

外源药剂处理对玉米叶黄素循环与非辐射能量耗散的影响

董高峰, 陈贻竹, 蒋跃明, 李耿光

(中国科学院华南植物研究所, 广东 广州 510650)

摘要: 利用 AsA、DTT 和 NADPH 溶液处理离体玉米叶片, 对其叶黄素循环和非辐射能量耗散都可产生一定的影响。20 mmol/L AsA 可促进紫黄质(V)向单环环氧玉米黄质(A)至玉米黄质(Z)的转化, NPQ 值和 Fv/Fm 均相应增加, 但是生成的 Z 在强光下 ($>650 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) 很容易达到饱和。5 mmol/L DTT 可明显抑制 Z 的增加, 但对 A 的影响很小, 同时玉米叶片的 NPQ 值和 Fv/Fm 均显著下降。0.5 mmol/L NADPH 也可抑制玉米叶片中 V 向 Z 和 A 的转化, 但是强光可以明显减轻这种作用, 而且对应的 NPQ 值和 Fv/Fm 均与 Z 含量同步下降。总体上来看, 这三种处理均通过改变玉米叶片中 Z 和 A 的含量来影响其非辐射能量耗散, 而对总叶黄素库的大小影响很弱。

关键词: 叶黄素循环; 非辐射能量耗散; 叶绿素 a 荧光; 非光化学猝灭; 光化学猝灭

中图分类号: Q945

文献标识码: A

文章编号: 1005-3395(2000)03-0250-07

EFFECT OF EXTERNAL REAGENTS ON THE XANTHOPHYLL CYCLE AND NON-RADIATIVE ENERGY DISSIPATION IN LEAVES OF MAIZE

DONG Gao-feng, CHEN Yi-zhu, JIANG Yue-ming, LI Geng-guang

(South China Institute of Botany, the Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510650, China)

Abstract: When detached leaves of maize (*Zea mays* L.) were treated with AsA, NADPH and DTT solution, the xanthophyll cycle and non-radiative energy dissipation (NRD) all changed correspondingly in certain degree. 20 mmol/L AsA could markedly promote the deepoxidation of violaxanthin (V) to zeaxanthin (Z) via antheraxanthin (A), the non-photochemical quenching (NPQ) value and Fv/Fm both apparently increased, but Z is easily to be saturated under high light ($>650 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$). 5 mmol/L DTT inhibited the formation of Z significantly, and slightly affected A content. In the same condition, the NPQ value and Fv/Fm of maize leaves all rapidly decreased. 0.5 mmol/L NADPH also inhibited the transformation of V to Z, but this effect was reduced under high light condition. The corresponding NPQ value and Fv/Fm all decreased following the decrease of Z. In summary,

收稿日期: 1999-08-10

基金项目: 国家自然科学基金(39870539); 广东省自然科学基金(980478); 广东省科技创新百项工程(99)资助。

缩写: V—紫黄质; A—单环环氧玉米黄质; Z—玉米黄质; AsA—抗坏血酸; Car—类胡萝卜素; DTT—二巯基苏糖醇; NADPH—还原形辅酶 II; Fv/Fm—光系统 II 光化学效率; NPQ—非光化学猝灭; PFD—光量子通量密度; qN—非光化学猝灭系数; qP—光化学猝灭; qE—依赖能量型猝灭; qI—光抑制型猝灭; qT—状态转换型猝灭。

this three kinds of treatments all affected the NRD through changing the contents of Z and A, but not the size of xanthophyll pool.

