ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
246383

รายงานโครงการวิจัยฉบับสมบูรณ์

เรื่อง

การคัดกรองปัจจัยการผลิตอินทรีย์-ชีวภาพเพื่อผลิตชาคุณภาพสูง

Screening of Bio-organic Inputs for High Quality Tea Production

หัวหน้าโครงการ : ดร. อรวรรณ ฉัตรสีรุ้ง
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)

b00251201 246383

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
246383

รายงานโครงการวิจัยฉบับสมบูรณ์

เรื่อง

การคัดกรองปัจจัยการผลิตอินทรีย์-ชีวภาพเพื่อผลิตชาคุณภาพสูง

Screening of Bio-organic Inputs for High Quality Tea Production

หัวหน้าโครงการ : ดร. อรวรรณ ฉัตรสีรุ้ง
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

คณะผู้วิจัย	สังกัด
1. ดร. อรวรรณ ฉัตรสีรุ้ง	สาขาวิชาปฐพีศาสตร์ฯ ภาควิชาพืชศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
2. ดร. ชูชาติ สันธทรัพย์	ห้องปฏิบัติการกลาง คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
3. ผศ.ดร. เกวลิน คุณาศักดากุล	ภาควิชากีฏวิทยาและโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)

กิตติกรรมประกาศ

การดำเนินงานวิจัยของโครงการนี้ จะไม่สามารถสำเร็จลงได้หากไม่ได้รับการสนับสนุนด้านทุนวิจัยและด้านการดำเนินงานจากคณะบุคคลหลายภาคส่วน ดังนั้นผู้วิจัยจึงขอแสดงความขอบคุณ สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) (Thailand Research Fund) ฝ่ายเกษตร (2) ที่ได้ให้การสนับสนุนด้านงบประมาณตลอดระยะเวลาดำเนินงานวิจัย

ขอบขอบคุณ คุณจักริน วังวิวัฒน์ กรรมการผู้จัดการ บริษัท ชาระมิงค์ จำกัด ที่ได้อนุญาตและให้ความร่วมมือกับคณะผู้วิจัยได้ดำเนินงานทดลองภาคสนามในไร่ชาของบริษัท และขอขอบคุณ คุณกำธร เจ้าหน้าที่ภาคสนามของบริษัท ที่ได้อำนวยความสะดวกในการปฏิบัติงานภาคสนาม รวมทั้งเกษตรกรทุกท่านที่ได้อำนวยความสะดวกในการใส่ปุ๋ยอินทรีย์และเก็บตัวอย่างใบชา

และขอขอบคุณ ผู้ช่วยนักวิจัยห้องปฏิบัติการจุลินทรีย์ สาขาวิชาปฐพีศาสตร์ฯ เจ้าหน้าที่สังกัดหน่วยวิจัย คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ รวมถึงผู้เกี่ยวข้องอื่นๆอีกหลายท่านที่ไม่อาจเอ่ยนามได้ครบ ที่ได้ช่วยเหลือให้การดำเนินงานวิจัยเป็นไปอย่างราบรื่นและสำเร็จลุล่วงตามวัตถุประสงค์ที่วางไว้ คณะผู้วิจัยหวังเป็นอย่างยิ่งว่า ผลงานวิจัยนี้ผู้ประกอบการและเกษตรกรสามารถนำไปปฏิบัติต่อเนื่องในภาคสนามเพื่อให้เกิดผลดีต่อคุณภาพและผลผลิตของชาในระยะยาว นอกจากนี้ผลการวิจัยสามารถเป็นพื้นฐานอย่างดีให้การวิจัยต่อยอดด้านการผลิตชาอินทรีย์ในอนาคต เพื่อจะก่อให้เกิดคุณค่าแก่การนำไปประยุกต์ใช้และขยายผลในพื้นที่ปลูกชาอื่นๆได้อย่างกว้างขวาง นอกจากนี้กลุ่มจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ที่เป็นผลลัพธ์จากโครงการนี้ยังสามารถนำไปพัฒนาเป็นชีวภัณฑ์เพื่อใช้ในระบบเกษตรยั่งยืนและระบบเกษตรอินทรีย์ในระบบการผลิตชาได้ และรายงานการวิจัยฉบับนี้คงมีคุณค่าในด้านแนวทางการพัฒนาด้านอื่นทางการเกษตร อุตสาหกรรม และสิ่งแวดล้อมที่จะมีในโอกาสต่อๆไปด้วย

ดร. อรวรรณ ฉัตรสีรุ้ง
หัวหน้าโครงการวิจัย
พฤษภาคม 2553

Executive Summary

Tea is an economic crop of highland areas of northern Thailand with high input of agrochemical for its production. Consecutive years of agrochemicals use have resulted in soil fertility degradation and chemicals residues contamination in the environment especially water resources. The major areas for assam Tea (*Camellia sinensis* var. assamica) production is located in highland areas of Mae Tang District, Chiang Mai Province covering around 3,000 Rai of Tea plantation areas of Raming Tea company and farmers' Tea extension areas. Soil degradation due to high agrochemicals input resulted in decreasing of Tea yield. For this reason the company and farmers would like to increase tea yield while they also could improve soil properties and conserve the environment. In addition the yield obtained would be of interest for consumer's demands of safe and health products. The use of organic and beneficial microorganisms is an appropriate way to reduce the use of agrochemicals and conserve the environment. This study was aimed to screen and test microorgnsms which are able to increase the availability of plant nutrients for tea by direct application as biofertilizer or mixed with organic fertilizer. Screening of bio-organic inputs was done to clarify their effect on tea yield and quality. Study of microorganisms that show antagonistic activity to root rot diseased was also included.

Three groups of microorganisms; nitrogen (N) fixing (*Azospirillum, Azotobacter* and *Beijerinckia*), phosphorus (P) solubilzing (*Penicillium* and actinomycetes isolate LGLA-01-012) and potassium (K) solubilizing microorganisms (*Bacillus*) were selected to use as biofertilizer and mixed with organic fertilizers to apply in the field experiment. Before these fertilizers application, the soil pH was 4.76. The soil pH was raised to 5.4 by organic fertilizer application however bio-fertilizer application showed little increase in soil pH. Although the soil properties of treatments with 4 consecutive times of organic and bio- fertilizers application during 14 months did not significantly differ from those of the control but the results showed a positive trend of better soil quality. Soil organic matter content was increased from 3.45 to 5.11 – 5.39%. Besides raising soil pH and organic matter, organic and bio- fertilizers could increased the quantity of many plant nutrients (P,

K, Ca, Mg, S and Zn) in the soils. However some nutrients such as B showed only little increase. Several nutrients; Fe, Mn and Cu were decreased with organic and bio- fertilizer application.

