

國立臺灣大學生物資源暨農學院園藝學系

碩士論文

Department of Horticulture

College of Bioresources and Agriculture

National Taiwan University

Master Thesis

環境因子對文心蘭光合作用及Rubisco活性之影響

Effects of Environmental Factors on Photosynthesis and
Rubisco Activity of *Oncidium* Gower Ramsey



呂毓真

Yu-Chen Lu

指導教授：張耀乾 博士、古森本 教授

Advisor : Dr. Yao-Chien Alex Chang

Prof. Maurice Sun-Ben Ku

中華民國99年6月

June, 2010

誌謝

本論文承蒙恩師 張耀乾博士和 古森本教授於修業期間的指導與鼓勵，使我在學業研究與處事上裨益良多，老師的邏輯思考及對試驗的悉心考量，都是我學習的目標。復蒙李金龍教授、林瑞松教授及陳駿季老師細心斧正，並於口試時提供寶貴建議，特置卷首，以表最誠摯之謝意。

感謝旭東蘭園蔡達銘夫婦對試驗上的協助及材料的提供，讓我每次都有球好壯壯的文心蘭可做試驗。感謝嘉義大學古老師實驗室的立婷、彥廷及其他夥伴們在酵素試驗上的指導及協助，你們的熱情化解我每次南下的不安與陌生，我只能說，南部人真是太可愛了。

真的很開心能成為花卉館的一份子，這是個美麗又溫馨的地方。謝謝親切又可愛的任伯，處理大小事務的韶好學姊，豪邁又關心著大家的小馬學姊，細心幫我改論文的佳盛學長，我的Licor入門師傅怡嘉學姊，帶我熟悉分析室的小范學姊，以及小么、欣怡、Pili、小猴、小賴、文秋、子瑄、昱均、紫維等助理學長姐在實驗上給予的幫助。另感謝求助中心Pipi大師，很有趣的小頤，以及兔兔、亞勛、江豪、文茹、小黑、佳奴、進學等學長姐在這段期間的照顧。感謝丁楨、雁子、思佑、TYA、慈柔、瑜家及一霖等學妹平時的協助與關心，你們真是可愛又貼心，現在是你們關鍵時刻，趕快衝吧!Go~

這兩年我的心再次青春洋溢，因為我遇到一群很棒的同學。感謝有肩膀又搞笑的老闆魚蛋，很細心且解救我脫離Ins鍵魔咒的老闆娘阿秉，很懂我又常一起瘋的同居人泡芙，好貼心又常餵我食物的couple小寶，可以安心講心底話的師妹大毛，有guts卻很優雅的同居人怡景，勇敢又堅強的馬麻蕙心，即將高飛的多功能寵物聿純，我們有專屬的語言，一同經歷了好多事，收藏了快樂及痛苦，這些都將成為生命中的養分。

感謝大學好友拱拱浩、緞怡及蟲子的加油打氣。感謝高中七姊妹的相挺。謝謝野天中壠第一家的小豬、京燕、小黃、大哥及十屆所有好友的支持及關心，雖然我們見面總是不停地在吃，哈~，但你們真的是我生命中非常重要的人，好愛你們!

謝謝最最最親愛的爸媽總支持我的決定，給我滿滿的關懷與愛，讓我身心俱疲時有個喘息的庇護所，如果說現在或未來我有一些成就，那都是因為你們。感謝哥哥、嫂嫂及姊姊對我的關心，也謝謝你們照顧這個家，讓我這妹妹可以在外安心打拼。最後，感謝幕後大功臣，司機兼助理，秘書兼伴遊的陳大俠、韋先生、臭倫、王力宏及Jackie哥(其實是同一個人)，謝謝你在這些年的陪伴與支持，及這兩年對試驗的大力相助，尤其常被我在奇怪的時間或極度不適合人的溫度下拖去做試驗，看來以後要對你好一點。

~僅以此論文獻給我最愛的家人和朋友們~

摘要(Abstract)

文心蘭(*Oncidium*)為台灣重要蘭花作物，其光合作用於夏季午間常有降低情況，溫度為主要的環境影響因子，然於生理層面的機制尚未釐清。本研究針對一年內環境因子(如光度、溫度及蒸氣壓差等)與文心蘭光合酵素的關係作進一步探討，以期找出環境因子、光合作用以及Rubisco酵素活性之間的關聯性。

本研究發現，一年中(2009年一月至十二月)文心蘭光合作用日變化可分為三種類型，一月及十二月的日變化為單一波峰，即光合作用在接近中午時達最高值；二月至六月及九月至十一月的日變化為雙峰類型，即光合作用在午間有午休現象(midday depression)，其中二月及三月下午的恢復情況良好；七月的光合作用有嚴重的午休現象，在下午沒有恢復。單一波峰類型發生於葉溫低於15°C時，光度為此類型光合作用的主要調節因子。三月份時，當葉溫超過33°C，蒸氣壓差超過3 kPa時，文心蘭淨光合作用明顯下降。七月份時，當葉溫超過40°C，蒸氣壓差超過3 kPa時，文心蘭淨光合作用下降至接近零。中午葉溫上升使蒸氣壓差增加，氣孔導度因而降低，可能因此限制了光合作用的進行。從二月份到七月份，文心蘭一日間淨光合作用開始下降點的葉溫由26.2°C提高至42.7°C，顯示文心蘭對溫度的反應受到季節改變而有馴化現象。從春季至夏季，文心蘭對熱的耐受性逐漸提高。

短時間的天氣改變即會對文心蘭光合作用產生影響，在夏季晴朗天氣條件下，文心蘭的光合作用午休現象劇烈，下午恢復情形不佳。陰天氣溫下降，有助於減緩午休現象，而光度會影響淨光合作用速率的高低。

測量上述三種光合作用類型的Rubisco的活化程度(% activation)日變化，發現光合作用日變化為單峰類型時，文心蘭Rubisco的活化程度日變化趨勢與光度變化成正比。光合作用日變化為雙峰類型時，文心蘭Rubisco活化程度一日內變化幅度不大，約維持在60%-70%左右。光合作用出現嚴重的午休現象，在下午沒有回復的情況下，Rubisco活化程度於6:00時約58%，

之後隨光度增加而逐漸上升，與淨光合作用速率同於8:00時達光期最高值。10:00之後葉溫上升至37 °C以上，Rubisco活化程度開始下降，葉溫於12:00時達40 °C，Rubisco活化程度降至51%，下午沒有恢復。

針對文心蘭Rubisco初始活性(initial activity)及活化狀態受光度影響的研究發現，這兩種特性隨光度之增加而提高。當光度由0 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 提高至600 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，Rubisco初始活性由12.7 $\mu\text{mol}\cdot\text{mg chl}^{-1}\cdot\text{hr}^{-1}$ 提升至18.2 $\mu\text{mol}\cdot\text{mg chl}^{-1}\cdot\text{hr}^{-1}$ ，Rubisco活化狀態從68%提高至92%，顯示在25 °C的環境及合宜光度範圍內，提高光度有助於提升Rubisco酵素活性。

在固定的生長條件下的研究發現，栽培於日夜溫35/30 °C的文心蘭植株，在光度為250 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，溫度30 °C以上之生長箱下所測得之淨光合作用速率、氣孔導度及Rubisco活化程度對熱的耐受性較15/13 °C及25/20 °C者為佳。栽培於15/13 °C及25/20 °C的文心蘭植株，淨光合作用速率及氣孔導度在葉溫達33 °C時明顯降低，Rubisco活性則於葉溫達39 °C時有下降現象。

綜上所述，在適當溫度條件下，光度可提高氣孔導度及Rubisco活性，進而提升光合作用速率。高溫逆境下，中午氣溫上升使蒸氣壓差增加，文心蘭氣孔導度因而降低，此為較早出現的生理反應；溫度持續升高可能進一步造成植株體內Rubisco活性下降，形成非氣孔限制因子。而植物在不同生長溫度下，體內光合作用酵素對熱的耐受性有所差異。對文心蘭產業而言，夏天高溫透過噴霧以降低氣溫與蒸氣壓差當可減少高溫對光合作用與生長所帶來的負面影響。

Abstract

Oncidium is an important floral crop in Taiwan. The photosynthesis of *Oncidium* in hot summer days exhibits midday depression (MD). Although previous reports demonstrated that high temperature is the main factor that resulted in MD in *Oncidium*, the underlying physiological mechanisms remain unclear. In this study, the effects of environmental factors throughout the year (January 2009 to December 2009) on Rubisco activity and photosynthesis in *Onc. Gower Ramsey* were investigated in order to determine their roles in relation to MD.

Three patterns of photosynthetic diurnal courses were observed in *Oncidium* throughout the year. A single-peaked pattern was observed in December and January, where net photosynthetic rate (P_n) reached its maximum around noon. In the two-peaked pattern which was observed from February through June and September through November, there were two peaks of P_n , one in morning and another one in the afternoon with a depression around noon. The third pattern was observed in July where the rates of photosynthesis were low and the MD was severe, and no recovery in P_n was found in the afternoon. One-peaked pattern occurred when leaf temperature (LT) was below 15 °C in the winter months, and light intensity was the main regulator for photosynthesis. When LT was above 33 °C and vapor pressure deficit (VPD) was over 3 kPa, P_n of *Oncidium* declined markedly. Net photosynthesis was minimal when LT reached 40 °C and VPD was over 3 kPa in July. The decline in leaf stomatal conductance (g_s) under high VPD due to high LT during midday appeared to limit photosynthesis. From February through July, the threshold LT for the occurrence of MD in *Oncidium* increased from 26.2 °C to 42.7 °C, indicating its capability to acclimate to the seasonal change in temperature. Thus, an adaptive response to heat stress was apparent from spring to summer.

Diurnal photosynthetic activity of *Oncidium* Gower Ramsey responded quickly to short-term weather changes. The photosynthesis of *Oncidium* exhibited a severe MD without recovery in the afternoon on hot sunny days in the summer. By contrast, the depression in photosynthesis was relieved by decreased temperatures in a cloudy day. Net photosynthesis was then largely dependent on light intensity.

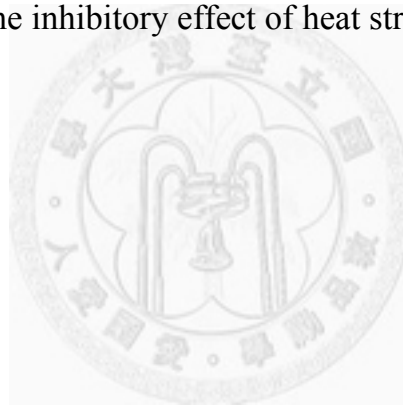
Diurnal change of Rubisco activation (% initial activity/total activity) in relation to the three daily photosynthetic patterns described above were also investigated. In the single-peaked pattern, diurnal change of Rubisco activation coincided with the change of light intensity; it increased from 68% at low light ($62 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) to 86% at high light ($419 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$). In the two-peaked pattern, Rubisco activation remained relatively unchanged at 60%-70% throughout the day. In the third pattern, where MD of photosynthesis was severe without afternoon recovery, Rubisco activation was 58% at 0600 HR and increased gradually with increasing light intensity and reached a maximum of 71% at 0800 HR, coinciding with maximum Pn. Rubisco activation decreased slightly after LT was above 37°C after 1000 HR. However, it decreased sharply to 51% when LT exceeded 40°C at noon. No recovery in Pn was observed in the afternoon.

In the late summer, Rubisco initial activity increased from $12.7 \mu\text{mol}\cdot\text{mg chl}^{-1}\cdot\text{hr}^{-1}$ to $18.2 \mu\text{mol}\cdot\text{mg chl}^{-1}\cdot\text{hr}^{-1}$ and Rubisco activation increased from 68% to 92% with increasing light intensity from 0 to $600 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$. This result suggests that at optimal temperature light intensity is the major factor activating Rubisco activity and photosynthesis in *Oncidium*.

The thermal stability of Pn, g_s , and Rubisco activation in *Oncidium* grown at $35/30^\circ\text{C}$ was higher than that of *Oncidium* grown at $15/13^\circ\text{C}$ and $25/20^\circ\text{C}$ when LT was above 30°C in a growth chamber. In contrast, net photosynthetic rate and g_s in *Oncidium* grown at $15/13^\circ\text{C}$ and $25/20^\circ\text{C}$ decreased sharply when LT was 33°C , but Rubisco activation did not decrease until 39°C .

Again, the results suggest that the photosynthetic mechanism of *Oncidium* is capable of acclimating to growth temperature.

In sum, the increase in light intensity increased g_s and Rubisco activity, which in turn increased Pn when *Oncidium* was grown at non-inhibitory temperature (e.g. below 25 °C) . The decline of g_s under high VPD due to increased LT during midday was the major physiological response of *Oncidium* photosynthesis to heat stress; and heat-induced deactivation of Rubisco played a non-stomatal limitation on photosynthesis when temperature continued to rise. The tolerance of *Oncidium* and its photosynthetic enzymes to heat depends on growth temperature and thus varied by seasons. From a practical point of view, spray with mist in the hot summer days should be effective in lowering LT and VPD to reduce the inhibitory effect of heat stress on photosynthesis and growth of *Oncidium*.



目錄

誌謝.....	I
摘要(Abstract)	II
Abstract	IV
目錄.....	VII
表目錄.....	IX
圖目錄.....	X
前言 (Introduction).....	1
前人研究(Literature review)	2
一、文心蘭生育習性.....	2
二、文心蘭光合作用相關研究.....	3
三、環境因子對光合作用之影響.....	4
四、環境因子對Rubisco活性的影響.....	7
(一)Rubisco活化機制.....	7
(二)溫度對Rubisco的影響.....	8
(三)光度對Rubisco的影響.....	10
五、光合作用測量方法簡介.....	12
材料與方法(Materials and Methods).....	15
一、植物材料 (Plant material).....	15
二、試驗場所 (Experimental locations).....	15
三、栽培管理方式 (Cultural management).....	15
四、試驗設計 (Experimental design).....	16
(一) 文心蘭光合作用日變化的週年波動情形.....	16
(二) 不同光度對文心蘭光合作用及Rubisco酵素活性之影響.....	16
(三) 不同溫度對文心蘭光合作用及Rubisco酵素活性之影響.....	16
(四) 文心蘭光合作用與Rubisco酵素活性的日變化.....	17

(五) 不同天候對文心蘭光合作用之影響.....	17
五、測量方法 (Measurement Methods)	18
(一) 淨光合作用速率之測量.....	18
(二) PS II 光反應速率測定	18
(三) Rubisco測量方法.....	19
(四)西方墨點轉印法(Western blot assay)分析蛋白質含量.....	20
六、統計分析(Statistic Analysis)	22
結果(Results)	24
一、文心蘭光合作用日變化的週年波動情形.....	24
二、不同光度對文心蘭光合作用及Rubisco酵素活性之影響.....	31
三、不同溫度對文心蘭光合作用及Rubisco酵素活性之影響.....	31
四、文心蘭光合作用與Rubisco酵素活性的日變化.....	32
五、不同天候對文心蘭光合作用之影響.....	35
討論(Discussion)	88
一、文心蘭光合作用日變化的週年波動情形.....	88
二、不同光度對文心蘭光合作用及Rubisco酵素活性之影響.....	91
三、不同溫度對文心蘭光合作用及Rubisco酵素活性之影響.....	92
四、文心蘭光合作用與Rubisco酵素活性的日變化.....	93
五、不同天候對文心蘭光合作用之影響.....	96
結論.....	98
參考文獻 (References)	99
附錄一 SDS-PAGE之溶液及膠體配置	106
附錄二 西方轉漬法之溶液.....	108

表目錄

表 1.文心蘭各月份光合作用日變化的高低峰時間點、當日最高溫度及最高光度值。.....	37
表 2. 文心蘭各月份光合作用日變化的下降時間點、下降點的溫度及光度值。.....	38



圖目錄

圖 1. 週年試驗中，一月份所測得之文心蘭光合作用日變化 (24 Jan., 2009)。	39
圖 2. 週年試驗中，一月份所測得之文心蘭蒸散作用、蒸氣壓差以及胞間二氧化碳濃度日變化 (24 Jan., 2009)。	40
圖 3. 週年試驗中，二月份所測得之文心蘭光合作用日變化 (21 Feb., 2009)。	41
圖 4. 週年試驗中，二月份所測得之文心蘭蒸散作用、蒸氣壓差以及胞間二氧化碳濃度日變化 (21 Feb., 2009)。	42
圖 5. 週年試驗中，三月份所測得之文心蘭光合作用日變化 (21 Mar., 2009)。	43
圖 6. 週年試驗中，三月份所測得之文心蘭蒸散作用、蒸氣壓差以及胞間二氧化碳濃度日變化 (21 Mar., 2009)。	44
圖 7. 週年試驗中，四月份所測得之文心蘭光合作用日變化 (18 Apr., 2009)。	45
圖 8. 週年試驗中，四月份所測得之文心蘭蒸散作用、蒸氣壓差以及胞間二氧化碳濃度日變化 (18 Apr., 2009)。	46
圖 9. 週年試驗中，五月份所測得之文心蘭光合作用日變化 (17 May, 2009)。	47
圖 10. 週年試驗中，五月份所測得之文心蘭蒸散作用、蒸氣壓差以及胞間二氧化碳濃度日變化 (17 May, 2009)。	48
圖 11. 週年試驗中，六月份所測得之文心蘭光合作用日變化 (13 June, 2009)。	49
圖 12. 週年試驗中，六月份所測得之文心蘭蒸散作用、蒸氣壓差以及胞間二氧化碳濃度日變化 (13 June, 2009)。	50
圖 13. 週年試驗中，七月份所測得之文心蘭光合作用日變化 (11 July,	

	2009)。	51
圖 14.	週年試驗中，七月份所測得之文心蘭蒸散作用、蒸氣壓差以及胞間二氧化碳濃度日變化 (11 July, 2009)。	52
圖 15.	週年試驗中，七月份所測得之文心蘭葉綠素螢光日變化 (11 July, 2009)。	53
圖 16.	週年試驗中，八月份所測得之文心蘭光合作用日變化 (12 Aug., 2009)。	54
圖 17.	週年試驗中，八月份所測得之文心蘭蒸散作用、蒸氣壓差以及胞間二氧化碳濃度日變化 (12 Aug., 2009)。	55
圖 18.	週年試驗中，九月份所測得之文心蘭光合作用日變化 (11 Sep., 2009)。	56
圖 19.	週年試驗中，九月份所測得之文心蘭蒸散作用、蒸氣壓差以及胞間二氧化碳濃度日變化 (11 Sep., 2009)。	57
圖 20.	週年試驗中，十月份所測得之文心蘭光合作用日變化 (10 Oct., 2009)。	58
圖 21.	週年試驗中，十月份所測得之文心蘭蒸散作用、蒸氣壓差以及胞間二氧化碳濃度日變化 (10 Oct., 2009)。	59
圖 22.	週年試驗中，十一月份所測得之文心蘭光合作用日變化 (7 Nov., 2009)。	60
圖 23.	週年試驗中，十一月份所測得之文心蘭蒸散作用、蒸氣壓差以及胞間二氧化碳濃度日變化 (7 Nov., 2009)。	61
圖 24.	週年試驗中，十二月份所測得之文心蘭光合作用日變化 (19 Dec., 2009)。	62
圖 25.	週年試驗中，十二月份所測得之文心蘭蒸散作用、蒸氣壓差以及胞間二氧化碳濃度日變化(19 Dec., 2009)。	63
圖 26.	一年中不同月份，文心蘭光合作用速率之變化及其與溫度、光度變化之關連。相關數據係一日中7:00-16:00間量測所得之數值(△:最高葉	

溫；□:最低葉溫)。	64
圖 27. 週年試驗中，一月份所測得之文心蘭淨光合作用速率與光度(A)、葉溫(B)、氣孔導度(C)及蒸氣壓差(D)之相關性。相關數據係一日中7:00-16:00間量測所得之數值。	65
圖 28. 週年試驗中，三月份所測得之文心蘭淨光合作用速率與光度(A)、葉溫(B)、氣孔導度(C)及蒸氣壓差(D)之相關性(●:非午休現象時段，	66
圖 29. 週年試驗中，七月份所測得之文心蘭淨光合作用速率與光度(A)、葉溫(B)、氣孔導度(C)及蒸氣壓差(D)之相關性(●:非午休現象時段,7:00-9:00；○:午休現象發生時段,10:00-16:00)。	67
圖 30. 文心蘭在不同光度下的光合作用速率(A)及氣孔導度(B) (26 July, 2009-1 Aug., 2009)。	68
圖 31. 文心蘭在不同光度下的Rubisco初始活性(A)及活性比例(B)(26 July, 2009-1 Aug., 2009)。	69
圖 32. 文心蘭在不同光度下的胞內二氧化碳濃度 (26 July, 2009-1 Aug., 2009)。	70
圖 33. 光度試驗中，文心蘭淨光合作用速率與胞內二氧化碳濃度關係圖。	71
圖 34. 光度試驗中，文心蘭淨光合作用速率與氣孔導度(A)、Rubisco活性比例(B)及Rubisco初始活性(C)之相關性。	72
圖 35. 三種日夜溫栽培的文心蘭在不同溫度下的光合作用(A)及氣孔導度(B) (21 June, 2009-2 July, 2009)。	73
圖 36. 三種日夜溫栽培的文心蘭在不同溫度下的Rubisco初始活性(A)及活性比例(B) (21 June, 2009-2 July, 2009)。	74
圖 37. 三種日夜溫栽培的文心蘭在不同溫度下的胞內二氧化碳濃度 (21 June, 2009-2 July, 2009)。	75
圖 38. 溫度試驗中，三種栽培溫度的文心蘭胞內二氧化碳濃度與光合作用關係圖 (21 June, 2009-2 July, 2009)。	76

圖 39. 溫度試驗中，三種日夜溫栽培的文心蘭在不同溫度下的蒸氣壓差(A)及各測量溫度的環境相對溼度(B)(21 June, 2009-2 July, 2009)。	77
圖 40. 溫度試驗中，文心蘭淨光合作用速率與氣孔導度(A-C)、Rubisco活性比例(D-F)及Rubisco初始活性(G-I)之相關性。	78
圖 41. 文心蘭光合作用及Rubisco酵素活性比例日變化 (24 Sep., 2009)。	79
圖 42. 文心蘭Rubisco酵素活性日變化 (24 Sep., 2009)。	80
圖 43. 文心蘭光合作用及Rubisco酵素活性比例日變化 (13 Jan., 2010)。	81
圖 44. 文心蘭Rubisco酵素活性日變化 (13 Jan., 2010)。	82
圖 45. 文心蘭葉片Rubisco蛋白質定量結果 (A: 24 Sep. 2009, B: 13 Jan., 2010)。	83
圖 46. 一日內文心蘭葉片Rubisco (A、C)及Rubisco activase (B、D)蛋白質經由western blot分析結果 (取樣日期，A-B: 24 Sep. 2009, C-D: 13 Jan., 2010)。	84
圖 47. 文心蘭光合作用及Rubisco酵素活性比例日變化 (19 March 2010)。	85
圖 48. 文心蘭Rubisco酵素活性日變化 (19 March 2010)。	86
圖 49. 連續三天在不同天候下，文心蘭於簡易網室之淨光合作用日變化 (20 July, 2009 - 22 July, 2009)。	87

前言 (Introduction)

文心蘭原生於熱帶、亞熱帶美洲，為具假球莖的複莖性氣生蘭類。引進台灣栽培後，因花形優美且顏色亮麗，目前為僅次於蝴蝶蘭大面積栽培之蘭花產業。外銷總產值約2.2億元，以切花為主要銷售型式(農糧署，2010)。台灣夏季環境使文心蘭光合作用常出現午休現象(midday depression)，可能造成植株生長及開花品質較差。陳(2007)指出溫度可能是文心蘭午休現象的主要環境因子，然於生理層面的因素尚未釐清。此外，隨著季節變換，環境因子的改變對於文心蘭的光合作用的影響，目前所知甚少。

Rubisco是Calvin cycle的關鍵酶，其活性直接影響光合作用速率，因此常被認為是高溫下光合作用下降的主因(Salvucci and Crafts-Brandner, 2004)。Rubisco活性與光度、溫度等環境條件有關，可經由馴化使其耐熱性提高(Perchorowicz et al., 1981；Yamori et al., 2006)。文心蘭光合作用的午休現象是否與Rubisco活性下降有關，目前尚不清楚。因此，本研究擬針對環境因子與文心蘭體內酵素的關係作探討，試驗主要利用LI-6400可攜式光合作用測定儀測量光合作用相關參數，並分析Rubisco酵素活性，找出環境因子、光合作用以及酵素活性之間的關聯性，期能使文心蘭光合午休現象的研究更趨完整，也提供業者未來進行文心蘭環控栽培之參考。

前人研究(Literature review)

一、文心蘭生育習性

文心蘭(*Oncidium* spp.)植株由葉片、假球莖、鞘葉及根所組成，下一代新芽會自假球莖基部萌發，屬於複莖型(sympodial)蘭科植物。文心蘭生育習性可分為四階段：新芽萌發期(bud stage, stage 0)、新芽生長期(plantlet stage, stage 1)、假球莖出鞘期(unsheathing stage, stage 2)、假球莖成熟期(pseudobulb stage, stage 3)。 *Onc.* 'Goldiana'花序自stage 2開始發育，至stage 3達成熟，生育週期約133-182天，不具花序的植株生育週期約77-140天(Hew和Yong, 1994)。

假球莖基部定位為第0節位，其上為正，下部為負，則第0-1節位多膨大為假球莖。假球莖上方通常著生兩片葉片，Hew和Yong (1994)將文心蘭當代葉片分為L1-L6，L1指假球莖上方內側的葉片，L2則為假球莖上方外側葉片，為植株最大展開葉；假球莖下方最大葉片則定義為L3，依此類推L4-L6。 *Onc.* 'Goldiana'假球莖上方葉片L1、L2在假球莖出鞘時，鮮乾重及葉面積達最大值，表此時葉片趨於成熟；假球莖下方葉片L3、L4則在假球莖出鞘前已達成熟。

文心蘭假球莖表面覆有不滲水的角質層，且無氣孔，可利用組織呼吸產生之二氧化碳來行光合作用，但其主要角色為水分及碳水化合物的儲藏器官(Hew and Yong, 1994)。隨著花梗抽長開花，原本平滑飽滿的假球莖會逐漸皺縮乾癟，到花朵凋萎後，再自基部萌發出下一代新芽(張和李, 1999)。

以¹⁴C₂O₂標定追蹤文心蘭 *Onc.* 'Goldiana'同化產物的分配，結果顯示上位葉(L1、L2)是提供假球莖同化產物的主要來源，L4則為根部同化產物的主要來源(Yong and Hew, 1995a)。調查植株假球莖數量與開花品質的關聯性，具兩個以上前代假球莖的植株開花品質較佳。而除葉試驗顯示當代葉片是當代花序同化產物的主要供源，前代葉片則為第二供源(Yong and Hew, 1995b)。

二、文心蘭光合作用相關研究

多數文心蘭屬於C₃型植物，如*Onc. 'Goldiana'*、*Onc. flexuosum*、*Onc. Lanceanum*等。亦有少數種類較接近CAM型，如*Onc. ampliatum* Lindl.及*Onc. stipitatum* Lindl. in Benth. (Arditti, 1992；Hew and Yong, 1994；Zötz and Ziegler, 1997)。

Onc. 'Goldiana' 光補償點約在3-5 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，光飽和點約85-96 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，兩者受生育階段影響不大 (Hew and Yong, 1994)。Colmanaras Wildcat之光飽和點為435 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (陳，2002)。而*Onc. Gower Ramsey*成株之光飽和點為270 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (蔡，2000)，與'Goldiana'相異甚大，經陳(2007)再次確認*Onc. Gower Ramsey*於25 °C時，光飽和點約為250 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，顯示光飽和點可能受品種間差異影響。

此外，不同栽培環境也會影響光飽和點的範圍，*Onc. Gower Ramsey*在不同遮陰程度的環境下栽培兩星期，環境遮陰40% (最大光度約為1000 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)的植株，光飽和點約600-800 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ；環境遮陰70% (最大光度約為500 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)的植株，光飽和點約300-400 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。於光飽和點時的光合作用速率以環境遮陰40%者較高，約4-6 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (He et al., 2004)。

在遮陰70%、40%及不遮陰的情況下(最大光度約為500、1000及1600 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)，*Onc. Gower Ramsey*的淨光合作用速率均呈現光合午休現象 (midday depression)。遮陰40%、70%的情況下，淨光合作用速率在8:30後快速上升，於10:30達最高峰，之後開始下降，在16:30有些微上升。不遮陰的情況下，光合作用速率於8:30達最大值，之後即下降，於16:30才有恢復的現象。而Fv/Fm值亦有午間下降的現象(He et al., 2004)。

*Onc. Gower Ramsey*在日夜溫25/20 °C之淨光合作用速率較30/25 °C高，而當光度在400 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 以下，光度和淨光合作用速率呈正相關(李，1998)。

高溫對文心蘭光合作用有不利影響，從溫度反應曲線觀察，四月份*Onc. Gower Ramsey*的淨光合作用速率在26 °C即會下降，在十一月份的淨光合作用速率則當溫度高於30 °C以上才下降，顯示文心蘭的光合作用亦受季節影響。將文心蘭置於人工氣候室25/20 °C及35/30 °C環境下，測量光合作用日變化曲線，並於中午11:00測量完後，快速互換測量環境，即提高及降低溫度，結果顯示快速降溫可以使*Onc. Gower Ramsey*光合作用速率明顯上升，亦可得知文心蘭對短時間內溫度變化反應敏感(陳，2007)。

25 °C時，*Onc. Gower Ramsey*二氧化碳飽和濃度約為600 ppm，此時淨光合作用速率為3.58 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。二氧化碳濃度於600 ppm以下時，淨光合作用速率會隨二氧化碳濃度提高而提高，二氧化碳濃度700 ppm以上，則隨著濃度增加淨光合作用速率有下降趨勢(陳，2007)。

文心蘭不同生育階段的淨光合作用速率有所差異，*Onc. 'Goldiana'* L2葉片的淨光合作用速率在stage 1-3相差不大，約5.6 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。直至stage 4(等同stage 0)側芽萌發時期，淨光合作用速率明顯上升至6.7 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。L3葉片在stage 1約為4.8 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，之後開始上升，至stage 2花序發育時達最高值6.1 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，而後逐漸下降。顯示淨光合作用速率受積貯強度影響，且L2是側芽萌發時的主要供源(Hew and Yong, 1994)。

三、環境因子對光合作用之影響

影響光合作用的外在因子，包括光度、溫度、二氧化碳濃度、相對濕度等，而內在因子則包括植物種類、葉齡、積貯活性、日韻律、呼吸作用等(Flore and Lakso, 1989)。一般分成氣孔因素及非氣孔因素來說明。

荔枝(*Litchi chinensis* Sonn.)的淨光合作用溫度反應曲線顯示在蒸氣壓差維持於0.7 kPa時，淨光合作用的最適溫度為27-32 °C，高過此溫度範圍，淨光合作用及氣孔導度明顯下降。在適當的溫度與光度下，荔枝的淨光合作用、氣孔導度及胞間二氧化碳濃度在蒸氣壓差超過1.8 kPa時，均有下降

現象，蒸散作用則在蒸氣壓差超過2.5 kPa時開始下降。葉溫低於28 °C時，荔枝光合作用速率主要受光化學因子調節；葉溫高於28 °C以上，光合作用主要受氣孔調節(Chang and Lin, 2007)。

當光度由400 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 提升至1200 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，菜豆(*Phaseolus vulgaris* L.)光合作用在光度提升的四分鐘內已達最大值10 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，而氣孔導度在照光期間持續上升，十分鐘時尚未達到飽和。即照光四分鐘後，氣孔導度與胞間二氧化碳濃度的增加並未提高光合作用。顯示氣孔導度在照光後半段並非光合作用的主要限制因子(Barradas and Jones, 1996)。Farquhar and Sharkey (1982)指出胞間二氧化碳濃度與光合作用的關係可分為線性及飽和兩階段。線性階段，淨光合作用速率隨胞間二氧化碳增加而提高，之後會達到飽和階段，即胞間二氧化碳濃度的增加並不顯著提高淨光合作用速率，此階段受ribulose-1,5-bisphosphate (RuBP)再生速率限制。作者認為除了ABA的參與或環境溼度下降等情況外，氣孔導度通常不是光合作用的主要限制因子。

植物光合作用日變化可分為兩種類型：(1)單一波峰：淨光合作用從早晨隨著溫度及光度增加，到中午時達最高峰，下午則隨之下降，例如玉米 (*Zea mays* L.)。(2)二個波峰：第一個波峰出現在中午前，另一個出現在中午之後，在中午時則有下降的情況發生，稱為午休現象或午間降低，例如茶樹 (*Camellia sinensis* L.)。在多種C₃及C₄型植物皆可觀察到此現象(Xu and Shen, 2005)。

一般用來解釋午休現象的因子有很多，如光度、氣溫、低相對濕度、高蒸氣壓差(VPD)、土壤水勢、氣孔關閉、低酵素活性(Rubisco)、光合同化產物迴饋抑制、ABA含量改變等(Xu and Shen, 2005)。大致可分成氣孔因素及非氣孔因素來探討。

小棗[*Zizyphus jujuba* Mill. var. *inermis* (Bunge) Rehd.]在不同月份(六月底，平均29.6 °C；七月底，平均33.4 °C及八月底，平均28 °C)之淨光合作用速率日變化趨勢有所不同，在六月底及七月底溫度較高，午休現象明

顯；而八月底溫度適中，雙峰不明顯。各月份光強度差異不大，因此光度並非造成光合午休現象之因子。分析七月份光合作用與其他因子的相關性，結果淨光合作用與蒸氣壓差相關性高。作者推測在高溫高光下，蒸氣壓差增加，氣孔導度降低為主要生理反應，可能因此造成光合午休現象(Su and Liu, 2005)。

Hu et al. (2009)觀察到溫州蜜柑(*Citrus unshiu* Marc.)淨光合作用、氣孔導度及Fv/Fm值的日變化在夏季午間均明顯下降，且午間植物體內malondialdehyde (MDA)及hydrogen peroxide (H₂O₂)含量較高，抗氧化酵素活性亦有上升情形。噴霧處理後，淨光合作用及氣孔導度的午休現象獲得改善，植物體內malondialdehyde (MDA)、hydrogen peroxide (H₂O₂)含量上升幅度減少，同時抗氧化酵素活性上升現象趨緩。此外，噴霧也減緩了D1 protein的降解，緩和了光抑制對光合作用的影響。由於噴霧可降低葉溫及蒸氣壓差，因此夏日過高的蒸氣壓差造成的氣孔導度下降，可能是導致柑橘午休現象的重要因素。Iio et al. (2004)亦指出日本山毛櫸(*Fagus crenata* Blume)午休現象主要由高蒸氣壓差造成氣孔關閉所引起，由於Fv/Fm在一日內波動不大，顯示淨光合作用的下降並非受光抑制影響。

許多研究結果顯示除氣孔導度外，非氣孔限制可能也是造成午休現象的因素。

莓實樹(*Arbutus unedo* L.)的光合作用在六月份及七月份均有午休現象，兩個月份的淨光合作用日變化趨勢及數值相近，但葉溫、蒸氣壓差、氣孔導度及葉片水勢等參數明顯不同。將各因子對光合作用的限制加以量化，六月份及七月份的total limitation分別為50%及48%，然分析diffusional limitation ($D_L = \text{stomatal } (S_L) + \text{mesophyll } (MC_L)$)及non-diffusional (carboxylation capacity and electron transport, B_L) limitations，七月份的 D_L 及 B_L 分別為38%及4%，六月份則均約為23%。作者認為午休現象的原因包含diffusional limitation及non-diffusional limitations，而前者的影響程度較深(Grassi et al., 2009)。

栓皮櫟(*Quercus suber* L.)在氣溫達30 °C以上會有午休現象發生，對照各因子與淨光合作用速率的日變化，蒸散作用及氣孔導度與光合作用之趨勢相近，皆在光度及葉溫最高時有下降現象。然胞內二氧化碳濃度並未明顯變化，甚至在午間有些微上升，顯示光合作用午休現象並非由於氣孔關閉造成二氧化碳供應不足所致。葉溫上升及溼度下降造成carboxylation efficiency下降及二氧化碳補償點上升，可能是導致光合午休現象發生的原因(Tenhunen et al., 1984)。

遼東櫟(*Quercus liaotungensis* Koidz)淨光合作用速率、氣孔導度及蒸散作用在溫度高於30 °C以上即會下降，而Rubisco活性則在溫度高於35 °C以上開始下降。植株對高溫的反應可分為兩階段，溫度在30-35 °C之間，淨光合作用的下降為氣孔關閉所引起，然溫度在35-45 °C之間，非氣孔限制是淨光合作用下降的主因(Zhang et al., 2001)。

墨西哥合歡[*Prosopis juliflora* (Swartz) DC.]光合作用呈現midday depression，而Rubisco 活性日變化與光合作用有相似趨勢，顯示光合作用的午休現象受到Rubisco活性的調節 (Sinha et al., 1997)。

四、環境因子對Rubisco活性的影響

(一)Rubisco活化機制

Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase (Rubisco)為植體中含量最多的蛋白質，約佔葉片可溶性蛋白的50%，是Calvin cycle的關鍵酶。植物所吸收的二氧化碳和體內的核酮糖-1,5-二磷酸(ribulose-1,5-bisphosphate, RuBP)在Rubisco催化下生合成3-磷酸甘油酸(3-phosphoglycerate)，此為Calvin cycle的第一階段反應，故Rubisco活性會影響Calvin cycle之速率。

Rubisco活化過程需要二氧化碳與鎂離子的參與，使其形成活化態(ECM form)而具催化能力，然許多抑制物如 RuBP、CA1P

(2-carboxy-arabinitol-1-phosphate)、XuBP (xylulose-1,5-bisphosphate) 及 KABP (3-ketoarabinitol-1,5-bisphosphate)等，易與Rubisco結合使其失去活性 (Salvucci and Crafts-Brandner, 2004a)。Rubisco未接上活化物二氧化碳及鎂離子時，稱為E form。經由胺基甲醯化(carbamylation)，活化位接上二氧化碳及鎂離子後，可結合RuBP，進而結合另一受質二氧化碳。在此過程中，RuBP若與E form的Rubisco結合，將使Rubisco無法進行carbamylation而呈現不活化狀態。CA1P主要與ECM form的Rubisco結合使之不活化，XuBP及KABP則是ECM form的Rubisco結合上的RuBP發生質子重新排列，經空間異構化後形成。

Rubisco activase具ATP水解酶活性，能將抑制物從Rubisco上解離下來，使Rubisco恢復活性(Salvucci and Crafts-Brandner, 2004a)。葉綠體內的ATP由光反應產生，因此Rubisco activase活性受到光度調節。許多研究指出在高溫下，植物體內磷酸糖抑制物合成量會增加，且Rubisco activase會產生高分子量聚合物而使可作用的Rubisco activase減少，Rubisco活性及光合作用因此受到抑制(Feller et al., 1998；Salvucci and Crafts-Brandner, 2004b)。

一般分析Rubisco活性可分為初始活性(initial activity)及總活性(total activity)，總活性意指在分析前加入飽和濃度的CO₂及Mg²⁺至葉片萃取液，使Rubisco得到活化物後，再進行吸光值測定所得到的活性；測定初始活性時則直接將葉片萃取液與反應物混合，未加入飽和濃度的活化物。Rubisco activation為兩活性比值(initial activity/total activity)，可反映Rubisco受carbamylation的程度(Butz and Sharkey, 1989)。然而，Rubisco activation的數值無法完全包含Rubisco的所有活化位，因為部份活化位可能被CA1P結合而受到抑制(Kobza and Seemann, 1989)。

