



วิทยานิพนธ์

ศักยภาพการสังเคราะห์แสงและอัตราแลกเปลี่ยนแก๊สในรอบวันของใบ
กล้วยไม้สกุลหวาย พันธุ์บอม โจ

LEAF PHOTOSYNTHETIC POTENTIAL AND DIURNAL GAS
EXCHANGE OF *DENDROBIUM* SONIA 'BOM JO'

นางสาวพรณี ชื่นนคร

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

พ.ศ. 2550



ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร)

ปริญญา

เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร

โครงการสหวิทยาการระดับบัณฑิตศึกษา

สาขา

ภาควิชา

เรื่อง ศักยภาพการสังเคราะห์แสงและอัตราแลกเปลี่ยนแก๊สในรอบวันของใบกล้วยไม้สกุลหวาย
พันธุ์บอม โจ

Leaf Photosynthetic Potential and Diurnal Gas Exchange of *Dendrobium*

Sonia 'BOM JO'

นามผู้วิจัย นางสาวพรณี ชื่นนกร

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

ประธานกรรมการ

(ศาสตราจารย์สุนทรี อึ้งชัชวาลย์, Ph.D.)

กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์เสริมศิริ จันทร์เปรม, Ph.D.)

กรรมการ

(อาจารย์สิริกุล วะสี, Ph.D.)

ประธานสาขาวิชา

(รองศาสตราจารย์พงศ์เทพ อัครธนกุล, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์วินัย อาจคงหาญ, M.A.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ ๕ เดือน ธันวาคม พ.ศ. ๒๕๕๐

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

ศักยภาพการสังเคราะห์แสงและอัตราแลกเปลี่ยนแก๊สในรอบวันของใบกล้วยไม้สกุลหวาย
พันธุ์บอม โจ

Leaf Photosynthetic Potential and Diurnal Gas Exchange of *Dendrobium*

Sonia 'BOM JO'

โดย

นางสาวพรรณิ ชื่นนกร

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร)

พ.ศ. 2550

พรรณิ จันทนกร 2550: ศักยภาพการสังเคราะห์แสงและอัตราแลกเปลี่ยนแก๊สในรอบวันของใบ
กล้วยไม้สกุลหวาย พันธุ์บอม โจ ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร) สาขา
เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร โครงการสหวิทยาการระดับบัณฑิตศึกษา ประชานกรรมการที่ปรึกษา:
ศาสตราจารย์สุนทรียังษ์ชาลย์, Ph.D. 77 หน้า

ศึกษาอัตราแลกเปลี่ยนแก๊สของใบกล้วยไม้สกุลหวาย พันธุ์บอม โจ เพื่อความเข้าใจการดำเนิน
กิจกรรมตามวิถีของ Crassulacean acid metabolism (CAM) โดยเก็บข้อมูลพื้นฐานเรื่องศักยภาพการสังเคราะห์
แสง และการตอบสนองต่อสภาพอากาศในรอบวัน โดยวัดอัตราแลกเปลี่ยนแก๊ส ประสิทธิภาพการใช้แสงของ
PSII ปริมาณกรดมและความเข้มข้นตัวถูกละลาย (C_s)

ศักยภาพการสังเคราะห์แสงของใบกล้วยไม้ลำดับที่ 1-4 นับจากปลายยอดของลำที่มีอายุน้อยที่สุดที่
ออกดอก (ลำหน้า) แสดงว่าใบมีอัตราสังเคราะห์แสงรวมสูงสุด (P_m) ดำอยู่ในช่วง 6-7 ในขณะที่อัตราหายใจใน
ที่มืด (R_d) มีค่าอยู่ในช่วง $0.3-0.8 \mu\text{molCO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ คำนวณไหลปากใบ (g_s) มีระดับต่ำโดยมีค่าสูงสุดเท่ากับ $29 \text{ mmolH}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ค่าความเข้มแสงอิ่มตัว (I_0) อยู่ในช่วง $224-348 \mu\text{molPPF m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ อัตราเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอน
(ETR) มีค่าสูงสุดเท่ากับ $38 \mu\text{molE m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ เป็นผลให้ค่าอัตราสังเคราะห์แสงสุทธิ (A) ต่อ ETR (dA/dETR)
เท่ากับ $0.167-0.185 \text{ molCO}_2 \text{ molE}^{-1}$ และค่าความเข้มแสงต่อ A (dPPF/dA) เท่ากับ $20.4-24.4 \text{ molPPF molCO}_2^{-1}$
แม้ว่าใบกล้วยไม้จะมีค่าคำนวณไหลเมสโซฟิลล์ (g_m) ที่ต่ำคืออยู่ในช่วง $36-64 \text{ mmolCO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ แต่จุดชดเชย-
คาร์บอนไดออกไซด์ (Γ) มีค่าต่ำเช่นกันอยู่ในช่วง $29-67 \mu\text{molCO}_2 \text{ mol}^{-1}$ กล่าวได้ว่าใบกล้วยไม้มีประสิทธิภาพ
ในการสังเคราะห์แสงและคำนวณไหลปากใบระดับต่ำมากเมื่อเทียบกับพืช C3 ค่าที่ได้แสดงว่าใบลำดับที่ 1 มี
พัฒนาการด้านการตรึง CO_2 ต่ำสุด การดำเนินกิจกรรมของใบในรอบวัน แสดงเฟสการตรึง CO_2 3 เฟส ได้แก่
เฟสที่ 1 คือช่วงมืด เริ่มประมาณ 22 น. เมื่อใบมีคำนวณไหลปากใบสูงขึ้นจนมีการแพร่ของ CO_2 จากอากาศ
ภายนอกเข้าใบ ซึ่งจะถูกตรึงโดยเอนไซม์ PEP carboxylase สะสมในรูปกรดมาลิก ช่วงนี้จะตรงกับสภาพที่ใบมี
ปริมาณกรดและค่า C_s เพิ่มขึ้น เมื่อเริ่มมีแสงกิจกรรมจะเข้าสู่เฟสที่ 2 เป็นช่วงที่คำนวณไหลปากใบยังคงสูง CO_2
จากภายนอกแพร่เข้าใบและถูกตรึงโดยเอนไซม์ RuBisCO ของวัฏจักร Calvin ได้ด้วย ปริมาณกรดในใบจะมี
ค่าสูงสุดในเฟสนี้ เมื่อแสงแดดแรงขึ้นหลัง 9 น. กิจกรรมจะเข้าสู่เฟสที่ 3 เมื่อความแห้งของอากาศชักนำให้ค่า
คำนวณไหลปากใบลดต่ำลง กรดมาลิกที่ถูกสะสมไว้จะสลายให้ CO_2 เข้าสู่วัฏจักร Calvin ควบคุมกระบวนการ
สร้างสารอาหารโดยปฏิกิริยาใช้แสง ทำให้ปริมาณกรดลดลงในเฟสนี้ เมื่อแสงหมด ปริมาณกรดในใบลดลง
เหลือต่ำสุด อัตราตรึง CO_2 และคายน้ำของเฟสที่ 1-2 ถูกควบคุมด้วยคำนวณไหลปากใบ โดยที่ความชื้นสัมพัทธ์
อากาศ 70% เป็นระดับวิกฤตที่ชักนำให้ปากใบปิดแคบลง ดังนั้นหากความชื้นสัมพัทธ์ในช่วงกลางคืนต่ำกว่า
ระดับวิกฤต ปากใบจะไม่เปิดรับ CO_2 ซึ่งอาจทำให้ใบกล้วยไม้ขาดวัตถุดิบสำหรับการสร้างอาหารในวันต่อไป

พรรณิ จันทนกร

ลายมือชื่อนิติ

สุนทรียังษ์ชาลย์

ลายมือชื่อประธานกรรมการ

29 / พค / 2550

Pannce Chuennakorn 2007: Leaf Photosynthetic Potential and Diurnal Gas Exchange of *Dendrobium* Sonia 'BOM JO'. Master of Science (Agricultural Biotechnology), Major Field: Agricultural Biotechnology, Interdisciplinary Graduate Program. Thesis Advisor: Professor Suntaree Yingjajaval, Ph.D. 77 pages.

Leaf gas exchange of *Dendrobium* Sonia 'BOM JO' is examined to elucidate its Crassulacean acid metabolism (CAM) pathway. Measurement includes photosynthetic capacity and the diurnal climatic effect on gas exchange, PSII quantum yield, the acid and the solute content (C_s) of leaf sap.

The four leaves, counting from top, of the youngest pseudobulb with inflorescence are measured. The maximum gross photosynthesis (P_m) is low at 6-7 and the dark respiration (R_d) 0.3-0.8 $\mu\text{molCO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. The stomatal conductance (g_s) is low with the highest value of 29 $\text{mmolH}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. The light saturation (I_s) is 224-348 $\mu\text{molPPF m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, the highest electron transport rate (ETR) is 38 $\mu\text{molE m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, resulting in the rate of net photosynthesis (A) to ETR (dA/dETR) of 0.167-0.185 $\text{molCO}_2 \text{ molE}^{-1}$, and the rate of radiation to A (dPPF/dA) of 20.4-24.4 $\text{molPPF molCO}_2^{-1}$. Despite the low mesophyll conductance (g_m) of 36-64 $\text{mmolCO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, the CO_2 compensation can be as low as 29-67 $\mu\text{molCO}_2 \text{ mol}^{-1}$. The parameters indicate that *Dendrobium* leaf has lower photosynthetic capacity and stomatal conductance than most C3 plants and the first leaf has the lowest CO_2 fixation rate. The diurnal gas exchange pattern of *Dendrobium* leaves features 3 phases of CAM. Phase I initiates at about 2200 hour when the stomatal conductance becomes high to allow the influx of CO_2 from the air which is fixed by PEP carboxylase and stored as malic acid in the vacuole, coinciding with the increase in the acid and the solute content of leaf sap. At dawn, phase II begins while the stomatal conductance is still high and CO_2 is concurrently fixed by RuBisCO and the light reaction. During this phase, the gas exchange rate, the acid and the solute content reach the maximum level. By 900 hour, the drier air induces stomatal closure. The carboxylation proceeds with CO_2 released from malic acid. The acid content gradually decreases to the minimum level. The gas exchange rate of *Dendrobium* leaf is limited by the low stomatal conductance. The threshold of stomatal closure is when the relative humidity of the air falls below 70%. It is likely that CO_2 assimilation may lack raw material when the night RH is below the threshold.

Pannce Chuennakorn
Student's signature

A. Yingjajaval
Thesis Advisor's signature

29 / May / 2007

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ ศ.ดร. สุนทรี ยิ่งชีพวาลย์ ประธานกรรมการที่ปรึกษาเป็นอย่างยิ่งที่ได้ให้โอกาส ให้ความรู้ คำแนะนำ การอบรม จัดเกล้า และเป็นแบบอย่างที่ดีในทุกๆด้านของข้าพเจ้ามาโดยตลอด รวมทั้งช่วยเหลือและสนับสนุนทุนระหว่างที่ศึกษา ให้คำปรึกษาและตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์เป็นอย่างดี ขอกราบขอบพระคุณ ผศ.ดร. เสริมศิริ จันทรเปรม กรรมการที่ปรึกษาวิชาเอก ดร.สิริกุล วัชชี กรรมการที่ปรึกษาวิชาการ อ. พูนทรัพย์ สืบมา และ ดร.ภาสันต์ สารทูลทัต ผู้แทนบัณฑิต ที่กรุณาให้คำปรึกษาและแนะนำในการทำวิทยานิพนธ์ให้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

ขอขอบคุณสมาชิกห้องปฏิบัติการนิเวศ-สรีรวิทยาทุกคนที่มีน้ำใจ สละเวลาและมีส่วนช่วยเหลือในการทำงานวิจัยจนสำเร็จด้วยดี ขอขอบคุณคุณสมพงษ์ ทวีสุข เจ้าของสวนกล้วยไม้ จ. กาญจนบุรี ที่อนุเคราะห์กล้วยไม้สำหรับทำงานวิจัย

ขอขอบคุณ พ่อ แม่ และน้อง ที่เป็นแรงบันดาลใจและกำลังใจ รวมทั้งสนับสนุนสิ่งที่ข้าพเจ้าคิดและเชื่อการตัดสินใจของข้าพเจ้า

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ.นครปฐม

ประโยชน์อันเกิดจากวิทยานิพนธ์เล่มนี้ ข้าพเจ้าขอบอแด่อาจารย์ ครอบครัว และทุกท่านที่มีส่วนร่วม

พรรณี ชื่นนคร
กุมภาพันธ์ 2550

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(3)
สารบัญภาพ	(4)
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ	(7)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	2
ตรวจเอกสาร	3
ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของกล้วยไม้ สกุลหวาย	3
ปัจจัยธรรมชาติที่มีผลต่อการเจริญเติบโต	4
วิธีการสังเคราะห์แสงของกล้วยไม้	5
ปัจจัยทางสรีรวิทยาที่มีอิทธิพลต่อการสังเคราะห์แสง	11
หลักการวัดอัตราแลกเปลี่ยนแก๊สในใบ	15
หลักการวัดประสิทธิภาพการใช้แสงของระบบรับแสง Photosystem II (PSII quantum yield)	19
อุปกรณ์และวิธีการ	23
ผลและวิจารณ์	30
การตอบสนองต่อแสงและความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์	
เส้นตอบสนองต่อแสง	30
เส้นตอบสนองต่อความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์	38
กิจกรรมของใบในรอบวัน	
สภาพอากาศในรอบวัน	43
อัตราตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ อัตราคายน้ำและค่าน้ำไหลปากใบ	51
ประสิทธิภาพการใช้แสงในรอบวัน	58
การเปลี่ยนแปลงค่า pH และความเข้มข้นตัวถูกละลายของสารละลายที่ คั้นจากใบที่สะท้อนการเปลี่ยนแปลงของปริมาณกรดรวมในรอบวัน	62

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
สรุป	69
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	70
ภาคผนวก	76

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ค่าเฉลี่ยพารามิเตอร์ที่ได้จากเส้นตอบสนองต่อแสงของใบกล้วยไม้ของลำหน้าตำแหน่งใบที่1-4 ของลำหน้า จำนวน 3 ลำ	36
2	ค่าเฉลี่ยพารามิเตอร์ที่ได้จากการวัดเส้นตอบสนองต่อความเข้มข้นคาร์บอนไดออกไซด์ ของใบตำแหน่งที่ 1-4 ของลำหน้า จำนวน 3 ลำ	42
3	ค่าพารามิเตอร์ของสภาพอากาศในรอบวันของวันที่ 23 เมษายน 2547	47
4	ค่าเฉลี่ยในรอบวันของอัตราแลกเปลี่ยนแก๊สของใบกล้วยไม้สกุลหวายที่วัดด้วยเครื่อง LI6400-40 หัววัดชนิด Fluorometer ในวันที่ 23-24 เมษายน 2547	54
5	ค่าเฉลี่ยของประสิทธิภาพการใช้แสงและอัตราตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ในแต่ละเฟส ที่ได้จากเครื่อง LI6400-40 หัววัดชนิด leaf chamber fluorometer	61
6	ค่าเฉลี่ยในรอบวันของพารามิเตอร์จากการวัดคลอโรฟิลล์ฟลูออเรสเซนส์ของใบกล้วยไม้ วันที่ 9-10 กุมภาพันธ์ 2548 ด้วยเครื่อง Pulse amplitude modulation fluorometer รุ่น Mini-PAM	68

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1 รูปแบบการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ในรอบ 24 ชั่วโมง แสดงช่วงเวลาการทำงานของเอนไซม์ RuBisCO และ PEP carboxylase ในการตรึงการ CO ₂ รวมถึงการสะสมมาลิกในแต่ละเฟส	7
2 เส้นตอบสนองต่อแสงของใบกล้วยไม้ลำดับที่ 1-4 จากยอดของลำหน้า ความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มแสง กับ (a) อัตราสังเคราะห์แสงสุทธิ (b) ค่านำไหลดปากใบ (c) อัตราสังเคราะห์แสงสุทธิกับค่านำไหลดปากใบ (d) ประสิทธิภาพการใช้แสงของ PSII ในสภาพมีแสง (e) อัตราเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอน และ (f) อัตราสังเคราะห์แสงสุทธิกับอัตราเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอน	34
3 ค่าเฉลี่ยพารามิเตอร์ของเส้นตอบสนองต่อแสงของใบกล้วยไม้ลำดับที่ 1-4 ของลำหน้า (จำนวน 3 ซ้ำ $\pm$ standard deviation) เมื่อ (a) คืออัตราสังเคราะห์แสงรวมสูงสุด (b) คือประสิทธิภาพการใช้แสง (c) R _d คืออัตราหายใจในที่มืด (d) คือค่าควบคุมความโค้งของเส้นกราฟ (e) คือจุดชดเชยแสง และ (f) คือค่าความเข้มแสงอิ่มตัว	35
4 ความสัมพันธ์ระหว่างค่า C _i ของใบกล้วยไม้ลำดับที่ 1-4 ของลำหน้า เมื่อกำหนดความเข้มข้น CO ₂ ในกล่องบรรจุใบ (C _a) มีค่าเท่ากับ 0-400 $\mu\text{molCO}_2 \text{ mol}^{-1}$ กับ (a) อัตราสังเคราะห์แสงสุทธิ (b) ค่านำไหลดปากใบ และ (c) ความสัมพันธ์ระหว่างค่า C _i กับอัตราสังเคราะห์แสงสุทธิ เมื่อปรับเพิ่มความเข้มข้น CO ₂ ในกล่องบรรจุใบ (C _a) ในช่วง 0-800 $\mu\text{molCO}_2 \text{ mol}^{-1}$	40
5 (a) จุดชดเชยคาร์บอนไดออกไซด์ และ (b) ค่านำไหลดเมสโซฟิลล์ของใบกล้วยไม้ลำดับที่ 1-4 ของลำหน้า และ (c) ความสัมพันธ์ระหว่างจุดชดเชยคาร์บอนไดออกไซด์และค่านำไหลดเมสโซฟิลล์ของใบกล้วยไม้ลำดับที่ 1-4 ของลำหน้า จำนวนรวม 12 ใบ (d) ความสัมพันธ์ระหว่างจุดชดเชย คาร์บอนไดออกไซด์และค่านำไหลดเมสโซฟิลล์ ค่าในเส้นประแสดงช่วงที่มีการตรึง CO ₂ ทั้งโดย RuBisCO และ PEP carboxylase (เส้นตั้งคือค่า standard error)	41

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
6 ความสัมพันธ์ระหว่างสภาพอากาศในและนอกเรือนทดลอง (a) ความเข้มแสง (b) อุณหภูมิอากาศ (c) ความชื้นสัมพัทธ์อากาศ และ (d) แรงดึงระเหยน้ำของอากาศ	45
7 สภาพอากาศในรอบวันที่มีการทดลองชุดแรก 23-24 เมษายน 2547 ทั้งในและนอกเรือนทดลอง (a) ความเข้มแสง (b) อุณหภูมิอากาศ (c) ความชื้นสัมพัทธ์อากาศ และ (d) แรงดึงระเหยน้ำของอากาศ	46
8 สภาพอากาศที่ใบได้รับขณะวัดอัตราแลกเปลี่ยนแก๊สที่ได้จากเครื่อง LI6400-40 (หัววัดแบบ fluorometer) (a) ความเข้มแสง (b) ความเข้มข้นคาร์บอนไดออกไซด์ในอากาศ (c) ความชื้นสัมพัทธ์อากาศภายในหัววัดใบ (d) อุณหภูมิใบ (e) แรงดึงระเหยน้ำของอากาศ และ (f) แรงดึงคายน้ำจากใบสู่อากาศ แยกใบวัดออกเป็น 2 ชุด ใบตามคือใบเดิมที่วัดต่อเนื่องและใบตัดคือใบที่วัดเปลี่ยนใหม่ทุกรอบ	50
9 ค่าที่วัดได้ของใบกล้วยไม้สกุลหวาย พันธุ์ Sonia BOM JO ในรอบวันของวันที่ 23-24 เมษายน 2547 (a) ความเข้มแสง (b) อัตราตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ (c) สัดส่วนของคาร์บอนไดออกไซด์ในช่องว่างใบกับในอากาศ (d) ค่านำไหลปากใบ (e) อัตราคายน้ำ และ (f) สัดส่วนอัตราตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ต่ออัตราคายน้ำ แยกใบวัดออกเป็น 2 ชุด ใบตามคือใบเดิมที่วัดต่อเนื่อง และใบตัดคือใบที่วัดเปลี่ยนใหม่ทุกรอบ	53
10 ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราแลกเปลี่ยนแก๊สกับปัจจัยควบคุม โดยแบ่งตามเฟสของการตรึง CO ₂ (a) อัตราตรึงคาร์บอนไดออกไซด์กับความเข้มแสง (b และ c) ค่านำไหลปากใบควบคุมอัตราตรึงคาร์บอนไดออกไซด์และอัตราคายน้ำ (d) อัตราคายน้ำกับแรงดึงคายน้ำ และ (e) ค่าความชื้นสัมพัทธ์ควบคุมค่านำไหลปากใบ	57

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า	
11	การเปลี่ยนแปลงในรอบวันของใบกล้วยไม้ วันที่ 23-24 เมษายน 2547 โดย เครื่องวัด LI6400-40 ชนิดหัววัด fluorometer (a) ความเข้มแสงภายในหัววัดใบ (b) ประสิทธิภาพการใช้แสงสูงสุดในกระบวนการสังเคราะห์แสง (c) ประสิทธิภาพ การใช้แสงของใบในสภาพมีแสง และ (d) อัตราเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอน e) ความสัมพันธ์ระหว่างประสิทธิภาพการใช้แสงใบในสภาพมีแสงกับอัตรา เคลื่อนย้ายอิเล็กตรอน และ (f) ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราตรึง คาร์บอนไดออกไซด์กับอัตราเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนของทั้งชุดใบตามและใบตัด โดยแบ่งข้อมูลตามเฟสของการตรึง CO ₂ แยกใบวัดออกเป็น 2 ชุด ใบตามคือใบ เดิมที่วัดต่อเนื่อง และใบตัดคือใบที่เปลี่ยนใหม่ทุกรอบ	60
12	เส้นตรวจเทียบระหว่างปริมาณกรดรวมในใบที่ได้จากการไตเตรทกับค่า pH ของ สารละลายในเซลล์ (H ⁺ , mmol g ⁻¹ fresh mass จำนวนตัวอย่าง 26 ใบ)	65
13	การเปลี่ยนแปลงในรอบวันของใบลำดับที่ 1-4 (a-b) ความเข้มแสงที่ใบได้รับ (c-d) อัตราเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอน (e) ค่า pH ของสารละลายในเซลล์ และ (f) ค่า ความเข้มข้นตัวละลาย แยกใบวัดออกเป็น 2 ชุด ใบตามคือใบเดิมที่วัดต่อเนื่องและ ใบตัดคือใบที่เปลี่ยนใหม่ทุกรอบ	66
14	(a) ความเข้มข้นตัวถูกละลายในเซลล์ กับค่า pH (b) ปริมาณกรดรวมในใบที่ได้ จากเส้นตรวจเทียบของค่า pH กับความเข้มข้นตัวถูกละลายในเซลล์ และ (c) ความ เข้มข้นตัวถูกละลายกับอัตราเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนกับความเข้มแสง แบ่งข้อมูล ตามเฟสที่มีการสร้างและสลายกรด	67
ภาพผนวกที่		
1	ลำดับใบที่ 1-4 ของลำหน้าที่ (ลำที่อายุน้อยที่สุดของต้น) ที่กำลังออกดอกของ กล้วยไม้สกุลหวาย พันธุ์บอม โจ	77

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

คำย่อ	คำอธิบาย	หน่วย
A	อัตราการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์สุทธิ/อัตราสังเคราะห์แสงสุทธิ (net CO ₂ fixation/net photosynthesis rate)	μmolCO ₂ m ⁻² s ⁻¹
A/E	สัดส่วนระหว่างอัตราการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ต่ออัตราคายน้ำ (ratio of net CO ₂ fixation to transpiration/ water use efficiency)	μmolCO ₂ mmolH ₂ O ⁻¹
C _a	ความเข้มข้นคาร์บอนไดออกไซด์ในอากาศ (air CO ₂ concentration)	μmolCO ₂ mol ⁻¹ air
C _i	ความเข้มข้นคาร์บอนไดออกไซด์ภายในช่องว่างใบ (intercellular CO ₂ concentration)	μmolCO ₂ mol ⁻¹ air
C _i /C _a	สัดส่วนของความเข้มข้นคาร์บอนไดออกไซด์ภายในช่องว่างใบต่อในอากาศ (ratio of intercellular to air CO ₂ concentration)	fraction
C _s	ความเข้มข้นตัวถูกละลาย (solute concentration)	mmol kg ⁻¹
E	อัตราการคายน้ำ (transpiration rate)	mmolH ₂ O m ⁻² s ⁻¹
ETR	อัตราเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอน (electron transport rate)	μmolE m ⁻² s ⁻¹
g _m	ค่านำไหลคาร์บอนไดออกไซด์ผ่านเมสโซฟิลล์ (mesophyll conductance)	mmolCO ₂ m ⁻² s ⁻¹
g _s	ค่านำไหลปากใบ (stomatal conductance)	mmolH ₂ O m ⁻² s ⁻¹
g _{s, max}	ค่านำไหลปากใบสูงสุด (maximum stomatal conductance)	
H ⁺	ปริมาณกรดรวมที่ได้จากวิธีไทเทรต (acid content / total titratable acidity)	mmol g ⁻¹ fresh mass
I _c	จุดชดเชยแสง (light compensation point)	μmolPPF m ⁻² s ⁻¹

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ (ต่อ)

คำย่อ	คำอธิบาย	หน่วย
I_s	ค่าความเข้มแสงอิ่มตัว (light saturation point)	$\mu\text{molPPF m}^{-2} \text{s}^{-1}$
PPF_i	ความเข้มแสงภายในหัววัดใบ (radiation inside leaf chamber)	$\mu\text{molPPF m}^{-2} \text{s}^{-1}$
P_m	อัตราการสังเคราะห์แสงรวมสูงสุด (maximum gross photosynthesis)	$\mu\text{molCO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$
R_d	อัตราหายใจในความมืด (dark respiration)	$\mu\text{molCO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$
RH_R	ความชื้นสัมพัทธ์อากาศ (air relative humidity)	%
RH_S	ความชื้นสัมพัทธ์อากาศภายในกล่องบรรจุใบ (leaf chamber relative humidity)	%
T_{air}	อุณหภูมิอากาศ (air temperature inside leaf chamber)	celcius
T_{leaf}	อุณหภูมิใบ (leaf temperature)	celcius
$\text{VPD}_{\text{leaf-air}}$	แรงดึงคายน้ำจากใบสู่อากาศ (leaf to air vapor pressure deficit)	kPa
VPD_{air}	แรงดึงระเหยน้ำ (air vapor pressure deficit)	kPa
α	ประสิทธิภาพการใช้แสง (photoefficiency)	$\text{molCO}_2 \text{molPPF}^{-1}$
Φ_{PSII}	ประสิทธิภาพการใช้แสงของ PSII ในสภาพมีแสง (light quantum yield of PSII)	$\mu\text{molE } \mu\text{molPPF}^{-1}$
Φ_{dark}	ประสิทธิภาพการใช้แสงสูงสุดของ PSII (maximum quantum efficiency of PSII)	fraction
θ	curvature factor (fraction)	fraction
Γ	จุดชดเชยคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2 compensation)	$\mu\text{molCO}_2 \text{mol}^{-1} \text{air}$

ศักยภาพการสังเคราะห์แสงและอัตราแลกเปลี่ยนแก๊สในรอบวันของใบกล้วยไม้
สกุลหวาย พันธุ์บอม โจ

Leaf Photosynthetic Potential and Diurnal Gas Exchange of *Dendrobium*

Sonia 'BOM JO'

คำนำ

ประเทศไทยมีสภาพอากาศที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้หลายสกุล การปลูกเลี้ยงกล้วยไม้ส่วนใหญ่จึงมักอาศัยความได้เปรียบทางสภาพอากาศเป็นทุนเดิมประกอบกับ ประสิทธิภาพและความชำนาญเฉพาะตัวของเกษตรกรในการจัดการ โรงเรือน รูปแบบของการ จัดการโรงเรือนส่วนใหญ่มีลักษณะเป็นโรงเรือนแบบกึ่งเปิด คือใช้ซาแรนเพื่อพรางแสงและเป็น วัสดุกักกันสภาพอากาศภายในโรงเรือนไม่ให้แปรผันตามสภาพอากาศธรรมชาติในรอบวันจาก ภายนอกอย่างรวดเร็ว ปัจจุบันการจัดการสภาพโรงเรือนดังกล่าวยังขาดข้อมูลรองรับว่าเป็นสภาพที่ เอื้อประโยชน์สูงสุดต่อการทำงานของกล้วยไม้แล้วจริงหรือไม่ ทั้งในส่วนของความเข้มแสง อุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ในโรงเรือนและการให้น้ำ อีกทั้งยังมีการเลี้ยงกล้วยไม้ชนิดที่เป็นพืช Crassulacean acid metabolism (CAM) และ C₃ ให้อยู่ภายใต้สภาพการจัดการเดียวกัน โดย ปราศจากการศึกษาการตอบสนองต่อปัจจัยสภาพอากาศรวมถึงข้อมูลความต้องการแสงของพืชที่จะ ปรับใช้ให้สามารถจัดการระบบปลูกอย่างมีประสิทธิภาพ ดังนั้นวัตถุประสงค์งานวิจัยนี้ จึงเป็น การศึกษาเพื่อทำความเข้าใจกลไกการทำงานของกล้วยไม้สกุลหวาย ซึ่งมีวิธีการสังเคราะห์แสงแบบ CAM ที่ดำเนินการทำงานต่างเวลาระหว่างวิถีของ C₃ และ C₄ โดยที่ตอนกลางคืนปากใบจะเปิด และตรึง CO₂ ด้วยเอนไซม์ PEP carboxylase เหมือนในวิถีพืช C₄ แต่ตรึง CO₂ สะสมในรูปกรด ในช่วงมีแสงปากใบจะปิดแคบเพื่อลดการเสียน้ำโดยจะตรึง CO₂ ที่ปลดปล่อยจากกรดผ่านวิถี C₃ (Calvin cycle) เพื่อสร้างสารอาหาร โดยจะศึกษาในด้านศักยภาพการสังเคราะห์แสงของใบ อัตรา แลกเปลี่ยนแก๊สในใบที่ตอบสนองต่อสภาพอากาศที่เปลี่ยนไปในรอบวัน เพื่อประเมินปัจจัยสภาพ อากาศที่มีบทบาทควบคุมอัตราแลกเปลี่ยนแก๊ส รวมทั้งการสะสมปริมาณกรดในใบที่สะท้อนการ สร้างสารอาหารในใบ

