

利用葉綠素螢光估算作物葉片之光合作用¹

姚銘輝^{2,3} 陳守泓² 漆匡時²

摘 要

姚銘輝、陳守泓、漆匡時。2007。利用葉綠素螢光估算作物葉片之光合作用。台灣農業研究 56:224-236。

葉綠素螢光可作為偵測光合作用胞器之激發能量，並提供光合作用機制及調節的觀察。但目前缺乏利用葉綠素螢光模組偵測水稻植株在田間環境之快速及非破壞性量測資料。本研究比較水稻葉片之葉綠素螢光及二氧化碳吸收，包括比較兩者之不同參數、日變化及提高二氧化碳濃度之影響，結果顯示葉片之淨同化速率可由螢光參數之電子傳遞速率作精確估算。基於此理由，相較於一般利用二氧化碳消耗測定光合作用速率，本研究證實監測葉綠素螢光更可作為篩選預測作物潛在生產力及逆境耐性之有用指標。

關鍵詞：作物、光合作用、葉綠素螢光、電子傳遞速率。

前 言

利用葉綠素螢光釋放特性以探討葉片能量使用效率、過多能量釋放機制及 PS II (photosystem II) 的光呼吸的研究很多 (Foyer *et al.* 2002)。由於此種測定方法較傳統近紅外線氣體分析或氧電極來得快及非破壞性，因此，可利用葉綠素螢光測值與葉片二氧化碳交換速率 (CO₂ exchange rate; CER) 做探討。C4 型植物因在光照下幾乎沒有光呼吸 (photorespiration)，因此 PS II 光量子產量 (Φ_{PSII}) 和二氧化碳固定的光量子產量 (Φ_{CO_2}) 有線性或近於線性的關係性 (Earl & Tollenaar 1998)；至於 C3 型植物，利用高 CO₂ 分壓及低 O₂ 分壓處理以減少光呼吸，則螢光及 CO₂ 固定仍可以得到線性關係 (Hai & Kubota 2006)。

植物葉片在低光狀態下，光量子產量高時，葉片所接受光子 97% 用於光化學反應，2.5% 以熱釋放，0.5% 以螢光釋放。當遭遇逆境時，PSII 反應中心關閉，95-97% 葉片所吸收能量以熱釋放，2.5-5.0% 則以螢光釋放 (Bölhar-Nordenkampf & Öquist 1993)。由於光化學及熱的偵測較為困難，可透過螢光的釋放量作一估算。因此，利用葉綠素螢光可作為作物對環境耐性之選拔工具，包括高低溫 (Ambrosio *et al.* 2006)、乾旱 (Souza *et al.* 2004) 和高光逆境 (Hirotsu *et al.* 2005)，也有文獻探討提高二氧化碳對葉綠素螢光釋放之影響等 (Špunda *et al.* 2005)。

葉綠素螢光之不同參數可依據黑暗及光照兩條件下，由葉片螢光釋放量 (F_o , F_o') 及飽和光源照射後之螢光量 (F_m , F_m') 計算而來 (Roháček 2002)。有多種螢光參數可運用在偵測光合作用上，其中，電子傳遞速率 (electron transfer rate; ETR) 是由螢光參數乘以光合作用有效輻射

1. 行政院農業委員會農業試驗所研究報告第 2297 號。接受日期：2007 年 8 月 20 日。

2. 本所農工組副研究員、聘用人員、助理研究員。台灣 台中縣 霧峰鄉。

3. 通訊作者，電子郵件：mhyao@wufeng.tari.gov.tw；傳真機：(04)23331673。

(photosynthetic active radiation; PAR) 及作物係數計算而來。電子傳遞速率和光合作用間有密切關係，有學者認為由 ETR 數值可反應光合作用速率 (Silva & Santos 2004)。ETR 數值也可作為水稻水分利用效率篩選的參考指標 (Yao *et al.* 2006)。

水稻是我國重要農作物，面對生長逆境或氣候變遷之衝擊，篩選各種抗性品種是相當重要工作。光合作用是作物乾物重累積之主要同化過程，也是評估品種逆境適應及產量潛力的重要指標，但一般以近紅外光氣體分析方式偵測速度緩慢，面對龐大種源材料篩選時有其限制，因此發展簡易及快速之偵測技術是必要方向。不同逆境的發生皆會影響到葉片能量的平衡及固碳作用，當光合作用速率減緩時，太陽輻射量仍持續照射葉片，作物對於過多能量需有防禦及代謝機制，但若超過負荷則有光抑制 (photoinhibition) 現象，形成二次傷害。至於如何判定能量的平衡與否，利用葉綠素螢光測定是一種有效的工具。但目前有關光合作用及螢光參數之探討皆在固定環境條件下所建立，缺乏實際田間動態性之量測資料及關係性，因此，本研究選擇以水稻為材料，探討自然光下葉片光合作用速率與葉綠素螢光之關係性，以建立兩者關係，並測試不同作物（玉米、一串紅及荔枝）之反應是否一致，同時針對提高二氧化碳濃度，對於葉綠素螢光估算光合作用會有何差異，希望藉由各種層面的探討，能對葉綠素螢光在作物生理研究及運用有更深入的了解。

材料與方法

試驗材料之種植

田間試驗地點為農委會農業試驗所農場，水稻種植品種為台農 67 號及台中秈 10 號，田間盆鉢栽培管理及施肥依慣行方式進行，並於水稻最高分蘗期間量測光合作用速率及葉綠素螢光之日變化。盆鉢試驗是將 24 種水稻種原種子經浸水消毒後，播種於含田間土壤之塑膠盆，待至三葉齡移至 1 / 2,500 ha 盆鉢（表面積 0.06 m²，高度 28 cm），每一品種種植三盆，每盆種植一株，填土深度 22 cm。此時將水稻盆鉢移植至田間生長，試驗進行期間為 2006 年 5 月至 6 月間。試驗材料測定時期為最高分蘗期至抽穗期之前。