(二)溫度對Rubisco的影響

生長於不同氣候環境的植物對高溫的耐受度不同。南極洲髮草

(*Deschampsia Antarctica* E. Desv.)的光合作用及Rubisco活性在20 °C以上會下降；生長於炎熱沙漠的木鱉油灌木[*Larrea tridentate* (DC.) Coville]光合作用及Rubisco活性則於30 °C以上會下降(Salvucci and Crafts-Brandner, 2004c)。生長於不同緯度的相近物種也有類似情形，如分布於溫帶地區的白楊(*Populus deltoids* Bartr. ex Marsh.)，相較於極地相近種 *P. balsamifera* L.，其光合作用及Rubisco對高溫的耐受性較佳。分析兩物種Rubisco activase 活性對溫度的反應，*P. deltoids*之Rubisco activase最佳溫度範圍約30-37 °C；*P. balsamifera*之Rubisco activase最佳溫度範圍約27-30 °C。當溫度低於27 °C，兩物種Rubisco activase活性則無顯著差異(Hozain et al., 2010)。

栽培於日夜溫30/25 °C的菠菜(*Spinacia oleracea* L. cv. Torai)，光合作用及Rubisco對高溫的耐受度均較15/10 °C者佳，顯示植物在不同生育溫度可被馴化，以提高光合作用效率。兩栽培溫度的植株光合作用速率在10-15 °C時均較低，但Rubisco activation改變量不大，顯示低溫下，引起光合作用下降的因子並非Rubisco activation，可能是Rubisco效率降低所致(Yamori et al., 2006)。

棉花(*Gossypium hirsutum* L.)葉片於45 °C時，其Rubisco初始活性相較於28 °C有大幅度下降，而總活性在受熱30分鐘後，活性仍無明顯下降。高溫除使Rubisco初始活性下降外，亦造成RuBP相對濃度提高。施加methyl viologen (MV)或給予高氧處理，可緩和Rubisco初始活性在高溫的失活並降低RuBP的相對濃度。由於Methyl viologen可提高ATP/ADP，促進Rubisco activase活性，而RuBP的相對濃度降低亦有利於Rubisco activase作用，因此高溫造成Rubisco活性的降低很可能是受到Rubisco activase降低所致，而非RuBP再生的限制(Crafts-Brandner and Law, 2000)。

Feller 等人(1998)測量得知棉花(*G. hirsutum* L.)及小麥(*Triticum aestivum* L.) Rubisco初始活性會隨溫度升高而降低，在40 °C以下活性具恢復性，40 °C以上則恢復性低。總活性則改變不大，在45 °C時仍未觀察到活性下降。由Western blot分析顯示在40 °C以上有高分子量Rubisco activase

聚合體出現，正常可作用的Rubisco activase量減少，證實高溫抑制Rubisco活性是直接受到Rubisco activase的影響。小麥因高溫引起的Rubisco初始活性下降程度較棉花劇烈，與Western blot分析結果相符。橡樹(*Quercus pubescens* L.) Rubisco初始活性與Rubisco activation亦有類似現象，當溫度高於30 °C以上，Rubisco初始活性與Rubisco activation隨溫度升高而降低，但Western blot分析顯示Rubisco activase並未形成高分子量聚合物，高溫下的Rubisco activase蛋白質含量無明顯減少，可能是高溫造成Rubisco activase活性降低，進而使Rubisco活性下降。此外，將45 °C處理30分鐘後的植株置於25 °C，植株Rubisco活性回復快速，顯示Rubisco activase結構在高溫下仍完整，使自身活性能快速回復以提高Rubisco活性(Haldimann and Feller, 2004)。

利用基因轉殖育成低量Rubisco activase的阿拉伯芥 [*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.]，其淨光合作用速率僅有野生型的44%，Rubisco activation也較野生型低。植株淨光合作用與Rubisco activation在遭遇高溫後劇烈下降且恢復性差，可能與Rubisco activase對高溫的耐受性有關 (Salvucci, 2008)。

將分離的Rubisco進行溫度測試，XuBP生成量隨溫度提高而遞增。將Rubisco由25 °C的環境移至35 °C及45 °C的環境，Rubisco活性立即下降，且失活程度隨溫度增加而加劇。高溫造成Rubisco失活的機制可能為高溫使Rubisco activase活性下降，以及Rubisco活化位的抑制物合成速率上升 (Salvucci and Crafts-Brandner, 2004d)。

(三) 光度對Rubisco的影響

光度由225 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 遞增至1650 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 時，小麥Rubisco活性比例由20%上升至60%，且與其光合作用之光反應曲線趨勢相近，顯示Rubisco活性受光度調節 (Perchorowicz et al., 1981)。

菠菜(*Spinacia oleracea* L.)之Rubisco及Rubisco activase兩者的光飽和

點及反應快慢不同。Rubisco活性在黑暗中約 $2 \mu\text{mol RuBP}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg chl}^{-1}$ ，照光後隨光度增加而提高，在光度 $1000 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 時達飽和，活性可達 $8 \mu\text{mol RuBP}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg chl}^{-1}$ ；Rubisco activase在黑暗中活性極低，光飽和點約在 $300 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。光度由 $0 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 快速增至 $650 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 時，Rubisco activase活性在6分鐘內已達飽和，然Rubisco活性在10分鐘後仍持續增加(Lan et al., 1992)。

三種不同光度($180 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 、 $1800 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 、每15分鐘交替 $180 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 與 $1800 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)栽培的羅勒(*Ocimum basilicum* L.)，其Rubisco activation活化速率沒有明顯差異，但 $180 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 處理者之Rubisco activation值較低；遭遇低光後，栽培於 $1800 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 及交替光度組的植株，去活化速率較慢，有利於之後遇高光時快速提高Rubisco activation (Ernstsen et al., 1997)。

適當環境及飽和基質下，玉米(*Zea mays* L.)葉片Rubisco activation在黑暗中約67%-84%，此值高於許多 C_3 型植物(20%-50%)。植株照光後，Rubisco activation可達89%-98%，作者推測玉米葉片的Rubisco即使在黑暗下，也大多維持在活化態形式(Usuda, 1985)。

菸草(*Nicotiana rustica* var. *pulmila*)葉片內的原生質體在照光後，Rubisco初始活性在6分鐘內達飽和，總活性則於15分鐘後達飽和。除去光源後，初始活性在20分鐘後降至暗期的活性數值；而總活性改變不大，在30分鐘後，活性仍有光期活性的60%。以電子傳遞抑制物nigericin處理菸草原生質體並調查光合作用及Rubisco活性的改變，結果顯示 $0.05 \mu\text{M}$ 的nigericin對光合作用及Rubisco初始活性即有明顯抑制，且兩者受抑制的趨勢相近。Rubisco總活性則在nigericin施用濃度至 $0.4 \mu\text{M}$ 時才有顯著降低。作者認為Rubisco初始活性及總活性兩者活化機制可能有所不同(Salvucci and Anderson, 1987)。

番茄(*Solanum lycopersicum* L.)幼葉照光2-3小時後，Rubisco可達最大活性，之後的照光對活性改變不大。將植株由光照環境移置於黑暗中，活

性在30分鐘內尚未明顯下降。而黑暗處理12小時後，Rubisco活性降至光照前的狀態。除活性外，光照亦提升Rubisco 蛋白質含量，照光前的Rubisco含量約 $9.7 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ，照光6小時後，含量上升至 $11.7 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ (Besford, 1984)。

菜豆(*Phaseolus vulgaris* L. var. Linden)、甜菜(*Beta vulgaris* L. var. SSBN1)及菠菜等許多作物的Rubisco activation隨光度增加而提高。其中，菜豆與甜菜植株體內的CA1P濃度隨光度增加而降低，菠菜CA1P則無明顯變化。作者推測光照促進抑制物的降解可能是光度對Rubisco活性的主要調節機制，前二作物Rubisco的抑制物為CA1P，後者之抑制物可能為其他物質。菜豆清晨的Rubisco activation值較8:00之後的數值高，可能為葉片萃取液中的自由CA1P與Rubisco結合所致(Kobza and Seemann, 1989)。

五、光合作用測量方法簡介

光合作用是植物乾物重累積的主要途徑，在生理研究及農業生產上均為一重要課題，由於光合作用伴隨氣體交換，因此可藉由偵測氣體的改變量來推估光合作用速率。以下對早期及目前常見光合作用測量方法的原理及使用限制作一介紹。

Otto Warburg (1919)以壓力計開啟光合作用測量之先例，其原理是當試驗材料行光合作用時會造成氣壓改變，藉此可估算氣體交換之值。然氣體分壓易受許多因子影響而造成量測誤差，使用上也因量測費時、僅適用於細胞懸浮液等因素限制。此外，測量時需以藥劑去除空氣中的氧氣或二氧化碳來測定氣體變化量，此與實際栽培環境不符。

同位素測量法是將植株葉片或藻類懸浮液暴露於含 $^{14}\text{C}\text{O}_2$ 的空氣中，使其進行 CO_2 固定，之後進行植體分析。由於 ^{14}C 會放出 β 射線，因此可藉量測 β 射線的強度來估算光合作用速率。此法在使用上不僅費工，且只能測定單一時段的平均光合作用速率，準確度亦受到暴露時間及 ^{14}C 在葉內分布不均等因素影響(Austin and Longden, 1967)。

氧氣電極法起源於Clark (1956)的血管內氧氣張力測量法，以白金為陰

極，銀為陽極，電解液為KCl，並以膜區隔待測材料與電極裝置。測量時將兩極間加壓至0.7伏特，待測材料行光合作用所放出之氧氣透過膜進入電解液中，氧氣在陰極被還原，同時在兩極間產生擴散電流，電流量與待測材料所釋放的氧氣量成正比，藉以推估光合作用速率。此法原來僅能用於分離胞器或細胞懸浮液，後來發展出可直接測量葉圓片的氧氣電極，以及光纖電極等。使用上若氣體不均易造成誤差，且溫度會影響電極的校正，對於膜的選擇及更新亦需留意(Delieu and Walker, 1981；Hunt, 2003)。

目前光合作用測量較常使用的方法為紅外線分析法(Infra-red gas analysis, IRGA)，原理為不同原子所組成的分子會吸收紅外線，且有特定吸收高峰，如CO₂、H₂O；同原子所組成的分子如O₂及N₂，對紅外線吸收量則較低。測定時利用兩葉室，其一放入待測材料，另一作為參比室，利用兩氣室內被吸收的紅外線量不同，經儀器偵測後轉為氣體的測定值。此類氣體測定儀器通常有四組成單位，包括air supply unit、mass flowmeter、chamber及IRGA紅外線分析儀。優點是可連續測量、易控制chamber環境，且為非侵入性(Long et al., 1996)。使用上須注意校正方法及流速控制，並減少水蒸氣干擾及儀器內氣體滲漏問題(Hunt, 2003)。

紅外線分析法依照測量部位可分為單葉測量及全株測量。單一葉片光合作用測量可同時獲得多項生理指標，如氣孔導度、細胞間隙二氧化碳濃度等，測量快速，可探討環境因子對植株的影響。目前已發展出可攜式儀器，因田野間攜帶便利而廣泛被應用。然而測量結果有時與生長量間呈低度相關，原因可能有以下幾點：(1)量測葉片的某區域無法代表整片葉片；(2)測量的葉片無法代表整個樹冠層；(3)單一時間的淨光合作用速率無法代表整日的情形；(4)不同發育階段的光合作用值不同；(5)根與枝條呼吸作用未量測。亦即研究者所進行的單葉測量往往是短期測量，且選定發育中某階段、某特定節位的葉片，並給予足夠光度及適當溫度，此是測出最大光合作用潛力，並不符合植物在田野的情況(van Iersel and Bugbee, 2000；Zelitch, 1982)。

全株測量可免除葉片代表性的問題，但目前商業上少有整套設備販售，多為研究者購買IRGA後再自行組裝成整套測量設備(Alterio et al., 2006；van Iersel and Bugbee, 2000)。研究者利用全株氣體交換測量設備可進行長期追蹤來瞭解植株發育階段的光合作用值，但若於田間使用上則不如單葉測量便利。另外，全株測量所測得之光合作用溫度反應曲線有時不適用於判斷植物的耐熱與否，顯示全株測量仍有其應用上的限制。

此外，葉綠素螢光雖無法偵測氣體的交換，但可測量到許多植物光合作用的特性資料，亦可當作植物逆境指標之一。其原理為當光系統II (photosystem II, PSII) 開啟(open)，所有電子接受者 Q_A (plastoquinone acceptor) 為氧化態，此時 Q_A 可將電子傳遞下去；而當 Q_A 為還原態時，電子無法傳遞下去，植物便會發出螢光，因此螢光為推測植物是否遭受逆境的方式之一。 F_o 為minimum fluorescence，在dark-adapted sample中所有的PSII都成開啟狀態，即所有 Q_A 都在氧化態，而non-photochemical quenching在最小的狀態下所測得的螢光。 F_o 上升表示excitation energy進入reaction center (PSII) 的速率下降，導致PSII的電子傳遞受阻， Q_A 氧化態的數目減少，而還原態 Q_A 使螢光上升。 F_m 表maximum fluorescence，在dark-adapted sample中所有的PSII都成關閉狀態，即所有 Q_A 都在還原態，而non-photochemical quenching在最小的狀態下所測得的螢光。 F_m 上升表示PSII內外的電子傳遞減緩，使 Q_A 接收到的電子減少，還原量減少，最大螢光值於是減少。 $F_v = F_m - F_o$ ， F_v/F_m 代表dark-adapted PSII的最高光效率，健康植物 F_v/F_m 為一常數(0.83)，若值下降則表示植物處於逆境，為光抑制最佳指標。PSII受傷常為葉片遭受逆境的第一個反應，但會影響葉綠素螢光測定值的因素很多，於田間的準確度也不若其他氣體交換測定儀可靠，因此最好與其他儀器的測定值相比較。若要使用此類測定，植株材料最好均值且葉齡一致，並減少環境、儀器或人為所造成的試驗誤差(Maxwell and Johnson, 2000)。

材料與方法(Materials and Methods)

一、植物材料 (Plant material)

本研究之試驗材料為國內栽種之文心蘭主力品種‘南西’(*Onc. Gower Ramsey*)，植株皆具三代母球(back shoot)以上，購自桃園縣楊梅鎮旭東蘭園。

二、試驗場所 (Experimental locations)

(一) 臺灣大學荷式威諾型具水牆風扇降溫之玻璃溫室(Venlo-glasshouse with fan-and-pad cooling system)。最高溫控制在30 °C以下，利用遮陰網控制光強度低於500 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。

(二) 臺灣大學人工氣候室，日夜溫15/13 °C、25/20 °C和35/30 °C，利用遮陰網控制光強度低於500 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。

(三) 臺灣大學園藝分場 (簡易網室)。具簡易遮雨浪板(polycarbonate)並利用遮陰網控制光強度，使低於500 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。

三、栽培管理方式 (Cultural management)

試驗期間共購入五批材料，第一批於2009年1月購入；第二批及第三批於2009年4月購入；第四批於2009年12月購入；第五批於2010年3月購入。栽培介質主要為蛇木屑，並混合少量木炭屑，購入後未進行換盆處理。第一批材料進行週年試驗，購入後置於園藝分場；第二批材料進行不同天候對文心蘭光合作用之影響與光度及溫度對Rubisco活性之影響等試驗，購入後先置於精密溫室；第三、第四及第五批材料進行Rubisco日變化試驗，購入後置於園藝分場。肥料管理為每兩週施以Peters 20-20-20 (Scotts, Marysville, OH, U.S.A.) 200 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ N，光度則利用遮陰網控制低於

500 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，澆水及噴藥則視實際情況為之。

四、試驗設計 (Experimental design)

(一) 文心蘭光合作用日變化的週年波動情形

使用具三代母球以上之文心蘭 *Onc. Gower Ramsey* 植株，栽培於臺灣大學園藝分場，該場具簡易遮雨浪板(polycarbonate)之設施，並利用遮陰網控制最大光強度小於500 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。每個月選取生育階段相同的六植株，以LI-6400光合作用測定儀(LI-COR Inc., Lincoln, NE, U.S.A)進行光合作用日變化等參數的測量。儀器光度及溫度均設定為隨外界改變，以第一次測量的當代球葉片L2為本試驗各月份的測量部位，測量位置為葉片最寬處。測量時間於6:00至18:00，每小時測量一次。試驗期間為2009年1月24日至2009年12月19日。試驗期間以氣象資料收集器(Datalogger DL2e, Delta-T Devices, Cambridge, UK)紀錄環境氣溫。

(二) 不同光度對文心蘭光合作用及Rubisco酵素活性之影響

選擇具三代母球並具一新芽之文心蘭 *Onc. Gower Ramsey* 植株，試驗前一日18:00將生育階段相同之文心蘭六株置於生長箱，生長箱內設定溫度為25 °C，保持黑暗。試驗當日6:00開始照光，光度由生長箱上方的燈源供給(不同天光度分別調為0, 100, 200, 300, 400, 500, 600 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)，植株於每個光度下馴化約3小時，9:00以LI-6400測量淨光合作用速率，隨即將葉片取樣0.2 g並以液態氮冷凍，之後進行Rubisco活性分析，不同光度之測量於不同天進行。每個光度使用六植株，取樣部位同試驗一。試驗期間為2009年7月26日至2009年8月1日。

(三) 不同溫度對文心蘭光合作用及Rubisco酵素活性之影響

使用具三代母球並具一新芽之文心蘭 *Onc. Gower Ramsey* 植株，將植株栽培於人工氣候室日夜溫15/13、25/20、35/30 °C的環境下兩個月，再進行

不同溫度下光合作用及酵素的測定。人工氣候室採自然光照，栽培期間以50%遮陰網控制光強度低於 $500 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。測定前一天18:00將植株由人工氣候室移入生長箱，生長箱內設定光強度為 $0 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，溫度設定分別為22、26、33、39 °C，一天僅測定一溫度。測量當天6:00設定光強度為 $250 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，9:00開始測量淨光合作用速率，隨即將葉片取樣0.2 g並以液態氮冷凍，於當天進行Rubisco活性分析。光合作用及酵素測定的取樣部位均為當代球L2葉片最寬處，每個溫度使用六植株。植株於2009年4月16日進入人工氣候室栽培，2009年6月21日開始進行試驗測定。本研究係為瞭解溫度馴化對光合作用可能之影響。

(四) 文心蘭光合作用與Rubisco酵素活性的日變化

選取具三代母球以上之文心蘭*Onc. Gower Ramsey*植株，在不同時間點取樣0.2 g葉片組織並以液態氮冷凍及儲存，之後進行Rubisco活性分析。取樣時間為4:00、6:00、7:00、8:00、10:00、12:00、15:00、18:00、19:00、20:00、24:00，共十一個取樣時間。取樣點為當代球L2葉片最寬處，取樣數為6株。在光期，先以LI-6400進行光合作用日變化等參數的測量，之後將測量部位取下部分葉片組織作為酵素活性分析及Western分析之樣品，以探討光合作用與酵素活性之關聯性，以及各時間點的酵素含量是否有變化。本實驗共進行三次。分別為2009年9月24日、2010年1月13日及2010年3月19日。試驗期間以氣象資料收集器(Datalogger DL2e, Delta-T Devices, Cambrige, UK)紀錄環境氣溫。

(五) 不同天候對文心蘭光合作用之影響

將植株栽培於園藝分場，選取生育階段相同的六植株，連續三日量測不同天候下光合作用等參數之日變化。測量位置為當代球L2葉片最寬處，測量時間從6:00至18:00，每小時測量一次，藉此瞭解天氣變化對文心蘭光合作用日變化的影響。試驗期間以氣象資料收集器(Datalogger DL2e,

Delta-T Devices, Cambridge, UK)紀錄環境氣溫。

五、測量方法 (Measurement Methods)

(一) 淨光合作用速率之測量

LI-6400可攜式開放型光合作用系統(LI-COR Inc., Lincoln, NE, U.S.A.)為1995年LICOR公司出產，具有可攜帶、單手操作、控制光度、葉溫等優點。光源控制是採用可拆式人工光源(6400-02 LED light source)調控，紅藍光波長分別為665 nm和470 nm。每次使用前進行暖機檢查，視情況進行流速零點校正及遠紅線氣體分析儀(IRGA)零點及滿點校正。分別利用乾燥劑(Drierites, 97% 硫酸鈣及3% 氯化亞鈷, W. A. Hammond drierite Company LTD, Xenia, OH, U.S.A) 及蘇打石灰(Soda lime, LI-COR Inc., Lincoln, NE, U.S.A.)吸收進入迴路之大氣水氣及二氧化碳來校正IRGA零點及滿點，流速控制於 $500 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。CO₂ Reference控制在 $350 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。文心蘭氣孔僅分布於葉片之下表皮(hypostomatatic leaf)，故氣孔比率(stomatal ratio)設為0，每次測量之葉面積為6 cm²，測量部位為假球莖上第二片葉片(L2)距葉片頂端約10-15 cm處(約於葉片最寬處)。每次測量前，先觀察葉夾為空箱時的數值，以淨光合作用速率在 $\pm 0.2 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 、氣孔導度在 $\pm 0.01 \text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 、蒸散作用在 $\pm 0.1 \text{mmol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 範圍內才進行葉片測量。並於放入葉片後，觀察各數值穩定度，以CO₂ cv值在0.05以下、total cv值在0.1以下進行資料記錄。

(二) PS II 光反應速率測定

以葉綠素螢光測定儀(MINI-PAM, WALZ, Effeltrich, Germany) 測定植株葉片之葉綠素螢光值。以當代假球莖上之L2葉片中段為測定部位，避開中脈，測量前以專用夾暗馴化30分鐘，再給予波長650 nm之紅光照射，經主機計算取得F₀(最小螢光值)、F_m(最大螢光值)及F_v/F_m(Photosynthesis II最大光化學效率)等值，藉以估算植株光合作用能力並判斷是否處於逆境

狀態。

(三) Rubisco測量方法

試驗皆取文心蘭當代假球莖上第二片葉片(L2,即假球莖上最大展開葉) 0.2 g, 於研鉢加入液態氮及海砂, 將葉片研磨成粉狀後, 再加入1.25 mL 萃取液(grinding medium)繼續研磨成粗萃取液。取粗萃取液40 μ L溶入960 μ L 酒精(100%), 均勻混合後, 於4 $^{\circ}$ C、13000 xg下, 離心1分鐘, 取上層澄清液利用分光光度計測量於波長665 nm及649 nm之吸光值(Absorption), 以求得葉綠素a及b之含量。將其餘粗萃取液樣品利用高速離心機, 於4 $^{\circ}$ C、10000 xg下, 離心5分鐘。收集上層澄清液以進行Rubisco 初始活性(initial Rubisco activity)及總活性(total Rubisco activity)測定。初始活性部分, 取上層澄清液40 μ L加入960 μ L反應液倒入比色管中混合搖晃數下, 快速測量分光光度計於340 nm的吸光值變化, 以NADH氧化速率來計算其活性。另取上層澄清液180 μ L加入20 μ L NaHCO₃, 混合均勻後於25 $^{\circ}$ C下水浴5分鐘, 之後取出40 μ L加入960 μ L反應液倒入比色管中混合搖晃數下, 快速測量分光光度計於340 nm的吸光值變化, 此為測量Rubisco總活性(Kobza and Edward, 1987)。Rubisco activation為兩活性比值(initial activity/total activity), 反映Rubisco受 carbamylation的程度(Butz and Sharkey, 1989)。

(1) 萃取液包含50 mM HEPES (pH 8.0)、1 mM EDTA、1 mM DTT (1,4-dithiothreitol)、1 mM Na-pyruvate、10% Glycerol、5% induble-PVP (polyvinylpolypyrrolidone)、5 mM IAA (indoacetic acid)、10 mM MgCl₂及1% β -mecarptoethanol。

(2) 反應液包含100 mM Tris-HCl (pH 8.0)、25 mM NaHCO₃、0.5 mM ribulose-1,5-bisphosphate、20 mM MgCl₂、3.5 mM ATP、0.25 mM NADH、

5 mM phospho-creatine、3 unit creatine phosphokinase、6 unit glyceraldehydes 3-phosphate dehydrogenase及15 unit 3-phosphoglycerate phosphokinase。

(3)葉綠素含量公式

Total Chl = Chl a + Chl b = Chl a+b

Chl a+b = $[(6.10 \times A665) + (20.4 \times A649)] \times 2 = \mu\text{g Chl/mL ethanol extract}$

(4)酵素活性計算：在酵素反應時間曲線圖上取2點，並計算通過此兩點之值線斜率，以進行酵素活性之計算。計算公式如下：

斜率(O.D./min) / Chl (mg) $\times 60 \text{ min/hr} \times 1 \mu\text{mol/ml}/6.22 \text{ O.D} \times 1/1 \text{ mL}$
= enzyme activity ($\mu\text{mol/mg Chl/hr}$)

(四)西方墨點轉印法(Western blot assay)分析蛋白質含量

(1)萃取葉部蛋白質

取0.6 g葉片於研鉢中，加入適量的海砂和液態氮，將組織研磨成粉末狀。加入蛋白質萃取液(grinding medium, 成分同前)2.5 mL，在低溫下均勻研磨。之後將樣品倒入微量離心管中，進行離心(10000 rpm、4 °C) 10分鐘。之後取上清液至冷凍小管中，放入液態氮中保存待測。

(2)測定蛋白質濃度

分別準備濃度為0.25、0.5、1和2 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的牛血清蛋白(bovine serum albumin, BSA)製作標準曲線。每個濃度的BSA和每個樣品之上清液各取5 μL 至96孔的塑膠盤(well plate)中，再加入250 μL Bradford protein assay solution，靜置5分鐘。以ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay, 酵素結合免疫吸附法) reader讀取O.D.595吸光值，利用標準反應換算其蛋白質濃度。

(3)製備電溶之蛋白質樣品

取100-200 μ L的蛋白質樣品，加入適量之 2X SDS buffer (附錄一)，隔水加熱100 $^{\circ}$ C使其完全分解。之後進行離心(14000 rpm, 4 $^{\circ}$ C) 10分鐘，使不溶物質沈澱。

(4) 聚丙醯氨凝膠電泳 (Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis, SDS- PAGE)

以70%酒精擦拭玻璃片，並架設鑄膠裝置，再以1% agarose封住玻璃片四周縫隙。將10% gel solution (附錄一)倒入鑄膠裝置後，形成separating gel，其上加入1 cm深的水以凝膠，靜置一小時。待凝膠後倒出膠上的水，配製5% stacking gel (附錄一)，迅速加入鑄膠裝置中，並插入1 mm厚的comb待膠體凝固。膠體凝固後取出comb，用1X running buffer (附錄一)沖洗每個well，將 10-15 μ l protein molecular mass marker (Bio-Rad)裝入sample well中。

在架設電泳裝置(Amersham Biosciences, SE 600 Ruby, USA)加入1X running buffer，以15 mA進行電泳約10分鐘，染劑約跑到stacking gel與separating gel的交界面時，改以25 mA再繼續電泳約1小時。電泳結束後 (tracking dye剛跑出膠外)，取出膠體，除去stacking gel，將其中一片separating gel放入staining solution (附錄一)中，染色2小時。將膠體放入destaining solution (附錄一)中退染，直至膠體背景透明、蛋白質條帶清晰為止。

(5) 西方墨點轉印法(western blot assay)

將未染色的separating gel浸泡於1X TB (transfer buffer, 附錄二)30分鐘，以固定蛋白質與改變buffer system。裁剪與膠體一樣大的濾紙 (pre-wetted blot paper)2張和PVDF membrane 1張，PVDF membrane先以100% methanol浸泡10秒後，與濾紙一起浸泡在1X TB內搖晃10-15分鐘。將轉移專用的托盤(tray)和2塊海棉(sponge)均浸泡於1X TB，以下述的順序由下往上開始配置蛋白質電泳轉移的三明治系統。

Support frame (towards (-) electrode)

Sponge

Pre-wetted blot paper

Gel

PVDF membrane

Pre-wetted blot paper

Sponge

Support frame (towards (+) electrode)

將帶有負、正極的夾板卡緊後，將整個轉移三明治垂直放入轉移專用容器內，加入轉移緩衝液，趕除氣泡確定正負極電路之連接，同時將整個容器浸入含有冰水的浴槽。之後進行通電(由負到正極)：

第一階段	250 mA	50分鐘
第二階段	400 mA	40分鐘

取出PVDF membrane浸泡於blocking solution (附錄二)，搖晃1小時。倒掉blocking solution，帶有蛋白質的膜面朝上分別加入玉米PEPC antibody solution(1.5 mg/mL)、LSU(Rubisco large subunit)或SSU(Rubisco small subunit)(1:7500)等抗體搖晃過夜。之後以TBS solution (附錄二)清洗membrane三次。再加入二次抗體(goat anti-rabbit IgG-alkaline phosphatase)搖晃1小時。以TBS solution清洗membrane三次。加reaction buffer (附錄二)簡單的涮洗。取出membrane，除去表面上之reaction buffer後，置於平面容器加入適量 alkaline phosphatase reaction ($1 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$ BCIP (5-bromo-4-chloro-3-indolyl phosphate)和NBP (Nitro blue tetrazolium)，待顯色程度足夠時，以清水沖洗，再予晾乾。

六、統計分析(Statistic Analysis)

除另有說明，試驗皆採用完全隨機設計(completely randomized design,

CRD)。繪圖程式採用Sigma Plot 8.0軟體(SPSS Inc., Chicago, IL, U.S.A.)，並進行迴歸分析。



結果(Results)

一、文心蘭光合作用日變化的週年波動情形

(1)一月份

1月24日為第一次取樣日，此時文心蘭具三代母球，生育階段為stage 3，當代shoot外觀不具新芽及花梗。當日白天氣溫很低，約9-11 °C，植株葉溫約10-14 °C，光度亦不高(低於60 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)，文心蘭光合作用日變化曲線呈現單峰形式(圖1)。6:00時，淨光合作用速率(net photosynthetic rate, Pn)為 $-0.33 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，之後隨光度增加而提高，在11:00達最高值2.59 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，此時光度為55.5 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，葉溫為12.4 °C。13:00時，光度下降至24.7 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，Pn下降至1.20 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，之後兩者均呈現緩慢下降。氣孔導度從清晨到中午逐漸上升，在12:00有最高值0.05 $\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，13:00時下降至0.04 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，之後又逐漸上升，在15:00有另一波峰。蒸氣壓差整日變化不大(圖2)，維持在0.6-0.8 kPa之間，蒸散作用日變化曲線則與氣孔導度趨勢相近。

(2)二月份

第二次取樣日為2月21日，此時文心蘭具三代母球，當代shoot有一小花梗，長約4公分。取樣當日天氣晴朗但有時多雲，文心蘭光合作用日變化呈現雙峰形式(圖3)。6:00時，Pn為 $-0.39 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，之後快速上升，在8:00已達3.19 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，10:00達最高值4.22 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，此時光度為177.8 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，葉溫為23.1 °C。11:00 Pn開始下降，為2.52 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，此時葉溫為26.2 °C，光度為208.8 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，蒸氣壓差為2.1 kPa(圖3、圖4)。13:00光度有些微下降，為116.7 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，文心蘭Pn也在13:00時下降至一日最低值1.13 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，14:00回升至2.8 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，接著維持在2.0-2.21 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 之間，直到17:00之後再度明顯下降。氣孔導度日變化趨勢大致與Pn相近，惟最高值出現在9:00，與Pn最高點時刻不同。10:00

時，氣孔導度即有些微下降，此時蒸氣壓差為1.76 kPa。氣孔導度最高約 $0.08 \text{ mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，較1月份測量最高值高。當日蒸氣壓差在12:00達2.34 kPa，明顯較1月份測值高(圖4)。蒸散作用日變化與氣孔導度相近，9:00達最高值 $1.29 \text{ mmol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，13:00出現最低值 $0.26 \text{ mmol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。

(3)三月份

2月底去除花梗後，新芽快速萌發，至第三次取樣日(3月21日)時，新芽長度已達7公分。取樣當天終日晴朗無風，文心蘭光合作用日變化呈現雙峰形式(圖5)。文心蘭Pn於7:00時已達 $2.08 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，此時光度 $44.7 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，葉溫為 $25.3 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 。Pn於9:00達最高值 $2.97 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，此時光度為 $136.5 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。Pn在11:00下降至 $0.71 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，此時光度為 $230.2 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，葉溫為 $33.9 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 。12:00時，Pn下降至 $0 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 以下，顯示中午時段不利光合作用進行，且與2月份最低點相比，3月份午間抑制程度更為明顯。13:00之後，光度與氣溫逐漸下降，Pn於14:00回復至 $2.28 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，形成另一波峰。氣孔導度日變化趨勢大致與Pn相近，最高值出現在9:00，與Pn最高點相同。氣孔導度最高 $0.08 \text{ mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，接近2月份測量值。11:00-13:00之間，文心蘭氣孔導度接近 $0 \text{ mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，直到14:00才回復至 $0.04 \text{ mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。蒸氣壓差在6:00時為1.72 kPa(圖6)，10:00上升至2.81 kPa，12:00時達最高值3.21 kPa，此時恰為氣孔導度及Pn最低點，14:00之後逐漸下降，16:00後維持在1.6-1.67 kPa之間。蒸散作用日變化與氣孔導度相近，9:00達最高值 $1.46 \text{ mmol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，12:00出現最低值 $0.22 \text{ mmol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。

(4)四月份

植株當代shoot所萌發之新芽繼續發育成new shoot，至第四次取樣日4月18日時，new shoot長度約22公分，尚未形成假球莖。取樣日當天上午晴朗炎熱，中午過後天氣較不穩定，轉為晴時多雲的天氣型態。文心蘭之Pn於8:00達一日最高值 $2.31 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (圖7)，此時葉溫為 $28.4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ，光度約 $104 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。Pn於10:00時降至 $0.77 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，此時葉溫為 $33.3 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ，光度

為 $147.8 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。10:00之後 P_n 持續下降，至11:00已接近 $0 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。13:00之後葉溫逐漸下降， P_n 也有明顯回復，在14:00形成第二波峰， P_n 值為 $1.42 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。全天氣孔導度皆不高，在8:00達一日最高值 $0.03 \text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 後立即下降，9:00過後已下降至接近 $0 \text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，在14:00有些微回復。蒸氣壓差在6:00時約為 1 kPa (圖8)，之後逐漸上升，11:00時蒸氣壓差達最高值 2.31 kPa ，之後維持在 2 kPa 以上，直到14:00時下降至 1.66 kPa 。整日蒸散作用皆不高，但日變化曲線與氣孔導度相近，8:00達一日最高值 $0.34 \text{ mmol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，10:00-11:00蒸散作用幾乎為零。

(5)五月份

第五次取樣日為5月17日，此時植株new shoot長度已達34公分，仍未達假球莖出鞘期。取樣當日為晴朗天氣，雲量時多時少，陽光下十分炎熱。 P_n 在9:00達最高值 $1.94 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，11:00時 P_n 明顯下降，此時光度為 $168 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，葉溫高達 36.5°C (圖9)。12:00時 P_n 已低於 $0 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，13:00時葉溫有些微下降， P_n 開始逐漸回復，至15:00回復至 $1.3 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，形成第二波峰。氣孔導度在8:00達最高值 $0.05 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，之後逐漸下降，中午氣孔導度接近 $0 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，下午回復情形不明顯。蒸氣壓差在9:00以前約維持在 $1.3-1.4 \text{ kPa}$ 之間(圖10)，11:00上升至 2 kPa 以上，13:00稍微下降，而後再度上升至 2 kPa 左右，直到16:00才又下降。蒸散作用日變化與氣孔導度相近，10:00明顯下降，下午有些微回復。

(6)六月份

第六次取樣日為6月13日，此時植株之new shoot已達49公分，其假球莖開始膨大，進入假球莖出鞘期，取樣部位仍為原先葉片。取樣當日上午為晴朗天氣，9:00過後雲量時多時少，15:00有大雷雨，光度及葉溫明顯降低。 P_n 在8:00達最高值 $1.74 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，而於10:00下降至 $0.44 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，此時葉溫為 34.1°C ，光度為 $46.3 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (圖11)。12:00時 P_n 接近 $0 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，13:00-14:00有回復，15:00之後由於下大雷雨，光度

下降至 $10 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 左右， P_n 幾乎為 $0 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。由此次 P_n 日變化來看， P_n 除了受到葉溫升高而下降外，亦會因短時間內的光度增減而改變。全天氣孔導度皆不高，在8:00達一日最高值 $0.03 \text{ mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 後立即下降，10:00之後幾乎接近 $0 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。整日蒸散作用皆不高 (圖12)，但日變化曲線與氣孔導度相近，8:00達一日最高值 $0.36 \text{ mmol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，10:00蒸散作用降至 $0.09 \text{ mmol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，之後維持在 $0.2 \text{ mmol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 以下，直到17:00上升至 $0.28 \text{ mmol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。蒸氣壓差在7:00時為 1.1 kPa ，之後逐漸上升，至14:00達最高值 2.2 kPa ，15:00之後明顯下降。

(7)七月份

文心蘭植株new shoot假球莖出鞘後持續膨大充實，至7月11日時，假球莖長約10公分。取樣當天終日晴朗少雲，中午相當炎熱，氣溫達 37.5°C 以上，葉溫達 47°C 。 P_n 在8:00達最高值，為 $1.12 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，明顯低於其他月份之最高值(圖13)。10:00之後， P_n 幾乎接近 $0 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，下午葉溫仍高， P_n 沒有恢復現象，顯示當時天氣不利於文心蘭進行光合作用。全天氣孔導度均低於 $0.01 \text{ mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，9:00之後幾乎接近 $0 \text{ mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。蒸氣壓差於7:00時約 1.6 kPa (圖14)，之後持續上升，在13:00時達 6.4 kPa ，明顯高於其他月份。蒸散作用在8:00達最高值 $0.17 \text{ mmol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，11:00之後維持在 $0.1 \text{ mmol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 以下。當日同時進行葉綠素螢光的測定， F_v/F_m 於6:00時約 0.74 ，之後變化不大，12:00時降至 0.69 ，之後持續下降，在14:00下降至 0.59 ，為當日最低值。15:00後逐漸上升，18:00時回升至 0.7 (圖15)。

(8)八月份

此時文心蘭植株new shoot為假球莖成熟期。八月份為颱風季節，且常有午後雷陣雨，取樣在颱風過境後第三天進行，8月12日當天上午晴朗炎熱，13:00後有雷陣雨，此變化為當時常見的天氣型態。 P_n 在8:00達最高值 $2.8 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，10:00下降至 $0.85 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，12:00葉溫高達 40.8°C 以上，此時 P_n 已接近零，13:00之後，因下雨使光度驟降， P_n 維持在負值(圖16)。

相較於七月份，八月份文心蘭上午Pn值明顯較高，可能與當天上午氣溫未若7月11日熾熱有關。當天氣孔導度在7:00-8:00最高，達 $0.05 \text{ mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，10:00之後下降趨勢與Pn相近。整日蒸散作用同樣在8:00達最高值，而後變化趨勢與氣孔導度相近(圖17)。蒸氣壓差在12:00達2.9 kPa，下午因氣溫下降，蒸氣壓差有明顯下降，14:00之後維持在1.1 kPa左右。

(9)九月份

第九次取樣日為9月11日，當天終日晴朗。文心蘭Pn整天都不高，在6:00-9:00約維持在 $1 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 左右，10:00之後逐漸下降，而至12:00時，葉溫接近 $41 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ，光度達 $476 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，Pn已接近零，但下午有小幅回升，於16:00時達 $0.5 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (圖18)。全天氣孔導度均低於 $0.02 \text{ mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，最高點出現在7:00，之後逐漸下降，下午也沒有恢復現象。蒸散作用在7:00達最高值，之後逐漸下降，至中午接近零，下午則有小幅回升(圖19)。蒸氣壓差在10:00之後都維持在2.5 kPa以上，12:00達最高值3.82 kPa。

