

芭菲爾鞋蘭屬 (*Paphiopedilum*) 斑葉種穩定碳同位素比値之研究

劉黃碧圓、童季芬、蔡智賢*

國立嘉義大學園藝學系

摘要

本研究以芭菲爾鞋蘭屬(*Paphiopedilum*) 斑葉種為供試材料，利用穩定碳同位素比値($\delta^{13}\text{C}$)，量測芭菲爾鞋蘭屬植物斑葉種不同葉面取樣點及不同栽培介質植株與不同發育年齡葉片 $\delta^{13}\text{C}$ 值。結果顯示芭菲爾鞋蘭屬 *Paphiopedilum concolor*、*Paphiopedilum niveum*、*Paphiopedilum callosum*、*Paphiopedilum callosum fma. vinicolor* 及 *Paphiopedilum purpuratum* 葉片不同位置取樣點，其 $\delta^{13}\text{C}$ 值均介於 -28.46‰ ~ -21.29‰ 之間。不同發育年齡的小苗、中苗及大苗 $\delta^{13}\text{C}$ 值介於 -28.41‰ ~ -21.20‰ 之間，瓶苗 $\delta^{13}\text{C}$ 值則介於 -19.98‰ ~ -17.71‰ 之間。由結果顯示，芭菲爾鞋蘭屬植物的固碳路徑在自然栽培下為 C_3 型植物，而瓶苗階段的植株，則可能是 C_3 路徑或 CAM 路徑。*P. concolor*、*P. callosum* 及 *P. niveum* 三個種在不同栽培介質之植株葉片穩定碳同位素 $\delta^{13}\text{C}$ 值，介於 -26.72‰ ~ -21.19‰ 之間，但種類不同在不同栽培介質下，其 $\delta^{13}\text{C}$ 值的變化幅度較大。所以，不同環境栽培下 $\delta^{13}\text{C}$ 值的變化差異，可做為植物對環境適應能力的篩選指標。

關鍵詞：芭菲爾鞋蘭屬、穩定碳同位素比値 ($\delta^{13}\text{C}$)、斑葉。

A Study on the Stable Carbon Isotope Ratio of Variegated Leaf of *Paphiopedilum*

Pi-Yuan Liu Huang, Chi-Fen Tung and Jyh-Shyan Tsay*

Department of Horticultural Science, National Chiayi University, Chiayi 60004, Taiwan ROC

ABSTRACT

The values of $\delta^{13}\text{C}$ in leaves of some variegated leaf *Paphiopedilum* species were detected in different sampling points as well as in different growing media and developmental stages in this study. Results showed that the $\delta^{13}\text{C}$ values varied from -28.46‰ to -21.29‰ for different leaf sampling points of *Paphiopedilum concolor*, *Paphiopedilum callosum*, *Paphiopedilum niveum*, *Paphiopedilum callosum fma. vinicolor* and *Paphiopedilum purpuratum*. A total range of $\delta^{13}\text{C}$ values from -28.41‰ to -21.20‰ were recognized for the different developmental stages of seedling, media and mature plants. But the $\delta^{13}\text{C}$ values of these three species were from -19.98‰ to -17.71‰ for their flask plantlet. The results suggested that the photosynthetic carbon fixation of *Paphiopedilum* is supposed to be a C_3 pathway *ex vitro*, but for that of *Paphiopedilum* plantlet is possibly a C_3 or CAM pathway *in vitro*. The $\delta^{13}\text{C}$ values of leaves varied from -26.72‰ to -21.19‰ for *P. concolor*, *P. callosum* and *P. niveum* grown in different media. There existed varied range of $\delta^{13}\text{C}$ value in different media and between species. Thus, the magnitude of $\delta^{13}\text{C}$ value change corresponding to different environments could be used as a selecting indicator to the environmental adaptability of crop cultivars.

Key words: *Paphiopedilum*, Stable carbon isotope ratio ($\delta^{13}\text{C}$), variegated leaf.

