

ตารางที่ 3.11 คุณสมบัติของดินในแปลงที่ปลูกชาภายใต้ร่มเงาต้นไม้หลังการใส่ปุ๋ยครั้งที่ 1 (กันยายน 2551)

กรรมวิธี การทดลอง	pH	EC uS /cm	OM %	P mg/kg	K mg/kg	Ca mg/kg	Mg mg/kg	Fe mg/kg	Mn mg/kg	Cu mg/kg	Zn mg/kg	S mg/kg	B mg/kg
ไม่ใส่ปุ๋ย	4.79	23.40	6.19	195.43	311.55	467.57	73.98	319.47	23.16	2.38	4.86	21.64	0.25
ใส่ปุ๋ยอินทรีย์	5.17	24.43	5.34	145.44	335.00	708.58	140.67	240.91	17.38	2.49	5.15	13.07	0.24
ใส่ปุ๋ยชีวภาพ	5.05	21.23	5.23	63.33	451.82	582.84	123.39	199.38	17.65	2.38	3.80	18.28	0.23
LSD 0.05	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
% CV	6.20	20.52	27.54	26.06	45.61	29.50	50.69	18.50	33.83	30.74	13.04	11.28	29.09

ตารางที่ 3.12 คุณสมบัติของดินในแปลงที่ปลูกชาที่อยู่กลางแจ้ง หลังการใส่ปุ๋ยครั้งที่ 1 (กันยายน 2551)

กรรมวิธี การทดลอง	pH	EC uS /cm	OM %	P mg/kg	K mg/kg	Ca mg/kg	Mg mg/kg	Fe mg/kg	Mn mg/kg	Cu mg/kg	Zn mg/kg	S mg/kg	B mg/kg
ไม่ใส่ปุ๋ย	4.83	20.83	3.28	131.40	244.38	324.35	41.44	249.89	10.58	2.73	3.27	23.57	0.24
ใส่ปุ๋ยอินทรีย์	4.78	24.27	4.03	198.47	240.81	519.96	75.20	263.35	16.27	4.25	2.53	16.07	0.31
ใส่ปุ๋ยชีวภาพ	4.81	22.47	3.91	124.00	243.19	610.78	78.80	206.10	13.79	2.92	3.81	22.52	0.24
LSD 0.05	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
% CV	2.15	11.22	15.44	57.33	57.33	29.09	22.30	29.42	10.15	36.36	19.04	35.01	32.94

ตารางที่ 3.13 คุณสมบัติของดินในแปลงที่ปลูกชาภายใต้ร่มเงาต้นไม้หลังการใส่ปุ๋ยครั้งที่ 2 (เมษายน 2552)

กรรมวิธี การทดลอง	pH	EC μS /cm	OM %	P mg/kg	K mg/kg	Ca mg/kg	Mg mg/kg	Fe mg/kg	Mn mg/kg	Cu mg/kg	Zn mg/kg	S mg/kg	B mg/kg
ไม่ใส่ปุ๋ย	4.70	57.80	7.31	285.89	317.69	636.27	92.61	77.47	52.77	1.15 a	6.36	13.31	0.08
ใส่ปุ๋ยอินทรีย์	4.94	87.67	7.70	300.27	330.14	707.34	128.16	100.31	56.76	1.17 a	7.00	25.16	0.10
ใส่ปุ๋ยชีวภาพ	4.63	63.33	6.96	201.01	358.15	556.60	126.15	65.00	52.02	0.87 b	5.17	18.68	0.06
LSD 0.05	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	*	ns	ns	ns
% CV	7.03	25.27	15.92	35.52	13.38	31.74	20.14	19.94	35.57	11.54	29.01	29.84	41.44

ตารางที่ 3.14 คุณสมบัติของดินในแปลงที่ปลูกชาที่อยู่กลางแจ้ง หลังการใส่ปุ๋ยครั้งที่ 2 (เมษายน 2552)

กรรมวิธี การทดลอง	pH	EC μS /cm	OM %	P mg/kg	K mg/kg	Ca mg/kg	Mg mg/kg	Fe mg/kg	Mn mg/kg	Cu mg/kg	Zn mg/kg	S mg/kg	B mg/kg
ไม่ใส่ปุ๋ย	5.49	29.93	5.27	110.45	346.48	855.23	105.69	67.60	20.58	1.60	3.32	11.65	0.04 c
ใส่ปุ๋ยอินทรีย์	5.34	33.70	3.86	190.49	291.24	838.17	122.12	80.58	28.82	3.82	3.50	10.81	0.06 b
ใส่ปุ๋ยชีวภาพ	5.32	37.77	5.57	187.21	344.15	861.26	111.39	71.23	32.31	1.97	4.07	8.42	0.08 a
LSD 0.05	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	*
% CV	3.98	27.91	31.07	33.98	33.43	33.45	25.96	28.82	27.74	41.36	26.17	16.58	8.95

ตารางที่ 3.15 คุณสมบัติของดินในแปลงที่ปลูกชาภายใต้ร่มเงาต้นไม้หลังการใส่ปุ๋ยครั้งที่ 4 (เดือนตุลาคม 2552)

กรรมวิธี การทดลอง	pH	EC μS /cm	OM %	P mg/kg	K mg/kg	Ca mg/kg	Mg mg/kg	Fe mg/kg	Mn mg/kg	Cu mg/kg	Zn mg/kg	S mg/kg	B mg/kg
ไม่ใส่ปุ๋ย	4.85	23.40	5.53	63.17 b	297.20	288.55b	43.49b	54.72	15.84	0.90	3.56	23.50	0.14
ใส่ปุ๋ยอินทรีย์	5.36	27.73	5.40	212.50 a	342.81	607.69a	160.49ab	53.72	16.98	1.49	3.78	22.65	0.23
ใส่ปุ๋ยชีวภาพ	5.29	26.73	6.20	144.33 a	357.10	601.57a	105.58a	50.27	18.12	1.08	3.03	22.65	0.19
LSD 0.05	ns	ns	ns	*	ns	*	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns
% CV	5.02	34.65	22.40	21.77	31.68	26.24	36.12	29.12	37.71	23.28	27.49	8.81	28.83

ตารางที่ 3.16 คุณสมบัติของดินในแปลงที่ปลูกชาที่อยู่กลางแจ้ง หลังการใส่ปุ๋ยครั้งที่ 4 (เดือนตุลาคม 2552)

กรรมวิธี การทดลอง	pH	EC μS /cm	OM %	P mg/kg	K mg/kg	Ca mg/kg	Mg mg/kg	Fe mg/kg	Mn mg/kg	Cu mg/kg	Zn mg/kg	S mg/kg	B mg/kg
ไม่ใส่ปุ๋ย	5.27	29.10	5.09	193.50	227.09	264.31b	65.08	51.76	14.99	1.89	3.78	19.25	0.19
ใส่ปุ๋ยอินทรีย์	5.41	28.70	4.81	213.00	292.47	389.54a	98.94	61.15	15.27	1.55	4.97	20.46	0.15
ใส่ปุ๋ยชีวภาพ	4.95	24.57	4.58	229.50	318.98	296.63b	51.49	68.56	13.85	2.31	2.70	21.80	0.21
LSD 0.05	ns	ns	ns	ns	ns	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
% CV	4.70	37.19	19.48	39.96	15.05	10.36	31.06	9.94	68.09	29.15	25.76	18.57	24.19

3.7.2.2 ปริมาณธาตุอาหารในใบชา

จากการสำรวจเบื้องต้น ถึงปริมาณธาตุอาหารในใบชา ก่อนเริ่มการทดลอง การชั่งปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพในการเพิ่มความอุดมสมบูรณ์ดิน ในช่วงฤดูแล้ง (เมษายน 2551) และในฤดูฝน (สิงหาคม 2551) (ตารางที่ 3.17) พบว่าความเข้มข้นของธาตุอาหารในใบชาของทั้งสองฤดูไม่แตกต่างกันมากนัก ทั้งในแง่ของปริมาณและแปลงกลางแข็ง แต่เป็นที่น่าสังเกตว่า ใบชาในช่วงฤดูฝน มีแนวโน้มในการ uptake ธาตุไนโตรเจนและแคลเซียมมาสะสมในใบได้ดีกว่าในฤดูแล้ง ยกเว้นแมกนีเซียมที่มีการสะสมในฤดูแล้งได้ดีกว่าในฤดูฝน อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาความเข้มข้นของธาตุอาหารในใบชาที่ปลูกบนพื้นที่สูง ของอำเภอแม่แตง เมื่อเปรียบเทียบกับค่าปริมาณธาตุอาหารในใบชาที่ได้เคยรายงานไว้ จะพบว่าธาตุอาหารในใบชาที่ปลูกบนพื้นที่สูง ของอำเภอแม่แตง มีระดับปริมาณธาตุอาหารโดยทั่วไปต่ำกว่าระดับมาตรฐาน ยกเว้นปริมาณฟอสฟอรัส แคลเซียม และแมกนีเซียมอยู่ในระดับที่เหมาะสม

ตารางที่ 3.17 ระดับปริมาณธาตุอาหารต่างๆที่เหมาะสมในใบชาและความเข้มข้นของธาตุอาหารในใบชาที่เก็บจากแปลงชาของบริษัทชาละมิงค์

ธาตุอาหาร	ระดับที่ เหมาะสม*	เดือนมษายน 2551		เดือนสิงหาคม 2551	
		แปลงในไร่	แปลงกลางแข็ง	แปลงในไร่	แปลงกลางแข็ง
N (%)	> 3.8	2.30	2.00	2.75	2.44
P (%)	0.19 -0.25	0.17	0.21	0.17	0.26
K (%)	1.8 -2.0	1.28	1.49	1.23	1.36
Ca (%)	0.4 –0.6	0.89	0.89	1.11	1.05
Mg (%)	0.15 –0.3	0.23	0.29	0.20	0.21
Fe (mg/kg)	500-1000	100.45	163.51	58.03	45.77
Mn (mg/kg)	> 100	1034.8	714.29	2217.93	1316.13
Cu (mg/kg)	> 12	4.46	4.46	6.35	7.00
Zn (mg/kg)	30 -50	25.34	26.02	14.96	18.1
B (mg/kg)	30 - 50	10.25	11.55	21.23	28.83
S (%)	0.1 - 0.3	-	-	-	-
Cl (%)	0.003 – 0.005	-	-	-	-

* (Plant Analysis An Interpretation Manual, (Second Edition). Ed., D.J. Reuter and J.B. Robinson. CSIRO Publishing, Australia. 230- 231)

ภายหลังการใส่ปุ๋ยอินทรีย์หรือปุ๋ยชีวภาพครั้งแรกในเดือนสิงหาคม 2551 (ช่วงฤดูฝน) ได้ 1 เดือน ได้เก็บตัวอย่างใบชามาวิเคราะห์ความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโบ (เก็บตัวอย่างเดือน กันยายน 2551 ก่อนใส่ปุ๋ยอินทรีย์และชีวภาพครั้งที่ 2) (ผลวิเคราะห์แสดงใน ตารางที่ 3.18 และ 3.19) จากผลการวิเคราะห์ความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโบชา พบว่าถึงแม้ความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโบชาทั้งที่ใส่ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพจะไม่แตกต่างกันจากกรรมวิธีที่ไม่ได้ใส่ปุ๋ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติก็ตาม ทั้งแปลงที่ปลูกชาภายใต้ร่มเงา และแปลงกลางแจ้ง แต่เป็นที่น่าสนใจว่าการใส่ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพมีแนวโน้มทำให้ความเข้มข้นของธาตุอาหารหลัก โดยเฉพาะไนโตรเจนไนโบชาสูงกว่าในกรรมวิธีที่ไม่ได้ใส่ปุ๋ย ทั้งแปลงที่ปลูกในร่มและกลางแจ้ง โดยการใส่ปุ๋ยอินทรีย์หรือปุ๋ยชีวภาพทำให้ความเข้มข้นของไนโตรเจนสูงขึ้นถึง 2.93 - 3.23% และ 2.71 – 2.82% ตามลำดับ ขณะที่ไม่ใส่ปุ๋ยมีไนโตรเจนเพียง 2.68%

ตารางที่ 3.18 ความเข้มข้นของธาตุอาหารต่างๆในใบชา ที่ปลูกในแปลงในร่ม (เก็บตัวอย่างเดือน กันยายน 2551)

กรรมวิธีการ ทดลอง	N (%)	P (%)	K (%)	Ca (%)	Mg (%)	Fe (mg/kg)	Mn (mg/kg)	Cu (mg/kg)	Zn (mg/kg)	B (mg/kg)
ไม่ใส่ปุ๋ย	2.68	0.18	1.25	1.03	0.21	53.69	1922.30	11.43	17.19	22.99
ใส่ปุ๋ยอินทรีย์	3.23	0.19	1.37	0.97	0.22	53.69	1566.40	10.67	17.57	20.50
ใส่ปุ๋ยชีวภาพ	2.93	0.21	1.35	0.89	0.23	63.32	1803.50	12.38	16.42	22.32
% CV	10.85	24.51	18.85	19.56	2.59	7.98	27.28	20.66	11.65	26.94

ตารางที่ 3.19 ความเข้มข้นของธาตุอาหารต่างๆในใบชา ที่ปลูกในแปลงกลางแจ้ง (เก็บตัวอย่าง เดือน กันยายน 2551)

กรรมวิธีการ ทดลอง	N (%)	P (%)	K (%)	Ca (%)	Mg (%)	Fe (mg/kg)	Mn (mg/kg)	Cu (mg/kg)	Zn (mg/kg)	B (mg/kg)
ไม่ใส่ปุ๋ย	2.68	0.34	1.73	1.09	0.19	49.41	1038.20	10.48	17.96	23.22
ใส่ปุ๋ยอินทรีย์	2.82	0.29	1.54	1.02	0.22	40.86	1077.80	9.50	17.38	23.81
ใส่ปุ๋ยชีวภาพ	2.71	0.29	1.47	1.11	0.21	46.20	1249.30	13.32	15.45	23.76
% CV	5.12	9.06	7.88	16.93	14.79	11.74	19.31	13.81	7.06	8.40

ภายหลังการทดลองใส่ปุ๋ยในครั้งที่ 2 (ช่วงเดือนกันยายน 2551) ซึ่งเป็นช่วงปลายฤดูฝน หลังจากนั้นปริมาณฝนลดลงอย่างมาก และในช่วงฤดูหนาวแปลงปลูกชาอยู่ใต้อาฟฝนน้ำ ทำให้ชาไม่แตกยอดอ่อน ทางบริษัทจึงได้ทำการตัดแต่งชา ทำให้ไม่มีการเก็บตัวอย่างใบชาเพื่อวิเคราะห์ความเข้มข้นของธาตุอาหารในใบชาช่วงฤดูหนาว หลังจากทำการตัดแต่งชาจึงมีการใส่ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพในแปลงทดลองอีกครั้งในช่วงเดือนกุมภาพันธ์ 2552 เมื่อชาเริ่มแตกใบอ่อน และต้นชาอยู่ในสภาพสมบูรณ์ดีแล้วจึงทำการเก็บตัวอย่างใบชา มาวิเคราะห์ปริมาณความเข้มข้นของธาตุอาหาร (เก็บตัวอย่างในเดือนเมษายน 2552) ผลการวิเคราะห์ธาตุอาหารในใบชาที่เก็บตัวอย่างในช่วงเดือนเมษายน 2552 แสดงไว้ในตารางที่ 3.20 และ 3.21

ตารางที่ 3.20 ความเข้มข้นของธาตุอาหารต่างๆในใบชาที่ปลูกในแปลงในร่ม (เก็บตัวอย่างเดือนเมษายน 2551)

กรรมวิธี การทดลอง	N (%)	P (%)	K (%)	Ca (%)	Mg (%)	Fe (mg/kg)	Mn (mg/kg)	Cu (mg/kg)	Zn (mg/kg)	B (mg/kg)
ไม่ใส่ปุ๋ย	3.78	0.24	1.51 b	1.18	0.20	81.20	1683.60	11.84	131.83	16.44
ใส่ปุ๋ยอินทรีย์	3.70	0.28	1.74 a	1.27	0.24	83.49	1585.20	14.71	129.03	19.56
ใส่ปุ๋ยชีวภาพ	3.53	0.19	1.83 a	1.11	0.18	78.91	1894.40	16.63	110.87	18.25
LSD 0.05	ns	ns	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
% CV	11.83	48.40	4.82	11.97	9.47	12.10	29.52	21.07	8.01	13.20

ตารางที่ 3.21 ความเข้มข้นของธาตุอาหารต่างๆในใบชาที่ปลูกในแปลงกลางแจ้ง (เก็บตัวอย่างเดือน เมษายน 2551)

กรรมวิธี การทดลอง	N (%)	P (%)	K (%)	Ca (%)	Mg (%)	Fe (mg/kg)	Mn (mg/kg)	Cu (mg/kg)	Zn (mg/kg)	B (mg/kg)
ไม่ใส่ปุ๋ย	3.59	0.38	1.92	1.57	0.20	93.78	1360.30	10.05 b	143.01	17.36
ใส่ปุ๋ยอินทรีย์	3.77	0.37	1.84	1.55	0.24	97.25	1388.40	17.59 a	159.78	20.33
ใส่ปุ๋ยชีวภาพ	3.77	0.35	1.78	1.52	0.24	97.12	1641.40	15.67ab	147.20	26.29
LSD 0.05	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	*	ns	ns
% CV	3.09	12.96	8.56	11.22	14.41	7.46	11.57	18.86	14.21	18.53

จากผลการวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารในใบชาในช่วงฤดูร้อน ที่เก็บตัวอย่างจากแปลงปลูกชาที่อยู่ได้ร่วมไม้และแปลงปลูกชากลางแจ้ง พบว่าปริมาณธาตุอาหารในใบชาโดยทั่วไป แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ยกเว้นความเข้มข้นของโพแทสเซียมในใบชาที่เก็บจากแปลงปลูกชาได้ร่วมไม้ และความเข้มข้นของทองแดงในใบชาที่เก็บจากแปลงปลูกชากลางแจ้ง ที่การใส่ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพทำให้ความเข้มข้นของโพแทสเซียมและทองแดงในใบชาสูงกว่าใบชาที่ไม่ได้ใส่ปุ๋ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยความเข้มข้นของโพแทสเซียมในใบชาที่ใส่ปุ๋ยอินทรีย์และใส่ปุ๋ยชีวภาพเท่ากับ 1.74 และ 1.83% ในขณะที่ใบชาที่ไม่ได้ใส่ปุ๋ยมีความเข้มข้นของโพแทสเซียมเพียง 1.51% และความเข้มข้นของทองแดงในใบชาที่ใส่ปุ๋ยอินทรีย์และใส่ปุ๋ยชีวภาพเท่ากับ 17.59 และ 15.67 mg/kg ในขณะที่ใบชาที่ไม่ได้ใส่ปุ๋ยมีความเข้มข้นของทองแดงมีเพียง 10.05 mg/kg

ถึงแม้โดยทั่วไปแล้วความเข้มข้นของธาตุอาหารในใบชาทั้งที่ใส่ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพจะไม่แตกต่างกันจากกรรมวิธีที่ไม่ได้ใส่ปุ๋ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติก็ตาม ทั้งแปลงในร่มและแปลงกลางแจ้ง แต่เป็นที่น่าสังเกตว่าการใส่ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพมีแนวโน้มทำให้ความเข้มข้นของธาตุอาหารในใบชาสูงกว่าในการรวมวิธีที่ไม่ได้ใส่ปุ๋ย ทั้งแปลงที่ปลูกในร่มและกลางแจ้ง และเมื่อเปรียบเทียบความเข้มข้นของธาตุอาหารในใบชากับค่าปริมาณธาตุอาหารในใบชาที่ได้เคยรายงานไว้ (ตารางที่ 3.18 และ 3.19) จะพบว่าธาตุอาหารไนโตรเจนในช่วงเดือนเมษายน 2552 ที่ได้จากการทดลองโดยส่วนใหญ่จะอยู่ในระดับที่เหมาะสม ซึ่งจะแตกต่างจากผลการวิเคราะห์ธาตุอาหารในใบชา ก่อนเริ่มดำเนินการทดลอง (เมษายน 2551) ที่ระดับปริมาณธาตุอาหารโดยทั่วไปต่ำกว่าระดับมาตรฐาน (ตารางที่ 3.17)

