# รายงานการวิจัย

# การวิจัยและพัฒนาส้มจุกเพื่ออนุรักษ์พันธุ์พืชท้องถิ่นจังหวัดสงขลา

# Research and Development the Neck Orange for Conservation of Local Plant in Songkla


| | |
|---|---|
| ทิพาวรรณ ทองเจือ | Tipawan Thongjua |
| ชัยสิทธิ์ ปรีชา | Chaisit Preecha |
| สกุลรัตน์ หาญศึก | Sakulrat Hansuek |
| สุวรรณษา ชูเชิด | Suwansa Chuchert |

**คณะเกษตรศาสตร์**
**มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย**



**ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย**
**งบประมาณแผ่นดิน ประจำปี พ.ศ. 2561-2562**

รายงานการวิจัย

# การวิจัยและพัฒนาส้มจุกเพื่ออนุรักษ์พันธุ์พืชท้องถิ่นจังหวัดสงขลา

# Research and Development the Neck Orange for Conservation of Local Plant in Songkla


| | |
|---|---|
| ทิพาวรรณ ทองเจือ | Tipawan Thongjua |
| ชัยสิทธิ์ ปรีชา | Chaisit Preecha |
| สกุลรัตน์ หาญศึก | Sakulrat Hansuek |
| สุวรรณษา ชูเชิด | Suwansa Chuchert |

คณะเกษตรศาสตร์
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย



ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย
งบประมาณแผ่นดิน ประจำปี พ.ศ. 2561-2562

# กิตติกรรมประกาศ

แผนงานวิจัยเรื่อง “การวิจัยและพัฒนาส้มจุกเพื่ออนุรักษ์พันธุ์พืชท้องถิ่นจังหวัดสงขลา” เป็นชุดโครงการวิจัยที่ประกอบด้วยโครงการวิจัยย่อย จำนวน 6 โครงการ เป็นการวิจัยต่อเนื่อง ระยะเวลา 2 ปี (ปีงบประมาณ 2561-2562) และการจัดทำชุดโครงการเพื่อทำการวิจัยในครั้งนี้เพื่อศึกษาทดลองหาองค์ความรู้ของการผลิตส้มจุกและการอนุรักษ์พันธุ์ส้มจุกเป็นส้มพันธุ์พื้นเมืองของภาคใต้

คณะผู้วิจัยใคร่ขอขอบพระคุณสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ที่ให้การสนับสนุนงบประมาณ ขอขอบพระคุณคณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตนครศรีธรรมราช ขอขอบคุณสำนักงานเกษตรอำเภอจะนะ จังหวัดสงขลา ตลอดจนขอขอบพระคุณเกษตรกรเจ้าของสวนส้มจุกทุกท่าน ที่ได้สนับสนุนสถานที่ในการศึกษาทดลอง ทั้งนี้คณะผู้วิจัยจะได้นำผลการวิจัยถ่ายทอดสู่กลุ่มเกษตรกรผู้ปลูกส้มจุกและผู้สนใจต่อไป

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ทิพาวรรณ ทองเจือ
ผู้อำนวยการแผนงานวิจัย

# การวิจัยและพัฒนาส้มจุกเพื่ออนุรักษ์พันธุ์พืชท้องถิ่นจังหวัดสงขลา

## บทคัดย่อ

ชุดโครงการนี้ประกอบด้วยชุดโครงการย่อย 6 โครงการ วัตถุประสงค์ของชุดโครงการเพื่อศึกษาองค์ ความรู้ของการผลิตส้มจุกและการอนุรักษ์พันธุ์ส้มจุกเป็นส้มพันธุ์พื้นเมืองของภาคใต้ ปรากฏผลการวิจัย ดังนี้

การศึกษาการแพร่ระบาดความสัมพันธ์ ระหว่างสภาพแวดล้อมกับระดับความรุนแรงของโรคสำคัญของส้มจุกในพื้นที่อำเภอจะนะ จังหวัดสงขลา พบว่า การเกิดโรคแคงเกอร์ เฉพาะบนต้นตอที่เป็นมะนาวหรือต้นส้มโอเท่านั้น แต่ไม่พบการเกิดโรคแคงเกอร์ที่ต้นส้มจุก มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคบนส่วนของต้นตอคือ 2.14 เปอร์เซ็นต์ โรครากเน่าโคนเท่ากับ 2.14 เปอร์เซ็นต์ การเกิดโรคกรีนนิ่ง / โรคทริสเตซ่าของส้ม พบได้ทุกต้นของส้มจุก (จากการสังเกตด้วยตา) คิดเป็นเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค 100 เปอร์เซ็นต์ (ไม่สามารถยืนยันได้โดย PCR) ในส่วนของโรคใบแก้วเกิดจากขาดธาตุสังกะสี หรืออาจเกิดจากหลายสาเหตุ เมื่อหาความสัมพันธ์ของปัจจัยที่เป็นสภาพแวดล้อมได้แก่ ปริมาณน้ำฝน อุณหภูมิ และความสัมพันธ์ความรุนแรงของโรค รากและโคนเน่า แคงเกอ์ ทริสเตซ่า/กรีนนิ่ง และราดำของส้มจุก เมื่อหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) พบว่า ไม่มีความสัมพันธ์กัน ยกเว้นโรคราดำที่ปัจจัยความชื้นสัมพัทธ์มีความสัมพันธ์กันไปในทิศทางตรงกันข้ามในระดับปานกลาง เท่ากับ -0.14 ส่วนความสัมพันธ์การเกิดโรคที่สำคัญกับคุณภาพผลผลิตส้มไม่สามารถคำนวณได้เนื่องขาดข้อมูล ทั้งนี้เนื่องมาจากส้มจุกมีการติดผลน้อยมาก ไม่สามารถกระจายระดับความรุนแรงของโรคได้ การแยกเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์จากตัวอย่างในส่วนของดินบริเวณพื้นที่ปลูกส้มจุกสามารถแยกแบคทีเรียได้ทั้งหมด 205 ไอโซเลท จากการจำแนกกลุ่มแบคทีเรียอย่างหยาบตามลักษณะทางสัณฐานวิทยาหรือโคโลนีของแบคทีเรียที่เจริญบนอาหาร Nutrient Agar ได้ 5 กลุ่ม การทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมีในการควบคุมเชื้อ *Phytopthora parasitica* ด้วยวิธี poisoning medium จำนวน 21 ชนิด จากร้านค้าเคมีภัณฑ์ในท้องถิ่น พบว่า สารเคมีที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยได้ดีที่สุด คือ hexaconazole, thiram และ tridemorph ยับยั้งการเจริญเชื้อสาเหตุโรคเท่ากับ 94.22 94.22 และ 90.44 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และยังพบว่าสารเคมีทดสอบ metalaxyl เป็นสารเคมีที่แนะนำให้ใช้ ไม่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Phytophthora parasitica* ประสิทธิภาพของสารเคมีและเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* พบว่า streptomycin, ampicillin และ tetracycline สารประกอบทองแดง copper hydroxide และ copper oxychloride มีประสิทธิภาพในการยังยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรค และเชื้อปฏิปักษ์ *Bacillus amyloliguefacien* (KPS46) และ *Paenibacillus pabuli* (SW01/4) มีประสิทธิภาพในการยังยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคแคงเกอร์

การจัดการที่เหมาะสมในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูส้มจุก โดยการศึกษาประชากรและความเสียหายที่เกิดจากแมลงศัตรูส้มจุก ดำเนินการในสวนส้มจุก อำเภอจะนะ จังหวัดสงขลา อายุ 7-10 ปี ระหว่างเดือน มกราคม 2561-พฤศจิกายน 2562 โดยในปี 2561 พบความเสียหายจากหนอนเจาะลำต้นส้มจุกมากที่สุดในเดือน กันยายน เฉลี่ย 1.13 ต้น/รู และพบหนอนชอนใบ

ชนิด *Phyllocnistis citrella* Stainton มีจำนวนมากที่สุดในเดือนเมษายน เฉลี่ย 2.39 ตัว/ยอด โดยมีความเสียหายเฉลี่ย 16.67 เปอร์เซ็นต์ และในปี 2562 พบจำนวนหนอนชอนใบมากที่สุดเดือนเมษายน เฉลี่ย 2.39 ตัว/ยอด โดยมีความเสียหายเฉลี่ย 16.67 เปอร์เซ็นต์ สำหรับแมลงวันทองที่พบมี 4 ชนิด ได้แก่ *Bactrocera dorsalis*, *B. papaya*, *B. correcta* และ *B. carambolae* โดยในปี 2561 พบจำนวนแมลงวันทองมากที่สุดเดือนธันวาคม เฉลี่ย 23.27 ตัว/กับดัก ความเสียหายเฉลี่ย 20.33 เปอร์เซ็นต์ ในปี 2562 พบจำนวนแมลงวันทองมากที่สุดเดือนมกราคม เฉลี่ย 25.94 ตัว/กับดัก และความเสียหายเฉลี่ย 20.33 เปอร์เซ็นต์ สำหรับหนอนแก้วส้มพบชนิด *Papilio demoleus malayanus* wall โดยในปี 2561 พบจำนวนหนอนแก้วส้มมากที่สุด ในเดือนเมษายน เฉลี่ย 0.20 ตัว/ยอด ความเสียหายเฉลี่ย 1.73 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในปี 2562 พบหนอนแก้วส้มมากที่สุดเดือนตุลาคม เฉลี่ย 2.14 ตัว/ยอด ความเสียหายเฉลี่ย 5.22 เปอร์เซ็นต์

การศึกษาความสัมพันธ์ของประชากรแมลงศัตรูส้มจุก กับปัจจัยสภาพอากาศ ด้านอุณหภูมิ ความเร็วลม ปริมาณน้ำฝน และความชื้นสัมพัทธ์ พบว่า ในหนอนชอนใบ พบอุณหภูมิ และความเร็วลม มีความสัมพันธ์กับประชากรหนอนชอนใบในทิศทางตรงกันข้าม ระดับต่ำมาก ( r=-0.18 และ r=-0.24) ส่วนปริมาณน้ำฝน และความชื้นสัมพัทธ์ มีความสัมพันธ์กันในทิศทางเดียวกัน ในระดับต่ำมาก ( r=0.20) และระดับปานกลาง ( r=0.56) ส่วนความสัมพันธ์ของประชากรแมลงวันทองกับปัจจัยสภาพอากาศ พบว่า อุณหภูมิ และความเร็วลม มีความสัมพันธ์กับประชากรในทิศทางตรงกันข้าม มีความสัมพันธ์ในระดับต่ำมาก( r=-0.28 และ r=-0.14 ตามลำดับ) ส่วนปริมาณน้ำฝน และความชื้นสัมพัทธ์ มีความสัมพันธ์ในทิศทางเดียวกัน โดยปริมาณน้ำฝนมีความสัมพันธ์ในระดับปานกลาง (r=0.56) และความชื้นสัมพัทธ์มีความสัมพันธ์กันในระดับต่ำมาก (r=0.09) สำหรับความสัมพันธ์ของประชากรหนอนแก้วส้มกับปัจจัยสภาพอากาศ พบว่า อุณหภูมิ และความเร็วลม มีความสัมพันธ์กับประชากรหนอนในทิศทางตรงกันข้าม โดยอุณหภูมิ มีความสัมพันธ์ในระดับต่ำ และความเร็วลมมีความสัมพันธ์ในระดับต่ำมาก ( r=-0.48, และ r=-0.34 ตามลำดับ) ส่วนปริมาณน้ำฝน และความชื้นสัมพัทธ์ มีความสัมพันธ์ในทิศทางเดียวกัน โดยปริมาณน้ำฝน และความชื้นมีความสัมพันธ์กับประชากรหนอนในระดับต่ำ (r=0.11, และ r=0.09 ตามลำดับ )

ประสิทธิภาพของกรรมวิธีในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูส้มจุก ได้แก่ หนอนเจาะลำต้น หนอนชอนใบ แมลงวันทอง และ เพลี้ยหอย จากการศึกษา พบว่า จำนวนรอยเจาะจากหนอนเจาะลำต้น หลังการฉีดสารครั้งที่ 4 การไม่ใช้สารพบค่าเฉลี่ยจำนวนรูเจาะเพิ่มขึ้นมากที่สุด คือ 3.50 รู/ต้น ส่วนการใช้สารบาซิลัสทูริงเจนซิส คลอไพรีฟอส ไดคลอร์วอส และน้ำมันเบนซิน มีจำนวนรูเจาะเฉลี่ย 1.00 1.00 0.75 และ 0.00 รู/ต้น ตามลำดับ สำหรับประสิทธิภาพของกรรมวิธีเปรียบเทียบกับการไม่ใช้สาร พบว่า การใช้น้ำมันเบนซิน มีประสิทธิภาพสูงสุด(100 เปอร์เซ็นต์) รองลงมาคือ ไดคลอร์วอส บาซิลัสทูริงเจนซิส และคลอไพริฟอส มีประสิทธิภาพ 75.51 68.47 และ 64.84 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ประสิทธิภาพของกรรมวิธีในการป้องกันกำจัดหนอนชอนใบ พบว่า การใช้อิมิดาโคลปิด มีประสิทธิภาพสูงสุด คือ 83.61 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ ไซฟลูธริน น้ำมันปิโตรเลียม ยาสูบ และสารสกัดจากสะเดาไทย เฉลี่ย 75.59 69.36 67.09 และ 33.20 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนกรรมวิธีในการป้องกันกำจัดแมลงวันทอง พบว่า การห่อผลมีประสิทธิภาพของกรรมวิธีดีที่สุด คือ 97.61 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ การฉีดพ่นด้วยอะบาเมกติน คาร์โบซันแฟน อิมิดา

โคลปิด ปิโตรเลียมออยล์ สารสกัดจากสะเดาไทย และสารสกัดจากข่า มีประสิทธิภาพของกรรมวิธี 92.14 91.51 87.38 65.59 58.27 และ 49.17 เปอร์เซ็นต์เปรียบเทียบกับการไม่ใช้สาร สำหรับกรรมวิธีในการป้องกันกำจัดเพลี้ยหอย พบว่า การใช้สารไซฟลูธรินมีประสิทธิภาพดีที่สุด คิดเป็น 77.39 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา คือ อิมิดาโคลปิด ปิโตรเลียมออยล์ สารสกัดจากเมล็ดสะเดาไทย และยาสูบมีประสิทธิภาพคิดเป็น 70.82 29.68 26.13 และ 9.98 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เปรียบเทียบกับการไม่ใช้สาร

การเจริญเติบโตและการพัฒนาของผลส้มจุกที่เหมาะสมต่อการเก็บเกี่ยวภายใต้สภาพภูมิอากาศที่แตกต่างกัน วางแผนการทดลองแบบ 2x5 แฟกทอเรียล ตามแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด ( CRD ) ประกอบด้วย 2 ปัจจัย ทำการทดลอง จำนวน 10 ซ้ำ ดังนี้ 1.ช่วงเวลาที่ต่างกันของการเก็บเกี่ยวในรอบปี (ต้นปี และปลายปี) 2. อายุการเจริญเติบโตและการพัฒนาของผล 5 ระยะ ( 5, 6 , 7 , 8 และ 9 เดือน) ทำการทดลอง ณ สวนส้มจุก ตำบลบ้านนา อำเภอจะนะ จังหวัดสงขลา เริ่มทำการทดลองในเดือนมกราคม 2561 ถึง กันยายน 2562 ผลการทดลอง พบว่า การเจริญเติบโตและการพัฒนาของผลส้มจุกในช่วงระยะเวลาการเก็บเกี่ยวต้นปี มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับช่วงเวลาของเก็บเกี่ยวปลายปี การพัฒนาด้านน้ำหนักผล (กรัม) น้ำหนักเปลือก (กรัม) น้ำหนักเนื้อ (กรัม) เส้นผ่าศูนย์กลางของผลไม้ (ซม.) และเส้นรอบวง (ซม.) ได้ดีกว่าช่วงปลายปี ด้านคุณภาพของผลในช่วงการเก็บเกี่ยวต้นปีมีค่าของแข็งที่ละลายน้ำได้(TSS), ค่าปริมาณกรดที่ไตรเตรทได้(TA) และอัตราส่วน TSS : TA สูงกว่าการเก็บเกี่ยวในช่วงปลายปี อายุผลส้มจุกที่ 5, 6 , 7, 8 และ 9 เดือน พบว่า อายุผลส้มจุกที่มีอายุ 7-8 เดือน มีเจริญเติบโตการพัฒนาด้านน้ำหนักผล (กรัม) น้ำหนักเปลือก (กรัม) น้ำหนักเนื้อ (กรัม), เส้นผ่าศูนย์กลาง (ซม.) และเส้นรอบ (ซม.) สูงสุด และคุณภาพของผลในด้านค่า TSS, TA และ TSS : TA สูงสุด

การจัดการธาตุอาหารพืชที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและคุณภาพผลผลิตของส้มจุกในอำเภอจะนะ จังหวัดสงขลา ระหว่าง เดือน เมษายน พ.ศ.2561 ถึง เดือน มีนาคม พ.ศ.2563 โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกอย่างสมบูรณ์ (RCBD) มี 5 ซ้ำๆ ละ 1 ต้น ประกอบด้วย 5 สิ่งทดลอง คือ (1) ใช้ปุ๋ยตามวิธีการของเกษตรกร (2) ใช้ปุ๋ยครึ่งหนึ่งของวิธีการของเกษตรกร (3) ใช้ปุ๋ยตามค่าการวิเคราะห์ดิน (4) ใช้ปุ๋ยอินทรีย์ (ปุ๋ยคอก) 50 กก./ต้น และ (5) ใช้ปุ๋ยอินทรีย์การค้า 50 กก./ต้น พบว่า น้ำหนักสดของผล ปริมาตรน้ำคั้นของผลส้มจุก และปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ในน้ำคั้นของผลส้มจุก มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยผลผลิตของส้มจุกจากสิ่งทดลองที่ 3ซึ่งมีการใช้ปุ๋ยตามค่าการวิเคราะห์ดินมีความเหมาะสมที่สุดเนื่องจากมีคุณภาพผลผลิตดีกว่าสิ่งทดลองอื่นๆ คือ เส้นผ่านศูนย์กลางของผล เท่ากับ 9.58 เซนติเมตร น้ำหนักสดของผลเท่ากับ 276.88 กรัม ความหนาของเปลือกผล เท่ากับ 0.44 เซนติเมตร ปริมาตรน้ำคั้นของผล เท่ากับ 179.33 มิลลิลิตร/ผล ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดในน้ำคั้นของผล เท่ากับ 13.16 องศาบริกซ์ และปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ทั้งหมดในน้ำคั้นของผล เท่ากับ 0.64 เปอร์เซ็นต์

การผลิตต้นส้มจุกที่ปลอดโรคด้วยเทคโนโลยีชีวภาพโดยการขยายพันธุ์ส้มจุกด้วยการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนพืชภายในหลอดทดลองเป็นอีกวิธีหนึ่งที่เป็นที่นิยม ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตได้แก่ ชิ้นส่วนพืช สารควบคุมการเจริญเติบโต และอาหารที่ใช้ในการเลี้ยง โดยเริ่มจากการนำเนื้อเยื่อเจริญส่วนยอดเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม BA (6-Benzyaladenine) เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อ

ลิตร ให้จำนวนยอดเฉลี่ยสูงที่สุด คือ 3.33 ยอดต่อชิ้นส่วน และอาหารสูตร MS เติม NAA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถสร้างแคลลัสได้ 40 เปอร์เซ็นต์ หลังจากนั้นศึกษาการเสียบยอดส้มจุกบนต้นตอบนต้นต้อส้ม 6 ชนิด ในหลอดทดลอง พบว่า ต้นตอส้มจุกที่ทำการเสียบยอดบนส้มจุกมีการเข้ากันได้มากที่สุดและสร้างยอดได้สูงสุด 8.8 ยอดต่อชิ้นส่วน ชนิดของอาหารที่เหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณยอดรวมของส้มจุก คือ อาหารแข็งสูตร MS เติม BA เข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร การวางเลี้ยงบนอาหารแข็งสามารถชักนำยอดได้สูงสุด 10.6 ยอดต่อชิ้นส่วน ระดับความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตและวิธีการที่เหมาะสมในการชักนำรากของต้นส้มจุกในหลอดทดลอง พบว่า อาหารสูตร MS เติม NAA เข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร วางเลี้ยงในสภาพที่ไม่เติมผงถ่านให้จำนวนรากสูงสุด 2.91 รากต่อชิ้นส่วน และให้ความยาวรากสูงสุด 3.09 เซนติเมตร การอนุบาลต้นส้มจุกที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยการนำต้นส้มจุกที่เกิดรากและมีความแข็งแรงสมบูรณ์ ทำการล้างเอาอาหารวุ้นที่ติดรากออก ตัดใบออกบางส่วนแล้วจุ่มแช่รากในยากันรา และปลูกต้นส้มจุกในกระถางที่มีทรายผสมขี้เถ้าแกลบในอัตราส่วน 1:1 ใช้ถุงพลาสติกคลุมกระถาง นำไปวางอนุบาลในเรือนเพาะชำที่มีแสงแดดประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 1 เดือน พบว่า ต้นส้มจุกมีอัตราการรอดชีวิต 80 เปอร์เซ็นต์ การตรวจสอบต้นส้มจุกที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเจริญส่วยยอดและการเสียบยอดในหลอดทดลองด้วยเทคนิค PCR พบว่า ไพรเมอร์ 16S rRNA gene ของเชื้อ *C. Liberibacter* asiaticus ที่นำมาศึกษาไม่พบการเกิดโรคบนส้มจุกจากการเพาะเลี้ยงปลายยอดและการเสียบยอดบนต้นตอส้มทุกชนิด ดังนั้นการผลิตส้มจุกให้ปลอดโรคด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเจริญส่วนยอด จึงเป็นแนวทางในการแก้ปัญหาโรคกรีนนิ่งและทริสเตซ่า และตรวจสอบด้วยเทคนิค PCR เพื่อยืนยันว่าต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อปลอดจากโรคก่อนนำไปปลูก