水稻 24 種品種包括我國目前栽培種，如粳稻之台粳 2, 8, 9 號，台農 2, 67, 71 號；秈稻如台中秈 10, 11, 17 號，台中再來 1 號，台農秈 12 號；陸稻如南陸 2 號及東陸 3 號。國外品種如 IR8, 28, 54, 64, 72, M202, Milyang 23, CICA 8, Koshihikari (越光), Warisan 及 Lemont 等品種。

另為測試葉綠素螢光及光合作用之關係，本研究利用其他作物之葉片作測試，包括玉米 (*Zea mays* L.) 為 C4 型作物，甜玉米品種 (華珍)，測定時期為雄花孕穗期之成熟葉片；一串紅 (*Salvia splendens* L.)，含有高量葉綠素，測定時期為種植後 30 天之成熟葉片；荔枝 (*Litchi chinensis* Sonn.) 屬於果樹類，黑葉品種，兩年生之實生苗，葉片表皮含有臘質。三種作物以盆鉢方式種植，栽培管理依據一般慣行方式。

葉片生理量測

光合作用速率及蒸散速率：利用光合作用分析儀 (Model 6400 Licor, Inc., Lincoln, NE USA) 量測水稻葉片光合作用速率、蒸散速率、氣孔導度及氣孔內腔二氧化碳濃度 (Ci) 之數值。光度量測部分：包括日射量計 (pyranometer)：Eppley PSP (precision spectral pyranometer)，測定範圍 285-2800 nm。光子流計 (quantum sensors)：Li-190SA，測定範圍 400-700 nm，每一感測器在

使用前以光學輻射校正器 (optical radiation calibrator; Licor 1800-02, Licor, Inc., Lincoln, NE USA) 校正參數

水稻葉片之葉綠素螢光：將所欲測量葉片置於葉綠素螢光測定儀 (Chlorophyll fluorometer, MINI-PAM, Heinz Walz, Germany) 的偵測器 (sensor head) 上，同時儀器包括測定瞬間光強及葉溫，所得資料由儀器下載至電腦分析。螢光參數之定義依據 Roháček (2002) 所述， qP 及 qN 分別定義為 $(M-F) / (M-F_0)$ 及 $(F_m-M) / (F_m-F_0)$ ， M 包括 F_m 或 F_m' 。Yield 則定義為 $(M-F) / M = \Delta F / M = \Delta F / F_m'$ 。電子傳遞速率 (electron transfer rate; ETR) 是由螢光參數乘以光合作用有效輻射 (photosynthetic active radiation; PAR) 及係數，其計算式如下：

$$ETR = (F_m' - F_0 / F_m) \times PAR \times 0.5 \times 0.84 \quad (1)$$

其中 $F_m' - F_0 / F_m$ 為光化學產量 (photochemical yield)；PAR 單位為 $\mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ；0.5 為傳遞一個電子需吸收 2 光子 (quanta)；0.84 是作物葉片吸收光子之係數 (Genty *et al.* 1989)。

光合作用速率估算之方式：由光合作用分析儀所測定之光合作用速率 (gross rate of photosynthetic CO_2 assimilation, A_G)，是由二氧化碳淨同化速率 (net assimilation of CO_2 , A_N) 和光呼吸速率 (photorespiration rate, R_d) 所組成。

$$A_G = A_N + R_d \quad (2)$$

但因光呼吸甚難偵測，一般以暗呼吸速率取代，同時呼吸速率為葉片溫度 (T_L) 的函數，其關係式如下 (Laisk *et al.* 1974)：

$$R_d(T_L) = R_d(T_0) Q_{10}^{(0.1T_L - 0.1T_0)} \quad (3)$$

T_0 為暗呼吸量測時之葉片溫度，依據 He and Edward (1996) 估算水稻之 R_d 值，可簡化為 $R_d(T_L) = 1.94 \times 1.69^{(0.1T_L - 2.5)}$ ，其中 1.94 為水稻在 25°C 時之暗呼吸值，1.69 為 Q_{10} 值。本研究依據此公式計算 A_N 值。

環境條件設定及處理

本研究大部份資料來自於田間環境所量測之資料，但有關高二氧化碳環境是在具有氣候控制系統之密閉玻璃溫室進行，溫室之體積為 18 立方公尺 ($3 \times 2 \times 3 \text{ m}^3$)，可控制溫室內溫度及二氧化碳濃度；其中二氧化碳監測是由近紅外光分析儀 (Model WMA-4, PP System, Inc., UK) 量測，相對濕度和氣溫由溫度及濕度探針 (HMP35C, Vaisala Inc., USA)。溫室內光源為太陽光。

結 果

本研究利用包括粳稻、秈稻、陸稻及國外栽培品種共 24 種，以了解不同水稻葉片在田間 (即動態氣候條件) 之固碳作用及葉綠素螢光參數之相關係數。由結果顯示，包括螢光參數之 F_v'/F_m' ， qP 及 ETR 與光合作用速率達顯著相關 (表一)，尤其 ETR 與淨同化速率之相關係數 (r^2) 可達 0.81。至於氣孔導度及葉片溫度則和螢光參數無直接相關性。而不同水稻品種之葉片淨同化速率和 ETR 之相關性如圖 1 所示，圖中每一符號代表不同水稻品種，而量測條件是取光度為 $700 - 1,000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 之資料。結果說明品種間對於葉片淨同化速率和 ETR 的反應有一致趨勢，即在正常環境下，品種對於兩者生理反應有高 ETR 則有高同化速率之線性相關。至於其他作物在田間之葉片光合作用速率及葉綠素螢光參數之相關性如表 2 所示。玉米屬於 C4 型作物，幾乎無光呼吸，因此，正常環境下之葉片二氧化碳交換速率與光反應同步進行，兩者相

