

ศักยภาพการสังเคราะห์แสงแบบ Crassulacean Acid Metabolism  
ของใบสับประรดพันธุ์ปัตตาเวีย  
Leaf Photosynthesis Potential in Pineapple (*Ananas comosus* L. Merr.)  
'Smooth Cayenne', a Crassulacean Acid Metabolism Plant

พรรณี ชื่นนคร<sup>1,2</sup> สุนทรี ยิ่งชัชวาลย์<sup>1,2\*</sup>  
Pannee Chuennakorn<sup>1,2</sup> Suntaree Yingjajaval<sup>1,2\*</sup>

Received 01 July 2020/Revised 03 Aug 2020/Accepted 12 Nov 2020

### ABSTRACT

Light response of pineapple 'Smooth Cayenne', a crassulacean acid metabolism (CAM) plant, was assessed by combining the measurements of leaf gas exchange, chlorophyll fluorescence and total acid content during each of the four carboxylation phases. Results showed that the gas exchange parameters, namely the net photosynthesis ( $A$ ) and the stomatal conductance ( $g_s$ ) did not correspond to the applied radiation intensity (PPF). It was clear that the procedure of gas exchange measurement was not applicable to assess CAM light response in all phases. The chlorophyll fluorescence measurement, on the other hand, provided data on the light-adapted quantum efficiency ( $\Phi_{PSII}$ ) and the electron transport rate (ETR). ETR showed increase with PPF, thus could be fitted into a non-rectangular hyperbola function in all phases. The estimation showed that the maximum ETR was  $143 \mu\text{mol e}^- \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$  during Phase III (9-12 h), and the estimated maximum gross photosynthesis rate ( $P_g$ ) was  $35.8 \mu\text{molCO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , with the light saturation ( $I_{sETR}$ ) of  $750 \mu\text{molPPF m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . The measurement of the leaf total acid content ( $H^+$ ) showed that the levels were high during Phase I and II (dark to dawn). During daytime Phase III,  $H^+$  was reduced drastically, confirming the release of  $\text{CO}_2$  into the process of photochemistry. In Phase IV, both ETR and  $H^+$  were spent and the levels became low. Our study showed that we needed 3 procedures together to assess the light response of CAM leaf of pineapple.

**Keywords:** Light response, Chlorophyll fluorescence, Electron transport rate, Photochemistry, Total acid content

<sup>1/</sup> ศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ.นครปฐม 73140

Center for Agricultural Biotechnology, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140, Thailand

<sup>2/</sup> ศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา กรุงเทพฯ 10900

Center of Excellence on Agricultural Biotechnology: (AG-BIO/PERDO-CHE), Bangkok10900, Thailand

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

## บทคัดย่อ

ศึกษาศักยภาพการสังเคราะห์แสงของใบ สับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย ซึ่งมีวิถีสังเคราะห์แสงแบบ Crassulacean acid metabolism โดยใช้ การวัด 3 วิธีการ คือ วัดด้วยกระบวนการแลกเปลี่ยน แก๊ส กระบวนการใช้แสง ร่วมกับวัดปริมาณกรด รวมในใบ ( $H^+$ ) ที่แต่ละช่วงเวลาของ 4 เฟสของการตรึง  $CO_2$  ผลการศึกษาแสดงว่า กระบวนการ แลกเปลี่ยนแก๊สไม่สามารถประเมินเส้นตอบสนอง ต่อแสงทั้งเฟส 4 ได้ เพราะทั้งอัตราสังเคราะห์แสง สุทธิและค่าน้ำไหลปากใบมีค่าที่ไม่ผันแปรตาม ความเข้มแสง ( $PPF_i$ ) แต่เมื่อใช้การวัดรังสี คลอโรฟิลล์ฟลูออเรสเซนส์ ซึ่งให้ค่าประสิทธิภาพ การใช้แสง ( $\Phi_{PSII}$ ) และอัตราเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอน (ETR) จะสามารถแสดงถึงการเกิดกระบวนการ โฟโตเคมีได้ โดยความสัมพันธ์ระหว่าง ETR กับ  $PPF_i$  เข้ารูป non-rectangular hyperbola ได้ทั้ง 4 เฟส ทั้งนี้ ค่า ETR สูงสุดเกิดในเฟสที่ 3 (9:00-12:00 น.) มีค่า  $143 \mu mol e^- m^{-2} s^{-1}$  ซึ่งทำให้ คำนวณอัตราสังเคราะห์แสงรวม ( $P_g$ ) สูงสุดได้ เท่ากับ  $35.8 \mu mol CO_2 m^{-2} s^{-1}$  และระดับความ เข้มแสงอิ่มตัวเท่ากับ  $750 \mu mol PPF m^{-2} s^{-1}$  ข้อมูลปริมาณกรดรวม แสดงค่าสูงในช่วงมืดและ เข้าตรู่ของเฟส 1 และ 2 ในเฟสที่ 3 ปริมาณกรด ลดลงอย่างรวดเร็ว ขณะที่ค่า ETR เพิ่มขึ้นสูงสุด เป็นการยืนยันว่า มีการปลดปล่อย  $CO_2$  เข้าสู่ กระบวนการโฟโตเคมี ในช่วงเย็นของเฟสที่ 4 ทั้ง ปริมาณกรดและค่า ETR ถูกใช้หมด จนมีระดับ ลดต่ำลงมาก การศึกษานี้แสดงว่า การประเมิน ศักยภาพการสังเคราะห์แสงของใบสับปะรดทำได้ เมื่อใช้การวัดกระบวนการทั้ง 3 เรื่องร่วมกัน

**คำสำคัญ:** เส้นตอบสนองต่อแสง, คลอโรฟิลล์ ฟลูออเรสเซนส์, อัตราเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอน กระบวนการโฟโตเคมี, ปริมาณกรดรวม

## บทนำ

สับปะรด (*Ananas comosus* L. Merr.) เป็นไม้ผลที่ดำเนินวิถีการสังเคราะห์แสงแบบ Crassulacean acid metabolism (CAM) เติบโต และปรับตัวในเขตร้อนและแล้งได้ดี โดยเฉพาะใน ทวีปอเมริกาใต้และเอเชีย (Malezieux *et al.*, 2003) ประเทศไทยเป็นประเทศผู้ผลิตและผู้ส่งออก ผลิตภัณฑ์สับปะรดมากที่สุด อยู่ใน 5 อันดับของโลก (FAOSTAT, 2017) แม้กระนั้นก็ตาม งานศึกษาด้านอัตราสังเคราะห์แสงของสับปะรดที่เติบโตใน ประเทศไทยมีปรากฏน้อยมาก งานวิจัยนี้มี วัตถุประสงค์เพื่อเพิ่มเติมองค์ความรู้ด้านศักยภาพ การสังเคราะห์แสงของสับปะรด เพื่อเป็นตัวแทน ของพืช CAM โดยวัดเส้นตอบสนองต่อแสงของใบ สับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย ซึ่งเป็นพันธุ์ที่ปลูกสำหรับ อุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์สับปะรดในประเทศไทย

