เอกสารอ้างอิง

กิตติพันธ์ จันทาศรี. 2543. ชา. หน้า 156-167. ใน: วุฒิฉัตร วิรัตน์ ปรีชา กิตติพันธ์ มนัส และประภัสสร์ (ผู้รวบรวม). การปลูกไม้ผลไม้ยืนต้นบนที่สูง. ฝ่ายส่งเสริมการเกษตรที่สูง กองส่งเสริมพืชสวน, กรุงเทพฯ.

กรมส่งเสริมการเกษตร. 2551. คู่มือนักวิชาการส่งเสริมการเกษตร (ชา). สำนักส่งเสริมและจัดการสินค้าเกษตร กรมส่งเสริมการเกษตร. กรุงเทพฯ. 36 หน้า

กฤษณา ชุติมา. 2542. สารเคมีในชา. วารสารราชบัณฑิตสถาน 25(2) : 127-135.

เกษม สร้อยทอง. 2532. การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี. คณะเทคโนโลยีการอาหาร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. 326 หน้า.

ตลาดคึกคักเกษตรอินทรีย์. 2550. หลังสู้ฟ้าหน้าสู้ดิน. ไทยรัฐออนไลน์. http://203.151.217.76/news.php?section=agriculture02&content=63164

นันทรัตน์ ศุภกำเนิด. 2545. การวิจัยธาตุอาหารส้ม. วารสารเคหเกษตรฉบับพิเศษ. สำนักพิมพ์ฟิสิกส์เซ็นเตอร์. กรุงเทพฯ.

ปิยะธิดา พลุกคล้าย. 2549. การคัดเลือกเชื้อแอคติโนมัยซีสเอนโดไฟท์จากพืชสมุนไพร เพื่อควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคของคะน้า. วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 93 หน้า.

ปิยวรรณ มาตราช. 2549. ความแปรปรวนของปริมาณสารแอนติออกซิแดนซ์ในใบชาที่ปลูกในจังหวัดเชียงใหม่และเชียงราย. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 123 หน้า.

ไพโรจน์ พงศ์ศุภสมิทธิ์. 2532. เทคโนโลยีการผลิตชาเล่ม 1. ศูนย์ส่งเสริมการเกษตรภาพเหนือ กรมส่งเสริมอุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรม. กรุงเทพฯ. 47 หน้า.

ศูนย์ปฏิบัติการจังหวัดเชียงราย การป้องกันกำจัดศัตรูของชา http://www.chiangrai.net/Cpoc/ocha/index.asp?no=12 [ระบบออนไลน์] (ค้นเมื่อ11 มี.ค. 51)

ศุภนารถ เกตุเจริญ และ อัญชลี พัดมีเทศ. 2543. ชา. กองเกษตรสัมพันธ์ กรมส่งเสริมการเกษตร. สำนักส่งเสริมและฝึกอบรม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 51 หน้า

หนังสือพิมพ์ประชาชาติธุรกิจ ปลูก"ชา-กาแฟออร์แกนิก"มุ่งส่งออก ชาระมิงค์ปรับทัพใหม่เน้นสิ่งแวดล้อม. ฉบับวันที่ 12 พฤศจิกายน พ.ศ. 2550 หน้า 32

Abruna, F., R.W. Pearson, and C.B. Elkins. 1958. Quantitative evaluation of soil

reaction and base status changes resulting from field application of residually acid-forming nitrogen fertilizers. Soil Sci. Soc. Am. Proc., **22**: 539-542

Baby, U. I. and N. Muraleedharan. 2005.Tea Diseases, Ecology and Control In Encyclopedia of Pest Management (Pest Management) UPASI Tea Research Foundation, Tea Research Institute, Coimbatore, Tamil Nadu, India. Online,http://www.informaworld.com/smpp/content. (Available 11 Mar 2008)

Caruso, M., A.L. Colombo, L. Fedeli, A. Pavesi, S. Quaroni, M. Saracchi and G. Ventrella. 2002. Isolation of endophytic fungi and actinomycetes taxane producers. http://www.annmicro.unimi.it/abstr00.htm#50-1-3 (Available source June 28th 2009)

