
บทที่ 12

**PHOTOSYNTHESIS : CARBON REDUCTION
R E A C T I O N**

PHOTOSYNTHESIS : CARBON REDUCTION REACTION

1. บทนำ

ปฏิกิริยาของ light reaction ในการสังเคราะห์แสงของพืช เป็นปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นที่ grana หลังจากที่ถูกตรึงดูดซับแสงแล้วจะมีการเปลี่ยนพลังงานแสงให้มาอยู่ในรูปของพลังงานเคมี โดยมีการสร้างสารที่สะสมพลังงานไว้ ซึ่งได้แก่สาร ATP และสาร $\text{NADPH} + \text{H}^+$ สารที่ได้จะถูกนำมาใช้ในการรีดิวส์คาร์บอนไดออกไซด์ ให้เป็นน้ำตาล ปฏิกิริยาในขั้นตอนนี้ไม่ต้องการแสง จึงเรียกกันว่า dark reaction หรือ CO_2 - fixation ในปัจจุบัน นักสรีรวิทยาพบว่า ปฏิกิริยาการรีดิวส์คาร์บอนไดออกไซด์ให้เป็นน้ำตาลมีอยู่ 3 ประเภทคือประเภทแรก ได้แก่การรีดิวส์คาร์บอนไดออกไซด์ในแบบ C_3 - pathway, ประเภทที่สองเป็นแบบ C_4 - pathway และประเภทที่สามคือการรีดิวส์คาร์บอนไดออกไซด์ในแบบ Crassulacean acid metabolism (CAM) พืชที่มีการรีดิวส์คาร์บอนไดออกไซด์ให้เป็นน้ำตาลแบบ C_3 - pathway, C_4 - pathway หรือ CAM เราเรียกว่า C_3 - plants, C_4 - plants หรือ CAM plants ตามลำดับ

2 Early Works in Carbon Reduction

Liebig เป็นคนแรกที่ทำให้ความเห็นในเรื่องการรีดิวส์ CO_2 ให้เป็นน้ำตาลไว้ดังนี้คือ "ระหว่างการเปลี่ยนคาร์บอนไดออกไซด์เป็นน้ำตาลจะมีการเกิดขึ้น" โดยได้อธิบายว่า ผลไม้ก่อนที่จะสุกมักจะมียีสเปรี้ยว และจะหวานในเวลาต่อมา แสดงว่า จะต้องกรดเกิดขึ้นก่อนน้ำตาล ต่อมา Baeyer (1870) ได้คัดค้านความเห็นของ Liebig และกล่าวว่าคาร์บอนไดออกไซด์จะถูกรีดิวส์เป็น formaldehyde ก่อน แล้ว formaldehyde 6 โมเลกุล จะรวมตัวเป็นโมเลกุลน้ำตาล ในปี 1938 Paechnatz ได้รายงานไว้ว่า สาหร่ายสีเขียว (chlorella) ไม่สามารถเปลี่ยน formaldehyde ให้เป็นน้ำตาล ได้ และพบว่า formaldehyde เป็นพิษต่อการสังเคราะห์แสงแม้ว่าจะมีความเข้มข้นต่ำมาก ๆ ก็ตาม เช่น 0.003%

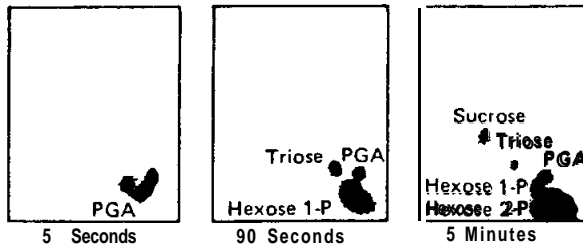
นอกจากนั้นยังเป็นพิษต่อการหายใจของสาหร่ายสีเขียวอีกด้วย ต่อมาในปี 1939 Ruben ได้พยายามศึกษาการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ ในใบข้าวสาลีและสาหร่ายสีเขียว โดยใช้ $^{11}\text{CO}_2$ พบว่าการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์เกิดขึ้นได้ทั้งในสภาพที่มีแสงและในที่มืดมืด แต่การตรึงคาร์บอนไดออกไซด์จะหยุดหลังจากนำพืชไว้ในที่มืดเป็นเวลา 3 ชั่วโมง การทดลองครั้งนี้ยังไม่สามารถพิสูจน์ได้ว่า สารใดเป็นสารเริ่มต้นทำปฏิกิริยากับคาร์บอนไดออกไซด์ ทั้งนี้เพราะ $^{11}\text{CO}_2$ มีอายุ (half-life) สั้นมาก (ประมาณ 22 นาที) อีกประมาณ 1 ปีต่อมา Ruben และ Kamen ได้รายงานว่า ได้ใช้ $^{14}\text{CO}_2$ ซึ่งมี half-life ยาวมาก (ประมาณ 5,000 ปี) เพื่อทำการทดลองหาสารที่เกิดขึ้นจากการตรึง CO_2 ในการสังเคราะห์แสง แต่งานการทดลองได้หยุดขงกกลงก่อนที่ผลการทดลองจะออกมา เพราะเกิดสงครามโลก

3. C_3 -Pathway

นักสรีรวิทยาได้ใช้เทคนิคของกัมมันตภาพรังสีในการศึกษาการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ของการสังเคราะห์แสงของพืช Calvin และคณะได้ใช้ $^{14}\text{CO}_2$ ในการทดลองเกี่ยวกับสารต่าง ๆ ที่ใช้และที่เกิดขึ้นในขบวนการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์จนได้ผลสำเร็จ ดังนี้