การตอบสนองต่อแสงของใบพืช (light response) บ่งชี้ถึงศักยภาพของกระบวนการสังเคราะห์แสง ซึ่งเป็นกระบวนการควบต่อเนื่องกัน ระหว่างกระบวนการใช้แสงหรือกระบวนการ โฟโตเคมี (photochemistry) กับกระบวนการตรึง  $CO_2$  หรือคาร์บอกซิเลชัน (carboxylation) ที่กำหนด ได้ดีถึงศักยภาพการสร้างชีวมวลภายใต้เงื่อนไข สภาพแวดล้อมที่พืชนั้นได้รับ การวัดเส้นตอบสนองต่อแสงของใบพืช C3 และ C4 ทำได้โดยวัด อัตราแลกเปลี่ยนแก๊ส (gas exchange rate) ที่ ติดตามการลดลงของความเข้มข้นของแก๊ส  $CO_2$  ที่ถูกตรึงในกระบวนการสังเคราะห์แสง ค่าที่วัดได้ คืออัตราสังเคราะห์แสงสุทธิ (net photosynthesis rate) ที่เป็นผลต่างระหว่างอัตราสังเคราะห์แสง จริงหรือรวม (true or gross photosynthesis rate) กับอัตราหายใจที่มีทั้งอัตราการหายใจเชิงแสง (photorespiration) ที่เกิดจากกระบวนการตรึง  $O_2$  (oxygenation) ของเอนไซม์ Rubisco และอัตรา หายใจของเซลล์ (mitochondrial respiration) (สุทินและคณะ, 2549; พรชัยและสุนทรี, 2550; ศรีสังวาลย์และสุนทรี, 2554; วินัยและคณะ,

2559; พรรณีและสุนทร, 2560; Wohlfahrt and Gu, 2015) แต่การวัดอัตราสังเคราะห์แสงของใบพืชที่ใช้วิธีการสังเคราะห์แสงแบบ CAM มีความซับซ้อนขึ้น เพราะในช่วงที่มีแสง ปากใบจะปิดแคบเพื่อลดการเสียน้ำ ทำให้ใบไม่สามารถใช้วัตถุดิบ CO<sub>2</sub> จากอากาศภายนอกโดยตรง แต่จะใช้ CO<sub>2</sub> ภายในใบที่ได้จากการสลายตัวของกรดมาลิก (acid decarboxylation) ที่ใบสะสมไว้ตลอดช่วงกลางคืน ปากใบที่ปิดแคบไม่เพียงแต่ลดการสูญเสียน้ำ แต่ยังเป็นกลไกลดการรั่วออกของ CO<sub>2</sub> จากช่องว่างภายในใบ (intercellular space [CO<sub>2</sub>], C<sub>i</sub>) สู่อากาศไปพร้อมกัน เนื่องจากในช่วงดังกล่าว CO<sub>2</sub> ที่ถูกปลดปล่อยจากการสลายตัวของกรดมาลิกมีความเข้มข้นสูงกว่าความเข้มข้นของ CO<sub>2</sub> ในอากาศ (atmospheric [CO<sub>2</sub>], C<sub>a</sub>) หลายเท่า (Nobel, 1991) หากใช้วิธีวัดอัตราแลกเปลี่ยนแก๊สแบบพืชอื่นจะวัดได้ค่าอัตราสังเคราะห์แสงสุทธิเป็นค่าติดลบ ซึ่งจะตีความว่าใบพืชกำลังหายใจโดยไม่สะท้อนกระบวนการสังเคราะห์แสงจริงที่เกิดขึ้น (พรรณีและสุนทร, 2553)

วิถีของ CAM มีการจำแนกเฟสการตรึง CO<sub>2</sub> ที่พบในรอบ 24 ชม. ได้ 4 เฟส โดยเฟสที่ 1 เกิดขึ้นในช่วงมืด ปากใบที่เปิดกว้างขึ้น ทำให้ใบตรึง CO<sub>2</sub> ทั้งจากอากาศภายนอกและจากการหายใจของเซลล์ภายในใบด้วยเอนไซม์ phosphoenolpyruvate carboxylase (PEPc) โดยสะสมไว้ในรูปกรดมาลิกอยู่ในแวคคิวโอล เฟสที่ 2 เกิดในช่วงเช้าตรู่เมื่อเริ่มมีแสงถึงช่วงสายของวันและปากใบยังเปิดกว้างอยู่ ทำให้เกิดการตรึง CO<sub>2</sub> จากอากาศโดยกระบวนการโฟโตเคมีร่วมกับเอนไซม์ปรกติคือ Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase (Rubisco) ในเวลาถัดมา เมื่อแสงแดดแรงขึ้นและสภาพอากาศที่แห้งชกนําให้ปากใบปิดแคบลง การตรึง CO<sub>2</sub> จะเข้าสู่เฟสที่ 3 ซึ่งเกิดในช่วงสายของวัน เมื่อความเข้มแสงแดดเพิ่มขึ้นและปากใบปิดแคบ โดย CO<sub>2</sub> ที่ถูกตรึงเกิดอยู่ภายในใบจากการสลายตัวของกรด

มาลิก (malic acid decarboxylation) ที่สะสมไว้ โดยใช้เอนไซม์ Rubisco เฟสที่ 4 เกิดขึ้นในช่วงบ่ายถึงเย็น ปากใบอาจเปิดกว้างขึ้นได้ใหม่อีกครั้ง จึงเป็นช่วงที่ CO<sub>2</sub> จากอากาศแพร่เข้าสู่ใบ และถูกตรึงโดยตรงด้วยเอนไซม์ Rubisco ในช่วงเฟสนี้ กรดมาลิกที่สะสมไว้มักสลายตัวจนหมดไปก่อนแล้ว และในช่วงท้ายเมื่อหมดแสง ใบจะเริ่มสะสมกรดมาลิกได้โดยเปลี่ยนใช้ PEPc ในการตรึง CO<sub>2</sub> ซึ่งเป็นการเริ่มต้นของเฟสที่ 1 ของวันถัดไป (Cote et al., 1989; Dodd, et al., 2002; Malezieux et al., 2003)

