

## บทที่ 3

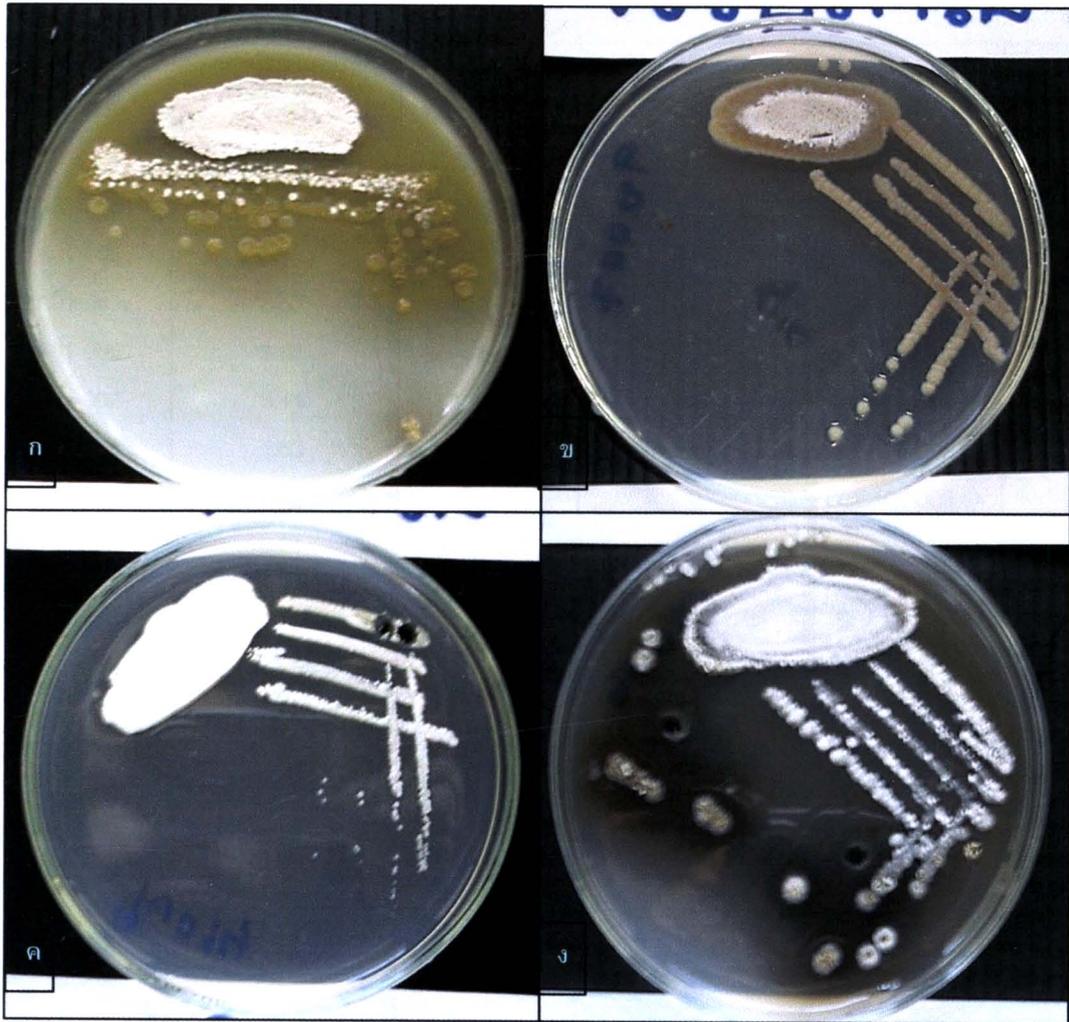
### ผลการทดลอง

#### 3.1 ผลการแยกแอคติโนมัยซิส และการประเมินการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส

ผลการแยกเชื้อแอคติโนมัยซิสจากใบลำไยที่ผู้พังย่อยสลายตามธรรมชาติ ได้เชื้อแอคติโนมัยซิสทั้งหมดจำนวน 84 isolates อย่างไรก็ตามในจำนวนนี้มีเชื้อที่ไม่สามารถขึ้นในอาหารเลี้ยงเชื้อได้อีก (เชื้อตาย) จำนวน 1 isolate คงเหลือเชื้อจำนวน 83 isolates (ตารางที่ 3.1) ส่วนการแยกเชื้อจากดินบริเวณโคนต้นลำไยได้เชื้อทั้งหมดจำนวน 36 isolates อย่างไรก็ตามในจำนวนนี้มีเชื้อที่ไม่สามารถขึ้นในอาหารเลี้ยงเชื้อได้อีก (เชื้อตาย) จำนวน 9 isolates เหลือเชื้อจำนวน 27 isolates (ตารางที่ 3.2) ส่วนการแยกเชื้อจากผิวใบชา และ ใบลำไยอีกจำนวนหนึ่งซึ่งพบว่า มีการเข้าย่อยใบพืชโดยมีลักษณะเป็นจุดที่มีการเริ่มการเข้าย่อยใบพืช ผลการแยกเชื้อจากผิวใบได้เชื้อทั้งหมดจำนวน 20 isolates แบ่งเป็นเชื้อจากผิวใบลำไยจำนวน 10 isolates และ จากผิวใบชาอีก 10 isolates (ตารางที่ 3.3) ตัวอย่างเชื้อบริสุทธิ์บางตัวที่แยกได้ดังแสดงใน ภาพที่ 3.1

จากการประเมินศักยภาพในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส (Cellulase) โดยดูจากการหาค่า clear zone ratio ที่คำนวณได้จากวงใสหรือ clear zone ที่เชื้อแต่ละ isolate สร้างขึ้นในจานอาหาร พบว่า ในกลุ่มของเชื้อแอคติโนมัยซิสที่แยกได้จากใบลำไยที่ผู้พัง มีเชื้อจำนวน 67 isolates ที่สร้างเอนไซม์ cellulase และมีจำนวน 16 isolates ที่ไม่สร้าง cellulase คิดเป็น 80.7% และ 19.3% ตามลำดับ ในกลุ่มที่สร้างเอนไซม์ cellulase มีค่า clear zone ratio ตั้งแต่ 1.63 ถึง 7.65 และเชื้อที่มีค่า clear zone ratio สูงมากมีจำนวน 2 isolates คือ LGLA02-021 และ LGLA03-021 โดยมีค่า clear zone ratio เป็น 6.26 และ 7.65 ตามลำดับ

**ในกลุ่มของเชื้อแอคติโนมัยซิสที่แยกได้จากดินบริเวณโคนต้นลำไย** มีเชื้อจำนวน 14 isolates ที่สร้างเอนไซม์ cellulase และมีจำนวน 13 isolates ที่ไม่สร้าง cellulase คิดเป็น 51.9% และ 48.1% ตามลำดับ ในกลุ่มที่สร้างเอนไซม์ cellulase มีค่า clear zone ratio ตั้งแต่ 2.11 ถึง 4.58 และเชื้อที่มีค่า clear zone ratio อยู่ในระดับปานกลางแต่สูงกว่า isolates อื่นๆในกลุ่มนี้มีจำนวน 3 isolates คือ LGSA01-003, LGSA01-016 และ LGSA01-002 โดยมีค่า clear zone ratio เป็น 4.58, 4.26 และ 4.25 ตามลำดับ (ตารางที่ 3.2 และ 3.3)



ภาพที่ 3.1 ตัวอย่าง isolates ของเชื้อ Actinomycetes ที่แยกได้ ก) LGLA-03-026, ข) LSA-007, ค) LSA-014, และ ง) TSA-006

ตารางที่ 3.1 เชื้อแอคติโนมัยซีสที่แยกได้จากใบลำไยและศักยภาพในการผลิต

เอนไซม์เซลลูเลส (clear zone ratio)

Isolates no.	Clear zone ratio	Isolates no.	Clear zone ratio	Isolates no.	Clear zone ratio
LGLA01-001	4.48	LGLA02-001	4.34	LGLA03-001	2.07
LGLA01-002	2.26	LGLA02-002	2.81	LGLA03-002	0
LGLA01-003	3.77	LGLA02-003	4.05	LGLA03-003	2.10
LGLA01-004	2.94	LGLA02-004	4.69	LGLA03-004	3.74
LGLA01-005	3.57	LGLA02-005	4.00	LGLA03-005	4.32
LGLA01-006	3.07	LGLA02-006	2.76	LGLA03-006	4.56
LGLA01-007	3.14	LGLA02-007	2.58	LGLA03-007	3.83
LGLA01-008	1.63	LGLA02-008	4.22	LGLA03-008	4.21
LGLA01-009	2.99	LGLA02-009	0	LGLA03-009	2.86
LGLA01-010	3.21	LGLA02-010	5.00	LGLA03-010	0
LGLA01-011	4.06	LGLA02-011	3.24	LGLA03-011	1.83
LGLA01-012	3.66	LGLA02-012	2.13	LGLA03-012	4.34
LGLA01-013	0	LGLA02-013	1.76	LGLA03-013	2.04
LGLA01-014	0	LGLA02-014	0	LGLA03-014	2.48
LGLA01-015	0	LGLA02-015	3.12	LGLA03-015	0
LGLA01-016	3.18	LGLA02-016	2.32	LGLA03-016	2.55
LGLA01-017	0	LGLA02-017	2.35	LGLA03-017	3.80
LGLA01-018	3.22	LGLA02-018	4.09	LGLA03-018	5.23
LGLA01-019	0	LGLA02-019	4.74	LGLA03-019	0
LGLA01-020	0	LGLA02-020	4.87	LGLA03-020	2.38
LGLA01-021	0	<b><u>LGLA02-021</u></b>	<b><u>6.26</u></b>	<b><u>LGLA03-021</u></b>	<b><u>7.65</u></b>
LGLA01-022	2.24	LGLA02-022	3.42	LGLA03-022	2.84
LGLA01-023	3.76	LGLA02-023	2.92	LGLA03-023	3.46
LGLA01-024	0	LGLA02-024	5.52	LGLA03-024	2.47
LGLA01-025	0	LGLA02-025	3.83	LGLA03-025	2.33
LGLA01-026	2.13			LGLA03-026	3.79
LGLA01-027	3.11			LGLA03-027	ตาย
LGLA01-028	5.00				
LGLA01-029	0				
LGLA01-030	2.43				
LGLA01-031	2.80				
LGLA01-032	2.57				

LGLA = Longan Leaf Actinomycetes

ตารางที่ 3.2 ศักยภาพการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส (clear zone ratio) ของเชื้อแอคติโนมัยซีส  
ที่แยกได้จากดิน

Isolates no.	Clear zone ratio	Isolates no.	Clear zone ratio	Isolates no.	Clear zone ratio
LGSA01-001	ตาย	LGSA02-001	3.55	LGSA03-001	4.04
LGSA01-002	4.25	LGSA02-002	0	LGSA03-002	0
LGSA01-003	4.58	LGSA02-003	0	LGSA03-003	0
LGSA01-004	ตาย	LGSA02-004	0	LGSA03-004	3.80
LGSA01-005	3.05	LGSA02-005	0	LGSA03-005	3.68
LGSA01-006	3.91	LGSA02-006	0	LGSA03-006	0
LGSA01-007	2.11	LGSA02-007	2.60		
LGSA01-008	ตาย	LGSA02-008	ตาย		
LGSA01-009	ตาย	LGSA02-009	0		
LGSA01-010	0	LGSA02-010	0		
LGSA01-011	ตาย	LGSA02-011	2.87		
LGSA01-012	ตาย	LGSA02-012	0		
LGSA01-013	0				
LGSA01-014	ตาย				
LGSA01-015	ตาย				
LGSA01-016	4.26				
LGSA01-017	2.60				
LGSA01-018	3.08				

LGSA = Longan Soil Actinomycetes

ตารางที่ 3.3 เชื้อแอคติโนมัยซีสที่แยกได้จากผิวใบลำไย และผิวใบชา

ผิวใบลำไย	ผิวใบชา
LSA-001	TSA-001
LSA-003	TSA-002
LSA-004	TSA-003
LSA-005	TSA-004
LSA-006	TSA-005
LSA-007	TSA-006
LSA-008	TSA-007
LSA-012	TSA-008
LSA-013	TSA-009
LSA-014	TSA-010

LSA = Longan-leaf Surface Actinomycetes; TSA = Tea-leaf Surface Actinomycetes



### 3.2 ผลการประเมินความสามารถในการผลิตฮอร์โมนพืช IAA

ได้ทำการประเมินความสามารถในการผลิตฮอร์โมนพืช IAA (Indole-3-acetic acid) ของเชื้อบริสุทธิ์ที่แยกได้จากผิวใบลำไยและผิวใบชา โดยวิธีของ Gordon *et al.* (1951) เพื่อให้ได้ผลสำหรับการคัดเลือกเชื้อไปทดลองในสนามได้ในช่วงแรก ผลการวิเคราะห์ปริมาณ IAA ในอาหารเลี้ยงเชื้อพบว่า เชื้อทุกตัวที่แยกได้จากผิวใบลำไยและผิวใบชาสามารถสร้าง IAA ได้ โดยมีปริมาณการผลิตตั้งแต่ปานกลาง (> 3 ถึง ~ 5  $\mu\text{mole/g dry cell}$ ); ปานกลางค่อนข้างสูง (> 5 ถึง ~ 10  $\mu\text{mole/g dry cell}$ ); สูง (> 10 ถึง ~ 15  $\mu\text{mole/g dry cell}$ ) และสูงมาก (> 20 ถึง ~ >30  $\mu\text{mole/g dry cell}$ ) เชื้อแอกติโนมัยซีตที่มีความสามารถในการผลิต IAA ในปริมาณที่สูงมากมี 6 isolates คือ TSA-009, LGL-03-026, LSA-005, LSA-001, TSA-010 และ TSA-007 โดยมีปริมาณการผลิต IAA เป็น 21.7; 22.0; 23.1; 26.1; 30.3; และ 35.8  $\mu\text{mole/g dry cell}$  (ตารางที่ 3.4)

ตารางที่ 3.4 ปริมาณการผลิต IAA ของเชื้อที่แยกได้จากผิวใบลำไย และใบชา

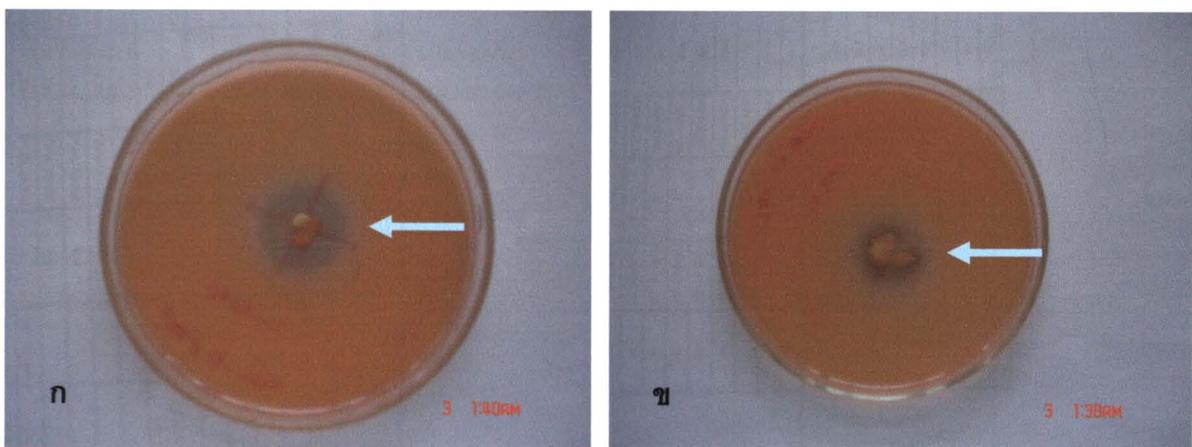
ผิวใบลำไย	IAA ( $\mu\text{mole/g dry cell}$ )	ผิวใบชา	IAA ( $\mu\text{mole/g dry cell}$ )
LSA-001	26.13	TSA-001	3.59
LSA-004	8.52	TSA-002	9.17
LSA-005	23.08	TSA-003	3.37
LSA-006	5.94	TSA-004	6.72
LSA-007	7.42	TSA-005	2.89
LSA-008	7.41	TSA-006	<u>12.51</u>
LSA-012	4.51	TSA-007	35.77
LSA-013	5.06	TSA-008	<u>16.40</u>
LSA-014	6.07	TSA-009	21.66
LGL-03-021	9.39	TSA-010	30.30
LGL-03-026	21.99		
LGL-02-002	3.84		

LSA = Longan-leaf Surface Actinomycetes; LGL = Longan Leaf;

