

盐藻叶绿素荧光非光化学猝灭产生的条件和主要组分的检测*

夏 丽 陈贻竹

(中国科学院华南植物研究所 广州 510650)

提要 实验用盐藻取自天津塘沽轻工业部制盐研究所,应用叶绿素荧光技术检测盐藻悬浮液在暗适应或稳态光合作用下的荧光产量(光化学荧光猝灭 qP 和非光化学荧光猝灭 qN 的进程)和在稳态后黑暗期间荧光产量的恢复(qN 的暗弛豫动力学)。通过改变诱导光强、脉冲频率和脉冲强度,寻找适当的条件以区分光诱导期间的 qP 、 qN 和随后黑暗期间 qN 的快(q^f)、中(q^m)、慢(q^s)三个组分。结果表明, qN 的快相(q^f)仅在相对高的诱导光强 [$> 150 \mu E / (m^2 \cdot s)$] 下出现,它被尼日利亚菌素抑制,属于高能态猝灭(qE)。在大多数情况下, qE 是 qN 的最主要组分,它的出现表明了通过增加能量耗散可以避免强光破坏光合器官的保护机制的启动。

关键词 盐藻 叶绿素荧光 非光化学荧光猝灭 暗弛豫动力学 光抑制

学科分类号 Q945.11

光合器官能够通过光抑制来调节能量的利用(光化学)和耗散(非光化学)之间的平衡。因此,测定光化学荧光猝灭(qP)和非光化学荧光猝灭(qN)是光抑制研究中不可缺少的部分,而解决 qN 的组分和性质又是其中最基本的内容(Krause *et al.*, 1991)。盐藻是一种抗逆能力很强的单细胞海洋绿藻,具有较强的抗高辐照的能力。经测定发现,它对光强的反应与它在光下通过非光化学荧光猝灭增加耗散过剩光能的能力有密切关联。因此,盐藻是研究光抑制的一种很方便的实验材料。应用叶绿素荧光技术检测盐藻产生非光化学荧光猝灭的条件和鉴别非光化学荧光猝灭的组分,是开展这一研究的基础。本文对这一研究结果予以报道。

1 材料与方法

1.1 材料

盐藻(*Dunaliella salina* 1009)取自天津塘沽轻工业部制盐研究所。在 $80-100 \mu E / (m^2 \cdot s)$ 的光强下用介质盐度为 2 mol/L 的 ASP2 培养液培养一个月,盐藻的叶绿素含量可达到 $9.72-10.13 \mu g / ml$,使用前离心浓缩 6 倍。叶绿素含量按 Amon(1949)方法测定。

1.2 方法

1.2.1 暗弛豫动力学的测定

* 中国科学院院长基金特别资助项目,39270070号。夏丽,女,出生于1971年1月,硕士,现在美国 Bowling Green State University, E-mail: xiali@bgnet.lgsu.edu