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาศักยภาพในการสังเคราะห์แสงของใบกล้วยไม้สกุลหวาย พันธุ์บอม โจ โดยวัดการตอบสนองต่อแสงและต่อความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ ของลำหน้าที่ตำแหน่งต่างๆ (ลำที่ออกดอกจนสุดลำ)
2. ศึกษาความสัมพันธ์ของสภาพอากาศกับอัตราแลกเปลี่ยนแก๊สของใบกล้วยไม้สกุลหวาย พันธุ์บอม โจ ในรอบวัน (24 ชั่วโมง) โดยวัดอัตราสังเคราะห์แสงสุทธิและอัตราคายน้ำ ประสิทธิภาพใช้แสงของ PSII (PSII quantum yield) และอัตราขนย้ายอิเล็กตรอน (electron transport rate) ของใบ
3. ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของการสะสม CO_2 และสารอาหารในใบในรอบวัน โดยวัดการเปลี่ยนแปลงค่า pH และความเข้มข้นตัวถูกละลายของสารละลาย (C_s)

การตรวจเอกสาร

กล้วยไม้สกุลหวาย (*Dendrobium*) นับเป็นสกุลใหญ่ที่สุดในวงศ์กล้วยไม้ (ระพี, 2530) มีประมาณ 1,400 ชนิด เป็นไม้ตัดดอกและไม้กระถางที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย กล้วยไม้สกุลหวายกระจายอยู่ในเขตร้อน ได้แก่ อินเดีย พม่า ฟิลิปปินส์ และ ไทย (กรรชิต, 2541) ปัจจุบันได้มีการผลิตกล้วยไม้หวายลูกผสมหลายพันธุ์ด้วยกัน และพันธุ์หนึ่งที่นิยมปลูกเพื่อตัดดอกกันมาก คือ พันธุ์บอม โจ (*Dendrobium* Sonia 'BOM JO') ซึ่งให้ราคาดีและออกดอกตลอดทั้งปี

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของกล้วยไม้สกุลหวาย

กล้วยไม้หวายเป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยวจำพวกมีดอก (Subclass Monocotyledoneae) อยู่ในวงศ์ Orchidaceae วงศ์ย่อย Orchidoideae เผ่า Epidendreae สำหรับพันธุ์บอม โจ เป็นพันธุ์ที่ได้จากเนื้อเยื่อ มีชื่อเดิมว่า Sonia 'BOM JO' (BOM ย่อมาจาก Bangkok Orchids Mericlone) มีดอกพอร์มกลม กลีบดอกสีม่วงแดง บริเวณโคนกลีบมีสีขาว ดอกมีขนาดใหญ่ มีรากเป็นแบบกึ่งอากาศ (epiphyte) คือมีส่วนของรากที่ยึดเกาะกับลำต้นหรือกิ่งของต้นไม้อื่น และส่วนของรากที่ลอยสัมผัสอากาศ ชอบการถ่ายเทอากาศและระบายน้ำดี (กรรชิต, 2541)

กล้วยไม้สกุลหวาย มีการเจริญเติบโตแบบซิมโพเดียล (sympodial) คือ เจริญไปตามแนวนอนด้วยเหง้า (Rhizome) ซึ่งเป็นลำต้นที่แท้จริง มีลำต้นเทียม (Pseudobulb) หรือลำลูกกล้วย ทำหน้าที่เก็บสะสมอาหาร เกิดจากตาหน่อที่เหง้าเจริญไปเป็นลำต้นมีใบ และจะออกดอกเมื่อมีการเจริญจนสุดลำ เมื่อออกดอกแล้ว ตาหน่อที่โคนลำซึ่งเป็นส่วนของเหง้าจะแทงหน่อใหม่ออกมาอีก (จิตรพรพรรณ, 2529) ลักษณะช่อดอกเป็นแบบ racemose คือดอกที่โคนจะบานก่อนแล้วจึงไล่ไปปลายช่อซึ่งเป็นดอกอ่อนที่สุด ดอกเป็นแบบสมบุรณ์เพศ ส่วนของเกสรตัวผู้และเกสรตัวเมียจะรวมกันอยู่ในส่วนกลางของดอกซึ่งเรียกว่า เสาเกสร (column) ดอกประกอบด้วยกลีบดอกวงนอก (sepal) 3 กลีบ และกลีบดอกวงใน (petal) 3 กลีบ โดยกลีบในคู่หนึ่งมีลักษณะเหมือนกัน ส่วนกลีบที่สามเปลี่ยนไปเป็นแผ่นปาก (Lip หรือ Labellum) (ระพี, 2530)

ปัจจัยธรรมชาติที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้

กล้วยไม้เป็นพืชที่มีอายุยืนยาวและเชื่อว่ามีวิวัฒนาการในการปรับตัวเพื่ออยู่รอดในป่าใหญ่ ซึ่งมีสภาพอากาศรุนแรงของแต่ละฤดูในรอบปี เช่น แล้งจัด หรือ ชื้นแฉะ โดยเฉพาะกล้วยไม้ที่มีระบบรากกึ่งอากาศ (epiphytic orchids) ส่วนใหญ่มีถิ่นกำเนิดอยู่ในป่าเขตร้อน ดังนั้นกล้วยไม้เหล่านี้จำเป็นต้องพัฒนากลไกในการอยู่รอดในแต่ละฤดูบนต้นไม้ใหญ่ ซึ่งมีปัจจัยในการเจริญเติบโตอย่างจำกัด

แสง

แสงเป็นปัจจัยหนึ่งซึ่งพืชจำเป็นต้องใช้ในกระบวนการสังเคราะห์แสงเพื่อสร้างอาหารสำหรับกล้วยไม้ที่มีระบบรากกึ่งอากาศ มักอาศัยอยู่บนต้นไม้ใหญ่ซึ่งเป็นที่สูง โดยใช้รากยึดเกาะบริเวณซอกหรือรอยแยกของเปลือกลำต้น เพื่อให้ใบได้มีโอกาสรับแสงที่ส่องผ่านจากด้านบนทรงพุ่มของต้นไม้ใหญ่ เนื่องจากในป่าที่ค่อนข้างทึบ แสงมักส่องผ่านถึงระดับพื้นดินได้ยาก ทำให้บริเวณพื้นดินได้รับความเข้มแสงต่ำ ไม่เพียงพอต่อกระบวนการสังเคราะห์แสง ดังนั้นใบของกล้วยไม้เหล่านี้มักจะมีลักษณะใบกว้างเพื่อเพิ่มพื้นที่ในการรับแสง นอกจากประโยชน์ในเรื่องการรับแสงแล้ว การที่กล้วยไม้อาศัยอยู่บนต้นไม้ใหญ่นั้น จะมีแมลงจำนวนมากที่ช่วยผสมเกสรของช่อดอก และเป็นการหลีกเลี่ยงลมที่พัดมาสร้างความเสียหายกับต้นได้อีกด้วย

น้ำ ความชื้น และ อาหาร

กล้วยไม้ระบบรากกึ่งอากาศ จะได้รับน้ำและธาตุอาหารในการเจริญเติบโตอย่างจำกัด เนื่องจากอาศัยอยู่บนต้นไม้อื่น ดังนั้นกล้วยไม้จึงผลิตสารเคลือบสีขาวที่ปลายราก คือสารวิลาเมน (white velamen) เพื่อช่วยป้องกันความเสียหายให้กับปลายรากยามที่อยู่ในสภาพขาดน้ำโดยเฉพาะในฤดูแล้ง โดยที่มีรากอากาศ (aerial roots) สำหรับดูดซับความชื้นและธาตุอาหารที่อยู่รอบๆบริเวณเปลือกของต้นไม้ นอกจากนี้กล้วยไม้จำเป็นต้องมีลำต้นเทียม (pseudobulb) หรือลำลูกกล้วย เพื่อเก็บสะสมน้ำไว้ใช้ดำรงชีวิตในฤดูแล้ง ซึ่งช่วงนี้กล้วยไม้จะพักการเจริญเติบโตและใช้น้ำและอาหารที่สะสมจากลำลูกกล้วยจนทำให้ขนาดของลำลูกกล้วยลดลง จนกระทั่งเข้าสู่ฤดูฝนซึ่งจะมีน้ำและความชื้นผ่านบริเวณเปลือกของลำต้น ไม้มากเพียงพอ กล้วยไม้ก็จะแตกรากใหม่และเก็บน้ำเข้าสู่ลำ

ถูกกลัวย่ออีกครั้งและเริ่มการเจริญเติบโตใหม่ วนไปแบบนี้ทุกๆปี (Rittershausen and Rittershausen, 2002)

วิธีการสังเคราะห์แสงของกล้วยไม้

Arditti (1992) ให้ข้อมูลว่า กล้วยไม้ทั่วไป สามารถจำแนกตามวิธีการสังเคราะห์แสงได้สองแบบ ได้แก่ แบบ C3 และ CAM (Crassulacean Acid Metabolism) ซึ่งพอสรุปได้ว่ากล้วยไม้ที่มีวิถีแบบ C₃ จะมีลักษณะดังนี้

1. ใบมีลักษณะค่อนข้างบาง

2. เปิดปากใบตอนกลางวัน และมีการตรึง CO₂ ผ่านทางวิถี C3 เท่านั้น จึงไม่มีการสร้างกรดในใบมากในช่วงกลางวัน

ตัวอย่างกล้วยไม้ใบบาง เช่น *Spathoglottis plicata*, *Tainia penangiana*, *Oncidium sp.*, *Paphiopedilum barbatum*, *Coelogyne mayeriana* และ *Arundina graminifolia* เป็นต้น

กล้วยไม้ที่มีวิธีการสังเคราะห์แสงแบบ CAM มีลักษณะดังนี้

1. ใบมีลักษณะค่อนข้างหนา ปากใบเปิดเพื่อตรึง CO₂ ในช่วงมืด การตรึง CO₂ จะเพิ่มขึ้นในตอนแรกของช่วงมืดและลดลงในตอนหลัง โดย CO₂ จะถูกตรึงในรูปของกรดมาลิกเป็นส่วนใหญ่ และสะสมไว้อยู่ในแวคคิวโอลขนาดใหญ่ซึ่งอยู่ตรงกลางของคลอเรนไคมาเซลล์ (Chlorenchyma cell) (จารุวัตร, 2546)

2. เมื่อเริ่มมีแสง แสงจะกระตุ้นให้มีการปล่อย CO₂ จากกระบวนการ Decarboxylation ของกรดมาลิก ซึ่งจะเคลื่อนออกจากแวคคิวโอลไปยังคลอโรพลาสต์ การเคลื่อนที่ของ CO₂ จากภายนอกเข้าสู่ใบจะลดลง

3. ในช่วงมีแสง CO₂ จะเข้าสู่ Calvin cycle เช่นเดียวกับพืช C3 คือเกิดใน stroma ของคลอโรพลาสต์

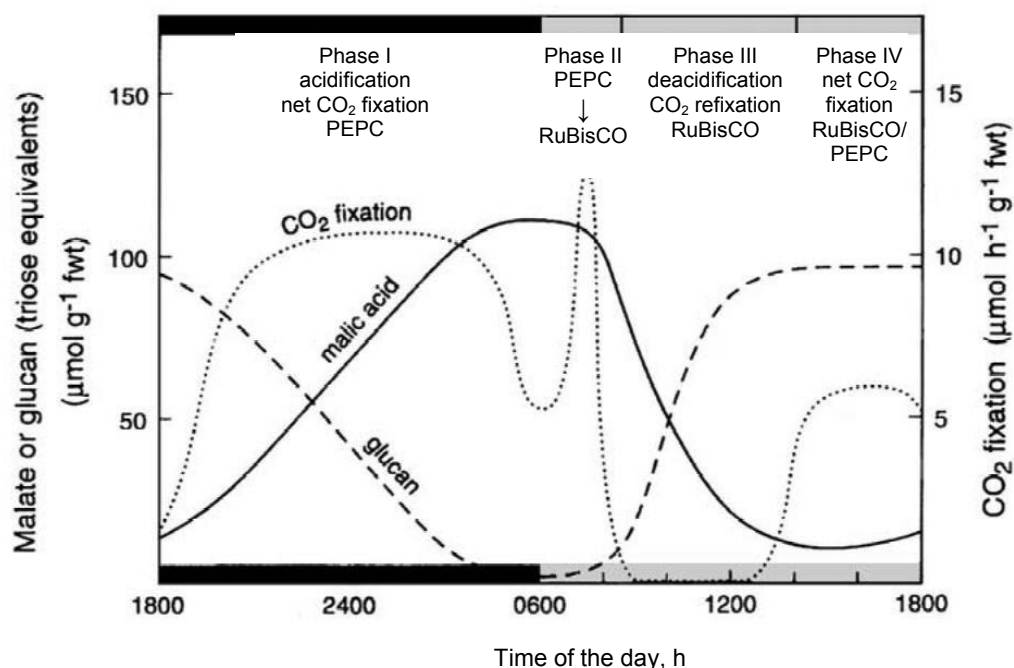
ตัวอย่างสกุลกล้วยไม้และวิธีการสังเคราะห์แสงแบบ CAM เช่น *Vanilla sp.*, *Coelogyne cristata*, *Cattleya sp.*, *Dendrobium sp.*, *Encyclia sp.*, *Lealia sp.*, *Aerides sp.*, *Arachnis sp.*, *Phalenopsis sp.* และ *Vanda Miss Joaquim* เป็นต้น

กล้วยไม้บางชนิด มีวิธีการสังเคราะห์แสงแบบ C4 ซึ่งพบเฉพาะในใบอ่อนของ *Arundinagraminifolia* และ *Arachnis Maggie Oei* ส่วนกล้วยไม้ชนิดอื่นนั้นยังไม่มีที่ยืนยันที่แน่ชัดว่าจะมีวิธีการสังเคราะห์แสงแบบ C4

วิธีการสังเคราะห์แสงแบบ CAM เป็นวิวัฒนาการของพืชที่อยู่ในสภาพแวดล้อมที่มีน้ำเป็นตัวจำกัด เช่น พืชที่เติบโตในทะเลทราย (arid climate) และกึ่งทะเลทราย (semi-arid) แถบ Mediterranean ได้แก่พืช วงศ์ Agavaceae, Asphodelaceae, Cactaceae, Crassulaceae เป็นต้น หรือพืชที่เติบโตในแถบเขตร้อน (tropical epiphytic habitats) ได้แก่พืช วงศ์ Bromeliaceae (สับปะรด) และ Orchidaceae (กล้วยไม้) (Cushman and Borland, 2002) โดยเป็นกระบวนการต่างช่วงเวลาที่มีการตรึง CO_2 ด้วยเอนไซม์ PEP carboxylase (PEPC) กลางคืนเมื่อปากใบเปิด และสะสมคาร์บอนในรูปของกรดอินทรีย์คาร์บอน 4 อะตอม (กรดมาลิกและซิตริก) ในแวคิวโอล ซึ่งแวคิวโอล ของพืช CAM จะมีขนาดใหญ่กว่าของพืช C3 และ C4 หลังจากนั้นปากใบจะปิดในช่วงความเข้มแสงเพิ่มขึ้น แต่ใบยังคงมีกิจกรรมการตรึง CO_2 โดยมีการสลายกรดอินทรีย์คาร์บอน 4 อะตอมเป็นคาร์บอน 3 อะตอม เพื่อปลดปล่อยคาร์บอน 1 อะตอมในรูป CO_2 ซึ่งจะถูกตรึงต่อไปโดยเอนไซม์ RuBisCO ในกระบวนการ CO_2 reducing ของ Calvin cycle เอนไซม์ PEPC อาจถูกเรียกว่าเป็น Primary carboxylation enzyme และเรียกเอนไซม์ RuBisCO เป็น Secondary carboxylation enzyme (Borland *et al.*, 1999) การปิดปากใบตอนกลางวันจึงเป็นการลดการรั่วออกของ CO_2 เมื่อความเข้มข้นของ CO_2 ภายในเซลล์เพิ่มขึ้นจะลดการทำงานของเอนไซม์ Oxygenase จึงเป็นการลดอัตราการเกิด photorespiration ความสำคัญของการปิดปากใบตอนกลางวันอีกประการหนึ่งคือ เป็นการลดการสูญเสียน้ำ ดังนั้นพืช CAM จะมีสัดส่วนปริมาณคายน้ำต่อมวลแห้งของพืชต่ำ คือประมาณ $50\text{--}100 \text{ g H}_2\text{O g}^{-1} \text{ dry mass}$ ของพืช C3 มากกว่า $500 \text{ g H}_2\text{O g}^{-1} \text{ dry mass}$ ของพืช C4 มากกว่า $300 \text{ g H}_2\text{O g}^{-1} \text{ dry mass}$ (Mc Donald, 2003) หรือกล่าวได้ว่าพืช CAM มีประสิทธิภาพการใช้น้ำ (water use efficiency) สูงกว่าพืช C3 และ C4 อย่างน้อย 5 เท่า (Cushman, 2001)

เฟสของวิธีการสังเคราะห์แสงแบบ CAM

วิธีการสังเคราะห์แสงแบบ CAM สามารถพบเฟส (phase) ของการตรึง CO_2 ได้ 4 เฟส (Osmond, 1978) ดังภาพที่ 1



ภาพที่ 1 รูปแบบการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ในรอบ 24 ชั่วโมง แสดงช่วงเวลาการทำงานของ เอนไซม์ RuBisCO และ PEP carboxylase ในการตรึงการ CO_2 รวมถึงการสะสมมาลิกในแต่ละเฟส

ที่มา: Black and Osmond (2003)

1. รูปแบบการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์

1.1 เฟสที่ 1 การไหลเข้าของ CO_2 ในช่วงกลางคืน ในระยะนี้ CO_2 จากอากาศ และอาจรวมทั้ง CO_2 ที่ได้จากการหายใจของไมโทคอนเดรีย จะถูกตรึงใน stroma ในคลอโรพลาสต์โดยเอนไซม์ PEP carboxylase (PEPC) โดยมี PEP เป็นสารตั้งต้น และสร้างเป็นออกซาโลอะซิติก (Oxaloacetic, OAA) โดยที่ OAA จะถูกเปลี่ยนเป็นกรดมาลิก โดยเอนไซม์ malate dehydrogenase (MDH) และเคลื่อนย้ายจากไซโตซอลไปสะสมไว้ในแวคิวโอล แหล่งที่มาของ PEP substrate ที่ใช้ในการทำปฏิกิริยากับ CO_2 จะมาจากการสลายตัวของคาร์โบไฮเดรตต่างๆ ซึ่งจะ

สัมพันธ์กับการสร้างและสะสมกรดมาลิก (Mc Donald, 2003) ตัวอย่างพืช CAM ที่พบเฟส 1 เช่น *Opuntia ficus-indica* และ *Agave deserti*

1.2 เฟสที่ 2 การแลกเปลี่ยน CO_2 ในช่วงเวลาเริ่มมีแสง เป็นช่วงของการเปลี่ยนแปลงของการตรึง CO_2 จากบรรยากาศภายนอกในเวลากลางคืนไปเป็นการตรึง CO_2 ที่ได้จากการสลายตัวของกรดมาลิกซึ่งจะเกิดขึ้นในสภาพมีแสง ในเฟสที่ 2 นี้จะมีปฏิกิริยาต่างๆเกิดขึ้นพร้อมๆกัน 3 ปฏิกิริยา คือ 1) การตรึง CO_2 โดยเอนไซม์ PEPC ใน stroma ในคลอโรพลาสต์ (เหมือนในเฟสที่ 1) 2) การเคลื่อนย้ายกรดมาลิกออกจากแวคคิวโอลไปยังคลอโรพลาสต์ที่ stroma และสลายตัวให้ CO_2 และ 3) การตรึง CO_2 ใน stroma ที่ได้จากการสลายตัวของกรดมาลิกซึ่งอาจจะรวมกับ CO_2 ที่ได้จากบรรยากาศภายนอก โดยการทำงานของเอนไซม์ RuBisCO ซึ่งดำเนินขั้นตอนสร้างสารประกอบคาร์โบไฮเดรตใน Calvin cycle ช่วงเวลาในเฟสที่ 2 นี้มักเกิดในช่วงสั้นๆ ประมาณ 1 ชั่วโมง ปฏิกิริยาทั้งสามจะมีอัตราเร็วช้าต่างกัน และต่อเนื่องกันไปในทิศทางที่จะนำไปสู่เฟสที่ 3 ต่อไป ตัวอย่างพืช CAM ที่พบเฟส 2 เช่น *Agave deserti* และ *Dendrobium* บางชนิด

1.3 เฟสที่ 3 การแลกเปลี่ยน CO_2 ในช่วงการสลายตัวของกรดมาลิก การสังเคราะห์ด้วยแสงในระยะนี้ จะขึ้นอยู่กับปริมาณ CO_2 ที่ได้จากการสลายตัวของกรดมาลิกโดยเอนไซม์ malate dehydrogenase และใช้ CO_2 ที่ได้ไปในการสร้างสารประกอบคาร์โบไฮเดรตโดย RuBisCO ใน Calvin cycle ความเข้มข้นของ CO_2 ภายในช่องว่างใบ (C_i) ที่เพิ่มขึ้นนี้ จะส่งผลให้ปากใบปิดแคบลง (Hew and Yong, 1997) ช่วงเวลาส่วนใหญ่ของเฟสที่ 3 นี้ปากใบจะปิดแคบมากหรือมีค่านำไหลปากใบ (stomatal conductance) ต่ำมาก ตัวอย่างพืช CAM ที่พบเฟส 3 เช่น *Agave deserti*

1.4 เฟสที่ 4 การแลกเปลี่ยน CO_2 ในระยะท้ายของช่วงเวลาที่มียังมีแสง พืช CAM บางชนิดมีปากใบที่สามารถเริ่มเปิดในตอนบ่ายถึงเย็น ทำให้ CO_2 จากบรรยากาศภายนอกผ่านเข้าสู่ภายในใบและถูกนำไปสร้างสารประกอบคาร์โบไฮเดรตโดย RuBisCO ใน Calvin cycle ได้นอกจากนี้ PEPC จะเริ่มทำงานได้บ้างเนื่องจากมีความเข้มข้นของกรดมาลิกที่ต่ำลงแล้ว การไหลเวียนของ CO_2 ในเฟสนี้จะเกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาต่างๆ คล้ายกับในเฟสที่ 2 แต่มีส่วนแตกต่างกัน คือ ในเฟสที่ 2 PEP carboxylase จะค่อยๆลดอัตราเร็วของการทำงานลง และ RuBisCO จะเพิ่มบทบาทมากขึ้น แต่ในเฟสที่ 4 นั้น จะกลับกันคือ RuBisCO จะค่อยๆลดการทำงานลงและ PEPC เพิ่มอัตราเร็วในการทำงานสูงขึ้น ดังนั้นอัตราที่ CO_2 ถูกเปลี่ยนไปเป็นกรดมาลิกและเคลื่อนย้ายไป

เก็บไว้ในแวคิวโอลจะเร็วกว่าอัตราที่จะถูกนำไปสร้างสารประกอบคาร์โบไฮเดรต ตัวอย่างพืช CAM ที่พบเฟส 4 ได้แก่ *Agave deserti* (Drennan and Nobel, 2000)

2. การปรับรูปแบบเฟสการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ของพืชตามสภาพแวดล้อม

การศึกษากับพืช CAM หลายชนิด พบว่าบางชนิดไม่ผูกขาดกับวิธีการสังเคราะห์แสงแบบ CAM อย่างเดียว (facultative species) เนื่องจากมีการปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมเพื่อการอยู่รอด เช่น วงศ์ Aizoaceae, Crassulaceae และ Vitaceae เมื่อพืชพวกนี้ได้รับน้ำเพียงพอ จะใช้วิธีการสังเคราะห์แสงแบบ C3 จึงทำให้การเจริญเติบโตสูงมาก แต่เมื่อถูกจำกัดด้วยน้ำ จะปรับเข้าสู่วิถี CAM แทน (C3/CAM intermediate pathway) หรือกรณีที่พืชขาดน้ำมากขึ้น อาจเกิดการแลกเปลี่ยนแก๊สได้หลายรูปแบบ ได้แก่

2.1 ตรึง CO₂ ในตอนกลางวัน ซึ่งเป็น CO₂ ที่ได้จากกระบวนการหายใจที่เกิดขึ้นในตอนกลางคืน (CAM-cycling) เช่น *Umbilicus rupestris* และ *Clusia aripoensis*

2.2 ตรึง CO₂ ต่อเนื่องทั้งกลางวันและกลางคืน (C3/CAM) เช่น Aizoaceae, Crassulaceae และ Vitaceae

2.3 ตรึง CO₂ กลางคืน แต่เพิ่มการตรึงในเฟส 2 และ 4 (CAM)

2.4 ตรึง CO₂ กลางคืน และเพิ่มการตรึงในเฟส 2 (CAM)

2.5 ตรึง CO₂ กลางคืนเพียงอย่างเดียว (CAM)

2.6 ไม่มีการเปิดปากใบทั้งตอนกลางวันและกลางคืน ทำให้ไม่มีการตรึง CO₂ จากภายนอก แต่ใช้ CO₂ ที่ได้จากกระบวนการหายใจแทน (CAM-idling) เช่น *Peperomia obtusifolia* (Cushman and Borland, 2002)

การควบคุมวัฏจักร CAM (Regulation of CAM)

การควบคุมวิถี CAM ให้เกิดขึ้นและดำเนินต่อเนื่อง มีปัจจัยที่เกี่ยวข้อง ได้แก่

1. การทำงานของปากใบซึ่งถูกควบคุมโดยความเข้มข้นของ CO_2 ภายในช่องว่างใบ (Intercellular CO_2 concentration, C_i) คำนวณไหลปากใบเปลี่ยนแปลงตามระดับความเข้มข้นของ C_i โดยที่คำนวณไหลปากใบจะลดต่ำลงเมื่อค่า C_i สูง (เป็น CO_2 ที่ได้จากการสลายตัวของกรดมาลิกในตอนกลางวัน) และเมื่อ C_i ลดลง คำนวณไหลปากใบจะปรับเพิ่มขึ้น (Mc Donald, 2003)

2. การควบคุมเอนไซม์ PEP carboxylase (PEPC) ตามวิถีของ CAM นั้นเอนไซม์ PEPC จะถูกกระตุ้นให้ทำงานในตอนกลางคืนและไม่ถูกกระตุ้นให้ทำงานในตอนกลางวัน เอนไซม์ PEPC จะถูกควบคุมโดยปฏิกิริยาฟอสฟอรีเลชันหรือดีฟอสฟอรีเลชัน (phosphorylation/dephosphorylation) ของเอนไซม์ PEP carboxylase kinase (PEPcK) อีกทีหนึ่ง ซึ่งถือเป็นปัจจัยปฐมภูมิที่ควบคุมการทำงานของเอนไซม์ พบว่าสำหรับใบพืช C_4 แสงจะกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ PEPcK และกระตุ้นให้เกิดปฏิกิริยาฟอสฟอรีเลชัน (เติมหมู่ฟอสเฟต) ให้กับเอนไซม์ PEPC และทำงานในสภาพมีแสง แต่เมื่อหมดแสง เอนไซม์ PEPC จะเกิดปฏิกิริยาดีฟอสฟอรีเลชัน (ดึงหมู่ฟอสเฟตออก) ทำให้อยู่ในสภาพไม่ทำงาน องค์กรที่ดี การทำงานของเอนไซม์ PEPC ในพืช CAM ต้องถูกกระตุ้นโดยการส่งสัญญาณจากภายในซึ่งเรียกว่า circadian rhythms ซึ่งมีอิทธิพลมากกว่าสัญญาณจากภายนอก เช่น สภาพมีแสงหรือไม่มีแสง (Buchanan *et al.*, 2000)

3. การควบคุมโดยความเข้มข้นของกรดมาลิกในไซโตซอล เอนไซม์ PEP carboxylase จะถูกยับยั้งโดยกรดมาลิกที่ปล่อยออกมาจากแวคคิวโอลในตอนกลางวัน (feedback inhibition) แต่ในตอนกลางคืน เอนไซม์นี้จะไม่ถูกยับยั้งด้วยการสะสมมาลิกในแวคคิวโอล (Mc Donald, 2003)

4. การควบคุมโดยแสง แสงมีผลทางอ้อมกับพืช CAM หากเพิ่มความเข้มแสงในตอนกลางวัน จะทำให้มีการสลายกรดมาลิกได้เร็วขึ้น และทำให้ระดับความเข้มข้นของกรดมาลิกเหลือน้อยลง ทำให้การตรึง CO_2 ในช่วงมืดเป็นไปได้เร็วขึ้น (จินดารัฐ, 2541)

ปัจจัยทางสรีรวิทยาที่มีอิทธิพลต่อการสังเคราะห์แสง

1. การตอบสนองต่อแสง (Light response)

แม้ว่าพืช CAM จะตรึง CO_2 ในเวลากลางคืนเป็นส่วนใหญ่ แต่สามารถตรึง CO_2 ได้ในช่วงมีแสงหรือเฟสที่ 2 ขณะที่ปริมาณแสงยังต่ำอยู่ ทำให้สามารถวัดอัตราแลกเปลี่ยนแก๊สเพื่อศึกษาเส้นตอบสนองต่อแสงในช่วงนี้ได้ เนื่องจากเป็นช่วงที่ปากใบยังเปิด ดวงพร (2545) ได้ศึกษาเส้นตอบสนองต่อแสงของใบกล้วยไม้สกุลหวายตัดดอกพันธุ์การค้า 6 สายพันธุ์ มีจุดชดเชยแสง (I_c) ตั้งแต่ $2-12 \mu\text{molPPF m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ โดยที่อัตราสังเคราะห์แสงสุทธิเพิ่มอย่างรวดเร็ว ในช่วงความเข้มแสงตั้งแต่ $25-150 \mu\text{molPPF m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ และค่าความเข้มแสงอิ่มตัว (I_s) อยู่ที่ประมาณ $100-200 \mu\text{molPPF m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ เมื่อเทียบกับ พืช C3 และ C4 จะมีค่า I_s สูงกว่ามาก คืออยู่ในช่วง $600-1200 \mu\text{molPPF m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ หากใบพืชได้รับความเข้มแสงเกินกว่าจุด I_s เป็นเวลานานจะทำให้อุณหภูมิใบสูงขึ้น ทำให้โปรตีนหรือเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสังเคราะห์แสงเสื่อมประสิทธิภาพการทำงานได้ (Mc Donald, 2003) พืชชนิดต่างๆ จะได้พารามิเตอร์ของเส้นตอบสนองต่อแสงต่างกัน แม้แต่พืชชนิดเดียวกันอาจได้ค่าพารามิเตอร์ไม่เท่ากัน เนื่องจากมีปัจจัยอื่นมาเกี่ยวข้อง เช่น อายุใบ และประวัติดสภาพการได้รับแสง เป็นต้น

2. จุดชดเชยคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2 compensation point)