กระบวนการสังเคราะห์แสงที่ครบขั้นตอนของทั้งกระบวนการโฟโตเคมี และคาร์บอนซิเคชันของใบพืช CAM เกิดขึ้นในช่วงที่มีแสง (เฟสที่ 2, 3 และ 4) โดยการศึกษาในช่วงก่อนปี ค.ศ. 2000 มีการประเมินอัตราสังเคราะห์แสงจากการวัดอัตราแลกเปลี่ยนแก๊ส O<sub>2</sub> ที่ถูกปลดปล่อยจากการแตกตัวของ H<sub>2</sub>O ของปฏิกิริยาใช้แสงของระบบรับแสง 2 (photosystem II, PSII) และวัดการลดลงของปริมาณกรดมาลิกที่สลายตัวปลดปล่อย CO<sub>2</sub> ที่ถูกตรึง (Cote et al., 1989; Maxwell et al., 1999) ต่อมาถึงปัจจุบัน มีการพัฒนาการวัดรังสีคลอโรฟิลล์ฟลูออเรสเซนส์ (chlorophyll fluorescence) เพื่ออธิบายเรื่องประสิทธิภาพการใช้แสงของ PSII ของกระบวนการโฟโตเคมี ในพืช CAM และ C3-CAM ภายใต้อุณหภูมิปากใบปิดแคบอย่างได้ผลมากขึ้น (พรรณีและสุนทร, 2550; Franco et al., 1996; 1999; de Mattos et al., 1997; de Mattos and Lttge, 2001; Griffiths et al., 2008; Ritchie and Bunthawin, 2010b) งานวิจัยนี้จึงต้องการศึกษาศักยภาพการสังเคราะห์แสงของใบสับปะรด เพื่อความเข้าใจการใช้แนววิธีการประเมิน 3 วิธี คือวิธีการวัดกระบวนการแลกเปลี่ยนแก๊ส วิธีการวัดรังสีคลอโรฟิลล์ฟลูออเรสเซนส์ ร่วมกับการวัดปริมาณกรดรวมภายในใบในแต่ละเฟสของใบสับปะรด

## อุปกรณ์และวิธีการ

### พืชทดลอง

ต้นสับปะรดที่ใช้ศึกษาเป็นพันธุ์ปัตตาเวีย (*Ananas comosus* L. Merr) 'Smooth Cayenne' ปลูกด้วยหน่อ (หน่อใหม่ซึ่งแตกออกจากต้นแม่เดิม) เลี้ยงในกระถางที่ตั้งในบริเวณกลางแจ้งให้ได้รับแสงแดดธรรมชาติ ภายในมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ. นครปฐม (N14 01.572' E99 58.393') มีการให้น้ำสม่ำเสมอเพื่อให้รากพืชได้รับน้ำในระดับที่ไม่ต่ำกว่า  $-20$  kPa ด้วยเครื่องวัดแรงดึงน้ำของดิน (tensiometer) การเก็บข้อมูลทำในช่วงที่ต้นสับปะรดมีอายุ 6–8 เดือน ซึ่งเป็นช่วงเติบโตเต็มที่ เลือกวัดใบตำแหน่ง "D-leaf" ซึ่งเป็นใบที่ขยายขนาดเต็มที่ของหน่อใหม่ (Malezieux *et al.*, 2003) มีค่าดัชนีความเขียวใบคงที่ในช่วง 43–51 (วัดด้วยเครื่อง Chlorophyll meter รุ่น SPAD-502)

### การวัดอัตราแลกเปลี่ยนแก๊สและคลอโรฟิลล์ฟลูออเรสเซนส์

วัดเส้นตอบสนองแสงเพื่อครอบคลุม ทั้ง 4 เฟส ของการตรึง  $\text{CO}_2$  ของใบสับปะรด โดยผลการตรึง  $\text{CO}_2$  ได้จากการศึกษาข้อมูลอัตราตรึง  $\text{CO}_2$  สุทธิในรอบวันเบื้องต้น (preliminary study) ภายในพื้นที่มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ทำให้สามารถประมาณการช่วงเวลาที่ใบทำงานในแต่ละเฟส กล่าวคือ เฟสที่ 1 เป็นช่วงมืดก่อนพระอาทิตย์ขึ้น (4:00–6:00 น.) ซึ่งมีค่าอัตราตรึง  $\text{CO}_2$  สุทธิ (A) เป็นบวก เฟสที่ 2 เข้าตรู

ที่เริ่มมีแสงแดด (6:00–8:00 น.) ซึ่งมีค่า A เป็นบวก เฟสที่ 3 ที่ความเข้มแสงแดดจัดในช่วงต้นและปลายเฟส (9:00–12:00 และ 13:00–15:00 น.) ซึ่งมีค่า A เป็นค่าติดลบ และเฟสที่ 4 ช่วงเย็น (16:00–18:00 น.) ซึ่งมีค่า A เป็นบวก เก็บข้อมูลในช่วงวันที่ 20–22 พฤศจิกายน 2556 โดยวัดต่อเนื่องกันตามลำดับเวลาของแต่ละเฟส การวัดแต่ละเฟสใช้จำนวนใบ 3 ใบ (3 ซ้ำ) จากคนละต้น

เส้นตอบสนองต่อแสง (light response function) วัดด้วยหลักการแลกเปลี่ยนแก๊ส พร้อมกันกับหลักการของคลอโรฟิลล์ฟลูออเรสเซนส์ ด้วยเครื่องวัดระบบสังเคราะห์แสงรุ่น LI6400–40 ชนิดหัววัด Fluorometer (LICOR, U.S.A.) กำหนดให้สภาพอากาศภายในหัววัดใบมีระดับคงที่ คือความเข้มข้น  $\text{CO}_2$  ในอากาศที่  $400 \mu\text{molCO}_2 \text{ mol}^{-1} \text{ T}_{\text{air}}$  25–30 C และ RH 75–80% เพื่อให้แรงดึงระเหยน้ำ ( $\text{VPD}_{\text{air}}$ ) มีค่าอยู่ที่ประมาณ 1 kPa ส่วนความเข้มแสงที่ให้แก่ใบ (photosynthetic photon flux density, PPF) ได้ผันแปรโดยเริ่มต้นจากค่าสูงสุดที่  $2,000 \mu\text{molPPF m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  แล้วลดลงเป็นขั้น ๆ จนถึงศูนย์ เครื่องสามารถวัดอัตราแลกเปลี่ยนแก๊สในเวลาเดียวกับการวัดค่าประสิทธิภาพการใช้แสงของ PSII ขณะที่ใบได้รับแสง (light-adapted quantum efficiency,  $\Phi_{\text{PSII}}$ ) ที่เป็นค่าสัดส่วนของพลังงานแสงที่ใบใช้ในกระบวนการโฟโตเคมี โดยคำนวณตามวิธีการของ Genty *et al.* (1989) ใช้ค่า  $\Phi_{\text{PSII}}$  คำนวณอัตราเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอน (electron transport rate, ETR) ดังสมการ