收稿日期:1998-08-20,收修改稿日期:1998-10-08

PAM, Walz, Germany) 测定叶绿素荧光诱导动力学和非光化学猝灭的暗弛豫动力学, 并在记录仪 (Type 3066 pen recorder, Japan) 上记录信号轨迹。盐藻的浓缩液置于带搅拌器的反应小室 (ks101, Walz) 内用水浴保持 25℃ 恒温。藻液在黑暗中适应 5—10min, 用弱调制测量光 [$< 0.05\mu\text{E}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$] 诱导产生原初荧光 F_0 , 在 F_0 后的最大荧光 F_m 由短饱和脉冲光 [闪光时间 2s, 强度约为 $6\ 000\text{--}7\ 000\mu\text{E}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$] 激发获得, 图 1a 中 $(F_v)_m = F_m - F_0$ 为最大可变荧光。被还原的 Q_A (PSII 反应中心的原初受体) 在黑暗期间又重新被氧化, 荧光降到接近 F_0 的水平。然后, 再用不同强度的光化光诱导荧光动力学, 同时在连续的光照背景下每隔 20—50s 给一次饱和脉冲光 (2s), 这样, 在诱导曲线上就给出了一系列相应的脉冲峰 $(F_v)_s$ [光诱导期间的可变荧光, 标为 $(F_v)_{sl}$], 10—15min 后可达到稳态。如果在关闭光化光后 (一般为 5s 间隙), 立刻给一饱和脉冲光, 也会诱导产生相应的脉冲峰 $(F_v)_s$ [暗弛豫期间的可变荧光, 标为 $(F_v)_{sd}$]。以后每隔 50—100s 重复地给一次饱和脉冲光, $(F_v)_{sd}$ 的弛豫 (恢复) 随着时间的变化表现出非光化学猝灭的暗弛豫动力学 (图 1b)。这种暗弛豫动力学在适当的条件下可以根据 $(F_v)_{sl}$ 弛豫的速率区分 qN 的三个组分: qE、qT 和 qI。

1.2.2 脉冲光闪光时间、脉冲光强度、频率和光化光强的获得和选择

脉冲光闪光时间 为使 PSII 完全开放, 将盐藻经长时间 (12h) 黑暗适应, 然后在弱调制测量光 (1.6kHz) 下选用不同闪光时间的脉冲光 (0.5s、1s、2s、3s) 诱导 $(F_v)_s$ 以获得最大荧光产量的最佳闪光时间。

脉冲光强度 经长时间黑暗适应的盐藻在弱调制测量光下用不同强度的脉冲光 [$700\text{--}9\ 000\mu\text{E}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$] 诱导 $(F_v)_s$, 以获得稳定的、最大荧光产量的脉冲光强度。

脉冲光频率 以经长时间黑暗适应的盐藻在弱调制测量光 (1.6kHz) 下用 $6\ 600\mu\text{E}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 光强的脉冲光测得的荧光产值为 100%, 比较盐藻在不同光强的光化光下诱导 15min 后, 暗恢复过程中选择不同的脉冲频率 (7s、10s、50s、100s、200s 的间隔时间) 对 $(F_v)_{sd}$ 弛豫动力学的影响。

诱导光化光强 关闭光化光 5s 后, 在 qN 暗恢复过程中每隔 50s 闪一次饱和脉冲光 [$6\ 000\mu\text{E}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$] 以测定盐藻的 $(F_v)_{sd}$ 。诱导光化光强分别为 50、100、150、200、420 $\mu\text{E}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 。

1.2.3 抑制剂对 $(F_v)_{sl}$ 恢复的影响

在低的光化光 [$150\mu\text{E}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$] 诱导荧光动力学期间加入 10 μl 5 $\mu\text{mol/L}$ 的 3- (3- 二氯苯基) - 1- 1- 二甲脲 (DCMU); 在高光化光 [$450\mu\text{E}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$] 诱导期间分别加入 10 μl 5 $\mu\text{mol/L}$ DCMU 和 10 μl 10 $\mu\text{mol/L}$ 的尼日利亚菌素 (Nigericin), 检测它们对 $(F_v)_{sl}$ 弛豫动力学的影响。

2 结果

2.1 荧光猝灭的暗弛豫动力学

从盐藻的荧光动力学曲线图上 (图 1a) 可以看出, 在光诱导期间测得的 $(F_v)_{sl}$ 通常比经 5—10min 黑暗适应后测得的要低, 为了便于区别, 后者用 $(F_v)_m$ 表示。随着光诱导的延续, 荧光达到 P (peak) 之后是一个慢的动力学过程。逐渐下降的 $(F_v)_{sl}$ 表示, 在光化学