ในช่วงต้นเดือนมิถุนายน 2552 ซึ่งเป็นช่วงต้นฤดูฝน ได้ทำการใส่ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพให้กับแปลงชาอีกครั้งหนึ่ง และในช่วงที่ชากำลังให้ผลผลิต (เก็บยอดชาอ่อนช่วงเดือนสิงหาคม – ต้นเดือนพฤศจิกายน) ได้ทำการผสมเก็บตัวอย่างใบชาเพื่อวิเคราะห์ความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจน (เก็บตัวอย่างต้นเดือนตุลาคม 2552) ซึ่งผลการวิเคราะห์แสดงไว้ในตารางที่ 3.22-3.23

ตารางที่ 3.22 ความเข้มข้นของธาตุอาหารต่างๆในใบชาที่ปลูกในแปลงในร่ม (เก็บตัวอย่างเดือน ตุลาคม 2552)

กรรมวิธี การทดลอง	N (%)	P (%)	K (%)	Ca (%)	Mg (%)	Fe (mg/kg)	Mn (mg/kg)	Cu (mg/kg)	Zn (mg/kg)	B (mg/kg)
ไม่ใส่ปุ๋ย	3.32	0.20	1.02	1.54	0.22	35.29	1337.30	44.80ab	18.27	10.97
ใส่ปุ๋ยอินทรีย์	3.38	0.20	1.04	1.41	0.23	44.63	1001.80	45.69a	20.31	10.26
ใส่ปุ๋ยชีวภาพ	3.23	0.19	1.09	1.69	0.21	46.40	1098.80	46.40b	18.89	9.51
LSD 0.05	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	*	ns	ns
% CV	13.10	8.68	6.27	11.89	12.55	18.32	19.25	1.99	10.80	9.81

ตารางที่ 3.23 ความเข้มข้นของธาตุอาหารต่างๆในใบชาที่ปลูกในแปลงกลางแจ้ง (เก็บตัวอย่าง เดือนตุลาคม 2552)

กรรมวิธี การทดลอง	N (%)	P (%)	K (%)	Ca (%)	Mg (%)	Fe (mg/kg)	Mn (mg/kg)	Cu (mg/kg)	Zn (mg/kg)	B (mg/kg)
ไม่ใส่ปุ๋ย	2.92	0.33	1.47	1.66	0.21	37.29	596.80	46.57	13.39	11.35
ใส่ปุ๋ยอินทรีย์	3.05	0.34	1.32	1.76	0.21	41.07	712.50	44.80	13.59	11.19
ใส่ปุ๋ยชีวภาพ	2.99	0.34	1.32	1.75	0.23	38.40	880.53	46.57	15.02	10.98
LSD 0.05	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
% CV	7.39	11.13	17.28	8.06	9.12	24.29	17.58	3.04	9.09	7.86

จากตารางที่ 3.22 และ 3.23 จะเห็นว่า ความเข้มข้นของธาตุอาหารต่างๆในใบชาในช่วงปลายฤดูฝนต้นฤดูหนาว เป็นไปในลักษณะเช่นเดียวกับในช่วงเดือนเมษายน 2552 โดยทั่วไปแล้วความเข้มข้นของธาตุอาหารในใบชาทั้งที่ใส่ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพจะไม่แตกต่างกันมากนักได้ปุ๋ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติก็ตาม ทั้งแปลงในร่มและแปลงกลางแจ้ง โดยมีความเข้มข้นของธาตุอาหารหลักไนโตรเจนอยู่ในช่วง 2.99 – 3.38%ฟอสฟอรัสอยู่ในช่วง 0.19 - 34% และโพแทสเซียมอยู่ในช่วง 1.04 - 1.32%

3.7.2.3 ปริมาณสารแอนติออกซิแดนซ์และคาเฟอีนในยอดชา

การศึกษาดังกล่าวถึงผลของการใช้ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพต่อความแปรปรวนของปริมาณสารแอนติออกซิแดนซ์และคาเฟอีนในใบชา นั้น ได้เก็บตัวอย่างยอดชาแบบมาตรฐาน (2 ใบกับ 1 ยอด) จำนวน 4 ครั้ง คือ ครั้งที่ 1 ในช่วงฤดูหนาว เดือนธันวาคม 2551 ครั้งที่ 2 ในช่วงฤดูร้อนเดือนเมษายน 2553 ครั้งที่ 3 ในช่วงฤดูฝนเดือน กรกฎาคม 2553 และครั้งสุดท้าย ในช่วงปลายฤดูฝนเดือนตุลาคม 2553 แล้วนำไปวิเคราะห์หาสารแอนติออกซิแดนซ์หรือสารต้านอนุมูลอิสระในกลุ่มคาเทชินที่สำคัญ ได้แก่ Catechin (C), Epicatechin (EC), (Epigallocatechin 3-gallate (EGCG) Epicatechin gallate ECG และ คาเฟอีน (Caffeine) ซึ่งผลการวิเคราะห์ในแต่ละครั้งแสดงในตารางที่ 3.24-3.31

หลังการใส่ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพ 2 ครั้ง (สิงหาคมและกันยายน 2551) ในช่วงฤดูหนาว (ธันวาคม 2551) ได้เก็บยอดชามาวិเคราะห์สารกลุ่มคาเทชินและคาเฟอีน พบว่าชาที่ปลูกในแปลงภายใต้ร่มเงา การใส่ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพ ไม่ทำให้ปริมาณของสารทั้ง 2 กลุ่ม แตกต่างจากการไม่ใส่ปุ๋ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 3.24) โดยมีสาร C, EC, EGCG และ ECG แปรปรวนอยู่ในช่วง 0.15 - 0.19, 4.39 - 5.06, 17.24 - 31.99, 5.80 - 8.03 mg/g ตามลำดับ และมีคาเฟอีนอยู่ในช่วง 51.16 - 54.86 mg/g

ตารางที่ 3.24 ปริมาณของสารกลุ่มคาเทชินและคาเฟอีนในยอดชาที่ปลูกภายใต้ร่มเงา (ธ.ค.51)

กรรมวิธีการทดลอง	ปริมาณสารกลุ่มคาเทชิน (mg/g)				คาเฟอีน (mg/g)
	C	EC	EGCG	ECG	
ไม่ใส่ปุ๋ย	0.15	4.94	17.24	5.80	51.16
ใส่ปุ๋ยอินทรีย์	0.19	5.06	30.51	7.52	54.86
ใส่ปุ๋ยชีวภาพ	0.18	4.39	31.99	8.03	51.31
LSD 0.05	ns	ns	ns	ns	ns
%CV	30.41	31.69	26.62	43.52	7.10

สำหรับแปลงชาที่ปลูกกลางแจ้งนั้น การใส่ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพไม่ทำให้ C, EGCG และคาเฟอีนแตกต่างจากการไม่ใส่ปุ๋ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ยกเว้น EC และ ECG ที่การใส่ปุ๋ยชีวภาพทำให้สารทั้งสองเพิ่มสูงขึ้นกว่าการใส่ปุ๋ยอินทรีย์และไม่ใส่ปุ๋ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 3.25) โดยการใส่ปุ๋ยชีวภาพ พบว่ายอดชามีสาร EC และ ECG สูงสุดเท่ากับ 9.65 และ 16.55 % ตามลำดับ ในขณะที่แปลงที่ไม่ใส่ปุ๋ยพบสาร EC และ ECG เท่ากับ 7.44 และ 9.95 mg/g ตามลำดับ

ตารางที่ 3.25 ปริมาณของสารคาเทชินและคาเฟอีนในยอดชาที่ปลูกกลางแจ้ง (ห.ค. 2551)

กรรมวิธีการทดลอง	ปริมาณสารกลุ่มคาเทชิน (mg/g)				คาเฟอีน (mg/g)
	C	EC	EGCG	ECG	
ไม่ใส่ปุ๋ย	0.60	7.44b	38.59	9.95b	43.14
ใส่ปุ๋ยอินทรีย์	0.53	6.33b	60.04	10.30b	42.10
ใส่ปุ๋ยชีวภาพ	0.82	9.65a	61.74	16.55a	41.99
LSD 0.05	ns	*	ns	*	ns
%CV	36.31	14.06	23.37	5.40	8.19

หลังจากเก็บเกี่ยวชาในฤดูการผลิตปี 2551 ได้ทำการตัดแต่งชา และให้ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพอีกครั้งในช่วงเดือนกุมภาพันธ์ 2552 หลังจากชาเริ่มมียอดอ่อน (เดือนเมษายน) จึงได้เก็บยอดชาเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณสารในกลุ่มคาเทชินและคาเฟอีนในช่วงฤดูร้อนอีกครั้ง ผลการวิเคราะห์แสดงในตารางที่ 3.26-3.27

ตารางที่ 3.26 ปริมาณของสารกลุ่มคาเทชินและคาเฟอีนในยอดชาที่ปลูกภายใต้ร่มเงา (เม.ย.52)

กรรมวิธีการทดลอง	ปริมาณสารกลุ่มคาเทชิน (mg/g)				คาเฟอีน (mg/g)
	C	EC	EGCG	ECG	
ไม่ใส่ปุ๋ย	1.68	13.81	19.43	19.31	36.02
ใส่ปุ๋ยอินทรีย์	2.34	11.25	28.74	22.77	42.52
ใส่ปุ๋ยชีวภาพ	2.71	15.18	38.40	33.36	60.11
LSD 0.05	ns	ns	ns	ns	ns
%CV	74.86	61.47	28.04	43.92	31.91

ตารางที่ 3.27 ปริมาณของสารกลุ่มคาเทชินและคาเฟอีนในยอดชาที่ปลูกกลางแจ้ง (เม.ย.52)

กรรมวิธีการทดลอง	ปริมาณสารกลุ่มคาเทชิน (mg/g)				คาเฟอีน (mg/g)
	C	EC	EGCG	ECG	
ไม่ใส่ปุ๋ย	2.41	26.82	33.78	32.03	40.20
ใส่ปุ๋ยอินทรีย์	2.16	18.27	24.48	19.27	28.45
ใส่ปุ๋ยชีวภาพ	4.67	14.63	19.76	18.90	66.28
LSD 0.05	ns	ns	ns	ns	ns
%CV	50.6	70.05	64.55	53.32	65.96

เมื่อเข้าสู่ฤดูฝน ได้ใส่ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพให้กับแปลงชาอีกครั้งในช่วงปลายเดือนมิถุนายน 2552 หลังจากนั้นในช่วงปลายเดือนกรกฎาคม 2552 จึงได้เก็บยอดชามาวิเคราะห์หาปริมาณสาร กลุ่มคาเฟอีนและคาเฟอีน ผลการวิเคราะห์แสดงในตารางที่ 3.28 และ 3.29

ตารางที่ 3.28 ปริมาณของสารกลุ่มคาเฟอีนและคาเฟอีนในยอดชาที่ปลูกภายใต้ร่มเงา (ก.ค.52)

กรรมวิธีการทดลอง	ปริมาณสารกลุ่มคาเฟอีน (mg/g)				คาเฟอีน (mg/g)
	C	EC	EGCG	ECG	
ไม่ใส่ปุ๋ย	1.32	20.00	49.00	50.47	73.44
ใส่ปุ๋ยอินทรีย์	1.15	24.00	58.75	47.02	74.88
ใส่ปุ๋ยชีวภาพ	1.13	22.75	54.75	48.90	72.80
LSD 0.05	ns	ns	ns	ns	ns
%CV	17.06	8.70	6.00	10.94	12.86

ตารางที่ 3.29 ปริมาณของสารคาเฟอีนและคาเฟอีนในยอดชาที่ปลูกกลางแจ้ง (ก.ค.52)

กรรมวิธีการทดลอง	ปริมาณสารกลุ่มคาเฟอีน (mg/g)				คาเฟอีน (mg/g)
	C	EC	EGCG	ECG	
ไม่ใส่ปุ๋ย	2.90	54.17	61.13	35.82	71.76
ใส่ปุ๋ยอินทรีย์	2.73	45.83	68.50	30.60	69.36
ใส่ปุ๋ยชีวภาพ	3.05	45.00	77.75	33.40	90.24
LSD 0.05	ns	ns	ns	ns	ns
%CV	6.59	15.23	24.00	20.41	17.80

จากผลการวิเคราะห์สารในกลุ่มคาเฟอีนและคาเฟอีนในช่วงฤดูร้อนและฤดูฝน ปี 2552 ให้ผลการศึกษาที่คล้ายคลึงกัน กล่าวคือ การใส่ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพไม่ทำให้สารกลุ่มคาเฟอีน และคาเฟอีนแตกต่างกันจากการการไม่ใส่ปุ๋ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติทั้งแปลงชาที่ปลูกภายใต้ร่มเงาและแปลงชาที่ปลูกกลางแจ้ง โดยพบว่าชาในช่วงฤดูร้อนว่ามีสาร C อยู่ในช่วง 1.68 – 4.67 mg/g, EC อยู่ในช่วง 11.25 – 26.82 mg/g, EGCG อยู่ในช่วง 19.43 - 33.78 mg/g, ECG อยู่ในช่วง 18.90 – 33.36 mg/g และคาเฟอีนอยู่ในช่วง 28.45 - 66.28 mg/g ในขณะที่ชาในช่วงฤดูฝนมีปริมาณสาร C อยู่ในช่วง 1.13 – 3.05 mg/g, EC อยู่ในช่วง 20.00 – 54.17 mg/g, EGCG อยู่ในช่วง 49.00 – 77.75 mg/g, ECG อยู่ในช่วง 30.60 – 50.47 mg/g และคาเฟอีนอยู่ในช่วง 71.76 - 90.24 mg/g

ในช่วงเดือนตุลาคม 2552 ซึ่งเป็นช่วงปลายฤดูฝนต้นฤดูหนาว การเก็บเกี่ยวผลผลิตโดยอดชา มีปริมาณลดลงอย่างมาก การเก็บเกี่ยวผลผลิตโดยอดชาในแปลงทดลองจึงเก็บได้ถึงปลายเดือน ตุลาคมเท่านั้น สำหรับผลการวิเคราะห์ปริมาณสารกลุ่มคาเฟอีนและคาเฟอีนในช่วงเดือนตุลาคมนี้ แสดงไว้ในตารางที่ 3.30 และ 3.31

ตารางที่ 3.30 ปริมาณของสารคาเฟอีนและคาเฟอีนในยอดชาที่ปลูกภายใต้ร่มเงา (ต.ค.52)

กรรมวิธีการทดลอง	ปริมาณสารกลุ่มคาเฟอีน (mg/g)				คาเฟอีน (mg/g)
	C	EC	EGCG	ECG	
ไม่ใส่ปุ๋ย	1.27	16.67	29.33 b	34.83	61.20
ใส่ปุ๋ยอินทรีย์	1.37	18.33	39.17 a	42.33	62.40
ใส่ปุ๋ยชีวภาพ	1.25	18.50	36.50 ab	41.17	60.67
LSD 0.05	ns	ns	*	ns	ns
%CV	15.02	7.11	10.85	20.60	12.86

ตารางที่ 3.31 ปริมาณของสารกลุ่มคาเฟอีนและคาเฟอีนในยอดชาที่ปลูกกลางแจ้ง (ต.ค.52)

กรรมวิธีการทดลอง	ปริมาณสารกลุ่มคาเฟอีน (mg/g)				คาเฟอีน (mg/g)
	C	EC	EGCG	ECG	
ไม่ใส่ปุ๋ย	2.45	60.83	63.50	51.50	65.60
ใส่ปุ๋ยอินทรีย์	2.02	39.17	52.33	39.50	57.80
ใส่ปุ๋ยชีวภาพ	2.98	58.33	61.83	55.67	75.20
LSD 0.05	ns	ns	ns	ns	ns
%CV	23.23	53.26	46.02	48.51	22.80

ผลการวิเคราะห์สารกลุ่มคาเฟอีนและคาเฟอีนในเดือนตุลาคมนี้ โดยส่วนใหญ่เป็นไปในลักษณะเดียวกับผลการศึกษาที่ผ่านมาข้างต้น โดยพบว่าการใช้ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพ ไม่ทำให้สารกลุ่มคาเฟอีนและคาเฟอีนแตกต่างกันจากการไม่ใส่ปุ๋ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ยกเว้นในแปลงชา ในร่ม ที่การใช้ปุ๋ยอินทรีย์ทำให้สาร EGCG สูงกว่าแปลงที่ไม่ใส่ปุ๋ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยที่ชาที่ใช้ปุ๋ยอินทรีย์พบสาร EGCG ในปริมาณ 39.17 mg/g ในขณะที่แปลงชาที่ไม่ได้ใส่ปุ๋ยพบสาร EGCG เพียง 29.33 mg/g

3.7.2.4 ผลผลิตยอดอ่อนใบชา

ในฤดูการผลิต 2551 ได้ทำการเก็บข้อมูลผลผลิตยอดชาอ่อนตั้งแต่ปลายเดือนสิงหาคม ถึง ประมาณกลางเดือนพฤศจิกายน 2551 ผลการศึกษพบว่า การใส่ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพไม่ทำให้ผลผลิตยอดชาอ่อนแตกต่างกันจากแปลงที่ไม่ใส่ปุ๋ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตามการใส่ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพมีแนวโน้มช่วงทำให้ผลผลิตยอดชาอ่อนเพิ่มขึ้นทั้งในแปลงในร่วมและแปลงกลางแจ้ง โดยการใส่ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพทำให้ชาที่ปลูกในแปลงในร่วมและแปลงกลางแจ้งให้ผลผลิตยอดชาอ่อนอยู่ในช่วง 80 – 87 กรัม/ต้น และ 193 - 197กรัม/ต้น ตามลำดับ ในขณะที่แปลงชาที่ไม่ใส่ปุ๋ยให้ผลผลิตยอดชาอ่อนเพียง 67 และ 180 กรัม/ต้น ในแปลงในร่วมและแปลงกลางแจ้งตามลำดับ (ตารางที่ 3.32) และเป็นข้อสังเกตว่าในฤดูการผลิต 2551 นี้ แปลงปลูกชากลางแจ้งมีแนวโน้มที่จะให้ผลผลิตสูงกว่าแปลงที่ปลูกชาได้ร่วมเงา โดยแปลงปลูกชากลางแจ้งจะให้ผลผลิตยอดชาอ่อนอยู่ในช่วง 180-197 กรัม/ต้น ในขณะที่แปลงปลูกชาในร่มให้ผลผลิตเพียง 67-87 กรัม/ต้น

ในฤดูการผลิต 2552 การเก็บผลผลิตยอดชาเริ่มเก็บในช่วงเดือนสิงหาคมถึงปลายเดือนตุลาคม ผลการศึกษพบว่าการใช้ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพทำให้ผลผลิตยอดชาอ่อนที่ปลูกอยู่ภายใต้ร่มเงาสูงกว่าการไม่ใส่ปุ๋ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยการใส่ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพ ได้ผลผลิตยอดชา 268 และ 258 กรัม/ต้น ตามลำดับ ในขณะที่แปลงชาที่ไม่ใส่ปุ๋ยได้ผลผลิต 228 กรัม/ต้น อย่างไรก็ตามสำหรับแปลงชาที่อยู่กลางแจ้งกลับไม่พบความแตกต่างระหว่างการใส่ปุ๋ยและไม่ใส่ปุ๋ย โดยมีผลผลิตเฉลี่ยของยอดชาอยู่ในช่วง 233 - 240 กรัม/ต้น

ตารางที่ 3.32 ผลผลิตยอดอ่อนใบชา

กรรมวิธีการทดลอง	ผลผลิตยอดชาอ่อน (กรัม/ต้น)			
	ปีการผลิต 2551		ปีการผลิต 2552	
	แปลงในร่ม	แปลงกลางแจ้ง	แปลงในร่ม	แปลงกลางแจ้ง
ไม่ใส่ปุ๋ย	67	180	228 b	238
ใส่ปุ๋ยอินทรีย์	87	197	268 a	240
ใส่ปุ๋ยชีวภาพ	80	193	258 a	233
LSD 0.05	ns	ns	*	ns
%CV	17.14	11.37	2.50	5.64

