

专论与综述 Reviews

植物黄体素(Lutein)与环氧化黄体素-黄体素循环

林植芳^{1,*} 彭长连^{1,2} 林桂珠¹¹中国科学院华南植物园广东省数字植物园重点实验室, 广州 510650; ²华南师范大学生命科学学院, 广州 510631

Lutein and Lutein Epoxide-Lutein Cycle in Plants

LIN Zhi-Fang^{1,*}, PENG Chang-Lian^{1,2}, LIN Gui-Zhu¹¹Guangdong Key Laboratory of Digital Botanical Garden, South China Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510650, China; ²College of Life Science, South China Normal University, Guangzhou 510631, China

摘要 介绍黄体素的生物合成途径, 其在光合膜中的定位、生理功能及调控因子, 提高黄体素水平的基因工程研究与生产应用概况以及近年来对新发现的环氧化黄体素-黄体素循环在植物中的分布、运行动态与功能的初步研究进展, 并提出尚需深入研究的问题。

关键词 黄体素(lutein); 环氧化黄体素-黄体素循环(lutein epoxide-lutein cycle); 生物合成途径; 生理功能

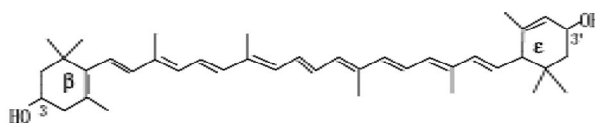
植物中的类胡萝卜素(carotenoid)是四十碳类异戊二烯多烯链化合物, 含有9~15个共轭双键(Hirschberg 2001)。类胡萝卜素广泛分布于绿藻和高等植物之中, 目前已鉴定了600多个天然存在的结构上不同的类胡萝卜素, 根据其结构差别区分为胡萝卜素类(主要是 α -、 β -、 γ -胡萝卜素和番茄红素)和叶黄素类[如紫黄质(violaxanthin, V)、花药黄质(antheraxanthin, A)、玉米黄质(zeaxanthin, Z)、新黄质(neoxanthin, N)和黄体素(lutein)]。前者仅由C和H原子组成, 后者至少含1个氧原子, 是 α -和 β -胡萝卜素的氧化衍生物(Pogson等1998; Rodrigo等2003)。

黄体素是类胡萝卜素家族中重要成员, 其含量可高达类胡萝卜素总量的50% (Pogson等1998)。“黄体素”一词从拉丁文“Luteus”而来。黄体素参与光系统色素蛋白复合物的组装, 并具有吸收、传递光能, 以及耗散过量激发能和抗氧化功能。从植物中提取的天然黄体素, 已用作人类营养品的添加剂, 具有延缓肺部老化、保护视网膜、减少白内障和夜盲症, 增加免疫功能, 降低乳腺癌与肺癌的风险等功能(Sommerburg等1998; Ribaya-mercado和Blumberg 2004; Tsao等2004)。因而对黄体素的研究引起了人们的广泛关注。近年来, 一些研究者曾提出植物中存在一个新的有别于已知的紫黄质-花药黄

素-玉米黄质循环的称之为环氧化黄体素-黄体素循环, 并对其特征与功能进行了初步研究(Bungard等1999; Matsubara等2001; Garcia-Plazaola等2003)。这将为进一步认识黄体素的新生理功能及其分子机理提供前提。本文对黄体素及环氧化黄体素-黄体素循环的生物合成途径、生理功能及其调节的研究进展作简要概述。

1 黄体素分子结构与生物合成途径

黄体素[(3R, 3'R)- β , ϵ -carotene-3, 3'-diol]是二羟基叶黄素, 分子式 $C_{40}H_{56}O_2$, 是玉米黄质的一种同分异构体。分子结构如下:



黄体素与玉米黄质的区别在于玉米黄质的结构两端为2个 β -环, 且 β -环上的羟基呈手性形式, 玉米黄质有11个共轭双键, 其前体是 β -胡萝卜素。黄体素的前体则是 α -胡萝卜素, 其2个羟基分别位于分子结构两端的 β -环和 ϵ -环上, 不成

收稿 2005-12-22 修定 2006-04-28

资助 国家自然科学基金(30270125)、广东省自然科学基金(04002309)和中国科学院知识创新前沿领域项目(Kscxz-sw-130)。

*E-mail: linzhif@scib.ac.cn, Tel: 020-37252995

手性形式, 分子结构中只有10个共轭双键 (Rodrigo等2003; Tian等2004)。

在吸收光谱中, 黄体素的吸收峰分别为446和474 nm, 而玉米黄质的吸收峰为436和458 nm (Suzuk和Shioi 2004)。也有人报道黄体素的吸收峰是421、445和474 nm, 玉米黄质的吸收峰在428、450和478 nm (Rodrigo等2003)。类胡萝卜素在质体叶绿体和有色体中合成, 其生物合成的酶类为核编码 (Taylor和Ramsay 2005)。质体膜中类胡萝卜素生物合成酶是一种多酶复合物 (Bonk等1997)。从番茄红素经过环化和羟基化作用合成黄体素的途径如图1所示 (Rodrigo等2003; Inoue 2004; Fraser等2002)。

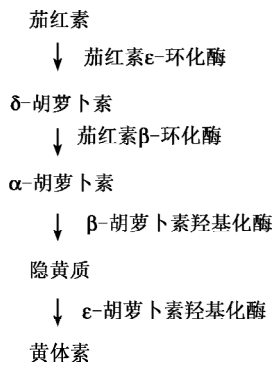


图1 植物黄体素的生物合成途径

从生物合成途径图及上述黄体素的结构式可见, 茄红素转化为黄体素的前体 α -胡萝卜素由2个环化酶催化, 接着再经2个不同的胡萝卜素羟基化酶分别将羟基引入2个紫罗酮环的3C或3'C位置。这类羟基化反应具立体专一性, β -环有一个双键与多烯键共轭, 限制多烯链与之处在同一平面上, ϵ -环的双键未与多烯链共轭, 在C6'-C7'有相对自由的旋转性 (Cunningham和Gantt 1998)。

β -和 ϵ -环化酶皆由相关的单复制基因编码, 而 β -羟基化酶是非血红素的二铁酶, 其呈现活性需要氧、铁氧还素。 β -羟基化酶已得到克隆和表征, ϵ -羟基化酶仅在遗传学上给予了界定, 其同系物也在单子叶水稻和双子叶植物的数据库中被鉴定, 表明其可广泛分布于植物界中。近年来已发现, ϵ -羟基化酶是与已知的 β -羟基化酶不同的一种细胞色素P450型的单氧合酶 (Inoue 2004; Tian

