

อัตราครึ่ง CO₂ สุทธิ ปริมาณกรดในใบ และโฟโตเคมีในรอบวันของใบสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย
Diurnal Leaf Net CO₂ Assimilation, Acid Content and Photochemistry
of Pineapple (*Ananas comosus* L. Merr.) ‘Smooth Cayenne’

พรรณี ชื่นนคร^{1/2*} สุนทรี ยิ่งชัชวาลย์^{1/2/}
Panee Chuennakorn^{1/2*} Suntaree Yingjajaval^{1/2/}

Received 4 July 2020/Revised 28 July 2020/Accepted 17 Sep 2020

ABSTRACT

Pineapple as a crassulacean acid metabolism (CAM) plant was reported to display full 4 carboxylation phases. To elucidate this process, we carried out 24 h monitoring of photosynthesis of pineapple ‘Smooth Cayenne’ in open field in all 3 seasons in Prachuap Khiri Khan Province. We measured leaf gas exchange, total acid content (H⁺), and photochemistry of PSII (chlorophyll fluorescence). The gas exchange data obtained, confirmed the presence of the 4 carboxylation phases. Phase I occurred during dark period, net CO₂ assimilation rate (A) increased in consistent with increase of stomatal conductance (g_s), having the maximal A in the low range of 2–2.6 μmolCO₂ m⁻² s⁻¹, accompanied by the increase in H⁺. The increment in A and H⁺ continued into Phase II during early morning which lasted about 2 h when radiation (PPF) was still low. In Phase II, photochemistry commenced showing an increase in electron transport rate (ETR), whereas H⁺ reached its maximum. Subsequent stronger PPF initiated Phase III, when A turned negative as the reducing g_s limiting external CO₂ intake. On the other hand, ETR continued to increase to its maximum, enabling the decarboxylation of the accumulated acid. The average acid decarboxylation rate (ADR), from the CO₂ carboxylation process was 6.7–7.8 μmolCO₂ m⁻² s⁻¹. Phase III which lasted 6–8 h ended in late afternoon, as H⁺ was mostly spent and ADR dropped closed to zero. In pineapple, Phase IV clearly appeared when g_s increased (stomata reopening) and positive A was detected.

Keywords: stomatal conductance, acid decarboxylation rate, electron transport rate

^{1/} ศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ.นครปฐม 73140

^{1/} Center for Agricultural Biotechnology, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140, Thailand

^{2/} ศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา กรุงเทพฯ 10900

^{2/} Center of Excellence on Agricultural Biotechnology: (AG-BIO/PERDO-CHE), Bangkok 10900, Thailand

*Corresponding Author: pannee.c@ku.ac.th

บทคัดย่อ

สับปะรด (*Ananas comosus* L. Merr.) เป็นพืชที่มีการสังเคราะห์แสงแบบ Crassulacean acid metabolism (CAM) โดยมีเฟสของการตรึง CO₂ ได้ทั้งหมด 4 เฟส เพื่อยืนยันขั้นตอนดังกล่าวของพืช CAM งานวิจัยนี้จึงติดตามกระบวนการสังเคราะห์แสงในรอบ 24 ชม. ของใบสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย ในสภาพสนาม 3 ครั้ง ใน 3 ฤดู ของพื้นที่ จ. ประจวบคีรีขันธ์ โดยวัดกระบวนการแลกเปลี่ยนแก๊ส ปริมาณกรดรวม (H⁺) ควบคู่กับการวัดกระบวนการโฟโตเคมีของ PSII โดยการวัดรังสีคลอโรฟิลล์ฟลูออเรสเซนส์ ผลการวัดอัตราแลกเปลี่ยนแก๊สยืนยันว่า ใบสับปะรดมีเฟสการตรึง CO₂ ครบทั้ง 4 เฟสในรอบวัน โดยเฟสที่ 1 เกิดขึ้นในช่วงกลางคืนเมื่ออัตราตรึงหรือนำเข้า CO₂ สุทธิ (A) เพิ่มขึ้นตามค่านำไหลของปากใบ (g) โดยที่ค่า A สูงสุดเกิดในระดับต่ำเพียง 2–2.6 μmolCO₂ m⁻² s⁻¹ พร้อมกับการเพิ่มขึ้นของ H⁺ ทั้งนี้ค่า A และ H⁺ เพิ่มขึ้นต่อเนื่องไปจนถึงเฟสที่ 2 ซึ่งใช้เวลา 1–2 ชม. ตรงกับช่วงเช้าที่แสงแดดยังอ่อน ในเฟสที่ 2 นี้กระบวนการโฟโตเคมีเริ่มเกิดขึ้น ซึ่งแสดงด้วยการเพิ่มระดับของอัตราเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอน (ETR) ในขณะที่ H⁺ มีค่าสูงสุด ความเข้มแสงแดด (PPF) ที่เข้มข้นทำให้การตรึง CO₂ เข้าสู่เฟสที่ 3 เมื่อค่า A ตีกลับจากค่า g_s ที่ลดลง จนจำกัดการนำเข้า CO₂ สูใบ ในขณะที่ค่า ETR ได้เพิ่มขึ้นสู่ระดับสูงสุด ทำให้เกิดการตรึง CO₂ ที่ปลดปล่อยจากกรดที่สะสมไว้ โดยมีอัตราตรึง CO₂ จากกรด (ADR) เฉลี่ยอยู่ระหว่าง 6.7–7.8 μmolCO₂ m⁻² s⁻¹ เฟสที่ 3 ใช้เวลา 6–8 ชม. โดยสิ้นสุดในช่วงบ่ายตรงกับที่ H⁺ ส่วนใหญ่หมดไปแล้ว และ ADR มีค่าต่ำเข้าใกล้ศูนย์ สำหรับเฟสที่ 4 พบว่า ค่า g_s ของใบสับปะรดกลับเพิ่มขึ้นได้ ทำให้ใบตรึง CO₂ จากอากาศได้ใหม่

คำสำคัญ: ค่านำไหลปากใบ, อัตราตรึง CO₂ จากกรด, อัตราเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอน

บทนำ

สับปะรด (*Ananas comosus* L. Merr.) เป็นไม้ผลล้มลุกมีอายุข้ามปีที่เติบโตช้า และใช้เวลาเลี้ยงผลนาน 4–5 เดือน จึงควรมีการศึกษาพื้นฐานด้านสรีรวิทยาเพื่อความเข้าใจกระบวนการสังเคราะห์แสงของใบสับปะรด ซึ่งอาจทำให้สามารถระบุปัจจัยที่จำกัดการเติบโตของต้นและการสร้างผลผลิต จากรายงานการศึกษาอัตราแลกเปลี่ยนแก๊สของใบสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวียในต่างประเทศภายใต้สภาพควบคุม พบว่า ใบสับปะรดใช้วิถีการสังเคราะห์แสงแบบ Crassulacean acid metabolism (CAM) โดยกระบวนการตรึง CO₂ (carboxylation) ของใบในรอบวัน (24 ชม.) แบ่งออกได้เป็น 4 เฟส (phase) แตกต่างกันตามกลไกของปากใบ การเกิดกระบวนการโฟโตเคมีของ PSII และชนิดของเอนไซม์ที่ใช้ในกระบวนการตรึง CO₂ ดังนี้ เฟสที่ 1 เกิดขึ้นในช่วงมืด ปากใบที่เปิดกว้างขึ้น ทำให้ใบตรึง CO₂ ทั้งจากอากาศภายนอกและจากการหายใจของเซลล์ภายในใบด้วยเอนไซม์ phosphoenolpyruvate carboxylase (PEPc) โดยสะสมไว้ในรูปกรดมาลิก อยู่ในแวคคิวโอล เฟสที่ 2 เกิดในช่วงเช้าตรู่ เมื่อเริ่มมีแสงถึงช่วงสายของวันและปากใบยังเปิดกว้างอยู่ ทำให้เกิดการตรึง CO₂ จากอากาศโดยกระบวนการโฟโตเคมีร่วมกับเอนไซม์ปกติคือ Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase (Rubisco) ในเวลาถัดมาเมื่อแสงแดดแรงขึ้นและสภาพอากาศที่แห้งชกนำไปปากใบปิดแคบลง การตรึง CO₂ จะเข้าสู่เฟสที่ 3 ซึ่งเกิดในช่วงสายของวันเมื่อความเข้มแสงแดดเพิ่มขึ้นและปากใบปิดแคบโดย CO₂ ที่ถูกตรึงเกิดอยู่ในใบจากการสลายตัวของกรดมาลิก (malic acid decarboxylation) ที่สะสมไว้ โดยใช้เอนไซม์ Rubisco เฟสที่ 4 เกิดขึ้นในช่วงบ่ายถึงเย็น ที่ปากใบอาจเปิดกว้างขึ้นได้ใหม่อีกครั้ง จึงเป็นช่วงที่ CO₂ จากอากาศแพร่เข้าสู่ใบและถูกตรึงโดยตรงด้วยเอนไซม์ Rubisco ในช่วงเฟสนี้ กรดมาลิกที่สะสมไว้อาจสลายตัวจน

หมดไปก่อนแล้ว และในช่วงท้ายเมื่อหมดแสง ใบ จะเริ่มสะสมกรดมาลิกได้โดยเปลี่ยนใช้ PEPc ในการตรึง CO₂ ซึ่งเป็นการเริ่มต้นของเฟสที่ 1 ของ วันถัดไป (Cote *et al.*, 1989; Dodd, *et al.*, 2002; Malezieux *et al.*, 2003)

การวัดกระบวนการสังเคราะห์แสงของใบ พืช C3 นิยมวัดอัตราแลกเปลี่ยนแก๊สของใบ โดยอาศัยฐานความรู้ด้านการแพร่ของแก๊สและกระบวนการทางชีวเคมี ซึ่งเป็นที่ยอมรับในสากล และนิยมใช้อ้างอิงอย่างแพร่หลายถึงปัจจุบัน (Farquhar *et al.*, 1980; von Caemmerer, 2000) ขณะที่การวัดพืช CAM มีความยากและซับซ้อนกว่า พืช C3 เนื่องจากปากใบที่ปิดแคบในช่วงกลางวัน แต่กระบวนการใช้แสงยังทำงานได้เป็นปกติ ทำให้ต้องใช้เทคนิคอื่น เช่น การวัดรังสีคลอโรฟิลล์ ฟลูออเรสเซนส์ (Chlorophyll fluorescence) การวัดปริมาณกรดที่ใบสร้างและสลายตัวมาประเมิน ควบคุมเพิ่มเติมด้วย (Franco *et al.*, 1999; Griffiths *et al.*, 2008; Ritchie and Bunthawin, 2010)

การศึกษากระบวนการสังเคราะห์แสงแบบ CAM ของใบสับปะรดในสภาพที่ต้นเติบโตตามธรรมชาตินั้นมีข้อมูลน้อยมาก งานศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อติดตามวัดการเปลี่ยนแปลงของกระบวนการสังเคราะห์แสงในรอบวัน (24 ชม.) และกิจกรรมการสังเคราะห์แสงในแต่ละเฟส ของใบสับปะรดที่ปลูกในสภาพธรรมชาติในแหล่งผลิตหลักของประเทศ และเป็นการสร้างฐานข้อมูลการสังเคราะห์แสงเพื่อเป็นแนวทางในการเพิ่มผลผลิตของสับปะรดต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

พืชทดลอง

ต้นสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย (Smooth Cayenne) ที่ใช้ศึกษา เป็นต้นรุ่นที่ 2 หรือหน่อต้นใหม่ซึ่งแตกออกจากต้นแม่เดิม ปลูกในสภาพกลางแจ้งแบบแถวคู่ มีระยะระหว่างแถวคู่ 80 ซม. ระยะ

ระหว่างต้นภายในแถว 50 ซม. เป็นแปลงอาศัยน้ำฝนของเกษตรกร ในพื้นที่ ต. ทับใต้ อ. หัวหิน จ. ประจวบคีรีขันธ์ การให้ปุ๋ยเป็นไปตามวิธีของเกษตรกร เมื่อหน่อมีอายุ 1-6 เดือน ให้ปุ๋ยสูตร 21-0-0 อัตรา 150 กก./ไร่ 2 ครั้ง และเมื่อต้นติดผล ให้ปุ๋ยสูตร 12-4-40 อัตรา 40 กก./ไร่ 1 ครั้ง