Key words: Xanthophyll cycle; Non-radiative energy dissipation; Chlorophyll a fluorescence; Non-photochemical quenching; Photochemical quenching

叶黄素循环是指位于植物类囊体膜上的三种叶黄素(紫黄质 V、单环氧玉米黄质 A 和玉米黄质 Z)之间相互转化的现象,非辐射能量耗散(实质上即热耗散)则是植物耗散过量光能以保护 PSII 免遭强光损伤的一种主要形式。近年来,越来越多的证据表明植物体内的叶黄素循环参与了耗散光系统上过量激发光能的过程,叶黄素循环与非辐射能量耗散的关系已成为当前光合作用研究领域的热点^[1-3]。在自然条件下,温度、光强、水分等环境因子都会影响植物体内的叶黄素循环,这些影响又与改变体内的一些代谢产物如 NADPH、AsA 等的浓度有关。Siefertmann 和 Yamamoto^[4]曾发现在离体的叶绿体中加入 16 mmol/L 的 AsA 可以使光驱动的 V 脱环氧化酶的活性达到饱和。Gilmore 等^[5]甚至还认为 AsA 可以同 V 和 A 一样充当 V 脱环氧化酶的共同底物。Bilger 等^[6]证实 DTT 能明显抑制 V 脱环氧化酶的活性。Siefertmann 和 Yamamoto^[7]还发现植物类囊体腔内的 NADPH 浓度可以影响 Z 的环氧化作用,0.4 mmol/L 的 NADPH 处理离体的类囊体即可使 Z 环氧化酶活性达到饱和,低于这个浓度,酶的活性则依次降低。我们通过直接外加 AsA、NADPH 以及 DTT 这些特定的化学药剂来观察其对植物叶黄素循环与非辐射能量耗散的影响,为进一步阐明这两者的关系提供依据。

1 材料和方法

材料 选取颗粒健康饱满的市售玉米(*Zea mays* L.)种子,常规盆栽。生长期 40-50 d,取成熟叶片为实验材料。

不同光强度的处理 利用叶圆片式氧电极(Hansatech, king's lynn, UK)的光源获得稳定的 PFD 水平。预先将实验植物置于黑暗下 10 h 以上,然后选取新展的成熟叶片,置于氧电极样品槽内湿润的垫片上,用石英卤灯(100 W)照光,中间隔以透光恒温水槽,温度控制在 25℃。通过改变滤光片以获得不同水平且稳定的 PFD。用 LI-COR 188B 光量子计测定入射于叶面的 PFD,光强选择 0、215、650 和 1600 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 四种。每种光强分别处理 40 min^[3]。

植物叶片化学药剂处理 先将玉米植株置于黑暗下 12 h 以上,然后从成熟叶片上取一定面积的样品($4 \times 1.78 \text{ cm}^2$),分别置于设定浓度的 DTT、AsA 以及 NADPH 溶液和蒸馏水(作为对照)中真空抽气 20 min,平衡后取出再进行不同的 PFD 光照处理。荧光测定需马上进行,而色素测定的材料则先置于液氮中固定,待所有处理完毕后一齐进行。

叶片叶绿素 a 荧光测定 使用脉冲调制荧光 PAM101/102/103 系统(H. Walz, Effeltrich, Germany)测定叶片叶绿素 a 荧光。叶片暗适应 8-10 min 后,利用 1.6 KHz 的弱测量光($0.04 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$)测定 F_0 ,随后施加一个强饱和闪光(大于 $4000 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$,脉冲时间 2 s,间隔 30 s),荧光产量上升到 F_m ,当 F_m 返回到 F_0 附近时给予一个连续的光化光($380 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$),同时打开 PAM102 提供一个 100 KHz 的测量光,当荧光下降到稳态水平 F_s 时,加上一个强闪光,荧光上升到 F'_m ,然后关掉光化光和 PAM102 仪,荧光下降到 F'_0 。强闪光来自

Schott. Lamp KL 1500 F1103, 光化光用石英卤灯(50 W)通过光导纤维传输^[9]。根据Schreiber等^[9]的方法计算叶绿素荧光参数, 所得荧光参数均为相对值。

植物叶绿素和叶黄素含量测定 色素提取在暗处进行。提取时, 将材料从液氮中取出放入研钵中, 加少许石英砂及5 ml无水丙酮后共同研磨, 匀浆于4000×g离心10 min, 上清液用FA 0.45 μm的微孔滤膜过滤后装瓶待用。