和DellaPenna 2004), 但迄今仍未进行克隆 (Taylor和Ramsay 2005)。研究 ϵ -羟基化酶和 β -羟基化酶结构差别的结果表明这2种酶可能有不同的进化起源 (Inoue 2004), 至于具体的进化源头仍不清楚。

2 黄体素的分布与在光合膜上的定位

绿藻和高等植物中主要的类胡萝卜素是黄体素、 β -胡萝卜素、紫黄质、新黄质, 以黄体素的含量最多且是藻类和高等植物进化中保守的组分。Sommerburg等(1998)分析33种果实和蔬菜的黄体素和玉米黄质含量的结果表明, 黄体素在一些深绿色的叶菜如菠菜、西兰花、芥菜和黄色的玉米, 及猕猴桃和葡萄果实中含量很高。而万寿菊(或称金盏花, *Tagetes erecta* L)的花中所含的黄体素最高 (Tsao等2004)。在叶绿体中, 紫黄质、黄体素、新黄质等叶黄素组分主要存在于光系统的捕光色素复合物中。对菠菜LHCII晶体结构的研究已证明光系统II的捕光色素蛋白复合物LHCII的每个单体含8个叶绿素a、6个叶绿素b、3个类胡萝卜素(2个黄体素和1个新黄质), 此两个黄体素分子与LHCII中心的6个叶绿素a分子结合 (Liu等2004)。定点突变和体外重组研究发现黄体素主要定位于LHCII的三聚体LHCIIb上, 而在CP47、CP43以及小分子天线复合物CP29和光系统I的LHCI中皆有分布。Chl a/b蛋白复合物中通常有2个黄体素结合位点, 第1个位点 L_1 为黄体素占据, 第2个位点 L_2 可结合新黄质或紫黄质 (Jahns等2001; Bassi等1999)。

3 黄体素的生理功能

3.1 黄体素参与天线色素蛋白复合物的组装以及稳定捕光叶绿素蛋白复合物的结构

由于黄体素的高含量及其比其他叶黄素和胡萝卜素的相对稳定性, 因而在光系统的捕光色素蛋白复合物的组装、结构与功能的稳定性中起着重要的作用。LHCII的基本结构和功能单位是三聚体, 在LHCII结构中, 2个分子的黄体素的 β -环朝向类囊体腔的表面, ϵ -环则朝向叶绿体基质的表面。黄体素的多烯链牢固地固定于叶绿素分子超螺旋的两端, 连接A与B螺旋, 使LHCII折叠成为稳定的复合物 (Liu等2004)。Ruban等(1999)报道LHCII上不同色素分子的相对结合强度是叶绿素b>新黄质>叶

绿素 a>黄体素>玉米黄质>紫黄质。即黄体素比玉米黄质和紫黄质更牢固结合于 LHCII 上。缺失黄体素的拟南芥突变体 *lut₁* 和 *lut₂* 由于黄体素的生物合成受到干扰而改变 LHC 的结构, 从而降低了 LHCII 三聚体的稳定性, 不能在环境条件改变时像有黄体素存在的 LHC 那样迅速而有效地起调节与保护的应答作用 (Lokstein 等 2002)。研究 LHCIIb 与黄体素、紫黄质、新黄质体外重组后的热稳定性、对蛋白酶水解作用的稳定性以及与 LHCIIb 上位点亲和力的结果证明, 黄体素-LHCIIb 均优于紫黄质-LHCIIb 与新黄质-LHCIIb (Hobe 等 2000)。

3.2 黄体素为吸收光能的辅助色素 与其他类胡萝卜素分子的功能相似, 黄体素可以吸收可见光谱中叶绿素不能很好吸收的光能, 起着有效的辅助光能捕获的天线功能, 吸收蓝光作为 Chl a/b 在红区吸收的补充, 并调节光能传递到叶绿素和从叶绿素传递的能流 (Liu 等 2004; Frank 和 Brudvig 2004)。一般认为黄体素吸收的光能传递给叶绿素 b, 黄体素和叶绿素 b 的含量之间有线性相关性 (Biswell 1995)。但 Eggink 等 (2001) 对叶绿素与 Lhcb1 的模式研究认为色素蛋白复合体核心的叶绿素 a 与黄体素分子相靠近。Gradinaru 等 (2000) 测定 LHCII 超快能量转移动力学的结果表明, 黄体素可完全将激发态转移给叶绿素 a 而不是叶绿素 b。黄体素的吸能与传能的功能是由于其激发单线态能量比叶绿素和 O₂ 高, 而三线态能量低于叶绿素和 O₂ 之故 (Frank 和 Brudvig 2004)。

3.3 黄体素耗散过量激发能, 防御光破坏 将过量吸收的光能以非辐射形式耗散是植物在强光下防御光破坏的一种重要策略。Gilmore (1997) 认为, 任何叶黄素结构中的全反式多烯链含有 10 个以上的共轭双键并带有 1 个 β-环去环氧化末端基团和 1 个羟基者, 均可导致叶绿素结合蛋白构象的变化而发展非辐射能量的热耗散。这类叶黄素分子包括玉米黄质、花药黄质和黄体素等。不少研究证明黄体素与玉米黄质一样可直接或间接介导非光化学猝灭 (non-photochemical quenching, NPQ) 的快速诱导, 耗散过量吸收的光能, 防止叶绿体受光氧化伤害 (Niyogi 等 1997)。NPQ 与黄体素含量 [mmol·mol⁻¹ (Chl)] 呈相关性, $r^2=0.87$ (Eggink 等 2001)。缺乏黄体素的突变体如 *lut₂* 中没有茄红素

环化酶, 不能合成 α-胡萝卜素和黄体素, 其 PSII 捕光天线变小 (Polle 等 2001)。这种突变体受强光照射后, NPQ 的诱导增高明显滞后出现且水平较低 (Pogson 等 1998; 彭长连和林桂珠 2003)。目前对黄体素直接或间接介导 NPQ 的诱导, 有 2 种不同的观点: 认为黄体素起间接作用者的依据是缺乏黄体素后的突变体的 PSII 天线也平行地变小, 天线失去黄体素将改变 LHC 的结构, 影响其在光下的质子化诱导构象变化, 从而减少光能猝灭, 故黄体素可能不是直接包含于能量猝灭的机制中 (Lokstein 等 2002); 另一种黄体素直接参与过量光能耗散的观点则认为黄体素的激发 S₁ 能态与叶绿素激发态光谱有重叠, 黄体素的光物理能力和其所处的位点是猝灭单线态叶绿素 Chl¹ 之需, 故可作为一种能量的猝灭剂 (Frank 等 1994)。