3.8 ผลการสำรวจการระบาดของโรคในแปลงผลิตสารระบบอินทรีย์

จากการสำรวจและประเมินโรคที่เกิดขึ้นจาก โดยสุ่มต้นชามาทั้งหมดแปลงละ 8 ต้น นับจำนวนใบชาที่แสดงอาการของโรค และประเมินความรุนแรงของโรค โดยคิดเป็น เปอร์เซ็นต์พื้นที่ถูกทำลายต่อใบชาที่แสดงอาการของโรค พบว่า จากการสำรวจต้นชาทั้งหมด 144 ต้น พบต้นชาที่แสดงอาการของโรค ดังนี้

- โรคแอนแทรคโนส (anthracnose) เกิดจากเชื้อสาเหตุ *Colletotrichum* sp. พบทั้งบริเวณใบแก่และใบอ่อนแต่พบว่าบริเวณใบอ่อนเกิดโรคมากและรุนแรง
- โรคใบจุดสีเทา (Gray leaf spot) เกิดจากเชื้อสาเหตุ *Pestalotiopsis* sp. พบมากบริเวณใบแก่
- โรคใบพอง (blister blight) เกิดจากเชื้อสาเหตุ *Exobasidium* พบทั้งบริเวณใบแก่และใบอ่อน

จากตารางที่ 3.33 พบว่าผลการสำรวจโรค ในแปลงที่ 1-9 พบต้นชาที่เกิดโรคจำนวน 61 ต้น มีการแสดงอาการประมาณ 1-5 ใบต่อต้น และมีความรุนแรงของโรคแตกต่างกันตามชนิดของรสน้อยประมาณ 5-15 % ของพื้นที่ใบ และโรคที่พบส่วนใหญ่คือ โรคแอนแทรคโนส ที่สามารถตรวจพบทั้งในส่วนใบแก่และใบอ่อน สำหรับโรคใบจุดสีเทาพบน้อยแต่จะมีความเสียหายของพื้นที่ใบสูงแต่มักเกิดกับใบแก่เท่านั้น ส่วนโรคใบพองมีเพียงเล็กน้อย

สำหรับแปลงที่ 11 - แปลงที่18 มีทั้งหมด 64 ต้น พบการเกิดโรคทั้ง 64 ต้น ซึ่งในบางต้นเกิดโรคกับใบเกือบทั้งต้น ความรุนแรงของโรคไม่รุนแรงแต่มีปริมาณการเกิดโรคต่อต้นมากกว่า แปลงที่ 1-9 โรคที่พบบมากที่สุด คือโรคใบพอง รองลงมาคือ โรคแอนแทรคโนส

จะสังเกตได้ว่า แปลงที่ 1-9 ที่ปลูกในบริเวณแหล่งชาที่สูงชัน และมีร่มไม้แน่น ไม่ค่อยพบอาการของโรค เมื่อเปรียบเทียบกับแปลงที่11-18 ที่ปลูกในบริเวณที่ต่ำกว่า และมีร่มไม้แน่น มีการเกิดโรคนอกกว่า นอกจากนั้นแล้ว ความอุดมสมบูรณ์ของดินและสภาพแวดล้อมในแต่ละพื้นที่นี้อาจส่งผลต่อการเจริญเติบโต และความสามารถในการทนทานต่อโรคของต้นชา อีกทั้งยังมีผลต่อการเจริญและความรุนแรงของเชื้อสาเหตุโรคอีกด้วย

ตารางที่ 3.33 ผลการสำรวจโรคในแปลงทดลองมูยอินทรีย์

แปลงร่วมนา Block I

เบอร์แปลง Block I แปลงร่วมนา	ต้นที่	จำนวนใบชาที่พบ โรค (ใบ)	ความรุนแรงของโรค (%) / พื้นที่ใบของแต่ละชำ	โรคที่พบ
1 (แปลงร่วมนา) Tr.2	1	2.5	7.5	โรคแอนแทรคโนส
	2	0	-	-
	3	1	5	โรคแอนแทรคโนส
	4	3.5	55	โรคใบจุดสีเทา
	5	0	-	-
	6	0	-	-
	7	0	2.5	-
	8	0.5	7.5	โรคแอนแทรคโนส
2 (แปลงร่วมนา) Tr.3	1	3	7.5	โรคใบจุดสีเทา
	2	2.5	35	โรคใบจุดสีเทา
	3	2	7.5	โรคแอนแทรคโนส
	4	0.5	2.5	"
	5	2	22.5	"
	6	0.5	15	"
	7	1	20	โรคใบพุพอง
	8	1.5	5	โรคแอนแทรคโนส

ตารางที่ 3.33 ผลการสำรวจโรคในแปลงทดลองไม้ยืนต้น (ต่อ)

แปลงร่วมเงา Block II

เบอร์แปลง Block II แปลงร่วมเงา	ต้นที่	จำนวนใบชาที่พบ โรค (ใบ)	ความรุนแรงของโรค (%) / พื้นที่ใบของแต่ละชำ	โรคที่พบ
4 (แปลงร่วมเงา) Tr.3	1	1.5	65	โรคใบจุดสีเทา
	2	2	12.5	โรคแอนแทรคโนส
	3	1.5	5	"
	4	0.5	5	"
	5	0	-	-
	6	3	5	"
	7	0	-	-
	8	0.5	5	"
5 Tr.2 (แปลงร่วมเงา)	1	1	15	โรคแอนแทรคโนส
	2	0	-	-
	3	1.5	7.5	"
	4	2	5	"
	5	1	25	"
	6	0.5	1	"
	7	3	10	"
	8	1	1	"
6 Tr. 1 (แปลงร่วมเงา)	1	0.5	0.5	โรคแอนแทรคโนส
	2	1.5	2.5	"
	3	1.5	2.5	โรคใบจุดสีเทา
	4	0.5	0.5	"
	5	1	3	"
	6	2.5	7.5	"
	7	1.5	0.5	โรคแอนแทรคโนส
	8	0.5	0.5	"

ตารางที่ 3.33 ผลการสำรวจโรคในแปลงทดลองไม้ยืนอินทรี (ต่อ)

แปลงร่วมเงา Block III

เบอร์แปลง Block I แปลงร่วมเงา	ต้นที่	จำนวนใบชาที่พบ โรค (ใบ)	ความรุนแรงของโรค (%) / พื้นที่ใบของแต่ละชำ	โรคที่พบ
7 Tr.2 (แปลงร่วมเงา)	1	0.5	5	โรคแอนแทรกคโนส
	2	1	1	"
	3	2.5	7.5	"
	4	0.5	0.5	โรคใบจุดสีเทา
	5	1.5	10.5	โรคแอนแทรกคโนส
	6	0.5	5	โรคใบจุดสีเทา
	7	2.5	20	ใบพุพอง, แอนแทรกคโนส
	8	2	10	โรคแอนแทรกคโนส
8 Tr.1 (แปลงร่วมเงา)	1	0.5	2.5	โรคแอนแทรกคโนส
	2	0.5	2.5	"
	3	0	-	"
	4	1.5	5.5	"
	5	0	-	"
	6	1.5	25	"
	7	2	37.5	"
	8	1	2.5	"
9 Tr.3 (แปลงร่วมเงา)	1	2	7.5	โรคใบจุดสีเทา
	2	1	2.5	โรคแอนแทรกคโนส
	3	1	2.5	"
	4	0.5	0.5	"
	5	1.5	3	"
	6	1	5	"
	7	1	2.5	"
	8	6.5	7.5	ใบพุพอง, แอนแทรกคโนส

ตารางที่ 3.33 ผลการสำรวจโรคในแปลงทดลองมูฮัยนทรี (ต่อ)

แปลงกลางแจ้ง Block I

เนื้อที่แปลง Block I แปลงกลางแจ้ง	ต้นที่	จำนวนใบชาที่พบ โรค (ใบ)	ความรุนแรงของโรค (%) / พื้นที่ใบของแต่ละชำ	โรคที่พบ
10 Tr.3 (แปลง กลางแจ้ง)	1	9	15	โรคใบพุพอง
	2	12.5	15	"
	3	14.5	20	ใบพุพอง, แอนแทรกโรซิส
	4	8	15	"
	5	15.5	15	"
	6	9	15	"
	7	12.5	25	"
	8	10	20	"
11 Tr.2 (แปลง กลางแจ้ง)	1	14.5	7.5	ใบพุพอง, แอนแทรกโรซิส
	2	11	15	"
	3	10.5	15	"
	4	7	25	"
	5	13	25	"
	6	11.5	7.5	"
	7	12.5	10	"
	8	11	20	"
12 Tr.1 (แปลง กลางแจ้ง)	1	8	7.5	ใบพุพอง, แอนแทรกโรซิส
	2	13.5	7.5	"
	3	10.5	10	"
	4	15	10	"
	5	8.5	15	"
	6	7	5	"
	7	9	7.5	"
	8	11	12.5	"

ตารางที่ 3.33 ผลการสำรวจโรคในแปลงทดลองไม้ยืนต้น (ต่อ)

แปลงกลางแจ้ง Block II

เนื้อไม้แปลง Block II แปลงกลางแจ้ง	ต้นที่	จำนวนใบชาที่พบ โรค (ใบ)	ความรุนแรงของโรค (%) / พื้นที่ใบของแต่ละชำ	โรคที่พบ
13 Tr.3 (แปลง กลางแจ้ง)	1	4	7.5	ใบพุพอง, แอนแทรคโนส
	2	8.5	17.5	"
	3	9	12.5	"
	4	4.5	5	"
	5	7	15	"
	6	4	5.5	"
	7	7.5	10	"
	8	9.5	15	"
14 Tr.1 (แปลง กลางแจ้ง)	1	6	5	ใบพุพอง, แอนแทรคโนส
	2	3.5	5	"
	3	2.5	2.5	"
	4	7.5	15	"
	5	11.5	15	"
	6	2.5	5	"
	7	0	-	"
	8	1.5	7.5	"
15 Tr.2 (แปลง กลางแจ้ง)	1	5	5	ใบพุพอง, แอนแทรคโนส
	2	1.5	2.5	"
	3	12	15	"
	4	10	7.5	"
	5	3	5	"
	6	0.5	2.5	"
	7	4.5	5	"
	8	7.5	10	"

ตารางที่ 3.33 ผลการสำรวจโรคในแปลงทดลองไม้ยืนต้น (ต่อ)

แปลงกลางแจ้ง Block III

เนื้อไม้แปลง Block III แปลงกลางแจ้ง	ต้นที่	จำนวนใบชาที่พบ โรค (ใบ)	ความรุนแรงของโรค (%) / พื้นที่ใบของแต่ละชำ	โรคที่พบ
16 Tr.3 (แปลง กลางแจ้ง)	1	5	7.5	ใบพุพอง, แอนแทรคโนส
	2	8.5	15	"
	3	20	27.5	"
	4	7.5	25	"
	5	12.5	27.5	"
	6	6.5	7.5	"
	7	2.5	5	โรคแอนแทรคโนส
	8	2	5	"
17 Tr.2 (แปลง กลางแจ้ง)	1	14.5	10	โรคใบพุพอง
	2	19.5	12.5	"
	3	29	35	"
	4	19	25	"
	5	13.5	15	"
	6	9.5	10	"
	7	20.5	25	"
	8	22.5	25	"
18 Tr.1 (แปลง กลางแจ้ง)	1	25	15	โรคใบพุพอง
	2	22	20	"
	3	21.5	15	"
	4	34	25	"
	5	5	7.5	"
	6	4.5	7.5	"
	7	0.5	2.5	ใบพุพอง, แอนแทรคโนส
	8	2	2.5	"

3.8 การจำแนกชนิดเชื้อสาเหตุและการทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรค

3.8.1 การสำรวจการแยกเชื้อ และการพิสูจน์สาเหตุโรค

การสำรวจโรคของชาในแปลงปลูกของปราชญ์ชาวม้ง อ. แม่แตง จ. เชียงใหม่ ซึ่งแบ่งกลุ่มพื้นที่อย่างกว้าง ๆ ได้ 2 บริเวณ คือ บริเวณพื้นที่ผลิตชาที่เมื่อก่อนการต้นใหม่หรือยืนต้นตายระยะยาว และบริเวณพื้นที่มีปัญหาพืชยืนต้นตายระยะยาว สามารถตรวจสอบสาเหตุของโรคจากชิ้นส่วนของพืช ใบ ลำต้นรากและดินรอบรากพืช ในห้องปฏิบัติการ ให้ผลดังนี้

1. กลุ่มเชื้อรา

1.1 โรคแอนแทรคโนส (anthracnose) อาการใบจุด พบในส่วนของใบแก่และใบอ่อน ในพื้นที่ทั้ง 2 บริเวณ ลักษณะของแผลลักษณะกลมสีน้ำตาลแดงมุมเล็กลงไปในเนื้อเยื่อรอบแผล และยังคงพบว่าการรุนแรงของการระบาดของขนาดของแผลเปลี่ยนแปลงไปตามสภาพอากาศ เช่น การสำรวจในระยะหว่างเดือน มิถุนายน – กรกฎาคม 2551 ซึ่งเป็นช่วงฤดูร้อน พบแผลโรคขนาดเล็ก (แบบที่ 1) เส้นผ่าศูนย์กลาง ประมาณ 0.1-0.3 เซนติเมตร ขณะที่การสำรวจระหว่างเดือน กันยายน – ตุลาคม 2551 พบแผลโรคขนาดใหญ่ (แบบที่ 2) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางมีขนาดมากขึ้นประมาณ 0.3-0.8 เซนติเมตร และลุกลามติดต่อกันจนมีลักษณะคล้ายใบไหม้ (ภาพที่ 3.8) หากเกิดกับใบที่ยังอ่อนอยู่ทำให้ใบมีวงจวงร่วงหลุดไปเนื่องจากนั้นยังสังเกตเห็น *acervuli* ซึ่งเป็น fruiting bodies ของ *Colletotrichum* sp. ซึ่งเป็นสาเหตุของโรค anthracnose จากนั้นเพิ่มปริมาณเชื้อบริสุทธิ์ โดยวิธี hyphal tip isolation ได้เชื้อบริสุทธิ์ 2 ไอโซเลต



ภาพที่ 3.8 ลักษณะแผลโรคแอนแทรคโนส (anthracnose) บนใบชา มีลักษณะกลม สีน้ำตาลเป็นวง

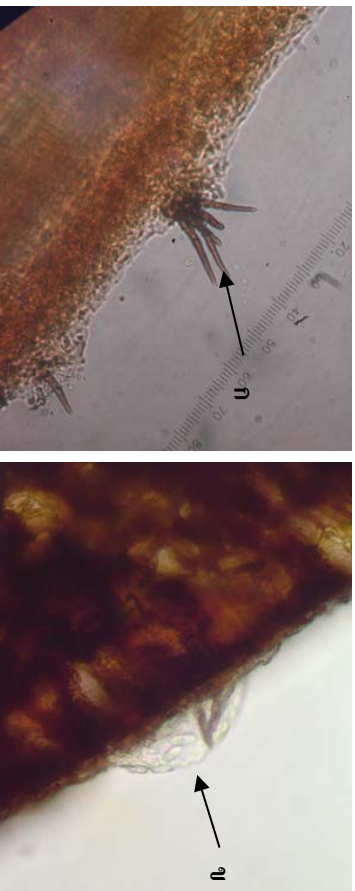
ซ้อนกัน พบจุดสีดำเล็กๆ กระจายบนแผล

ก แบบที่ 1 แผลเป็นจุดขนาดเล็กมีสีม่วงปนน้ำตาล ขอบแผลมุมขึ้นเล็กน้อยมีสีม่วงปนน้ำตาล

ข แบบที่ 2 แผลมีลักษณะเป็นสีน้ำตาลเข้ม เป็นวงสีดำซ้อนกันเป็นชั้นๆ ขอบแผลมีสีเหลือง

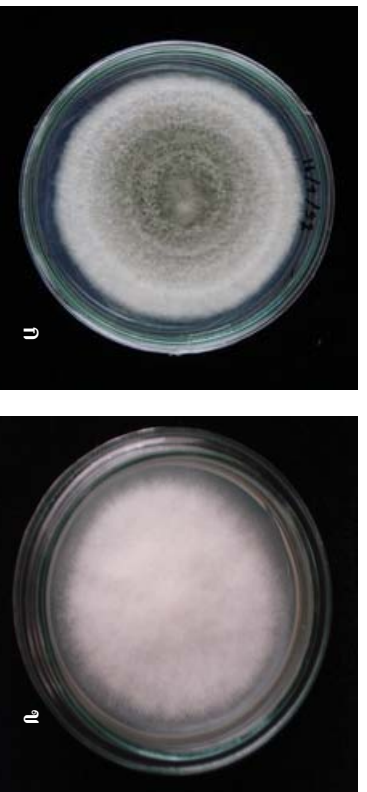
เมื่อตรวจดูเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 400 เท่า จะพบส่วนของเชื้อที่ปรากฏบนเนื้อเยื่อพืช ได้แก่ setae, fruiting body (acervulus), conidia จากแผ่นแบบที่ 2 สำหรับแผ่นแบบที่ 1 นั้นตรวจไม่พบส่วนของเชื้อ เนื่องจากแผ่นมีขนาดเล็กและยังเป็นแมลงที่ค่อนข้างใหม่ (ภาพที่ 3.9)

แบบที่ 1



ภาพที่ 3.9 ลักษณะของเชื้อ *Colletotrichum* sp. ที่พบบนอาการโรค แบบที่ 1 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 400 เท่า ก: setae ข: acervulus (conidia ภายใน fruiting body)

จากการเลี้ยงเชื้อ *Colletotrichum* sp. บนวัสดุที่ทั้ง 2 ไอโซเลท พบเชื้อเจริญแตกต่างกัน คือ ไอโซเลท 1 เติบโตมีสีขาวเทา ฟูลตรงกลางของโคไลเนมีสีเทาเข้ม มีการสร้าง spore mass ที่มีสีส้ม เมื่อเชื้อมีอายุมาก เมื่อพลิกดูข้างหลังจานเลี้ยงเชื้อจะเห็นเป็นวงสีดำซ้อนกันเป็นชั้น ๆ ขณะที่ ไอโซเลท 2 เติบโตมีสีขาว ฟูลละเอียด เมื่ออายุมากจะกลายเป็นสีเทาอ่อนพลิกดูข้างหลังจานเลี้ยงเชื้อ จะเห็นเป็นวงสีดำซ้อนกันเป็นชั้น ๆ (ภาพที่ 3.10)



ภาพที่ 3.10 ลักษณะการเจริญของเชื้อ *Colletotrichum* sp. ไอโซเลท 1 (ก) และ ไอโซเลท 2 (ข) บนอาหาร PDA อายุ 7 วัน

การทดสอบความสามารถในการก่อให้เกิดโรค (Pathogenicity test)

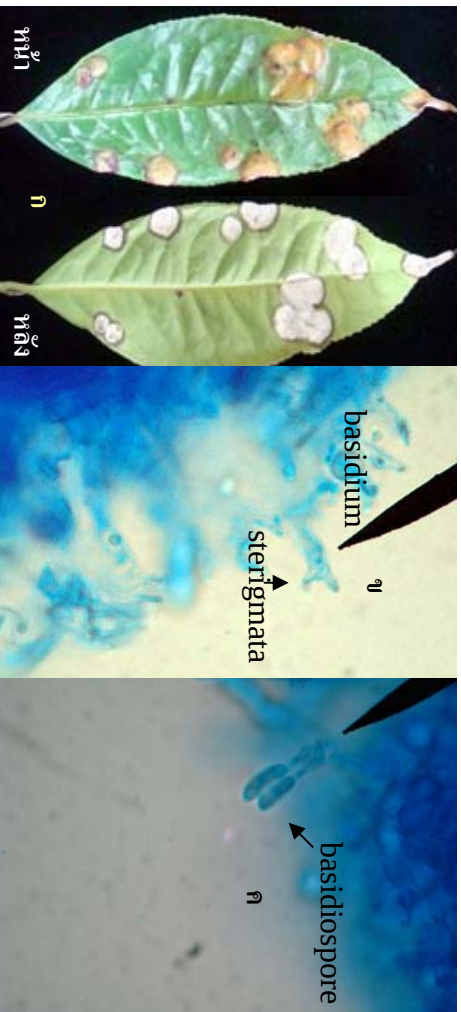
จากการตรวจวินิจฉัยด้วยพืชผู้รับเชื้อสาเหตุของโรคใบจุดแอนแทรคโนส โดยการปลูกเชื้อลงบนใบของกล้วยา โดยวิธี detached leaves ร่วมกับกรทำแผล บ่มเชื้อไว้ในกล่องให้มีความชื้นประมาณ 7 วัน พบว่าเชื้อ *Colletotrichum* sp. ปริสุทธิที่แยกได้ทั้ง 2 ไอโซเลท สามารถทำให้เกิดโรคใบจุดบนใบชาที่ปลูกเชื้อโดยทำให้เกิดอาการแผลจุดสีน้ำตาลเข้มลักษณะเดียวกันกับแผลที่พบในใบชาในสภาพธรรมชาติ นอกจากนั้นยังพบว่า เชื้อราไอโซเลท 2 ทำให้อาการแผลโรครุนแรงกว่าไอโซเลท 1 โดย เริ่มเป็นสีน้ำตาลจากนั้นแผลที่เกิดขึ้นจะขยายเป็นวงกว้างขึ้นเรื่อย ๆ เมื่อทิ้งไว้เป็นระยะเวลาที่นานขึ้นแผลจะมีสีน้ำตาลเทาและขอบแผลมีสีเหลือง (ภาพที่ 3.11)