* 通信作者, jtsay@mail.ncyu.edu.tw

投稿日期: 2012 年 8 月 7 日

接受日期: 2012 年 8 月 27 日

作物、環境與生物資訊 9:168-174 (2012)

Crop, Environment & Bioinformatics 9:168-174 (2012)

189 Chung-Cheng Rd., Wufeng, Taichung 41362, Taiwan ROC

前言

植物依光合作用固碳路徑的不同，可區分為C₃型、C₄型植物及CAM植物 (Taiz and Zeiger 2010)；有些植物會因生長時期或環境變化的影響，光合作用路徑由C₃型植物轉變為CAM植物、或C₄型植物轉變為C₃型植物或是由C₃型植物轉變為C₄型植物的情形 (Hew and Yong 1997)，如番杏屬 (*Aizoaceae*)、景天屬 (*Crassulaceae*)、馬齒莧屬 (*Portulacaceae*)和葡萄屬 (*Vitaceae*)等屬植物，在水分供給充分時是為C₃型植物，而遇到水分逆境時，則由C₃型植物轉換成為CAM植物 (Cushman 2001)。

Hew and Yong (1997)研究CAM蘭科植物的石斛蘭 (*Dendrobium*)，指出石斛蘭隨著幼苗生長其CAM的活性才逐漸增強；蝴蝶蘭在瓶苗階段的早期其光合作用路徑是C₃型植物，而到葉長5 cm以上時，CAM植物的特性才增強到可在暗期吸收二氧化碳 (Chen and Lee 2002)；長壽花 (*Kalanchoe daigremontiana*)在水分供給豐沛時，主要是行C₃路徑，其日間的固碳作用強，夜間的羧化作用則弱，當植物面臨水分逆境時，則由C₃路徑轉為CAM路徑 (Dodd et al. 2002)。CAM路徑是植物用來適應環境的能力，在有限的水資源下，可減少水分的散失，並可維持一定的光合作用能力，每種植物對此的轉換機制變異甚大。但除了水分條件外，尚有溫度及光強度等環境因子，均有一定程度的影響 (Borland 1996, Lüttge 2000, Lüttge 2004)。因核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶/加氧酶 (Rubisco; Ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase/oxygenase; EC 4.1.1.39)與磷酸烯醇丙酮酸羧化酶 (PEPC; phosphoenolpyruvate carboxylase, EC 4.1.1.31)兩種固碳酵素對大氣中自然存在的兩種穩定碳同位素¹²C、¹³C的原發性鑑別力 (intrinsic discrimination)不同，Rubisco較偏好利用質輕的¹²C，因而可造成不同光合路徑在植物體兩種碳同位素比值 ($\delta^{13}\text{C}$) 的差異 (Taiz and

Zeiger 2010)， $\delta^{13}\text{C}$ 值的分析是植物固碳路徑簡易又準確的判定方法 (Hew and Yong 1997)。歸納前人研究C₃型植物 $\delta^{13}\text{C}$ 值介於-38‰~-20‰間，C₄型植物的 $\delta^{13}\text{C}$ 值則介於-17‰~-8‰間，兩者無重疊區，CAM植物的 $\delta^{13}\text{C}$ 值則介於-20‰~-10‰間，介於C₃型植物和C₄型植物之間。 $\delta^{13}\text{C}$ 值為-20‰~-19‰者可能為C₃型植物或CAM植物， $\delta^{13}\text{C}$ 值在-17‰~-10‰者則可能為C₄型植物或CAM植物 (Tung et al. 2012)。