3.4 黄体素清除自由基和抗氧化作用 有机体的抗氧化防御系统是由一些酶类和非酶类抗氧化剂组成的复杂网络。在一些体外模式系统的研究中, 已证明黄体素具有猝灭单线态氧 ¹O₂ 和清除自由基、起抗氧化剂的功能。Cantrell (2003) 用模式膜系统 (DPPC 脂质体) 的研究指出黄体素猝灭 ¹O₂ 的速率常数是 $1.1 \times 10^8 \text{ m}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ 。Iannone 等 (1998) 用电子自旋波谱技术首次证明黄体素可清除过氧自由基, 防止脂质过氧化。Mortensen 等 (1997) 以脂质体为模式膜系统利用脉冲辐射作用研究几种类胡萝卜素, 包括茄红素、玉米黄质、黄体素和虾青素 (astaxanthin) 等清除 NO₂·, thiyl (RS·) 和 sulphonyl (RSO₂·) 的速率及作用机制, 结果表明这几种类胡萝卜皆具有清除上述 3 种自由基的功能, 其清除自由基的速率常数为 10⁷~10⁹ m⁻¹·s⁻¹ 之间。对几种自由基清除作用的顺序是 HO(CH₂)₂S·>RSO₂·>RS·>NO₂·, 而清除能力则是茄红素比叶黄素类 (黄体素和玉米黄质) 更有效。黄体素等类胡萝卜素与 NO₂· 的反应是通过电子传递产生类胡萝卜素阳离子自由基 (Car⁺); 与 thiyl (RS·) 反应则形成自由基加合物 (RS-Car)·; 而清除 RSO₂· 自由基是通过加合作用和电子抽取作用两种机制。用激光闪光光解后测定氯仿溶液中类胡萝卜素阳离子自由基和生育酚自由基的相对稳定性的时间动态结果也指出, 抗氧化剂的抗氧化性排序是: α-生育酚>茄红素>β-生育酚>γ-生育酚>β-胡萝卜素>玉米黄

质>黄体素(Mortensen和Skibsted 1997a)。经4 000 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-2}$ 强光射的盐藻中, β -、 δ -和 γ -胡萝卜素的氧化降解比叶黄素更快, 黄体素在此条件下最为稳定(Young和Britton 1990)。

不同类胡萝卜素的分子结构影响其清除自由基反应的能力。茄红素和 β -胡萝卜素是碳氢化合物类, 其抗氧化性大于含羟基的叶黄素类如玉米黄质和黄体素; 而含羰基的斑蝥黄等对酚类自由基等的清除能力最弱, 因为其结构中4和4'位置上的氢原子为羰基取代引起电子供体作用下降(Mortensen和Skibsted 1997b)。抗氧化剂的抗氧化能力与其分子中的共轭双键数目有关, 因为共轭双键可接受电子而形成稳定的共振结构, 同时也取决于浓度。黄体素与茄红素两者的浓度为20 $\text{mmol}\cdot\text{mol}^{-1}$ 时的抗氧化活性之间差别不大, 浓度为40 $\text{mmol}\cdot\text{mol}^{-1}$ 时, 黄体素的抗氧化活性低于茄红素(Viljanen等2002)。关于类胡萝卜素抗光氧化损伤的作用及黄体素与其他类胡萝卜素之间抗氧化能力的比较, Stahl和Sies (2005)认为有2种防御方式, 一是作为伤害性蓝光的过滤器, 另一种方式是猝灭激发的三线态或单线态氧和清除活性氧。在多层或单层的脂质体中, 黄体素和玉米黄质与茄红素和 β -胡萝卜素之间抗氧化性排序不同。单层脂质体中叶黄素类可以较高的数量渗入脂质膜中, 故其过滤蓝光的效应超过茄红素和 β -胡萝卜素。Wójtowicz和Gruszecki (1995)应用超声吸收技术研究黄体素和紫黄质, β -胡萝卜素对二棕榈酰卵磷脂脂质体结构特性的影响时发现, 极性较大的黄体素能显著增强脂组分相变过程中与能量消耗有关的超声吸收。最近, 我们用电子顺磁共振波谱结合生物化学方法测定的研究也获得了黄体素可清除 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 和 $\text{OH}\cdot$ 及猝灭 $^1\text{O}_2$ 的证据, 并认为黄体素清除 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 和 $\text{OH}\cdot$ 的能力高于 β -胡萝卜素(待发表资料)。Stahl等(1998)及Stahl和Sies (2005)先后皆以抑制硫代巴比妥酸反应产物形成的百分比来检验脂质体中几种类胡萝卜素抗氧化剂的抗氧化能力, 证明在相同的浓度下不同抗氧化剂的混合物比单一化合物更有效, 尤以茄红素与黄体素之间的协同抑制脂质过氧化的效应最显著。

然而, Chen和Djuric (2001)对于类胡萝卜素是否可防止脂质过氧化作用持有不同的观点。他

们用脂质体的实验表明 β -胡萝卜素、黄体素和玉米黄质可清除由2, 2'-偶氮(2-脒基丙烷)二氯化物产生的自由基, 其能力随 O_2 浓度提高而增大, 但却不能防止脂质过氧化。

4 影响黄体素水平的因子

植物中黄体素的含量取决于自身遗传特性、生长发育状况和外界环境因子的变化。成年的欧洲山毛榉树冠叶片的黄体素含量高于幼苗的叶片(Weiser等2003)。栎属植物(*Quercus ilex*)的成熟叶中黄体素含量明显高于新生嫩叶, 树木经火烧后重新长出的嫩叶中的黄体素含量更低(Llorens等2002)。萝卜(*Raphanus sativus*)子叶衰老时, 黄体素含量只略有变化, 玉米黄质含量则降低(Suzuk和Shioi 2004)。小麦旗叶衰老过程中, 开花后20 d的黄体素含量显著增高, 28 d时增至20 d时的2.01倍(Lu等2001)。而黄莲木属(*Pistacia lentiscus*)植物叶片的黄体素含量在衰老前期恒定, 衰老后期降低35%, 表明其在衰老前期起保护作用, 维持叶绿体的功能, 衰老后期则失去抗氧化能力, 胞内出现氧化逆境(Munné-bosch和Peñuelas 2003)。

冬季的2种生长于沙漠的丝兰属(*Yucca*)植物叶片中的黄体素含量比春季和夏季的高, 生于东南面的叶片的黄体素含量略高于西北面的叶片(Barker等2002)。这种季节性变化规律也见于3种针叶树(Adams和Demming-Adams 1994)和栎树中(Garcia-Plazaola等1999), 冬季时针叶树中 α -胡萝卜素含量降低可能由于黄体素的合成增加之故。

