แคลเซียม : ธาตุอาหารสำคัญในการผลิตผลไม้คุณภาพ
Calcium : An Important Nutrient in Fruit Production

สุมิตรา ภู่วโรดม[1*] และ นุจรี บุญแปลง[1]
Sumitra Poovarodom[1*] and Nutcharee Boonplang[1]

บทคัดย่อ

ธาตุอาหารมีผลต่อคุณภาพของผลผลิตโดยเฉพาะอย่างยิ่งผลไม้ โดยทั่วไปแล้ว ผลไม้ที่มีแคลเซียมและโบรอนสูง มักมีคุณภาพของผลโดยเฉพาะอย่างยิ่งความคงทนในการเก็บรักษา ส่วนไนโตรเจนและโพแทสเซียมจะเป็นไปในทางตรงกันข้าม การศึกษาส่วนใหญ่ทำในผลไม้เมืองหนาว ในผลไม้เมืองร้อนซึ่งดินมักมีแคลเซียมต่ำมีการศึกษาน้อย ในช่วงหลายปีที่ผ่านมา คณะผู้วิจัยได้มีการศึกษาผลของการใส่แคลเซียมและโบรอนในมังคุดซึ่งมักเกิดอาการเนื้อแก้ว/ยางไหล และสะละ ซึ่งมักเกิดอาการหัวยุบ/ดำ เพื่อหาทางแก้ปัญหาดังกล่าว ผลของการใส่แคลเซียมทางดินในรูปของยิบซัม หรือร่วมกับการฉีดพ่นแคลเซียมและโบรอน ทำให้อาการผิดปกติของผลมังคุดและสะละลดลง แต่การฉีดพ่นแคลเซียมหรือแคลเซียมร่วมกับโบรอน ไม่ทำให้อาการผิดปกติลดลงจากการให้ทางดินอย่างเดียว สำหรับความเข้มข้นของแคลเซียมในเนื้อมังคุดและสะละ พบว่าผลที่มีอาการผิดปกติกลับมีความเข้มข้นของแคลเซียมในเนื้อสูงกว่าผลปกติ แต่เมื่อคำนวณสัดส่วนของ K/Ca ซึ่งเป็นค่าที่นิยมใช้ในการชี้บ่งอาการผิดปกติของผลไม้ พบว่าผลที่มีอาการผิดปกติมี K/Ca สูงกว่าผลปกติ ซึ่งสอดคล้องกับที่พบในผลไม้ชนิดอื่นๆ ผลการทดลองแสดงว่าความเข้มข้นของแคลเซียมในผล ไม่สามารถเป็นเครื่องชี้บ่งอาการผิดปกติของผลได้ จึงได้ศึกษาการกระจายของแคลเซียมในผนังเซลล์ (cell wall material) ของมังคุด เนื่องจากอาการผิดปกติที่เกิดขึ้นเกี่ยวข้องกับความแข็งแรงของผนังเซลล์ โดยคาดหวังว่า อาจมีปริมาณแคลเซียมในส่วนใดส่วนหนึ่งของผนังเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับอาการผิดปกติ ปรากฏว่า ผลที่มีอาการเนื้อแก้ว มีปริมาณ Ca ในส่วนที่สกัดด้วย CDTA ซึ่งเป็นแคลเซียมที่ยึดกับผนังเซลล์ (wall-bound calcium) สูงกว่าผลปกติ และแคลเซียมในส่วนนี้ไม่สามารถเปลี่ยนรูปไปเป็นแคลเซียมที่ละลายน้ำได้ เมื่อผลสุก คณะผู้วิจัยสันนิษฐานว่าการที่มีแคลเซียมที่ยึดกับผนังเซลล์ในสัดส่วนสูง อาจทำให้แคลเซียมในอโพพลาสต์ (apoplast) ลดลง จนกระทั่งมีผลต่อการทำงานและหน้าที่ของแคลเซียม ยังผลให้เกิดความผิดปกติในเยื่อหุ้มเซลล์ ซึ่งเป็นสาเหตุของเนื้อแก้วในมังคุด

คำสำคัญ: มังคุด สะละ โพแทสเซียม อาการผิดปกติทางสรีรวิทยา ผนังเซลล์ แคลเซียมในอโพพลาสต์

[1] หลักสูตรปฐพีวิทยา คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520
[1] Program of Soil Science, Faculty of Agricultural Technology, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok 10520
[*] Corresponding author: kpsumitr@kmitl.ac.th

Abstract

Fruit quality can be affected by mineral nutrients in fruit. In general Ca and B are related to longer storage life while N and K have the opposite results. Most studies on mineral nutrients and fruit quality were carried out in temperate fruits. In tropical fruit production, the soils are acidic with sandy texture which resulted in low soil Ca, the studies are limited. Over the past several years, we have investigated the effects of soil Ca application in form of gypsum together with Ca and/or B sprays on mangosteen and salak fruit qualities. The major problems of mangosteen fruit are translucent flesh and gamboge while necrosis and cell collapse are the main problem in salak. Soil Ca application-with or without foliar sprays reduced the number of disordered fruits in both mangosteen and salak. However, the concentration of Ca in the flesh of both fruits was higher in the disordered fruits than normal fruits. It was instead found that K/Ca in disordered fruit was higher than normal fruit which indicated that Ca concentration alone is not the good indicator for disordered fruit in both mangosteen and salak. We hypothesized that the reduction in the number of affected fruits after the applications of Ca could be directly correlated not to the total amount of Ca in the flesh, but rather to a specific fraction of Ca located in the cell wall. Analysis of cell wall material indicated that Ca in the CDTA-extracted fraction which represented the amount of Ca bound inside the cell wall was higher in the disordered-affected fruit. This fraction was previously speculated to be low in disorder-affected fruits. We hypothesize that a larger proportion of Ca bound to the cell wall may cause a reduction in apoplastic Ca, in turn affecting plasma membrane structure and function and eventually leading to the development of translucent flesh disorder (TFD).

บทนำ

แคลเซียมเป็นธาตุที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืช จัดอยู่ในกลุ่มธาตุที่ต้องการมาก (macro-nutrient) แคลเซียมมีบทบาทสำคัญในโครงสร้างของผนังเซลล์ (cell wall) เพื่อใช้ในการเชื่อมเพกตินที่เป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์ ทำให้เซลล์แข็งแกร่ง ถ้าพืชขาดแคลเซียมจะทำให้ผนังเซลล์อ่อนแอ สารละลายต่างๆ รั่วไหลและสูญเสียจากเซลล์ ทำให้เซลล์และเนื้อเยื่อบริเวณนั้นสูญเสียรูปทรง (Kirby and Pilbeam, 1984) และอาจตายไปในที่สุด การที่พืชได้รับแคลเซียมอย่างเพียงพอ ทำให้ผนังเซลล์มีพัฒนาการที่ดีและแข็งแรง ผักและผลไม้จึงมีความกรอบ เนื้อแน่น (firmness) และคงทนต่อการเก็บรักษาได้นานขึ้น บทบาทอื่นของแคลเซียมในพืชได้แก่ การแบ่งเซลล์และการขยายตัวของเซลล์ การดูดใช้และเมตาบอลิซึมของไนเตรท รวมทั้งเมตาบอลิซึม

Keywords: mangosteen, salak, potassium, physiological disorder, cell wall material, apoplast calcium

ของแป้ง (starch) ด้วย นอกจากนั้นแคลเซียมยังทำหน้าที่เป็นตัวนำรหัสที่สอง (secondary messenger) ในการควบคุมการทำงานต่างๆ ของเซลล์ เช่น การดูดใช้ธาตุอาหารของพืช และการตอบสนองต่อการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อม รวมทั้งการทำลายของโรคด้วย โดยแคลเซียมที่ใช้ทำงานในส่วนนี้ เป็นเพียงส่วนน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับบทบาทของแคลเซียมในผนังเซลล์ของพืช