猝灭启动的同时,非光化学猝灭机制也启动,它们都猝灭荧光,直至 $(F_v)_{sl}$ 达到稳态。当

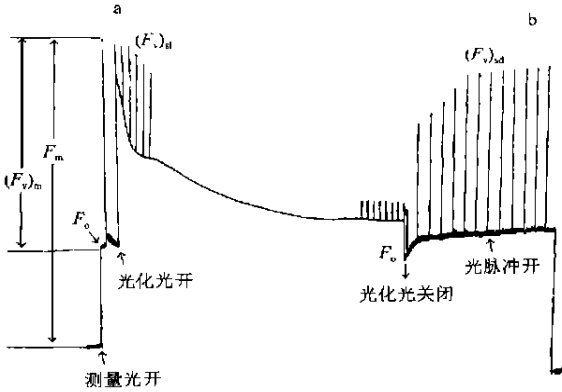


图1 盐藻细胞叶绿素 a 荧光诱导动力学曲线

Fig. 1 The curve of chlorophyll- a fluorescence induction kinetics in *Dunaliella salina*

a. 光诱导期间; b. 暗弛豫期间

随着时间的增加而上升,最终将接近 $(F_v)_m$ 值。 $(F_v)_{sl}$ 升高的速率,反映了 q_N 成分的变化。开始1min有一个快速变化,随后的8min呈线性上升,紧接着的40min内上升很慢(整个过程图中未显示)。这些过程分别称之为非光化学猝灭的快相、中间相和慢相,这三个组分又分别相似于依赖能量的猝灭(qE)、能态转换的猝灭(qT)、光抑制猝灭(qI) (Quick *et al.*, 1989)。荧光猝灭的暗弛豫动力学随不同种类的植物(包括藻类)或它们生长条件的不同而变化,因此在使用饱和脉冲技术程序时要先对测定的材料和它们的生活环境进行考察。

2.2 脉冲的强度和频率对暗弛豫动力学的影响

应用饱和脉冲光测定 q_N 的暗弛豫动力学,首先是要选择适当的脉冲光强度、脉冲持续时间和两次脉冲之间的间隔时间,以消除它们对荧光产量和 q_N 暗弛豫动力学的影响。

用光强为 $4000\mu E / (m^2 \cdot s)$ 的5种不同时间长度的脉冲闪光(500、800、1000、2000和3000ms)分别照射经暗适应的盐藻。测定结果表明,2000ms(2s)可获得最大的 $(F_v)_s$ 值。2s以下的闪光持续时间可能不足以使潜在的 Q_A 全部还原,从而达不到最大荧光产量(图2未显示)。

用不同光强[$1000-9000\mu E / (m^2 \cdot s)$]的2s脉冲光分别照射经暗适应的盐藻,结

光化光被关闭, F_v 会立刻下降到接近 F_o 的水平。如果光化光光强大于 $150\mu E / (m^2 \cdot s)$,荧光会下降到比原来经黑暗适应测得的 F_o 更低的水平。这一现象称之为 F_o 猝灭(F_o'),它取决于 Q_A 重新被氧化的速率与光诱导期间光合作用的某些限制因素有关 (Demmig-Adams, 1990)。此后, F_o' 有一个慢的弛豫过程,2-3min之后趋于平稳。如果在关闭光化光5s后立刻用饱和脉冲光照射盐藻,所获得的第一个 $(F_v)_{sl}$ 通常小于光诱导期间稳态时的 $(F_v)_{sl}$ 。接着每隔50-100s