植物叶绿素a、b含量按Arnon的方法^[10], 利用紫外分光光度计测定(单位为mg L⁻¹), 叶黄素含量利用改进的HPLC法测定^[11]。

高效液相仪采用HP3365系统工作站(美国惠普公司)。标准样β-胡萝卜素(β-Car)系Sigma公司产品; 玉米黄质(Z)、环氧玉米黄质(A)、紫黄质(V)以及叶黄酮(L)标准样均来自于Shieffield University的Dr. Erik。色谱柱采用美国惠普公司C₁₈ ODS Hypersil柱(5 μm, Φ250×4.0 mm); 流动相流速1.5 ml min⁻¹。梯度洗脱程序: A液洗脱0–4 min接着2.5 min的线性梯度洗脱, 再换成100%的B液洗脱至40 min止。流动相A液为乙腈: 甲醇: Tris-HCl缓冲液(0.05 mol/L, pH7.5)(72:14:3); B液为甲醇: 正己烷(5:1)。检测波长440 nm, OD值范围设定在0–0.05, 进样总体积为10 μl。

2 实验结果

2.1 AsA、NADPH以及DTT处理浓度的选择

为选择适宜的处理浓度, 我们分别设计了一系列AsA、NADPH、DTT浓度梯度。将预先黑暗12 h以上的玉米在每种浓度中真空渗透20 min, 然后在PFD 800 μmol m⁻²s⁻¹的强光下照射40 min, 测定其叶绿素荧光值。结果表明, 20 mmol/L AsA、0.5 mmol/L NADPH以及5 mmol/L DTT溶液对玉米叶片NPQ值影响比较显著(图1)。

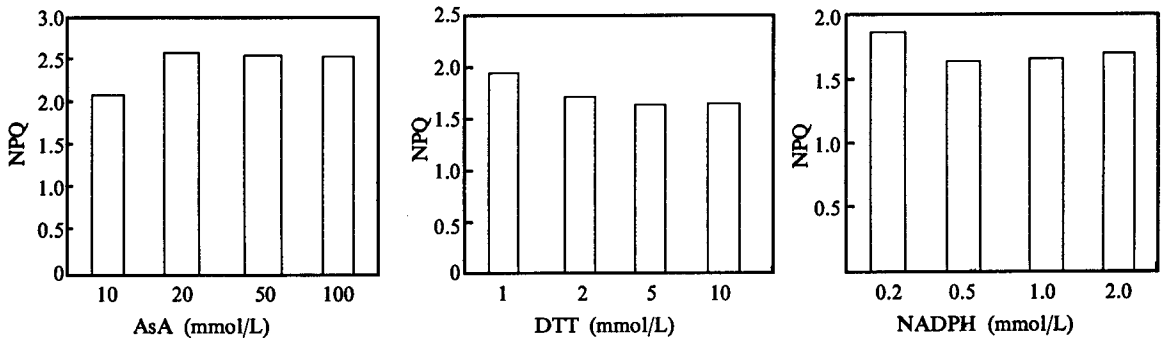


图1 AsA、DTT和NADPH处理对玉米叶片NPQ值的影响

Fig. 1 Effects of AsA, DTT and NADPH treatments on NPQ of maize leaves (PFD: 800 μmol m⁻²s⁻¹)

2.2 AsA处理对玉米叶黄素循环和非辐射能量耗散的影响

由表1可知, 20 mmol/L AsA处理对玉米叶黄素循环和NPQ均能产生显著影响。和对照相比, 经AsA处理后的玉米叶片V含量在PFD 215–1600 μmol m⁻²s⁻¹光下降低20%–30%。黑暗下, AsA处理即可显著增加叶片中Z和A的含量, 此后随着处理PFD的上升, Z含量急剧增加, 在650 μmol m⁻²s⁻¹光下即达到饱和, A甚至在215 μmol m⁻²s⁻¹时就已饱和, [V+A+Z]总