ศึกษาลักษณะทางสรีรวิทยาบางประการของส้มจุกบนต้นตอพืชตระกูลส้ม 5 ชนิด ได้แก่ ส้มโอพื้นเมือง ส้มโอทองดี มะนาวควาย มะกรูด และส้มซ่า ที่ได้จากการเพาะเมล็ด เมื่อต้นกล้าอายุ 6 เดือน นำกิ่งพันธุ์ส้มจุกอายุ 5 เดือน ขนาดความยาวประมาณ 10 เซนติเมตร มีตา 4-5 ตา มาต่อกิ่งแบบเสียบลิ่ม (cleft grafting) วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) หลังจากการต่อกิ่ง 24 เดือน พบว่า ความสูงต้นส้มจุกที่ใช้ส้มซ่าเป็นต้นตอมีค่าเฉลี่ยสูงที่สุด รองลงมาคือส้มโอพื้นเมือง ส้มโอทองดี มะนาวควาย และสุดท้ายคือมะกรูด มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 126.20 112.80 107.40 106.20 และ 89.00 เซนติเมตร ตามลำดับ ความสูงเหนือรอยต่อต้นส้มจุกที่ใช้ส้มซ่าเป็นต้นตอมีค่าเฉลี่ยสูงที่สุด รองลงมาคือมะนาวควาย ส้มโอพื้นเมือง ส้มโอทองดี และสุดท้ายคือมะกรูด มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 98.40 94.00 90.80 90.40 และ 61.40 เซนติเมตร ตามลำดับ จำนวนกิ่งต่อต้น ต้นส้มจุกที่ใช้มะนาวควายเป็นต้นตอมีค่าเฉลี่ยสูงที่สุด รองลงมาคือส้มซ่า ส้มโอทองดี ส้มโอพื้นเมือง และสุดท้ายคือมะกรูด มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 19.20 17.00 14.80 13.80 และ 11.20 กิ่ง ตามลำดับ น้ำหนักสดใบต้นส้มจุกที่ใช้ส้มซ่าเป็นต้นตอมีค่าเฉลี่ยสูงที่สุด รองลงมาคือมะนาวควาย ส้มโอพื้นเมือง มะกรูด และสุดท้ายคือส้มโอทองดี มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 2.43 2.23 2.07 1.98 และ 1.97 กรัม ตามลำดับ และ น้ำหนักแห้งใบต้นส้มจุกที่ใช้ส้มซ่าเป็นต้นตอมีค่าเฉลี่ยสูงที่สุด รองลงมาคือมะนาวควาย ส้มโอพื้นเมือง มะกรูด และสุดท้ายคือส้มโอทองดี มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1.08 1.04 1.03 1.00 และ 0.88 กรัม ตามลำดับ

**สำคัญ** ส้มจุก อนุรักษ์ สงขลา

# Research and Development the Neck Orange for Conservation of Local Plant in Songkla


## Abstract

This research project includes 6 sub-projects for which the overall aims were to study and compile the knowledge on the production of neck orange (*Citrus reticulat*e Blanco) and the conservation of local plant, neck orange varieties in the Southern province.

Findings were as follows:

Studying disease occurrence and relationship between disease severity and environment factors were done in Chana district, Songkhla province. The result showed that canker disease appeared symptom on stock of neck orange on lime and pummelo with disease incidence 2.14% . Foot and root rot disease incidence was 2.14 % . The occurrence of greening and tristeza appeared all of stand trees in orchard (eye observation). They were 100 % incidence. While, zine deficiency symptom was complexions of causing nutrient unbalance and greening and tristeza. When calculated correlation coefficient to describe relationship between environment factors including rainfall, temperature and relative humidity and neck orange disease incidence of foot and root rot, canker, tristeza/ greening and sooty mold, the result showed that most factors and disease incidence did not relate, only sooty mold and relative humidity had significantly correlation coefficient of r= 0.14. The relationship between disease severity and quality did not calculate. It lacked of data since the only few plant trees set fruits, we did not random or fixed for variated of disease severity/incidence. The isolation of antagonistic microorganism from soil sample collected from orchard, two hundred five colonies were isolated. There was rough categorized in to 5 groups by characteristic of colony cultured on Nutrient Agar. The twenty-one fungicides collected from local agricultural store were screened for high control efficacy against *Phytophthora parasitica* by poisoning medium technique. Hexaconazole, thairam and tridemorph were the highest efficacy to inhibit mycelial growth of 94.22, 94.22 and 90.44 % respectively. The screening antibiotics, fungicides and antagonists to control *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* were done. Streptomycin, ampicillin, tetracycline; copper compound copper hydroxide and copper oxychloride were showed of control efficacy. The antagonistic *Bacillus amyloliguefacien* (KPS46) and *Paenibacillus pabuli* (SW01/4) were high efficacy control.

Appropriate management for control insect pest of neck orange. The study on population and damaging on neck orange, was conducted in 7-10 year neck orange famer plantation in Chana district, Songkhla during January 2018 to November 2019. The population and infestation study was found that, the highest damaged from stem borer peaked in September average 1.13 holes/plant. The species of leaf miner, *Phyllocnistic citrella* Stainton was found, which the highest abundance peaked in April average 2.39 number/shoot and damaging percentage were 16.67% in 2018, In the year of 2019, The abundance of leaf miner were the highest in April, average 2.39 number/shoot, which damaging percentage were 16.67%. The four species of fruit fly were found; *Bactrocera dorsalis*, *B. papaya B. correcta* and *B. carambolae*. In the year of 2018, The highest abundance of fruit fly peaked in the December, average 23.27 number/trap and the damaging percentage were average 20.33 %. In the year 2019, The highest abundance of fruit fly peaked in January, average 25.94 number/trap and the damaging percentage were 20.33%. One type of leaf eating caterpillar (LEC), *Papilio demoleus malayanus* wall was found. In the year of 2018, the abundance of LEC peaked in April average 0.20 number/shoot and damaging percentage were average 1.73%. In the year of 2019, the abundance of LEC peaked on October, average 2.14 number/shoot and damaging percentage were average 5.22 %.

The correlation coefficient relationship between the population of leaf miner, fruit fly and LEC and the weather factors were found that the population of leaf miner with the temperature and the wind speed were very low relationship and in the opposite direction (r=-0.18 and r=-0.24, respectively). Rain fall was very low relationship in the same direction with the population of leaf miner (r=0.20) and the relative humidity was moderate relationship in the same direction (r=0.56). For the fruit fly, The population of the fruit fly with temperature and wide speed were very low relationship in the opposite direction (r=-0.28 and r=-0.14, respectively). Rain fall was moderate relationship in the same direction. With the fruit fly population (r=0.56), while humidity vary low relationship in the same direction (r=0.09). The relationship between the weather factors with the population of LEC found that, the temperature was very low relationship in the opposite direction, (r=-0.48) while wind speed was low relationship in the opposite direction. Rainfall and relationship humidity were low relation in the same direction. (r=0.11and r=0.09, respectively).

The effectiveness treatments for controlling Neck orange pest insect; stem borer, leaf miner, fruit fly and California red scale, was conducted that the infestation of stem borer, after spraying treatments found that the control (non-treated) was the

most increasing the bore holes, 3.50 holes/tree, following by *Bacillus thuringiensis*, chlopyrifos, dichlorvos and benzene with 1.00, 1.00, 0.75 and 0.00 hole/tree, respectively. The highest effectiveness treatment was benzene with 100%, followed by dichlorvos, *Bacillus thuringiensis* and chlopyrifos with 75.51 68.47 and 64.84 %, respectively. The effective treatment for on the number of leaf miner was imidacloprid 83.61% followed by cyflutrin, Petroleum oil, tobacco and Thai neem extract with, 75.59, 69.36, 67.69 and 33.20%, respectively. The effectiveness treatments on the damaging percentage, imidacloprid was the highest 84.45% followed by cyfluthrin, petroleum oil tobacco and Thai neem extract with 80.43, 73.84, 69.49 and 55.47 %, respectively. The effectiveness treatments for controlling fruit fly after spraying treatments found that, fruit wrapping was the highest effectiveness on the number of fruit fly 97.61%, followed by abamectin, carbosulfan, imideclopid, petroleum oil, Thai neem extract and galangal extract with 92.14, 91.51, 87.38, 65.59, 58.27 and 49.17%, respectively. The effectiveness treatment for controlling California red scale found that cyflutrin was the best effectiveness treatment with 77.39%, followed by imidacloprid, petroleum oil Thai neem extract and tobacco extract with 70.82, 29.68 26.13 and 9.98, respectively, compared with non-treated control.

Fruit growth and development of neck orange at the optimal time for harvesting under the difference period of climate was reported. The experiment was conducted at the orchard in the Banna sub-district, Chana district, Songkhla province, Thailand starting from January, 2018 to September, 2019. The effect of the harvesting time around the year was divided to two time of the year, half year and half year later which was advanced significant difference of the harvesting time. The half year could develop as indicated fruit weight (g), peel weight (g), pummelo fresh (g), diameter of fruit (cm) and fruit circumference (cm) compared to the half year later. The fruit quality of the half year had higher total soluble solid (TSS), titratable acidity (TA) and TSS/TA ratio than a half year later. The fruit age at 5th 6th 7th 8th and 9th months was develop of fruit weight(g), peel weight (g), fresh weight (g), diameter of fruit (cm) and fruit circumference (cm), the result showed that fruit age at 8 th months could develop the highest of fruit weight(g), peel weight (g), fresh weight (g), diameter of fruit (cm) and fruit circumference (cm) and highest of fruit quality as indicated of TSS, TA and TSS/TA ratio.

Study on appropriate plant nutrient management on growth and yield qualities of neck orange (*Citrus reticulate* Blanco) in Songkhla Province was conducted in farmer fields at Jana district during April, 2018 to March, 2020. The

experimental design was randomize complete block design (RCBD) with 5 replicates (1 tree per replicate) and 5 treatments as follows: (1) fertilizers application based on farmer practical method, (2) half fertilizers based on of farmer practical method, (3) fertilizers based on soil fertility analysis, (4) application organic fertilizer (manure) rate 50 kg. per tree and (5) application high quality of organic fertilizer rate 50 kg. per tree. The results showed that fresh weight, volume of neck orange juice and total soluble solids (TSS) were significantly ($p \leq 0.01$). The treatment 3 gave the highest respond on growth and yield qualities, fruit diameter at 9.58 cm, fresh weight at 276.88 g, and rind thickness at 0.44 cm, volume of neck orange juice at 179.33 ml /fruit, total soluble solids at 13.16 % Brix and total titratable acidity (TA) at 0.64 %.

The production of disease-free neck orange by biotechnology and process of conservation. The factors affecting on growth are explant, plant growth regulators and culture media. The clonal propagation of disease-free began from shoot tip were culture on MS medium supplemented with 2 mg/L BA (6-Benzyaladenine) gave the highest average number of shoot at 3.33 shoot per explant and MS medium supplemented with 1 mg/L NAA (1-naphthylacetic acid) and 2 mg/L BA gave the highest callus induction at 40 percent. After that, study on 6 stocks for neck orange scion and found that neck orange stock can contract and gave the highest shoot formation at 8.8 of shoots/explant. Effect of type of culture medium on shoot proliferation found that solid-MS medium supplemented with 1.5 mg/L BA gave the highest shoot at 10.6 shoots/explant. The concentration of plant growth regulators and method optimum for root induction found that MS medium supplemented with 2.5 mg/L NAA were culture on condition without activated charcoal gave the highest number of root 2.91 roots/explant and root length 3.09 centimeter.

Plantlet nursery of neck orange derived from tissue culture by bring plantlet with root and complete strength were wash root for without agar then, dip the roots in the antifungal. Planting in pots with sand, mixed with rice husk at the ratio 1: 1 using plastic bags to cover the pots and placed in the nursery at 50 percent sunlight for 1 month. It was found that the plantlet had 90 percent survival rate examination.

The plantlet of neck orange obtained from tissue culture and top plug *in vitro* using PCR technique showed that all of 16S rRNA gene primer from *Candidatus* Liberibacter asiaticus used for this study the disease did not found on neck orange grapefruit in all kinds of rootstock.

Therefore, the production of disease-free oranges by shoot meristematic tissue technique can solving the problem of greening and tristeza with PCR techniques in order to confirm that the plant derived from tissue culture is disease

free virus before planting, it is another way to expand the disease-free orange tree and is a solution for future orange garden farmers. And can conserve varieties of neck orange, which is the local orange of the southern region in sterile conditions and conversion.

Study on physiological characteristics of Neck Orange which was grown on five kinds of orange in citrus species tree such as native pomelo, Thongde pomelo, Citron, Kaffer lime and Bitter orange that were grown from seeds at six months. The branches of the Neck orange, which were 5 months, 10 centimeters long, and with 4-5 buds, were used by cleft grafting. Completely Randomized Design (CRD) was used as an experimental design. After 24 months of cleft grafting the result showed that rootstock of Bitter orange gave the highest of average plant height, statistical significant difference followed by Native pomelo, Thongde pomelo, Citron and Kaffer lime at 126.20**,** 112.80, 107.40, 106.20 and 89.00 cm, respectively. The height of scion upper stem found that rootstock of Bitter orange gave the highest of average height of scion upper seam followed by Citron, Native pomelo, Thongde pomelo and Kaffer lime at 98.40, 94.00, 90.80, 90.40 and 61.40 cm, respectively. The highest number of branch per tree of Neck orange was found on rootstock of Citron followed by Bitter orange, Thongde pomelo, native pomelo and Kaffer lime at 19.20, 17.00, 14.80, 13.80 and 11.20 bunch/tree, respectively. The height of fresh leaf weight of Neck orange was found was found on rootstock of Bitter orange followed by Citron, native pomelo, Kaffer lime and Thongde pomelo at 2.43, 2.23, 2.07, 1.98 and 1.97 g, respectively. In addition, the highest dry leaf weight of Neck orange was found on rootstock of Bitter orange followed by Citron, native pomelo, Kaffer lime and Thongde pomelo at 1.08, 1.04, 1.03, 1.00 and 0.88 g, respectively.

**Keywords:** Neck orange, Conservation, Songkla

# สารบัญ


| | หน้า |
|---|---|
| กิตติกรรมประกาศ | (ก) |
| บทคัดย่อ | (ข) |
| Abstract | (ช) |
| สารบัญ | (ฐ) |
| สารบัญตาราง | (ฑ) |
| สารบัญภาพภาคผนวก | (ฒ) |
| บทที่ 1 บทนำ | 1 |
| 1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา | 1 |
| 1.2 วัตถุประสงค์ของแผนงานวิจัย | 2 |
| 1.3 เป้าหมายเชิงกลยุทธ์ของแผนงานวิจัย | 2 |
| 1.4 เป้าหมายของผลผลิต (output) และตัวชี้วัด | 2 |
| 1.5 เป้าหมายของผลลัพธ์ (outcome) และตัวชี้วัด | 2 |
| 1.6 ทฤษฎี สมมุติฐาน หรือกรอบแนวความคิดของแผนงานวิจัย | 3 |
| 1.7 ประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัย | 3 |
| 1.8 แผนการบริหารแผนงานวิจัย แผนการดำเนินงาน และขั้นตอนการดำเนินงานตลอดแผนงานวิจัย | 4 |
| 1.9 ระยะเวลา และสถานที่ทำการวิจัย | 6 |
| บทที่ 2 วิธีการดำเนินงานวิจัย | 7 |
| 2.1 โครงการย่อยที่ 1 | 7 |
| 2.2 โครงการย่อยที่ 2 | 16 |
| 2.3 โครงการย่อยที่ 3 | 23 |
| 2.4 โครงการย่อยที่ 4 | 25 |
| 2.5 โครงการย่อยที่ 5 | 28 |
| 2.6 โครงการย่อยที่ 6 | 31 |
| บทที่ 3 สรุปผลการดำเนินงานโครงการวิจัย | 32 |
| 3.1 โครงการย่อยที่ 1 | 32 |
| 3.2 โครงการย่อยที่ 2 | 36 |
| 3.3 โครงการย่อยที่ 3 | 40 |

# สารบัญ (ต่อ)


| | หน้า |
|---|---|
| 3.4 โครงการย่อยที่ 4 | 41 |
| 3.5 โครงการย่อยที่ 5 | 43 |
| 3.6 โครงการย่อยที่ 6 | 44 |
| 3.7 สรุปผลผลิตการวิจัยตามกรอบวงเงินที่ได้รับการจัดสรรงบประมาณ | 45 |
| เอกสารอ้างอิง | 51 |
| ภาคผนวก | 53 |
| ภาคผนวก ก ผลผลิตงานวิจัยที่ได้รับการตีพิมพ์ | 54 |
| ภาคผนวก ข ประมวลภาพการดำเนินงานของชุดโครงการวิจัย | 71 |

# สารบัญตาราง


| ตารางที่ | | หน้า |
|---|---|---|
| 1 | งบประมาณที่ได้รับจัดสรร ประจำปีงบประมาณ 2561-2562 แยกรายโครงการ | 45 |
| 2 | เป้าหมายผลผลิตงานวิจัย (output) ของโครงการวิจัย ตามประกาศมหาวิทยาลัย | 46 |
| 3 | รายละเอียดข้อมูลการตีพิมพ์เผยแพร่บทความวิจัย ประจำปี 2561 | 46 |
| 4 | รายละเอียดข้อมูลการตีพิมพ์เผยแพร่บทความวิจัย ประจำปี 2562 | 48 |

# สารบัญภาพภาคผนวก


| ภาพภาคผนวกที่ | | หน้า |
|---|---|---|
| 1 | คณะนักวิจัยออกสำรวจและคัดเลือกสวนเกษตรกรที่เข้าร่วมโครงการวิจัย | 72 |
| 2 | ประมวลภาพดำเนินงานโครงการวิจัยย่อยที่ 1 | 73 |
| 3 | ประมวลภาพดำเนินงานโครงการวิจัยย่อยที่ 2 | 74 |
| 4 | ประมวลภาพดำเนินงานโครงการวิจัยย่อยที่ 3 | 75 |
| 5 | ประมวลภาพดำเนินงานโครงการวิจัยย่อยที่ 4 | 76 |
| 6 | ประมวลภาพดำเนินงานโครงการวิจัยย่อยที่ 5 | 77 |
| 7 | ประมวลภาพดำเนินงานโครงการวิจัยย่อยที่ 6 | 78 |

# บทที่ 1

# บทนำ

## 1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา

ส้มจุก (Neck orange: *Citrus reticulate* Blanco) เป็นส้มพันธุ์พื้นเมืองอยู่ในเขตภาคใต้ตอนล่างของประเทศไทย จัดอยู่ในกลุ่มแมนดาริน ซึ่งเป็นส้มเปลือกล่อนเช่นเดียวกับส้มโชกุนและส้มเขียวหวาน มีลักษณะเฉพาะตัวที่แตกต่างจากส้มอื่นคือ บริเวณขั้วผลมีปุ่มยื่นออกมาคล้ายจุกภาษาท้องถิ่นทางภาคใต้เรียกว่า “ส้มแป้นหัวจุก” มีแหล่งปลูกดั้งเดิมอยู่ที่อำเภอจะนะ จังหวัดสงขลา เป็นการปลูกแบบเกษตรกรรายย่อย โดยเฉพาะในกลุ่มเกษตรกรที่นับถือศาสนาอิสลาม ซึ่งสวนส้มจุกทั่วไปจะเป็นสวนผสมผสานแบบธรรมชาติ มีการปลูกพืชหลายชนิดร่วมกัน เช่น ลองกอง มังคุด ทุเรียน กล้วย มะพร้าว ส้มจุก รวมทั้งมีการเลี้ยงแพะและเลี้ยงวัวในสวนด้วย ต่อมาเมื่อได้รับความนิยมจึงมีการขยายพื้นที่ปลูกไปยังแหล่งอื่นๆ ของจังหวัดสงขลา เช่น อำเภอเทพา สะบ้าย้อย นาทวี หาดใหญ่ และในเขตภาคใต้ เช่น จังหวัดยะลา นครศรีธรรมราช สุราษฎร์ธานี และชุมพร ในอดีตมีพื้นที่ปลูกประมาณ 5,000 ไร่ แต่พื้นที่ปลูกลดลงอย่างต่อเนื่องมีพื้นที่ปลูกส้มจุกเพียง 1,798 ไร่ (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2546) พบว่าในปี พ.ศ. 2558 มีพื้นที่ปลูกทั้งที่ให้ผลผลิตและไม่ให้ผลผลิต คือ ภาคใต้ เช่น จังหวัดสงขลา (อำเภอนาทวี จะนะ เทพา และหาดใหญ่) ยะลา นครศรีธรรมราช และชุมพร ภาคกลาง เช่น จังหวัดเพชรบุรี ระยอง จันทบุรี ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ คือ ชัยภูมิ (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2558; หนังสือพิมพ์แนวหน้า, 2559) ผลผลิตส้มจุกมีลักษณะเด่นและให้ผลผลิตน้อยทำให้เป็นที่ต้องการของผู้บริโภค โดยราคาเฉลี่ยของ ส้มจุกในราคาไม่ต่ำกว่ากิโลกรัมละ 70 บาท (สันติภาพ, 2559) ส้มจุกเป็นไม้ผลในท้องถิ่นภาคใต้ที่สามารถส่งเสริมเป็นพืชปลูกทางเศรษฐกิจได้ ปัจจุบันหลายหน่วยงานมีนโยบายให้มีการอนุรักษ์พันธุ์ส้มจุกและส่งเสริมให้มีการปลูกมากขึ้น เนื่องจากส้มจุกเป็นไม้ผลพื้นเมืองของภาคใต้ที่ใกล้สูญพันธุ์ การพัฒนาและเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตส้มจุกในปัจจุบัน พบว่า ส้มจุกที่เกษตรกรปลูกโดยทั่วไป ให้ผลผลิตน้อย ทำให้ปริมาณผลผลิตลดลง เป็นช่วงที่มีฤดูกาลและสภาพดินฟ้าอากาศเปลี่ยนแปลง ทำให้เกิดผลกระต่อทบต่อการออกดอกติดผลของไม้ผลทั่วไป รวมถึงการปลูกส้มจุกในปัจจุบัน ปัญหาของการปลูกส้มจุก คือ การระบาดของโรคและแมลงที่ในพื้นที่ปลูกที่เกิดการระบาดเพิ่มมากขึ้น การออกดอกติดผล ความสมบูรณ์ของต้น อาหารสะสมไม่เพียงพอ ช่วงเวลาในการกระตุ้นการออกดอกไม่เหมาะสม และส่งผลให้ผลผลิตมีความแปรปรวน ซึ่งหากไม่ได้รับการแก้ไขอย่างจริงจังในระยะยาวจะส่งผลเสียหายต่อเกษตรกรผู้ผลิตและเศรษฐกิจของพื้นที่ปลูกส้มจุกได้ ดังนั้นปัญหานี้จะต้องได้รับการแก้ไขด้วยการค้นคว้าวิจัยหาเทคโนโลยีการจัดการที่เหมาะสม เพื่อนำองค์ความรู้จากการวิจัยไปปรับใช้ในการผลิตส้มส้มจุก จึงควรส่งเสริมและฟื้นฟูการปลูกในเขตภาคใต้ให้เป็นอาชีพที่ยั่งยืนของเกษตรต่อไป