เมื่อปัจจัยแสงคงที่ และให้แปรผันระดับความเข้มข้นของ CO_2 ในบรรยากาศ จะพบว่า พืชทุกชนิดมีอัตราสังเคราะห์แสงสุทธิสูงขึ้น ความเข้มข้นต่ำสุดของ CO_2 ภายในช่องว่างใบ (C_i) ที่ทำให้อัตราสังเคราะห์แสงรวมเท่ากับอัตราหายใจหรือทำให้อัตราสังเคราะห์แสงสุทธิเป็นศูนย์ เรียกว่าจุดชดเชยคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2 compensation point, Γ) พืช C3 มีค่า Γ ประมาณ $35-100 \mu\text{mol mol}^{-1}$ ขณะที่พืช C4 มีค่าเข้าใกล้ศูนย์ (Buchanan *et al.*, 2000) แสดงให้เห็นความสามารถของพืช C4 ในการตรึง CO_2 เพื่อสังเคราะห์แสงในสภาพที่มีความเข้มข้นของ CO_2 ต่ำ กล้วยไม้บางชนิดมีค่า Γ อยู่ในช่วง $48-58 \mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$ ซึ่งตรงกับพืช C3 ทั่วไปคือ $30-100 \mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$ และกล้วยไม้แบบ CAM มีค่า Γ ในช่วงมีดเท่ากับ $0-5 \mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$ และ ในช่วงมีแสงเท่ากับ $0-200 \mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$ (Hew and Yong, 2004) สำหรับค่า Γ ของกล้วยไม้สกุลหวายที่ดวงพรได้ศึกษาไว้ในเวลา 19-21 น. มีค่าตั้งแต่ $75-450 \mu\text{mol mol}^{-1}$ หากพืชอยู่ในสภาพที่ความเข้มข้นของ CO_2 ต่ำกว่า

ค่า Γ พืชจะนำอาหารที่เก็บสะสมไว้มาสลายหรือหายใจเพื่อให้ได้พลังงาน เมื่ออาหารสะสมหมด พืชก็จะตาย ดังนั้นการเพิ่มความเข้มข้นของ CO_2 ในบรรยากาศให้กับพืช C_3 ในหลายงานทดลอง เป็นการเพิ่มสัดส่วนของ CO_2 ต่อ O_2 ทำให้เอนไซม์ RuBisCO ในส่วน carboxylase subunit กัดการทำงานของ oxygenase subunit เป็นการลดอัตราหายใจในแสง (Photorespiration) และทำให้มวลชีวภาพเพิ่มขึ้น Gouk *et al.* (1999) ได้ศึกษาผลของการเพิ่มความเข้มข้นของ CO_2 ให้กับต้นกล้วยไม้สกุลหวาย เป็นเวลา 3 เดือน พบว่า มวลแห้งและอัตราส่วนของรากต่อยอดสูงกว่าต้นที่ได้รับความเข้มข้นของ CO_2 ในบรรยากาศปกติ

3. ประสิทธิภาพการใช้แสงของระบบรับแสง Photosystem II (PSII)

การวัดประสิทธิภาพการใช้แสงของระบบรับแสง PSII โดยวัดรังสีฟลูออเรสเซนส์ นิยมศึกษากับพืชที่ได้รับสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม เช่น ขาดน้ำ ความเข้มแสงสูง หรือได้รับสารกำจัดวัชพืช เป็นต้น การวัดจะให้ค่าพารามิเตอร์ F_v/F_m หรือค่า Φ_{dark} ซึ่งเป็นตัวบอกได้ว่าระบบแสง (PSII) ได้รับความเสียหายหรือไม่ เช่น การศึกษาการให้แสงแก่ *Cattleya forbesii* (Stancato *et al.*, 2002) พบว่ากล้วยไม้ที่เคยได้รับความเข้มแสงต่ำแล้วเปลี่ยนเป็นให้ความเข้มแสงแดด 100% จะทำให้ค่า Φ_{dark} ลดลงจาก 0.8 เป็น 0.7 เนื่องจากเกิด photoinhibition หรือการได้รับสภาพแสงต่างกันของกล้วยไม้สกุลหวาย ทำให้ค่า Φ_{dark} ของใบและดอกที่ได้รับแสงเต็มที่มียค่าลดลงต่อเนื่อง แต่ต้นที่ได้รับแสงปานกลางและต้นที่อยู่ในร่ม จะมีค่า Φ_{dark} สูงคงที่ (He *et al.*, 1998) นอกจากนี้ การเพิ่มความเข้มข้นของ CO_2 ในบรรยากาศ มีผลทำให้ค่า Φ_{dark} สูงขึ้นเมื่อเทียบกับการได้รับความเข้มข้น CO_2 ในบรรยากาศปกติ (Gouk *et al.*, 1999)

4. อายุใบและตำแหน่งใบ

กล้วยไม้ที่อายุ 1-4 ปี พบว่าใบของกล้วยไม้มีความสามารถตรึง CO_2 ได้ในระดับสูง แต่เมื่ออายุมากกว่า 4 ปีแล้ว ความสามารถในการตรึง CO_2 จะลดลงตามอายุที่เพิ่มขึ้น จากการศึกษาการตรึง CO_2 ในใบกล้วยไม้ของดวงพร (2545) ภายในกอเดียวกัน พบว่า ลำหน้าหรือลำลูกกล้วยที่เกิดหลังสุดจะมีอัตราการสังเคราะห์แสงสุทธิสูงกว่าลำหลังซึ่งเกิดก่อนตามลำดับ เนื่องจากลำหน้าจำเป็นต้องมีการสร้างอาหารเพื่อเลี้ยงช่อดอก นอกจากนี้ ในแต่ละลำลูกกล้วย พบว่า ตำแหน่งใบที่ 1 และ 2 จะเป็นใบที่มีอัตราการสังเคราะห์แสงสูงสุด Arditti (1992) ได้อธิบายว่า ใบที่ใกล้ตาดอกจะมีการสะสมกรดมากกว่าใบที่ไกลตาดอก และใบที่ใกล้ตาดอกที่ยังเป็นตุ่มจะสะสมกรดมากกว่าใบที่

ใกล้ตาดอกที่เป็ดออกแล้ว นอกจากนี้ Hew and Yong (1997) กล่าวว่า ใบที่ขยายขนาดเต็มที่แล้ว จะตรึง CO₂ และสะสมกรดมาลิกได้มากกว่าใบอ่อน เนื่องจากใบอ่อนยังมีการหายใจและใช้พลังงานอยู่มาก ซึ่งพบว่ามีความเกี่ยวข้องกับความเป็น CAM activity ของใบ คือใบที่อายุมากกว่าจะมีความเป็น CAM กว่าใบอ่อนโดยพิจารณาจากการสะสมกรดที่สูงกว่าใบอ่อน

อัตราแลกเปลี่ยนแก๊สและค่านาไหลปากใบที่ตอบสนองต่อปัจจัยสภาพอากาศ

Martin and Siedow (1981) ได้ศึกษาการตอบสนองของอัตราแลกเปลี่ยนแก๊สต่อความชื้นสัมพัทธ์และอุณหภูมิของ Spanish moss (*Tillandsia usneoides* L.) ซึ่งเป็นพืช CAM ชนิดหนึ่ง พบว่า การให้ความชื้นสัมพัทธ์สูง (90-95%) ในตอนกลางคืน จะทำให้อัตราการตรึง CO₂ เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับการให้ความชื้นสัมพัทธ์ต่ำ (50%) อย่างเห็นได้ชัด และการให้ความชื้นสัมพัทธ์สูงในตอนกลางวัน ไม่มีผลให้มีการตรึง CO₂ มากขึ้น คือ พืชยังคงหายใจตอนกลางวันเช่นเดียวกับการได้รับความชื้นสัมพัทธ์ต่ำ และหากให้ความชื้นสัมพัทธ์สูงคงที่ตลอด 24 ชั่วโมง จะเป็นผลให้พืชตรึง CO₂ ในตอนกลางคืนได้ต่ำกว่า เมื่อเทียบกับการได้รับความชื้นสัมพัทธ์ต่ำในตอนกลางวัน และความชื้นสัมพัทธ์สูงในตอนกลางคืน นอกจากนี้ พบว่า อุณหภูมิมีผลต่ออัตราการตรึง CO₂ ในตอนกลางคืน คือ หากอุณหภูมิต่ำกว่า 20 เซลเซียส จะทำให้อัตราการตรึง CO₂ ลดลง การศึกษาการตอบสนองต่อความชื้นสัมพัทธ์และอุณหภูมิของพืช CAM หลายชนิดให้ผลในลักษณะเดียวกัน ยกเว้น ในพืชทะเลทรายอย่าง *Agave deserti* (Herppich, 1997 in Nobel and Hartsock, 1979) พบว่าความชื้นสัมพัทธ์ไม่มีผลควบคุมการเปิดปิดปากใบ

การศึกษาอัตราแลกเปลี่ยนแก๊สมุ่งเน้นถึงการตอบสนองของปากใบต่อความชื้นสัมพัทธ์เพื่อจะใช้อธิบายค่านาไหลปากใบมีผลต่อการตรึง CO₂ ในใบที่เพิ่มขึ้นหรือลดลงหรือไม่ เช่น การศึกษาของ Herppich (1997) ใน *Plectranthus marrubioides* Benth (วงศ์ Lamiaceae) ซึ่งเป็นพืช CAM ที่เจริญอยู่ในทะเลทราย Namib และ Trinidad โดยศึกษาเปรียบเทียบผลอัตราแลกเปลี่ยนแก๊สค่านาไหลปากใบ ความเข้มข้นของ CO₂ ในใบ และการสะสมกรดมาลิก ในเวลากลางคืน เมื่อให้ความชื้นสัมพัทธ์สูง (90%) และต่ำ (40%) คงที่ในเวลากลางคืน พบว่า ที่ความชื้นสัมพัทธ์ 90% มีค่านาไหลปากใบสูงกว่าที่ได้รับความชื้นสัมพัทธ์ 40% อย่างชัดเจน แต่การอัตราการตรึง CO₂ ไม่แตกต่างกัน อัตราคายน้ำที่ความชื้นสัมพัทธ์ 90% มีค่าต่ำกว่า เป็นผลให้ประสิทธิภาพการใช้น้ำสูงกว่าที่ความชื้นสัมพัทธ์ 40% นอกจากนี้ ผลการตอบสนองต่ออุณหภูมิ พบว่า หากพืชได้รับอุณหภูมิสูงในตอนกลางคืน จะทำให้อัตราการตรึง CO₂ และการสะสมกรดมาลิกลดลง และมีโอกาสเกิดการ

หมุนเวียน CO_2 ที่ได้จากการหายใจมาใช้ (recycling) สูงกว่า ซึ่ง Herrpich สรุปว่า ความชื้นสัมพัทธ์ไม่ใช่ปัจจัยจำกัดในการตรึง CO_2 ในสถานะที่พืชได้รับน้ำปกติ เพราะแม้ว่าปากใบจะเปิดมากกว่า แต่ก็ไม่ได้ทำให้การนำเข้า CO_2 เพื่อสร้างกรดมาลิกเพิ่มขึ้น ในขณะที่อุณหภูมิเป็นปัจจัยมีผลต่อการตรึง CO_2 และการสะสมกรดมาลิกมากกว่า อย่างไรก็ตาม หากค่าน้ำไหลปากใบลดลงจะเป็นปัจจัยจำกัดการนำเข้า CO_2 เช่นกัน เมื่อเปรียบเทียบการศึกษาในส้มเขียวหวาน (สุนทรและคณะ, 2544) ซึ่งเป็นพืช C3 ที่เปิดปากใบและตรึง CO_2 ตอนกลางวัน พบว่าใบส้มเขียวหวานจะปิดปากใบเมื่อมีค่าแรงดึงระเหยน้ำมากกว่า 2.5 kPa เพื่อลดการเสียน้ำ แม้ว่าสภาพบรรยากาศขณะนั้นจะยังมีความแตกต่างของความดันไอน้ำระหว่างภายในใบกับบรรยากาศ ในกรณีนี้ถือว่าปากใบเป็นปัจจัยควบคุมอัตราแลกเปลี่ยนแก๊สโดยตรง

หลักการวัดอัตราแลกเปลี่ยนแก๊สในใบ

การวัดอัตราแลกเปลี่ยนแก๊สในใบ ได้แก่อัตราสังเคราะห์แสงสุทธิและอัตราคายน้ำ สามารถใช้เครื่องมือวัดอัตราแลกเปลี่ยนแก๊สระบบเปิด (รุ่น LI6400 ของบริษัท LICOR ประเทศสหรัฐอเมริกา) ซึ่งสามารถควบคุมปัจจัยสภาพอากาศที่สัมผัสใบได้ คือมีกล่องบรรจุใบ (leaf chamber) ซึ่งมีแหล่งให้แสงที่ปรับความเข้มแสงได้ มีอุปกรณ์ปรับความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ที่ไหลผ่านยังภาชนะบรรจุใบได้ รวมทั้งสามารถควบคุมอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศที่ผ่านใบได้ในระดับหนึ่ง (LICOR, 2002)

1. อัตราสังเคราะห์แสงสุทธิ

อัตราสังเคราะห์แสงสุทธิ (A) เป็นค่าผลต่างระหว่างอัตราสังเคราะห์แสงรวม (P_g) กับ อัตราหายใจในความมืด (R_d) กล่าวคือ

$$A = P_g - R_d \quad (1.1)$$

โดยที่อัตราสังเคราะห์แสงสุทธิเป็นผลคูณของค่านำไหลกับแรงขับเคลื่อน ซึ่งในกรณีนี้ แรงขับเคลื่อนคือความแตกต่างระหว่างความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ในบรรยากาศ (C_a) กับ ความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ภายในช่องว่างใบ (C_i) ส่วนค่านำไหลสะท้อนการแพร่ของแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์จากอากาศเข้าสู่ช่องว่างภายในใบ ดังสมการ

$$A = g_t^{CO_2} (C_a - C_i) \quad (1.2)$$

เมื่อ A = อัตราสังเคราะห์แสงสุทธิ (net photosynthesis rate, $\mu\text{molCO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)
 $g_t^{CO_2}$ = ค่านำไหลรวมของแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ (total conductance to CO_2 , $\text{molCO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)
 C_a = ความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ในบรรยากาศ (Air CO_2 concentration, $\mu\text{molCO}_2 \text{ mol}^{-1}$)

C_i = ความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ภายในช่องว่างใบ, (intercellular CO_2 concentration, $\mu\text{molCO}_2 \text{ mol}^{-1}$) แรงขับเคลื่อน

CO_2 ภายในช่องว่างใบจะแพร่ต่อไปในคลอโรพลาสต์ แรงขับเคลื่อนในกรณีนี้คือความแตกต่างระหว่างความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ภายในช่องว่างใบ (C_i) กับความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ภายในคลอโรพลาสต์ และคำนวณหาผลสะท้อนการแพร่ของคาร์บอนไดออกไซด์จากช่องว่างภายในใบไปจนถึงจุดที่ถูกตรึงในคลอโรพลาสต์ อัตราสังเคราะห์แสงสุทธิจึงเขียนได้อีกูปหนึ่งว่า

$$A = g_m (C_i - \Gamma) \quad (2)$$

เมื่อ g_m = คำนวณหาผลของ CO_2 ผ่านเมสโซฟิลล์ (mesophyll conductance, $\text{molCO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)

Γ = จุดชดเชยคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2 compensation point, $\mu\text{molCO}_2 \text{ mol}^{-1}$) หรือความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ภายในคลอโรพลาสต์

ค่า g_m เป็นความชัน (dA/dC_i) ของสมการที่ 2 เรียกคำนวณหาผลของ CO_2 ผ่านเมสโซฟิลล์ อีกชื่อหนึ่งว่า ประสิทธิภาพของกระบวนการตรึง CO_2 (carboxylation efficiency) โดยเอนไซม์ RuBisCO ซึ่งบอกถึงอัตราเร็วในการแพร่ของ CO_2 จากช่องว่างภายในใบผ่านผนังเซลล์ของเมสโซฟิลล์ จนถึงสโตรมาในคลอโรพลาสต์ ที่ CO_2 ถูกเปลี่ยนรูปเป็นสารประกอบ 3-phosphoglycerate (3-PGA) ซึ่งรักษาให้ความเข้มข้นของ CO_2 ที่ปลายทางต่ำกว่าต้นทาง (สุนทร และคณะ, 2543ก) ค่าความเข้มข้น CO_2 ภายในช่องว่างใบ (C_i) ต่ำสุดที่ทำให้อัตราสังเคราะห์แสงรวมเท่ากับอัตราหายใจหรือทำให้อัตราสังเคราะห์แสงสุทธิเป็นศูนย์ ($A=0$) จะให้จุดชดเชยคาร์บอนไดออกไซด์

2. เส้นตอบสนองต่อแสง

เมื่อควบคุมให้ใบได้รับความเข้มข้นของ CO_2 อุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศคงที่ และแปรผันค่าความเข้มแสงที่ใบได้รับ จะได้ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราสังเคราะห์แสงสุทธิ (A) กับความเข้มแสงที่ใบได้รับ (I) ซึ่งเรียกว่าเส้นตอบสนองต่อแสง สมการที่ใช้เข้ารูปเส้น

ตอบสนองต่อแสงได้ดี เป็นสมการแบบ Non-rectangular hyperbola (Thornley and Johnson, 1990)
 ดังสมการ

$$A = \frac{1}{2\theta} \left[\alpha I + P_m - \sqrt{(\alpha I + P_m)^2 - 4\alpha I \theta P_m} \right] - R_d \quad (3)$$

- เมื่อ α = ประสิทธิภาพการใช้แสง (photoefficiency, $\text{molCO}_2 \text{ PPF mol}^{-1}$) คือ จำนวนโมล CO_2 ที่ตรึงได้ต่อหนึ่งโมลของแสง
- I = ค่าความเข้มแสงที่พืชได้รับในการสังเคราะห์แสง (photosynthetic photon flux, $\mu\text{molPPF m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)
- P_m = อัตราสังเคราะห์แสงรวมสูงสุด (maximum gross photosynthesis rate, $\mu\text{molCO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)
- R_d = อัตราหายใจในความมืด, (dark respiration rate, $\mu\text{molCO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)
- θ = ค่าควบคุมความโค้งของเส้นกราฟ (curvature factor) ($0 \leq \theta \leq 1$) เมื่อ

$$\theta = \frac{g_m^{CO_2}}{g_m^{CO_2} + g_d} \quad (4)$$

- เมื่อ $g_m^{CO_2}$ = ค่านำไหลของ CO_2 ผ่านเมสโซฟิลล์ (mesophyll conductance, $\mu\text{molCO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)
- g_d = ค่านำไหลรวมสำหรับการแพร่ของ CO_2 ในอากาศผ่านชั้นบางติดผิวใบ และปากใบจนถึงผนังของเมสโซฟิลล์ (CO_2 diffusion conductance, $\mu\text{molCO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)

เมื่อนำสมการที่ 3 มาหาโดยวิธี nonlinear least-square จะได้พารามิเตอร์ 2 ค่าคือ

1. ค่าความเข้มแสงที่ทำให้เกิดอัตราสังเคราะห์แสงรวมเท่ากับอัตราหายใจ หรือ อัตราสังเคราะห์แสงสุทธิเป็นศูนย์ เรียกว่า จุดชดเชยแสง (light compensation point, I_c , $\mu\text{molPPF m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)
2. ค่าความเข้มแสงที่ทำให้เริ่มเกิดอัตราสังเคราะห์แสงสุทธิสูงสุดและคงที่หรือ ความเข้มแสงอิ่มตัว (light saturation point, I_s , $\mu\text{molPPF m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)

3. อัตราคายน้ำและค่าน้ำไหลรวมของปากใบ

อัตราคายน้ำเป็นผลคูณของค่าน้ำไหลของไอน้ำกับแรงขับเคลื่อน ในกรณีของการคายน้ำแรงขับเคลื่อนคือ ความแตกต่างของความดันไอน้ำระหว่างภายในใบกับอากาศ

$$E = g_t^w \left(\frac{e_l - e_a}{P} \right)$$

$$\text{หรือ} \quad E = g_t^w \left(\frac{VPD_{leaf-air}}{P} \right) \quad (5)$$

เมื่อ E = อัตราคายน้ำ (transpiration rate, $\text{mmolH}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$)
 e_l = ความดันไอน้ำภายในใบ (leaf vapor pressure, kPa)
 e_a = ความดันไอน้ำในอากาศ (air vapor pressure, kPa)
 $VPD_{leaf-air}$ = แรงดึงคายน้ำจากใบสู่อากาศ (leaf to air vapor pressure deficit, kPa)
 $= e_l - e_a$
 P = ความดันบรรยากาศมีค่าประมาณ 100 kPa
 g_t^w = ค่าน้ำไหลรวมของไอน้ำจากภายในใบสู่อากาศ (total conductance to water vapor, $\text{mmolH}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$)

โดยที่ค่าน้ำไหลรวมของทั้ง CO_2 ($g_t^{CO_2}$) และน้ำ (g_t^w) เป็นผลรวมของค่าน้ำไหลปากใบ (stomatal conductance, g_s) และค่าน้ำไหลของชั้นบางติดใบ (boundary conductance, g_b) มีรูปสมการว่า

$$\frac{1}{g_t} = \frac{1}{g_s} + \frac{1}{g_b}$$

$$\text{หรือ} \quad g_t = \frac{g_s g_b}{g_s + g_b} \quad (6)$$

หลักการวัดประสิทธิภาพการใช้แสงของระบบรับแสง Photosystem II (PSII quantum yield)

คลอโรฟิลล์ในใบพืชเป็นรงควัตถุที่อยู่ในคลอโรพลาสต์ สามารถดูดกลืนแสงได้ทั้งแสงสีแดง (640-700 nm) และแสงสีน้ำเงิน (400-450 nm) พลังงานแสงจะกระตุ้นอิเล็กตรอนในคลอโรฟิลล์ให้ขึ้นไปอยู่ในสถานะเร้า (1^{st} excited state) และแสงสีน้ำเงินสามารถทำให้อิเล็กตรอนขึ้นไปอยู่ที่ 2^{nd} excited state เนื่องจากแสงสีน้ำเงินมีพลังงานมากกว่าแสงสีแดง (Taiz and Zeiger, 2002)

การกลับเข้าสู่สถานะพื้นของอิเล็กตรอนของคลอโรฟิลล์ (De-excitation) จะปลดปล่อยพลังงานออกมาได้ 3 ทาง ได้แก่

1. พลังงานที่ใช้ในกระบวนการสังเคราะห์แสง (Photosynthetic photochemistry, P) คือพลังงานที่ใช้กระตุ้นให้เกิดการถ่ายทอดอิเล็กตรอนที่รับจากการแตกตัวของน้ำจากศูนย์กลางปฏิกิริยา (reaction centers, RC) ของ photosystem II (PSII) นั่นคือ พลังงานแสงถูกเปลี่ยนไปเป็นพลังงานเคมี โดยถ่ายทอดอิเล็กตรอนผ่าน PS II ไปยัง cytochrome b_6f และ plastocyanin และต่อไปยัง photosystem I (PSI) โดยมี NADP^+ เป็นตัวสุดท้ายที่รับอิเล็กตรอน ทำให้ได้สาร NADPH (reducing agent) และเกิด proton gradient ขึ้นระหว่าง stroma กับ thylakoid membrane space ทำให้มีการผลิต ATP (energy compound) ขึ้น
2. พลังงานในรูปความร้อน (Thermal dissipation as heat, H) การคายพลังงานในรูปความร้อน ไม่มีประโยชน์ต่อการสังเคราะห์แสง
3. พลังงานที่ถ่ายเทในรูปแสงที่เรียกว่า คลอโรฟิลล์ ฟลูออเรสเซนส์ (chlorophyll fluorescence, F) อยู่ในช่วงความยาวคลื่น 690-730 nm ซึ่งเป็นแสงสีแดงที่มีช่วงคลื่นยาวกว่าโดยมีพลังงานต่ำกว่าช่วงคลื่นที่คลอโรฟิลล์ดูดกลืน โดยปกติ รังสีฟลูออเรสเซนส์ที่ปลดปล่อยจะไม่เกินร้อยละ 3 ของแสงทั้งหมดที่ส่องผ่านใบและเกิดที่ RC ของ PSII (RC II) เกือบทั้งหมด

การกลับเข้าสู่สถานะพื้นของอิเล็กตรอนในรูปของพลังงานที่นำไปใช้ในกระบวนการสังเคราะห์แสงและพลังงานความร้อนนั้นกล่าวได้ว่า จะเกิดขึ้นแข่งขันกับการเกิดในรูปฟลูออเรสเซนส์

เซนส์ (Rosenqvist and Kooten, 2003) หากคิดเป็นสัดส่วนของพลังงานที่ถ่ายทอดจากการได้รับแสงของใบพืช จะได้ความสัมพันธ์ดังนี้

$$P + H + F = 1 \quad (7)$$

หากใบอยู่ในสภาพมืดนานระยะหนึ่งและไม่มีการเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนสารรับอิเล็กตรอน (quinone acceptor) ที่ต่อกับ RCII จะอยู่ในสภาพเปิดรับอิเล็กตรอนเต็มที่ (fully oxidized state) หรือกล่าวว่า RCII อยู่ในสภาพเปิด เมื่อมีการให้ความเข้มแสงต่ำที่ไม่มีพลังงานสูงมากพอที่จะทำให้เกิดการแยกอิเล็กตรอน (modulated measuring light) PSII จะถ่ายทอดพลังงานส่วนนี้ในรูปรังสีฟลูออเรสเซนส์ ค่าที่วัดได้จะเรียกว่า F_0 และเมื่อให้ความเข้มแสงสูงมาก (saturation flash มากกว่า $4000 \mu\text{molPPF m}^{-2} \text{s}^{-1}$) ประมาณ 0.5 ถึง 1 วินาที จะทำให้มีการปลดปล่อยอิเล็กตรอนเข้าสู่ระบบขนย้ายอิเล็กตรอน ทำให้กลุ่ม quinone acceptor อยู่ในสภาพรีดิวซ์เต็มที่ (fully reduced state) คือมีอิเล็กตรอนเต็มระบบหรือกล่าวว่า RCII อยู่ในสภาพปิด (Rosenqvist and Kooten, 2003) หากใบยังได้รับแสงอยู่ พลังงานแสงจะกลายเป็นพลังงานส่วนเกินที่ไม่สามารถใช้แยกอิเล็กตรอนได้อีก ทำให้ใบพืชต้องถ่ายทอดพลังงานในรูปรังสีฟลูออเรสเซนส์สูงสุด (F_m) ออกมา ผลต่างระหว่าง F_m กับ F_0 จะสะท้อนถึงประสิทธิภาพการใช้แสงสูงสุดที่พืชนำไปใช้ในกระบวนการสังเคราะห์แสง (maximum quantum efficiency of PSII, Φ_{dark}) คำนวณดังนี้

$$\Phi_{dark} = \frac{F_m - F_0}{F_m} \quad \text{หรือ} \quad \frac{F_v}{F_m} \quad (8)$$

เมื่อ Φ_{dark} = ประสิทธิภาพการใช้แสงสูงสุดในกระบวนการสังเคราะห์แสง (maximum quantum efficiency of PSII) เป็นสัดส่วนของปริมาณโฟตอนที่นำไปใช้ในกระบวนการ photochemistry เทียบกับปริมาณโฟตอนแสงทั้งหมดที่พืชดูดกลืนไว้

F_0 = ค่าฟลูออเรสเซนส์ต่ำสุดที่เกิดขึ้นขณะที่ใบพืชอยู่ในสภาพมืดเมื่อให้ความเข้มแสงต่ำ (minimum fluorescence yield)

F_m = ค่าฟลูออเรสเซนส์สูงสุดที่วัดได้ขณะที่ใบพืชอยู่ในสภาพมืดเมื่อให้ความเข้มแสงสูงเต็มที่ (maximum total fluorescence yield)

โดยปกติพืชที่ไม่ได้รับสภาพเครียด จะให้ค่า Φ_{dark} สูงสุดอยู่ในช่วง 0.8 - 0.83 หากมีค่าต่ำกว่านี้แสดงว่ามีความเสียหายเกิดขึ้นกับ PSII (Bjorkman and Demmig, 1987)

กรณีที่ใบพืชอยู่ในสภาพได้รับแสง สามารถวัดค่าประสิทธิภาพการใช้แสงของ PSII ในสภาพมีแสง (Φ_{PSII}) โดยการวัดค่ารังสีฟลูออเรสเซนส์ขณะที่ใบได้รับแสง ซึ่งเรียกค่า F_s และเมื่อให้ความเข้มแสงสูงมาก (saturation flash เช่นเดียวกับการวัด Φ_{dark}) ใบพืชจะถ่ายเทพลังงานในรูปแบบรังสีฟลูออเรสเซนส์สูงสุดเรียกว่าค่า F_m' ค่า F_m' กับ F_s จะทำให้ได้ค่า Φ_{PSII} ซึ่งเป็นค่าที่สะท้อนประสิทธิภาพการเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนผ่าน PSII เพื่อใช้ในกระบวนการสังเคราะห์แสง จำนวนดังนี้

$$\Phi_{PSII} = \frac{F_m' - F_s}{F_m'} \quad \text{หรือ}$$

$$\Phi_{PSII} = \frac{\Delta F}{F_m'} \quad (9)$$

เมื่อ Φ_{PSII} = ประสิทธิภาพการใช้แสงของ PSII ในสภาพมีแสง (light quantum yield of PSII, $\mu\text{molE } \mu\text{molPPF}^{-1}$)
 F_s = ค่าฟลูออเรสเซนส์ที่วัดได้ขณะที่ใบพืชได้รับแสง (steady-state fluorescence)
 F_m' = ค่าฟลูออเรสเซนส์สูงสุดที่วัดได้ขณะที่ใบพืชได้รับแสง (maximum fluorescence in luminated leaves)

การที่ใบได้รับแสงอยู่ก่อนแล้วจะทำให้ quinone acceptor ส่วนหนึ่งอยู่ในสภาพรีดิวซ์คือเปิดรับอิเล็กตรอนไปแล้ว และส่วนหนึ่งอยู่ในสภาพออกซิไดซ์ ก็ยังสามารถเปิดรับอิเล็กตรอนได้อีก จึงทำให้ค่า Φ_{PSII} มีค่าต่ำกว่าค่า Φ_{dark}

ค่า Φ_{PSII} ใช้คำนวณอัตราการเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนใน PSII (electron transport rate, ETR, $\mu\text{molE m}^{-2} \text{s}^{-1}$) ได้ดังนี้

$$\text{ETR} = \Phi_{PSII} \times I \times f \times \alpha_{leaf} \quad (10)$$

- เมื่อ I = ความเข้มแสง, $\mu\text{molPPF m}^{-2} \text{ s}^{-1}$
- f = สัดส่วนของแสงที่ถูกดูดกลืนโดย PSII เทียบกับ PSI (approximate fraction of absorbed light directed to PSII พืช C3 เท่ากับ 0.5 และ C4 เท่ากับ 0.4) (LI-COR, 2002)
- α_{leaf} = สัดส่วนของแสงที่ส่องถูกใบแล้วถูกดูดกลืนโดยใบ (fraction of incident light absorbed by leaf มีค่าเท่ากับ 0.85) (LI-COR, 2002)