表 1. 24 種水稻品種之葉片光合作用參數及葉綠素螢光參數之相關性

Table 1. Correlation coefficients of parameters between the chlorophyll fluorescence and the photosynthesis in leaves, for 24 varieties of rice in different light environments

Item	Fv/Fm	Fo'	Fm'	Fv'/Fm	ETR	qp	NPQ
Gross photosynthesis rate (A_G)	0.148	0.297	-0.261	-0.454 ^z	0.532 ^{**}	-0.457 [*]	0.188
Net Photosynthesis rate (A_N)	0.156	0.312	-0.215	-0.603 ^{**}	0.813 ^{**}	-0.645 ^{**}	0.186
Stomatal conductance	-0.05	0.039	-0.095	-0.110	-0.006	-0.111	0.056
Leaf temperature	-0.119	0.037	-0.375	-0.325	-0.049	-0.337	0.300

^z **Significant at the 0.05 and 0.01 probability levels according to the analysis of two-tailed test.

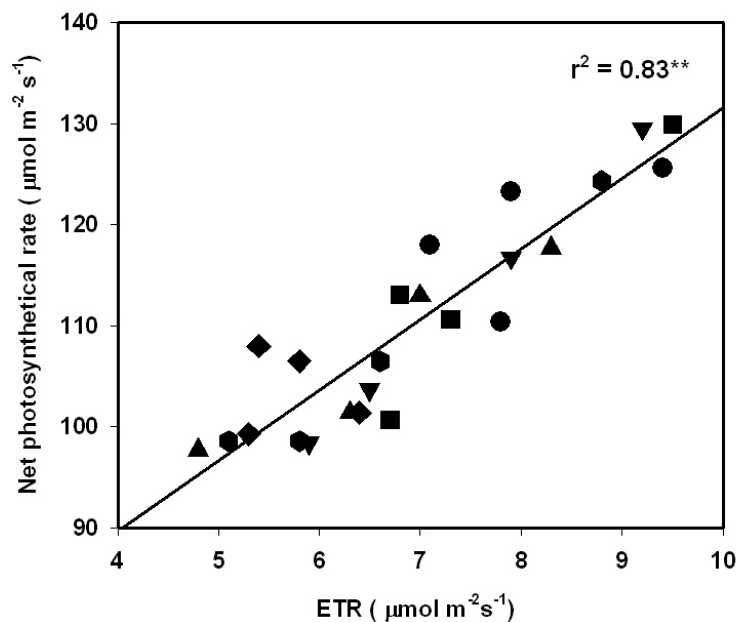


圖 1. 水稻 24 種品種之葉片淨光合作用及電子傳遞速率之相關性。(每一符號代表一品種之平均值)

Fig. 1. Correlation between the net photosynthetic rate (A_N) and electron transport rate (ETR) of rice leaves for 24 cultivars in field-scale. Each symbol represents the mean for one cultivar. (**Extremely significant at the 0.01 probability level.)

關係數可達 0.91。其他二種 C3 型作物與水稻反應相近，包括一串紅及荔枝之相關係數分別為 0.83 及 0.86。同時當強光環境下，約超過 $1,000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 以上則電子傳遞速率減慢，這或許是光抑制現象發生所致。

葉片光反應及固碳作用在利用儀器量測時會有時間上差異。光反應能階的改變非常快，但固碳過程則受到許多因素及過程的影響，如氣孔開閉程度、羧化反應 (carboxylation) 酵素活性及太陽光度等。在恆溫環境以藍光 ($50 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) 刺激氣孔開啓後，探討水稻葉片在不同光強下，固碳作用及 ETR 之變化 (圖 2)。ETR 很明顯受光強影響，隨光強增加之淨同化速率也增加，由於光強設定間距為 $300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ，但在 700 和 $1,000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 光強處理之比較，

表 2. 比較三種作物在不同光合作用有效輻射之淨同化速率及電子傳遞速率

Table 2. Compare the net assimilation rate (A_N) and electron transport rate (ETR) on leaves of three crops under the different photosynthetic active radiation (PAR)

PAR ($\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$)	<i>Zea mays</i> (0.91**) ^z		<i>Salvia splendens</i> (0.83**) ^z		<i>Litchi chinensis</i> (0.86**) ^z	
	A_N	ETR	A_N	ETR	A_N	ETR
100	4.1±0.8	27.0±4.4	3.5±0.3	23.9±1.9	3.2±0.3	33.4±3.6
200	7.7±0.7	45.0±13.0	6.3±0.4	52.2±5.6	5.8±0.5	49.5±6.7
300	8.6±0.8	59.6±11.1	7.3±0.6	71.5±13.5	6.7±0.7	80.5±15.4
400	9.6±1.3	71.2±14.3	10.3±0.9	94.0±10.6	10.8±0.7	104.0±10.6
500	12.0±1.2	80.3±14.0	11.4±0.6	114.0±21.8	12.1±0.8	122.0±18.9
600	13.9±1.1	109.6±18.2	12.7±0.5	138.7±20.4	12.6±0.6	143.6±16.5
700	15.9±1.0	113.0±20.1	13.4±0.8	155.2±21.8	14.1±0.9	151.2±20.2
800	19.7±1.0	136.7±22.5	14.8±0.8	164.8±25.9	14.6±1.1	166.3±21.8
900	19.8±0.9	156.6±19.5	13.9±0.4	175.1±24.6	13.4±0.9	168.9±19.8
1000	20.1±1.1	156.8±13.8	13.1±0.7	182.1±29.7	11.1±0.8	162.8±22.2
1100	19.5±1.4	107.9±13.7	10.6±0.6	177.2±21.3	10.3±0.7	163.8±18.4
1200	20.0±1.0	102.1±12.4	8.6±0.9	162.6±11.5	9.1±0.6	155.6±22.3

^z ***Significant at the 0.05 and 0.01 probability levels according to the analysis of two-tailed test.