光对类胡萝卜素合成的影响受光敏色素和紫外-蓝光受体所介导(Biswell 1995), 光可调节黄体素库的大小。阴生性植物含有较多的黄体素(占总类胡萝卜素的48%~51%)和 α -类胡萝卜素(占总类胡萝卜素的9%~13%), 阳生性叶的黄体素占总类胡萝卜素的35%~45%, 且大多没有或只有少量的 α -类胡萝卜素(Demming-Adams和Adams 1992), 推测阴生叶中较高的黄体素浓度是由于具有大的捕光天线之故(Matsubara等2001)。高光照下许多植物的总叶黄素含量增高而黄体素/(紫黄质+花药黄质+玉米黄质)比值降低, 弱光下则反之(Hirschberg 2001)。将浮萍培养于不同光强下, 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 光强下生长的黄体素含量比在较高光强(500 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)下高出约15%, 黄体素/(紫

黄质+花药黄质+玉米黄质)的比值也较高;进一步将不同光强下生长的浮萍用 $1\ 000\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 高光强照射4 h, 黄体素含量增高11%~16%, 但因紫黄质+花药黄质+玉米黄质总量的增加快于黄体素而使实际的比值下降(Garcia-Plazaola等2002a)。

水分逆境对黄体素含量的影响有3种不同的结论。Gamble和Mullet (1986)将黑暗下生长的小麦作脱水处理, 黄体素+玉米黄质的含量没有变化, 紫黄质、花药黄质、新黄质的含量皆下降。Alamillo和Bartels (2001)将*Craterostigma plantagineum*整株或离体叶在空气中干燥, 脱水叶的黄体素含量降低47%, 紫黄质和新黄质下降45%和67%, 花药黄质和玉米黄质分别上升29%和34%。对1种薰衣草属植物(*Lavandula stoechas*)叶片的试验也表明夏天干旱引起黄体素含量下降, 秋天降雨后则回升(Munné-Bosch和Alegre 2000)。但是墨西哥多云森林中的几种附生性蕨类植物经干旱处理后照光, β -类胡萝卜素和黄体素迅速增多, 去环氧化状态高达0.70。Tausz等(2001)认为这种变化可能与附生性的生活型有关。

黄体素的含量也受到供氮水平和 CO_2 浓度的制约。 $1\ 000\ \mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ CO_2 浓度下生长的烟草的黄体素降至 CO_2 浓度为 $330\ \mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ 的77%~81%(Pospisilva等1999)。葡萄和苹果的黄体素含量随氮营养水平增高而降低(Pogson等1998; Chen和Cheng 2003)。

5 新的叶黄素循环(环氧化黄体素-黄体素循环)

Rabinowitch等(1975)报道环氧化黄体素-黄体素循环作为辅助性的叶黄素循环最初是在绿色番茄果实中发现。随后, Bungard等(1999)从2种寄生

植物——菟丝子(*Cuscuta reflexa*)和桫寄生植物(*Amyema miquelii*)的光合器中发现了此新的叶黄素循环。这些桫寄生植物的叶绿体主要捕光色素蛋白复合物——LHCIIb中缺乏新黄质而代之出现的是环氧化黄体素, 其数量约占总结合的类胡萝卜素的24%, 与菠菜LHCIIb的新黄质所占的比例相同; 但菟丝子的LHCIIb吸收光谱中有1个490 nm吸收峰, 与菠菜不同。纯环氧化黄体素的吸收光谱中有3个峰: 417、440和469 nm (Matsubara等2001), 环氧化黄体素的分子结构式及环氧化黄体素 \rightleftharpoons 黄体素循环的转化如下所示(Goss 2003; Matsubara等2003) (图2)。

光下, 环氧化黄体素去环氧化而转化为黄体素, 暗下则环氧化返回环氧化黄体素。近年来Matsubara等(2001, 2003)、Llorens等(2002)和Garcia-plazaola等(2002a, 2002b, 2003, 2004)相继对此新循环的运行状态、功能和在植物中的分布进行了研究, 发现此循环也在部分非寄生植物中存在。

5.1 具环氧化黄体素-黄体素循环的植物种类和器官

已发现的具环氧化黄体素-黄体素循环的植物种类和器官有: (1) 寄生植物如桫寄生、菟丝子、无根藤(*Cassytha filiformis* L.)的光合组织中(Matsubara等2003)。(2) 非寄生植物叶片和有色体: 栎属(*Quercus*)中的7个树种叶片中环氧化黄体素含量在5.69~8.28 环氧化黄体素/叶绿素之间(Garcia-plazaola等2002b), 环氧化黄体素含量是以叶绿素为计算单位。音加属(*Inga* sp)植物的阴生叶片富含环氧化黄体素(Matsubara等2004)。一些植物的种子、花和果实中如尖叶木兰(*Magnolia*

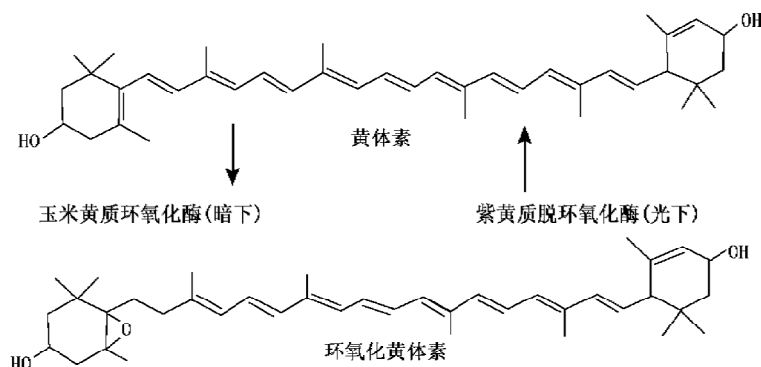


图2 环氧化黄体素-黄体素循环

auminata)的花、番茄果实、菟丝子的种子也含有环氧化黄体素。(3)非寄生木本植物的营养芽:分析49科130种木本植物的营养芽和胚性叶中,环氧化黄体素的含量 $>1\text{mmol}\cdot\text{mol}^{-1}$ (Chl)的植物占总试验植物数的59%。在裸子植物和一些基础的被子植物类群中都有环氧化黄体素,表明环氧化黄体素环是存在很久的祖先遗传特征,在进化过程中一些科属已丧失此特征(Garcia-plazaola等2004)。(4)地衣:Czeczuga等(1996)报道在喜马拉雅山(Himalayas)不同地区的一些长寿命和耐光逆境的地衣的类胡萝卜素中含有环氧化黄体素。