However the quantity of P availability and exchangeable K was higher than the optimum value while the quantity of Ca and Mg were lower than the optimum value of general plant production. This might due to a long and high input of N,P and K fertilizer in Raming Tea plantation before transition to organic system. This practice resulted in increment of soil acidity and accumulation of P and K in the soils. In addition Ca and Mg were removed through erosion in this slope plantation. For this reason even after this experiment, this area should be continuously applied with organic fertilizer blended with dolomite. After a certain time, the soil pH would be increase and stable.

Tea leaves analysis showed that major nutrients (N, P and K) especially N were increased by these fertilizers application. The N content in tea leaves both of shaded (2.93 - 3.23%) and un-shaded (2.71 – 2.82%) plantation areas was higher that of the control (2.68%). These results clearly showed that tea performed better nutrient uptake.

Measurement of antioxidant catechin in green leaves showed that the highest catechins in shaded and unshaded area was found as EGCG (17.24 – 77.75 mg/g) followed by EGC (5.80 – 55.67 mg/g), EC (4.39 – 60.83%) and C (0.15-4.67 mg/g). It was interesting to note that catechin antioxidant in young green leaves of un-shaded plots were higher than that of shaded areas. In contrast caffeine in young green leaves of shaded plots was higher than that of unshaded areas. It was also interesting to note that antioxidant catechin was lowest in winter, gradually increased in summer and showed highest quantity in rainy season.

Four consecutive times application of organic and bio- fertilizers tended to enhance tea yield. The average year-round yield in 2008 was 617.5 to 711.3 kg/ha, and in 2009 the yield was increased to 1,165 to 1,271.9 kg/ha. The highest yield was obtained with organic fertilizer treatment. However the yield of the control plots was also tended to increased. This might due to higher nutrients obtained from gradually natural decomposition of fallen tea leaves and pruning tea leaves under the tea plants.

Continuous application of organic fertilizer in the long run would resulted in more obvious yield increment.

Plant diseases survey in this experiment showed that no obvious spread of plant disease in shaded plots on high slope areas. The un-shaded plots in lower slope areas showed higher disease spread than that of the shaded areas. In general no obvious effect of organic and bio- fertilizers application on the spread of plant disease was found. However it could be concluded that no serious plant disease in the areas of fertilizers experiment. Soil fertility and environment might affect tea growth and also plant disease tolerant of tea plant. Therefore continuous improvement of soil fertility by organic fertilizer would resulted in more obvious results of both yield and plant disease tolerant.

In another tea plantation areas without fertilizer experiment, the two most important tea diseases were recorded; anthracnose caused by *Colletotrichum* sp. and brown root rot caused by *Phellinus noxius*. From the Isolation and screening of antagonistic endophytic actinomycetes; isolates COF2 and COF1 showed highest activity to suppress *Colletotrichum* sp. growth with the percentage of suppressing of 72.19 and 70.20, respectively. The highest activity (69.37%) in suppressing *P. noxius* was obtained with isolate GAR2.

บทสรุปสำหรับผู้บริหาร

ชาเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญในพื้นที่สูงของภาคเหนือและมีการใช้สารเคมีเกษตรในอัตราสูงอย่างต่อเนื่องทำให้ดินเสื่อมความอุดมสมบูรณ์และมีสารปนเปื้อนสู่สิ่งแวดล้อมสูง โดยเฉพาะแหล่งต้นน้ำบนที่สูง แหล่งปลูกชาอัสสัม(*Camellia sinensis* var. assamica) ที่สำคัญแห่งหนึ่งในจังหวัดเชียงใหม่อยู่บนพื้นที่สูงใน อ. แม่แตง จ.เชียงใหม่ ซึ่งเป็นแหล่งต้นน้ำแม่ปิงโดยมีพื้นที่ปลูกชากว่า 3,000 ไร่ ซึ่งเป็นพื้นที่สัมปทานของบริษัทชาระมิงค์ จำกัด และพื้นที่ส่งเสริมการปลูกชาอัสสัมของเกษตรกร เมื่อปัจจัยทางดินเสื่อมถอยลงจากการใช้สารเคมีเกษตรดังกล่าวทำให้ผลผลิตของชาอัสสัมลดลง ดังนั้นผู้ประกอบการรวมทั้งเกษตรกรมีความประสงค์จะเพิ่มปริมาณผลผลิตในขณะเดียวกันก็สามารถฟื้นฟูดินและอนุรักษ์สิ่งแวดล้อมด้วย นอกจากนี้ก็จะได้ผลผลิตที่สอดคล้องกับความต้องการของตลาดผู้บริโภคที่ห่วงใยต่อสุขภาพซึ่งก็มีแนวโน้มของตลาดเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง การใช้ปุ๋ยอินทรีย์และจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์น่าจะเป็นทางเลือกที่เหมาะสมเพื่อลดการใช้สารเคมีเกษตรและอนุรักษ์สิ่งแวดล้อม การศึกษาทดลองครั้งนี้เป็นการศึกษาเพื่อคัดเลือกและทดลองใช้จุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการเพิ่มประโยชน์ของธาตุอาหารให้แก่ชาโดยใช้โดยตรงเป็นปุ๋ยชีวภาพหรือผสมกับปุ๋ยอินทรีย์ คัดกรองปัจจัยการผลิตอินทรีย์ชีวภาพที่มีผลต่อผลผลิตและคุณภาพของชาในภาคเหนือ พร้อมทั้งศึกษาเชื้อจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการเป็นปฏิปักษ์เชื้อราเห็ดสาเหตุของโรคโคนเน่าของชา