หลังจากการให้ความเข้มแสงสูงมากกับใบพืชจนทำให้ RCII ปิดหมดชั่วขณะและเกิดรังสีฟลูออเรสเซนส์สูงสุดแล้วนั้น ในเวลาต่อมาเมื่อ RCII ส่งถ่ายอิเล็กตรอนไปแล้วและอยู่ในสภาพที่เปิดรับอิเล็กตรอนได้อีก จะทำให้รังสีฟลูออเรสเซนส์ลดระดับลง ซึ่งเป็นการลดระดับของรังสีฟลูออเรสเซนส์โดยกระบวนการสังเคราะห์แสง (photochemistry) จะเรียกว่า photochemical quenching (qP) ซึ่งบอกถึงสัดส่วนของ quinine pool ที่ยังเปิดรับอิเล็กตรอนได้หลังจากส่งต่อไป ค่า qP คำนวณได้จาก

$$qP = \frac{\Phi_{PSII}}{\Phi_{\text{dark}}} \quad (11)$$

ส่วนการลดระดับของรังสีฟลูออเรสเซนส์โดยวิธีอื่นเรียกว่า non-photochemical quenching, NPQ ซึ่งส่วนใหญ่เป็นการระบายพลังงานแสงส่วนเกินในรูปความร้อน คำนวณได้จาก

$$NPQ = \frac{F_m - F_m'}{F_m'} \quad (12)$$

อุปกรณ์และวิธีการ

การศึกษานี้แบ่งเป็น 3 ส่วนใหญ่ๆ คือ 1. ศักยภาพของใบด้านการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ 2. อัตราแลกเปลี่ยนแก๊สและระบบใช้แสง (PS II) ในรอบวัน (24 ชั่วโมง) และ 3. การเปลี่ยนแปลงของค่า pH และความเข้มข้นตัวถูกละลายของสารละลายที่คั่นจากใบที่สะท้อนการเปลี่ยนแปลงของปริมาณกรดรวมในใบในรอบวัน (24 ชั่วโมง)

กล้วยไม้ที่ศึกษาเป็นกล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมพันธุ์การค้า *Dendrobium* 'Sonia BOM JO' ที่นิยมปลูกเพื่อตัดดอก ต้นมีอายุ 2 ปี และมีลำหน้ำ (ลำอายุน้อยที่สุดซึ่งแทงออกหลังสุด) ที่กำลังออกดอก ปลูกบนกาบมะพร้าว คัดเลือกต้นที่แข็งแรงสมบูรณ์และปลอดโรค และดูแลอยู่ในโรงเรือนขนาด 6x9 เมตร กลุ่มด้วยซาแรนสีดำโดยรอบตลอดระยะเวลาการทดลอง

1. การตอบสนองต่อแสงและความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์

การศึกษากการตอบสนองต่อแสงและต่อความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ โดยเปรียบเทียบกันระหว่างตำแหน่งใบ ได้แก่ ลำดับใบที่ 1, 2, 3 และ 4 นับจากยอดของลำหน้ำ (ลำอายุน้อยที่สุด/ลำที่แทงออกหลังสุด) ที่มีช่อดอกที่เจริญจนสุดลำ (ลำดับใบตามภาคผนวกที่ 1) จำนวน 3 ลำ (3 ช้ำ) ช่วงเวลาที่ใช้วัดคือ ตั้งแต่ตอนเช้ามีดวงเริ่มมีแสง ซึ่งเป็นช่วงที่ปากใบเปิดมาก และมีการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์สูง (ดวงพร, 2545) คือเวลาประมาณ 5:30 – 7:30 น. รายละเอียดของการวัดมีดังนี้

1.1 เส้นตอบสนองต่อแสง (Light response)

วัดเส้นตอบสนองต่อแสงโดยใช้เครื่องวัดอัตราสังเคราะห์แสงระบบเปิด (photosynthesis system รุ่น LI6400-40 ของบริษัท Li-cor ประเทศสหรัฐอเมริกา) ต่อกับกล่องบรรจุใบแบบ Leaf chamber fluorometer ซึ่งมีแหล่งให้แสงที่ปรับความเข้มแสงได้ มีอุปกรณ์ปรับความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ที่ไหลผ่านยังภาชนะบรรจุใบได้ และสามารถวัดรังสีฟลูออเรสเซนส์จากระบบรับแสง (PS II) ได้ วิธีการคือหนีบใบพืชในภาชนะบรรจุใบ อากาศที่ไหลผ่านจะปรับความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์คงที่เป็น $600 \mu\text{molCO}_2 \text{ mol}^{-1}$ ควบคุมให้ความชื้นสัมพัทธ์เท่ากับ 75-78% และอุณหภูมิในภาชนะเท่ากับ 25 องศาเซลเซียส อุณหภูมิใบขณะวัดมี

ค่าประมาณ 26-30 องศาเซลเซียส ทำให้ค่าแรงดึงระเหยน้ำของอากาศ (air vapor pressure deficit, VPD_{air}) ซึ่งเป็นผลต่างระหว่างความดันไอน้ำอิ่มตัวกับในบรรยากาศ ($e^0_{T_{air}} - e_{T_{air}}$) มีค่าประมาณ 0.9-1.6 kPa ให้อัตราเร็วของอากาศไหลผ่านใบ (flow rate) เท่ากับ $200 \mu\text{mol s}^{-1}$ พื้นที่ใบที่ใช้วัด เท่ากับ 2 ตารางเซนติเมตร กำหนดให้ค่าสัดส่วนนำไหลปากใบระหว่างผิวใบบนกับผิวใบล่าง (stomatal ratio) เท่ากับ 10 เท่า (ข้อมูลจาก LI1600 steady state porometer) ใช้สายยางอ่อนดึงอากาศเข้าเครื่องจากถังพลาสติก ขนาด 20 ลิตร ซึ่งภายในแห้งสนิทและวางห่างจากผู้วัดเพื่อไม่ให้อากาศผันแปรมากขณะวัด เริ่มต้นด้วยการให้ใบได้รับความเข้มแสงสูงสุดที่ $2000 \mu\text{molPPF m}^{-2} \text{s}^{-1}$ โดยรอให้พืชปรับตัวกับความเข้มแสงสูงสุดก่อนเริ่มบันทึกค่าเป็นเวลา 5 นาที แล้วลดความเข้มแสงทีละขั้นจนถึง $0 \mu\text{molPPF m}^{-2} \text{s}^{-1}$ โดยใช้เวลาใบปรับตัวต่อความเข้มแสงนานระดับละ 3-4 นาที เครื่องจะบันทึกค่าต่างๆ โดยอัตโนมัติ

อัตราสังเคราะห์แสงสุทธิ (A) ที่ความเข้มแสง (I) แต่ละระดับ จะถูกนำเข้าสมการ non-rectangular hyperbola (สมการที่ 3) โดยค่าในช่วงความเข้มแสงต่ำจะคำนวณให้ได้ค่า α ก่อนซึ่งจะเป็นค่าความชันของเส้นตรงในช่วงเริ่มต้นของการตอบสนองต่อแสง หลังจากนั้นจึงใช้ค่า α คำนวณพารามิเตอร์อื่นๆ โดยวิธี nonlinear least-square fit โดยใช้ solver ในโปรแกรม Microsoft Excel ให้โปรแกรมหาค่าพารามิเตอร์ที่ดีที่สุดโดยกำหนดค่า residual sum of square ซึ่งเป็นผลต่างกำลังสองของค่าที่ได้จากสมการกับค่าที่วัดได้จริงมีค่าน้อยที่สุด (รตนพร, 2545) เมื่อได้พารามิเตอร์ของสมการข้างต้นแล้วจึงคำนวณจุดชดเชยแสง (light compensation point, I_c) โดยกำหนดเป็นค่าความเข้มแสงเมื่อ $A = 0$ และค่าความเข้มแสงอิ่มตัว (light saturation point, I_s) เมื่อกำหนดเป็นค่าความเข้มแสงเมื่อ $A = 85\%$ ของอัตราสังเคราะห์แสงรวมสูงสุด ($A = 0.85P_m$)

1.2 เส้นตอบสนองต่อความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2 response)

ใช้เครื่องมือชุดเดียวกันกับที่วัดเส้นตอบสนองต่อแสง (LI6400-40) กำหนดให้ใบพืชได้รับความเข้มแสงคงที่ที่ระดับ $500 \mu\text{molPPF m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (ประมาณค่า I_s) ให้อัตราเร็วของอากาศไหลผ่านใบ (flow rate) เท่ากับ $200 \mu\text{mol s}^{-1}$ โดยมีความชื้นสัมพัทธ์ 75-78% อุณหภูมิในภาชนะเท่ากับ 25 องศาเซลเซียส ปรับเปลี่ยนระดับความเข้มข้นของ CO_2 โดยเริ่มต้นที่ $400 \mu\text{molCO}_2 \text{mol}^{-1}$ ให้พืชปรับตัวที่ระดับความเข้มข้นสูงนี้นาน 5 นาทีก่อนบันทึกค่า แล้วลดความเข้มข้น CO_2 ลงเป็นขั้นๆ ละประมาณ 50 จนกระทั่งถึง $0 \mu\text{molCO}_2 \text{mol}^{-1}$ ข้อมูลที่ได้นำมาสร้างความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ภายในใบ (C_i) กับอัตราสังเคราะห์แสงสุทธิ (A) ด้วยโปรแกรม

Microsoft Excel เป็นรูปสมการเส้นตรง คือ $A = g_m (C_i - \Gamma)$ (สมการที่ 2) คำนวณค่า Γ เป็นค่า C_i ขณะที่ $A = 0$ และค่า g_m เป็นความชันของสมการเส้นตรง (dA/dC_i) จากนั้นจึงวัดการตอบสนองต่อความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ โดยเพิ่มความเข้มข้น CO_2 ในอากาศที่ละชั้นจนถึง $800 \mu mol CO_2 mol^{-1}$ (หากให้ความเข้มข้นของ CO_2 เป็น $800 \mu mol mol^{-1}$ แต่แรก จะมีผลทำให้ปากใบปิดรวดเร็ว)

พารามิเตอร์ที่ได้จากการศึกษาเส้นตอบสนองต่อแสงและคาร์บอนไดออกไซด์ ถูกวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (One-Way Analysis of Variance, ANOVA) เพื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยและตรวจสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ด้วยโปรแกรม Statistical Analysis System (SAS Institute Inc., 1988)

2. อัตราแลกเปลี่ยนแก๊สและประสิทธิภาพการใช้แสงของ PSII ของใบในรอบวัน

การวัดกิจกรรมของใบกล้วยไม้เป็นแบบไม่มีแผนการทดลอง และไม่มีดำรับการทดลอง แต่ใช้วิธีสุ่มใบวัด คือใช้ใบในการวัด 2 ชุด ได้แก่ ใบชุดเดิมที่วัดติดตามอัตราแลกเปลี่ยนแก๊สและค่าประสิทธิภาพการใช้แสงของ PSII ทุกรอบชั่วโมง เรียกว่า ชุดใบตาม และใบที่เปลี่ยนใหม่ทุกรอบชั่วโมง เรียกว่า ชุดใบตัด คือใบที่วัดอัตราแลกเปลี่ยนแก๊สและค่าประสิทธิภาพการใช้แสงของ PSII แล้วตัดตัวอย่างใบไปวัดพารามิเตอร์อื่นๆในห้องปฏิบัติการ เลือกใช้ใบตำแหน่งที่ 3 นับจากยอด ซึ่งเป็นใบที่ขยายขนาดเต็มที่แล้วของลำหน้าที่เจริญจนสุดลำและกำลังมีช่อดอก (ดวงพร, 2545) วัดเมื่อวันที่ 23-24 เมษายน 2547

2.1 สภาพอากาศในรอบวัน

ข้อมูลสภาพอากาศในรอบวัน บันทึกโดยการติดตั้งอุปกรณ์วัดสภาพอากาศทั้งด้านในและด้านนอกโรงเรือนที่ใช้ทดลอง ได้แก่ หัววัดความเข้มแสง (photosynthetic photon flux, PPF) ต่อเข้ากับเครื่องบันทึกข้อมูล (data logger รุ่น Watchdog 450 ของบริษัท Spectrum ประเทศสหรัฐอเมริกา) ซึ่งมีหัววัดและบันทึกค่าอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศได้ เครื่องบันทึกข้อมูลจะบันทึกภายในภาชนะกันรังสีแสง (radiation shield) ตามวิธีการวัดสภาพอากาศโดยทั่วไป

จะใช้ค่าอุณหภูมิอากาศและค่าความชื้นสัมพัทธ์อากาศคำนวณค่าแรงดึงระเหยน้ำของอากาศ (VPD_{air}) ซึ่งเป็นค่าที่สะท้อนสภาพแห้งของอากาศ

2.2 อัตราแลกเปลี่ยนแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์และไอน้ำของใบ

การวัดอัตราสังเคราะห์แสงสุทธิและการคายน้ำ ใช้เครื่องเดียวกับที่วัดเส้นตอบสนอง ในข้อ 1 ขณะวัดให้อัตราเร็วของอากาศไหลผ่านใบ (flow rate) ระดับต่ำเท่ากับ $150 \mu\text{mol s}^{-1}$ พื้นที่ใบที่วัดเท่ากับ 2 ตารางเซนติเมตร กำหนดให้ค่าสัดส่วนน้ำไหลปากใบระหว่างผิวใบบนกับผิวใบล่าง (stomatal ratio) เท่ากับ 10 เท่า (ข้อมูลจาก LI1600 steady state porometer)

2.3 ประสิทธิภาพการใช้แสงของ PSII (quantum yield efficiency)

Leaf chamber fluorometer สามารถวัดได้ทั้งอัตราแลกเปลี่ยนแก๊ส CO_2 และไอน้ำ รวมทั้งสามารถตรวจจับรังสี fluorescence จากระบบรับแสง PSII ได้ด้วย วัดใบทั้งในสภาพมีแสง (ค่า Φ_{PSII}) และสภาพมืด (ค่า Φ_{dark}) การวัด Φ_{dark} ในช่วงกลางวันจะใช้หัววัดหนีบใบทิ้งไว้ให้อยู่ในสภาพมืดก่อนอย่างน้อย 20 นาที เพื่อให้ quinone acceptors ของ PSII เปิดเต็มที่ (quinone acceptors อยู่ในสภาพ fully oxidized state) เครื่องจะดำเนินขั้นตอนอัดโนมิตีโดยเริ่มให้ความเข้มแสงต่ำ และตรวจจับรังสีฟลูออเรสเซนส์ต่ำสุดที่แผ่จาก RCII เป็นค่า F_0 จากนั้นเครื่องจะให้ความเข้มแสงสูงมากเพื่อให้ quinone acceptors รับอิเล็กตรอนเต็มที่จนอยู่ในสภาพปิดหมด (quinone อยู่ในสภาพ fully reduced state) รังสีฟลูออเรสเซนส์ที่ส่งออกมาจาก RCII จะมีค่าสูงสุด คือค่า F_m คำนวณค่า $\Phi_{dark} = (F_m - F_0) / F_m$ (สมการที่ 8) หลังจากนั้นจะปรับตั้งอุปกรณ์ให้แสงเพื่อให้แสงภายในกล่องบรรจุใบเท่ากับแสงภายนอกที่ใบได้รับขณะนั้นเพื่อเป็นการวัดประสิทธิภาพการใช้แสงจริงของระบบ PS II (Φ_{PSII}) โดยเครื่องจะตรวจจับรังสีฟลูออเรสเซนส์ขณะที่ใบได้รับแสงเท่าภายนอก ได้ค่า F_s (steady state fluorescence) หลังจากจากนั้นเครื่องจะให้ความเข้มแสงสูงมาก และตรวจจับรังสีฟลูออเรสเซนส์สูงสุดที่ปล่อยออกมา เป็นค่า F_m' ค่าที่ได้ใช้คำนวณ $\Phi_{PSII} = (F_m' - F_s) / F_m'$ (สมการที่ 9) รวมทั้งอัตราการเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอน $ETR = \Phi_{PSII} \times f \times I \times \alpha_{leaf}$ (สมการที่ 10)

3. การเปลี่ยนแปลงของค่า pH และความเข้มข้นตัวถูกละลายของสารละลายที่คั่นจากใบที่สะท้อนการเปลี่ยนแปลงของปริมาณกรดรวมในใบในรอบวัน

โดยทั่วไปการวัดปริมาณกรดรวมในใบสามารถทำได้โดยวิธีการสกัดกรดและสะเทินด้วยด่าง (ไทเตรท) อย่างไรก็ดี การวัดติดตามการเปลี่ยนแปลงของปริมาณกรดรวมในใบในรอบวันด้วยวิธีการไทเตรทใช้เวลานาน ซึ่งทำให้ไม่สามารถเก็บข้อมูลได้ต่อเนื่องและทันเวลา จึงใช้วิธีการวัดค่า pH ของสารละลายที่คั่นจากใบแทนการวัดปริมาณกรดรวม โดยมีการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกรดรวมในใบกับค่า pH ของสารละลายที่คั่นจากใบอีกชุดหนึ่งเพื่อยืนยันว่าการลดลงของค่า pH ของสารละลายที่คั่นจากใบนั้นเป็นผลจากการเพิ่มขึ้นของปริมาณกรดในใบในช่วงกลางคืน (วิธีการตามข้อ 3.1) ในที่นี้จึงวัดการเปลี่ยนแปลงของปริมาณกรดรวมในใบในรอบวันโดยการวัดค่า pH รวมทั้งวัดความเข้มข้นตัวถูกละลาย (C_s) ของสารละลายที่คั่นจากใบเพื่อสะท้อนการสร้าง/สลายของสารในใบ นอกจากนี้ยังวัดอัตราเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนของ PSII เพื่อสะท้อนระดับการทำงานของระบบรับแสงในเฟสที่มีแสงควบคุมไปด้วย วัดเมื่อวันที่ 7-8 กุมภาพันธ์ 2548 โดยวัดใบตำแหน่งใบที่ 1, 2, 3 และ 4 นับจากยอดของลำน้ำที่มีช่อดอกที่เจริญจนสุดค่า (วิธีการตามลำดับในข้อ 3.2-3.3)

3.1 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกรดรวมในใบ (total titratable acidity) และค่า pH ของสารละลายที่คั่นจากใบ

ตัดตัวอย่างใบตำแหน่งที่ 3 และ 4 นับจากยอดของลำน้ำ แบ่งส่วนหนึ่งใส่ในหลอดพลาสติก ทำให้เซลล์ของใบแตกโดยการแช่ในไตรเจนเหลว แล้วบดคั้นด้วยการกลิ้งหลอดตัวอย่างผ่านลูกกลิ้งเพื่อให้ได้สารละลายของเซลล์ออกมา (สารละลายที่ได้เป็นสารละลายในส่วน apoplast และ symplast) สารละลายของเซลล์ที่ได้จะใช้วัดค่า pH ด้วยเครื่อง Cardy Twin pH Meter ของบริษัท Spectrum Technologies ประเทศสหรัฐอเมริกา ตรวจเทียบด้วยสารละลาย pH มาตรฐานคือ pH 4 และ 7 ตัวอย่างใบอีกส่วนหนึ่งจะใช้วัดปริมาณกรดรวม โดยมีวิธีการดังนี้

3.1.1 เตรียมสารละลายมาตรฐาน NaOH 0.01 M

3.1.2 ชั่งมวลสดของตัวอย่างใบด้วยเครื่องชั่งที่ละเอียด (ทศนิยม 4 ตำแหน่งของกรัม)

จากนั้นตัดตัวอย่างใบพืชเป็นชิ้นเล็กๆ เทใส่บีกเกอร์ที่มีน้ำเดือด (deionized water) 150 มล. ต้มเป็นเวลา 20 นาที แล้วกรอง (กระดาษกรองของ Whatman เบอร์ 42) จะได้สารสกัดจากใบครั้งแรก (first extract)

3.1.3 เติม deionized water 50 มล. ลงในบีกเกอร์ที่ใส่ตัวอย่าง ต้มให้เดือดอีก 15 นาที จะได้สารสกัดครั้งที่ 2 (second extract)

3.1.4 นำสารสกัดครั้งแรกและสารสกัดครั้งที่ 2 รวมกัน แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มล. วางให้สารสกัดเย็นลง แล้วเปิดสารสกัดครั้งละ 20 มล. ทำซ้ำ 5 ครั้ง ไตรเตรทด้วยสารละลายมาตรฐาน NaOH 0.01 M โดยใช้ Phenolphthalein เป็น indicator (เปลี่ยนจากใสเป็นสีชมพู) ใช้ค่าเฉลี่ยของปริมาตรของสารละลายมาตรฐานที่ใช้ในการไตรเตรททั้ง 5 ซ้ำ

3.1.5 คำนวณปริมาณกรดรวม โดยกำหนดให้ มวลสดของตัวอย่างใบก่อนไตรเตรท เท่ากับ A กรัม ค่าเฉลี่ยของปริมาตรสารละลายมาตรฐาน NaOH ที่ใช้ในการไทเทรต เท่ากับ B มล. และความเข้มข้นสารละลายมาตรฐาน NaOH เท่ากับ 10^{-2} M ปริมาณของ NaOH ที่ใช้สะเทินเท่ากับ $B \times 10^{-2} \times 10^{-3} = B \times 10^{-5}$ โมลต่อสารสกัด 20 มล. ปริมาณกรดที่ถูกสะเทินในตัวอย่างใบ 1 กรัม จึงมีปริมาณ เท่ากับ $(B \times 10^{-5}) \times 100 / 20A = (5 \times B \times 10^{-5}) / A$ โมลต่อกรัม

3.2 อัตราเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอน (ETR) ในรอบวัน

อัตราเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนเป็นค่าที่ได้จากขั้นตอนของการวัดประสิทธิภาพการ ใช้แสงของ PSII ในสภาพมีแสง (Φ_{PSII}) ซึ่งครั้งนี้ใช้เครื่องมือ pulse amplitude modulation fluorometer รุ่น Mini-PAM (บริษัท Heinz Waltz GmbH ประเทศเยอรมัน) ซึ่งใช้หลักการเดียวกับ Leaf chamber fluorometer ของเครื่อง LI6400 ในข้อ 2.3 คือให้ความเข้มแสงต่ำในตอนแรกและตรวจวัดรังสีฟลูออเรสเซนส์ต่ำสุดที่เกิดขึ้น (F_0, F_0') จากนั้นจึงให้ความเข้มแสงสูงเพื่อให้ quinone acceptors รับอิเล็กตรอนเต็มที่ แล้วตรวจวัดรังสีฟลูออเรสเซนส์สูงสุดที่เกิดขึ้น (F_m, F_m') การวัดใบในสภาพมืดทำได้โดยใช้คลิปหนีบใบเป็นเวลาอย่างน้อย 20 นาที จะได้ค่าประสิทธิภาพการใช้แสงสูงสุด (maximum quantum yield, Φ_{dark}) หลังจากนั้นจึงวัดประสิทธิภาพการใช้แสงจริงของระบบ PS II (Φ_{PSII}) คำนวณค่า Φ_{dark} และ Φ_{PSII} ตามสมการที่ 8 และ 9 และใช้ค่า Φ_{PSII} คำนวณอัตราการเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนตามสมการที่ 10 วัดใบลำดับที่ 1-4 ทุกๆรอบ รอบละ 1 ชั่วโมง ในหนึ่ง

รอบจะวัดใบจำนวน 2 ชุด ชุดแรกคือ ชุดใบที่ใช้วัดติดตามค่าประสิทธิภาพการใช้แสงและอัตราเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนต่อเนื่องทุกๆ ชั่วโมง และอีกชุดหนึ่งคือ ใบที่เปลี่ยนใหม่ทุกชั่วโมง เรียกว่าชุดใบตัด โดยเก็บตัวอย่างชุดใบตัดวัดค่า pH และความเข้มข้นตัวถูกละลาย (C_s) ในห้องปฏิบัติการ

3.3 ค่า pH ความเข้มข้นตัวถูกละลาย (C_s) ของสารละลายที่คั้นได้จากใบในรอบ 24 ชั่วโมง

หลังจากการวัดประสิทธิภาพการใช้แสงของ PSII ในข้อ 3.2 ตัวอย่างของชุดใบตัดจะถูกตัดใส่ในหลอดพลาสติก ทำให้เซลล์ของใบแตกโดยการแช่ในไตรเจนเหลว แล้วบดคั้นด้วยการกลิ้งหลอดตัวอย่างผ่านลูกกลิ้งเพื่อให้ได้สารละลายของเซลล์ออกมา สารละลายที่ได้จะใช้วัดค่า pH (เครื่องมือชุดเดียวกันกับข้อ 3.1) และสารละลายอีกส่วนหนึ่งจะถูกนำมาวัดความเข้มข้นของตัวถูกละลาย ด้วยเครื่องออสโมมิเตอร์ (Osmometer รุ่น Vapro 5220 ของบริษัท WESCOR ประเทศสหรัฐอเมริกา) ทำเส้นตรวจเทียบ (calibration curve) ด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นมาตรฐาน 100, 290 และ 1000 mmol kg⁻¹ โดยดูดสารละลายตัวอย่างด้วยไมโครปิเปตต์ขนาด 10 ไมโครลิตร และหยดลงบนแผ่นกระดาษกรองทรงกลมที่วางในช่องที่รับตัวอย่าง เครื่องอ่านให้ค่าความเข้มข้นของตัวถูกละลายทั้งหมด (C_s) ของตัวอย่างโดยตรง มีหน่วยเป็น mmol kg⁻¹

ผลและวิจารณ์

1. การตอบสนองต่อแสงและความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์

1.1 เส้นตอบสนองต่อแสง

การวัดเส้นตอบสนองต่อแสงของใบกล้วยไม้ลำดับที่ 1-4 ของลำหน้า (ลำที่อายุน้อยที่สุด) ซึ่งออกดอกจนสุดลำ โดยวัดในช่วงเฟสที่ 2 ซึ่งเริ่มมีแสงแดด ใบมีค่าน้ำไหลปากใบสูงและมีการตรึง CO_2 จากภายนอก ภาพที่ 2a แสดงได้ว่าอัตราสังเคราะห์แสงสุทธิเพิ่มขึ้นตามความเข้มแสงในช่วงต้น และมีค่าสูงสุดและคงที่ประมาณ $6-7 \mu\text{molCO}_2 \text{ mol}^{-1}$ ที่ความเข้มแสงประมาณ $500 \mu\text{molPPF m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ภาพที่ 2b แสดงค่าน้ำไหลปากใบ (g_s) ซึ่งมีค่าสูงสุดอยู่ในระดับต่ำเพียง $30-40 \text{ mmolH}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ซึ่งเป็นค่าที่ต่ำกว่าในพืช C3 ในสภาพเดียวกันอย่างมาก ค่าน้ำไหลปากใบเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วตามความเข้มแสงในช่วง $0-100 \mu\text{molPPF m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ และเพิ่มถึงระดับสูงสุดที่ความเข้มแสงในช่วง $300-500 \mu\text{molPPF m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ดังนั้นความเข้มแสงที่ต่ำกว่า $300 \mu\text{molPPFm}^{-2} \text{ s}^{-1}$ จะเป็นปัจจัยจำกัดค่าน้ำไหลปากใบ ในขณะที่ค่าน้ำไหลปากใบจะจำกัดอัตราสังเคราะห์แสงสุทธิดังแสดงในภาพที่ 2c ค่าน้ำไหลปากใบควบคุมอัตราสังเคราะห์แสงสุทธิในช่วงที่ค่าน้ำไหลปากใบต่ำกว่า $20 \text{ mmolH}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ หลังจากนั้นช่องเปิดของปากใบจะใหญ่พอให้ CO_2 แพร่เข้าได้อย่างไม่จำกัด ในช่วงนี้อัตราสังเคราะห์แสงสุทธิจะถูกจำกัดด้วยอัตราของกิจกรรมของเอนไซม์ที่ตรึง CO_2 (enzymic limitation) ใบลำดับที่ 4 มีค่าน้ำไหลปากใบที่มีระดับสูงกว่าใบอื่น จึงเป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้อัตราสังเคราะห์แสงสุทธิของใบนี้มีค่าสูงตามไปด้วย

ภาพที่ 2d แสดงประสิทธิภาพการใช้แสงของ PSII ในสภาพมีแสง (Φ_{PSII}) และภาพที่ 2e แสดงอัตราเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอน (ETR) ที่เปลี่ยนแปลงตามความเข้มแสง ผลที่ได้แสดงว่า ที่ความเข้มแสงประมาณศูนย์ เมื่อไม่มีอิเล็กตรอนอยู่ในระบบ คือ RCII อยู่ในสภาพ oxidized เต็มที่ Φ_{PSII} มีค่าได้สูงสุดเท่ากับ 0.7 กล่าวคือในสภาพนี้ ประมาณ 70% ของแสงที่ใบดูดกลืนจะถูกใช้ในกระบวนการผลิตอิเล็กตรอนที่ P680 เพื่อใช้ในกระบวนการสังเคราะห์แสง (photochemistry) เมื่อใบได้รับความเข้มแสงเพิ่มขึ้น แสงที่ถูกส่งไปที่ RCII ทำให้มีการปลดปล่อยอิเล็กตรอนเพิ่มขึ้น สัดส่วนของ quinone A ที่ถูก reduced $\{Q_A^-/Q_A+Q_A^-\}$ เกิดเพิ่มขึ้น ทำให้สัดส่วนของแสงที่ใช้ในกระบวนการ photochemistry กลับมีค่าลดลงอย่างรวดเร็วในช่วงความเข้มแสง

ระหว่าง 0-500 $\mu\text{molPPF m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ หลังจากนั้นค่า Φ_{PSII} จะเริ่มวิ่งเข้าสู่ค่าต่ำคงที่ ในจังหวะเดียวกับที่ค่า ETR อิ่มตัว ดังนั้นช่วงความเข้มแสงระหว่าง 0-500 $\mu\text{molPPF m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ เป็นปัจจัยจำกัดการส่งถ่ายอิเล็กตรอน ในการศึกษาพบว่า ใบลำดับที่ 1 มีค่า ETR สูงกว่าใบอื่นชัดเจน เนื่องจากใบที่ 1 มีค่า Φ_{PSII} สูงกว่าใบอื่น ซึ่งหมายความว่าใบที่ 1 สามารถใช้แสงที่ใบดูดกลืนในการเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนได้ในสัดส่วนสูงกว่าใบอื่น คือมีอัตราของกระบวนการ photochemistry สูงกว่า

อัตราสังเคราะห์แสงสุทธิแสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงกับอัตราเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนของใบกล้วยไม้ ($dA/dETR, \text{molCO}_2 \text{ molE}^{-1}$) (ภาพที่ 2f) จึงเป็นอัตราตรึง CO_2 ต่อหน่วยอิเล็กตรอนได้แสดงไว้ในตารางที่ 1 ใบทั้ง 4 ลำดับมีค่าความชันของเส้นตรงเฉลี่ยอยู่ในช่วง 0.167-0.185 $\text{molCO}_2 \text{ molE}^{-1}$ ค่าจุดตัดแกน A หรือ intercept เป็นค่าที่สะท้อนอัตราหายใจคือ ค่ายิ่งติดลบมากแสดงว่าใบมีอัตราหายใจสูง พบว่าใบลำดับที่ 1 มีค่าความชันและ intercept ต่ำสุด ดังนั้นแม้ว่าค่า Φ_{PSII} และ ETR ของใบที่ 1 จะสูงสุด แต่ก็มีอัตราหายใจสูงสุดด้วย ทำให้อัตราสังเคราะห์แสงต่อหน่วยอิเล็กตรอนต่ำกว่าใบอื่น