สภาพอากาศในรอบวันและสภาวะน้ำในดิน

วัดและบันทึกสภาพอากาศกลางแจ้งด้วยสถานีอากาศ (Watchdog Mini-station, model 2475) ติดตั้งที่ความสูง 2.3 ม. บันทึกความเข้มแสง (PPF) ปริมาณฝน อุณหภูมิอากาศ (T_{air}) ความชื้นสัมพัทธ์อากาศ (RH_{air}) และคำนวณค่าแรงดึงระเหยน้ำของอากาศ (VPD_{air}) สำหรับสภาวะของน้ำในดิน วัดและบันทึกค่าพลังงานความดันของน้ำ (soil matric potential, ψ_m) โดยฝังหัววัดแรงดึงน้ำ (Watermark, model WD 2800) ห่างจากต้น 40 ซม. ที่ความลึก 7 ระดับในช่วง 10-90 ซม. บันทึกค่าทุก 15 นาที ตลอดการทดลอง

การวัดการเปลี่ยนแปลงของกระบวนการสังเคราะห์แสง

วัดกิจกรรมต่าง ๆ ของการสังเคราะห์แสงของใบในรอบวันทุก 1 ชม. จนครบ 24 ชม. โดยเริ่มวัดตั้งแต่ก่อนหมดแสงแดด (ประมาณ 17:00 น.) ไปจนถึง 18:00 น. ของวันถัดไป เก็บข้อมูล 3 ครั้ง คือ วันที่ 18-19 เดือนมีนาคม-ฤดูร้อน (อายุหน่อ 4 เดือน), วันที่ 23-24 เดือนกรกฎาคม-ฤดูฝน (อายุหน่อ 8 เดือน) และวันที่ 16-17 เดือนธันวาคม-ฤดูหนาว (อายุหน่อ 13 เดือน) แบ่งใบที่วัดเป็น 2 ชุด ชุดละ 1-2 ใบ เรียกว่า “ชุดใบตาม (F)” เป็นใบเดิมที่ใช้วัดติดตามกิจกรรมทุกชั่วโมง และ “ชุดใบตัด (C)” เป็นใบใหม่ทุกครั้ง และทุกชั่วโมงสำหรับตัดตัวอย่างใบเพื่อวัดปริมาณกรด ใช้จำนวนตัวอย่างใบทั้งหมด 27-30 ใบจาก 13-15 ต้นที่สมบูรณ์ต่อการวัด 24 ชม. ใบที่เลือกมีตำแหน่ง “D-leaf” ซึ่งเป็นใบที่ขยายขนาดเต็มที่ของหน่อใหม่ (Malezieux *et al.*, 2003)

อัตราแลกเปลี่ยนแก๊สของใบ

วัดอัตราการแลกเปลี่ยนแก๊สของใบด้วยเครื่องวัดระบบสังเคราะห์แสง (รุ่น LI6400-40) ชนิดหัววัด Fluorometer กำหนดสภาพอากาศภายในกล่องบรรจุใบ ให้ผันแปรตามสภาพอากาศกลางแจ้ง โดยให้อัตราเร็วของอากาศไหลผ่านใบ $150 \mu\text{mol s}^{-1}$ และวัดกระบวนการโฟโตเคมี

(photochemistry) ได้ในเวลาเดียวกัน ให้ค่าประสิทธิภาพการใช้แสงของ PSII ขณะที่ใบได้รับแสง (light-adapted quantum efficiency, ϕ_{PSII}) ซึ่งคำนวณตามวิธีการของ Genty *et al.* (1989) ค่า ϕ_{PSII} ใช้คำนวณอัตราเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอน (electron transport rate, ETR) ดังสมการ

$$\text{ETR} = I \times \alpha_{\text{leaf}} \times f \times \phi_{\text{PSII}}$$

เมื่อ I = ความเข้มแสง

α_{leaf} = คือ ค่าการดูดกลืนแสงของใบ (leaf absorptance) กำหนดให้เท่ากับ 0.875

f = คือ ค่าสัดส่วนของแสงที่เข้าสู่ photosystem II (PSII) กำหนดให้เท่ากับ 0.5 (LI-COR, 2011)

การวิเคราะห์ปริมาณกรดรวมในใบ

การวิเคราะห์ปริมาณกรดรวมในใบ (Total acid content, H^+) โดยไตเตรทสารละลายกรดที่สกัดจากใบด้วย NaOH 0.01 N ใช้ phenolphthalein เป็น indicator คำนวณปริมาณกรดรวมต่อหนึ่งหน่วยพื้นที่ใบ อัตราการตรึง CO_2 ที่ได้จากการสลายกรด (acid decarboxylation rate, ADR) ประเมินจากอัตราการลดลงรายชั่วโมงของปริมาณกรดรวม

(Griffiths *et al.*, 2008) โดยใช้หลักการ H^+ 2 โมล เทียบเท่า กรดมาลิก 1 โมล ซึ่งจะปลดปล่อย CO_2 1 โมล เข้าสู่วัฏจักรแคลวิน (2H^+ : 1 malic acid: 1CO_2) (Lüttge, 1989) ส่วนค่าเฉลี่ยอัตราตรึง CO_2 จากกรด คำนวณจากค่าผลต่างของปริมาณกรดสูงสุดและต่ำสุดของรอบวันหารด้วยเวลาทั้งหมดที่ใช้ในการสลายกรดจนหมด ดังสมการ

$$\text{ค่าเฉลี่ยอัตราตรึง } \text{CO}_2 \text{ จากกรด} = [(\text{H}^+_{\text{max}} - \text{H}^+_{\text{min}})/\Delta t]$$

เมื่อ H^+_{max} = ปริมาณกรดสูงสุด

H^+_{min} = ปริมาณกรดต่ำสุด

Δt = เวลาทั้งหมดที่ใช้ในการสลายกรด

ผลการทดลองและวิจารณ์

สภาพอากาศในรอบวันและสภาวะน้ำในดิน

การวัดสภาพอากาศในรอบวันทั้ง 3 ครั้ง เป็นวันที่ไม่มีฝน พบว่า ความเข้มแสงแดด (PPF) มีค่าเฉลี่ยสูงที่สุดเกิดในฤดูฝน (เดือน ก.ค.) เท่ากับ $2,713 \mu\text{molCO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ขณะที่ฤดูหนาว (เดือน ธ.ค.) มีค่าเฉลี่ยต่ำสุดเท่ากับ $1,734 \mu\text{molCO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (Table 1) ค่าอุณหภูมิอากาศ (T_{air}) ทั้งกลางวันและกลางคืน มีค่าเฉลี่ยสูงในฤดูร้อน (36.1°C . และ 29.7°C .) และฤดูฝน (35.2°C . และ 29.9°C .) และ