蘭科植物的芭菲爾鞋蘭屬 (*Paphiopedilum*)俗稱仙履蘭，其原種約有上百種，為杓蘭亞科 (*Cypripedioideae*)最大的一屬，到目前學者都認為芭菲爾鞋蘭屬植物 (*P. micranthum*、*P. malipoense*、*P. venustum*、*P. villosum*、*P. insigne*及*P. parishii*)葉片，不論葉片性狀是厚葉或是薄葉型 (Bendrat 1929, Mc Williams 1970, Thorpe 1980, Donovan et al. 1984)，均屬於C₃型的光合路徑。Zhang et al. (2011)指出*P. armeniacum*穩定碳同位素比值為-26.52‰，是C₃型光合作用的種類。Tung et al. (2012)檢測51種芭菲爾鞋蘭屬植物葉片穩定碳同位素比值的結果，認定芭爾鞋蘭屬植物為C₃型植物；而多種芭菲爾鞋蘭屬植物的雜交後代，亦屬於C₃型植物 (Ika et al. 2009, 2010)。

本研究以斑葉的芭菲爾鞋蘭屬植物為試驗材料，探討不同發育年齡及不同栽培介質下芭菲爾鞋蘭屬植株葉片 $\delta^{13}\text{C}$ 值，以瞭解斑葉種芭菲爾鞋蘭屬植物不同株齡及不同栽培介質對光合特性的影響，期能作為業者栽培管理之參考。

材料與方法

一、試驗材料

以斑葉芭菲爾鞋蘭屬的*P. concolor*、*P. niveum*、*P. callosum*、*P. callosum fma. vinicolor*及*P. purpuratum*為供試材料，係購自臺中市大雅區穎川蘭園、嘉義縣水上鄉字茺蘭園、嘉義市愛蘭園等專業栽培蘭園。取

得之植株，種植於嘉義縣中埔鄉羅氏蘭園的簡易網室中馴化 1 wk 後，再進行採樣分析。

二、試驗項目與方法

1. 同一葉片不同位置穩定碳同位素比值 ($\delta^{13}\text{C}$) 的測定

以 *P. niveum*、*P. concolor* 及 *P. callosum* 為供試材料，從葉尖至葉基劃分為三等份，分別於 10%、50% 及 90% 近葉中肋處做為取樣點，共量測 3 個位置 (Fig. 1)，每株為一重複，共三重複。另以 *P. concolor*、*P. niveum*、*P. callosum*、*P. callosum* fma. *vinicolor* 及 *P. purpuratum* 等種為材料，分別量測葉面深綠色及淡綠色部位 $\delta^{13}\text{C}$ 的值 (Fig. 1)，每株為一重複，共三重複。

2. 不同栽培介質下及不同發育年齡葉片穩定碳同位素比值 ($\delta^{13}\text{C}$) 的測定

以 *P. concolor*、*P. niveum* 及 *P. callosum* 小苗 (出瓶株齡 6 個月) 為試驗材料，分別以樹皮、蛇木屑及水苔為栽培介質，栽種 6 個月後，量測葉片近葉中處 50% 位置淺綠色部分 $\delta^{13}\text{C}$ 值，每株為一重複，共三重複；另，以 *P. concolor*、*P. niveum* 及 *P. callosum* 等種之瓶苗 (flask plantlet) 以及以樹皮為栽培介質的小苗 (seedling)、中苗 (medium) 及大苗 (mature) 為供試材料，取葉片健康新鮮的中段部分 (除去中肋及葉緣)，量測近葉中處 50% 位置淺綠色部分 $\delta^{13}\text{C}$ 的值，每株為一重複，共三重複；瓶苗依不同發育年齡分為小瓶苗、中瓶苗及大瓶苗，分別為自播種後 4 個月、8 個月及 1 年，而樹皮栽培之小苗、中苗及大苗，則分別為出瓶 0.5 年、1 年及 2 年的植株。

3. 試驗方法

樣品以去離子水清洗後，置入 40°C 烘箱乾燥 72 hr。乾燥之固態樣品以瑪瑙研鉢磨碎成粉末狀，分裝至暗色玻璃標本瓶中供後續質譜儀分析。試驗材料以錫囊 (Tin capsule) 包裹乾燥樣品置入 Thermo® Flash EA 元素分析儀內，樣品在 900°C 溫度下燃燒由碳轉