ปัญหาสำคัญของแคลเซียม คือ การที่แคลเซียมไม่เคลื่อนย้ายในพืช การสะสมแคลเซียมในพืชขึ้นกับการคายน้ำเป็นหลัก ใบซึ่งเป็นส่วนของพืชที่คายน้ำมากจึงมีแคลเซียมสะสมอยู่มาก ส่วนผลซึ่งเป็นบริเวณที่มีการคายน้ำน้อย จึงมีปัญหาการขาดแคลเซียมอยู่เสมอ อาการขาดแคลเซียมในไม้ผลมักเกิดและแสดงออกที่ผลเป็นหลัก ในไม้ผลเขตหนาวได้มีการศึกษาเกี่ยวกับการขาดแคลเซียมของผลไม้และพบว่าผลไม้ที่มีแคลเซียมสูงหรือมีสัดส่วนของ K/Ca และ Mg/Ca ต่ำ จะมีความแน่นเนื้อและอายุการเก็บรักษา นานกว่าผลไม้ที่มีแคลเซียมต่ำ การฉีดพ่นแคลเซียมให้แก่ผลโดยตรงเป็นวิธีการเพิ่มแคลเซียมที่มีประสิทธิภาพ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อสภาพอากาศไม่เอื้ออำนวยให้มีการคายน้ำมาก (Fallahi *et al*., 2010)

บทบาทของแคลเซียมในผนังเซลล์

แคลเซียม (Ca) มีบทบาทสำคัญเกี่ยวข้องกับความแข็งแกร่ง (structural rigidity) ของผนังเซลล์ ในระหว่างการสร้างผนังเซลล์ acidic pectin residues เช่น กรดกาแลคทูโรนิค (galacturonic acid) จะถูกขับออกมาในรูปเมทิลเอสเทอร์ (methyl ester) ซึ่งในภายหลังจะถูก de-esterified โดย pectin methyl esterase และปล่อยกลุ่มคาร์บอกซิล (carboxyl group) ซึ่งจะจับกับ Ca^{2+} ผนังเซลล์ที่มี Ca^{2+} จะแข็งแกร่ง ส่วนผนังเซลล์ที่ขาด Ca^{2+} จะอ่อนแอและเกิดการเสียหายได้ง่าย บทบาทสำคัญของแคลเซียมในการเชื่อมกับเพกติน สามารถพิสูจน์โดยการแยก Ca^{2+} ออกจากโครงสร้างของเพกติน ด้วย EDTA ซึ่งพบว่าทำให้เพกเตท (pectate) ซึ่งเป็นตัวเชื่อมในมิดเดิลลาเมลลา (middle lamella) สูญเสียไปและทำให้ผนังเซลล์อ่อนแอลงอย่างเห็นได้ชัด ความแข็งแกร่งของผนังเซลล์ลดการทำลายของเชื้อโรค ทำให้การเน่าเสียของผลไม้น้อยลงและอายุการเก็บรักษาผลไม้ยาวนานขึ้น (Hirschi, 2004)

นอกจากนั้นแคลเซียมยังมีบทบาทสำคัญในการควบคุมโครงสร้างและการทำงานของเมมเบรน (membrane function and structure) (Burstrom, 1968) โดยเชื่อมต่อโปรตีนและลิปิดหลายชนิดที่ผิวของเมมเบรน ทำให้เยื่อหุ้มเซลล์มีความแข็งแกร่ง ในแง่สรีรวิทยาถือว่าแคลเซียมเป็นตัวควบคุมการเลือกผ่านของเมมเบรน (membrane permeability) (Epstein, 1972) Hanson (1960) แสดงให้เห็นความสามารถของรากในการดูดใช้และเก็บรักษาสารละลายลดลง เมื่ออยู่ในสารละลายที่มี Ca^{2+} ต่ำ ในการรักษาโครงสร้างและการทำงานของเมมเบรน ความเข้มข้นของ Ca^{2+} ในอโพพลาสต์ (apoplast) ควรอยู่ระหว่าง 0.1-1.0 mM โดยทั่วไปแล้ว ประมาณ 60% ของแคลเซียมอยู่ที่ผนังเซลล์ (Bangerth, 1979) และประมาณ 40% อยู่ในแวคิวโอล แคลเซียมในทั้ง 2 ส่วนนี้จึงมีความสำคัญในการรักษาภาวะธำรงดุล (homeostasis) ของแคลเซียมในเซลล์ ปัจจัยใดที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงแคลเซียมในผนังเซลล์และแวคิวโอล ย่อมมีผลต่อปริมาณแคลเซียมในอโพพลาสต์ ซึ่งหากแคลเซียมในอโพพลาสต์ลดลงมาก อาจทำให้เยื่อหุ้มเซลล์เสียหายและไม่สามารถทำหน้าที่ปกติได้ (White and Broadley, 2003)

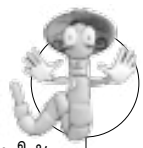
แคลเซียมในไซโตซอล (Cytosol)

ดังที่กล่าวมาแล้วว่าแคลเซียมเป็นองค์ประกอบที่สำคัญของผนังเซลล์ และจำเป็นในการทำหน้าที่ต่างๆ แต่ปริมาณ Ca^{2+} อิสระในไซโตซอลจะต้องอยู่ในระดับต่ำเสมอ (ระดับไมโครโมล) เพื่อไม่ให้เกิดการเป็นพิษ โดยพืชจะสร้างโปรตีนหลายชนิดมาจับกับแคลเซียม เช่น calnexin, calsequestrin และ calreticulin (Pittman and Hirschi, 2003) นอกจากนั้นพืชอาจเก็บ Ca^{2+} ไว้ในส่วนอื่น เช่น เอนโดพลาสมิคเรตติคิวลัม คลอโรพลาส หรือแวคิวโอล (Sze *et al*., 2000) สัดส่วนของแคลเซียมระหว่างภายใน/ภายนอกของเยื่อหุ้มเซลล์จะอยู่ที่ประมาณ 10 ถึง 4 การเคลื่อนย้ายของ Ca^{2+} ออกจากไซโตซอลจะถูกควบคุมโดย ATP pump ส่วนการเคลื่อนที่ของ Ca^{2+} เข้าไปในไซโตซอล จะผ่าน ion channel โดยไม่ต้องใช้พลังงาน (Sanders *et al*., 2002) Ca^{2+} ในไซโตซอลมีบทบาทสำคัญในการตอบสนองของเซลล์ โดยเซลล์ที่อยู่ในระยะพักจะมี Ca^{2+} ในไซโตซอลต่ำ แต่เมื่อมีสัญญาณกระตุ้นจากภายนอก Ca^{2+} จะเคลื่อนที่เข้าสู่ไซโตซอล หลังจากนั้น Ca^{2+} จะทำหน้าที่เป็นตัวนำรหัสเพื่อกระตุ้นขบวนการที่เกี่ยวข้อง แคลเซียมทำงานโดยจับกับโปรตีน เมื่อขบวนการทำงานเสร็จสิ้น Ca^{2+} จะเคลื่อนที่ออกจากไซโทพลาสซึม หลังจากนั้นเซลล์จะกลับสู่สภาพเดิม (Hirschi, 2004)

อาการขาดแคลเซียม

เนื่องจากพืชไม่สามารถเคลื่อนย้ายแคลเซียมไปยังบริเวณอื่นได้ อาการขาดแคลเซียมจึงพบที่บริเวณยอดอ่อน หรือบริเวณที่กำลังเจริญเติบโตก่อน โดยใบอ่อนจะมีอาการม้วนงอ หรือแผ่ขยายไม่ได้เต็มที่ ใบขาดรุ่งริ่ง หรือเกิดอาการปลายใบไหม้ (tip burn) ถ้าอาการรุนแรง ยอดและใบอ่อนจะแห้งตาย (die back) เนื่องจากแคลเซียมเกี่ยวข้องโดยตรงกับการแบ่งเซลล์และการขยายตัวของเซลล์ อาการขาดแคลเซียมมีผลต่อการเจริญเติบโตของรากด้วย รากที่ขาดแคลเซียมจะมีสีคล้ำ Shear (1975) ได้บรรยายอาการขาดแคลเซียมในผักและผลไม้มากกว่า 30 ชนิด หลายชนิดเป็นที่รู้จักกันดี เช่น อาการก้นเน่าในมะเขือเทศ อาการปลายใบไหม้ในตระกูลกะหล่ำและผักสลัด (lettuce) และได้อธิบายเพิ่มเติมถึงปัจจัยที่มีผลทำให้อาการขาดแคลเซียมรุนแรงขึ้น เช่น ความชื้น แสง ธาตุอาหารต่างๆ รวมทั้งการเจริญเติบโตทางด้านกิ่งก้านของพืชยืนต้น (vegetative growth)