**1.2 วัตถุประสงค์ของแผนงานวิจัย**

1) เพื่อศึกษาการแพร่ระบาดและความรุนแรง และแนวทางในการพัฒนาการจัดการโรคที่สำคัญของส้มจุก

2) เพื่อศึกษาปริมาณของหนอนเจาะลำต้น หนอนชอนใบ แมลงวันทอง และหนอนแก้วส้ม ความเสียหายที่เกิดจากการทำลายของแมลง ปัจจัยทางนิเวศวิทยาของแมลง ความสัมพันธ์กับปัจจัยสภาพแวดล้อม และแนวทางการจัดการที่เหมาะสม

3) เพื่อศึกษาการเจริญเติบโตและการพัฒนาของผลส้มจุก และคุณภาพของผลส้มจุกในระยะที่เหมาะสมต่อการเก็บเกี่ยวภายใต้สภาพภูมิอากาศที่แตกต่างกันและอายุของต้นแตกต่างกัน

4) เพื่อศึกษาผลของการจัดการธาตุอาหารพืชต่อการเจริญเติบโต และระดับธาตุอาหารพืชในดินและใบของส้มจุก

5) เพื่อผลิตต้นพันธุ์ส้มโอทับทิมสยามที่ปลอดโรคสำคัญของต้นส้มจุก

6) เพื่อศึกษาชนิดของต้นตอและอิทธิพลของต้นตอส้มที่มีต่อสรีรวิทยาของต้นส้มจุก

**1.3 เป้าหมายเชิงยุทธศาสตร์ของแผนงานวิจัย**

เป็นการพัฒนาศักยภาพด้านการผลิตของกลุ่มเกษตรกรเพื่อยกระดับคุณภาพชีวิตและการพัฒนาที่ยั่งยืนต่อไปและการอนุรักษ์พันธุ์ส้มจุกเป็นส้มพันธุ์พื้นเมืองอยู่ในเขตภาคใต้ตอนล่างของประเทศไทย

**1.4 เป้าหมายของผลผลิต (output) และตัวชี้วัด**

| ชื่อผลผลิต | ตัวชี้วัด | | | |
|---|---|---|---|---|
| | เชิงปริมาณ | เชิงคุณภาพ | เชิงเวลา | เชิงต้นทุน |
| เกษตรกรผู้ผลิตส้มจุกสามารถพัฒนากระบวนการผลิตส้มจุกให้มีคุณภาพ และสามารถส่งออกเป็นสินค้าในระดับนานาชาติเพิ่มขึ้น | ผลผลิตเพิ่มมากขึ้น | คุณภาพของผลผลิตและราคาสูงขึ้น | - | - |
| มีเครือข่ายผู้ปลูกส้มจุกที่ได้มาตรฐานและมีผู้ผลิตเชิงอุตสาหกรรมเพื่อการส่งออก | จำนวนเครือข่ายผู้ปลูกส้มจุกเพิ่มขึ้น | ผลผลิตได้มาตรฐานและมีการส่งออก | - | - |

**1.5 เป้าหมายของผลลัพธ์ (outcome) และตัวชี้วัด**

| ชื่อผลผลิต | ผลลัพธ์ | ตัวชี้วัด | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | เชิงปริมาณ | เชิงคุณภาพ | เชิงเวลา | เชิงต้นทุน |
| เกษตรกรผู้ผลิตส้มจุกสามารถพัฒนากระบวนการผลิตส้มจุกให้ | ผลผลิต | ผลผลิตเพิ่มมากขึ้น | คุณภาพของผลผลิตและราคา | - | - |

| ชื่อผลผลิต | ผลลัพธ์ | ตัวชี้วัด | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | เชิงปริมาณ | เชิงคุณภาพ | เชิงเวลา | เชิงต้นทุน |
| มีคุณภาพ และสามารถส่งออกเป็นสินค้าในระดับนานาชาติเพิ่มขึ้น | | | สูงขึ้น | | |
| เกษตรกรผู้ผลิตส้มจุกสามารถพัฒนากระบวนการผลิตส้มจุกให้มีคุณภาพ และสามารถส่งออกเป็นสินค้าในระดับนานาชาติเพิ่มขึ้น | ผลผลิต | ผลผลิตเพิ่มมากขึ้น | คุณภาพของผลผลิตและราคาสูงขึ้น | - | - |
| มีเครือข่ายผู้ปลูกส้มจุกที่ได้มาตรฐานและมีผู้ผลิตเชิงอุตสาหกรรมเพื่อการส่งออก | เครือข่ายเกษตรกรผู้ปลูกส้มจุก | จำนวนเครือข่ายผู้ปลูกส้มจุกเพิ่มขึ้น | ผลผลิตได้มาตรฐานและมีการส่งออก | - | - |

**1.6 ทฤษฎี สมมติฐาน และกรอบแนวคิดของแผนงานวิจัย**

จากที่คณะนักวิจัยได้จากการลงพื้นที่ปลูกส้มจุกในเขตอำเภอจะนะและอำเภอเทพา จังหวัดสงขลา เกษตรกรผู้ปลูกส้มจุกมีความประสงค์ให้นักวิชาการเข้าไปดำเนินการฟื้นฟูการปลูกส้มจุกให้เป็นไม้ผลดั้งเดิมของภาคใต้ และการแก้ปัญหาผลิตส้มจุกให้มีคุณภาพ คือ การออกดอกติดผล จำนวนหลายครั้งในรอบปี คุณภาพของผลิตของแต่ละช่วงในรอบปีมีความแตกต่างกัน และปัญหาด้านการระบาดของโรคและแมลงที่ในพื้นที่ปลูกที่เกิดการระบาดเพิ่มมากขึ้น ดังนั้นคณะนักวิจัยจากคณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย ได้จัดทำชุดโครงการเพื่อทำการวิจัยในครั้งนี้เพื่อศึกษาทดลองหาองค์ความรู้ของการผลิตส้มจุกและการอนุรักษ์พันธุ์ส้มจุกเป็นส้มพันธุ์พื้นเมืองของภาคใต้

**1.7 ประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัย**

เกษตรกรได้องค์ความรู้เพื่อจะนำไปสู่การแก้ปัญหาที่เกิดขึ้นได้อย่างปัจจุบันทันด่วน โดยคาดว่าจะได้ข้อมูลดังต่อไปนี้

1) ได้องค์ความรู้ที่ได้จะเกิดประโยชน์ต่อเกษตรกรผู้ปลูกส้มจุก ทำให้สามารถจัดการสวนอย่างประสิทธิภาพ

2) มีข้อมูลพื้นฐานของผลกระทบของการเกิดโรคที่สำคัญต่อผลผลิตส้มจุกและได้แนวทางการจัดการโรคพืชที่มีการระบาด

3) มีข้อมูลพื้นฐานด้านปริมาณของหนอนเจาะลำต้น หนอนชอนใบ แมลงวันทอง และหนอนแก้วส้ม ปัจจัยทางนิเวศวิทยาของแมลง ความสัมพันธ์กับปัจจัยแวดล้อม ความเสียหาย และแนวทางการจัดการที่เหมาะสม

4) ทราบการเจริญเติบโตและการพัฒนาของผลส้มจุก และคุณภาพของผลส้มจุกในระยะที่เหมาะสมต่อการเก็บเกี่ยวภายใต้สภาพภูมิอากาศที่แตกต่างกันและอายุของต้นแตกต่างกัน

5) ทราบการผลิตต้นพันธุ์ส้มจุกที่ปลอดโรคสำคัญของต้นส้มจุก

6) ทราบชนิดของต้นตอและอิทธิพลของต้นตอส้มที่มีต่อสรีรวิทยาของต้นส้มจุก

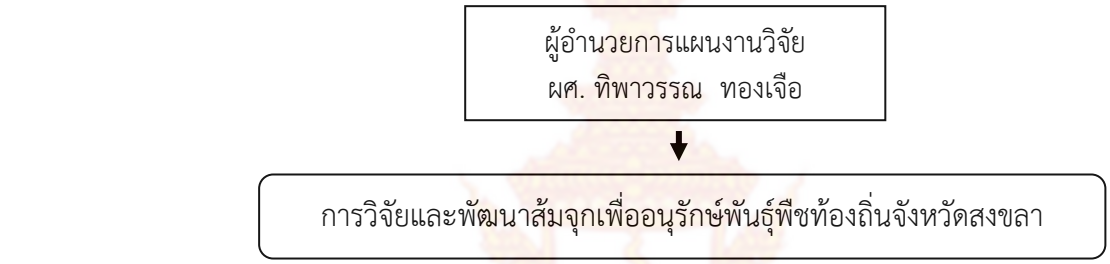
7) ทราบผลการมีส่วนร่วมและการรับรู้ในกระบวนการวิจัย และนำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์

8) นำความรู้ที่ได้ไปตีพิมพ์ในวารสารภายในหรือต่างประเทศ

9) หน่วยงานต่างๆทั้งภาครัฐและเอกชน เช่น สถาบันการศึกษา กรมส่งเสริมการเกษตร เกษตรกร และ ผู้สนใจทั่วไปสามารถนำองค์ความรู้ไปใช้ประโยชน์ได้

**1.8 แผนการบริหารแผนงานวิจัย แผนการดำเนินงาน และขั้นตอนการดำเนินงานตลอดแผนงานวิจัย**

**แผนการบริหารแผนงานวิจัย**




| | | |
|---|---|---|
| **โครงการวิจัยย่อยที่ 1** | **ผศ.ดร. ชัยสิทธิ์ ปรีชา**<br>การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการแพร่ระบาดของโรคพืชที่สำคัญต่อการผลิตส้มจุก (*Citrus reticulate* Blanco) และแนวทางในการป้องกันกำจัดโรค | **หัวหน้าโครงการ** |
| **โครงการวิจัยย่อยที่ 2** | **ผศ. ทิพาวรรณ ทองเจือ**<br>การจัดการที่เหมาะสมในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูส้มจุกในจังหวัดสงขลา | **หัวหน้าโครงการ** |
| **โครงการวิจัยย่อยที่ 3** | **ผศ.ดร.สกุลรัตน์ หาญศึก**<br>การเจริญเติบโตและการพัฒนาของผลส้มจุกที่เหมาะสมต่อการเก็บเกี่ยวภายใต้สภาพภูมิอากาศที่แตกต่างกัน | **หัวหน้าโครงการ** |
| **โครงการวิจัยย่อยที่ 4** | **ผศ.ดร. ชัยสิทธิ์ ปรีชา**<br>การจัดการธาตุอาหารพืชที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและคุณภาพผลผลิตส้มจุก | **หัวหน้าโครงการ** |
| **โครงการวิจัยย่อยที่ 5** | **ผศ.ดร.สกุลรัตน์ หาญศึก**<br>การผลิตต้นส้มจุกที่ปลอดโรคด้วยเทคโนโลยีชีวภาพและแนวทางการอนุรักษ์พันธุ์ส้มจุก | **หัวหน้าโครงการ** |
| **โครงการวิจัยย่อยที่ 6** | **นางสุวรรณษา ชูเชิด**<br>ลักษณะทางสรีรวิทยาบางประการของส้มจุกบนต้นตอพืชตระกูลส้ม 5 ชนิด | **หัวหน้าโครงการ** |

**แผนการดำเนินงานแผนงานวิจัย**

| ปี | กิจกรรม | ต.ค. | พ.ย. | ธ.ค. | ม.ค. | ก.พ. | มี.ค. | เม.ย. | พ.ค. | มิ.ย. | ก.ค. | ส.ค. | ก.ย. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 2562 | 1. การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการแพร่ระบาดของโรคพืชที่สำคัญต่อผลผลิตส้มจุก (*Citrus reticulate* Blanco) และแนวทางในการป้องกันกำจัดโรค | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| 2562 | 2. การจัดการที่เหมาะสมในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูส้มจุกในจังหวัดสงขลา | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| 2562 | 3. การเจริญเติบโตและการพัฒนาของผลส้มจุกที่เหมาะสมต่อการเก็บเกี่ยวภายใต้สภาพภูมิอากาศที่แตกต่างกัน | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| 2562 | 4. การจัดการธาตุอาหารพืชที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและคุณภาพผลผลิตส้มจุก | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| 2562 | 5. การผลิตต้นส้มจุกที่ปลอดโรคด้วยเทคโนโลยีชีวภาพและแนวทางการอนุรักษ์พันธุ์ ส้มจุก | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| 2562 | 6. ลักษณะทางสรีรวิทยาบางประการของส้มจุกบนต้นตอพืชตระกูลส้ม 5 ชนิด | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |

**ขั้นตอนการดำเนินงานตลอดแผนงานวิจัย**

| โครงการวิจัย | กิจกรรม | ระยะเวลาดำเนินการ |
|---|---|---|
| 1. การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการแพร่ระบาดของโรคพืชที่สำคัญต่อผลผลิตส้มจุก (*Citrus reticulate* Blanco) และแนวทางในการป้องกันกำจัดโรค | 1. ดำเนินการเก็บข้อมูลในรอบปีที่ 2<br>2. รวบรวมข้อมูล และวิเคราะห์ผล<br>3. จัดทำรายงานผลการวิจัยฉบับสมบูรณ์ | ตุลาคม 2561 - กันยายน 2562<br>กรกฎาคม - กันยายน 2562<br>กรกฎาคม - กันยายน 2562 |
| 2. การจัดการที่เหมาะสมในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูส้มจุกในจังหวัดสงขลา | 1. ดำเนินการเก็บข้อมูลในรอบปีที่ 2<br>2. รวบรวมข้อมูล และวิเคราะห์ผล<br>3. จัดทำรายงานผลการวิจัยฉบับสมบูรณ์ | ตุลาคม 2561 - กันยายน 2562<br>กรกฎาคม - กันยายน 2562<br>กรกฎาคม - กันยายน 2562 |
| 3. การเจริญเติบโตและการพัฒนาของผลส้มจุกที่เหมาะสมต่อการเก็บเกี่ยวภายใต้สภาพภูมิอากาศที่แตกต่างกัน | 1. ดำเนินการเก็บข้อมูลในรอบปีที่ 2<br>2. รวบรวมข้อมูล และวิเคราะห์ผล<br>3. จัดทำรายงานผลการวิจัยฉบับสมบูรณ์ | ตุลาคม 2561 - กันยายน 2562<br>กรกฎาคม - กันยายน 2562<br>กรกฎาคม - กันยายน 2562 |
| 4. การจัดการธาตุอาหารพืชที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและคุณภาพผลผลิตส้มจุก | 1. ดำเนินการเก็บข้อมูลในรอบปีที่ 2<br>2. รวบรวมข้อมูล และวิเคราะห์ผล<br>3. จัดทำรายงานผลการวิจัยฉบับสมบูรณ์ | ตุลาคม 2561 - กันยายน 2562<br>กรกฎาคม - กันยายน 2562<br>กรกฎาคม - กันยายน 2562 |
| 5. การผลิตต้นส้มจุกที่ปลอดโรคด้วยเทคโนโลยีชีวภาพและแนวทางการอนุรักษ์พันธุ์ ส้มจุก | 1. ดำเนินการเก็บข้อมูลในรอบปีที่ 2<br>2. รวบรวมข้อมูล และวิเคราะห์ผล<br>3. จัดทำรายงานผลการวิจัยฉบับสมบูรณ์ | ตุลาคม 2561 - กันยายน 2562<br>กรกฎาคม - กันยายน 2562<br>กรกฎาคม - กันยายน 2562 |
| 6. ลักษณะทางสรีรวิทยาบางประการของส้มจุกบนต้นตอพืชตระกูลส้ม 5 ชนิด | 1. ดำเนินการเก็บข้อมูลในรอบปีที่ 2<br>2. รวบรวมข้อมูล และวิเคราะห์ผล<br>3. จัดทำรายงานผลการวิจัยฉบับสมบูรณ์ | ตุลาคม 2561 - กันยายน 2562<br>กรกฎาคม - กันยายน 2562<br>กรกฎาคม - กันยายน 2562 |

**1.9 ระยะเวลา และสถานที่ทำการวิจัย**

- ระยะเวลาทำการทดลอง 2 ปี (พ.ศ. 2561-2562)
- สถานที่ทำการวิจัย:
    - อ.จะนะ จังหวัดสงขลา
    - อ.ทุ่งสง จังหวัดนครศรีธรรมราช

# บทที่ 2

# วิธีการดำเนินการวิจัย

แผนงานวิจัยเรื่อง “การวิจัยและพัฒนาส้มจุกเพื่ออนุรักษ์พันธุ์พืชท้องถิ่นจังหวัดสงขลา” ประกอบด้วยโครงการวิจัยย่อย จำนวน 6 โครงการ รายละเอียดวิธีการดำเนินงานวิจัยของโครงการวิจัยย่อยภายใต้แผนงานวิจัยแต่ละโครงการมีดังนี้

## 2.1 โครงการย่อยที่ 1 การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการแพร่ระบาดของโรคพืชที่สำคัญต่อการผลิตส้มจุก *Citrus reticulate* Blanco และแนวทางในการป้องกันกำจัดโรค

**ขอบเขตของโครงการวิจัย**

ศึกษาการเกิดโรค ความรุนแรง และสภาพแวดล้อมที่มีอิทธิพลต่อการเกิดโรคในช่วงเวลาต่างๆ ของโรคสำคัญของส้มจุกในรอบปี ในพื้นที่ปลูกส้มจุกในเขตพื้นที่ปลูกส้มจุก

แยกเชื้อสาเหตุจากพืชที่เป็นโรค ศึกษาลักษณะทางชีววิทยา ทดสอบความสามารถการเกิดโรค และแยกเชื้อปฏิปักษ์จากสวนส้ม ทดสอบประสิทธิภาพเปรียบเทียบกับสารเคมีและเชื้อปฏิปักษ์ที่ผลิตเป็นการค้า หรือที่แนะนำส่งเสริมให้ใช้ นำองค์ความรู้ที่ได้มาพัฒนาเป็นแนวทางในการจัดการสวนและป้องกันกำจัดโรคและเผยแพร่แก่เกษตรกร

**วิธีการดำเนินการวิจัย และสถานที่ทำการทดลอง/เก็บข้อมูล**

**1. ศึกษาการแพร่ระบาด ความสัมพันธ์ระหว่าง สภาพแวดล้อมกับระดับความรุนแรงของโรคสำคัญของส้มจุก**

ในพื้นที่ปลูกส้มจุก ทำการสุ่มเลือกสวนส้มจุกของเกษตรกร โดยแบ่งสวนที่สำรวจออกเป็น 3 กลุ่มอายุ คือ 1-5, 6- 10 และมากกว่า 10 ปี ตัวอย่างกลุ่มละ 5 แปลง ประเมินความรุนแรงของโรค วัดปริมานแสงบริเวณแปลง วัดความชื้นสัมพัทธ์ในวันที่ทำการประเมิน และรวบรวมสภาพอากาศจากสถานีอากาศที่ตั้งอยู่ใกล้ การประเมินความรุนแรงของโรคคิดจากจำนวนต้นที่เสียหายจากการทำลายของเชื้อสาเหตุโรค โดยพบเชื้อที่ราก/โคนต้น อาการที่พบ (การพัฒนาอาการจากเริ่มต้น จนถึงพืชตาย) ระยะเวลาหลังจากที่พบเชื้อจนถึงระยะที่พืชแสดงอาการ ระยะเวลาที่พบเชื้อ/อาการของต้นข้างเคียงหลังจากต้นที่พบเชื้อ/อาการของต้นที่เป็นโรคก่อน จำนวนจุดที่พบโรคของแต่ละแปลง จำนวนต้นที่เป็นโรค เขียนแผนภูมิการเกิดโรค/การแพร่กระจายในแปลง บันทึกข้อมูลทุก 2 เดือน หาความสัมพันธ์ระหว่างระดับการเกิดโรคกับสภาพแวดล้อมและประเมินระดับความเสียหาย