3.1 The First Product

Calvin และคณะได้รายงานผลการทดลองเกี่ยวกับสารที่เกิดขึ้นจากการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ ในสาหร่ายสีเขียว (Chlorella หรือ Scenedesmus) โดยให้สาหร่ายสีเขียวรับ $^{14}\text{CO}_2$ ในเวลาที่สั้นมากประมาณ 5 วินาที พบว่าสารประกอบส่วนใหญ่ที่เกิดขึ้น (ซึ่งเป็นสารกัมมันตภาพรังสี) คือ 3-PGA (3-phosphoglyceraldehyde) ถ้าให้สาหร่ายรับ $^{14}\text{CO}_2$ นาน 90 วินาที จะพบว่า มีน้ำตาลพวก Hexose-1-P เกิดขึ้นมาก และถ้าให้สาหร่ายรับ $^{14}\text{CO}_2$ นานขึ้นเป็นเวลา 5 นาที ก็จะมี hexose-2-P เกิดขึ้นมากที่สุด (รูปที่ 1)



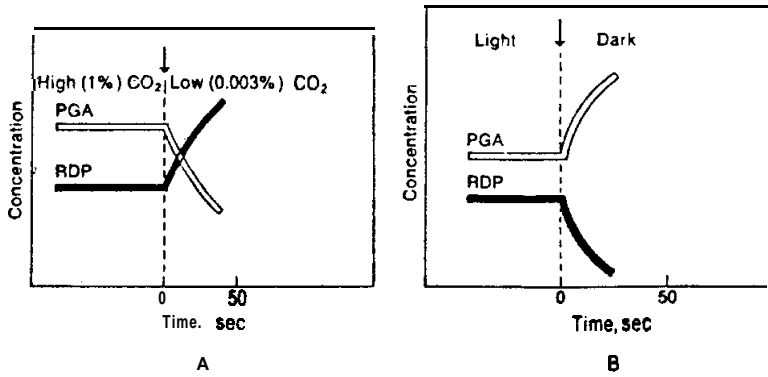
รูปที่ 1 แสดงชนิดของสารที่ตรวจพบด้วย paper chromatography หลังจากที่ใช้สารย่ำตรึง $^{14}\text{CO}_2$ ในเวลาที่กำหนดให้
 PGA = 3-phosphoglyceric acid, Hexose-1-P = Hexose-1-phosphate, and Hexose-2-P = Hexose-2-phosphate

จากผลการทดลอง Calvin และคณะแสดงให้เห็นว่า

- (1) สารตัวแรกที่สามารถตรวจพบได้หลังจากการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ คือ 3-PGA
- (2) สาร 3-PGA สามารถเปลี่ยนแปลงไปเป็นน้ำตาลชนิดต่าง ๆ ได้

3.2 The CO_2 Acceptor

CO_2 acceptor คือสารตัวแรกที่ทำปฏิกิริยากับคาร์บอนไดออกไซด์ในขบวนการสังเคราะห์แสง ในเรื่องนี้ Calvin และคณะได้รายงานไว้ว่า หลังจากที่ใช้สารย่ำสังเคราะห์แสง ในสภาพที่มี $^{14}\text{CO}_2$ ความเข้มข้นต่างกัน พบว่าในสภาพที่มี $^{14}\text{CO}_2$ ความเข้มข้น 1 % สาร ribulose diphosphate (RDP) และ 3-PGA มีความเข้มข้นค่อนข้างคงที่ตลอดเวลาการทดลองประมาณ 600 วินาที และหากลดความเข้มข้นของ $^{14}\text{CO}_2$ มาเป็น 0.003 % จะพบว่า RDP จะมีความเข้มข้นสูงชันอย่างรวดเร็วภายในเวลา 50 วินาที ในขณะที่ 3-PGA กลับมีความเข้มข้นลดลงอย่างรวดเร็ว (รูปที่ 2A)



รูปที่ 2 (A) แสดงผลของการลดความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ที่มีต่อความเข้มข้นของ RDP และ 3-PGA (B) แสดงผลของการลดความเข้มของแสงที่มีต่อความเข้มข้นของ RDP และ 3-PGA

Calvin และคณะได้รายงานอีกว่า สำหรับในสภาพที่มีแสงและมี $^{14}\text{CO}_2$ ในปริมาณที่พอเพียง จะมี $^{14}\text{CO}_2$ และ 3-PGA ในความเข้มข้นที่ค่อนข้างคงที่ ถ้าเปลี่ยนสภาพที่มีแสงให้เป็นความมืด แต่คงสภาพ $^{14}\text{CO}_2$ ไว้เช่นเดิม จะพบว่า RDP มีความเข้มข้นลดลงอย่างรวดเร็วภายในเวลา 50 วินาที และ 3-PGA มีความเข้มข้นสูงขึ้นในเวลาเดียวกัน (ดูรูปที่ 2B)

จากผลการทดลองทั้งสองครั้ง แสดงให้เห็นว่า RDP เป็นสารตัวแรกที่ทำปฏิกิริยากับคาร์บอนไดออกไซด์ ในการทดลองแรก ขณะที่ลดความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์จาก 1 % เป็น 0.003 % RDP จะใช้คาร์บอนไดออกไซด์ได้น้อยลง จึงทำให้ RDP ที่ไม่ได้ทำปฏิกิริยากับคาร์บอนไดออกไซด์มีปริมาณมากขึ้น ในขณะเดียวกัน 3-PGA ซึ่งเป็นสารที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาระหว่าง RDP กับคาร์บอนไดออกไซด์มีปริมาณน้อยลง ทั้งนี้เพราะปฏิกิริยาระหว่าง RDP กับคาร์บอนไดออกไซด์เกิดน้อย ดังนั้นการทดลองนี้ยังอาจแสดงให้เห็นอีกว่า 3-PGA เป็นสารที่มีความสัมพันธ์อย่างใกล้ชิดกับปฏิกิริยาระหว่าง RDP กับคาร์บอนไดออกไซด์