ค่าความชื้นสัมพัทธ์อากาศ (RH_{air}) มีค่าเฉลี่ยต่ำสุดในฤดูหนาว มีผลให้ค่าแรงดึงระเหยน้ำ (VPD_{air}) ของทั้ง 3 ฤดูมีค่าสูงสุดเวลากลางวันอยู่ในช่วง 2.43 – 2.67 kPa สำหรับค่า ψ_m ในชั้นรากพืช 0–90 ซม. พบว่า ดินมีสภาพค่อนข้างแห้งตลอดทั้งปี แม้แต่ในช่วงฤดูฝน เนื่องจากฝนที่ได้ต่ำกว่า 500 มม. ค่า ψ_m เฉลี่ยตลอดหน้าตัดดินตลอดฤดูอยู่ในระดับต่ำในช่วง –169 ถึง –138 kPa

Table 1 Summary of field climatic conditions, recorded by a weather mini-station (nighttime: 18–6 h, daytime: 6–18 h, location: N12° 28.075' E99° 51.443')

Season		Climatic parameters						
		Day PPF,	T _{air} , C		RH _{air} , %		VPD _{air} , kPa	
		μmol m ⁻² s ⁻¹	Night	Day	Night	Day	Night	Day
Summer	avg	1,149	25.9	31.6	85.3	69.7	0.52	1.57
	max	2,260	29.7	36.1	95.1	97.9	1.11	2.67
	min	–	23.4	22.9	73.4	55.1	0.14	0.06
Rainy	avg	1,296	25.9	31.7	83.5	64.1	0.57	1.76
	max	2,713	29.9	35.2	93.7	88.6	1.32	2.60
	min	–	24.3	25.3	68.7	53.7	0.20	0.37
Winter	avg	644	24.0	25.8	71.7	49.0	0.85	1.72
	max	1,734	26.9	28.6	83.5	65.4	1.30	2.43
	min	–	22.4	23.7	63.2	37.8	0.47	1.01

สภาพอากาศที่ใบสัมผัสภายในภาชนะบรรจุใบ มีค่า PPF_i ค่อนข้างสูงทั้งในฤดูร้อนและฤดูฝน มีค่าสูงสุด 1,500–2,000 μmolPPF m⁻² s⁻¹ (Figure 1a) ผลรวมของปริมาณแสงทั้งวันอยู่ในช่วง 30–36 μmolPPF m⁻² มากกว่าฤดูหนาวเกือบเท่าตัว อุณหภูมิใบ (T_{leaf}) มีค่าสูงกว่า T_{air} 2–9°ซ. โดย T_{leaf} ในฤดูร้อนและฤดูฝนมีค่าเฉลี่ย 34°ซ. และสูงสุด 44°ซ. ขณะที่ฤดูหนาวมีค่าต่ำกว่า 7–10°ซ. แสดงให้เห็นว่า ในฤดูร้อนและฤดูฝน

ต้นลับประดได้รับสภาพอากาศที่รุนแรงจากความเข้มแสงแดดและอุณหภูมิที่สูงกว่า (Figure 1b) ความเข้มข้นของ CO₂ ในอากาศ (C_a) มีค่าเพิ่มขึ้นหลัง 18 น. มีค่าเฉลี่ยช่วงกลางวัน 399–410 μmolCO₂ mol_{air}⁻¹ โดยค่าสูงสุดเกิดในช่วงเช้ามืด ขณะที่ในฤดูหนาวมีลักษณะของค่า C_a ที่แตกต่างออกไปซึ่งน่าจะเกิดจากการมีลมแรง ทำให้ C_a ไม่สะสมในบริเวณที่วัด (Figure 1c)

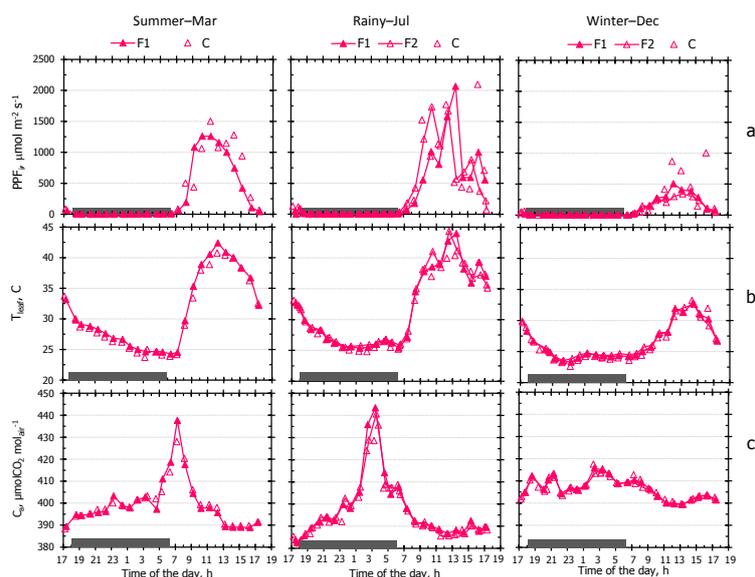


Figure 1 The conditions inside the leaf chamber (LI6400–40) a) Radiation (PPF_i) b) leaf temperature c) air CO₂ concentration. Dark strip indicates night period. F1 and F2 are of “followed leaf” and C is of “cut leaf”