TSA = Tea-leaf Surface Actinomycetes

### 3.3 การประเมินประสิทธิภาพเบื้องต้นในการละลายฟอสฟอรัสของเชื้อแอคติโนมัยซีส

การประเมินประสิทธิภาพการละลายฟอสเฟตโดยดูจากการเกิด clear zone ที่เชื้อแอคติโนมัยซีส แต่ละ isolate สร้างขึ้น ซึ่งตัวอย่างของ clear zone ดังภาพที่ 3.2 จากผลการทดลองพบว่าในกลุ่มของเชื้อแอคติโนมัยซีส ที่แยกได้จากใบลำไยที่สุก มีเชื้อจำนวน 56 isolates ที่มีความสามารถในการย่อยละลายฟอสเฟต และมีจำนวน 26 isolates ที่ไม่พบการละลายของฟอสเฟต ในกลุ่มที่ละลายฟอสเฟตมีขนาด clear zone ratio ตั้งแต่ 0.55-2.85 และเชื้อที่มีศักยภาพในการย่อยละลายฟอสเฟตสูงสุดคือ LGLA 01-012 โดยมีค่าเป็น 2.85 (ตารางที่ 3.5) ในส่วนของเชื้อแอคติโนมัยซีสที่แยกจากดินบริเวณโคนต้นลำไยพบว่ามี 14 isolates ที่มีศักยภาพในการละลายฟอสเฟต ซึ่งขนาดของ clear zone ratio อยู่ในช่วง 1.20-3.00 และมี 13 isolates ที่ไม่พบการละลายฟอสเฟต (ตารางที่ 3.6) ในกลุ่มของเชื้อแอคติโนมัยซีส ที่แยกได้จากผิวใบลำไยและผิวใบชาพบการละลายฟอสเฟตอยู่ 18 isolates มี clear zone ratio อยู่ในช่วง 0.65-2.10 ซึ่งตัวที่มีสูงสุดคือ เชื้อแอคติโนมัยซีส ที่แยกจากผิวใบชา isolate no. 002 (ตารางที่ 3.7) สำหรับในกลุ่มของเชื้อแบคทีเรียที่แยกมาจากดินบริเวณรากชา พบว่ามีการละลายฟอสเฟตอยู่เพียง 3 isolates คือ TR-02 TR-08 และ TR-13 ซึ่งมีค่า clear zone ratio เท่ากับ 3.75 3.20 และ 3.58 ตามลำดับ ส่วนอีก 6 isolates ไม่พบการละลายฟอสเฟต (ตารางที่ 3.8)



ภาพที่ 3.2 ตัวอย่างการย่อยละลายฟอสเฟตของเชื้อแอคติโนมัยซีสสังเกตจากวงใส (clear zone) รอบโคโลนี (ลูกศรชี้) ก) มีการย่อยละลายเล็กน้อย ข) มีการย่อยละลายปานกลาง

ตารางที่ 3.5 ประสิทธิภาพเทียบจาก clear zone ratio ของเชื้อ Actinomycetes จากใบลำไยที่  
 ผุพังในการละลายฟอสเฟต

รหัส	Clear zone ratio	รหัส	Clear zone ratio	รหัส	Clear zone ratio
LGLA01-001	2.15	LGLA02-001	2.20	LGLA03-001	1.70
LGLA01-002	1.70	LGLA02-002	0	LGLA03-002	0.90
LGLA01-003	2.10	LGLA02-003	0	LGLA03-003	0.55
LGLA01-004	1.50	LGLA02-004	2.40	LGLA03-004	0.65
LGLA01-005	0.60	LGLA02-005	0	LGLA03-005	1.60
LGLA01-006	2.05	LGLA02-006	1.05	LGLA03-006	1.35
LGLA01-007	2.90	LGLA02-007	1.05	LGLA03-007	0.90
LGLA01-008	1.10	LGLA02-008	1.60	LGLA03-008	1.25
LGLA01-009	0	LGLA02-009	1.50	LGLA03-009	0.90
LGLA01-010	1.65	LGLA02-010	1.15	LGLA03-010	0.80
LGLA01-011	0.70	LGLA02-011	0	LGLA03-011	1.35
LGLA01-012	2.85	LGLA02-012	0.95	LGLA03-012	1.05
LGLA01-013	1.45	LGLA02-013	1.85	LGLA03-013	1.85
LGLA01-014	0.85	LGLA02-014	0	LGLA03-014	0.85
LGLA01-015	0.95	LGLA02-015	2.30	LGLA03-015	1.15
LGLA01-016	0	LGLA02-016	0	LGLA03-016	0
LGLA01-017	0	LGLA02-017	0	LGLA03-017	ตาย
LGLA01-018	0	LGLA02-018	0	LGLA03-018	0.95
LGLA01-019	0.80	LGLA02-019	1.35	LGLA03-019	1.50
LGLA01-020	0	LGLA02-020	0	LGLA03-020	0
LGLA01-021	0	LGLA02-021	0	LGLA03-021	0
LGLA01-022	1.40	LGLA02-022	0	LGLA03-022	1.50
LGLA01-023	1.05	LGLA02-023	0	LGLA03-023	0
LGLA01-024	2.10	LGLA02-024	1.00	LGLA03-024	1.00
LGLA01-025	0	LGLA02-025	1.10	LGLA03-025	1.25
LGLA01-026	0			LGLA03-026	1.35
LGLA01-027	0			LGLA03-027	ตาย
				LGLA01-028	0
				LGLA01-029	1
				LGLA01-030	1.90
				LGLA01-031	1.50
				LGLA01-032	1.30

<sup>1</sup>LGLA = Longan Leaf Actinomycetes

ตารางที่ 3.6 ประสิทธิภาพเทียบจาก clear zone ratio ของเชื้อแอคติโนมัยซีส จากดินบริเวณ  
โคนต้นลำไยในการละลายฟอสเฟต

รหัส	Clear zone ratio	รหัส	Clear zone ratio	รหัส	Clear zone ratio
LGSA01-001	ตาย	LGSA02-001	0	LGSA03-001	2.05
LGSA01-002	2.20	LGSA02-002	0	LGSA03-002	0
LGSA01-003	1.80	LGSA02-003	1.20	LGSA03-003	0
LGSA01-004	ตาย	LGSA02-004	1.15	LGSA03-004	0
LGSA01-005	0	LGSA02-005	0	LGSA03-005	0
LGSA01-006	1.20	LGSA02-006	2.25	LGSA03-006	3.00
LGSA01-007	0	LGSA02-007	0		
LGSA01-008	ตาย	LGSA02-008	ตาย		
LGSA01-009	ตาย	LGSA02-009	0		
LGSA01-010	0	LGSA02-010	0		
LGSA01-011	ตาย	LGSA02-011	2.20		
LGSA01-012	ตาย	LGSA02-012	1.15		
LGSA01-013	2.75				
LGSA01-014	ตาย				
LGSA01-015	ตาย				
LGSA01-016	2.10				
LGSA01-017	1.65				
LGSA01-018	1.45				

LGSA = Longan Soil Actinomycetes

ตารางที่ 3.7 ประสิทธิภาพเทียบจาก clear zone ration ของเชื้อ Actinomycetes ที่แยกจากผิวใบลำไยและผิวใบชาในการละลายฟอสเฟต

ผิวใบลำไย รหัส	Clear zone ratio	ผิวใบชา รหัส	Clear zone ratio
LSA-001	0	TSA-001	1.35
LSA-003	1.15	TSA-002	2.10
LSA-004	1.15	TSA-003	1.25
LSA-005	0.65	TSA-004	1.55
LSA-006	1.20	TSA-005	1.45
LSA-007	1.00	TSA-006	1.65
LSA-008	0.65	TSA-007	1.35
LSA-012	1.55	TSA-008	2.00
LSA-013	1.25	TSA-009	0
LSA-014	1.20	TSA-010	1.05

LSA = Longan-leaf Surface Actinomycetes;

TSA = Tea-leaf Surface Actinomycetes

ตารางที่ 3.8 ประสิทธิภาพเทียบจาก clear zone ration ของเชื้อ Actinomycetes เชื้อแบคทีเรียที่แยกมาจากดินบริเวณรากชาในการละลายฟอสเฟต

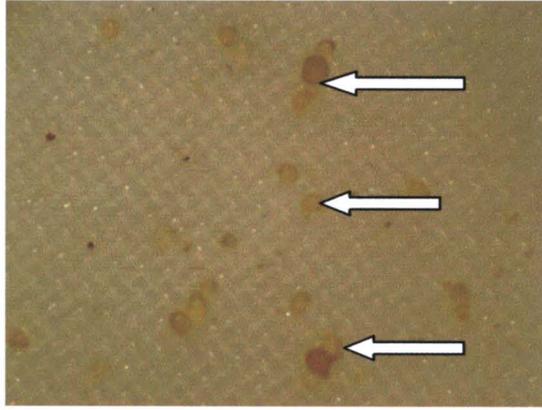
รหัส	Clear zone ratio	รหัส	Clear zone ratio
TR 01	0	TR 08	3.20
TR 02	3.71	TR 09	ตาย
TR 03	0	TR 10	ตาย
TR 04	ตาย	TR 11	0
TR 05	ตาย	TR 12	ตาย
TR 06	0	TR 13	3.58
TR 07	0	TR 14	0

TR = Tea Root

### 3.4 การคัดแยกและขยายเชื้อไมคอร์ไรซา

#### 3.4.1 ผลคัดแยกสปอร์จากดินบริเวณรากชา

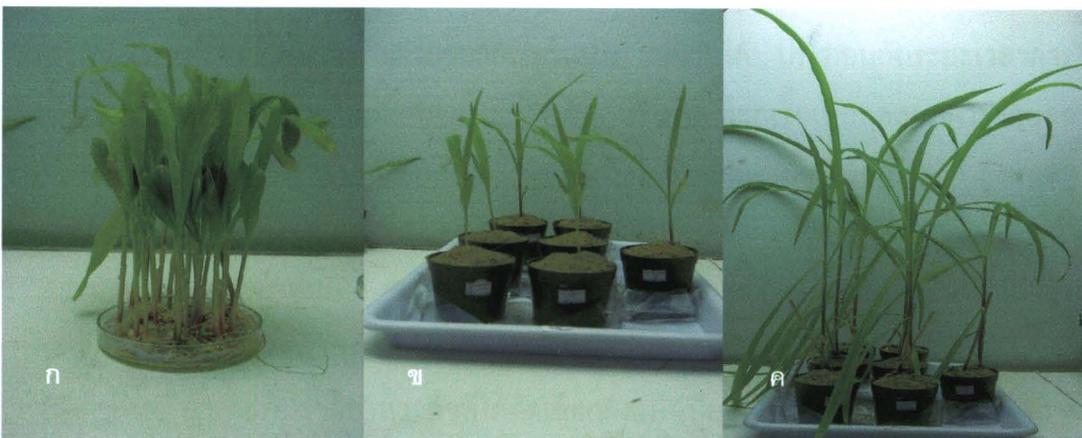
เมื่อเก็บดินจากบริเวณรอบรากต้นชา มาร่อนสปอร์พบสปอร์เชื้อราออบัสคูลารีไมคอร์ไรซา เพียง 1 isolate เท่านั้น โดยสปอร์มีขนาด 45-125  $\mu\text{m}$ . รูปร่างกลม มีสีน้ำตาล (ภาพที่ 3.3)



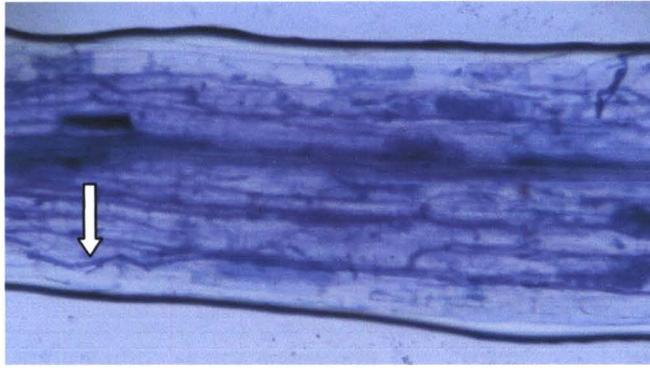
ภาพที่ 3.3 ลักษณะของสปอร์ออบัสคูลารีไมคอร์ไรซาเชื้อราสกุล *Glomus* sp. ที่พบบริเวณรากชา

#### 3.4.2 การขยายปริมาณสปอร์ของเชื้อราออบัสคูลารีไมคอร์ไรซาชนิด *Glomus* sp.

ได้ทดลองขยายปริมาณสปอร์ของเชื้อราออบัสคูลารีไมคอร์ไรซาเชื้อราสกุล *Glomus* sp. โดยใช้ต้นข้าวโพดที่ปลูกในทรายที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ (ภาพที่ 3.4) เป็นเวลา 1 เดือน พบว่า เชื้อราไมคอร์ไรซาเข้ารากได้ดี (ภาพที่ 3.5) และมีจำนวนสปอร์เฉลี่ย 28 สปอร์/มิลลิลิตร และทำการเก็บสปอร์ที่ขยายปริมาณได้ไว้ในสารละลาย Ringer solution เพื่อรอทำการทดลองขั้นต่อไป



ภาพที่ 3.4 การขยายปริมาณสปอร์ของเชื้อราออบัสคูลารีไมคอร์ไรซาในต้นข้าวโพด ก) การเพาะเมล็ดข้าวโพด ข) ย้ายปลูกต้นกล้าข้าวโพดลงในกระถาง ค) ข้าวโพดอายุประมาณ 1 เดือน



ภาพที่ 3.5 ลักษณะการเข้ารากของเส้นใยสปอร์ไมคอร์ไรซา (ลูกศรชี้) ในรากข้าวโพด

### 3.4.3 การขยายปริมาณสปอร์ไมคอร์ไรซาเพื่อใช้ในการทดลองภาคสนาม

การขยายปริมาณสปอร์ไมคอร์ไรซาโดยใช้ต้นข้าวโพดประสบปัญหา กล่าวคือปริมาณสปอร์มีน้อย และมีขนาดเล็ก จึงไม่สามารถผลิตเพื่อใช้ในการทดลองภาคสนามได้ **คณะผู้วิจัยจึงได้ตัดกรรมวิธีที่มีการใช้ไมคอร์ไรซาออก**

### 3.5 ผลการคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์เพื่อใช้ทดสอบในภาคสนาม

เนื่องจากการวิจัยครั้งนี้ได้ดำเนินงานในภาคสนามตั้งแต่เริ่มโครงการ โดยมีกรรมวิธีที่ต้องผสมจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ในปุ๋ยอินทรีย์และใช้ผลิตเป็นปุ๋ยชีวภาพ ดังนั้นกลุ่มจุลินทรีย์จึงมีสองชุดคือ ชุดแรกเป็นจุลินทรีย์กลุ่มที่ได้ผ่านการคัดเลือกจากโครงการอื่นๆของคณะผู้วิจัยนี้และชุดที่สองเป็นจุลินทรีย์ที่แยกได้จากโครงการวิจัยนี้โดยชุดที่สองนี้เลือกเฉพาะกลุ่มที่สร้างเอนไซม์เซลลูเลสเท่านั้น (จากผลการทดลองข้อ 3.1) ส่วนกลุ่มอื่นๆไม่สามารถเลือกนำไปใช้ทันในภาคสนามได้ (เชื้อจากผลการทดลองข้อ 3.2 ถึง 3.3) เนื่องจากส่วนใหญ่เป็นกลุ่มเชื้อแอคติโนมัยซีตซึ่งหลายตัวที่มีศักยภาพสูงในแต่ละด้านยังไม่สามารถขยายเชื้อในปริมาณมากได้ ประกอบกับระยะเวลาการใส่ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพต้องดำเนินการตามระยะเวลา การคัดเลือกเชื้อเพื่อทดสอบการย่อยสลายใบชาเบื้องต้นในโรงเรือนได้เชื้อ 3 isolates โดยเลือกเชื้อที่มีการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้ สูง กลาง และต่ำ คือ LGLA-02-021, LGLA-03-026 และ LGLA-01-015 โดยมีค่า clear zone ratio อยู่ที่ 6.26, 3.79 และ 0 ตามลำดับ ส่วนเชื้อกลุ่มนี้ที่เลือกนำไปขยายและผสมกับปุ๋ยอินทรีย์เพื่อทดลองภาคสนามคือ LGLA-02-021 (ตารางที่ 3.9)

จุลินทรีย์กลุ่มเพิ่มธาตุอาหารพืชที่ได้คัดเลือกผสมในปุ๋ยอินทรีย์เพื่อทดลองในภาคสนามนั้น บาง isolate ได้จากงานวิจัยก่อนหน้าของคณะผู้วิจัย และบาง isolate ได้จากงานวิจัยครั้งนี้ โดยได้เลือกจาก 3 กลุ่มคือ กลุ่มตรึงไนโตรเจน ได้แก่ *Azospirillum*, *Azotobacter* และ *Beijerinckia*

กลุ่มละลายฟอสฟอรัส ได้แก่ *Penicillium* และ แอคติโนมัยซีส isolate, LGLA-01-012 อีกกลุ่มหนึ่งคือกลุ่มละลายโพแทสเซียม ได้แก่ *Bacillus* (ตารางที่ 3.9)

ตารางที่ 3.9 จุลินทรีย์ที่ได้คัดเลือกกว่ามีศักยภาพสูงในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชเพื่อใช้ในการทดลองขั้นต่อไป