ผลการคัดเลือกจุลินทรีย์กลุ่มเพิ่มธาตุอาหารพืชเพื่อใช้ผสมในปุ๋ยอินทรีย์สำหรับใช้ทดลองในภาคสนามได้เลือกมา 3 กลุ่มคือ กลุ่มตรึงไนโตรเจน ได้แก่ *Azospirillum*, *Azotobacter* และ *Beijerinckia* กลุ่มละลายฟอสฟอรัส ได้แก่ *Penicillium* และ แอคติโนมัยซีส isolate, LGLA-01-012 อีกกลุ่มหนึ่งคือกลุ่มละลายโพแทสเซียม ได้แก่ *Bacillus* จุลินทรีย์กลุ่มที่คัดเลือกนี้ได้นำมาผลิตเป็นส่วนผสมของปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพสำหรับการทดลองภาคสนามครั้งนี้ จากการศึกษาวิจัยการใช้ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพในพื้นที่ไร่ชาของบริษัทชาระมิงค์ จำกัด พบว่าก่อนใช้ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพดินเป็นกรดสูงมีค่า pH อยู่ประมาณ 4.76 หลังมีการใส่ปุ๋ยอินทรีย์แล้วค่า pH ของดินมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น (ความเป็นกรดลดลง) โดยมีค่าอยู่ที่ 5.4 ส่วนการใส่ปุ๋ยชีวภาพในการวิจัยครั้งนี้ส่งผลให้ค่า pH เพิ่มขึ้นเล็กน้อยเท่านั้น ถึงแม้ว่าการใส่ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพ จำนวน 4 ครั้ง ในระยะเวลา 14 เดือน จะไม่ทำให้คุณสมบัติของดินโดยส่วนใหญ่แตกต่างจากการไม่ใส่ปุ๋ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติก็ตาม แต่การใส่ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพ มีแนวโน้มที่ทำให้ดินมีคุณภาพที่ดีขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับดินปลูกชาก่อนการทดลอง ปริมาณอินทรียวัตถุเพิ่มขึ้นจาก 3.45 เป็น 5.11 – 5.39 % การใส่ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพนอกจากจะส่งผลให้ค่า pH และอินทรียวัตถุปรับ

สูงขึ้นแล้วปริมาณธาตุอาหาร ได้แก่ P, K, Ca, Mg, S และ Zn มีแนวโน้มที่เพิ่มขึ้นชัดเจน ส่วนปริมาณธาตุอาหารอื่น ได้แก่ B มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นหลังการใส่ปุ๋ยอินทรีย์เพียงเล็กน้อย ส่วนปริมาณธาตุบางธาตุมีแนวโน้มลดลงอย่างชัดเจนได้แก่ Fe, Mn และ Cu

อย่างไรก็ตามผลจากการทดลองครั้งนี้พบว่า ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์และปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้อยู่ในระดับสูงเกินค่าที่เหมาะสม แต่มีแคลเซียมแมกนีเซียมในระดับต่ำกว่าค่าที่เหมาะสม เมื่อเทียบกับดินที่เหมาะสมในการผลิตพืชโดยทั่วไป ทั้งนี้เป็นผลสืบเนื่องมาจากการใช้ปุ๋ยเคมีที่ให้ธาตุอาหารหลัก (NPK) อย่างต่อเนื่องมาเป็นระยะเวลายาวนาน ในไร่ปลูกชาของ บริษัท ชาระมิงค์ จำกัด ก่อนที่จะปรับเปลี่ยนมาผลิตในระบบอินทรีย์ ทำให้มีการสะสมฟอสฟอรัสและโพแทสเซียมในดินในปริมาณสูงมากเป็นทุนเดิม และสะสมความเป็นกรดในดินเพิ่มขึ้น ประกอบกับการเป็นพื้นที่ลาดชัน มีการสูญเสีย แคลเซียมและแมกนีเซียมไปกับชะล้างได้ง่าย ดินจึงมีแคลเซียมและแมกนีเซียมต่ำ ดังนั้นในระยะหลังจากนี้ควรมีการใช้ปุ๋ยอินทรีย์ร่วมกับการใช้ปูนโดโลไมท์ (Dolomite- $CaMg(CO_3)_2$)) โดยผสมในปุ๋ยอินทรีย์ก่อนการใส่ลงดินโดยปฏิบัติอย่างต่อเนื่องในระยะยาวคาดว่าจะทำให้ค่า pH มีความเหมาะสมและคงที่มากขึ้น

จากผลการวิเคราะห์ความเข้มข้นของธาตุอาหารในใบชา พบว่าถึงแม้ความเข้มข้นของธาตุอาหารในใบชาทั้งที่ใส่ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพจะไม่แตกต่างจากกรรมวิธีที่ไม่ได้ใส่ปุ๋ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติก็ตาม ทั้งแปลงที่ปลูกชาภายใต้ร่มเงา และแปลงกลางแจ้ง แต่เป็นที่น่าสังเกตว่าการใส่ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพมีแนวโน้มทำให้ความเข้มข้นของธาตุอาหารหลัก โดยเฉพาะไนโตรเจนในใบชาสูงกว่าในกรรมวิธีที่ไม่ได้ใส่ปุ๋ย ทั้งแปลงที่ปลูกในร่มและกลางแจ้ง โดยการใส่ปุ๋ยอินทรีย์หรือปุ๋ยชีวภาพทำให้ความเข้มข้นของไนโตรเจนสูงขึ้นถึง 2.93 - 3.23% และ 2.71 – 2.82% ตามลำดับ ขณะที่ไม่ใส่ปุ๋ยมีไนโตรเจนเพียง 2.68% แสดงให้เห็นว่าชามีการดูดใช้ธาตุอาหารดีขึ้น

จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) ในกลุ่มคาเทชิน (Catechin) ซึ่งได้แก่ Catechin (C), Epicatechin (EC), Epigallocatichin 3-gallate (EGCG) Epicatechin gallate ECG และ คาเฟอีน (Caffeien) ตลอดระยะเวลาการศึกษา พบว่าสารต้านอนุมูลอิสระที่ตรวจพบ มีปริมาณสาร EGCG 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 และเมื่อพิจารณาถึงความแตกต่างของสารต้านอนุมูลอิสระในกลุ่มคาเทชินและคาเฟอีนในยอดชาอ่อนจากแปลงที่ปลูกในร่มและแปลงที่ปลูกกลางแจ้ง พบข้อสังเกตที่น่าสนใจว่ามีแนวโน้มว่าสารต้านอนุมูลอิสระในกลุ่มคาเทชินในยอดชาอ่อนจากแปลงชากลางแจ้งจะมีปริมาณที่สูงกว่าแปลงชาที่ปลูกในร่ม แต่ในทางตรงกันข้ามมีแนวโน้มว่าสารคาเฟอีนในยอดชาอ่อนของแปลงในร่มมี

ปริมาณที่ สูงกว่าแปลงกลางแจ้ง และข้อสังเกตอีกประการก็คือ โดยส่วนใหญ่แล้วปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในกลุ่มคาเทชินจะมีปริมาณต่ำที่สุดในช่วงฤดูหนาว และค่อยเพิ่มสูงขึ้นในช่วงฤดูร้อน และจะมีปริมาณสูงสุดในฤดูฝน