5.2 环氧化黄体素-黄体素循环的生理功能与运行动态 目前对于决定环氧化黄体素-黄体素循环存在或缺乏的因子和机制及其生理功能仍然了解不多。Bungard等(1999)认为在菟丝子中,与叶黄素环一样,此个环包含着光驱动的快速和可逆的环氧化黄体素去环氧化作用生成黄体素,并随之增加共轭的碳双键数目及影响极性,使其在反相HPLC分析时有较长的保留时间。环氧化黄体素取代新黄质并不影响LHCIIb的结构,且环氧化黄体素在菟丝子中的累积可能反映当 β -胡萝卜素衍生的新黄质受到限制时,从 α -胡萝卜素衍生环氧化黄体素的补偿性合成增加。关于环氧化黄体素环的功能已有人提出其参与光保护的假设,因为光下环氧化黄体素去环氧化与 Δ NPQ和 F_v/F_m 相关,环氧化黄体素与 Δ NPQ的 r 值为0.786 ($p < 0.001$)。暗适应的叶片中环氧化黄体素/紫黄质比值达到 $0.572 \sim 0.80$;以 $1\ 000\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 高光强照射时,环氧化黄体素和紫黄质同时下降,其下降的速率相似,表明2个循环(玉米黄质循环与环氧化黄体素循环)同时平行地运行,环氧化黄体素循环可单独用于过剩激发能的耗散(Llorens等2002; Garcia-plazaola等2003)。光下环氧化黄体素消失时,黄体素含量增高,环氧化黄体素+黄体素库净增加10%, α -和 β -胡萝卜素分别提高14%和18%,玉米黄质环库则净增加24%。这些结果说明光抑制诱导类胡萝卜素的从头合成,从而可为林下的阴生叶在强光斑出现时提供一种对过量光能进行耗散,起光保护作用的机制(Garcia-Plazaola等2002a, 2002b, 2003)。Matsubara等(2004)报告木本豆科音加属植物阴生叶在林下出现第1次光斑

时,紫黄质尚未转化为花药黄质与玉米黄质,而NPQ已起动,环氧化黄体素循环在此类光适应中可作为一种原初光保护机制将有效捕获光能的天线转变为有效的激发能耗散中心。

光下环氧化黄体素循环和已知的玉米黄质循环平行运转,说明其受同一机制所调节,同1个紫黄质去环氧化酶催化此两个反应。但环氧化黄体素循环的重新环氧化比玉米黄质循环慢。暗下2h,玉米黄质循环已将在光下转化为花药黄质与玉米黄质的49%含量重新环氧化为紫黄质,而环氧化黄体素库则未有回复为黄体素的迹象。环氧化黄体素的环氧化恢复的持续时间需超过5h,这可能是光下转化的黄体素比玉米黄质更牢固地结合于叶绿素-蛋白复合物上,也可能是催化环氧化黄体素和玉米黄质的玉米黄质环氧化酶的特性有所不同。阴生叶中的环氧化黄体素含量高于阳生叶,夏季的叶片中的环氧化黄体素高于冬季,反映阴生叶及夏季条件下 α -型的叶黄素合成途径占优势。环境胁迫导致环氧化黄体素下降,低温下1d,环氧化黄体素减少与紫黄质去环氧化作用平行;7d后,环氧化黄体素在清晨时含量极低,而保留的黄体素含量最高,推测早上高含量的黄体素可与保留的玉米黄质一起使光合机构在冬天早上低温高光条件下仍能保持必要的能量耗散作用(Garcia-Plazaola等2002a, b)。值得注意的是,尽管一些植物叶中有明显的环氧化黄体素积累,但其数值仍明显低于黄体素,表明仅有少量的黄体素参与环氧化黄体素-黄体素循环之中,这可能是因为大量的黄体素是结合于捕光色素蛋白骨架中而难以与叶黄素循环酶类接触之故。将限制黄体素合成的限速酶 ϵ -环化酶过量表达虽可形成额外的30%黄体素并减少紫黄质含量,但环氧化黄体素仍无明显增加,可见环氧化黄体素循环以及环氧化黄体素-玉米黄质循环之间的平衡与环氧化黄体素浓度没有密切关系(Llorens等2002; Garcia-Plazaola等2002a, 2002b)。

5.3 紫黄质去环氧化酶和玉米黄质环氧化酶参与催化环氧化黄体素-黄体素循环 其部分证据有:(1)紫黄质去环氧化酶活性抑制剂——二硫苏糖醇(dithiothreitol)可以完全抑制紫黄质和环氧化黄体素的光下去环氧化反应,表明同一酶催化2种反应

(Goss 2003)。(2) 菠菜的紫黄质去环氧化酶可将环氧化黄体素快速去环氧化形成黄体素, 其速率稍高于紫黄质→花药黄质, 而低于花药黄质→玉米黄质。这与底物的极性有关, 随底物的极性下降, 去环氧化速率提高(Bungard 等 1999)。生菜的紫黄质去环氧化酶也可将环氧化黄体素转化为黄体素(Yamamoto和Higashi 1978)。(3) 环氧化黄体素→黄体素与紫黄质→花药黄质+玉米黄质平行, 速率相同。(4) 环氧化黄体素和紫黄质的日变化和季节时间进程动态不同, 光照后黑暗下逆反应的程度和速率不同, 意味着2个循环运行共有的玉米黄质去环氧化酶对玉米黄质和花药黄质与黄体素有不同的亲和性。(5) 玉米黄质环氧化酶的突变导致其底物专一性改变或存在2个具有不同特性的玉米黄质去环氧化酶皆可介导环氧化黄体素的形成。因此, 2个叶黄素循环可共用1个紫黄质去环氧化酶和2个玉米黄质去环氧化酶。但这些结果均是从零散的工作中得到的初步结论, 尚需从生化和分子水平进一步加以确证。

5.4 提高黄体素水平的基因工程和黄体素的生产应用 用基因工程作分子改良而提高黄体素水平的尝试只见到少数例子。如在番茄中转导一个附加的来自细菌的类胡萝卜素生物合成限速酶——八氢番茄红素合成酶(phytoene synthase) *crtB*基因后, 表达植株果实中的黄体素水平提高2.2倍(Fraser等 2002)。转番茄红素 ϵ -环化酶基因*Lcy-e*的过量表达导致产生高浓度的黄体素(Pogson和Rissler 2000)。马铃薯转编码八氢番茄红素合成酶的*CrtB*基因可使2个品种的马铃薯块茎中类胡萝卜素含量分别提高2.9和5.3倍, 黄体素提高18倍(Ducieux等 2005)。