อัตราแลกเปลี่ยนแก๊สของใบและปริมาณกรดรวมในใบ

การแบ่งเฟสการตรึง CO₂ 4 เฟส พิจารณาตามแนวทางสากล (Black and Osmond, 2003) ซึ่งยึดอัตราตรึงหรืออัตรานำเข้า CO₂ สุทธิ (A) เป็นหลักร่วมกับความเข้มแสงแดด ที่แบ่งช่วงไม่มีแสง (เฟสที่ 1) ออกจากช่วงที่มีแสง (เฟสที่ 2–4) ดังนั้นช่วงเวลาของแต่ละเฟสจึงมีความแตกต่างกันได้ระหว่างฤดู โดยเฟสที่ 1 เกิดในช่วงมืด (18:00 – 06:00 น.) เป็นช่วงที่ค่านำไหลปากใบ (g_s) มีค่าสูงคือ ปากใบเปิดกว้างในระดับเฉลี่ย 10–30 และสูงสุด 100–177 mmolH₂O m⁻² s⁻¹ ส่งเสริมให้ CO₂ ในอากาศแพร่เข้าสู่ใบได้ ทำให้ค่า A สูงสุดอยู่ที่ 2–2.6 μmolCO₂ m⁻² s⁻¹ (Figure 2a–b) เฟสที่ 2 เริ่มเมื่อใบได้รับแสงแดด (06.00 – 08.00 น.) โดยค่า A เริ่มลดต่ำกว่าเฟสแรกแต่ค่า g_s ยังคงสูงอยู่ หลังจาก 08.00 น. กระบวนการเข้าสู่เฟสที่ 3 เมื่อแสงแดดเข้มข้น ค่า A ลดลงจนกลับมีค่าติดลบ คือ มีอัตราแพร่ของ CO₂ ออกจากใบมากกว่าอัตราแพร่เข้าสู่ใบ ทำให้ค่า g_s ลดลง เฟสที่ 3 เกิดเป็นระยะเวลาจนถึงประมาณ 14:00–16:00 น. จากนั้นจึงเข้าสู่เฟสที่ 4 เมื่อปรากฏว่าค่า A เพิ่มสูงขึ้น จนมีค่าเป็นบวกอีกครั้ง อยู่ที่ระดับ 0.5–2 μmolCO₂ m⁻² s⁻¹ โดยที่ค่า g_s ของเฟสนี้ยังคงต่ำต่อเนื่องจากเฟสที่ 3 ยกเว้นในฤดูฝนที่พบว่าปากใบเปิดเพิ่มขึ้นใหม่ได้ จากการวัดกระบวนการแลกเปลี่ยนแก๊สแสดงให้เห็นว่า ใบลับประดมีการตรึง CO₂ จากอากาศภายนอกในช่วงเฟส 1 และ 2 มากกว่าช่วงอื่น

เมื่อใบได้รับแสงแดดมากขึ้น H⁺ มีการลดลงอย่างรวดเร็ว แสดงถึงการปลดปล่อย CO₂ เข้าสู่วัฏจักรแคลวิน จนเหลือปริมาณกรดเพียงครึ่งหนึ่งภายใน 2 ชม. ต่อมาที่เวลาประมาณเที่ยงวัน 1 ชม. ความเข้มข้นของ H⁺ ลดจากระดับสูงสุดแบบตั้งจนถึงระดับต่ำ ก่อนจะลดลงอย่างช้า ๆ จนถึงระดับต่ำสุดในรอบวันเวลาประมาณ 16:00 น. เฟสที่ 4 ปริมาณกรดมีระดับต่ำคงที่ จนถึงจุด

สุดท้ายหลังเวลา 17:00 น. จึงมีค่าเพิ่มขึ้น ซึ่งแสดงให้เห็นการเริ่มสะสมกรด ซึ่งเป็นรอยต่อเนื่องการเข้าสู่เฟส 1 ของรอบถัดไป

รูปแบบการตรึง CO₂ ของทั้ง 4 เฟส ปรากฏว่าการตรึงจากอากาศเกิดขึ้นในช่วงกลางคืนหรือเฟสที่ 1 เป็นหลัก เป็นการยืนยันว่าใบลับประดใช้กระบวนการสังเคราะห์แสงแบบ CAM ที่เข้มแข็ง (Cushman, 2001) ผลการศึกษาครั้งนี้สอดคล้อง พรณีย์และสุนทร (2553) และ Nobel and de la Barrera (2004) ที่รายงานว่า ค่า A ที่ได้มีระดับต่ำกว่าพืช CAM ไม้ผล เช่น แก้วมังกร (*Hylocereus undatus*) และไม้ประดับ เช่น กล้วยไม้สกุลหวาย แสดงให้เห็นถึงอัตราสร้างอาหารที่ช้าของใบลับประด

กระบวนการโฟโตเคมีของ PSII ในช่วงมีแสง

ก่อนเข้าสู่ช่วงมีแสง ใบมีค่าประสิทธิภาพการใช้แสง (φ_{PSII}) สูงสุดคงตัวอยู่ในระดับ 0.6–0.7 mole⁻¹molPPF⁻¹ ซึ่งแสดงว่า ระบบรับแสงอยู่ในสภาพเปิดรับอิเล็กตรอนได้เต็มที่ (fully oxidized state) เมื่อใบเริ่มได้รับแสงแดดระหว่างเฟสที่ 2 ค่า φ_{PSII} เริ่มลดลง ต่อมาในช่วงกลางวันตลอดระยะเวลาของเฟสที่ 3 พบว่า ความเข้มแสงเพิ่มขึ้น แต่ค่า φ_{PSII} ลดลงอย่างรวดเร็วสู่ระดับต่ำสุดที่ 0.1–0.2 mole⁻¹molPPF⁻¹ (Figure 3a) แสดงให้เห็นว่า ตัวรับอิเล็กตรอน (Q_A) ที่พร้อมรับอิเล็กตรอนจาก PSII มีสัดส่วนที่ลดลงอย่างรวดเร็ว เนื่องจากมีอัตราการส่งต่อช้ากว่าที่ได้รับมา ใบจึงนำแสงไปใช้ในกระบวนการโฟโตเคมีในสัดส่วนที่ลดลง พลังงานแสงส่วนเกินนี้จะถูกระบายในรูปความร้อนและรังสีฟลูออเรสเซนส์ ซึ่งแสดงออกด้วยอุณหภูมิใบที่สูงขึ้น แต่ทันทีที่แสงแดดลดความเข้มลงอย่างมาก พบว่าค่า φ_{PSII} เพิ่มคืนอย่างรวดเร็วจนอยู่ที่ระดับใกล้เคียงกับช่วงเช้า แสดงว่าการใช้กลไกระบายพลังงานแสงส่วนเกินเป็นสภาวะชั่วคราว (de Mattos et al., 1997)