การใส่ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพต่อเนื่องกัน 4 ครั้ง มีแนวโน้มว่าช่วยส่งเสริมให้ผลผลิตของชาดีขึ้น ซึ่งจะเห็นว่าในฤดูการผลิตปี 2551 ผลผลิตของชา เฉลี่ยอยู่ในช่วง 617.5 ถึง 711.3 กิโลกรัมต่อเฮกแตร์ (kg/ha) และในฤดูการผลิตปี 2552 ผลผลิตของชาเพิ่มขึ้นเป็น 1,165 ถึง 1,271.9 กิโลกรัมต่อเฮกแตร์ โดยการใส่ปุ๋ยอินทรีย์ให้ผลผลิตสูงสุด สำหรับแปลงที่ไม่ใส่ปุ๋ยนั้นมีแนวโน้มของการเพิ่มผลผลิตเช่นกันซึ่งคาดว่าเกิดจาก การย่อยสลายของใบชาธรรมชาติที่ได้จากการตัดแต่งกิ่งชาในทุกฤดูแล้งของแต่ละปี หากมีการใส่ปุ๋ยอินทรีย์อย่างต่อเนื่องคาดว่าในระยะยาวคงจะเห็นผลในทางบวกต่อผลผลิตที่ส่งผลให้เพิ่มขึ้นอยู่ในระดับสูงได้ชัดเจนยิ่งขึ้น

จากการสำรวจการระบาดของโรคในแปลงทดลองปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพนั้น แปลงที่ปลูกในบริเวณไหล่เขาที่สูงชันและมีร่มไม้ไม่ค่อยพบอาการของโรค เมื่อเปรียบเทียบกับแปลงที่ปลูกในบริเวณที่ต่ำกว่าและมีร่มไม้น้อยซึ่งพบว่ามีการเกิดโรคมากกว่า โดยภาพรวมแล้วการใส่ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพในการทดลองนี้ยังไม่ส่งผลชัดเจนว่าทำให้ความรุนแรงของโรคต่างจากแปลงที่ไม่ใส่ปุ๋ย อย่างไรก็ตามจากข้อมูลที่ได้สามารถสรุปว่า แปลงทดลองปุ๋ยอินทรีย์ไม่มีการระบาดของโรคที่รุนแรง ความอุดมสมบูรณ์ของดินและสภาพแวดล้อมในแต่ละพื้นที่นั้นอาจส่งผลต่อการเจริญเติบโตและความสามารถในการทนทานต่อโรคของต้นชา ดังนั้นการฟื้นฟูความอุดมสมบูรณ์ของดินอย่างต่อเนื่องในระยะยาวน่าจะเห็นผลทางบวกด้านนี้ได้ชัดเจนขึ้น

ในส่วนของแปลงที่มีการระบาดของโรครุนแรงซึ่งห่างจากแปลงทดลองปุ๋ยอินทรีย์ได้มีการสำรวจโรคสำคัญของชา พบโรคสำคัญ 2 ชนิด คือ โรคแอนแทรคโนส ที่เกิดจากเชื้อ *Colletotrichum* sp. โรครากเน่าโคนเน่าสีน้ำตาล เกิดจากเชื้อรา *Phellinus noxius* การทดสอบความสามารถในการเป็นปฏิปักษ์ของเชื้อแอคติโนมัยซีสเอนโดไฟท์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichim* sp. พบว่า ไอโซเลท COF2 และ COF1 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุดีที่สุด โดยโดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งสูงที่สุด เท่ากับ 72.19 และ 70.20 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการทดสอบความสามารถในการเป็นปฏิปักษ์ของเชื้อแอคติโนมัยซีสเอนโดไฟท์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. noxius* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าสีน้ำตาลของชา พบว่า เชื้อที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคมากที่สุดโดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งในระดับสูง (69.37%) คือ GAR2

สารบัญเรื่อง

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
Executive Summary	ข
บทสรุปสำหรับผู้บริหาร	จ
สารบัญเรื่อง	ช
สารบัญตาราง	ฎ
สารบัญภาพ	ฑ
Abstract	1
บทคัดย่อ	2
บทที่ 1 บทนำ (Introduction)	3
1.1 ความเป็นมาของโครงการ	3
1.2 วัตถุประสงค์	4
1.3 ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	5
บทที่ 2 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง (Materials and Methods)	8
2.1 การแยกเชื้อแอคติโนมัยซีสเพื่อใช้ในการย่อยสลายใบชาและการประเมินประสิทธิภาพเบื้องต้นในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสและฮอร์โมนพืช IAA	8
2.1.1 การแยกแอคติโนมัยซีส (Actinomycetes) จากใบลำไย	8
2.1.2 การแยกแอคติโนมัยซีสจากดินบริเวณโคนต้นลำไย	8
2.1.3 การแยกแอคติโนมัยซีสจากผิวใบลำไยและผิวใบชา	9
2.1.4 การประเมินศักยภาพการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส (Cellullase) ของเชื้อแอคติโนมัยซีส ที่แยกได้	9
2.1.5 การประเมินศักยภาพในการผลิตฮอร์โมนพืช IAA (Indole Acetic Acid)	10
2.1.6 การประเมินประสิทธิภาพในการละลายฟอสฟอรัสของเชื้อแอคติโนมัยซีส	10

2.1.7 การแยกและขยายเชื้อราไมคอร์ไรซาจากรากและ
ดินบริเวณรากต้นชา 11
2.1.8 การทดสอบเชื้อจุลินทรีย์ผลิตเอนไซม์เซลลูเลส ในการย่อยสลาย
ใบชาในเรือนทดลอง 13

2.2 การทดสอบผลของปุ๋ยอินทรีย์-ชีวภาพและปุ๋ยชีวภาพต่อการเปลี่ยนแปลง
สมบัติของดิน ผลผลิต และคุณภาพผลผลิตของชา ในภาคสนาม 14
2.2.1 การคัดเลือกเชื้อที่มีประสิทธิภาพเพื่อนำไปใช้ในการทดลองภาคสนาม 14
2.2.2 แผนการทดลองการใช้ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพในแปลงปลูกชา 14
2.2.3 การเก็บตัวอย่างและบันทึกข้อมูล 19
2.3 การสำรวจโรคในแปลงทดลองปุ๋ยอินทรีย์-ชีวภาพ 20
2.4 การแยกเชื้อและการวินิจฉัยเชื้อสาเหตุโรคชาในแปลง 21
2.4.1 การสำรวจและการแยกเชื้อสาเหตุโรค 21
2.4.2 กลุ่มเชื้อรา 21
2.4.3 กลุ่มเชื้อแบคทีเรีย 21
2.4.4 กลุ่มไส้เดือนฝอย 23
2.5 การแยกและการเลี้ยงเชื้อแอคติโนมัยซีส และเชื้อแอคติโนมัยซีส เอนโดไฟท์ 23
2.6 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแอคติโนมัยซีส 24