Chandra M. B. 1996. Common Names of Plant Diseases: Diseases of Tea (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze) The American Phytopathological Society. http://www.apsnet.org/online/common/names/tea.asp (Available source October 28th 2009)

Chris, F. 2002. Application of actinomycete endophytes to increase cereal grain yields.http://som.flinders.edu.au/FUSA/Biotech/ResearchProjects/Actinomycetes#ActinoEndo. (Available source: 8th August 2009) http://www.apsnet.org/online/common/names/tea.asp (Available source October 28th 2009)

Darmawijaya, M.I., I. Dachman, and J. Nyanjang. 1989. Water need of tea plant. IARD J. 11(3) : 42-45.

Dang, M.V. 2007. Quantitative and qualitative soil quality assessments of tea enterprises in Northern Vietnam. Afr. J. Agric. Res. **2**:455-462.

Fung, K.F., and M.H. Wong, 2001. Effect of soil pH on the effect of Al, F and other elements by tea plant. J. Sci. Food Agri. **82**:146-152.

Garcia-Gómez, R., J. Chávez-Espinosa, A. Mejía-chávez, B.C. Durán. 2002. Short term effect of *Glomus claroideum* and *Azospirillum brasilense* on growth and root acid phosphatase activity of *Carica papaya* L. under phosphorus stress. Revista Latinoamericana Microbiologia **44**: 31-37.

Gordon, S.A. and R.P. Weber. 1951: The colorimetric estimation of IAA. Plant Physiol.

26, 192-195

Hodges, C.S. 1984. Root disease of *Deloizix regia* and associated tree species in the Marlana islands caused by *Phellinus noxius*. Plant Dis. 68: 334-336.

Kahneh, E., H. RamezanPour, M.R. Haghparast Tanha, and A. Shirinfeki. 2009. Effect of Arbuscular Mycorrhizal Fungi and phosphorus supplement on leaf P, Zn, Cu and Fe concentrations of tea seedlings. Caspian Env. J. Sci. **4**: 53-58.

Kalakoutskii. L. V. and N. Agre. 1976. Comparative aspects of development and differentiation in actinomycetes. Bacteriological Review **40(2)**: 469-524.

Lisa K., Wen-Hsiung Ko and D. M. Sato. 2006. Identification Guide for Diseases of Tea (*Camellia sinensis*). Plant Diseases, Oct. PD-33, Cooperative Extension Service, Colleege of Tropical Agriculture and Human Resources, University of Hawai at Manoa. 4 p.

Liu, Y.L., Y. Li, Y. Matsubara, M. Inagaki, and M. Sugiyama. 2006. Promotion of Rooting and the Increase in Leaf Gaba Content of Mycorrhizal Tea Plants. In ISHS Acta Horticulturae 761: XXVII International Horticultural Congress - IHC2006: International Symposium on Advances in Environmental Control, Automation and Cultivation Systems for Sustainable, High-Quality Crop Production under Protected Cultivation

Mamati, G.E., L. Yuerong. 2004. Tea (Camellia sinensis): comparison of the crop in Kenya and China. Journal of Tea **30(4)**: 197-202

Mohd Farid A., S.S. Lee, Z. Maziah, H. Rosli, and M. Norwati. 2005. Basal root rot, a new disease of Teak (*Tectona grandis*) in Malaysia caused by *Phellinus noxius*. Malaysian Journal of Microbiology 1(2): 40-45.

Montealegre, J.R., R. Reyes, L.M. Perez, R. Herrera, P. Silva and X. Besoain. 2003. Selection of bioantagonistic bacteria to be used in biological control of *Rhizoctonia solani* in tomato. Electronic Journal of Biotechnolog 6(2): 116-121.

Nicole M., Chamberland H., Rioux D., Xixuan X., Blanchette R.A., Geiger J.P., and Ouellettle G.B. 1995 Wood degradation by *Phellinus noxius*: ultrastructure and cytochemistry. Canadian Journal Microbiol. **41**: 253-265.