库在强光下仅略有增加。对照处理的 Z 含量随着 PFD 的增加而逐渐递增, 在 $1600 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 时达到最高, A 含量在 $650 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 时达到最高, 与 AsA 处理者基本持平。AsA 处理还有利于增加 Fv/Fm 和 NPQ 值, Fv/Fm 比对照增加 10%–30%。NPQ 值的增加与 Z 的增加具有明显的对应关系, Z 含量越高, NPQ 值越大, $r=0.95$ 。由此证明: AsA 主要是通过促进叶黄素循环中 V 向 Z 的转化来增加植物的 NPQ 能力。这种促进作用在低 PFD 下较为明显, 但在高光条件下由于受到总库[V+A+Z] 的制约使 Z 容易达到饱和。此外, 表 1 的数值还表明, NPQ 值的增加并不能简单对应于 Fv/Fm 的下降。

表 1 AsA 处理对玉米叶黄素循环和 NPQ 的影响

Table 1 Effect of AsA treatment on the xanthophyll cycle, Fv/Fm and NPQ of maize leaves

AsA (mmol/L)	PFD ($\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$)	Car (mmol mol ⁻¹ chl)				Fv/Fm	NPQ
		V	A	Z	[V+A+Z]		
20	0	46.1±0.17	9.5±0.25	13.9±0.35	69.5±0.26	0.78±0.01	1.87±0.02
	215	28.5±0.35	10.5±0.10	31.5±0.50	70.5±0.89	0.68±0.01	2.14±0.11
	650	23.2±0.17	10.7±0.40	37.5±0.40	71.4±0.26	0.64±0.01	2.38±0.05
	1600	24.1±1.65	10.5±0.50	37.0±1.10	72.0±1.70	0.55±0.03	2.30±0.07
0	0	53.5±0.17	3.9±0.10	8.8±0.17	66.2±0.36	0.71±0.01	1.40±0.01
	215	39.0±0.40	8.1±0.56	20.9±0.17	68.0±0.61	0.56±0.01	1.78±0.03
	650	32.2±0.20	10.1±0.26	30.5±0.50	72.8±0.20	0.49±0.01	2.11±0.03
	1600	19.8±0.26	9.6±0.46	36.5±1.12	65.9±0.79	0.38±0.01	2.44±0.12

2.3 DTT 处理对玉米叶黄素循环和 NPQ 的影响

经 5 mmol/L DTT 处理后, 明显抑制了玉米叶片叶黄素循环中 Z 的形成, 并降低相应的 NPQ 值(表 2)。黑暗下 DTT 处理并不影响叶黄素循环各组分的含量, 若施加光照, DTT 即可明显抑制 V 向 Z 的转化, 在 PFD $650 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 时, V 仍可保持原量的约 93%, 而此时未用 DTT 处理的对照的 V 则下降了 40%; DTT 对 A 只有轻微的抑制作用, 而且对叶黄素[V+A+Z] 库的影响也低于 10%。DTT 处理对 Fv/Fm 几乎无影响, 但却能显著降低 NPQ 值, 而且它的降低与 Z 含量的受抑制呈正相关, $r=0.98$ 。由此可见, DTT 主要是通过抑制 V 向 Z 的转化来降低玉米的非辐射能量耗散, 而对其它参数的影响并不大。

表 2 DTT 处理对玉米叶黄素循环和 NPQ 的影响

Table 2 Effect of DTT treatment on the xanthophyll cycle, Fv/Fm and NPQ of maize leaves