间隙重复给予饱和和脉冲光, $(F_v)_{sl}$ 峰

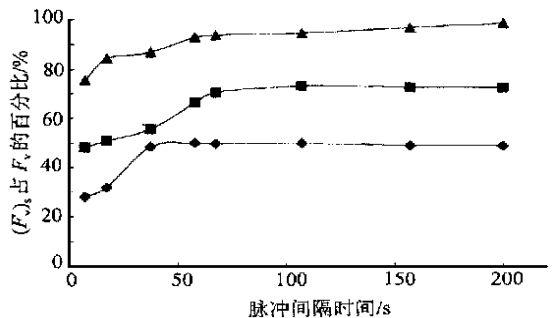


图2 饱和脉冲的频率对经光化光诱导和不经光化光诱导的盐藻 $(F_v)_s$ 弛豫的影响

Fig. 2 The effect of pulse frequency on $(F_v)_s$ relaxation in *D. salina* with or without via inducing actinic light
▲ 盐藻经 12h 暗适应; ■ $2200\mu E / (m^2 \cdot s)$ 光化光诱导 15min; ◆ $480\mu E / (m^2 \cdot s)$ 光化光诱导 15min

果表明 $4000 - 8000 \mu E / (m^2 \cdot s)$ 光强可获得稳定的最大荧光产量(图 2 未显示)。

实验还检查了脉冲光频率是否会影响经长时间黑暗适应和经光化光诱导的盐藻的 $(F_v)_s$ 。将 12h 黑暗适应的盐藻用弱测量光 ($1.6 kHz$) 照射后立即在光强为 $6600 \mu E / (m^2 \cdot s)$ 的闪光 (2s) 下测取 $(F_v)_m$, 以此值作为 100%。然后, 在 200s 黑暗间隙之后用同样的闪光获得的 $(F_v)_s$ 十分接近 $(F_v)_m$ (图 2)。随着黑暗间隙时间缩短, $(F_v)_s$ 逐渐下降。从图 2 中可看出, 30s 间隙以下的闪光使 $(F_v)_s$ 快速升高, 大于 50s 间隙, $(F_v)_s$ 接近 $(F_v)_m$ 。然而, 当藻液经光化光诱导 200s 黑暗间隙之后的 $(F_v)_{sd}$ 只有 $(F_v)_m$ 的 70%, 随脉冲光频率提高 $(F_v)_s$ 下降幅度更大。光化光越强, $(F_v)_s$ 水平下降越大, 在 $480 \mu E / (m^2 \cdot s)$ 的光化光下, $(F_v)_{sd}$ 下降了 50% (图 2)。

图 3 表示经一定光强的光化光诱导之后, 在黑暗弛豫期间不同的脉冲频率对 $(F_v)_{sd}$ 随时间变化的影响。以 12h 黑暗适应的盐藻在 $6000 \mu E / (m^2 \cdot s)$ 下测得的 $(F_v)_m$ 值作为 100%。用 $220 \mu E / (m^2 \cdot s)$ 的光化光照射盐藻直至稳态, 关闭之后在黑暗期间用不同频率的脉冲光检测 $(F_v)_{sd}$ 。在 7s 高频脉冲光下, 荧光产量在暗弛豫期间的 50—200s 就达饱和, 其值相当于 $(F_v)_m$ 的 60%, 展现两相变化。当脉冲频率减慢到 50s 以上时, 暗弛豫动力学开始展现出明显的三相变化。显然, 高的脉冲频率阻止非光化学猝灭弛豫动力学的第二相。相似的结果在大麦叶中也发现 (Quick *et al*, 1989)。将这一 $(F_v)_s$ 与在黑暗和低红光下 (670nm) 的弛豫进行比较, 发现低的红光化光不阻止第一相 (快速) 而阻止第二相的弛豫 (图 3 未显示)。