差異不若低光時明顯，顯然光度大於 $700 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 以上之固碳能力速率已呈平緩。事實上，水稻葉片之光量子產量與光度間的關係，台農 67 號及台中秈 10 號之反應相近，即低光時光能利用效率極高，光量子產量可達 $0.1 \mu\text{mol CO}_2 / \mu\text{mol PAR}$ ，而當光強超過 $600\text{-}700 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 則呈平緩，之後光強越高反而有下降趨勢（圖 3）。

田間氣象環境屬於動態性的改變，並且每一氣象因素隨太陽輻射量強弱，而有較大之改變幅度，包括氣溫、土溫、風速及相對溼度等，皆會直接影響作物葉片之生理反應。2006 年 5 月 6 日（太陽日 126）所量測水稻台農 67 號及台中秈 10 號之光合作用速率及葉綠素螢光參數之日變化，顯示當日太陽輻射量在正午時因雲層增厚而下降，日變化形成雙峰之光度變化（圖 4）。因太陽輻射是水稻植株熱量的主要來源，因此水稻葉片溫度與輻射量呈相近變化，但因葉片水分關係，變化幅度不若輻射量快速。日變化有二個輻射量高點分別在上午 10 點及下午 2 點，而正午 12 點雖然輻射量僅 $400 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ，此時台農 67 號及台中秈 10 號之光合作用速率僅略為下降，但葉片葉綠體之電子傳遞速率明顯下降，其反應特性隨輻射量變化。

高二氧化碳環境 (1,000 ppm) 使光合作用速率增加，同時與電子傳遞速率之相關係數，由 400 ppm 之 0.77，提高至 0.88（圖 5），說明提高大氣中二氧化碳濃度，以增加氣孔內腔 CO_2 擴散梯度，可減少光呼吸作用有助於提高葉片固碳作用與光反應電子傳遞速率以及其相關性。

討 論

就葉片生理反應的機制而言，暗反應及光反應兩者速率是否一致，可作為判斷作物生長環境的適當與否。以氣體交換速率作為量測作物固碳能力，會有光呼吸估算問題，尤其是指 C3 型植物，當然如果細胞內腔 CO_2 值和 O_2 濃度已知，則電子傳遞速率、 CO_2 固定量及光呼吸間是可由氣體交換的測定得知 (Von Caemmerer & Farquhar 1981)。但事實上，無法直接由螢光測值去

估算氣體交換速率，主要原因是電子分流至 RuBP (ribulose 1,5-bisphosphate) 羧化及氧化酵素活性受 CO_2 (細胞內腔 CO_2 濃度) 和 O_2 到 Rubisco (ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase) 作用的比值控制。本研究希望建立可供田間使用之簡易參數，由 24 種水稻在田間估算結果，葉綠體之電子傳遞速率和固碳速率有線性關係 (表 1)，尤其是利用葉溫估算光呼吸，所得之淨同化速率和 ETR 的相關係數可達 0.81。He & Edwards (1996) 利用葉綠素螢光測值配合氣孔導度模式估算光呼吸，可正確預測水稻光合作用速率，相關係數可達 0.94，但其估算是在環境控制下之結果，且所需螢光及氣象環境參數甚多，運算過程相當複雜，不適用於田間，同時田間環境呈動態改變，在估算上會受其他氣象因素干擾而影響關係性 (Fryer *et al.* 1998)，不過畢竟作物是生長於田間，就本研究結果，ETR 測值仍足以評估葉片光合作用速率。

為解決龐大種源材料篩選而發展簡易及快速之偵測技術，是本研究目的之一，但前提是品種或品系需具有固定趨勢反應，比較水稻品種間之 ETR 與淨同化速率之關係 (圖 1)，雖然每一品種只種植三盆，但因試驗目的在於葉片反應，每一盆測定 10 筆光合作用及螢光之量測值，即每一品種共有 30 筆資料，代表性應是足夠。結果說明所測試之水稻，包括秈稻、梗稻、陸稻及國外栽培品種，不同品種間的反應具有一致趨勢。Earl and Tollenaar (1998) 以玉米為材料的試驗結果也說明基因型差異，並不影響 ETR 與淨同化速率之關係性。至於不同物種間之比較 (表 2) 結果所示，玉米屬於 C4 型作物，幾乎無光呼吸問題，葉綠體內二氧化碳充分利用，使光反應及暗反應一致，相關係數可達 0.91；至於其他兩種 C3 型作物，主要考量葉綠素含量 (一串紅) 及葉表臘質 (荔枝) 的差異，但所得結果與水稻反應相近，說明 ETR 與同化速率相關性高在不同物種間具有普遍性。

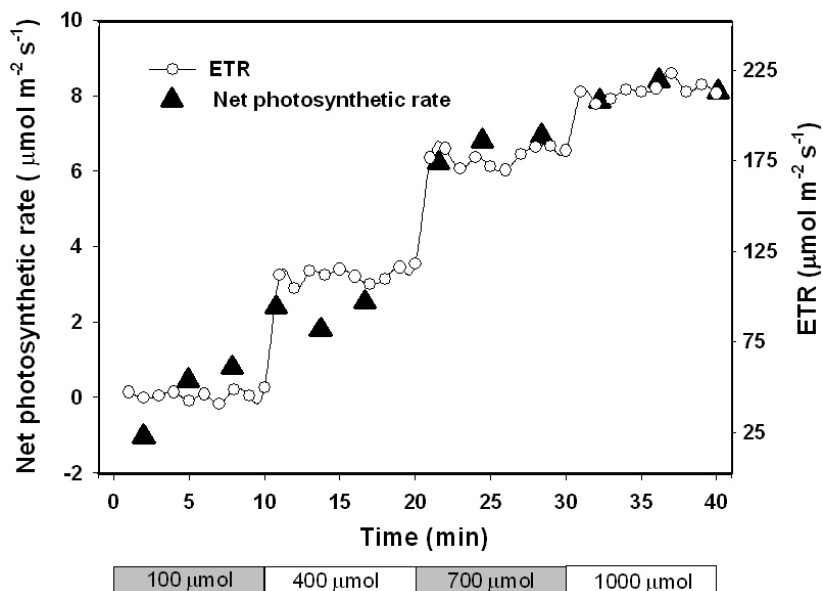


圖 2. 不同光強下之水稻葉片淨光合作用速率及電子傳遞速率之時間變化。

Fig. 2. Time course of net photosynthetic rate (A_N , triangles) and electron transport rate (ETR, circles) of rice leaves at different light intensity levels. Bar indicate the treatment of light intensity.