目前国内外大多用万寿菊的花作为提纯生产黄体素的商业原材料。万寿菊的花中约含0.6%~2.5% (DW) 叶黄素, 总叶黄素中88%~92%是黄体素和玉米黄质, 黄体素占绝对优势, 以肉豆蔻酸和棕榈酸二酯的形式存在(Tsao等 2004)。美国的凯明食品公司首先发明生产黄体素的新工艺, 其产品于1995年已为美国食品与药物管理局(FDA)批准作为食品补充剂。加拿大的伊普瑞斯科技有限公司和瑞士罗氏公司等也有类似的产品出售。

德国学者从小球藻(*Chlorella protothecoides*)中提取黄体素, 每克干重的细胞可获得4.43 mg 黄体素和0.94 mg β -胡萝卜素(Shi和Chen 1999)。上海交通大学农业与生物学院也开发了黄体素的提取技术。内蒙古和云南已建立大面积的万寿菊种植基地。多家公司如广州立达尔生物科技有限公司、青岛英特生物科技有限公司、成都枫澜科技有限公司、邯郸中进天然色素有限公司等皆经销黄体素产品用于食品、化妆品、医疗保健品和饲料添加剂中。李以民和田卫群(2002)试验了在卷烟制作时添加0.05%~0.50%的黄体素或 β -胡萝卜素, 结果使焦油中的电子自旋共振波谱(ESR)的自由基峰高降低5.76%~12.95%, 表明此两种胡萝卜素均有清除焦油中的自由基的效应。

6 结语

目前植物中黄体素及环氧化黄体素的研究仍缺少专门而且系统性的工作。以上提到的不少结果皆是从一些对类胡萝卜素的研究中收录的, 而欲深入了解叶绿体中占优势的类胡萝卜素——黄体素的生物合成, 其精确定位、生理功能及从基因水平和环境条件的精细调控, 尚需持续做大量系统的研究。其中尤为重要是从茄红素分支分别合成 α -胡萝卜素(黄体素的前体)及 β -胡萝卜素(玉米黄质的前体)之间的平衡关系的分子调控机制的研究; ϵ -环化酶和 β -环化酶基因结构的差别; ϵ -羟化酶独立进化的源头是什么? 黄体素与紫黄质、玉米黄质、新黄质在叶绿体中的精确位点与这几个色素对3个结合位点亲和力的差别及可替代性; 黄体素参与NPQ的机制以及与玉米黄质的区别等都应深入探讨。我们研究低温高光处理缺失黄体素的拟南芥突变体*lut₂*的结果表明, 极端逆境条件下黄体素的光保护作用比叶黄素循环更重要(Peng和Gilmore 2003)。黄体素在极端环境下的这种光保护作用是否属于一种光合保护机制的补偿作用, 也尚待进一步研究。

新的环氧化黄体素-黄体素循环正成为研究的热点, 更多的问题如生物合成环氧化黄体素途径, 玉米黄质去环氧化酶的突变是否导致存在2个叶黄素循环的原因? 调控环氧化黄体素产生的步骤与选择压是什么? 调控环氧化黄体素循环和玉米黄质循环之间平衡的机制是什么? 植物中环氧化黄体

素循环的存在是否有区系分布和系统进化特征? 环氧化黄体素是否是一些深度阴生或寄生植物特有的? 这些也应进一步研究。相信采用体外重组和利用相关突变体从生化和分子水平上进行分析, 将会得到更多的新进展。