ผลการทดลองในตอนที่สอง ก็ยืนยันว่า RDP เป็นสารที่ทำปฏิกิริยากับ คาร์บอนไดออกไซด์ เพราะในสภาพที่มีแสง light reaction เกิดขึ้นได้ มีการสร้างสาร ATP และ $\text{NADPH} + \text{H}^+$ ขึ้นและในสภาพที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ในปริมาณที่เพียงพอ RDP จะทำปฏิกิริยากับ CO_2 ได้ตลอดเวลา และได้สาร 3-PGA ต่อมาสาร 3-PGA จะถูกรีดิวส์เป็น 3-PGAL โดยใช้พลังงานจากสาร ATP และ $\text{NADPH} + \text{H}^+$ และสุดท้ายก็ได้ RDP ตามเดิม ฉะนั้นหากมีแสงและคาร์บอนไดออกไซด์อยู่ในปริมาณพอที่ เราก็คงพบว่าทั้ง RDP และ 3-PGA จะมีความเข้มข้นคงที่ ในกรณีที่เอาแสงออกไป light reaction ก็จะไม่เกิด และไม่มีการสร้าง ATP และ $\text{NADPH} + \text{H}^+$ แต่ RDP ยังสามารถทำปฏิกิริยากับคาร์บอนไดออกไซด์ได้ ตรวจจับที่ยังมี RDP และคาร์บอนไดออกไซด์อยู่และได้ 3-PGAL แต่ 3-PGA ไม่สามารถเปลี่ยนไปเป็น 3-PGAL ได้ เพราะไม่มีสาร ATP และ $\text{NADPH} + \text{H}^+$ เข้าช่วย และ RDP ก็ไม่สามารถเกิดขึ้นมาได้อีก ดังนั้นปริมาณของ 3-PGA จึงเพิ่มขึ้นในขณะที่ไม่มีแสงและ RDP จะลดลงในเวลาเดียวกัน

3.3 Calvin-cycle

Calvin และคณะได้ใช้เทคนิคสารกัมมันตภาพรังสี เพื่อตรวจสอบน้ำตาลชนิดต่าง ๆ เช่นพวก hexoses, พวก pentoses และพวก heptuloses และอื่น ๆ จนกระทั่งสามารถค้นพบปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงของสารชนิดต่าง ๆ หลังจากที่ได้ RDP ทำปฏิกิริยากับคาร์บอนไดออกไซด์ การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวเป็นรูปแบบวัฏจักรคัลวิน (Calvin-cycle)

วัฏจักรคัลวินเริ่มต้นด้วย RDP ทำปฏิกิริยากับคาร์บอนไดออกไซด์ได้ สาร 3-PGA ต่อมามีการใช้สาร ATP เปลี่ยน 3-PGA ให้เป็น 1,3-diphosphoglyceric acid และใช้ $\text{NADPH} + \text{H}^+$ รีดิวส์ 1,3-diphosphoglyceric acid ให้เป็น 3-PGAL สาร 3-PGAL ที่เกิดขึ้นถูกนำไปใช้ ทางคือ (1) นำไปใช้สร้างน้ำตาลกลูโคส และ (2) นำไปใช้สร้าง RDP

3.4 Some Balances in C₃-Pathway

ในปฏิกิริยาการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์และการเปลี่ยนแปลงสาร 3-PGAL ให้เป็นสารอื่น ๆ มีประเด็นหนึ่งที่เราควรทราบคือ ปริมาณสารที่สำคัญที่ใช้ในปฏิกิริยาทั้งหมด ในหัวข้อนี้จะกล่าวถึงปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์; ATP และ NADPH + H⁺ ที่ใช้ในวัฏจักรเคลวิน

(1) ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่ใช้ในการสร้างน้ำตาลกลูโคส จากแผนภาพสมดุลย์ของขบวนการวัฏจักรเคลวิน (รูปที่ 3) จะพบว่า ปริมาณสาร 3-PGAL จะเปลี่ยนไปเป็นน้ำตาลกลูโคสเพียง 1 ส่วน ในขณะที่ 3-PGAL เปลี่ยนไปเป็น RDP 5 ส่วน (1+4)

$$(3\text{-PGAL} \longrightarrow \text{glucose}) : (3\text{-PGAL} \longrightarrow \text{RDP}) = 1:5$$

$$\text{แต่ glucose 1 mole} \equiv 3\text{-PGAL 2 moles}$$

$$\text{หรือ } (3\text{-PGAL} \longrightarrow \text{glucose}) = 2 \text{ moles}$$

$$\therefore (3\text{-PGAL} \longrightarrow \text{RDP}) = \frac{5 \times 2}{1} \text{ moles}$$

$$= 10 \text{ moles}$$

นั่นคือจะต้องมี 3-PGAL ทั้งหมด 12 โมเลกุล ในการสร้างน้ำตาลกลูโคส 1 โมเลกุล (2 โมเลกุลนำไปใช้สร้างน้ำตาลกลูโคสอีก 10 โมเลกุลนำไปสร้าง RDP)

ในแผนภาพสมดุลย์ของวัฏจักรเคลวิน (รูปที่ 3) จะได้

$$3\text{-PGAL 6 moles} \equiv \text{RDP 3 moles} \equiv \text{CO}_2 \text{ 3 moles}$$

$$\therefore 3\text{-PGAL 12 moles} \equiv \text{RDP} = \frac{3 \times 12}{6} \text{ moles} \equiv \text{CO}_2 = \frac{3 \times 12}{6} \text{ moles}$$