ศึกษาลักษณะของอาการของโรคที่สำคัญ ได้แก่ โรครากเน่าและโคนเน่า โรคแคงเกอร์ โรคราดำ โรคกรีนนิ่ง โรคทริสเตซา และอาการผิดปกติที่เกิดจากการขาดธาตุอาหาร (โรคใบแก้วของส้ม) ที่พบในแปลงเกษตรกรตัวอย่าง โดยศึกษาข้อมูลพื้นฐานโดยจัดทำแบบสัมภาษณ์ใช้ข้อมูลจากการเก็บรวบรวมข้อมูลเกษตรกรในพื้นที่เป้าหมาย จำนวน 10 ราย ซึ่งเนื้อหาของแบบสัมภาษณ์ แบ่งออกเป็น 5 ตอน ได้แก่

ตอนที่ 1 ข้อมูลพื้นฐานทั่วไป สภาพพื้นฐานทางเศรษฐกิจและสังคมบางประการของเกษตรกร ได้แก่ เพศ อายุ รายได้ การศึกษา ประสบการณ์ เป็นต้น

ตอนที่ 2 ข้อมูลการทำสวนส้มจุก สภาพการปลูก พื้นที่ จำนวนแปลง ชนิดดิน สภาพพื้นที่ ระยะปลูก แหล่งน้ำที่ใช้ การขยายพันธุ์ ระบบการให้น้ำ

ตอนที่ 3 ข้อมูลการจัดการดินและปุ๋ย ได้แก่ การเก็บตัวอย่างดินวิเคราะห์ การปรับสภาพดินก่อนปลูก การใส่ปุ๋ยเคมี ปุ๋ยอินทรีย์ และธาตุอาหารอื่นๆ

ตอนที่ 4 ข้อมูลการจัดการสวนส้มจุก ได้แก่ การตัดแต่กิ่ง การใช้สารกระตุ้นการออกดอก การควบคุมวัชพืช การป้องกันกำจัดโรคพืช

ตอนที่ 5 ข้อมูลพบโรคที่เข้าทำลายผลผลิตส้มจุกที่สำคัญ ได้แก่ โรครากเน่าและโคนเน่า โรคแคงเกอร์ โรคราดำ โรคกรีนนิ่ง โรคทริสเตซา และอาการผิดปกติที่เกิดจากการขาดธาตุอาหาร (โรคใบแก้วของส้ม) จากนั้นนำข้อมูลมาวิเคราะห์เปรียบเทียบสถิติ

**2. ศึกษาผลกระทบของการเกิดโรคที่สำคัญต่อผลผลิตส้มจุก**

2.1 ศึกษาเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคที่สำคัญต่อการจัดการสวนและผลผลิตส้มจุก

เก็บรวบรวมข้อมูลเกษตรกรในพื้นที่เป้าหมาย สำรวจและประเมินความรุนแรงของโรค โดยแบ่งสวนที่สำรวจออกเป็น 3 กลุ่มอายุ คือ 1-5, 6-10 และมากกว่า 10 ปี เลือกแปลงตัวอย่างกลุ่มละ 3 แปลง ศึกษาเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคที่สำคัญต่อการจัดการสวนและผลผลิตส้มจุก (ดัดแปลงมาจากวิธีการของ สันติ และคณะ ม.ป.ป; นลินี และคณะ, ม.ป.ป) คำนวณหาเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคดังนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์การเกิดโรค} = \frac{\text{จำนวนต้นส้มจุกที่แสดงอาการเกิดโรค}}{\text{จำนวนต้นส้มจุกทั้งหมดในแปลง}} \times 100$$

ตรวจให้คะแนนความรุนแรงของโรคที่สำคัญที่สำรวจพบในแปลปลูกของเกษตรกรตัวอย่าง โดยประเมินจากอาการที่ส้มโอทับทิมสยามเป็นโรค แบ่งเป็น 5 ระดับ 0 1 2 3 และ 4 ระดับ คือ

ระดับ 0 = ไม่พบอาการของโรค (ปกติ)
ระดับ 1 = ต้นส้มจุกแสดงอาการของโรคที่พบ <25%
ระดับ 2 = ต้นส้มจุกแสดงอาการของโรคที่พบ >25%
ระดับ 3 = ต้นส้มจุกแสดงอาการการเกิดโรคที่พบ <50% ของทรงพุ่มทั้งต้น
ระดับ 4 = ต้นส้มจุกแสดงอาการการเกิดโรคที่พบ >50% ของทรงพุ่มทั้งต้น

2.2 ศึกษาผลกระทบของการเกิดโรคที่สำคัญต่อผลผลิตส้มจุก

เก็บรวบรวมข้อมูลเกษตรกรในพื้นที่เป้าหมายจากข้อ 13.1 ได้แก่ รายจ่าย ในการดำเนินการวัสดุ และต้นทุนคงที่ที่เกี่ยวข้องกับการผลิต ผลผลิต ราคาและรายได้ หาความสัมพันธ์ระหว่าง ระดับการเกิดโรคและความรุนแรงกับผลผลิต รายได้ และผลตอบแทน

**3. ศึกษาความสัมพันธ์การเกิดโรคที่สำคัญกับสภาพอากาศที่เปลี่ยนแปลงในรอบ 2 ปี**

สุ่มเลือกสวนส้มจุกของเกษตรกรในเขตพื้นที่ปลูกส้มจุก โดยแบ่งสวนที่สำรวจออกเป็น 3 กลุ่มอายุ คือ 1-5, 6- 10 และมากกว่า 10 ปี เลือกแปลงตัวอย่างกลุ่มละ 5 แปลง ศึกษาลักษณะของอาการของโรคที่สำคัญ ได้แก่ โรครากเน่าและโคนเน่า โรคแคงเกอร์ โรคราดำ โรคกรีนนิ่ง โรคทริส เตซา และอาการผิดปกติที่เกิดจากการขาดธาตุอาหาร (โรคใบแก้วของส้ม) ที่พบในแปลงตัวอย่าง และรวบรวมสภาพอากาศ จากสถานีอากาศที่ตั้งอยู่ใกล้ และหาความสัมพันธ์ระหว่างสภาพแวดล้อมกับความรุนแรงของโรค โดยการตรวจสอบด้วยสายตาตามเกณฑ์ที่กำหนดไว้ (ดัดแปลงมาจากวิธีการของ Sandler *et al*., 1989 อ้างอิงถึงโดย สุธาสินี และเกษม, มปป.; Rajapakse *et al*., 2006; ดารุณี และคณะ, 2553; สันติ และสุธามาศ, ม.ป.ป.)

3.1 โรครากเน่าและโคนเน่า โรคแคงเกอร์ และโรคราดำ มีเกณฑ์ประเมินด้วยสายตากำหนดไว้ดังนี้

0 = ไม่พบอาการของโรค (ปกติ)
1 = เชื้อสาเหตุมีการเข้าทำลายพื้นที่ผิวใบ/ ผล/ ทรงพุ่มทั้งต้น <25%
2 = เชื้อสาเหตุมีการเข้าทำลายพื้นที่ผิวใบ/ ผล/ ทรงพุ่มทั้งต้น >25-50%
3 = เชื้อสาเหตุมีการเข้าทำลายพื้นที่ผิวใบ/ ผล/ ทรงพุ่มทั้งต้น >50%

3.2 โรคกรีนนิ่ง โรคทริสเตซา และอาการผิดปกติที่เกิดจากการขาดธาตุอาหาร (โรคใบแก้วของส้ม) มีเกณฑ์ประเมินด้วยสายตากำหนดไว้ดังนี้

0 = ไม่พบอาการของโรค (ปกติ)
1 = เชื้อสาเหตุมีการเข้าทำลายพื้นที่ผิวใบในทรงพุ่มทั้งต้น <25%
2 = เชื้อสาเหตุมีการเข้าทำลายพื้นที่ผิวใบในทรงพุ่มทั้งต้น >25-50%
3 = เชื้อสาเหตุมีการเข้าทำลายพื้นที่ผิวใบในทรงพุ่มทั้งต้น >50%

นำข้อมูลที่ได้วิเคราะห์หาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) และค่านัยสำคัญทางสถิติ (p) ระหว่างความรุนแรงของโรคกับปัจจัยสภาพอากาศ ตามวิธีการของ Pearson's โดยมีเกณฑ์การพิจารณาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) และระดับความสัมพันธ์ ดังนี้

ซึ่งมีวิธีการคำนวณหาความรุนแรงของโรคภายในแปลงปลูกได้ดังนี้

$$\text{ความรุนแรงของโรค} = \frac{\text{ผลรวม (ระดับอาการ x จำนวนกิ่งที่เป็นโรคในระดับนั้น)}}{\text{ระดับอาการสูงสุด x จำนวนต้นทั้งหมด}} \times 100$$

| **ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r)** | **ระดับของความสัมพันธ์** |
|---|---|
| 0.90 - 1.00 | มีความสัมพันธ์กันสูงมาก |
| 0.70 - 0.90 | มีความสัมพันธ์กันในระดับสูง |
| 0.50 - 0.70 | มีความสัมพันธ์กันในระดับปานกลาง |
| 0.30 -0.50 | มีความสัมพันธ์กันในระดับต่ำ |
| 0.00 -0.30 | มีความสัมพันธ์กันในระดับต่ำมาก |

สำหรับ เครื่องหมาย +,- หน้าตัวเลขสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ จะบอกถึงทิศทางของความสัมพันธ์ โดยที่หาก

r มีเครื่องหมาย + หมายถึง การมีความสัมพันธ์กันไปในทิศทางเดียวกัน (ตัวแปรหนึ่งมีค่าสูง อีกตัวหนึ่งจะมีค่าสูงไปด้วย)

r มีเครื่องหมาย - หมายถึง การมีความสัมพันธ์กันไปในทิศทางตรงกันข้าม (ตัวแปรหนึ่งมีค่าสูง ตัวแปรอีกตัวหนึ่งจะมีค่าต่ำ)

**4. เก็บรวมรวมเชื้อสาเหตุโรคสำคัญจากส้มจุกในพื้นที่ปลูกส้มจุก**

4.1 การแยกเชื้อราสาเหตุโรครา่เน่าและโคนเน่า (*Phytophthora parasitica*)

วิธีที่ 1 นำตัวอย่างเชื้อมาแยกเชื้อ *P. parasitica* ด้วยวิธี tissue transplanting method โดยเก็บตัวอย่างรากจากต้นส้มจุกที่แสดงอาการเป็นโรครากเน่าและโคนเน่าจากแปลงเกษตรกรในเขตพื้นที่ปลูกและพืชอาศัยอื่น เช่น ยางพารา ส้มโอ และทุเรียน นำตัวอย่างมาล้างทำความสะอาดโดยปล่อยให้น้ำไหลผ่าน 2-3 ชั่วโมง นำตัวอย่างมาซับน้ำให้แห้งแล้วแบ่งส่วนตัด โดยตัดตัวอย่างให้ยาวชิ้นละประมาณ 1 เซนติเมตร ไปแช่ใน clorox 10 เปอร์เซ็นต์ 2 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อเพื่อล้าง clorox ออกอีก 2 ครั้ง ซับกระดาษทิชชูที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว จึงตัดชิ้นส่วนตัวอย่างให้มีขนาด 5x5 มิลลิเมตร ที่ผ่านการแช่ด้วย clorox บนอาหาร PDA, WA, NA และ Modified BNPRA โดยวางตัวอย่าง 4 ชิ้น ต่อ plate เพื่อศึกษาการแยกเชื้อบริสุทธิ์ของเชื้อสาเหตุ เมื่อได้เชื้อบริสุทธ์ทำการทดสอบเลี้ยงบนอาหารที่แตกต่างกันเพื่อศึกษาลักษณะของเส้นใยเชื้อรา *P. parasitica* บนอาหาร 3 ชนิด คือ Carrot agar (CA), Potato dextrose agar (PDA) และ V-8 juice agar (V-8) ตรวจบันทึกผลการทดลองเมื่ออายุ 3, 5 และ 7 วัน และเพื่อใช้ในการศึกษาต่อไป

วิธีที่ 2 การแยกเชื้อ *P. Parasitica* จากตัวอย่างดินบริเวณรากต้นส้มจุกที่เป็นโรคด้วยวิธี soil surface dilution plate การนำตัวอย่างดินจำนวน 50 กรัม ผสมลงในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 250 มิลลิลิตร เขย่านาน 15-30 นาที เพื่อให้เชื้อโรคออกมาอยู่ในน้ำ ปล่อยดินให้ตกตะกอน จากนั้นใช้ micropipette ดูด suspension ปริมาณ 10 ไมโครลิตร หยดลงบนอาหาร PDA, WA, NA และ Modified BNPRA แล้วทำการ spreed plate บ่มเชื้อนาน 7 วัน เลือกเก็บโคโลนีและลักษณะของเส้นใยที่เจริญขึ้นมาบนผิวอาหารที่มีความแตกต่างกันเพื่อศึกษาการแยกเชื้อบริสุทธิ์ของเชื้อ *P. parasitica* เมื่อได้เชื้อบริสุทธ์ทำการทดสอบเลี้ยงบนอาหารที่แตกต่างกันเพื่อศึกษาลักษณะของเส้นใยเชื้อรา P. parasitica บนอาหาร 3 ชนิด คือ Carrot agar (CA), Potato dextrose agar (PDA) และ V-8 juice agar (V-8) ตรวจบันทึกผลการทดลองเมื่ออายุ 3, 5 และ 7 วัน และเพื่อใช้ในการศึกษาต่อไป

4.2 การแยกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคแคงเกอร์ (*Xanthomonas axonopodis pv. citri*)

เก็บตัวอย่างส้มจุกที่แสดงอาการโรคแคงเกอร์ และส้มชนิดอื่นๆ ได้แก่ ส้มโอ มะนาว ส้มโชกุน และมะกรูด โดยทำการเก็บตัวอย่างที่แสดงอาการที่ใบ กิ่ง ลำต้น และผล โดยนำตัวอย่างโรคแคงเกอร์ที่เก็บมาล้างทำความสะอาด โดยผ่านน้ำไหลเป็นเวลา 5 นาที ใช้กรรไกรที่ฆ่าเชื้อแล้วตัดบริเวณแผลที่เป็นใหม่ๆ นำไปล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 1 ครั้ง นำไปแช่แอลกอฮอล์ความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5 นาที ล้างน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้ออีก 2-3 ครั้ง จากนั้นนำไปบดในโกร่งที่อบฆ่าเชื้อให้ละเอียด นำสารละลายเชื้อมาแยกเชื้อมาขีดให้เป็นเส้นด้วยการทำ cross strek ด้วยลูป (loop) ที่เผาฆ่าเชื้อแล้ว บนอาหาร NA อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24-72 ชั่วโมง คัดเลือกโคโลนีสีเหลือง มัน นูน ขอบเรียบ นำไปทำให้บริสุทธิ์ และเก็บรักษาเชื้อไว้ภายใต้น้ำมัน (paraffin oil) และในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการศึกษาต่อไป

4.3 การตรวจสอบโรคทริสเตซ่าของส้มจุก (Citrus Tristeza Virus)

นำเส้นกลางใบ (midrib) ของส้มจุกมาสกัดอาร์เอ็นเอรวม (total RNA) โดยใช้ชุดสกัด RNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN) ตามคำแนะนำของบริษัทผู้ผลิต ตรวจสอบผลผลิตที่ได้โดย agarose gel electrophoresis แล้วนำอาร์เอ็นเอที่ได้มาตรวจวินิจฉัยโรคทริสเตซ่าโดยใช้เทคนิค Reverse transcription Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) (Mehta *et al*., 1997) เพื่อเพิ่ม

จำนวนยีนโปรตีนห่อหุ้มอนุภาค (coat protein gene) ที่มีขนาด 674 bp ใช้ 7A1 (5’ CCTAGGGACG ACGAAACAAAG AAA 3’) เป็น forwards primer และ 7S2 (5’ ACTGTGTTGAATTTC CCAAGCTG 3’) เป็น reverse primer แล้วตรวจสอบโดยใช้ agarose gel electrophoresis และตรวจซ้ำเพื่อยืนยันผลด้วยวิธี genomic Nothern dot blot hybridization โดยใช้ตัวตรวจเป็น coat protein gene ที่ติดฉลากด้วย DIG-11-dUTP (Roche®) ติดตามตรวจสอบผล bybridization ของตัวตรวจด้วย Anti-DIG ที่ติดฉลากด้วย alkali phosphatase และมี CDP star เป็น substrate เกิดผลิตภัณฑ์เป็นสารเรืองแสงและตรวจสอบการเรืองแสงด้วยฟิล์มเอ็กเรย์ (X-ray film) ตัวอย่างใดที่มีเชื้อไวรัสทริสเตซ่าอยู่จะเกิดจุดดำที่ฟิล์ม (Eiras *et al*., 2001; ลัดดาวัลย์ และคณะ, 2550)

4.4 การตรวจสอบเชื้อสาเหตุโรคกรีนิ่ง (Greening Disease)

นำเส้นกลางใบ (midrib) ของส้มจุกมาสกัดดีเอ็นเอ (total DNA) โดยวิธี CTAB (Murray and Thompson, 1980) ตรวจสอบผลผลิตที่ได้โดย agarose gel electrophoresis แล้วนำจีโนมิกดีเอ็นเอที่สกัดได้มาตรวจวินิจฉัยโรคโดยใช้เทคนิค Polymerase Chain Reaction (PCR) เพื่อเพิ่มจำนวนยีนไรโบโซมอลโปรตีน (ribosomal protein gene) ในส่วนของ *rplj* geneที่มีขนาด 703 bp ใช้ A2 (5’ TATAAAGGTTGACCTTTCG AGTTT 3’) เป็น forwards primer และ J5 (5’ ACAAAAGC AGAAATAGCA CGAACAA 3’) เป็น reverse primer (Planet et al., 1995) แล้วตรวจสอบโดยใช้ agarose gel electrophoresis และตรวจซ้ำเพื่อยืนยันผลด้วยวิธี genomic Nothern dot blot hybridization โดยใช้ตัวตรวจเป็น outter membrane pretein gene (*omp* gene) ที่ติดฉลากด้วย DiG-11-dUTP และติดตามตรวจสอบผลเช่นเดียวกับการตรวจสอบโรคทริสเตซ่าโดยดูจุดดำบนฟิล์มเอ็กซ์เรย์ (Eiras *et al*., 2001; ลัดดาวัลย์ และคณะ, 2550)

**5. ศึกษาความสัมพันธ์การเกิดโรคที่สำคัญกับคุณภาพผลผลิตส้มจุก**

สำหรับงานทดสอบคุณภาพผลส้มจุกจากการสุ่มเก็บตัวอย่างในแหล่งผลิตส้มจุก ทำการทดสอบคุณภาพของผลผลิต 2 ลักษณะคือ

5.1 ลักษณะภายนอก ได้แก่ ลักษณะที่มองเห็นด้วยตา สัมผัสได้ด้วยมือ ประกอบด้วย รูปร่าง ขนาด สีสันภายในเนื้อ และผิวผล ซึ่งมีเกณฑ์ประเมินด้วยสายตากำหนดไว้ดังนี้

0 = ไม่พบอาการของโรคที่ผลผลิต (ปกติ)
1 = พบอาการของโรคที่ผลผลิต <25%
2 = พบอาการของโรคที่ผลผลิต >25-50%
3 = พบอาการของโรคที่ผลผลิต >50%

5.2 ลักษณะภายใน ได้แก่ วัดความเป็นกรดและน้ำตาลตลอดจนลักษณะที่สัมผัสได้จากการบริโภคด้วยปาก ลิ้น ได้แก่ รสชาติ เนื้อสัมผัส ซึ่งด้านรสชาติที่ผู้บริโภคชอบ โดยให้คะแนนความอร่อยจากน้อยไปมากเท่ากับ 0-3 คะแนน เพื่อแบ่งกลุ่มผลส้มโอตามคุณภาพของรสชาติ 4 ระดับได้แก่

0 = รสชาติแย่
1 = รสชาติปานกลาง
2 = รสชาติอร่อย
3 = รสชาติอร่อยมาก

**6. การศึกษาการคัดเลือกเชื้อปฏิปักษ์ที่มีแนวโน้มในการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรครากและโคนเน่าและโรคแคงเกอร์ของส้มจุก**