Pao-Jen A., Tun-Tschu Chang and Wen-Hsiung Ko. 2002. *Phellinus noxius* brown root rot of fruit and ornamental trees in Taiwan. Plant Disease **86 (8)**: 820-826.

Reuter, D.J. and J.B. Robinson. (eds). 1997. Plant Analysis an Interpretation Manual, (Second Edition). CSIRO Publishing, Australia. 572 pp.

Rutkowska, B., W. Szulc, and J. Labetowicz. 2009. Influence of soil fertilization on concentration of microelements in soil solution of sandy soil. *J. Elementol.* **14**: 349-355.

Saito, S.T., P.E.Froehlich, G. Gosmann, and A.M. Bergold. 2007. Full validation of a simple method for determination of catechins and caffeine in Brazilian green tea (*Camellia sinensis* var. assamica) using HPLC. Chromatographia **65**: 607-610.

Schmidt, O. 2006. Wood and Tree Fungi. Spring-Verlag, Berlin Heidelberg, Germany. 135-137 p.

Schwab, A.P., C.E. Owensby, and S. Kulyingyoun. 1990. Changes in soil chemical properties due to 40 years of fertilization. Soil Sci., **149**: 35-43.

Senapati, B.K., P.K. Panigrahi, S. Giri, A. Patnaik, and P. Lavelle 1994. Restoration of degraded soil in intensive tea plantation (India). In: Conservation of soil fertility in low input agricultural systems of the humid tropics by manipulating earthworm communities, cCe Macrofauna Project II (STD3) report 3, ed, P. Lavelle, pp. 39-51. LEST/IRD, Paris.

Shimizu, M., Y. Nakagawa, Y. Sato, T. Furumai, Y. Igarashi, H. Onaka, R. Yoshida and H. Kunoh. 2000. Studies on endophytic actinomycetes (I) *Streptomyces* sp. isolated from *Rhododendron* and its antifungal activity. Journal of General Plant Pathology **66**: 360-360.

Venkatesan, S., S. Murugesan, M.N.K. Ganapathy, and D. P. Verma. 2004. Long-term impact of nitrogen and potassium fertilizers on yield, soil nutrients and biochemical parameters of tea. Journal of the Science of Food and Agriculture 84(14):1939 – 1944.

ภาคผนวก

ภาคผนวก 1 ตารางเปรียบเทียบวัตถุประสงค์กิจกรรมที่วางแผน และกิจกรรมที่ดำเนินการและผลที่ได้รับตลอดโครงการ

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

ภาคผนวก 1 (ต่อ)