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

เมื่อ I คือความเข้มแสง

$\alpha_{\text{leaf}}$  คือค่าการดูดกลืนแสงของใบ (leaf absorptance) กำหนดให้เท่ากับ 0.875

f คือค่าสัดส่วนของแสงที่เข้าสู่ PSII กำหนดให้เท่ากับ 0.5 (LI-COR, 2011)

เครื่องคำนวณค่า photochemical quenching, qP ซึ่งค่านี้จะมีค่าสูงที่ความเข้มแสงระดับต่ำ แสดงถึงสัดส่วนของ reaction centers ที่สามารถเปิดรับอิเล็กตรอนได้สำหรับกระบวนการโฟโตเคมี พารามิเตอร์ที่คำนวณเพิ่มเติมคือค่า 1-qP (non-photochemical quenching) แสดงถึงสัดส่วนของพลังงานแสงที่ถูกกระจายโดย

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

เมื่อ  $\alpha$  = ประสิทธิภาพการใช้แสงสูงสุดสำหรับกระบวนการตรึง CO<sub>2</sub> จำนวนจากค่าความชันเริ่มต้นที่ความเข้มแสงต่ำช่วง 0-100  $\mu\text{molPPF m}^{-2} \text{s}^{-1}$  I = ความเข้มแสงในภาชนะบรรจุใบ  $\theta$  = ค่าควบคุมความโค้งของเส้นกราฟ

$$ETR = \frac{1}{2\theta} \left[ \alpha_{ETR} I + ETR_{max} - \sqrt{(\alpha_{ETR} I + ETR_{max})^2 - 4\alpha_{ETR} I \theta ETR_{max}} \right] \quad (2)$$

เมื่อ  $\alpha_{ETR}$  = ประสิทธิภาพการสังเคราะห์แสง ซึ่งเป็นค่าความชันของฟังก์ชันเส้นตรงของกับ ETR ในช่วง I ระดับต่ำที่ 0-100  $\mu\text{molPPF m}^{-2} \text{s}^{-1}$  ETR<sub>max</sub> คืออัตราเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนสูงสุด และ  $\theta$  = ค่าควบคุมความโค้งของเส้นกราฟ ประเมินค่าพารามิเตอร์ได้แก่  $\alpha_{ETR}$ , ETR<sub>max</sub> จากคำสั่ง solver ให้ SSD ของค่า ETR ที่ได้จากเครื่องวัด LI6400-40 และค่า ETR ที่ได้จากสมการ 2 มีค่าน้อยที่สุด โดยกำหนดเงื่อนไขให้ค่า  $\theta$  อยู่ในช่วง 0-1 (ศรีสังวาลย์และสุนทร, 2554) จำนวนความเข้มแสงอิ่มตัว ( $I_{s, ETR}$ ) ที่ 85% ของ ETR<sub>max</sub>

อัตราสังเคราะห์แสงรวม (gross photosynthesis rate, P<sub>g</sub>) ซึ่งเป็นผลรวมของอัตราตรึง CO<sub>2</sub> โดยเอนไซม์ Rubisco เป็นค่าคำนวณขั้นต้นจากค่า ETR ตามวิธีของ Franco *et al.* (1999) และ Ritchie and Bunthawin (2010b) โดยใช้หลักการว่า ต้องใช้อิเล็กตรอนที่ส่งผ่านระบบ PSII จำนวน 4 โมล เพื่อผลิต 1 โมล ของ O<sub>2</sub> และ 1 โมลของ CO<sub>2</sub> ที่ผ่านวัฏจักรคัลวิน (4e<sup>-</sup>:1O<sub>2</sub>:1CO<sub>2</sub>) ดังนั้น P<sub>g</sub> = ETR/4

กระบวนการอื่น ๆ ที่ไม่ใช่โดยกระบวนการโฟโตเคมี ได้แก่ การเรืองแสง (fluorescence) และความร้อน (de Mattos *et al.*, 1997)

ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราสังเคราะห์แสงสุทธิ (A) กับความเข้มแสง (PPF) มีรูปร่างเช่นแบบ non-rectangular hyperbola (Thornley and Johnson, 1990) ดังนี้

P<sub>max</sub> = อัตราสังเคราะห์แสงรวมสูงสุด R<sub>d</sub> = อัตราหายใจในช่วงกลางวัน

ส่วนอัตราเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอน (electron transport rate, ETR) สัมพันธ์กับความเข้มแสงในลักษณะเดียวกัน กล่าวคือ

### ปริมาณกรดรวมในใบ

ใบส่วนที่วัดเส้นตอบสนองต่อแสงแล้วทุกใบ จะถูกตัดเก็บตัวอย่างทันที เพื่อใช้วัดปริมาณกรดรวมในใบ (total acid content, H<sup>+</sup>) วัดมวลสดและพื้นที่ใบ ต้มตัวอย่างใบในน้ำเดือด กรองสารละลายที่ได้แล้วไตเตรทด้วย NaOH 0.01 N ใช้ phenolphthalein เป็น indicator (พรรณี, 2550) จำนวนปริมาณกรดรวมต่อหนึ่งหน่วยพื้นที่ใบ

### ผลการทดลองและวิจารณ์

#### การวัดอัตราแลกเปลี่ยนแก๊สและคลอโรฟิลล์ฟลูออเรสเซนส์

เส้นตอบสนองต่อความเข้มแสงทั้ง 4 เฟสของการตรึง CO<sub>2</sub> ของใบสับปะรด แสดงว่า แสงภายนอกที่ใบส่วนใหญ่ได้รับ จะกำหนดการดำเนินการสังเคราะห์แสงมากกว่าแสงที่เพิ่มให้ในหัววัดใบ จึงทำให้ใบมีอัตรานำเข้าหรือตรึง CO<sub>2</sub> สุทธิ (A) และค่านำไหลปากใบ (g<sub>p</sub>) ที่ไม่ผันแปรตามความเข้มแสงที่ส่องให้ใบ (PPF<sub>i</sub>) ซึ่งต่างจากลักษณะที่พบในใบพืช C3-C4 กล่าวคือ ค่า A และ