(10)十月份

第十次取樣日為10月10日，此時文心蘭植株new shoot已萌發下一代新芽，試驗取樣則仍取原來的L2葉片。十月份連續數星期為陰雨天，取樣當天為陰天，時有細雨，但不致使光度大幅下降。當日植株葉溫變化不大，約 $24\text{-}28 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 。當日Pn為明顯的雙峰類型，且Pn變化趨勢與光度趨勢相近(圖20)。6:30時，Pn為 $0.37 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，之後逐漸上升，在10:00達最高值 $2.3 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。12:00時，光度下降，Pn也降至 $1.14 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，13:00-14:00約維持在 $0.6 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，此時光度為 $85 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。15:00時，光度上升至 $105 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，Pn也增加至 $1.58 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，為下午的高峰。氣孔導度日變化與Pn相近，但下午恢復程度不大。全日蒸氣壓差變化不大，約維持在0.8-1.1 kPa (圖21)。蒸散作用日變化與氣孔導度相近，10:00達最高值 $0.42 \text{ mmol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，下午有些微回復。

(11)十一月份

十一月份時序雖已進入冬季，但中午的氣溫時常高達 28°C 以上。取樣日為11月7日，當天早上天氣晴朗炎熱，13:00過後轉為多雲。文心蘭Pn在6:00為 $-0.05 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，之後逐漸上升，在9:00達最高值 $2 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，10:00降至 $0.53 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，此時葉溫為 33.6°C ，光度為 $320 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (圖22)。文心蘭Pn在11:00-14:00皆接近零，此時最高光度為 $447 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，葉溫最高為 38.1°C 。Pn在15:00恢復至 $0.63 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，此時葉溫為 31.5°C ，光度為 $86 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。氣孔導度在8:00達最高值 $0.03 \text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，10:00下降至接近零，之後變化不大，下午也沒有明顯恢復現象。蒸散作用在6:00時約 $0.14 \text{mmol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，之後逐漸上升，至9:00達最高值 $0.33 \text{mmol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，10:00下降至 $0.1 \text{mmol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，11:00-14:00皆接近零，15:00恢復至 $0.06 \text{mmol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (圖23)。蒸氣壓差在6:00-8:00約維持在 0.9kPa 左右，9:00後逐漸上升，至12:00達最高值 2.5kPa ，之後緩慢下降，15:00時已降至 1.6kPa 。

(12)十二月份

十二月份中旬過後，接連有數波強烈冷氣團，氣溫明顯較十一月份低。十二月份取樣日為12月19日，當日受寒流影響，植株葉溫皆低於 15°C ，光度也低於 $100 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，屬於陰天的天氣型態。文心蘭淨光合作用日變化屬於單峰形式，明顯受到光度變化影響。6:00-8:00這段期間，光度低於 $10 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，文心蘭Pn皆為負值，直到9:00，光度升高至 $23 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，Pn才上升至 $0.23 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (圖24)。9:00之後，Pn持續上升，至11:00達最高值 $1.6 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，之後維持在 $1.1 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 以上。16:00時，光度下降至 $7 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，Pn也明顯下降至 $0.4 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。氣孔導度在9:00之前均為負值，直至10:00才上升至 $0.02 \text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，12:00有輕微下降，15:00上升至 $0.03 \text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。蒸氣壓差整日變化不大，維持在 $0.5-0.7 \text{kPa}$ 之間，蒸散作用日變化曲線則與氣孔導度趨勢相近(圖25)。

(13)各月份之比較

週年試驗中，僅在一月份及十二月份測得文心蘭淨光合作用速率日變化為單峰，其餘月份多為雙峰形式，而在七月份及八月份，下午並沒有恢復情形。比較淨光合作用高峰時間點，六到九月份的高峰時間較為提前，顯示光合作用在上午已受到高溫抑制(表1)。下午的高峰時間點以二至四月較提前，二至五月下午恢復程度明顯。下降時間點的溫度及光度方面，二月份時，文心蘭淨光合作用在葉溫超過 26.2°C 有明顯下降，六月份時，下降點的葉溫為 34.1°C ，十一月份下降點的葉溫為 33.6°C ，顯示文心蘭對熱的耐受性會因季節改變而有馴化現象(表2)。在此試驗中，由於有架設遮陰網來使最高光度小於 $500\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，故光度應非造成文心蘭光合作用午休現象的原因。各月份取樣日的平均光合作用以二、三月份最高，文心蘭光合作用在此兩月份雖有午休現象，但下午恢復力佳。七月份及九月份平均光度雖高，但在適合文心蘭光合作用之範圍，而過高的葉溫使文心蘭淨光合作用明顯受抑制(圖26)。

將一月份、三月份及七月份的結果作相關性分析，一月份結果顯示淨光合作用與光度有顯著相關($R^2=0.94$)，與葉溫及蒸氣壓差的關聯性不顯著(圖27)。三月份結果顯示淨光合作用與光度的關係可分為兩部分，在沒有午休現象的時間點，淨光合作用與光度有正向相關($R^2=0.69$)，另一部分為午休現象發生的時間點區域，光度的提升並未提高淨光合作用(圖28A)。從葉溫及蒸氣壓差對淨光合作用的關係圖趨勢相近，當葉溫超過 33°C ，蒸氣壓差超過 $3\ \text{kPa}$ 時，文心蘭淨光合作用有明顯下降(圖28B、圖28D)。淨光合作用速率隨氣孔導度增加而遞增(圖28C)，兩者之間存在二次曲線的相關($R^2=0.87$)，當氣孔導度大於 $0.06\ \text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 以上，淨光合作用速率沒有明顯變化。七月份相關性分析方面，淨光合作用與光度間沒有明顯的關係趨勢(圖29A)，但淨光合作用與葉溫及蒸氣壓差間為負向關係，當葉溫超過 40°C ，蒸氣壓差超過 $3\ \text{kPa}$ 時，文心蘭淨光合作用即下降至接近負值(圖29B、圖29D)，而當日氣孔導度均不高，然由關係圖仍可得知氣孔導度與淨光合

作用速率間為正向關係(圖29C)。

二、不同光度對文心蘭光合作用及Rubisco酵素活性之影響

試驗結果顯示文心蘭光合作用、氣孔導度、Rubisco初始活性及酵素活性比例隨光度增加而提高。當光度由0 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 提高至600 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，文心蘭淨光合作用速率由-0.64 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 提高至3.43 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，氣孔導度由0.004 $\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 提升至0.05 $\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (圖30)，Rubisco初始活性由12.7 $\mu\text{mol}\cdot\text{mg chl}^{-1}\cdot\text{hr}^{-1}$ 提升至18.2 $\mu\text{mol}\cdot\text{mg chl}^{-1}\cdot\text{hr}^{-1}$ ，Rubisco activation從68%提高至92% (圖31)。其中，文心蘭淨光合作用在光度為400 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 時已達光飽和，當光度由400 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 提升至500 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，甚至600 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，各光度間的淨光合作用速率並沒有明顯差異。

文心蘭植株在光度為100 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 環境下，胞間二氧化碳濃度為157 $\mu\text{mol}\cdot\text{mol}$ (圖32)。在光度300 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 以上，胞間二氧化碳濃度有較高的數值，約194-218 $\mu\text{mol}\cdot\text{mol}$ 。

三、不同溫度對文心蘭光合作用及Rubisco酵素活性之影響

試驗結果顯示葉溫在30 $^{\circ}\text{C}$ 以下，以栽培於日夜溫15/13 $^{\circ}\text{C}$ 的文心蘭淨光合作用速率最高，約4 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。然栽培於15/13 $^{\circ}\text{C}$ 及25/20 $^{\circ}\text{C}$ 的文心蘭植株，淨光合作用速率在葉溫達33 $^{\circ}\text{C}$ 以上有明顯下降，當葉溫達39 $^{\circ}\text{C}$ 時，淨光合作用速率為負值。栽培於35/30 $^{\circ}\text{C}$ 的植株，淨光合作用於39 $^{\circ}\text{C}$ 時有明顯下降，但仍高於其他兩栽培溫度的測量值(圖35A)。

氣孔導度方面，三栽培溫度的植株，在22 $^{\circ}\text{C}$ 與26 $^{\circ}\text{C}$ 時氣孔導度最高(圖35B)，栽培於15/13 $^{\circ}\text{C}$ 及35/30 $^{\circ}\text{C}$ 的文心蘭植株，此時的氣孔導度約0.05 $\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，栽培於25/20 $^{\circ}\text{C}$ 者稍低，約0.03-0.04 $\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。當葉溫為33 $^{\circ}\text{C}$

時，栽培於15/13 °C及25/20 °C的文心蘭植株，其氣孔導度明顯下降，分別為0.02 mol·m⁻²·s⁻¹與0.01 mol·m⁻²·s⁻¹，此時栽培於35/30 °C者仍有0.04 mol·m⁻²·s⁻¹。三栽培溫度的植株，氣孔導度在39 °C時均接近0 mol·m⁻²·s⁻¹，但仍以栽培於35/30 °C的植株氣孔導度較高。

Rubisco初始活性以栽培於15/13 °C的植株較高，栽培於25/20 °C的植株最低(圖36A)。栽培於15/13 °C及25/20 °C的文心蘭植株，Rubisco初始活性在33 °C時並未有下降現象，直到39 °C才有大幅度下降。若換算為Rubisco activation，可以更明確看出溫度對Rubisco的影響：栽培於15/13 °C及25/20 °C的文心蘭植株，其Rubisco activation在22 °C時較高，約85%，之後隨溫度升高而下降，於39 °C時已下降至50%左右。栽培於35/30 °C的植株在低溫的Rubisco activation其他兩栽培組低，約75-80%，但溫度升高對Rubisco activation改變不大，於39 °C仍維持在71% (圖36B)。

各測試溫度環境之溼度沒有明顯差異，約維持在67%-75%。蒸氣壓差則隨溫度增加而提高，當溫度由22 °C增加至39 °C時，蒸氣壓差由0.7 kPa增加至2.4 kPa，三栽培溫度間沒有顯著差異(圖39)。

四、文心蘭光合作用與Rubisco酵素活性的日變化

(1)九月份取樣

試驗日期為2009年9月24日，文心蘭淨光合作用速率從6:00逐漸上升，8:00有最高值約2 μmol·m⁻²·s⁻¹。10:00時葉溫已達37.3 °C，此時淨光合作用下降至0.6 μmol·m⁻²·s⁻¹，之後持續下降(圖41A)。12:00時，文心蘭淨光合作用速率已接近0 μmol·m⁻²·s⁻¹，此時葉溫及光度均為一日最高值，分別為40.4 °C及457 μmol·m⁻²·s⁻¹(圖41B)。15:00時淨光合作用值仍低，未有回復現象，顯示光合午休現象極為嚴重。氣孔導度於一日的變化趨勢與淨光合作用接近。

文心蘭Rubisco activation於4:00時約為66%，6:00時下降至58%，之後逐漸上升，於8:00時達光期最高值，約71%。10:00之後開始下降，15:00時

出現一日最低值，約50%。18:00之後，因Rubisco初始活性上升(圖42)，Rubisco activation逐漸上升，於24:00時達83%(圖41C)。

文心蘭之Rubisco初始活性在4:00時為 $19.7 \mu\text{mol}\cdot\text{mg chl}^{-1}\cdot\text{hr}^{-1}$ ，6:00時降為 $15.2 \mu\text{mol}\cdot\text{mg chl}^{-1}\cdot\text{hr}^{-1}$ ，之後維持在 $14\text{-}16 \mu\text{mol}\cdot\text{mg chl}^{-1}\cdot\text{hr}^{-1}$ 間，中午及下午之初始活性則明顯下降(圖42)，約降至 $11.7 \mu\text{mol}\cdot\text{mg chl}^{-1}\cdot\text{hr}^{-1}$ ，18:00之後有上升現象，暗期初始活性約維持在 $20\text{-}22 \mu\text{mol}\cdot\text{mg chl}^{-1}\cdot\text{hr}^{-1}$ 間。文心蘭之Rubisco總活性一日變化不大，4:00時總活性為 $29.6 \mu\text{mol}\cdot\text{mg chl}^{-1}\cdot\text{hr}^{-1}$ ，光期之後約維持在 $22\text{-}24 \mu\text{mol}\cdot\text{mg chl}^{-1}\cdot\text{hr}^{-1}$ 間。

(2)一月份取樣

試驗日期為2010年1月13日，當天寒流來襲，但白天時天氣晴朗，日夜溫差很大，清晨植株葉溫約 8.6°C ，而中午達 23.8°C 。文心蘭淨光合作用日變化為單峰形式，沒有午休現象發生(圖43A)。淨光合作用速率從6:00逐漸上升，10:00有最高值約 $4 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，此時葉溫約 18.6°C ，光度約 $300 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (圖43B)。12:00時，文心蘭淨光合作用速率仍高，達 $3.62 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，此時葉溫及光度均為一日最高值，分別為 23.8°C 及 $419 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。15:00時，光度下降至 $146 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，文心蘭淨光合作用值下降至 $2.38 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，此時葉溫約 21.4°C 。18:00時，因光度已下降至 $0 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，文心蘭淨光合作用速率也接近零。

氣孔導度於7:00之後逐漸上升，至12:00達最高值，為 $0.03 \text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，下午隨光度下降而逐漸降低。文心蘭之Rubisco activation於4:00至8:00沒有太大變化，約維持在70%左右。10:00時，Rubisco activation明顯上升至82%，12:00及15:00出現一日最高值，約86-87%。18:00時，因Rubisco初始活性下降(圖44)，Rubisco activation下降至73%，於24:00時達65% (圖43C)。

文心蘭Rubisco初始活性在4:00至6:00時約維持在 $30 \mu\text{mol}\cdot\text{mg chl}^{-1}\cdot\text{hr}^{-1}$ (圖44)。7:00及8:00有些微下降，但之後逐漸上升，至10:00達 $32 \mu\text{mol}\cdot\text{mg chl}^{-1}\cdot\text{hr}^{-1}$ 。文心蘭Rubisco初始活性在12:00至15:00達一日最高值，約39-41

$\mu\text{mol}\cdot\text{mg chl}^{-1}\cdot\text{hr}^{-1}$ 。18:00時，Rubisco初始活性降至 $29 \mu\text{mol}\cdot\text{mg chl}^{-1}\cdot\text{hr}^{-1}$ 。24:00時，Rubisco初始活性約為 $28 \mu\text{mol}\cdot\text{mg chl}^{-1}\cdot\text{hr}^{-1}$ 。文心蘭Rubisco總活性在暗期改變不大，在光期則有與初始活性相近的變化趨勢，此與九月份(圖42)測得之總活性一日間無明顯變化的結果不相同。7:00至8:00時，總活性約為 $35\text{-}36 \mu\text{mol}\cdot\text{mg chl}^{-1}\cdot\text{hr}^{-1}$ ，之後逐漸上升，12:00至15:00達一日最高值，約 $45\text{-}47 \mu\text{mol}\cdot\text{mg chl}^{-1}\cdot\text{hr}^{-1}$ 。18:00時，總活性下降至 $40 \mu\text{mol}\cdot\text{mg chl}^{-1}\cdot\text{hr}^{-1}$ ，暗期約維持在 $40\text{-}44 \mu\text{mol}\cdot\text{mg chl}^{-1}\cdot\text{hr}^{-1}$ 間。

(3)九月份及一月份文心蘭葉片內蛋白質分析

蛋白質分析結果顯示，不論是一月份或九月份的文心蘭葉片，一日內從早晨到下午Rubisco的蛋白質含量都無明顯變化(圖45、圖46A、圖46C)。文心蘭Rubisco activase (圖46B、圖46D)有兩個 polypeptides (RCA_L ， RCA_S)，大小分別為47與45kD。與Rubisco蛋白質不同的是activase的 RCA_L 及 RCA_S 蛋白質含量在一天內有很大的變化。6:00時，可偵測到 RCA_S ，之後逐漸下降，但過了中午以後至18:00，含量逐漸增加；有趣的是 RCA_L 的蛋白質於上午偵測不到，中午開始至18:00，含量逐漸累積。

(4)三月份取樣

取樣時間為2010年3月19日，當天整日晴朗，但日夜溫差明顯。早晨微涼，葉溫約 17.2°C ；中午炎熱，葉溫達 36.6°C ；傍晚氣溫下降至 26.6°C 。文心蘭淨光合作用日變化為雙峰形式，有午休現象發生(圖46A)。淨光合作用速率從6:00逐漸上升，8:00有最高值約 $3.16 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，此時葉溫約 21°C ，光度約 $65 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。之後葉溫及光度持續上升(圖46B)，10:00時，葉溫上升至 30°C ，光度上升至 $232 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，文心蘭淨光合作用下降至 $1.8 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。12:00時，文心蘭淨光合作用已降至 $0.1 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，此時葉溫及光度均為一日最高值，分別為 31°C 及 $441 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。15:00時，光度下降至 $199 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，文心蘭淨光合作用值回復至 $1 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，此時葉溫約 35.1°C 。之後淨光合作用隨光度減少而下降。

文心蘭氣孔導度日變化與淨光合作用趨勢相近，於6:00之後逐漸上升，至8:00達最高值，約 $0.06 \text{ mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，10:00之後明顯下降，中午下降至 $0 \text{ mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，下午有輕微回復(圖46A)。文心蘭Rubisco activation一日之間沒有太大變化，約維持在60%-70%左右(圖46C)。文心蘭Rubisco初始活性及總活性整日無明顯變化，僅在18:00及20:00有稍高的現象(圖47)。

五、不同天候對文心蘭光合作用之影響

第一天為多雲時晴的天氣型態，光度因雲量變化而不穩定，文心蘭光合作用日變化亦呈現波動的現象(圖49 A)。7:00時，文心蘭淨光合作用速率約 $0.5 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，至9:00時，光度上升至 $123 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，淨光合作用達一日最高值 $1.8 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。10:00時，雲量增多，光度下降至 $44 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，淨光合作用下降至 $0 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，11:00時，光度上升至 $147 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，淨光合作用上升至 $1.3 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，12:00時，淨光合作用再度下降至負值，此時葉溫較11:00時低，淨光合作用的下降應為光度下降所引起。13:00時，文心蘭淨光合作用恢復至 $0.7 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，之後變動不大，但因光度不高，淨光合作用數值並不高。氣孔導度日變化與淨光合作用趨勢相近，同樣受光度變動而起伏。本日葉溫在8:00之後，約維持在 $31\text{-}33^\circ\text{C}$ 間，變動幅度不大，由第一天之結果顯示淨光合作用日變化受到光度影響較葉溫大。

第二天為晴時多雲的天氣型態，葉溫及光度較第一天高，文心蘭光合作用日變化出現午休現象，且抑制程度明顯，下午沒有恢復(圖49 B)。6:00時，文心蘭淨光合作用速率約 $1 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，之後緩慢上升，於9:00時達一日最高值 $1.4 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，此時光度約 $208 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，葉溫約 34°C 。10:00時，葉溫上升至 38°C ，光度約 $320 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，文心蘭淨光合作用速率下降至接近零，直到18:00都沒有回復。中午光度雖因雲量改變而有波動，但對淨光合作用速率改變不大。文心蘭葉溫從10:00至16:00均高於 36°C ，可

能是導致文心蘭淨光合作用速率下降的主因。氣孔導度日變化與淨光合作用趨勢相近，6:00-8:00約維持在 $0.03 \text{ mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，9:00時下降至 $0.02 \text{ mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，10:00之後下降至接近零值，之後同樣沒有回復。

第三天為晴朗天氣，但上午有日蝕現象，葉溫與光度稍有改變，影響了文心蘭光合作用。6:00時，文心蘭淨光合作用速率約 $1.3 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，於8:00時達一日最高值 $1.4 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，此時光度約 $116 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，葉溫約 32°C (圖49C)。9:00時，文心蘭淨光合作用速率略微下降至 $1.1 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。接近10:00時，開始發生日蝕，使原本持續上升的光度回復至9:00時的數值，原本持續上升的葉溫亦略微下降，此時光合作用速率維持在 $1.1 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。日蝕現象於11:00前結束，光度上升至 $226 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，葉溫上升至 37°C ，文心蘭淨光合作用立即下降至 $0.6 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。12:00時，光度上升至 $352 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，葉溫上升至 39°C ，文心蘭淨光合作用下降至負值，直至16:00時，葉溫下降至 35°C ，文心蘭淨光合作用才有回復現象，但恢復情況不佳。整日氣孔導度均不高，6:00-10:00之間，氣孔導度僅 $0.01-0.02 \text{ mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，11:00之後均接近 $0 \text{ mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。

表 1.文心蘭各月份光合作用日變化的高低峰時間點、當日最高溫度及最高光度值。

Table 1. Time of the first peak, the lowest point, and the second peak of net photosynthesis parameters in *Oncidium* Gower Ramsey, max temperature, and max light intensity of hourly changes in different months.

Month	Time of daily maximum	Time of the lowest point during MD	Time of the second peak	Max T _{leaf} (°C)	Max T _{air} (°C)	Max light intensity (μmol·m ⁻² ·s ⁻¹)	Diurnal photosynthetic pattern
Jan.	11:00	-	-	12.4	10.7	56	No MD ^z
Feb.	10:00	13:00	14:00	29.2	23.3	209	MD
Mar.	9:00	12:00	14:00	34.7	31.7	262	MD
Apr.	8:00	11:00	14:00	37.0	31.9	211	MD
May	9:00	12:00	15:00	36.9	33.8	217	MD
June	8:00	12:00	14:00	37.0	33.0	69	MD
July	8:00	10:00-18:00	-	47.0	37.9	433	MD, no recovery
Aug.	8:00	12:00-18:00	-	40.8	36.5	409	MD, no recovery
Sep.	7:00	12:00	16:00	41.0	36.9	476	MD
Oct.	11:00	13:00	15:00	28.0	25.7	137	MD
Nov.	9:00	11:00-14:00	15:00	38.1	28.3	448	MD
Dec.	11:00	-	-	13.5	12.0	53	No MD

^zMD: Midday depression; No MD: Midday depression not observed; MD, no recovery: severe midday depression without recovery in the afternoon; -: not observed during the day; T_{leaf}: leaf temperature; T_{air}: air temperature

表 2. 文心蘭各月份光合作用日變化的下降時間點、下降點的溫度及光度值。

Table 2. Time of the occurrence of photosynthetic decline, temperature and light intensity at the start of midday depression of photosynthesis in *Oncidium* Gower Ramsey in different months.

Month	Time of decline during MD	T _{leaf} at start of decline during MD (°C)	T _{air} at start of decline during MD (°C)	VPD at start of decline during MD (kPa)	Light intensity at the start of decline during MD (μmol·m ⁻² ·s ⁻¹)	Diurnal photosynthetic pattern
Jan.	-	-	-	-	-	No MD ^z
Feb.	11:00	26.2	21.6	2.1	209	MD
Mar.	11:00	33.9	28.3	3.1	230	MD
Apr.	10:00	33.3	29.8	1.5	148	MD
May	11:00	36.5	33.6	2.1	169	MD
June	10:00	34.1	30.8	1.5	46	MD
July	10:00	42.7	34.9	4.0	223	MD, no recovery
Aug.	10:00	38.1	34.5	2.0	409	MD, no recovery
Sep.	10:00	36.4	32.6	2.4	184	MD
Oct.	12:00	27.8	25.4	0.9	109	MD
Nov.	10:00	33.6	25.9	1.7	320	MD
Dec.	-	-	-	-	-	No MD

^zMD: Midday depression; No MD: Midday depression not observed; MD, no recovery: severe midday depression without recovery in the afternoon; -: not observed during the day; T_{leaf}: leaf temperature; T_{air}: air temperature

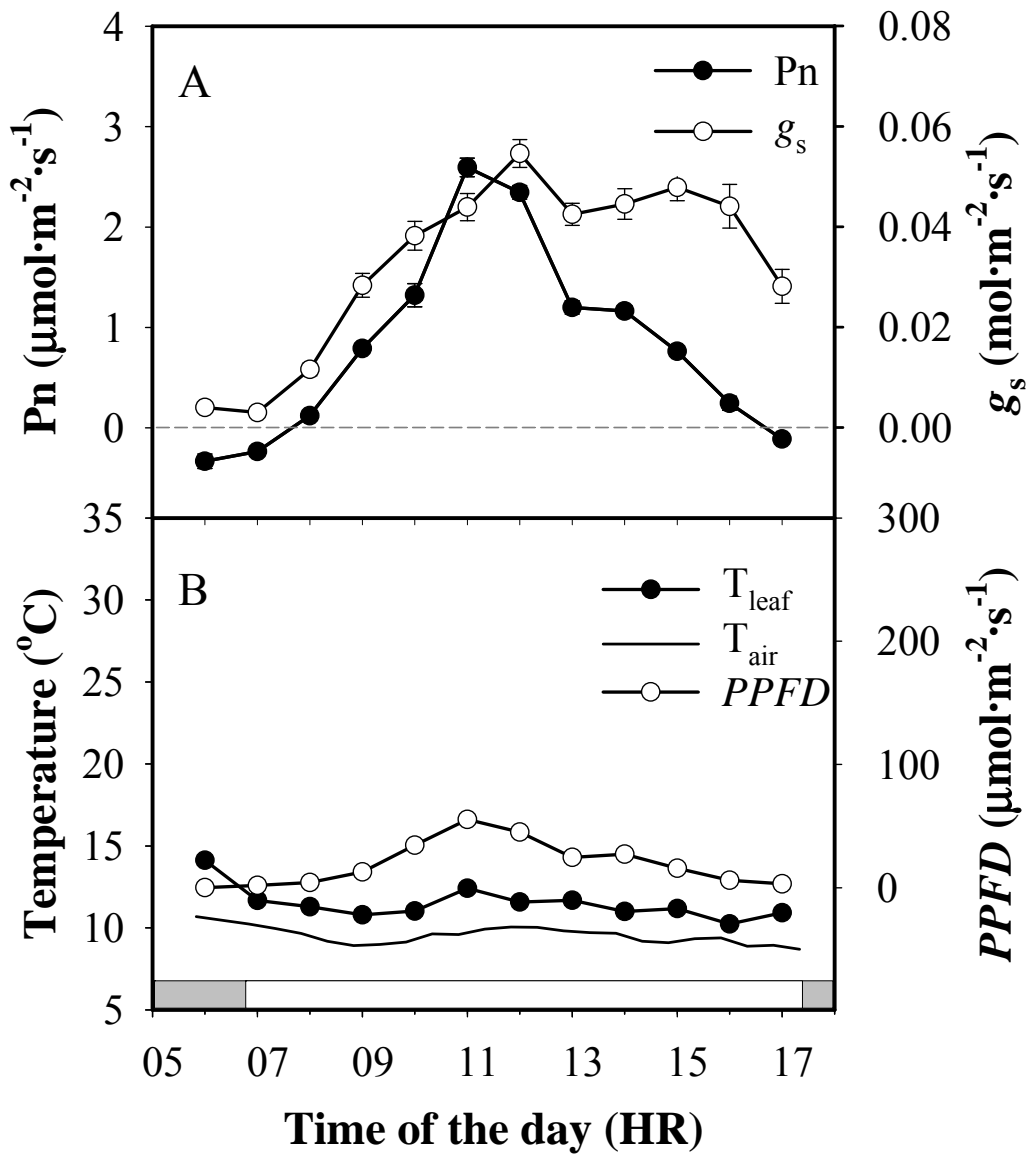


圖 1. 週年試驗中，一月份所測得之文心蘭光合作用日變化 (24 Jan., 2009)。

Fig. 1. Hourly changes of photosynthetic parameters in *Oncidium* Gower Ramsey on 24 Jan., 2009. Pn: net photosynthetic rate, g_s : stomatal conductance, T_{leaf} : leaf temperature, T_{air} : air temperature.

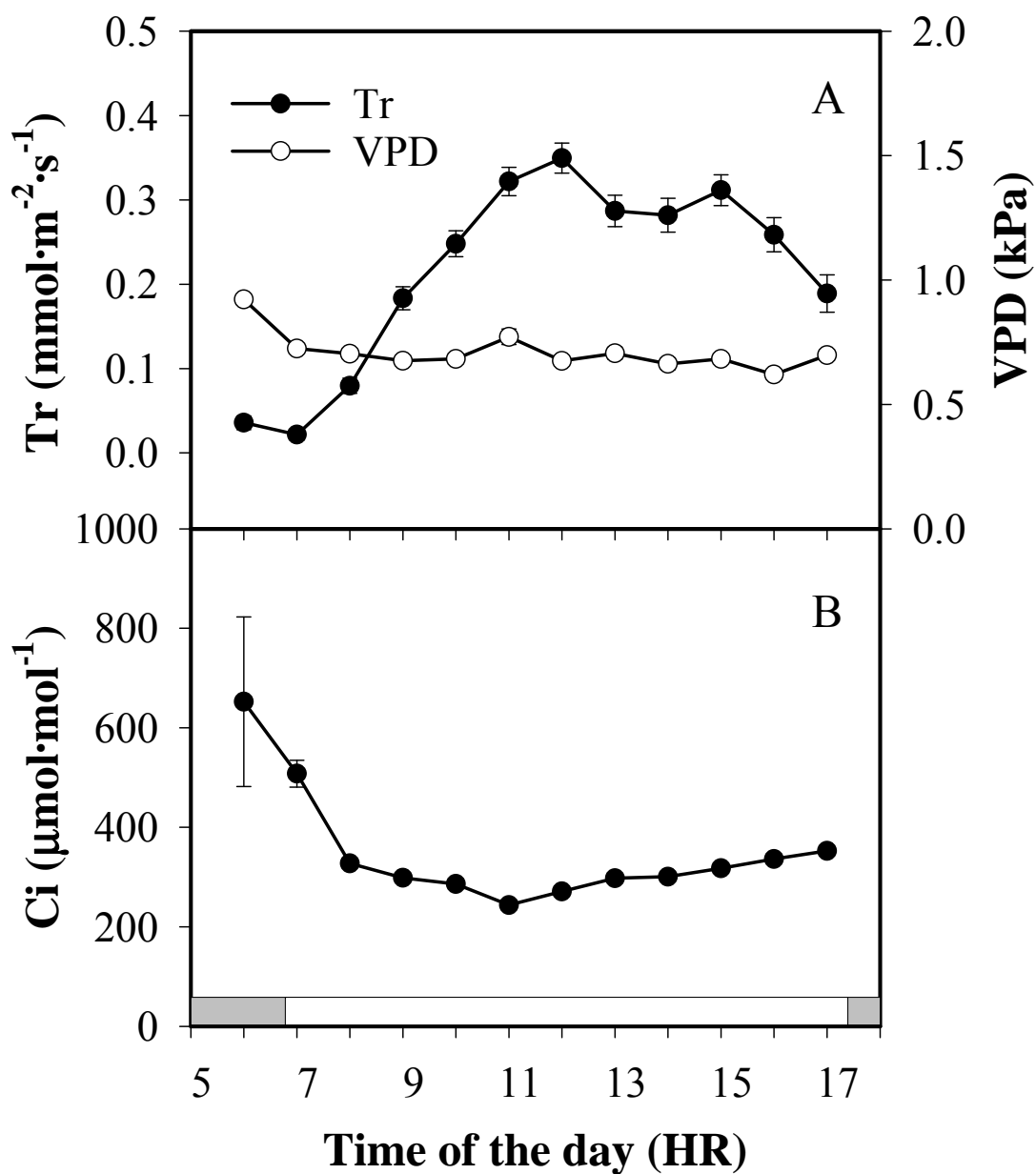


圖 2. 週年試驗中，一月份所測得之文心蘭蒸散作用、蒸氣壓差以及胞間二氧化碳濃度日變化 (24 Jan., 2009)。

Fig. 2. Hourly changes of photosynthetic parameters in *Oncidium* Gower Ramsey on 24 Jan., 2009. Tr: transpiration rate, VPD: vapor pressure deficit based on leaf temperature, Ci: intercellular CO_2 concentration.

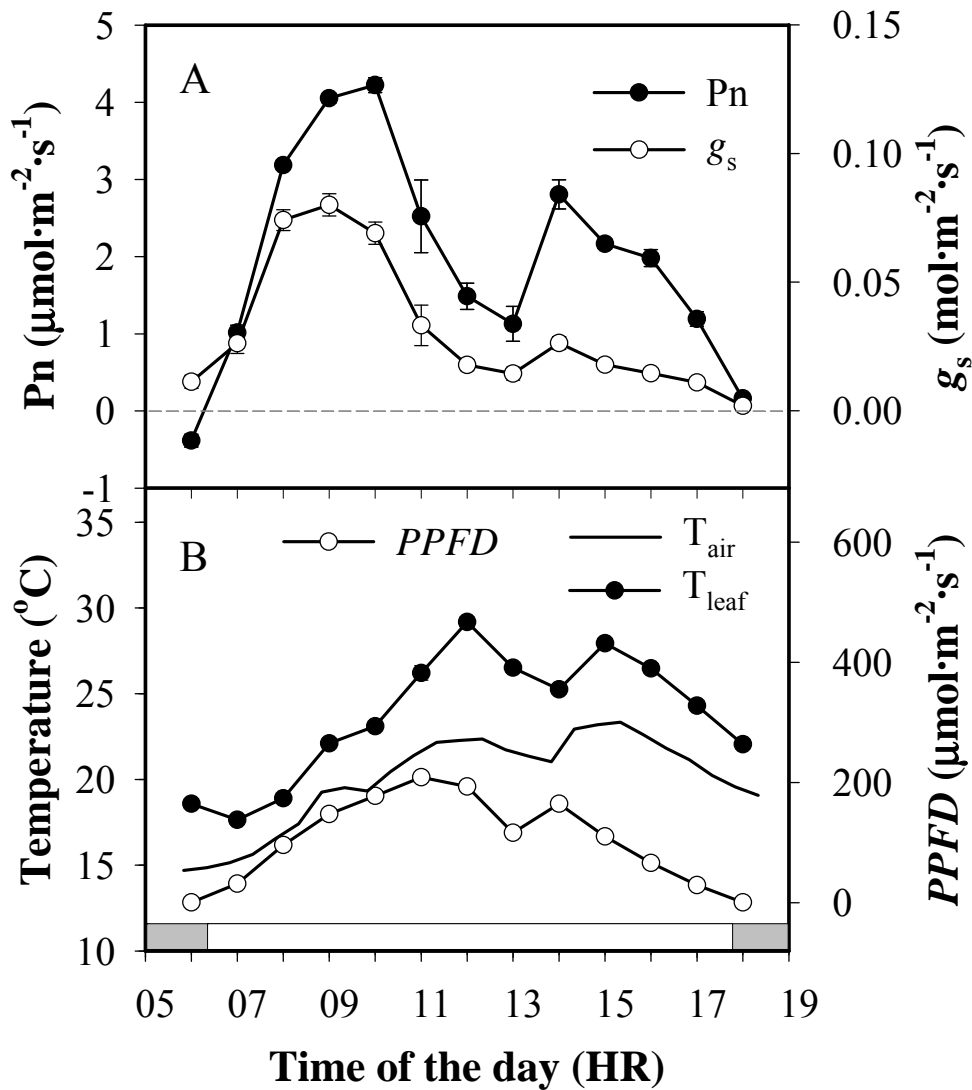


圖 3. 週年試驗中，二月份所測得之文心蘭光合作用日變化 (21 Feb., 2009)。

Fig. 3. Hourly changes of photosynthetic parameters in *Oncidium* Gower Ramsey on 21 Feb., 2009. Pn: net photosynthetic rate, g_s : stomatal conductance, T_{leaf} : leaf temperature, T_{air} : air temperature.

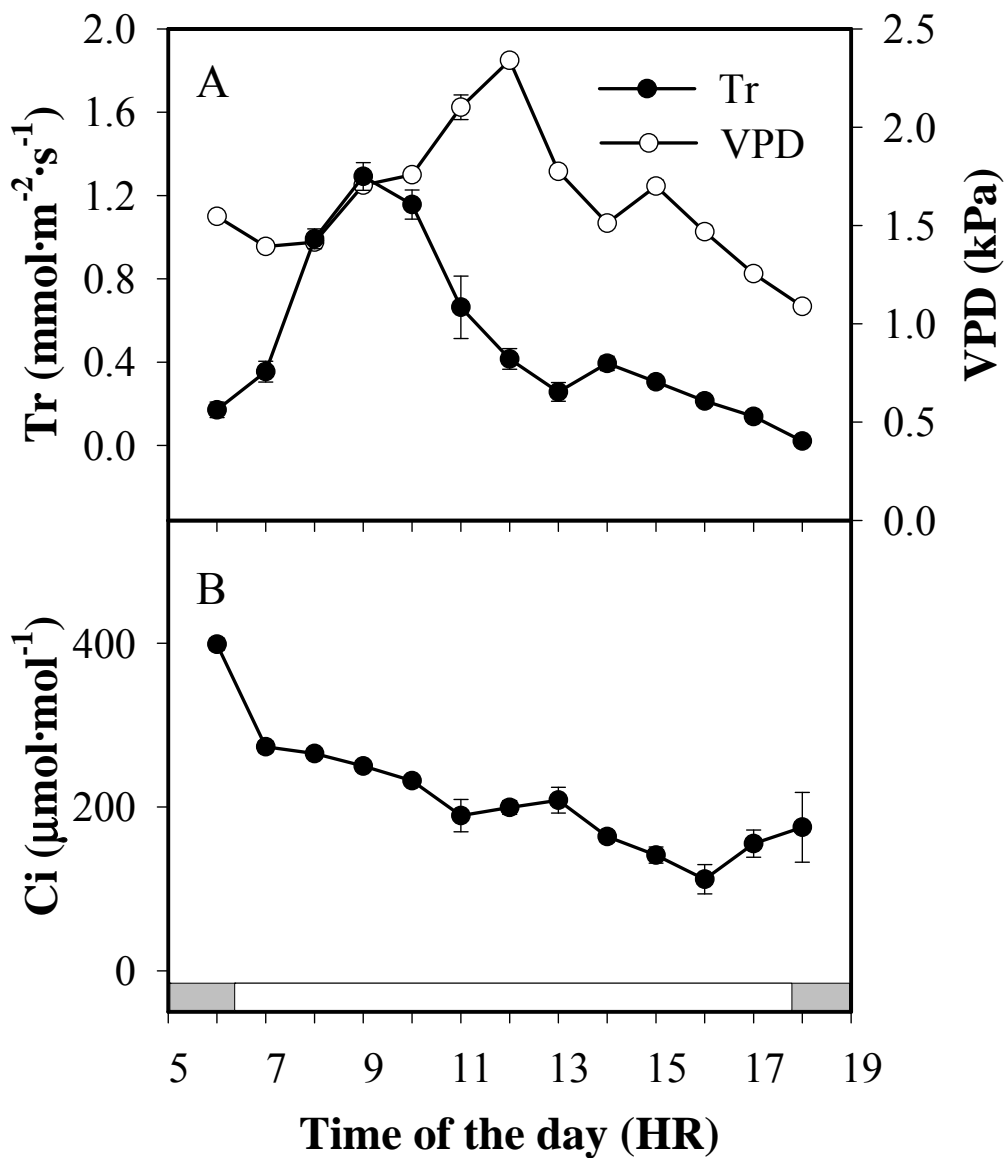


圖 4. 週年試驗中，二月份所測得之文心蘭蒸散作用、蒸氣壓差以及胞間二氧化碳濃度日變化 (21 Feb., 2009)。

Fig. 4. Hourly changes of photosynthetic parameters in *Oncidium* Gower Ramsey on 21 Feb., 2009. Tr: transpiration rate, VPD: vapor pressure deficit based on leaf temperature, Ci: intercellular CO_2 concentration.