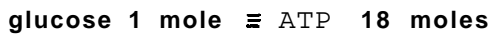
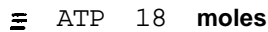
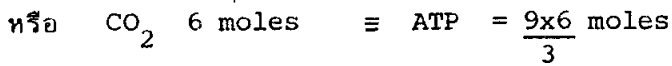
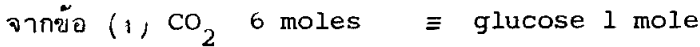
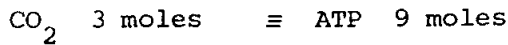
$$3\text{-PGAL 12 moles} \equiv \text{RDP 6 moles} \equiv \text{CO}_2 \text{ 6 moles}$$

ฉะนั้นในการสร้างน้ำตาลกลูโคส 1 โมเลกุลจะต้องใช้ RDP 6 โมเลกุล

และใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 6 โมเลกุล

(2) ปริมาณสาร ATP และ NADPH + H⁺ ที่ใช้ในการสร้างน้ำตาล

กลูโคส จากแผนภาพสมดุลย์ของวัฏจักรเคลวิน (รูปที่ 3) จะได้



นั่นคือในการสร้างน้ำตาลกลูโคส 1 โมเลกุลจะต้องใช้สาร ATP 18

โมเลกุล ในทำนองเดียวเราจะคำนวณได้ว่าจะต้องใช้สาร NADPH + H⁺ จำนวน 12

โมเลกุล ในการสร้างน้ำตาลกลูโคส 1 โมเลกุล

4. C₄- Pathway

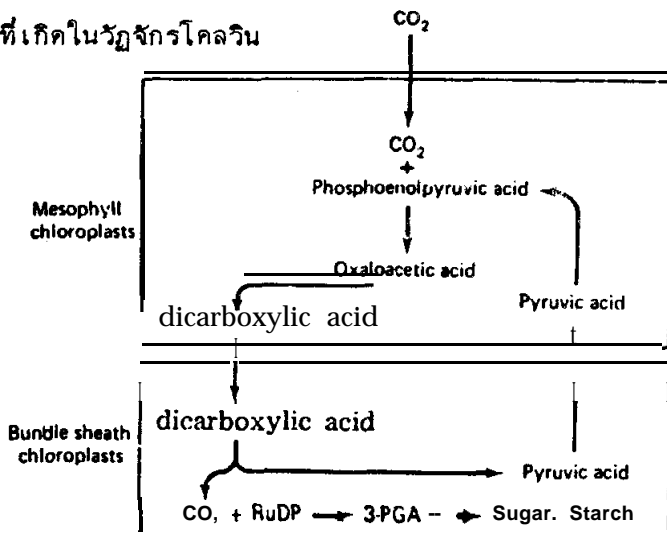
4.1 Early Observations

จากการศึกษาการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ในใบอ้อยของ Kortschsch, Hartt & Burr ในปี 1965 พบว่าหลังจากที่ให้แสงกับใบอ้อยในเวลาสั้น ๆ จะมี malic acid (MA) และ aspartic acid (AA) เกิดขึ้นในปริมาณที่สูงมาก ต่อมาอีก 1 ปี Hatch & Slack ได้พบว่าการตรึง CO₂ ในใบอ้อยมิได้ใช้ RDP carboxylase และ Hatch & Slack ได้ศึกษาการทำงานของเอนไซม์ชนิดต่าง ๆ ในการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ในใบอ้อย พบว่ามีการทำงานของ phosphoenolpyruvate carboxylase — ใน mesophyll สูงมาก ผลการทดลองต่าง ๆ เหล่านี้แสดงให้เห็นว่า (1) การตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ในใบอ้อยในช่วงแรกมิได้เกิดจากการทำปฏิกิริยาระหว่าง RDP กับ คาร์บอนไดออกไซด์ แต่กลับมีแนวโน้มที่จะเกิดจากการทำปฏิกิริยาระหว่างสาร phosphoenolpyruvate (PEP) กับคาร์บอนไดออกไซด์ และ

(2) เป็นแนวทางของการศึกษาและการได้มาของ C_4 - pathway. Pathway นี้อาจเรียกได้หลายชื่อ เช่น Hatch & Slack pathway, C_4 -cycle หรือ C_4 - dicarboxylic acid pathway

4.2 Hatch & Slack Pathway

Hatch & Slack เป็นนักวิจัยคณะแรกที่รายงานรายละเอียดเกี่ยวกับ C_4 - pathway. ใน pathway ดังกล่าวมีการใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 2 ครั้ง ครั้งแรกเกิดขึ้นใน mesophyll มี PEP เป็น CO_2 acceptor และได้ oxaloacetic acid (OAA) แต่ OAA มีสภาพไม่อยู่ตัว (unstable) จะเปลี่ยนไปเป็น MA และ AA เป็นส่วนใหญ่ (สาร OAA, MA หรือ AA ก็ดี ทั้งหมด เป็นสารพวก dicarboxylic acid) ต่อมาเกิดการแตกตัวของ carboxyl group ในตำแหน่ง C-4 ของ dicarboxylic acid ได้คาร์บอนไดออกไซด์ออกมา สำหรับการนำคาร์บอนไดออกไซด์ครั้งที่สอง เกิดขึ้นใน bundle sheath โดยคาร์บอนไดออกไซด์จาก dicarboxylic acid เข้าทำปฏิกิริยากับ RDP ที่อยู่ใน bundle sheath หลังจากการเกิดปฏิกิริยาจะได้สาร 3-PGA และจะถูกรีดิวซ์เป็น 3-PGAL ในขั้นตอนต่อมา สุดท้าย 3-PGAL ถูกเปลี่ยนเป็นน้ำตาล ปฏิกิริยาการใช้คาร์บอนไดออกไซด์ในครั้งที่สองนี้มีลักษณะคล้ายคลึงกับที่เกิดในวัฏจักรโคโรวิน



