光超过 30 min 之后, 类胡萝卜素下降比叶绿素快些, 60 min 时类胡萝卜素降低 21–23%, 叶绿素降低 13–15%。因此, Chl/Car 比率在照光 30 min 之前略低于暗对照, 照光 60 min 到 90 min, 可能因类胡萝卜素的降解加快而导致 Chl/Car 比高于暗对照。Chl a/b 比的变化与 Chl/Car 比相反。低于 20 min 的强光处理, Chl b 降解(10–20%)比 Chl a(4–13%)快些, 随后则 Chl a 降解比 Chl b 快。没有发现白光与红光对色素含量及组分的影响之间的差异。

3 讨论

Bilger 等从 1989–1991 年对棉花叶片的研究证明叶片的 ΔA_{505} 与 Z(玉米黄质)% 或 Z+A(单环氧玉米黄质)% 之间呈大约的线性相关, 与紫黄质(V)的去环氧化作用(ΔEPS)在一系列温度中有线性关系^[3,7,8]。本文对多种植物用一般的分光光度计测定照射强光后 ΔA_{505} 的时间进程变化的研

表1 白光和红光对盐藻色素组分的影响

Table 1 Effects of white light and red light on the pigment components of *Dunaliella salina*

处理时间 Time (min)	Chl ($\mu\text{g ml}^{-1}$)	Chl a/b	Carotenoid ($\mu\text{g ml}^{-1}$)	Chl/Car
对照 (CK)	28.56(100)	3.13	11.89(100)	2.40
红光 Red light				
5	26.68(93.4)	3.37	11.70(98.4)	2.28
15	25.63(89.7)	3.46	11.44(96.2)	2.24
20	24.85(87.0)	3.57	11.01(92.6)	2.25
30	24.21(84.8)	3.59	10.97(92.3)	2.21
60	24.18(84.7)	3.01	9.12(76.7)	2.65
90	23.72(83.1)	2.92	9.10(76.5)	2.61
白光 White light				
5	27.04(94.7)	3.34	11.86(99.7)	2.28
15	26.40(92.4)	3.41	11.62(97.7)	2.27
20	25.54(89.4)	3.63	11.34(95.4)	2.25
30	25.37(88.8)	3.04	10.54(88.6)	2.41
60	24.61(86.2)	2.94	9.50(79.8)	2.59
90	23.96(83.9)	2.90	8.77(73.8)	2.73

括弧中数字为 CK 的相对百分比

Numbers in parentheses are the percentage of CK.

究表明, ΔA_{505} 的光诱导增加是一种快速的过程, ΔA_{505} 随照光时间延长而增大, 照光后移于暗下则消失, 以及 ΔA_{505} 受 AsA 的刺激等, 进一步证明利用我们加以简化的方法可以了解植物体内叶黄素循环运行的状况。几种不同类型的植物材料照光后皆提高 ΔA_{505} 的结果, 反映了植物体内存在着受光和 AsA 调节的活跃的叶黄素循环, 光诱导紫黄质去环氧化作用形成玉米黄质是陆生与水生植物, 高等与低等植物, C_3 与 CAM 植物耗散过剩激发能的共有功能。受强白光 ($1850 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) 作用 5–30 min 后, 盐藻的 PS II 原初光化效率, 潜在的 PS II 活性降低, 叶绿素和类胡萝卜素出现一定程度的降解, 但同时出现初始荧光 F_0 略为下降与 ΔA_{505} 的增大。这表示盐藻在此条件下 PS II 功能下降伴以玉米黄质含量的增加, 是一种光合作用下调的适应性光保护反应, 从而支持 Demming-Adams 和 Adams III 关于自然条件下强光如果不与其他胁迫因子共同作用时产生的光抑制, 其主要机制不是光合机构的破坏, 而是叶绿体光化学活性下调的观点^[14]。较长时间的强光照射 (60 min 以上), F_v/F_m 、 F_v/F_0 、 ΔA_{540} 的较明显降低, Chl/Car 比的变化和低水平的 ΔA_{505} , 可能表明此时过剩激发能已不能有效通过叶黄素循环而被耗散, 叶绿体处于高能活化状态, 一些与强光作用有关的次级反应如光氧化作用可能引起叶黄素循环组分的氧化漂白(类胡萝卜素库减少)或改变参与催化此循环的酶类活性等, 从而使体内开始出现代谢调节的不平衡。是否如此, 有待进一步的深入研究。