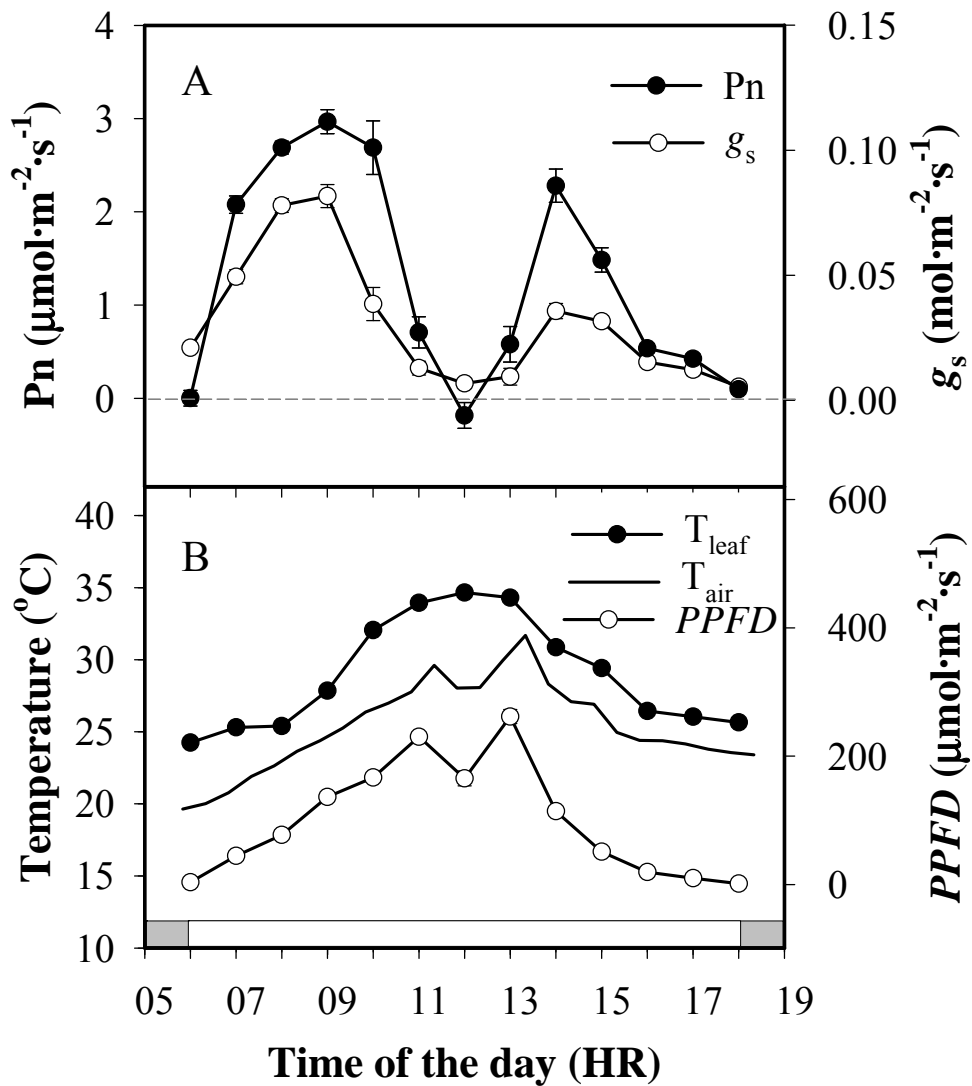


圖 5. 週年試驗中，三月份所測得之文心蘭光合作用日變化 (21 Mar., 2009)。

Fig. 5. Hourly changes of photosynthetic parameters in *Oncidium Gower Ramsey* on 21 Mar., 2009. Pn: net photosynthetic rate, g_s : stomatal conductance, T_{leaf} : leaf temperature, T_{air} : air temperature.

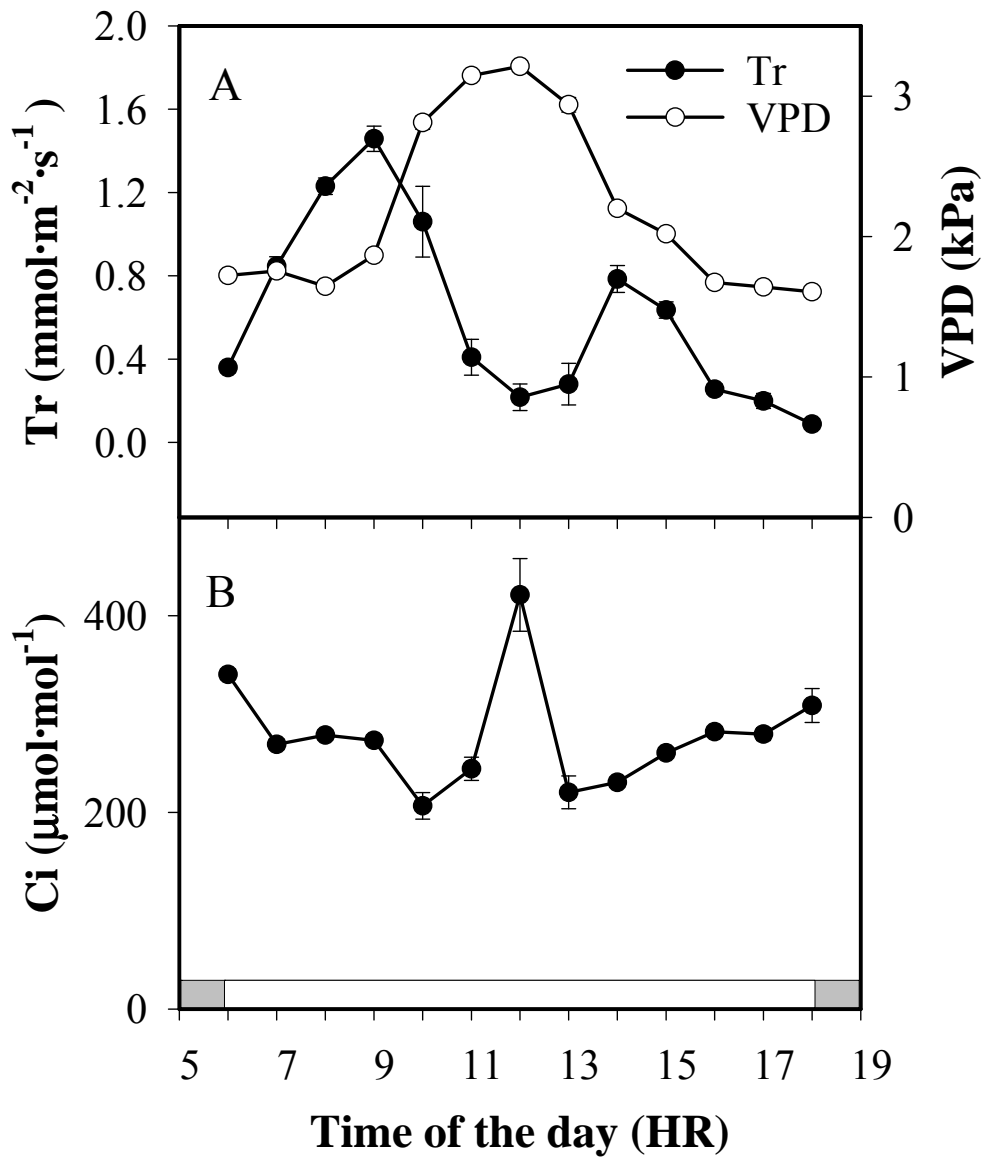


圖 6. 週年試驗中，三月份所測得之文心蘭蒸散作用、蒸氣壓差以及胞間二氧化碳濃度日變化 (21 Mar., 2009)。

Fig. 6. Hourly changes of photosynthetic parameters in *Oncidium* Gower Ramsey on 21 Mar., 2009. Tr: transpiration rate, VPD: vapor pressure deficit based on leaf temperature, Ci: intercellular CO_2 concentration.

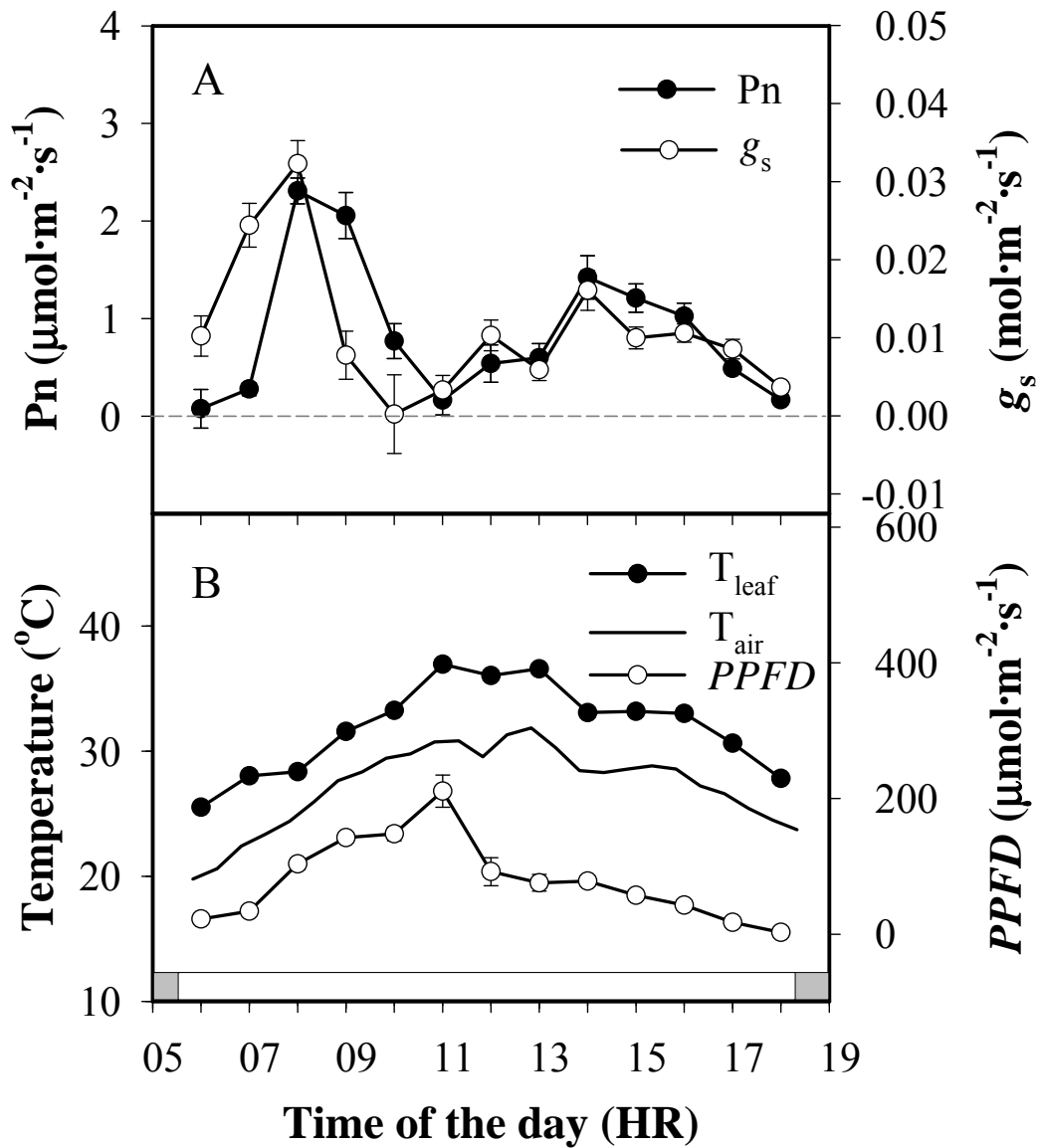


圖 7. 週年試驗中，四月份所測得之文心蘭光合作用日變化 (18 Apr., 2009)。

Fig. 7. Hourly changes of photosynthetic parameters in *Oncidium* Gower Ramsey on 18 Apr., 2009. Pn: net photosynthetic rate, g_s: stomatal conductance, T_{leaf}: leaf temperature, T_{air}: air temperature.

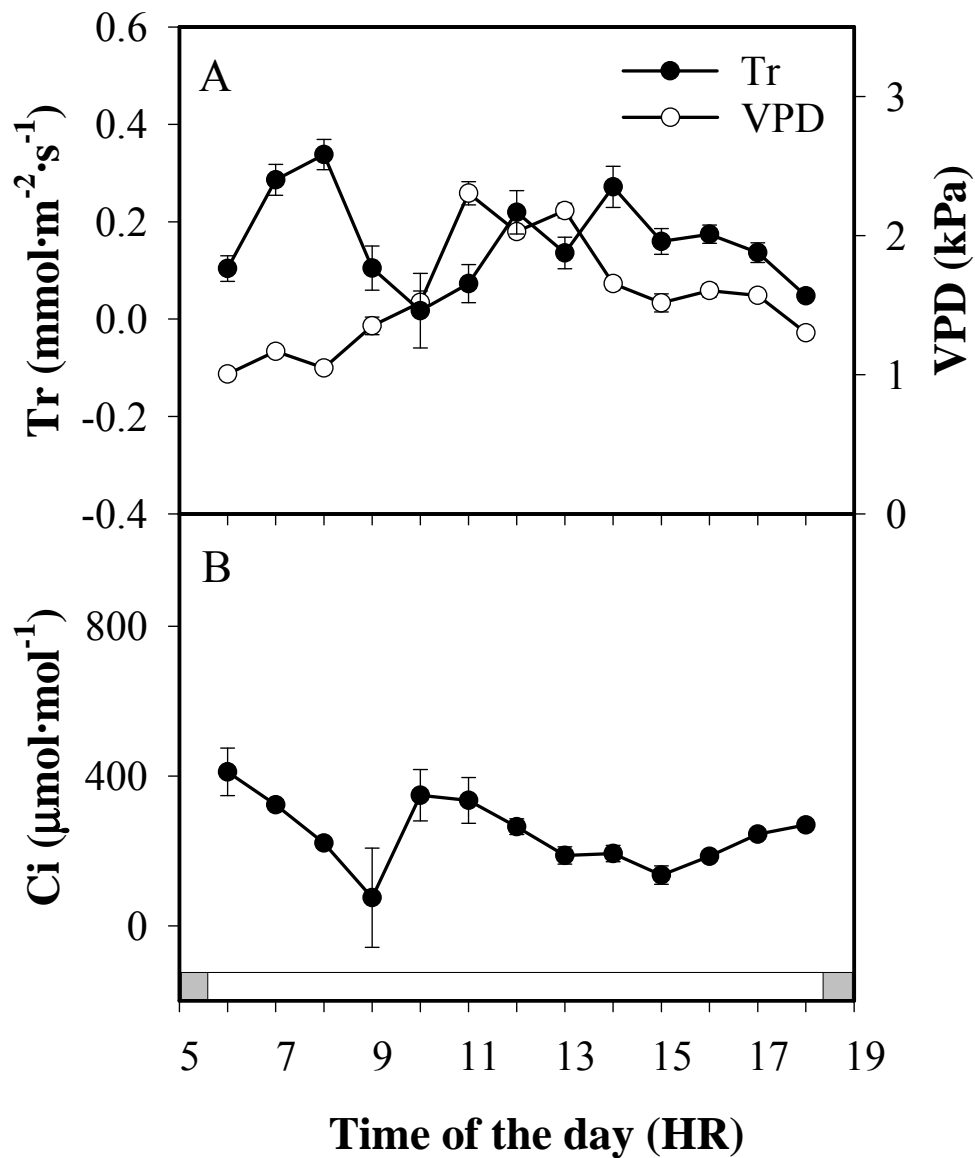


圖 8. 週年試驗中，四月份所測得之文心蘭蒸散作用、蒸氣壓差以及胞間二氧化碳濃度日變化 (18 Apr., 2009)。

Fig. 8. Hourly changes of photosynthetic parameters in *Oncidium* Gower Ramsey on 18 Apr., 2009. Tr: transpiration rate, VPD: vapor pressure deficit based on leaf temperature, Ci: intercellular CO_2 concentration.

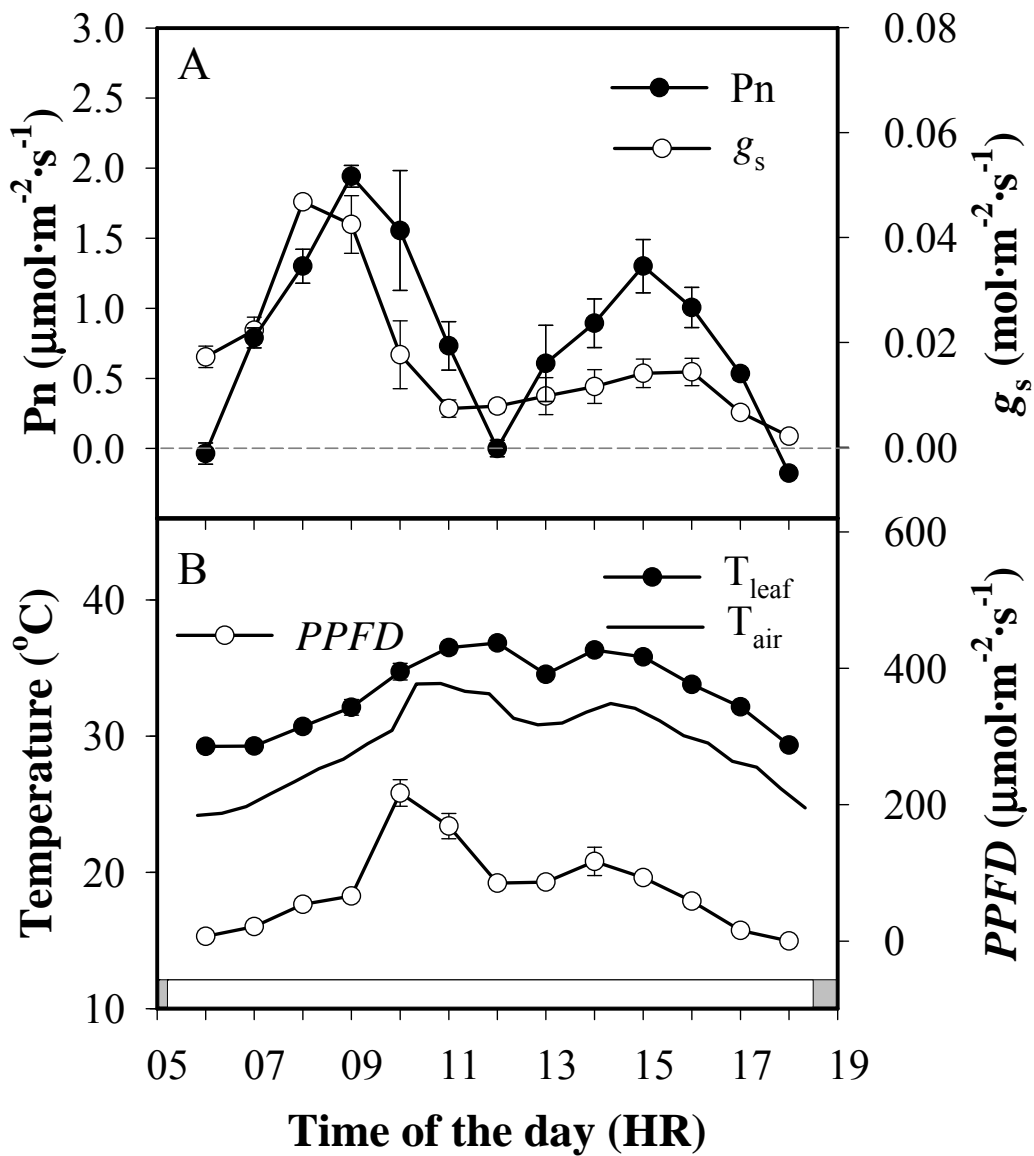


圖 9. 週年試驗中，五月份所測得之文心蘭光合作用日變化 (17 May, 2009)。

Fig. 9. Hourly changes of photosynthetic parameters in *Oncidium* Gower Ramsey on 17 May, 2009. Pn: net photosynthetic rate, g_s : stomatal conductance, T_{leaf} : leaf temperature, T_{air} : air temperature.

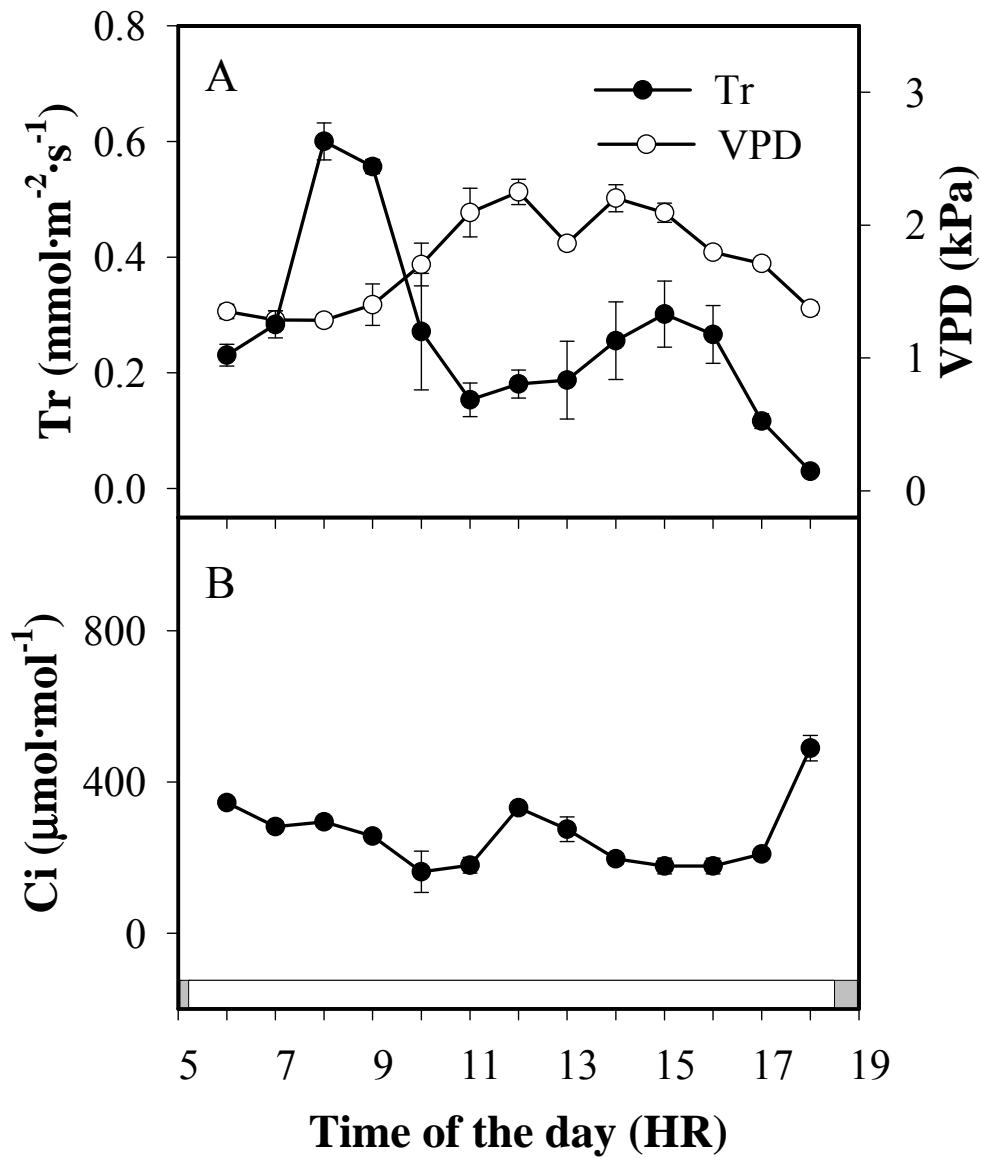


圖 10. 週年試驗中，五月份所測得之文心蘭蒸散作用、蒸氣壓差以及胞間二氧化碳濃度日變化 (17 May, 2009)。

Fig. 10. Hourly changes of photosynthetic parameters in *Oncidium* Gower Ramsey on 17 May, 2009. Tr: transpiration rate, VPD: vapor pressure deficit based on leaf temperature, Ci: intercellular CO_2 concentration.

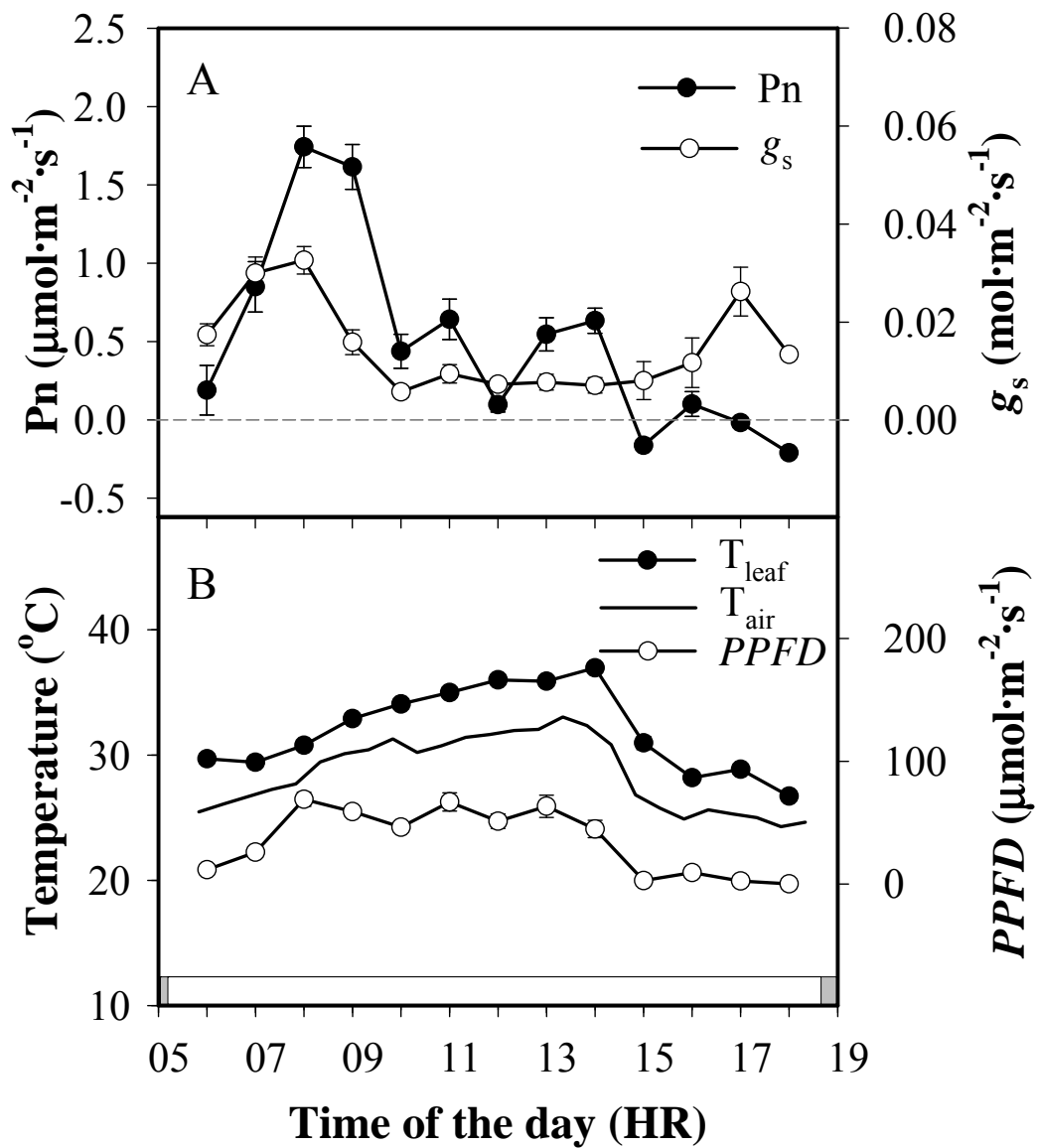


圖 11. 週年試驗中，六月份所測得之文心蘭光合作用日變化 (13 June, 2009)。

Fig. 11. Hourly changes of photosynthetic parameters in *Oncidium* Gower Ramsey on 13 June, 2009. Pn: net photosynthetic rate, g_s : stomatal conductance, T_{leaf} : leaf temperature, T_{air} : air temperature.

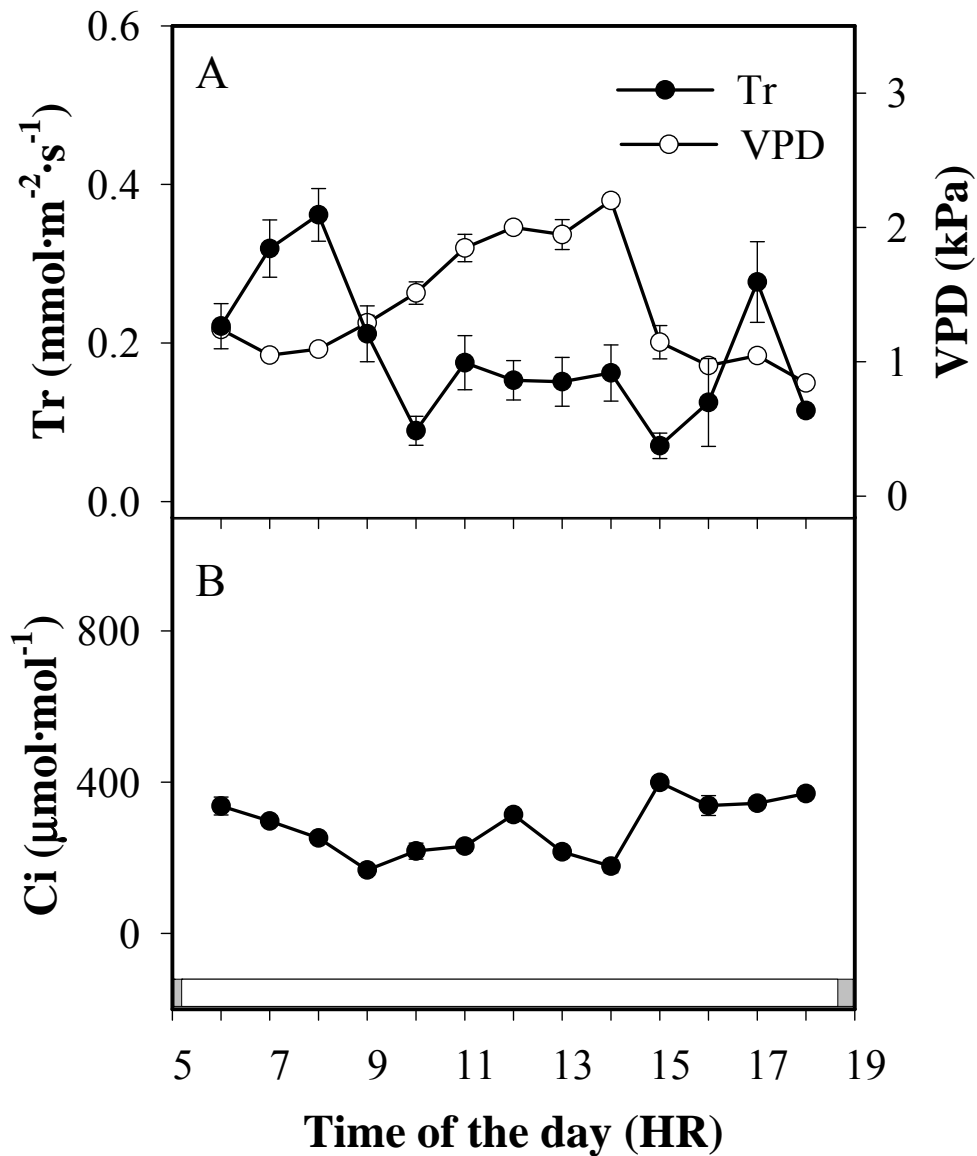


圖 12. 週年試驗中，六月份所測得之文心蘭蒸散作用、蒸氣壓差以及胞間二氧化碳濃度日變化 (13 June, 2009)。

Fig. 12. Hourly changes of photosynthetic parameters in *Oncidium* Gower Ramsey on 13 June, 2009. Tr: transpiration rate, VPD: vapor pressure deficit based on leaf temperature, Ci: intercellular CO_2 concentration.

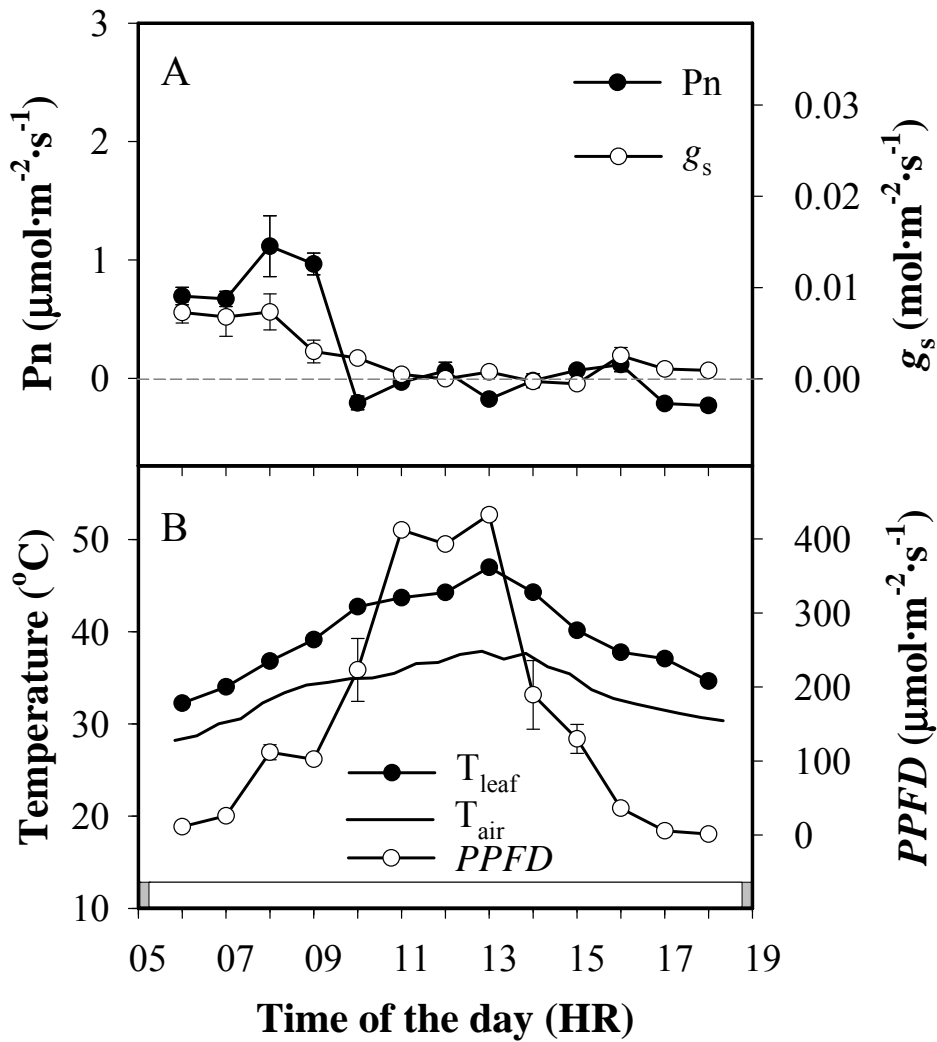


圖 13. 週年試驗中，七月份所測得之文心蘭光合作用日變化 (11 July, 2009)。

Fig. 13. Hourly changes of photosynthetic parameters in *Oncidium* Gower Ramsey on 11 July, 2009. Pn: net photosynthetic rate, g_s : stomatal conductance, T_{leaf} : leaf temperature, T_{air} : air temperature.

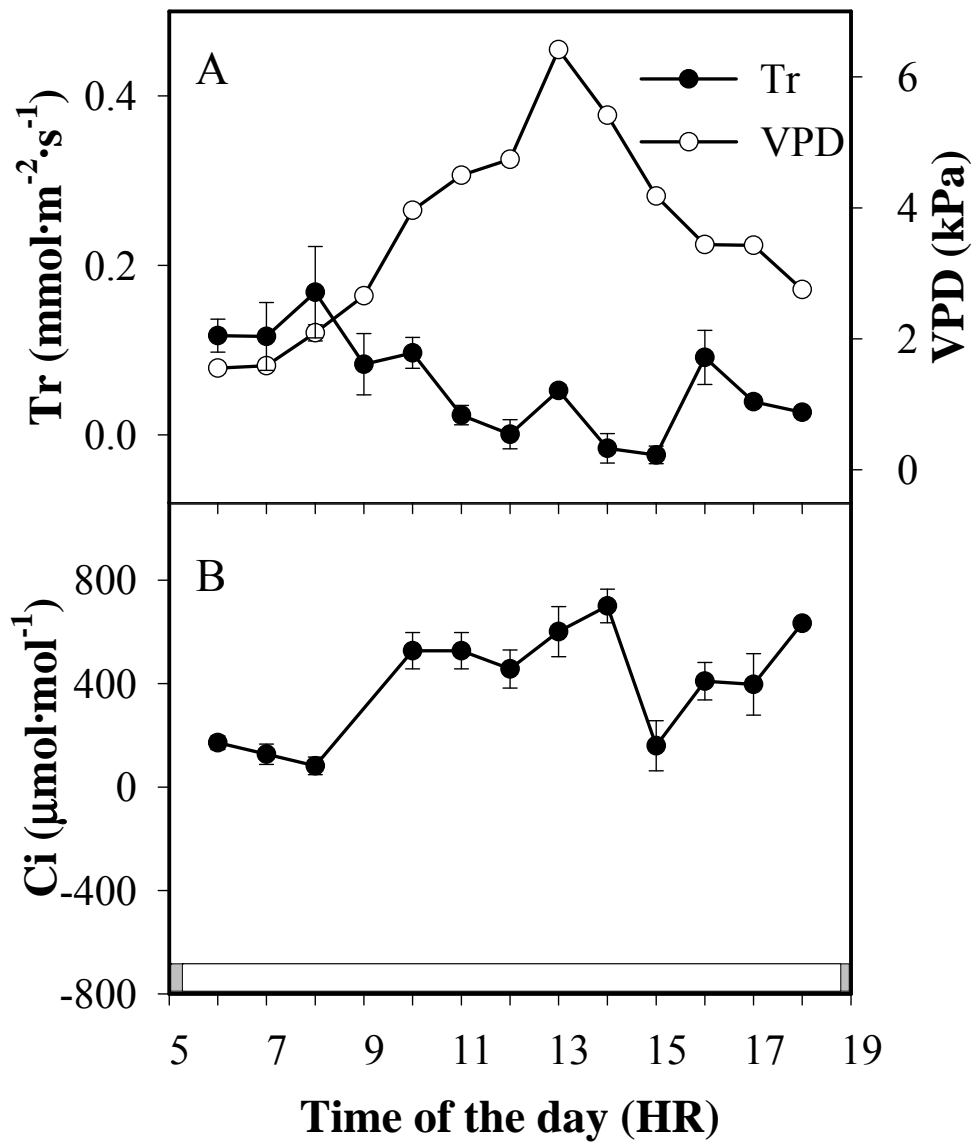


圖 14. 週年試驗中，七月份所測得之文心蘭蒸散作用、蒸氣壓差以及胞間二氧化碳濃度日變化 (11 July, 2009)。

Fig. 14. Hourly changes of photosynthetic parameters in *Oncidium* Gower Ramsey on 11 July, 2009. Tr: transpiration rate, VPD: vapor pressure deficit based on leaf temperature, Ci: intercellular CO_2 concentration.

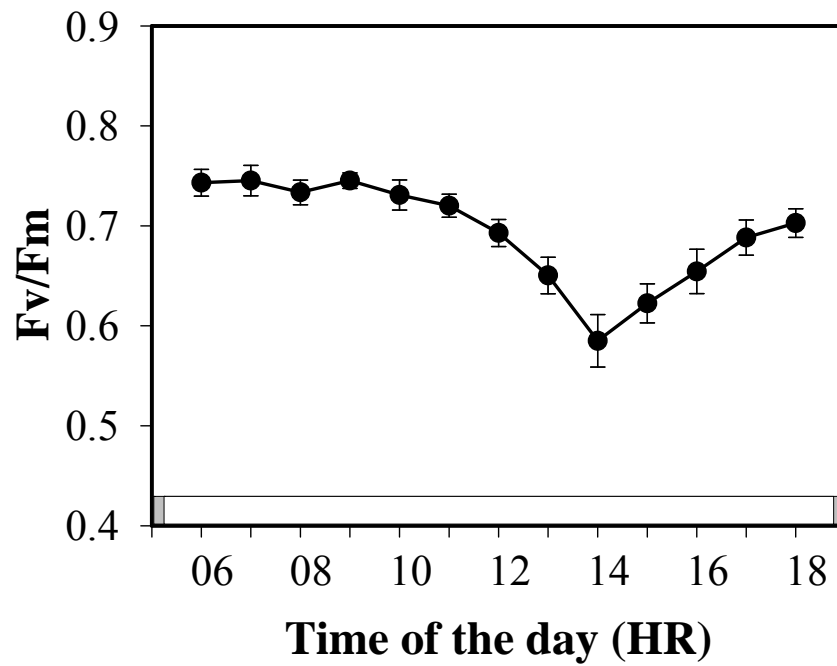


圖 15. 週年試驗中，七月份所測得之文心蘭葉綠素螢光日變化 (11 July, 2009)。

Fig. 15. Hourly changes of chlorophyll fluorescence (Fv/Fm) of *Oncidium* Gower Ramsey grown under a rain shelter on 11 July, 2009.