6.1 การแยกเชื้อราและแบคทีเรียปฏิปักษ์

วิธีที่ 1 เก็บตัวอย่างใบ กิ่ง ลำต้น และรากที่สมบูรณ์ไม่มีการแสดงอาการโรค โดยสุ่มเก็บตัวอย่างจากต้นส้มจุกในพื้นที่ปลูกส้มจุก นำมาแยกเชื้อราและแบคทีเรียปฏิปักษ์จากเนื้อเยื่อใบ กิ่ง ลำต้น และรากของส้มจุก โดยวิธี tissue transplanting โดยเก็บตัวอย่างใบ กิ่ง ลำต้นและรากจากต้นส้มจุกที่ไม่แสดงอาการโรคจากแปลงเกษตรกรในเขตพื้นที่ปลูกส้มจุก นำตัวอย่างมาล้างทำความสะอาดโดยปล่อยให้น้ำไหลผ่าน 2-3 ครั้ง นำตัวอย่างมาซับน้ำให้แห้งแล้วแบ่งตัดชิ้นส่วน โดยตัดตัวอย่างให้ยาวชิ้นละประมาณ ให้มีขนาด 5x5 มิลลิเมตร ไปแช่ใน clorox 10 เปอร์เซ็นต์ 2 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อเพื่อล้าง clorox ออกอีก 2-3 ครั้ง ซับให้แห้งด้วยกระดาษทิชชูที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว สุ่มเยื้อเยื่อตัวอย่างดังกล่าวโดยวางตัวอย่าง 4 ชิ้น ต่อ 1 จานอาหารเลี้ยงเชื้อ วางบนอาหาร PDA (เฉพาะโคโลนีของเชื้อรา) และ NA (เฉพาะโคโลนีของแบคทีเรีย) เป็นเวลา 10 นาที เพื่อยืนยันว่าวิธีการล้างที่ใช้สามารถกำจัดเชื้อปนเปื้อนที่ผิวของเนื้อเยื่อตัวอย่างทั้งหมดวางในจานเลี้ยงเชื้อที่มีอาหาร PDA และ NA บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง สังเกตการณ์เจริญจากเนื้อเยื่อพืชทุกวัน เพื่อศึกษาการแยกเชื้อบริสุทธิ์ของเชื้อราและแบคทีเรียปฏิปักษ์ ทำซ้ำ 2-3 ครั้ง และเก็บเชื้อที่บริสุทธิ์ไว้ทดสอบขั้นตอนต่อไป

วิธีที่ 2 เก็บตัวอย่างดินบริเวณรากต้นส้มจุกและดินบริเวณรอบรากต้นส้มจุกที่สมบูรณ์ไม่มีอาการแสดงอาการโรค โดยวิธี soil surface dilution plate การนำตัวอย่างดินจำนวน 50 กรัม ผสมลงในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 250 มิลลิลิตร เขย่านาน 15-30 นาที เพื่อให้เชื้อราและแบคทีเรียปฏิปักษ์ออกมาอยู่ในน้ำ ปล่อยดินให้ตกตะกอน จากนั้นใช้ micropipette ดูด suspension ปริมาณ 10 ไมโครลิตร หยดลงบนอาหาร PDA, WA, NA และ Modified BNPRA แล้วทำการ spreed plate บ่มเชื้อนาน 7 วัน เลือกเก็บโคโลนีและลักษณะของเส้นใยที่เจริญขึ้นมาบนผิวอาหารที่มีความแตกต่างกันเพื่อศึกษาการแยกเชื้อบริสุทธิ์ของเชื้อสาเหตุต่างๆ ที่นำมาตรวจสอบเชื้อสาเหตุที่ชัดเจนในห้องปฏิบัติการทดทอง

วิธีที่ 3 เก็บตัวอย่างใบ กิ่ง ลำต้น และรากที่สมบูรณ์ไม่มีการแสดงอาการโรค โดยสุ่มเก็บตัวอย่างจากต้นส้มจุกในพื้นที่ปลูกส้มจุก นำมาแยกเชื้อราและแบคทีเรียปฏิปักษ์จากเนื้อเยื่อใบ กิ่ง ลำต้น และรากของส้มจุก โดยวิธี dilution pour plate โดยตัดชิ้นส่วนใบ กิ่ง ลำต้น และราก อย่างละ 10 กรัม ผสมกับน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 90 มิลลิลิตร เขย่าด้วยความเร็ว 150 รอบ/นาที นาน 30 นาที ทำการเจือจางที่ $10^{-6}$ และ $10^{-7}$ ดูดสารแขวนลอย 10 ไมโคลิตร หยดลงนานอาหารเลี้ยงเชื้อแล้วทำการ pour plate ด้วยอาหาร PDA และ NA บ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24-72 ชั่วโมง แยกเชื้อให้บริสุทธิ์ แล้วย้ายลงในหลอดอาหารเลี้ยงเอียงตามชนิดของอาหารที่แยกเชื้อได้เพื่อใช้ในการศึกษาต่อไป

**7. การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อปฏิปักษ์ และสารเคมีในการควบคุมโรครากเน่าและโคนเน่าและโรคแคงเกอร์ของส้มจุก**

7.1 การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อปฏิปักษ์ในการควบคุมเชื้อ *P. parasitica* สาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่า

วิธีที่ 1 การคัดเลือกเชื้อราที่มีแนวโน้มว่าเป็นปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเจริญของโรครากเน่าและโคนเน่าที่เกิดจากเชื้อ *P. parasitica* ที่แยกเชื้อสาเหตุจากส้มจุก และพืชอื่น เช่น ยางพารา ส้มโอ และทุเรียน ด้วยวิธี dual culture โดยการวางเชื้อ *P. parasitica* ที่เจาะด้วย cork borer บน

อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ในจานทดลองขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร ห่างจากขอบจานทดลอง 2 เซนติเมตร หลังจากนั้นวางเชื้อราปฏิปักษ์ด้านตรงกันข้ามห่างกัน 6 เซนติเมตร และในชุดควบคุมทำการวางเชื้อราสาเหตุโรคเพียงอย่างเดียวในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน และบันทึกผล

วิธีที่ 2 การคัดเลือกแบคทีเรียที่มีแนวโน้มว่าเป็นปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเจริญของโรครากเน่าและโคนเน่าที่เกิดจากเชื้อ *P. parasitica* ที่แยกเชื้อสาเหตุจากส้มจุก และพืชอื่น เช่น ยางพารา ส้มโอ และทุเรียน ด้วยวิธี dual culture โดยการวางเชื้อ *P. parasitica* ที่เจาะด้วย cork borer วางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA โดยว่างให้ห่างจากขอบจานเลี้ยงเชื้อ 2 เซนติเมตร หลังจากนั้น 3 วัน จึงใช้ loop ที่ผ่านไฟฆ่าเชื้อแล้วแตะ single colony ของแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่เตรียมไว้ (อายุ 24 ชั่วโมง) ขีดเป็นเส้นตรงด้านตรงข้ามกับชิ้นเชื้อราที่วางไว้ก่อนในแนวเส้นผ่านศูนย์กลาง ห่างจากชิ้นเชื้อรา 5 เซนติเมตร เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่วางเฉพาะชิ้นเชื้อ *P. parasitica* บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน และบันทึกผล

7.2 การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อปฏิปักษ์ในการควบคุมเชื้อ *X. axonopodis* pv. *citri* สาเหตุโรคแคงเกอร์

วิธีที่ 1 การคัดเลือกแบคทีเรียที่มีแนวโน้มว่าเป็นปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *X. axonopodis* pv. *citri* ที่แยกเชื้อสาเหตุจากส้มจุก และพืชอื่น เช่น มะนาว ส้มโชกุนและ มะกรูด ด้วยวิธี paper disc diffusion methods โดยการเลี้ยงเชื้อแยกระหว่างเชื้อ *X. axonopodis* pv. *citri* และเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในอาหารเหลว NB ปริมาตร 20 มิลลิลิตร บนเครื่องเขย่า 150 รอบ/นาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ปรับค่าความขุ่นของ suspension เชื้อทั้งสองให้มีค่าเท่ากับ 0.2 O.D. (ประมาณ $10^8$ cfu/ml) ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ดูด suspension เชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคที่เตรียมไว้ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมลงในขวดที่บรรจุอาหาร NA ที่หลอมอุณหภูมิประมาณ 45 องศาเซลเซียส 20 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันและเทลงในจานเลี้ยงเชื้อที่ปลอดเชื้อ และดูด suspension เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่เตรียมข้างต้นปริมาตร 10 ไมโครลิตร หยดลงบนกระดาษกรองกลมเบอร์ 1 (paper disc) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร ที่ปลอดเชื้อวางลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี NA ผสมเชื้อ *X. axonopodis* pv. *citri* ที่เตรียมไว้ข้างต้นจานละ 4 ชิ้น บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง ตรวจสอบบริเวณใส (clear inhibition zone) รอบแผ่นกระดาษหลังปลูกเชื้อไปแล้ว 48 ชั่วโมง ประเมินประสิทธิภาพของเชื้อในการยับยั้งดังสมการ

บริเวณยับยั้ง (มิลลิเมตร) = (ความกว้างบริเวณยับยั้งทั้งหมด – ความกว้างของโคโลนี) / 2

วิธีที่ 2 การคัดเลือกแบคทีเรียที่มีแนวโน้มว่าเป็นปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *X. axonopodis* pv. *citri* ที่แยกเชื้อสาเหตุจากส้มจุก และพืชอื่น เช่น มะนาว ส้มโชกุนและ มะกรูด ด้วยวิธี agar diffusion โดยการเลี้ยงเชื้อแยกระหว่างเชื้อ *X. axonopodis* pv. *citri* และเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในอาหารเหลว NB ปริมาตร 20 มิลลิลิตร บนเครื่องเขย่า 150 รอบ/นาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ปรับค่าความขุ่นของ suspension เชื้อทั้งสองให้มีค่าเท่ากับ 0.2 O.D. (ประมาณ 108 cfu/ml) ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ดูด suspension เชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคที่เตรียมไว้ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมลงในขวดที่บรรจุอาหาร NA ที่หลอมอุณหภูมิประมาณ 45 องศาเซลเซียส 20 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันและเทลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ทิ้งไว้ให้ผิวหน้าอาหารแห้ง จากนั้นใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร เจาะหลุมบนผิวหน้าอาหารจำนวน 4 จุด จากนั้นใช้

micropipette ดูด cell-suspension ของแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่เตรียมตามขั้นตอนข้างต้นปริมาตร 30 ไมโครลิตร หยดลงในหลุมที่เตรียมแต่ละหลุมลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี NA ผสมเชื้อ *X. axonopodis* pv. *citri* บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ประเมินความสามารถในการเจริญของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ธุ์ที่อยู่ในหลุมกับเชื้อ *X. axonopodis* pv. *citri* ที่ผสมในอาหารทดสอบโดยเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่ใช้น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อหยดลงในหลุมทดสอบแทน

7.3 การทดสอบสารเคมีที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคของส้มจุก

วิธีที่ 1 ทดสอบบนอาหารพิษ ทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมีที่มีต่อเชื้อสาเหตุโรคที่แยกได้จากข้อ 13.4.1 โดยวิธี poisoned food เลือกใช้สารเคมีที่มีขายอยู่ตามท้องตลาด ตามระดับความเข้มข้นที่ผู้ผลิตแนะนำ และที่ระดับความเข้มข้นที่ต่างกัน ผสมลงในอาหาร PDA วัดเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราเปรียบเทียบกับชุดควบคุม จากนั้นบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน บันทึกผล วางแผนการทดลอง แบบ Factorial in CBD ประกอบด้วย 2 ปัจจัย คือ ชนิดสารป้องกันกำจัดเชื้อรา และระดับความเข้มข้น เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี DMRT

เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา = (R1-R2) x100/R1

เมื่อ R1 = ความยาวเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อในจานควบคุม

R2 = ความยาวเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อในจานทดสอบ

วิธีที่ 2 การทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมีที่มีต่อเชื้อสาเหตุโรคที่แยกได้จากข้อ 13.4.2 ด้วยวิธี agar diffusion โดยการเลี้ยงเชื้อเชื้อ *X. axonopodis* pv. *citri* ในอาหารเหลว NB ปริมาตร 20 มิลลิลิตร บนเครื่องเขย่า 150 รอบ/นาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ปรับค่าความขุ่นของ suspension เชื้อสาเหตุโรคให้มีค่าเท่ากับ 0.2 O.D. (ประมาณ $10^8$ cfu/ml) ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ดูด suspension เชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคที่เตรียมไว้ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมลงในขวดที่บรรจุอาหาร NA ที่หลอมอุณหภูมิประมาณ 45 องศาเซลเซียส 20 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันและเทลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ทิ้งไว้ให้ผิวหน้าอาหารแห้ง จากนั้นใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร เจาะหลุมบนผิวหน้าอาหารจำนวน 4 จุด จากนั้นใช้ micropipette ดูดสารเคมีทดสอบตามระดับความเข้มข้นที่ผู้ผลิตแนะนำ และที่ระดับความเข้มข้นที่ต่างกัน ปริมาตร 30 ไมโครลิตร หยดลงในหลุมที่เตรียมแต่ละหลุมลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี NA ผสมเชื้อ *X. axonopodis* pv. *citri* บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ประเมินความสามารถในการเจริญของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ธุ์ที่อยู่ในหลุมกับเชื้อ *X. axonopodis* pv. *citri* ที่ผสมในอาหารทดสอบโดยเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่ใช้น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อหยดลงในหลุมทดสอบแทน

**8. การทดสอบสารเคมีและเชื้อปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคของส้มจุกในระดับสภาพเรือนทดลอง**

8.1 การทดสอบการควบคุมเชื้อ *P. parasitica*

การเตรียมเชื้อรา *P. parasitica* บนอาหาร CA บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4-5 วัน เจาะด้วย cork berer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.8 เซนติเมตร ของเชื้อราดังกล่าวบริเวณขอบโคโลนีนำไปวางบนอาหาร ทรายผสมข้าวโอ๊ต (Oat meal – sand) น้ำหนัก 210 กรัม โดยอาหารจะมีข้าวโอ๊ตโดยประมาณ 5 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนัก บ่มไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 วัน ก่อนนำไปผสมดินปลูกสูตร AVRDC (ส่วนผสม ดิน ทราย ปุ๋ยหมัก และขุยมะพร้าว ในอัตรา 1:1:1:3 ตามลำดับ) ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 2 ครั้งๆ ละ 1 ชั่วโมง แต่ละครั้งห่างกัน 24 ชั่วโมง ในอัตรา 1:1 โดยน้ำหนัก

(ดัดแปลงมาจากวิธีการของวาริน, 2541) นำดินผสมที่มีความเข้มข้นดังกล่าวใส่ในกระถางปลูกขนาด 6 นิ้ว กระถางละ 250 กรัม พร้อมย้ายกล้าส้มจุกอายุ 2 เดือนลงปลูก (ซึ่งเพาะในถาดเพาะเมล็ด) เลือกต้นกล้าส้มจุกที่มีขนาดเท่ากัน แล้วล้างรากแล้วตัดรากให้มีความยาว 3 เซนติเมตรทุกต้น จากนั้นนำไปราดดินที่ปลูกที่บรรจุในกระถางขนาด 6 นิ้ว เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ใช้เฉพาะเชื้อ *P. parasitica* และการปลูกแบบไม่ใส่เชื้อ ประเมินความรุนแรงของโรคจากการทดสอบ 6 เดือน ทำการล้างราก ประเมินความรุนแรงโรคที่ระบบราก โดยวางแผนการทดลองแบบ Completely Randomize Design (CRD) ซึ่งมีกรรมวิธีทดลองดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ชุดควบคุม (เชื้อรา *P. parasitica*)
กรรมวิธีที่ 2 ชุดควบคุม (น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ)
กรรมวิธีที่ 3 สารเคมีทดสอบ + เชื้อรา *P. parasitica*
กรรมวิธีที่ 4 เชื้อราปฏิปักษ์สายพันธุ์ทดสอบ + เชื้อรา *P. parasitica*
กรรมวิธีที่ 5 เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ทดสอบ + เชื้อรา *P. parasitica*
กรรมวิธีที่ 6 เชื้อรา *Chaetomium* spp. (เชื้อทางการค้า) + เชื้อรา *P. parasitica*
กรรมวิธีที่ 7 เชื้อรา Trichoderma spp. (เชื้อทางการค้า) + เชื้อรา *P. parasitica*
กรรมวิธีที่ 8 เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์กลุ่ม Bacillus (เชื้อทางการค้า) + เชื้อรา *P. parasitica*
กรรมวิธีที่ 9 เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus amyloliquefaciens* KPS46 + เชื้อรา *P. parasitica*

8.2 การทดสอบการควบคุมเชื้อ *X. axonopodis* pv. *Citri*

นำกิ่งของส้มจุกมาการกิ่งตอน โดยเลือกกิ่งตอนส้มจุกที่แสดงอาการโรคแคงเกอร์จากแปลงปลูกส้มจุก โดยทิ้งกิ่งตอนไว้ 1 วัน โดยไม่รดน้ำเมื่อเวลาทำการแช่ลงในสิ่งทดสอบกิ่งตอน จะได้ดูดสิ่งทดสอบได้เต็มที่ โดยวางแผนการทดลองแบบ Completely Randomize Design (CRD) ซึ่งมีกรรมวิธีทดลองดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 แช่กิ่งตอนในเชื้อ *X. axonopodis* pv. *Citri*
กรรมวิธีที่ 2 แช่กิ่งตอนในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ
กรรมวิธีที่ 3 แช่กิ่งตอนในสารเคมีทดสอบ
กรรมวิธีที่ 4 แช่กิ่งตอนในเชื้อราปฏิปักษ์สายพันธุ์ทดสอบ
กรรมวิธีที่ 5 แช่กิ่งตอนในเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ทดสอบ
กรรมวิธีที่ 6 แช่กิ่งตอนในเชื้อรา *Chaetomium* spp. (เชื้อทางการค้า)
กรรมวิธีที่ 7 แช่กิ่งตอนในเชื้อรา *Trichoderma* spp. (เชื้อทางการค้า)
กรรมวิธีที่ 8 แช่กิ่งตอนในเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์กลุ่ม Bacillus (เชื้อทางการค้า)
กรรมวิธีที่ 9 แช่กิ่งตอนในเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus amyloliquefaciens* KPS46

นำกิ่งตอนส้มจุกที่แช่ในแต่ละกรรมวิธีแล้วมาปลูกในกระถางขนาด 12 นิ้ว ใช้ดินที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วโดยผสมปุ๋ยมูลวัว และขุยมะพร้าวในอัตราดิน : ปุ๋ยมูลวัว : ขุยมะพร้าว 4:1:1 ตามลำดับ ปลูกเป็นเวลา 6 เดือน ทำการตรวจผลโดยนับจำนวนใบที่แสดงอาการโรคทุกต้น ส่วน control นำกิ่งที่ตัดแต่งกิ่งแล้วแช่น้ำแล้วทำการปลูกตรวจผลเช่นเดียวกัน

**2.2 โครงการย่อยที่ 2 การจัดการที่เหมาะสมในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูส้มจุกในจังหวัดสงขลา**
**ขอบเขตของโครงการวิจัย**

ทำการสำรวจชนิดและปริมาณประชากรของหนอนเจาะลำต้น หนอนชอนใบ แมลงวันทอง และหนอนแก้วส้ม ศัตรูธรรมชาติ ปัจจัยทางนิเวศวิทยาของแมลง ความสัมพันธ์กับปัจจัยสภาพแวดล้อม ตลอดช่วงการศึกษาความเสียหายที่เกิดจากการทำลายของแมลง ประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืช สารชีวภัณฑ์ สารน้ำมันและสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัดสภาพแปลง ในการป้องกันกำจัดหนอนเจาะลำต้น หนอนชอนใบ แมลงวันทอง และหนอนแก้วส้ม

**วิธีการดำเนินการวิจัย และสถานที่ทำการทดลอง/เก็บข้อมูล**

**1. ศึกษาประชากรหนอนเจาะลำต้นหนอนชอนใบ แมลงวันทอง หนอนแก้วส้ม และความเสียหายที่เกิดจากการทำลายของแมลง และความสัมพันธ์กับปัจจัยสภาพแวดล้อม**

**1.1 ศึกษาความเสียหายจากหนอนเจาะลำต้น**

การสำรวจความเสียหายจากหนอนเจาะลำต้นในสวนส้มจุกของเกษตรกรในจังหวัดสงขลา อายุ 8-10 ปี โดยการสุ่มเลือกสวน 3 สวน ในแต่ละสวนสุ่มต้นส้มจุกจำนวน 10 ต้น โดยมีขั้นตอนการดำเนินการดังนี้

1) สุ่มสำรวจต้นส้มจุกจำนวน 10 ต้น ในระยะที่พบการระบาด บันทึกข้อมูลความเสียหายโดยตรวจนับจำนวนรูเจาะ ที่เกิดจากหนอนเจาะลำต้นสังเกตจากปากรูจะมีลักษณะเห็นเป็นขุยๆ มียางไหลเยิ้มออกมา และสำรวจศัตรูธรรมชาติที่พบสัปดาห์ละ 1 ครั้ง

2) บันทึกข้อมูลความเสียหายที่เกิดจากหนอนเจาะลำต้น ศัตรูธรรมชาติ ที่พบตลอดช่วงการศึกษา