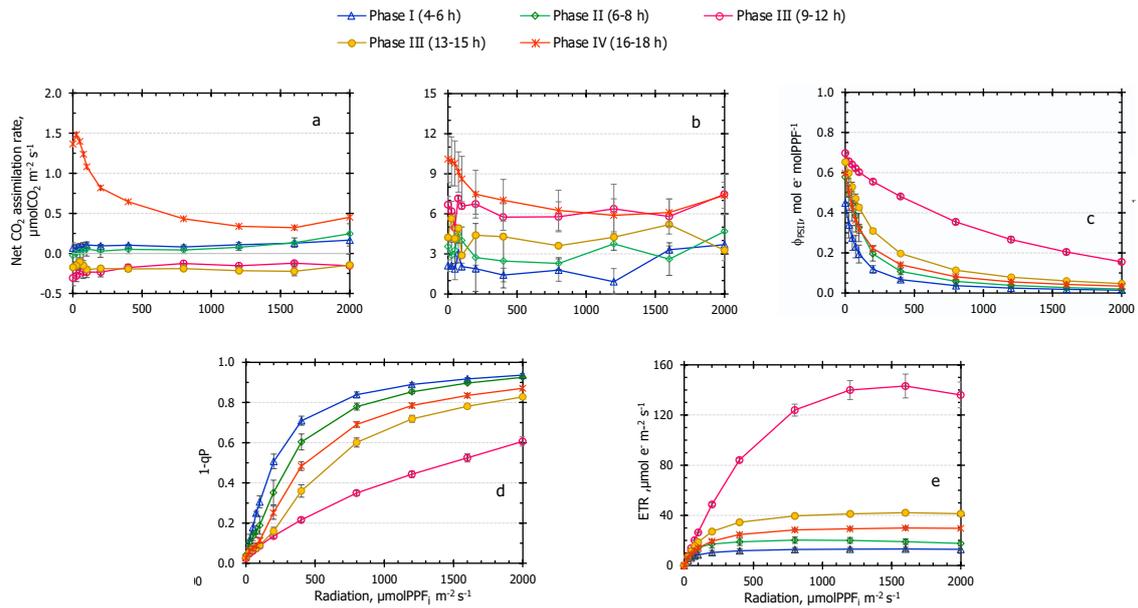
$g_s$  อยู่ในระดับค่อนข้างคงที่ ตลอดช่วงความเข้มแสงที่ให้ หรือกลับแสดงการตรึง  $CO_2$  สูงสุดในช่วงไม่มีแสง หลังจากนั้นในเฟสที่ 3 เมื่อแสงภายนอกเพิ่มขึ้นซึ่งชักนำไปปากใบเปิดได้กว้างขึ้นกว่าช่วงก่อนหน้า แต่ A กลับมีค่าติดลบ ซึ่งแสดงว่า  $CO_2$  ภายในใบแพร่ออกในอัตราสูงกว่าแพร่เข้าใบ จึงเห็นได้ว่าในเฟสที่ 3 นี้ การวัดกระบวนการแลกเปลี่ยนแก๊สไม่สามารถใช้ประเมินศักยภาพการสังเคราะห์แสงของใบพืช CAM ได้ ส่วนเฟสที่ 4 ค่านำไหลปากใบมีค่าเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะเมื่อลดความเข้มแสงลงต่ำกว่า  $200 \mu molPPF m^{-2} s^{-1}$  ทำให้ A มีค่าเพิ่มสูงขึ้นสูงสุดอยู่ที่  $1.5 \mu molCO_2 m^{-2} s^{-1}$  ใบสับปรดเป็นพืช CAM ที่มีเฟสที่ 4 ชัดเจนที่แสดงการเปิดปากใบและตรึง  $CO_2$  จากอากาศได้ใหม่อีกครั้งในช่วงก่อนหมดแสง และเป็นอัตราแลกเปลี่ยนแก๊สที่สูงกว่าเฟสอื่น (Figure 1a–1b)

ทั้ง 4 เฟสนี้ เนื่องจากค่า A ไม่ผันตาม  $PPF_i$  ทำให้ไม่สามารถเข้ารูปสมการ non-rectangular hyperbola ที่ใช้กันสำหรับพืช C3 และ C4 ได้ ค่า A ที่ความเข้มแสง  $2,000 \mu molPPF m^{-2} s^{-1}$  ( $A_{2000}$ ) มีค่าอยู่ในช่วง -0.2 ถึง  $0.5 \mu molCO_2 m^{-2} s^{-1}$  ข้อมูลที่ได้แสดงชัดเจนว่า การประเมินศักยภาพการสังเคราะห์แสงของใบสับปรดที่เป็นพืช CAM ไม่สามารถใช้วิธีการวัดอัตราแลกเปลี่ยนแก๊สได้

อย่างไรก็ตาม การวัดกระบวนการใช้แสงด้วยวิธีวัดคลอโรฟิลล์ฟลูออเรสเซนส์ จะให้ข้อมูลว่าได้เกิดกระบวนการโฟโตเคมีขึ้นในใบ ทั้งนี้ พบว่า ค่าประสิทธิภาพการใช้แสงของ PSII ขณะที่ใบได้รับแสง ( $\Phi_{PSII}$ ) มีค่าลดลงเมื่อความเข้มแสงที่ส่องให้มีค่าเพิ่มขึ้น ซึ่งแสดงชัดเจนว่าใบสับปรดสามารถใช้พลังงานแสงได้ในสัดส่วนที่ต่ำ โดยสัดส่วนการใช้แสงลดลงอย่างรวดเร็วจากประมาณ 0.7 เหลือต่ำกว่า 0.2 (Figure 1c) ขณะที่ใบได้รับแสง แต่ใช้แสงในกระบวนการโฟโตเคมีได้ไม่หมด แสงส่วนเกินจะถูกกระจายในรูปแบบอื่น ๆ ซึ่งพบว่าค่า  $1-qP$  มีค่าเพิ่มขึ้นตามความเข้มแสง

(Figure 1d) โดยในช่วงมีดเฟสที่ 1 ค่า  $1-qP$  มีระดับสูงสุด ในขณะที่ช่วงแรกของเฟส 3 ค่า  $1-qP$  มีระดับต่ำสุด เมื่อความเข้มแสงเพิ่มขึ้น แม้ค่า  $\Phi_{PSII}$  ลดลง แต่ด้วยความเข้มแสงที่เพิ่มขึ้นในสัดส่วนที่มากกว่า ส่งผลให้ค่าคำนวณอัตราเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอน (ETR) แสดงการเพิ่มขึ้นตามความเข้มแสงในรูปแบบเดียวกับใบพืช C3–C4 ในที่นี้พบว่า ทุกเฟสยกเว้นช่วงแรกของเฟสที่ 3 ค่า ETR เพิ่มขึ้นเล็กน้อยในช่วงแรก que เพิ่มความเข้มแสง แล้วลูเข้าสู่ระดับอิมตัวอย่างรวดเร็ว เฉพาะช่วงแรกของเฟส 3 เท่านั้น ที่ความสัมพันธ์  $ETR-PPF_i$  มีรูปแบบชัดเจน (Figure 1e) ข้อมูลของทุกเฟสสามารถเข้ารูปฟังก์ชัน non-rectangular hyperbola ได้ ทำให้คำนวณได้ค่า  $ETR_{max}$  และระดับความเข้มแสงที่ทำให้ได้ค่า  $ETR$  อิมตัว ( $I_s ETR$ ) ค่า  $ETR_{max}$  มีค่าอยู่ในช่วง  $14-143 \mu mol e^{-} m^{-2} s^{-1}$  โดยช่วงแรกของเฟสที่ 3 มีค่า  $ETR_{max}$  สูงสุด (Table 1) ทั้งนี้ ระดับของอัตราเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนสัมพันธ์กับความต้องการใช้พลังงาน (ATP และ NADPH) ของกระบวนการคาร์บอกซิเลชันของแต่ละเฟส (Maxwell *et al.*, 1999; Griffiths *et al.*, 2008)