อาการขาดแคลเซียมในไม้ผลมักจะไม่แสดงอาการที่ใบ แต่จะแสดงอาการที่ผลแทน เนื่องจากแคลเซียมเคลื่อนที่ไปที่ผลได้จำกัด อาการขาดแคลเซียมที่รู้จักกันดีและศึกษากันมาอย่างต่อเนื่องยาวนาน คืออาการ bitter pit ในแอปเปิ้ล อาการผลแตก (cracking) ในเชอรี่ และผลไม้อื่นที่มีเปลือกบาง Simon (1978) ได้ศึกษาอาการขาดแคลเซียม ได้แก่ ผลแตก เนื้อเยื่อฉ่ำน้ำ (water soak tissues) เนื้อยุบและเป็นโพรง (pit and cavities) อาการเนื้อเยื่ออ่อนแห้งตาย (necrosis) พบว่าอาการเหล่านี้จะมีระยะหนึ่งที่เนื้อเยื่อเกิดการฉ่ำน้ำ (water-soak) หลังจากนั้นเซลล์จะเสียหาย (breakdown) และสูญเสียความเต่ง (turgor) ในที่สุดเนื้อเยื่อบริเวณนั้นจะสูญเสียน้ำและแห้งตาย ในมะม่วง อาการขาดแคลเซียมที่พบคือเนื้อมะม่วงโดยเฉพาะด้านในที่ติดเมล็ดมีเนื้อใสเหมือนวุ้น (jelly flesh) เน่าตรงปลายผล (soft nose) เนื้อบริเวณขั้วผลฟ่าม (stem-end breakdown) เนื้อด้านในผลเป็นโพรง (Ploetz *et al*., 1994; Young, 1961) เนื้อเป็นจุดสีดำและแห้งตาย (pitting necrosis) (Lin *et al*., 2013) อาการเนื้อแก้วหรือเนื้อฉ่ำน้ำ (glassiness or watercore) ในพืชตระกูลเมล่อนมีสาเหตุมาจากการขาดแคลเซียมเช่นกัน (Serrano *et al*., 2003) อาการผลแตกในพืชหลายชนิด เช่น ลิ้นจี่ ลำไย ล้วนเกี่ยวข้องกับการขาดแคลเซียม (Huang *et al*., 2005) ในมังคุด



จะเกิดอาการเนื้อแก้วและยางไหล (Poovarodom, 2010) อาการขาดแคลเซียมมีความแตกต่างกันในพืชแต่ละชนิด ทำให้ยากแก่การศึกษา นอกจากนั้นยังมีปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อมหลายอย่างที่มีผลต่อการดูดใช้แคลเซียม จึงทำให้ไม่ทราบแน่ชัดว่าอาการที่พบมาจากแคลเซียมโดยตรงหรือเป็นผลทางอ้อม ในการผลิตผลไม้เพื่อส่งออก จำเป็นที่จะต้องมีอายุการเก็บรักษานาน แคลเซียมจึงมีบทบาทสำคัญมากกว่าการผลิตผลไม้เพื่อการบริโภคสดในประเทศ

บทบาทของแคลเซียมต่อคุณภาพของผลไม้

แคลเซียมเป็นธาตุที่มีผลต่อคุณภาพและการเก็บรักษาของผลไม้ โดยเปลี่ยนแปลงขบวนการทั้งภายในและภายนอกเซลล์ การนิ่มเนื้อ (softening) ของผลมีความสัมพันธ์อย่างมากกับปริมาณแคลเซียมภายในผล (Mason *et al*., 1975; Lidster and Porritt, 1978; Fallahi *et al*., 1987; Pooviah, 1988) ในผลไม้เขตหนาว โดยเฉพาะอย่างยิ่งแอปเปิ้ล ซึ่งมีการศึกษามานานแล้ว และพบว่าปริมาณแคลเซียมในผลมีความสัมพันธ์กับอาการเกิด bitter pit, internal breakdown และ watercore ได้มีการศึกษาและวิจัยเพื่อเพิ่มปริมาณแคลเซียมให้แก่ผลไม้ก่อนเก็บเกี่ยวเพื่อให้สามารถเก็บรักษาผลไม้ได้นาน ในแอปเปิ้ล แคลเซียมสะสมที่ผลเกิดในช่วงแรกของการเจริญเติบโตเท่านั้น (Faust, 1989) นอกจากนั้นยังพบการใส่ปุ๋ยหรือการจัดการใดๆ ที่ทำให้พืชมีการเจริญเติบโตทางด้านกิ่งก้านและใบ (vegetative growth) จะทำให้การเคลื่อนที่ของแคลเซียมไปยังผลน้อยลง เนื่องจากใบมีการคายน้ำมาก จึงดึงแคลเซียมไปที่ใบได้มาก เมื่อเทียบกับการเคลื่อนที่ไปที่ผล การเพิ่มแคลเซียมให้ผลแอปเปิ้ลก่อนเก็บเกี่ยว ทำได้โดยการฉีดพ่นสารละลายแคลเซียมคลอไรด์หลายครั้งเมื่อผลยังมีขนาดเล็ก ส่วนการเพิ่มหลังเก็บเกี่ยว ทำโดยการแช่ผลแอปเปิ้ลในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ภายใต้สภาพ vacuum infiltration ซึ่งพบว่าทำให้ผลแอปเปิ้ลยังคงสภาพและมีความแน่นเนื้อนาน (Fallahi *et al*., 1987; Pooviah *et al*., 1988) ในผลที่พบอาการผิดปกติ นอกจากแคลเซียมต่ำแล้วหลายครั้งยังพบว่ามีโพแทสเซียมและแมกนีเซียมสูง (Sharples, 1967) อาการเบื้องต้นของ bitter pit คือ เซลล์จะสูญเสียรูปทรง (collapse) และเกิดพลาสโมไลซิส (plasmolysis) ทำให้โพรโทพลาสซึมหดตัวรวมกันเป็นก้อน จึงเกิดเป็นโพรง (pit) ขึ้น (Smock and Van Doren, 1937) ปริมาณแคลเซียมในผลมีความสัมพันธ์กับอาการผิดปกติมากกว่าปริมาณแคลเซียมในใบ (Askew *et al*., 1960; Fallahi *et al*., 1985) การฉีดพ่นแคลเซียมก่อนเก็บเกี่ยว (Bramlage *et al*., 1985) และการเพิ่มแคลเซียมให้ผลหลังการเก็บเกี่ยวโดยการใช้วิธี infiltration สามารถลดอาการ bitter pit ได้ (Fallahi *et al*., 1987)

ผลของการให้แคลเซียมทางดินและทางใบในผลไม้เขตร้อน

มังคุดและสะละเป็นไม้ผลที่สำคัญและปลูกมากในภาคตะวันออก ผลไม้ทั้ง 2 ชนิดมีมูลค่าทางเศรษฐกิจสูง โดยเฉพาะอย่างยิ่งมังคุดมีศักยภาพการส่งออกสูง เป็นที่ต้องการของตลาดต่างประเทศ แต่ชาวสวนไม่สามารถผลิตมังคุดคุณภาพดีได้ตามความต้องการของตลาด ปัญหาสำคัญของมังคุดคืออาการเนื้อแก้ว/ยางไหล อาการเนื้อแก้วเป็นอาการที่เนื้อมังคุดมีสีใสและแข็ง เกิดจากการที่มีของเหลวไหลเข้าไปแทนที่ช่องว่างระหว่างเซลล์ (ศิริวรรณ, 2543) ส่วนอาการยางไหลเป็นอาการที่มีน้ำยางสีเหลืองไหลออกมาจากเปลือกหรือท่อน้ำยาง เมื่อปนเปื้อนกับเนื้อมังคุดทำให้มีรสขม สำหรับสะละเป็นผลไม้ที่นิยมบริโภคในประเทศ ปัญหาของสะละคือมีอาการหัวยุบ/หัวดำ เกิดจากการที่เซลล์ยุบตัวและเปลี่ยนจาก