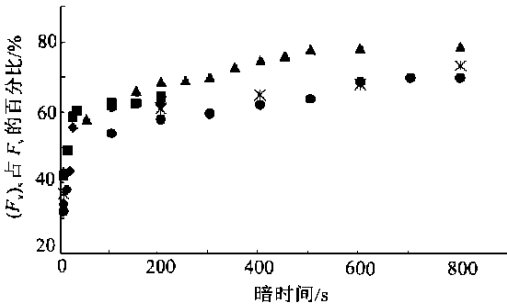


图 3 盐藻暗弛豫过程中不同的脉冲频率对 qN 组分形成的影响

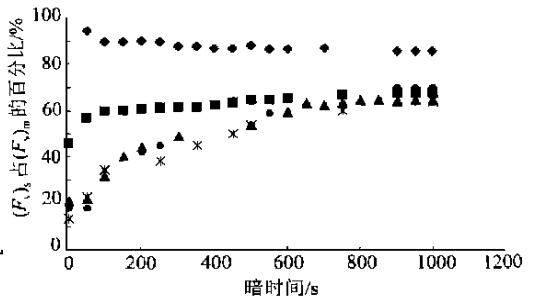


图 4 光化光强对盐藻 qN 组分形成的影响

Fig. 4 The effect of actinic light intensities on the formation of qN components in *D. salina*

◆ $50 \mu E / (m^2 \cdot s)$; ■ $100 \mu E / (m^2 \cdot s)$; ▲ $150 \mu E / (m^2 \cdot s)$; ● $200 \mu E / (m^2 \cdot s)$; * $420 \mu E / (m^2 \cdot s)$

Fig. 3 The effect of different pulse frequency on the components of qN during the dark relaxation in *D. salina*
脉冲频率分别为: ◆ 7s; ■ 10s; ▲ 50s; ● 100s; * 200s

2.3 不同强度的光化光对 $(F_v)_s$ 恢复的影响

图 4 表示在低和高的光化光强诱导下的荧光非光化学猝灭暗弛豫动力学曲线, 以 12h 黑暗适应的盐藻在 $6600 \mu E / (m^2 \cdot s)$ 下测得的 $(F_v)_m$ 值作为 100%。关闭光化光后黑暗 5s, 用饱和脉冲给出第一个 $(F_v)_{sd}$, 以后每隔 50s 间隙给一次脉冲。从图 4 中可以看出: (1) 低光诱导不产生 F_0 猝灭, F_0 猝灭经常伴随着能量耗散过程, 特别是在叶绿体色素

床内的能量耗散。作者发现,盐藻只有当光化光大于 $150\mu\text{E}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 才能出现 F_0 猝灭; (2) 光强提高到 $150\mu\text{E}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 以上时,暗弛豫的快相才出现。出现快相与 F_0 猝灭几乎是同步的,这表明 qE 的产生诱发了 DTT- 敏感的紫黄质脱环氧过程; (3) 当光化光强大于 $150\mu\text{E}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 时, $(F_v)_{sd}$ 的弛豫出现 qE 和 qT 两相。

2.4.3- (3-4- 二氯苯基) - 1-1- 二甲脲(DCMU)、尼日利亚菌素(Nigericin)对 $(F_v)_s$ 的影响

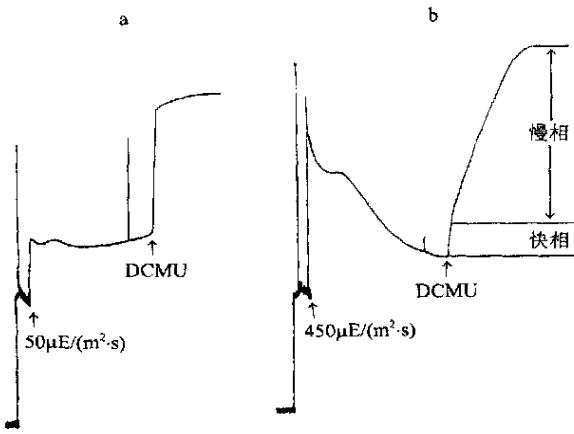


图5 DCMU 对盐藻 qN 的暗弛豫动力学的影响
Fig. 5 The effect of DCMU on dark relaxation kinetics of qN in *D. salina*

- a. 在低光化光 $[50\mu\text{E}/(\text{m}^2\cdot\text{s})]$ 诱导期间加入 DCMU;
- b. 在高光化光 $[450\mu\text{E}/(\text{m}^2\cdot\text{s})]$ 诱导期间加入 DCMU