参考文献

- 李以民, 田卫群 (2000). 类胡萝卜素清除焦油中自由基的研究. 烟草科技, 8: 22~23
- 彭长连, 林桂珠 (2003). 拟南芥叶黄素缺乏突变体荧光猝灭的特性. 生物化学与生物物理进展, 30 (2): 251~256
- Adams III WW, Demming-Adams B (1994). Carotenoid composition and down regulation of photosystem II in three conifer species during the winter. *Physiol Plant*, 92: 451~458
- Alamillo JM, Bartels D (2001). Effects of desiccation on photosynthesis pigments and the ELIR like dsp 22 protein complexes in the resurrection plant *Craterostigma plantagineum*. *Plant Sci*, 160: 1161~1170
- Barker DH, Adams III WW, Demming-Adams B, Logan BA, Verhoeven AS, Smith SD (2002). Nocturnally retained zeaxanthin does not remain engaged in a state primed for energy dissipation during the summer in two *Yucca* species growing in the Mojave desert. *Plant Cell Environ*, 25: 95~103
- Bassi R, Crace R, Cugini D, Sandona D (1999). Mutational analysis of a higher plant antenna protein provides identification of chromophores bound into multiple sites. *Proc Natl Acad Sci USA*, 96 (18): 10056~10061
- Biswell B (1995). Carotenoid catabolism during leaf senescence and its control by light. *J Biochem Phytochem*, 30: 3~13
- Bonk M, Hoffmann B, Vonlintig J, Schled M, Albabili S, Hobeika E, Kleinig H, Beyer P (1997). Chloroplast import of four carotenoid biosynthetic enzymes *in vitro* reveals differential fates prior to membrane binding and oligomeric assembly. *Eur J Biochem*, 247 (3): 942~950
- Bungard RA, Ruban AV, Hibberd JM, Press MC, Horton P, Scholes J (1999). Unusual carotenoid composition and a new type of xanthophyll cycle in plants. *Proc Natl Acad Sci USA*, 96: 1135~1139
- Cantrall A (2003). Singlet oxygen quenching by dietary carotenoids in a model membrane environment. *Arch Biochem Biophys*, 412 (1): 47~51
- Chen G, Djuric Z (2001). Carotenoids are degraded by free radicals but do not affect lipid peroxidation in unilamellar liposomes under different oxygen tensions. *FEBS Lett*, 505: 151~154
- Chen LS, Cheng L (2003). Both xanthophyll cycle-dependent thermal dissipation and the antioxidant system are up-regulated in grape (*Vitis labrusca* L. cv. Concord) leaves response to N limitation. *J Exp Bot*, 54 (390): 2165~2175
- Cunningham Jr FX, Gantt E (1998). Genes and enzymes of carotenoid biosynthesis in plants. *Annu Rev Plant Physiol Mol Biol*, 49: 557~583
- Czeczuga B, Obermayer W, Upreti DK, Sharma LR (1996). Carotenoids in lichens in various regions of the Himalayas. *J Hottori Bot Lab*, 80: 323~330
- Demming-Adams B, Adams III WW (1992). Carotenoid composition in sun and shade leaves of plants with different life forms. *Plant Cell Environ*, 15: 411~419
- Ducreux LJM, Morris WL, Hedley PE, Shepherd T, Davies HV, Millan S, Taylor MA (2005). Metabolic engineering of high carotenoid potato tubers containing enhanced levels of β -carotene and lutein. *J Exp Bot*, 56 (409): 81~89
- Eggink LL, Park H, Hooper JK (2001). The role of chlorophyll b in photosynthesis: hypothesis. *BMC Plant Biol*, 1: 2
- Frank HA, Brudvig GW (2004). Redox functions of carotenoids in photosynthesis. *Biochemistry*, 43 (27): 8607~8615
- Frank HA, Cua A, Chynwat V, Young A, Gosztola D, Wasielewski MR (1994). Photophysics of the carotenoids associated with the xanthophyll cycle in photosynthesis. *Photosynth Res*, 41 (3): 389~395
- Fraser PD, Romer S, Shipton CA, Mills PB, Kiano JW, Misawa N, Drake RG, Schuch W, Bramley PM (2002). Evaluation of transgenic tomato plants expressing an additional phytoene synthase in fruit-specific manner. *Proc Natl Acad Sci USA*, 99 (2): 1092~1097
- Gamble PE, Mullet JE (1986). Inhibition of carotenoid accumulation and abscisic acid biosynthesis in fluridone-treated dark-grown barley. *Eur J Biochem*, 160: 117~121
- Garcia-Plazaola JI, Artetxa V, Becerril JM (1999). Diurnal changes in antioxidant and carotenoid composition in the Mediterranean sclerophyll tree *Quercus ilex* (L.) during winter. *Plant Sci*, 143: 125~133
- Garcia-Plazaola JI, Hernández A, Artetxe V (2002a). Regulation of the xanthophyll cycle pool size in duckweed (*Lemna minor*) plants. *Physiol Plant*, 116: 121~126
- Garcia-Plazaola JI, Hernández A, Errasti E, Becerril JM (2002b). Occurrence and operation of lutein epoxide cycle in *Quercus* species. *Funct Plant Biol*, 29: 1075~1080
- Garcia-Plazaola JI, Hernández A, Olano JM, Becerril JM (2003). The operation of the lutein epoxide cycle correlates with energy dissipation. *Funct Plant Biol*, 30: 319~324
- Garcia-Plazaola JI, Hormaetxe K, Hernandez A, Olano JM, Becerril JM (2004). The lutein epoxide cycle in vegetative buds of woody plants. *Funct Plant Biol*, 31 (8): 815~823
- Gilmore AM (1997). Mechanistic aspects of xanthophylls cycle-dependent photoprotection in higher plant chloroplasts and leaves. *Physiol Plant*, 99 (1): 197~209
- Goss R (2003). Substrate specificity of the violaxanthin de-epoxidase of the primitive green alga *Mantoniella squamata* (Prasinophyceae). *Planta*, 217 (5): 801~812
- Gradinaru CC, van Stokkum IHM, Pascal AA, van Grondelle R, van Amerongen H (2000). Identifying the pathways of energy transfer between carotenoids and chlorophyll in LHCII and CP29. A multicolor, femtosecond pump-probe study. *J Phys Chem*, 104: 9330~9342
- Hirschberg J (2001). Carotenoid biosynthesis in flowering plants. *Curr Opin Plant Biol*, 4 (3): 210~218

- Hobe S, Niemeier H, Bender A, Paulsen H (2000). Carotenoid binding site in LHCIIb: relative affinities towards major xanthophylls of higher plants. *Eur J Biochem*, 267 (2): 616~624
- Iannone A, Rota C, Bergamini S, Tomasi A, Canfield LM (1998). Antioxidant activity of carotenoids: an electron-spin resonance study on β -carotene and lutein interaction with free radicals generation in a chemical system. *J Biochem Mol Toxicol*, 12 (5): 299~304
- Inoue K (2004). Carotenoid hydroxylation-P450 finally. *Trend Plant Sci*, 9 (11): 515~517
- Jahns P, Wehner A, Paulsen H, Hobe S (2001). De-epoxidation of violaxanthin after reconstitution into different carotenoid binding sites of eight-harvesting complex II. *J Biol Chem*, 276 (25): 22154~22159
- Liu ZF, Yan HC, Wang KB, Kuang TY, Zhang JP, Gui L, An XM, Chang WR (2004). Crystal structure of spinach major light-harvesting complex at 2.72Å resolution. *Nature*, 428: 287~292
- Llorens L, Aranda X, Abadia A, Fleck I (2002). Variations in *Quercus ilex* chloroplasts pigment content during summer stress: involvement in photoprotection according to principal component analysis. *Funct Plant Biol*, 29: 81~88
- Lokstein H, Tian L, Polle JEW, Dellapenna D (2002). Xanthophyll biosynthetic mutants of *Arabidopsis thaliana*: altered nonphotochemical quenching of chlorophyll fluorescence is due to changes in photosystem II antenna size and stability. *Biochim Biophys Acta*, 1553: 309~319
- Lu CM, Lu QT, Zhang JH, Kuang TY (2001). Characterization of photosynthetic pigment composition, photosystem II photochemistry and thermal energy dissipation during leaf senescence of wheat plants grown in the field. *J Exp Bot*, 52 (363): 1805~1810
- Matsubara S, Gilmore AM, Osmond CB (2001). Diurnal and acclimatory responses of violaxanthin and lutein epoxide in the Australian mistletoe *Amyema miquelii*. *Aust J Plant Physiol*, 28 (8): 793~800
- Matsubara S, Morosinotto T, Bassi R, Christian A-L, Fischer-Schliebs E, Lüttge V, Orthen B, Franco AC, Scarano FR, Förster B et al (2003). Occurrence of the lutein-epoxide cycle in mistletoes of the Loranthaceae and Viscaceae. *Planta*, 217 (6): 868~870
- Matsubara S, Naumann M, Martin R, Nichol C, Rascher V, Morosinotto T, Bassi R, Osmond B (2004). Slowly reversible de-epoxidation of lutein-epoxide in deep shade leaves of a tropical tree legume may "lock in" lutein-based photoprotection during acclimation to strong light. *J Exp Bot*, 56 (461): 461~468
- Mortensen A, Skibsted LH (1997a). Relation stability of carotenoid radical cations and homologue tocopheroxyl radicals. A real time kinetic study of antioxidant hierarchy. *FEBS Lett*, 417: 261~266
- Mortensen A, Skibsted LH (1997b). Importance of carotenoid structure in radical-scavenging reactions. *J Agr Food Chem*, 45: 2970~2977
- Mortensen A, Skibsted LH, Sampson J, Rice-Evans C, Fverett SA (1997). Comparative mechanisms and rates of free radical scavenging by carotenoid antioxidants. *FEBS Lett*, 418: 91~97
- Munné-Bosch S, Alegre L (2000). The xanthophyll cycle is induced by light irrespective of water status in field-grown lavender (*Lavandula stoechas*) plants. *Physiol Plant*, 108: 147~151
- Munné-Bosch S, Peñuelas J (2003). Photo- and antioxidative protection during summer leaf senescence in *Pistacia lentiscus* L. grown under Mediterranean field conditions. *Ann Bot*, 92: 385~391
- Niyogi KK, Björkman O, Grossman AR (1997). The role of specific xanthophylls in photoprotection. *Proc Natl Acad Sci USA*, 94: 14162~14167
- Peng CL, Gilmore AM (2003). Contrasting changes of photosystem II efficiency in *Arabidopsis* xanthophylls mutants at room as compared to low temperature under high light stress. *Photosynthetica*, 41 (2), 233~239
- Pogson BJ, Niyogi KK, Björkman O, Dellapenna D (1998). Altered xanthophyll composition adversely affect chlorophyll accumulation and nonphotochemical quenching in *Arabidopsis* mutants. *Proc Natl Acad Sci USA*, 95 (22): 13324~13329
- Pogson BJ, Rissler HM (2000). Genetic manipulation of carotenoid biosynthesis and photoprotection. *Phil Trans Roy Soc Lond B*, 355: 1395~1403
- Polle JEW, Niyogi KK, Melis A (2001). Absence of lutein, violaxanthin and neoxanthin affects the functional chlorophyll antenna size of photosystem II but not that of photosystem I in the green alga *Chlamydomonas reinhardtii*. *Plant Cell Physiol*, 42 (5): 482~491
- Pospishilva J, Synkova H, Haisel D, Catsky J, Wilhelmovs N, Sramek F (1999). Effect of elevated CO₂ concentration on acclimation of tobacco plantlets to *ex vitro* conditions. *J Exp Bot*, 50 (330): 119~126
- Rabinowitch HD, Budowski P, Kedar N (1975). Carotenoids and epoxide cycles in mature-green tomatoes. *Planta*, 122: 91~97
- Ribaya-mercado JD, Blumberg JB (2004). Lutein and zexanthin and their potential roles in disease prevention. *J Am Coll Nutr*, 23 (suppl 6): 567~587
- Rodrigo MJ, Marcos JF, Alférez F, Mallent MD, Zacarías L (2003). Characterization of Pinalate, a novel *Citrus sinensis* mutant with a fruit-specific alteration that results in yellow pigmentation and decreased ABA content. *J Exp Bot*, 54 (383): 727~738
- Ruban AV, Lee PJ, Wentworth M, Young AJ, Horton P (1999). Determination of the stoichiometry and strength of binding of xanthophylls to the photosystem II light harvesting complexes. *J Biol Chem*, 274 (15): 10458~10465
- Shi M, Chen F (1999). Production and rapid extraction of lutein and the other lipid-soluble pigments from *Chlorella protothecoides* grown under heterotrophic and mixotrophic conditions. *Nahrung Food*, 43 (2): 109~113