DTT (mmol/L)	PFD ($\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$)	Car (mmol mol ⁻¹ chl)				Fv/Fm	NPQ
		V	A	Z	[V+A+Z]		
5	0	53.8±0.72	4.8±0.20	8.2±0.53	66.8±0.92	0.69±0.04	1.20±0.03
	215	50.5±0.50	7.9±0.66	10.2±1.44	68.5±1.95	0.57±0.02	1.38±0.02
	650	50.2±0.81	8.6±0.72	10.5±0.44	69.3±1.13	0.47±0.02	1.41±0.06
	1600	49.8±0.69	9.0±0.80	10.7±0.75	69.5±2.08	0.36±0.03	1.48±0.03
0	0	53.5±0.17	3.9±0.10	8.8±0.17	66.2±0.36	0.71±0.01	1.40±0.01
	215	39.0±0.40	8.1±0.56	20.9±0.17	68.0±0.61	0.56±0.01	1.78±0.03
	650	32.2±0.20	10.1±0.26	30.5±0.50	72.8±0.20	0.49±0.01	2.11±0.03
	1600	19.8±0.26	9.6±0.46	36.5±1.12	65.9±0.79	0.38±0.01	2.44±0.12

2.4 NADPH 处理对玉米叶黄素循环和 NPQ 的影响

表3可见, 经 0.5 mmol/L NADPH 处理玉米叶片后, 对其叶黄素循环和非辐射能量耗散均可产生一定的影响。和对照相比, NADPH 只有在光照下才能明显抑制 Z 的形成, 当光强增高至 $1600 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 时, 这种抑制作用明显减弱, 此时 Z 已相当于对照的 81%。NADPH 对玉米[V+A+Z]总库的影响甚小。从荧光参数上看, 0.5 mmol/L 的 NADPH 处理使其 PSII 的光化学效率略为增加, 在相同的 PFD 条件下, Fv/Fm 比对照增加约 10% (但 $650 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 时不增加), 而在黑暗条件下反而降低 6%。另一方面, NADPH 还可同时降低玉米叶片的 NPQ 值, 而且 NPQ 的下降与 Z 含量的降低具有较好的对应关系。这表明 NADPH 主要是通过抑制叶黄素循环中 V 向 Z 的转化来降低其 NPQ 能力的, 与 DTT 的作用较类似, 但强光可以减弱这种抑制作用。

表3 NADPH 处理对玉米叶黄素循环和NPQ 的影响

Table 3 Effect of NADPH treatment on the xanthophyll cycle, Fv/Fm and NPQ of maize leaves

NADPH (mmol/L)	PFD ($\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$)	Car (mmol mol ⁻¹ chl)				Fv/Fm	NPQ
		V	A	Z	[V+A+Z]		
0.5	0	53.1 ± 0.36	5.9 ± 0.36	7.8 ± 0.20	66.8 ± 0.82	0.69 ± 0.01	1.18 ± 0.05
	215	45.4 ± 0.40	7.8 ± 0.20	15.4 ± 0.69	68.6 ± 0.69	0.64 ± 0.02	1.39 ± 0.03
	650	32.4 ± 1.15	10.8 ± 0.53	24.6 ± 1.49	67.8 ± 3.08	0.49 ± 0.01	1.47 ± 0.07
	1600	27.8 ± 1.11	10.8 ± 0.53	30.7 ± 1.60	69.3 ± 2.84	0.42 ± 0.03	1.86 ± 0.10
0	0	53.5 ± 0.17	3.9 ± 0.10	8.8 ± 0.17	66.2 ± 0.36	0.71 ± 0.01	1.40 ± 0.01
	215	39.0 ± 0.40	8.1 ± 0.56	20.9 ± 0.17	68.0 ± 0.61	0.56 ± 0.01	1.78 ± 0.03
	650	32.2 ± 0.20	10.1 ± 0.26	30.5 ± 0.50	72.8 ± 0.20	0.49 ± 0.01	2.11 ± 0.03
	1600	19.8 ± 0.26	9.6 ± 0.46	36.5 ± 1.12	65.9 ± 0.79	0.38 ± 0.01	2.44 ± 0.12