เปรียบเทียบลำดับใบ

อัตราสังเคราะห์แสงรวมสูงสุด (P_m) คำนวณจากการเข้ารูปฟังก์ชันของเส้นตอบสนองต่อแสง เป็นค่าบอกลักษณะความสามารถในการสร้างอาหารของใบทั้ง 4 ลำดับ แสดงค่าในภาพที่ 3a โดยมีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วง 6-7 $\mu\text{molCO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ซึ่งถือว่ามีความต่ำมากเมื่อเทียบกับพืช C3 เช่น มะละกอ (คัทลียา, 2547) พริกชี้หนู (สุทิน, 2547) และคะน้า (สุภาพร, 2547) ซึ่งมีค่าในช่วง 20-37 $\mu\text{molCO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$

ใบกล้วยไม้ทั้ง 4 ลำดับมีค่าเฉลี่ยของค่าประสิทธิภาพการใช้แสง (α) เท่ากับ 0.042 $\text{molCO}_2 \text{ molPPF}^{-1}$ (ภาพที่ 3b) ค่า α ของใบที่ 2 มีค่าเฉลี่ยสูงสุดถึง 0.049 และมีค่าลดลงในใบที่ 3 และ 4 แสดงว่าใบที่ 2 เป็นใบที่มีประสิทธิภาพการใช้แสงสูงที่สุด ค่าที่ได้มีค่าต่ำกว่าที่พบในพืช C3 ที่วัดภายใต้สภาพบรรยากาศปกติ (21 % O_2) ที่มีค่า 0.053 (Singsaas *et al.*, 2001) ในมะละกามีค่า 0.053-0.056 $\text{molCO}_2 \text{ molPPF}^{-1}$ (คัทลียา, 2547) พริกชี้หนูมีค่า 0.045-0.060 $\text{molCO}_2 \text{ molPPF}^{-1}$ (สุทิน, 2547) และคะน้ามีค่า 0.049-0.059 $\text{molCO}_2 \text{ molPPF}^{-1}$ (สุภาพร, 2547) จากค่า α ที่ได้ (ค่าเฉลี่ย 0.041-0.049 $\text{molCO}_2 \text{ molPPF}^{-1}$) แสดงว่าใบกล้วยไม้ใช้ความเข้มแสงประมาณ 20-24 โมลในการตรึง CO_2 1 โมล และจากส่วนกลับของค่าความชันที่ได้จากภาพที่ 2f แสดงว่าใช้ 6

โมลอิเล็กตรอน ในการตรึง CO_2 1 โมล ขณะที่ในสภาพบรรยากาศปกติ พืช C_3 จะใช้อิเล็กตรอนประมาณ 10-12 โมลต่อการตรึง CO_2 1 โมล และพืช C_4 จะใช้อิเล็กตรอนต่ำกว่า คือประมาณ 4-6 โมลในการตรึง CO_2 1 โมล ทั้งนี้เนื่องจากพืช C_3 ใช้เอนไซม์ RuBisCO ซึ่งมี oxygenase subunit ที่สามารถตรึง O_2 เข้าสู่กระบวนการ photorespiration ได้ ทำให้ ATP และ NADPH ส่วนหนึ่งที่ได้จากการส่งถ่ายอิเล็กตรอนใน light reaction ถูกแบ่งไปใช้ในกระบวนการ photorespiration ในขณะที่พืช C_4 ไม่เกิดกระบวนการ photorespiration (Singsaas *et al.*, 2001; Krall and Edwards, 1992) จากค่าที่ได้แสดงให้เห็นว่าใบกล้วยไม้เกิดกระบวนการ photorespiration น้อยกว่าในพืช C_3

ใบกล้วยไม้มีค่าเฉลี่ยของอัตราการหายใจในที่มืด (R_d) ไม่เกิน $1.0 \mu\text{molCO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (ภาพที่ 3c) พบว่าใบตำแหน่งที่ 1 มีค่า R_d สูงสุด แสดงให้เห็นว่า ใบที่ 1 ยังคงต้องการพลังงานสูงในการสร้างส่วนประกอบต่างๆที่จำเป็นสำหรับการเติบโตมากกว่าใบอื่น แม้ว่าค่า P_m ของใบที่ 1 จะมีค่ามากแต่อัตราการหายใจก็สูงมากด้วยเช่นกัน ค่า R_d มีค่าลดลงในใบที่ 2, 3 และมีค่าเพิ่มขึ้นในใบที่ 4 ซึ่งให้เห็นว่าใบที่ 4 มีแนวโน้มเป็นใบที่แก่ คือมีอัตราการหายใจเพิ่มขึ้นเพื่อซ่อมแซมส่วนต่างๆของเซลล์ เมื่อเทียบกับค่า R_d ของใบกล้วยไม้กับพืชอื่นเช่น ใบมะละกอ (คัทลียา, 2547) พริกขี้หนู (สุทิน, 2547) และคะน้า (สุภาพร, 2547) ซึ่งมีค่า R_d ประมาณ $1-3 \mu\text{molCO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ซึ่งให้เห็นว่าใบกล้วยไม้มีอัตราการหายใจที่ต่ำกว่า

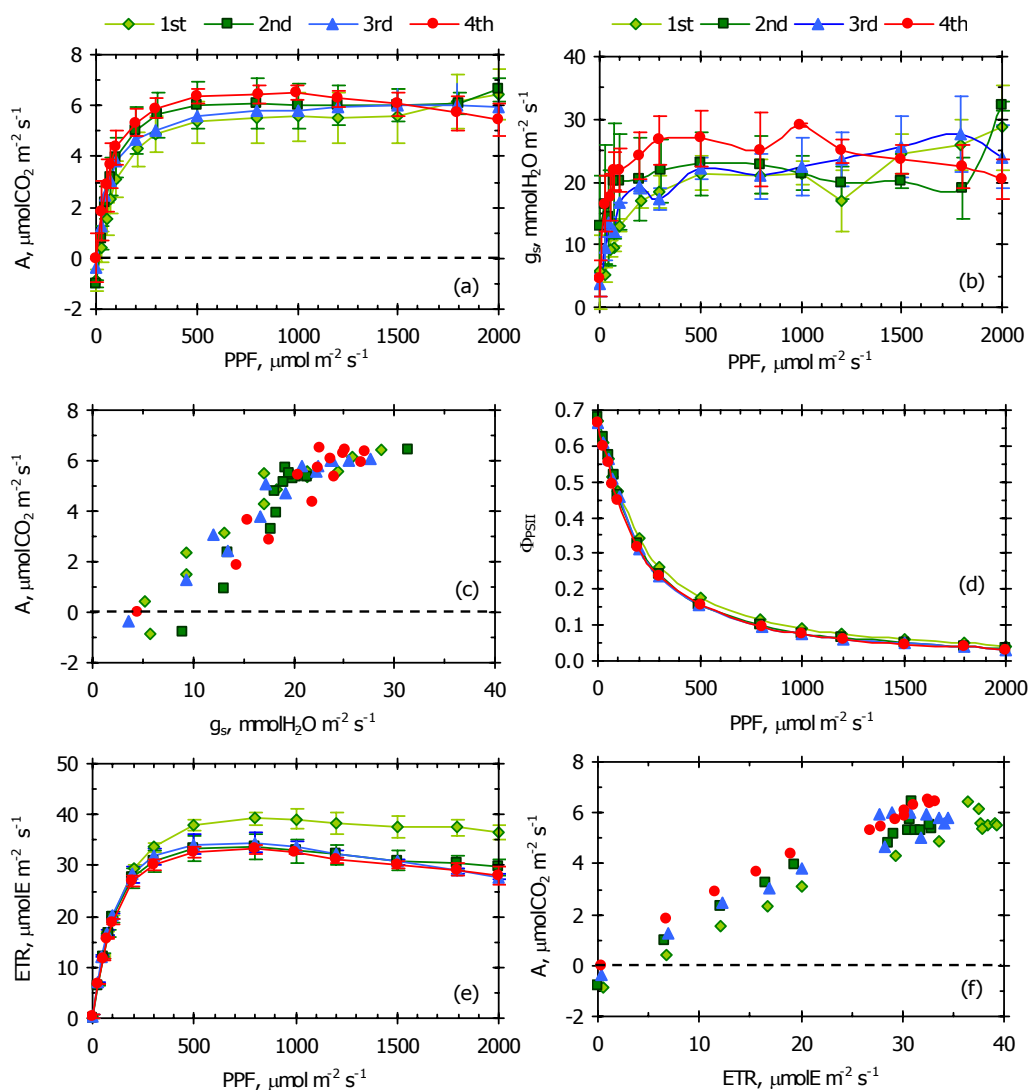
ค่า θ หรือค่าควบคุมความโค้งของเส้นกราฟ (curvature factor) (ภาพที่ 3d) เป็นค่าที่แสดงถึงความเร็วในการเปลี่ยนระยะที่ความเข้มแสงเป็นปัจจัยจำกัดกระบวนการสังเคราะห์แสงเข้าสู่ระยะที่ความเข้มแสงไม่ได้เป็นปัจจัยจำกัด โดยแสดงเป็นสัดส่วนของค่านำไหล CO_2 ผ่านเมสโซฟิลล์ (g_m) ต่อผลรวมของค่านำไหล CO_2 ผ่านเมสโซฟิลล์ (g_m) กับค่านำไหลของกระบวนการแพร่ของ CO_2 ในบรรยากาศถึงคลอโรพลาสต์ (g_a) (เมื่อ $\theta = g_m / (g_m + g_a)$) ค่า θ ที่เข้าใกล้ศูนย์ แสดงถึงค่านำไหล CO_2 ผ่านเมสโซฟิลล์มีค่าต่ำ หรือหมายถึงค่านำไหลของกระบวนการตรึง CO_2 ต่ำ และค่า θ ที่เข้าใกล้ 1 แสดงถึงค่านำไหลของกระบวนการแพร่ของ CO_2 ในบรรยากาศถึงคลอโรพลาสต์มีค่าต่ำ ค่า θ ของใบทั้ง 4 ลำดับมีค่าเฉลี่ยประมาณ 0.77-0.85 ซึ่งมีค่าเข้าใกล้ 1 แสดงว่าอัตราแพร่เข้าของ CO_2 เข้าใบเป็นตัวจำกัดมากกว่าถูกจำกัดด้วยกระบวนการตรึง CO_2

จุดชดเชยแสง (I_c) เป็นค่าความเข้มแสงต่ำสุดที่ทำให้ค่าอัตราสังเคราะห์แสงรวมเท่ากับอัตราการหายใจ กล่าวคือเป็นระดับความเข้มแสงขณะที่ใบมีอัตราสังเคราะห์แสงสุทธิเป็นศูนย์ (ภาพที่ 3e) ใบกล้วยไม้มีค่า I_c เฉลี่ยอยู่ในช่วง $7-22 \mu\text{molPPF m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ซึ่งเป็นค่าที่ค่อนข้างต่ำ แสดงว่า

ใบกล้วยไม้ต้องการแสงไม่มากที่ทำให้มีอัตราสังเคราะห์แสงสุทธิเป็นบวกได้ ใบที่ 1 มีค่า I_c สูงกว่าใบอื่น แสดงว่ายังมีการหายใจสูง จึงทำให้มีความต้องการแสงสูงกว่าเพื่อให้มีอัตราสังเคราะห์แสงรวมมีระดับเท่ากับอัตราหายใจ

ค่าความเข้มแสงอิ่มตัว (I_s) เป็นค่าความเข้มแสงที่ทำให้เกิดอัตราสังเคราะห์แสงสุทธิสูงสุดและคงที่ (ภาพที่ 3f) ใบกล้วยไม้มีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วง $224-348 \mu\text{molPPF m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ความเข้มแสงที่ต่ำกว่าช่วงดังกล่าวจะเป็นปัจจัยจำกัดอัตราสังเคราะห์แสงสุทธิของใบกล้วยไม้ ค่า I_s ของใบกล้วยไม้แสดงว่ากล้วยไม้ไม่ต้องการความเข้มแสงสูงมาก หรือหมายถึงใบสามารถใช้ความเข้มแสงต่ำได้มีประสิทธิภาพสูง พบว่าค่า I_s มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นจากใบที่ 1-4 แสดงว่าใบลำดับหลังต้องใช้ความเข้มแสงสูงขึ้นเพื่อให้มีอัตราสังเคราะห์แสงรวมสูงตามไปด้วย

ค่าเฉลี่ยของพารามิเตอร์ที่ได้จากเส้นตอบสนองต่อแสงที่ได้ของใบลำดับที่ 1-4 ได้รวมแสดงในตารางที่ 1 แม้ว่าค่าที่ได้แต่ละค่าไม่แตกต่างกันระหว่างลำดับใบ แต่สามารถบอกถึงลำดับการพัฒนาการของใบได้ คือ ใบที่ 1 เป็นใบที่มีพัฒนาการน้อยสุดโดยดูได้จากอัตราหายใจ (R_d) และค่าจุดชดเชยแสง (I_c) ที่มีค่าสูงที่สุด การที่อัตราสังเคราะห์แสงรวมสูงสุด (P_m) ของใบที่ 1 มีค่าสูงเนื่องจาก Φ_{psII} และ ETR มีค่าสูง แต่เนื่องจากมีค่า R_d ที่สูงด้วยจึงเป็นผลให้สัดส่วน $dA/dETR$ ต่ำที่สุดสรุปได้ว่าใบกล้วยไม้มีอัตราสังเคราะห์แสงสุทธิต่ำ มีอัตราเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนต่ำรวมกับค่าน้ำไหลปากใบระดับต่ำมาก และอัตราหายใจต่ำเมื่อเทียบกับพืช C3



ภาพที่ 2 เส้นตอบสนองต่อแสงของใบกล้วยไม้ลำดับที่ 1-4 จากยอดของลำต้น

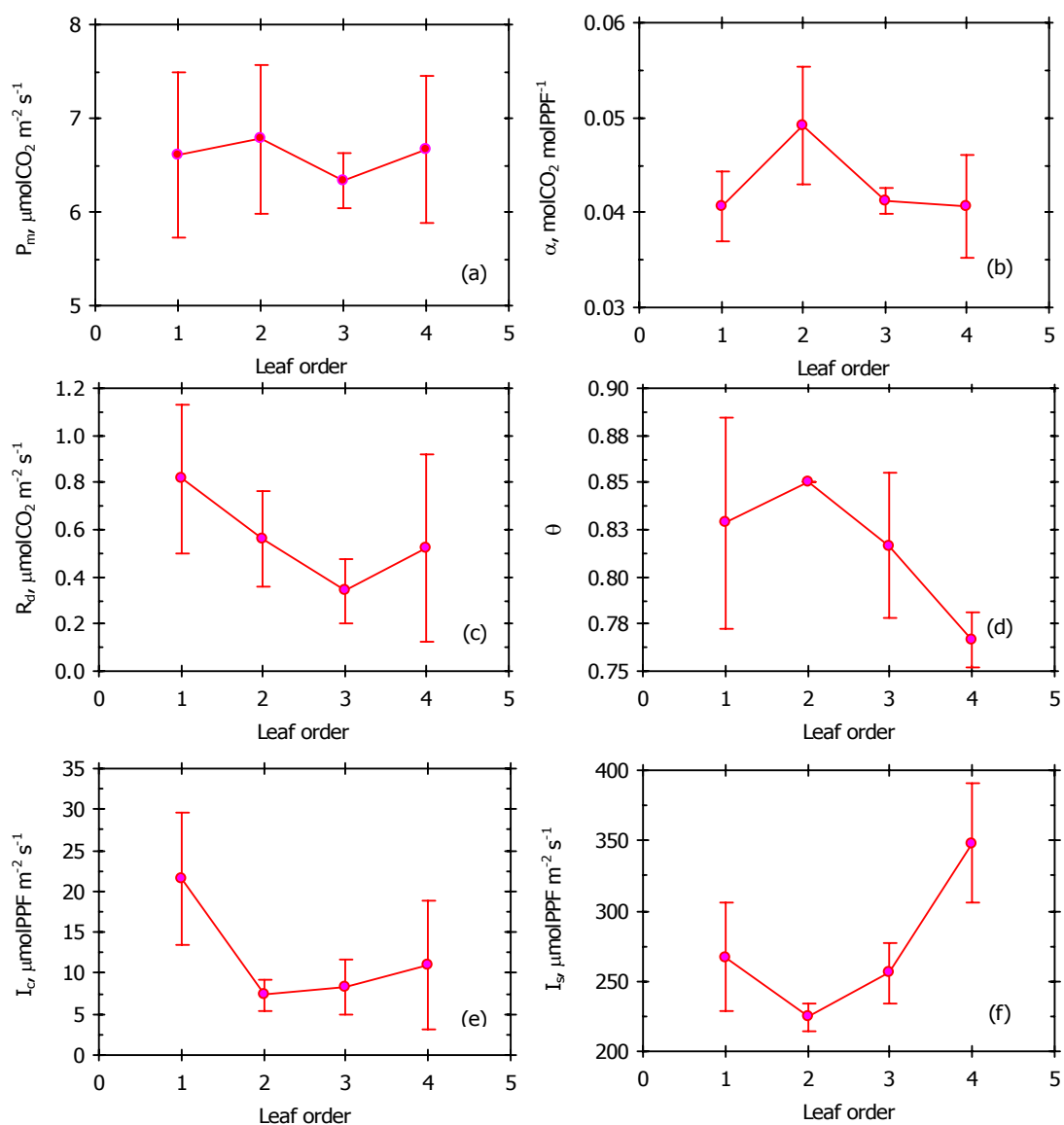
ความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มแสง กับ (a) อัตราสังเคราะห์แสงสุทธิ (b)

ค่านำไหลปากใบ (c) อัตราสังเคราะห์แสงสุทธิต่อค่านำไหลปากใบ

(d) ประสิทธิภาพการใช้แสงของ PSII ในสภาพมีแสง (e) อัตราเคลื่อนย้าย

อิเล็กตรอน และ (f) อัตราสังเคราะห์แสงสุทธิต่ออัตราเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอน (เส้น

ตั้งคือค่า standard error)



ภาพที่ 3 ค่าเฉลี่ยพารามิเตอร์ของเส้นตอบสนองต่อแสงของใบกล้วยไม้ลำดับที่ 1-4 ของลำต้น (จำนวน 3 ซ้ำ $\pm$ standard deviation) เมื่อ (a) คืออัตราสังเคราะห์แสงรวมสูงสุด (b) คือประสิทธิภาพการใช้แสง (c) R_d คืออัตราหายใจในที่มืด (d) คือค่าควบคุมความโค้งของเส้นกราฟ (e) คือจุดชดเชยแสง และ (f) คือค่าความเข้มแสงอิ่มตัว (เส้นตั้งคือค่า standard error)

ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ยพารามิเตอร์ที่ได้จากเส้นตอบสนองต่อแสงของใบกล้วยไม้ของลำหน้า ตำแหน่งใบที่ 1-4 ของลำหน้า จำนวน 3 ลำ (จำนวน 3 ใบ $\pm$ standard deviation)

พารามิเตอร์	ลำดับใบ				P-Value	CV (%)
	1	2	3	4		
P_m	6.6 $\pm$ 1.8	6.8 $\pm$ 1.6	6.3 $\pm$ 0.6	6.7 $\pm$ 1.6	ns	21.6
$g_{s, \max}$	29 $\pm$ 10	25 $\pm$ 4	24 $\pm$ 10	29 $\pm$ 6	ns	26.9
α	0.041 $\pm$ 0.007	0.049 $\pm$ 0.012	0.041 $\pm$ 0.003	0.041 $\pm$ 0.011	ns	20.0
θ	0.83 $\pm$ 0.11	0.85 $\pm$ 0.01	0.82 $\pm$ 0.04	0.77 $\pm$ 0.01	ns	9.2
R_d	0.82 $\pm$ 0.63	0.56 $\pm$ 0.41	0.34 $\pm$ 0.28	0.52 $\pm$ 0.47	ns	96.2
I_c	22 $\pm$ 16	7 $\pm$ 4	8 $\pm$ 7	11 $\pm$ 10	ns	99.1
I_s	267 $\pm$ 78	224 $\pm$ 19	256 $\pm$ 42	348 $\pm$ 85	ns	24.0
$\Phi_{PSII500}$	0.178 $\pm$ 0.009	0.157 $\pm$ 0.024	0.154 $\pm$ 0.015	0.154 $\pm$ 0.010	ns	9.5
ETR_{500}	38 $\pm$ 1	33 $\pm$ 5	34 $\pm$ 4	33 $\pm$ 2	ns	8.4
dA/dETR	0.167	0.185	0.178	0.183		
Intercept;	-0.615	-0.224	0.053	0.492		
A (ETR=0)						
dPPF/dA	24.3	20.4	24.4	24.4		

ค่าเฉลี่ยในแนวนอนของทุกพารามิเตอร์ที่ได้จากเส้นตอบสนองต่อแสง ไม่แตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี DMRT (ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ)

เมื่อ P_m คือ Maximum gross photosynthesis ($\mu\text{molCO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), α คือ photoefficiency ($\text{molCO}_2 \text{ molPPF}^{-1}$), R_d คือ dark respiration ($\mu\text{molCO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), θ คือ curvature factor, I_c คือ light compensation ($\mu\text{molPPF m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), I_s คือ light saturation ($\mu\text{molPPF m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), $g_{s, \max}$ คือ maximum stomatal conductance from light curve, ($\text{mmolH}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) $\Phi_{PSII500}$ คือ ประสิทธิภาพการใช้แสงของ PSII ขณะที่ใบได้รับความเข้มแสง 500 $\mu\text{molPPF m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ($\text{mmolE mmolPPF}^{-1}$), ETR_{500} คือ electron transport rate ขณะที่ใบได้รับความเข้มแสง 500 $\mu\text{molPPF m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ($\mu\text{molE m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), dA/dETR ($\text{molCO}_2 \text{ molE}^{-1}$) และ intercept ($\mu\text{molCO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) คือค่าความชันและจุดตัดแกน Y ที่ได้จากความสัมพันธ์ระหว่างอัตราสังเคราะห์

แสงสุทธิกับอัตราเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอน (ภาพที่ 2f) และ $dPPF/dA$ ($\text{molPPF molCO}_2^{-1}$) ได้
จากส่วนกลับของค่า α ที่ได้จากเส้นตอบสนองต่อแสง

1.2 เส้นตอบสนองต่อความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์

เมื่อกำหนดให้ใบพืชได้รับปัจจัยอื่นที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์แสงในระดับคงที่ แต่ปรับระดับความเข้มข้นของ CO_2 ที่ใบพืชได้รับให้ผันแปรเริ่มต้นตั้งแต่ 400 และค่อยๆ ลดลง จนถึง $0 \mu\text{molCO}_2 \text{ mol}^{-1}$ ผลที่ได้แสดงในภาพที่ 4a ใบมีอัตราสังเคราะห์แสงสุทธิ (A) ลดลงตามความเข้มข้นของ CO_2 ภายในช่องว่างใบ (C_i) ที่ลดลง ภาพที่ 4b แสดงค่านำไหลปากใบที่ตอบสนองแตกต่างกันต่อค่า C_i ใบที่ 1 และ 2 มีค่านำไหลปากใบที่เพิ่มขึ้นเมื่อค่า C_i ต่ำกว่า $75 \mu\text{molCO}_2 \text{ mol}^{-1}$ ซึ่งเป็นไปตามพืชปกติที่ปากใบเปิดกว้างขึ้นเมื่อ C_i ลดต่ำลงเพื่อให้ CO_2 เข้าสู่ใบได้มากขึ้น ในขณะที่ใบที่ 3 และ 4 ค่านำไหลมีค่าคงที่ไม่แปรผันตามค่า C_i

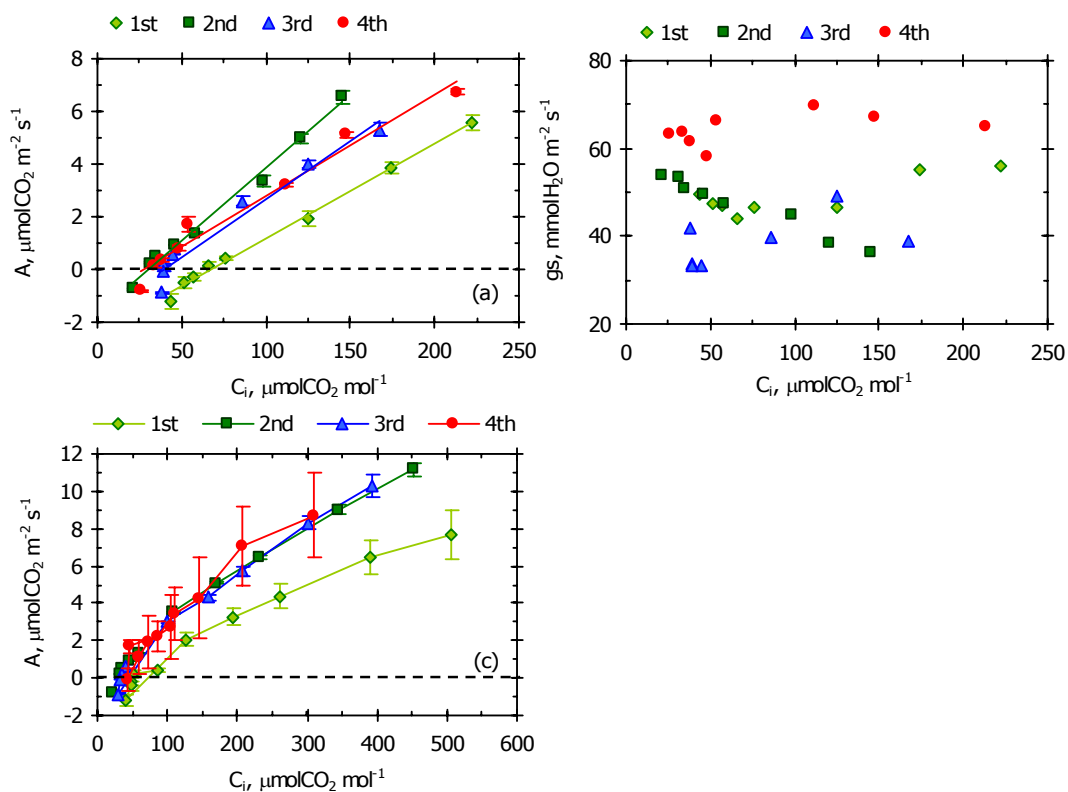
เมื่อเพิ่มความเข้มข้น CO_2 ในอากาศภายในกล่องบรรจุใบ (C_a) จนถึง $800 \mu\text{molCO}_2 \text{ mol}^{-1}$ พบว่า อัตราสังเคราะห์แสงสุทธิของใบเพิ่มขึ้นเกือบเป็นเส้นตรงกับค่า C_i (ภาพที่ 4c) แสดงให้เห็นว่าการเพิ่มความเข้มข้น CO_2 ในอากาศให้กับใบกล้วยไม้จะเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพในการตรึง CO_2 ของเอนไซม์ RubisCO เนื่องจากการสร้างความแตกต่างระหว่างความเข้มข้น CO_2 ในบรรยากาศกับค่าความเข้มข้น CO_2 ภายในช่องว่างใบ (C_i) ให้มากขึ้น และเป็นการยืนยันว่า CO_2 ในอากาศมีความเข้มข้นต่ำจนเป็นปัจจัยจำกัดอัตราสังเคราะห์แสงของใบพืช

จากความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่าง A กับค่า C_i ในภาพที่ 4a ค่าจะได้ค่า C_i ที่ตรงกับ $A = 0$ ซึ่งเรียกว่า จุดชดเชยคาร์บอนไดออกไซด์ (Γ) (ภาพที่ 5a) ค่าที่ต่ำทำให้เกิดความแตกต่างของความเข้มข้นของ CO_2 ระหว่างในบรรยากาศกับในคลอโรพลาสต์ จึงทำให้อัตราแพร่ของ CO_2 เข้าใบเร็วขึ้น ส่วนค่าที่สูงมักหมายถึงใบมีพัฒนาการยังไม่เต็มที่และมีอัตราหายใจสูง หรือกรณีที่ใบได้รับความเสียหายหรือบาดเจ็บ ซึ่งทำให้อัตราหายใจสูงขึ้นและ/หรืออัตราสังเคราะห์แสงลดลง ใบกล้วยไม้มีค่า Γ เฉลี่ยอยู่ในช่วง $28-67 \mu\text{molCO}_2 \text{ mol}^{-1}$ ซึ่งเป็นค่าแปรผันอยู่ในช่วงพืช C3 (ประมาณ $35-100 \mu\text{molCO}_2 \text{ mol}^{-1}$) กับพืช C4 ซึ่งมีค่าเข้าใกล้ศูนย์ (หรือประมาณ $0-5 \mu\text{molCO}_2 \text{ mol}^{-1}$) (Hew and Yong, 2004; Buchanan *et al.*, 2000) พบว่าใบที่ 1 เป็นใบที่มีค่า Γ สูงสุดแสดงให้เห็นว่า ใบที่ 1 มีอัตราหายใจสูงสุด และมีพัฒนาการด้านตรึง CO_2 น้อยที่สุด ผลที่ได้นี้ตรงกับข้อมูลของเส้นตอบสนองต่อแสงที่แสดงว่าใบนี้มีค่า R_d และ I_c สูงกว่าใบอื่น

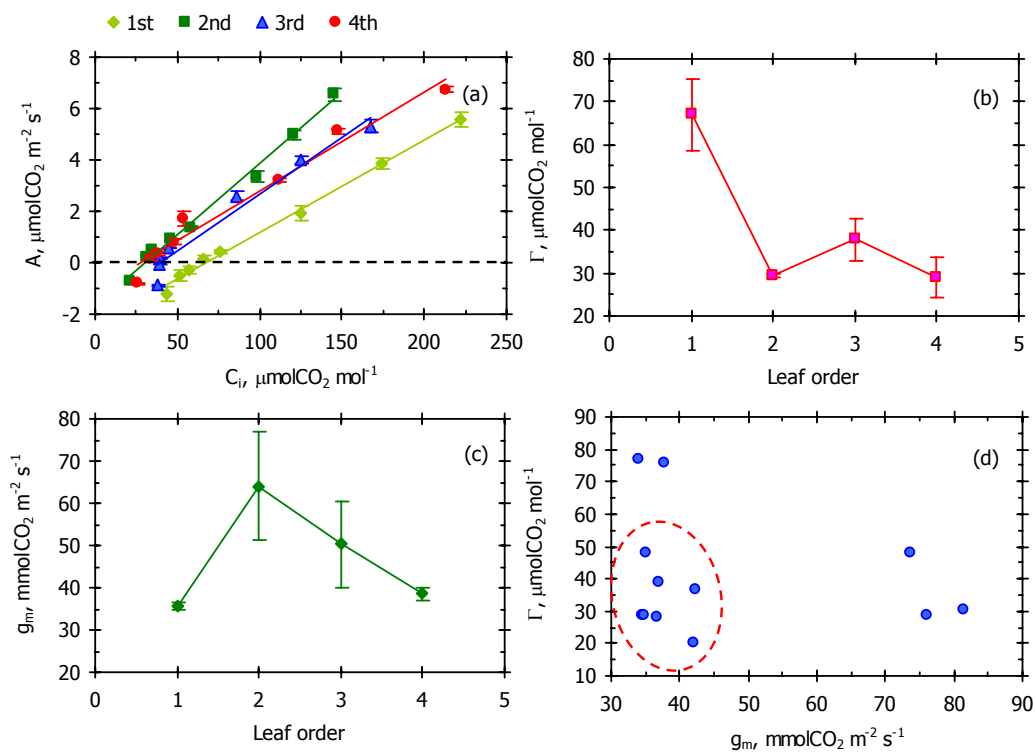
ค่านำไหลเมสโซฟิลล์หรือประสิทธิภาพกระบวนการ carboxylation (carboxylation efficiency, g_m) เป็นค่าความชันของความสัมพันธ์ A กับ C_i เป็นค่านำไหลของ CO_2 ตั้งแต่ผนังเซลล์เมสโซฟิลล์เข้าไปจนถึงสโตรมาของคลอโรพลาสต์ซึ่งเป็นจุดเกิดปฏิกิริยา carboxylation ในการเปลี่ยน CO_2 เป็นสารประกอบ 3-Phosphoglycerate (3-PGA) โดย RuBisCO ใบกล้วยไม้ทั้ง 4 ลำดับมีค่าเฉลี่ย g_m อยู่ในช่วง $36-55 \text{ mmolCO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ เป็นค่าต่ำกว่าของใบมะละกอ (คัทลียา, 2547) และพริกชี้หนู (สุทิน, 2547) ซึ่งมีค่าสูงกว่า $100 \text{ mmolCO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ พบว่าใบที่ 1 มีค่า g_m ต่ำที่สุดและใบที่ 2 มีค่า g_m สูงที่สุด (ภาพที่ 5b) แสดงว่าใบที่ 2 มีอัตราของปฏิกิริยา carboxylation สูงสุด