3) บันทึกข้อมูลพื้นฐานทางนิเวศวิทยา เช่น อุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ ปริมาณน้ำฝน และความยาวนานของแสงเฉลี่ย ทุกสัปดาห์ ตลอดช่วงการศึกษา โดยใช้ข้อมูลจากสถานีตรวจอากาศในจังหวัดสงขลา นำข้อมูลที่ได้จากข้อ 2) มาวิเคราะห์หาสหสัมพันธ์กับปัจจัยแวดล้อม นำข้อมูลที่ได้วิเคราะห์หาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) และ ค่านัยสำคัญทางสถิติ (p) ระหว่างประชากรแมลงวันทองกับปัจจัยต่างๆ ตามวิธีการของเพียร์สัน (Pearson’s method) ด้วยโปรแกรม SPSS Version 16 โดยมีเกณฑ์การพิจารณา ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R)และระดับความสัมพันธ์

**1.2 ศึกษาประชากรหนอนชอนใบ**

การสำรวจปริมาณประชากรหนอนชอนใบในสวนส้มจุกของเกษตรกร ในจังหวัดสงขลา อายุ 8-10 ปี โดยการสุ่มเลือกสวน 3 สวน สำรวจหนอนชอนใบส้มในระยะแตกใบอ่อน โดยสุ่มต้นละ 4 ทิศ ทิศละ 3 ยอด จำนวน 10 ต้น/สวน โดยมีขั้นตอนการดำเนินการดังนี้

1) สุ่มสำรวจต้นส้มจุกจำนวน 10 ต้น ในระยะที่พบการระบาด ตรวจนับหนอนชอนใบศัตรูธรรมชาติที่พบและความเสียหายที่เกิดจากการทำลายทุกๆ สัปดาห์

2) ทำการบันทึกข้อมูลประชากรหนอนชอนใบ ศัตรูธรรมชาติ และความเสียหายที่พบตลอดช่วงการศึกษา

3) บันทึกข้อมูลพื้นฐานทางนิเวศวิทยา เช่น อุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ ปริมาณน้ำฝน และความยาวนานของแสงเฉลี่ยทุกสัปดาห์ ตลอดช่วงการศึกษา โดยใช้ข้อมูลจากสถานีตรวจอากาศ ในจังหวัดสงขลา นำข้อมูลที่ได้จากข้อ 2) มาวิเคราะห์หาสหสัมพันธ์กับปัจจัยแวดล้อม นำข้อมูลที่ได้วิเคราะห์หาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) และ ค่านัยสำคัญทางสถิติ (p) ระหว่างประชากรแมลงวันทอง

กับปัจจัยต่างๆ ตามวิธีการของเพียร์สัน (Pearson's method) ด้วยโปรแกรม SPSS Version 16 โดยมีเกณฑ์การพิจารณา ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R) และระดับความสัมพันธ์

**เกณฑ์ประเมินการทำลายของหนอนชอนใบ**

ระยะใบอ่อน ดูการทำลายโดยประเมินด้วยสายตาดังนี้

- พบร่องรอยการทำลายเต็มพื้นที่ใบทั้งหมดคิดเป็นเปอร์เซ็นต์การทำลาย =100
- พบร่องรอยการทำลายเต็มพื้นที่ใบ 3 ใน 4 คิดเป็นเปอร์เซ็นต์การทำลาย= 75
- พบร่องรอยการทำลายเต็มพื้นที่ใบ 1 ใน 2 คิดเป็นเปอร์เซ็นต์การทำลาย= 50
- พบร่องรอยการทำลายเต็มพื้นที่ใบ 1 ใน 4 คิดเป็นเปอร์เซ็นต์การทำลาย=25

4) จากข้อมูลการสำรวจปริมาณประชากรหนอนชอนใบ ในข้อ 1นำข้อมูลที่ได้วิเคราะห์หาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) และ ค่านัยสำคัญทางสถิติ (p) ระหว่างประชากรหนอนชอนใบกับปัจจัยสภาพอากาศในข้อ 3 ตามวิธีการของเพียสัน (Pearson's method) ด้วยโปรแกรม SPSS Version 16 โดยมีเกณฑ์การพิจารณาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) และระดับความสัมพันธ์ ดังนี้

| ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) | ระดับของความสัมพันธ์ |
|---|---|
| 0.90 - 1.00 | มีความสัมพันธ์กันสูงมาก |
| 0.70 - 0.90 | มีความสัมพันธ์กันในระดับสูง |
| 0.50 - 0.70 | มีความสัมพันธ์กันในระดับปานกลาง |
| 0.30 -0.50 | มีความสัมพันธ์กันในระดับต่ำ |
| 0.00 -0.30 | มีความสัมพันธ์กันในระดับต่ำมาก |

สำหรับ เครื่องหมาย + , - หน้าตัวเลขสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ จะบอกถึงทิศทางของความสัมพันธ์ โดยที่หาก

| | |
|---|---|
| r มีเครื่องหมาย + | หมายถึง การมีความสัมพันธ์กันไปในทิศทางเดียวกัน (ตัวแปรหนึ่งมีค่าสูง อีกตัวหนึ่งจะมีค่าสูงไปด้วย) |
| r มีเครื่องหมาย - | หมายถึง การมีความสัมพันธ์กันไปในทิศทางตรงกันข้าม(ตัวแปรหนึ่งมีค่าสูง ตัวแปรอีกตัวหนึ่งจะมีค่าต่ำ) |

**1.3 ศึกษาประชากรแมลงวันทอง**

โดยการสุ่มเลือกสวนส้มจุก อายุประมาณ 8-10 ปี จำนวน 3 สวนสุ่มต้นส้มจุก 10 ต้นต่อสวน วางกับดักสารล่อเมทธิลยูจีนอลผสมสารคลอร์ไพริฟอส จำนวน 1 อันต่อต้น ในบริเวณทรงพุ่มของต้นที่ทำการสุ่มโดยมีขั้นตอนการดำเนินการดังนี้

1) ใช้ป้ายพลาสติกผูกคล้องดอกที่ทำการสุ่มศึกษา 10 ดอกต่อต้น บันทึกการพัฒนาในระยะออกดอก ผล และ อัตราการทำลายของแมลงวันทอง

2) ตรวจสอบชนิดและปริมาณแมลงวันทองในกับดักสารล่อในแต่ละต้น บันทึกข้อมูลแมลงวันทอง ศัตรูธรรมชาติ และความเสียหายที่พบ

3) บันทึกข้อมูลปริมาณแมลงวันผลไม้ที่พบ ระดับความเสียหาย (จำนวน 10 ผลต่อต้น) พิจารณาโดยการกำหนดระดับความเสียหายของผลผลิตเป็น 4 ระดับ คือ

ระดับ 0 % หมายถึง ไม่มีตำหนิ

ระดับ 5 % หมายถึง มีตำหนิร้อยละ 5 ของผล

ระดับ 10 % หมายถึง มีตำหนิร้อยละ 10 ของผล

ระดับ 15 % หมายถึง มีตำหนิร้อยละ 15 ของผล

4) บันทึกข้อมูลพื้นฐานทางนิเวศวิทยา เช่น อุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ ปริมาณน้ำฝน และความยาวนานของแสงเฉลี่ย ทุกสัปดาห์ ตลอดช่วงการศึกษาโดยใช้ข้อมูลจากสถานีตรวจอากาศ ในจังหวัดสงขลา นำข้อมูลที่ได้จากข้อ 2) มาวิเคราะห์หาสหสัมพันธ์กับปัจจัยแวดล้อม นำข้อมูลที่ได้วิเคราะห์หาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) และ ค่านัยสำคัญทางสถิติ (p) ระหว่างประชากรแมลงวันทองกับปัจจัยต่างๆ ตามวิธีการของเพียร์สัน(Pearson's method) ด้วยโปรแกรม SPSS Version 16โดยมีเกณฑ์การพิจารณา ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R) และระดับความสัมพันธ์ ดังนี้

| **ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R)** | **ระดับของความสัมพันธ์** |
|---|---|
| 0.90 - 1.00 | มีความสัมพันธ์กันสูงมาก |
| 0.70 - 0.90 | มีความสัมพันธ์กันในระดับสูง |
| 0.50 - 0.70 | มีความสัมพันธ์กันในระดับปานกลาง |
| 0.30 -0.50 | มีความสัมพันธ์กันในระดับต่ำ |
| 0.00 -0.30 | มีความสัมพันธ์กันในระดับต่ำมาก |

สำหรับ เครื่องหมาย +,- หน้าตัวเลขสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ จะบอกถึงทิศทางของความสัมพันธ์ โดยที่หาก

R มีเครื่องหมาย + หมายถึง การมีความสัมพันธ์กันไปในทิศทางเดียวกัน (ตัวแปรหนึ่งมีค่าสูง อีกตัวหนึ่งจะมีค่าสูงไปด้วย)

R มีเครื่องหมาย - หมายถึง การมีความสัมพันธ์กันไปในทิศทางตรงกันข้าม (ตัวแปรหนึ่งมีค่าสูง ตัวแปรอีกตัวหนึ่งจะมีค่าต่ำ)

**1.4 ศึกษาประชากรหนอนแก้วส้ม**

การสำรวจปริมาณประชากรหนอนแก้วส้มในสวนส้มจุกของเกษตรกร อายุ 8-10 ปี ในจังหวัดสงขลา โดยการสุ่มเลือกสวน 3 สวน สำรวจหนอนหนอนแก้วส้มช่วงแตกใบอ่อน โดยสุ่มต้นละ 4 ทิศ ทิศละ 3 ยอด จำนวน 10 ต้น/สวน โดยมีขั้นตอนการดำเนินการดังนี้

1) สุ่มสำรวจหนอนแก้วส้มในระยะที่พบการระบาด ตรวจนับหนอนหนอนแก้วส้ม ศัตรูธรรมชาติที่พบและความเสียหายที่เกิดจากการทำลายสัปดาห์ละ 1 ครั้ง

2) ทำการบันทึกข้อมูลประชากรหนอนแก้วส้มศัตรูธรรมชาติ และความเสียหายที่พบตลอดช่วงการศึกษา

3) บันทึกข้อมูลพื้นฐานทางนิเวศวิทยา เช่น อุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ ปริมาณน้ำฝน และความยาวนานของแสงเฉลี่ยทุกสัปดาห์ ตลอดช่วงการศึกษา โดยใช้ข้อมูลจากสถานีตรวจอากาศ ในจังหวัดสงขลา นำข้อมูลที่ได้จากข้อ 2) มาวิเคราะห์หาสหสัมพันธ์กับปัจจัยแวดล้อม นำข้อมูลที่ได้วิเคราะห์หาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) และ ค่านัยสำคัญทางสถิติ (p) ระหว่างประชากรแมลงวันทองกับปัจจัยต่างๆ ตามวิธีการของเพียร์สัน(Pearson's method) ด้วยโปรแกรม SPSS Version 16โดยมีเกณฑ์การพิจารณา ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R)และระดับความสัมพันธ์

**เกณฑ์ประเมินการทำลายของหนอนแก้วส้ม**

- ระยะใบอ่อน ดูการทำลายโดยประเมินด้วยสายตาดังนี้
- พบรอยกัดกินเต็มพื้นที่ใบทั้งหมดคิดเป็นเปอร์เซ็นต์การทำลาย =100
- พบรอยกัดกินเต็มพื้นที่ใบ 3 ใน 4 คิดเป็นเปอร์เซ็นต์การทำลาย= 75
- พบรอยกัดกินเต็มพื้นที่ใบ 1 ใน 2 คิดเป็นเปอร์เซ็นต์การทำลาย= 50
- พบรอยกัดกินเต็มพื้นที่ใบ 1 ใน 4 คิดเป็นเปอร์เซ็นต์การทำลาย=25

4) จากข้อมูลการสำรวจประชากรหนอนแก้วส้มในข้อ 1นำข้อมูลที่ได้วิเคราะห์หาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) และ ค่านัยสำคัญทางสถิติ (p) ระหว่างประชากรหนอนแก้วส้มกับปัจจัยสภาพอากาศ ในข้อ 3 ตามวิธีการของเพียร์สัน (Pearson's method) ด้วยโปรแกรม SPSS Version 16 โดยมีเกณฑ์การพิจารณาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) และระดับความสัมพันธ์ ดังนี้

| ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) | ระดับของความสัมพันธ์ |
|---|---|
| 0.90 - 1.00 | มีความสัมพันธ์กันสูงมาก |
| 0.70 - 0.90 | มีความสัมพันธ์กันในระดับสูง |
| 0.50 - 0.70 | มีความสัมพันธ์กันในระดับปานกลาง |
| 0.30 -0.50 | มีความสัมพันธ์กันในระดับต่ำ |
| 0.00 -0.30 | มีความสัมพันธ์กันในระดับต่ำมาก |

สำหรับ เครื่องหมาย +, - หน้าตัวเลขสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ จะบอกถึงทิศทางของความสัมพันธ์ โดยที่หาก

| | |
|---|---|
| r มีเครื่องหมาย + | หมายถึง การมีความสัมพันธ์กันไปในทิศทางเดียวกัน (ตัวแปรหนึ่งมีค่าสูง อีกตัวหนึ่งจะมีค่าสูงไปด้วย) |
| r มีเครื่องหมาย - | หมายถึง การมีความสัมพันธ์กันไปในทิศทางตรงกันข้าม (ตัวแปรหนึ่งมีค่าสูง ตัวแปรอีกตัวหนึ่งจะมีค่าต่ำ) |

**2. ศึกษาประสิทธิภาพของกรรมวิธีในการป้องกันกำจัด หนอนเจาะลำต้น หนอนชอนใบ แมลงวันทอง และหนอนแก้วส้ม ในสภาพสวนสาธิต**

**2.1 ประสิทธิภาพของกรรมวิธีในการป้องกันกำจัดหนอนเจาะลำต้นในสภาพสวนสาธิต**

1) ดำเนินการศึกษาในสวนส้มจุกของเกษตรกรอายุ 8-10 ปี ในจังหวัดสงขลาที่มีขนาดต้นและความสมบูรณ์สม่ำเสมอกัน วางแผนการทดลอง แบบ RCB มี 5 กรรมวิธี 4 ซ้ำ (4 ต้นต่อกรรมวิธี ใช้ 1 ต้นต่อซ้ำ) โดยกำหนดกรรมวิธีต่างๆ ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ไดคลอร์วอส50% อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร แล้วอุดรูด้วยดินน้ำมัน
กรรมวิธีที่ 2 บาซิลลัส ทูริงเจนซิสอัตรา 80 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 3 คลอไพริฟอส อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 4 น้ำมันเบนซิน อัตรา 3-5 มิลลิลิตร
กรรมวิธีที่ 5 ชุดควบคุม (ไม่ใช้สาร)

กรรมวิธีที่ 1 ถึง กรรมวิธีที่ 4 ฉีดสารเข้าไปในรูเจาะที่เกิดจากหนอนเจาะลำต้นแล้วอุดรูด้วยดินน้ำมัน บันทึกข้อมูลความเสียหายที่เกิดจากหนอนเจาะลำต้น

2) นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ความแปรปรวนและเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยในแต่ละกรรมวิธี โดยวิธี DMRT และคำนวณประสิทธิภาพของกรรมวิธีหลังการใช้สารครั้งสุดท้ายโดยใช้สูตรประสิทธิภาพของสารหลังฉีดพ่นครั้งสุดท้าย (%) =

$$\frac{C_2T_1-C_1T_2}{C_2T_1} \times 100$$ (Handerson and Tilton, 1995)

$C_1$ และ $C_2$ความเสียหายก่อนและหลังการใช้สารครั้งสุดท้ายในแปลงที่ไม่มีการใช้สารฆ่าแมลง (ชุดควบคุม)

$T_1$ และ $T_2$ ความเสียหายก่อนและหลังการใช้สารครั้งสุดท้ายในแปลงที่มีการใช้สารฆ่าแมลง

3) บันทึกข้อมูลอุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ และปริมาณน้ำฝน ตลอดช่วงการศึกษา

**2.2 ประสิทธิภาพของกรรมวิธีในการป้องกันกำจัดหนอนชอนใบในสภาพสวนสาธิต**

1) ดำเนินการศึกษาในสวนส้มจุกของเกษตรกรอายุ 8-10 ปี ในจังหวัดสงขลาที่มีขนาดต้นและความสมบูรณ์สม่ำเสมอกัน วางแผนการทดลอง แบบ RCB มี 6กรรมวิธี 4 ซ้ำ (4 ต้นต่อกรรมวิธี ใช้ 1 ต้นต่อซ้ำ) ก่อนฉีดพ่นสารฆ่าแมลง ตรวจนับจำนวนยอดอ่อนส้ม (มีใบอ่อนอย่างน้อย 4 ใบต่อยอด) บันทึกจำนวนยอดในแต่ละต้น และตรวจสอบการทำลายของหนอนชอนใบส้ม โดยติดป้ายพลาสติกสีแดงสำหรับยอดส้มที่ถูกทำลายโดยกำหนดกรรมวิธีต่างๆ ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 สารสกัดจากเมล็ดสะเดาไทย aza 0.1% ความเข้มข้น 5 มิลลิลิตร/ลิตร
กรรมวิธีที่ 2 ยาสูบ อัตรา 600 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 3 น้ำมันปิโตรเลียม 83.9%EC ความเข้มข้น 2.50 มิลลิลิตร/ลิตร
กรรมวิธีที่ 4 อิมิดาโคลปิด 10% SCความเข้มข้น 0.4 มิลลิลิตร/ลิตร
กรรมวิธีที่ 5 ไซฟลูธริน 5% EC ความเข้มข้น 0.25 มิลลิลิตร/ลิตร
กรรมวิธีที่ 6 ชุดควบคุม (ไม่ใช้สาร)

2) เมื่อพบใบอ่อนถูกทำลายเกิน 20%ทำฉีดพ่นสารทุกสัปดาห์(ฉีดพ่นจำนวน3 ครั้ง) บันทึกจำนวนความเสียหายที่พบหลังใช้สารทุก 7 วันในแต่ละกรรมวิธีระดับความเสียหายของใบ โดยสุ่มต้นละ 4 ทิศ ทิศละ 3 ยอด จำนวน 10 ต้น/สวน พิจารณาโดยการประเมินด้วยสายตาและกำหนดระดับความเสียหายตามรอยตำหนิที่พบ ดังนี้

- ระยะใบอ่อน ดูการทำลายโดยประเมินด้วยสายตาดังนี้
- พบรอยกัดกินเต็มพื้นที่ใบทั้งหมดคิดเป็นเปอร์เซ็นต์การทำลาย =100
- พบรอยกัดกินเต็มพื้นที่ใบ 3 ใน 4 คิดเป็นเปอร์เซ็นต์การทำลาย= 75
- พบรอยกัดกินเต็มพื้นที่ใบ 1 ใน 2 คิดเป็นเปอร์เซ็นต์การทำลาย= 50
- พบรอยกัดกินเต็มพื้นที่ใบ 1 ใน 4 คิดเป็นเปอร์เซ็นต์การทำลาย=25

3) นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ความแปรปรวนและเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยในแต่ละกรรมวิธี โดยวิธี DMRTและคำนวณประสิทธิภาพของกรรมวิธีหลังการใช้สารครั้งสุดท้ายโดยใช้สูตร

ประสิทธิภาพของสารหลังฉีดพ่นครั้งสุดท้าย (%) = $\frac{C_2T_1-C_1T_2}{C_2T_1} \times 100$ (Handerson and Tilton, 1995)

$C_1$ และ $C_2$ความเสียหายก่อนและหลังการใช้สารครั้งสุดท้ายในแปลงที่ไม่มีการใช้สารฆ่าแมลง (ชุดควบคุม)

$T_1$ และ $T_2$ ความเสียหายก่อนและหลังการใช้สารครั้งสุดท้ายในแปลงที่มีการใช้สารฆ่าแมลง

4) บันทึกข้อมูลอุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ และปริมาณน้ำฝน ตลอดช่วงการศึกษา

**2.3 ประสิทธิภาพของกรรมวิธีในการป้องกันกำจัดแมลงวันทองในสภาพสวนสาธิต**

1) ดำเนินการศึกษาในสวนส้มจุกของเกษตรกรให้ผลผลิตแล้วอายุ 8-10 ปี ในจังหวัดสงขลาที่มีขนาดต้นและความสมบูรณ์สม่ำเสมอกัน โดยสุ่มเลือกต้นส้มจุกในระยะออกดอก ผลอ่อน (เมื่อพบแมลงวันทองระบาดมากกว่า 1ตัวต่อกับดัก) วางแผนการทดลอง แบบ RCB มี 7กรรมวิธี 4 ซ้ำ (4 ต้นต่อกรรมวิธี ใช้ 1 ต้นต่อซ้ำ) โดยกำหนดกรรมวิธีต่างๆ ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 สารสกัดจากข่า อัตรา 50-70 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 2 สารสกัดจากเมล็ดสะเดาไทย aza 0.5% อัตรา100มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 3 ปิโตรเลียมออยล์( 83.9% EC ) อัตรา 50-100 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 4 อะบาเมกติน 1.8%EC อัตรา 15-20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 5 คาร์โบซันแฟน 20% EC อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 6 อิมิดาโคลปิด 10% SC อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 7 ชุดควบคุม (ไม่ใช้สาร)

2) ดำเนินการฉีดพ่นหรือใช้สารต่างๆ ตามกรรมวิธีที่กำหนดตั้งแต่ระยะออกดอกทุก 7 วัน จนถึงระยะเก็บเกี่ยว (กรรมวิธีที่ 1-6)

3) บันทึกข้อมูลปริมาณแมลงวันทองที่พบ ระดับความเสียหาย คุณภาพผลตามมาตรฐานและผลผลิตหลังการเก็บเกี่ยวดังนี้