บทที่ 3 ผลการทดลอง (Results) 25

3.1 ผลการแยกแอคติโนมัยซีส และการประเมินการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส 25
3.2 การประเมินประสิทธิภาพเบื้องต้นในการละลายฟอสฟอรัส
ของเชื้อแอคติโนมัยซีส 29
3.3 การประเมินประสิทธิภาพเบื้องต้นในการละลายฟอสฟอรัส
ของเชื้อแอคติโนมัยซีส 30
3.4 การคัดแยกและขยายเชื้อไมคอร์ไรซา 34
3.4.1 ผลคัดแยกสปอร์จากดินบริเวณรากชา 34
3.4.2 การขยายปริมาณสปอร์ของเชื้อราอาบัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา
ชนิด *Glomus* sp. 34

สารบัญเรื่อง (ต่อ)

หน้า

3.4.3 การขยายปริมาณสปอร์ไมคอร์ไรซาเพื่อใช้ในงานทดลองภาคสนาม 35

3.4.4 การขยายปริมาณสปอร์ของเชื้อราอาบัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา ชนิด *Glomus* sp. 34

3.5 ผลการคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์เพื่อใช้ทดสอบในภาคสนาม 35

3.6 ผลการทดสอบการย่อยสลายของใบชา 36

3.7 ผลของปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพต่อคุณภาพและผลผลิตของชาในภาคสนาม 39

3.7.1 ผลการตรวจสอบสมบัติของดินก่อนการทดลอง 39

3.7.2 ผลของปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพต่อการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของดิน 40

3.8 ผลการสำรวจการระบาดของโรคในแปลงผลิตชาระบบอินทรีย์ 55

3.8.1 การสำรวจการแยกเชื้อ และการพิสูจน์สาเหตุโรค 55

3.8.2 การแยกและการเลี้ยงเชื้อ แอคติโนมัยซีสและแอคติโนมัยซีสเอนโดไฟท์ 71

3.8.3 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแอคติโนมัยซีสในการเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อสาเหตุโรคของชา 76

บทที่ 4 สรุปผลการวิจัย (Summary) 84

4.1 แปลงทดลองปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพ 84

4.2 แปลงที่มีการระบาดของโรครุนแรง 85

เอกสารอ้างอิง 86

ภาคผนวก 90

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 2.1 แผนการใส่ปุ๋ยในแปลงทดลอง 16

ตารางที่ 3.1 เชื้อแอคติโนมัยซีสที่แยกได้จากใบลำไยและศักยภาพในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส (clear zone ratio) 27

ตารางที่ 3.2 ศักยภาพการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส (clear zone ratio) ของเชื้อแอคติโนมัยซีสที่แยกได้จากดิน 28

ตารางที่ 3.3 เชื้อแอคติมัยซีสที่แยกได้จากผิวใบลำไย และผิวใบชา 28

ตารางที่ 3.4 ปริมาณการผลิต IAA ของเชื้อที่แยกได้จากผิวใบลำไย และใบชา 29

ตารางที่ 3.5 ประสิทธิภาพเทียบจาก clear zone ratio ของเชื้อ Actinomycetes จากใบลำไยที่ผุพังในการละลายฟอสเฟต 31

ตารางที่ 3.6 ประสิทธิภาพเทียบจาก clear zone ratio ของเชื้อแอคติโนมัยซีส จากดินบริเวณโคนต้นลำไยในการละลายฟอสเฟต 32

ตารางที่ 3.7 ประสิทธิภาพเทียบจาก clear zone ration ของเชื้อ Actinomycetes ที่แยกจากผิวใบลำไยและผิวใบชาในการละลายฟอสเฟต 33

ตารางที่ 3.8 ประสิทธิภาพเทียบจาก clear zone ration ของเชื้อ Actinomycetes เชื้อแบคทีเรียที่แยกมาจากดินบริเวณรากชาในการละลายฟอสเฟต 33

ตารางที่ 3.9 จุลินทรีย์ที่ได้คัดเลือกว่ามีศักยภาพสูงในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชเพื่อใช้ในการทดลองขั้นต่อไป 36

ตารางที่ 3.10 คุณสมบัติของดินในบริเวณแปลงปลูกชา ของบริษัทชาระมิงค์ 39

ตารางที่ 3.11 คุณสมบัติของดินในแปลงที่ปลูกชาภายใต้ร่มเงาต้นไม้หลังการใส่ปุ๋ยครั้งที่ 1 (กันยายน 2551) 42

ตารางที่ 3.12 คุณสมบัติของดินในแปลงที่ปลูกชาที่อยู่กลางแจ้ง หลังการใส่ปุ๋ยครั้งที่ 1 (กันยายน 2551) 42

ตารางที่ 3.13 คุณสมบัติของดินในแปลงที่ปลูกชาภายใต้ร่มเงาต้นไม้หลังการใส่ปุ๋ยครั้งที่ 2 (เมษายน 2552) 43

หน้า

ตารางที่ 3.14 คุณสมบัติของดินในแปลงที่ปลูกชาที่อยู่กลางแจ้ง หลังการใส่ปุ๋ยครั้งที่ 2 (เมษายน 2552) 43

ตารางที่ 3.15 คุณสมบัติของดินในแปลงที่ปลูกชาภายใต้ร่มเงาต้นไม้หลังการใส่ปุ๋ยครั้งที่ 4 (เดือนตุลาคม 2552) 44

ตารางที่ 3.16 คุณสมบัติของดินในแปลงที่ปลูกชาที่อยู่กลางแจ้ง หลังการใส่ปุ๋ยครั้งที่ 4 (เดือนตุลาคม 2552) 44

ตารางที่ 3.17 ระดับปริมาณธาตุอาหารต่างๆที่เหมาะสมในใบชาและความเข้มข้นของธาตุอาหารในใบชาที่เก็บจากแปลงชาของบริษัทชาระมิงค์ 45

ตารางที่ 3.18 ความเข้มข้นของธาตุอาหารต่างๆในใบชาที่ปลูกในแปลงในร่ม (เก็บตัวอย่างเดือน กันยายน 2551) 46

ตารางที่ 3.19 ความเข้มข้นของธาตุอาหารต่างๆในใบชาที่ปลูกในแปลงกลางแจ้ง (เก็บตัวอย่าง เดือน กันยายน 2551) 46

ตารางที่ 3.20 ความเข้มข้นของธาตุอาหารต่างๆในใบชาที่ปลูกในแปลงในร่ม (เก็บตัวอย่างเดือน เมษายน 2551) 47