ภาพที่ 5c แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า Γ และ g_m สำหรับพืช C3 เช่น มะม่วง (สุนทรและคณะ, 2543) แดงกวา (ชาดา, 2547) และมะละกอ (คัทลียา, 2547) แสดงผลว่า ค่า g_m ที่สูงขึ้นส่งผลให้ค่า Γ ลดต่ำลง ความสัมพันธ์ Γ และ g_m ของใบกล้วยไม้มีลักษณะแตกต่างน่าสนใจ คือ มีการกระจายตัวเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่ค่า Γ แปรผกผันกับ g_m และ ซึ่งกลุ่มนี้เป็นความสัมพันธ์เหมือนที่พบในพืช C3 แต่อีกกลุ่มหนึ่งเป็นค่า Γ ที่ต่ำขณะที่ g_m ต่ำด้วย (สัญลักษณ์ในเส้นประ) ซึ่งให้เห็นว่าขณะที่วัดค่านี้กระบวนการสังเคราะห์แสงอยู่ในเฟสที่ 2 โดยที่ใบยังคงมีกิจกรรมของเอนไซม์ PEP carboxylase ซึ่งเป็นกระบวนการต่อเนื่องมาจากเฟสที่ 1 ทำให้ค่า CO_2 ส่วนหนึ่งมีค่าต่ำเข้าใกล้ศูนย์เหมือนพืช C4 การสังเคราะห์แสงในเฟสที่ 2 ของใบกล้วยไม้ในกรณีนี้จึงสะท้อนว่ามีการทำงานของทั้ง RuBisCO และ PEP carboxylase

ค่าเฉลี่ยของพารามิเตอร์ที่ได้จากการตอบสนองต่อความเข้มข้น CO_2 ที่ได้ของใบ ลำดับที่ 1-4 ได้แสดงในตารางที่ 2 ซึ่งสรุปได้ว่าการวัดการตอบสนองต่อความเข้มข้น CO_2 สามารถบอกพัฒนาการของลำดับใบได้อย่างชัดเจนว่า ใบลำดับที่ 1 มีพัฒนาการด้านตรึง CO_2 ต่ำสุด



ภาพที่ 4 ความสัมพันธ์ระหว่างค่า C_i ของใบกล้วยไม้ลำดับที่ 1-4 ของลำหน้า เมื่อกำหนดความเข้มข้น CO_2 ในกล่องบรรจุใบ (C_a) มีค่าเท่ากับ 0-400 $\mu\text{molCO}_2 \text{ mol}^{-1}$ กับ (a) อัตราสังเคราะห์แสงสุทธิ (b) ค่าน้ำไหลปากใบ และ (c) ความสัมพันธ์ระหว่าง ค่า C_i กับอัตราสังเคราะห์แสงสุทธิ เมื่อปรับเพิ่มความเข้มข้น CO_2 ในกล่องบรรจุใบ (C_a) ในช่วง 0-800 $\mu\text{molCO}_2 \text{ mol}^{-1}$ (เส้นตั้งคือค่า standard error)



ภาพที่ 5 (a) จุดชดเชยคาร์บอนไดออกไซด์ และ (b) ค่านาไหลเมสโซฟิลล์ของใบกล้วยไม้ ลำดับที่ 1-4 ของลำหน้า และ (c) ความสัมพันธ์ระหว่างจุดชดเชย คาร์บอนไดออกไซด์และค่านาไหลเมสโซฟิลล์ของใบกล้วยไม้ลำดับที่ 1-4 ของลำ หน้า จำนวนรวม 12 ใบ (d) ความสัมพันธ์ระหว่างจุดชดเชย คาร์บอนไดออกไซด์ และค่านาไหลเมสโซฟิลล์ ค่าในเส้นประแสดงช่วงที่มีการตรึง CO_2 ทั้งโดย RuBisCO และ PEP carboxylase (เส้นตั้งคือค่า standard error)

ที่ได้จากการวัดเส้นตอบสนองต่อความเข้มข้นคาร์บอนไดออกไซด์

ของใบตำแหน่งที่ 1-4 ของลำหน้า จำนวน 3 ลำ (จำนวน 3 ใบ $\pm$ standard deviation)

ลำดับใบ	จุดชดเชยคาร์บอนไดออกไซด์ Γ , $\mu\text{molCO}_2 \text{ mol}^{-1}$	ค่านำไหลเมสโซฟิลล์ g_m , $\text{mmolCO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$
1	67 ± 17^a	36 ± 2
2	29 ± 1^b	64 ± 26
3	39 ± 10^b	50 ± 21
4	29 ± 9^b	39 ± 3
P-value	*	ns
CV (%)	26.2	35.2

ค่าเฉลี่ยในแนวดิ่งที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างทางสถิติ โดยวิธี DMRT

* = มีค่าแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

2. อัตราแลกเปลี่ยนแก๊สและประสิทธิภาพการใช้แสงของ PSII ของใบในรอบวัน

การวัดกิจกรรมใบในรอบวัน โดยวัดต่อเนื่องนาน 24 ชั่วโมง แบ่งออกเป็น 2 ครั้ง ครั้งที่ 1 คือการวัดอัตราแลกเปลี่ยนแก๊สในใบและประสิทธิภาพการใช้แสงของ PSII วัดด้วยเครื่อง LI6400-40 (ห้ววัดชนิด fluorometer) เมื่อวันที่ 23-24 เมษายน 2547 ซึ่งจะแสดงผลการทดลองไว้ในส่วนนี้ และครั้งที่ 2 คือการวัดค่า pH, ความเข้มข้นตัวถูกละลาย (C_u) และประสิทธิภาพการใช้แสงของ PSII (ด้วยเครื่อง pulse amplitude modulation fluorometer รุ่น Mini-PAM) แสดงผลไว้ในผลการทดลองที่ 3

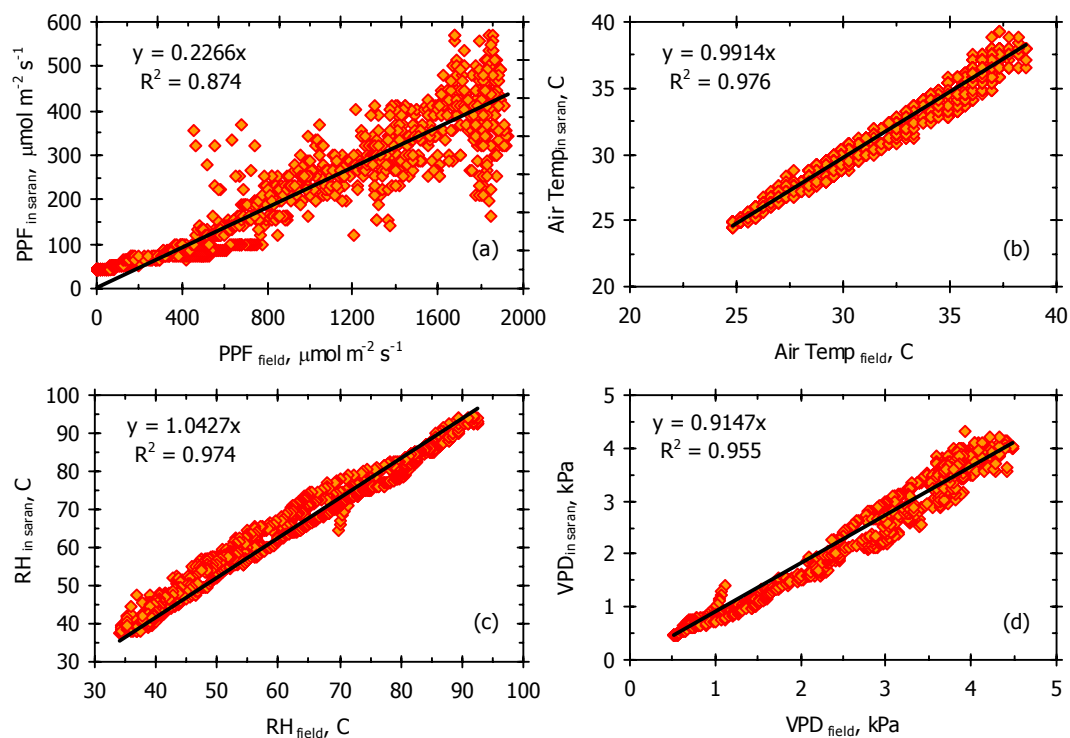
2.1 สภาพอากาศในรอบวัน

2.1.1 สภาพอากาศภายนอกและภายในเรือนทดลอง

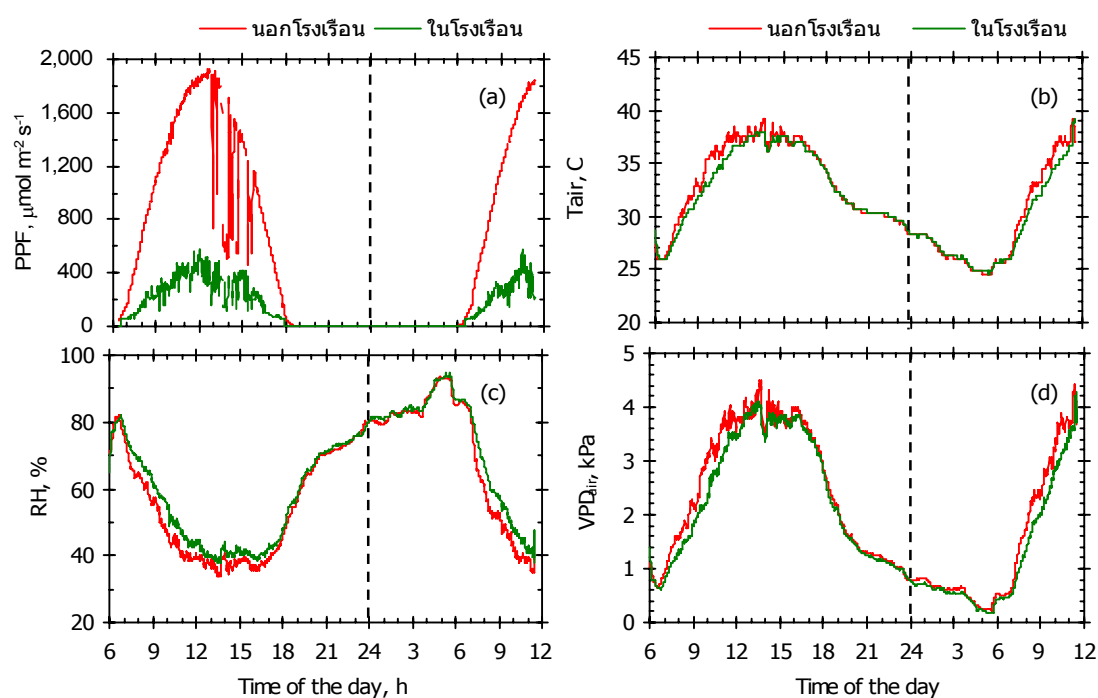
ต้นกล้วยไม้วางอยู่ในโรงเรือนทดลองขนาด 6 x 9 เมตร คลุมด้วยซาแรนพรางแสงสีดำ ซึ่งคลุมปิดทุกด้าน การคลุมโรงเรือนลักษณะดังกล่าวทำให้พรางแสงไปได้ถึง 77% คือ แสงสามารถส่องผ่านได้เพียง 23% (ภาพที่ 6a) ซึ่งสามารถลดอุณหภูมิและกักความชื้นไว้ในโรงเรือน จึงทำให้แรงดึงระเหยน้ำของอากาศในโรงเรือนต่ำกว่าภายนอกในช่วงต่ำกว่า 1 kPa (ภาพที่ 6b-d)

เมื่อเปรียบเทียบสภาพอากาศภายนอกและภายในโรงเรือนทั้งตอนกลางวัน คือช่วงมีแสง (ค่าความเข้มแสง, PPF > 0) และตอนกลางคืน (PPF = 0) (ภาพที่ 7a-d) พบว่า วันที่วัดกิจกรรมของใบ (เดือนเมษายน) เป็นวันที่มีสภาพอากาศภายนอกโดยทั่วไปค่อนข้างร้อน ค่าความเข้มแสงสูงสุดเกือบถึง $2000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ช่วงบ่ายมีเมฆเป็นระยะ ความเข้มภายนอกแสงเฉลี่ยทั้งวันอยู่ที่ประมาณ $1000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ขณะที่ในโรงเรือนได้รับความเข้มแสงสูงสุดไม่เกิน $600 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ความเข้มแสงเฉลี่ยเพียง $240 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ภายนอกโรงเรือนอุณหภูมิอากาศขึ้นสูงสุดถึง 38.6 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์อากาศลดลงต่ำสุดถึง 34 % ทำให้ค่าแรงดึงระเหยน้ำของอากาศสูงสุดตอนกลางวันมีระดับที่ 4.5 kPa ซึ่งถือว่าเป็นสภาพอากาศที่แห้งรุนแรง ภายในโรงเรือนมีค่าอุณหภูมิต่ำกว่าและความชื้นสัมพัทธ์สูงกว่าภายนอกเล็กน้อย เนื่องจากภายในโรงเรือนมีการถ่ายเทอากาศได้น้อย จึงกักเก็บความชื้นไว้ได้นานกว่า ทำให้ค่าแรงดึงระเหยน้ำของ

อากาศภายในโรงเรือนต่ำกว่าภายนอกเล็กน้อยทั้งตอนกลางวันและกลางคืน ค่าเฉลี่ยและค่าสูงสุด
และต่ำสุดของสภาพอากาศในรอบวันแสดงในตารางที่ 3



ภาพที่ 6 ความสัมพันธ์ระหว่างสภาพอากาศในและนอกเรือนทดลอง (a) ความเข้มแสง (b) อุณหภูมิอากาศ (c) ความชื้นสัมพัทธ์อากาศ และ (d) แรงดึงระเหยน้ำของอากาศ



ภาพที่ 7 สภาพอากาศในรอบวันที่มีการทดลองชุดแรก 23-24 เมษายน 2547) ทั้งในและนอกเรือนทดลอง (a) ความเข้มแสง (b) อุณหภูมิอากาศ (c) ความชื้นสัมพัทธ์อากาศ และ (d) แรงดึงระเหยน้ำของอากาศ

ตารางที่ 3 ค่าพารามิเตอร์ของสภาพอากาศในรอบวันของวันที่ 23 เมษายน 2547 กลางวันหมายถึงช่วงเวลาที่ค่าความเข้มแสง (PPF) มากกว่า 0 จำนวน 10.9 ชั่วโมง และกลางคืนหมายถึงช่วงเวลาที่ค่าความเข้มแสง (PPF) เท่ากับ 0 ตั้งแต่ดวงอาทิตย์ตกจนถึงก่อนดวงอาทิตย์ขึ้นในวันถัดไป จำนวน 12.6 ชั่วโมง

พารามิเตอร์	นอกโรงเรือน		ในโรงเรือน	
	กลางวัน	กลางคืน	กลางวัน	กลางคืน
ความเข้มแสงเฉลี่ย, $\mu\text{molPPF m}^{-2} \text{ s}^{-1}$	1018	0	236	0
ความเข้มแสงสูงสุด, $\mu\text{molPPF m}^{-2} \text{ s}^{-1}$	1927	0	570	0
ความเข้มแสงรวม, molPPF m^{-2}	44	0	10	0
อุณหภูมิเฉลี่ย, C	34.8	28.2	34.5	28.2
อุณหภูมิสูงสุด, C	38.6	32.5	37.9	32.4
อุณหภูมิต่ำสุด, C	26.2	24.8	26.0	24.4
ความชื้นสัมพัทธ์เฉลี่ย, %	48	77	50	79
ความชื้นสัมพัทธ์สูงสุด, %	81	93	82	95
ความชื้นสัมพัทธ์ต่ำสุด, %	34	52	38	55
แรงดันระเหยน้ำเฉลี่ย, kPa	3.10	0.93	2.86	0.88
แรงดันระเหยน้ำสูงสุด, kPa	4.50	2.35	4.12	2.20
แรงดันระเหยน้ำต่ำสุด, kPa	0.64	0.23	0.59	0.17

2.1.2 สภาพอากาศที่ใบได้รับ

ใบกล้วยไม้ที่ใช้วัดแบ่งออกเป็น 2 ชุดคือ 1. ชุดใบตามจำนวน 1 ใบ ซึ่งใช้วัดติดตามการเปลี่ยนแปลงของพารามิเตอร์ต่างๆ ทุกชั่วโมง และ 2. ชุดใบตัด จำนวน 23 ใบ คือใบที่เปลี่ยนใหม่ในรอบและใช้วัดค่าพารามิเตอร์เช่นเดียวกับชุดใบตาม

2.1.2.1 ความเข้มแสงแดด

ทั้งชุดใบตามและใบตัดได้รับแสงสูงสุดไม่เกิน $250 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ เนื่องจากอยู่ในเรือนทดลองที่มีการพร่าแสง (ภาพที่ 8a)

2.1.2.2 ความเข้มข้นคาร์บอนไดออกไซด์

ความเข้มข้นคาร์บอนไดออกไซด์ในบรรยากาศตอนกลางวันโดยเฉลี่ย มีค่าประมาณ $380 \mu\text{molCO}_2 \text{ mol}^{-1}$ และค่อยๆเพิ่มสูงขึ้นในตอนกลางวัน มีค่าสูงสุดถึง $475 \mu\text{molCO}_2 \text{ mol}^{-1}$ เนื่องจากสิ่งมีชีวิตโดยรอบมีการหายใจที่ปลดปล่อยคาร์บอนไดออกไซด์ (ภาพที่ 8b)

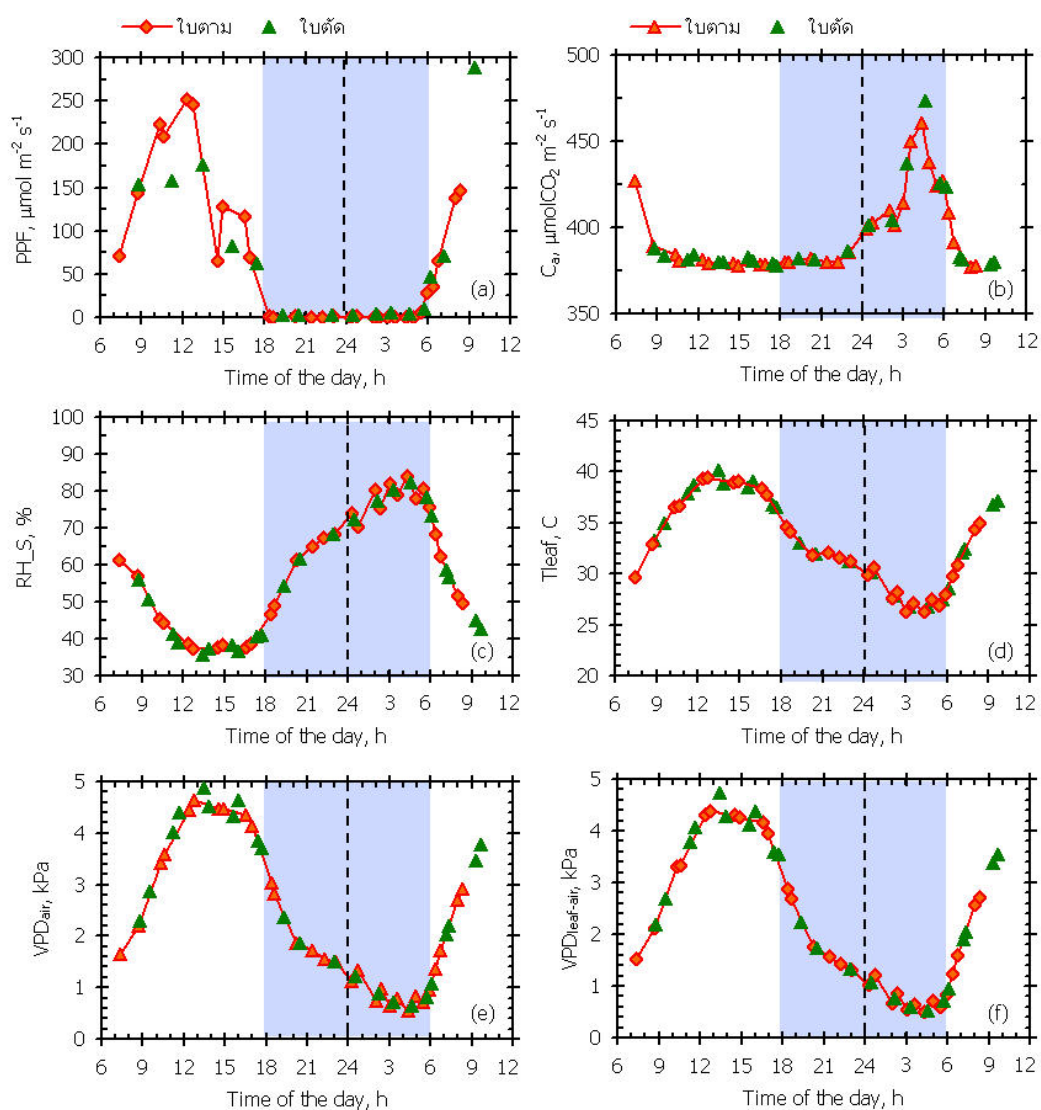
2.1.2.3 อุณหภูมิใบและความชื้นสัมพัทธ์อากาศ

อุณหภูมิใบแปรผันตามอุณหภูมิอากาศ ตอนกลางวันใบมีอุณหภูมิเกิน 35 เซลเซียสและเพิ่มขึ้นสัมพันธ์ที่ต่ำกว่า 40% หลังจากหมดแสง อุณหภูมิใบจะลดลงต่ำสุดเหลืออยู่ประมาณ 25 เซลเซียส อุณหภูมิใบในรอบวันจึงแกว่งได้กว้างถึง 10 เซลเซียส แม้แสงที่ใบได้รับจะมีระดับต่ำและอยู่กับความชื้นสัมพัทธ์ที่เพิ่มขึ้นจนถึง 85 % (ภาพที่ 8c-d)

2.1.2.4 แรงดึงระเหยน้ำของอากาศ (VPD_{air}) และแรงดึงคายน้ำจากใบสู่อากาศ ($\text{VPD}_{\text{leaf-air}}$)

ค่าแรงดึงระเหยน้ำของอากาศ (VPD_{air}) คำนวณจากผลต่างระหว่างแรงดันไอน้ำอิ่มตัวเทียบกับแรงดันไอน้ำในบรรยากาศ ค่าที่สูงบ่งถึงสภาพแห้งของอากาศ ในขณะที่แรงดึงคายน้ำจากใบสู่อากาศ ($\text{VPD}_{\text{leaf-air}}$) คำนวณจากผลต่างระหว่างค่าแรงดันไอน้ำภายในใบเทียบกับแรงดันไอน้ำในบรรยากาศ ค่า $\text{VPD}_{\text{leaf-air}}$ บ่งถึงแรงขับเคลื่อนในการคายน้ำของใบพืช

ค่า $VPD_{leaf-air}$ ตอนกลางวันสูงเกิน 4 kPa ซึ่งถือว่าไปอยู่ในสภาพอากาศที่แห้งรุนแรง จากนั้นค่า $VPD_{leaf-air}$ จึงค่อยๆ ลดลงต่ำกว่า 1 kPa หลัง 0.0 น. (ภาพที่ 8e-f)



ภาพที่ 8 สภาพอากาศที่ใบได้รับขณะวัดอัตราแลกเปลี่ยนแก๊สที่ได้จากเครื่อง LI6400-40 (หัววัดแบบ fluorometer) (a) ความเข้มแสง (b) ความเข้มข้นคาร์บอนไดออกไซด์ในอากาศ (c) ความชื้นสัมพัทธ์อากาศภายในหัววัดใบ (d) อุณหภูมิใบ (e) แรงดึงระเหยน้ำของอากาศ และ (f) แรงดึงคายน้ำจากใบสู่อากาศ แยกใบวัดออกเป็น 2 ชุด ใบตามคือใบเดิมที่วัดต่อเนื่องและใบตัดคือใบที่วัดเปลี่ยนใหม่ทุกรอบ

2.2 อัตราตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ อัตราคายน้ำและค่าน้ำไหลปากใบ

2.2.1 อัตราตรึงคาร์บอนไดออกไซด์

ช่วงเวลากลางวันซึ่งมีแสง พบว่าใบกล้วยไม้มีอัตราตรึงคาร์บอนไดออกไซด์สุทธิต่ำกว่า 0 แสดงให้เห็นว่ามีการปลดปล่อยคาร์บอนไดออกไซด์ ออกมามากกว่ามีการตรึง อัตราตรึงคาร์บอนไดออกไซด์สุทธิมีค่าเป็นบวกเริ่มตั้งแต่เวลาประมาณ 22 น. (ภาพที่ 9b) โดยมีอัตราตรึงสูงสุดอยู่ที่ประมาณ $5-9 \mu\text{molCO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ในช่วงเวลา 3-4 น. การตรึงคาร์บอนไดออกไซด์เกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องจนถึงประมาณ 6 น. แล้วจึงมีอัตราลดลงอย่างรวดเร็วจนมีค่าสุทธิเป็นลบหลังจากเริ่มมีแสง

ค่าสัดส่วนความเข้มข้นคาร์บอนไดออกไซด์ภายในใบกับอากาศ (C_i/C_a) ของตอนกลางวันมีค่าเกิน 1 (ภาพที่ 9c) ซึ่งหมายถึงความเข้มข้นคาร์บอนไดออกไซด์ภายในใบมีค่าสูงกว่าความเข้มข้นคาร์บอนไดออกไซด์ในอากาศ ค่าเฉลี่ย C_i/C_a ตอนกลางวันมีค่าเท่ากับ 1.2 เมื่อเทียบกับมะละกอซึ่งเป็นพืช C3 มีค่าประมาณ 0.7 (กัทลิยา, 2547) และในพืช C4 มีค่าประมาณ 0.4-0.6 (Jones, 1992; Zhang and Nobel, 1996) แสดงให้เห็นว่าใบกล้วยไม้มีการหายใจสูง ขณะที่เวลากลางคืนมีค่าเฉลี่ย C_i/C_a เท่ากับ 0.5 เนื่องจากใบมีการตรึง CO_2 ทำให้ C_i/C_a มีค่าลดต่ำลงและมีค่าใกล้เคียงกับพืช C4

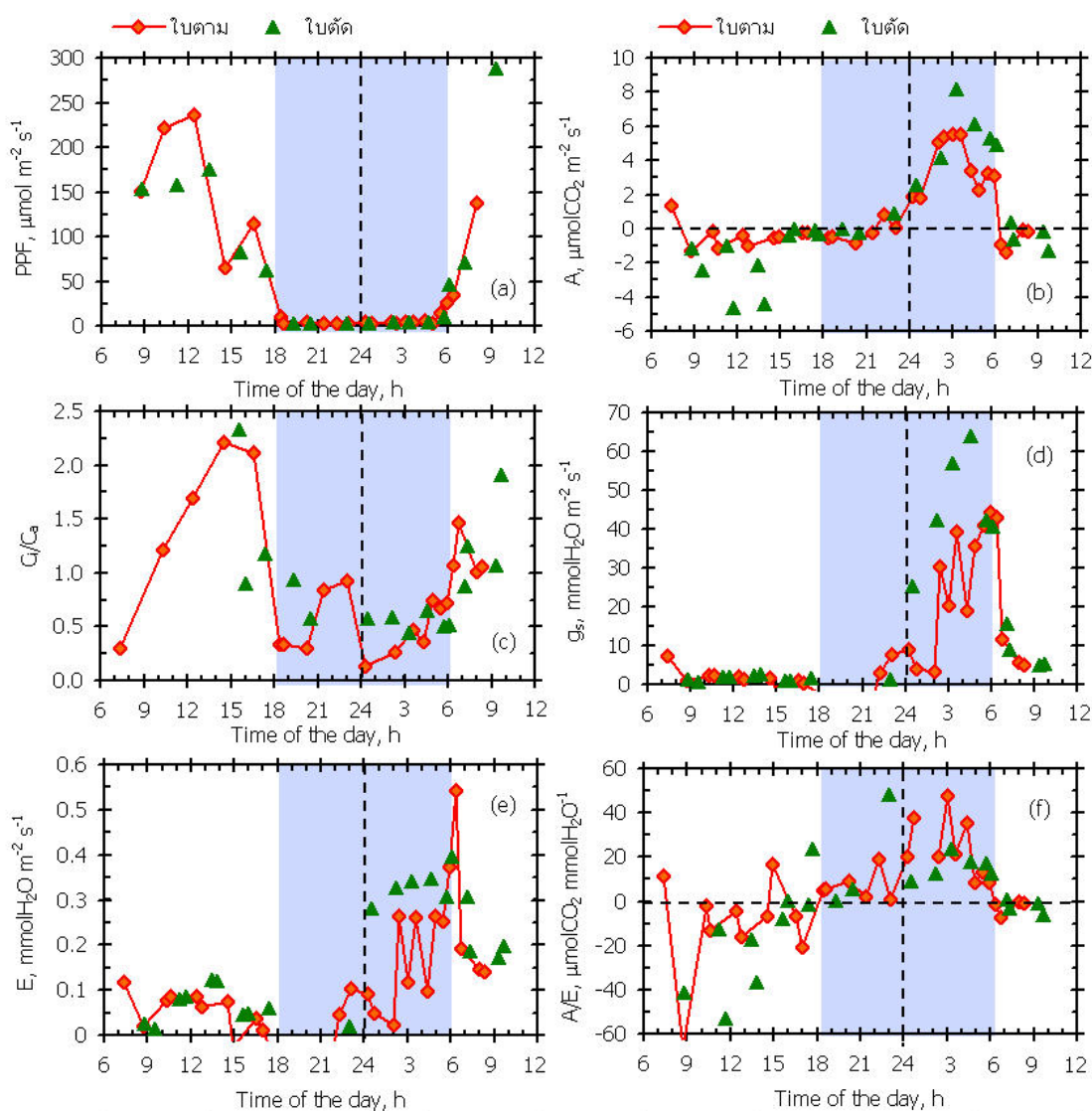
2.2.2 ค่าน้ำไหลปากใบ

ค่าน้ำไหลปากใบที่มีค่ามากสะท้อนถึงปากใบเปิดกว้าง ค่าน้ำไหลปากใบที่เป็นปัจจัยควบคุมการแลกเปลี่ยนแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์และไอน้ำผ่านปากใบ ใบกล้วยไม้มีค่าน้ำไหลปากใบต่ำมากในช่วงมีแสง (ใกล้เคียง $0 \text{ mmolH}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) และมีค่าน้ำไหลปากใบสูงขึ้นพร้อมกับมีการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ตอนเวลาประมาณ 22 น. ค่าน้ำไหลปากใบสูงสุดมีค่าในช่วง $40-70 \text{ mmolH}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ เกิดระหว่างเวลา 5-6 น. (ภาพที่ 9d) ค่าน้ำไหลปากใบของกล้วยไม้ถือว่าเป็นค่าที่ต่ำมากเมื่อเทียบกับพืช C3 ที่เปิดปากใบและตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ตอนกลางวัน และมีค่าน้ำไหลปากใบเกิน $50 \text{ mmolH}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ถึง $800 \text{ mmolH}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ เช่น ส้มเขียวหวาน (สุนทรีและคณะ, 2543) , มะละกอ (กัทลิยา, 2547) และพริกชี้ฟ้า (สุทิน, 2547)