สีส้มอ่อนเป็นสีดำ (necrosis) อาการผิดปกติทั้งในมังคุดและสะละ เกิดมากเมื่อมีฝนตกในช่วงก่อนเก็บเกี่ยวในกรณีของมังคุด หรือในช่วงพัฒนาการของผลในกรณีของสะละ จึงใช้พืชทั้งสองนี้เป็นกรณีศึกษา โดยตั้งสมมติฐานว่าการขาดแคลเซียมในผลทำให้ผนังเซลล์อ่อนแอและเสียหาย ถ้าสามารถเพิ่มแคลเซียมให้แก่พืชและให้ผลสะสมแคลเซียมได้เมื่อผลยังมีขนาดเล็ก จะทำให้ผนังเซลล์แข็งแรง สามารถต้านทานแรงดันน้ำและควบคุมการทำงานของเซลล์ได้ อาการผิดปกติจะลดลง

การใส่แคลเซียมในรูปยิบซัมอย่างเดียวหรือร่วมกับการฉีดพ่น Ca หรือร่วมกับการฉีดพ่น Ca+B ทำให้อาการผิดปกติของผลมังคุดและผลสะละลดลง แต่การฉีดพ่น Ca อย่างเดียวหรือ Ca+B ไม่ได้ทำให้อาการผิดปกติลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับตำรับที่ได้รับแคลเซียมทางดินอย่างเดียวดังแสดงไว้ Table 1 จากการทดลองตั้งแต่ปี 2005 พบว่ามีเพียงการทดลองในปี 2005 (Pludbuntong *et al*., 2007) เท่านั้น ที่พบว่าการฉีดพ่น Ca+B ร่วมกับการใส่แคลเซียมทางดิน ทำให้อาการผิดปกติของผลมังคุดลดลงมากกว่าการใส่ทางดินอย่างเดียว ในทำนองเดียวกัน การให้แคลเซียมทางดินก็มีผลทำให้จำนวนผลที่มีอาการหัวยุบ/หัวดำในสะละลดลง แต่การฉีดพ่นทางใบไม่ว่าจะในรูปของแคลเซียมอย่างเดียวหรือแคลเซียมร่วมกับโบรอนก็ตาม ไม่ทำให้อาการผิดปกติลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Table 1) ผลการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าแคลเซียมมีความสำคัญอย่างยิ่งในการผลิตผลไม้ให้ได้คุณภาพสูง และการให้แคลเซียมโดยการใส่ทางดินสามารถทำให้พืชดูดไปใช้ได้ดี และมีผลทำให้อาการผิดปกติลดลง

Table 1 The percentage of normal mangosteen and salak fruits in each treatment

Treatment	Mangosteen fruit[y]		Salak fruit[z]
	2008	2009	2009
Control	44.8a	59.6a	36.8a
Soil Ca application	58.3b	67.6b	75.1b
Soil Ca and Ca spray	67.7b	68.1b	78.9b
Soil Ca and Ca + B spray	64.3b	75.1b	66.3b
$P \leq 0.05$	*	*	*

[y] จาก Poovarodom and Boonplang, 2010, [z] จาก Phanchindawan and Kanayawongha, 2013

ความเข้มข้นของธาตุอาหารในผล

ผลไม้ที่มีอาการผิดปกติมักจะมีแคลเซียมต่ำกว่าผลปกติ (Sharples, 1967; Shear, 1975; Fallahi *et al*., 1985; Madrid *et al*., 2004; Huang *et al*., 2008; Moggia *et al*., 2010) ในขณะเดียวกันมักจะมีรายงานว่าผลผิดปกติมีโพแทสเซียมและแมกนีเซียมในผลสูง เนื่องจากธาตุแคลเซียมเป็นปฏิปักษ์กับโพแทสเซียมและแมกนีเซียม ดังนั้นในการวินิจฉัยอาการผิดปกติจึงนิยมใช้สัดส่วนของโพแทสเซียม/แคลเซียม หรือแมกนีเซียม/แคลเซียมร่วมด้วย (Drake *et al*., 1966; Cooper and Bangerth, 1976; Ben, 1997; Piestrzeniewicz

and Tomala, 2001; Moggia *et al*., 2010) การให้แคลเซียมทำให้อาการผิดปกติของมังคุดและสะละลดลงดังที่กล่าวมาแล้วข้างต้น แต่เมื่อนำเนื้อของผลมังคุดและสะละที่มีอาการผิดปกติมาวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหาร ปรากฏว่าผลที่อาการผิดปกติ (เนื้อแก้ว/ยางไหลในมังคุด และหัวยุบ/หัวดำในสะละ) มีปริมาณธาตุแคลเซียมสูงกว่าเนื้อจากผลปกติ (Table 2) ซึ่งไม่เป็นตามความคาดหมายที่ว่าเนื้อของผลที่ผิดปกติมีผนังเซลล์ที่ไม่แข็งแรง น่าจะมีปริมาณแคลเซียมต่ำกว่าเนื้อของผลปกติ แต่เมื่อคำนวณสัดส่วนของ K/Ca ซึ่งเป็นค่าที่นิยมใช้ในการชี้บ่งอาการผิดปกติของ bitter pit พบว่าผลมังคุดที่มีอาการผิดปกติมีสัดส่วนของ K/Ca สูงกว่าผลปกติ แสดงว่าผลที่มีอาการผิดปกติ มีโพแทสเซียมสูง ทำให้สัดส่วนของ K/Ca สูง ถึงแม้ว่าแคลเซียมในผลที่มีอาการผิดปกติจะสูงก็ตามซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Piestrzeniewicz and Tomala (2001) การทดลองในมังคุดและสะละยืนยันว่าสัดส่วนของ K/Ca น่าจะเป็นตัวทำนายอาการผิดปกติของผลได้ดีกว่าความเข้มข้นของแคลเซียมอย่างเดียว การที่ผลที่มีอาการผิดปกติมีความเข้มข้นของแคลเซียมในเนื้อเยื่อสูงมีพบรายงานในผลไม้หลายชนิด หรือแม้แต่ในแอปเปิ้ล ซึ่งมักรายงานว่าผลที่มีอาการ bitter pit มีแคลเซียมในเนื้อเยื่อต่ำ แต่ก็มีรายงานหลายชิ้นที่พบว่าผลที่มีอาการ bitter pit มีแคลเซียมในเนื้อเยื่อสูง (Askew *et al*., 1960; Ferguson and Watkins, 1989) ทั้งนี้อาจเนื่องจากการทดลองส่วนมากที่ใช้วิธีการวิเคราะห์ทางเคมี เป็นการนำเนื้อเยื่อทั้งหมดของผลที่มีอาการผิดปกติมาวิเคราะห์ แต่ Chamel and Bossy (1981) รายงานว่าความเข้มข้นของแคลเซียมในเนื้อเยื่อที่มีอาการ bitter pit สูงกว่าเนื้อเยื่อที่อยู่รอบๆ จากการวิเคราะห์ด้วยวิธี X-ray และวิธีทางเคมี ในทำนองเดียวกันเนื้อเยื่อมะม่วงที่มีอาการ soft-nose ก็มีแคลเซียมสูงกว่าเนื้อเยื่อจากผลปกติ (Burdon *et al*., 1991; Lin *et al*., 2013) และ Lin *et al*. (2013) ยังรายงานว่าผลมะม่วงที่มีอาการ lumpytissue และ jelly seed มีความเข้มข้นของแคลเซียมสูงกว่าในผลปกติ มีเพียงอาการผิดปกติที่เรียกว่า pitting necrosis ในมะม่วงเท่านั้นที่มีแคลเซียมต่ำกว่าผลปกติ ในทางตรงกันข้าม เนื้อสะละที่มีอาการหัวยุบ/ดำ ถึงแม้ว่าจะมีแคลเซียมสูงแต่กลับมีโพแทสเซียมสูงกว่าผลปกติเพียงเล็กน้อยเท่านั้น จึงทำให้สัดส่วนของ K/Ca ในผลปกติ สูงกว่าผลที่มีอาการหัวยุบ/ดำ ซึ่งอาจจำเป็นต้องศึกษาเพิ่มเติมอีก