2. เพื่อคัดเลือกและทดลองใช้เชื้อจุลินทรีย์ที่ช่วยขยายระบบรากและเพิ่มความเป็นประโยชน์ของธาตุอาหารให้แก่ต้นชา ได้แก่ เชื้อราไมคอร์ไรซา และ อะโซไสปริลลัม	**2.1 แยกเชื้อไมคอร์ไรซาและอะโซสไปริลลัมจากรากและดินบริเวณรอบราก** 2.1.1 เก็บตัวอย่างดินบริเวณรอบรากและรากต้นชาสมบูรณ์ที่ขึ้นในธรรมชาติ 2.1.2 ร่อนดินแยกสปอร์ไมคอร์ไรซา 2.1.3 ตรวจสอบการเข้ารากในธรรมชาติ 2.1.4 แยกเชื้อแบคทีเรียอโซสไปริลลัม	ผลสำเร็จในการดำเนินการ 100% 1. ทำการเก็บตัวอย่างดินบริเวณรอบรากและรากต้นชาสมบูรณ์ที่ขึ้นในธรรมชาตินำมาร่อนดินแยกสปอร์ไมคอร์ไรซาและนำมาขยายปริมาณสปอร์ในรากข้าวโพด 2. แยกเชื้อแบคทีเรียอโซสไปริลลัมจากดินบริเวณราก	1. พบสปอร์เชื้อราอาบัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาเพียง 1 isolate เท่านั้นเป็นไมคอร์ไรซาเชื้อราสกุล *Glomus* sp. และสามารถเข้ารากข้าวโพดได้ อย่างไรก็ตามการขยายปริมาณสปอร์ไมคอร์ไรซาโดยใช้ต้นข้าวโพดประสบปัญหา กล่าวคือ ปริมาณสปอร์มีน้อย และมีขนาดเล็กลง จึงไม่สามารถผลิตเพื่อใช้ในงานภาคสนามได้ คณะผู้วิจัยจึงได้ตัดกรรมวิธีที่มีการใช้ไมคอร์ไรซาออก 2. พบเชื้อแบคทีเรียอโซสไปริลลัมที่แยก 14 ไอโซเลท
	2.2 ตรวจสอบประสิทธิภาพเชื้อจุลินทรีย์ในการส่งเสริมการเจริญ เติบโตของพืช 2.2.1 ตรวจสอบการเข้ารากของไมคอร์ไรซาและการส่งเสริมการเจริญเติบโตของราก 2.2.2 ประเมินศักยภาพในการตรึงไนโตรเจนและการผลิตเอนไซม์ฟอสฟาเทสของอโซสไปริลลัม 2.2.3 ประเมินศักยภาพ การผลิตฮอร์โมนพืช	ผลสำเร็จในการดำเนินการ 80% 1. ประเมินศักยภาพเบื้องต้นของเชื้อในการละลายฟอสเฟต 2. ประเมินศักยภาพ การผลิตฮอร์โมนพืช (IAA)	1. ประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนและการผลิตเอนไซม์ฟอสฟาเทสอโซสไปริลลัมต่ำ 2. พบว่าเชื้อแอคติโนมัยซีสที่แยกจากผิวใบ ลำไยและใบชา จำนวน 6 ไอโซเลทที่สามารถผลิต IAA ได้ในปริมาณที่สูงมาก

ภาคผนวก 1 (ต่อ)

3. การทดลองใช้และคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อราเห็ดสาเหตุของโรคโคนเน่าของชา	**3.1 ทดลองใช้เชื้อไตรโคเดอร์มาหรือเชื้ออื่น ๆที่มีอยู่แล้วจากการรวบรวมและทำการแยกเชื้อแอคทิโนมัยซีทจากแหล่งปลูกเพิ่ม** 3.1.1 เลือกเชื้อที่มีอยู่แล้วจากการรวบรวม 3.1.2 เก็บตัวอย่างดินบริเวณสวนไร่ชาระมิงค์ 3.1.3 แยกเชื้อในห้องปฏิบัติการ **3.2 ประเมินศักยภาพของเชื้อที่มีอยู่แล้วและเชื้อที่แยกได้ในการเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อสาเหตุของโรคโคนเน่าของชา** 3.2.1 ทดสอบความสามารถในการต่อต้านจุลินทรีย์สาเหตุโรคโคนเน่าในชาในห้องปฏิบัติการและภาคสนาม 3.2.3 ประเมินประสิทธิภาพในการป้องกันสาเหตุโรคโคนเน่าในการผลิตชาอินทรีย์	ผลสำเร็จในการดำเนินการ 100 % 1. เลือกเชื้อที่มีอยู่แล้วจากการรวบรวมของภาควิชากีฏวิทยาและโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ และแยกเชื้อจากพืชชนิดต่าง ๆ 18 ชนิด 2. เก็บตัวอย่างดินบริเวณสวนไร่ชาระมิงค์แล้วนำมาแยกเชื้อในห้องปฏิบัติการ ดำเนินการแล้วเสร็จ 100% 1. ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแอคติโนมัยซีสในการเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อสาเหตุของโรคชา 2. ประเมินประสิทธิภาพของเชื้อแอคติโนมัยซีสเอนโดไฟท์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุของโรคชา (แอนแทรคโนสและ โรคเน่าสีน้ำตาล)	รวบรวมเชื้อแอคติโนมัยซีสเอ็ดโดไฟท์ จากสาขาวิชาโรคพืช จำนวนว 5 isolates และแยกเชื้อจากพืชชนิดต่าง ๆ ได้อีก 71 isolates ได้เชื้อแอคติโนมัยซีสที่แยกจากดินบริเวณไร่ชาระมิงค์ 16 isolates 1. ในสภาพห้องปฏิบัติการ เชื้อแอคติโนมัสซีสที่แยกได้มีประสิทธิภาพในการควบคุมการเจริญของเชื้อราในระดับต่ำจึงไม่ได้นำมาใช้ในการทดสอบขั้นต่อไป 2. เชื้อแอคติโนมัยซีสเอนโดไฟท์ไอโซเลท COF2 และ COF1 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Colletotrichum* sp. เชื้อสาเหตุของโรคแอนแทรคโนสดีที่สุด และไอโซเลท GAR2 สามารถยับยั้งเชื้อรา *P. noxius* เชื้อสาเหตุของโรคต้นโทรมหรือโรครากเน่าโคนเน่าสีน้ำตาลของชาได้ดีที่สุด