變為 CO_2 ，再經 ConFlo III 介面進入同位素質譜儀 (Stable Isotope Ratio Mass Spectrometer; IRMS)，得到不同穩定碳同位素的比值。

即 $\delta^{13}\text{C} = \left[\left(\frac{R \text{ 植物樣品}}{R \text{ 標準品}} - 1 \right) \times 1000 \right]$ 。

穿插已知穩定碳同位素 ($\delta^{13}\text{C}$) 值的國際標準樣本 NBS 22 ($\delta^{13}\text{C} = -30.31\text{‰}$)，做為兩種穩定碳同位素比值的標準品 (Bender *et al.* 1973)。以監測元素分析儀燃燒效率與質譜儀的精確度，樣品分析 3 重複，精確度數值平均數為 0.5‰ (1σ) 以下。試驗數據利用 Fisher 的最小顯著性測驗 (Fisher's protected least significant difference test; LSD) 檢定。

結果

一、同一葉片不同位置穩定碳同位素比值 ($\delta^{13}\text{C}$) 的測定

斑葉種芭菲爾鞋蘭屬 *P. niveum*、*P. concolor* 及 *P. callosum* 葉片以近葉中處 50% 位置 (Fig. 1) 其 $\delta^{13}\text{C}$ 值最高，分別為 -23.56‰、-25.62‰ 及 -27.29‰ (Table 1)，其次為近葉尖處 90% 位置 $\delta^{13}\text{C}$ 值，分別為 -23.92‰、-25.82‰ 及 -27.61‰，最低為近葉基處 10% 位置的葉片，其 $\delta^{13}\text{C}$ 值分別為 -25.68‰、-27.91‰ 及 -28.08‰ (Table 1)。Tung *et al.* (2012) 研究芭菲爾鞋蘭屬葉片之不同取樣點及葉面不同取樣點，其 $\delta^{13}\text{C}$ 值均介於 -27.65‰ ~ -25.20‰ 之間。本研究三種芭菲爾鞋蘭屬皆以近葉中部位之 $\delta^{13}\text{C}$ 值最高，且葉面近葉基、葉中及葉尖 $\delta^{13}\text{C}$ 的值，亦均介於 -28.08‰ ~ -23.56‰ 之間 (Table 1)。

芭菲爾鞋蘭屬植物可依葉面有無深淺綠色相間的網格紋，將其分為斑葉和綠葉兩大類 (Birk 2004, Cribb 1998, Wang *et al.* 2011)，斑葉種之斑紋又可分為淺綠色及深綠色部分 (Wang *et al.* 2011)。本研究 5 種芭菲爾鞋蘭屬的 *P. concolor*、*P. niveum*、*P.*

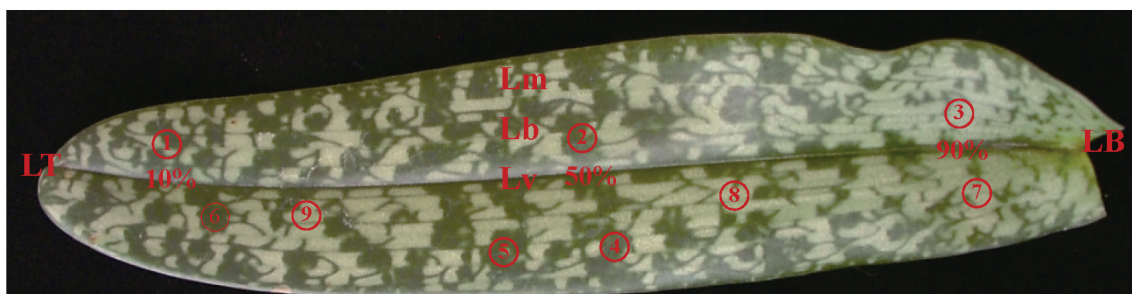


Fig. 1. Sampling sites of *Paphiopedilum concolor* on various parts of plants.