Table 2 Nutrient concentration and nutrient ratio in mangosteen and salak flesh

Mangosteen fruit[y]							Salak[z]			
Flesh Type	%K		ppm Ca		K/Ca		Flesh Type	%K	ppm Ca	K/Ca
	2008	2009	2008	2009	2008	2009				
Normal	0.30a	0.23a	442a	408a	6.79a	5.64a	Normal	1.74	109	160
TFD	0.35b	0.33c	495	426a	7.07a	7.75b	Necrotic	1.82	169	108
TFD+GD [3/]	0.38c	0.38d	505b	470b	7.52b	8.09b				
$P \leq 0.05$	*	*	*	*	*	*	T-Test	*	*	*

[y] จาก Poovarodom and Boonplang, 2010, [z] จาก Phanchindawan and Kanayawongha, 2013, [3/]gamboge disorder (GD)

ผลของการฉีดพ่นต่อความเข้มข้นของแคลเซียมในผล

การฉีดพ่นแคลเซียมเพื่อเพิ่มปริมาณแคลเซียมให้แก่ผล เป็นแนวทางการปฏิบัติที่ได้รับความนิยมแพร่หลาย โดยเฉพาะอย่างยิ่งในแอปเปิ้ล (Bramlage *et al*., 1979; Le Grange *et al*., 1998; Mayr and Schönherr, 2002; Nielsen and Neilsen, 2002; Neilsen *et al*., 2005; Peryea *et al*., 2007) สารละลายที่ใช้ในการฉีดพ่นได้แก่ แคลเซียมคลอไรด์ จึงได้ศึกษาผลการฉีดพ่นแคลเซียมคลอไรด์จำนวน 6 ครั้งทุก 2 สัปดาห์ เริ่มตั้งแต่ผลมีอายุ 2 สัปดาห์ ในมังคุดและสะละ ปรากฏว่าการฉีดพ่นไม่มีผลต่อความเข้มข้นของแคลเซียมในเนื้อมังคุดในทางสถิติ ส่วนกรณีของเนื้อสะละ พบว่าความเข้มข้นของแคลเซียมในผลที่มีอาการหัวดำ สูงกว่าตำรับควบคุม แต่ไม่แตกต่างจากตำรับที่มีการให้แคลเซียมทางดินอย่างเดียว (Poovarodom and Boonplang, 2010; Phanchindawan and Kanayawongha, 2013) Huang *et al*. (2008) ทำการศึกษาในลิ้นจี่ พบว่าการฉีดพ่นแคลเซียม 1 หรือ 3 ครั้ง ไม่มีผลต่อความเข้มข้นของแคลเซียมในผลลิ้นจี่และไม่ได้ทำให้จำนวนผลแตก (cracking) ลดลง ในแอปเปิ้ลมีผลการศึกษาที่หลากหลาย เช่นการฉีดพ่นแคลเซียมคลอไรด์ในระยะหลังของการพัฒนาผล ทำให้แคลเซียมในผลแอปเปิ้ลพันธุ์ Braeburn เพิ่มขึ้น (Neilsen *et al*., 2005) ในขณะที่ Peryea *et al*. (2007) รายงานว่า การฉีดพ่นแคลเซียมคลอไรด์ทุกช่วงของการพัฒนาผล (พฤษภาคม มิถุนายนหรือกรกฎาคม) ส่วนใหญ่ (แต่ไม่เสมอไป) ทำให้ความเข้มข้นของแคลเซียมใน subdermal cortical tissue ของผลแอปเปิ้ลเพิ่มขึ้นเมื่อเก็บเกี่ยว โดยทั่วไปแล้วการฉีดพ่นในระยะหลังของการพัฒนาผล (กรกฎาคม) มีแนวโน้มที่จะทำให้ความเข้มข้นของแคลเซียมในผลสูงขึ้นเมื่อเก็บเกี่ยว

วิธีการศึกษาแคลเซียมในผนังเซลล์

แคลเซียมในเนื้อเยื่อพืชสามารถวิเคราะห์ด้วยวิธี wet หรือ dry ashing แล้ววัดหาปริมาณด้วยเครื่อง atomic absorption spectrophotometer (AAS) หรือเครื่อง inductively couple plasma emission spectrophotometer (ICP-OES) การวิเคราะห์ด้วยวิธีนี้เป็นการวิเคราะห์หาปริมาณแคลเซียมทั้งหมด (total tissue calcium) ไม่สามารถแยกได้ระหว่างแคลเซียมอิสระ (free calcium) และส่วนที่อยู่ในโครงสร้าง (bound calcium) ได้ การวิเคราะห์แคลเซียมอิสระทำได้โดยใช้ selective microelectrodes (Felle, 1989) หรือ fluorescent probe (Bush and Jones, 1990) ส่วนการวิเคราะห์แคลเซียมในผนังเซลล์ยุ่งยากและมีขั้นตอนมากกว่าวิธี semi-quantitative microanalysis ของแคลเซียมทำได้โดยวิธี X-ray electron microprobe (Chamel and Bossy, 1981) หรือ micro proton induced X-ray emission (Wilsdorf *et al*., 2013) การวิเคราะห์เชิงปริมาณของแคลเซียมในผนังเซลล์ ทำได้โดยการสกัดต่อเนื่องด้วยสารละลายหลายชนิด หลังจากนั้นวิเคราะห์หาแคลเซียมในสารละลายที่ได้ (Chen and Uemoto, 1976; Huang *et al*., 2005) ขั้นตอนการสกัดแคลเซียมในผนังเซลล์ทำได้โดยสารละลายตามลำดับดังนี้ 1] สกัดด้วยน้ำได้แคลเซียมที่ละลายน้ำได้ (water soluble) 2] สกัดด้วยด้วย 1 M NaCl ได้แคลเซียมเพกเตทหรือแคลเซียมที่อยู่ในโครงสร้าง (structural or wall-bound Ca) 3] สกัดด้วย 2% acetic acid (v/v) ได้แคลเซียมฟอสเฟต และ 4] สกัดด้วย 0.6 M HCl ได้แคลเซียมออกซาเลต (calcium oxalate) Poovarodom (2010) ได้ใช้วิธีนี้ในการวิเคราะห์ความเข้มข้นของแคลเซียมในผลมังคุดปกติเปรียบเทียบกับผลมังคุดที่มีอาการเนื้อแก้ว (TFD) และเนื้อแก้ว+ยางไหล (TFD+GD) พบว่า เนื้อมังคุด

จากผลปกติมีแคลเซียมในแต่ละส่วน (fractions) แตกต่างจากผลที่มีอาการผิดปกติอย่างมีนัยสำคัญ และเมื่อรวมแคลเซียมจากทุกส่วน พบว่าผลปกติมีแคลเซียมต่ำกว่าผลเนื้อแก้ว/ยางไหล เมื่อคำนวณเป็นเปอร์เซนต์ของแคลเซียมในแต่ละส่วนพบว่าผลปกติมีแคลเซียมที่ละลายน้ำได้มากกว่า แต่มีแคลเซียมในโครงสร้างหรือแคลเซียมเพกเตทต่ำกว่าผลที่มีอาการเนื้อแก้ว/ยางไหล

การวิเคราะห์แคลเซียมที่เชื่อมต่อกับเพกตินในผนังเซลล์ ทำได้โดยการสกัดเพื่อให้ได้ผนังเซลล์ (cell wall material) ทั่วไปหมายถึงส่วนที่ไม่ละลายในแอลกอฮอล์ (alcohol insoluble solid, AIS) ซึ่งประกอบด้วยหลายขั้นตอนและอาจแตกต่างกันบ้าง ส่วนใหญ่จะต้มเนื้อเยื่อพืชด้วย ethanol เพื่อหยุดกิจกรรมของเอนไซม์ ปั่น (homogenize) ให้เนื้อเยื่อละเอียดเข้ากัน กรอง แล้วล้างกาก (residue) ด้วย ethanol, chloroform:methanol (1:1, v/v) และ acetone ตามลำดับ จนกว่าจะได้สารละลายที่ไม่มีสีของแข็งที่ได้จากการสกัดคือผนังเซลล์ (cell wall material, CWM) (Mitcham *et al*., 1989; Martin-Cabrejas *et al*., 1994)