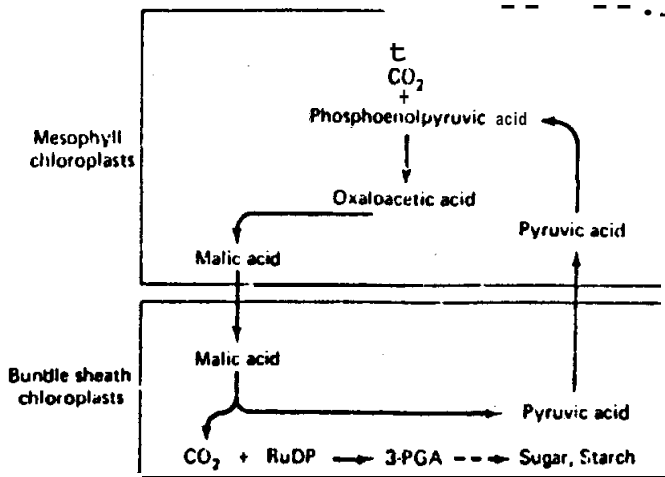
รูปที่ 4
แสดงแผนภาพของ Hatch & Slack Pathway ข้อควรสังเกตุมีการใช้ CO_2 สองครั้ง

สำหรับ dicarboxylic acid ที่สูญเสีย carboxyl group ตำแหน่ง C-4 ไปแล้ว ก็จะเปลี่ยนเป็น pyruvic acid (เป็นสารประกอบที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ ปฏิกริยาที่เกิดขึ้นจะกลับเข้าวงจรเดิมอย่างนี้เรื่อยไป (ดูรูปที่ 4)

จากการศึกษาเรื่องเอนไซม์ในพืช C_4 พบว่าพืช C_4 มีทั้งเอนไซม์ของ C_4 -pathway และของ C_3 -pathway เอนไซม์ของ C_4 -pathway พบใน mesophyll และ bundle sheath ส่วนเอนไซม์ของ C_3 -pathway พบเฉพาะใน bundle sheath ของพืช C_4 เท่านั้น

4.3 Types of C_4 -pathway

จากการศึกษารายละเอียดการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ในพืช C_4 แต่ละชนิดพบว่า pathway ในพืชแต่ละชนิดอาจแตกต่างกันได้ ในปัจจุบัน Kumar & Singh ได้แยกลักษณะของ pathway ในการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ของพืช C_4 ไว้ 3 พวก ดังนี้

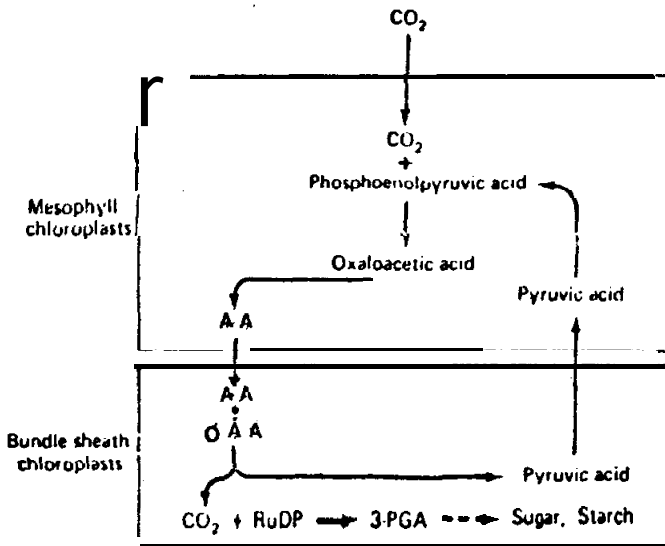


รูปที่ 5 แสดง C_4 -pathway ข้อสังเกต OAA เปลี่ยนเป็น MA ใน mesophyll ก่อนที่จะเคลื่อนเข้าสู่ bundle sheath

(1) พวกแรก เป็นพวกที่ PEP ทำปฏิกิริยากับคาร์บอนไดออกไซด์ได้ สาร OAA แล้ว OAA ถูกรีดิวส์ให้เป็น MA โดยใช้ NADP⁺-specific malic dehydrogenase เข้าช่วย ปฏิกิริยาทั้งหมดเกิดขึ้นใน mesophyll. ต่อมา MA เคลื่อนเข้าสู่ bundle sheath แล้วแตกตัวได้ pyruvic acid กับคาร์บอนไดออกไซด์ pyruvic acid กลับเข้าสู่ mesophyll และเปลี่ยนเป็น PEP โดยมีเอนไซม์ pyruvate orthophosphate dikinase เข้าช่วย ส่วนคาร์บอนไดออกไซด์ที่อยู่ใน bundle sheath จะทำปฏิกิริยากับ RDP ได้สาร 3-PGA ซึ่งจะผ่านไปใน C₃-pathway เพื่อสร้างสารคาร์บอไฮเดรตต่อไป (รูปที่ 5) พืชที่มี pathway แบบนี้ได้แก่ ข้าว-โพดและอ้อย