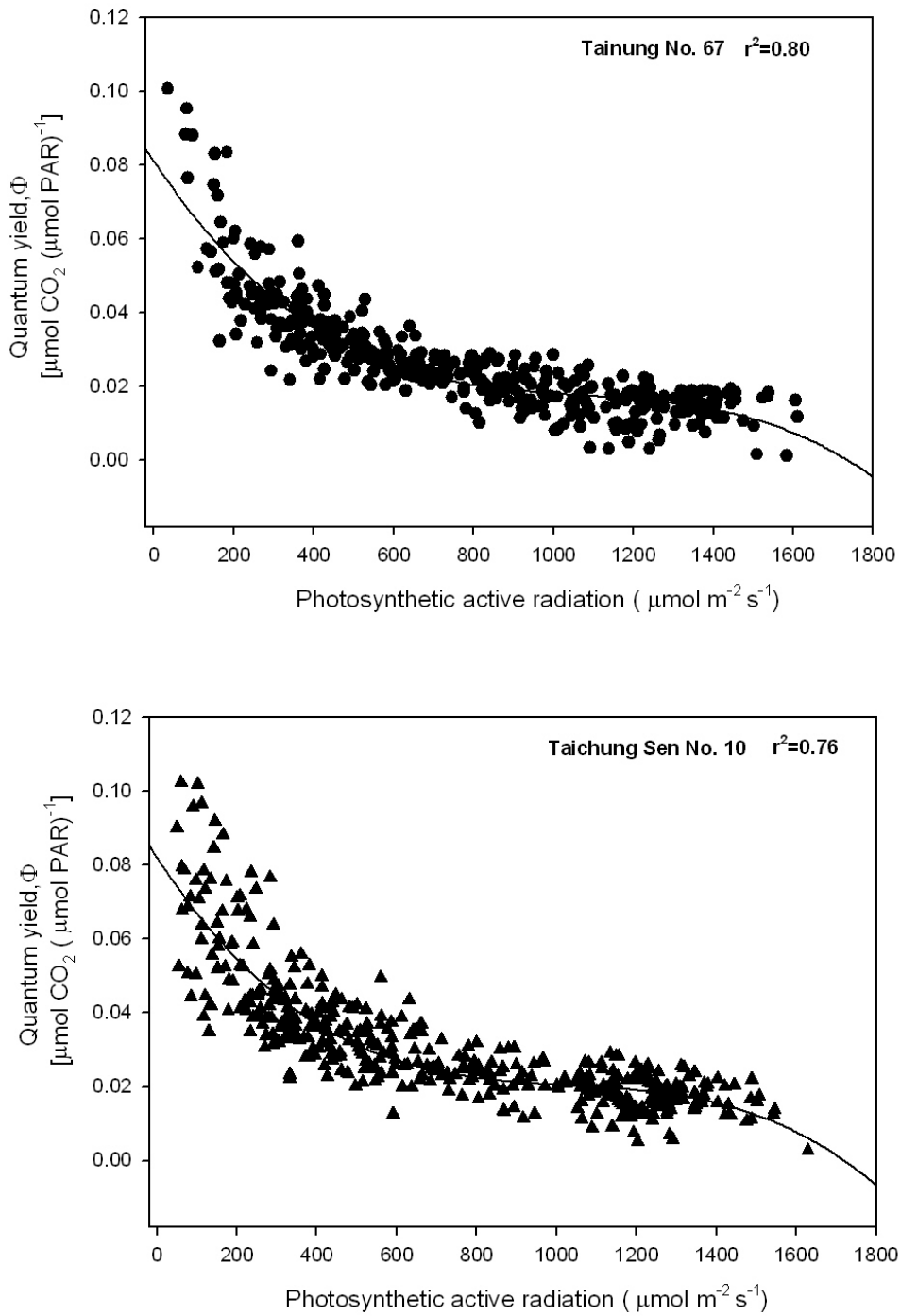


圖 3. 水稻葉片光量子產量與光強度之相關性。

Fig. 3. Change of the quantum yield of rice leaves at different photosynthetic active radiation conditions.