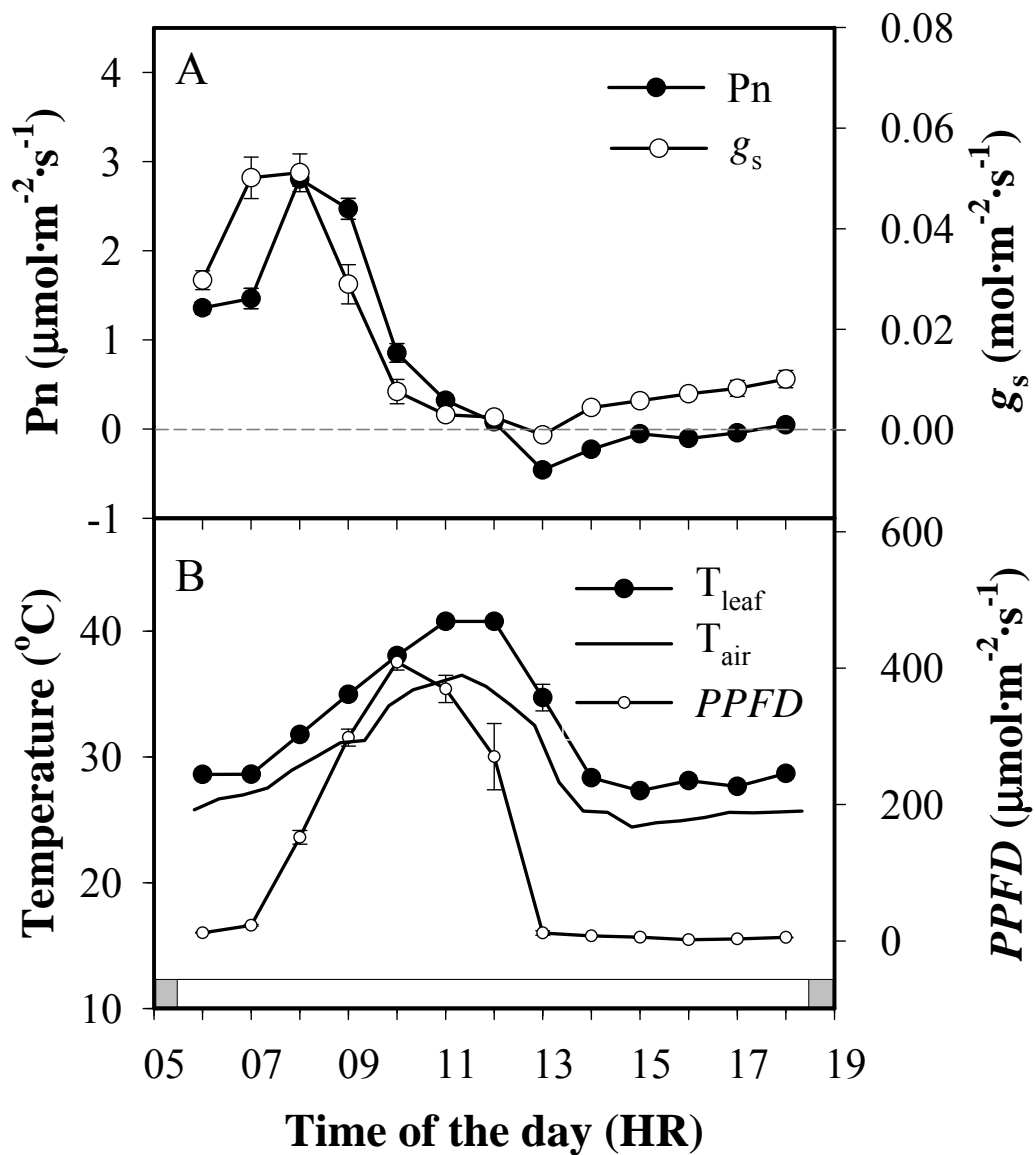


圖 16. 週年試驗中，八月份所測得之文心蘭光合作用日變化 (12 Aug., 2009)。

Fig. 16. Hourly changes of photosynthetic parameters in *Oncidium* Gower Ramsey on 12 Aug., 2009. Pn: net photosynthetic rate, g_s : stomatal conductance, T_{leaf} : leaf temperature, T_{air} : air temperature.

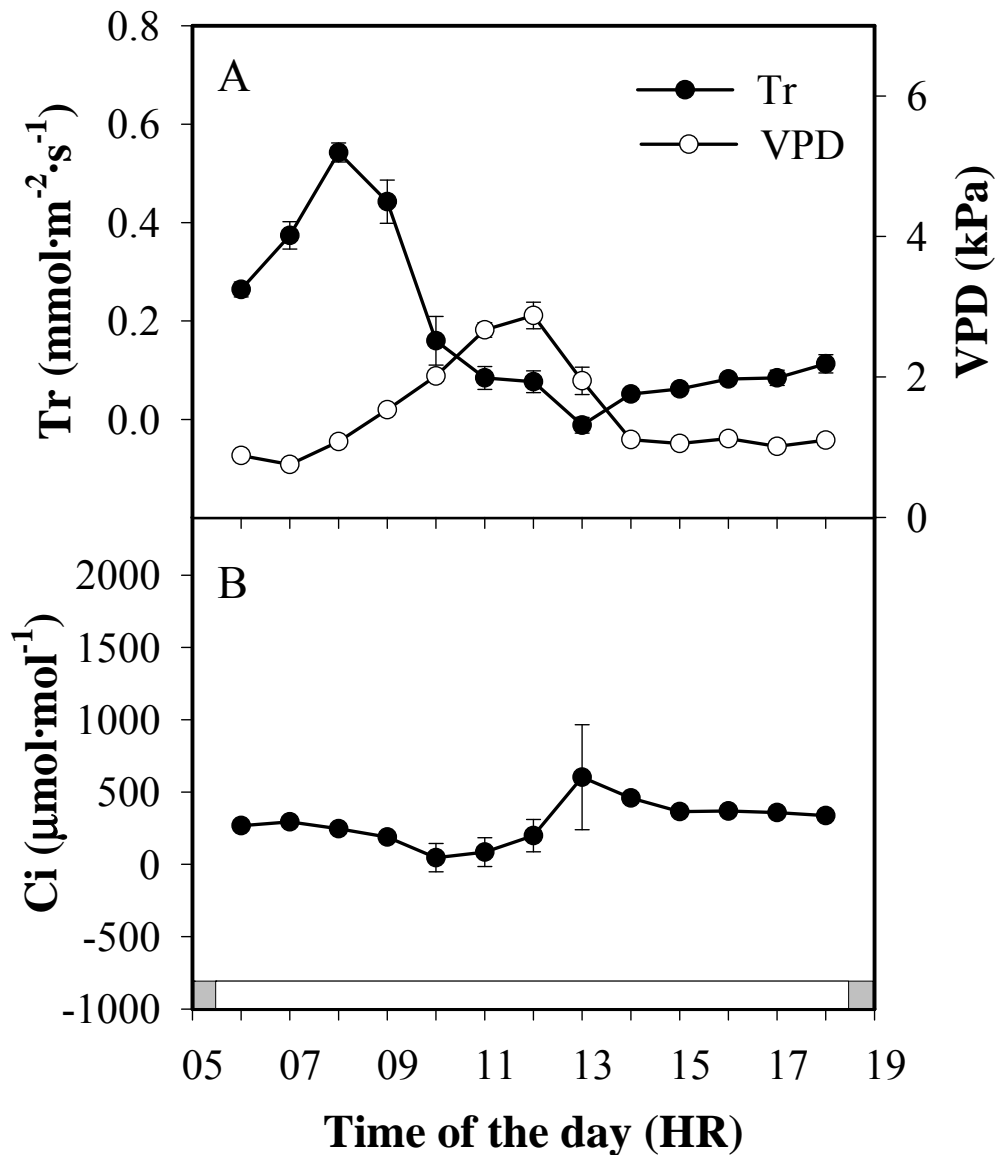


圖 17. 週年試驗中，八月份所測得之文心蘭蒸散作用、蒸氣壓差以及胞二
氧化碳濃度日變化 (12 Aug., 2009)。

Fig. 17. Hourly changes of photosynthetic parameters in *Oncidium* Gower Ramsey on 12 Aug., 2009. Tr: transpiration rate, VPD: vapor pressure deficit based on leaf temperature, Ci: in-cellular CO_2 concentration.

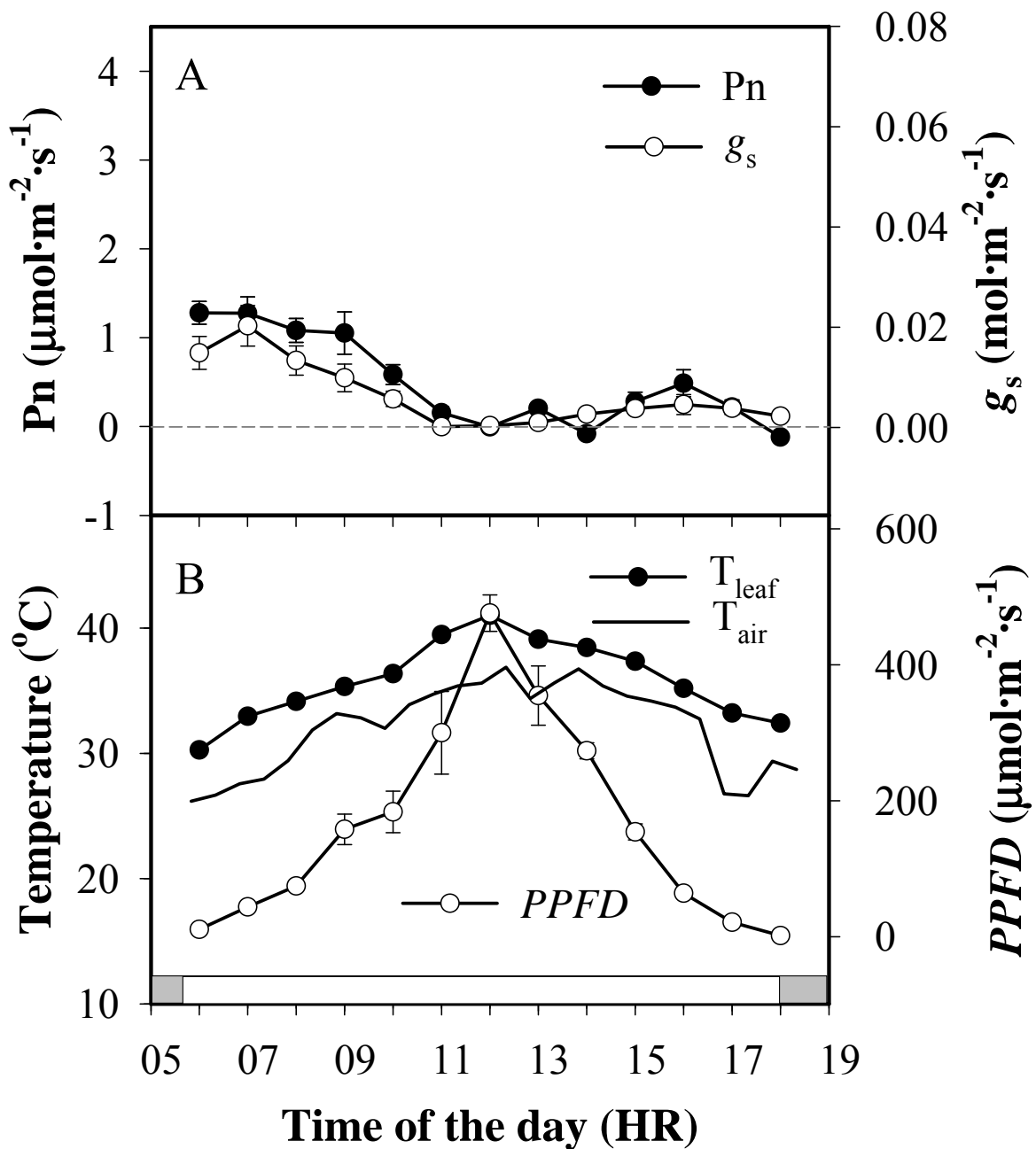


圖 18. 週年試驗中，九月份所測得之文心蘭光合作用日變化 (11 Sep., 2009)。

Fig. 18. Hourly changes of photosynthetic parameters in *Oncidium* Gower Ramsey on 11 Sep., 2009. Pn: net photosynthetic rate, g_s: stomatal conductance, T_{leaf}: leaf temperature, T_{air}: air temperature.

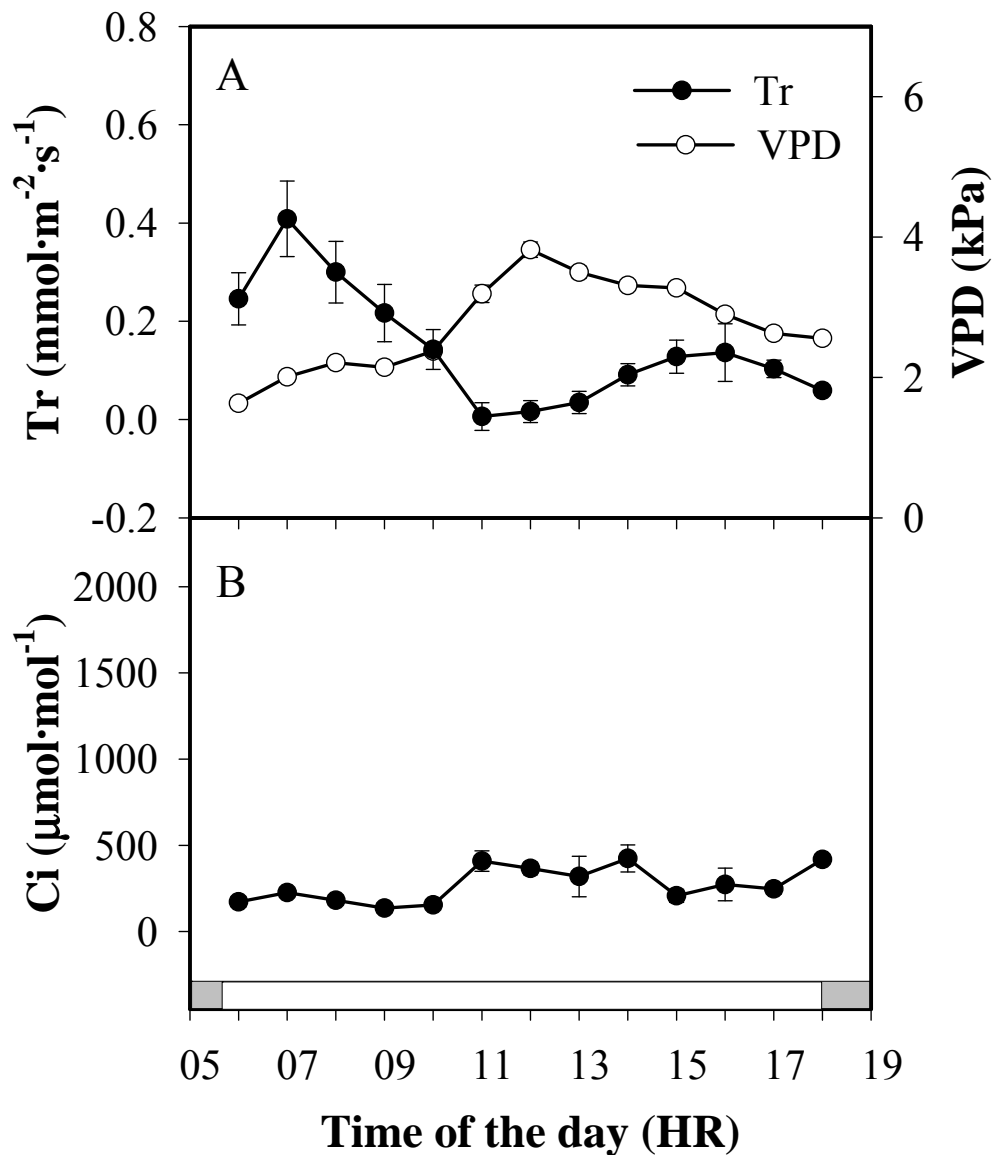


圖 19. 週年試驗中，九月份所測得之文心蘭蒸散作用、蒸氣壓差以及胞間二氧化碳濃度日變化 (11 Sep., 2009)。

Fig. 19. Hourly changes of photosynthetic parameters in *Oncidium* Gower Ramsey on 11 Sep., 2009. Tr: transpiration rate, VPD: vapor pressure deficit based on leaf temperature, Ci: intercellular CO_2 concentration.

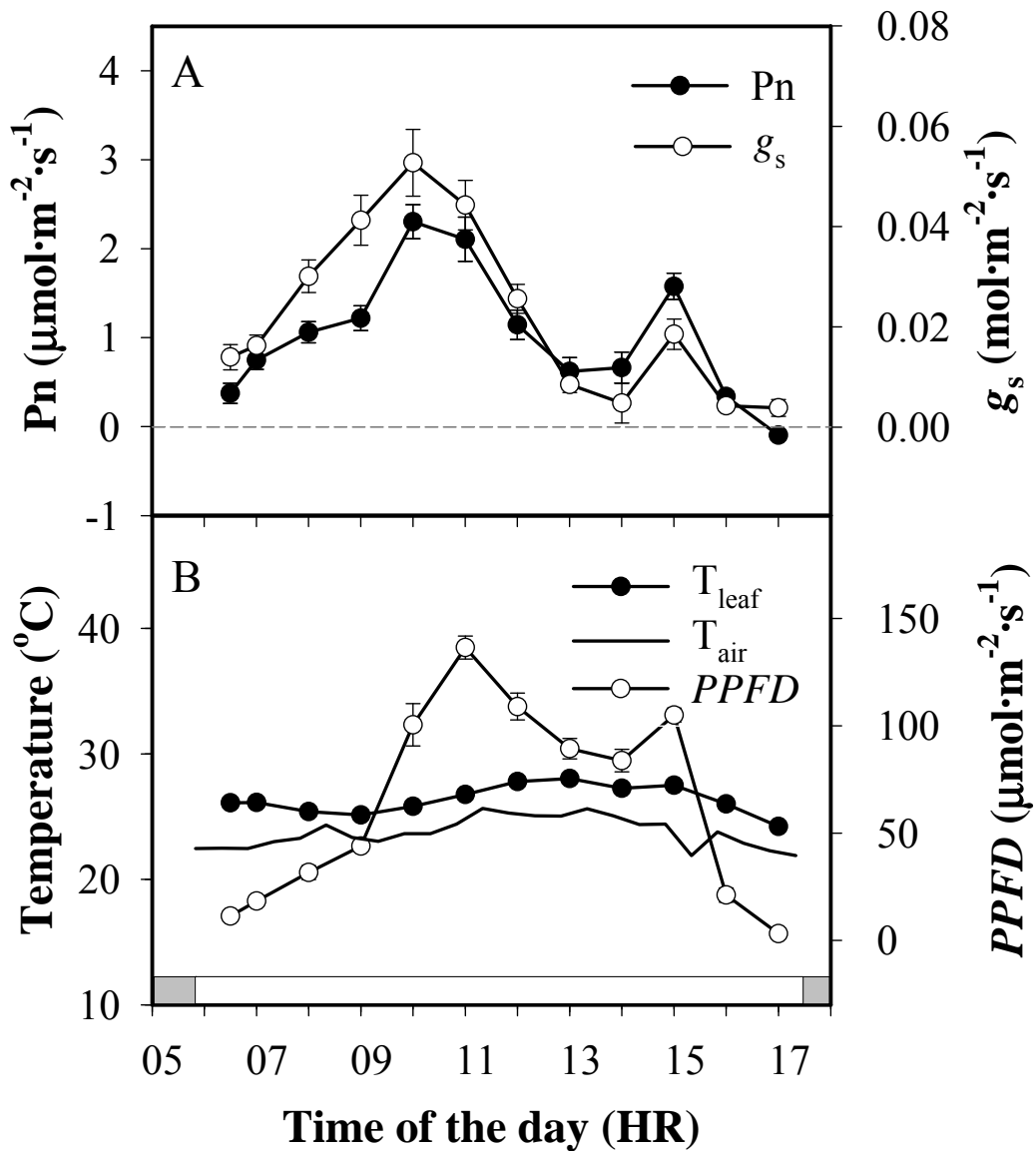


圖 20. 週年試驗中，十月份所測得之文心蘭光合作用日變化 (10 Oct., 2009)。

Fig. 20. Hourly changes of photosynthetic parameters in *Oncidium* Gower Ramsey on 10 Oct., 2009.. Pn: net photosynthetic rate, g_s : stomatal conductance, T_{leaf} : leaf temperature, T_{air} : air temperature.

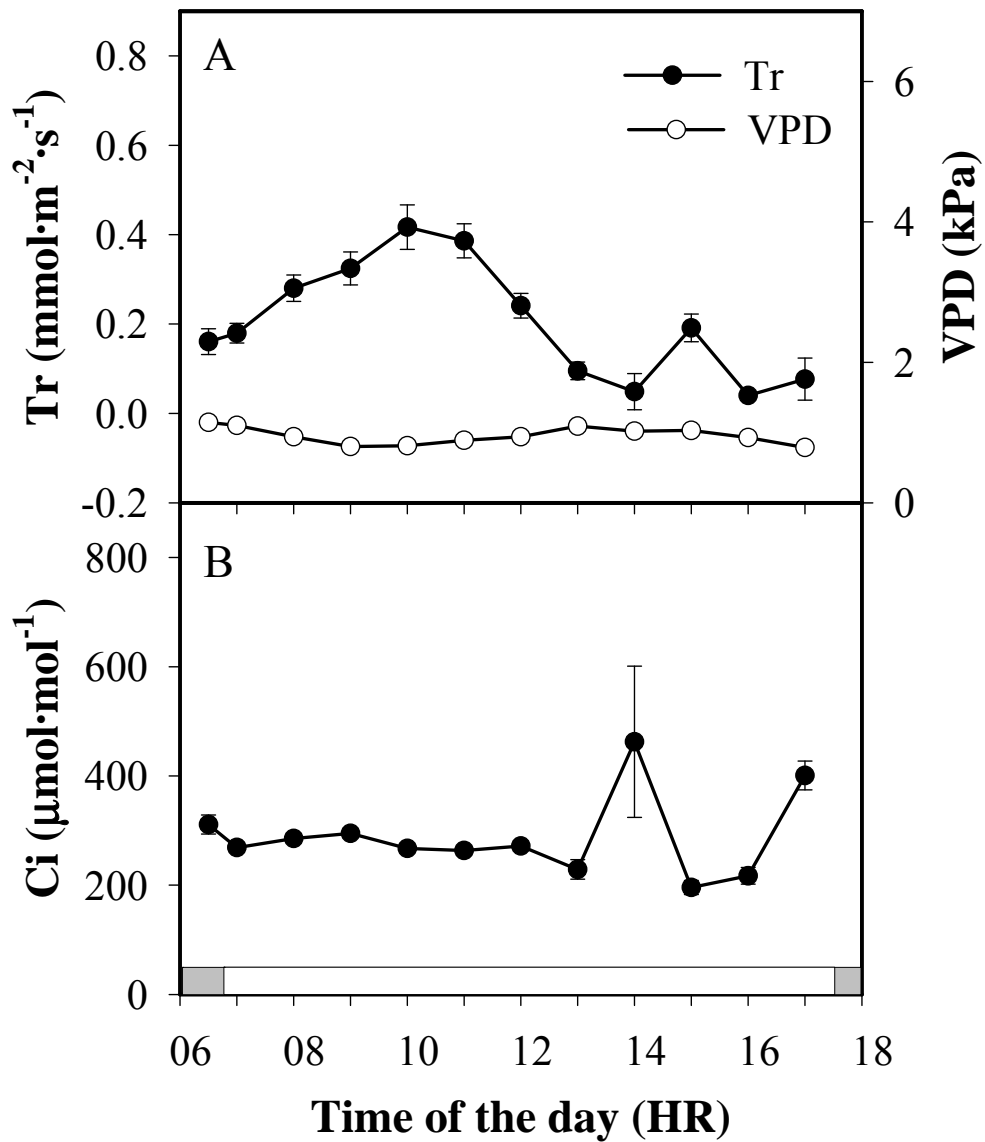


圖 21. 週年試驗中，十月份所測得之文心蘭蒸散作用、蒸氣壓差以及胞間二氧化碳濃度日變化 (10 Oct., 2009)。

Fig. 21. Hourly changes of photosynthetic parameters in *Oncidium* Gower Ramsey on 10 Oct., 2009. Tr: transpiration rate, VPD: vapor pressure deficit based on leaf temperature, Ci: intercellular CO₂ concentration.

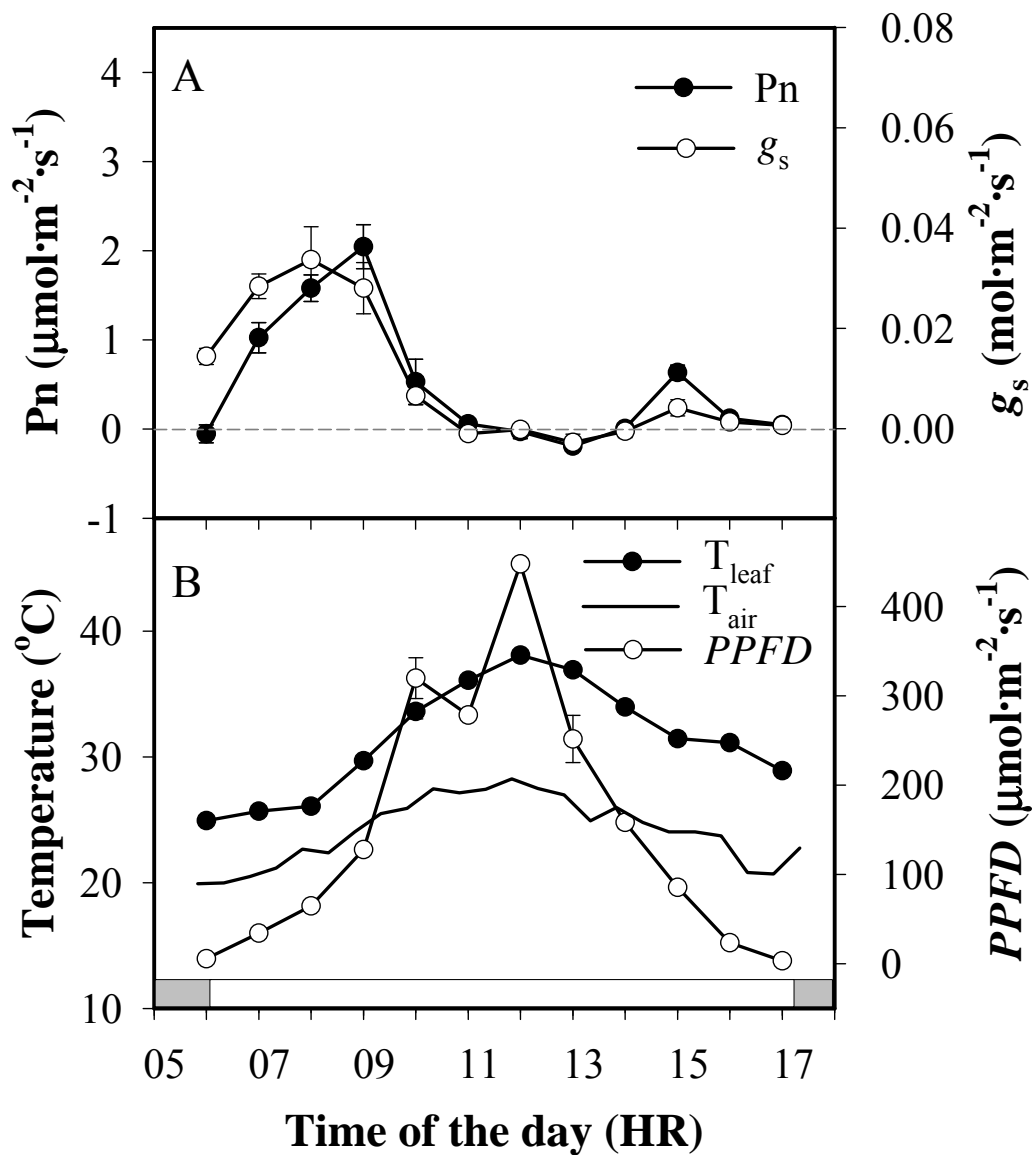


圖 22. 週年試驗中，十一月份所測得之文心蘭光合作用日變化 (7 Nov., 2009)。

Fig. 22. Hourly changes of photosynthetic parameters in *Oncidium Gower Ramsey* on 7 Nov., 2009. Pn: net photosynthetic rate, g_s : stomatal conductance, T_{leaf} : leaf temperature, T_{air} : air temperature.

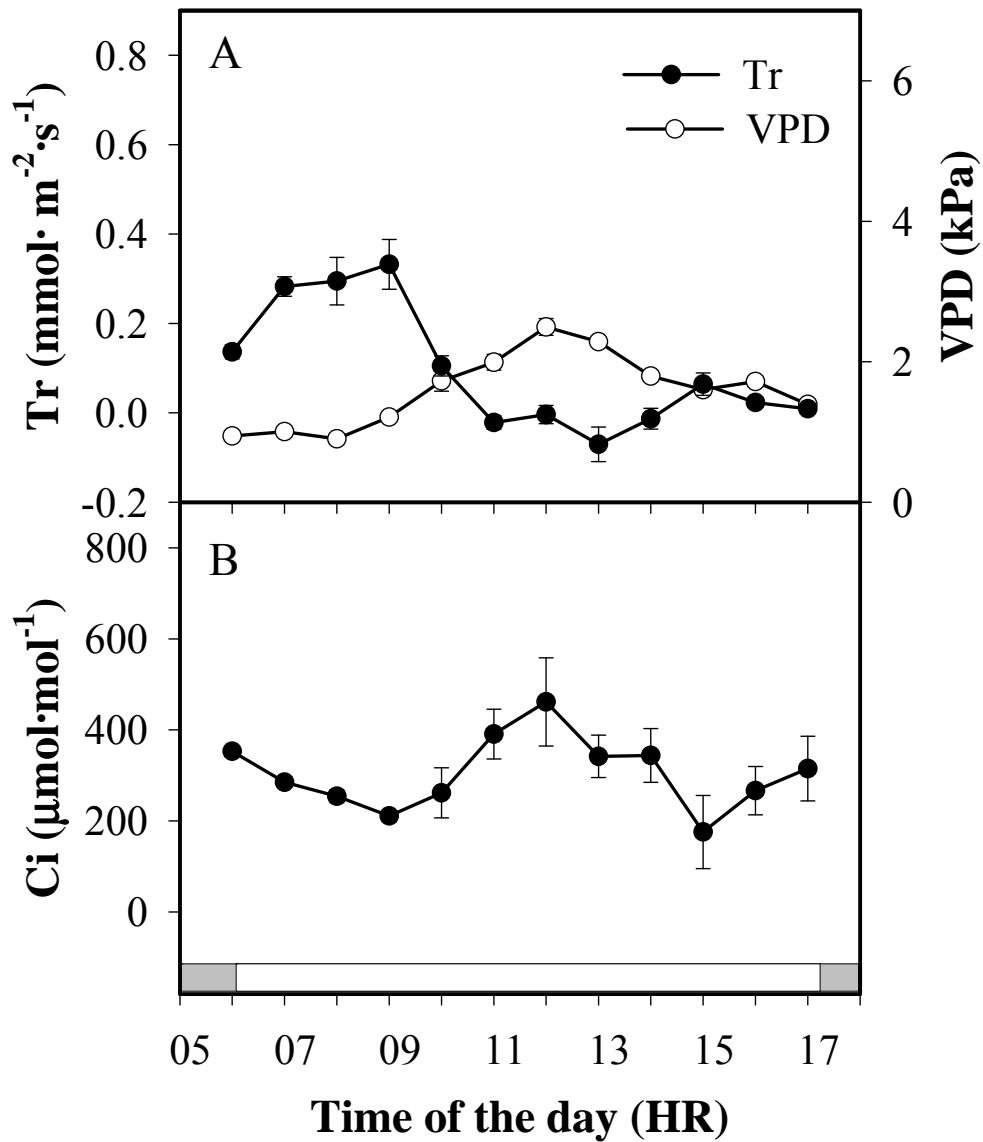


圖 23. 週年試驗中，十一月份所測得之文心蘭蒸散作用、蒸氣壓差以及胞間二氧化碳濃度日變化 (7 Nov., 2009)。

Fig. 23. Hourly changes of photosynthetic parameters in *Oncidium* Gower Ramsey on 7 Nov., 2009. Tr: transpiration rate, VPD: vapor pressure deficit based on leaf temperature, Ci: intercellular CO_2 concentration.

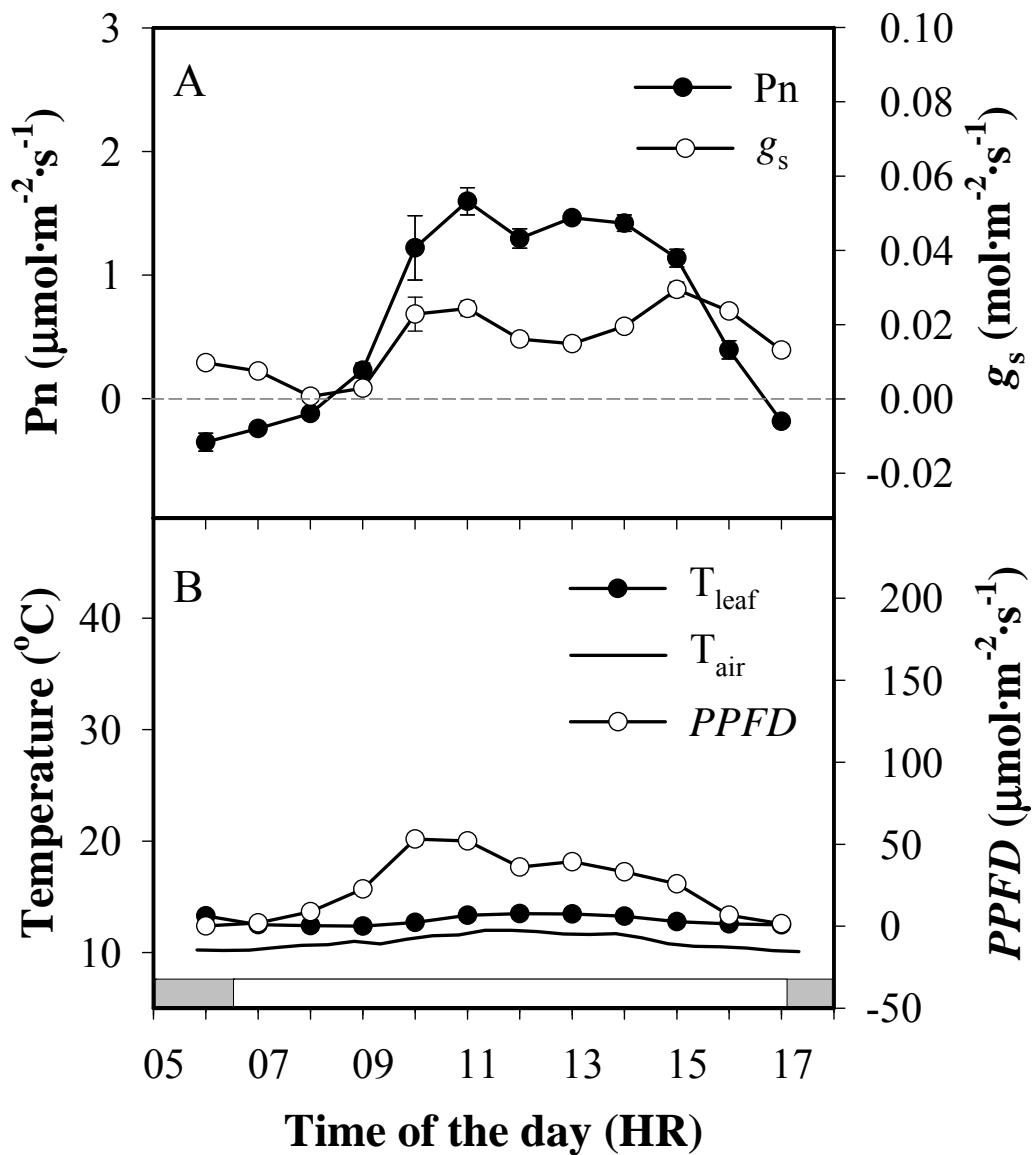


圖 24. 週年試驗中，十二月份所測得之文心蘭光合作用日變化 (19 Dec., 2009)。

Fig. 24. Hourly changes of photosynthetic parameters in *Oncidium* Gower Ramsey on 19 Dec., 2009. Pn: net photosynthetic rate, g_s : stomatal conductance, T_{leaf} : leaf temperature, T_{air} : air temperature.

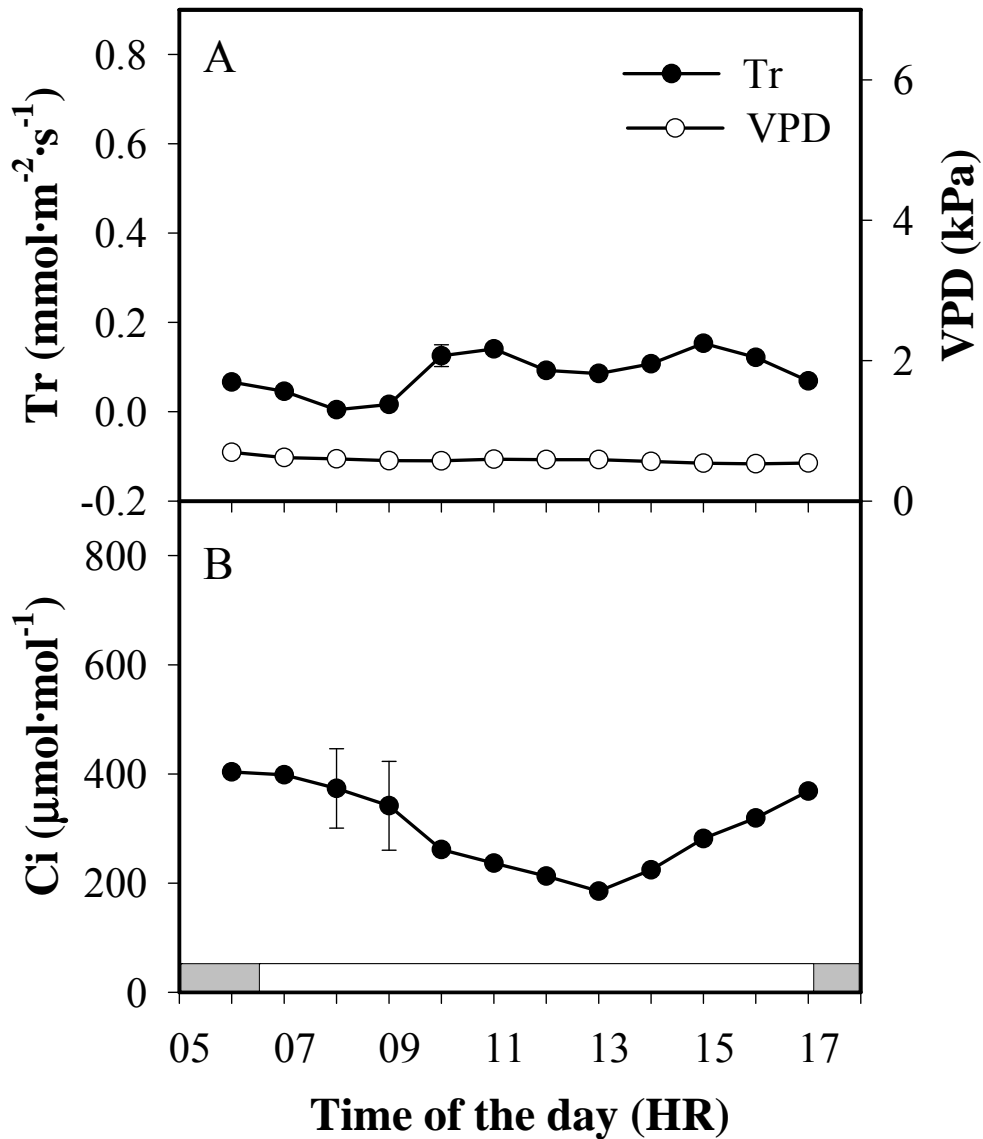


圖 25. 週年試驗中，十二月份所測得之文心蘭蒸散作用、蒸氣壓差以及胞間二氧化碳濃度日變化(19 Dec., 2009)。

Fig. 25. Hourly changes of photosynthetic parameters in *Oncidium* Gower Ramsey on 19 Dec., 2009. Tr: transpiration rate, VPD: vapor pressure deficit based on leaf temperature, Ci: intercellular CO₂ concentration.