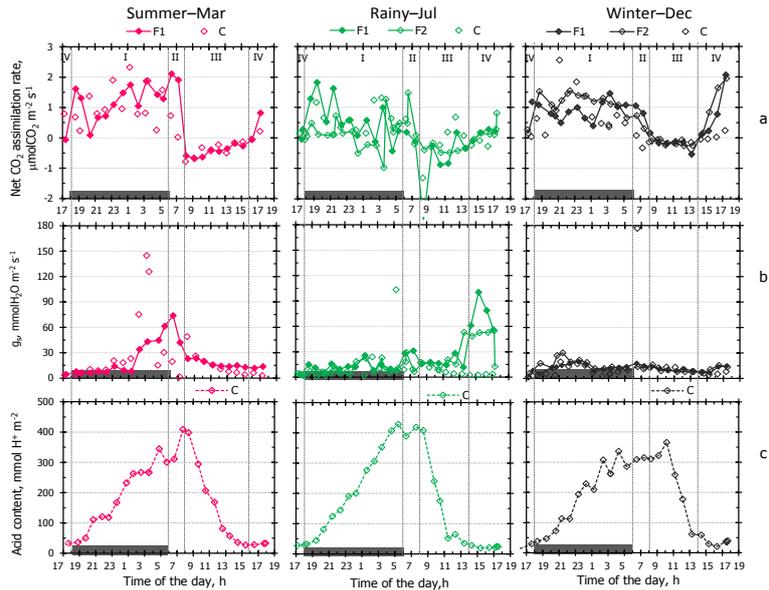


Figure 2 The 24 h changes in pineapple leaf of a) net CO₂ assimilation rate (A) b) stomatal conductance (g_s), and c) leaf total acid content (H⁺). Dark strip indicates night period. F1 and F2 are of “followed leaf” and C is of “cut leaf”

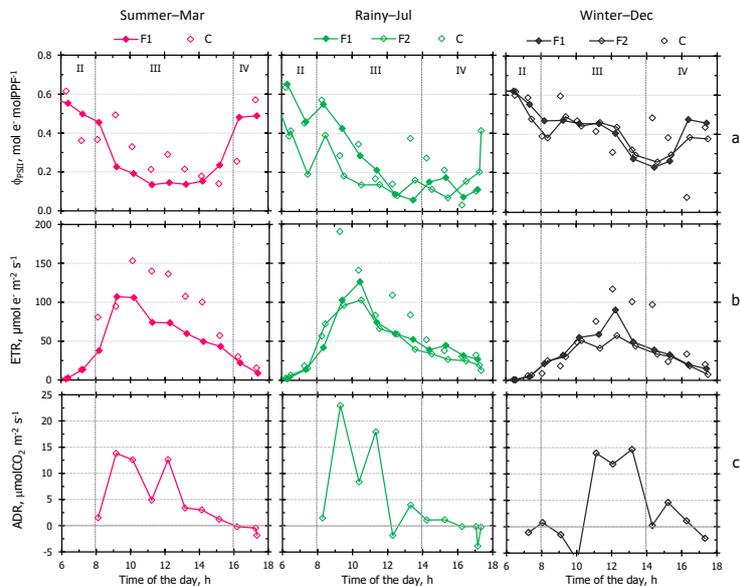


Figure 3 The daytime changes in a) light-adapted quantum efficiency (Φ_{PSII}) b) electron transport rate (ETR) and c) acid decarboxylation rate (ADR). F1 and F2 are of “followed leaf” and C is of “cut leaf”

อัตราเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอน (ETR) ช่วงเช้าตรู่ก่อนมีแสงมีค่าเท่ากับศูนย์ แล้วจึงเพิ่มขึ้นตาม PPF ในช่วงต้นเพลที่ 2 จนถึงระดับสูงสุดในเพลที่ 3 ที่ช่วง 09:00–10:00 น. ของฤดูร้อนและฤดูฝน และที่ 12:00 น. ของฤดูหนาว ต่อมาในช่วงบ่ายถึงเย็น

ค่า ETR ได้ลดลงอย่างต่อเนื่อง (Figure 3b) ในฤดูหนาว ปรากฏว่าไม่ได้รับ PPF ทั้งวันต่ำกว่า ทำให้ค่าเฉลี่ย ETR มีค่าต่ำกว่าด้วย ทั้งนี้ค่า ETR ของสลับประรดพันธุ์ปัตตาเวียที่ได้ปรากฏสูงสุดอยู่ในช่วง 100–190 $\mu\text{mol e}^- \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ซึ่งสูงกว่าพันธุ์ภูเก็ตที่มีรายงาน

มีค่า ETR เท่ากับ $80 \mu\text{mol e}^- \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Ritchie and Bunthawin, 2010) และอยู่ในระดับเดียวกับของพืช C3 และ C4 หลายชนิด เช่น ข้าว มะละกอ ปาล์มน้ำมัน และอ้อย (พรชัยและสุนทร, 2563)

ข้อมูลการศึกษากระบวนการโฟโตเคมีของ PSII ในใบสับปะรดภายใต้สภาพควบคุมมีน้อยปรากฏเพียงในรายงานการศึกษาของ Vieira *et al.* (2010) ซึ่งมีวัตถุประสงค์ของการศึกษาเครื่องมือและวิธีการวัด ตลอดจนค่าพารามิเตอร์ที่แตกต่างจากการศึกษานี้ จึงไม่สามารถนำมาเปรียบเทียบกับผลการศึกษาภายใต้สภาพกลางแจ้งของการศึกษานี้ได้