- Sommerburg O, Keunen JEE, Bird AC, van Kuijk FJGM (1998). Fruits and vegetable that are sources for lutein and zeaxanthin: the macula pigment in human eyes. *Br J Ophthalmol*, 82: 907~910
- Stahl W, Junghans A, de Boer B, Driomina ES, Briviba K, Sies H (1998). Carotenoid mixture protect multiamellar liposome against oxidative damage: synergistic effects of lycopene and lutein. *FEBS Lett*, 427 (2): 305~308
- Stahl W, Sies H (2005). Bioactivity and protective effects of natural carotenoids. *Biochim Biophys Acta*, 1740: 101~107
- Suzuk Y, Shioi Y (2004). Changes in chlorophyll and carotenoid contents in radish (*Raphanus sativus*) cotyledons show different time course during senescence. *Physiol Plant*, 122 (2): 291~296
- Tausz M, Hietz P, Briones O (2001). The significance of carotenoid and tocopherols in photoprotection of seven epiphytic fern species of a maxican cloud forest. *Aust J Plant Physiol*, 28 (8): 775~783
- Taylor M, Ramsay G (2005). Carotenoid biosynthesis in plant storage organs: recent advances and prospects for improving plant food quality. *Physiol Plant*, 124 (2): 143~151
- Tian L, DellaPenna D (2004). Progress in understanding the origin and functions of carotenoid hydroxylases in plants. *Arch Biochem Biophys*, 430: 22~29
- Tian L, Musetti V, Kim J, Magallanes-Lundback M, DellaPenna D (2004). The *Arabidopsis LUT1* locus encodes a member of the cytochrome P540 family that is required for carotenoid ϵ -ring hydroxylation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 101 (1): 402~407
- Tsao R, Young R, Young JC, Zhu H, Manolis T (2004). Separation of geometric isomers of native lutein diesters in marigold (*Tagetes erecta* L.) by high-performance liquid chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr*, 1045: 65~70
- Viljanen K, Sundberg S, Ohshima T, Heinonen M (2002). Carotenoid as antioxidant to prevent photooxidation. *Eur J Lipid Sci Tech*, 104 (6): 353~359
- Weiser G, Hecker K, Tausz M, Haberle KH, Grams TEE, Matyssek R (2003). The influence of microclimate and tree age on the defense capacity of European beech (*Fagus sylvatica* L.) against oxidative stress. *Ann For Sci*, 60: 131~135
- Wójtowicz K, Gruszecki WII (1995). effect of β -carotene, lutein and violaxanthin on structural properties of dipalmitoyl-phosphatidylcholine liosome as studied by ultrasound absorption technique. *J Biol Chem*, 270 (1): 73~80
- Yamamoto HY, Higashi RM (1978). Violaxanthin de-epoxidase Lipid composition and substrate specificity. *Arch Biochem Biophys*, 190: 514~522
- Young A, Britton G (1990). Photobleaching in the unicellular green alga *Dunaliella perva* 19/9. *Photosynth Res*, 25 (2): 129~136

Ö i É ù A i Ñ \$: M

第四十二卷 第三期 二〇〇六年六月

Ö i É ù A i Ñ \$: M

第四十二卷 第三期 二〇〇六年六月

Vol.42, No.3, 2006
2006μÚ42¾í μÚ3ÆÚ

Vol.42, No.3, 2006
2006μÚ42¾í μÚ3ÆÚ