LB: leaf base; LT: leaf tip; Lb: leaf blade; Lm: leaf margin; Lv: leaf vein; ①~⑨: sampling sites; ①~③: 10%, 50% and 90%;④~⑥: dark green; ⑦~⑨: light green.

Table 1. Effect of sampling size on the $\delta^{13}\text{C}$ (‰) values of *Paphiopedilum* leaf.

Sampling site	<i>P. niveum</i>	<i>P. concolor</i>	<i>P. callosum</i>
10%	-25.68 c ^z	-27.91 c	-28.08 c
50%	-23.56 a	-25.62 a	-27.29 a
90%	-23.92 b	-25.82 b	-27.61 b

^z Means within each column followed by the same letter are not significantly different at 0.5% level by Fisher's protected LSD test, n=3.

callosum、*P. callosum* fma. *vinicolor* 及 *P. purpuratum* 皆為斑葉種，以葉面近葉中部位之淺綠色及深綠色位置為取樣點，其葉面淺綠色位置 $\delta^{13}\text{C}$ 值分別為-21.29‰、-22.41‰、-27.14‰、-27.30‰及-27.65‰，均高於深綠色位置的值，分別為-22.86‰、-22.96‰、-28.46‰、-27.83‰及-28.04‰(Table 2)。Wang *et al.* (2011)研究斑葉類的芭菲爾鞋蘭屬 *P. micranthum* 和 *P. purpuratum* 光合作用的特性，指出斑葉類深色和淺色部分的光合特性具有差異，然深色部位比淺色部位有較高含量的葉綠素，淺色部位對多餘光能的耗散能力及光能的利用率均比深色部分強，淺色部分較能夠有效利用弱光進行光合作用(Wang *et al.* 2011)，Cribb(1998)研究斑葉種葉片在深綠色部分通常具有 1 或 2 層的柵狀組織細胞；淡綠色部分則幾乎無或只有一層的柵狀組織細胞存在。Wang *et al.* (2011)認為斑葉是芭菲爾鞋蘭屬植物對生長環境光照經常變化的一種適應，而淺色部分可能是一種強光的保護機制。本研究得知，5 種斑葉類芭菲爾鞋蘭屬其葉面淺色及深色位置 $\delta^{13}\text{C}$ 值

亦有明顯的差異，均以淺色部位 $\delta^{13}\text{C}$ 的值較高(Table 2)

二、不同栽培介質下及不同發育年齡葉片穩定碳同位素比值($\delta^{13}\text{C}$)的測定

三種栽培介質樹皮、蛇木屑及水苔，為目前臺灣栽培芭菲爾鞋蘭屬植物使用最多的介質。三種介質個別栽種 *P. callosum*、*P. niveum* 及 *P. concolor* 等三個斑葉種，量測近葉中處 50%位置淺綠色部位之 $\delta^{13}\text{C}$ 值；以栽培於樹皮介質者的 $\delta^{13}\text{C}$ 值最高，分別為-21.19‰、-22.77‰及-26.72‰(Table 3)，最低為栽培於水苔者，其值分別為-27.45‰、-27.68‰及-28.34‰(Table 3)。三種介質對斑葉種芭菲爾鞋蘭屬 *P. callosum*、*P. niveum* 及 *P. concolor* 的 $\delta^{13}\text{C}$ 值均達顯著差異。水苔保水力佳，樹皮與蛇木屑兩種介質的保水性較差，若澆水頻率不足，則有可能讓植株處於缺水逆境狀況下，栽培於樹皮與蛇木屑者，其 $\delta^{13}\text{C}$ 值高於水苔介質者，可能與介質來源有關；另外，*P. concolor* 在不同介質中其較 *P. callosum* 及 *P. niveum* 其 $\delta^{13}\text{C}$ 值明顯較小，