กระบวนการโฟโตเคมีที่แสดงออกด้วยค่า ETR ใช้ประเมินศักยภาพการสังเคราะห์แสง คือค่าอัตราสังเคราะห์แสงรวม ( $P_g$ ) ซึ่งมีค่าสูงสุด ( $P_{g max}$ ) อยู่ในช่วง  $3.4-35.8 \mu molCO_2 m^{-2} s^{-1}$  โดยพบว่า ช่วงต้นของเฟสที่ 3 ซึ่งวัดดูติบ  $CO_2$  มาจากการสลายตัวของกรดให้ค่า  $P_{g max}$  สูงสุด เท่ากับ  $35.8 \mu molCO_2 m^{-2} s^{-1}$  (Table 1) ประสิทธิภาพการสังเคราะห์แสง ( $\alpha_{ETR}$ ) มีค่าในช่วง  $0.09-0.27 mol e^{-} molPPF^{-1}$  (Figure 2a) ซึ่งต่ำกว่าของพืช C3 เช่น ปาล์มน้ำมัน (ที่มีค่า  $0.26 mol e^{-} molPPF^{-1}$ ) (พรชัยและสุนทรี, 2550) ทั้งนี้ ค่าสูงสุดในช่วงต้นเฟสที่ 3 ที่  $0.27 mol e^{-} molPPF^{-1}$  เป็นค่าใกล้เคียงค่าเฉลี่ยของพืช C3 ส่วนเฟสที่ 4 ซึ่งดำเนินการตรึง  $CO_2$  คล้ายกับพืช C3 มากที่สุด มีค่าที่ต่ำกว่า อยู่ที่  $0.16 mol e^{-} molPPF^{-1}$



**Figure 1** Light response functions of 4 carboxylation phases of pineapple ‘Smooth Cayenne’ a. net CO<sub>2</sub> fixation rate (A) b. stomatal conductance (g<sub>s</sub>) c. light-adapted quantum efficiency of PSII (Φ<sub>PSII</sub>) d. reduction state of Q<sub>A</sub> (1-qP) and e. electron transport rate (ETR) (point shows average data±SE of 3 plants)

**Table 1** Light response parameters of 4 carboxylation phases of pineapple ‘Smooth Cayenne’

Carboxylation phase	I	II	III	III	IV
	dark	dawn	light	light	light
Time	4-6h	6-8h	9-12h	13-15h	16-17h
PPF <sub>o</sub> , μmol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup>	0±0	87±39	961±146	983±75	87±44
A <sub>2000</sub> , μmolCO <sub>2</sub> m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup>	0.2±0.1	0.2±0.1	-0.2±0.0	-0.1±0.0	0.5±0.2
g <sub>s max</sub> , mmolH <sub>2</sub> O m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup>	5±1	6±0	8±1	6±1	10±1
ETR <sub>max</sub> , μmol e <sup>-</sup> m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup>	14±1	20±2	143±9	42±1	30±1
Φ <sub>PSII max</sub> , mol e <sup>-</sup> molPPF <sup>-1</sup>	0.43±0.09	0.57±0.09	0.70±0.00	0.67±0.03	0.60±0.00
1-qP, fraction	0.52±0.00	0.48±0.02	0.24±0.01	0.30±0.03	0.39±0.01
P <sub>g max</sub> , μmolCO <sub>2</sub> m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup>	3.4±0.3	5.1±0.6	35.8±2.3	10.4±0.3	7.5±0.3
α <sub>ETR</sub> , mol e <sup>-</sup> molPPF <sup>-1</sup>	0.09±0.03	0.16±0.03	0.27±0.01	0.20±0.02	0.16±0.01
I <sub>s ETR</sub> , μmolPPF m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup>	246±95	222±79	741±71	498±93	429±14
H <sup>+</sup> , mmol m <sup>-2</sup>	329±14	386±16	287±61	53±11	47±9

Values are data±SE of 3 plants (replication)

PPF<sub>o</sub> = external radiation intensity, A<sub>2000</sub> = net CO<sub>2</sub> assimilation rate at PPF 2000 mol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, g<sub>s max</sub> = maximum stomatal conductance, ETR<sub>max</sub> = maximum electron transport rate, Φ<sub>PSII max</sub> = maximum light-adapted quantum efficiency of PSII, 1-qP = reduction state of QA, P<sub>g max</sub> = maximum gross photosynthesis rate, α<sub>ETR</sub> = photosynthesis efficiency, I<sub>s ETR</sub> = light saturation and H<sup>+</sup> = total acid content