ภาพที่ 3.11 อาการใบจุดของใบชาหลังการปลูกเชื้อ *Colletotrichum* sp. ไอโซเลท 1 (ก)

และ ไอโซเลท 2 (ข) โดยวิธี Detach leave นาน 7 วันโดย

1.2 โรคใบพุ่มพอง (blister blight) พบอาการบริเวณหน้าใบเป็นตุ่มพองสีเหลืองบนน้ำตาลยุบ บวมลงไปเล็กน้อย อาการด้านหลังใบพบกลุ่มเชื้อราสีขาวฟูนูนขึ้นมา เมื่อนำไปตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบเชื้อสาเหตุ *Exobasidium* sp. ซึ่งเป็นเชื้อราในกลุ่ม Basidiomycete (ภาพที่ 3.12) จัดเป็นเชื้อราที่เป็นปรสิตแบบถาวร (obligate parasite) ไม่สามารถเพิ่มปริมาณเชื้อโดยการเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ได้



ภาพที่ 3.12 ลักษณะอาการโรคใบพุ่มอง บริเวณหน้าใบเป็นตุ่มพองสีเหลืองปนน้ำตาลและยุบตัวลงเล็กน้อย และพบกลุ่มเชื้อราสีขาวฟูบนด้านหลังใบ (ก) เมื่อตรวจสอบลักษณะเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 400 เท่า พบ Basidium ที่มี Sterigmata (ข) ชู Basidiospores ซึ่งมีลักษณะยาวรี (ค) ขอบเชื้อจำนวนมากเจริญบนเนื้อเยื่อแผ่นโรค

(1.3) โรคต้นไหมที่เกิดจากโรครากโคนเน่า (Brown root rot)

จากการสำรวจต้นชาในบริเวณพื้นที่มีการระบาดของตของอาการต้นไหมรมและเน้่งตาย พบว่าการพัฒนาของอาการเป็นไปอย่างช้า ๆ ลักษณะคล้ายกับการลุกลามจากต้นที่แสดงอาการไปยังต้นปกติ โดยจะพบอาการเริ่มแรกที่เป็นของทรงพุ่มโดยรวมจะมีลักษณะเหี่ยวหรือลดลง สีใบลำต้น (ภาพที่ 3.13) เมื่อประเมินระยะเวลาของการลุกลามพบว่าในระยะเวลา 6-12 เดือนของการสำรวจมีต้นชาแสดงอาการต้นตายเพิ่มขึ้นในอัตราประมาณ 1-2 ต้น ภายในระยะเวลา 3-4 เดือนโดยเฉพาะในบริเวณที่มีต้นเป็นโรคต้นไหมรมยืนต้นตายอยู่



ภาพที่ 3.13 ลักษณะต้นชาที่แสดงอาการต้นไหมรมใบสลดทั้งทรงพุ่ม (ก) และต่อมาประมาณ 1-3 เดือนจึงยืนต้นแห้งตาย (ข)

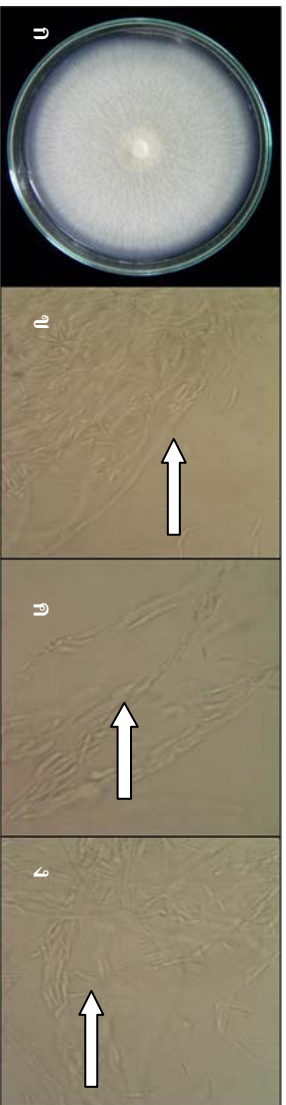
เมื่อนำตัวอย่างต้นพืชที่แสดงอาการต้นไหมรมและยืนต้นตายมาตรวจสอบโดย ตรวจตอบ ภายในเนื้อเยื่อของพืช ปริณิณโคณต้น ราก รากฝอย สามารถตรวจพบเชื้อตามลำดับ ดังนี้

การสำรวจโรคต้นไหมรมในสวนเดือนมีนาคม อุณหภูมิค่อนข้างสูงและชื้นต่ำ ไม่สามารถ ตรวจพบอาการหรือผลจากการเข้าทำลายของเชื้อรา (ภาพที่ 3.14) แต่เมื่อนำชิ้นส่วนของรากฝอย ของพืชที่แสดงอาการต้นไหมรมสามารถแยกเชื้อรา *Fusarium* sp. ซึ่งเป็นเชื้อราที่พบได้ทั่วไปในดิน เมื่อนำมาเลี้ยงเชื้อบนอาหาร PDA พบโคโคโคนิดเป็นสีขาว เส้นใยละเอียดไม่ฟู เมื่อตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์พบเส้นใยเชื้อราเป็นแบบมีมันกัน สามารถสร้างสปอร์บนอาหารสังเคราะห์ได้ภายในระยะเวลา 10 วัน ลักษณะของสปอร์มีทั้งแบบสปอร์ขนาดใหญ่คล้าย **พระจันทร์เสี้ยว** (macro conidia) และสปอร์ขนาดเล็กเป็น **แท่งหัวท้ายมน** (micro conidia) (ภาพที่ 3.15)



ภาพที่ 3.14 ลักษณะของต้นพืชที่มีอาการต้นไหมรม อาการเริ่มแรกของทรงพุ่มและลำต้น (ก, ข) เมื่อนำ รากฝอย (ค) และลำต้นติดกับผิวดิน (ง) มาตรวจดูลักษณะเนื้อเยื่อ ไม่พบ

แผลหรือร่องรอยของการทำลายจากเชื้อรา



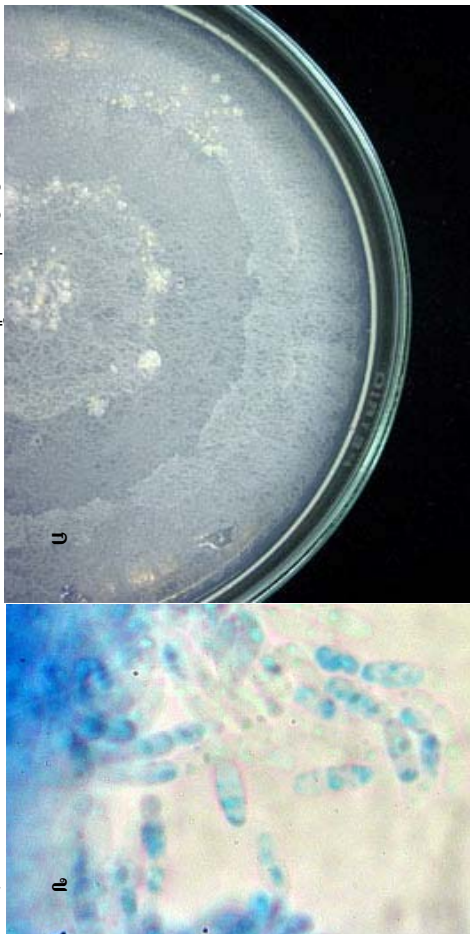
ภาพที่ 3.15 ลักษณะโคโคโคนิด (ก) เส้นใย (ข) และสปอร์ของเชื้อรา *Fusarium* sp. (ค, ง) ที่แยกได้จากรากฝอย ภาพหลังการเจริญบนอาหาร PDA นาน 12 วัน

การสำรวจโรคต้นโพธิ์ในช่วงเดือนตุลาคมถึงเดือนธันวาคม ซึ่งอุณหภูมิต่ำลงและมี ความชื้นสูง สามารถตรวจพบกลุ่มของเชื้อราสีขาวเส้นใยค่อนข้างหนาจำนวนมากเจริญปกคลุมบริเวณโคนต้น โดยเฉพาะโคนต้นที่ฝังลึกลงไปใต้ดินและรากที่มีขนาดใหญ่มากที่แสดง อาการโรคต้นโพธิ์ กลุ่มเชื้อราดังกล่าวเจริญติดกันค่อนข้างแน่นสามารถลอกออกมาได้ในลักษณะ เป็นแผ่นๆ และพบว่าเปลือกไม้และเนื้อไม้มีลักษณะเปื่อยยุ่ย มีกลิ่นของเห็ดรา บางส่วนของเนื้อไม้มี แผลสีดำคล้าย (ภาพที่ 3.16)



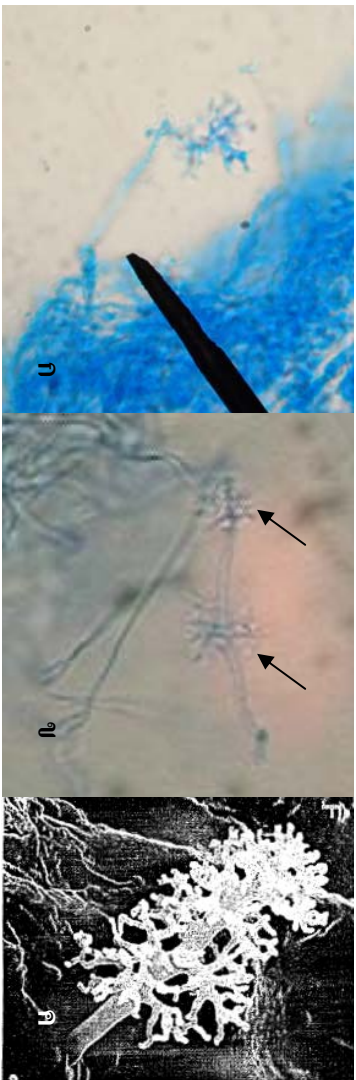
ภาพที่ 3.16 ลักษณะ โคนต้น (ก) และราก (ข) ของต้นชาที่เป็นโรคต้นโพธิ์ เปลือกมีลักษณะเปื่อย ยุ่ย (ค) และและเนื้อไม้มีแผลสีดำ (ง)

เมื่อนำเนื้อไม้ด้านในของต้นชาที่แสดงอาการต้นโพธิ์มาเลี้ยงเชื้อและแยกเชื้อบริสุทธิ์ พบ เชื้อรา 2 ชนิด ได้แก่ (1) เชื้อราที่มีการเจริญได้ค่อนข้างดีบนอาหาร PDA (Unknown) เส้นใยของเชื้อ รามีสีขาวค่อนข้างหนาเจริญติดแน่นบนผิวอาหารและพบกลุ่มเส้นใยบางส่วนเจริญรวมกลุ่ม กันเหนือผิวอาหารเลี้ยงเชื้อ โดย กระจายเป็นจุด ๆ อย่างไม่มีทิศทาง เมื่อนำมาตรวจสอบภายใต้ กล้องจุลทรรศน์พบลักษณะเส้นใยเป็นแบบมีผนังกัน และพบสปอร์มีลักษณะกลมรีใสสีเหลืองอ่อน จำนวนมาก (**ภาพที่ 3.17**) เมื่อนำมาศึกษาเปรียบเทียบกับลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อภายใต้ กล้องจุลทรรศน์ ลักษณะการเจริญของเชื้อเมื่อเลี้ยงบนอาหาร และการค้นคว้าจากงานในการ เป็นเชื้อสาเหตุของการต้นโพธิ์ พบว่ายังมีข้อมูลไม่เพียงพอที่จะสามารถจำแนกชนิด และระบุการ เป็นเชื้อราสาเหตุของการต้นโพธิ์ของต้นชาได้



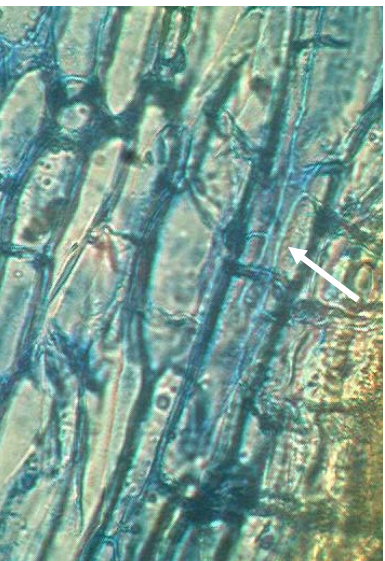
ภาพที่ 3.17 ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา (unknown) บนอาหาร PDA อายุ 1 สัปดาห์ หลังจากแยกจากเนื้อไม้ของซาที่ แสดง อากาศต้นโพธิ์ (ก) และลักษณะของเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 400 เท่า (ข)

(2) เชื้อราที่เจริญได้ดีบนอาหาร MEA (Malt Extract Agar) และจากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราที่เลี้ยงได้ โดยการตัดส่วนของเชื้อด้วย Freezing Microtome เพื่อเตรียมตัวอย่างเพื่อตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบลักษณะเส้นใยของเชื้อแบบ Dendritic Hypha ซึ่งเป็นเส้นใยมีการแตกแขนงเป็นข้อ ซึ่งจากการเปรียบเทียบเชื้อบริสุทธิ์อายุ 7 สัปดาห์ที่เลี้ยงไว้กับงานวิจัยของ Nicole *et al.* (1995) (ภาพที่ 3.18) พบว่าเป็นลักษณะของเชื้อ *Phellinus noxius* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรครากเน่าโคนเน่าสีน้ำตาล (brown root rot) ที่เกิดกับรากและโคนต้น ทำให้เกิดอาการยืนต้นตายของไม้ยืนต้น หลายชนิด



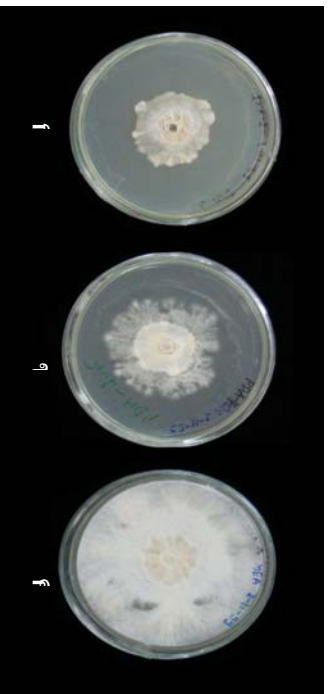
ภาพที่ 3.18 ลักษณะ Dendritic Hypha ของเชื้อ *Phellinus noxius* (ก และ ข) ภาพภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า ของเชื้ออายุ 7 สัปดาห์ ที่แยกได้จากเมล็ดบริเวณเนื้อไม้เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้ม เปรียบเทียบกับ ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (ค) จากงานทดลองของ Nicole *et al.* ในปี 1995

นอกจากนั้น เมื่อศึกษารายละเอียดของเชื้อในการทำลายเนื้อไม้ โดยการตรวจลักษณะของเชื้อในรากพืชโดยการ Section ด้วยเครื่อง Freezing Microtome พบว่ามีเส้นใยของเชื้อราที่แทรกอยู่ระหว่างเซลล์ของพืช (ภาพที่ 3.19)



ภาพที่ 3.19 ลักษณะเส้นใยของเชื้อรา *Phellinus noxius* (ศรีษี) ที่เจริญเข้าทำลายเซลล์ภายในเนื้อเยื่อของรากชา

จากการทดสอบอาหารสังเคราะห์ที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อราชนิดนี้ พบว่าอาหารสังเคราะห์ MEA ทำให้เชื้อเจริญเติบโตได้ดีที่สุด รองลงมาได้แก่อาหาร PDA และอาหาร IMA-2 (ภาพที่ 3.20)



ภาพที่ 3.20 ลักษณะการเจริญของเชื้อ *Phellinus noxius* อายุ 5 สัปดาห์ ในอาหาร IMA-2 (ก) มีลักษณะเป็นเส้นใยสีขาว บาง เติบโตอาหาร กลางโคโคนีเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลอ่อน ในอาหาร PDA (ข) เส้นใยบาง เติบโตไปกับอาหารและไม่มีการอัดตัวกันของเส้นใย ในอาหาร MEA (ค) เส้นใยละเอียด เติบโตกับอาหารเริ่มมีความเหนียวและเปลี่ยนสีเป็นสีขาวขุ่น-สีครีม เส้นใยอัดตัวกันจนขึ้นทาบกัน

เนื่องจากการพิสูจน์สาเหตุของโรคชาที่แสดงอาการต้นโทรม โดยวิธีการปลูกเชื้อตามวิธีของ Koch (Koch's postulates) (Koch, 1890) ของเชื้อราที่แยกได้เชื้อ (1) และ (2) นั้น ไม่สามารถปลูกเชื้อลงบนกล้าชาอายุ 3-6 เดือนได้สำเร็จ แต่จากการเปรียบเทียบรายงานผลการทดลองเชื้อสาเหตุโรคของไม้ยืนต้นหลายชนิดรวมทั้งชา พบว่าเชื้อราที่แยกได้ในข้อที่ 1.3.2 นั้นมีรายงานการทดลอง ที่สนับสนุนการเชื้อสาเหตุของโรคค่อนข้างชัดเจน (Mohd Farid et al, 2005; Pao-Jen Ann et al, 2002; Hodges, 1984) ว่าควรจะเป็นเชื้อสาเหตุของอาการต้นโทรมของชา ซึ่งในรายงานกล่าวว่าเป็นสาเหตุของโรครากเน่าโคนเน่า หรือ โรครากสีน้ำตาล (basal root rot, brown root rot) ของไม้ยืนต้น หลายชนิด

(4) โรคราดำ (sooty mold) เริ่มตรวจพบราดำในช่วงเดือน กันยายน 2551 พบมากเฉพาะบนใบชาที่เจริญในบริเวณที่มีร่มเงาโดยเฉพาะพื้นที่ที่ผลิตชาได้ต้นไม่ใหญ่และมีความชื้นค่อนข้างสูงกว่าบริเวณอื่น อาการของโรคนี้มีลักษณะเป็นผงสีดำขึ้นปกคลุมกระจายเป็นแผ่นทั่วผิวใบ กิ่งก้าน (ภาพที่ 3.21) โดยทั่วไปจะระบาดพร้อมกับการระบาดของเพลี้ยอ่อน เพราะจะอาศัยอาหารจากน้ำหวานซึ่งเป็นของเสียที่เพลี้ยอ่อนขับถ่ายออกมา เชื้อราตัวนี้ไม่ได้ก่อให้เกิดอาการของพืชแต่จะปกคลุมพืชทำให้ไม่สามารถสังเคราะห์แสงได้



ภาพที่ 3.21 ลักษณะโรคราดำที่เจริญปกคลุมผิวใบชา พบกลุ่มผงสีดำเป็นแผ่นขึ้นปกคลุมผิวใบจำนวนมาก

2. กลุ่มไม้เตี้ยน้อย

จากการเก็บตัวอย่างดินบริเวณรอบรากพืช จากพื้นที่ปลูกชาจำนวน 3 ตัวอย่าง สามารถตรวจพบไม้เตี้ยน้อยสาเหตุโรคพืช โดยวิธีใช้กล้องจุลทรรศน์ (Bermann funnel) ดังต่อไปนี้