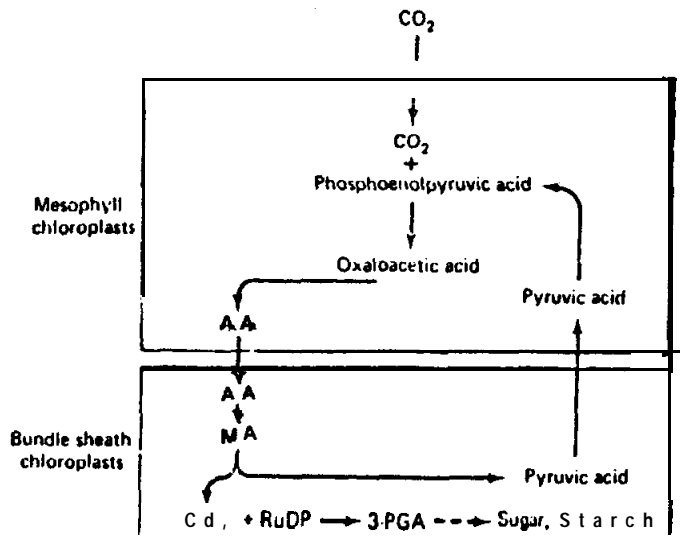
(2) พวกที่สอง เป็นพวกที่หลังจาก PEP ทำปฏิกิริยากับคาร์บอนไดออกไซด์และได้ OAA แล้ว OAA จะเปลี่ยนเป็น AA เป็นส่วนใหญ่ ต่อมา AA จะเคลื่อนเข้าสู่ bundle sheath. AA ใน bundle sheath จะเปลี่ยนกลับมาเป็น OAA อีกครั้งหนึ่ง แล้ว OAA จะแตกตัวให้ pyruvic acid กับคาร์บอนไดออกไซด์ Pyruvic acid ที่เกิดขึ้นจะกลับเข้าสู่ mesophyll และเปลี่ยนเป็น PEP สำหรับคาร์บอนไดออกไซด์จะเข้าทำปฏิกิริยากับ RDP เพื่อสร้างสารคาร์บอไฮเดรตต่อไป (รูปที่ 6) ตัวอย่างพืชที่มี pathway แบบนี้ได้แก่ Panicum maximum และ Chloris gayana

(3) พวกที่สาม ได้แก่พวกที่หลังจากได้สาร OAA ใน mesophyll แล้ว OAA จะเปลี่ยนเป็น AA ต่อมา AA จะเคลื่อนเข้าสู่ bundle sheath แล้วเปลี่ยนเป็นสาร MA ต่อจากนั้นสาร MA จะแตกตัวให้ pyruvic acid และคาร์บอนไดออกไซด์ ปฏิกิริยาขั้นต่อ ๆ มาคล้ายกับพวกที่หนึ่งและพวกที่สอง (รูปที่ 7) สำหรับตัวอย่างของพืชที่มี pathway แบบนี้ได้แก่ Atriplex sp.



รูปที่ 6 แสดง C₄-pathway ข้อสังเกต AA เกิดขึ้นใน mesophyll แล้วเคลื่อนที่เข้าสู่ bundle sheath ก่อนจะเปลี่ยนเป็น OAA อีกครั้งหนึ่ง

รูปที่ 7 แสดง C₄-pathway ข้อสังเกต AA ที่เคลื่อนเข้าสู่ bundle sheath จะเปลี่ยนเป็น MA



5. Crassulcean Acid Metabolism (CAM)

5.1 Xerophytes

พืชพวก xerophyte มีโครงสร้างต่าง ๆ ที่เหมาะในการดำรงชีพในสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมต่าง ๆ เช่น สภาพอุณหภูมิสูง และสภาพพื้นที่ที่ขาดน้ำ เป็นต้น พืชเหล่านี้จะมี cuticle หนามาก มี sclerenchyma cells มากกว่าปกติ ใบมีขนาดเล็กมาก ผิวใบมีรูใบ (stomata) น้อยและอยู่ในผิวใบที่โน้มลงไป โครงสร้างของใบในลักษณะนี้จะทำให้การคายน้ำของพืชลดลงและป้องกันมิให้คาร์บอนไดออกไซด์เข้าไปในต้นพืชได้ง่าย ๆ รูใบของพืชพวก xerophyte ส่วนมากจะปิดในเวลากลางวัน และจะเปิดในเวลากลางคืน ปรากฏการณ์ดังกล่าวทำให้พืชพวก xerophyte สูญเสียน้ำน้อยมากในเวลากลางวัน และจะคายน้ำได้น้อยในเวลากลางคืนเช่นเดียวกัน เพราะในเวลากลางคืนอุณหภูมิต่ำทำให้การคายน้ำเกิดขึ้นได้น้อย แต่สำหรับการใช้คาร์บอนไดออกไซด์ในการสังเคราะห์แสงนั้นจะเกิดขึ้นได้น้อยมากในเวลากลางวัน เพราะคาร์บอนไดออกไซด์เข้าไปในใบได้น้อย ฉะนั้นเพื่อการดำรงชีพตามปกติ พืชประเภทนี้ก็จำเป็นต้องมีวิธีการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ที่แตกต่างไปจากพืชอื่น ๆ

5.2 CAM Plants

ได้มีการค้นพบปฏิกิริยาการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ในพืชบางชนิดที่แตกต่างไปจากการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ในพืช C_3 และพืช C_4 ปฏิกิริยาดังกล่าวค้นพบครั้งแรกในพืชชื่อ Bryophyllum calycium อยู่ในตระกูล Crassulaceae จึงได้ชื่อปฏิกิริยาหรือวัฏจักรของปฏิกิริยานั้นว่า Crassulacean acid metabolism หรือ CAM

ต่อมาได้มีรายงานว่าพืชหลายตระกูลมีการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์แบบ CAM รวมทั้งพืชใบเลี้ยงเดี่ยว และพืชใบเลี้ยงคู่

(1) พืชใบเลี้ยงเดี่ยว ได้แก่พืชที่อยู่ในตระกูลต่าง ๆ ดังนี้

Agavaceae	Bromeliaceae
Liliaceae	Orchidaceae

(2) พืชใบเลี้ยงคู่ ได้แก่พืชที่อยู่ในตระกูลต่าง ๆ ดังนี้

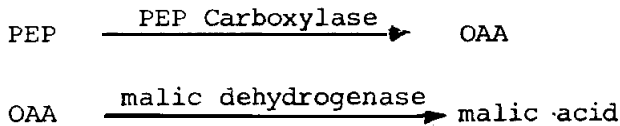
Aizoaceae	Asclepadaceae
Cactaceae	Caryophyllaceae
Chenopodiaceae	Compositae
Convolvulaceae	Crassulaceae
Euphorbiaceae	Portulacaceae
Vitaceae	