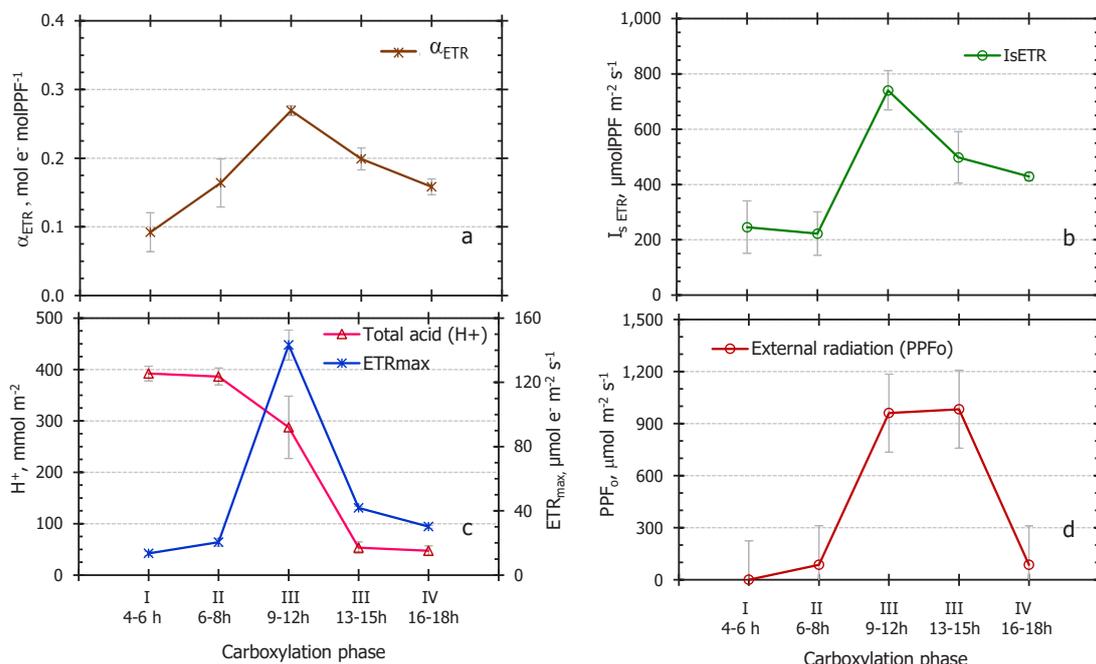
ค่าความเข้มแสงอิ่มตัว ( $I_{sETR}$ ) แสดงว่า ใบต้องการความเข้มแสงอิ่มตัวสูงสุดในช่วงต้นของเฟสที่ 3 อยู่ที่  $750 \mu\text{molPPF m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (Figure 2b) จึงกล่าวได้ว่า ใบสับปะรดปัตตาเวียต้องการความเข้มแสงแดดสูงปานกลาง (sun plant) เช่นเดียวกับไม้ผลยืนต้น เช่น ปาล์มน้ำมัน และสละ (พรชัยและสุนทรี, 2550; พรณีและสุนทรี, 2560)

จากค่า ETR และค่าประเมิน  $P_o$  กล่าวได้ว่า ในเฟสที่ 3 ใบสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวียมีศักยภาพการตรึง  $\text{CO}_2$  เทียบเท่ากับพืช C3 เช่น ปาล์มน้ำมัน แต่ต่ำกว่าพืช C4 เช่น ผักโขม (พรชัยและสุนทรี, 2550; ศรีสังวาลย์และสุนทรี, 2554) และถ้าเปรียบเทียบกับพืช CAM ด้วยกัน พบว่า สับปะรดพันธุ์ปัตตาเวียมีค่า ETR สูงที่สะท้อนถึงความต้องการใช้พลังงานจากระบบใช้แสงในกระบวนการคาร์บอกซิเลชันที่สูงกว่าพันธุ์กุเก็ด (Ritchie and Bunthawin, 2010b) และสูงกว่ากลุ่มพืช CAM ไม่ประดับ เช่น แคคตัส และกล้วยไม้สกุลหวาย

(Gonzlez and Villarreal, 2007; พรณีและสุนทรี, 2550; Ritchie and Bunthawin, 2010a)

### ปริมาณกรตรวมในใบ

การวัดปริมาณกรตรวมของใบสับปะรดในแต่ละเฟสควบคุมไปด้วย (Figure 2c) ในช่วงเฟส 1–2 เป็นช่วงมืดถึงเริ่มมีแสง ปริมาณกรตรวมมีระดับสูงสุด เป็นช่วงที่กระบวนการโฟโตเคมียังไม่เกิดถึงเพิ่งเริ่มต้น เฟสที่ 3 ช่วงแรก 9:00–12:00 น. ค่า  $ETR_{max}$  ที่เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว (Figure 2c) แสดงการเกิดกระบวนการโฟโตเคมีโดยใช้  $\text{CO}_2$  จากการสลายตัวของกรด ทำให้ปริมาณกรตรวมลดลงอย่างต่อเนื่อง ในช่วงหลังของเฟส 3 ปริมาณกรลดลงจนถึงระดับต่ำสุด พร้อมกับระดับ  $ETR_{max}$  ที่ตกลง เมื่อถึงเฟสที่ 4 ทั้ง  $ETR_{max}$  และปริมาณกรลดลงอีกเล็กน้อย ในขณะที่ความเข้มแสงเริ่มหมดลง (Figure 2d) จึงเป็นช่วงที่กระบวนการโฟโตเคมีถูกจำกัดด้วยความเข้มแสงแม้จะได้  $\text{CO}_2$  แพร่เข้าจากอากาศภายนอกใบ



**Figure 2** Light response parameters of 4 carboxylation phases of pineapple ‘Smooth Cayenne’. a. photosynthesis efficiency ( $\alpha_{ETR}$ ) b. light saturation ( $I_{sETR}$ ) c. total acid ( $\text{H}^+$ ) and maximum electron transport rate ( $ETR_{max}$ ) and d. external radiation intensity ( $PPF_o$ ) (point shows average data  $\pm$  SE of 3 plants)

ผลการศึกษานี้แสดงว่า พารามิเตอร์ คลอโรฟิลล์ฟลูออเรสเซนส์ที่ได้จากเส้นตอบสนอง ต่อแสง สามารถช่วยอธิบายถึงศักยภาพการสังเคราะห์แสงภายใต้สภาพปากใบปิดแคบในเฟสที่ 3 ของใบสับปะรดได้เป็นอย่างดี โดยมี 2 ช่วงเวลาที่ควรประเมิน คือ ช่วงต้นของเฟสที่ 3 ซึ่งระดับศักยภาพสูงสุดของการสังเคราะห์แสงถูกกำหนดโดยปริมาณวัตตฤติบ  $CO_2$  สำหรับกระบวนการคาร์บอนกซิเลชัน และอีกช่วงหนึ่งคือเฟสที่ 4 ที่ใบมีกระบวนการตรึง  $CO_2$  จากอากาศคล้ายกับพืช  $C_3$

### สรุปผลการทดลอง

แหล่งของ  $CO_2$  ทั้งจากภายนอกและภายในใบ ควบคุมกับปากใบที่ปิดแคบในช่วงมีแสง ทำให้ไม่สามารถใช้เครื่องวัดอัตราแลกเปลี่ยนแก๊ส  $CO_2$  ในการประเมินเส้นตอบสนองต่อแสงของใบสับปะรดได้ จึงต้องปรับใช้วิธีประเมินจากพารามิเตอร์ที่ได้จากการวัดการทำงานของระบบใช้แสง (คลอโรฟิลล์ฟลูออเรสเซนส์) มาวัดควบคุมกัน ส่วนข้อมูลปริมาณกรดรวมในใบใช้ยืนยันว่าขณะที่เกิดกระบวนการโฟโตเคมี มีการสลายของกรดที่ปลดปล่อย  $CO_2$  เข้าสู่กระบวนการคาร์บอนกซิเลชันจริง การใช้วิธีการวัดทั้ง 3 อย่าง จึงทำให้สามารถประเมินศักยภาพการสังเคราะห์แสงของใบสับปะรดได้

### คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา กระทรวงการอุดมศึกษา วิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม และขอขอบคุณ คุณเพียงใจ น้อยดี และครอบครัว ที่อนุเคราะห์พืชทดลองสำหรับทำงานวิจัย และที่เปี่ยมด้วยน้ำใจในการให้ความช่วยเหลืออย่างเต็มที่

### เอกสารอ้างอิง

- พรชัย ไพบูลย์ และสุนทรี ยิ่งชัชวาลย์. 2550. ศักยภาพการสังเคราะห์แสงของใบปาล์ม น้ำมัน. *ว. วิทย. กษ.* 38 (6): 483–492.
- พรรณิ ชื่นนคร. 2550. ศักยภาพการสังเคราะห์แสงและอัตราแลกเปลี่ยนแก๊สในรอบวันของใบกล้วยไม้สกุลหวาย พันธุ์บอม โจ. วิทยานิพนธ์ปริญญา วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, นครปฐม. 77 หน้า.
- พรรณิ ชื่นนคร และสุนทรี ยิ่งชัชวาลย์. 2550. ศักยภาพการสังเคราะห์แสงของใบกล้วยไม้สกุลหวาย พันธุ์ บอม โจ. *ว. วิทย. กษ.* 38 (5): 405–413.
- พรรณิ ชื่นนคร และสุนทรี ยิ่งชัชวาลย์. 2553. อัตราแลกเปลี่ยนแก๊สในรอบวันของใบกล้วยไม้สกุลหวาย พันธุ์บอม โจ. *ว. วิทย. กษ.* 41 (2): 231–240.
- พรรณิ ชื่นนคร และสุนทรี ยิ่งชัชวาลย์. 2560. ศักยภาพการสังเคราะห์แสงของใบสะละ พันธุ์เนินวงและสุมาลี. *ว. วิทย. กษ.* 48 (3): 430–441.
- วินัย อุดขาว ภฤศนันท์ เอี่ยมเอกสุวรรณ และสุนทรี ยิ่งชัชวาลย์. 2559. การตอบสนองของปากใบและกระบวนการสังเคราะห์แสงของยูคาลิปตัส คามาลดูเลนซิส ต่อสภาวะขาดน้ำจากการชักนำด้วย พอลิเอทิลีนไกลคอล. *ว. วิทย. กษ.* 47 (2): 149–161.
- ศรีสังวาลย์ ลายวิเศษกุล และสุนทรี ยิ่งชัชวาลย์. 2554. เส้นตอบสนองต่อแสงของใบผักโขม ภายใต้ความเข้มข้นหลายระดับของคาร์บอนไดออกไซด์. *ว. วิทย. กษ.* 42 (2): 193–202.
- สุทิน หิรัญอ่อน สุนทรี ยิ่งชัชวาลย์ และสิริกุล วะสี. 2549. ศักยภาพการสังเคราะห์แสงของพริกชี้หูสายพันธุ์ 83-168 และพริกช่อ

- มข. ลูกลูกผสมตรงและลูกลูกผสมสลัป. ว. วิทย. กษ. 37 (1): 65–75.
- Cote, F.X., M. Andre., M. Folliot., D. Massimino and A. Daguene. 1989. CO<sub>2</sub> and O<sub>2</sub> exchanges in the CAM plant *Ananas comosus* (L.) Merr. Determination of total and malate–decarboxylation–dependent CO<sub>2</sub> assimilation rates: study of light O<sub>2</sub> uptake. *Plant Physiol.* 89(1): 61–68.
- 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: 363–369.
- de Mattos, E.A. and U. Lüttge. 2001. Chlorophyll Fluorescence and Organic Acid Oscillations during Transition from CAM to C3 photosynthesis in *Clusia minor* L. (Clusiaceae). *Ann. Bot.* 88 (3): 457–463.
- 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.
- FAO: Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2017. FAOSTAT. Available at: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize>, Accessed: September 30, 2019.
- Franco, A.C., A. Haag–Kerwer, B. Herzog, T.E.E. Grams, E. Ball, E.A. de Mattos, F.R. Scarano, S. Barreto, M.A. Garcia, A. Mantovani and U. Lüttge. 1996. The effect of light levels on daily patterns of chlorophyll fluorescence and organic acid accumulation in the tropical CAM tree *Clusia hilariana*. *Trees.* 10 (6): 359–365.
- 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, CO<sub>2</sub> exchange and organic acid decarboxylation in the tropical CAM tree *Clusia hilariana*. *Tree Physiol.* 19 (10): 635–644.
- 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.
- Gonzalez, H.O. and O.B. Villarreal. 2007. Crassulacean Acid Metabolism Photosynthesis in Columnar Cactus Seedlings During Ontogeny: The Effect of Light on Nocturnal Acidity Accumulation and Chlorophyll Fluorescence. *AM. J. BOT.* 94 (8): 1344–1351.
- 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.
- 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.
- Maxwell, K., A.M. Borland, R.P. Haslam, B.R. Helliker, A. Roberts and H. Griffiths. 1999. Modulation of Rubisco Activity during the Diurnal Phases of the Crassulacean Acid Metabolism Plant *Kalanchoë daigremontiana*. *Plant Physiol.* 121(3): 849–856.
- Nobel, P.S. 1991. Transley Review No. 32. Achievable productivities of certain CAM plants: basis for high values compared with C3 and C4 plants. *New Phytol.* 119: 183–205.
- Ritchie, R.J. and S. Bunthawin. 2010a. The Use of Pulse Amplitude Modulation (PAM) Fluorometry Measure Photosynthesis in CAM Orchid, *Dendrobium spp.* (D. cv. Viravuth Pink). *Int. J. Plant Sci.* 171(6): 575–585.
- Ritchie, R.J. and S. Bunthawin. 2010b. Photosynthesis in Pineapple (*Ananas comosus* (L.) Merr) Measured Using PAM (Pulse Amplitude Modulation) Fluorometry. *Tropical Plant Biol.* 3(4): 193–203.
- Thornley, J.H.M. and I.R. Johnson. 1990. *Plant and Crop Modelling*. Oxford. 660 p.
- Wohlfahrt, G. and L. Gu. 2015. The many meanings of gross photosynthesis and their implication for photosynthesis research from leaf to globe. *Plant Cell Environ.* 38(12): 2500–2507.