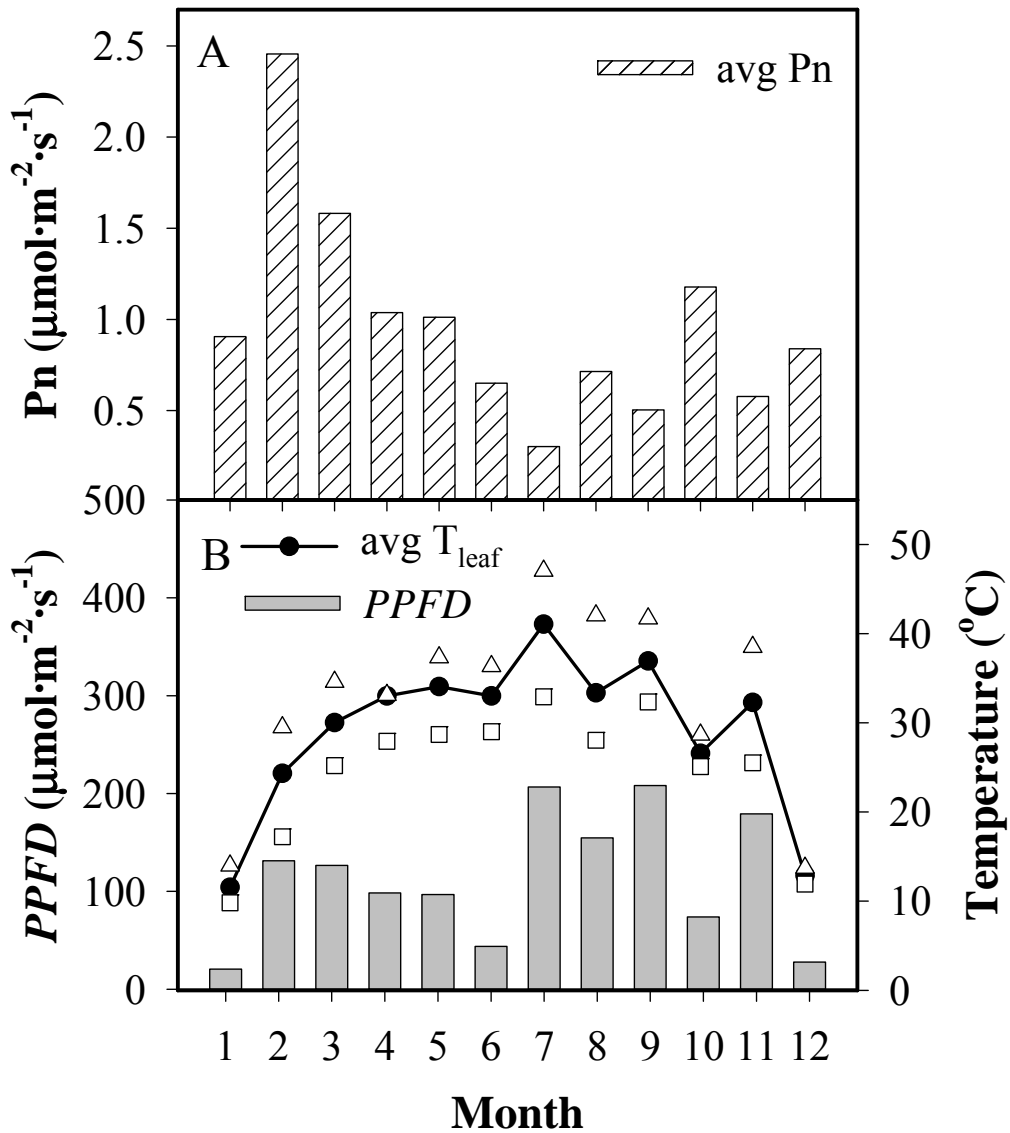


圖 26. 一年中不同月份，文心蘭光合作用速率之變化及其與溫度、光度變化之關連。相關數據係一日中 7:00-16:00 間量測所得之數值(Δ :最高葉溫； \square :最低葉溫)。

Fig. 26. The change of average photosynthetic rate (Pn) in *Oncidium Gower Ramsey* in different months of one year, and relationship between Pn and leaf temperature and light intensity. Data collected from measurements made between 7:00-16:00 (Δ : max T_{leaf} ; \square : min T_{leaf}).

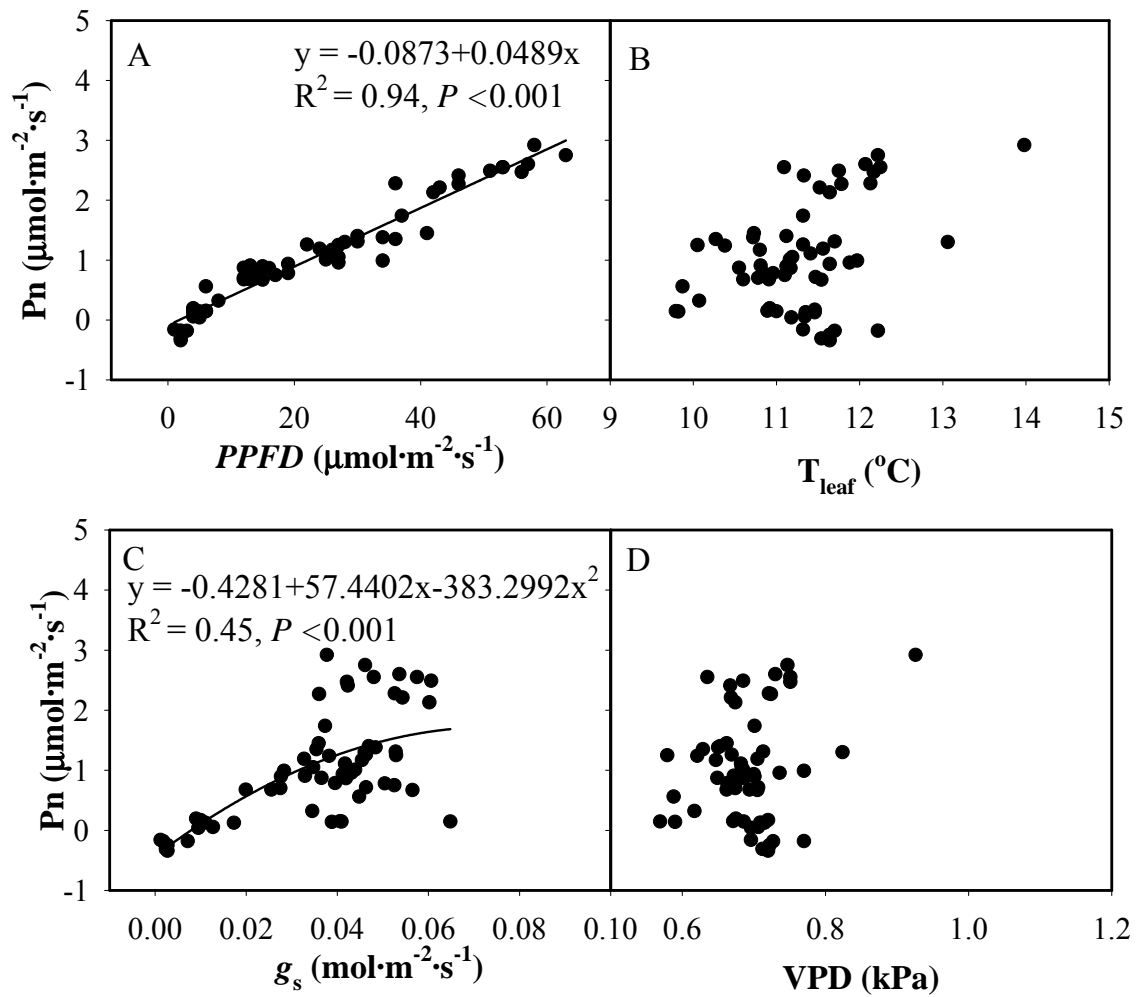


圖 27. 週年試驗中，一月份所測得之文心蘭淨光合作用速率與光度(A)、葉溫(B)、氣孔導度(C)及蒸氣壓差(D)之相關性。相關數據係一日中 7:00-16:00 間量測所得之數值。

Fig. 27. Relationship between net photosynthetic rate and irradiance intensity (A), leaf temperature (B), stomatal conductance (C) and vapor pressure deficit (D) in *Oncidium Gower Ramsey* on 24 Jan., 2009. Data collected from measurements made between 7:00-16:00. Pn: net photosynthetic rate, T_{leaf} : leaf temperature, g_s : stomatal conductance, VPD: vapor pressure deficit based on leaf temperature.

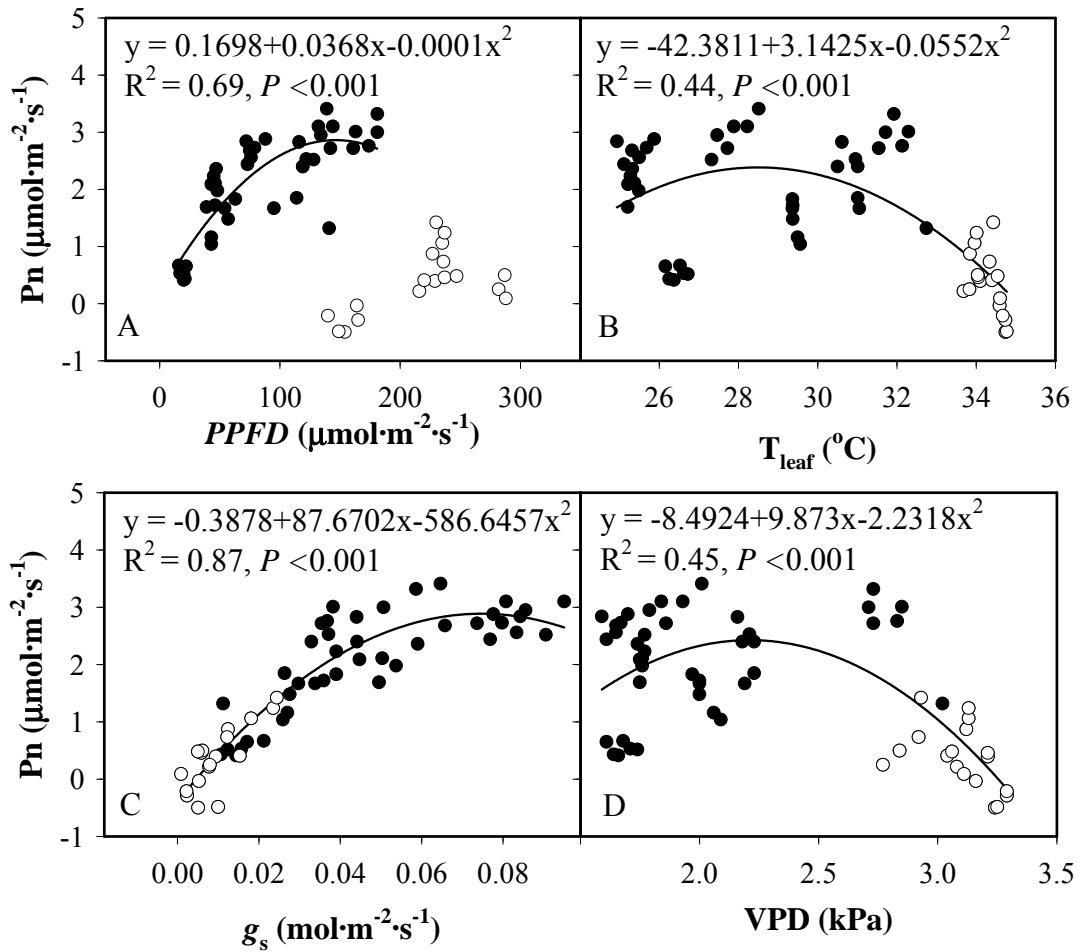


圖 28. 週年試驗中，三月份所測得之文心蘭淨光合作用速率與光度(A)、葉溫(B)、氣孔導度(C)及蒸氣壓差(D)之相關性(●:非午休現象時段，7:00-10:00 及 14:00-16:00；○:午休現象發生時段，11:00-13:00)。

Fig. 28. Relationship between net photosynthetic rate and irradiance intensity (A), leaf temperature (B), stomatal conductance (C) and vapor pressure deficit (D) in *Oncidium* Gower Ramsey on 21 Mar., 2009. Data collected from measurements made between 7:00-16:00 (●: not midday depression period ; ○: midday depression period, 11:00-13:00). Pn: net photosynthetic rate, T_{leaf} : leaf temperature, g_s : stomatal conductance, VPD: vapor pressure deficit based on leaf temperature.

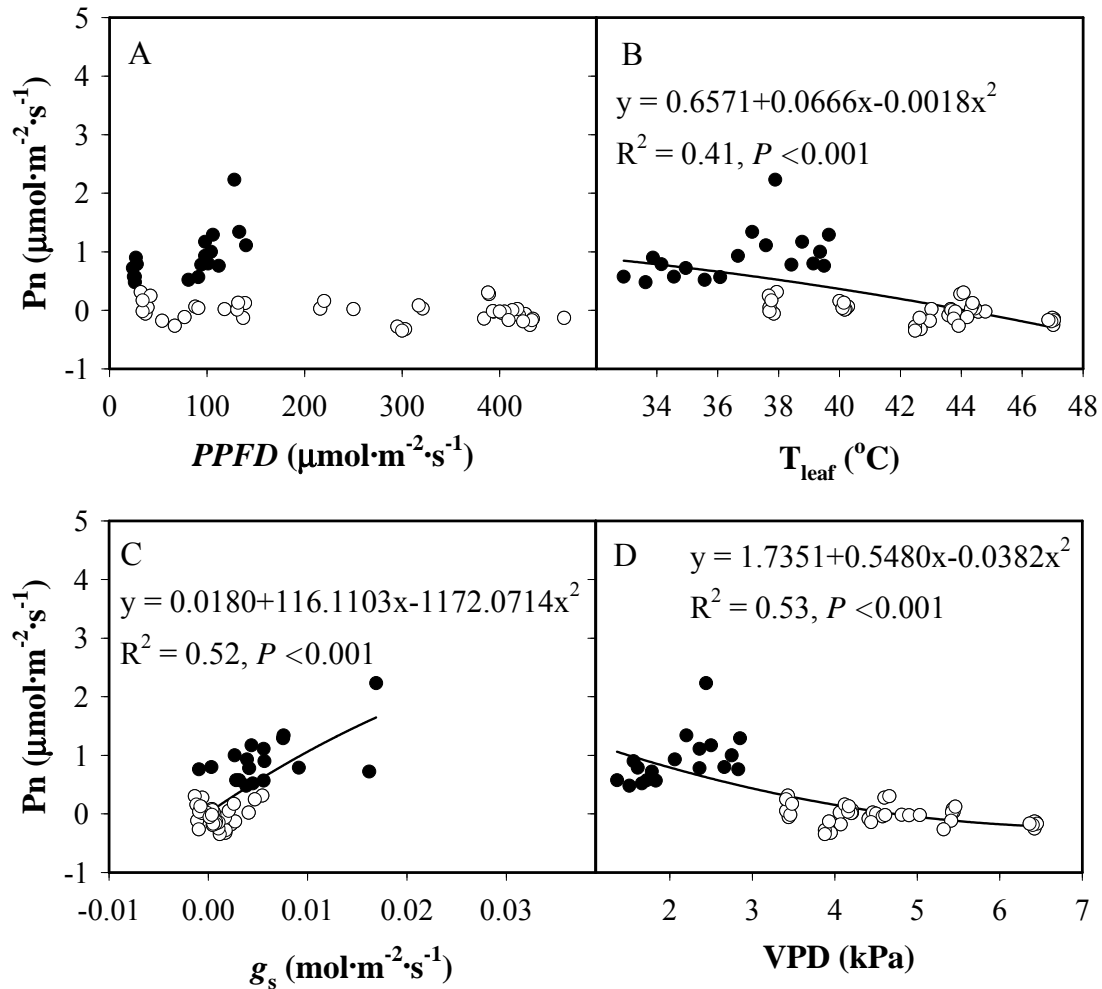


圖 29. 週年試驗中，七月份所測得之文心蘭淨光合作用速率與光度(A)、葉溫(B)、氣孔導度(C)及蒸氣壓差(D)之相關性(●:非午休現象時段,7:00-9:00 ; ○:午休現象發生時段,10:00-16:00)。

Fig. 29. Relationship between net photosynthetic rate and irradiance intensity (A), leaf temperature (B), stomatal conductance (C) and vapor pressure deficit (D) in *Oncidium Gower Ramsey* on 11 July, 2009. Data collected from measurements made between 7:00-16:00 (●: not midday depression period ; ○: midday depression period, 10:00-16:00). Pn: net photosynthetic rate, T_{leaf} : leaf temperature, g_s : stomatal conductance, VPD: vapor pressure deficit based on leaf temperature.

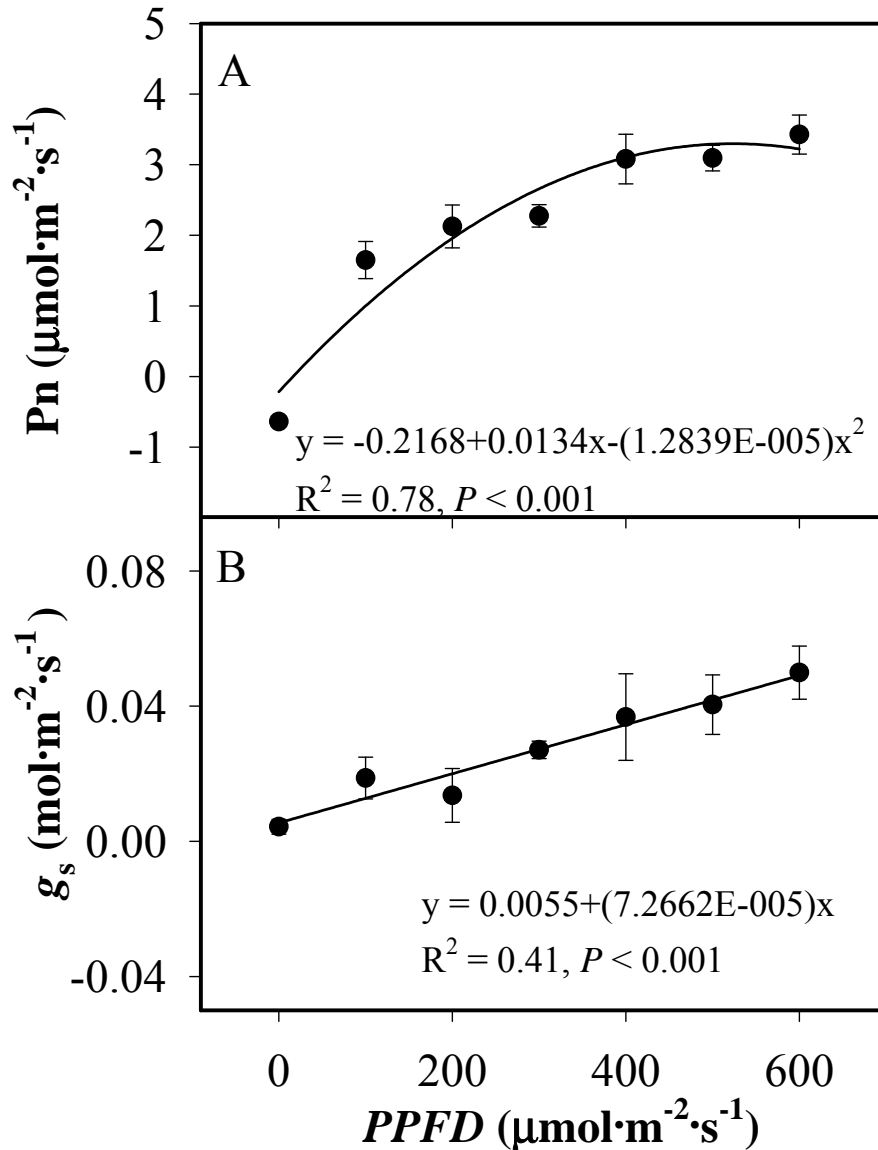


圖 30. 文心蘭在不同光度下的光合作用速率(A)及氣孔導度(B) (26 July, 2009-1 Aug., 2009)。

Fig. 30. Effects of irradiance on net photosynthetic rate (A) and stomatal conductance (B) in *Oncidium* Gower Ramsey. P_n : net photosynthetic rate, g_s : stomatal conductance.

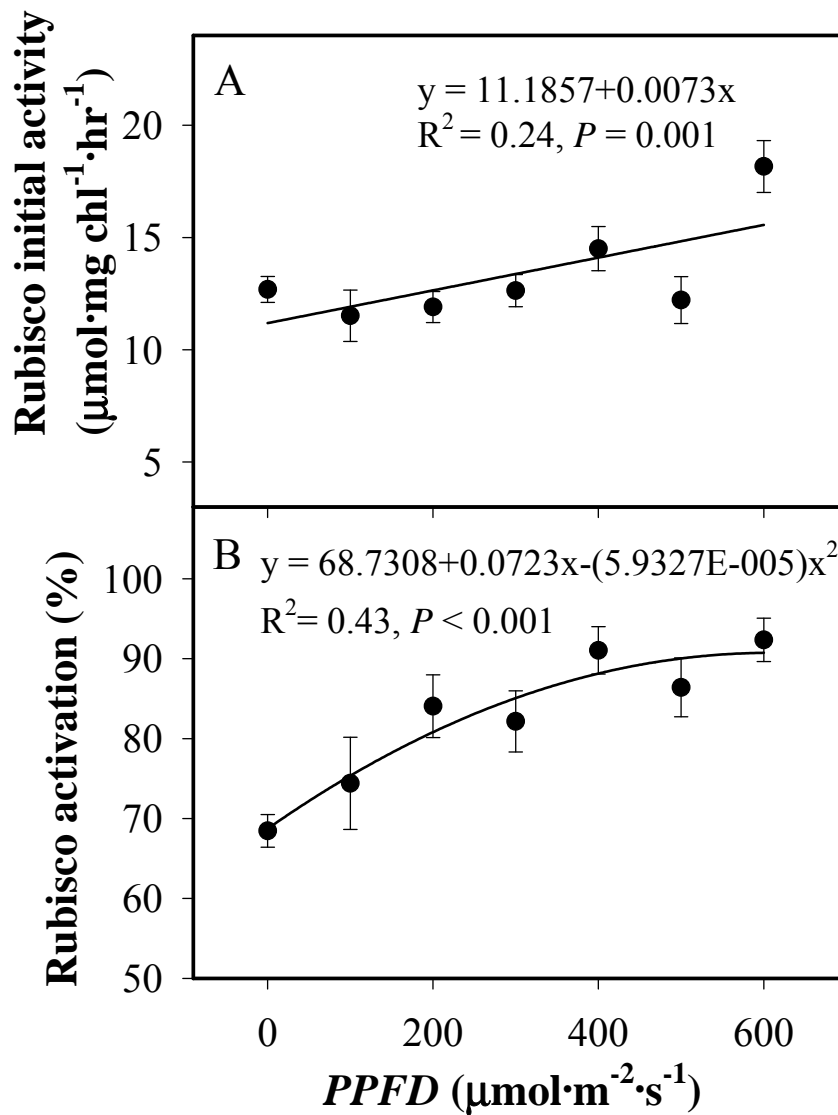


圖 31. 文心蘭在不同光度下的 Rubisco 初始活性(A)及活性比例(B)(26 July, 2009-1 Aug., 2009)。

Fig. 31. Effects of irradiance on Rubisco initial activity (A) and Rubisco activation (B) in *Oncidium Gower Ramsey*.

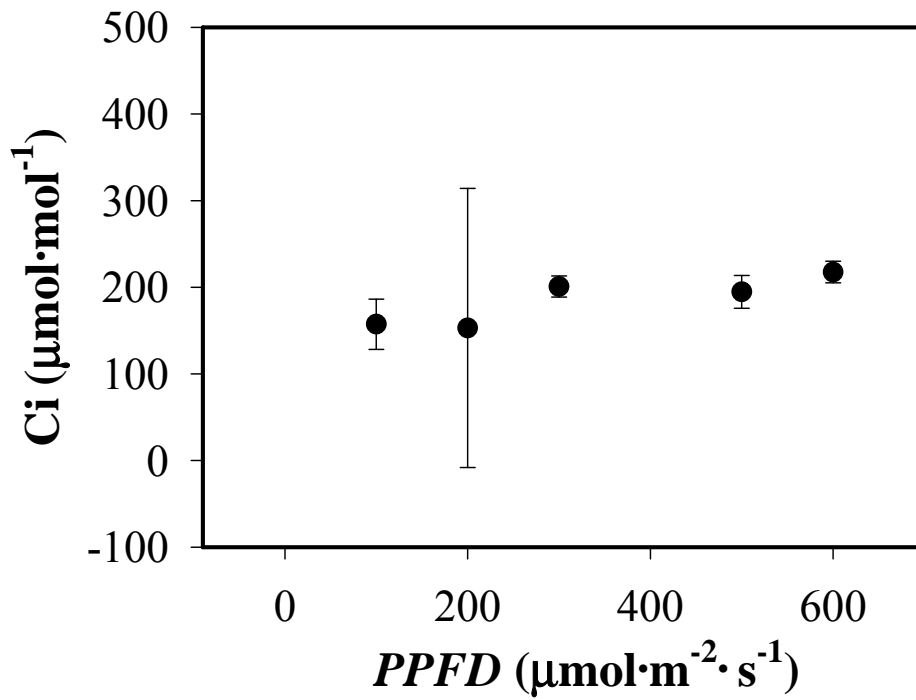


圖 32. 文心蘭在不同光度下的胞內二氧化碳濃度 (26 July, 2009-1 Aug., 2009)。

Fig. 32. Effect of irradiance on intracellular CO_2 concentration in *Oncidium* Gower Ramsey.

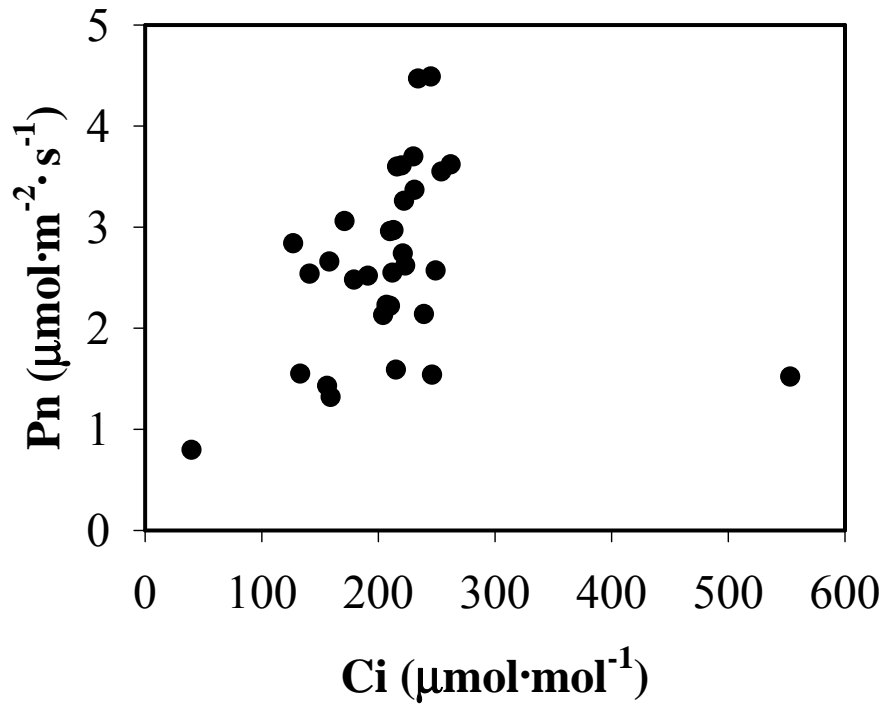


圖 33. 光度試驗中，文心蘭淨光合作用速率與胞內二氧化碳濃度關係圖。
 Fig. 33. Relationship between net photosynthetic rate (Pn) and in-cellular CO₂ concentration in *Oncidium Gower Ramsey*.

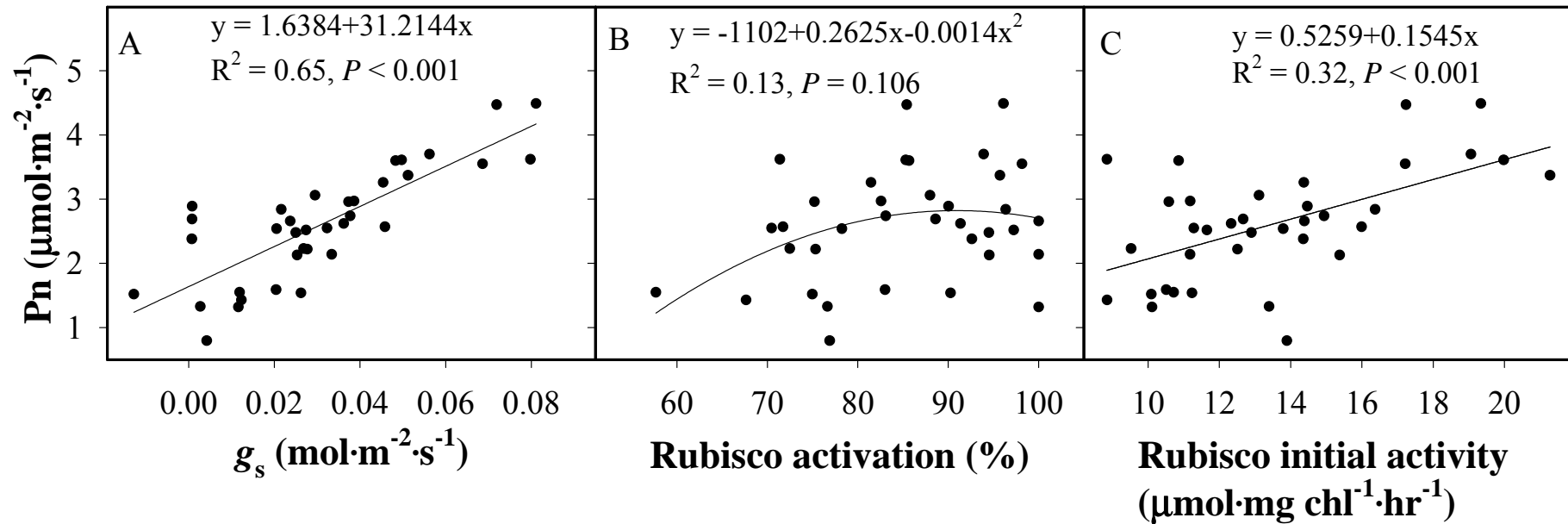


圖 34. 光度試驗中，文心蘭淨光合作用速率與氣孔導度(A)、Rubisco 活性比例(B)及 Rubisco 初始活性(C)之相關性。

Fig. 34. Relationship between net photosynthetic rate and stomatal conductance (A), Rubisco activation (B), and Rubisco initial activity (C) in *Oncidium Gower Ramsey*. Pn: net photosynthetic rate, g_s : stomatal conductance.

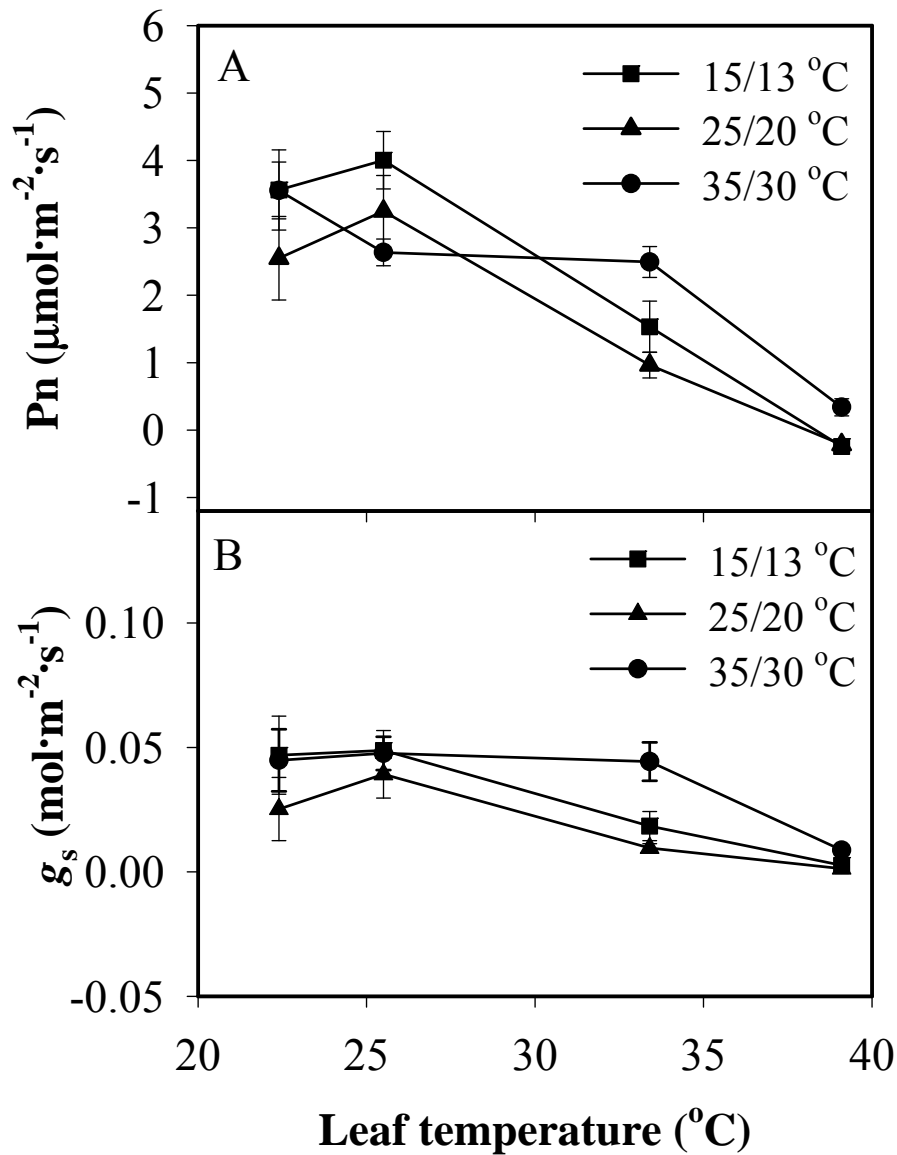


圖 35. 三種日夜溫栽培的文心蘭在不同溫度下的光合作用(A)及氣孔導度(B) (21 June, 2009-2 July, 2009)。

Fig. 35. Effects of temperature on net photosynthetic rate (A) and stomatal conductance (B) in *Oncidium* Gower Ramsey after being grown at 15/13 °C、25/20 °C、35/30 °C phytotron for two months. Pn: net photosynthetic rate, g_s : stomatal conductance.

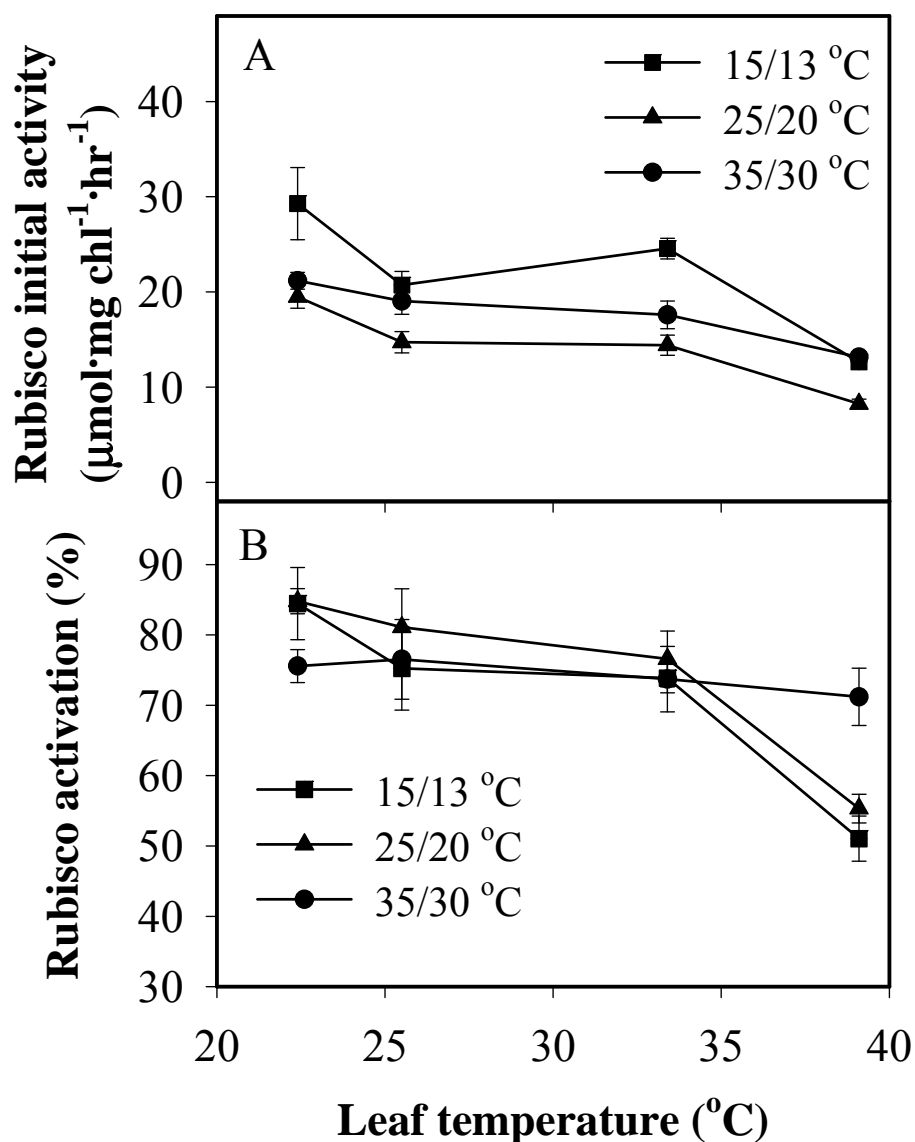


圖 36. 三種日夜溫栽培的文心蘭在不同溫度下的 Rubisco 初始活性(A)及活性比例(B) (21 June, 2009-2 July, 2009)。

Fig. 36. Effects of temperature on Rubisco initial activity (A) and Rubisco activation (B) in *Oncidium* Gower Ramsey after being grown at 15/13 °C、25/20 °C、35/30 °C phytotron for two months.