ตัวอย่างดินที่ 1 บริเวณพื้นที่ผลิตชาที่มีปัญหาต้นโทรม เล็กเกินไปจากต้นที่ไม่แสดงอาการ สามารถตรวจพบ ไม้เลื้อยฝอยสาเหตุโรคพืช *Rotylenchulus* sp. จำนวน 5 ตัวต่อดิน 500 กรัม

ตัวอย่างดินที่ 2 บริเวณพื้นที่ผลิตชาที่มีปัญหาต้นโทรม เล็กเกินไปจากต้นที่แสดงอาการรุนแรง สามารถตรวจพบ ไม้เลื้อยฝอยสาเหตุโรคพืช *Helicotylenchus* sp. จำนวน 300 ตัวต่อดิน 500 กรัม ซึ่งนับว่าเป็นจำนวนของไม้เลื้อยฝอยชั้นต่ำที่สามารถก่อให้เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจ (300 ตัว/ดิน 500 กรัม) และ *Tylenchothynechus* sp. 25 ตัวต่อดิน 500 กรัม

ตัวอย่างดินที่ 3 บริเวณพื้นที่ผลิตชาที่ไม่มีปัญหาต้นโทรม ไม่สามารถตรวจพบไม้เลื้อยฝอยสาเหตุโรคพืช

ขั้นนี้ได้ทำการตรวจสอบซ้ำ เป็นครั้งที่ 2 โดยเก็บตัวอย่างจากบริเวณเดิมเช่นเดียวกับครั้งแรก ในระยะเวลาห่างกันประมาณ 3 สัปดาห์ พบว่าให้ผลการตรวจสอบชนิดและจำนวนของไม้เลื้อยฝอยสาเหตุโรคพืชในทำนองเดียวกัน คือไม่สามารถตรวจพบไม้เลื้อยฝอยในตัวอย่างที่ 3 เช่นเดิม และไม่สามารถตรวจพบไม้เลื้อยฝอยในตัวอย่างที่ 1 แต่สามารถตรวจพบไม้เลื้อยฝอย *Helicotylenchus* sp. จำนวนที่ลดลงและพบไม้เลื้อยฝอย *Tylencholynchus* sp. จำนวน 105 และ 34 ตัวต่อดิน 500 กรัม ตามลำดับ

ไม้เลื้อยฝอยที่ตรวจพบในตัวอย่างดินบริเวณต้นชาที่แสดงอาการต้นโทรม เป็นไม้เลื้อยฝอยในกลุ่ม ที่มีลักษณะการทำลายดูตื้นเขิน ไม้เลื้อยจากการากของพืชโดยไม่หยุดอยู่กับที่ จะใช้ stylet แทงเข้าไปในส่วนของ root cortex โดยอาจมีส่วนหัวหรือลำตัวบางส่วนของไม้เลื้อยฝอยอยู่ภายในเซลล์พืช (migratory semiparasite) สามารถมีชีวิตอยู่ได้แม้ไม่มีพืชอาศัยภายในดินที่มีความชื้นต่ำมากได้นานถึง 2 ปี (anhydrobiosis)

3.8.2 การแยกและการเลี้ยงเชื้อ แอคติโนมัยซิสและแอคติโนมัยซิสเอนโดไฟท์

ก. เชื้อแอคติโนมัยซิส ได้รับวัฒนธรรมจาก ดร. อรรถธรณ ฉัตรสิริรุ่ง ภาควิชาพืชศาสตร์ และทรัพยากรธรรมชาติ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เมื่อนำมาเพิ่มปริมาณในอาหารสูตร IMA2 พบว่าสามารถเพิ่มปริมาณเชื้อได้ดีทั้งจำนวน 16 ไอโซเลท (CSAL 01-016) ข. เชื้อแอคติโนมัยซิสเอนโดไฟท์ ที่ได้รับความอนุเคราะห์จากสาขาวิชาโรคพืช ภาควิชาภูมิวิทยาและโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (ปิยะธิดา, 2549) จำนวน 5 ไอโซเลทได้แก่

- | | |
|--|------------------|
| 1. เปราะหอม (<i>Kaempferia galanga</i>) | 1 ไอโซเลท (KAE1) |
| 2. สะระแหน่ (<i>Mentha cordifolia</i>) | 1 ไอโซเลท (MIN1) |
| 3. ผักชีฝรั่ง (<i>Eryngium foetidum</i>) | 1 ไอโซเลท (FIT1) |

- | | |
|---|------------------|
| 4. กระเทียม (<i>Allium sativum</i>) | 1 ไอลีเลท (GAR1) |
| 5. บอระเพ็ด (<i>Tinospora crispa</i>) | 1 ไอลีเลท (TIN1) |

ค. เชื้อแอคติโนมัยซีต์ไคฟท์ 36 ไอลีเลท ที่แยกจากลำต้นและใบของพืช 6 ชนิด ใช้เฉพาะ

การทดสอบควบคุมเชื้อ *Colletotrichum* sp. ดังนี้

- | | |
|--|----------------------|
| 1. ชา (<i>Camellia sinensis</i>) | 13 ไอลีเลท (TEA1-13) |
| 2. กาแฟ (<i>Coffea arabica</i>) | 2 ไอลีเลท (COF1-2) |
| 3. อังกาบ (<i>Barleria cristata</i>) | 3 ไอลีเลท (BAR1-3) |
| 4. จั๊กค่าน (<i>Piper ribesoides</i>) | 4 ไอลีเลท (PRI1-4) |
| 5. ขมิ้น (<i>Curcuma longa</i>) | 6 ไอลีเลท (TUR1-6) |
| 6. ตะไคร้ (<i>Cymbopogon citrates</i>) | 3 ไอลีเลท (LEM2-4) |

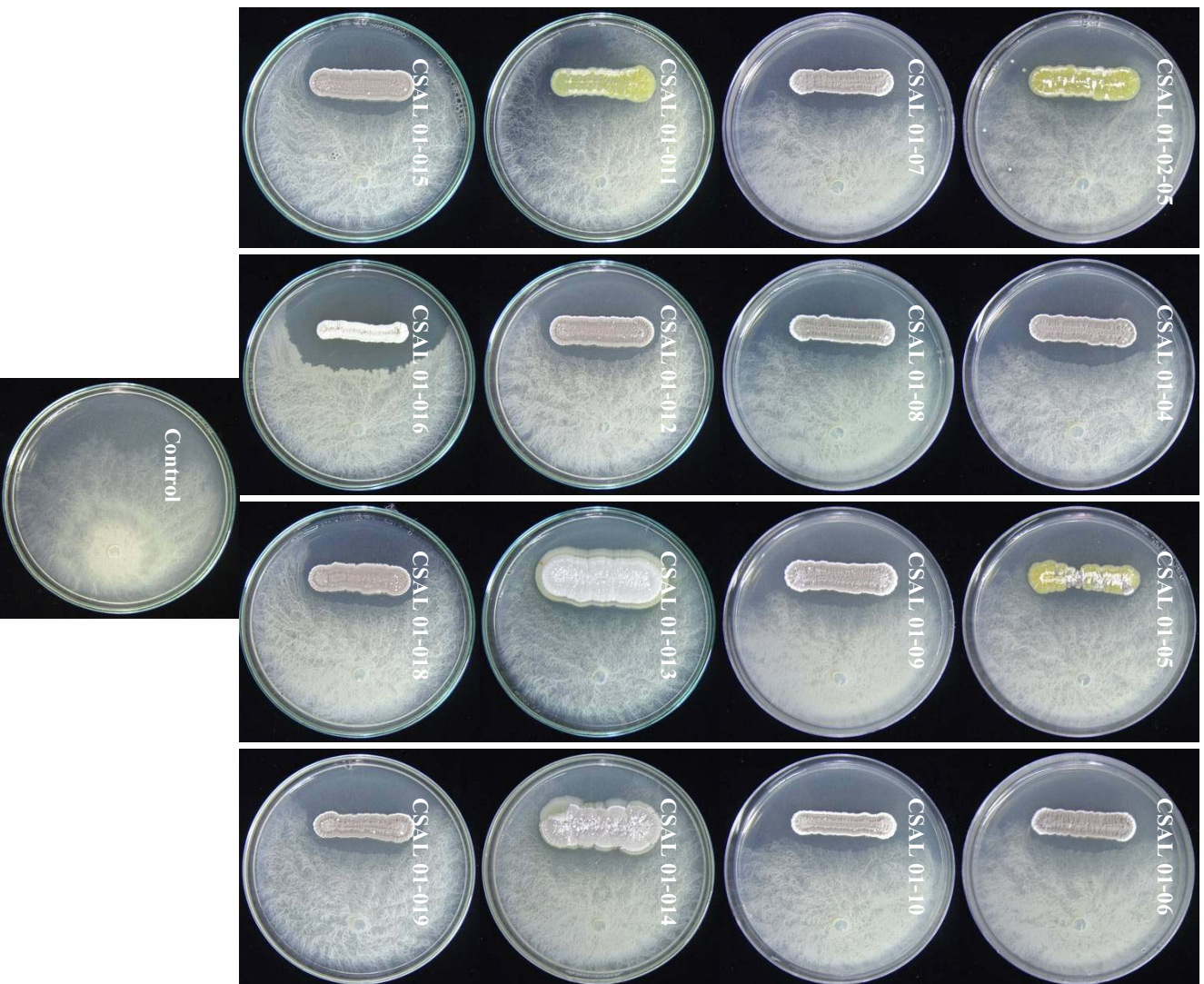
ง. เชื้อแอคติโนมัยซีต์ไคฟท์ 35 ไอลีเลท ที่แยกจากลำต้นและใบของพืช 12 ชนิด ใช้เฉพาะ

การทดสอบควบคุมเชื้อ *Phellinus noxius* ดังนี้

- | | |
|---|-----------------------|
| 1. ชา (<i>Camellia sinensis</i> var. <i>assamica</i>) | 12 ไอลีเลท (TEA14-26) |
| 2. อังกาบ (<i>Barleria cristata</i> L.) | 7 ไอลีเลท (BAR1-7) |
| 3. ขมิ้น (<i>Curcuma longa</i> L.) | 4 ไอลีเลท (CUR1-4) |
| 4. สะเดา (<i>Azadirachta indica</i>) | 2 ไอลีเลท (NEE2-3) |
| 5. กระเทียม (<i>Allium sativum</i> L.) | 2 ไอลีเลท (GAR2-3) |
| 6. ตะไคร้ (<i>Cymbopogon citrates</i> Stapf) | 2 ไอลีเลท (LEM2-3) |
| 7. บอระเพ็ด (<i>Tinospora crispa</i> L.) | 1 ไอลีเลท (TIN1) |
| 8. กาแฟ (<i>Coffea arabica</i> L.) | 1 ไอลีเลท (COF1) |
| 9. เปราะหอม (<i>Kaempferia galanga</i> L.) | 1 ไอลีเลท (KAE2) |
| 10. สะระแหน่ (<i>Metha cordifolia</i> Opiz.) | 1 ไอลีเลท (MIN1) |
| 11. ผักชีฝรั่ง (<i>Petroselinum crispum</i>) | 1 ไอลีเลท (FIT2) |
| 12. จั๊กค่าน (<i>Piper ribesoides</i> Wall.) | 1 ไอลีเลท (PRI1) |

3.8.3 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแอคติโนมัยซีสในการเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อสาเหตุโรคของชา

ก. จากทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแอคติโนมัยซีสที่ได้รับจาก ดร. อรรถรณ นัตรสิริรุ่ง ในการควบคุมการเจริญของเชื้อรา (unknown) ที่แยกได้ในข้อ 1.3.1 โดยการตรวจวัดอัตราการเจริญของโคโลนีของเชื้อราสาเหตุโรคต้นโพธิ์ร่วมกับเชื้อแอคติโนมัยซีสแต่ละไอโซเลท (ภาพที่ 3.22) คำนวณหาเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญหลังจากวางชิ้นเชื้อเป็นเวลา 3 วัน พบว่าเชื้อแอคติโนมัยซีสไอโซเลท CSAL 01-016 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อดังกล่าวได้ดีที่สุด มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญ 48.33% รองลงมาได้แก่ไอโซเลท CSAL 01-012 และ CSAL 01-013 มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเท่ากับคือ 42.78% (ตารางที่ 3.34)



ภาพที่ 3.22 ลักษณะการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา (unknown) ที่แยกได้จากชาที่แสดงอาการต้นเหี่ยว อายุ 3 วัน เมื่อเลี้ยงร่วมกับเชื้อ แอคติโนมัยซีต์ไฮเลทต่างๆ บนอาหาร IMA-2 เปรียบเทียบกับการเจริญของเชื้อราในชุดควบคุม (control)

ตารางที่ 3.34 เปรูเซ็นตัยังการเจริญของเชื้อรา (unknown) ที่แยกได้จากพืชแสดงอาการต้น

โทรมโดยเชื้อแอคติโนมัยซิส¹โอโหเลทต่างๆทดสอบโดยวิธี dual culture นาน 3 วัน

ไอโหเลข	เปอร์เซ็นต์ยั้งการเจริญ ¹ (%)
CSAL 01-02-05	14.70 ^{hi 2}
CSAL 01-04	27.20 ^e
CSAL 01-05	12.50 ⁱ
CSAL 01-06	20.59 ^{ig}
CSAL 01-07	19.85 ^{ig}
CSAL 01-08	17.65 ^{igh}
CSAL 01-09	21.32 ^f
CSAL 01-10	16.91 ^{gh}
CSAL 01-011	32.78 ^d
CSAL 01-012	42.78 ^b
CSAL 01-013	42.78 ^b
CSAL 01-014	33.89 ^d
CSAL 01-015	40.56 ^{bc}
CSAL 01-016	48.33 ⁱ
CSAL 01-018	38.33 ^c
CSAL 01-019	38.89 ^{bc}
LSD _{0.05}	3.99
CV (%)	9.59

¹ ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ

² ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันใน column เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

ทางสถิติ เปรียบเทียบโดยวิธี Least-significant difference ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

จากตารางที่ 3.35 และ ภาพที่ 3.23 ซึ่งเป็นการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแอคติโนมัยซิสที่ได้รับจาก ดร. อรรณณ ฉัตรสิริรุ่ง ในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคต้นโทรมของชาวไร่แยกได้ ในระยะแรก ซึ่งขณะนั้นยังไม่สามารถจำแนกชนิดของเชื้อราได้ แต่เวลาในการทำการทดลองมีจำกัด

จึงจำเป็นต้องทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแอคติโนมัยซีสไปก่อน และจากผลการทดลอง จะเห็นได้ว่าเชื้อแอคติโนมัยซีสในกลุ่มนี้มีประสิทธิภาพความคุ้มค่าเชื้อในระดับห้องปฏิบัติการในแบคทีเรียตัว (เกษม, 2532) จึงไม่ได้นำเชื้อไปศึกษาในกลุ่มนี้มาใช้ทดสอบในการทดลองอื่น ๆ อีกต่อไป

ดังนั้นจึงได้ทดลองแยกเชื้อแอคติโนมัยซีสแอคติโนมัยซีสไปเฟทจากพืชสมุนไพรอื่น ๆ เพิ่มเติม และจากผลการสำรวจและการแยกเชื้อสาเหตุโรคสำคัญของชา พบว่าสามารถแบ่งกลุ่มของเชื้อสาเหตุสำคัญได้ 2 ชนิด คือ โรคที่เกิดกับใบชา ได้แก่ โรคใบจุดแอนแทรคโนสที่เกิดจากเชื้อ *Colletotrichum* sp. และโรคเน่าสีน้ำตาลของรากและลำต้นที่เกิดจากเชื้อ *P. noxius* จึงได้นำเชื้อสาเหตุทั้งสองชนิดนี้มาใช้ในการทดลอง ต่อไป

3.8.3 ประสิทธิภาพของเชื้อแอคติโนมัยซีสแอคติโนมัยซีสในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคของชา

โรคแอนแทรคโนส (anthracnose)

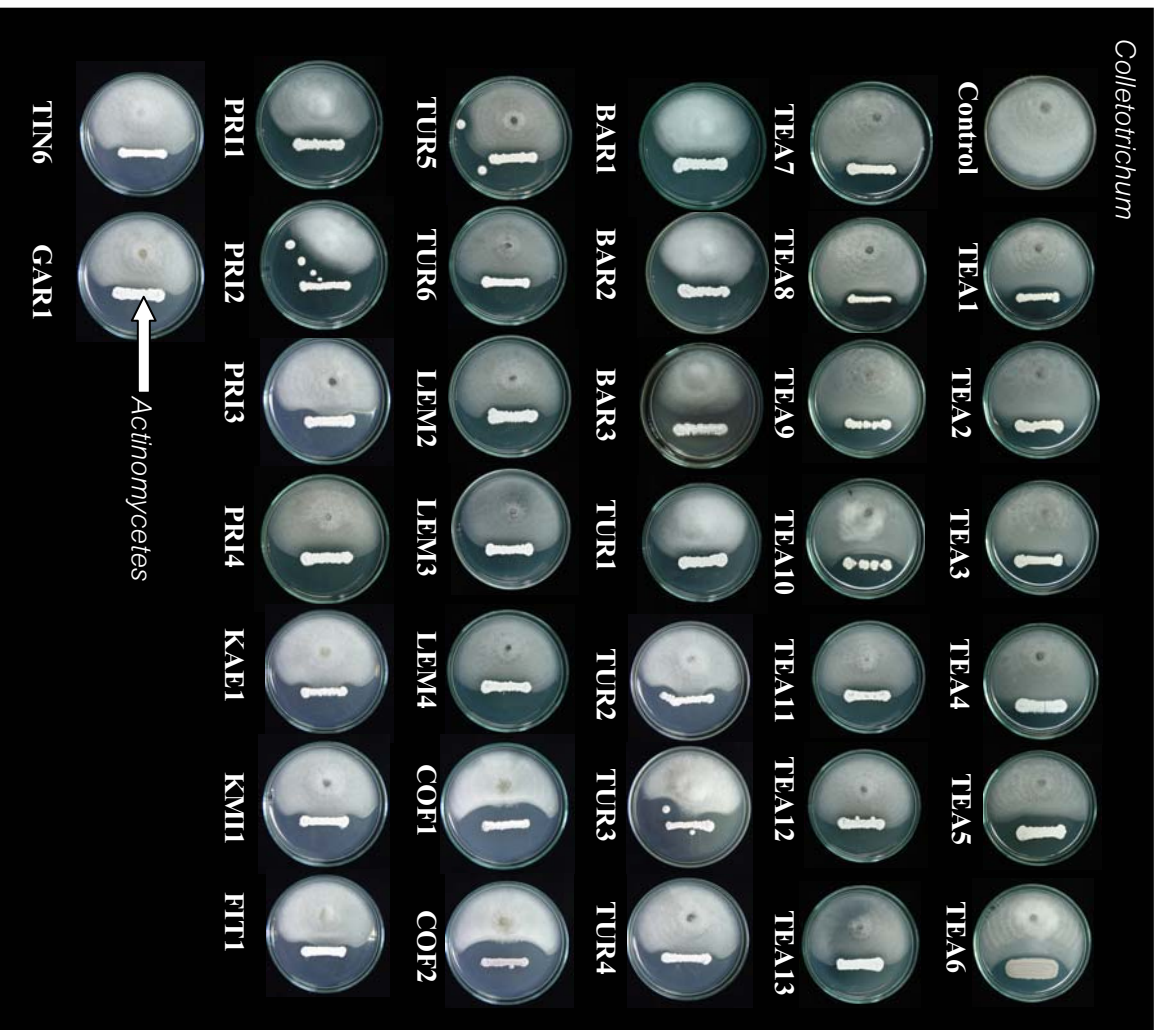
จากการนำเชื้อแอคติโนมัยซีสแอคติโนมัยซีสไปเฟทที่แยกจากส่วนลำต้นและใบของพืช ทั้งหมด 36 ไอโซเลท และจากควาามอนุเคราะห์จากสาขาวิชาโรคพืช ภาควิชากีฏวิทยาและโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (ปิยะธิดา, 2549) จำนวน 5 ไอโซเลท มาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนส ด้วยวิธี Dual culture พบว่า เชื้อแอคติโนมัยซีสแอคติโนมัย 4 ไอโซเลท สามารถยับยั้งและเห็นผลการวัดบริเวณการยับยั้ง(clear zone) ต่อการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ทั้ง 2 ไอโซเลทได้แตกต่างกันจากชุดควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยพบว่าเชื้อแอคติโนมัยซีสแอคติโนมัยซีสไปเฟทที่สามารถยับยั้งเชื้อ *Colletotrichum* sp. ไอโซเลท 1 สูงที่สุด คือ COF2, COF1, TEA5 และ TEA6 ตามลำดับ โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 68.82, 68.24, 54.39 และ 51.46 ตามลำดับ (ตารางที่ 3.35 และ ภาพที่ 3.23) ส่วนเชื้อแอคติโนมัยซีสแอคติโนมัยที่สามารถยับยั้งเชื้อ *Colletotrichum* sp. ไอโซเลท 2 สูงที่สุด คือ COF2, COF1 และ TEA6 ตามลำดับ โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 72.19, 70.20 และ 60.64 ตามลำดับ (ตารางที่ 3.36 และ ภาพที่ 3.24)