การทดลอง	กลุ่มจุลินทรีย์ที่ใช้				
	ตรึงไนโตรเจน	ละลายฟอสฟอรัส	ละลายโพแทสเซียม	สร้างฮอริโมนพืช	สร้างเอนไซม์เซลลูเลส
1.ทดสอบการย่อยสลายใบชา	-	-	-	-	LGLA-02-021 <sup>2</sup> LGLA-01-015 <sup>2</sup> LGLA-03-026 <sup>2</sup>
2.การทดลองภาคสนาม	<i>Azospirillum</i> <sup>1</sup> <i>Azotobacter</i> <sup>1</sup> <i>Beijerinckia</i> <sup>1</sup>	<i>Penicillium</i> <sup>1</sup>	<i>Bacillus</i> <sup>1</sup>	<i>Azospirillum</i> <sup>1</sup>	*LGLA02-021 <sup>2</sup>
	ใช้ในการรวมวิธีที่ผสมกับปุ๋ยอินทรีย์ (Tr.2) และ ใช้ผลิตเป็นปุ๋ยชีวภาพเพื่อใช้ใน Tr.3 (ดังรายละเอียดในบทที่ 3)				*ใช้ผสมเฉพาะในการรวมวิธีที่ใส่ปุ๋ยอินทรีย์

<sup>1</sup>กลุ่มจุลินทรีย์ที่ได้ผ่านการคัดเลือกจากงานวิจัยก่อนหน้าของคณะผู้วิจัย

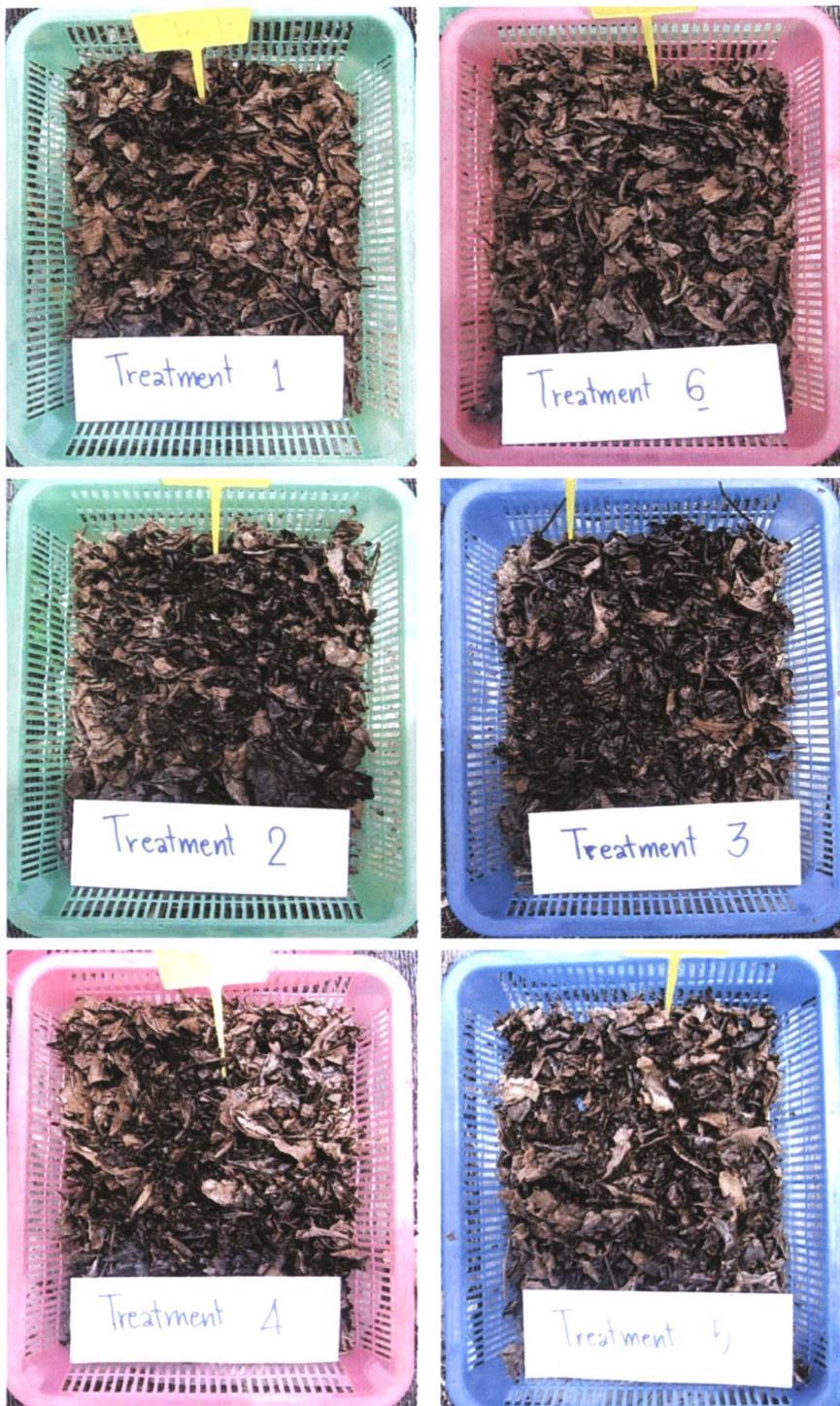
<sup>2</sup>กลุ่มจุลินทรีย์ที่ได้คัดเลือกจากงานวิจัยครั้งนี้

### 3.6 ผลการทดสอบการย่อยสลายของใบชา

จากการตรวจสอบลักษณะการย่อยใบชาของตัวรับต่างๆพบว่าหลังผ่านการหมักได้ประมาณ 1 เดือน ลักษณะของใบชาในกรรมวิธีที่ 1 และ 6 มีการย่อยสลายที่ไม่ต่างกันและน้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับตัวรับที่ 3, 4 และ 5 ซึ่ง ใส่เชื้อแอคติโนมัยซีส มีการย่อยสลายที่ชัดเจนมากกว่า (ภาพที่ 3.6) อย่างไรก็ตามในเดือนที่ 2 ดูเหมือนว่ามีอัตราการย่อยสลายน้อยลงทุกตัวรับ กล่าวคือไม่แตกต่างกันนักจากเดือนที่ 1 อาจเนื่องมาจากเป็นช่วงที่มีฝนตก และ อุณหภูมิต่ำกว่าช่วงเดือนที่ 1 หลังจากผ่านการหมักประมาณ 3 เดือน ลักษณะการย่อยของใบชามีความแตกต่างกันระหว่างตัวรับการทดลองและมีแนวโน้มเช่นเดียวกับช่วงเดือนที่ 1 และ 2 กล่าวคือ กรรมวิธีที่ 1 และ 6 ไม่แตกต่างกันมากนักและมีการย่อยสลายที่น้อยกว่า กรรมวิธีที่ 3, 4 และ 5 (ภาพที่ 3.7)



ภาพที่ 3.6 ลักษณะการย่อยสลายของใบชาหลังผ่านการหมักประมาณ 1 เดือน:  
 แถวบน กรรมวิธีที่ 1 ไม่ใส่เชื้อ และ กรรมวิธีที่ 6 ใส่ชูปเปอร์ฟัด. 1;  
 แถวกลาง กรรมวิธีที่ 2 ใส่เชื้อ LGLA 02-021 และ กรรมวิธีที่ 3 ใส่เชื้อ LGLA 01-015;  
 แถวล่าง กรรมวิธีที่ 5 ใส่เชื้อผสม LGLA 02-021 +LGLA 01-015+ LGLA 03-026



ภาพที่ 3.7 ลักษณะการย่อยสลายของใบชาหลังผ่านการหมักประมาณ 1 เดือน:

แถวบน กรรมวิธีที่ 1 ไม่ใส่เชื้อ และ กรรมวิธีที่ 6 ใส่ซูเปอร์ฟัด. 1; แถวกลาง กรรมวิธีที่ 2 ใส่เชื้อ LGLA 02-021 และ กรรมวิธีที่ 3 ใส่เชื้อ LGLA 01-015; แถวล่าง กรรมวิธีที่ 4 ใส่เชื้อ LGLA 03-026 และ กรรมวิธีที่ 5 ใส่เชื้อผสม LGLA 02-021 +LGLA 01-015+ LGLA 03-026

### 3.7 ผลของปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพต่อคุณภาพและผลผลิตของชาในภาคสนาม

#### 3.7.1 ผลการตรวจสอบสมบัติของดินก่อนการทดลอง

การศึกษาผลของการใช้ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพต่อคุณภาพและผลผลิตของชา ได้ดำเนินการศึกษาในระหว่าง เดือน กรกฎาคม 2551- ตุลาคม 2552 โดยใช้พื้นที่แปลงปลูกชาของบริษัทชาอะมิงค์ ซึ่งทางบริษัท ได้เริ่มบุกเบิก ทำไร่ชา และผลิตใบชาตั้งแต่ปี พ.ศ. 2510 บนพื้นที่ภูเขาสูง แหล่งต้นน้ำ อ. แม่แตง จ. เชียงใหม่ กว่า 3,000 ไร่ โดยมีการใช้ปัจจัยการผลิตตามวิธีการผลิตชาโดยทั่วไป ภายหลังจากประมาณปี 2548 ได้ปรับเปลี่ยนแนวทาง มาทำการผลิตชาในระบบอินทรีย์ ต่อมาในต้นปี 2551 ทางคณะผู้วิจัยได้เข้าไปสำรวจเพื่อศึกษาความอุดมสมบูรณ์ดินในบริเวณดังกล่าวพบว่า ดินในแปลงปลูกชาของบริษัทนั้น สภาพดินโดยทั่วไปเป็นดินกรดจัด (pH 4.76) มีอินทรีย์วัตถุในระดับสูง (3.45%) มีระดับปริมาณธาตุอาหารหลักในระดับสูง – สูงมาก เช่น ปริมาณฟอสฟอรัสอยู่ในระดับสูง(102.37 mg/kg) และ โปแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้สูงมาก (> 300 mg/kg) มีปริมาณแคลเซียมและแมกนีเซียมต่ำมาก เมื่อเปรียบเทียบกับดินป่าธรรมชาติที่อยู่รอบ ๆ จะเห็นว่าความอุดมสมบูรณ์ของดินที่ผ่านการทำการเกษตรมาเป็นระยะเวลายาวนาน มีการใช้ปุ๋ยเคมีอย่างต่อเนื่อง นั้นจะมีความอุดมสมบูรณ์ที่ลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับดินในป่าธรรมชาติ โดยเฉพาะอย่างยิ่งความเป็นกรด-ด่างของดินและระดับอินทรีย์วัตถุ ดังแสดงในตารางที่ 3.10

ตารางที่ 3.10 คุณสมบัติของดินในบริเวณแปลงปลูกชาของบริษัทชาอะมิงค์

ตัวอย่างดิน	pH	EC μS/cm	OM %	N %	P mg/kg	K mg/kg	Ca mg/kg
ดินในแปลงปลูกชา	4.76	11.00	3.45	0.18	102.37	336.40	333.48
ดินป่าธรรมชาติ	5.82	15.30	5.52	0.28	7.14	376.43	1549.51

ตัวอย่างดิน	Mg mg/kg	Fe mg/kg	Mn mg/kg	Cu mg/kg	Zn mg/kg	S mg/kg	B mg/kg
ดินในแปลงปลูกชา	55.43	142.83	24.75	1.85	1.04	15.72	0.18
ดินป่าธรรมชาติ	220.14	87.98	37.16	0.49	0.82	1.24	0.16

### 3.7.2 ผลของปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพต่อการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของดิน

#### 3.7.2.1 ปริมาณธาตุอาหารในดิน

ในการศึกษาการเพิ่มความอุดมสมบูรณ์ดินของแปลงปลูกชาที่ทำการผลิตในระบบอินทรีย์ โดยใช้ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพ คณะผู้วิจัยได้ทดลองใส่ปุ๋ยครั้งแรกในช่วงกลางเดือนสิงหาคม 2551 ภายหลังจากใส่ปุ๋ยประมาณ 1 เดือน ได้เก็บตัวอย่างดินมาวิเคราะห์หาปริมาณธาตุอาหารในดิน (ผลการวิเคราะห์ดินแสดงในตารางที่ 3.11 และ 3.12) และในช่วงกลางเดือนกันยายนได้ใส่ปุ๋ยให้กับแปลงชาในครั้งที่ 2 ในต้นช่วงฤดูหนาวปลายปี 2551 ไม่มีฝนตกบนพื้นที่ปลูกชา ผลผลิตชามีปริมาณน้อยมาก เจ้าของสวนชาได้ทำการตัดแต่งต้นชา (ตัดแต่งใบออกหมดเหลือแต่กิ่งก้านเท่านั้น) จึงทำให้ไม่มีผลผลิตชาในช่วงฤดูหนาว ภายหลังจากตัดแต่งกิ่ง/ต้น จึงมีการใส่ปุ๋ยให้กับต้นชาในครั้งที่ 3 (ช่วงต้นเดือนกุมภาพันธ์ 2552) หลังจากต้นชาได้แตกยอดใหม่ (ประมาณต้นเดือนเมษายน 2552) จึงได้ทำการเก็บตัวอย่างดินมาวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารในดิน (ผลการวิเคราะห์ดินแสดงในตารางที่ 3.13 และ 3.14) หลังจากนั้นก็ใส่ปุ๋ยให้กับชาครั้งสุดท้ายในช่วงฤดูฝน (มิถุนายน 2552) และหลังจากใส่ปุ๋ยครั้งสุดท้ายได้ 6 เดือน (ตุลาคม 2552) จึงทำการเก็บตัวอย่างดินมาวิเคราะห์ความเข้มข้นของธาตุอาหารในดินอีกครั้ง (ผลการวิเคราะห์ดินแสดงในตารางที่ 3.15 และ 3.16 2.8)

จากการวิเคราะห์คุณสมบัติของดินเบื้องต้นของแปลงปลูกชา บริษัทชาระมิงค์ ในช่วงเดือนเมษายน 2551 พบว่าโดยทั่วไปดินมีสภาพเป็นดินกรดจัด (pH 4.76) มีอินทรีย์วัตถุในระดับสูง (3.45%) มีระดับปริมาณธาตุอาหารหลักในระดับสูง - สูงมาก เช่น ปริมาณฟอสฟอรัสอยู่ในระดับสูง (102.37 mg/kg) และ โพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้สูงมาก (> 300 mg/kg) มีปริมาณแคลเซียมและแมกนีเซียมต่ำมาก ภายหลังจากใส่ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพ 1 เดือน (ใส่ปุ๋ยครั้งแรกในช่วงเดือนสิงหาคม 2551) เมื่อเก็บตัวอย่างดินมาวิเคราะห์พบว่าคุณสมบัติของดินโดยทั่วไปไม่แตกต่างจากดินที่ไม่ได้ใส่ปุ๋ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทั้งดินในแปลงปลูกชาที่อยู่ในร่มและกลางแจ้ง (ตารางที่ 3.11 และ 3.12) โดยมี pH อยู่ในช่วง 4.7 – 5.1 ปริมาณอินทรีย์วัตถุแห้งแปรอยู่ในช่วง 3.3 – 6.2% ธาตุอาหารหลักไนโตรเจน ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ อยู่ในช่วง 0.2 – 0.3%, 63-198 mg/kg และ 241 - 451 mg/kg ตามลำดับ

หลังการใส่ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพครั้งที่ 2 ได้ 8 เดือน (การเก็บตัวอย่างดินครั้งที่ 2 ช่วงเดือนเมษายน 2552) คุณสมบัติของดินโดยทั่วไปก็ยังคงไม่แตกต่างจากดินที่ไม่ได้ใส่ปุ๋ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทั้งดินในแปลงปลูกชาที่อยู่ในร่มและกลางแจ้ง (ตารางที่ 3.13 และ 3.14) โดย