综上所述, 尽管 AsA、DTT 以及 NADPH 的作用效果并不一样, 但是它们都是通过影响植物体内的叶黄素循环来最终影响其 NPQ 能力的。

3 讨论

人们很早就已认识到 AsA 可以促进离体类囊体中的紫黄质脱环氧化作用, Siefermann 和 Yamamoto 等^[4]报告外加 16 mmol/L 的 AsA 可诱导离体类囊体中的紫黄质脱环氧化酶的最大活性。Bratt 等则认为 AsA 不是单独作用的, 而是和类囊体 pH 值共同作用并受其制约的。紫黄质脱环氧化酶与 AsA 的结合常数 K_m 是依赖于 pH 值的, 在 pH 值 4.9–5.2 范围内, AsA 的浓度可极大地影响紫黄质脱环氧化酶的活性。当 $\text{pH} > 6$ 时, AsA 的浓度变化对脱环氧化酶活性的影响逐渐减弱^[12]。也有报道表明正常生长的植物叶片类囊体中 AsA 的浓度范围在 10–25 mmol/L 之间, AsA 浓度尚不足以构成活体内脱环氧化作用的限制因素^[13]。由于以前的工作大多以离体的类囊体和紫黄质脱环氧化酶作为研究对象, 且只研究叶黄素循环中不同组分的转化过程, 因此可能反映不出植物叶黄素循环与 NPQ 的真实情况。我们采用离体玉米叶片进行外源 AsA 处理的结果表明: 经 20 mmol/L AsA 处理后可以明显促进玉米叶片叶黄素循环中 V 向 A 和 Z 的转化, 但对 [V+A+Z] 总库的影响不大; AsA 甚至在黑暗条件下也能促使 Z 和 A 含量的增加, 与单纯的增加 PFD 的效果相近。和对照相比, 经 AsA 处理者其叶黄素循环中 Z 的含量在较低的 PFD 下即可达到饱和。参

考 Bratt 等^[12]的工作, 我们认为可能存在两种情况: (1) 增加 PFD 可以明显促进 V 向 Z 的转化, 是由于光照处理能明显增加类囊体膜内的酸度^[14], 20 mmol/L AsA 处理后也可部分地起到降低类囊体内 pH 值的作用, 从而显示了代替 PFD 的效果, 但是其作用仍需要以 pH 值为介导。(2) 与 V 和 A 一样, 抗坏血酸 AsA 可以直接充当紫黄素脱环氧化酶的底物, 通过增强该酶的活性来促进 Z 的产生。PFD 的增加也主要是通过降低类囊体内的 pH 值来增加脱环氧化酶与 AsA 的结合常数^[5,15]。对比 20 mmol/L AsA 处理后玉米叶片中叶黄素循环与 NPQ 的变化, 我们仍然可以发现 Z 和[Z + A] 含量随 PFD 的增加幅度与 NPQ 值的增加幅度是相当一致的, 由此说明外源 AsA 处理也是通过影响植物叶黄素循环中 Z 和 A 的含量来最终改变其 NPQ 的大小的。