ตารางที่ 3.21 ความเข้มข้นของธาตุอาหารต่างๆในใบชาที่ปลูกในแปลงกลางแจ้ง (เก็บตัวอย่างเดือน เมษายน 2551) 47

ตารางที่ 3.22 ความเข้มข้นของธาตุอาหารต่างๆในใบชาที่ปลูกในแปลงในร่ม (เก็บตัวอย่างเดือนตุลาคม 2552) 49

ตารางที่ 3.23 ความเข้มข้นของธาตุอาหารต่างๆในใบชาที่ปลูกในแปลงกลางแจ้ง (เก็บตัวอย่างเดือนตุลาคม 2552) 49

ตารางที่ 3.24 ปริมาณของสารกลุ่มคาเทชินและคาเฟอีนในยอดชาที่ปลูกภายใต้ร่มเงา (ธ.ค.51) 50

ตารางที่ 3.25 ปริมาณของสารคาเทชินและคาเฟอีนในยอดชาที่ปลูกกลางแจ้ง (ธ.ค. 2551) 51

ตารางที่ 3.26 ปริมาณของสารกลุ่มคาเทชินและคาเฟอีนในยอดชาที่ปลูกภายใต้ร่มเงา (เม.ย.52) 51

สารบัญตาราง (ต่อ)

หน้า

ตารางที่ 3.27 ปริมาณของสารกลุ่มคาเทชินและคาเฟอีนในยอดชาที่ปลูกกลางแจ้ง (เม.ย.52) 51

ตารางที่ 3.28 ปริมาณของสารกลุ่มคาเทชินและคาเฟอีนในยอดชาที่ปลูกภายใต้ร่มเงา (ก.ค.52) 52

ตารางที่ 3.29 ปริมาณของสารคาเทชินและคาเฟอีนในยอดชาที่ปลูกกลางแจ้ง (ก.ค.52) 52

ตารางที่ 3.30 ปริมาณของสารคาเทชินและคาเฟอีนในยอดชาที่ปลูกภายใต้ร่มเงา (ต.ค.52) 53

ตารางที่ 3.31 ปริมาณของสารกลุ่มคาเทชินและคาเฟอีนในยอดชาที่ปลูกกลางแจ้ง (ต.ค.52) 53

ตารางที่ 3.32 ผลผลิตยอดอ่อนใบชา 54

ตารางที่ 3.33 ผลการสำรวจโรคในแปลงทดลองปุ๋ยอินทรีย์ 55

ตารางที่ 3.34 เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญของเชื้อรา (Unknown) ที่แยกได้จากชาที่แสดงอาการต้นโทรมโดยเชื้อแอคติโนมัยซีสไอโซเลทต่างๆทดสอบโดยวิธี dual culture นาน 3 วัน 75

ตารางที่ 3.35 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของโคโลนี (%PIRG) ของเชื้อ *Colletotrichum* sp. ไอโซเลท1 ของเชื้อแอคติโนมัยซีสเอนโดไฟท์ 36 ไอโซเลท 77

ตารางที่ 3.36 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของโคโลนี (%PIRG) ของเชื้อ *Colletotrichum* sp. ไอโซเลท2 ของเชื้อแอคติโนมัยซีสเอนโดไฟท์ 36 ไอโซเลท 79

ตารางที่ 3.37 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของโคโลนี (%PIRG) เชื้อรา *Phellinus noxius* ของเชื้อแอคติโนมัยซีสเอนโดไฟท์ 35 ไอโซเลท 82

ตารางที่ 4.1 เปรียบเทียบคุณสมบัติดินแปลงปลูกชาก่อนและหลังการทดลอง 85

ตารางที่ 4.2 ระดับปริมาณธาตุอาหารที่เหมาะสมในใบชา *(Camellia sinensis)* และความเข้มข้นของธาตุอาหารในใบชาที่เก็บจากแปลงชา ของบริษัทชาระมิงค์ 87

ตารางที่ 4.5 ผลผลิตยอดอ่อนใบชาเปรียบเทียบในรอบการผลิตปี 2551 และ 2552 90

ตารางที่ 4.6 จำนวนและความรุนแรงของโรคที่พบบนใบชา ในแปลงผลิตชาในระบบอินทรีย์ 91

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 2.1. ผังแปลงทดลอง ซึ่งในแต่ละกรรมวิธีการทดลองประกอบไปด้วยต้นชาประมาณ 70-80 ต้น (รายละเอียดของ Treatment 1, 2 และ 3 ดังแสดงในตารางที่ 2.1) 17

ภาพที่ 2.2 ตัวอย่างพื้นที่แปลงทดลองปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพ; พื้นที่ที่ต้นชาอยู่ภายใต้ร่มเงา (บน) และ พื้นที่ที่ต้นชาอยู่กลางแจ้ง (ล่าง) 18

ภาพที่ 2.3 ต้นชาที่แสดงอาการของโรคแห้งตายที่รุนแรง พื้นที่ที่ต้นชาบริเวณรอบยังดีอยู่ (บน) และ บริเวณที่ต้นชาโดยรอบเริ่มมีอาการโรคประปราย (ล่าง) 22

ภาพที่ 2.4 การวัดขนาดรัศมีของโคโลนีเชื้อสาเหตุโรคในชุดควบคุม (R_1) และชุดทดสอบ (R_2) เพื่อหาเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ 24

ภาพที่ 3.1 ตัวอย่าง isolates ของเชื้อ Actinomycetes ที่แยกได้ ก) LGLA-03-026, ข) LSA-007, ค) LSA-014, และ ง) TSA-006 26

ภาพที่ 3.2 ตัวอย่างการย่อยละลายฟอสเฟตของเชื้อแอคติโนมัยซีสสังเกตจากวงใส (clear zone) รอบโคโลนี (ลูกศรชี้) ก) มีการย่อยละลายเล็กน้อย ข) มีการย่อยละลายปานกลาง 30

ภาพที่ 3.3 ลักษณะของสปอร์อาบัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาเชื้อราสกุล *Glomus* sp. ที่พบบริเวณรากชา 34

ภาพที่ 3.4 การขยายปริมาณสปอร์ของเชื้อราอาบัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาในต้นข้าวโพด ก) การเพาะเมล็ดข้าวโพด ข) ย้ายปลูกต้นกล้าข้าวโพดลงในกระถาง ค) ข้าวโพดอายุประมาณ 1 เดือน 34