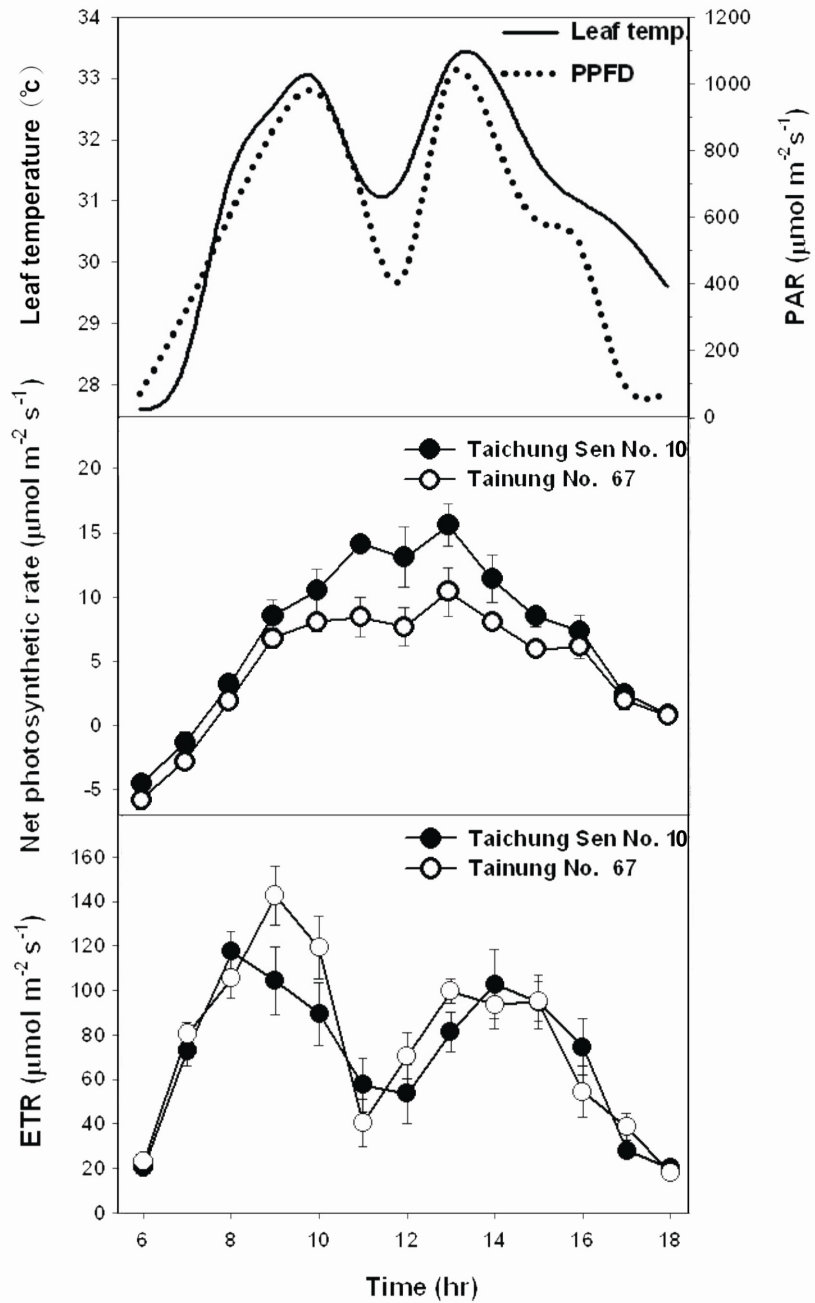


圖 4. 水稻生育期間葉片溫度，光強，淨光合作用速率及葉綠素螢光參數之日變化。

Fig. 4. Diurnal changes of leaf temperature, light intensity, leaf net photosynthetic rate and electron transport rate (ETR) of rice leaves on Calendar day 126, 2006.

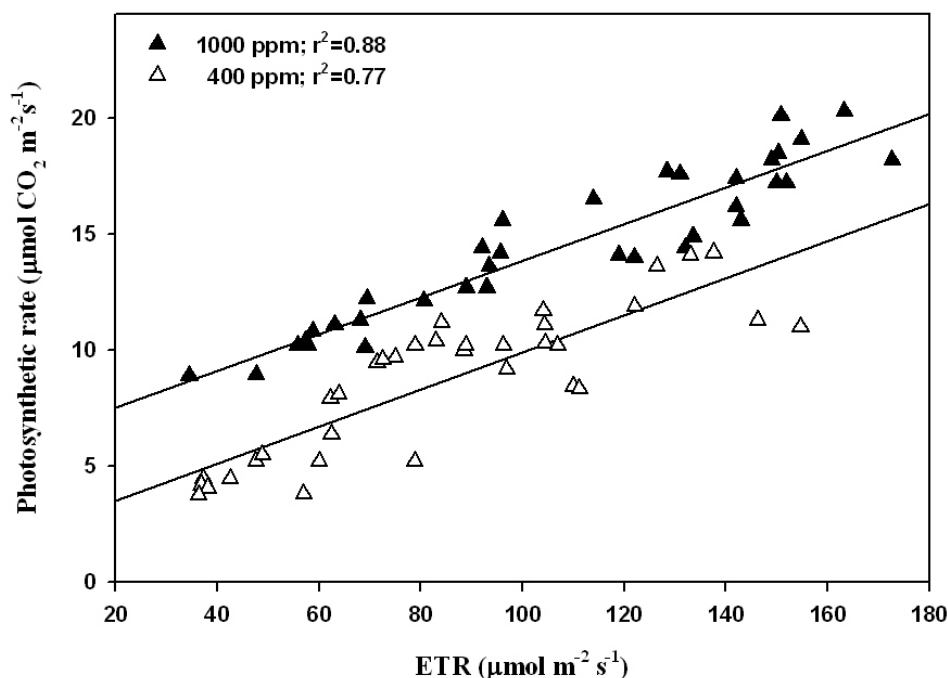


圖 5. 水稻葉片在不同二氧化碳濃度之淨光合作用速率及電子傳遞速率之變化。

Fig. 5. Changes of net photosynthetic rate and electron transport rate of rice leaves at two different CO₂ concentrations.