ดินแปลงปลูกชาที่อยู่ภายใต้ร่มไม้ มี pH อยู่ในช่วง 4.6 – 4.9 ปริมาณอินทรีย์วัตถุอยู่ในช่วง 7.0 – 7.7% ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ อยู่ในช่วง 201-300 mg/kg และ 318 - 358 mg/kg ตามลำดับ ในขณะที่ดินแปลงปลูกชากลางแจ้ง มี pH อยู่ในช่วง 5.3 – 5.5 ปริมาณอินทรีย์อยู่ในช่วง 3.7 – 5.6% ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ อยู่ในช่วง 110-190 mg/kg และ 291 - 346 mg/kg ตามลำดับ และเป็นที่น่าสนใจกว่าปริมาณทองแดงในดินแปลงปลูกชาที่อยู่ร่มไม้ ที่ใส่ปุ๋ยชีวภาพจะมีปริมาณธาตุทองแดงต่ำกว่าดินที่ไม่ได้ใส่ปุ๋ยและใส่ปุ๋ยอินทรีย์เล็กน้อย และดินที่ปลูกชากลางแจ้งการใส่ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพทำให้ปริมาณโบรอนสูงกว่าดินที่ไม่ใส่ปุ๋ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ภายหลังจากใส่ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพครั้งสุดท้ายในช่วงเดือนมิถุนายน 2552 ได้ 6 เดือน เมื่อเก็บตัวอย่างดินมาวิเคราะห์ พบว่าคุณสมบัติของดินที่ใช้ปลูกชาภายใต้ร่มเงาส่วนใหญ่ไม่แตกต่างจากดินที่ไม่ได้ใส่ปุ๋ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 3.15) โดยดินแปลงปลูกชาที่อยู่ภายใต้ร่มไม้ มี pH อยู่ในช่วง 4.85– 5.36 ปริมาณอินทรีย์อยู่ในช่วง 5.53-6.20% ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ อยู่ในช่วง 63.17-212.50 mg/kg และ 297.20 – 357.10 mg/kg ตามลำดับ ยกเว้นปริมาณของฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ แคลเซียมและแมกนีเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ในดินที่ใส่ปุ๋ยอินทรีย์ และปุ๋ยชีวภาพที่สูงกว่าดินที่ไม่ได้ใส่ปุ๋ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยดินที่ใส่ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพ มีฟอสฟอรัสที่แลกเปลี่ยนได้ 212.5 และ 144.3 mg/kg มีแคลเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ 607.7 และ 601.6 mg/kg และแมกนีเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ 160.49 และ 105.6 mg/kg ตามลำดับ ในขณะที่ดินที่ไม่ได้ใส่ปุ๋ย มีฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 63.2 mg/kg มีแคลเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ 288.6 mg/kg และแคลเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ 43.5 mg/kg ตามลำดับ สำหรับดินที่ปลูกชากลางแจ้งนั้น มีเพียงปริมาณของแคลเซียมที่แลกเปลี่ยนได้เท่านั้นที่ การใส่ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพที่ทำให้ปริมาณแคลเซียมที่แลกเปลี่ยนได้สูงกว่าดินที่ไม่ได้ใส่ปุ๋ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 3.16) โดยดินที่ใส่ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพ มีแคลเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ 389.5 และ 296.6 mg/kg ตามลำดับ ในขณะที่ดินที่ไม่ได้ใส่ปุ๋ย มีแคลเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ 264.3 mg/kg ตามลำดับ ส่วนคุณสมบัติอื่น ๆ ของดินนั้นไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติทุกกรรมวิธีการทดลอง (ไม่ใส่ปุ๋ย ใส่ปุ๋ยอินทรีย์ และใส่ปุ๋ยชีวภาพ) โดยมี pH ของดินอยู่ในช่วง 4.95 – 5.41 ปริมาณอินทรีย์อยู่ในช่วง 4.58 – 5.09% ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ อยู่ในช่วง 193.50-229.50 mg/kg และ 227.09 - 318.98 mg/kg ตามลำดับ

ตารางที่ 3.11 คุณสมบัติของดินในแปลงที่ปลูกชาภายใต้ร่มเงาต้นไม้หลังการใส่ปุ๋ยครั้งที่ 1 (กันยายน 2551)

กรรมวิธี	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
การทดลอง													
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	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
การทดลอง													
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 คุณสมบัติของดินในแปลงที่ปลูกขากายได้ร่วมเงาต้นไม้หลังการใส่ปุ๋ยครั้งที่ 2 (เมษายน 2552)

กรรมวิธี	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 คุณสมบัติของดินในแปลงที่ปลูกขากายได้ร่วมเงาต้นไม้หลังการใส่ปุ๋ยครั้งที่ 2 (เมษายน 2552)

กรรมวิธี	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 คุณสมบัติน้ำของดินในแปลงที่ปลูกขากายได้ร่มเงาต้นไม้หลังการใส่ปุ๋ยครั้งที่ 4 (เดือนตุลาคม 2552)

กรรมวิธี	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 คุณสมบัติน้ำของดินในแปลงที่ปลูกขากายได้ร่มเงากลางแจ้ง หลังการใส่ปุ๋ยครั้งที่ 4 (เดือนตุลาคม 2552)

กรรมวิธี	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 การใช้ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพในการเพิ่มความอุดมสมบูรณ์ดิน ในช่วงฤดูแล้ง (เมษายน 2551) และในฤดูฝน (สิงหาคม 2551) (ตารางที่ 3.17) พบว่าความเข้มข้นของธาตุอาหารในใบชาของทั้งสองฤดูไม่แตกต่างกันไม่มากนัก ทั้งในแปลงในร่มและแปลงกลางแจ้ง แต่เป็นที่น่าสังเกตว่า ใบชาในช้วงฤดูฝน มีแนวโน้มในการ uptake ธาตุไนโตรเจนและแคลเซียมมาสะสมในใบได้ดีกว่าในฤดูแล้ง ยกเว้นแมกนีเซียมที่มีการสะสมในฤดูแล้งได้ดีกว่าในฤดูฝน อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาความเข้มข้นของธาตุอาหารในใบชาที่ปลูกบนพื้นที่สูง ของอำเภอแม่แตง เมื่อเปรียบเทียบกับค่าปริมาณธาตุอาหารในใบชาที่ได้เคยรายงานไว้ จะพบว่าธาตุอาหารในใบชาที่ปลูกบนพื้นที่สูง ของอำเภอแม่แตง มีระดับปริมาณธาตุอาหารโดยทั่วไปต่ำกว่าระดับมาตรฐาน ยกเว้นปริมาณฟอสฟอรัส แคลเซียม และแมกนีเซียมอยู่ในระดับที่เหมาะสม

ตารางที่ 3.17 ระดับปริมาณธาตุอาหารต่างๆที่เหมาะสมในใบชาและความเข้มข้นของธาตุอาหารในใบชาที่เก็บจากแปลงชาของบริษัทชาระมิงค์

ธาตุอาหาร	ระดับที่เหมาะสม*	เดือนเมษายน 2551		เดือนสิงหาคม 2551	
		แปลงในร่ม	แปลงกลางแจ้ง	แปลงในร่ม	แปลงกลางแจ้ง
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 ได้เก็บตัวอย่างใบชามาวิเคราะห์ความเข้มข้นของธาตุอาหารในใบ (เก็บตัวอย่างเดือน กันยายน 2551 ก่อนใส่ปุ๋ยอินทรีย์และชีวภาพครั้งที่ 2) (ผลวิเคราะห์แสดงใน ตารางที่ 3.18 และ 3.19) จากผลการวิเคราะห์ความเข้มข้นของธาตุอาหารในใบชา พบว่าถึงแม้ความเข้มข้นของธาตุอาหารในใบชาทั้งที่ใส่ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพจะไม่แตกต่างจากกรรมวิธีที่ไม่ได้ใส่ปุ๋ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติก็ตาม ทั้งแปลงที่ปลูกชาภายใต้ร่มเงา และแปลงกลางแจ้ง แต่เป็นที่น่าสังเกตว่าการใส่ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพมีแนวโน้มทำให้ความเข้มข้นของธาตุอาหารหลัก โดยเฉพาะไนโตรเจนในใบชาสูงกว่าในกรรมวิธีที่ไม่ได้ใส่ปุ๋ย 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

ภายหลังจากการทดลองใส่ปุ๋ยในครั้งที่ 2 (ช่วงเดือนกันยายน 2551) ซึ่งเป็นช่วงปลายฤดูฝน หลังจากนั้นปริมาณฝนลดลงอย่างมาก และในช่วงฤดูหนาวแปลงปลูกข้าวอยู่ในสภาพขาดน้ำ ทำให้ข้าวไม่แตกยอดอ่อน ทางบริษัทฯจึงได้ทำการตัดแต่งข้าว ทำให้ไม่มีการเก็บตัวอย่างใบชาเพื่อวิเคราะห์ความเข้มข้นของธาตุอาหารในใบชาช่วงฤดูหนาว หลังจากทำการตัดแต่งแปลงข้าวจึงมีการใส่ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพในแปลงทดลองอีกครั้งในช่วงเดือนกุมภาพันธ์ 2552 เมื่อข้าวเริ่มแตกใบอ่อนและต้นข้าวอยู่ในสภาพสมบูรณ์ดีแล้วจึงทำการเก็บตัวอย่างใบชา 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 (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	3.59	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 ที่เก็บตัวอย่างจากแปลงปลูกชาที่อยู่ใต้ร่มไม้และแปลงปลูกชากลางแจ้ง พบว่าปริมาณธาตุอาหารในใบชาโดยทั่วไป ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ยกเว้นความเข้มข้นของโพแทสเซียมในใบชาที่เก็บจากแปลงปลูกชาใต้ร่มไม้ และความเข้มข้นของทองแดงในใบชาที่เก็บจากแปลงปลูกชากลางแจ้ง ที่การใส่ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพทำให้ความเข้มข้นของโพแทสเซียมและทองแดงในใบชาสูงกว่าใบชาที่ไม่ได้ใส่ปุ๋ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยความเข้มข้นของโพแทสเซียมในใบชาที่ใส่ปุ๋ยอินทรีย์และใส่ปุ๋ยชีวภาพเท่ากับ 1.74 และ 1.83% ในขณะที่ใบชาที่ไม่ได้ใส่ปุ๋ยมีความเข้มข้นของโพแทสเซียมเพียง 1.51% และความเข้มข้นของทองแดงในใบชาที่ใส่ปุ๋ยอินทรีย์และใส่ปุ๋ยชีวภาพเท่ากับ 17.59 และ 15.67 mg/kg ในขณะที่ใบชาที่ไม่ได้ใส่ปุ๋ยมีความเข้มข้นของทองแดงมีเพียง 10.05 mg/kg

ถึงแม้โดยทั่วไปแล้วความเข้มข้นของธาตุอาหารในใบชาทั้งที่ใส่ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพจะไม่แตกต่างจากกรรมวิธีที่ไม่ได้ใส่ปุ๋ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติก็ตาม ทั้งแปลงในร่มและแปลงกลางแจ้ง แต่เป็นที่น่าสังเกตว่าการใส่ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพมีแนวโน้มทำให้ความเข้มข้นของธาตุอาหารในใบชาสูงกว่าในกรรมวิธีที่ไม่ได้ใส่ปุ๋ย ทั้งแปลงที่ปลูกในร่มและกลางแจ้ง และเมื่อเปรียบเทียบความเข้มข้นของธาตุอาหารในใบชา กับค่าปริมาณธาตุอาหารในใบชาที่ได้เคยรายงานไว้ (ตารางที่ 3.18 และ 3.19) จะพบว่าธาตุอาหารในใบชาในช่วงเดือนเมษายน 2552 ที่ได้จากการทดลองโดยส่วนใหญ่จะอยู่ในระดับที่เหมาะสม ซึ่งจะแตกต่างจากผลการวิเคราะห์ธาตุอาหารในใบชา ก่อนเริ่มดำเนินการทดลอง (เมษายน 2551) ที่ระดับปริมาณธาตุอาหารโดยทั่วไปต่ำกว่าระดับมาตรฐาน (ตารางที่ 3.17)

ในช่วงต้นเดือนมิถุนายน 2552 ซึ่งเป็นช่วงต้นฤดูฝน ได้ทำการใส่ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพให้กับแปลงชาอีกครั้งหนึ่ง และในช่วงที่ชากำลังให้ผลผลิต (เก็บยอดชาอ่อนช่วงเดือนสิงหาคม – ต้นเดือนพฤศจิกายน) ได้ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างใบชาเพื่อวิเคราะห์ความเข้มข้นของธาตุอาหารในใบชา (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 จะเห็นได้ว่า ความเข้มข้นของธาตุอาหารต่างๆในใบชา ในช่วงปลายฤดูฝนต้นฤดูหนาว เป็นไปในลักษณะเช่นเดียวกับในช่วงเดือนเมษายน 2552 โดยทั่วไป แล้วความเข้มข้นของธาตุอาหารในใบชาทั้งที่ใส่ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพจะไม่แตกต่างจากกรรมวิธี ที่ไม่ได้ใส่ปุ๋ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติก็ตาม ทั้งแปลงในร่มและแปลงกลางแจ้ง โดยมีความเข้มข้น ของธาตุอาหารหลักไนโตรเจนอยู่ในช่วง 2.99 – 3.38% ฟอสฟอรัสอยู่ในช่วง 0.19 - 34% และ โพแทสเซียมอยู่ในช่วง 1.04 - 1.32%

### 3.7.2.3 ปริมาณสารแอนติออกซิแดนซ์และคาเฟอีนในยอดชา

การศึกษาถึงผลของการใส่ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพต่อความแปรปรวนของปริมาณสารแอนติออกซิแดนซ์และคาเฟอีนในใบชา 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) ได้เก็บยอดชามาวิเคราะห์สารกลุ่มคาเทชินและคาเฟอีน 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 (ธ.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 จึงได้เก็บยอดชามาวิเคราะห์หาปริมาณสารกลุ่มคาเทชินและคาเฟอีน ผลการวิเคราะห์แสดงในตารางที่ 3.28 และ 3.29

ตารางที่ 3.28 ปริมาณของสารกลุ่มคาเทชินและคาเฟอีนในยอดชาที่ปลูกภายใต้ร่มเงา (ก.ค.52)

กรรมวิธีการทดลอง	ปริมาณสารกลุ่มคาเทชิน (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 ปริมาณของสารคาเทชินและคาเฟอีนในยอดชาที่ปลูกกลางแจ้ง (ก.ค.52)

กรรมวิธีการทดลอง	ปริมาณสารกลุ่มคาเทชิน (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

จากผลการวิเคราะห์สารในกลุ่มคาเทชินและคาเฟอีนในช่วงฤดูร้อนและฤดูฝน ปี 2552 ให้ผลการศึกษาที่คล้ายคลึงกัน กล่าวคือ การใส่ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพไม่ทำให้สารกลุ่มคาเทชินและคาเฟอีนแตกต่างจากการไม่ใส่ปุ๋ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติทั้งแปลงชาที่ปลูกภายใต้ร่มเงาและแปลงชาที่ปลูกกลางแจ้ง 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 การเก็บเกี่ยวผลผลิตยอดชา มีปริมาณลดลงอย่างมาก การเก็บเกี่ยวผลผลิตยอดชาในแปลงทดลองจึงเก็บได้ถึงปลายเดือน ตุลาคมเท่านั้น สำหรับผลการวิเคราะห์ปริมาณสารกลุ่มคาเทชินและคาเฟอีนในช่วงเดือนตุลาคมนี้ แสดงไว้ในตารางที่ 3.30 และ 3.31

ตารางที่ 3.30 ปริมาณของสารคาเทชินและคาเฟอีนในยอดชาที่ปลูกภายใต้ร่มเงา (ต.ค.52)

กรรมวิธีการทดลอง	ปริมาณสารกลุ่มคาเทชิน (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 ปริมาณของสารกลุ่มคาเทชินและคาเฟอีนในยอดชาที่ปลูกกลางแจ้ง (ต.ค.52)

กรรมวิธีการทดลอง	ปริมาณสารกลุ่มคาเทชิน (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

ผลการวิเคราะห์สารกลุ่มคาเทชินและคาเฟอีนในเดือนตุลาคมนี้ โดยส่วนใหญ่ก็เป็นไปในลักษณะเดียวกับผลการศึกษาที่ผ่านมาข้างต้น โดยพบว่าการใส่ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพ ไม่ทำให้สารกลุ่มคาเทชินและคาเฟอีนแตกต่างจากการไม่ใส่ปุ๋ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ยกเว้นในแปลงชาในร่ม ที่การใส่ปุ๋ยอินทรีย์ทำให้สาร EGCG สูงกว่าแปลงที่ไม่ใส่ปุ๋ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยที่ชาที่ใส่ปุ๋ยอินทรีย์พบสาร EGCG ในปริมาณ 39.17 mg/g ในขณะที่แปลงชาที่ไม่ได้ใส่ปุ๋ยพบสาร EGCG เพียง 29.33 mg/g

### 3.7.2.4 ผลผลิตยอดอ่อนใบชา

ในฤดูการผลิต 2551 ได้ทำการเก็บข้อมูลผลผลิตยอดชาอ่อนตั้งแต่ปลายเดือนสิงหาคม ถึง ประมาณกลางเดือนพฤศจิกายน 2551 ผลการศึกษาพบว่า การใส่ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพไม่ทำให้ผลผลิตยอดชาอ่อนแตกต่างจากแปลงที่ไม่ใส่ปุ๋ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตามการใส่ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพมีแนวโน้มช่วงทำให้ผลผลิตยอดชาอ่อนเพิ่มขึ้นทั้งในแปลงในร่มและแปลงกลางแจ้ง โดยการใส่ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพทำให้ชาที่ปลูกในแปลงในร่มและแปลงกลางแจ้งให้ผลผลิตยอดชาอ่อนอยู่ในช่วง 80 – 87 กรัม/ต้น และ 193 - 197กรัม/ต้น ตามลำดับ ในขณะที่แปลงชาที่ไม่ใส่ปุ๋ยให้ผลผลิตยอดชาอ่อนเพียง 67 และ 180 กรัม/ต้น ในแปลงในร่มและแปลงกลางแจ้งตามลำดับ (ตารางที่ 3.32) และเป็นที่สังเกตว่าในฤดูการผลิต 2551 นี้ แปลงปลูกชากลางแจ้งมีแนวโน้มที่จะให้ผลผลิตสูงกว่าแปลงที่ปลูกชาในร่มเงา โดยแปลงปลูกชากลางแจ้งทำให้ผลผลิตยอดชาอ่อนอยู่ในช่วง 180-197 กรัม/ต้น ในขณะที่แปลงปลูกชาในร่มให้ผลผลิตเพียง 67-87 กรัม/ต้น