ภาพที่ 3.5 ลักษณะการเข้ารากของเส้นใยสปอร์ไมคอร์ไรซา (ลูกศรชี้) ในรากข้าวโพด 35

ภาพที่ 3.6 ลักษณะการย่อยสลายของใบชาหลังผ่านการหมักประมาณ 1 เดือน:
แถวบน กรรมวิธีที่1 ไม่ใส่เชื้อ และ กรรมวิธีที่ 6 ใส่ซุปเปอร์พด. 1;
แถวกลาง กรรมวิธีที่ 2 ใส่เชื้อ LGLA 02-021 และ กรรมวิธีที่ 3 ใส่เชื้อ LGLA 01-015;
แถวล่างกรรมวิธีที่ 5 ใส่เชื้อผสม LGLA 02-021 +LGLA 01-015+ LGLA 03-026 37

ภาพที่ 3.7 ลักษณะการย่อยสลายของใบชาหลังผ่านการหมักประมาณ 1 เดือน:
แถวบน กรรมวิธีที่1 ไม่ใส่เชื้อ และ กรรมวิธีที่ 6 ใส่ซุปเปอร์พด. 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 38

หน้า

ภาพที่ 3.8 ลักษณะแผลโรคแอนแทรกโนส (anthracnose) บนใบชา มีลักษณะกลม สีน้ำตาลเป็นวงซ้อนกัน พบจุดสีดำเล็กๆ กระจายบนแผล ก แบบที่1 แผลเป็นจุดขนาดเล็กมีสีม่วงปนน้ำตาล ขอบแผลนูนขึ้นเล็กน้อยมีสีม่วงปนน้ำตาล ข แบบที่ 2 แผลมีลักษณะเป็นสีน้ำตาลเข้ม เป็นวงสีดำซ้อนกันเป็นชั้นๆ ขอบแผลมีสีเหลือง 62

ภาพที่ 3.9 ลักษณะของเชื้อ *Colletotrichum* sp. ที่พบบนอาการโรค แบบที่ 1 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 400 เท่า ก: setae ข: acervulus (conidia ภายใน fruiting body) 62

ภาพที่ 3.10 ลักษณะการเจริญของเชื้อ *Colletotrichum* sp. ไอโซเลท 1 (ก) และ ไอโซเลท 2 (ข) บนอาหาร PDA อายุ 7 วัน 63

ภาพที่ 3.11 อาการใบจุดของใบชาหลังการปลูกเชื้อ *Colletotrichum* sp. ไอโซเลท 1 (ก) และ ไอโซเลท 2 (ข) โดยวิธี Detach leave นาน 7 วันโดย 64

ภาพที่ 3.12 ลักษณะอาการโรคใบพุพองบริเวณหน้าใบเป็นตุ่มพองสีเหลืองปนน้ำตาล แผลยุบตัวลงเล็กน้อย และพบกลุ่มเชื้อราสีขาวฟูนูนด้านหลังใบ (ก) เมื่อตรวจสอบลักษณะเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 400 เท่า (ข) พบ Basidium ที่มี Sterigmata (ข) ชู Basidiospores ซึ่งมีลักษณะยาวรี (ค) (ของเชื้อจำนวนมากเจริญบนเนื้อเยื่อแผลโรค 65

ภาพที่ 3.13 ลักษณะต้นชาที่แสดงอาการต้นโทรมใบสลดทั้งทรงพุ่ม (ก) และ ต่อมาประมาณ 1-3 เดือนจึงยืนต้นแห้งตาย (ข) 65

ภาพที่ 3.14 ลักษณะของต้นชาที่มีอาการต้นโทรม อาการเริ่มแรกของทรงพุ่มและลำต้น (ก, ข) เมื่อนำ รากฝอย (ค) และลำต้นติดกับผิวดิน (ง) มาตรวจดูลักษณะเนื้อเยื่อ ไม่พบแผลหรือร่องรอยของการทำลายจากเชื้อรา 66

ภาพที่ 3.15 ลักษณะโคโลนี (ก) เส้นใย (ข) และสปอร์ของเชื้อรา *Fusarium* sp. (ค,ง) ที่แยกได้จากรากฝอย ภายหลังการเจริญบนอาหาร PDA นาน 12 วัน 66

หน้า

ภาพที่ 3.16 ลักษณะ โคนต้น (ก) และราก (ข) ของต้นชาที่เป็นโรคต้นโทรม เปลือกมีลักษณะเปื่อยยุ่ย (ค) และและเนื้อไม้มีแผลสีดำ (ง) 67

ภาพที่ 3.17 ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา (unknown) บนอาหาร PDA อายุ 1 สัปดาห์ หลังแยกจากเนื้อไม้ของชาที่ แสดง อาการต้นโทรม (ก) และลักษณะของเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 400 เท่า (ข) 68

ภาพที่ 3.18 ลักษณะ Dendritic Hypha ของเชื้อ *Phellinus noxius* (ก และ ข) ภาพภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า ของเชื้ออายุ 7 สัปดาห์ ที่แยกได้จากแผลโรค บริเวณเนื้อไม้เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้ม เปรียบเทียบกับ ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็คตรอน (ค) จากงานทดลองของ Nicole *et al.* ในปี 1995 68

ภาพที่ 3.19 ลักษณะเส้นใยของเชื้อรา *Phellinus noxius* (ศรชี้) ที่เจริญเข้าทำลายเซลภายในเนื้อเยื่อของรากชา 69

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-สีครีมเส้นใยอัดตัวกันจนซ้อนทับกัน 69

ภาพที่ 3.21 ลักษณะโรคราดำที่เจริญปกคลุมผิวใบชา พบกลุ่มผงสีดำเป็นแผ่นขึ้นปกคลุมผิวใบจำนวนมาก 70

ภาพที่ 3.22 ลักษณะการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา (unknown) ที่แยกได้จากชาที่แสดงอาการต้นโทรมอายุ 3 วัน เมื่อเลี้ยงร่วมกับเชื้อ แอคติโนมัยซีไอโซเลทต่างๆ บนอาหาร IMA-2 เปรียบเทียบกับการเจริญของเชื้อราในชุดควบคุม (control) 74

ภาพที่ 3.23 ลักษณะการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ไอโซเลท 1 ของเชื้อแอคติ โนมัยซีสเอนโดไฟท์ 36 ไอโซเลท หลังการทดสอบ โดยวิธีการ โดยวิธี Dual culture 78

หน้า

ภาพที่ 3.24 ลักษณะการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ไอโซเลท 2 ของเชื้อแอคติโนมัยซีสเอนโดไฟท์ 36 ไอโซเลท หลังการทดสอบ โดยวิธีการ โดยวิธี Dual culture 80

ภาพที่ 3.25 ลักษณะการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Phellinus noxius* ของเชื้อแอคติโนมัยซีสเอนโดไฟท์ 35 ไอโซเลทหลังการทดสอบ โดยวิธีการ Paper disk method 83