2.2.3 อัตราคายน้ำ

อัตราคายน้ำของใบกล้วยไม้ไม่เป็นไปตามแรงดึงคายน้ำที่สูงขึ้นในตอนกลางวัน คือมีอัตราคายน้ำน้อยมาก (ต่ำกว่า $0.10 \text{ mmolH}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) (ภาพที่ 9e) ทั้งนี้เนื่องมาจากมีค่าน้ำไหลปากใบต่ำ ปากใบที่ปิดแคบจะจำกัดการเสียน้ำจากใบ พบว่าการเสียน้ำจากใบกล้วยไม้เกิดขึ้นในช่วงเวลากลางคืนที่ปากใบเปิดมาก แม้แรงดึงคายน้ำจะมีค่าต่ำ (ต่ำกว่า 1 kPa) อย่างไรก็ดี อัตราคายน้ำเฉลี่ยตอนกลางคืนที่เท่ากับ $0.23 \text{ mmolH}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ นั้นถือว่าเป็นอัตราที่ต่ำกว่าพืช C3 และ C4 ทั่วไป เช่น มะละกอ มีค่าอัตราคายน้ำตอนกลางวันเฉลี่ยประมาณ $8 \text{ mmolH}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ดังนั้นหากพิจารณาสัดส่วนระหว่างอัตราตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ต่ออัตราคายน้ำ (ภาพที่ 8f) จะพบว่าใบกล้วยไม้มีประสิทธิภาพการใช้น้ำสูงมากได้ถึง $50 \text{ } \mu\text{molCO}_2 \text{ mmolH}_2\text{O}^{-1}$ และมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ $16\text{--}20 \text{ } \mu\text{molCO}_2 \text{ mmolH}_2\text{O}^{-1}$ ซึ่งนับว่าสูงกว่ามาก เมื่อเทียบกับพืช C3 เช่น ส้มเขียวหวานที่มีค่าเฉลี่ย $3 \text{ } \mu\text{molCO}_2 \text{ mmolH}_2\text{O}^{-1}$ (สุนทรี และคณะ, 2544) และมะละกอที่มีค่าเฉลี่ย $2 \text{ } \mu\text{molCO}_2 \text{ mmolH}_2\text{O}^{-1}$ (คัทลียา, 2547)

ข้อมูลการวัดอัตราแลกเปลี่ยนแก๊สในรอบวันของใบกล้วยไม้ สามารถสรุปค่าเฉลี่ยของแต่ละพารามิเตอร์ได้ดังแสดงในตารางที่ 4 ซึ่งแยกตามเฟสที่มีการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์จากภายนอก (เฟสที่ 1-2) และเฟสที่ไม่มีการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์จากภายนอก (เฟสที่ 3)



ภาพที่ 9 ค่าที่วัดได้ของใบกล้วยไม้สกุลหวาย พันธุ์ Sonia BOM JO ในรอบวันของวันที่ 23-24 เมษายน 2547 (a) ความเข้มแสง (b) อัตราตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ (c) สัดส่วนของคาร์บอนไดออกไซด์ในช่องว่างใบกับในอากาศ (d) ค่าน้ำไหลปากใบ (e) อัตราคายน้ำ และ (f) สัดส่วนอัตราตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ต่ออัตราคายน้ำ แยกใบวัดออกเป็น 2 ชุด ใบตามคือใบเดิมที่วัดต่อเนื่อง และใบตัดคือใบที่วัดเปลี่ยนใหม่ทุกรอบ

ตารางที่ 4 ค่าเฉลี่ยในรอบวันของอัตราแลกเปลี่ยนแก๊สของใบกล้วยไม้สกุลหวายที่วัดด้วยเครื่อง LI6400-40 หัววัดชนิด Fluorometer ในวันที่ 23-24 เมษายน 2547

พารามิเตอร์	ช่วงเวลาวัดตัวอย่างใบ			
	22-7.30 น. (เฟสที่ 1-2)		7.30-18 น. (เฟสที่ 3)	
	ใบตาม	ใบตัด	ใบตาม	ใบตัด
PPF_i , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	3	11	114	127
C_a , $\mu\text{molCO}_2 \text{mol}^{-1}$	416	422	381	382
$VPD_{\text{leaf-air}}$, kPa	0.86	0.85	3.70	3.74
A , $\mu\text{molCO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$	3.2	4.6	-0.4	-1.8
E , $\text{mmolH}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$	0.16	0.29	0.06	0.07
g_s , $\text{mmolH}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$	21	39	2	2
A/E , $\mu\text{molCO}_2 \text{mmolH}_2\text{O}^{-1}$	19.7	15.9	-6.4	-26.6
C_i/C_a	0.5	0.6	1.2	1.2

PPF_i = ความเข้มแสงภายในหัววัดใบ , C_a = ความเข้มข้นคาร์บอนไดออกไซด์ในบรรยากาศ,
 $VPD_{\text{leaf-air}}$ = แรงดึงคายน้ำ , A = อัตราตรึงคาร์บอนไดออกไซด์สุทธิ, E = อัตราคายน้ำ, g_s = ค่าน้ำ
 ไหลปากใบ และ A/E = สัดส่วนอัตราตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ต่ออัตราคายน้ำ C_i/C_a = สัดส่วน
 ความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ภายในใบกับบรรยากาศ แยกใบวัดออกเป็น 2 ชุด ใบตามคือ
 ใบเดิมที่วัดต่อเนื่อง และใบตัดคือใบที่เปลี่ยนใหม่ทุกรอบการวัด

2.2.4 ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราตรึงคาร์บอนไดออกไซด์กับปัจจัยควบคุม

ผลการศึกษา แสดงให้เห็นว่า ใบกล้วยไม้เริ่มตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ในช่วงมืด (เฟส 1) ไปจนถึงช่วงเช้าก่อนมีแสงแดดจัด ดังนั้นแสงไม่ใช่ตัวกระตุ้นหรือเป็นปัจจัยจำกัดการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ (ภาพที่ 10a) ซึ่งต่างจากพืช C3 และ C4 ทั้งนี้เนื่องจากพืช CAM ตรึง CO_2 ในเฟสที่ 1 ด้วยเอนไซม์ PEP carboxylase ที่ทำงานได้โดยไม่ต้องใช้แสงเป็นตัวกระตุ้น ดังนั้นอัตราตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ในช่วงมืด จึงถูกควบคุมด้วยค่าน้ำไหลปากใบ (ภาพที่ 10b) ซึ่งสัมพันธ์กันเป็นเชิงเส้นตรงในช่วงเฟสที่ 1-2 ในเวลาต่อมาขณะที่เริ่มมีแสง ภายในช่วงเวลาสั้นนี้ แสงกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ RuBisCO ขณะที่ค่าน้ำไหลปากใบยังสูงอยู่ ทำให้ CO_2 ภายนอกแพร่เข้าในใบและถูกตรึงโดยตรงตามวิถี Calvin cycle ในช่วงนี้ เอนไซม์ PEP carboxylase ทำงานลดลง जबกระทั่งแดดจัดขึ้นและปากใบปิดแคบ จึงทำให้คาร์บอนไดออกไซด์จากภายนอกเข้าสู่ใบโดยตรงไม่ได้ในช่วงความเข้มแสงสูง เอนไซม์ RuBisCO เพียงอย่างเดียวที่ทำหน้าที่ตรึง CO_2 ที่สลายจากกรดมาลิกภายในใบ (เฟสที่ 3) ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่า ค่าน้ำไหลปากใบเป็นตัวควบคุมการตรึง CO_2 ของเฟสที่ 1-2

2.2.5 ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราคายน้ำกับปัจจัยควบคุม

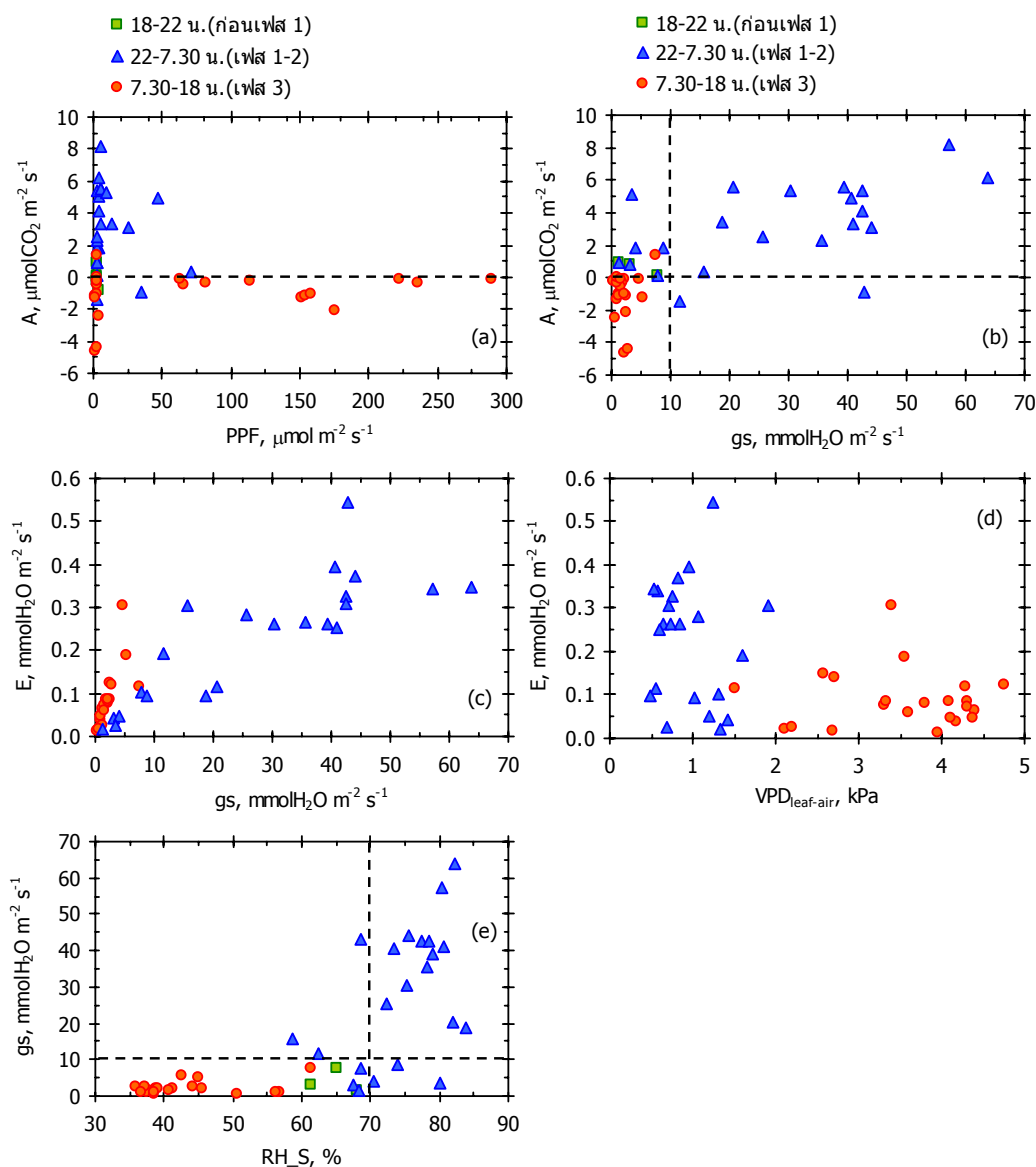
ค่าน้ำไหลปากใบเป็นปัจจัยหลักในการควบคุมการเสียน้ำของใบกล้วยไม้สกุลหวาย (ภาพที่ 9c) จะเห็นได้ว่า ตอนกลางวันแม้ว่าจะมีแรงขับเคลื่อนในการคายน้ำสูง ($\text{VPD}_{\text{leaf-air}}$) แต่พืชยังคงคายน้ำในอัตราต่ำมาก (ภาพที่ 10d) เนื่องจากพืชใช้กลไกการปิดปากใบให้แคบเพื่อลดการเสียน้ำออกจากใบ ขณะที่ปากใบที่เปิดกว้างในช่วงกลางคืน ทำให้อัตราคายน้ำสูงขึ้นแม้มีแรงดึงคายน้ำต่ำอยู่ในช่วง 0.5-1.0 kPa

2.2.6 ปัจจัยที่กระทบค่าน้ำไหลปากใบ

ค่าน้ำไหลปากใบตอบสนองต่อระดับความชื้นสัมพัทธ์อากาศอย่างชัดเจนที่สุดเมื่อเทียบกับอุณหภูมิอากาศและแรงดึงระเหยน้ำของอากาศ (ภาพที่ 10e) โดยพบว่า ที่ค่าความชื้นสัมพัทธ์ตั้งแต่ 70% ขึ้นไปมีผลให้ค่าน้ำไหลปากใบเพิ่มสูงขึ้น ค่าน้ำไหลปากใบมีค่าสูงสุดขณะที่ความชื้นสัมพัทธ์มีค่าประมาณ 80% แสดงให้เห็นว่า ค่าความชื้นสัมพัทธ์อากาศในช่วง 70-80% เป็นระดับที่ควบคุมการเปิดปากใบในช่วงกลางคืนที่ทำให้เกิดการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ของใบ

โดยธรรมชาติของพืช CAM ซึ่งมีวิวัฒนาการเติบโตในที่ที่ได้น้ำอย่างจำกัด ทำให้ต้องพัฒนากลไกที่ทำให้มีการเปิดปากใบในช่วงที่อากาศมีความชื้นสัมพัทธ์สูง และมีแรงดึงคายน้ำต่ำ เพื่อให้มีการเสียน้ำน้อยที่สุดต่อหนึ่งหน่วยการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ ทำให้พืช CAM มีประสิทธิภาพการใช้น้ำสูงกว่าพืชที่เปิดปากใบตอนกลางวัน

อัตราแลกเปลี่ยนแก๊สของใบกล้วยไม้ถูกควบคุมอย่างมากด้วยระดับความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศ ระดับวิกฤตที่มีผลต่อการปิดปากใบคือที่ระดับความชื้นสัมพัทธ์ที่ต่ำกว่า 70 %



ภาพที่ 10 ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราแลกเปลี่ยนแก๊สกับปัจจัยควบคุม โดยแบ่งตามเฟสของการตรึง CO_2 (a) อัตราตรึงคาร์บอนไดออกไซด์กับความเข้มแสง (b และ c) คำนวณหาปากใบควบคุมอัตราตรึงคาร์บอนไดออกไซด์และอัตราคายน้ำ (d) อัตราคายน้ำกับแรงดึงคายน้ำ และ (e) ค่าความชื้นสัมพัทธ์ควบคุมคำนวณหาปากใบ

2.3 ประสิทธิภาพการใช้แสงของ PSII ในรอบวัน

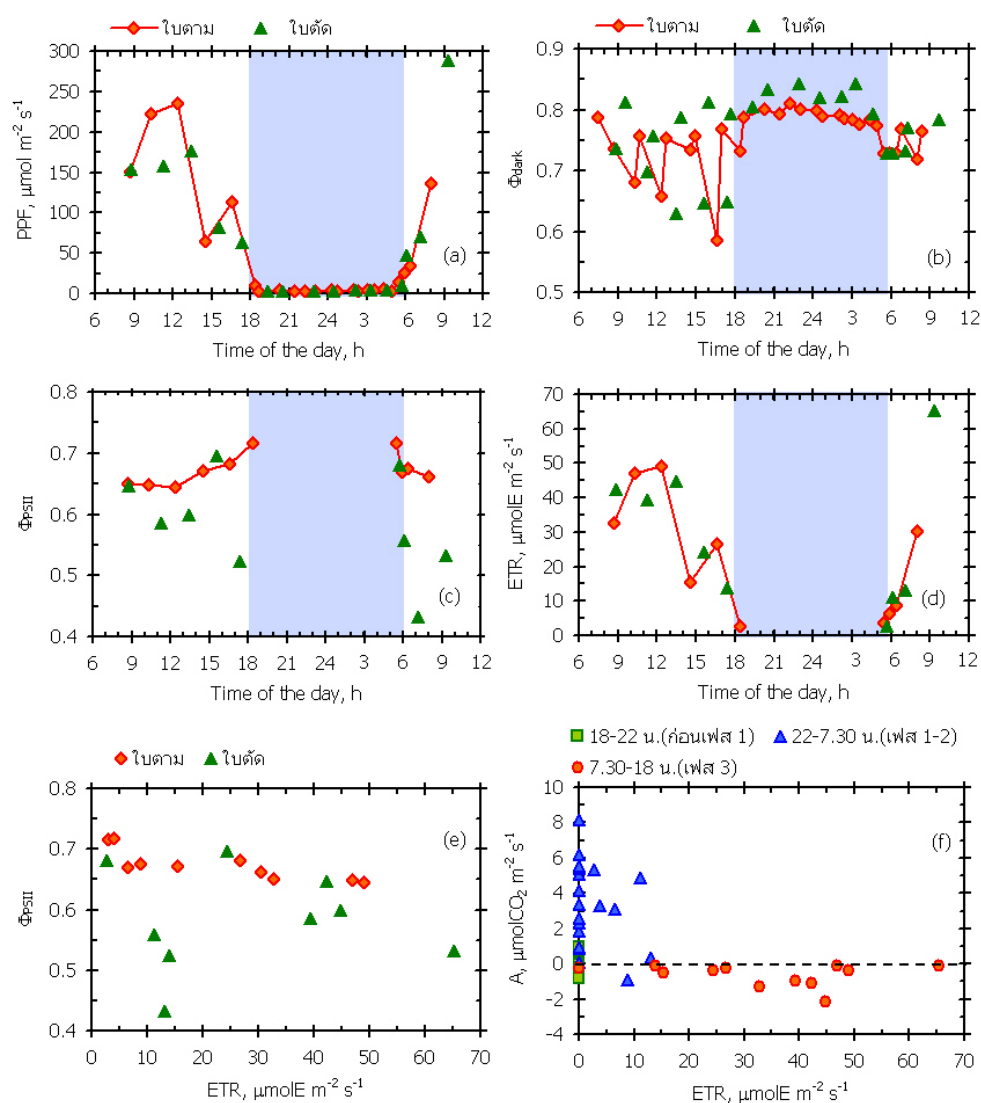
ประสิทธิภาพการใช้แสงของ PSII ในรอบวันวัดทั้งสิ้น 2 ครั้ง คือ ครั้งที่ 1 วันที่ 23-24 เมษายน 2547 ด้วยเครื่อง LI6400-40 หัววัดชนิด fluorometer และครั้งที่ 2 วันที่ 9-10 กุมภาพันธ์ 2548 ด้วยเครื่อง pulse amplitude modulation fluorometer รุ่น Mini-PAM ซึ่งในที่นี้จะแสดงผลในส่วน of ครั้งที่ 1 ก่อนซึ่งเป็นส่วนที่มีข้อมูลอัตราแลกเปลี่ยนแก๊สในรอบวันประกอบด้วย (ผลการทดลองที่ 2.2)

ค่า Φ_{dark} เป็นดัชนีที่แสดงถึงประสิทธิภาพการถ่ายทอดพลังงานแสงระหว่างระบบรับแสง (Light harvesting complex, LHCII) กับศูนย์กลางปฏิกิริยา (reaction centers) ของระบบ photosystem II (RCII) กล่าวคือแสดงความสมบูรณ์ของโครงสร้างของ PSII (intactness of PSII) ใบที่มีสภาพปกติและสมบูรณ์จะมีค่าประมาณ 0.8-0.83 หมายถึง แสงที่ใบดูดกลืน ร้อยละ 80-83 ถูกนำไปใช้ในกระบวนการแยกอิเล็กตรอน (photochemistry) ค่า Φ_{dark} ที่ต่ำกว่าระดับนี้จะสะท้อนถึงการเสียรูป (configuration) ของระบบรับแสง (Rosenqvist and Kooten, 2003) ภายใต้สภาพความเข้มแสงที่ใบได้รับในรอบวันของใบตามและใบดัด (ภาพที่ 11a ข้อมูลชุดเดียวกับภาพที่ 9a) ค่า Φ_{dark} ของใบ (ภาพที่ 11b) มีค่าลดลงในช่วงที่มีความเข้มแสงสูงในรอบวันระหว่างเวลา 12-16 น. โดยมีค่าตกลงต่ำสุดประมาณ 0.6 หมายความว่าประสิทธิภาพการใช้แสงสูงสุดลดลงเหลือเพียง 60% สะท้อนว่าระบบรับแสงได้รับความเสียหายแต่เป็นความเสียหายแบบชั่วคราว เนื่องจากค่า Φ_{dark} กลับมีค่าสูงขึ้นใหม่ได้หลังจากเวลา 16 น.

ค่า Φ_{PSII} เป็นค่าที่สะท้อนประสิทธิภาพการเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนผ่าน PSII เพื่อใช้ในกระบวนการสังเคราะห์แสง ภาพที่ 11c และ d แสดงค่า Φ_{PSII} และอัตราเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอน (ETR) ในช่วงกลางวัน Φ_{PSII} มีค่าประมาณ 0.5-0.65 แสดงว่าในช่วงกลางวันซึ่งมีแสงแดดจัด ระบบรับแสงสามารถนำพลังงานแสงไปใช้ในกระบวนการสังเคราะห์แสงได้ร้อยละ 50-65 เนื่องจากเมื่อระบบรับแสงได้รับแสงไปแล้วส่วนหนึ่งทำให้เกิดการแตกตัวของน้ำและผลิตอิเล็กตรอนที่ RCII และเมื่อใบได้รับความเข้มแสงสูงขึ้นโดยเฉพาะในช่วงเที่ยงวัน ทำให้มีการผลิตและปลดปล่อยอิเล็กตรอนเพิ่มขึ้น สัดส่วนของ quinone A (Q_A) ที่ถูกรีดิวซ์เกิดเพิ่มขึ้น จึงทำให้สัดส่วนของแสงที่ใช้ในกระบวนการ photochemistry มีค่าลดลงดังความสัมพันธ์ในภาพที่ 11e จากนั้นเมื่อเริ่มเข้าช่วงมืด อิเล็กตรอนที่ถ่ายเทในระบบมีลดลง ค่า Φ_{PSII} จึงสูงกลับคืนจนถึง 0.7

ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนกับอัตราตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ (ภาพที่ 11f) แสดงให้เห็นว่าอัตราตรึงคาร์บอนไดออกไซด์มีค่าสูงสุดเกิดขึ้นในช่วงที่ไม่มีแสง หรือเฟสที่ 1 ซึ่งค่าน้ำไหลปากใบสูง (ผลการทดลองที่ 2.2) แสดงว่าใบมีการนำเข้าคาร์บอนไดออกไซด์ตลอดช่วงเวลาที่ไม่มีแสงจนถึง 7 น. (เฟสที่ 2) จากนั้นเมื่อเข้าสู่เฟสที่ 3 ค่าน้ำไหลปากใบต่ำทำให้มีการแพร่เข้าของคาร์บอนไดออกไซด์สู่ใบจากภายนอกน้อยลงมาก การตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ (carboxylation) ในช่วงเฟสที่ 3 ใน calvin cycle จึงไม่สามารถวัดได้ด้วยวิธีการวัดอัตราแลกเปลี่ยนแก๊สระหว่างใบกับอากาศภายนอกตามหลักการของเครื่องวัด LI6400 แต่กระบวนการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดขึ้นภายในคลอโรพลาสต์สามารถยืนยันได้จากค่า ETR ที่สูงในช่วงมีแสงว่ามีอัตราการเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนในระบบรับแสง PSII จริง ลักษณะข้อมูลเช่นนี้ต่างจากของมะละกอ (คัทลียา, 2547) และพริกชี้หนู (สุทิน, 2547) ซึ่งเป็นพืช C3 ที่พบว่าค่า ETR มีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงกับอัตราแลกเปลี่ยนแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์

ตารางที่ 5 ได้สรุปค่าเฉลี่ยพารามิเตอร์ประสิทธิภาพการใช้แสงของ PSII โดยแยกตามเฟสที่มีการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์จากภายนอก (เฟสที่ 1-2) และเฟสที่ไม่มีการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์จากภายนอก (เฟสที่ 3)



ภาพที่ 11 การเปลี่ยนแปลงในรอบวันของใบกล้วยไม้ วันที่ 23-24 เมษายน 2547 โดย
 เครื่องวัด LI6400-40 ชนิดหัววัด fluorometer (a) ความเข้มแสงภายในหัววัดใบ
 (b) ประสิทธิภาพการใช้แสงสูงสุดในกระบวนการสังเคราะห์แสง (c)
 ประสิทธิภาพการใช้แสงของใบในสภาพมีแสง และ (d) อัตราเคลื่อนย้าย
 อิเล็กตรอน e) ความสัมพันธ์ระหว่างประสิทธิภาพการใช้แสงใบในสภาพมีแสง
 กับอัตราเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอน และ (f) ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราตรึง
 คาร์บอนไดออกไซด์กับอัตราเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนของทั้งชุดใบตามและใบตัด
 โดยแบ่งข้อมูลตามเฟสของการตรึง CO_2 แยกใบวัดออกเป็น 2 ชุด ใบตามคือใบ
 เดิมที่วัดต่อเนื่อง และใบตัดคือใบที่เปลี่ยนใหม่ทุกรอบ

ตารางที่ 5 ค่าเฉลี่ยของประสิทธิภาพการใช้แสงและอัตราการสังเคราะห์คาร์บอนไดออกไซด์ในแต่ละเฟส
 ที่ได้จากเครื่อง LI6400-40 หัววัดชนิด leaf chamber fluorometer แยกใบวัดออกเป็น 2
 ชุด ใบตามคือใบเดิมที่วัดต่อเนื่อง และใบตัดคือใบที่เปลี่ยนใหม่ทุกรอบ (วัดวันที่ 23-24
 เมษายน 2547)

พารามิเตอร์	ช่วงเวลาวัดตัวอย่างใบ			
	22-7.30 น. (เฟสที่ 1-2)		7.30-18 น. (เฟสที่ 3)	
	ใบตาม	ใบตัด	ใบตาม	ใบตัด
PPF, $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	25	30	134	142
ETR, $\mu\text{mol E m}^{-2} \text{s}^{-1}$	6	7	29	35
Φ_{PSII}	0.61	0.62	0.54	0.57
Φ_{dark}	0.79	0.82	0.76	0.78

3. การเปลี่ยนแปลงค่า pH และความเข้มข้นตัวถูกละลายของสารละลายที่คั่นจากใบที่สะท้อนการเปลี่ยนแปลงของปริมาณกรดรวมในใบในรอบวัน

3.1 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกรดรวมในใบ (total titratable acidity) และค่า pH ของสารละลายที่คั่นจากใบ

การวัดปริมาณกรดรวมในใบ (total titratable acidity) กับค่า pH ของสารละลายที่คั่นได้จากใบเป็นการหาความสัมพันธ์การลดลงของค่า pH ที่ได้จากการสารละลายที่คั่นได้จากใบ กับปริมาณการสร้างและสะสมของโปรตอน ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกรดรวมของสารละลายใบ กับค่า pH ของสารละลายของใบ (ภาพที่ 12) มีรูปแบบเป็น polynomial กำลังสอง คือ $[H^+] = 0.0742 (pH)^2 - 0.7802 (pH) + 2.0835$ ($R^2 = 0.955$ d.f. = 23) ในที่นี้จึงเป็นการยืนยันได้ว่าค่า pH ที่ลดต่ำลงนั้นมาจากปริมาณ H^+ ($mmol\ g^{-1}$) ที่ถูกสร้างขึ้นภายในเซลล์ของใบ โดยช่วง pH 3.5-4.5 ปริมาณ H^+ ที่เพิ่มขึ้นจะทำให้ค่า pH ลดลงเป็นแนวเส้นตรง (มีรูปสมการคือ $[H^+] = -0.225 (pH) + 1.057$ ค่า $R^2 = 0.926$) พืช CAM ทุกชนิดมีการสะสมกรดในตอนกลางคืนไว้ในส่วนของแวคิวโอลของเซลล์ ซึ่งกรดส่วนใหญ่อยู่ในรูปของกรดมาลิกและกรดซิตริก กล้วยไม้สกุลหวาย (*Dendrobium sp.*) ที่พบอยู่ในประเทศไทย มีการสะสมกรดมาลิกในปริมาณที่มากกว่ากรดซิตริกในตอนกลางคืน (จารุวัตร, 2546)

3.2 อัตราเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอน (ETR) ในรอบวัน

ใบกล้วยไม้ทั้ง 4 ลำดับ ทั้งชุดใบตามและใบตัดได้รับความเข้มแสงสูงสุดในรอบวันอยู่ที่ประมาณ $300\ \mu molPPF\ m^{-2}\ s^{-1}$ โดยมีแสงแดดในช่วง 9-18 น. อัตราเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนในรอบวันมีค่าแปรผันไปตามความเข้มแสงที่ใบได้รับซึ่งสะท้อนการทำงานของระบบรับแสง (ภาพที่ 13a-d) รวมถึงพารามิเตอร์อื่นๆ แสดงผลลักษณะเดียวกันกับการวัดประสิทธิภาพการใช้แสงในรอบวันครั้งที่ 1