ในฤดูการผลิต 2552 การเก็บผลผลิตยอดชาเริ่มเก็บในช่วงเดือนสิงหาคมถึงปลายเดือนตุลาคม ผลการศึกษาพบว่า การใส่ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพทำให้ผลผลิตยอดชาอ่อนที่ปลูกอยู่ภายใต้ร่มเงาสูงกว่าการไม่ใส่ปุ๋ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ 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 ผลการสำรวจการระบาดของโรคในแปลงผลิตขาระบบอินทรีย์

จากการสำรวจและประเมินโรคที่เกิดกับต้นขา โดยสุ่มต้นขามาทั้งหมดแปลงละ 8 ต้น นับจำนวนใบขาที่แสดงอาการของโรค และประเมินความรุนแรงของโรค โดยคิดเป็น เปอร์เซ็นต์พื้นที่ใบที่ถูกทำลายต่อใบขาที่แสดงอาการของโรค พบว่า จากการสำรวจต้นขาทั้งหมด 144 ต้น พบต้นขาที่แสดงอาการของโรค ดังนี้

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

จากตารางที่ 3.33 พบว่าผลการสำรวจโรค ในแปลงที่ 1-9 พบต้นขาที่เกิดโรคจำนวน 61 ต้น มีการแสดงอาการประมาณ 1-5 ใบต่อต้น และมีความรุนแรงของโรคแตกต่างกันตามชนิดของโรคน้อยประมาณ 5-15 % ของพื้นที่ใบ และโรคที่พบส่วนใหญ่คือ โรคแอนแทรคโนส ที่สามารถตรวจพบทั้งในส่วนใบแก่และใบอ่อน สำหรับโรคใบจุดสีเทาพบน้อยแม้จะมีความเสียหายของพื้นที่ใบสูงแต่มักเกิดกับใบแก่เท่านั้น ส่วนโรคใบพุพองมีเพียงเล็กน้อย

สำหรับแปลงที่ 11- แปลงที่18 มีทั้งหมด 64 ต้น พบการเกิดโรคทั้ง 64 ต้น ซึ่งในบางต้นเกิดโรคกับใบเกือบทั้งต้น ความรุนแรงของโรคไม่รุนแรงแต่มีปริมาณการเกิดโรคต่อต้นมากกว่า แปลงที่ 1-9 โรคที่พบมากที่สุด คือโรคใบพุพอง รองลงมาคือ โรคแอนแทรคโนส

จะสังเกตได้ว่า แปลงที่ 1-9 ที่ปลูกในบริเวณไหล่เขาที่สูงชัน และมีร่มไม้แน่น ไม่ค่อยพบอาการของโรค เมื่อเปรียบเทียบกับแปลงที่11-18 ที่ปลูกในบริเวณที่ต่ำกว่า และมีร่มไม้แน่น มีการเกิดโรคมมากกว่า นอกจากนี้แล้ว ความอุดมสมบูรณ์ของดินและสภาพแวดล้อมในแต่ละพื้นที่นั้นอาจส่งผลต่อการเจริญเติบโต และความสามารถในการทนทานต่อโรคของต้นขา อีกทั้งยังมีผลต่อการเจริญและความรุนแรงของเชื้อสาเหตุโรคอีกด้วย

ตารางที่ 3.33 ผลการสำรวจโรคในแปลงทดลองปุยอินทรีย์

แปลงร่วมเงา Block I

เบอร์แปลง Block I แปลงร่วมเงา	ต้นที่	จำนวนใบขาที่พบ โรค (ใบ)	ความรุนแรงของโรค (%) / พื้นที่ใบของแต่ละซ้ำ	โรคที่พบ
1 (แปลงร่วมเงา) 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 (แปลงร่วมเงา) 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	โรคใบพุ่มอง
	8	1.5	5	โรคแอนแทรคโนส

ตารางที่ 3.33 ผลการสำรวจโรคในแปลงทดลองปุ๋ยอินทรีย์ (ต่อ)

แปลงร่วมเงา Block II

เบอร์แปลง Block II แปลงร่วมเงา	ต้นที่	จำนวนใบขาที่พบ โรค (ใบ)	ความรุนแรงของโรค (%) / พื้นที่ใบของแต่ละซ้ำ	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 ผลการสำรวจโรคในแปลงทดลองปุยอินทรีย์ (ต่อ)

แปลงร่วมเงา Block III

เบอร์แปลง Block I แปลงร่วมเงา	ต้นที่	จำนวนใบชาที่พบ โรค (ใบ)	ความรุนแรงของโรค (%) / พื้นที่ใบของแต่ละซ้ำ	โรคที่พบ
7 Tr.2 (แปลงร่วมเงา)	1	0.5	5	โรคแอนแทรคโนส
	2	1	1	"
	3	2.5	7.5	"
	4	0.5	0.5	โรคใบจุดสีเทา
	5	1.5	10.5	โรคแอนแทรคโนส
	6	0.5	5	โรคใบจุดสีเทา
	7	2.5	20	ใบพุพอง, แอนแทรคโนส
	8	2	10	โรคแอนแทรคโนส
8 Tr.1 (แปลงร่วมเงา)	1	0.5	2.5	โรคแอนแทรคโนส
	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	โรคแอนแทรคโนส
	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, แอนแทรคโนส

ตารางที่ 3.33 ผลการสำรวจโรคในแปลงทดลองปุยอินทรีย์ (ต่อ)

แปลงกลางแจ้ง Block I

เบอร์แปลง Block I แปลงกลางแจ้ง	ต้นที่	จำนวนใบชาที่พบ โรค (ใบ)	ความรุนแรงของโรค (%) / พื้นที่ใบของแต่ละซ้ำ	โรคที่พบ
10 Tr.3 (แปลง กลางแจ้ง)	1	9	15	โรคใบพุพอง
	2	12.5	15	"
	3	14.5	20	ใบพุพอง, แอนแทรคโนส
	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, แอนแทรคโนส
	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, แอนแทรคโนส
	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 ผลการสำรวจโรคในแปลงทดลองปฏินทรีย์ (ต่อ)

แปลงกลางแจ้ง Block II

เบอร์แปลง Block II แปลงกลางแจ้ง	ต้นที่	จำนวนใบชาที่พบ โรค (ใบ)	ความรุนแรงของโรค (%) / พื้นที่ใบของแต่ละซ้ำ	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 ผลการสำรวจโรคในแปลงทดลองปุ๋ยอินทรีย์ (ต่อ)

แปลงกลางแจ้ง Block III

เบอร์แปลง Block III แปลงกลางแจ้ง	ต้นที่	จำนวนใบชาที่พบ โรค (ใบ)	ความรุนแรงของโรค (%) / พื้นที่ใบของแต่ละซ้ำ	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	"

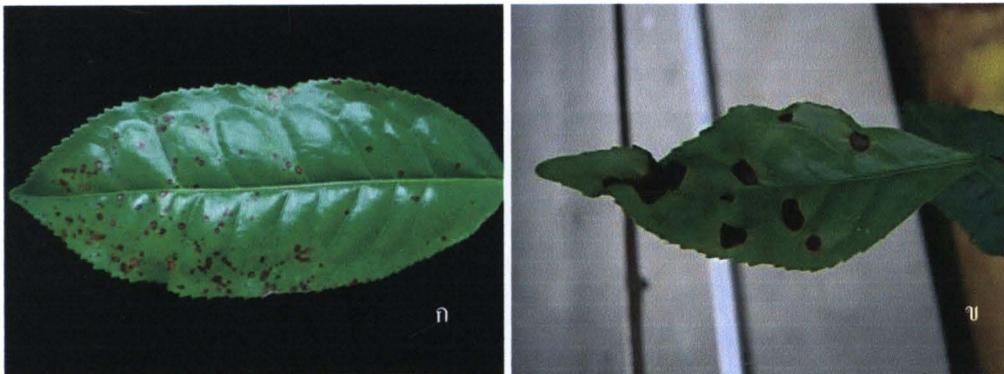
### 3.8 การจำแนกชนิดเชื้อสาเหตุและการทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรค

#### 3.8.1 การสำรวจการแยกเชื้อ และการพิสูจน์สาเหตุโรค

การสำรวจโรคของชาในแปลงปลูกของบริษัทชาระมิงค์ อ. แม่แตง จ. เชียงใหม่ ซึ่งแบ่งกลุ่มพื้นที่อย่างกว้าง ๆ ได้ 2 บริเวณ คือ บริเวณพื้นที่ผลิตชาที่ไม่มีอาการต้นโทรมหรือยืนต้นตายระยะบาด และบริเวณพื้นที่ที่มีปัญหาพืชยืนต้นตายระยะบาด สามารถตรวจสอบสาเหตุของโรคจากชิ้นส่วนของพืช ใบ ลำต้นรากและดินรอบรากพืช ในห้องปฏิบัติการ ให้ผลดังนี้

##### 1. กลุ่มเชื้อรา

1.1 โรคแอนแทรคโนส (anthracnose) อาการใบจุด พบในส่วนของใบแก่และใบอ่อน ในพื้นที่ทั้ง 2 บริเวณ ลักษณะของแผลลักษณะกลมสีน้ำตาลแดงนูนลึกลงไปในเนื้อเยื่อรอบแผล และยังพบว่าความรุนแรงของการระบาดและขนาดของแผลเปลี่ยนแปลงไปตามสภาพอากาศ เช่น การสำรวจในระหว่างเดือน 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 และลูกกลมติดต่อกันจนมีลักษณะคล้ายใบไหม้ (ภาพที่ 3.8) หากเกิดกับใบที่ยังอ่อนอยู่ทำให้ใบม้วนงอร่วงหล่นได้ นอกจากนั้นยังสังเกตเห็น acervuli ซึ่งเป็น fruiting bodies ของเชื้อเป็นจุดสีดำเล็ก ๆ กระจายทั่วไปบนแผล เมื่อนำมาตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบเชื้อ *Colletotrichum* sp. ซึ่งเป็นสาเหตุของโรค anthracnose จากนั้นเพิ่มปริมาณเชื้อบริสุทธิ์ โดยวิธี hyphal tip isolation ได้เชื้อบริสุทธิ์ 2 ไอโซเลท



ภาพที่ 3.8 ลักษณะแผลโรคแอนแทรคโนส (anthracnose) บนใบชา มีลักษณะกลม สีน้ำตาลเป็นวง

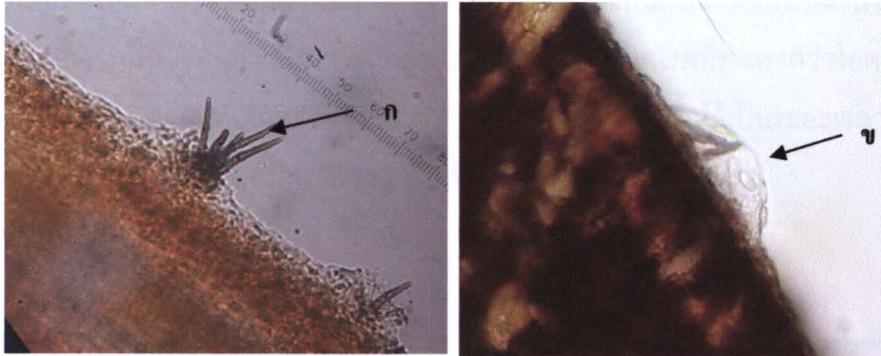
ซ้อนกัน พบจุดสีดำเล็กๆ กระจายบนแผล

ก แบบที่ 1 แผลเป็นจุดขนาดเล็กมีสีม่วงปนน้ำตาล ขอบแผลนูนขึ้นเล็กน้อยมีสีม่วงปนน้ำตาล

ข แบบที่ 2 แผลมีลักษณะเป็นสีน้ำตาลเข้ม เป็นวงสีดำซ้อนกันเป็นชั้นๆ ขอบแผลมีสีเหลือง

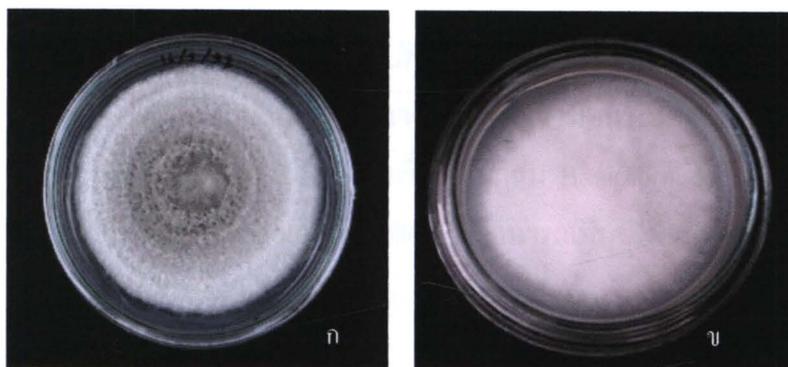
เมื่อตรวจดูเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 400 เท่า จะพบส่วนของเชื้อที่ปรากฏบนเนื้อเยื่อพืช ได้แก่ setae, fruiting body (acervulus), conidia จากแผลแบบที่ 2 สำหรับแผลแบบที่ 1 นั้นตรวจไม่พบส่วนของเชื้อ เนื่องจากแผลมีขนาดเล็กและยังเป็นแผลที่ค่อนข้างใหม่ (ภาพที่ 3.9)

แบบที่ 1



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

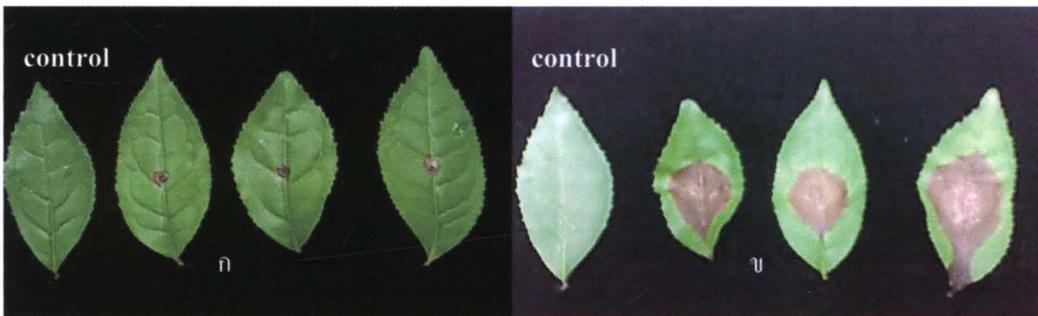
จากการเลี้ยงเชื้อ *Colletotrichum* sp. บริสุทธิ์ทั้ง 2 ไอโซเลท พบเชื้อเจริญแตกต่างกัน คือ ไอโซเลท 1 เส้นใยมีสีขาวเทา พู ตรงกลางของโคโลนีมีสีเทาเข้ม มีการสร้าง spore mass ที่มีสีส้ม เมื่อเชื้อมีอายุมาก เมื่อพลิกดูข้างหลังจานเลี้ยงเชื้อจะเห็นเป็นวงสีดำซ้อนกันเป็นชั้น ๆ ขณะที่ ไอโซเลท 2 เส้นใยมีสีขาว พู ละเอียด เมื่ออายุมากจะกลายเป็นสีเทาอ่อนพลิกดูข้างหลังจานเลี้ยงเชื้อ จะเห็นเป็นวงสีดำซ้อนกันเป็นชั้น ๆ (ภาพที่ 3.10)



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

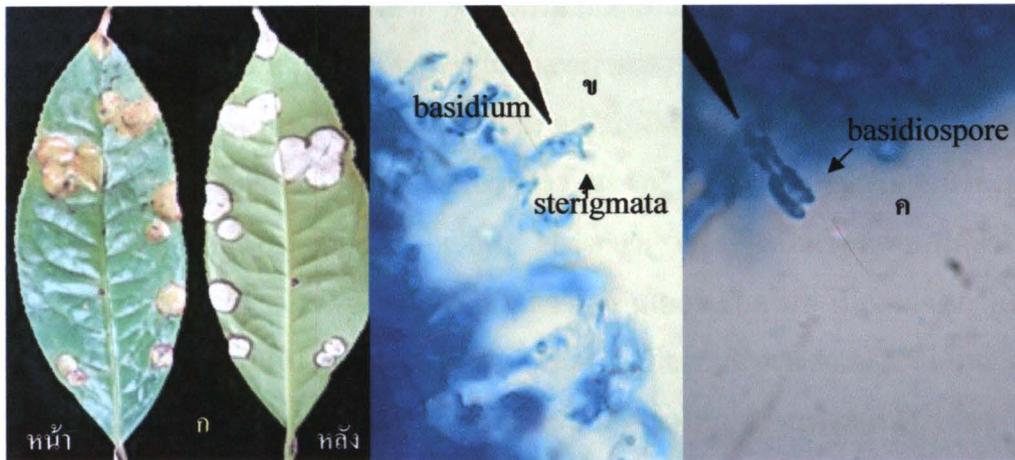
### การทดสอบความสามารถในการก่อให้เกิดโรค (Pathogenicity test)