แคลเซียมในผนังเซลล์ส่วนใหญ่จับอยู่กับเพกติน การวิเคราะห์แคลเซียมที่อยู่ในผนังเซลล์ทำได้โดยการสกัดเพกตินแต่ละส่วนสารละลาย ซึ่งคณะผู้วิจัยใช้ในการสกัดเนื้อมังคุดโดยดัดแปลงจากวิธีของ Martin-Cabrejas *et al*. (1994) ตามลำดับดังนี้ 1) สกัดด้วยน้ำ ได้เพกตินที่ละลายน้ำ (water soluble pectin) 2) สกัดด้วย 0.05 M CDTA ได้เพกตินที่จับกับไอออน (ionically-bound pectin หรือ chelator soluble pectin) 3) สกัดด้วย 0.05 M Na_2CO_3 at 4°C ได้เพกตินที่จับกับ ester linkages และ hydrogen bonding 4) สกัดด้วย 0.05 M Na_2CO_3 at 20°C 5) สกัดด้วย 1 M KOH และ 6) สกัดด้วย 4 M KOH (solubilizing hemicellulose) สารละลายที่ได้แต่ละส่วนนำไปวิเคราะห์หาปริมาณแคลเซียม โดยวิธี ICP-OES หลังจากการเผาที่อุณหภูมิ 550°C เป็นเวลา 5 ชั่วโมง (Poovarodom and Boonplang, 2010)

แคลเซียมในองค์ประกอบของผนังเซลล์

อาการเนื้อแก้วในผลมังคุดเกิดจากการที่ผลได้รับน้ำมากในช่วงเก็บเกี่ยว ทำให้เซลล์เกิดความเสียหาย สารละลายต่างๆ ไหลออกมาแทนที่อากาศบริเวณผนังเซลล์ ทำให้เห็นเป็นเนื้อใส (ศิริวรรณ, 2543) ส่วนอาการยางไหลเกิดจากการที่ท่อน้ำยางแตก ซึ่งทั้งสองอาการเกี่ยวข้องกับความแข็งแกร่งของผนังเซลล์ ถ้าพืชได้รับแคลเซียมและโบรอนไม่เพียงพอ ผนังเซลล์จะอ่อนแอ ขาดความยืดหยุ่นและเสียหายได้ง่าย (Matoh and Kobayashi, 1998) แต่เมื่อวิเคราะห์ความเข้มข้นของแคลเซียมกลับพบว่าผลหรือเนื้อเยื่อที่มีอาการผิดปกติมีความเข้มข้นของแคลเซียมสูงกว่าผลปกติ ดังที่กล่าวมาแล้วข้างต้น มีนักวิจัยหลายท่านค้นพบว่า อาการผิดปกติในผลอาจสัมพันธ์กับแคลเซียมที่เกี่ยวข้องกับผนังเซลล์เท่านั้น (Saks *et al*., 1990) โดยเฉพาะอย่างยิ่งแคลเซียมที่ละลายน้ำ (water soluble) และแคลเซียมที่ยึดอยู่ที่ผนังเซลล์ (wall bound-Ca) (Himelrick, 1981) Huang *et al*. (2008) พบว่าผลลิ้นจี่ที่แตกมีแคลเซียม โดยเฉพาะอย่างยิ่งแคลเซียมที่อยู่ในส่วนที่เป็นโครงสร้างผนังเซลล์ของผลต่ำกว่าผลปกติ คณะผู้วิจัยคาดหวังว่าอาจพบผลการวิจัยในทำนองเดียวกันในผลมังคุดที่มีอาการเนื้อแก้ว และเนื้อแก้ว/ยางไหล จึงนำเนื้อมังคุดมาสกัดหาแคลเซียมที่อยู่ในแต่ละส่วนของผนังเซลล์ ดังวิธีที่ดัดแปลงจาก Martin-Cabrejas *et al*. (1994) ที่กล่าวไว้ข้างต้น ผลการทดลองแสดงไว้ใน Table 3 จากตารางจะพบว่า แคลเซียมทั้งหมด

ในเนื้อมังคุด (tissue calcium) และแคลเซียมที่อยู่ในผนังเซลล์ (cell wall calcium, CW-Ca) ของผลปกติต่ำกว่า แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับผลที่มีอาการเนื้อแก้ว (TFD) หรือเนื้อแก้ว+ยางไหล (TFD+GD) ทั้งนี้ประมาณ 63-65% ของแคลเซียมทั้งหมดอยู่ที่ผนังเซลล์ สอดคล้องกับรายงานของ Bangerth (1979)

Table 3 Total tissue Ca and cell wall Ca (CW-Ca) concentrations (in μg g^{-1} FW) and the percentage of cell-wall Ca (as % of total Ca) in mangosteen fruit flesh (from Poovarodom and Phanchidawan, 2013).

Fruit type	Total tissue Ca	CW-Ca	CW-Ca
	(μg g^{-1} FW)	(μg $^{g-1}$ FW)	(as % of total Ca)
Normal	73	46	63.0
TFD	86	55	64.0
TFD+GD	89	58	65.2
	ns	ns	

ns = no significant differences among means within a column at $p \leq 0.05$

Table 4 Calcium concentrations associated with pectin fractions of mangosteen fruit flesh (μg g^{-1}FW) (from Poovarodom and Phanchidawan, 2013).

Fruit type	Ca concentration in pectin fractions				Total
	Water	CDTA	Na_2CO_3 4°C	Na_2CO_3 20°C	
Normal	10.4±2.7b	25.7±2.5a	0.59±0.2	4.38±1.6a	41.1±4.9a
TFD	3.68±1.0a	38.7±11b	0.88±0.5	6.42±0.8b	49.7±12b
TFD+GD	4.95±1.1a	42.6±11b	1.01±0.4	7.34±1.2b	55.9±13b
	*	*	ns	*	*

Means followed by common letter are not significantly different $p \leq 0.05$ by Duncan's Multiple Range Test.

เมื่อแยกแคลเซียมตามส่วนที่จับอยู่กับเพกตินในผนังเซลล์ พบว่าผลที่มีอาการเนื้อแก้ว/ยางไหล มีแคลเซียมที่อยู่ในส่วนของเพกตินที่ละลายน้ำได้ (water soluble pectin) ต่ำ (Table 4) แต่มีแคลเซียมสูงในส่วนที่สกัดด้วย CDTA ซึ่งจัดเป็นส่วนที่จับอยู่กับผนังเซลล์ (ionically bound pectin) และส่วนที่ละลายใน Na_2CO_3 20°C ซึ่งเป็นเพกตินที่จับอยู่กับ ester linkages และ hydrogen bonding เมื่อรวมแคลเซียมในทุกส่วน พบว่าแคลเซียมในผนังเซลล์ของผลปกติ ต่ำกว่าผลที่มีอาการเนื้อแก้ว/ยางไหล ผลการทดลองนี้ไม่เป็นไปตามความคาดหมาย เนื่องจากคาดว่าผลที่มีอาการเนื้อแก้วซึ่งเกิดจากการรั่วไหลของสารละลายออกมาอยู่ในช่องว่างระหว่างเซลล์ น่าจะมีผนังเซลล์ที่อ่อนแอ (ซึ่งเกิดจาก

การขาดแคลเซียม) แต่กลับพบว่าผนังเซลล์ที่มีอาการผิดปกติกลับมีแคลเซียมมากกว่า แต่ทำให้สามารถอธิบายได้ว่าการที่เนื้อแก้วของมังคุดมีลักษณะแข็งเกิดเนื่องจากการที่เพกตินในผนังเซลล์ซึ่งจับอยู่กับแคลเซียมมีปริมาณมาก ไม่สามารถถูกย่อยโดยเอนไซม์ให้เปลี่ยนรูปไปเป็นเพกตินที่ละลายน้ำได้ เนื้อมังคุดจึงแข็งอยู่เช่นเดิม ถึงแม้จะสุกแล้วก็ตาม ส่วนการที่มีสารละลายไหลออกไปอยู่ในช่องว่างระหว่างเซลล์เกิดเนื่องจากผนังเซลล์ของเนื้อแก้วเกิดการเสียหาย (disintegration) (Paopun *et al.*, 2013) นอกจากนั้น Paopun *et al.*, (2013) ยังรายงานว่าเซลล์จากผลเนื้อแก้วมีขนาดขยายใหญ่ขึ้น ผนังเซลล์และมิดเดิลลาเมลลา (middle lamella) มีความหนาเพิ่มขึ้น และพบช่องว่างระหว่างผนังเซลล์กับมิดเดิลลาเมลลาเมื่อส่องด้วยกล้อง transmission electron microscopes อีกด้วย