ภาพที่ 4.1 ผลของการใส่ปุ๋ยอินทรีย์ และอินทรีย์ชีวภาพต่อสารปริมาณสารแอนติออกซิแดนซ์กลุ่มคาเทชิน (catechin) และคาเฟอีน (caffeine) ในยอดชา (a) แปลงชาในร่ม (b) แปลงชากลางแจ้ง 89

Abstract

246383

Application of bio- and organic fertilizers together with 3 groups of microorganisms: nitrogen fixing, P and K solubilizing microorganisms in Tea plantation area of Raming Tea company tended to result in better soil properties. The soil pH and soil organic matter were increased from 4.76 to 5.4, and from 3.45 to 5.11-5.39%, respectively. Besides raising soil pH and organic matter, organic and bio- fertilizers increase the quantity of many plant nutrients (P, K, Ca, Mg, S and Zn) in the soils. Tea leaf analysis showed that major nutrients (N, P and K) especially N were increased by these fertilizers application. The N content in tea leaves both of shaded (2.93 - 3.23%) and un-shaded (2.71 – 2.82%) plantation areas was higher that of the control (2.68%). These results clearly showed that tea performed better nutrient uptake. Measurement of antioxidant catechin in green leaves showed that the highest catechins in shaded and un-shaded area were found as EGCG (17.24 – 77.75 mg/g) followed by EGC (5.80 – 55.67 mg/g), EC (4.39 – 60.83%) and C (0.15-4.67 mg/g). Four consecutive times application of organic and bio- fertilizers tended to enhance tea yield. The average year-round yield in 2008 was 617.5 to 711.3 kg/ha, and in 2009 the yield was increased to 1,165 to 1,271.9 kg/ha. The highest yield was obtained with organic fertilizer treatment. Plant disease survey in this experiment showed that no obvious spread of plant disease. In another tea plantation areas without fertilizer experiment, the two most important tea diseases were recorded; anthracnose caused by *Colletotrichum* sp. and brown root rot caused by *Phellinus noxius*. From the isolation and screening of antagonistic endophytic actinomycetes; isolates COF2 and COF1 showed highest activity to suppress *Colletotrichum* sp. growth with the percentage of suppressing of 72.19 and 70.20, respectively. The highest activity (69.37%) in suppressing *P. noxius* was obtained with isolate GAR2.

Keywords: Tea, organic fertilizer, bio-fertilzer, antioxidant, catechin

บทคัดย่อ

246383

การใช้ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพซึ่งมีส่วนผสมของจุลินทรีย์ที่คัดเลือกได้ 3 กลุ่มคือ กลุ่มตรึงไนโตรเจน กลุ่มละลายฟอสฟอรัส และกลุ่มละลายโพแทสเซียม ในพื้นที่ไร่ชาของบริษัทชาระมิงค์ จำกัด พบว่าการใส่ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพ มีแนวโน้มที่ทำให้ดินมีคุณภาพที่ดีขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับดินปลูกชาก่อนการทดลองโดยที่ค่า pH สูงขึ้นจาก 4.76 เป็น 5.4 ปริมาณอินทรียวัตถุเพิ่มขึ้นจาก 3.45 เป็น 5.11 – 5.39 % การใส่ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพนอกจากจะส่งผลให้ค่า pH และอินทรียวัตถุปรับสูงขึ้นแล้วปริมาณธาตุอาหาร ได้แก่ P, K, Ca, Mg, S และ Zn มีแนวโน้มที่เพิ่มขึ้นชัดเจน จากผลการวิเคราะห์ความเข้มข้นของธาตุอาหารในใบชา พบว่าการใส่ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพมีแนวโน้มทำให้ความเข้มข้นของธาตุอาหารหลัก โดยเฉพาะไนโตรเจนในใบชาสูงกว่าในกรรมวิธีที่ไม่ได้ใส่ปุ๋ย ทั้งแปลงที่ปลูกในร่มและกลางแจ้ง โดยการใส่ปุ๋ยอินทรีย์หรือปุ๋ยชีวภาพทำให้ความเข้มข้นของไนโตรเจนในใบสูงขึ้นถึง 2.93 - 3.23% และ 2.71 – 2.82% ตามลำดับ ขณะที่ไม่ใส่ปุ๋ยมีไนโตรเจนเพียง 2.68% แสดงให้เห็นว่าชามีการดูดใช้ธาตุอาหารดีขึ้น จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) ในกลุ่มคาเทชิน (Catechin) พบว่าสารต้านอนุมูลอิสระที่ตรวจพบ มีปริมาณสาร EGCG 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 การใส่ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพต่อเนื่องกัน 4 ครั้ง มีแนวโน้มว่าช่วยส่งเสริมให้ผลผลิตของชาดีขึ้น ซึ่งจะเห็นว่าในฤดูการผลิตปี 2551 ผลผลิตของชา เฉลี่ยอยู่ในช่วง 617.5 ถึง 711.3 กิโลกรัมต่อเฮกแตร์ (kg/ha) และในฤดูการผลิตปี 2552 ผลผลิตของชาเพิ่มขึ้นเป็น 1,165 ถึง 1,271.9 กิโลกรัมต่อเฮกแตร์ โดยการใส่ปุ๋ยอินทรีย์ให้ผลผลิตสูงสุด จากการสำรวจการระบาดของโรคในแปลงทดลองปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพนั้น สามารถสรุปว่า แปลงทดลองปุ๋ยอินทรีย์ไม่มีการระบาดของโรคที่รุนแรง ในส่วนของแปลงที่มีการระบาดของโรครุนแรงซึ่งห่างจากแปลงทดลองปุ๋ยอินทรีย์ พบโรคชาสำคัญ 2 ชนิด คือ โรคแอนแทรคโนส ที่เกิดจากเชื้อ *Colletotrichum* sp. โรครากเน่าโคนเน่าสีน้ำตาลเกิดจากเชื้อรา *Phellinus noxius* จากการแยกเชื้อปฏิปักษ์กับเชื้อสาเหตุพบว่าไอโซเลท COF2 และ COF1 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุ *Colletotrichum* sp. ดีที่สุด โดย โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งสูงที่สุด เท่ากับ 72.19 และ 70.20 เปอร์เซ็นต์ และ เชื้อที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *P. noxius* มากที่สุดโดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งในระดับสูง (69.37%) คือ GAR2

คำหลัก : ชา, ปุ๋ยอินทรีย์, ปุ๋ยชีวภาพ, สารต้านอนุมูลอิสระ, คาเทชิน