ตารางที่ 3.35 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของโคไคเน่ (%PIRG) ของเชื้อ *Colletotrichum* sp. ไอคโทเลทท1 ของเชื้อแอคติโนไมซีทีสแอนโดไฟท์ 36 ไอคโทเลทท

Isolate	% PIRG	Isolate	% PIRG	Isolate	% PIRG	Isolate	% PIRG
TEA1	48.96 ^{cd2}	TEA9	42.26 ^{fga}	TUR1	41.18 ^{ghj}	LEM4	29.30 ⁱ
TEA2	42.26 ^{ighi}	TEA10	44.35 ^{ieg}	TUR2	41.18 ^{ghj}	COF1	68.24 ^a
TEA3	44.35 ^{iegh}	TEA11	37.58 ^{ikl}	TUR3	42.34 ^{fga}	COF2	68.82 ^a
TEA4	43.05 ^{mn}	TEA12	42.04 ^{fga}	TUR4	41.18 ^{ghj}	PR1	41.18 ^{ghj}
TEA5	54.39 ^b	TEA13	31.2 ¹ⁿ	TUR5	37.58 ^{ikl}	PR12	42.36 ^{fga}
TEA6	51.46 ^{bc}	BAR1	40.00 ^{hijk}	TUR6	36.16 ^{klm}	PR13	41.18 ^{ghj}
TEA7	43.93 ^{igh}	BAR2	37.65 ^{kl}	LEM2	45.23 ^{defg}	PR14	38.22 ^{jkl}
TEA8	40.17 ^{hijk}	BAR3	48.83 ^{cd}	LEM3	33.76 ^{lmn}	KAE1	44.12 ^{gh}
KM11	42.35 ^{ighi}	FIT1	40.59 ^{hijk}	TIN1	46.47 ^{def}	GAR1	42.94 ^{fga}
LSD _{0.05}	2.26						
CV (%)	4.48						

¹ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ

² ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในทุก column แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เปรียบเทียบโดยวิธี Least-significant difference ที่มีความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์



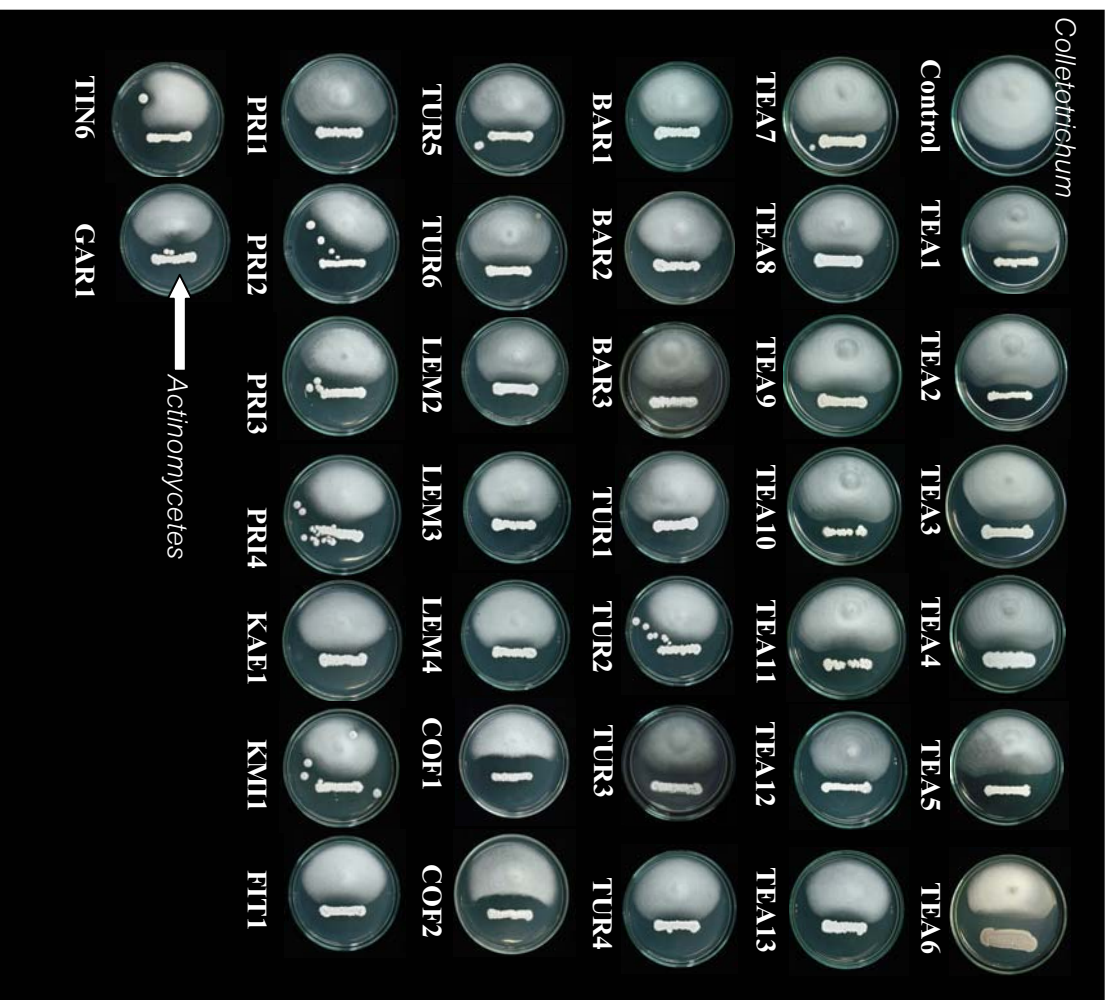
ภาพที่ 3.23 ลักษณะการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ไอโซเลท 1 (control) ของเชื้อแอคติโนมัยซีตเอนโดไฟท์ 36 ไอโซเลท หลังการทดสอบ โดยวิธีการ Dual culture

ตารางที่ 3.36 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของโคไลเน่ (%PIRG) ของเชื้อ *Colletotrichum* sp. ไอโซเลท2 ของเชื้อแอคติโนไมซีตแอนด์ไฟท์ 36 ไอโซเลท

Isolate	% PIRG	Isolate	% PIRG	Isolate	% PIRG	Isolate	% PIRG
		Isolate					
TEA1	36. ^{70ghjk2}	TEA9	37.23 ^{ghjk}	TUR1	38.41 ^{fg}	LEM4	30.56 ^m
TEA2	34.44 ^{ijklm}	TEA10	42.02 ^{ef}	TUR2	34.44 ^{ijklm}	COF1	70.20 ^a
TEA3	33.50 ^{klm}	TEA11	38.19 ^{fg}	TUR3	36.42 ^{ghij}	COF2	72.19 ^a
					^k		
TEA4	33.50 ^{klm}	TEA12	38.19 ^{fg}	TUR4	35.76 ^{hijkl}	PR11	34.44 ^{ijklm}
TEA5	49.47 ^c	TEA13	36.81 ^{ghjk}	TUR5	34.72 ^{ijklm}	PR12	47.68 ^{cd}
TEA6	60.64 ^b	BAR1	40.39 ^{efgh}	TUR6	30.56 ^m	PR13	44.37 ^{de}
TEA7	33.50 ^{klm}	BAR2	35.75 ^{hijkl}	LEM2	42.36 ^{ef}	PR14	31.25 ^{lm}
TEA8	35.10 ^{ijklm}	BAR3	37.74 ^{fg}	LEM3	33.34 ^{klm}	KAE1	37.08 ^{ghij}
							^k
KM11	38.41 ^{fg}	FIT1	41.06 ^{efg}	TIN1	35.76 ^{hijkl}	GAR1	40.39 ^{efgh}
LSD _{0.05}	2.37						
CV (%)	4.70						

¹ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ

² ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในทุก column แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เปรียบเทียบโดยวิธี Least-significant difference ที่มีความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 3.24 ลักษณะการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ไอโซเลท 2 ของเชื้อแอคติโนไมซีตส์ เอนโดไฟท์ 36 ไอโซเลทต่าง ๆ หลังการทดสอบ โดยวิธีการ Dual culture

โรคจากเน่าโคนเน่าสีน้ำตาลของชา (brown rot)

จากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแอคติโนมัยซีสเอนโดไฟท์ในการควบคุมการเจริญของเชื้อรา *Phellinus noxius* เชื้อสาเหตุของโรคต้นโพธิ์หรือโรคจากเน่าโคนเน่าสีน้ำตาลของชา พบว่า GAR2 สามารถยับยั้งได้ดีที่สุด รองลงมาคือ PR1, TEA5, LEM1, และ TEA8 โดยมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งเท่ากับ 69.37%, 59.38%, 55.63%, 48.12% และ 45.00% ตามลำดับ (ตารางที่ 3.37) และจะเห็นว่ากลุ่มที่มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งในระดับสูง ที่มีค่าเกินกว่า 60 เปอร์เซ็นต์จะเป็นแอคติโนมัยซีสเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากพืชสมุนไพร ซึ่งแอคติโนมัยซีสเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากต้นชาที่มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งส่วนใหญ่อยู่ที่เพียง 20-40 เปอร์เซ็นต์เท่านั้น และเชื้อปฏิบัตินี้ที่แยกได้จากอังกาบและขมิ้นมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. noxius* น้อยมาก แต่เมื่อเปรียบเทียบกับลักษณะการเจริญเติบโตพบว่าแอคติโนมัยซีสในบางสปีชีส์พบว่า แม้มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรค *P. noxius* ได้ในระดับต่ำ แต่ส่งผลการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา โดยทำให้เส้นใยบางลงและเกิดการเปลี่ยนแปลงไปเมื่อเทียบกับชุดควบคุม (ภาพที่ 3.25) หรือในกรณีของการเลี้ยงเชื้อราสาเหตุโรคร่วมกับ BAR5 แม้เชื้อปฏิบัตินี้จะไม่สามารถยับยั้งการเจริญด้านขนาดของโคโลนีของเชื้อราสาเหตุโรคได้ แต่พบว่าเชื้อรามีการสร้าง tertiary mycelium และเริ่มมีการอัดตัวของเส้นใยบริเวณขอบ ซึ่งอาจเป็นผลมาจากการที่ แอคติโนมัยซีสมีส่วนสร้างสาร secondary metabolite ซึ่งส่งผลต่อการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรค

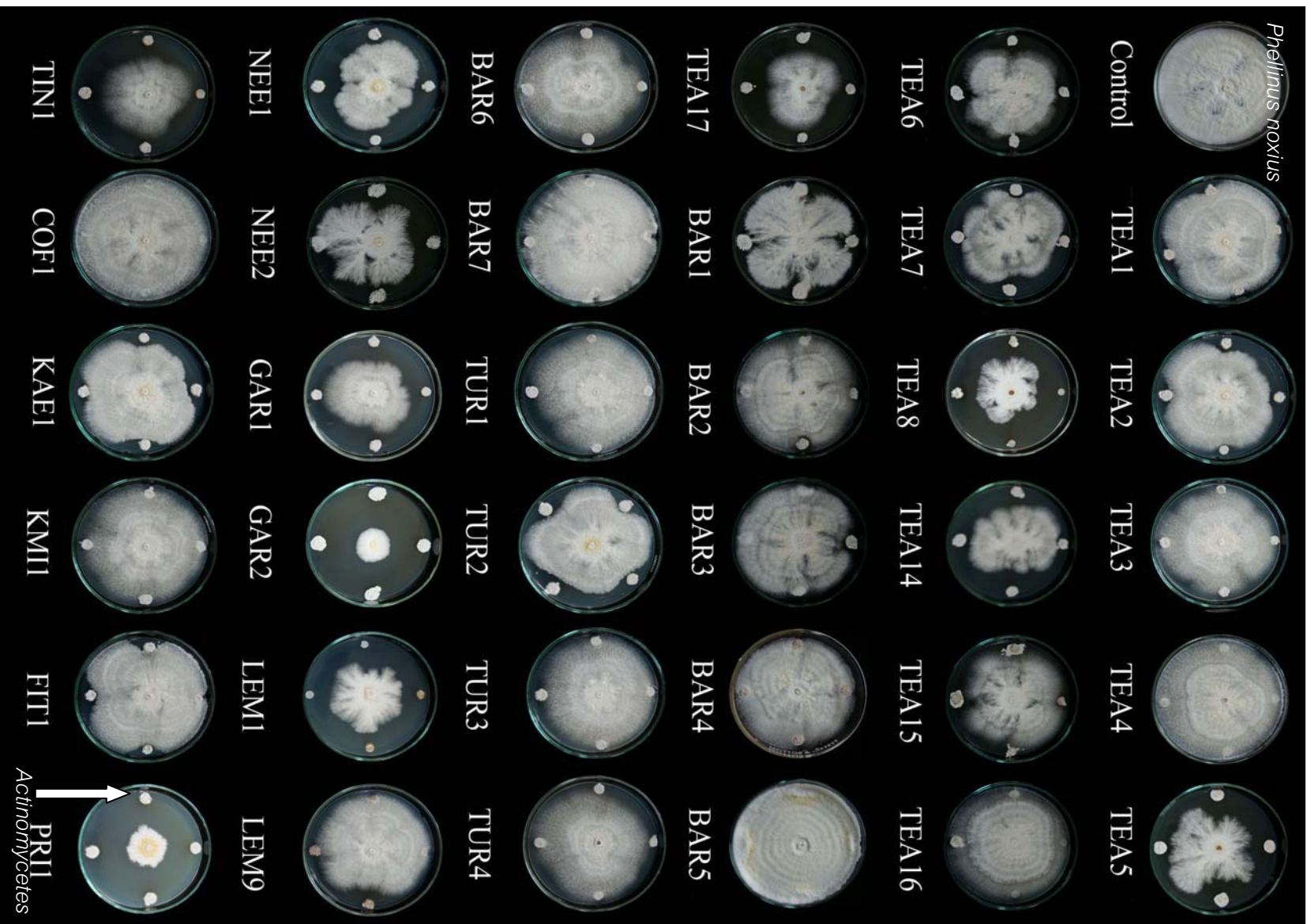
ตารางที่ 3.37 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของโคโลนี (%PIRG) เชื้อรา *Phellinus noxius* ของเชื้อแอคติโนมัยซีตเอนโคไฟท์ 35 ไอโซเลท

Isolate	% PIRG	Isolate	% PIRG	Isolate	% PIRG
TEA1	1.25 ^{lm}	BAR1	13.75 ^{hijkln}	NEE2	31.80 ^{efg}
TEA2	17.50 ^{hijk}	BAR2	5.00 ^{klm}	GAR1	42.50 ^{cde}
TEA3	4.37 ^{klm}	BAR3	0.00 ^m	GAR2	69.37 ^a
TEA4	0.00 ^m	BAR4	0.00 ^m	LEM1	48.12 ^{bcd}
TEA5	55.62 ^{abc}	BAR5	0.00 ^m	LEM9	11.87 ^{hijkln}
TEA6	15.00 ^{hijk}	BAR6	6.88 ^{ijklm}	TIN1	25.62 ^{fgh}
TEA7	20.00 ^{ghij}	BAR7	0.00 ^m	COF1	0.00 ^m
TEA8	45.00 ^{cde}	TUR1	1.25 ^{lm}	KAE1	18.13 ^{ghijk}
TEA14	34.375 ^{def}	TUR2	19.37 ^{ghij}	KMI1	0.00 ^m
TEA15	21.87 ^{fghi}	TUR3	1.88 ^{lm}	FIT1	10.00 ^{ijklm}
TEA16	0 ^m	TUR4	8.13 ^{ijklm}	PRI1	59.38 ^{ab}
Control	0 ^m	TEA17	40 ^{de}	NEE1	31.87 ^{efg}
LSD _{0.05}	13.98				
%CV	54.40				

¹ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ

² ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในทศ column แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมี

นัยสำคัญทางสถิติ เปรียบเทียบโดยวิธี Least-significant difference ที่มีความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 3.25 ลักษณะการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Phellinus noxius* ของเชื้อแบคทีเรียในเย็บส

เอนโดไฟท์ 35 ไอโซเลท หลังการทดสอบ โดยวิธีการ Paper disk method

สรุปผลการทดลอง

4.1 แปลงทดลองปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพ

จุลินทรีย์ในกลุ่มเชื้อราตุอาหารพืชที่ได้คัดเลือกผสมในปุ๋ยอินทรีย์เพื่อทดลองในภาคสนามนั้น บาง isolate ได้จากงานวิจัยก่อนหน้าของคณะผู้วิจัย และบาง isolate ได้จากงานวิจัยครั้งนี้ โดยได้แยกจาก 3 กลุ่มคือ กลุ่มตรึงไนโตรเจน ได้แก่ *Azospirillum*, *Azotobacter* และ *Beijerinckia* กลุ่มละลายฟอสฟอรัส ได้แก่ *Penicillium* และ แอคติโนมัยซีต isolate, LGLA-01-012 อีกกลุ่มหนึ่งคือกลุ่มละลายโพแทสเซียม ได้แก่ *Bacillus*

การคัดกรองปัจจัยการผลิตอินทรีย์ชีวภาพเพื่อใช้ในการผลิตชาพบว่า การใช้ปุ๋ยอินทรีย์ร่วมกับจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ในแปลงผลทางบาคต่อสมบัติของดิน โดยที่ค่า pH เพิ่มขึ้นจาก 4.76 เป็น 5.4 การใช้ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพนอกจากจะส่งผลให้ค่า pH เพิ่มขึ้นแล้วปริมาณธาตุอาหารโดยเฉพาะไนโตรเจนในใบชาสูงกว่าในกรรมวิธีที่ไม่ได้ใส่ปุ๋ย ทั้งแปลงที่ปลูกในร่มและกลางแจ้ง โดยทำให้ความชื้นของไนโตรเจนสูงขึ้นถึง 2.93 - 3.23% และ 2.71 - 2.82% ตามลำดับ ขณะที่เพิ่มปุ๋ยมีไนโตรเจนเพียง 2.68% สำหรับธาตุอาหารอื่นๆ ได้แก่ P, K, Ca, Mg, S และ Zn ก็มีแนวโน้มที่เพิ่มขึ้นชัดเจน ส่วนปริมาณธาตุ B มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นหลังการใส่ปุ๋ยอินทรีย์เพียงเล็กน้อย แต่ปริมาณธาตุบางธาตุมีแนวโน้มลดลงอย่างชัดเจนได้แก่ Fe, Mn และ Cu อย่างไรก็ตาม ค่า pH ของดินยังถือว่าอยู่ในเกณฑ์ต่ำสำหรับการปลูกชา ดังนั้นควรมีการใส่ปุ๋ยอินทรีย์ร่วมกับการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนไม่พอสอดระดับ pH และยังเป็นการเพิ่มปริมาณ แคลเซียม และ แมกนีเซียม ส่วนค่า B นั้นยังต่ำกว่าค่ามาตรฐานอยู่ หากมีการปรับค่า pH ดินให้เพิ่มขึ้นก็จะทำให้การละลายของ B เพิ่มขึ้นด้วย ความชื้นของธาตุอาหารในใบชา ที่ทำการผลิตในระบบอินทรีย์ของแปลงวิจัยในครั้งนี้ ยังคงมีปริมาณที่ต่ำกว่าค่ามาตรฐาน แต่มีแนวโน้มว่าธาตุธาตุอาหารได้ดีขึ้น สำหรับสารแอนติออกซิแดนท์ที่ตรวจพบ มีปริมาณสาร ECGG สูงสุดในทุกฤดูทั้งแปลงที่ปลูกชาในร่มและแปลงปลูกชากลางแจ้ง ที่ประมาณ 17.24 – 77.75 mg/g รองลงมาคือสาร EGC มีประมาณ 5.80 – 55.67 mg/g รองลงมาคือสารมีประมาณ EC 4.39 – 60.83% และมีปริมาณสาร C น้อยที่สุด 0.15-4.67 mg/g พบข้อสังเกตที่น่าสนใจว่าแนวโน้มว่าสารต้านอนุมูลอิสระในกลุ่มคาเทชินในยอดชาอ่อนจากแปลงชากลางแจ้งจะมีปริมาณที่สูงกว่าแปลงชาที่ปลูกในร่ม แต่ในทางตรงกันข้ามมีแนวโน้มว่าสารคาเฟอีนในยอดชาอ่อนของแปลงในร่มมีปริมาณที่ สูงกว่าแปลงกลางแจ้ง และข้อสังเกตอีกประการก็คือ โดยส่วนใหญ่แล้วปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในกลุ่มคาเทชินจะมีปริมาณต่ำที่สุดในฤดู