ภาคผนวก 1 (ต่อ)

4. เพื่อศึกษาผลของปัจจัยการผลิตอินทรีย์และชีวภาพ รวมทั้งรูปแบบการจัดการผลิตชาภายใต้ระบบการผลิตแบบอินทรีย์ที่มีผลต่อผลผลิตและคุณภาพของชา	4.1 **ทดลองผลิตชาในระบบการผลิตแบบอินทรีย์ โดยมีปัจจัยในการผลิตที่แตกต่างกัน 3 กรรมวิธี** - การจัดการแบบที่เกษตรกรนิยมปฏิบัติ - ใช้จุลินทรีย์แอคทิโนมัยซีทร่วมกับปุ๋ยหมัก - ใช้จุลินทรีย์ไมคอร์ไรซาร่วมกับอโซโตปริลลัม 4.1.1 เก็บตัวอย่างดินและใบชาก่อนทำการทดลองและทำการวิเคราะห์เบื้องต้น 4.1.2 จัดเตรียมปัจจัยการผลิตชาในระบบการผลิตแบบอินทรีย์ ซึ่งประกอบไปด้วย - ผลิตหัวเชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ที่แยกได้จากหัวข้อ 1-3 เพื่อใช้ร่วมกับปุ๋ยหมักเพื่อใช้เป็นปัจจัยในการผลิตชาระบบอินทรีย์ 4.1.3 ตรวจสอบการเข้ารากของเชื้อ Mycorrhiza และปริมาณรากที่เพิ่มขึ้นจากการใช้จุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ 4.1.4 วิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีของดินและธาตุอาหารในใบพืชที่มีการใช้ปัจจัยการผลิตที่แตกต่างกัน ทุก ๆ 60 วัน	ผลสำเร็จในการดำเนินการ 90% 1. เก็บตัวอย่างดินและใบชาก่อนทำการทดลองและทำการวิเคราะห์เบื้องต้น 2. จัดเตรียมปัจจัยการผลิตชาในระบบการผลิตแบบอินทรีย์ ซึ่งประกอบไปด้วย - ผลิตหัวเชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ที่แยกได้จากหัวข้อ 1-3 เพื่อใช้ร่วมกับปุ๋ยหมักเพื่อใช้เป็นปัจจัยในการผลิตชาระบบอินทรีย์ 3. วิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีของดินและธาตุอาหารในใบพืชที่มีการใช้ปัจจัยการผลิตที่แตกต่างกัน 4. สุ่มตัวอย่างต้นชาเพื่อทำการวัดปริมาณการแตกยอดอ่อน (ผลผลิตยอดชา) 5. เก็บตัวอย่างใบชาอ่อนจากแปลงทดลองของแต่ละกรรมวิธี เพื่อศึกษาความแปรปรวนของปริมาณสารแอนติออกซิแดนซ์ในใบชาอ่อน	การใช้ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพซึ่งมีส่วนผสมของจุลินทรีย์ที่คัดเลือกได้ 3 กลุ่มคือ กลุ่มตรึงไนโตรเจน กลุ่มละลายฟอสฟอรัส และกลุ่มละลายโพแทสเซียม ในพื้นที่ไร่ชาของบริษัทชาระมิงค์ จำกัด พบว่าการใส่ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพ มีแนวโน้มที่ทำให้ - ดินมีคุณภาพที่ดีขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับดินปลูกชาก่อนการทดลอง - ชามีการดูดใช้ธาตุอาหารได้ดีขึ้น - ผลผลิตยอดอ่อนของชาเพิ่มขึ้น