图5表示在不同强度光化光下诱导的盐藻荧光动力学曲线。在稳态下用饱和脉冲给出的 $(F_v)_s$ 与在暗适应状态下的最大值 $(F_v)_m$ 相近,这说明系统没有产生非光化学猝灭(主要是 qE)。当盐藻处于光照下,加入 $5\mu\text{mol/L}$ DCMU 会引起荧光快速上升。因为 DCMU 阻断了从 Q_A 流向 Q_B 的电子流,使电子堆积在 Q_A (*Krause et al*, 1991)。于是,还原的 Q_A 推动荧光上升,上升的高度表示 Q_A 还原的比例,它代表 qP 。随着诱导光化光强的提高(图5a),由于产生 qE , DCMU 诱导的荧光弛豫出现两相,快相部分(第一相)代表 qP ,与饱和脉冲的脉冲峰高 $(F_v)_s$ 相等;慢相部分(第二相)代表 qE ,与 $(F_v)_m - (F_v)_s$ 值相近(图5b)。

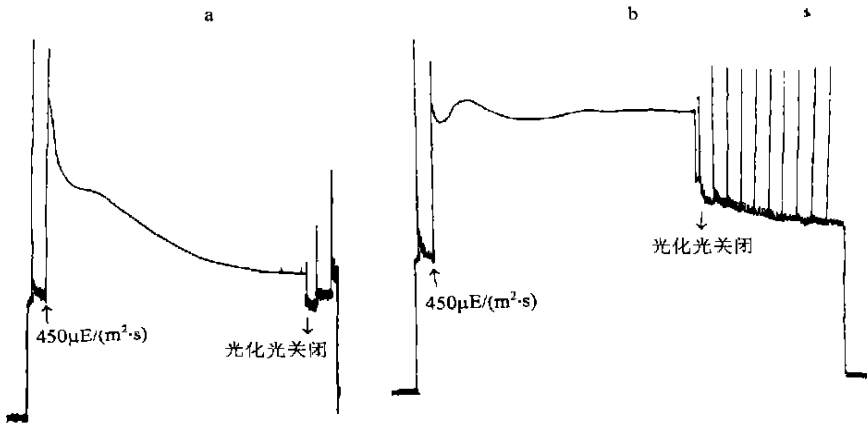


图6 尼日利亚菌素在高光化光下 $[450\mu\text{E}/(\text{m}^2\cdot\text{s})]$ 对盐藻快相 qE 的影响
Fig. 6 The effect of Nigericin on qE at high actinic light $[450\mu\text{E}/(\text{m}^2\cdot\text{s})]$

- a. 对照; b. 加入 $10\mu\text{mol/L}$ 尼日利亚菌素

在高光化光下诱导产生的 qE , 它的存在也可以在关闭光化光后的黑暗弛豫过程中应

用饱和脉冲技术结合抑制剂来证明(图 6a)。强光诱导形成跨类囊体膜的 pH 梯度, 后者启动产生能量依赖的猝灭(qE)。因为 Nigericin 能阻止膜梯度的建立(Quick *et al.*, 1989), 所以明显弛豫荧光, 从而阻止 qE 的形成(图 6b)。因此可以确定盐藻的快相是 qE 。同时, Nigericin 也消除 F_0 猝灭。

3 讨论与结论

盐藻是一种单细胞的海洋绿藻, 人们对盐藻的渗透调节机制已经进行了详细的研究, 在光合作用方面也有些报道(彭长连等, 1994; Smith *et al.*, 1990; Ben-Amotz *et al.*, 1989; Hofstraat *et al.*, 1994)。盐藻与高等植物拟南芥菜一样, 正作为模式样本广泛地应用于研究工作中。它对高辐照有强的忍耐力, 且恢复能力也很强, 是研究光抑制的较好材料。叶绿素 a 荧光作为一种方便的研究植物(藻类)光合作用的探针, 以其灵敏、快速、无损伤性的优点越来越多地被应用于环境生理的研究上(Krause *et al.*, 1991; 陈贻竹等, 1995)。