จากการตรวจวินิจฉัยเพื่อพิสูจน์สาเหตุของโรคใบจุดแอนแทรคโนส โดยการปลูกเชื้อลงบนใบของกล้าชา โดยวิธี detached leaves ร่วมกับการทำแผล บ่มเชื้อไว้ในกล่องให้ความชื้นประมาณ 7 วัน พบว่าเชื้อ *Colletotrichum* sp. บริสุทธิ์ที่แยกได้ทั้ง 2 ไอโซเลท สามารถทำให้เกิดโรคใบจุดบนใบชาที่ปลูกเชื้อโดยทำให้เกิดอาการแผลจุดสีน้ำตาลเข้มลักษณะเดียวกันกับแผลที่พบบนใบชาในสภาพธรรมชาติ นอกจากนี้ยังพบว่า เชื้อราไอโซเลท 2 ทำให้อาการแผลโรคที่รุนแรงกว่าไอโซเลท 1 โดย เริ่มเป็นสีน้ำตาลจากนั้นแผลที่เกิดจะขยายเป็นวงกว้างขึ้นเรื่อย ๆ เมื่อทิ้งไว้เป็นระยะเวลาที่นานขึ้นแผลจะมีสีน้ำตาลเทาและขอบแผลมีสีเหลือง (ภาพที่ 3.11)



ภาพที่ 3.11 อาการใบจุดของใบชาหลังการปลูกเชื้อ *Colletotrichum* sp. ไอโซเลท 1 (ก) และ ไอโซเลท 2 (ข) โดยวิธี Detach leaf นาน 7 วันโดย

1.2 โรคใบพุพอง (blister blight) พบอาการบริเวณหน้าใบเป็นตุ่มพองสีเหลืองปนน้ำตาลยุบ บวมลงไปเล็กน้อย อาการด้านหลังใบพบกลุ่มเชื้อราสีขาวฟูพูนขึ้นมา เมื่อนำไปตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบเชื้อสาเหตุ *Exobasidium* sp. ซึ่งเป็นเชื้อราในกลุ่ม Basidiomycete (ภาพที่ 3.12) จัดเป็นเชื้อราที่เป็นปรสิตแบบถาวร (obligate parasite) ไม่สามารถเพิ่มปริมาณเชื้อโดยการเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ได้



ภาพที่ 3.12 ลักษณะอาการโรคใบพอง บริเวณหน้าใบเป็นตุ่มพองสีเหลืองปนน้ำตาลผลยุบตัวลงเล็กน้อย และพบกลุ่มเชื้อราสีขาวฟูบนด้านหลังใบ (ก) เมื่อตรวจสอบลักษณะเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 400 เท่า พบ Basidium ที่มี Sterigmata (ข) ชู Basidiospores ซึ่งมีลักษณะยาวรี (ค) ของเชื้อจำนวนมากเจริญบนเนื้อเยื่อแผลโรค

(1.3) โรคต้นโทรมที่เกิดจากโรครากโคนเน่า (Brown root rot)

จากการสำรวจต้นชาในบริเวณพื้นที่ที่มีการระบาดของอาการต้นโทรมและแห้งตาย พบว่า การพัฒนาของอาการเป็นไปอย่างช้า ๆ ลักษณะคล้ายกับการลุกลามจากต้นที่แสดงอาการไปยังต้นปกติ โดยจะพบอาการเริ่มแรกที่ใบของทรงพุ่มโดยรวมจะมีลักษณะเหี่ยวหรือลดลง สีใบคล้ำขึ้น (ภาพที่ 3.13) เมื่อประเมินระยะเวลาของการลุกลามพบว่าในระยะเวลา 6-12 เดือนของการสำรวจ มีต้นชาแสดงอาการต้นตายเพิ่มขึ้นในอัตราประมาณ 1-2 ต้น ภายในระยะเวลา 3-4 เดือน โดยเฉพาะในบริเวณที่มีต้นเป็นโรคต้นโทรมยืนต้นตายอยู่



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

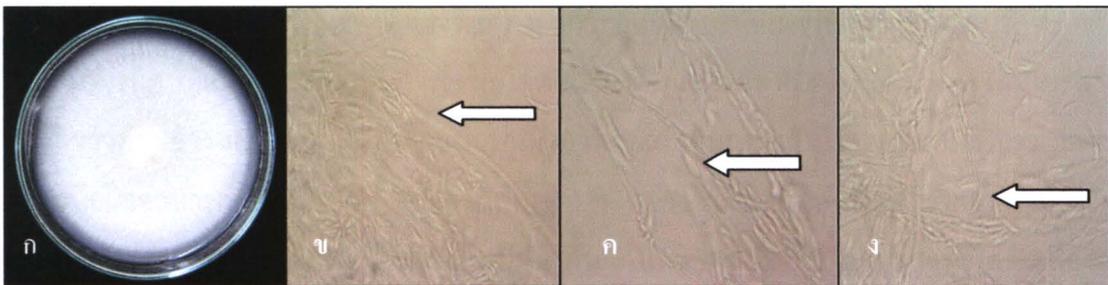


เมื่อนำตัวอย่างต้นพืชที่แสดงอาการต้นโทรมและยืนต้นตายมาตรวจสอบโดย ตรวจสอบภายในเนื้อเยื่อของพืช บริเวณโคนต้น ราก รากฝอย สามารถตรวจพบเชื้อตามลำดับ ดังนี้

การสำรวจโรคต้นโทรมในช่วงเดือนมีนาคม อุณหภูมิค่อนข้างสูงและความชื้นต่ำ ไม่สามารถตรวจพบอาการหรือผลจากการเข้าทำลายของเชื้อรา (ภาพที่ 3.14) แต่เมื่อนำชิ้นส่วนของรากฝอยของพืชที่แสดงอาการต้นโทรมสามารถแยกเชื้อรา *Fusarium* sp. ซึ่งเป็นเชื้อราที่พบได้ทั่วไปในดิน เมื่อนำมาเลี้ยงเชื้อบนอาหาร PDA พบโคโลนีเป็นสีขาว เส้นใยละเอียดไม่ฟู เมื่อตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์พบเส้นใยเชื้อราเป็นแบบมีผนังกัน สามารถสร้างสปอร์บนอาหารสังเคราะห์ได้ภายหลังการเลี้ยงประมาณ 10 วัน ลักษณะของสปอร์มีทั้งแบบสปอร์ขนาดใหญ่คล้าย**พระจันทร์เสี้ยว** (macro conidia) และสปอร์ขนาดเล็กเป็น**แท่งหัวท้ายมน** (micro conidia) (ภาพที่3.15)



ภาพที่ 3.14 ลักษณะของต้นพืชที่มีอาการต้นโทรม อาการเริ่มแรกของทรงพุ่มและลำต้น (ก, ข) เมื่อนำ รากฝอย (ค) และลำต้นติดกับผิวดิน (ง) มาตรวจดูลักษณะเนื้อเยื่อ ไม่พบแผลหรือร่องรอยของการทำลายจากเชื้อรา



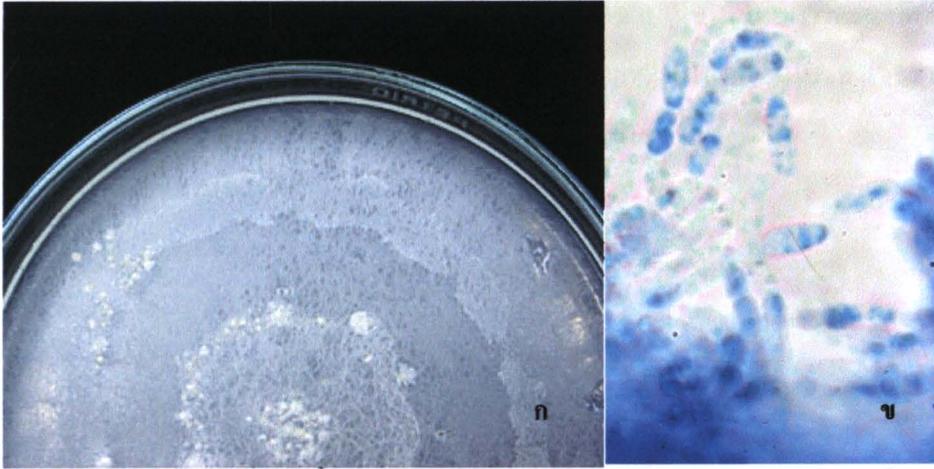
ภาพที่ 3.15 ลักษณะโคโลนี (ก) เส้นใย (ข) และสปอร์ของเชื้อรา *Fusarium* sp. (ค,ง) ที่แยกได้จากรากฝอย ภายหลังการเจริญบนอาหาร PDA นาน 12 วัน

การสำรวจโรคต้นโทรมในช่วงเดือนตุลาคมถึงเดือนธันวาคม ซึ่งอุณหภูมิต่ำลงและมีความชื้นสูง สามารถตรวจพบกลุ่มของเชื้อราสีขาวยาวเส้นใยค่อนข้างหนาจำนวนมากเจริญปกคลุมบริเวณโคนต้น โดยเฉพาะโคนต้นที่ฝังลึกลงไปใต้ดินและรากที่มีขนาดใหญ่ของต้นชาที่แสดงอาการโรคต้นโทรม กลุ่มเชื้อราดังกล่าวเจริญติดกันค่อนข้างแน่นสามารถลอกออกมาได้ในลักษณะเป็นแผ่นๆ และพบว่าเปลือกไม้และเนื้อไม้มีลักษณะเปื่อยยุ่ย มีกลิ่นของเห็ดรา บางส่วนของเนื้อไม้มีแผลสีดำคล้ำ (ภาพที่ 3.16)



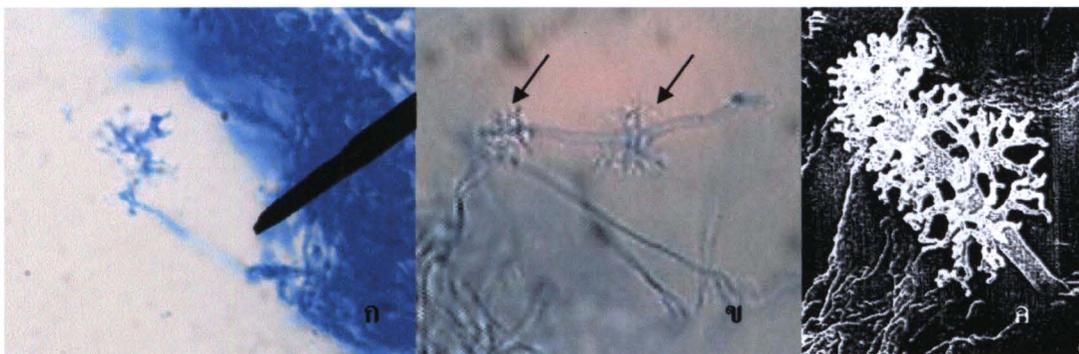
ภาพที่ 3.16 ลักษณะ โคนต้น (ก) และราก (ข) ของต้นชาที่เป็นโรคต้นโทรม เปลือกมีลักษณะเปื่อยยุ่ย (ค) และเนื้อไม้มีแผลสีดำ (ง)

เมื่อนำเนื้อไม้ด้านในของต้นชาที่แสดงอาการต้นโทรมมาเลี้ยงเชื้อและแยกเชื้อบริสุทธิ์ พบเชื้อรา 2 ชนิด ได้แก่ (1) เชื้อราที่มีการเจริญได้ค่อนข้างดีบนอาหาร PDA (Unknown) เส้นใยของเชื้อรามีสีขาวค่อนข้างหนาเจริญติดแน่นบนผิวอาหารและพบกลุ่มเส้นใยบางส่วนเจริญรวมกลุ่มกันเหนือผิวอาหารเลี้ยงเชื้อ โดย กระจายเป็นจุด ๆ อย่างไม่มีทิศทาง เมื่อนำมาตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์พบลักษณะเส้นใยเป็นแบบมีผนังกัน และพบสปอร์มีลักษณะกลมรีใสสีเหลืองอ่อนจำนวนมาก (ภาพที่ 3.17) เมื่อนำมาศึกษาเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ลักษณะการเจริญของเชื้อเมื่อเลี้ยงบนอาหาร และการค้นคว้าจากรายงานในการเป็นเชื้อสาเหตุของอาการต้นโทรม พบว่ายังมีข้อมูลไม่เพียงพอที่จะสามารถจำแนกชนิด และระบุการเป็นเชื้อสาเหตุของอาการต้นโทรมของต้นชาได้



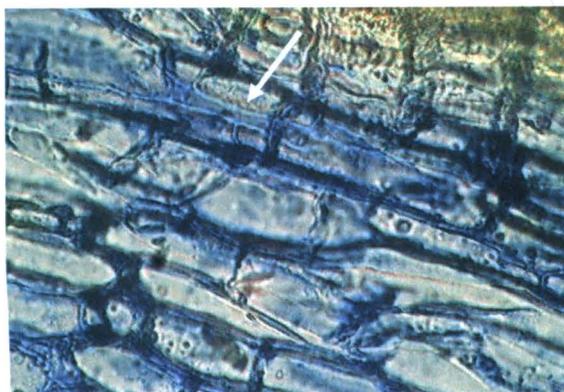
ภาพที่ 3.17 ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา (unknown) บนอาหาร PDA อายุ 1 สัปดาห์ หลังแยกจากเนื้อไม้ของชาติ แสดง อาการต้นโทรม (ก) และลักษณะของเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 400 เท่า (ข)

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



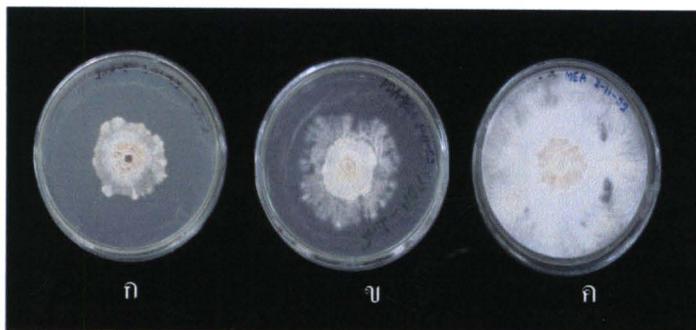
ภาพที่ 3.18 ลักษณะ Dendritic Hypha ของเชื้อ *Phellinus noxius* (ก และ ข) ภาพภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า ของเชื้ออายุ 7 สัปดาห์ ที่แยกได้จากแผลโรครบบริเวณเนื้อไม้ เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้ม เปรียบเทียบกับ ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (ค) จากงานทดลองของ Nicole *et al.* ในปี 1995

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



ภาพที่ 3.19 ลักษณะเส้นใยของเชื้อรา *Phellinus noxius* (ครรซึก) ที่เจริญเข้าทำลายเซลล์ภายในเนื้อเยื่อของรากชา

จากการทดสอบอาหารสังเคราะห์ที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อรานิดนี้ พบว่าอาหารสังเคราะห์ MEA ทำให้เชื้อเจริญเติบโตได้ดีที่สุดได้ดีที่สุด รองลงมาได้แก่ อาหาร PDA และ อาหาร IMA-2 (ภาพที่ 3.20)



ภาพที่ 3.20 ลักษณะการเจริญของเชื้อ *Phellinus noxius* อายุ 5 สัปดาห์ ในอาหาร IMA-2 (ก) มีลักษณะเป็นเส้นใยสีขาว บาง เรียบติดอาหาร กลางโคโลนีเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลอ่อน ในอาหาร PDA (ข) เส้นใยบาง เรียบติดไปกับอาหารและไม่มีการอัดตัวกันของเส้นใย ในอาหาร MEA (ค) เส้นใยละเอียด เรียบติดกับอาหารเริ่มมีความเหนียวและเปลี่ยนสีเป็นสีขาวขุ่น-สีครีมเส้นใยอัดตัวกันจนชันนทับกัน

เนื่องจากการพิสูจน์สาเหตุของโรคฯที่แสดงอาการต้นโทรม โดยวิธีการปลูกเชื้อตามวิธีของ Koch (Koch's postulates) (Koch, 1890) ของเชื้อราที่แยกได้ในข้อ (1) และ (2) นั้น ไม่สามารถปลูกเชื้อลงบนกล้าฯอายุ 3-6 เดือนได้สำเร็จ แต่จากการเปรียบเทียบรายงานผลการทดลองเชื้อสาเหตุโรคของไม้ยืนต้นหลายชนิดรวมทั้งฯ พบว่าเชื้อราที่แยกได้ในข้อที่ 1.3.2 นั้นมีรายงานการทดลอง ที่สนับสนุนการเชื้อสาเหตุของโรคก่อนข้างชัดเจน (Mohd Farid *et al*, 2005; Pao-Jen Ann *et al*, 2002; Hodges, 1984) ว่าควรจะเป็นเชื้อสาเหตุของอาการต้นโทรมของฯ ซึ่งในรายงานกล่าวว่าเป็นสาเหตุของโรครากเน่าโคนเน่า หรือ โรครากสีน้ำตาล (basal root rot, brown root rot) ของไม้ยืนต้น หลายชนิด