อัตราการตรึง CO_2 จากการสลายตัวของกรด (ADR) เกิดขึ้นในเฟสที่ 3 เริ่มตั้งแต่ 08:00 น. (Figure 3c) ค่า PPF สูงขึ้นตั้งแต่ต้นเฟสที่ 3 ทำให้ค่า ADR เพิ่มขึ้นจนมีค่าสูงสุดในฤดูร้อนและฤดูฝน ปรากฏในช่วงเวลา 09:00–10:00 น. เท่ากับ 13.8 และ $23 \mu\text{molCO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ตามลำดับ ขณะที่ในฤดูหนาวค่า PPF ต่ำกว่า และค่าสูงสุดเกิดในช่วงเที่ยงวันเท่ากับ $14.7 \mu\text{molCO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ช่วงท้ายของเฟสที่ 3 ค่า H^+ และค่า ADR ลดลงจนถึงระดับต่ำสุดของวัน และมีค่าใกล้ศูนย์ในเฟสที่ 4 นอกจากนี้ ยังพบว่า การที่ใบที่ได้รับแสงเข้มแสงต่ำมาก (เฉลี่ยต่ำกว่า $100 \mu\text{molPPF m}^{-2} \text{s}^{-1}$) ตั้งแต่ช่วงเช้ามีผลทำให้การตรึง CO_2 จากกรดของเฟสที่ 3 ปรากฏช้าขึ้น ดังข้อมูลของฤดูหนาวที่พบว่า ADR เกิดขึ้นช้ากว่าฤดูอื่น 1–2 ชม. (Figure 3c) ทั้งนี้ ค่าเฉลี่ย ADR ตลอดทั้งเฟสที่ 3 แปรผันอยู่ในระดับ $6.7\text{--}7.8 \mu\text{molCO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$

เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างค่าอัตราเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอน (ETR) กับอัตรานำเข้า CO_2 สุทธิ (A) ของข้อมูลทั้งหมด (Figure 4a) พบว่า ใบมีการนำเข้า CO_2 ตลอดคืนขณะที่ g_s มีค่าสูง ค่า A ที่มีค่าเป็นบวกในสภาพไม่มีแสง จึงไม่สัมพันธ์กับ ETR ส่วนในเฟสที่ 3 เมื่อค่า g_s ลดลงซึ่งทำให้การแพร่เข้าใบของ CO_2 จากอากาศภายนอกถูกจำกัดลงมาก ขณะที่มีการเพิ่มขึ้นของ CO_2 ภายในช่องว่างใบจนทำให้ค่า A มีค่าติดลบ

ค่อนข้างคงที่ แม้แสงจะทำให้ ETR เพิ่มขึ้นอย่างมาก ดังนั้น A จึงไม่สัมพันธ์กับ ETR อีกเช่นกัน ซึ่งแตกต่างจากพืช C3 และ C4 ที่ค่า A มีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงกับ ETR เนื่องจากกระบวนการใช้แสงเกิดควบคู่กับกระบวนการนำเข้า CO_2 (ศรีสังวาลย์และสุนทร, 2554ก; 2560) อย่างไรก็ตาม ค่า ETR ที่แสดงถึงการเกิดกระบวนการโฟโตเคมีของระบบใช้แสงให้ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงกับค่า ADR (Figure 4b) โดยมีค่า $r = 0.630$ (d.f.= 23, * $p < 0.05$) เป็นการยืนยันว่า กระบวนการตรึง CO_2 จากกรดเกิดขึ้นในเฟสที่ 3 จริง โดยต้องการพลังงานจากกระบวนการใช้แสงป้อนให้กับวัฏจักรแคลวินเหมือนกับพืช C3 และ C4

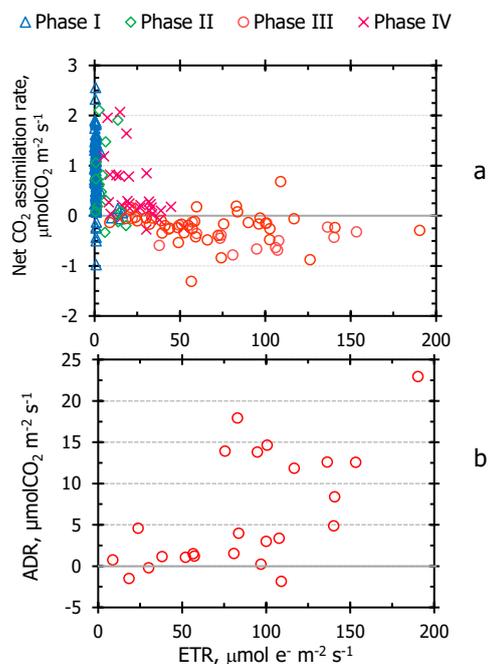


Figure 4 Relations between ETR and a) net CO_2 assimilation rate (A) and b) acid decarboxylation rate (ADR)

แม้ว่าใบสับปะรดมีอัตราการตรึง CO_2 สุทธิ และค่านำไหลปากใบที่ต่ำมากในแต่ละช่วงของวัน แต่ระยะเวลาการตรึง CO_2 ที่เกิดนานต่อเนื่องประมาณ 14 ชม. สามารถชดเชยอัตราการตรึง CO_2 รวมทั้งวันสูงขึ้นได้ นอกจากนี้ การที่ใบ

สามารถเปิดปากใบขึ้นใหม่เพื่อตรึง CO₂ ได้อีกครั้ง ในช่วงบ่าย เมื่อปริมาณวัตถุดิบกรดลดต่ำหรือหมดลง แสดงถึงความยืดหยุ่นของระบบสังเคราะห์แสงของใบสับปะรดเป็นอย่างมาก

สรุปผลการทดลอง

อัตราแลกเปลี่ยนแก๊สในรอบ 24 ชม. ทั้ง 3 ครั้ง ที่วัดได้ในสภาพสนามของใบสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย ปรากฏเฟสการตรึง CO₂ ที่ชัดเจนทั้ง 4 เฟส ใบแสดงการได้รับ CO₂ ผ่านวิถี CAM ที่เกิดขึ้นช่วงไม่มีแสงเป็นหลัก แต่ศักยภาพการตรึง CO₂ ผ่านวิถี CAM มีระดับที่ต่ำกว่าพืช C3, C4 และพืช CAM บางชนิด เนื่องจากมีอัตราตรึง CO₂ สุทธิและค่านำไหลปากใบที่ต่ำมาก สำหรับในช่วงมีแสง กระบวนการโฟโตเคมีที่เกิดขึ้นในเฟสที่ 3 ยืนยันถึงกระบวนการตรึง CO₂ จากกรดภายใต้สภาพปากใบปิดแคบ ในเฟสที่ 4 ใบสามารถเปิดปากใบและตรึง CO₂ ได้อีกครั้งเมื่อปริมาณกรดหมดลง