	4.1.4 สุ่มตัวอย่างต้นชาเพื่อทำการวัดปริมาณการแตกยอดอ่อน 4.1.5 เก็บตัวอย่างใบชาอ่อนจากแปลงทดลองของแต่ละกรรมวิธี เพื่อศึกษาความแปรปรวนของปริมาณสารแอนติออกซิแดนซ์ในใบชาอ่อน		
	4.2 ศึกษาการระบาดของโรคและแมลงศัตรูพืชที่สำคัญในการผลิตชาในระบบอินทรีย์ 4.2.1 เก็บตัวอย่างโรคและแมลงที่สำคัญในแปลงทดลองและบริเวณใกล้เคียงเพื่อวินิจฉัยโรคและแมลงศัตรูพืชที่สำคัญในการผลิตชาในแปลงทดลองและบริเวณใกล้เคียง	ผลสำเร็จในการดำเนินการ 100 % เก็บตัวอย่างโรคและแมลงที่สำคัญในแปลงทดลองจำนวน 144 ต้นและบริเวณใกล้เคียงเพื่อวินิจฉัยโรคที่สำคัญในการผลิตชาในแปลงทดลองและบริเวณใกล้เคียง	จากการสำรวจโรคของชาจำนวน 144 ต้นในแปลงทดลองพบว่าแปลงทดลองปุ๋ยอินทรีย์ไม่มีการระบาดของโรคที่รุนแรง ในส่วนของแปลงที่มีการระบาดของโรครุนแรงซึ่งห่างจากแปลงทดลองปุ๋ยอินทรีย์ พบโรคชาสำคัญ 2 ชนิด คือ โรคแอนแทรคโนส ที่เกิดจากเชื้อ *Colletotrichum* sp. โรครากเน่าโคนเน่าสีน้ำตาล เกิดจากเชื้อรา *P. noxius*

ภาคผนวก 2 วิธีเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ (Culture Media Preparation)

IMA-2 medium (Inhibitory Mold Agar-2)

ส่วนประกอบในน้ำกลั่น 1 ลิตร	ปริมาณ (กรัม/ลิตร)
D-glucose	5.0
Starch (soluble)	5.0
Beef extract	1.0
Yeast extract	1.0
Nz-case	2.0
$CaCO_3$	1.0
Agar	15.0

หลังจากนึ่งฆ่าเชื้อโดยใช้ autoclave ที่อุณหภูมิ 121° C ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที ให้เติม antibiotics เมื่อ**อาหารเย็นลง**ประมาณ 40°C

Antibiotics ที่เติมลงในอาหารมีดังนี้;

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

สูตรอาหาร Nutrient Broth

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

นึ่งฆ่าเชื้อ ที่อุณหภูมิ 121° C ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

สูตรอาหารสำหรับคัดแยกเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายเซลลูโลส (CMC medium)

ส่วนประกอบในน้ำกลั่น 1 ลิตร	ปริมาณ (กรัม/ลิตร)
CMC[1] (Carboxy methyl) cellulose)	5.0
KH_2PO_4	4.0
$NaHPO_4.7H_2O$	6.0
$MgSO_4.7H_2O$	0.2
yeast extract	1.0
Agar[2]	15.0

[1]เตรียมโดยละลายในน้ำร้อนก่อน [2]ใส่หลังจากปรับค่า pH แล้ว

สูตรอาหาร Czapek's agar สำหรับคัดแยกเชื้อจุลินทรีย์ช่วยย่อยละลายฟอสฟอรัส

ส่วนประกอบในน้ำกลั่น 1 ลิตร	ปริมาณ (กรัม/ลิตร)
sucrose	30.0
$NaNO_3$	2.0
$Ca_3(PO_4)_2$ หรือ $AlPO_4$	1.0 หรือ 0.701
KCl	1.4
$MgSO_4.7H_2O$	0.5
$FeSO_4.7H_2O$	0.01
Rose Bengal[1]	0.035
Agar[1]	15.0