ผลการทดลองครั้งนี้ ถึงแม้จะไม่เป็นไปตามความคาดหมาย แต่ก็คล้ายกับรายงานที่พบโดย de Freitas *et al.* (2010) ซึ่งศึกษาอาการ bitter pit ในแอปเปิ้ลที่มีแคลเซียมสูงและอธิบายว่าเนื้อแอปเปิ้ลที่มีอาการผิดปกติ มีการเกิด de-esterification ของเพกตินในผนังเซลล์มาก ทำให้เกิดบริเวณที่ให้แคลเซียมมาจับได้มาก ยังผลให้แคลเซียมในอโพพลาสต์ลดลง จนทำให้การทำหน้าที่ของเยื่อหุ้มเซลล์เสียหาย ปริมาณแคลเซียมในอโพพลาสต์ที่เหมาะสมจะทำให้โครงสร้างและการทำหน้าที่ต่างๆ ของเมมแบรนทำงานได้ตามปกติ ควรจะมากกว่า 0.1 mM free Ca^{2+} (Hanson, 1960) ในมังคุดเนื้อแก้ว คณะผู้วิจัยก็พบว่าแคลเซียมที่อยู่ที่ผนังเซลล์ก็สูงกว่าผลปกติเช่นกัน และสอดคล้องกับผนังเซลล์ที่หนาขึ้นเมื่อส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนที่รายงานโดย Paopun *et al.* (2013) อย่างไรก็ตาม แคลเซียมในอโพพลาสต์อย่างเดียวอาจไม่ใช่สาเหตุทั้งหมดของอาการผิดปกติที่เกิดขึ้น ธาตุอาหารหลายชนิด เช่น โพแทสเซียมและแมกนีเซียม อาจไปจับอยู่ที่ binding site แทนแคลเซียม แต่ไม่สามารถทำให้ผนังเซลล์แข็งแรง (Yermiyahu *et al.*, 1994) ในกรณีของผลเนื้อแก้วก็พบว่า สัดส่วนของ K/Ca สูงกว่าผลปกติเช่นกัน ดังที่กล่าวมาแล้วข้างต้น

สรุป

แคลเซียมเป็นธาตุที่มีบทบาทสำคัญในการผลิตผลไม้คุณภาพ อาการผิดปกติของผลไม้ในเขตร้อนหลายชนิดเกิดจากการขาดแคลเซียม การใส่แคลเซียมทางดินเป็นวิธีการที่ง่ายและราคาถูก ส่วนการฉีดพ่นแคลเซียม ไม่ว่าจะร่วมกับโบรอนหรือไม่ก็ตาม ไม่สามารถลดอาการผิดปกติได้เพิ่มขึ้น ทั้งนี้อาจจำเป็นต้องศึกษาระยะเวลาการฉีดพ่นที่เหมาะสม ความเข้มข้นของแคลเซียมในผลไม่สามารถใช้วินิจฉัยการผิดปกติของผลมังคุดและสะละ แต่สามารถทำได้โดยใช้สัดส่วนระหว่างความเข้มข้นของ K/Ca แทนความเข้มข้นของแคลเซียมในผนังเซลล์ในผลผิดปกติสูงกว่าผลปกติ โดยส่วนที่สูงอยู่ในส่วนที่ยึดกับผนังเซลล์ การที่มีแคลเซียมยึดติดกับผนังเซลล์มากอาจเป็นสาเหตุให้แคลเซียมอิสระที่อยู่ในอโพพลาสต์ลดลงจนทำให้โครงสร้างและการทำงานของเยื่อหุ้มเซลล์เสียหาย ยังผลให้เกิดอาการผิดปกติในผลมังคุด

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนงบประมาณจากคณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง และศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา กระทรวงศึกษาธิการ

เอกสารอ้างอิง

ศิริวรรณ แดงฉ่ำ. 2543. กลไกการเกิดเนื้อแก้วของผลมังคุด. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กำแพงแสน.

Askew, H.O., E.T. Chittenden, R.J. Monk, and J. Watson. 1960. Chemical investigations on bitter pitting of apples. II. The effect of supplementary mineral sprays on incidence of pitting and on chemical composition of Cox's orange fruit and leaves. New Zealand J. Agr. Res. 3:141-168.

Bangerth, F. 1979. Calcium-related physiological disorders of plants. Annu. Rev. Phytopathol. 17:97-122.

Ben, J. 1997. Effect of the concentration of mineral constituents in apples on their postharvest quality and storage performance. I. Relations between the mineral composition of apples and their susceptibility to physiological disorders. Folia Hort. 9:43-50.

Bramlage, W.J., M. Drake and J.H. Baker. 1979. Changes in calcium level in apple cortex tissue shortly before harvest and during postharvest storage. Comm. Soil Sci. Plant Anal. 10:417-426.

Bramlage, W.J., S.A. Weis and M. Drake. 1985. Predicting the occurrence of postharvest storage disorders of 'McIntosh' apples from preharvest mineral analyses. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 110:493-498.

Burdon, J.N., K.G. Moore and H. Wainwright. 1991. Mineral distribution in mango fruit susceptible to the physiological disorder soft-nose. Scientia Hort. 48:329-336.

Burstrom, H.G. 1968. Calcium and plant growth. Biol. Rev. (Camb) 43:287-316.

Bush, D.S. and R.L. Jones. 1990. Measuring intracellular Ca^{2+} levels in plant cells using the fluorescence probes, Indo-1 and Fura-2. Plant Physiol. 93:841-845.

Chamel, A.R. and J.P. Bossy. 1981. Electron-microprobe analysis of apple fruit tissues affected with bitter pit. Scientia Hort. 15:155-163.

Chen, W. S., and S. Uemoto. 1976. Studies on calcium absorption in vegetable crops. I. The absorption and physiological significance of calcium in vegetative and reproductive phases of plant growth. J. Japan Soc. Hort. Sci. 45:33-42.

Cooper, T. and F. Bangerth. 1976. The effect of Ca and Mg treatments on the physiology, chemical composition and bitter pit development of 'Cox's Orange' apples. Scientia. Hort. 5:49-57.

Drake, M., W.D. Weeks, J.H. Baker, D.L. Field and G.W. Olanyk. 1966. Bitter pit as related to calcium levels in 'Baldwin' apple fruit and leaves. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 89:23-29.

de Freitas, S.T., C.V.T. do Amarante, J.M. Labavitch, and E.J. Mitcham. 2010. Cellular approach to understand bitter pit development in apple fruit. Postharvest Biol. and Technol. 57:6-13.

Epstein, E. 1972. Mineral Nutrition of Plants : Principles and Perspective. Wiley, New York.

Fallahi, E., T.L. Righetti, and D.G. Richardson. 1985. Prediction of quality by preharvest fruit and leaf mineral analyses in 'Sparkspur Golden Delicious' apple. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 110:524-527.

Fallahi, E., T.L. Righetti and JJ.G. Wernz. 1987. Effects of dip and vacuum infiltration of various inorganic chemicals on postharvest quality of apple. Comm. Soil Sci. Plant Anal. 18:1017-1029.

Fallahi, E., B. Fallahi, G.H. Neilsen, D. Neilsen and F.J. Peryea. 2010. Effects of mineral nutrition on fruit quality and nutritional disorders in apples. Acta Hort. 868:49-59.

Faust, M. 1989. Physiology of Temperate Zone Fruit Trees. John Wiley and Sons, New York.

Felle, H. 1989. Ca^{2+} selective microelectrodes and their application to plant cells and tissue. Plant Physiol. 91:1239-1242.

Ferguson, I.B. and C.B. Watkins. 1989. Bitter pit in apple fruit. Hort. Rev. 11:289-355.

Han, S., R. Tang, L.K. Anderson, T.E. Woerner and Z-M. Pei. 2003. A cell surface receptor mediates extracellular Ca^{2+} sensing in guard cells. Nature 425:196-200.