顯示其對環境的適應能力比另外兩個種強；*P. concolor* 廣泛地分佈於中南半島及中國南部地區，比其他的兩個品種的分佈範圍大(Cribb 1998)，本研究結果顯示不同栽培介質對物種 $\delta^{13}\text{C}$ 的值呈現明顯差異，且不同種間 $\delta^{13}\text{C}$ 值亦呈現差異，種類間對光照的需求不同或不同栽培介質對碳固定的能力有所差異，進而影響植物發育及其對生態環境的適應能力。

另，在不同發育階段量測葉片 $\delta^{13}\text{C}$ 值，瓶苗階段的 *P. callosum*、*P. niveum* 及 *P. concolor*，不論瓶苗苗齡大小，均比出瓶後植株具有較高的 $\delta^{13}\text{C}$ 值(Table 4)，其中以播種後 8 個月之瓶苗的中苗其 $\delta^{13}\text{C}$ 的值最高，分別為 -17.71‰、-18.42‰及 -18.14‰ (Table 4)，瓶苗不論大小苗的 $\delta^{13}\text{C}$ 值，均介於 -19.98‰ ~ -17.71‰之間，顯示其值趨近於 CAM 植物的範圍；出瓶後 6 個月階段的小苗 $\delta^{13}\text{C}$ 值最高，分別為 -21.20‰、-24.79‰及 -24.39‰，一年生的中苗則次之，分別為 -25.02‰、-26.17‰及 -27.77‰，最低為出瓶後的成熟大苗(出瓶後 2 年)，其 $\delta^{13}\text{C}$ 值分別為 -27.89‰、-27.02‰及 -28.41‰ (Table 4)。Lo (2003)量測臺灣原生蝴蝶蘭瓶內的小、中及大苗，其 $\delta^{13}\text{C}$ 值分別為 -19.5‰、-21.4‰及

-20.4‰，而出瓶後的小、中及大苗 $\delta^{13}\text{C}$ 值，則分別為 -13.2‰、-12.3‰及 -12.4‰，均大於瓶苗階段的值。Lo (2003)認為蝴蝶蘭在瓶苗階段時為行 C_3 型植物或 CAM 植物，出瓶後的植株則為絕對性 CAM 植物，Chen and Lee (2002)亦判斷蝴蝶蘭在瓶苗階段的初期，其光合作用路徑是 C_3 型植物，直到葉長 5 cm 以上時，CAM 植物的特性才增強到可在暗期吸收 CO_2 。景天酸屬的植物，植株在水分供給充足時是為 C_3 型植物，而遇有水分逆境時，則由 C_3 型植物轉換成 CAM 植物(Cushman 2001)，其他植物也有隨生長時期或環境變化而改變其光合固碳路徑的情形，由 C_3 型植物轉變為 CAM 植物、 C_4 型植物轉變為 C_3 型植物、或由 C_3 型植物轉變為 C_4 型植物(Hew and Yong 1997)；芭菲爾鞋蘭屬植物則與蝴蝶蘭屬瓶內苗及移出苗後之 $\delta^{13}\text{C}$ 值有相反的變化，顯示斑葉種芭菲爾鞋蘭屬植物在瓶苗階段有異於 C_3 型的光合作用路徑，是一值得探討的問題。

綜合本研究結果，供試的芭菲爾鞋蘭屬中 *P. concolor* 及 *P. niveum*，葉片較厚，*P. callosum*、*P. callosum* fma. *vinicolor* 及 *P. purpuratum* 則葉片較薄，其葉片不同取樣

Table 2. Effect of plant species on the $\delta^{13}\text{C}$ (‰) values in different of leaf sampling points.

Plant species	Light green	Dark green
<i>P. callosum</i>	-21.29 a ^z	-22.86 b
<i>P. niveum</i>	-22.41 a	-22.96 b
<i>P. callosum</i> fma. <i>vinicolor</i>	-27.14 a	-28.46 b
<i>P. purpuratum</i>	-27.30 a	-27.83 b
<i>P. concolor</i>	-27.65 a	-28.04 b

^z Means within each column followed by the same letter are not significantly different at 0.5% level by Fisher's protected LSD test, n=3.