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา กระทรวงการอุดมศึกษา วิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม และขอขอบคุณ คุณเพียงใจ น้อยดี และครอบครัว ที่อนุเคราะห์พืชทดลองและพื้นที่สำหรับทำงานวิจัย

เอกสารอ้างอิง

พรชัย ไพบูลย์ และสุนทรีย์ ยิ่งชัชวาลย์. 2563. การสร้างฐานข้อมูลการสังเคราะห์แสงของพืชเศรษฐกิจเพื่อนำมาใช้ประโยชน์ในการผลิตพืชที่มีประสิทธิภาพ. หน้า 3-5. ใน: *รายงานโครงการวิจัย*. ศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

พรณี ชื่นนคร และสุนทรีย์ ยิ่งชัชวาลย์. 2553. อัตราแลกเปลี่ยนแก๊สในรอบวันของใบกล้วยไม้สกุลหวาย พันธุ์บอม โจ. *ว. วิทย. กษ.* 41 (2): 231–240.

ศรีสังวาลย์ ลายวิเศษกุล และสุนทรีย์ ยิ่งชัชวาลย์. 2554ก. เส้นตอบสนองต่อแสงของใบผักโขมภายใต้ความเข้มข้นหลายระดับของคาร์บอนไดออกไซด์. *ว. วิทย. กษ.* 42 (2): 193–202.

ศรีสังวาลย์ ลายวิเศษกุล และสุนทรีย์ ยิ่งชัชวาลย์. 2560. ศักยภาพการสังเคราะห์แสงของใบธงของข้าวพันธุ์ กข41, ปทุมธานี1 และชาวดอกมะลิ105 ภายใต้การเพิ่มขึ้นของ CO₂. *ว. วิทย. กษ.* 48 (1): 36–47.

Black, C.C. and C.B. Osmond. 2003. Crassulacean acid metabolism photosynthesis: working the nightshift. *Photosynth Res.* 76 (1–3): 329–341.

Chen, L.S., Q. Lin and A. Nose. 2002. A comparative study on diurnal changes in metabolite levels in the leaves of three crassulacean acid metabolism (CAM) species, *Ananas comosus*, *Kalanchoë daigremontiana* and *K. pinnata*. *J. Exp. Bot.* 53 (367): 341–350.

Cote, F.X., M. Andre., M. Folliot., D. Massimino and A. Daguene. 1989. CO₂ and O₂ exchanges in the CAM plant *Ananas comosus* (L.) Merr. Determination of total and malate–decarboxylation–dependent CO₂ assimilation rates: study of light O₂ uptake. *Plant Physiol.* 89 (1): 61–68.

Cushman, J.C. 2001. A Plastic Photosynthetic Adaptation to Arid Environments. *Plant Physiol.* 127 (4): 1439–1448.

De Mattos, E.A., T.E.E. Grams, E. Ball,

- A.C. Franco, A. Haag-Kerwer, B. Herzog, F.R. Scarano and U. Lüttge. 1997. Diurnal patterns of chlorophyll a fluorescence and stomatal conductance in species of two types of coastal tree vegetation in southeastern Brazil. *Trees* 11(6): 363–369.
- Dodd, A.N., A.M. Borland, R.P. Haslam, H. Griffiths and K. Maxwell. 2002. Crassulacean acid metabolism: plastic, fantastic. *J. Exp. Bot.* 53 (369): 569–580.
- Franco, A.C., B. Herzog, C. Hübner, E.A. de Mattos, F.R. Scarano, E. Ball and U. Lüttge. 1999. Diurnal changes in chlorophyll a fluorescence, CO₂-exchange and organic acid decarboxylation in the tropical CAM tree *Clusia hilariana*. *Tree Physiol.* 19 (10): 635–644.
- Farquhar, G.D., S. von Caemmerer and J.A. Berry. 1980. A biochemical-model of photosynthetic CO₂ assimilation in leaves of C3 species. *Planta.* 149 (1): 78–90.
- Genty, B., J.M. Briantais and N.R. Baker. 1989. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochim. Biophys. Acta - Gen. Subj.* 990 (1): 87–92.
- Griffiths, H., W.E. Robe, J. Girnus and K. Maxwell. 2008. Leaf succulence determines the interplay between carboxylase systems and light use during Crassulacean acid metabolism in *Kalanchoe* species. *J. Exp. Bot.* 59 (7): 1851–1861.
- LI-COR. 2011. *Instruction Manual for Using the LI-6400/LI-6400XT Portable Photosynthesis System, OPEN Software Version 6.2.* LI-COR Biosciences Inc., Nebraska. 1324 p.
- Lüttge, U. 1989. Carbondioxide Concentrating Mechanisms and Evolution of CAM in Vascular Epiphytes. pp. 42–86. *In: Vascular Plants as Epiphytes Evolution and Ecophysiology.* Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Germany. 270 p.
- Malezieux E., F.E. Cote and D.P. Bartholomew. 2003. Crop Environment, Plant Growth and Physiology. pp. 69–107. *In: D.P. Bartholomew, R.E. Paull and K.G. Rohrbach (eds), The Pineapple Botany, Production and Uses.* University of Hawaii at Manoa Honolulu, CABI Publishing. 301 p.
- Nobel, P.S. and E. de la Barrera. 2004. CO₂ uptake by the cultivated hemiepiphytic cactus, *Hylocereus undatus*. *Ann. appl. Biol.* 144 (1): 1–8.
- Ritchie, R.J. and S. Bunthawin. 2010. Photosynthesis in Pineapple (*Ananas comosus* (L.) Merr) Measured Using PAM (Pulse Amplitude Modulation) Fluorometry. *Tropical Plant Biol.* 3 (4): 193–203.
- Vieira, D.A.P., T.A. Portes, E. Stacciarini-Seraphin and J.B. Teixeira. 2010. Fluorescence and levels of chlorophyll in pineapple plants cv. pérola submitted to different concentration of ammonium sulphate. *Rev. Bras. Frutic.* 32 (2): 360–368.
- von Caemmerer, S. 2000. *Biochemical models of leaf photosynthesis.* CSIRO Publishing. 165 p.