太陽光照射在作物葉片上，光合作用胞器內光系統活性可提供還原力與 ATP (adenosine triphosphate)。光反應提供能量以進行光合作用，但整個過程需作物其他生理反應相配合，若一些生理反應無法同步進行，則高光能反而對作物造成一種逆境。其中氣孔開啓程度常是生理反應重要指標。Kirschbaum *et al.* (1998) 指出葉片受光後，啓動光合作用之同化速率緩慢增加，通常 Rubisco 活性在 5-10 分鐘內完成，氣孔開啓是逐漸增加，約需 30-60 分鐘。本研究 (圖 2) 以藍光照射正常生長之水稻葉片一小時後，刺激氣孔開啓及酵素活性，則光合作用限制因素僅在葉片本身的反應。在不同光強範圍量測可發現，ETR 和同化速率隨光強增加，每一光強範圍測值皆有明顯差異，但在光強超過 700 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 時差異即不明顯 (圖 2)。此現象亦可由台農 67 號及台中秈 10 號之葉片光量子產量與光強之關係性得到驗證 (圖 3)，即當光強超過 600-700 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ，水稻葉片對於光能利用效率達最大值，大於 1200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 以上反而有下降趨勢。根據水稻葉片之 ETR 及光合作用之日變化 (圖 4)，可知當正午太陽輻射突然因雲層增厚而下降，但葉片光合作用僅略微下降，不若 ETR 隨光度快速變化。說明當葉片生理反應 (包括氣孔導度、酵素活性及固碳代謝速率) 到達高點時，雖照射至葉片之輻射量下降，仍能維持較高的同化速率。事實上，植物葉片之光合作用最高速率大約僅佔葉表所吸收光量的二分之一 (Ott *et al.* 1999)。當然如果 PSII 活化程度超過需求，可透過螢光及熱將過多能量排於植體

外，或是由 xanthophyll 色素循環，在高光下，利用細胞膜內外 pH 梯度差加大使 zeaxanthin 累積，有助於將過多的能量釋放 (Jiang *et al.* 2006)。當然過多電子傳遞將刺激活化氧族 (reactive oxygen species) 的產生，而造成作物光抑制現象的發生 (Lu *et al.* 2003)。

利用紅外線氣體分析 CO₂ 固定速率時，CO₂ 來源除由大氣經氣孔進入之外，植體本身呼吸作用所排出 CO₂ 也是固定的來源，尤其是光呼吸是一種和光合作用相同發生在含葉綠素體組織的代謝過程，和粒腺體呼吸同是消耗 O₂ 放出 CO₂，但不同是在光呼吸隨光線中止即停止。C3 型作物不若 C4 型作物能有效利用 CO₂，這些光呼吸所產生之 CO₂ 容易造成估算上誤差的來源。但目前並沒有辦法快速且直接測定呼吸作用，一般是以暗呼吸速率間接估算光呼吸 (Schulte *et al.* 2003)。田間水稻葉片在估算光呼吸後，確實可提高 ETR 及光合作用之相關性 (表 1)。反之，當提高大氣中 CO₂ 濃度時，進入氣孔內腔之通量增加，在與 O₂ 共同競爭 Rubisco 之結合位置，使行光合作用速率增加 (圖 5)。同時影響 cytochrome 路徑的活性，而減少光呼吸 (Azcón-Bieto *et al.* 1994)，這有助於提高葉綠體之電子傳遞速率和固碳速率之相關性。受光葉片因產生及消耗二氧化碳同時進行，造成葉綠素螢光釋放量無法精確估算暗反應速率，事實上，如果以氧電極量測葉片，由所釋放氧氣量作光合作用速率之表示，則和電子傳遞速率會有極佳之相關性 (Beer & Bjork 2000)。

本研究結果說明葉綠素螢光可作為大量材料篩選光合作用潛力工具之一，尤其是螢光參數中葉片電子傳遞速率和二氧化碳同化速率間有良好線性關係，特別是在扣除由葉溫所估算之光呼吸部分。葉綠素釋放螢光的發現至今超過百年，過去十年間有極為快速的進展，包括不同逆境及作物種類的相關研究，但伴隨著其他學門或技術的進展，賦予螢光更多發展空間。目前對於田間作物管理及逆境監測的研究，朝向於遙測 (remote sensing) 的方式，利用遙測作物葉片之葉綠素釋放螢光能偵測光合作用速率 (Freedman *et al.* 2002)，提供一種非接觸性及觀測視野更大的監測方式，未來或許可利用在衛星影像偵測上，使螢光的運用更為廣泛。

引用文獻 (Literature Cited)

- Ambrosio, N., C. Arena, and A. V. De Santo. 2006. Temperature response of photosynthesis, excitation energy dissipation and alternative electron sinks to carbon assimilation in *Beta vulgaris* L. *Environ. Exp. Bot.* 55:248-257.
- Azcon-Bieto, J., M. A. Gonzalez-Meler, W. Doherty, and B. G. Drate. 1994. Acclimation of respiratory O₂ uptake in green tissues of field-grown native species after long-term exposure to elevated atmospheric CO₂. *Plant Physiol.* 106:1163-1168.
- Beer, S., and M. Bjork. 2000. Measuring rates of photosynthesis of two tropical seagrasses by pulse amplitude modulated (PAM) fluorometry. *Aquat. Bot.* 66:69-76.
- Böhlhär-Nordenkamp, H. R., and G. Öquist. 1993. Chlorophyll fluorescence as a tool in photosynthesis research. p.193-206. *In: Photosynthesis and Production in a Changing Environment: a Field and Laboratory Manual* (Hall, D. O., J. M. O. Scurlock, H. R. Borhär-Nordenkamp, R. C. Leegood, and S. P. Long, eds). Chapman and Hall, London.