หนาว และค่อยเพิ่มสูงขึ้นในช่วงฤดูร้อน และจะมีปริมาณสูงสุดในฤดูฝน การใส่ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพต่อเนื่องกัน 4 ครั้ง นอกจากจะส่งผลบวกต่อผสมบัตินและการดูดธาตุอาหารที่สิ้นของชาแล้วยังมีแนวโน้มช่วยส่งเสริมให้ผลผลิตของชาดีขึ้น ซึ่งจะเห็นว่าในฤดูการผลิตปี 2551 ผลผลิตของชา เฉลี่ยอยู่ในช่วง 617.5 - 711.3 กิโลกรัมต่อเฮกตาร์ (kg/ha) ในฤดูการผลิตปี 2552 ผลผลิตของชาเพิ่มขึ้นเป็น 1.165 - 1.271.9 กิโลกรัมต่อเฮกตาร์ จากการสำรวจการระบาดของโรคในแปลงทดลองปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพ พบว่าแปลงที่ปลูกในรุ่มนั้นไม่ค่อยพบอาการของโรค เมื่อเปรียบเทียบกับแปลงที่ปลูกในบริเวณที่ต่ำกว่าและมีรุ่มน้อย ซึ่งมีการเกิดโรคมกกว่าอย่างละครึ่งตามจากข้อมูลที่ได้สามารถสรุปว่า แปลงทดลองปุ๋ยอินทรีย์ไม่มีการระบาดของโรคที่รุนแรง

4.2 แปลงที่มีการระบาดของโรครุนแรง

แปลงที่มีการระบาดของโรครุนแรงซึ่งห่างจากแปลงทดลองปุ๋ยอินทรีย์ได้มีการสำรวจโรคสำคัญของชา พบโรคสำคัญ 2 ชนิด คือ โรคแอนแทรคโนส ที่เกิดจากเชื้อ *Colletotrichum* sp. โดยพบเชื้อ *Colletotrichum* จำนวน 2 ไอโซเลท ที่มีความรุนแรงของการเข้าทำลายแตกต่างกัน โรคแรกเป็นโคนำสีน้ำตาล เกิดจากเชื้อรา *P. noxius* เข้าทำลายรากและโคนต้นของชา ทำต้นชาแสดงอาการต้นไหมรม ใบค่อย ๆ เหี่ยวแห้ง และยืนต้นตาย ซึ่งอาการนี้ใช้เวลาระมาณ 3-6 เดือนนับตั้งแต่สังเกตเห็นใบชาเริ่มเหี่ยวหูลงจนกระทั่งยืนต้นแห้งตายในที่สุด การทดสอบความสามารถในการเป็นปฏิปักษ์ของเชื้อแอคติโนมัยซีสเอนโคไฟท์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของชา ทั้ง 2 ไอโซเลท พบว่า ไอโซเลท COF2 และ COF1 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุไอโซเลท 1 ดีที่สุด โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 68.82 และ 68.24 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่า การยับยั้งเชื้อสาเหตุไอโซเลท 2 ของ เชื้อปฏิปักษ์ทั้ง 2 ไอโซเลท ดังกล่าวข้างต้นยังคงมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อได้มากที่สุดเช่นเดียวกัน โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง เท่ากับ 72.19 และ 70.20 เปอร์เซ็นต์

การทดสอบความสามารถในการเป็นปฏิปักษ์ของเชื้อแอคติโนมัยซีสเอนโคไฟท์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. noxius* สาเหตุโรคแรกเป็นโคนำสีน้ำตาลของชาพบว่าเชื้อที่มีประสิทธิภาพสูงที่สุดในการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคได้แก่ GAR2 (69.37%) รองลงมาได้แก่ PR11 (59.38%) และ TAE5 (55.62%) และเชื้อทั้ง 3 ไอโซเลทนี้ให้ผลไม่แตกต่างกันทางสถิติ

เอกสารอ้างอิง

- กิตติพันธ์ จันทาศรี. 2543. ชา. หน้า 156-167. ใน: อนุจักร วิรัตน์ ปรีชา กิตติพันธ์ มนัส และ ประภัตต์ (ผู้รวบรวม). การปลูกไม้ผลไม้ยืนต้นบนที่สูง. ฝ่ายส่งเสริมการเกษตรที่สูง กองส่งเสริมพืชสวน, กรุงเทพฯ.
- กรมส่งเสริมการเกษตร. 2551. คู่มือนักวิชาการส่งเสริมการเกษตร (ชา). สำนักส่งเสริมและจัดการสินค้าเกษตร กรมส่งเสริมการเกษตร. กรุงเทพฯ. 36 หน้า
- กฤษณา ชูติมา. 2542. สารเคมีในชา. วารสารราชบัณฑิตยสถาน 25(2) : 127-135.
- เกษม สร้อยทอง. 2532. การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี. คณะเทคโนโลยีการอาหาร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. 326 หน้า.
- ตลาดศีกค์กเกษตรอินทรีย์. 2550. แหล่งผู้จำหน่ายผู้คืน. ไทยรัฐออนไลน์.
- <http://203.151.217.76/news.php?section=agriculture02&content=63164>
- นันทรัตน์ ศุภกานันต์. 2545. การวิจัยธาตุอาหารส้ม. วารสารเกษตรฉบับพิเศษ. สำนักพิมพ์พิสิคส์ เท็นเตอร์. กรุงเทพฯ.
- ประชิดา พลุกคล้าย. 2549. การคัดเลือกแอคติโนมัยซีตเอนโดไฟต์จากพืชสมุนไพร เพื่อควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคของตะน้า. วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 93 หน้า.
- ปียวรรณ มาตราช. 2549. ความแปรปรวนของปริมาณสารแอนติออกซิแดนท์ในใบชาที่ปลูกในจังหวัดเชียงใหม่และเชียงราย. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 123 หน้า.
- ไพโรจน์ พงศ์สุภสมิทธิ์. 2532. เทคโนโลยีการผลิตชาเล่ม 1. ศูนย์ส่งเสริมการเกษตรสภาพเหนือ กรมส่งเสริมอุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรม. กรุงเทพฯ. 47 หน้า.
- ศูนย์ปฏิบัติการจังหวัดเชียงราย การป้องกันกำจัดศัตรูของชา <http://www.chiangrai.net/Cproc/ocha/index.asp?no=12> [ระบบออนไลน์] (ค้นเมื่อ 1 มี.ค. 51)
- ศุภนารถ เกตุเจริญ และ อัญชลี พัฒเมศ. 2543. ชา. กองเกษตรสัมพันธ์ กรมส่งเสริมการเกษตร. สำนักส่งเสริมและฝึกอบรม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 51 หน้า
- หนังสือพิมพ์ประชาชาติธุรกิจ ปฎิภา-กาแฟเตอร์แกนิคมุ่งส่งออก ชาระมิงค์ปรับตัวใหม่เน้นสิ่งแวดล้อม. ฉบับวันที่ 12 พฤศจิกายน พ.ศ. 2550 หน้า 32
- Aburua, F., R.W. Pearson, and C.B. Elkins. 1958. Quantitative evaluation of soil

- reaction and base status changes resulting from field application of residually acid-forming nitrogen fertilizers. Soil Sci. Soc. Am. Proc., **22**: 539-542
- Baby, U. I. and N. Muraleedharan. 2005. Tea Diseases, Ecology and Control In Encyclopedia of Pest Management (Pest Management) UPASI Tea Research Foundation, Tea Research Institute, Coimbatore, Tamil Nadu, India.
- Online, <http://www.informaworld.com/smp/content>. (Available 11 Mar 2008)
- Caruso, M., A.L. Colombo, L. Fedeli, A. Pavesi, S. Quaroni, M. Saracchi and G. Ventrella. 2002. Isolation of endophytic fungi and actinomycetes taxane producers. <http://www.anmmicro.unimi.it/abst00.htm#50-1-3> (Available source June 28th 2009)
- Chandra M. B. 1996. Common Names of Plant Diseases: Diseases of Tea (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze) The American Phytopathological Society. <http://www.apsnet.org/online/common/names/tea.asp> (Available source October 28th 2009)
- Chris, F. 2002. Application of actinomycete endophytes to increase cereal grain yields. <http://som.flinders.edu.au/FUSA/Biotech/ResearchProjects/Actinomycetes#A> ctinoEndo. (Available source: 8th August 2009) <http://www.apsnet.org/online/common/names/tea.asp> (Available source October 28th 2009)
- Darmawijaya, M.I., I. Dachman, and J. Nyanjang. 1989. Water need of tea plant. IARD J. 11(3) : 42-45.
- Dang, M.V. 2007. Quantitative and qualitative soil quality assessments of tea enterprises in Northern Vietnam. Afr. J. Agric. Res. 2:455-462.
- Fung, K.F., and M.H. Wong. 2001. Effect of soil pH on the effect of Al, F and other elements by tea plant. J. Sci. Food Agri. **82**:146-152.
- Garcia-Gómez, R., J. Chàvez-Espinosa, A. Mejía-chàvez, B.C. Durán. 2002. Short term effect of *Glomus claroideum* and *Azospirillum brasiliense* on growth and root acid phosphatase activity of *Carica papaya* L. under phosphorus stress. Revista Latinoamericana Microbiologia **44**: 31-37.
- Gordon, S.A. and R.P. Weber. 1951. The colorimetric estimation of IAA. Plant Physiol.

26, 192-195

- Hodges, C.S. 1984. Root disease of *Deliozix regia* and associated tree species in the Mariana islands caused by *Phellinus noxius*. Plant Dis. 68: 334-336.
- Kahneh, E., H. RamezanPour, M.R. Haghparsat Tanha, and A. Shirinfeki. 2009. Effect of Arbuscular Mycorrhizal Fungi and phosphorus supplement on leaf P, Zn, Cu and Fe concentrations of tea seedlings. Caspian Env. J. Sci. 4: 53-58.
- Kalakoutsii. L. V. and N. Agre. 1976. Comparative aspects of development and differentiation in actinomycetes. Bacteriological Review 40(2): 469-524.
- Lisa K., Wen-Hsiung Ko and D. M. Sato. 2006. Identification Guide for Diseases of Tea (*Camellia sinensis*). Plant Diseases, Oct. PD-33, Cooperative Extension Service, College of Tropical Agriculture and Human Resources, University of Hawaii at Manoa. 4 p.
- Liu, Y.L., Y. Li, Y. Matsubara, M. Inagaki, and M. Sugiyama. 2006. Promotion of Rooting and the Increase in Leaf Gaba Content of Mycorrhizal Tea Plants. In ISHS Acta Horticulturæ 761: XXVII International Horticultural Congress - IHC2006: International Symposium on Advances in Environmental Control, Automation and Cultivation Systems for Sustainable, High-Quality Crop Production under Protected Cultivation
- Mamati, G.E., L. Yuerong. 2004. Tea (*Camellia sinensis*): comparison of the crop in Kenya and China. Journal of Tea 30(4): 197-202
- Mohd Farid A., S.S. Lee, Z. Maziah, H. Rosli, and M. Norwati. 2005. Basal root rot, a new disease of Teak (*Tectona grandis*) in Malaysia caused by *Phellinus noxius*. Malaysian Journal of Microbiology 1(2): 40-45.
- Montealegre, J.R., R. Reyes, L.M. Perez, R. Herrera, P. Silva and X. Besoain. 2003. Selection of bioantagonistic bacteria to be used in biological control of *Rhizoctonia solani* in tomato. Electronic Journal of Biotechnology 6(2): 116-121.
- Nicole M., Chamberland H., Rioux D., Xixuan X., Blanchette R.A., Geiger J.P., and Ouellet G.B. 1995 Wood degradation by *Phellinus noxius*: ultrastructure and cytochemistry. Canadian Journal Microbiol. 41: 253-265.

- Pao-Jen A., Tun-Tschu Chang and Wen-Hsiung Ko. 2002. *Phellinus noxius* brown root rot of fruit and ornamental trees in Taiwan. Plant Disease **86** (8): 820-826.
- Reuter, D.J. and J.B. Robinson. (eds). 1997. Plant Analysis an Interpretation Manual, (Second Edition). CSIRO Publishing, Australia. 572 pp.
- Rutkowska, B., W. Szulc, and J. Labetowicz. 2009. Influence of soil fertilization on concentration of microelements in soil solution of sandy soil. *J. Elementol.* **14**: 349-355.
- Saito, S.T., P.E.Froehlich, G. Gosmann, and A.M. Bergold. 2007. Full validation of a simple method for determination of catechins and caffeine in Brazilian green tea (*Camellia sinensis* var. assamica) using HPLC. Chromatographia **65**: 607-610.
- Schmidt, O. 2006. Wood and Tree Fungi. Spring-Verlag, Berlin Heidelberg, Germany. 135-137 p.
- Schwab, A.P., C.E. Owensby, and S. Kulyingyoun. 1990. Changes in soil chemical properties due to 40 years of fertilization. Soil Sci., **149**: 35-43.
- Senapati, B.K., P.K. Panigrahi, S. Giri, A. Patraik, and P. Lavelle 1994. Restoration of degraded soil in intensive tea plantation (India). In: Conservation of soil fertility in low input agricultural systems of the humid tropics by manipulating earthworm communities, cCe Macrofauna Project II (STD3) report 3, ed, P. Lavelle, pp. 39-51. LEST/IRD, Paris.
- Shimizu, M., Y. Nakagawa, Y. Sato, T. Furumai, Y. Igarashi, H. Onaka, R. Yoshida and H. Kunoh. 2000. Studies on endophytic actinomycetes (I) *Streptomyces* sp. isolated from *Rhododendron* and its antifungal activity. Journal of General Plant Pathology **66**: 360-360.
- Venkatesan, S., S. Murugesan, M.N.K. Ganapathy, and D. P. Verma. 2004. Long-term impact of nitrogen and potassium fertilizers on yield, soil nutrients and biochemical parameters of tea. Journal of the Science of Food and Agriculture **84**(14):1939 – 1944.

ภาคผนวก

ภาคผนวก 1 ตารางเปรียบเทียบวัตถุประสงค์กิจกรรมที่วางแผน และกิจกรรมที่ดำเนินการและผลที่ได้รับตลอดโครงการ

วัตถุประสงค์	กิจกรรมที่ได้เสนอในโครงการ	กิจกรรมที่ได้ดำเนินการ	ผลที่ได้รับ
1. เพื่อคัดเลือกและทดลองใช้เชื้อจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายใบชาที่ได้จากการตัดแต่งกิ่งให้เป็นปุ๋ยอินทรีย์ได้เร็วขึ้น	1.1 แยกเชื้อบริสุทธิ์แอคติโนมัยซีทเพื่อใช้ในการย่อยสลายใบชา 1.1.1 เก็บตัวอย่างดินใต้ต้นชาและใบชาที่ย่อยสลายบางส่วนในธรรมชาติ 1.1.2 แยกเชื้อในห้องปฏิบัติการ 1.2 ประเมินศักยภาพในการย่อยสลายใบชา 1.2.1 ประเมินการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส 1.2.2 ประเมินศักยภาพในการย่อยใบชาในห้องปฏิบัติการ 1.2.3 ประเมินประสิทธิภาพในการย่อยสลายใบชาในภาคสนาม	ผลสำเร็จในการดำเนินการ 100 % ทำการเก็บตัวอย่างดินใต้ต้นชาและใบชาที่ย่อยสลายบางส่วนในธรรมชาติแล้วนำมาแยกเชื้อในห้องปฏิบัติการ ผลสำเร็จในการดำเนินการ 100% 1. นำเชื้อที่แยกได้ทั้งหมดและเชื้อที่เคยเก็บรวบรวมไว้ มาทดสอบความสามารถในการการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส 2. ประเมินศักยภาพเชื้อที่มีศักยภาพในการย่อยใบชาและคัดเลือกไว้เพื่อทดสอบประสิทธิภาพในการย่อยใบชา 3. ประเมินประสิทธิภาพในการย่อยสลายใบชาในโรงเรือน	ได้เชื้อจุลินทรีย์แอคติโนมัยซีทที่คาดว่าจะมีบทบาทในการช่วยย่อยสลายใบชา และเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อสาเหตุของโรคในต้นชา จำนวนทั้งสิ้น 130 isolates การคัดเลือกเชื้อเพื่อทดสอบการย่อยสลายใบชาเบื้องต้นในโรงเรือนได้เชื้อ 3 isolates โดยเลือกเชื้อที่มีการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้ สูง กลาง และ ต่ำ คือ LGLA-02-021, LGLA-03-026 และ LGLA-01-015 ในการทดสอบพบว่าการใช้เชื้อ LGLA 02-021 และ เชื้อ LGLA 01-015 หรือ เชื้อผสมทั้ง 3 isolates มีแนวโน้มในการย่อยสลายใบชาได้ดีกว่าการไม่ใส่เชื้อ หรือ ใส่เชื้อทำปุ๋ยหมักซูเปอร์ พด.1

ภาคผนวก 1 (ต่อ)

2. เพื่อคัดเลือกและทดลองใช้เชื้อจุลินทรีย์ที่ช่วยขยายระบบรากและเพิ่มความเป็นประโยชน์ของธาตุอาหารให้แก่ต้นชา ได้แก่ เชื้อราไมคอร์ไรซา และ อะโซไรลัม	2.1 แยกเชื้อไมคอร์ไรซาและอะโซไรลัมจากรากและดินบริเวณรอบราก 2.1.1 เก็บตัวอย่างดินบริเวณรอบรากและรากต้นชาสมบูรณ์ที่ขึ้นในธรรมชาติ 2.1.2 ร่อนดินแยกสปอร์ไมคอร์ไรซา 2.1.3 ตรวจสอบการเข้ารากในธรรมชาติ 2.1.4 แยกเชื้อแบคทีเรียออกโซสไปริลลัม 2.2 ตรวจสอบประสิทธิภาพเชื้อจุลินทรีย์ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช 2.2.1 ตรวจสอบการเข้ารากของไมคอร์ไรซาและการส่งเสริมการเจริญเติบโตของราก 2.2.2 ประเมินศักยภาพในการตรึงไนโตรเจนและการผลิตเอนไซม์ฟอสฟาเทสของออกโซสไปริลลัม 2.2.3 ประเมินศักยภาพ การผลิตฮอร์โมนพืช	ผลสำเร็จในการดำเนินการ 100% 1. ทำการเก็บตัวอย่างดินบริเวณรอบรากและรากต้นชาสมบูรณ์ที่ขึ้นในธรรมชาตินำมาร่อนดินแยกสปอร์ไมคอร์ไรซาและนำมาขยายปริมาณสปอร์ในรากข้าวโพด 2. แยกเชื้อแบคทีเรียออกโซสไปริลลัมจากดินบริเวณราก ผลสำเร็จในการดำเนินการ 80% 1. ประเมินศักยภาพเบื้องต้นของเชื้อในการละลายฟอสเฟต 2. ประเมินศักยภาพ การผลิตฮอร์โมนพืช (IAA)	1. พบสปอร์เชื้อราออบัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาเพียง 1 isolate เท่านั้นเป็นไมคอร์ไรซาเชื้อราสกุล <i>Glomus</i> sp. และสามารถเข้ารากข้าวโพดได้ อย่างไรก็ตามการขยายปริมาณสปอร์ไมคอร์ไรซาโดยใช้ต้นข้าวโพดประสบปัญหา กล่าวคือปริมาณสปอร์มีน้อย และมีขนาดเล็กลง จึงไม่สามารถผลิตเพื่อใช้ในการภาคสนามได้ คณะผู้วิจัยจึงได้ตัดกรรมวิธีที่มีการใช้ไมคอร์ไรซาออก 2. พบเชื้อแบคทีเรียออกโซสไปริลลัมที่แยก 14 ไอโซเลท 1. ประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนและการผลิตเอนไซม์ฟอสฟาเทสออกโซสไปริลลัมต่ำ 2. พบว่าเชื้อแอคติโนมัยซีส์ที่แยกจากผิวใบลำไยและใบชา จำนวน 6 ไอโซเลทที่สามารถผลิต IAA ได้ในปริมาณที่สูงมาก
---	--	--	---