3.1) คุณภาพทางกายภาพ ได้แก่ ขนาดผลวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางผล เส้นรอบวง น้ำหนักผล และความหนาเปลือก โดยใช้เครื่องชั่งและเวอร์เนียระดับความเสียหายของผลผลิต (จำนวน 5 ผลต่อต้น) พิจารณาโดยดูจากร่องรอยการทำลายจากแมลง โดยการนับจำนวนรอยจุดบนผิวผล (จุดต่อผล)

3.2) บันทึกข้อมูลปริมาณแมลงวันผลไม้ที่พบ จำนวนหนอนที่ตาย ระดับความเสียหาย ระดับความเสียหายของผลผลิต (จำนวน 10 ผลต่อต้น) พิจารณาโดยการกำหนดระดับความเสียหายของผลผลิตเป็น 4 ระดับ คือ

ระดับ 0 % หมายถึง ไม่มีตำหนิ
ระดับ 5 % หมายถึง มีตำหนิร้อยละ 5 ของผล
ระดับ 10 % หมายถึง มีตำหนิร้อยละ 10 ของผล
ระดับ 15 % หมายถึง มีตำหนิร้อยละ 15 ของผล

3.3) นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ความแปรปรวนและเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยในแต่ละกรรมวิธี โดยวิธี DMRT

3.4) บันทึกอุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ ปริมาณน้ำฝน และความยาวนานของแสง เฉลี่ยและศัตรูธรรมชาติที่พบ ตลอดช่วงการศึกษา

**2.4 ประสิทธิภาพของกรรมวิธีในการป้องกันกำจัดหนอนแก้วส้มในสภาพสวนสาธิต**

1) ดำเนินการศึกษาในสวนส้มจุก อายุประมาณ 8-10 ปี ในจังหวัดสงขลา ที่มีขนาดต้นและความสมบูรณ์สม่ำเสมอกัน วางแผนการทดลอง แบบ RCB มี 6 กรรมวิธี 4 ซ้ำ (4 ต้นต่อกรรมวิธี 1 ต้น ต่อซ้ำ) โดยกำหนดกรรมวิธีต่างๆ ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 สารสกัดจากเมล็ดสะเดาไทย aza 0.5% อัตรา100 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 2 บาซิลลัส ทูริงเจนซิสอัตรา 80 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 3 อิมิดาโคลปิด 10 % SL. อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 4 คาร์บาริล 85% WP อัตรา 60 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 5 หางไหล อัตรา 200 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร (1%)
กรรมวิธีที่ 6 แปลงเปรียบเทียบ (ไม่ใช้สาร)

**หมายเหตุ**กรรมวิธีที่ 1-6 ผสมสารจับใบ 3 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 20 ลิตร

2) เมื่อพบใบอ่อนถูกทำลายเกิน 20%ทำการฉีดพ่นทุกสัปดาห์(ฉีดพ่นจำนวน3 ครั้ง) บันทึกจำนวนความเสียหายที่พบหลังใช้สารทุก 7 วันในแต่ละกรรมวิธีระดับความเสียหายของใบ โดยสุ่มต้นละ 4 ทิศ ทิศละ 3 ยอด จำนวน 10 ต้น/สวน พิจารณาโดยการประเมินด้วยสายตาและกำหนดระดับความเสียหายตามรอยตำหนิที่พบ ดังนี้

- ระยะใบอ่อน ดูการทำลายโดยประเมินด้วยสายตาดังนี้
- พบรอยกัดกินเต็มพื้นที่ใบทั้งหมดคิดเป็นเปอร์เซ็นต์การทำลาย =100
- พบรอยกัดกินเต็มพื้นที่ใบ 3 ใน 4 คิดเป็นเปอร์เซ็นต์การทำลาย= 75
- พบรอยกัดกินเต็มพื้นที่ใบ 1 ใน 2 คิดเป็นเปอร์เซ็นต์การทำลาย= 50
- พบรอยกัดกินเต็มพื้นที่ใบ 1 ใน 4 คิดเป็นเปอร์เซ็นต์การทำลาย=25

3) นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ความแปรปรวนและเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยในแต่ละกรรมวิธี โดยวิธี DMRTและคำนวณประสิทธิภาพของกรรมวิธีหลังการใช้สารครั้งสุดท้ายโดยใช้สูตรประสิทธิภาพของสารหลังฉีดพ่นครั้งสุดท้าย (%) =

$$\frac{C_2T_1 - C_1T_2}{C_2T_1} \times 100$$ (Handerson and Tilton, 1995)

$C_1$ และ $C_2$ความเสียหายก่อนและหลังการใช้สารครั้งสุดท้ายในแปลงที่ไม่มีการใช้สารฆ่าแมลง (ชุดควบคุม)

$T_1$ และ $T_2$ ความเสียหายก่อนและหลังการใช้สารครั้งสุดท้ายในแปลงที่มีการใช้สารฆ่าแมลง

4) บันทึกข้อมูลอุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ และปริมาณน้ำฝน ตลอดช่วงการศึกษา

**2.3 โครงการย่อยที่ 3 การเจริญเติบโตและการพัฒนาของผลส้มจุกที่เหมาะสมต่อการเก็บเกี่ยวภายใต้สภาพภูมิอากาศที่แตกต่างกัน**

**ขอบเขตของโครงการวิจัย**

1. วิจัยและทดลองการเจริญเติบโตและการพัฒนาของผลส้มจุกในระยะที่เหมาะสมต่อการเก็บเกี่ยว ในระยะเดือนที่ 5, 6, 7, 8 และ 9 เก็บข้อมูลด้านน้ำหนักผล, น้ำหนักเปลือก, น้ำหนักเนื้อ, เส้นรอบวง เส้นผ่าศูนย์กลาง และความหนาของเปลือก

2. ศึกษาการเจริญเติบโตและการพัฒนาของผลคุณภาพของผลส้มจุกภายใต้สภาพภูมิอากาศที่แตกต่างกัน ทำการทดลองในช่วงระยะเวลาการออกดอกติดผล และเก็บเกี่ยวผลผลิต 2 ช่วง (ต้นปีและกลางปี)

3. วิจัยและทดลองคุณภาพของผลในระยะเดือนที่ 5, 6, 7, 8 และ 9 เช่น TSS, TA ของผลในระยะต่างๆ ของส้มจุก เพื่อนำมากำหนดระยะเวลาการเก็บเกี่ยวผลที่เหมาะสมต่อไป

**วิธีการดำเนินการวิจัย และสถานที่ทำการทดลอง/เก็บข้อมูล**

การศึกษาการเจริญเติบโตและการพัฒนาของผลภายใต้สภาพแวดล้อมที่แตกต่างกัน วางแผนการทดลองแบบ Factorial in Completely Randomized Design (CRD) ประกอบด้วย 2 ปัจจัย ดังนี้

1) การเจริญเติบโตและการพัฒนาของผล 5 ระยะ (5, 6, 7, 8 และ 9 เดือน)

2) ช่วงการออกดอก ติดผล และเก็บเกี่ยวผลผลิต 2 ช่วง คือ ต้นปีและกลางปี ทำการทดลองจำนวน 5 ซ้ำ มีสิ่งทดลองทั้งหมด 10 สิ่งทดลอง ดังนี้

**<u>ต้นปี</u>**

1. เก็บเกี่ยวเมื่อผลมีอายุ 5 เดือน
2. เก็บเกี่ยวเมื่อผลมีอายุ 6 เดือน
3. เก็บเกี่ยวเมื่อผลมีอายุ 7 เดือน
4. เก็บเกี่ยวเมื่อผลมีอายุ 8 เดือน
5. เก็บเกี่ยวเมื่อผลมีอายุ 9 เดือน

**<u>กลางปี</u>**

1. เก็บเกี่ยวเมื่อผลมีอายุ 5 เดือน
2. เก็บเกี่ยวเมื่อผลมีอายุ 6 เดือน
3. เก็บเกี่ยวเมื่อผลมีอายุ 7 เดือน
4. เก็บเกี่ยวเมื่อผลมีอายุ 8 เดือน
5. เก็บเกี่ยวเมื่อผลมีอายุ 9 เดือน

การเก็บข้อมูลและวิเคราะห์คุณภาพของผลและบันทึกการเจริญเติบโตของผล ทำทดลองเป็นระยะเวลา 2 ปี ดังนี้

1. การพัฒนาของผลที่เก็บผลที่อายุ 5, 6, 7, 8 และ 9 เดือน
   1.1 น้ำหนักผล (กรัม)
   1.2 น้ำหนักเปลือก (กรัม)

1.3 น้ำหนักเนื้อ (กรัม)

1.4 เส้นรอบวง (ซม.)

1.5 เส้นผ่าศูนย์กลาง (ซม.)

1.6 ความหนาของเปลือก (ซม.)

2. คุณภาพของผลที่เก็บผลที่อายุ 5, 6, 7, 8 และ 9 เดือน

2.1 ของแข็งที่ละลายน้ำได้ (TSS)

2.2 เปอร์เซ็นต์กรดที่ไตรเตรทได้ (% TA)

3. สภาพแวดล้อมในระหว่างการทดลอง เช่น ปริมาณแสงภายในทรงพุ่ม ปริมาณน้ำฝน ค่าการระเหยของน้ำ ฯลฯ

การวิเคราะห์ข้อมูลตามแผนการทดลอง Factorial in CRD และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT โดยใช้โปรแกรม R

**2.4 โครงการย่อยที่ 4 การจัดการธาตุอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและคุณภาพผลผลิตของส้มจุก**

**ขอบเขตของโครงการวิจัย**

การวิจัยนี้เป็นการศึกษาผลของการจัดการธาตุอาหารพืชที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและคุณภาพผลผลิตของส้มจุกในสภาพสวนของเกษตรกรที่สมัครใจเข้าร่วมโครงการโดยการใส่ปุ๋ยทางดินให้กับต้นส้มจุกที่ให้ผลผลิตแล้ว ทำการคัดเลือกสวนส้มจุกที่ต้นมีความสมบรูณ์ใกล้เคียงกัน มีการปฏิบัติดูแลรักษาที่เหมาะสมทั้งด้านการจัดการดิน การจัดการธาตุอาหาร การจัดการน้ำ การจัดการพืช (การตัดแต่งกิ่ง และ ทรงพุ่ม) การจัดการด้านโรคและแมลง รวมถึงการจัดการหลังการเก็บเกี่ยว เพื่อให้ได้ผลผลิตที่มีคุณภาพ สำหรับปุ๋ยที่นำมาใช้ทำการทดลอง คือ ปุ๋ยอินทรีย์ (ปุ๋ยคอก) ปุ๋ยอินทรีย์การค้า และปุ๋ยเคมี องค์ความรู้ที่ได้จากการวิจัยสามารถนำมาใช้เป็นแนวทางพัฒนาการจัดการสวนโดยเผยแพร่ให้แก่เกษตรกรผู้ปลูกส้มจุกนำไปปรับใช้ในการผลิตส้มจุก เป็นการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตส้มจุกตลอดจนการจัดการทรัพยากรดินและพืชอย่างยั่งยืน

**การดำเนินงานวิจัยและสถานที่ทำการทดลอง/เก็บข้อมูล**

**1. การวางแผนการทดลอง**

คัดเลือกสวนส้มจุกของเกษตรกรที่สมัครใจ (farmer candidate) เพื่อเข้าร่วมวิจัย โดยเลือกจากสวนที่ต้นส้มจุกมีอายุประมาณ 5-7 ปี และมีความสมบรูณ์ต้นใกล้เคียงกัน มีการปฏิบัติดูแลรักษาที่เหมาะสมทั้งด้านการจัดการดิน การจัดการธาตุอาหาร การจัดการน้ำ การจัดการพืช (การตัดแต่งกิ่ง และ ทรงพุ่ม) การจัดการด้านโรคและแมลง รวมถึงการจัดการหลังการเก็บเกี่ยว

เตรียมต้นสำหรับการทดลอง โดยตัดแต่งกิ่งหลังเก็บเกี่ยวผลผลิต วางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกอย่างสมบูรณ์ (Randomized Complete Block Design : RCBD) มี 5 ซ้ำๆ ละ 1 ต้น ประกอบด้วย 5 สิ่งทดลอง ดังนี้

(1) สิ่งทดลองที่ 1 (T1) : ใช้ปุ๋ยตามวิธีการของเกษตรกร
(2) สิ่งทดลองที่ 2 (T2) : ใช้ปุ๋ยครึ่งหนึ่งของวิธีการของเกษตรกร
(3) สิ่งทดลองที่ 3 (T3) : ใช้ปุ๋ยตามค่าการวิเคราะห์ดิน
(4) สิ่งทดลองที่ 4 (T4) : ใช้ปุ๋ยอินทรีย์ (ปุ๋ยคอก) 50 กก./ต้น
(5) สิ่งทดลองที่ 5 (T5) : ใช้ปุ๋ยอินทรีย์การค้า 50 กก./ต้น

**2. การเก็บตัวอย่าง การวิเคราะห์ตัวอย่าง และ การบันทึกข้อมูล**

2.1 ตัวอย่างดิน

เก็บดินบริเวณที่ใส่ปุ๋ยใต้กิ่งกลางทรงพุ่มของส้มจุกต้นละ 4 จุด แล้วนำดินมาคลุกรวมกันเพื่อเป็นตัวแทนของดิน (composite sample) 1 ตัวอย่าง โดยเก็บดินที่ระดับความลึก 2 ระดับ คือ ที่ความลึก 0–15 และ 15-30 เซนติเมตร เก็บตัวอย่างดิน 2 ครั้ง คือ ก่อนใส่ปุ๋ยครั้งแรกในรอบปีการผลิตและหลังเก็บเกี่ยวผลผลิตครั้งสุดท้ายในรอบปีการผลิต ตัวอย่างดินที่เก็บได้นำมาผึ่งในที่ร่มจนแห้งสนิท บดด้วยโกร่ง ร่อนผ่านตะแกรงขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2 มม. และนำไปวัดปฏิกิริยาดิน (pH) ด้วยเครื่องพีเอชมิเตอร์ (ดิน : น้ำ = 1 : 5) อินทรียวัตถุโดยวิธีวอล์คเลย์-แบลค (Walkley and Black method) ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (available phosphorus) วัดโดยสกัดดินด้วยน้ำยาสกัดเบรย์ทู (Bray II) นำไปปรับสีด้วยวิธีโมลิบดินัมบลู (molybdenum blue method) แล้ววัดค่าด้วยเครื่องวิสิ

เบิลสเปกโทรโฟโทมิเตอร์ โพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ (exchangeable potassium) วัดโดยสกัดดินด้วยสารละลายแอมโมเนียมอะซีเทต (ammonium acetate) พีเอช 7 นำไปวัดด้วยเครื่องเฟลมโฟโทมิเตอร์ แคลเซียม และแมกนีเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ (exchangeable calcium and magnesium) วัดด้วยเครื่องอะตอมมิกแอบซอบชันสเปกโทรโฟโทมิเตอร์ (จำเป็น, 2547)

2.2 ตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยอินทรีย์การค้า

นำตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยอินทรีย์การค้าที่ใช้ในการวิจัยมาผึ่งในที่ร่มจนแห้งสนิท บดด้วยโกร่ง ร่อนผ่านตะแกรงขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2 มม. และนำไปวัดปฏิกิริยาดิน (pH) ด้วยเครื่องพีเอชมิเตอร์ (ดิน : น้ำ = 1 : 5) อินทรียวัตถุโดยวิธีวอล์คเลย์-แบลค (Walkley and Black method) ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (available phosphorus) วัดโดยสกัดดินด้วยน้ำยาสกัดเบรย์ทู (Bray II) นำไปปรับสีด้วยวิธีโมลิบดินัมบลู (molybdenum blue method)แล้ววัดค่าด้วยเครื่องวิสิเบิลสเปกโทรโฟโทมิเตอร์ โพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ (exchangeable potassium) วัดโดยสกัดดินด้วยสารละลายแอมโมเนียม อะซีเทต (ammonium acetate) พีเอช 7 นำไปวัดด้วยเครื่องเฟลมโฟโทมิเตอร์ แคลเซียม และแมกนีเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ (exchangeable calcium and magnesium) วัดด้วยเครื่องอะตอมมิกแอบซอบชันสเปกโทรโฟโทมิเตอร์ (จำเป็น, 2547)

2.3 ตัวอย่างใบส้มจุก

เก็บตัวอย่างใบส้มจุกเช่นเดียวกันพืชตระกูลส้มชนิดอื่นๆ โดยเก็บใบจากกิ่งที่อยู่นอกทรงพุ่ม เป็นกิ่งที่ไม่ติดผล และ ยังไม่มียอดอ่อนของใบชุดใหม่แตกออกมาให้เห็น ใบมีอายุ 3-4 เดือน ซึ่งเป็นระยะที่ส้มจุกพัฒนาเต็มที่ (fully mature leaf) ใบในระยะนี้จะมีสีเขียวผิวใบเป็นมัน หากเลยระยะนี้ไปแล้วผิวใบจะหยาบกระด้าง ส่วนใบที่มีอายุน้อยกว่านี้เป็นใบเพสลาดใบจะมีสีเขียวอ่อน บาง และ อ่อนนุ่ม เก็บใบที่อยู่ในตำแหน่งที่ 3 หรือ 4 นับจากปลายยอด โดยเก็บใบจาก 4 ทิศ คือ ทิศเหนือ ใต้ ตะวันออก และ ตะวันตก ของทรงพุ่มส้มจุก แยกเก็บตัวอย่างใบใน 3 ระดับความสูงของต้น คือ ระดับล่าง ระดับกลาง และ ระดับบนจากผิวดิน แล้วนำมารวมเป็น 1 ตัวอย่าง (สมศักดิ์, 2557; Embleton et. al., 1978; Change et. al., 1994; Reuter and Robinson. 1997; Obreza et. al., 1999; Kallsen, 2002) เก็บตัวอย่างใบ 3 ครั้ง คือ ก่อนใส่ปุ๋ย ระยะออกดอก และหลังเก็บเกี่ยวผลผลิต นำตัวอย่างใบที่เก็บได้ไปล้างด้วยน้ำสะอาด 3-4 ครั้งและล้างด้วยน้ำกลั่นอย่างน้อย 2 ครั้ง ซับน้ำให้แห้ง แล้วนำไปบรรจุในถึงกระดาษนำไปอบที่อุณหภูมิ 65-70 องศาเซลเซียส อย่างน้อย 48 ชั่วโมง หรือจนกระทั่งตัวอย่างแห้งมีน้ำหนักคงที่ นำตัวอย่างที่อบแห้งแล้วไปบดจนละเอียดโดยใช้เครื่องบดแบบ Hammer mill หรือ ใช้เครื่องบดอาหารแห้ง แล้วนำไปย่อยด้วยกรดซัลฟิวริก และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ จากนั้นจึงนำไปวิเคราะห์ไนโตรเจนโดยวิธีการกลั่น วิเคราะห์ฟอสฟอรัสด้วยวิธีเยลโลโมลิบโดวาเนโดฟอสฟอริก (yellow molybdovanadophosphoric acid method) และนำไปวัดด้วยเครื่องวิสิเบิลสเปกโทรโฟโทมิเตอร์(visible spectrophotometer) วิเคราะห์โพแทสเซียมโดยนำไปวัดด้วยเครื่องเฟลมโฟโทมิเตอร์(flame photometer) สำหรับแคลเซียม และแมกนีเซียม วัดด้วยเครื่องอะตอมมิกแอบซอบชันสเปกโทรโฟโทมิเตอร์ (atomic absorption spectrophotometer) (จำเป็น, 2547)

2.4 การเจริญเติบโตของส้มจุก เก็บข้อมูล ดังนี้

1) การแตกใบชุดใหม่ ระยะเวลาแตกใบใหม่จนถึงใบแก่

2) ปริมาณใบใหม่ หรือ เปอร์เซ็นต์การแตกใบใหม่ต่อต้น

3) จำนวนชุดใบที่สร้างใหม่ก่อนการออกดอก

4) ความสมบูรณ์ของใบ (ขนาด : กว้าง x ยาว)

5) เปอร์เซ็นต์การออกดอก บันทึกเปอร์เซ็นต์การออกดอกของส้มจุก โดยแบ่งทรงพุ่มของต้นส้มจุกแต่ละต้นออกเป็น 4 ส่วน ๆ ละ 25 เปอร์เซ็นต์

2.5 ผลผลิตส้มจุก

เก็บผลส้มจุกที่มีอายุผลตั้งแต่ 6.5-7 เดือนหลังดอกบานซึ่งเป็นระยะที่เหมาะสมในการเก็บเกี่ยวผลส้มจุก (บุญชนะ และคณะ, 2557) โดยมุ่งเน้นผลผลิตช่วงฤดูกาลแรก (ส้มจุกออกดอกประมาณเดือนกุมภาพันธ์และเก็บผลผลิตประมาณเดือนสิงหาคม-กันยายน) มาวัดคุณภาพผลผลิต ดังนี้

1) ลักษณะทางกายภาพของผล ศึกษาและบันทึกข้อมูลการเปลี่ยนแปลงของผลในลักษณะต่างๆ คือ น้ำหนักผลสด เส้นผ่านศูนย์กลางของผล น้ำหนักเนื้อ น้ำหนักเปลือก และ ความหนาของเปลือก