พืชในตระกูลดังกล่าว ไม่ใช่ทั้งหมดที่มีการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์แบบ CAM แต่เป็นเพียงบางชนิดในตระกูลเหล่านั้นเท่านั้น ที่มีการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์แบบ CAM พืชที่มีการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์แบบ CAM ทั้งหมดเป็นพืชอวบน้ำ (succulent plants) แต่ไม่ใช่พืชอวบน้ำทั้งหมดจะมีการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์แบบ CAM พืชที่มีการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์แบบ CAM จะมีใบที่ประกอบด้วย mesophyll และ vascular tissue แต่ไม่พบว่ามี bundle sheath (ต่างกับพืช C_4) และ stomata ของพืช CAM จะปิดในเวลากลางวันและเปิดในเวลากลางคืน

5.3 CO₂ Assimilation in CAM Plants

จากการศึกษารายละเอียดการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ของพืช CAM พบปฏิกิริยา CAM ประกอบด้วย การสร้างกรดในที่มืด (dark acidification) การใช้กรดในที่มืด (dark deacidification) และการใช้กรดในที่ที่มีแสง (light deacidification) **รูปที่ 8** ประกอบคำอธิบาย

(1) การสร้างกรดในที่มีด ในที่มีด พืช CAM จะใช้คาร์บอนไดออกไซด์จากภายนอกทำปฏิกิริยากับ PEP ได้ OAA ซึ่งเป็น intermediate ที่มีสภาพไม่อยู่ตัว และ OAA จะเปลี่ยนเป็น malic acid ดังสมการ

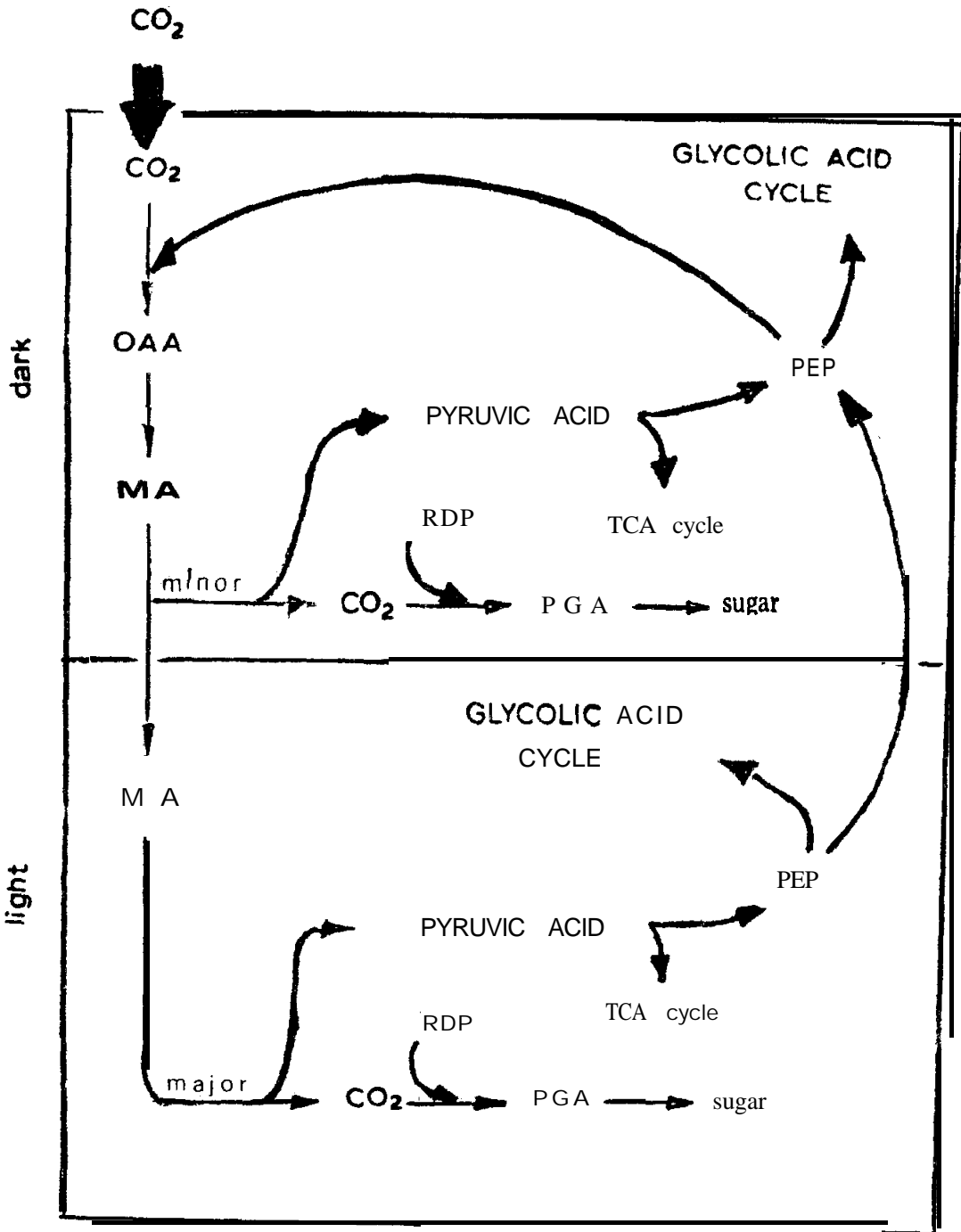


ปฏิกิริยาการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์จนกระทั่งได้ malic acid นั้น จะต้องมีเอนไซม์ 2 ชนิดเข้าช่วย คือ PEP carboxylase กับ malic dehydrogenase คลอโรพลาสต์ของพืช CAM จะมีเอนไซม์ทั้งสองชนิดนี้มากในที่มีด คาร์บอนไดออกไซด์ที่ใช้ในปฏิกิริยาอาจได้มาจากปฏิกิริยาอ็อกซิเดชันสารต่าง ๆ ภายในเซลล์ก็ได้ แต่ส่วนใหญ่จะได้มาจากภายนอก