3.3 ค่า pH และความเข้มข้นตัวถูกละลาย (C_s) ของสารละลายที่คั่นได้จากใบในรอบวัน

การเปลี่ยนแปลงค่า pH และความเข้มข้นของตัวถูกละลายในสารละลายที่คั่นเซลล์ใบ (C_s) ในรอบวันของใบกล้วยไม้ (ภาพที่ 13e-f) แสดงแนวโน้มที่เหมือนกันแต่เป็นทิศทางตรงกันข้าม คือ ค่า pH จะเริ่มลดลงอย่างต่อเนื่องในช่วงกลางคืนตั้งแต่เวลาประมาณ 20 น. เป็นต้นไป จากค่า pH เริ่มต้นที่ประมาณ 5.0 จนถึงระดับต่ำสุดถึง 3.14 ที่เวลา 9 น. ในเวลากลางวันค่า pH จะกลับสูงขึ้นต่อเนื่องจนถึงระดับ 5.0-5.5 ในช่วงเย็นเวลาประมาณ 18 น. ในขณะที่ ค่า C_s มีค่าเริ่มต้นจาก 125 mmol kg^{-1} เมื่อเวลา 20 น. และเพิ่มขึ้นจนถึงระดับสูงสุดที่ประมาณ 350 mmol kg^{-1} ที่เวลา 9 น. หลังจากนั้นค่า C_s จะลดลงอย่างต่อเนื่องจนมีค่าต่ำสุดอยู่ที่ประมาณ 150 mmol kg^{-1} ที่เวลา 17 น. เห็นได้ว่า ค่า pH และค่า C_s ในรอบวันมีค่าสวนทางกัน

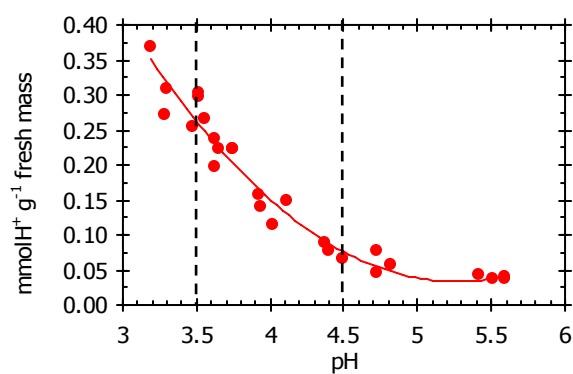
การสะสมของตัวถูกละลาย (C_s) ที่เพิ่มขึ้นจึงสัมพันธ์กับค่า pH ของสารละลายที่คั่นจากใบดังแสดงได้ในภาพที่ 14a-b กลุ่มความสัมพันธ์มี 3 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 ที่ปริมาณกรดเพิ่มขึ้น (pH ลดลง) ตามความเข้มข้นของตัวถูกละลายที่เพิ่มขึ้น (ข้อมูลช่วง 22-9 น.) กลุ่มที่ 2 คือกลุ่มที่ปริมาณกรดลดลง (pH เพิ่มขึ้น) ตามความเข้มข้นของตัวถูกละลายที่ลดลง (ข้อมูลช่วง 9-18 น.) และกลุ่มที่ 3 คือกลุ่มที่มีค่า pH คงที่แม้ว่าความเข้มข้นของตัวถูกละลายจะเพิ่มขึ้น (ข้อมูลช่วง 18-22 น.) จึงอาจกล่าวได้ว่าตัวถูกละลายที่สร้างขึ้นในกลุ่มที่ 3 นี้ไม่ใช่กรด ผลการทดลองข้างต้นสอดคล้องกับเฟสการตรึง CO_2 ในผลการทดลองที่ 2.2 (ภาพที่ 10)

ช่วงเวลาตั้งแต่ 22-9 น. (กลุ่มที่ 1) จะเทียบได้กับเฟสที่ 1-2 ซึ่งเป็นช่วงเวลาแรกที่ใบมีค่าน้ำไหลปากใบสูงและมีการตรึง CO_2 จากภายนอกทำปฏิกิริยากับ phosphoenolpyruvate (PEP) โดยเอนไซม์ PEP carboxylase สร้างเป็นกรดมาลิกขึ้นและถูกนำไปสะสมที่แวคิวโอลทำให้เซลล์มีความเข้มข้นของตัวถูกละลายเพิ่มขึ้นพร้อมกับค่า pH ลดลง ช่วงเวลาเข้าคือเฟสที่ 2 เริ่มเมื่อใบได้รับแสงมีการกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ RuBisCO ซึ่งสามารถตรึง CO_2 จากบรรยากาศเข้าสู่วิถี C3 โดยตรงเนื่องจากปากใบยังเปิดอยู่ ในขณะที่ส่วนหนึ่งเอนไซม์ PEP carboxylase ยังคงดำเนินและสร้างกรดมาลิกอย่างต่อเนื่อง ทำให้ตัวถูกละลายถูกสะสมมากถึงระดับสูงสุดและค่า pH มีระดับต่ำสุดในเฟสที่ 2 นี้

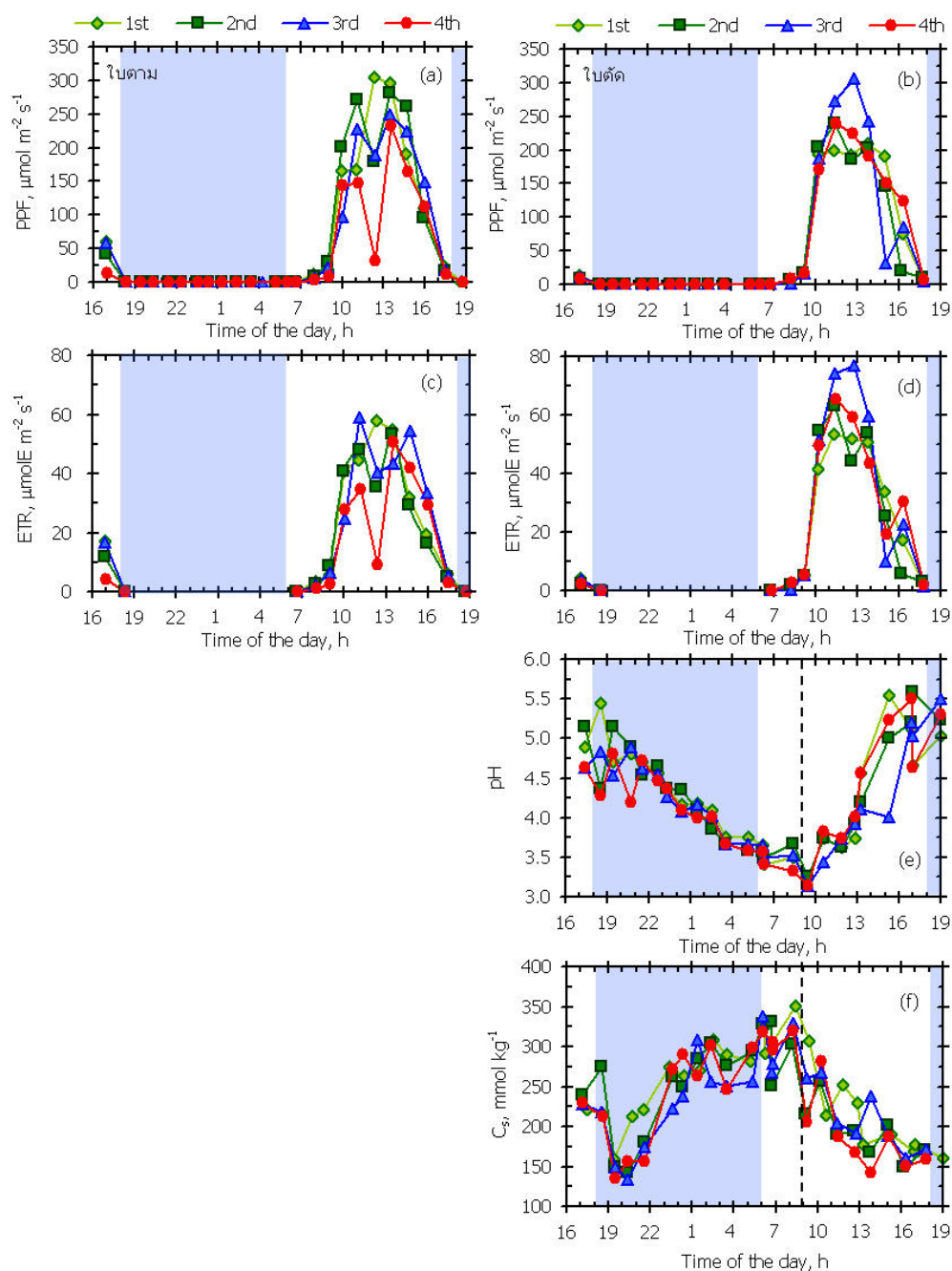
หลังจาก 9 น. ซึ่งเป็นช่วงของเฟสที่ 3 ค่าน้ำไหลปากใบที่ต่ำจำกัดการแพร่ของ CO_2 จากภายนอกเข้าสู่ใบ ค่า pH ของสารละลายที่คั่นจากใบมีค่าเพิ่มขึ้นในขณะที่ความเข้มข้นของ ตัวถูกละลายมีค่าลดลงอย่างต่อเนื่อง แสดงว่ากรดมาลิกที่สะสมตั้งแต่เฟสที่ 1-2 จะปลดปล่อย CO_2 ให้ถูกตรึงโดย RuBisCO ในขณะที่แสงแดดที่ใบได้รับในช่วงเฟสที่ 3 จะถูกใช้โดยระบบรับแสงในการสร้างพลังงาน ATP และ reducing agent NADPH ค่า C_s ที่สะท้อนปริมาณของกรดมาลิกจะลดลงอย่างรวดเร็วในช่วง 9-11 น. และควรจะลดลงต่อเนื่อง ขณะที่กรดมาลิกสลายตัวให้ CO_2 ซึ่งทำให้ค่า pH เพิ่มขึ้น แต่ค่า C_s ยังคงรักษาระดับค่อนข้างคงตัวในช่วง 11 น. เป็นต้นไป แสดงว่าใบเริ่มสร้างสารอาหารจากการสังเคราะห์แสงเพิ่มขึ้น ค่า C_s จึงสะท้อนปริมาณสารอาหารแทนที่จะเป็นกรดมาลิก เมื่อถึงเวลา 17 น. แสงเริ่มหมด ค่า pH จะสูงและสารอาหารถูกลำเลียงไปส่วนอื่นทำให้ค่า C_s ของสารละลายที่คั่นจากใบมีค่าลดลงทั้งค่า pH และ C_s จึงกลับมาสู่ระดับพื้นฐานใกล้เคียงกับค่าที่เริ่มต้นของวัฏจักรใหม่

ความสัมพันธ์ระหว่างค่า C_s กับ ETR (ภาพที่ 14c) ที่ได้มีรูปแบบเหมือนของความสัมพันธ์ระหว่างค่า A (อัตราการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์) กับ ETR (ภาพที่ 10f) ทำให้กล่าวได้ว่าในช่วงที่ ETR มีค่าประมาณศูนย์ (22-9 น.) ใบกล้วยไม้ไม่มีการเพิ่มขึ้นของความเข้มข้นตัวถูกละลาย ซึ่งคือกรดมาลิกและชนิดริกทำให้ค่า pH ของสารละลายของใบลดต่ำกว่าระดับ 5.0 ในช่วงที่ค่า ETR มีค่ามากกว่าศูนย์ (9-18 น.) ใบมีค่า C_s แสดงการเปลี่ยนแปลงขึ้นลง แสดงถึงปริมาณกรดที่ลดลงในขณะที่สารอาหารที่สร้างจากวิถี Calvin เพิ่มขึ้นแม้ว่าในขณะนั้นจะวัดอัตราการแลกเปลี่ยนแก๊ส CO_2 ระหว่างใบกับอากาศเป็นค่าต่ำกว่าศูนย์ (ซึ่งในพืช C_3 และ C_4 จะตีความว่ามีอัตราหายใจสูงกว่าอัตราสังเคราะห์แสง) หลังจากแสงแดดหมดแล้ว (18-22 น.) ค่า C_s จะมีระดับต่ำโดยที่ค่า pH กลับไปอยู่ในระดับที่สูงเกินกว่า 5.0 ใหม่ ซึ่งเป็นช่วงที่ใบได้ขนย้ายสารอาหารไปสู่แหล่งรับอื่นในขณะที่การตรึง CO_2 โดย PEP ยังเกิดขึ้นได้น้อยเพราะปากใบยังปิดแคบอยู่

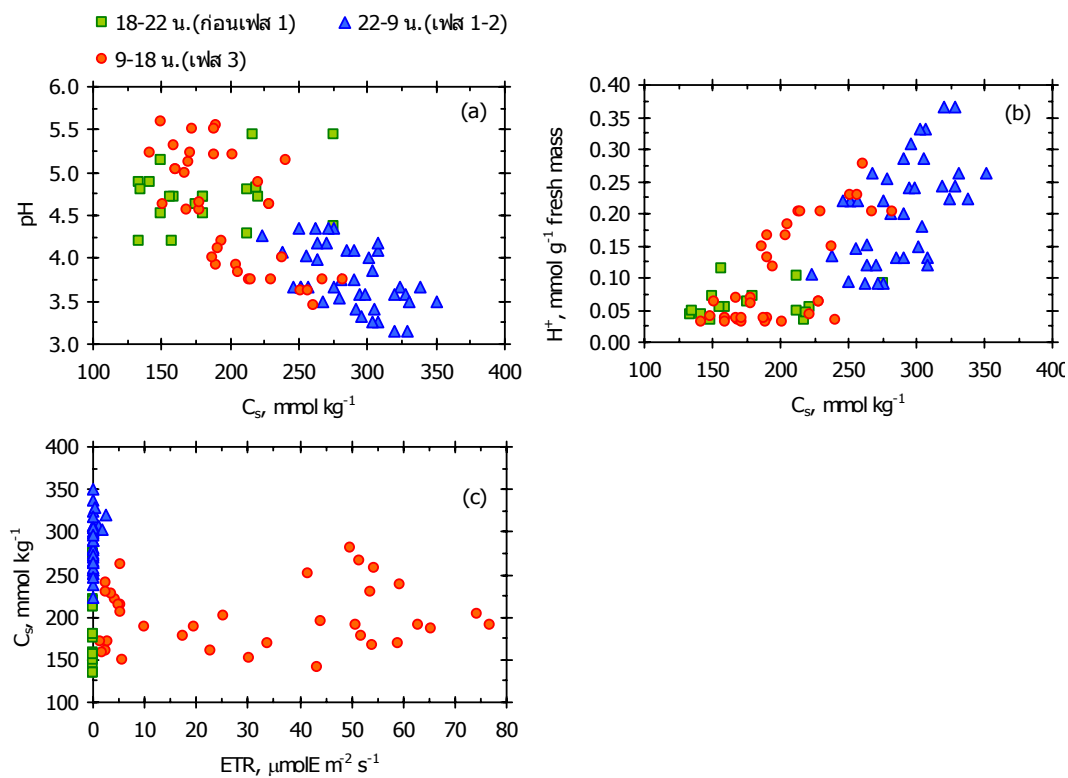
ตารางที่ 6 ได้สรุปค่าพารามิเตอร์เฉลี่ยโดยแบ่ง 3 เฟสตามเวลาที่มีการสร้าง/สลายกรดและ C_s ซึ่งสอดคล้องกับเฟสการตรึง CO_2 ในผลการทดลองที่ 2.2



ภาพที่ 12 เส้นตรวจเทียบระหว่างปริมาณกรดรวมในใบที่ได้จากการไตเตรทกับค่า pH ของสารละลายในเซลล์ (H^+ , $\text{mmol g}^{-1} \text{ fresh mass}$ จำนวนตัวอย่าง 26 ใบ)



ภาพที่ 13 การเปลี่ยนแปลงในรอบวันของใบลำดับที่ 1-4 (a-b) ความเข้มแสงที่ใบได้รับ (c-d) อัตราเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอน (e) ค่า pH ของสารละลายในเซลล์ และ (f) ค่าความเข้มข้นตัวละลาย แยกใบวัดออกเป็น 2 ชุด ใบตามคือใบเดิมที่วัดต่อเนื่อง และใบตัดคือใบที่เปลี่ยนใหม่ทุกรอบ



ภาพที่ 14 (a) ความเข้มข้นตัวถูกละลายในเซลล์ กับค่า pH (b) ปริมาณกรดรวมในใบที่ได้
จากเส้นตรงเทียบของค่า pH กับความเข้มข้นตัวถูกละลายในเซลล์ และ
(c) ความเข้มข้นตัวถูกละลายกับอัตราเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนกับความเข้มแสง
แบ่งข้อมูลตามเฟสที่มีการสร้างและสลายกรด

ตารางที่ 6 ค่าเฉลี่ยในรอบวันของพารามิเตอร์จากการวัดคลอโรฟิลล์ฟลูออเรสเซนส์ของใบกล้วยไม้ วันที่ 9-10 กุมภาพันธ์ 2548 ด้วยเครื่อง Pulse amplitude modulation fluorometer รุ่น Mini-PAM

พารามิเตอร์	ช่วงเวลาที่วัดใบ					
	18-22.0 น. (ก่อนเฟสที่ 1)		22-9.0 น. (เฟสที่ 1-2)		9-18.0 น. (เฟสที่ 3)	
	ใบตาม	ใบตัด	ใบตาม	ใบตัด	ใบตาม	ใบตัด
PPF, $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	0	0	2	0	132	123
ETR, $\mu\text{mol E m}^{-2} \text{s}^{-1}$	0	0	1	0	29	31
Φ_{PSII}			0.76	0.78	0.58	0.65
Φ_{dark}	0.81	0.83	0.81	0.85	0.79	0.81
C_s , mmol kg^{-1}		181		288		200
pH		4.72		3.84		4.54
H^+ , mmol g^{-1} fresh mass		0.061		0.193		0.104

PPF = ความเข้มแสงที่ใบได้รับ ETR = อัตราเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอน Φ_{PSII} = ประสิทธิภาพ การใช้แสงของใบในสภาพได้แสง, Φ_{dark} = ประสิทธิภาพการใช้แสงสูงสุด, pH ของสารละลายในเซลล์ (mmol kg^{-1} fresh mass) C_s = ความเข้มข้นตัวละลายในเซลล์ และ H^+ = ปริมาณกรดรวมในใบ แยกใบวัดออกเป็น 2 ชุด ใบตามคือใบเดิมที่วัดต่อเนื่อง และใบตัดคือใบที่เปลี่ยนใหม่ทุกครั้งที่วัดค่า

สรุป

กล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ บอม โจ ซึ่งมีวิธีการสังเคราะห์แสงแบบ Crassulacean acid metabolism (CAM) โดยดำเนินการทำงานต่างช่วงเวลาระหว่างวิถี C3 และ C4 มีพารามิเตอร์ที่ระบุศักยภาพการสังเคราะห์แสง ได้แก่ เส้นตอบสนองต่อแสง คำนวณไหลปากใบ และประสิทธิภาพของกระบวนการตรึง CO_2 ต่ำกว่าพืช C3 อัตราตรึง CO_2 และคายน้ำเกิดขึ้นในช่วงกลางคืนและถูกควบคุมด้วยค่าน้ำไหลปากใบโดยที่ระดับความชื้นสัมพัทธ์อากาศ 70 % เป็นระดับวิกฤตที่ควบคุมการปิดแฉกของปากใบ การที่พืชเปิดปากใบและตรึง CO_2 สะสมในรูปของกรดในตอนกลางคืนซึ่งเป็นช่วงที่มีค่าความชื้นสัมพัทธ์อากาศสูงโดยมีปริมาณกรดสูงสุดในช่วงเช้า ขณะที่ช่วงมีแสงปากใบปิดแฉกและตรึง CO_2 ที่ได้จากการสะสมกรดในตอนกลางคืนแทนเป็นวิถีลดการเสียน้ำของใบในช่วงกลางวันที่มีสภาพอากาศแห้งรุนแรงกว่า ทำให้พืช CAM มีประสิทธิภาพการใช้น้ำหรืออัตราสร้างอาหารต่อหน่วยอัตราเสียน้ำสูงกว่าพืช C3 และ C4 หลายเท่า

แนวทางการเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของใบกล้วยไม้คือ ควรจัดการโรงเรือนให้มีความชื้นสัมพัทธ์สูงเกินระดับ 70 % ตั้งแต่ช่วงหัวค่ำจนถึงเช้าเพื่อเอื้อให้ปากใบเปิดได้เร็วขึ้นและเปิดได้นานที่สุดเพื่อให้ใบตรึง CO_2 สะสมในรูปกรดสำหรับใช้เป็นวัตถุดิบเพื่อใช้สร้างสารอาหารในช่วงที่มีแสง โดยเฉพาะบางฤดูที่มีสภาพอากาศแห้งและความชื้นสัมพัทธ์ตอนกลางคืนไม่ถึง 70% ซึ่งจะส่งผลให้ปากใบจะไม่เปิดรับ CO_2 และทำให้ใบกล้วยไม้ขาดวัตถุดิบสำหรับสร้างอาหารในวันต่อไป

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

- ครรชิต ธรรมศิริ. 2541. เทคโนโลยีการผลิตกล้วยไม้. บริษัทอมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง จำกัด (มหาชน), กรุงเทพฯ ฯ.
- คัทลียา จัตรีเที่ยง. 2547. อัตราแลกเปลี่ยนแก๊สและพลังงานศักย์ของน้ำในใบมะละกอพันธุ์แขก นวล ต้นตัวเมียและต้นสมบูรณ์เพศ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, นครปฐม.
- จารุวัตร จันทร์ประดิษฐ์. 2546. การจำแนกวิธีการสังเคราะห์แสงในกล้วยไม้พื้นเมืองบางชนิด. วิทยานิพนธ์ปริญญาเอก. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- จิตรพรพรรณ พิลึก. 2529. การผลิตกล้วยไม้เพื่อการส่งออก. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรมส่งเสริมการเกษตร, กรุงเทพฯ.
- จิตรฤทัย ชูมาก, สุณทรี ยิ่งชัชวาลย์, ธาดา ชัยสีหา และศรีสังวาลย์ ลายวิเศษกุล. 2543. ความเข้มแสงกับอัตราสังเคราะห์แสงสุทธิของใบมะม่วงภายใต้สภาพน้ำขัง. น.63-67. ใน รายงานโครงการวิจัยวิธีให้อากาศเพื่อชีวิตต้นมะม่วงที่ประสบอุทกภัย, กรกฎาคม 2543. คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, นครปฐม.
- จินดารัฐ วีระวุฒิ. 2541. สัมประรดและสรีรวิทยาการเจริญเติบโตของสับปะรด. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- ดวงพร บุญชัย. 2545. ศึกษาอัตราการสังเคราะห์แสงสุทธิของใบกล้วยไม้สกุลหวายตัดดอก. ปัญหาพิเศษปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- ธาดา ชัยสีหา. 2547. การเปลี่ยนแปลงค่าพลังงานศักย์ในรอบวันของใบและผลแดงกวาที่อายุ ต่างๆกัน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, นครปฐม.

ปิยะดา ชีระกุลพิศุทธิ์. 2542. **สรีรวิทยาของพืช**. พิมพ์ครั้งที่ 2. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. ม.ป.ท.

รตนพร ชูมาก. 2545. **การศึกษาสถาปัตยกรรมและความสัมพันธ์ระหว่างแสง อายุใบและการสังเคราะห์ด้วยแสงของถั่วเขียว**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ระพี สาคริก. 2530. **กล้วยไม้**. พิมพ์ครั้งที่ 1. สำนักส่งเสริมและฝึกอบรม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สุนทรี ยิ่งชัชวาลย์. 2546. **เอกสารประกอบการสอนบทปฏิบัติการที่ 6 เรื่อง อัตราคายน้ำและความต้านทานของปากใบ** วิชาสรีรวิทยาเบื้องต้นของพฤกษ. คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, นครปฐม.

สุนทรี ยิ่งชัชวาลย์, ศัทธยา จัตรเที่ยง, ไกรวุฒิ เจริญศิริ และ ฐริพงศ์ ดำรงวุฒิ. 2544. **สภาพอากาศและน้ำในดินของแปลงส้มเขียวหวาน**. น.10-44. ใน รายงานโครงการพัฒนาวิชาการข้อมูลพื้นฐานทางสรีรวิทยาของส้มเขียวหวาน, กรกฎาคม 2544. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, นครปฐม.

สุนทรี ยิ่งชัชวาลย์, จิตฤทัย ชูมาก, ธาดา ชัยสีหา และ ศรีสังวาลย์ ลายวิเศษกุล. 2543ก. **จุดชดเชยคาร์บอนไดออกไซด์ของใบมะม่วงภายใต้สภาพน้ำขัง**. น. 57-62. ใน รายงานโครงการวิจัยวิธีให้อากาศเพื่อผู้ชีวิตต้นมะม่วงที่ประสบอุทกภัย, กรกฎาคม 2543. คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, นครปฐม.

สุนทรี ยิ่งชัชวาลย์ และ ธาดา ชัยสีหา. 2543ข. **Chlorophyll Fluorescence ของใบมะม่วงภายใต้สภาพน้ำขัง**. น. 85-90. ใน รายงานโครงการวิจัยวิธีให้อากาศเพื่อผู้ชีวิตต้นมะม่วงที่ประสบอุทกภัย, กรกฎาคม 2543. คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, นครปฐม.

สุทิน หิรัญอ่อน. 2547. สรีรวิทยาการเจริญเติบโตของพริกขี้หนูสายพันธุ์พ่อแม่ (83-168 และ พริกขี้หนุ มข.) ลูกผสมตรงและลูกผสมกลับ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท.
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, นครปฐม.

สุภาพร เรืองวิชาโชติ. 2548. การพร่างแสงของตาข่ายสีขาว สีฟ้า และสีเขียวที่ส่งผลต่อการตอบสนองต่อแสงของใบและการเจริญเติบโตของคะน้า. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท.
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, นครปฐม.

LI-COR. 2002. **Leaf Chamber Fluorometer**. Portable Photosynthesis System
(LI-6400) Manual. LI-COR, Inc., Nebraska, U.S.A.

Arditti, J. 1992. **Fundamentals of Orchid Biology**. John Wiley & Sons, Inc., U.S.A.

Bjorkman, O. and B. Demmig. 1987. Photon yield of O₂ evolution and chlorophyll
fluorescence characteristics at 77K among vascular plant of diverse origins. **Planta**.
170: 489-504.

Black, C.C. and C.B. Osmond. 2003. Crassulacean acid metabolism photosynthesis:
working the night shift. **Photosynth Res.** 76: 329-341.

Borland, A.M., J. Hartwell, G.I. Jenkins, M.B. Wilkins and H.G. Nimmo. 1999. Metabolite
Control overrides Circadian Regulation of Phosphoenolpyruvate carboxylase kinase and
CO₂ Fixation in Crassulacean acid metabolism. **Plant Physiol.** 121: 889-896.

Buchanan, B.B., W. Gruissem. and R.L. Jones. 2000. **Biochemistry and Molecular
Biology of Plants**. The American Society of Plant Physiologist, U.S.A.

Cushman, J.C. 2001. A Plastic Photosynthetic Adaptation to Arid Environments.
Plant Physiol. 127: 1439-1448.

- Cushman, J.C. and A.M. Borland. 2002. Induction of Crassulacean acid metabolism by water limitation. **Plant, Cell and Environment** 25: 295-310.
- Drennan, P.M. and P.S. Nobel. 2000. Response of CAM species to increasing atmospheric CO₂ concentrations. **Plant, Cell and Environment** 23: 767-781.
- Gouk, S.S., J. He and C.S. Hew. 1999. Changes in photosynthetic capability and carbohydrate production in an epiphytic CAM orchid plantlet exposed to super-elevated CO₂. **Environmental and Experimental Botany** 41: 219-230.
- He, J., G.H. Khoo and C.S. Hew. 1998. Susceptibility of CAM Dendrobium leaves and flowers to high light and high temperature under natural tropical conditions. **Environmental and Experimental Botany** 40: 225-264.
- Herppich, W.B. 1997. Stomatal response to changes in air humidity are not necessarily linked to nocturnal CO₂ uptake in the CAM plant *Plectranthus marruboides* Benth.(Lamiaceae). **Plant Cell and Environment** 20: 393-399.
- Hew, C.S. and J.W.H. Yong. 1997. **The Physiology of Tropical Orchids in Relation to the Industry**. National University of Singapore, Singapore.
- Hew, C.S. and W.J.J. Yong. 2004. 2nd ed. **The Physiology of Tropical Orchids in Relation to the Industry**. World Scientific Publishing Co. Ltd., Singapore.
- Jones, H.G. 1992. 2nd ed. **Plants and microclimate**. Cambridge University Press, Cambridge.
- Krall, J.P. and G.E. Edwards. 1992. Relation between photosystem II activity and CO₂ fixation in leaves. **Plant Physiol.** 86: 180-187.

- Mc Donald, Maurice S. 2003. **Photobiology of Higher Plants**. John Wiley & Sons Ltd, England.
- Martin, C.E. and J.N. Siedow. 1981. Crassulacean Acid Metabolism in the Epiphyte *Tillandsia usneoides* L. (Spanish Moss). **Plant Physiol.** 68: 335-339.
- Nobel, P.S. and T.L. Hartsock. 1979. Environmental influences on open stomata of Crassulacean acid metabolism plant, *Agave deserti*. **Plant Physiol.** 63: 63-66.
- Osmond, C.B., 1978. Crassulacean acid metabolism: a curiosity in context. Annual Review of **Plant physiol.** 29: 379-414
- Rittershausen, B. and W. Rittershausen. 2002. **Orchids: A partical handbook a beautiful guide to growing orchids**. Anness Publishing Limited, U.S.A.
- Rosenqvist, E. and O.V. Kooten. 2003. Chlorophyll fluorescence : A general description and nomenclature. pp.31-77. In DeEll, J.R. and Toivonen, P.M.A. **Practical Applications of chlorophyll Fluorescence in Plant Biology**. Kluwer Academic Publishers, The Netherlands.
- Statistical Analysis System**. 1988. SAS Institute Inc.
- Singsaas, E.L., Donald R.O. and Evan H.D. 2001. Variation in measured values of photosynthetic quantum yield in ecophysiological studies. **Oecologia.** 128: 15-23.
- Stancato, G.C., P. Mazzfera and M.S. Buckeridge. 2002. Effect of light stress on the growth of epiphytic orchid *Cattleya forbesii* Lind X *Laelia tenebrosa* Rolfe. **Revista Brasil. Bot.** 25: 229-235.

- Taiz, L. and E. Zeiger. 2002. **Plant Physiology**. 3rd ed. Sinaguer Associate, Inc., Sanderland, Massachusetts. 690 p.
- Thornley, J.H.M. and I.R. Johnson. 1990. **Plant and Crop Modelling**. Oxford University Press, New York.
- Zhang, H. and P.S. Nobel. 1996. Dependency of C_i/C_a and Leaf Transpiration Efficiency on the Vapour Pressure Deficit. **Aust. J. Plant Physiol.** 23: 561-568.

ภาคผนวก



ภาพผนวกที่ 1 ลำดับใบที่ 1-4 ของลำหน้าที่(ลำที่อายุน้อยที่สุดของต้น)ที่กำลังออกดอกของกล้วยไม้สกุลหวาย พันธุ์บอม โจ