[1]ใส่หลังจากปรับค่า pH แล้ว pH 7.3 ± 0.2

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

3.1 วิธีเตรียม Standard series

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

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

3.2 การเตรียมสาร salkovskii reagent

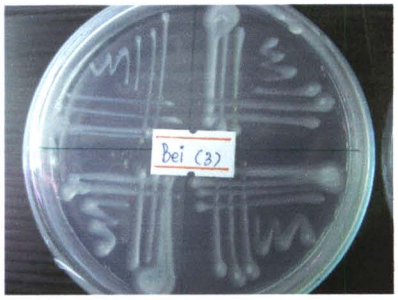
0.5 M $FeCl_3$ 1 mL

35% $HClO_4$ 50 mL

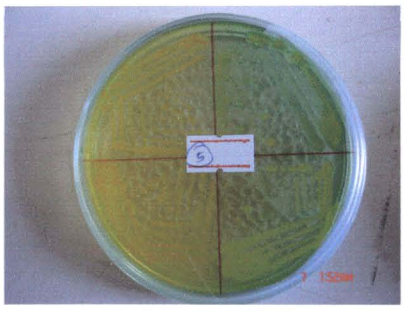
บทความสำหรับการเผยแพร่
การใช้ปุ๋ยอินทรีย์-ชีวภาพในการผลิตชาอินทรีย์

ชาเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญในพื้นที่สูงของภาคเหนือ มีการใช้สารเคมีเกษตรในอัตราสูงอย่างต่อเนื่องในการผลิต ทำให้ดินเสื่อมความอุดมสมบูรณ์ทำให้ผลผลิตของชาลดลง อีกทั้งยังมีสารปนเปื้อนสู่สิ่งแวดล้อมสูงโดยเฉพาะแหล่งต้นน้ำบนที่สูง ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่จะเพิ่มปริมาณผลผลิตในขณะเดียวกันก็สามารถฟื้นฟูดินและอนุรักษ์สิ่งแวดล้อมด้วย อีกทั้งความต้องการของผู้บริโภคที่ห่วงใยต่อสุขภาพก็มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง การใช้ปุ๋ยอินทรีย์และจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์จึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่เหมาะสมในการลดการใช้สารเคมีเกษตรและอนุรักษ์สิ่งแวดล้อม อีกทั้งยังสามารถนำไปสู่การผลิตชาในระบบอินทรีย์ได้อีกด้วย

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



ก) จุลินทรีย์กลุ่มตรึงไนโตรเจน



ข) จุลินทรีย์กลุ่มละลายโพแทสเซียม

ค) จุลินทรีย์กลุ่มละลายฟอสฟอรัส

สำหรับพื้นที่ปลูกชาบางพื้นที่ มีการใช้ปุ๋ยเคมีที่ให้ธาตุอาหารหลัก (NPK) อย่างต่อเนื่องมาเป็นระยะเวลายาวนาน พบว่าส่วนใหญ่จะมีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์และปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้อยู่ในระดับสูงเกินค่าที่เหมาะสม แต่มีแคลเซียมแมกนีเซียมในระดับต่ำ ทั้งนี้เป็นผลสืบเนื่องมาจากการสะสมของฟอสฟอรัสและโพแทสเซียมที่มาจากการใส่ปุ๋ยธาตุอาหารหลักอย่างต่อเนื่องและมีปริมาณสูง ประกอบกับการเป็นพื้นที่ลาดชัน มีการสูญเสียแคลเซียมและแมกนีเซียมไปกับชะล้างได้ง่าย ดินจึงมี pH แคลเซียมและแมกนีเซียมต่ำลง ดังนั้นควรใช้ปุ๋ยอินทรีย์ร่วมกับการใช้ปูนโดโลไมท์ (Dolomite: $CaMg(CO_3)_2$)) โดยผสมในปุ๋ยอินทรีย์ก่อนการใส่ลงดินโดยปฏิบัติอย่างต่อเนื่องในระยะยาว คาดว่าจะทำให้ค่า pH มีความเหมาะสมและคงที่มากขึ้น