ภาคผนวก 1 (ต่อ)

3. การทดลองใช้และคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อราสาเหตุของโรคโคนเน่าของชา	3.1 ทดลองใช้เชื้อไตรโคเดอร์มาหรือเชื้ออื่นๆที่มีอยู่แล้วจากการรวบรวมและทำการแยกเชื้อแอคติโนมัยซีทจากแหล่งปลูกเพิ่ม 3.1.1 เลือกเชื้อที่มีอยู่แล้วจากการรวบรวม 3.1.2 เก็บตัวอย่างดินบริเวณสวนไร่ชาระมิงค์ 3.1.3 แยกเชื้อในห้องปฏิบัติการ 3.2 ประเมินศักยภาพของเชื้อที่มีอยู่แล้วและเชื้อที่แยกได้ในการเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อสาเหตุของโรคโคนเน่าของชา 3.2.1 ทดสอบความสามารถในการต่อต้านจุลินทรีย์สาเหตุโรคโคนเน่าในชาในห้องปฏิบัติการและภาคสนาม 3.2.3 ประเมินประสิทธิภาพในการป้องกันสาเหตุโรคโคนเน่าในการผลิตชาอินทรีย์	ผลสำเร็จในการดำเนินการ 100 % 1. เลือกเชื้อที่มีอยู่แล้วจากการรวบรวมของภาควิชาที่ภูวิทยาและโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ และแยกเชื้อจากพืชชนิดต่าง ๆ 18 ชนิด 2. เก็บตัวอย่างดินบริเวณสวนไร่ชาระมิงค์แล้วนำมาแยกเชื้อในห้องปฏิบัติการ ดำเนินการแล้วเสร็จ 100% 1. ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแอคติโนมัยซีทในการเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อสาเหตุของโรคชา 2. ประเมินประสิทธิภาพของเชื้อแอคติโนมัยซีสเอนโดไฟท์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุของโรคชา (แอนแทรคโนสและ โรคเน่าสีน้ำตาล)	รวบรวมเชื้อแอคติโนมัยซีสเอดโดไฟท์ จากสาขาวิชาโรคพืช จำนวน 5 isolates และแยกเชื้อจากพืชชนิดต่าง ๆ ได้อีก 71 isolates ได้เชื้อแอคติโนมัยซีสที่แยกจากดินบริเวณไร่ชาระมิงค์ 16 isolates 1. ในสภาพห้องปฏิบัติการ เชื้อแอคติโนมัยซีสที่แยกได้มีประสิทธิภาพในการควบคุมการเจริญของเชื้อราในระดับต่ำจึงไม่ได้นำมาใช้ในการทดสอบขั้นต่อไป 2. เชื้อแอคติโนมัยซีสเอนโดไฟท์ไอโซเลท COF2 และ COF1 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>Colletotrichum</i> sp. เชื้อสาเหตุของโรคแอนแทรคโนสดีที่สุด และไอโซเลท GAR2 สามารถยับยั้งเชื้อรา <i>P. noxius</i> เชื้อสาเหตุของโรคต้นโทรมหรือโรครากเน่าโคนเน่าสีน้ำตาลของชาได้ดีที่สุด
--	---	--	---

ภาคผนวก 1 (ต่อ)

4. เพื่อศึกษาผลของปัจจัยการผลิตอินทรีย์และชีวภาพ รวมทั้งรูปแบบการจัดการผลิตชาภายใต้ระบบการผลิตแบบอินทรีย์ที่มีผลต่อผลผลิตและคุณภาพของชา	4.1 ทดลองผลิตชาในระบบการผลิตแบบอินทรีย์ โดยมีปัจจัยในการผลิตที่แตกต่างกัน 3 กรรมวิธี - การจัดการแบบที่เกษตรกรนิยมปฏิบัติ - ใช้จุลินทรีย์แอสกีโนมัยซีร่วมกับปุ๋ยหมัก - ใช้จุลินทรีย์ไมคอร์ไรซาร่วมกับไฮโดรลิม 4.1.1 เก็บตัวอย่างดินและใบชาก่อนทำการทดลองและทำการวิเคราะห์เบื้องต้น 4.1.2 จัดเตรียมปัจจัยการผลิตชาในระบบการผลิตแบบอินทรีย์ ซึ่งประกอบไปด้วย - ผลิตหัวเชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ที่แยกได้จากหัวเชื้อ 1-3 เพื่อใช้ร่วมกับปุ๋ยหมักเพื่อใช้เป็นปัจจัยในการผลิตชาแบบอินทรีย์ 4.1.3 ตรวจสอบการเข้ารากของเชื้อ Mycorrhiza และปริมาณรากที่เพิ่มขึ้นจากการใช้จุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ 4.1.4 วิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีของดินและธาตุอาหารในใบพืชที่มีการใช้ปัจจัยการผลิตที่แตกต่างกัน ทุก ๆ 60 วัน	ผลสำเร็จในการดำเนินการ 90% 1. เก็บตัวอย่างดินและใบชาก่อนทำการทดลองและทำการวิเคราะห์เบื้องต้น 2. จัดเตรียมปัจจัยการผลิตชาในระบบการผลิตแบบอินทรีย์ ซึ่งประกอบไปด้วย - ผลิตหัวเชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ที่แยกได้จากหัวเชื้อ 1-3 เพื่อใช้ร่วมกับปุ๋ยหมักเพื่อใช้เป็นปัจจัยในการผลิตชาแบบอินทรีย์ 3. วิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีของดินและธาตุอาหารในใบพืชที่มีการใช้ปัจจัยการผลิตที่แตกต่างกัน 4. สุ่มตัวอย่างต้นชาเพื่อทำการวัดปริมาณการแตกยอดอ่อน (ผลผลิตยอดชา) 5. เก็บตัวอย่างใบชาอ่อนจากแปลงทดลองของแต่ละกรรมวิธี เพื่อศึกษาความแปรปรวนของปริมาณสารแอนติออกซิแดนท์ในใบชาอ่อน	การใช้ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพซึ่งมีส่วนผสมของจุลินทรีย์ที่คัดเลือกได้ 3 กลุ่มคือ กลุ่มตรึงไนโตรเจน กลุ่มละลายฟอสฟอรัส และกลุ่มละลายโพแทสเซียม ในพื้นที่ไรชาของบริษัทชาละมิงค์ จำกัด พบว่าการใส่ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพ มีแนวโน้มที่ทำให้ - ดินมีคุณภาพที่ดีขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับดินปลูกชาก่อนการทดลอง - ชามีการดูดใช้ธาตุอาหารได้ดีขึ้น - ผลผลิตยอดอ่อนของชาเพิ่มขึ้น
--	--	--	--

	4.1.4 สุ่มตัวอย่างต้นชาเพื่อทำการวัดปริมาณการแตกยอดอ่อน 4.1.5 เก็บตัวอย่างใบชาอ่อนจากแปลงทดลองของแต่ละกรรมวิธี เพื่อศึกษาความแปรปรวนของปริมาณสารแอนติออกซิแดนซ์ในใบชาอ่อน		
	4.2 ศึกษาการระบาดของโรคและแมลงศัตรูพืชที่สำคัญในการผลิตชาในระบบอินทรีย์ 4.2.1 เก็บตัวอย่างโรคและแมลงที่สำคัญในแปลงทดลองและบริเวณใกล้เคียงเพื่อวินิจฉัยโรคและแมลงศัตรูพืชที่สำคัญในการผลิตชาในแปลงทดลองและบริเวณใกล้เคียง	ผลสำเร็จในการดำเนินการ 100 % เก็บตัวอย่างโรคและแมลงที่สำคัญในแปลงทดลองจำนวน 144 ต้นและบริเวณใกล้เคียงเพื่อวินิจฉัยโรคที่สำคัญในการผลิตชาในแปลงทดลองและบริเวณใกล้เคียง	จากการสำรวจโรคของชาจำนวน 144 ต้นในแปลงทดลองพบว่าแปลงทดลองปุ๋ยอินทรีย์ไม่มีการระบาดของโรคที่รุนแรง ในส่วนของแปลงที่มีการระบาดของโรครุนแรงซึ่งห่างจากแปลงทดลองปุ๋ยอินทรีย์ พบโรคสำคัญ 2 ชนิด คือ โรคแอนแทรคโนส ที่เกิดจากเชื้อ <i>Colletotrichum</i> sp. โรคราสน้ำตาลเกิดจากเชื้อรา <i>P. noxius</i>

ภาคผนวก 2 วิธีเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ (Culture Media Preparation)

IMA-2 medium (Inhibitory Mold Agar-2)

ส่วนประกอบในน้ำกลั่น 1 ลิตร	ปริมาณ (กรัม/ลิตร)
D-glucose	5.0
Starch (soluble)	5.0
Beef extract	1.0
Yeast extract	1.0
Nz-case	2.0
CaCO ₃	1.0
Agar	15.0

หลังจากนี้ฆ่าเชื้อโดยใช้ autoclave ที่อุณหภูมิ 121 ° C ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที ให้เติม antibiotics เมื่ออาหารเย็นลงประมาณ 40 ° C

Antibiotics ที่เติมลงในอาหารมีดังนี้:

1. Trimethoprim 20 mg (0.02 gm) ละลายใน DMSO 2 mL/อาหาร 1,000 mL (ยับยั้ง Bacteria)
2. Nalidixic acid 10 mg ละลายใน 1 mL 0.1 N, NaOH (NaOH ต้อง filtered sterilized ก่อนใช้) (ยับยั้ง Bacteria)
3. Heritage solution 10 mL /อาหาร 1 ลิตร (Fungicide) (Active ingredient: Azoxystrobin)
(Heritage solution: heritage (Azoxystrobin) 1 gm ละลายในน้ำกลั่น 29 mL)

สูตรอาหาร Nutrient Broth

ส่วนประกอบในน้ำกลั่น 1 ลิตร	ปริมาณ (กรัม/ลิตร)
Beef extract	3.0
Peptone	5.0

นึ่งฆ่าเชื้อ ที่อุณหภูมิ 121 ° C ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

สูตรอาหารสำหรับคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายเซลลูโลส (CMC medium)

ส่วนประกอบในน้ำกลั่น 1 ลิตร	ปริมาณ (กรัม/ลิตร)
CMC ¹ (Carboxy methyl) cellulose)	5.0
KH ₂ PO ₄	4.0
NaHPO ₄ .7H ₂ O	6.0
MgSO ₄ .7H ₂ O	0.2
yeast extract	1.0
Agar ²	15.0

¹เตรียมโดยละลายในน้ำร้อนก่อน ²ใส่หลังจากปรับค่า pH แล้ว

สูตรอาหาร Czapek's agar สำหรับคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ช่วยย่อยสลายฟอสฟอรัส

ส่วนประกอบในน้ำกลั่น 1 ลิตร	ปริมาณ (กรัม/ลิตร)
sucrose	30.0
NaNO ₃	2.0
Ca ₃ (PO ₄) ₂ หรือ AlPO ₄	1.0 หรือ 0.701
KCl	1.4
MgSO ₄ .7H ₂ O	0.5
FeSO ₄ .7H ₂ O	0.01
Rose Bengal ¹	0.035
Agar ¹	15.0

¹ใส่หลังจากปรับค่า pH แล้ว pH 7.3 ± 0.2

ภาคผนวก 3 สารที่ใช้ในการวิเคราะห์ฮอร์โมนพืช IAA (Indole-3-acetic acid)

3.1 วิธีเตรียม Standard series

เตรียมสารละลาย standard ของ Indole-3-acetic acid (MW = 175.19) ให้มีความเข้มข้น 10 mM ก่อน เพื่อใช้เป็น stock solution (ละลายสารใน 50% methanol) ทำการเจือจาง สารละลาย IAA 10 mM ให้เป็น 1 mM ด้วย 50% methanol แล้วใช้สารละลาย IAA ที่ความเข้มข้น 1 mM นี้ทำการเตรียมชุด standard series ที่มีความเข้มข้น 0, 10, 20, 50, 100, 150 μ M วิธีการดังในตาราง

Concentration of Standard series (μ M)	1 mM IAA + Nutrient Broth (NB) (Total volume = 1 mL)	
	1 mM IAA (μ L)	Medium (μ L)
0	0	1000
10	10	990
20	20	980
50	50	950
100	100	900
150	150	850

3.2 การเตรียมสาร salkovskii reagent

0.5 M FeCl_3 1 mL

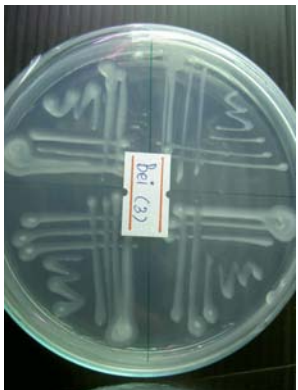
35% HClO_4 50 mL

บทความสำหรับการเผยแพร่

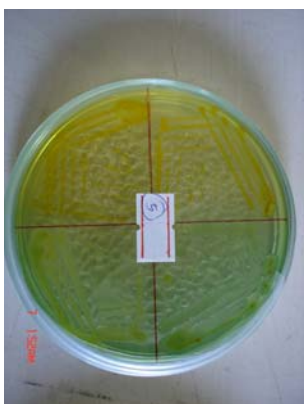
การใช้ปุ๋ยอินทรีย์-ชีวภาพในการผลิตชาอินทรีย์

ชาเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญในพื้นที่สูงของภาคเหนือ มีการใช้สารเคมีเกษตรในอัตราสูงอย่างต่อเนื่องในการผลิต ทำให้ดินเสื่อมความอุดมสมบูรณ์ทำให้ผลผลิตของชาลดลง อีกทั้งยังมีสารปนเปื้อนสู่สิ่งแวดล้อมสูงโดยเฉพาะแหล่งต้นน้ำบ่อสูง ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่จะเพิ่มปริมาณผลผลิตในขณะเดียวกันก็สามารถฟื้นฟูดินและอนุรักษ์สิ่งแวดล้อมด้วย อีกทั้งความต้องการของผู้บริโภคที่ห่วงใยต่อสุขภาพก็มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง การใช้ปุ๋ยอินทรีย์และจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์จะเป็นทางเลือกหนึ่งที่เหมาะสมในการลดการใช้สารเคมีเกษตรและอนุรักษ์สิ่งแวดล้อม อีกทั้งยังสามารถนำไปสู่การผลิตชาในระบบอินทรีย์ได้อีกด้วย

คณะนักวิจัยจากคณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ โดยการสนับสนุนจาก สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) ได้คัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการเพิ่มประโยชน์ของธาตุอาหารให้แก่ชาโดยตรง 3 กลุ่มคือ กลุ่มตรึงไนโตรเจน ได้แก่ *Azospirillum*, *Azotobacter* และ *Beijerinckia* กลุ่มละลายฟอสฟอรัส ได้แก่ *Penicillium* และ แอคติโนมัยซิส isolate, LGLA-01-012 และกลุ่มละลายไพแทลเซียม ได้แก่ *Bacillus* นำมาผลิตเป็นปุ๋ยอินทรีย์-ชีวภาพ โดยนำจุลินทรีย์แต่ละชนิดมาผสมกับปุ๋ยหมัก (ปุ๋ยหมักจากฟางข้าว และปุ๋ยหมักจากเปลือกกาแฟที่ย่อยสลายสมบูรณ์แล้ว ผสมกันในอัตรา 1:1 โดยปริมาตร) ให้มีปริมาณเชื้อแต่ละชนิดประมาณ 10^8 เซลล์/กรัมปุ๋ยหมัก แล้วนำไปใส่ให้ต้นชา ในแปลงปลูกชาบนพื้นที่สูง เขตอำเภอเชียงดาว จังหวัดเชียงใหม่ ซึ่งเป็นแปลงปลูกชาในระบบอินทรีย์ ใส่ปุ๋ยในช่วงต้นฤดูฝนและกลางฤดูฝนในอัตราประมาณ 2 กิโลกรัม/ต้น จากผลการศึกษาพบว่าหลังมีการใส่ปุ๋ยอินทรีย์-ชีวภาพแล้ว ในระยะเวลา 14 เดือน คุณภาพของดินมีแนวโน้มดีขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับดินปลูกชาก่อนการทดลอง โดยค่า pH ของดินมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น (ความเป็นกรดลดลง) จาก 4.7 เป็น 5.4 ปริมาณอินทรีย์วัตถุเพิ่มขึ้นจาก 3.45 เป็น 5.11 – 5.39 % การใส่ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพนอกจากจะส่งผลให้ค่า pH และอินทรีย์วัตถุสูงขึ้นแล้วปริมาณธาตุอาหาร ได้แก่ P, K, Ca, Mg, S และ Zn มีแนวโน้มที่เพิ่มขึ้นชัดเจน ส่วนปริมาณธาตุอาหารอื่น ได้แก่ B มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นหลังการใส่ปุ๋ยอินทรีย์เพียงเล็กน้อย ส่วนปริมาณธาตุบางธาตุมีแนวโน้มลดลงอย่างชัดเจน ได้แก่ Fe, Mn และ Cu และนอกจากการใส่ปุ๋ยอินทรีย์-ชีวภาพจะส่งเสริมให้ดินมีคุณภาพดีขึ้นแล้ว ยังมีแนวโน้มที่ช่วยส่งเสริมให้ผลผลิตของชาเพิ่มขึ้นประมาณร้อยละ 15 และ 9 ในฤดูการผลิตปี 2551 และปี 2552 ตามลำดับเมื่อเปรียบเทียบกับแปลงชาที่ไม่ได้ใส่ปุ๋ย



ก) จุลินทรีย์กลุ่มตรึงไนโตรเจน



ข) จุลินทรีย์กลุ่มละลายฟอสเฟต



ค) จุลินทรีย์กลุ่มละลายฟอสฟอรัส

สำหรับพื้นที่ปลูกชาบางพื้นที่ มีการใช้ปุ๋ยเคมีที่ให้ธาตุอาหารหลัก (NPK) อย่างต่อเนื่องมาเป็นระยะเวลาเวลายาวนาน พบว่าส่วนใหญ่จะมีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์และปริมาณโพแทสเซียมที่แตกเปลี่ยนได้อ้อยในระดับสูงเกินค่าที่เหมาะสม แต่มีแคลเซียมแมกนีเซียมในระดับต่ำ ทั้งนี้เป็นผลสืบเนื่องมาจากการสะสมของฟอสฟอรัสและโพแทสเซียมที่มาจากกาารใส่ปุ๋ยธาตุอาหารหลักอย่างต่อเนื่องและมีปริมาณสูง ประกอบกับการเป็นพื้นที่ลาดชัน มีการสูญเสียแคลเซียมและแมกนีเซียมไปกับชะล้างได้ง่าย ดินจึงมี pH แคลเซียมและแมกนีเซียมต่ำลง ดังนั้นควรใช้ปุ๋ยอินทรีย์ร่วมกับกาารใส่ปุ๋ยไนโตรเจน (Dolomite: $\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$) โดยผสมในปุ๋ยอินทรีย์ก่อนกาารใส่ลงดินโดยปฏิบัติตามอย่างค่อเนื่องในระยะยาว คาดว่าจะทำให้ค่า pH มีความเหมาะสมและคงที่มากขึ้น