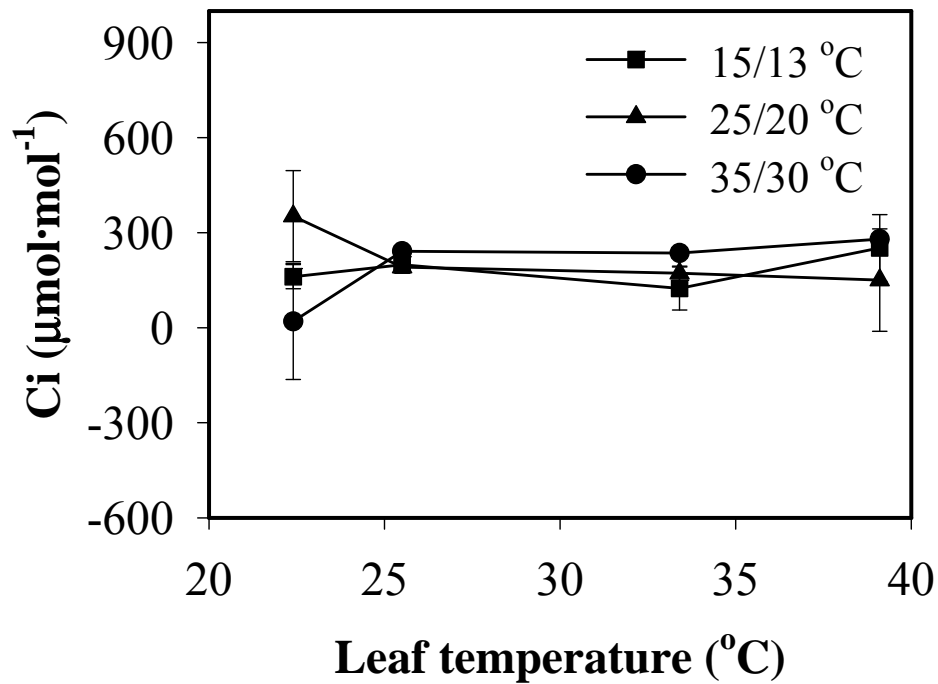


圖 37. 三種日夜溫栽培的文心蘭在不同溫度下的胞內二氧化碳濃度 (21 June, 2009-2 July, 2009)。

Fig. 37. Effects of temperature on intracellular CO_2 concentration in *Oncidium* Gower Ramsey after being grown at 15/13 °C、25/20 °C、35/30 °C phytotron for two months.

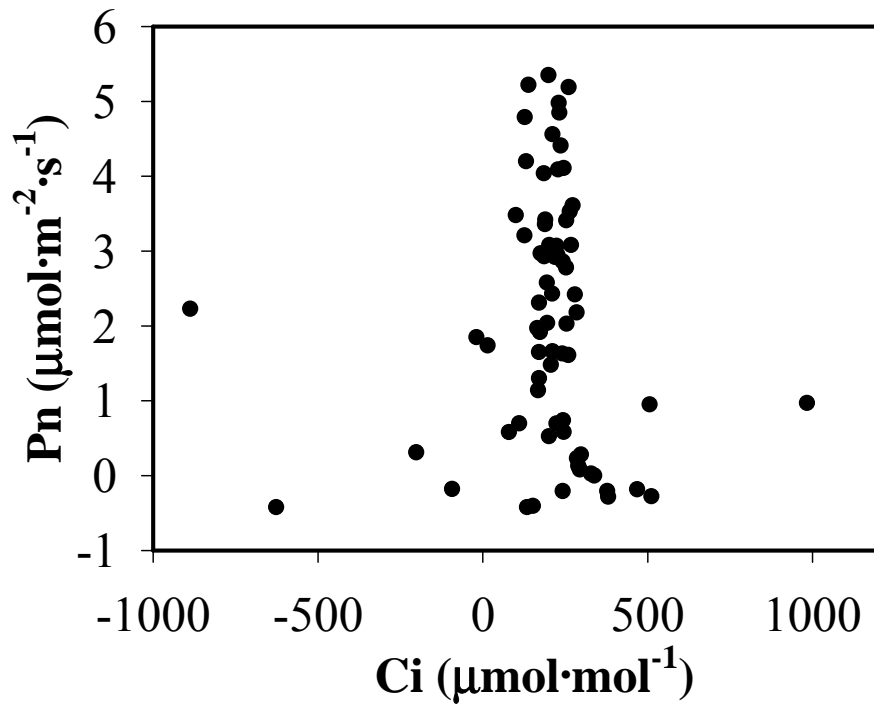


圖 38. 溫度試驗中，三種栽培溫度的文心蘭胞內二氧化碳濃度與光合作用關係圖 (21 June, 2009-2 July, 2009)。

Fig.38. Relationship between net photosynthetic rate (Pn) and in-cellular CO₂ concentration in *Oncidium* Gower Ramsey after being grown at 15/13 °C、25/20 °C、35/30 °C phytotron for two months.

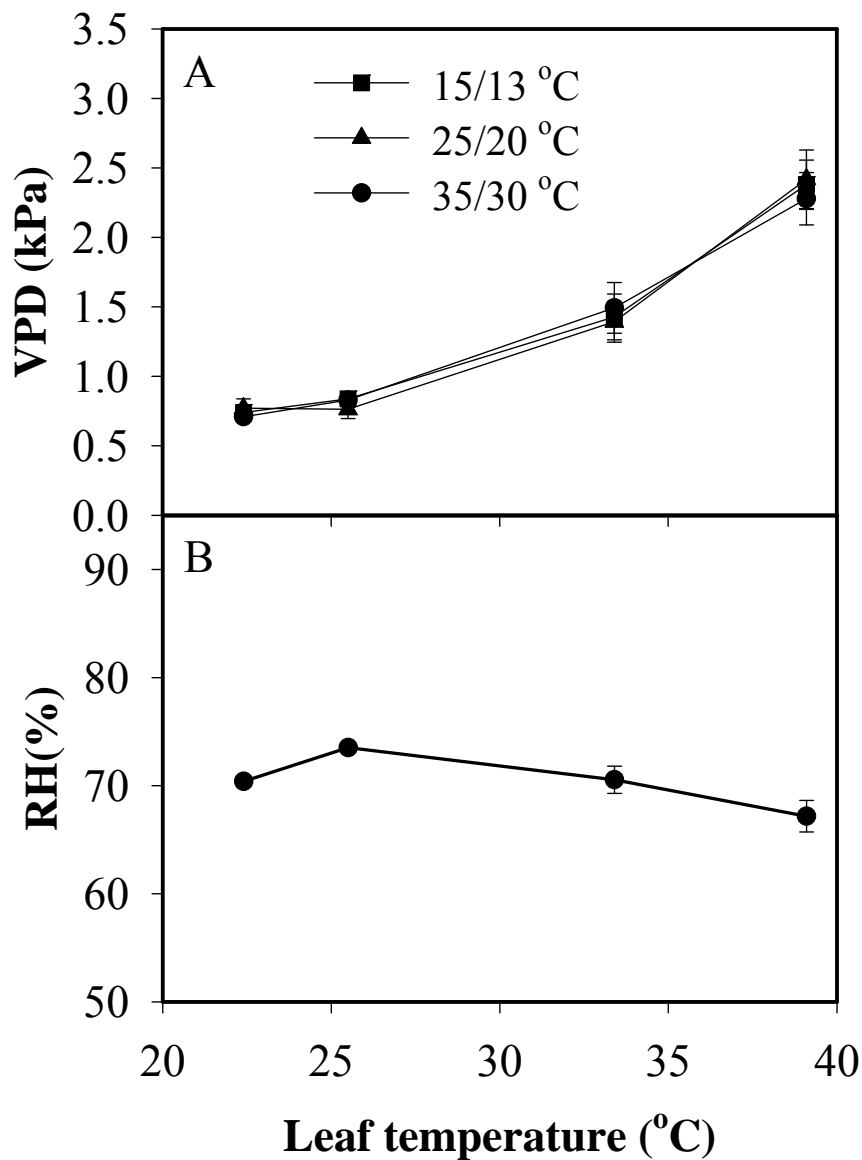


圖 39. 溫度試驗中，三種日夜溫栽培的文心蘭在不同溫度下的蒸氣壓差(A)及各測量溫度的環境相對溼度(B)(21 June, 2009-2 July, 2009)。

Fig. 39. Effects of temperature on vapor pressure deficit based on leaf temperature in *Oncidium* Gower Ramsey after being grown at 15/13 °C、25/20 °C、35/30 °C phytotron for two months (A). The resulted relative humidity (RH) was also indicated (B).

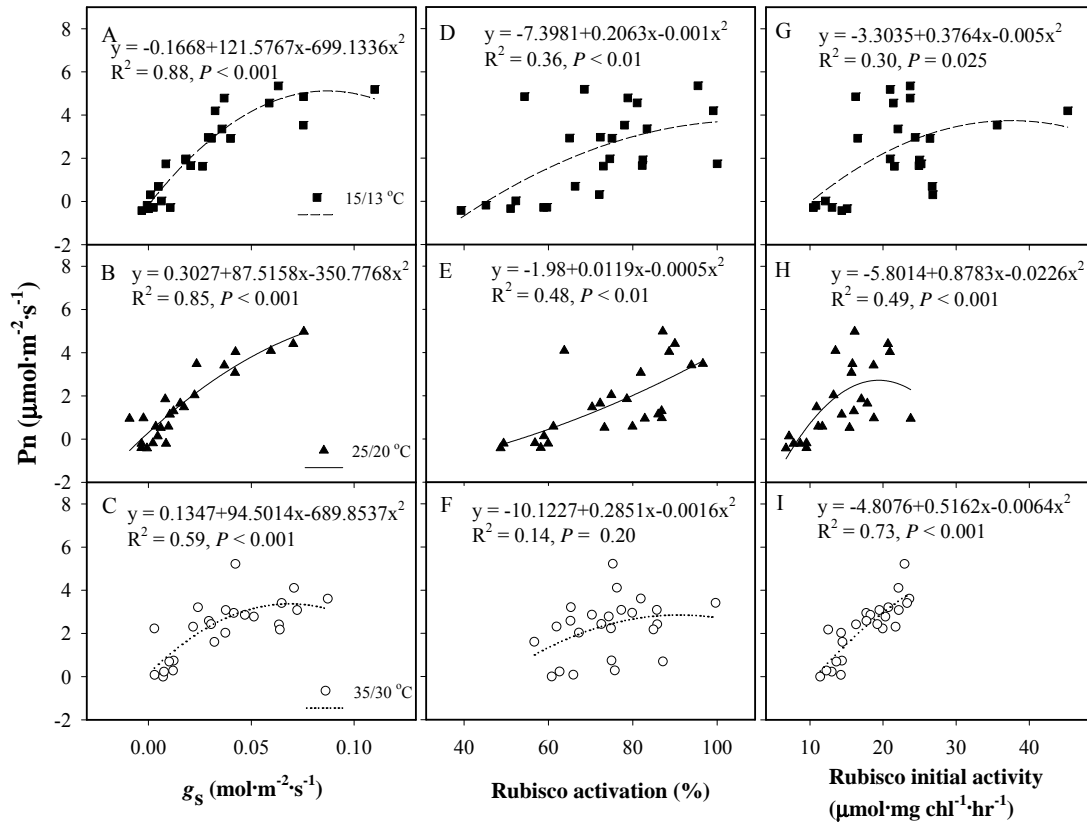


圖 40. 溫度試驗中，文心蘭淨光合作用速率與氣孔導度(A-C)、Rubisco 活性比例(D-F)及 Rubisco 初始活性(G-I)之相關性。

Fig. 40. Relationship between net photosynthetic rate and stomatal conductance (A-C), Rubisco activation (D-F), and Rubisco initial activity (G-I) in *Oncidium Gower Ramsey* after being grown at 15/13 °C (■)、25/20 °C (▲)、35/30 °C (○) phytotron for two months. Pn: net photosynthetic rate, g_s : stomatal conductance.

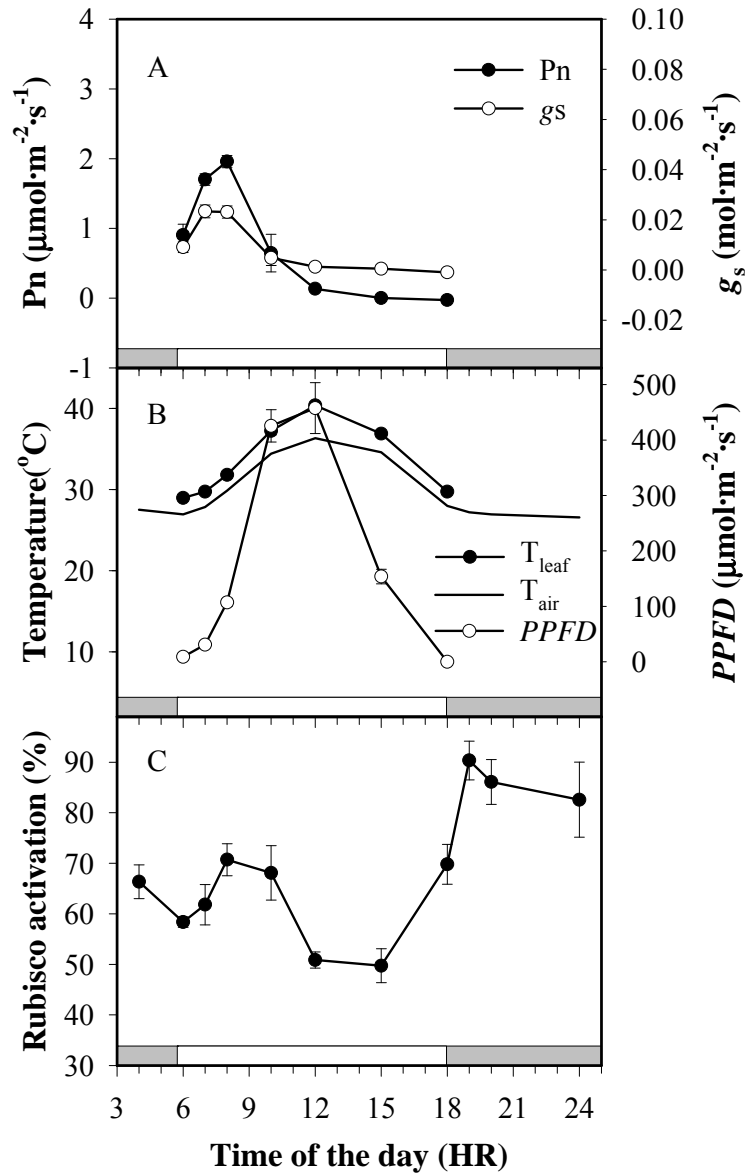


圖 41. 文心蘭光合作用及 Rubisco 酵素活性比例日變化 (24 Sep., 2009)。

Fig. 41. Diurnal changes of (A) net photosynthetic rate (P_n) and stomatal conductance (g_s), (B) leaf temperature (T_{leaf}), air temperature (T_{air}), and irradiance ($PPFD$), and (C) Rubisco activation of leaves in *Oncidium Gower Ramsey*. The shaded bars at the bottom of the figure correspond to the dark period.

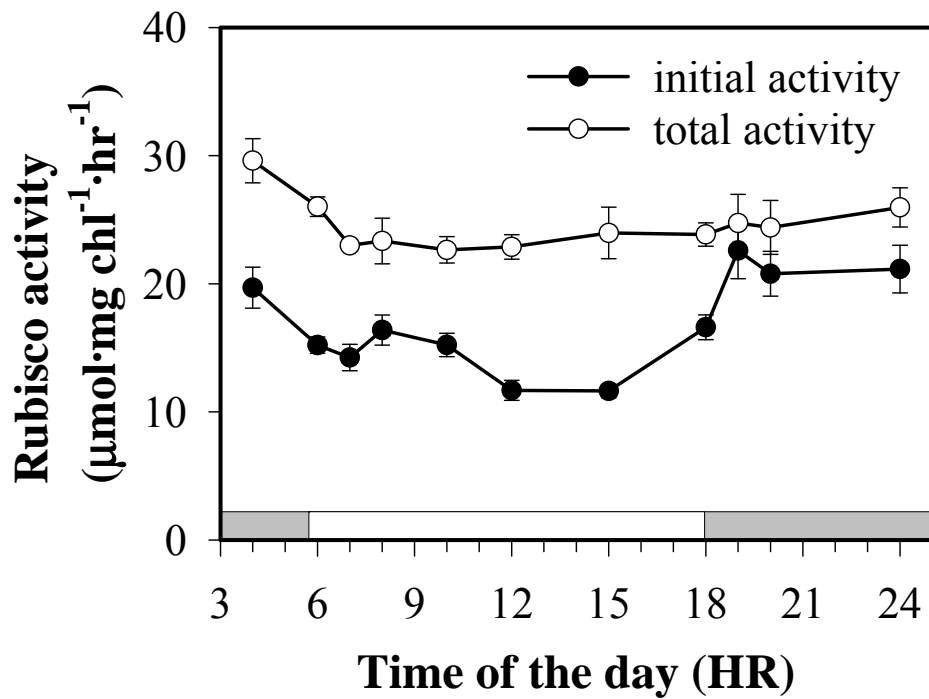


圖 42. 文心蘭 Rubisco 酵素活性日變化 (24 Sep., 2009)。

Fig. 42. Diurnal changes of initial activity and total activity of Rubisco in leaves of *Oncidium* Gower Ramsey. The shaded bars at the bottom of the figure correspond to the dark period.

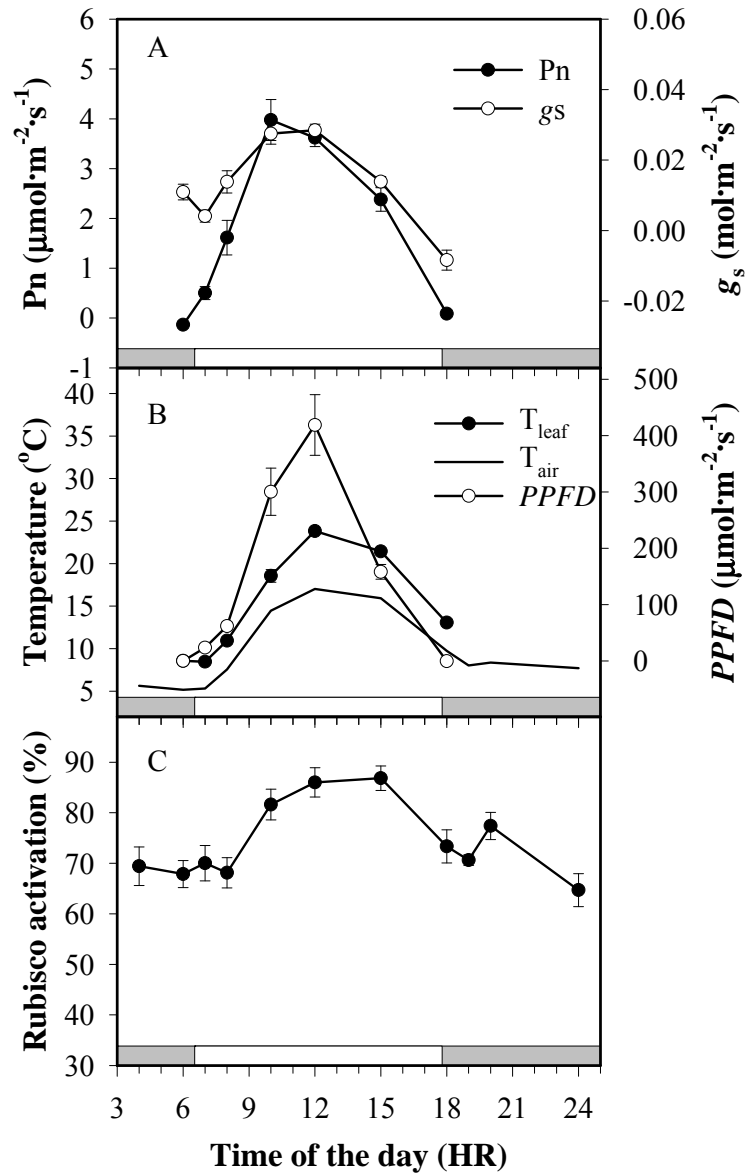


圖 43. 文心蘭光合作用及 Rubisco 酵素活性比例日變化 (13 Jan., 2010)。

Fig. 43. Diurnal changes of (A) net photosynthetic rate (P_n) and stomatal conductance (g_s), (B) leaf temperature (T_{leaf}), air temperature (T_{air}), and irradiance ($PPFD$), and (C) Rubisco activation of leaves in *Oncidium Gower Ramsey*. The shaded bars at the bottom of the figure correspond to the dark period.

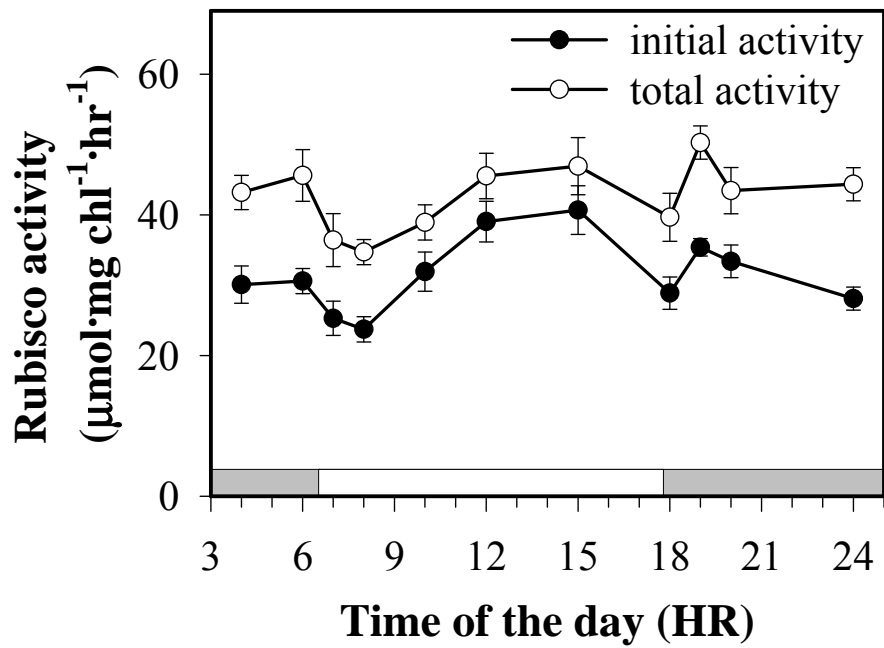


圖 44. 文心蘭 Rubisco 酵素活性日變化 (13 Jan., 2010)。

Fig. 44. Diurnal changes of initial activity and total activity of Rubisco in leaves of *Oncidium* Gower Ramsey. The shaded bars at the bottom of the figure correspond to the dark period.

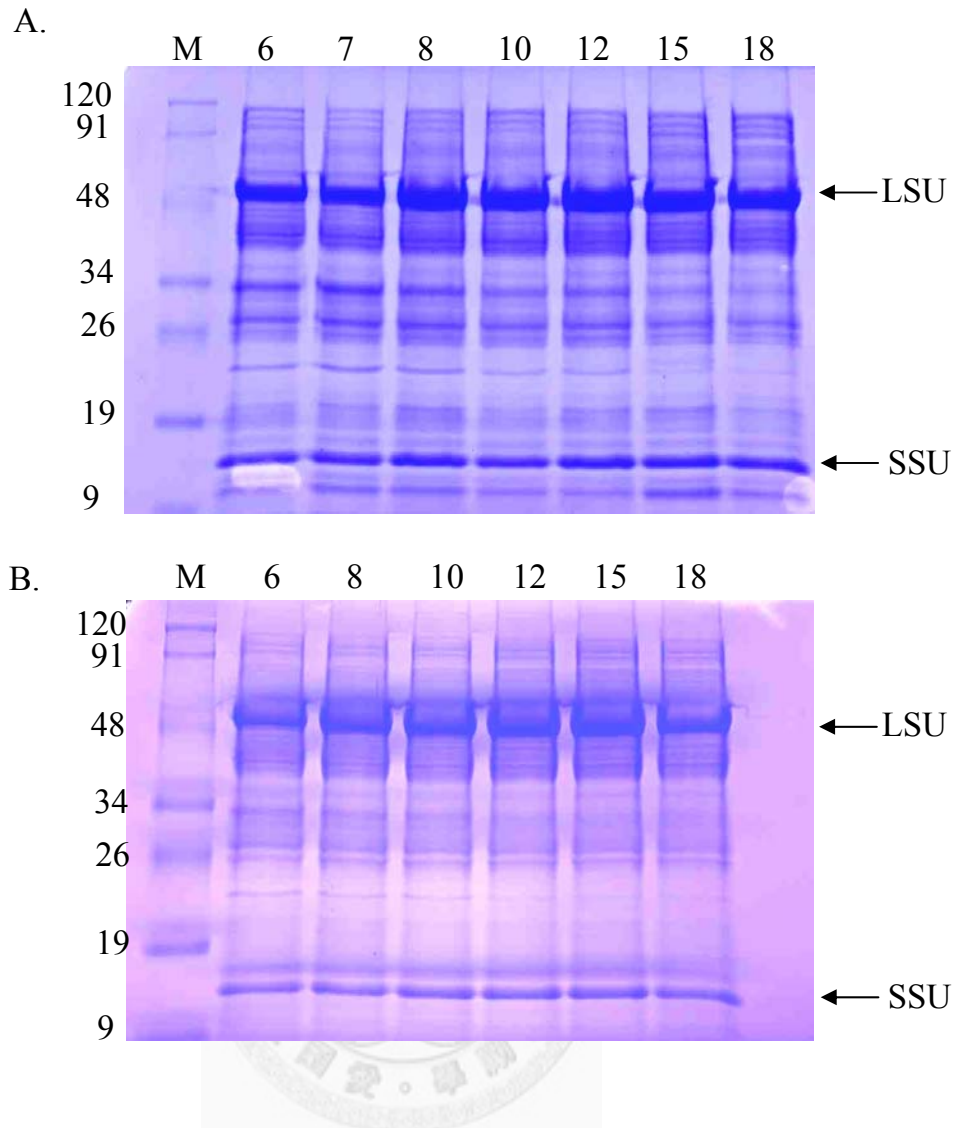


圖 45. 文心蘭葉片 Rubisco 蛋白質定量結果 (A: 24 Sep. 2009, B: 13 Jan., 2010)。箭頭所指處為 Rubisco large subunit (LSU)及 Rubisco small subunit (SSU)。M 表 marker，lane 上方數字表示取樣時間點。

Fig. 45. Image of proteins from *Oncidium* leaves on SDS-PAGE. The arrows labeled LSU and SSU refer to the position of Rubisco large subunit and Rubisco small subunit respectively on the gel. The letter M refers to protein markers, and the numbers (6, 7, 8, 10, 12, 15, and 18) refer to the hour samples were taken. Sampling dates were A: 24 Sep. 2009, B: 13 Jan., 2010.

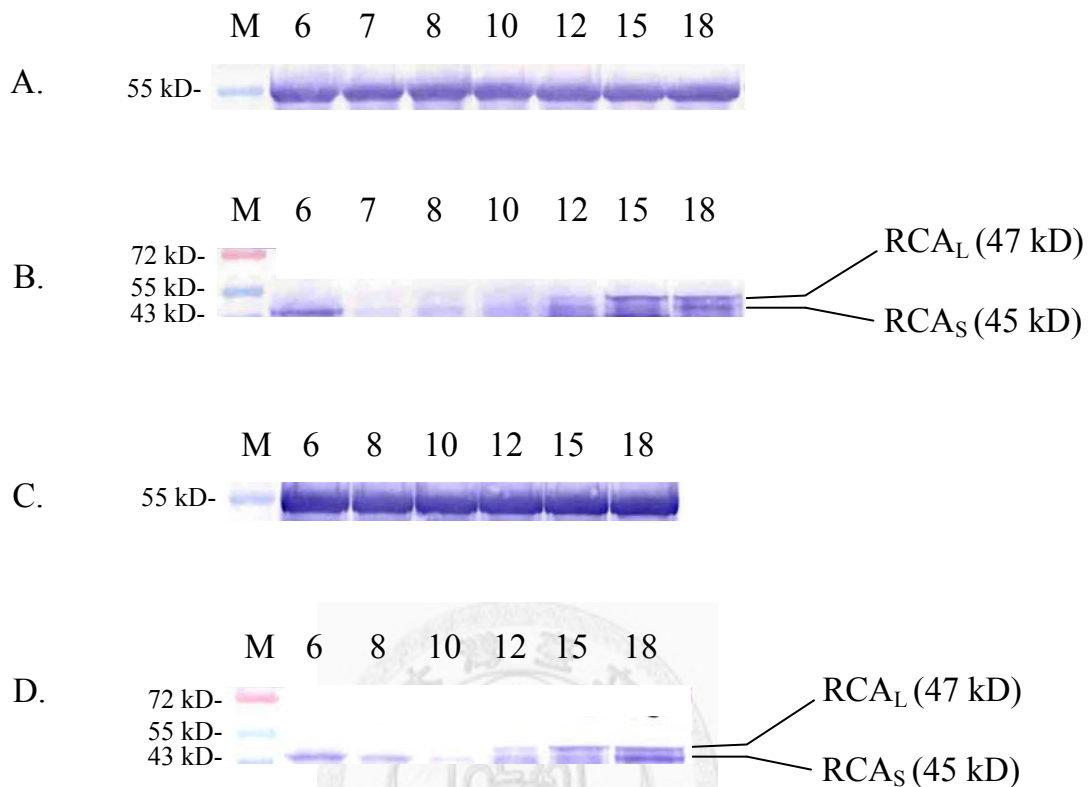


圖 46. 一日內文心蘭葉片 Rubisco (A、C)及 Rubisco activase (B、D)蛋白質經由 western blot 分析結果 (取樣日期, A-B: 24 Sep. 2009, C-D: 13 Jan., 2010)。M 代表蛋白質大小 markers, Lane 上方數字表示取樣時間點。

Fig. 46. Diurnal changes in Rubisco (A、C) and Rubisco activase proteins (B、D) from *Oncidium* leaves analyzed by western blot. Rubisco activase has two isoforms, large isoform (RCA_L) and small isoform (RCA_S). The letter M refers to protein markers, and the numbers (6, 7, 8, 10, 12, 15, and 18) refer to the hour samples were taken. Sampling dates were A-B: 24 Sep. 2009, C-D: 13 Jan., 2010.

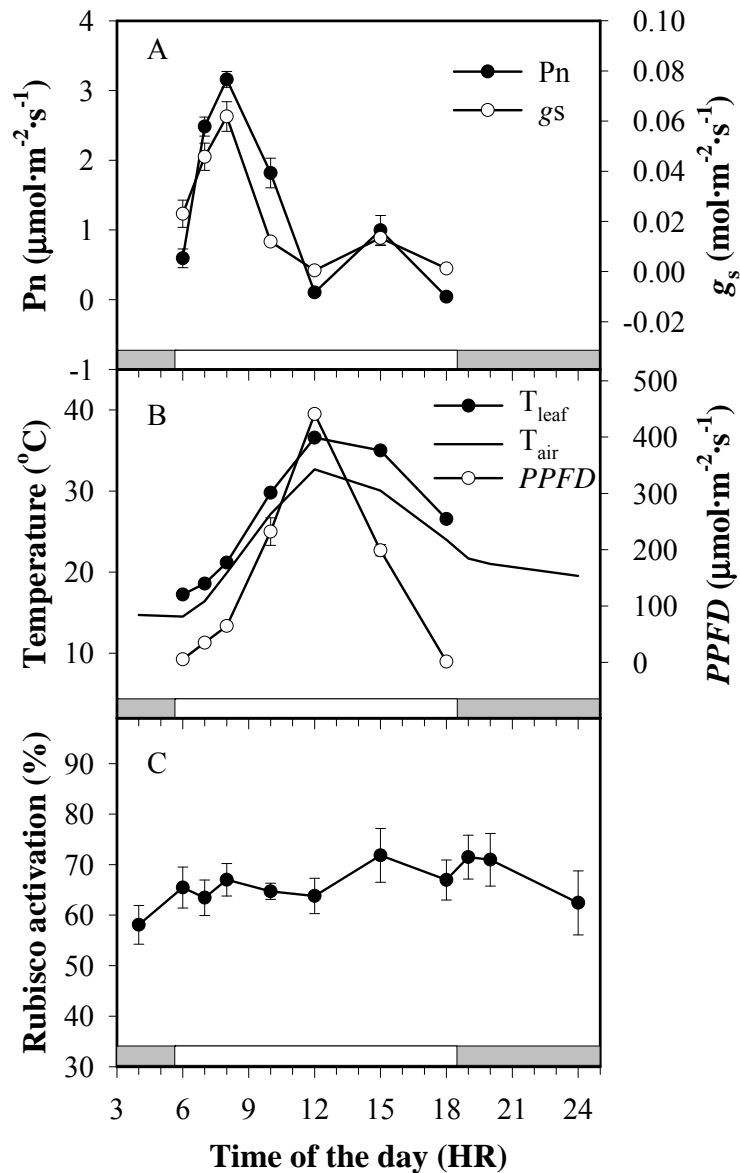


圖 47. 文心蘭光合作用及 Rubisco 酵素活性比例日變化 (19 March 2010)。

Fig. 47. Diurnal changes of (A) net photosynthetic rate (Pn) and stomatal conductance (g_s), (B) leaf temperature (T_{leaf}), air temperature (T_{air}), and irradiance (PPFD), and (C) Rubisco activation of leaves in *Oncidium Gower Ramsey*. The shaded bars at the bottom of the figure correspond to the dark period.

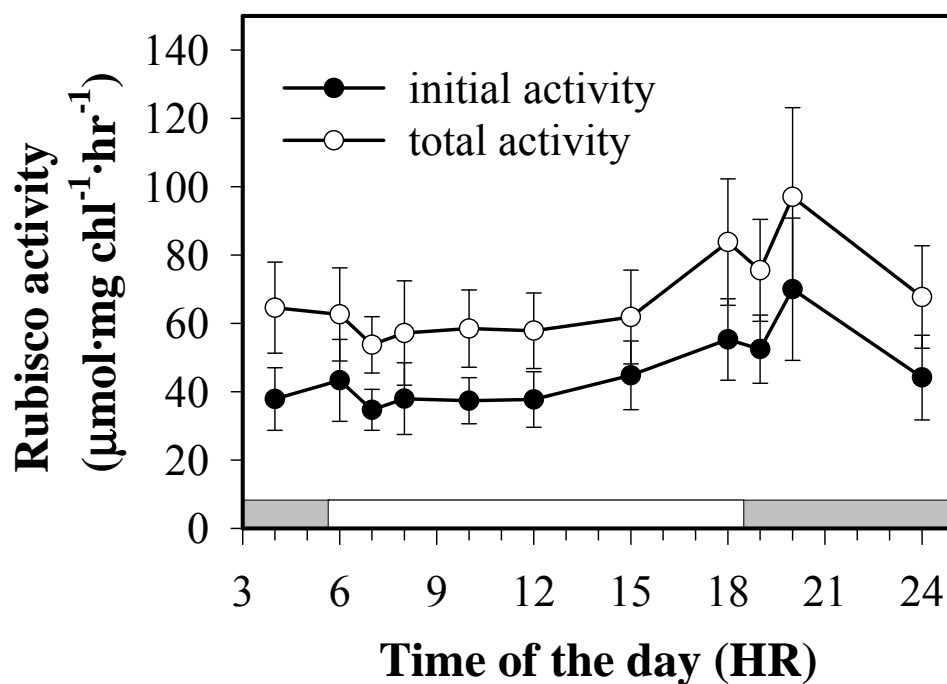


圖 48. 文心蘭 Rubisco 酵素活性日變化 (19 March 2010)。

Fig. 48. Diurnal changes of initial activity and total activity of Rubisco in leaves of *Oncidium* Gower Ramsey. The shaded bars at the bottom of the figure correspond to the dark period.

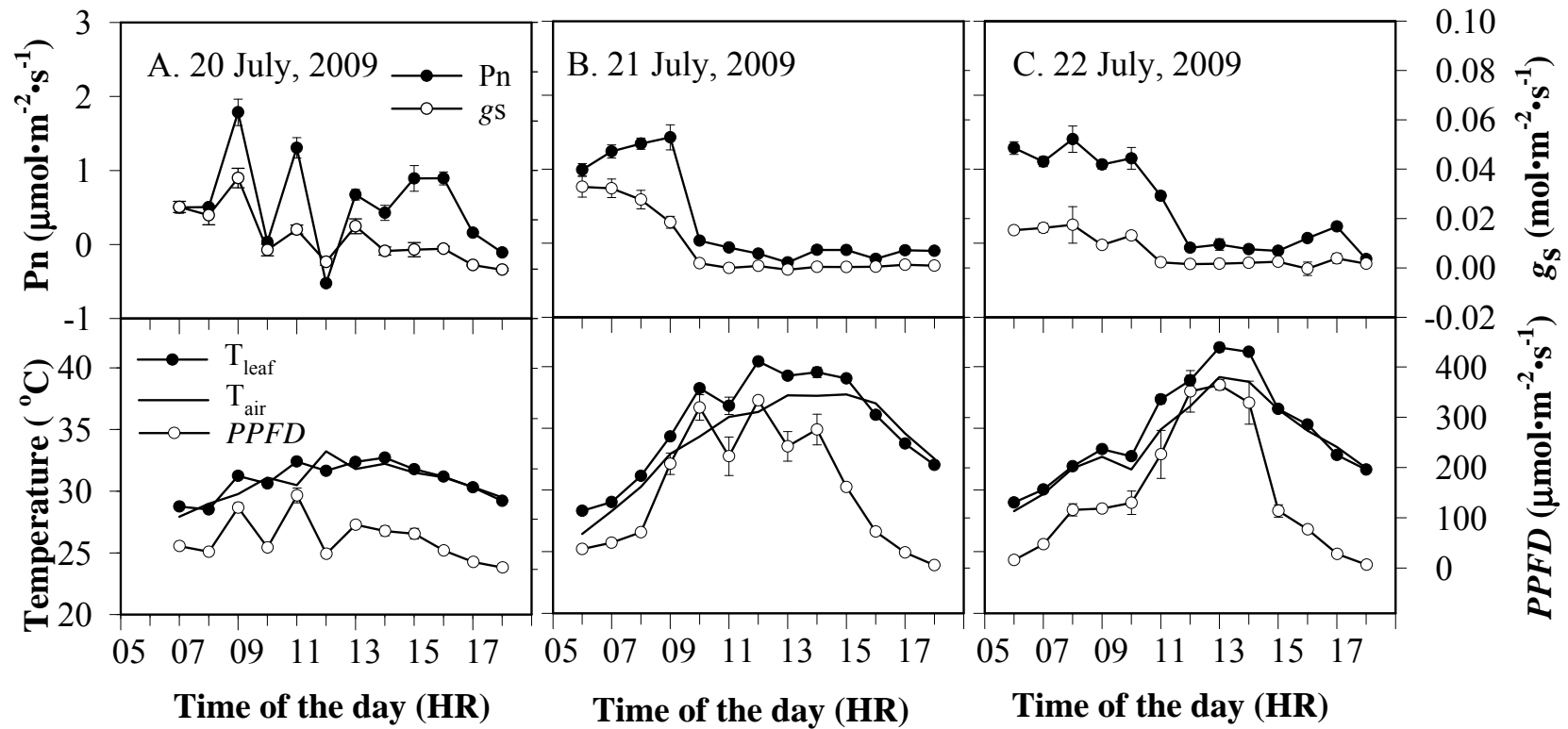


圖 49. 連續三天在不同天候下，文心蘭於簡易網室之淨光合作用日變化 (20 July, 2009 - 22 July, 2009)。

Fig. 49. Hourly changes of net photosynthesis parameters in *Oncidium* Gower Ramsey in three successive days under natural conditions in a rain shelter. Pn: photosynthetic rate, g_s : stomatal conductance, T_{leaf} : leaf temperature.