(4) โรคราดำ (sooty mold) เริ่มตรวจพบราดำในช่วงเดือน กันยายน 2551 พบมากเฉพาะบนใบฯที่เจริญในบริเวณที่มีร่มเงาโดยเฉพาะพื้นที่ผลิตฯได้ต้นไม้ใหญ่และมีความชื้นค่อนข้างสูงกว่าบริเวณอื่น อาการของโรคนี้มีลักษณะเป็นผงสีดำขึ้นปกคลุมกระจายเป็นแผ่นทั่วผิวใบ กิ่งก้าน (ภาพที่ 3.21) โดยทั่วไปจะระบาดพร้อมกับการระบาดของเพลี้ยอ่อน เพราะจะอาศัยอาหารจากน้ำหวานซึ่งเป็นของเสียที่เพลี้ยอ่อนขับถ่ายออกมา เชื้อราตัวนี้ไม่ได้งอกเข้าไปทำลายเซลล์ของพืชแต่จะปกคลุมพืชทำให้ไม่สามารถสังเคราะห์แสงได้



ภาพที่ 3.21 ลักษณะโรคราดำที่เจริญปกคลุมผิวใบฯ พบกลุ่มผงสีดำเป็นแผ่นขึ้นปกคลุมผิวใบจำนวนมาก

## 2. กลุ่มไส้เดือนฝอย

จากการเก็บตัวอย่างดินบริเวณรอบรากพืช จากพื้นที่ปลูกฯจำนวน 3 ตัวอย่าง สามารถตรวจพบไส้เดือนฝอยสาเหตุโรคพืช โดยวิธีใช้กรวยกรอง (Bermann funnel) ดังต่อไปนี้

**ตัวอย่างดินที่ 1** บริเวณพื้นที่ผลิตชาที่มีปัญหาต้นโทรม เลือกเก็บจากต้นที่ไม่แสดงอาการ สามารถตรวจพบ ไข่เดือนฝอยสาเหตุโรคพืช *Rotylenchulus* sp. จำนวน 5 ตัวต่อดิน 500 กรัม

**ตัวอย่างดินที่ 2** บริเวณพื้นที่ผลิตชาที่มีปัญหาต้นโทรม เลือกเก็บจากต้นที่แสดงอาการ รุนแรง สามารถตรวจพบ ไข่เดือนฝอยสาเหตุโรคพืช *Helicotylenchus* sp. จำนวน 300 ตัวต่อดิน 500 กรัม ซึ่งนับว่าเป็นจำนวนของไข่เดือนฝอยขั้นต่ำที่สามารถก่อให้เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจ (300 ตัว/ดิน 500 กรัม) และ *Tylenchorhynchus* sp. 25 ตัวต่อดิน 500 กรัม

**ตัวอย่างดินที่ 3** บริเวณพื้นที่ผลิตชาที่ไม่มีปัญหาต้นโทรม ไม่สามารถตรวจพบไข่เดือนฝอยสาเหตุโรคพืช

ครั้งนี้ได้ทำการตรวจสอบซ้ำ เป็นครั้งที่ 2 โดยเก็บตัวอย่างจากบริเวณเดิมเช่นเดียวกับครั้งแรก ในระยะเวลาห่างกันประมาณ 3 สัปดาห์ พบว่าให้ผลการตรวจสอบชนิดและจำนวนของไข่เดือนฝอยสาเหตุโรคพืชในทำนองเดียวกัน คือไม่สามารถตรวจพบไข่เดือนฝอยในตัวอย่างที่ 3 เช่นเดิม และไม่สามารถตรวจพบไข่เดือนฝอยในตัวอย่างที่ 1 แต่สามารถตรวจพบไข่เดือนฝอย *Helicotylenchus* sp. จำนวนที่ลดลงและพบไข่เดือนฝอย *Tylencholenchus* sp. จำนวน 105 และ 34 ตัวต่อดิน 500 กรัม ตามลำดับ

ไข่เดือนฝอยที่ตรวจพบในตัวอย่างดินบริเวณต้นชาที่แสดงอาการต้นโทรม เป็นไข่เดือนฝอยในกลุ่ม ที่มีลักษณะการทำลายดูดกินน้ำเลี้ยงจากรากของพืชโดยไม่หยุดอยู่กับที่ จะใช้ stylet แทะเข้าไปในส่วนของ root cortex โดยอาจมีส่วนหัวหรือลำตัวบางส่วนของไข่เดือนฝอยอยู่ภายในเซลล์พืช (migratory semiendoparasite) สามารถมีชีวิตอยู่ได้แม้ไม่มีพืชอาศัยภายในดินที่มีความชื้นต่ำมากได้นานถึง 2 ปี (anhydrobiosis)

### 3.8.2 การแยกและการเลี้ยงเชื้อ แอคติโนมัยซิสและแอคติโนมัยซิสเอ็นโดไฟท์

ก. เชื้อแอคติโนมัยซิส ได้รับการอนุเคราะห์จาก ดร. อรวรรณ ฉัตรสีรุ่ง ภาควิชาพืชศาสตร์ และทรัพยากรธรรมชาติ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เมื่อนำมาเพิ่มปริมาณในอาหารสูตร IMA2 พบว่าสามารถเพิ่มปริมาณเชื้อได้ดีทั้งจำนวน 16 ไอโซเลท (CSAL 01-016)

ข. เชื้อแอคติโนมัยซิสเอ็นโดไฟท์ ที่ได้รับความอนุเคราะห์จากสาขาวิชาโรคพืช ภาควิชากีฏวิทยาและโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (ปิยะธิดา, 2549) จำนวน 5 ไอโซเลท ได้แก่

1. เปราะหอม (*Kaempferia galangal*) 1 ไอโซเลท (KAE1)
2. สะระแหน่ (*Mentha cordifolia*) 1 ไอโซเลท (MIN1)
3. ผักชีฝรั่ง (*Eryngium foetidum*) 1 ไอโซเลท (FIT1)

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

ค. เชื้อแอสโคไมซีตไฟท์ 36 ไอโซเลท ที่แยกจากลำต้นและใบของพืช 6 ชนิด ใช้เฉพาะการทดสอบควบคุมเชื้อ *Colletotrichum* sp. ดังนี้

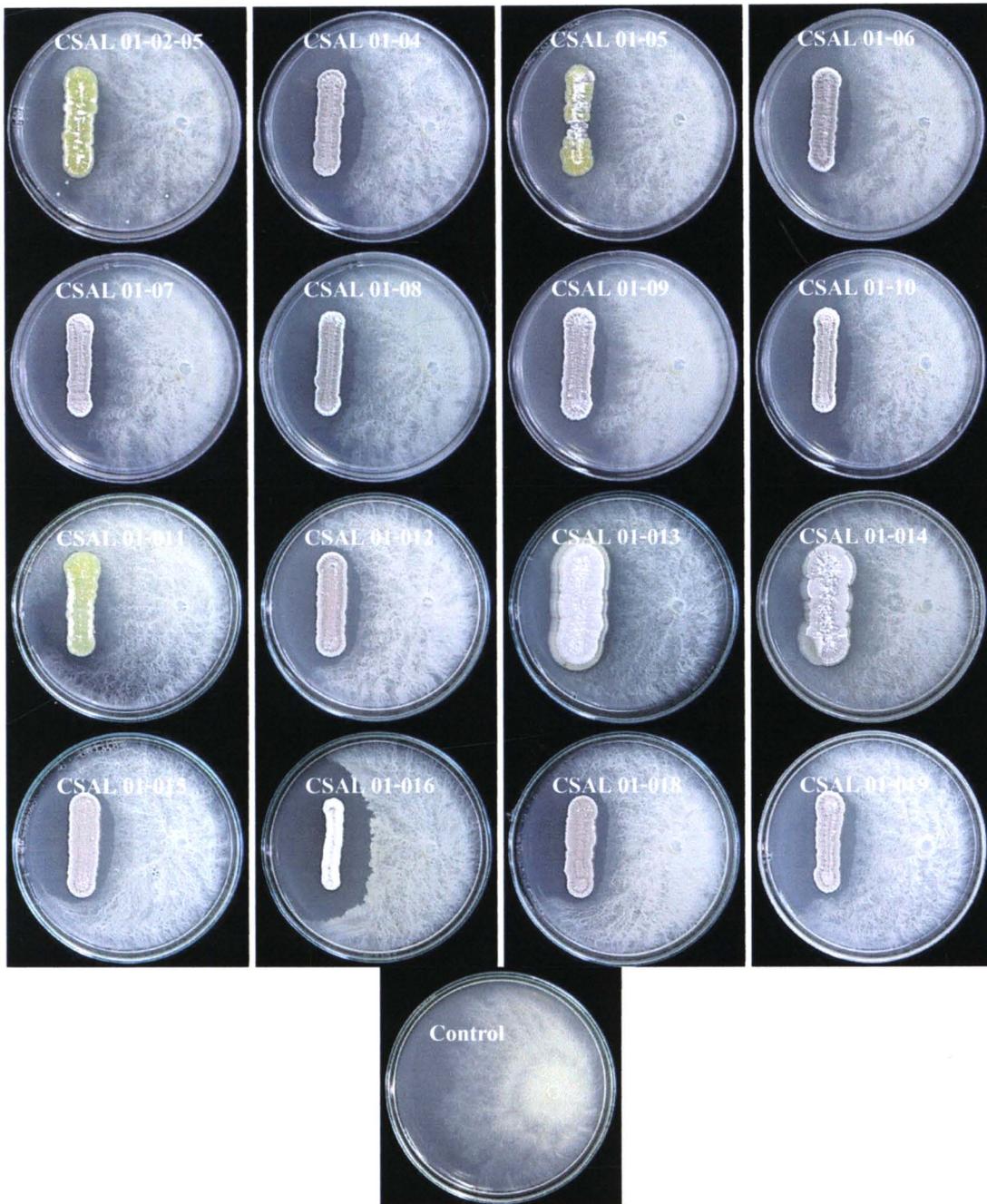
- |  |                      |
|--|----------------------|
| 1. ชา ( <i>Camellia sinensis</i> )       | 13 ไอโซเลท (TEA1-13) |
| 2. กาแฟ ( <i>Coffea arabica</i> )        | 2 ไอโซเลท (COF1-2)   |
| 3. อังกาบ ( <i>Barleria cristata</i> )   | 3 ไอโซเลท (BAR1-3)   |
| 4. จั๊กค่าน ( <i>Piper ribesoides</i>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

ง. เชื้อแอสโคไมซีตไฟท์ 35 ไอโซเลท ที่แยกจากลำต้นและใบของพืช 12 ชนิด ใช้เฉพาะการทดสอบควบคุมเชื้อ *Phellinus noxius* ดังนี้

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

### 3.8.3 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแอกติโนมัยซีสในการเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อสาเหตุโรคของชา

ก. จากทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแอกติโนมัยซีสที่ได้รับจาก ดร. อรวรรณ ฉัตรสีรุ่ง ในการควบคุมการเจริญของเชื้อรา (unknown) ที่แยกได้ในข้อ 1.3.1 โดยการตรวจวัดวัฏจักรการเจริญของโคโลนีของเชื้อราสาเหตุโรคต้นโทรมที่เลี้ยงร่วมกับเชื้อแอกติโนมัยซีสแต่ละไอโซเลท (ภาพที่ 3.22) คำนวณหาเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญหลังจากวางชิ้นเชื้อเป็นเวลา 3 วัน พบว่าเชื้อแอกติโนมัยซีสไอโซเลท CSAL 01-016 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อดังกล่าวได้ดีที่สุด มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญ 48.33% รองลงมาได้แก่ไอโซเลท CSAL 01-012 และ CSAL 01-013 มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเท่ากันคือ 42.78% (ตารางที่ 3.34)



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

ตารางที่ 3.34 เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญของเชื้อรา (unknown) ที่แยกได้จากชาที่แสดงอาการต้นโทรมโดยเชื้อแอคติโนมัยซีสไอโซเลทต่างๆทดสอบโดยวิธี dual culture นาน 3 วัน

ไอโซเลท	เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญ <sup>1</sup> (%)
CSAL 01-02-05	14.70 <sup>hi 2</sup>
CSAL 01-04	27.20 <sup>e</sup>
CSAL 01-05	12.50 <sup>i</sup>
CSAL 01-06	20.59 <sup>fg</sup>
CSAL 01-07	19.85 <sup>fg</sup>
CSAL 01-08	17.65 <sup>fgh</sup>
CSAL 01-09	21.32 <sup>f</sup>
CSAL 01-10	16.91 <sup>gh</sup>
CSAL 01-011	32.78 <sup>d</sup>
CSAL 01-012	42.78 <sup>b</sup>
CSAL 01-013	42.78 <sup>b</sup>
CSAL 01-014	33.89 <sup>d</sup>
CSAL 01-015	40.56 <sup>bc</sup>
CSAL 01-016	48.33 <sup>a</sup>
CSAL 01-018	38.33 <sup>c</sup>
CSAL 01-019	38.89 <sup>bc</sup>
LSD <sub>0.05</sub>	3.99
CV (%)	9.59

<sup>1</sup> ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ

<sup>2</sup> ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันใน column เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เปรียบเทียบโดยวิธี Least-significant difference ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

จากตารางที่ 3.35 และ ภาพที่ 3.23 ซึ่งเป็นการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแอคติโนมัยซีสที่ได้รับจาก ดร. อรวรรณ ฉัตรสีรุ่ง ในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคต้นโทรมของชาที่แยกได้ในระยะแรก ซึ่งขณะนั้นยังไม่สามารถจำแนกชนิดของเชื้อราได้ แต่เวลาในการทำการทดลองมีจำกัด

จึงจำเป็นต้องทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแอสคิตินิมัยซีสไปก่อน และจากผลการทดลอง จะเห็นได้ว่าเชื้อแอสคิตินิมัยซีสในกลุ่มนี้มีประสิทธิภาพควบคุมเชื้อในระดับห้องปฏิบัติการในเปอร์เซ็นต์ที่ต่ำ (เกษม, 2532) จึงไม่ได้นำเชื้อไปศึกษาในกลุ่มนี้มาใช้ทดสอบในการทดลองอื่น ๆ อีกต่อไป

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

### 3.8.3 ประสิทธิภาพของเชื้อแอสคิตินิมัยซีสเอนโดไฟท์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคของชา

#### โรคแอนแทรคโนส (anthracnose)

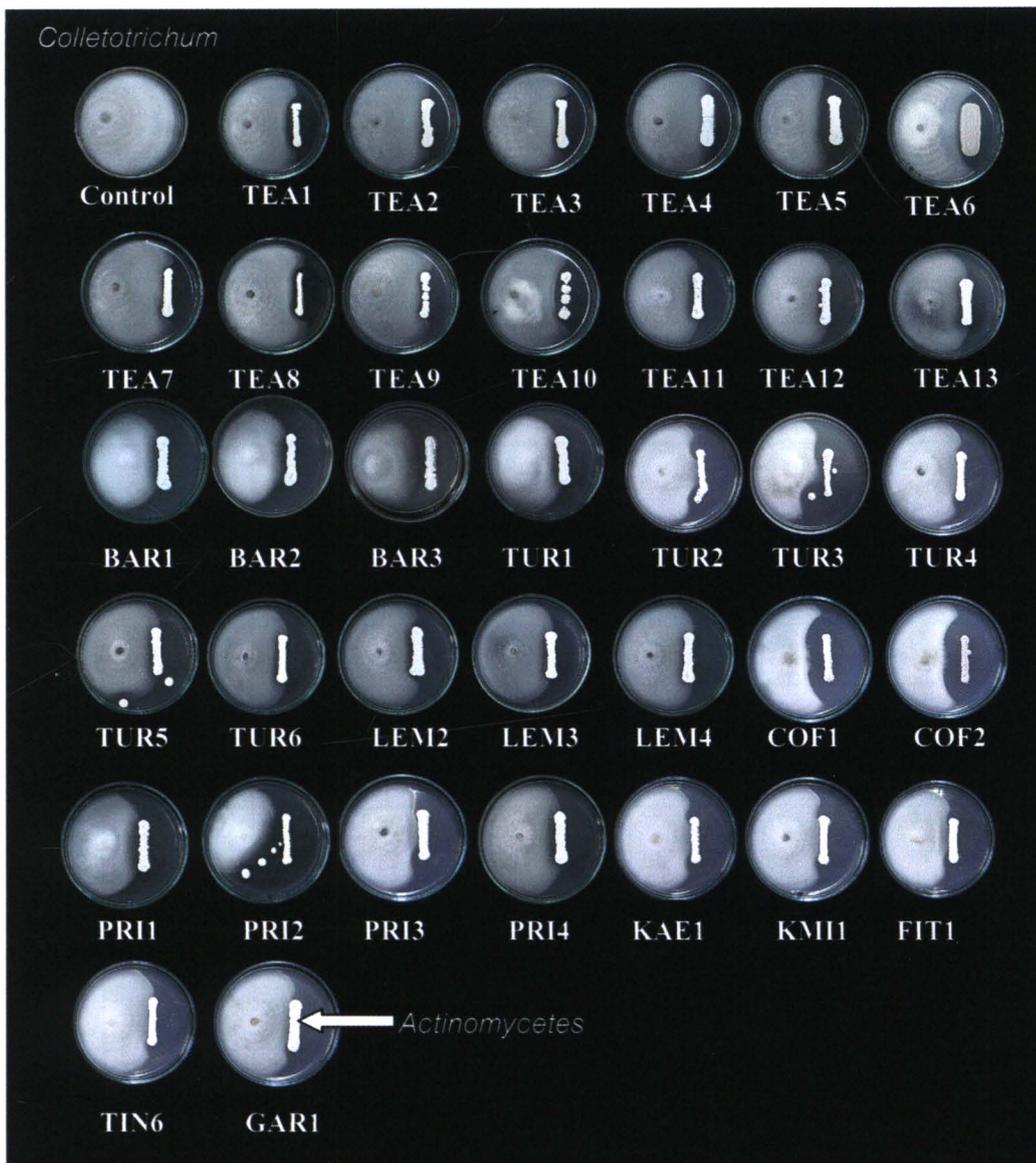
จากการนำเชื้อแอสคิตินิมัยซีสเอนโดไฟท์ที่แยกจากส่วนลำต้นและใบของพืช ทั้งหมด 36 ไอโซเลท และจากความอนุเคราะห์จากสาขาวิชาโรคพืช ภาควิชากีฏวิทยาและโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (ปิยะธิดา, 2549) จำนวน 5 ไอโซเลท มาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนส ด้วยวิธี Dual culture พบว่า เชื้อแอสคิตินิมัยซีสเอนโดไฟท์ 4 ไอโซเลท สามารถยับยั้งและให้ผลการวัดบริเวณการยับยั้ง (clear zone) ต่อการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ทั้ง 2 ไอโซเลทได้แตกต่างกันจากชุดควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยพบว่าเชื้อแอสคิตินิมัยซีสเอนโดไฟท์ที่สามารถยับยั้งเชื้อ *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) ส่วนเชื้อแอสคิตินิมัยซีสเอนโดไฟท์ที่สามารถยับยั้งเชื้อ *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 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของโคโลนี (%PIRG) ของเชื้อ *Colletotrichum* sp. ไอโซเลท 1 ของเชื้อแอคติโนมัยซีสเอนโดไฟท์ 36 ไอโซเลท