- Earl, H. J., and M. Tollenaar. 1998. Relationship between thylakoid electron transport and photosynthetic CO₂ uptake in leaves of three maize (*Zea mays L.*) hybrids. *Photosyn. Res.* 58:245-257.
- Foyer, C. H., H. Vanacker, L. D. Gomez, and J. Harbinson. 2002. Regulation of photosynthesis and antioxidant metabolism in maize leaves at optimal and chilling temperatures: review. *Plant Physiol. Biochem.* 40:659-668
- Freedman, A., J. Cavender-bares, P. L. Kebabian, R. Bhaskar, H. Scott, and F. A. Bazzaz. 2002. Remote sensing of solar-excited plant fluorescence as a measure of photosynthetic rate. *Photosynthetica* 40:127-132.
- Fryer, M. J., J. R. Andrew, K. Oxborough, D. A. Blower, and N. R. Baker. 1998. Relationship between CO₂ assimilation, photosynthetic electron transport, and active O₂ metabolism in leaves of maize in the field during periods of low temperature. *Plant Physiol.* 116:571-580.
- Genty, B., J. Briabtais, and N. Baker. 1989. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochim. Biophys. Acta* 990:87-92.
- Hai, M. R., and F. Kubota. 2006. Evaluation of leaf photosynthetic potential based on chlorophyll fluorescence from a Vaseline-sealed leaf in sweet potato. *Sci. Bull. Fac. Agric., Kyushu Univ.* 61:185-191. (in Japanese with English abstract)
- He, D., and G. E. Edwards. 1996. Evaluation of the potential to measure photosynthetic rates in C3 plants (*Flaveria pringlei* and *Oryza sativa*) by combining chlorophyll fluorescence analysis and a stomatal conductance model. *Plant Cell Environ.* 19:1272-1280.
- Hirotsu, N., A. Makino, S. Yokota, and T. Mae. 2005. The photosynthetic properties of rice leaves treated with low temperature and high irradiance. *Plant Cell Physiol.* 46:1377-1383.
- Jiang, C. D., H. Y. Gao, Q. Zou, G. M. Jiang, and L. H. Li. 2006. Leaf orientation, photorespiration and xanthophylls cycle protect young soybean leaves against high irradiance in field. *Environ. Exp. Bot.* 55:87-96.
- Kirschbaum, M. U. F., M. Kupperts, H. Schneider, C. Giersch, and S. Noe. 1998. Modelling photosynthesis in fluctuating light with inclusion of stomatal conductance, biochemical activation and pool of key photosynthetic intermediates. *Planta* 204:16-26.
- Laisk, A., W. L. Ogren, and R. L. Hageman. 1974. Regulation of soybean net photosynthetic CO₂ fixation by the interaction of CO₂, O₂ and ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase. *Plant Physiol.* 54:678-685.
- Lu, Q., X. Wen, C. Lu, Q. Zhang, and T. Kuang. 2003. Photoinhibition and photoprotection in senescent leaves of field-grown wheat plants. *Plant Physiol. Biochem.* 41:749-754.
- Ott, T., J. Clarke, K. Birks, and G. Johnson. 1999. Regulation of the photosynthetic electron transport chain. *Planta* 209:250-258.
- Roháček, K. 2002. Chlorophyll fluorescence parameters: the definitions, photosynthetic meaning, and mutual relationships. *Photosynth. Res.* 40:13-29.

- Schulte, M., C. Offer, and U. Hansen. 2003. Induction of CO₂-gas exchange and electron transport: comparison of dynamic and steady-state responses in *Fagus sylvatica* leaves. *Trees* 17:153-163.
- Silva, J., and R. Santos. 2004. Can chlorophyll fluorescence be used to estimate photosynthetic production in the seagrass *Zostera noltii* J. Exp. Marine Biol. Ecol. 307:207-216.
- Souza R. P., E. C. Machado, J. A. B. Silva, A. M. Lagôa, and J. A. G. Silveira. 2004. Photosynthetic gas exchange, chlorophyll fluorescence and some associated metabolic changes in cowpea (*Vigna unguiculata*) during water stress and recovery. *Environ. Exp. Bot.* 51:45-56.
- Špunda, V., J. Kalina, O. Urban, V. C. Luis, I. Sibisse, J. Puertolas, M. Šprtová, and M. V. Marek. 2005. Diurnal dynamics of photosynthetic parameters of Norway spruce trees cultivated under ambient and elevated CO₂: the reasons of midday depression in CO₂ assimilation. *Plant Sci.* 168:1371-1381.
- Von Caemmerer, S., and G. D. Farquhar. 1981. Some relationships between the biochemistry of photosynthesis and the gas exchange of leaves. *Planta* 153:376-387.
- Yao, M. H., S. H. Chen, and S. Chen. 2006. Studies on the use efficiency of meteorological resources for rice. II. Water use efficiency. *J. Taiwan Agric. Res.* 55:121-134. (in Chinese with English abstract)



Use of Chlorophyll Fluorescence for Estimating Leaf Photosynthesis of Crops¹

Ming-Hwi Yao^{2,4}, Shou-Hung Chen² and Kung-Shy Chi³

Abstract

Yao, M. H., S. H. Chen, and K. S. Chi. 2007. Use of chlorophyll fluorescence for estimating leaf photosynthesis of crops. *J. Taiwan Agric. Res.* 56:224-236.

Chlorophyll fluorescence has been used to probe the fate of excitation energy within the photosynthetic apparatus and provide insight into the mechanism and regulation of photosynthesis *in vivo*. However, no rapid, non-invasive measurement data of chlorophyll fluorescence from the field environment on rice plants was available. In this study, was investigated the change of chlorophyll fluorescence and gas exchange of rice leaves in the field, including the relationship between in various parameters, diurnal change in field and influenced by elevated CO₂ concentration. The results showed the rate of net assimilation of CO₂ of rice leaves can be accurately estimated from the measurements of electron transport rate (ETR) using chlorophyll fluorescence techniques. As compared to common methods measuring the photosynthesis rate based on CO₂ consumption, the approach monitoring chlorophyll fluorescence verified in this study is a useful tool to screen crops with potential productivity and stress tolerance.

Key words : Crop, Photosynthesis, Chlorophyll fluorescence, Electron transport chain.

-
1. Contribution No.2297 from Agricultural Research Institute, Council of Agriculture. Accepted: August 20, 2007.
 2. Respectively, Associate Researcher, Assistance and Assistance Researcher, Agricultural Engineering Division, ARI, Wufeng, Taichung, Taiwan, ROC.
 3. Corresponding author, e-mail:mhyao@wufeng.tari.gov.tw; Fax: (04)23331673.