討論(Discussion)

一、文心蘭光合作用日變化的週年波動情形

植物光合作用日變化可分為兩種類型，一類型為單一波峰，即淨光合作用從早晨隨著溫度及光線增加，到中午時達最高峰，下午則隨之下降。另一類型為雙峰型，即發生午休現象，此類型的光合作用日變化第一個波峰出現在中午前，另一個出現在中午之後，在中午時則有下降的情況發生，若午休現象劇烈，則有可能在下午沒有回復現象(Xu and Shen, 2005)。本週年試驗結果，可將十二個月份所測得的文心蘭光合作用日變化歸類為三種情況，一月及十二月的日變化為單一波峰(圖1A、圖24A)；二月至六月及九月至十一月所測得的日變化為雙峰類型(圖3A、圖5A、圖7A、圖9A、圖11A、圖20A、圖22A)，其中二月及三月下午的回復情況良好；七月的光合作用有嚴重的午休現象，在下午沒有回復(圖13A)。八月份測量當日下午因下雨致使光度下降，因此無法斷定光合作用於下午沒有回復是否為午休現象所致(圖16)，然由另一試驗「文心蘭光合作用與Rubisco酵素活性的日變化」在9月24日所進行的量測結果(圖41)可間接說明，台灣夏季的氣候條件往往使植株光合作用受滯。

一月及十二月份測量當日的氣溫及葉溫均低於15°C，此兩月份的光合作用日變化與光度變化趨勢相近，將一月份的结果作相關性分析(圖27)，結果顯示淨光合作用與光度有顯著相關($R^2 = 0.94$)，表示在溫度適宜時，光度為文心蘭淨光合作用的主要調節因子。與其他月分相較，一月的光度較低，一日最高光度僅約 $60 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，然一日光合作用速率最高可達 $2.59 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，表文心蘭對光有很好的利用效率。一月份及十二月份有多次寒流襲台，夜間氣溫有時低於10°C，但未觀察到文心蘭有寒害症狀發生，且白日低溫亦未對淨光合作用造成抑制，反而減緩午休現象的發生，顯示文心蘭對台灣的冬季氣候條件適應良好。低溫下，蒸氣壓差約0.6-0.8 kPa，亦未對淨光合作用有不良影響。

文心蘭光合作用日變化為雙峰類型的月份有二月至六月，及九月至十一月。以三月份為例，當日文心蘭淨光合作用在11:00-13:00發生午休現象，14:00氣溫下降，淨光合作用有顯著恢復(圖5)。當日氣孔導度與淨光合作用趨勢十分相近，在中午大幅降低。將結果作相關性分析，結果顯示淨光合作用與光度的關係可分為兩部分，在沒有午休現象的時間點，淨光合作用與光度有正向相關($R^2=0.69$)，另一部分為午休現象發生的時間點區域，光度的提升並未提高淨光合作用(圖28)。根據前人研究顯示 $300 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 的光強度尚不致抑制光合作用(陳, 2007)，因此文心蘭光合作用的降低應非光度過強所致。從葉溫及蒸氣壓差對淨光合作用的關係圖來看，當葉溫超過 33°C ，蒸氣壓差超過 3 kPa 時，文心蘭淨光合作用有明顯下降(圖28B、圖28D)。淨光合作用速率隨氣孔導度增加而遞增(圖28C)，當氣孔導度大於 $0.06 \text{ mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 以上，淨光合作用速率沒有變化不大，兩者之間存在二次曲線的相關($R^2=0.87$)。由以上結果可推論中午葉溫上升使蒸氣壓增加，氣孔導度因而降低，限制了光合作用的進行。然胞間二氧化碳濃度在中午沒有下降，反而在12:00有上升的情形，是否儀器計算的數值尚無法真實表達實際情況，或受到patchy stomatal closure影響(Iio et al., 2004)。

文心蘭的光合作用在七月份僅在上午有較高的數值，十點過後，光度及溫度上升，淨光合作用下降至負值，且之後沒有明顯的回復(圖13)。當日淨光合作用最高值出現在8:00，約 $1.12 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，較其他月份測值低，又一日淨光合作用為正值的時數少，使一日平均光合作用是各月份中最低者(圖26)。七月天氣炎熱，10:00過後氣溫達 35°C 以上，以儀器量測的葉溫高達 40°C ，如此高溫環境下，蒸氣壓差高達 4 kPa 以上，一日氣孔導度及蒸散作用均低，顯示氣孔傾向關閉。將結果作相關性分析，淨光合作用與光度間沒有明顯的關係趨勢(圖29A)，雖然當日試驗環境光度高達 $400 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，但未達抑制光合作用的範圍，應非限制因子。Fv/Fm在12:00之後呈現下降(圖15)，並非淨光合作用開始下降的時間點，且Fv/Fm於15:00開始回升，一日變化大致與陳(2007)所測量結果相似，推測午休現象應非

光抑制所引起。高光下，日本山毛櫸(*Fagus crenata* Blume)淨光合作用有午休現象發生，但Fv/Fm在一日內波動不大，顯示淨光合作用的下降並非由光抑制引起(Iio et al., 2004)。

從葉溫對淨光合作用的關係圖來看，兩者為負向關係，當葉溫超過40°C，文心蘭淨光合作用接近零(圖29B)。當蒸氣壓差超過3 kPa時，文心蘭淨光合作用即下降至接近負值(圖29D)，與三月份結果相符，顯示蒸氣壓差可能是很主要的影響因子。Chang and Lin (2007)指出在適溫適光下，荔枝淨光合作用、氣孔導度及胞間二氧化碳濃度在蒸氣壓差超過1.8 kPa時，均有下降現象，認為淨光合作用對蒸氣壓差的反應主要由氣孔來調節。而由文心蘭氣孔導度與淨光合作用的關係圖亦可看出兩者有正向相關，隨氣孔導度增加，文心蘭淨光合作用有上升之勢(圖29C)。再比對三月份與七月份的氣孔導度與淨光合作用的關係圖(圖28C、圖29C)，七月份氣孔導度最高值僅 $0.01 \text{ mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，仍屬於未飽和階段，因此七月份淨光合作用數值不高可能是氣孔導度所限制。小棗(*Linze jujube*)在六月底及七月底的光合午休現象程度明顯，而八月底較輕微。該研究中，三個月份的光強度相近，而八月份的氣孔導度及空氣溼度較六、七月為高，蒸氣壓差則較低，因此在高溫高光下，蒸氣壓差的增加造成氣孔導度下降，可能是午休現象的主要原因(Su and Liu, 2005)。Tay et al. (2007)亦指出過高的蒸氣壓差會引起藤本植物(*Enkleia malaccensis* Griff.)部份氣孔關閉，進而導致淨光合作用速率下降，出現午休現象。

文心蘭光合作用在六至九月份的高峰時間較為提前，可能9:00之後葉溫已升高至不利光合作用進行的範圍(表1)。而下午的高峰時間點以春季(二至四月)較提前，恢復程度也較明顯，使一日平均光合作用數值較其他季節為高，尤以二月份最高，居全年之冠(圖26)。各月份相較，七至九月的一日最高溫及一日最大光度的數值最高，而平均光合作用速率最低。綜合上述，一年當中，光合產物在夏季累積較少，而春季累積較多，此點或許可以解釋文心蘭切花品質的季節性差異。一般而言，文心蘭切花在前半

年A級品比率高於下半年，尤以五、六月份A級品最高(張，2006)。

從文心蘭一日中光合作用下降時間點的溫度來看，二月份到七月份，文心蘭淨光合作用下降點的葉溫由26.2 °C提高至42.7 °C (表2)，顯示文心蘭對溫度的反應受到季節改變而有馴化現象，從春季至夏季，文心蘭對熱的耐受性逐漸提高。各月份文心蘭淨光合作用下降點的光度沒有特別趨勢，推測光度造成午休現象發生的可能性較小。下降時間點的蒸氣壓差大致上大於1.5 kPa，以七月份最高，但未有隨季節改變的趨勢(表2)，似乎無法單就蒸氣壓差來評估文心蘭午休現象發生的可能性，蒸氣壓差對光合作用的影響可能是與葉溫同時作用。此外，在發生午休現象的月分，氣孔導度通常較光合作用提早下降，顯示氣孔對環境改變敏感，氣孔導度的降低可能因此導致光合作用下降。

二、不同光度對文心蘭光合作用及Rubisco酵素活性之影響

番茄幼葉照光2-3小時後，Rubisco活性可達最大活性(Besford, 1984)。因此，光度與溫度的酵素活性試驗設計皆將植株在光照下馴化3小時再進行光合作用量測及酵素取樣。試驗光度分別為0、100、200、300、400、500及600 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，一天只測量一光度，植株於每個光度下馴化三小時。於0-400 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 時，文心蘭淨光合作用隨光度上升而提高(圖30A)。當光度提升至400-600 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 時，各光度間的淨光合作用速率，沒有顯著差異。陳(2007)指出當光強度高達500 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 以上就可能有光抑制發生，但此試驗中，600 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 的光強度尚未造成文心蘭光合作用下降。

文心蘭Rubisco初始活性及酵素活性比例亦隨光度增加而提高(圖31)，但初始活性在光度為0-500 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 時，差異不大。換算為活性比例，上升趨勢則與淨光合作用相近，於0-400 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 時，隨光度上升，Rubisco酵素活性比例隨之提高。本試驗顯示提高光度有助於提升Rubisco酵素活性，然光度為0 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 時，Rubisco activation已有六成以上，可能有部

份活化態的Rubisco在黑暗中並未被去活化。Usuda (1985)指出在適當環境及飽和基質下，玉米葉片Rubisco activation在黑暗中約67%-84%，高於許多C₃型植物(20%-50%)。照光後的Rubisco activation可達89%-98%，可能玉米葉片的Rubisco在黑暗下，也大多維持在活化態形式。

將光度試驗中，文心蘭淨光合作用速率與氣孔導度、Rubisco activation及Rubisco初始活性作相關性分析(圖34)，結果淨光合作用與三因素間均呈現正向關係，其中以氣孔導度相關性最高($R^2 = 0.65$)。Rubisco activation與淨光合作用速率之間的關聯性較小，推測文心蘭Rubisco對光度的需求較小，無光環境下也能維持活化態，光度的增加有助於活化態的提升，但幅度並不大。將胞間二氧化碳濃度及淨光合作用速率作相關圖，結果並沒有明顯的關係趨勢(圖33)。

三、不同溫度對文心蘭光合作用及Rubisco酵素活性之影響

陳(2007)指出*Onc. Gower Ramsey*光飽和點約 $250 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，因此測量當天設定光強度為 $250 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，植株於該光度下馴化3小時後進行光合作用等參數的測量及葉片取樣。植株於不同日夜溫度栽培兩個月後，以25/20 °C的文心蘭植株，有較快的生長速度，肉眼上較15/13 °C及35/30 °C有較長的葉長，葉片質地則以15/13 °C的植株較厚。

試驗結果顯示栽培於15/13 °C及25/20 °C的文心蘭植株，淨光合作用速率在33 °C時即大幅下降，35/30 °C的組別在此溫度則沒有顯著下降。當溫度達39 °C時，栽培於15/13 °C及25/20 °C的文心蘭植株，淨光合作用降為負值，栽培於35/30 °C的植株，淨光合作用雖有顯著下降，但仍高於其他兩栽培溫度的測量值(圖35A)，顯示較高溫的生長環境會提高植物光合作用對熱的耐受性。觀察氣孔導度的溫度曲線，氣孔導度受高溫抑制的情況與光合作用相符，栽培於15/13 °C及25/20 °C的文心蘭植株，氣孔導度在33 °C時下降明顯(圖35B)。在此溫度，文心蘭Rubisco初始活性尚未受到影響，

三栽培溫度間的Rubisco activation沒有顯著差異(圖36)。當葉溫達39 °C時，栽培於15/13 °C及25/20 °C的文心蘭植株Rubisco activation已下降至50%左右，35/30 °C的組別則仍維持在71%。由以上結果可看出，當溫度升高時，氣孔導度下降是較早出現的生理反應，而溫度持續升高可能造成植株體內酵素活性受到抑制，而不同生長溫度會影響植物光合作用及體內酵素對熱的耐受性。

各溫度下所測得之胞間二氧化碳濃度沒有明顯趨勢，亦無法看出栽培溫度的效應(圖37)，將胞間二氧化碳濃度及淨光合作用速率作相關圖，結果並沒有明顯的關係趨勢(圖38)。將溫度試驗中，文心蘭淨光合作用速率與氣孔導度、Rubisco activation及初始活性作相關性分析，栽培於15/13 °C及25/20 °C者以氣孔導度與淨光合作用速率的相關性最高，為二次相關。35/30 °C的組別則以Rubisco初始活性與淨光合作用速率的相關性最高(圖40)。

陳(2007)觀察文心蘭光合作用在不同季節的溫度反應，四月份*Onc. Gower Ramsey*的淨光合作用速率在26 °C即下降，於十一月份則溫度超過30 °C以上才下降，顯示文心蘭的光合作用受季節影響，在自然環境下有馴化現象。在菠菜也有類似研究，栽培於30/25 °C的菠菜，光合作用及Rubisco對高溫的耐受度均較15/10 °C的植株佳，顯示植物在不同生育溫度下有馴化的能力，以提高光合作用效率(Yamori et al., 2006)。然同一溫度組的菠菜，其光合作用和Rubisco activation在高溫的下降點相近，此與本試驗結果稍有不同。

四、文心蘭光合作用與Rubisco酵素活性的日變化

Rubisco為光合碳同化的關鍵酵素，其活性高低直接影響光合作用速率，因此，Rubisco活性降低常被作為引起光合午休現象的非氣孔因素之一(Sinha et al., 1997)。三個月份的文心蘭光合作用及Rubisco活性日變化顯

示，Rubisco活性與光合作用的關聯性在各季節並不一致。

三月份及九月份所測得之文心蘭光合作用均有午休現象的發生，然三月份光合作用於下午有顯著回復(圖47A)，九月份則未觀察到有回復情形，顯示光合午休現象極為嚴重(圖41A)。比較兩個月份的氣溫，三月份中午氣溫約31 °C，並於13:00後下降至30 °C以下；九月份中午氣溫達36 °C，整個下午仍維持在30 °C以上。葉溫方面，三月份中午葉溫約36 °C，九月份中午葉溫高達40 °C，且15:00仍達37 °C，過高的溫度可能是文心蘭光合作用停滯的主因。

Rubisco activation為其初始活性與總活性之比值(initial activity/total activity)，可反映Rubisco受 carbamylation的程度(Butz and Sharkey, 1989)。因此，Rubisco activation的下降可解釋為酵素decarbamylation，即可作用的活化態酵素減少。三月份及九月份的文心蘭Rubisco activation一日變化明顯不同。三月份，文心蘭Rubisco activation一日內變化幅度不大(圖47C)，約維持在60%-70%左右。文心蘭Rubisco初始活性及總活性整日亦無明顯變化(圖48)，可能當日溫度尚未達到抑制Rubisco活性的閾值。

反觀九月份，文心蘭Rubisco activation在光期的變化大致與淨光合作用相符。Rubisco activation於6:00時約58%，之後隨光度增加而逐漸上升，於8:00時達光期最高值，約71%。10:00開始下降，約68%，12:00時下降幅度更大，降至約50%，下午沒有回復(圖41C)。SDS-PAGE結果顯示文心蘭葉片內Rubisco含量在一日光期間沒有明顯變化(圖45A，圖46A)，因此Rubisco activation的變動並非因為蛋白質降解或合成所致。對照Rubisco活性可得知，Rubisco總活性一日變化不大(圖42)，Rubisco初始活性下降是Rubisco activation於午間的下降的主要原因。

三月份及九月份的文心蘭氣孔導度日變化與淨光合作用趨勢相近，顯示氣孔因素是文心蘭光合作用的限制因子。綜合兩個月份來看，三月份最高葉溫約36.6 °C (最高氣溫約31 °C)，使氣孔導度降低，但尚不致降低Rubisco酵素活性，下午溫度下降而使氣孔導度上升，光合作用可再度回

復，因此氣孔因素是三月份文心蘭午休現象的主要限制因子。九月份葉溫達40.4 °C (最高氣溫約36 °C)，除影響氣孔外，還抑制了Rubisco活性，使文心蘭光合作用停滯，下午無法回復，因此Rubisco活性降低可視為九月份文心蘭光合午休現象的非氣孔限制因子。此與試驗三結果(圖35、36)亦相符，即當溫度升高時，氣孔導度下降是較早出現的生理反應，而溫度持續升高可能造成植株體內酵素活性受到抑制。其他作物也有類似情形。遼東櫟 (*Quercus liaotungensis* Koidz) 對高溫的反應可分為兩階段，溫度在30-35 °C之間，淨光合作用的下降為氣孔關閉所引起，然溫度在35-45 °C之間，非氣孔限制是淨光合作用下降的主因(Zhang et al., 2001)。莓實樹(*Arbutus unedo* L.)的午休現象的原因包含diffusional limitation及non-diffusional limitations，然兩因素在不同月份的影響程度不同(Grassi et al., 2009)。

一月份測量當天寒流來襲，清晨植株葉溫約8.6 °C，但中午達23.8 °C，文心蘭淨光合作用日變化為單峰形式(圖43A)，沒有午休現象發生。12:00時，文心蘭淨光合作用沒有下降，此時葉溫及光度均為一日最高值，分別為23.8 °C及419 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，顯示在溫度適合下，400 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 的光強度並不會造成光合作用下降，且淨光合作用、氣孔導度的日變化趨勢與光度變化大致符合，表當日光度及氣孔導度是文心蘭光合作用的重要調節因子。文心蘭Rubisco activation一日間以10:00-15:00活性最高，此時段恰為光度及光合作用較高之時(圖43)，故推測在非高溫逆境下，光度可同時提高氣孔導度及Rubisco活性，進而提升光合作用速率。

一月份文心蘭Rubisco總活性日變化與其他月份測得結果不同，總活性在暗期改變不大，但光期活性有波動，且與初始活性趨勢相同(圖44)。低溫下，挪威雲杉 [*Picea abies* (L.) Karst.] 植株Rubisco初始活性及總活性兩者一日日變化趨勢呈現midday depression，且與光度變化沒有直接相關，作者認為清晨及黃昏Rubisco總活性較低可能受夜間inhibitors，如CA1P所抑制，而除夜間抑制劑外，可能有其他inhibitors作用而使一日活性有波動(Hrstka et al., 2007)。

甜菜及菠菜等許多作物的Rubisco activation隨光度增加而提高，而光照促進抑制物的降解可能是光度對Rubisco活性的主要調節機制(Kobza and Seemann, 1989)。本試驗中，文心蘭Rubisco受光度的影響似乎與其他作物不同。三個月份中，僅於一月份測得之文心蘭Rubisco在光期的初始活性及activation明顯高於暗期，三月份光暗期間沒有明顯差異，九月份則以暗期較高。三個月份的氣候條件不同可能是造成此結果的原因，當溫度適宜，植株未處於逆境時，光度是Rubisco主要調節因子，而當溫度上升至形成環境壓力時，溫度因素的影響會高於光度因素。

分析一月份及九月份的葉片內蛋白質，結果顯示一天內Rubisco蛋白質含量無明顯變化(圖46A、圖46C)，然activase含量則有很大的變化(圖46B、圖46D)，且兩個不同氣候條件下所作結果相同，說明activase含量的改變應為內生韻律。此點與To et al. (1999)提出水稻activase之mRNA在光期呈現下降的結果相符，但本試驗結果也說明activase於合成後，很容易turn over。6:00以後，activase含量已開始下降(圖46B、圖46D)，但activation仍持續上升(圖41、圖43)，說明少部分activase仍足夠活化Rubisco。然而下午activase開始累積但activation並沒有增加，原因則有待將來進一步試驗釐清。

五、不同天候對文心蘭光合作用之影響

連續三天在簡易網室下對文心蘭進行光合作用測量，試驗期間為2009年7月20日至7月22日，三天天氣型態稍有不同，試驗結果顯示短時間的天氣改變即會對文心蘭光合作用產生影響。

第一天為多雲時晴的天氣型態，光度因雲量變化而不穩定，文心蘭光合作用日變化亦呈現波動的現象(圖49A)。三天之中以第一天的葉溫最低，下午光合作用的表現亦最佳。文心蘭葉溫在8:00之後，約維持在31-33°C，變動幅度不大，推測淨光合作用於10:00及12:00時的下降應為光度下降所引起。13:00時，文心蘭淨光合作用恢復至 $0.7 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，之後變動不大，

但因光度不高，淨光合作用數值並不高。由第一天結果顯示該日淨光合作用日變化受到光度影響較氣溫大。

第二天及第三天天氣型態較為接近，均為晴朗天氣，且葉溫及光度皆較第一天高，但第二天時而有雲量增多的情形。此兩天的文心蘭光合作用日變化趨勢相近，均有午休現象發生(圖49B、圖49C)，然兩天文心蘭光合作用下降點不同。第二天所測得之文心蘭葉溫從10:00至16:00均高於36°C，而文心蘭淨光合作用速率於10:00時已下降至接近負值，直到18:00都沒有回復，該日淨光合作用變化趨勢與週年試驗七月份所測結果相近。第三天上午有日全蝕現象，葉溫與光度稍有改變，間接影響了文心蘭光合作用。接近10:00時，開始發生日蝕，陽光量減少，使原本持續上升的光度回復至9:00時的數值，原本持續上升的葉溫亦略微下降，此時文心蘭淨光合作用速率仍維持在 $1.1 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，與9:00所測值相近。直至12:00時，光度上升至 $352 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，葉溫上升至39°C，文心蘭淨光合作用速率下降至負值。16:00時，葉溫下降至35°C，文心蘭光合作用有回復現象，但恢復情況不佳。

臺灣夏季炎熱，過高的溫度是導致文心蘭光合作用發生午休現象的主要環境因素(陳，2007)。由三天的試驗結果得知，在夏季晴朗天氣型態，文心蘭的光合作用午休現象劇烈，下午回復情形不佳。陰天氣溫下降，有助於減緩午休現象，而光度會影響淨光合作用速率的高低。

結論

在適當溫度條件下，光度可提高氣孔導度及Rubisco活性，進而提升光合作用速率。高溫逆境下，中午氣溫上升使蒸氣壓差增加，文心蘭氣孔導度因而降低，此為植株遭受高溫時初步出現的生理反應；溫度持續升高可能進一步造成植株體內Rubisco活性下降，形成非氣孔限制因子。

文心蘭對溫度的反應受到季節改變而有差異，二月份到七月份，文心蘭淨光合作用一日中光合作用下降點的葉溫由26.2 °C提高至42.7 °C，從春季至夏季，文心蘭對熱的耐受性逐漸提高。而不同生長溫度會透過馴化影響植物及體內光合作用酵素對熱的耐受性。

由本研究得知文心蘭光合作用特性會因季節更替而有所差異，故在栽培環境上也必須依不同季節及氣候作調整。目前文心蘭業者大多以50%的固定式遮陰網之簡易網室栽種文心蘭，夏季晴朗天氣容易造成光度太強，且無法達到良好降溫目的，冬季或陰天亦可能因光度不足而使文心蘭光合作用及生長速率較低。

以台灣而言，平地的冬季涼溫可減緩文心蘭光合作用午休現象的發生，且由本試驗觀察，文心蘭於10 °C以上的溫度，光合作用速率並未因低溫而受抑制。因此，若能使用活動式遮陰網，於冬季提高栽培光度，將有助於增加淨光合作用速率及生長速率，以提高冬季切花產量及品質。

文心蘭光合作用於春季午間即有可能發生午休現象，但下午恢復情形良好，故在11:00-13:00進行噴霧應可以降低氣溫與蒸氣壓差，減緩光合作用下降的程度。六月之後，上午高溫即可能使文心蘭處於逆境，故噴霧時間可提早至9:00之後即開始，並配合適當遮陰，應可降低高溫與高蒸氣壓差所帶來的負面影響。

參考文獻 (References)

- 李孟惠. 1998. 溫度、光度及肥料濃度對文心蘭花序發育之影響. 國立臺灣大學園藝學系碩士論文.
- 陳玉蓮. 2002. 溫度、光度及模擬儲運對文心蘭‘埔里貴妃’、‘火山皇后’和 *Colmanaras Wildcat* 生育與開花之影響. 國立台灣大學園藝學研究所碩士論文.
- 陳筱薇. 2007. 環境因子對文心蘭光合作用之影響. 國立臺灣大學園藝學系碩士論文.
- 張允瓊、李咩. 1999. 文心蘭 Gower Ramsey 假球莖與花序之生長、型態與解剖. 中國園藝. 45:87-99.
- 張彩蘋. 2006. 產業分析. 刊於:周明燕等編著. 文心蘭產業經營管理專輯. 行政院農業委員會. 台北.
- 蔡佩芬. 2000. 溫度、光度、栽培介質及肥料濃度對文心蘭苗生育之影響. 國立台灣大學園藝學研究所碩士論文.
- Alterio, G., P. Giorio, and G. Sorrentino. 2006. Open-system chamber for measurements of gas exchanges at plant level. *Environ. Sci. Technol.* 40:1950-1955.
- Austin, R. B. and P. C. Longden. 1967. A rapid method for the measurement of rates of photosynthesis using $^{14}\text{CO}_2$. *Ann. Bot.* 31:245-253.
- Barradas V.L. and H.G. Jones. 1996. Responses of CO_2 assimilation to changes in irradiance: Laboratory and field data and a model for beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *J. Expt. Bot.* 47: 639-645.
- Besford, R.T. 1984. Some properties of ribulose biphosphate carboxylase extracted from tomato leaves. *J. Expt. Bot.* 153: 495-504.
- Bugbee, B. 1992. Steady-state canopy gas exchange: System design and operation. *HortScience* 27:770-776.

- Butz, N.D. and T.D. Sharkey. 1989. Activity ratios of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase accurately reflect carbamylation ratios. *Plant Physiol.* 89:735-739
- Chang, J.C. and T.S. Lin. 2007. Gas exchange in litchi under controlled and field conditions. *Scientia Hort.* 114: 268-274.
- Crafts-Brandner, S.J. and R.D. Law. 2000. Effect of heat stress on the inhibition and recovery of the ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase activation state. *Planta* 212:67-74.
- Delieu, T. and D.A. Walker. 1981. Polarographic measurement of photosynthetic oxygen evolution by leaf discs. *New Phytol.* 89:165-178.
- Dubinsky, Z., P.G. Falkowski, A.F. Post, and U.M. van Hes. 1987. A system for measuring phytoplankton photosynthesis in a defined light field with an oxygen electrode. *J. Plankton Res.* 9:607-612.
- Ernstsen, J., I.E. Woodrow, and K.A. Mott. 1997. Responses of Rubisco activation and deactivation rates to variations in growth-light conditions. *Photosyn. Res.* 52: 117-125.
- Farquhar, G.D. and T.D. Sharkey. 1982. Stomatal conductance and photosynthesis. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 33: 317-345.
- Feller, U., S.J. Crafts-Brandner, and M.E. Salvucci. 1998. Moderately high temperatures inhibit ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase (Rubisco) activase-mediated activation of Rubisco. *Plant Physiol.* 116:539-546.
- Flore, J.A. and A.N. Lakso. 1989. Environmental and physiological regulation of photosynthesis in fruit crop. *Hort.Rev.*11:111-157.
- Field, C. and H. Mooney. 1990. Measuring photosynthesis under field conditions: Past and present approaches, p. 185-205. In: Y. Hashimoto, P. Kramer, H. Nonami, and B. Strain (eds.). *Measurement techniques in plant science.* Academic, New York.
- Grassi, G., F. Ripullone, M. Borghetti, S. Raddi, and F. Magnani. 2009.

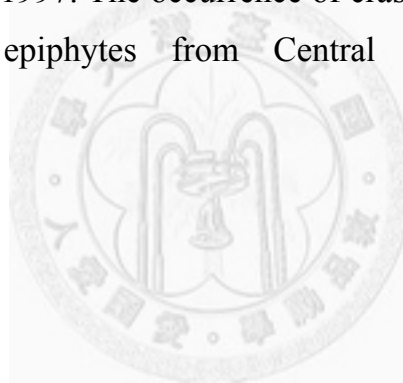
- Contribution of diffusional and non-diffusional limitations to midday depression of photosynthesis in *Arbutus unedo* L. *Trees* 23:1149–1161.
- Haldimann, P. and U. Feller. 2004. Inhibition of photosynthesis by high temperature in oak (*Quercus pubescens* L.) leaves grown under natural conditions closely correlates with a reversible heatdependent reduction of the activation state of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase. *Plant Cell Environ.* 27:1169-1183.
- Hall, A.E. and E.D. Schulze. 1980. Stomatal response to environment and a possible interrelation between stomatal effects on transpiration and CO₂ assimilation. *Plant Cell Environ.* 3:467-474.
- He, J., W. Ouyang, and T.F. Chia. 2004. Growth and photosynthesis of virus-infected and virus-eradicated orchid plants exposed to different growth irradiances under natural tropical conditions. *Physiol. Plant.* 121:612-619.
- Hew, C.S. and J.W.H. Yong. 1994. Growth and photosynthesis of *Oncidium* ‘Goldiana’. *J. Hort. Sci.* 69:809-819.
- Hozain, M.I., M.E. Salvucci, M. Fokar, and A.S. Holaday. 2009. The differential response of photosynthesis to high temperature for a boreal and temperate *Populus* species relates to differences in Rubisco activation and Rubisco activase properties. *Tree Physiol.* 30:32-44.
- Hrstka, M., O. Urban, E. Petru, and L. Babak. 2007. Diurnal regulation of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase activity and its content in Norway spruce needles. *Photosynthetica* 45:334-339.
- Hu, M.J., Y.P. Guo, Y.G. Shen, D.P. Guo, and D.Y. Li. 2009. Midday depression of photosynthesis and effects of mist spray in citrus. *Ann. Appl. Biol.* 154:143-155.
- Huang, L.F., J.H. Zheng, Y.Y. Zhang, W.H. Hu, W.H. Mao, Y.H. Zhou, and J.Q. Yu. 2006. Diurnal variations in gas exchange, chlorophyll fluorescence quenching and light allocation in soybean leaves: The cause for midday depression in CO₂ assimilation. *Scientia Hort.* 110:214-218.

- Hunt, S. 2003. Measurements of photosynthesis and respiration in plants. *Physiol. Plant.* 117: 314–325.
- Iio, A., H. Fukasawa, Y. Nose, and Y. Kakubari. 2004. Stomatal closure induced by high vapor pressure deficit limited midday photosynthesis at the canopy top of *Fagus crenata* Blume on Naeba mountain in Japan. *Trees* 18:510-517.
- Jensen, R.G. 2004. Activation of Rubisco controls CO₂ assimilation in light: a perspective on its discovery. *Photosyn. Res.* 82:187-193.
- Jones, H.G. 1998. Stomatal control of photosynthesis and transpiration. *J. Expt. Bot.* 49:387-398.
- Kobza, J. and J.R. Seemann. 1989. Regulation of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase activity in response to diurnal changes in irradiance. *Plant Physiol.* 89:918-924.
- Lan, Y., I.E. Woodrow, and K.A. Mott. 1992. Light dependent changes in ribulose bisphosphate carboxylase activase activity in leaves. *Plant Physiol.* 99: 304-309.
- Long, S.P., P.K. Farage, and R.L. Garcia. 1996. Measurement of leaf and canopy photosynthetic CO₂ exchange in the field. *J. Expt. Bot.* 47:1629–1642.
- Maxwell, K. and G.N. Johnson. 2000. Chlorophyll fluorescence – a practical guide. *J. Expt. Bot.* 51:659-668.
- Monteith, J.L. 1995. A reinterpretation of stomatal responses to humidity. *Plant, Cell and Environ.* 18: 357-364.
- Niu, S.L., G.M. Jiang, Y.G. Li, L.M. Gao, and M.Z. Liu. 2003. Diurnal gas exchange and superior resources use efficiency of typical C₄ species in Hunshandak Sandland, China. *Photosynthetica* 41:221-226.
- Parry, M.A., P.J. Andralojc, S. Parmar, A.J. Keys, D. Habash, M.J. Paul, R. Alred, W.P. Quick, and J.C. Servaites. 1997. Regulation of rubisco by inhibitors in the light. *Plant Cell Environ.* 20:528-534.
- Perchorowicz, J.T., D.A. Raynes, and R.G. Jensen. 1981. Light limitation of photosynthesis and activation of ribulose bisphosphate carboxylase in

- wheat seedlings. Proc. Natl. Acad. Sci. 78:2985-2989.
- Portis, A.R. Jr., M.E. Salvucci, and W.L. Ogren. 1986. Activation of ribulosebiphosphate carboxylase/oxygenase at physiological CO₂ and ribulosebiphosphate concentrations by Rubisco activase. Plant Physiol. 82:967-971.
- Salvucci, M.E. and J.C. Anderson. 1987. Factors affecting the activation state and the level of total activity of ribulose biphosphate carboxylase in tobacco protoplasts. Plant Physiol. 85:66-71.
- Salvucci, M.E. and S.J. Crafts-Brandner. 2004a. Inhibition of photosynthesis by heat stress: The activation state of Rubisco as a limiting factor in photosynthesis. Physiol. Plant. 120:179-186.
- Salvucci, M.E. and S.J. Crafts-Brandner. 2004b. Mechanism for deactivation of Rubisco under moderate heat stress. Physiol. Plant. 122:513-519.
- Salvucci, M.E. and S.J. Crafts-Brandner. 2004c. Relationship between the heat tolerance of photosynthesis and the thermal stability of Rubisco activase in plants from contrasting thermal environments. Plant Physiol. 134:1460-1470.
- Salvucci, M.E. and S.J. Crafts-Brandner. 2004d. Mechanism for deactivation of Rubisco under moderate heat stress. Physiol. Plant. 122:513-519.
- Salvucci, M.E. 2008. Association of Rubisco activase with chaperonin-60b: A possible mechanism for protecting photosynthesis during heat stress. J. Expt. Bot. 59:1923-1933.
- Sinha, A.K., P.A. Shirke, U. Pathre and P.V. Sane. 1997. Midday depression in photosynthesis: Effect on sucrose-phosphate synthase and ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase in leaves of *Prosopis juliflora* (Swartz) DC. Photosynthetica. 34:115-124.
- Su, P. and X. Liu. 2005. Photosynthetic characteristics of linze jujube in conditions of high temperature and irradiation. Scientia Hort. 104: 339-350.
- Takahashi, N., P.P. Ling, and J.M. Frantz. 2008. Considerations for accurate whole plant photosynthesis measurement. Environ. Control Biol. 46:

- 91-101.
- Tay, A.C., A.M. Abdullah, M. Awang, and A. Furukawa. 2007. Midday depression of photosynthesis in *Enkleia malaccensis*, a woody climber in a tropical rainforest. *Photosynthetica* 45:189-193.
- Tenhunen, J.D., O.L. Lange, J. Gebel, W. Beyschlag, and J.A. Weber. 1984. Change in photosynthetic capacity, carboxylation efficiency, and CO₂ compensation point associated with midday stomatal closure and midday depression of net CO₂ exchange of leaves of *Quercus seber*. *Planta* 162:193-203.
- To, K.Y., D.F. Suen, and S.C. Grace Chen. 1999. Molecular characterization of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase activase in rice leaves. *Planta* 209: 66-76.
- Usuda, H. 1985. The activation state of Ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase in maize leaves in dark and light. *Plant Cell Physiol.* 26:1455-1463.
- van Iersel, M.W. and B. Bugbee. 2000. A multiple chamber, semicontinuous, crop carbon dioxide exchange system: design, calibration, and data interpretation. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 125:86-92.
- Warburg, O. 1919. Über die Geschwindigkeit der photpchemischen Kohlensaurezersetzung in lebenden Zellen. *Biochem. Zeitschrift* 100:230-270.
- Wong, S.C., I.R. Cowan, and G.D. Farquhar. 1979. Stomatal conductance correlates with photosynthetic capacity. *Nature* 282:424-426.
- Xu, D.Q. and Y.K. Shen. 2005. External and internal factors responsible for midday depression of photosynthesis, p. 287-297. In: M. Pressarakli (ed). *Handbook of Photosynthesis*. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Yamori, W., K. Suzuki, K. Noguchi, M. Nakai, and I. Terashima. 2006. Effects of Rubisco kinetics and Rubisco activation state on the temperature dependence of the photosynthetic rate in spinach leaves from contrasting growth temperatures. *Plant Cell Environ.* 29:1659-1670.
- Yong, J.W.H. and C.S. Hew. 1995a. Partitioning of ¹⁴C assimilates between

- sources and sinks during different growth stages in the sympodial thin-leaves orchid *Oncidium Goldiana*. Intl. J. Plant Sci. 156:188-196.
- Yong, J.W.H. and C.S. Hew. 1995b. The importance of photoassimilate contribution from the current shoot and connected back shoots to inflorescence size in the thin-leaved sympodial orchid *Oncidium Goldiana*. Intl. J. Plant Sci. 156:450-459.
- Zelitch, I. 1982. The close relationship between net photosynthesis and crop yield. BioScience 32:796-802.
- Zhang, S., L.I. Qingkang, M.A. Keping, and C. Lingzhi. 2001. Temperature dependent gas exchange and stomatal/non-stomatal limitation to CO₂ assimilation of *Quercus liaotungensis* under midday high irradiance. Photosynthetica 39:383-388.
- Zötz, G. and H. Ziegler. 1997. The occurrence of crassulacean acid metabolism among vascular epiphytes from Central Panama. New Phytol. 137:223-229.



附錄一 SDS-PAGE 之溶液及膠體配置

A. Solutions

2X SDS sample buffer

Tris-HCl (pH 7.3)	50 mM
SDS	2 %
Glycerol	10 %
Beta-mercaptoethanol	10 %
Bromophenol blue	0.01 %

Running buffer

Tris	25 mM
Glycine	192 mM
SDS	0.01 %

Staining solution

Methanol	40 %
Glacier acetic acid	10 %
Coomassic Brilliant Blue	0.1 %

Destaining solution

Methanol	20 %
Glacier Brillian Blue	10 %

B. Gel preparation

1mm 厚膠	7.5% separating gel	15% separating gel
ddH ₂ O	5.0 ml	2.3 mL
1.5M Tris pH8.8	2.5 ml	2.5 mL
30% acrylamide + 0.8% PDA	2.5 ml	5.0 mL
10% SDS	100 µl	100 µL
TEMED	5.3 µl	5.3 µL
10% ammonium persulfate (APS, fresh)	100 µl	100 µL

Note: 1. Prepare the two gel solutions just before casting. Add a thin layer of H₂O on top of the resulting linear gel solution and follow at 1 hour for gel solution.

2. PDA = Piperazine di-Acrylamide

SDS = Sodium dodecyl sulfate

TEMED = N,N,N,N-Tetramethylethylenediamine

1mm 厚膠	5% stacking gel
ddH ₂ O	3.44 mL
0.5M Tris pH6.8	625 µL
30% acrylamide + 0.8% PDA	830 µL
10% SDS	50 µL
TEMED	5 µL
10% ammonium persulfate (APS, fresh)	50 µL

Note: Add to the stacking solution just before casting

附錄二 西方轉漬法之溶液

Transfer buffer

Tris	25 mM
Glycine	192 mM
SDS	0.01 %
Methanol	10 %

Blocking solution

Non-fat dry milk	5 %
5% sodium azide	0.05 %
Dissolved in TBS solution	

TBS(Tris-buffered saline) solution

Tris	20 mM
NaCl	0.5 M
Tween 20	0.1 %
pH	7.5

Reaction buffer

Tris	100 mM
NaCl	100 mM
MgCl ₂	50 mM
pH	9.5

Color formation solution: alkaline phosphatase reaction

BCIP (5-bromo-4-chloro -3-indolyl phosphate)	0.5 ng/L
NBP (nitro blue tetrazolium)	