Table 3. Effect of growing medium on the $\delta^{13}\text{C}$ (‰) values of *Paphiopedilum* leaf.

Growing media	<i>P. callosum</i>	<i>P. niveum</i>	<i>P. concolor</i>
Tree bark	-21.19 a ^z	-22.77 a	-26.72 a
Snake wood	-22.22 b	-25.88 b	-27.87 b
<i>Sphagnum</i>	-27.45 c	-27.68 c	-28.34 c

^z Means within each column followed by the same letter are not significantly different at 0.5% level by Fisher's protected LSD test, n=3.

Table 4. Effect of developmental age on the $\delta^{13}\text{C}$ (‰) values of *Paphiopedilum* leaf.

Developmental age	<i>P. callosum</i>	<i>P. niveum</i>	<i>P. concolor</i>
Flask plantlet			
Small	-18.33 b ^z	-19.49 b	-19.82 b
Medium	-17.71 a	-18.42 a	-18.14 a
Large l	-18.97 c	-19.88 b	-19.98 b
Seeding (six month)	-21.20 d	-24.79 c	-24.39 c
Medium (one year)	-25.02 e	-26.17 d	-27.77 d
Mature (two years)	-27.89 f	-27.02 e	-28.41 e

^z Means within each column followed by the same letter are not significantly different at 0.5% level by Fisher's protected LSD test, n=3.

點、不同栽培介質下及出瓶後不同發育階段的葉片，其 $\delta^{13}\text{C}$ 值均介於 -28.08‰ ~ -21.19‰ 之間，均在 C₃ 型植物範圍內；而瓶苗階段之 $\delta^{13}\text{C}$ 值 (-17.1‰ ~ -19.98‰) 則在 C₃ 型植物或 CAM 植物範圍內；Chen and Lee (2002) 與 Tsai (2003) 指出蝴蝶蘭瓶苗隨著繼代天數的增加，瓶苗 CO₂ 固定由 C₃ 型植物轉變成 CAM 植物，瓶苗在繼代 90 天後展現 CAM 植物特徵，可知蝴蝶蘭瓶苗固碳模式的轉變與其成熟度有關。而番杏屬、景天屬、馬齒莧屬和葡萄屬等植物中，在水分豐沛時為 C₃ 型植物，水分逐漸缺乏時，由 C₃ 型植物轉為 CAM 植物 (Cushman 2001)。另外，本研究不同種間在不同介質的栽培下，*P. callosum* 及 *P. niveum* 的 $\delta^{13}\text{C}$ 值變化大，*P. concolor* 則變化較小，不同栽培介質 $\delta^{13}\text{C}$ 值亦有異，可能是物種在生態適應能力上的指標，但仍須進一步研究與確認，就產業栽培的實際應用，選擇環境適應能力強的栽培種及適當的栽培條件至關重要。

引用文獻

Bendrat J (1929) Zur physiologie der organischen sauern in grünen Pflanzen. Vi. Ein Beitrag zur Kenntnis der Sauerstoffwechsels sukkulenter Pflanzen. *Planta* 7:508-584. (Cited from Donovan *et al.* 1984).

Bender MM, I Rouhani, HM Vines, CC Black Jr (1973) ¹³C/¹²C ratio changes in Crassulacean acid metabolism plants. *Plant Physiol.* 52: 427-430.

Birk LA (2004) The *Paphiopedilum* Grower's Manual. 2nd ed. Pisang Press, Santa Barbara, California, USA. 281pp.

Borland AM (1996) A model for the partitioning of photosynthetically fixed carbon during the C₃-CAM transition in *Sedum telephium*. *New Phytol.* 134:433-444.