菠菜叶绿体用红光或白光照射, 皆可诱导紫黄质向玉米黄质转化^[15]。本研究中强红光只在照射盐藻 5 min 时观察到 ΔA_{505} 增大的现象, 且 ΔA_{540} 随照射时间延长而增加负值, 出现腺苷酸系统的高磷酸化状态。其他人的研究曾报道光散射和叶绿体荧光之间呈反相关^[10,11]。但是我们的研究结果与此不同, 与白光相比, 红光下光散射提高(ΔA_{540} 下降)的同时, 叶绿素荧光参数 F_v/F_m 和 F_v/F_0 的水平仍比同强度的白光下的高, 似乎红光对叶绿素荧光及叶黄素循环的影响比白光小, 对能量化的影响则比白光大。这是否反映白强光下保护机制与叶黄素循环有密切关系, 而红光下则可能尚有其他的机制, 有待证实。

参考文献

- 1 Franklin L A et al. Two components of onset and recovery during photoinhibition of *Ulva rotundata*. *Planta*, 1992, 186:399–408
- 2 Yamamoto H Y. Biochemistry of the violaxanthin cycle in higher plants. *Pure Appl Chem*, 1979, 51:639–648
- 3 Bilger W, Bjorkman O. Role of the xanthophyll cycle in photoprotection elucidated by measurement of light-induced absorbance changes, fluorescence and photosynthesis in leaves of *Hedera canariensis*. *Photosynth Res*, 1990, 25:173–185
- 4 Bratt C E et al. Regulation of violaxanthin de-epoxidase activity by pH and ascorbate concentration. *Photosynth Res*, 1995, 45:169–175
- 5 Frank H A et al. Photophysics of the carotenoids associated with the xanthophyll cycle in photosynthesis. *Photosynth Res*, 1994, 41:389–395
- 6 Yamamoto H Y, Kamite L. An ascorbate-induced absorbance change in chloroplasts from violaxanthin de-epoxidation. *Plant Physiol*, 1972, 49:224–228
- 7 Bilger W, Bjorkman O, Thayer S S. Light-induced spectral absorbance changes in relation to photosynthesis and the epoxidation state of xanthophyll cycle components in cotton leaves. *Plant Physiol*, 1989, 91:542–551
- 8 Bilger W, Bjorkman O. Temperature dependence of violaxanthin de-epoxidation and non-photochemical fluorescence

- quenching in intact leaves of *Gossypium hirsutum* L. and *Malva parviflora* L. *Planta*, 1991, 184:226-234
- 9 Adams III W W, Deming-Adams B. Operation of the xanthophyll cycle in higher plants in response to diurnal changes in incident sunlight. *Planta*, 1992, 186:390
 - 10 Young A, Britton G. Photobleaching in the unicellular green alga *Dunaliella parva* 19/9. *Photosynth Res*, 1990, 25:129-136
 - 11 Koboyaohi Y, Koster S, Heber V. Light scattering, chlorophyll fluorescence and state of the adenylate system in illuminated spinach leaves. *Biochim Biophys Acta*, 1982, 682:44-54
 - 12 Koster S, Winter K. Light scattering as an indicator of the energy state in leaves of the crassulacean acid metabolism plant *Kalanchoe pinnata*. *Plant Physiol*, 1985, 79:520-524
 - 13 Heber V. Conformational changes of chloroplasts induced by illumination of leaves *in vivo*. *Biochim Biophys Acta*, 1969, 180:302-319
 - 14 Deming-Adams B, Adams III W W. Photoprotection and other responses of plants to high light stress. *Ann Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1992, 43:599-626
 - 15 Hager A. Light dependent decrease of the pH-value in a chloroplast compartment causing the enzymatic interconversion of violaxanthin to zeaxanthin. Relations to photo-phosphorylation. *Planta*, 1969, 89:224-243