不论研究对象是采用离体类囊体还是完整叶片, DTT 处理都能明显降低其非化学猝灭值(K_D 或 q_N)^[16,17]。Bilger 和 Bjorkman 等^[6,18]都认为 DTT 能通过抑制叶黄素循环中 Z 的形成来降低 NPQ 值, 但对 PSII 量子效率以及限制光下的放氧过程和饱和光照下的 CO_2 固定都没有影响, 而且在 Z 已经形成后再施加 DTT 并不能引起 NPQ 值的下降。Neubauer^[19,20]则指出 DTT 对非光化学猝灭值的抑制作用主要是因为它能有效地抑制类囊体内抗坏血酸过氧化物酶活性而非抑制紫黄质脱环氧化酶活性, 由于 Mehler-抗坏血酸过氧化物酶反应所介导的非环式电子传递链在类囊体 ΔpH 形成中发挥着重要作用, DTT 因此通过抑制抗坏血酸过氧化物酶的活性来抑制 q_N 猝灭所必需的 ΔpH , 从而大大降低 NPQ。Junesch^[2]则认为 DTT 主要是作用于类囊体膜上的 H^+ -ATP 合成酶, DTT 通过其还原作用可以降低活化 ATP 合成酶所必需的 ΔpH , 由于已活化的 ATP 合成酶要求足够的 ΔpH 进行能量耗散, 因此 DTT 可有效地抑制 NPQ 猝灭。此外, 也有人认为 DTT 并不能影响类囊体的 ΔpH ^[7]。我们的实验结果与 Bilger 和 Bjorkman 的观点比较一致, 离体玉米叶片经 5 mmol/L 的 DTT 处理后即可抑制绝大部分 Z 的形成, 同时降低相应的 NPQ 值, 而对 PSII 光化学效率影响不大。由于 Z 受抑制与 NPQ 值下降是同时进行的并具有平行关系, 因而 DTT 可能主要是通过抑制紫黄质脱环氧化酶的活性来降低非光化学猝灭的。尽管 NPQ 值在经 DTT 处理后比对照低 40% 以上, 但仍然还存在着较多的对 DTT 不敏感的 NPQ 猝灭组分(表 2)。这与 Bilger^[6]和 Demmig-Adams^[22]等报道的 DTT 不敏感的 q_N 猝灭组分仅占全部 q_N 的较小部分存在着一定差距。我们认为: (1) DTT 只抑制 q_N 中的 q_E 组分, 对 q_T 和 q_I 影响较小^[23]; (2) 不同的实验材料也会产生一定的差别。

NADPH 也对玉米叶片中叶黄素 Z 的形成和相应的 NPQ 值具有抑制作用, 但和 DTT 不同的是, 它随着 PFD 的增加还有逐渐减弱的趋势。由于在植物本身的类囊体基质内就存在着一定量的 NADPH, 并且它可以随着 PFD 的变动在 0.1–0.3 mmol/L 之间进行相应的自我调节, 因此外加 0.5 mmol/L 的 NADPH 对类囊体内 NADPH 浓度变化的影响并不明显^[24]。由于 NADPH 通过增加玉米黄质环氧化酶的活性来抑制 Z 的形成, 因此在强光下这种作用会削弱^[7]。和 AsA、DTT 一样, 外加 NADPH 处理也是通过影响植物叶黄素循环中 Z 和 A 的形成量来制约相应的非辐射能量耗散, 但它们三者对[V + A + Z] 库规模的影响都不明显。

参考文献:

- [1] Demmig B, Winter K, Czyger F, et al. Photoinhibition and zeaxanthin formation in intact leaves [J]. *Plant Physiol*, 1987, 84:218–224.