Chen YJ, N Lee (2002) Diurnal rhythm of carbon dioxide, ethylene and organic acid concentration in *Phalaenopsis amabilis* var. *formosa* plantlets *in vitro*. (in Chinese with English abstract) *J. Chinese Soc. Hort. Sci.* 48:157-166.

Cribb PJ (1998) The Genus *Paphiopedilum*. 2nd ed. Natural History Publications (Borneo). Kota Kinabalu, Royal Botanic Gardens, Kew. 427pp.

Cushman JC (2001) Crassulacean acid metabolism. A plastic photosynthetic adaptation to arid environments. *Plant Physiol.* 127:1439-1448.

Dodd AN, AM Borland, RP Haslam, H Griffiths, K Maxwell (2002) Crassulacean acid metabolism: plastic, fantastic. *J. Exp. Bot.* 53: 569-580.

Donovan RD, J Arditti, IP Ting (1984) Carbon fixation by *Paphiopedilum insigne* and *Paphiopedilum parishii* (Orchidaceae). *Ann. Bot.* 54:583-586.

Hew CS, JWH Yong (1997) Photosynthesis. In: The Physiology of Tropical Orchids in Relation to the Industry. p.37-87. World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd., Singapore.

Ika OA, CF Tung, CH Sun, JS Tsay (2009) Effect of light intensity on stomatal conductance,

- photosynthetic capacity and carbon isotope discrimination of *Paphiopedilum* sp. (in Chinese with English abstract) **J. Taiwan Soc. Hort. Sci.** 55:313-314.
- Ika OA, JS Tsay, CF Tung, CH Sun (2010) Carbon isotope composition on *Paphiopedilum* Hybrids. p 284-287. *In*: Proceeding of the First Annual Indonesian Scholars Conference in Taiwan. Held at Southern Taiwan University, Tainan. April 8, 2010. LM Jaelanil (Ed.) National Chiayi University, Chiayi, Taiwan.
- Lo SC (2003) Identification of Taiwan native *Phalaenopsis* and photosynthetic characteristics. Ph.D. Dissertation. Department of Life Science, National Chung Hsing University. Taichung, Taiwan.
- Lüttge U (2000) Light-stress and crassulacean acid metabolism. **Phyton** 40:65-82.
- Lüttge U (2004) Ecophysiology of crassulacean acid metabolism (CAM). **Ann. Bot.** 93:629-652.
- McWilliams EL (1970) Comparative rates of dark CO₂ uptake and acidification in the Bromeliaceae, Orchidaceae, and Euphorbiaceae. **Bot. Gaz.** 131:285-290.
- Taiz L, E Zeiger (2010) *Plant Physiology*. 5th ed. Sinauer Associates, Inc., Sunderland, Massachusetts. USA.782pp.
- Thorpe N (1980) Accumulation of carbon compounds in the epidermis of five species with either different photosynthetic systems or stomatal structure. **Plant Cell Environ.** 3:451-460.
- Tsai WT (2003) Effect of Ventilation and Liquid Medium on the Growth of *Phalaenopsis* Plantlets in vitro. Ph.D. Dissertation. Department of Horticulture, National Chung Hsing University, Taichung, Taiwan.
- Tung CF, PY Liu Huang, CH Sun, JS Tsay (2012) The stable carbon isotope of photosynthetic types of *Paphiopedilum*. (in Chinese with English abstract) **J. Agric. Assoc. Taiwan** 13: 175-190.
- Wang YJ, ZZ Wen, JY Cai, ZY Tan, YP Wang, YQ Liu, W Liu (2011) Study on the photosynthesis characteristics of four species of *Paphiopedilum*. **Modern Agric. Sci. Technol.** 20:200-203.
- Zhang SB, ZJ Guan, W Chang, H Hu, Q Yin, KF Cao (2011) Slow photosynthetic induction and low photosynthesis in *Paphiopedilum armeniacum* are related to its lack of guard cell chloroplast and peculiar stomatal anatomy. **Physiol. Plant.** 142:118-127.