Hanson, J.B. 1960. Impairment of respiration, ion accumulation, and ion retention in root tissue treated with ribonuclease and ethylenediamine tetraacetic acid. Plant Physiol. 35:372-379.

Himelrick, D.G. 1981. Determination of total and ionic calcium in apple leaf and fruit tissues. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 106: 619-621.

Hirschi, K.D. 2004. The calcium conundrum. Both versatile nutrient and specific signal. Plant Physiol. 136:2438-2442.

Huang, X.M., H.C. Wang, J.G. Li, J.H. Yin, W.Q. Yuan, J.M. Lu and H.B. Huang. 2005. An overview of calcium's role in lychee fruit cracking. Acta Hort. 665:231-240.

Huang, X.M., H.C. Wang, W.L. Zhong, W.Q. Yuan, J.M. Lu and J.G. Li. 2008. Spraying calcium is not an effective way to increase structural calcium in litchi pericarp. Scientia Hort. 117:39-44.

Kirby, E.A. and D.J. Pilbeam. 1984. Calcium as a plant nutrient. Plant Cell Environ. 7:397-405.

Le Grange, S.A., K.I. Theron and G. Jacobs. 1998. Influence of the number calcium sprays on the distribution of fruit mineral concentration in apple orchard. J. Hort. Sci. Biotech. 73:569-573.

Lidster, P.D. and S.W. Porritt, 1978. Some factors affecting uptake of calcium by apples dipped after harvest in calcium chloride solution. Can. J. Plant Sci. 58:35-40.

Lin, H.L., C.C. Shiesh and P.J. Chen. 2013. Physiological disorders in relation to compositional changes in mango (*Mangifera indica* L. 'Chiin Hwang') fruit. Acta Hort. 984:393-400.

Madrid, R., M. Valverde, V. Alcolea and F. Romojaro. 2004. Influence of calcium nutrition on water soaking disorder during ripening of cantaloupe melon. Scientia Hortic. 101:69-79.

Marschner, H. 1995. Mineral Nutrition of Plants. 2nd edition. Academic Press, London.

Mason, J.L., J.J. Jasmin and R.L. Granger. 1975. Softening of 'McIntosh' apples reduced by a post-harvest dip in calcium chloride solution plus thickener. HortSci. 10:524-525.

Martin-Cabrejas, M., K.W. Waldron and R.R. Selvendran. 1994. Cell wall changes in Spanish pear during ripening. J. Plant Physiol. 144:541-548.

Matoh, T. and M. Kobayashi. 1998. Boron and calcium, essential inorganic constituents of pectic polysaccharides in higher plant cell wall. J. Plant Res. 111:179-190.

Mayr, U. and M. Schönherr. 2002. Influence of calcium spray with different concentrations; spray timing and combination with prohexadione-Ca on the mineral content in 'Boskoop' and 'Elstar'. Acta Hort. 594:553-556.

Mitcham, E.J., K.C. Gross and T.J. Ng. 1989. Tomato fruit cell wall synthesis during development and senescence. Plant Physiol. 89:477-481.

Moggia, C., J.A. Yuri and M. Pereira. 2010. Mineral content of different apple cultivars in relation to fruit quality during storage. Acta Hort. 721:265-271.

Neilsen, G.H. and D. Neilsen. 2002. Effect of foliar Zn, form and timing of Ca sprays on fruit Ca concentrations in new apple cultivar. Acta Hort. 594:435-443.

Neilsen, G.H., D. Neilsen, S.F. Dong and P. Toivonen. 2005. Application of $CaCl_2$ sprays earlier in the season reduce bitter pit incidence in 'Braeburn' apple. HortScience 40:1850-1853.

Paopun, Y., P. Umrung and P. Thanomchat. 2013. Cell wall structure of translucent cells of mangosteen fruit. Acta Hort. 984:463-468.

Peryea, F.J., G.H. Neilsen and D. Faubion. 2007. Start-time for calcium chloride spray programs influences fruit calcium and bitter pit in 'Braeburn' and 'Honeycrisp' apples. J. Plant Nutr. 30:1213-1227.

Phanchindawan, N. and P. Kanayawongha. 2013. Effects of calcium and boron application on salak quality and nutrient composition. Acta Hort. 984:419-424.

Piestrzeniewicz, C. and K. Tomala. 2001. Some factors influencing storage ability of 'Jonagold' apples. Acta Hort. 564:435-442.

Pittman, J.K. and K. Hirschi. 2003. Don't shoot the (second) messenger: endomembrane transporters and binding protein modulate cytosolic Ca^{2+} levels. Curr. Opin. Plant Biol. 6:257-262.

Ploetz, R.C., G.A. Zentmyer, W.T. Nishijima, K.G. Rohrbach and H.D. Ohr. 1994. Compendium of Tropical Fruit Diseases. APS Press, St.Paul, Minnesota. 88 pp.

Pludbuntong, W., C. Makhonpas and S. Poovarodom. 2007. Nutrient content in translucent flesh and gamboges disorders of mangosteen fruits (*Garcinia mangostana* L.). pp 30-34. In Proc. Intl. Conf. on Integration of Science & Technology for Sustainable Development. 26-27 April 2007, Bangkok, Thailand.

Poovarodom, S. 2010. Calcium and physiological disorders of mangosteen fruits. p.58-62. In Proc. 16th Asian Agri. Sym. and 1st Intl. Sym. on Agri. Technol. 25-27 August 2010, Bangkok, Thailand

Poovarodom, S. and N. Boonplang. 2010. Soil calcium application and pre-harvest calcium and boron sprays on mangosteen fruit quality. Acta Hort. 868:359-365.

Poovarodom, S. and N. Phanchindawan. 2013. Pectin and calcium distribution in cell wall fractions of physiological disorder-affected mangosteen fruits. Acta Hort. 984:401-408.

Pooviah, B.W. 1988. The molecular and cellular aspects of calcium action. HortSci. 23:267-271.

Pooviah, B.W., G.M. Glenn and A.S.N. Reddy. 1988. Calcium and fruit softening: Physiology and biochemistry. Hort. Rev. 10:107-152.

Sander, D., J. Pelloux, C. Brownlee and J.F. Harper. 2002. Calcium at the crossroads of signaling. Plant Cell 14(Suppl):S401-S417.

Saks, Y., L. Sonego and R. Ben-Arie. 1990. Senescent breakdown of 'Jonathan' apples in relation to the water-soluble calcium content of the fruit pulp before and after storage. J. Amer. Soc. Hort. 115: 615-618.

Serrano, M., A. Amoros, M.T. Pretel, M.C. Martinez-Madrid, R. Madrid and F. Romojaro. 2003. Effect of calcium deficiency on melon (*Cucumis melo* L.) texture and galssiness incidence during ripening. Food Sci. Tech. Int. 8:147-154.

Sharples, R.O. 1967. A note on the occurrence of watercore breakdown in apple during 1966. Plant Path. 16:119-120.

Shear, C.B. 1975. Calcium-related disorders of fruits and vegetables. HortSci. 10:361-365.

Simon, E.W. 1978. The symptoms of calcium deficiency in plants. New Phytol. 80:1-15.

Smock, R.M. and A. Van Doren. 1937. The histology of bitter pit in apples. Proc. Amer. Soc. Hort. 35:176-179.

Sze, H., F. Laing, I. Hwang and J. Harper. 2000. Diversity and regulation of Ca^{2+} pumps: insights from expression in yeast. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 51:433-462.

White, P.J. and M.R. Broadley. 2003. Calcium in plants. Ann. Bot. 92:487-511.

Wilsdorf, R.E., E. Lötze, J. Mesjasz-Przybylowicz and W.J. Przybylowicz. 2013. Mapping the distribution of calcium on apple tissue with proton-induced X-Ray emission after application of additional pre-harvest foliar or soil calcium. Acta Hort. 984:383-392.

Yermiyahu, U., S. Nir, G. Ben-Hayyim and U. Kafkafi. 1994. Quantitative competition of calcium with sodium or magnesium for sorption sites on plasma membrane vesicles of melon (*Cucumis melo* L.) root cells. J. Membr. Biol. 138:55-63.

Young, T.W. 1961. Relationship of nitrogen and calcium to "soft-nose" disorder in mango fruits. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 78:201-208.