引起荧光产量降低的原因主要有两个: (1) PSII 反应中心的光化学, qP (能量转化), 反映了开放中心捕获激子和随后转化为化学能的过程; (2) 在 PSII 天线(和/或反应中心)发生非光化学猝灭(qN), 它以热的形式耗散多余的能量。本文根据 Schreiber 等(1986)的方法应用新的脉冲调制荧光技术将光诱导下盐藻细胞荧光动力学曲线上任何一点的 qP 和 qN 区分开来(图 1), 并且在暗弛豫期间, 应用饱和短脉冲检测与活性的 PSII 反应中心联接的 Q_A 重新被还原的速率[以脉冲峰(F_v)_s的高度表示]与时间进程的变化, 更详细地区分 qN 的三个组分(快、中、慢三相)(图 4)。在盐藻光诱导期间应用 DCMU 也能将光化学与非光化学猝灭分离开来(图 5), 这与 Krause 等(1982)的结论一致。快相代表 qP 的弛豫, 慢相代表 qN 的弛豫, 由于它能被解偶联剂 Nigericin 明显地弛豫, 证明大部分的 qN 是 qE 。 qE 的形成依赖于类囊体膜的能量化, 或者依赖于在光照射下建立的类囊体 ΔpH (Horton *et al.*, 1994)。高的 qE 产生高的非光化学荧光猝灭水平, 它诱导产生 qI (qN 的慢相)。 qE 被认为是在吸收的光能超过光合电子传递能力的情况下, 启动了体内某些反馈控制机制, 以 ΔpH 的水平来“感受”过量光, 提高与叶黄素循环相关的热耗散途径, 它本身就代表了一种避免强光破坏光合器官的保护机制(Ruban *et al.*, 1994)。 qN 发生的位点是在 PSII 反应中心抑或在 PSII 捕光色素天线上一直是有争议的。大量证据表明, 由 qE 启动的能量耗散发生在天线色素上, 而不是反应中心的可能性更大(Horton *et al.*, 1994; Ruban *et al.*, 1995)。PSII 反应中心开放时发射的叶绿素荧光 F_0 的降低或升高与不同的过程相联, 例如, 根据 Butler 模型(1986), F_0 的降低是因为叶绿体色素床上非辐射能量耗散速率常数(KD)的增加, 因此净 F_0 的降低与能量耗散, 尤其是在天线色素上的能量耗散(Demmig-Adams, 1990)过程相关。

虽然, 目前分离 qP 和 qN 已不困难(Schreiber *et al.*, 1986), 而且 qN 的三个组分也可应用饱和脉冲的方法在暗弛豫期间加以区别, 但明确地区分 qI 和 qE 还有些困难, 因为有时候 qE 存在的时间相对长, 容易与 qI 混淆(Ruban *et al.*, 1995)。这可能由于在黑暗中类囊体能量化的时间延长, 或者是捕光色素系统状态的改变。前者表明 qE 和 qI 之间的区分有时是很小的, 而后者则表明 qI 是受 qE 的调节。在大多数情况下 qN 的主要成分是 qE , qI 仅为次要成分。 qI 是可逆或不可逆的慢过程, 在高光或其它胁迫下显得更明显。另外, 在光抑制猝灭中还存在部分不猝灭荧光的非光化学能量耗散成分, 或者可能包含在