Isolate	% PIRG	Isolate	% PIRG	Isolate	% PIRG	Isolate	% PIRG
TEA1	48.96 <sup>cd/2</sup>	TEA9	42.26 <sup>fgh</sup> i	TUR1	41.18 <sup>ghij</sup>	LEM4	29.30 <sup>n</sup>
TEA2	42.26 <sup>fghi</sup>	TEA10	44.35 <sup>efg</sup> h	TUR2	41.18 <sup>ghij</sup>	COF1	68.24 <sup>a</sup>
TEA3	44.35 <sup>efgh</sup>	TEA11	37.58 <sup>jkl</sup>	TUR3	42.34 <sup>fghi</sup>	COF2	68.82 <sup>a</sup>
TEA4	43.05 <sup>mn</sup>	TEA12	42.04 <sup>fgh</sup> ij	TUR4	41.18 <sup>ghij</sup>	PRI1	41.18 <sup>ghij</sup>
TEA5	54.39 <sup>b</sup>	TEA13	31.2 <sup>1n</sup>	TUR5	37.58 <sup>jkl</sup>	PRI2	42.36 <sup>fghi</sup>
TEA6	51.46 <sup>bc</sup>	BAR1	40.00 <sup>hijk</sup>	TUR6	36.16 <sup>klm</sup>	PRI3	41.18 <sup>ghij</sup>
TEA7	43.93 <sup>fgh</sup>	BAR2	37.65 <sup>jkl</sup>	LEM2	45.23 <sup>defg</sup>	PRI4	38.22 <sup>ijkl</sup>
TEA8	40.17 <sup>hijk</sup>	BAR3	48.83 <sup>cd</sup> e	LEM3	33.76 <sup>lmn</sup>	KAE1	44.12 <sup>fgh</sup>
KMI1	42.35 <sup>fghi</sup>	FIT1	40.59 <sup>hijk</sup>	TIN1	46.47 <sup>def</sup>	GAR1	42.94 <sup>fgh</sup>
LSD <sub>0.05</sub>	2.26						
CV (%)	4.48						

<sup>1</sup> ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ

<sup>2</sup> ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในทุก column แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เปรียบเทียบโดยวิธี Least-significant difference ที่มีความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์



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

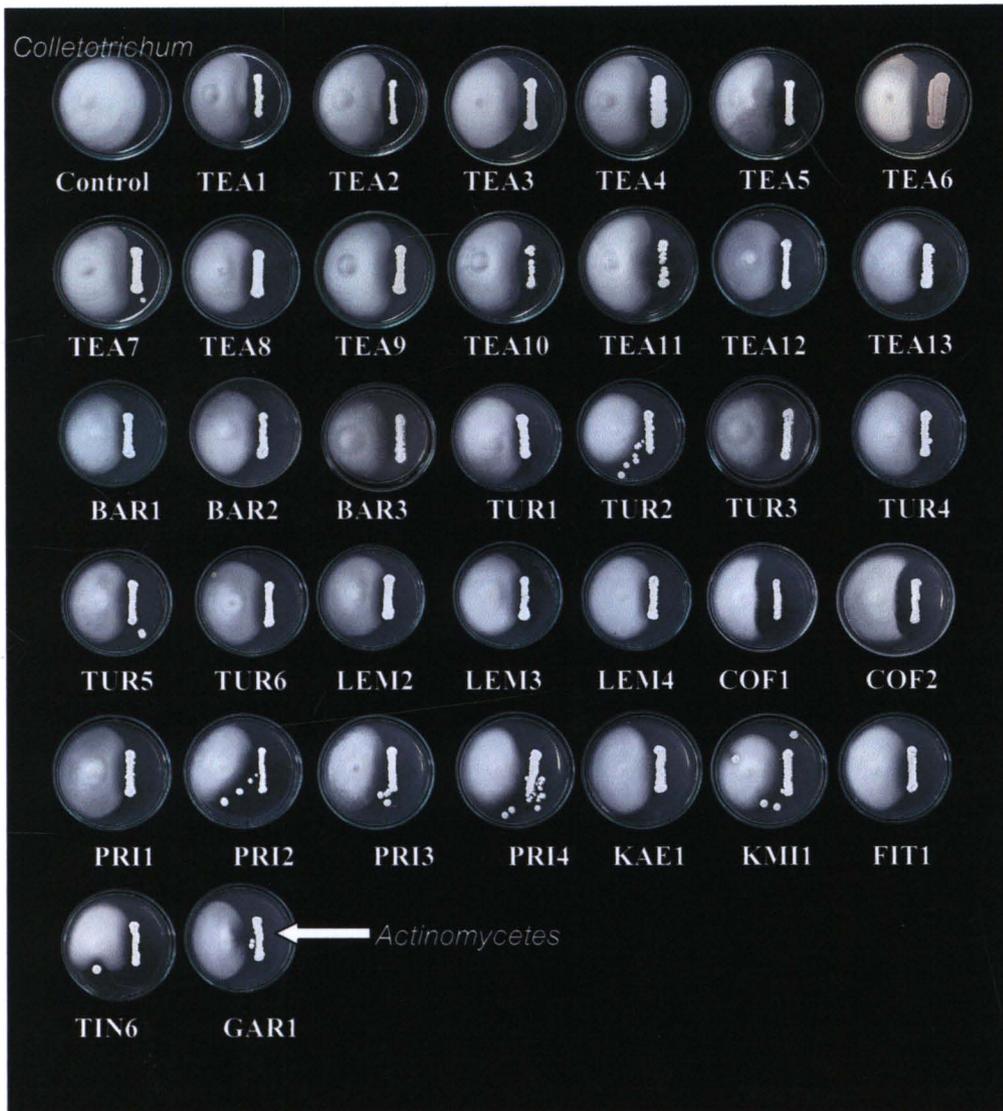


ตารางที่ 3.36 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของโคโคนี (%PIRG) ของเชื้อ *Colletotrichum* sp. ไอโซเลท2 ของเชื้อแอคติโนมัยซีสเอนโดไฟท์ 36 ไอโซเลท

Isolate	% PIRG	Isolate	% PIRG	Isolate	% PIRG	Isolate	% PIRG
TEA1	36. <sup>70ghijk/2</sup>	TEA9	37.23 <sup>ghijk</sup>	TUR1	38.41 <sup>fghi</sup>	LEM4	30.56 <sup>m</sup>
TEA2	34.44 <sup>ijklm</sup>	TEA10	42.02 <sup>ef</sup>	TUR2	34.44 <sup>ijklm</sup>	COF1	70.20 <sup>a</sup>
TEA3	33.50 <sup>klm</sup>	TEA11	38.19 <sup>fghij</sup>	TUR3	36.42 <sup>ghijk</sup>	COF2	72.19 <sup>a</sup>
TEA4	33.50 <sup>ijklm</sup>	TEA12	38.19 <sup>fghij</sup>	TUR4	35.76 <sup>hijkl</sup>	PRI1	34.44 <sup>ijklm</sup>
TEA5	49.47 <sup>c</sup>	TEA13	36.81 <sup>ghijk</sup>	TUR5	34.72 <sup>ijklm</sup>	PRI2	47.68 <sup>cd</sup>
TEA6	60.64 <sup>b</sup>	BAR1	40.39 <sup>efgh</sup>	TUR6	30.56 <sup>m</sup>	PRI3	44.37 <sup>de</sup>
TEA7	33.50 <sup>klm</sup>	BAR2	35.75 <sup>hijkl</sup>	LEM2	42.36 <sup>ef</sup>	PRI4	31.25 <sup>im</sup>
TEA8	35.10 <sup>ijklm</sup>	BAR3	37.74 <sup>fghijk</sup>	LEM3	33.34 <sup>klm</sup>	KAE1	37.08 <sup>ghijk</sup>
KMI1	38.41 <sup>fghi</sup>	FIT1	41.06 <sup>efg</sup>	TIN1	35.76 <sup>hijkl</sup>	GAR1	40.39 <sup>efgh</sup>
LSD <sub>0.05</sub>	2.37						
CV (%)	4.70						

<sup>1</sup>ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ

<sup>2</sup>ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในทุก column แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เปรียบเทียบโดยวิธี Least-significant difference ที่มีความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์



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

## โรครากเน่าโคนเน่าสีน้ำตาลของชา (brown rot)

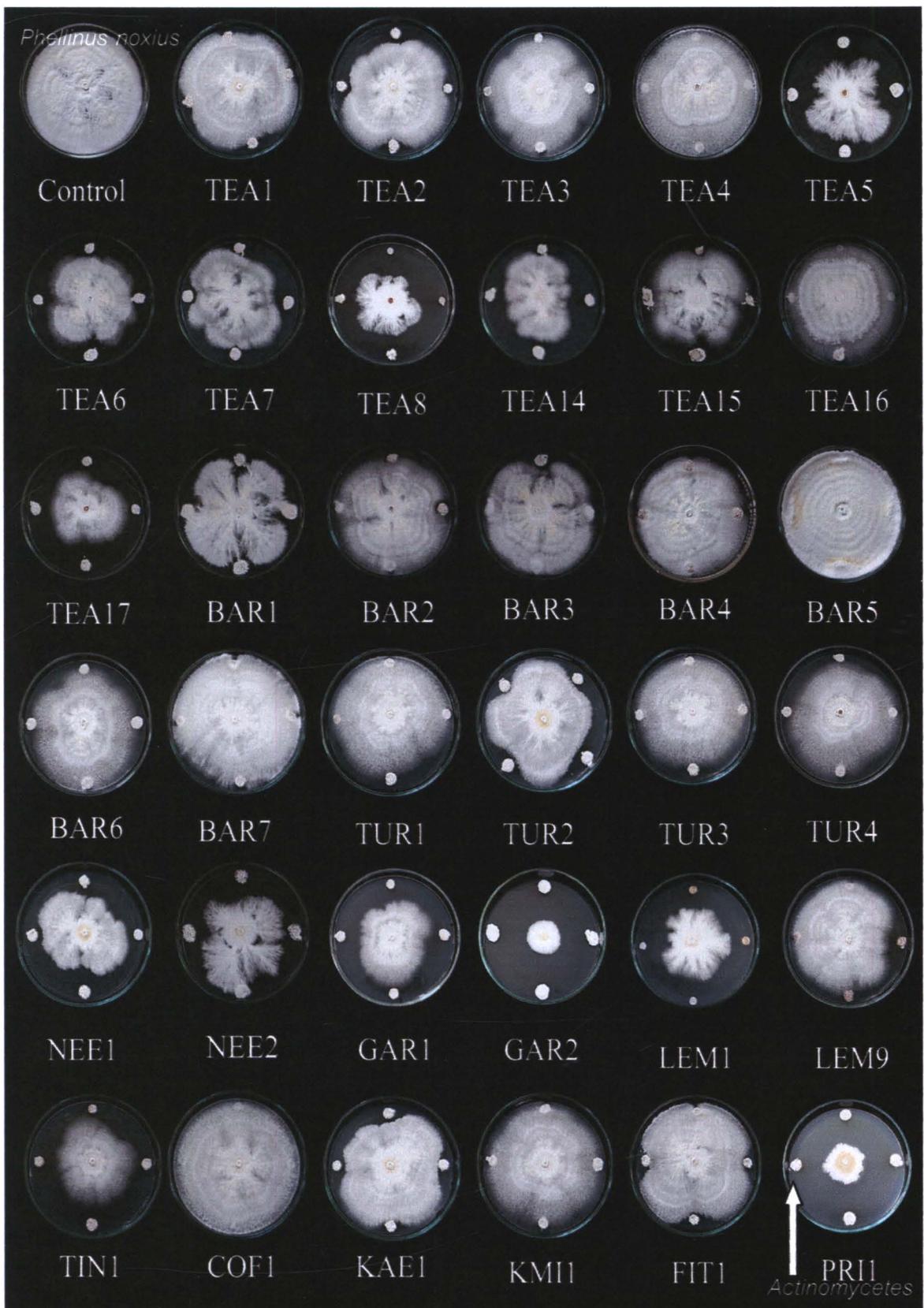
จากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแอสคิตินิมัยซีสเอนโดไฟท์ในการควบคุมการเจริญของเชื้อรา *Phellinus noxius* เชื้อสาเหตุของโรคต้นโทรมหรือโรครากเน่าโคนเน่าสีน้ำตาลของชา พบว่า GAR2 สามารถยับยั้งได้ดีที่สุด รองลงมาคือ PRI1, TEA5, LEM1, และ TEA8 โดยมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งเท่ากับ 69.37%, 59.38%, 55.63%, 48.12% และ 45.00% ตามลำดับ (ตารางที่ 3.37) และจะเห็นได้ว่า กลุ่มที่มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งในระดับสูง ที่มีค่าเกินกว่า 60 เปอร์เซ็นต์จะเป็นแอสคิตินิมัยซีสเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากพืชสมุนไพร ซึ่งแอสคิตินิมัยซีสเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากต้นชาที่มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งส่วนใหญ่อยู่ที่เพียง 20-40 เปอร์เซ็นต์เท่านั้น และเชื้อปฏิปักษ์ที่แยกได้จากอังกาบและขมิ้นมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. noxius* น้อยมาก แต่เมื่อเปรียบเทียบกับลักษณะการเจริญเติบโตพบว่าแอสคิตินิมัยซีสในบางไอโซเลท พบว่า แม้มีความสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรค *P. noxius* ได้ในระดับต่ำ แต่ส่งผลการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา โดยทำให้เส้นใยบางลงและเกิดการเปลี่ยนแปลงไปเมื่อเทียบกับชุดควบคุม (ภาพที่ 3.25) หรือในกรณีของการเลี้ยงเชื้อราสาเหตุโรคร่วมกับ BAR5 แม้เชื้อปฏิปักษ์จะไม่สามารถยับยั้งการเจริญด้านขนาดของโคโลนีของเชื้อราสาเหตุโรคได้ แต่พบว่าเชื้อรามีการสร้าง tertiary mycelium และเริ่มมีการอัดตัวของเส้นใยบริเวณขอบ ซึ่งอาจเป็นผลมาจากการที่ แอสคิตินิมัยซีสมีส่วนสร้างสาร secondary metabolite ซึ่งส่งผลต่อการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรค

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

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

<sup>1</sup> ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ

<sup>2</sup> ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในทุก column แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เปรียบเทียบโดยวิธี Least-significant difference ที่มีความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 3.25 ลักษณะการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Phellinus noxius* ของเชื้อแอคติโนมัยซีส  
 เอนโดไฟท์ 35 ไอโซเลต หลังการทดสอบ โดยวิธีการ Paper disk method