เรายังไม่ทราบแน่ชัดว่า การสร้างกรดในที่มีดของพืช CAM ในธรรมชาติ เริ่มเกิดขึ้นในเวลาใด (กึ่งนาฬิกา) แต่มีรายงานว่าที่อุณหภูมิ 20°C การสร้างกรด จะเกิดขึ้นได้อัตราสูงสุด หลังจากนำพืช CAM ไปไว้ในที่มีดเป็นเวลาประมาณ 12-20 ชั่วโมง ถ้าอุณหภูมิต่ำกว่านี้เวลาการสร้างกรดในที่มีดก็จะเลื่อนไปอีก หากอุณหภูมิสูงกว่า 20°C พืช CAM ก็จะสามารถตรึงในที่มีดได้เร็วขึ้น กรดที่ตรวจพบได้ส่วนใหญ่ เป็น malic acid นอกจากนั้นอาจพบกรดชนิดอื่นได้ เช่น citric acid isocitric acid แต่พบในปริมาณเล็กน้อย และปริมาณของกรดเหล่านี้จะไม่เปลี่ยนแปลงไปตามเวลา, Malic acid ที่พืช CAM สร้างขึ้นในคลอโรพลาสต์ จะถูกนำไปสะสมใน vacuole เพื่อรอการใช้งานต่อไป

(2) การใช้กรดในที่มีด

Malic acid ที่สะสมใน vacuole จะถูกนำกลับเข้าคลอโรพลาสต์ เพื่อเปลี่ยนเป็น pyruvic acid และคาร์บอนไดออกไซด์ และจะเกิดปฏิกิริยาต่อไปนี้



รูปที่ 8 แสดงแผนภาพการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ในพืช CAM

(ก) Pyruvic acid ที่ เกิดอาจถูกนำไปใช้ใน tricarboxylic acid cycle (TCA cycle) หรืออาจถูกเปลี่ยนเป็น PEP และ PEP ที่เกิดขึ้น อาจถูกนำไปใช้ใน glycolic acid cycle หรือ PEP อาจตรึงคาร์บอนไดออกไซด์อีกครั้งหนึ่งได้

(ข) คาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดขึ้นอาจถูกปล่อยออกจากคลอโรพลาสต์ และออกสู่ภายนอกเซลล์ หรืออาจไปทำปฏิกิริยากับ RDP ได้สาร 3-PGA ซึ่งจะ ถูกนำไปใช้สร้างสารคาร์โบไฮเดรตต่อไป

เนื่องจากการใช้ malic acid ในที่มืดเกิดขึ้นในปริมาณเล็กน้อย ดังนั้นปฏิกิริยาการใช้ pyruvic acid กิติ หรือการใช้คาร์บอนไดออกไซด์ในการ สร้างสารคาร์โบไฮเดรตกิติ จึงเกิดขึ้นในปริมาณเล็กน้อยเช่นกัน

(3) การใช้กรดในที่ที่มีแสง

Malic acid จะถูกสร้างขึ้นในที่มืดและถูกนำไปเก็บสะสมใน vacuole เมื่อพืชได้รับแสง malic acid เหล่านี้จะนำกลับมายังคลอโรพลาสต์อีกครั้งหนึ่ง และ จะถูกใช้ไปในปริมาณสูงมาก การใช้ malic acid ในสภาพที่มีแสง มีลักษณะคล้าย คลึงกับการใช้ malic acid ในที่มืด แต่มีบางอย่างที่แตกต่างไปจากการใช้ malic acid ในที่มืด ดังนี้

(ก) Malic acid จะเปลี่ยนเป็น pyruvic acid และคาร์บอนได- ออกไซด์ pyruvic acid ที่เกิดขึ้นอาจถูกนำไปใช้ใน TCA cycle หรืออาจถูกนำไป เปลี่ยนเป็น PEP และ PEP ที่เกิดขึ้นอาจถูกนำไปใช้ใน glycolic acid cycle ได้ แต่เนื่องจากในสภาพที่มีแสง PEP carboxylase เกิดขึ้นได้น้อย จึงทำปฏิกิริยากับคาร์บอนไดออกไซด์ได้น้อย ต้องรอให้แสงหมดไป (ในเวลากลางคืน) จึงจะมี PEP carboxylase ในปริมาณมาก PEP จึงทำปฏิกิริยากับคาร์- บอนไดออกไซด์ได้มาก ดังนั้น PEP ที่เกิดขึ้นจะถูกนำไปใช้ตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ ในเวลากลางคืนมากกว่าในเวลากลางวัน

(ข) คาร์บอนไดออกไซด์ที่ได้จากการแตกตัวของ malic acid จะถูกนำไปใช้สร้างสารคาร์บอไฮเดรตทั้งหมด ทั้งนี้อาจเป็นเพราะในสภาพที่มีแสง มีสาร ATP และ NADPH + H⁺ เกิดขึ้นจาก light reaction ในปริมาณมาก และสารทั้งสองชนิดทำหน้าที่ช่วยให้ปฏิกิริยาการสร้างสารคาร์บอไฮเดรตเกิดได้ดีขึ้น

ที่ได้กล่าวมาอาจสรุปได้ดังนี้ ในสภาพความมืด พืช CAM จะใช้คาร์บอนไดออกไซด์จากบรรยากาศในการสร้างกรด และใน ที่ที่มีแสง จะมีการแตกตัวของกรดที่เกิดขึ้นและมีการสร้างสารคาร์บอไฮเดรตในปริมาณมาก