- [2] Jahns P, Krause G H. Xanthophyll cycle and energy-dependent fluorescence quenching in leaves from pea plants grown under intermitten light [J]. *Planta*, 1994, 192:176-182.
- [3] Thayer S S, Bjorkman O. Carotenoid distribution and deepoxidation in thylakoid pigment-protein complexes from cotton leaves and bundle-sheath cell of maize [J]. *Photosynth Res*, 1992, 33:213-215.
- [4] Siefermann D, Yamamoto H Y. Light-induced deepoxidation of violaxanthin in lettuce chloroplasts [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1974, 357:144-150.
- [5] Gilmore A M, Yamamoto H Y. Linear models relating xanthophyll and lumen acidity to non-photochemical fluorescence quenching. Evidence that antheraxanthin explains zeaxanthin-independent quenching [J]. *Photosynth Res*, 1993, 35:67-78.
- [6] Bilger W, Bjorkman O. Role of the xanthophyll cycle in photoprotection elucidated by measurements of light-induced absorbance changes: fluorescence and photosynthesis in leaves of *Hedera canariensis* [J]. *Photosynth Res*, 1990, 25:173-185.
- [7] Sifermann D, Yamamoto H Y. Properties of NADPH and oxygen-dependent zeaxanthin epoxidation in isolated chloroplasts [J]. *Arch Biochem Biophys*, 1975, 171:70-77.
- [8] Demmig-Adams B, William W, Adams III. Xanthophyll cycle and light stress in nature: uniform response to excess direct sunlight among higher plant species [J]. *Planta*, 1996, 198:460-470.
- [9] Schreiber U, Schliwa U, Bilger W. Continuous recording of photochemical and non-photochemical chlorophyll fluorescence quenching with a new type of modulation fluorometer [J]. *Photosynth Res*, 1986, 10:51-62.
- [10] Arnon D I. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenol oxidase in *Beta vulgaris* [J]. *Plant Physiol*, 1949, 24: 1-15.
- [11] 赵世杰, 孟庆伟, 许长城, 等. 植物组织中叶黄素循环组分的高效液相色谱分析法 [J]. *植物生理学通讯*, 1995, 31(6): 438-442.
- [12] Bratt C E, Arvidsson P O, Carlsson M, et al. Regulation of violaxanthin de-epoxidase activity by pH and ascorbate concentration [J]. *Photosynth Res*, 1995, 45:169-175.
- [13] Foyer C H, Rowell J, Walker D. Measurements of the ascorbate content of spinach leaf protoplasts and chloroplasts during illumination [J]. *Planta*, 1983, 157:239-244.
- [14] Demmig-Adams B. Carotenoids and photoprotection in plants: a role for the xanthophyll zeaxanthin [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1990, 1020:1-24.
- [15] Hager A. Lichtbedingte pH-Erniedrigung in einem Chloroplasten-Kompartiment als Ursache der enzymatischen Violaxanthin- → Zeaxanthin-Umwandlung; Beziehungen zur Photophosphorylierung [J]. *Planta*, 1969, 89:224-243.
- [16] Demmig-Adams B, Adams III. Capacity for energy dissipation in the pigment bed in leaves with different xanthophyll cycle pools [J]. *Aust J Plant Physiol*, 1994, 21:575-588.
- [17] Richter M, Goss R, Böthlin B, et al. Zeaxanthin dependent and zeaxanthin independent changes in nonphotochemical energy dissipation [J]. *J Plant Physiol*, 1994, 143:495-499.
- [18] Bilger W, Bjorkman O. Relationships among violaxanthin deepoxidation, thylakoid membrane conformation, and non-photochemical chlorophyll fluorescence quenching in leaves of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) [J]. *Planta*, 1994, 193:238-246.
- [19] Neubauer C, Yamamoto H Y. Mehler-peroxidase reaction mediates zeaxanthin formation and zeaxanthin-related fluorescences quenching in intact chloroplasts [J]. *Plant Physiol*, 1992, 99:1354-1361.
- [20] Neubauer C. Multiple effects of dithiothreitol on nonphotochemical fluorescence quenching in intact chloroplasts: influence on violaxanthin de-epoxidase activity and ascorbate peroxidase activity [J]. *Plant Physiol*, 1993, 103:575-583.
- [21] Junesch V, Graber P. The rate of ATP synthesis as a function of ΔpH in normal and DTT-modified chloroplasts [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1985, 809:429-434.
- [22] Demmig-Adams B. Zeaxanthin-associated energy dissipation and the susceptibility of various organisms to light stress [A]. In: Murata N. *Current Research in Photosynthesis* [M]. The Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 1990(2): 357-364.
- [23] Horton P, Hague A. Studies on the induction of chlorophyll fluorescence in isolated barley protoplasts IV. Resolution of the non-photochemical quenching [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1988, 932:107-115.
- [24] Heineke D, Riens B, Grosse H, et al. Redox transfer across the inner chloroplasts envelope membrane [J]. *Plant Physiol*, 1991, 95:1131-1137.