非弛豫成分中, 这样在测定暗弛豫动力学时会产生一些干扰。总之, 在区分 q_N 成分时仍有一些问题有待进一步研究。

参 考 文 献

- 陈贻竹, 李晓萍, 夏 丽等, 1995. 叶绿素荧光技术在环境胁迫研究中的应用. 热带亚热带植物学报, 3(4): 79
- 彭长连, 林植芳, 孙谷畴等, 1994. 两种盐藻光合作用特性的比较. 海洋与湖沼, 25(6): 606
- Arnon D J, 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts polyphenol oxidase in *Beta Vulgaris*. *Plant Physiol*, 24: 1
- Ben-Amotz A, Avron M, 1989. The biotechnology of mass culturing *Dunaliella* for products of commercial interest. In: *Algal and Cyanobacteria* New York, 32—114
- Demmig-Adams B, 1990. Carotenoids and photoprotection in plants: a role for the Xanthophyll cycle. *Biochim Biophys Acta*, 1020: 1
- Hofstraat J W, Peeters C H, 1994. Simple determination of photosynthetic efficiency and photoinhibition of *Dunaliella tertiolecta* by saturating pulse fluorescence measurements. *Mar Ecol Prog Ser*, 103: 187
- Horton P, Ruban A V, Walters R G, 1994. Regulation of light harvesting in green plants indicated by nonphotochemical quenching of chlorophyll fluorescence. *Plant Physiol*, 106: 415
- Krause G H, Verotote C, Briantais J M, 1982. Photoinduced quenching of chlorophyll fluorescence in intact chloroplasts and algae. Resolution into two components. *Biochim Biophys Acta*, 679: 116
- Krause G H, Weis E, 1991. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics. *Annu Rev Plant Physiol. Plant Mol Biol*, 42: 313
- Quick W P, Stitt M, 1989. An examination of factors contributing to non-photochemical quenching of chlorophyll fluorescence in barley leaves. *Biochimica Biophysica Acta*, 977: 287
- Ruban A V, Horton P, 1994. Spectroscopy of non-photochemical and photochemical quenching of chlorophyll fluorescence in leaves; evidence for a role of the light harvesting complex of photosystem II in the regulation of energy dissipation. *Photosyn Res*, 40: 181
- Ruban A V, Horton P, 1995. Regulation of non-photochemical quenching of chlorophyll fluorescence in plants. *Aust J Plant Physiol*, 22: 221
- Schreiber U, Schilwa U, Bigler W, 1986. Continuous recording of photochemical and nonphotochemical quenching with a new type of modulation fluorometer. *Photosyn Res*, 10: 51
- Smith B M, Morrissey P J, Guenther J E *et al*, 1990. Responses of the photosynthetic apparatus in *Dunaliella salina* (green algae) to irradiance stress. *Plant Physiol*, 93: 1433

DETECTING THE FORMATION AND COMPONENTS OF NON- PHOTOCHEMICAL QUENCHING OF CHLOROPHYLL FLUORESCENCE IN *DUNALIELLA SALINA* 1009

XIA Li, CHEN Yi-zhu

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

Abstract By using saturated pulse technology, we examined the effects of light pulse intensities, light pulse frequencies, and inducing light (actinic light) intensities on photochemical (qP) and non-photochemical quenching (qN) of chlorophyll fluorescence during light illumination, and the dark relaxation after reaching photosynthetic steady-state condition in *Dunaliella salina* 1009. The results show that various components of qN can be resolved by pulse technology in dark relaxation kinetics after the actinic light is turned off. Studies reveal that three distinct phases of qN relaxation, the 'fast' phase (q^f), the 'middle' phase (q^m) and the 'slow' phase (q^s), are presented in *Dunaliella salina*. The 'fast' phase contributed to qE (energy-dependent quenching), a major part of qN under most conditions, which depends on the presence of the thylakoid proton gradient (ΔpH). qE only appears at high light intensities, can be abolished by Nigericin, and recognized to be the principal photoprotective mechanism for energy dissipation in green plants.

Key words *Dunaliella salina* 1009 Chlorophyll fluorescence Non-photochemical fluorescence quenching Dark relaxation kinetics Photoinhibition

Subject classification number Q945.11