2) ลักษณะทางเคมีของผล ผ่าตัวอย่างผลส้มจุกนำเนื้อมาคั้นน้ำแล้วกรองด้วยผ้าขาวบาง นำน้ำที่คั้นได้มาวัดปริมาตรน้ำคั้น ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (total soluble solid, TSS) โดยใช้รีแฟรคโทมิเตอร์ (hand refractometer) ปริมาณของกรดที่ไทเตรทได้ (titratable acidity, TA) โดยการไทเทรตด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ และคำนวณหาปริมาณของกรดในรูปเปอร์เซ็นต์กรดซิทริก ตามวิธีการของ Boland (1995) ดังนี้

กรดซิทริก (เปอร์เซ็นต์) = {(a x b) 0.064 x 100}/m

เมื่อ a = ปริมาตรของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ไทเตรท (มิลลิลิตร)

b = ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (โมลาร์)

m = ปริมาตรของน้ำคั้นที่นำมาวิเคราะห์ (มิลลิลิตร)

**2.5 โครงการย่อยที่ 5 การผลิตต้นส้มจุกที่ปลอดโรคด้วยเทคโนโลยีชีวภาพและแนวทางการอนุรักษ์พันธุ์ส้มจุก**

**ขอบเขตของโครงการวิจัย**

ทำการผลิตต้นส้มจุกที่ปลอดโรคด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเจริญส่วนยอด โดยศึกษาชนิดและระดับความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการผลิตต้นส้มจุกจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเจริญส่วนยอดและการเสียบยอดในหลอดทดลอง ศึกษาชนิดของอาหารที่เหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณยอด รวม ศึกษาระดับความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตและวิธีการที่เหมาะสมในการชักนำรากการอนุบาลต้นกล้าส้มจุก ตรวจสอบการปลอดเชื้อโรคที่สำคัญของต้นส้มจุกที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเจริญส่วยยอด ด้วยเทคนิค PCR/ELISA และทำการเก็บรักษาพันธุ์ส้มจุกทั้งในสภาพปลอดเชื้อและสภาพแปลง

**วิธีการดำเนินการวิจัย และสถานที่ทำการทดลอง/เก็บข้อมูล**

1. เก็บรวบรวมต้นพันธุ์และเมล็ดของพืชตระกูลส้ม

โดยทำการเก็บรวบรวมต้นพันธุ์ส้มจุก และเมล็ดจากการซื้อผลของพืชตระกูลส้มภายในพื้นที่ปลูกหรือแหล่งจำหน่ายเพื่อนำมาใช้ในการทดลอง

2. การเตรียมชิ้นส่วนพืชเพื่อใช้ในการทดลอง

โดยนำชิ้นส่วนยอดและเมล็ดของส้มจุกมาล้างด้วยน้ำสบู่ และฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 70% เป็นเวลา 30 วินาที จากนั้นล้างออกด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ตามด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรต์ความเข้มข้น 20% เติมสารจับใบ ทวีน-20 จำนวน 2 หยด/น้ำ 100 มิลลิลิตร เป็นเวลา 15 นาทีตามด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรต์ความเข้มข้น 10% เป็นเวลา 5 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ซึ่งขั้นตอนนี้ต้องทำภายในตู้ย้ายเลี้ยง

3. การทดลอง

3.1 การผลิตโคลนต้นส้มจุกที่ปลอดโรคจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเจริญส่วนยอด

การทดลองที่ 3.1.1 ศึกษาชนิดและระดับความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการผลิตต้นส้มจุกที่ปราศจากโรค จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเจริญส่วนยอด

นำปลายยอดมาตัดแต่งเอาเฉพาะเนื้อเยื่อเจริญส่วนยอดมาวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม BAP/BA ร่วมกับ NAA/TU ความเข้มข้น 0-3 มิลลิกรัม/ลิตร เติมน้ำตาลซูโครส 3 เปอร์เซ็นต์ ปรับความเป็นกรดด่างเป็น 5.7 และวุ้น Agar-Agar 0.75 เปอร์เซ็นต์ นึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 1.05 กิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตร เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำไปวางเลี้ยงที่อุณหภูมิ 27±1 องศาเซลเซียส ให้แสง 14 ชั่วโมงต่อวัน ความเข้มแสง 25 ไมโครโมล/ตารางเมตร/วินาที เพื่อชักนำแคลลัส และการเกิดพืชต้นใหม่ ทำการย้ายเลี้ยงทุกเดือนเป็นเวลา 3 เดือน โดยบันทึกเปอร์เซ็นต์การสร้างแคลลัส ขนาดของแคลลัสและพืชต้นใหม่ เปรียบเทียบกันในแต่ชนิดและระดับความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต โดยวางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT) แต่ละสิ่งทดลองทำ 10 ซ้ำๆ ละ 1 ขวด (หนึ่งขวดเพาะเลี้ยง 1 ชิ้นส่วน) โดย

$$\text{เปอร์เซ็นต์การสร้างแคลลัส} = \frac{\text{จำนวนชิ้นส่วนพืชที่สร้างแคลลัส}}{\text{จำนวนชิ้นส่วนพืชทั้งหมดที่เพาะเลี้ยง}} \times 100$$

$$\text{เปอร์เซ็นต์การสร้างพืชต้นใหม่} = \frac{\text{จำนวนชิ้นส่วนพืชที่สร้างพืชต้นใหม่}}{\text{จำนวนชิ้นส่วนพืชทั้งหมดที่เพาะเลี้ยง}} \times 100$$

การทดลองที่ 3.1.2 ศึกษาการเสียบยอดบนต้นตอในหลอดทดลอง

นำเมล็ดมาตัดแต่งและวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต เติมน้ำตาลซูโครส 3 เปอร์เซ็นต์ ปรับความเป็นกรดด่างเป็น 5.7 และวุ้น Agar-Agar 0.75 เปอร์เซ็นต์ นึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 1.05 กิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตร เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำไปวางเลี้ยงที่อุณหภูมิ 27±1 องศาเซลเซียส ให้แสง 14 ชั่วโมงต่อวัน ความเข้มแสง 25 ไมโครโมล/ตารางเมตร/วินาที เพื่อชักนำต้นกล้า เมื่อต้นกล้ามีอายุ 1-3 เดือน จึงใช้เป็นต้นตอสำหรับการทดลอง โดยนำชิ้นส่วนยอดจากการศึกษาที่ 3.1.1 มาตัดแต่งแล้วเสียบบนต้นตอ บันทึกเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของยอดที่เสียบบนต้นตอ เปรียบเทียบกันในแต่ละอายุของต้นตอที่ใช้ในการเสียบยอด วางแผนการทดลองแบบ CRD เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT แต่ละสิ่งทดลองทำ 10 ซ้ำๆ ละ 1 ขวด (หนึ่งขวดเพาะเลี้ยง 1 ชิ้นส่วน)

การทดลองที่ 3.1.3 ศึกษาชนิดของอาหารที่เหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณยอดรวมของส้มจุกในหลอดทดลอง

นำชิ้นส่วนยอดมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ซึ่งแบ่งออกเป็น 3 ชนิดคือ อาหารแข็ง อาหารกึ่งแข็งกึ่งเหลว และอาหารเหลว เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ดีที่สุดจากการศึกษาที่ 3.1.1 จากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 27±1 องศาเซลเซียส ให้แสง 14 ชั่วโมงต่อวัน ความเข้มแสง 25 ไมโครโมล/ตารางเมตร/วินาที ย้ายเลี้ยงทุกเดือนเป็นเวลา 3 เดือน บันทึกเปอร์เซ็นต์สร้างยอดรวม จำนวนยอดต่อชิ้นส่วน เปรียบเทียบกันในแต่ชนิดของอาหาร โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT แต่ละสิ่งทดลองทำ 10 ซ้ำๆ ละ 1 ขวด (หนึ่งขวดเพาะเลี้ยง 1 ชิ้นส่วน)

การทดลองที่ 3.1.4 ศึกษาระดับความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตและวิธีการที่เหมาะสมในการชักนำรากของต้นส้มจุกในหลอดทดลอง

นำชิ้นส่วนยอดมาวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม NAA ความเข้มข้น 0-3 มิลลิกรัมต่อลิตร เติมและไม่เติมผงถ่าน 0.2% โดยวิธีการสร้างหรือไม่สร้างแผลจากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 27±1 องศาเซลเซียส ให้แสง 14 ชั่วโมงต่อวัน ความเข้มแสง 25 ไมโครโมล/ตารางเมตร/วินาที ย้ายเลี้ยงทุกเดือนเป็นเวลา 3 เดือน บันทึกการเพิ่มเปอร์เซ็นต์การเกิดราก จำนวนรากต่อชิ้นส่วน โดยวางแผนการทดลองแบบ Factorial in CRD เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT แต่ละสิ่งทดลองทำ 10 ซ้ำๆ ละ 1 ขวด (หนึ่งขวดเพาะเลี้ยง 1 ชิ้นส่วน)

3.2 การตรวจสอบการปลอดเชื้อของต้นส้มจุกที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเจริญส่วยยอดและการเสียบยอดในหลอดทดลองด้วยเทคนิค PCR/ELISA

เทคนิค PCR โดยการสกัดดีเอ็นเอจากเส้นกลางใบของส้มจุกที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเจริญส่วยยอด/การเสียบยอดในหลอดทดลองตามวิธีการที่ดัดแปลงมาจาก Dellaparta และคณะ (1983) ทำการเพิ่มปริมาณ 16S rRNA gene ของเชื้อ Candidatus Liberibacter asiaticus โดยวิธี PCR ด้วย forward primer (5’ GCGCGTATGCAATACGAGCGGCA 3’) และ reverse primer (5’ GCCTCGCGACTTCGCAACCCAT 3’) (Jagoueix และคณะ, 1994) สารละลายปริมาณรวม 25 ไมโครลิตร ประกอบด้วยดังนี้ 10 x PCR buffer 2.5 ไมโครลิตร, 15 มิลลิโมลาร์ MgCl2 2.5 ไมโครลิตร , 2.5 มิลลิโมลาร์ dNTP 2.5 ไมโครลิตร Taq DNA polymerase (Invitrogen) 0.25 ไมโครลิตร, 0.5

ไมโครโมลาร์ primer 0.7 ไมโครลิตร, DNA ต้นแบบ 2 ไมโครลิตร เติมน้ำให้ครบ 25 ไมโครลิตร จากนั้นนำเข้าเครื่อง PCR มีขั้นตอนการทำปฏิกิริยาคือ initial denaturation ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที denaturation ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที annealing ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที และขั้นตอน extension 72 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที 30 วินาที เมื่อสิ้นสุดปฏิกิริยา ตรวจสอบด้วยวิธี gel electrophoresis บน 1.5% agarose gel (Sdoodee และคณะ, 1999)

หรือเทคนิค ELISA ตามวิธีการของ พิมพา (2556) โดยนำชิ้นส่วนใบของส้มจุกที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเจริญส่วยยอด/การเสียบยอดในหลอดทดลองมาทำความสะอาดตัดเอาเฉพาะเส้นกลางใบนำมาหั่นและบดใน coating buffer อัตราส่วน 1:10 (เนื้อเยื่อ: บัฟเฟอร์) ด้วยโกร่งซึ่งผ่านการแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส นำของเหลวที่ได้ใส่หลอดขนาด 1.5 มิลลิลิตร นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 7000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที ดูดส่วนใสตอนบนใส่ในไมโครเพลตหลุมละ 200 ไมโครลิตร ตัวอย่างละ 2 หลุม จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 ชั่วโมง เทของเหลวทิ้ง ล้างด้วย PBS-T 5 ครั้งๆละ 3 นาที ใส่ BSA 2% (blocking solution) หลุมละ 200 ไมโครลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ครบแล้วล้างเหมือนขั้นตอนแรก จากนั้นใส่ CTV-antiserum (lgG) เข้มข้น 2 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร หลุมละ 200 ไมโครลิตร นำไปบ่มและล้างเหมือนขั้นตอนแรก ขั้นต่อไปใส่ GAR-AP (goat antirabbit-alkaline phosphatase conjugate) เข้มข้น 1:4000 ลงในไมโครเพลต หลุมละ 200 ไมโครลิตร บ่มและล้างเหมือนขั้นตอนที่ผ่านมา จากนั้นเติม substrate (p-nitrophenyl phosphate) ที่ละลายใน substrate buffer อัตรา 1 มิลลิกรัมต่อบัฟเฟอร์ 1 มิลลิลิตร หลุมละ 200 ไมโครลิตร บ่มไว้ 1 ชั่วโมง ที่ 37 องศาเซลเซียส หยุดปฏิกิริยาโดยการเติมสารละลาย 3 M NaOH (stopping reaction solution) นำผลไปอ่านค่าของสีที่เกิดขึ้นด้วยเครื่อง ELISA reader โดยใช้คลื่นแสง 405 นาโนเมตร

4. การอนุบาลต้นส้มจุกที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและแนวทางการอนุรักษ์

นำต้นกล้าส้มจุกที่ได้จากการเพาะเลี้ยงมาล้างวุ้นออกและแช่ยากันรา แล้วใส่ในถุงเพาะ/กระถาง นำไปอนุบาลในโรงเรือนเพาะชำ บันทึกการรอดชีวิตและการเจริญเติบโตของต้นกล้าส้มจุก เตรียมขยายให้กับเกษตรกรและนำไปปลูกแซมพืชหลักในแปลงปลูก

**2.6 โครงการย่อยที่ 6 ลักษณะทางสรีรวิทยาบางประการของส้มจุกบนต้นตอพืชตระกูลส้ม 5 ชนิด**

**ขอบเขตของโครงการวิจัย**

เป็นการศึกษาการเจริญเติบโตและการพัฒนาในรอบปีของส้มจุกบนต้นตอส้มต่างชนิดกันโดยการเสียบยอดและนำกิ่งพันธุ์ดีไปปลูกในแปลงเกษตรกรพื้นที่จังหวัดสงขลาเก็บข้อมูลการเจริญเติบโตและพัฒนาในรอบปี

**วิธีการดำเนินการวิจัย และสถานที่ทำการทดลอง/เก็บข้อมูล**

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Complete Randomized Design : CRD) โดยคัดเลือกต้นตอส้ม5ชนิดได้แก่มะนาวมะนาวควายส้มโอมะขวิดและส้มซ่าที่ได้จากการเพาะเมล็ดเมื่อต้นกล้าอายุ 5-6 เดือนนำกิ่งพันธุ์ส้มจุกอายุ5 เดือนขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางความยาวประมาณ10 เซนติเมตรมีตา4-5 ตามาต่อกิ่งแบบเสียบลิ่ม (cleft grafting) เก็บรักษาความชื้นโดยนำต้นที่เสียบกิ่งใส่ในถุงพลาสติกใสขนาดใหญ่มัดปากถุงให้แน่นวางในที่ร่มพรางแสง70% นาน30 วันจึงนำออกจากถุงย้ายปลูกในกระถางพลาสติกดำหนา12 นิ้ว

**การเก็บบันทึกข้อมูล**

1. ความสูงต้น
2. เส้นผ่านศูนย์กลางต้นเหนือและใต้รอยต่อ
3. ความยาวกิ่ง
4. จำนวนใบ
5. พื้นที่ใบ
6. น้ำหนักใบสด/น้ำหนักใบแห้ง

วิธีการทดลองมี 5 สิ่งทดลอง 5 ซ้ำ

1. ต้นตอส้มโอ
2. ต้นตอมะนาวควาย
3. ต้นตอส้มซ่า
4. ต้นตอมะสัง
5. มะขวิด

# บทที่ 3

# สรุปผลการดำเนินงานโครงการวิจัย

แผนงานวิจัย เรื่อง “การวิจัยและพัฒนาส้มจุกเพื่ออนุรักษ์พันธุ์พืชท้องถิ่นจังหวัดสงขลา” ได้รวบรวมผลการดำเนินงานของโครงการวิจัยย่อยแต่ละโครงการภายใต้แผนงานวิจัย ทั้ง 6 โครงการ สรุปได้พอสังเขป ดังนี้

## 3.1 โครงการย่อยที่ 1 การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการแพร่ระบาดของโรคพืชที่สำคัญต่อการผลิตส้มจุก *Citrus reticulate* Blanco และแนวทางในการป้องกันกำจัดโรค

**วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย**

1. ศึกษารายละเอียดของโรค ทั้งด้านการเกิดโรค ลักษณะอาการของโรค การแพร่ระบาดและความรุนแรง ตลอดจนการก่อให้เกิดความเสียหายของโรคบนส้มจุกในแหล่งปลูก
2. ศึกษาผลกระทบของการเกิดโรคที่สำคัญต่อผลผลิตส้มจุก
3. ศึกษาความสัมพันธ์การเกิดโรคที่สำคัญกับสภาพอากาศที่เปลี่ยนแปลง
4. ศึกษาประสิทธิภาพของสารเคมีสารเคมีและเชื้อปฏิปักษ์ที่มีผลต่อการควบคุมเชื้อสาเหตุโรค เพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนาการจัดการโรคที่สำคัญของส้มจุก

**ผลการดำเนินงานโครงการวิจัย**

การศึกษาการแพร่ระบาดความสัมพันธ์ระหว่างสภาพแวดล้อมกับระดับความรุนแรงของโรคสำคัญของส้มจุก 2 พื้นที่ คือ 1) พื้นที่จังหวัดสงขลา และ 2) พื้นที่จังหวัดนครศรีธรรมราช พบระดับการเกิดโรคจะไม่พบการระบาดของโรคสำคัญ พบว่า การเกิดโรคแคงเกอร์ พบเมื่อมีการใช้ต้นตอที่เป็นมะนาวหรือต้นส้มโอจะพบโรคแคงเกอร์ที่ต้นตอ แต่ไม่พบการเกิดโรคแคงเกอร์ที่ต้นส้มจุก (คิดเป็นเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค 8.57 เปอร์เซ็นต์) โรครากเน่าโคนเน่า พบว่า มีลักษณะของโรครากเน่าโคนเน่าในพื้นที่ปลูกส้มจุก มีลักษณะรากหรือโคนต้นที่บริเวณผิวดินเปลือกเน่าเป็นสีน้ำตาล เปลือกหลุดล่อน (คิดเป็นเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคของแปลงที่ 2 เท่ากับ 2.86 และแปลงที่ 3 เท่ากับ 5.71 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ) การเกิดโรคกรีนนิ่ง / โรคทริสเตซ่าของส้ม พบได้ทุกต้นของส้มจุก (คิดเป็นเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค 100 เปอร์เซ็นต์) แต่โรคใบแก้วเกิดจากขาดธาตุสังกะสี หรืออาจเกิดจากหลายสาเหตุรวมกัน เนื่องจากการขาดธาตุอาหารบางธาตุ เป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เกิดอาการโรคต้นโทรมของส้มจุก และโรคราดำ เกิดได้ทั้งบนใบ กิ่ง และผล พบเป็นคราบ หรือขุยสีดำของเชื้อราดำปกคลุมอยู่ (คิดเป็นเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคของแปลงที่ 1 เท่ากับ 100.00 แปลงที่ 3 เท่ากับ 10.00 และแปลงที่ 4 เท่ากับ 42.86 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ)

จากการเก็บรวมรวมเชื้อสาเหตุโรคจากส้มจุกในพื้นที่ปลูกส้มจุกจากการสำรวจโรคส้มในแปลงปลูกส้มจุก อำเภอจะนะ จังหวัดสงขลา พบโรครากเน่าโคนเน่า ต้นส้มจุกที่ปลูกจะแสดงอาการโรคให้เห็นได้อย่างเด่นชัดบริเวณโคนต้นเหนือดินมีรอยช้ำฉ่ำน้ำ และมียางสีน้ำตาลเข้มไหล เมื่อลอกผิวเปลือก

จะพบแผลเน่าเยิ้มฉ่ำน้ำมีสีน้ำตาลเป็นทางตามเนื้อไม้และบางครั้งเป็นลายริ้วภายในลำต้น ต้นส้มจุกยืนต้นตาย จากการแยกเชื้อสาเหตุอาการที่พบจากแหล่งปลูก พบว่าเชื้อสาเหตุของโรคสามารถเจริญเติบโตได้บนอาหาร PDA โคโลนีเจริญเต็มจานอาหารใช้เวลา 5-7 วัน ลักษณะเส้นใยบางสีขาวบางๆ เส้นใยไม่มีผนังกั้น จากลักษณะสัณฐานวิทยานี้สามารถจำแนกชนิดของเชื้อสาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าของส้มจุกพบว่าเกิดจากเชื้อรา *Phytophthora parasitica* และตัวอย่างส้มจุกที่แสดงอาการโรคแคงเกอร์ที่เกิดจากเชื้อ *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* พบว่า การเกิดโรคแคงเกอร์พบเมื่อมีการใช้ต้นตอที่เป็นมะนาวหรือต้นส้มโอจะพบโรคแคงเกอร์ที่ต้นตอ จึงนำตัวอย่างมาแยกเชื้อบนอาหาร NA พบว่าเชื้อ *X. axonopodis* pv. *citri* ลักษณะของเชื้อสาเหตุโรคมีโคโลนีมีสีเหลือง กลม นูน ผิวเรียบเป็นมันและขอบเรียบ ไม่สร้างสปอร์ เชื้อสามารถเจริญบนอาหารได้อย่างรวดเร็ว ภายในเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อนำเชื้อ *X. axonopodis* pv. *citri* เลี้ยงบนอาหาร Modified medium for *X. campestris* pv. *phoseoli* (M-MXP) มีลักษณะโคโลนีสีเหลืองอ่อน กลม นูน ผิวเรียบเป็นมัน และขอบเรียบ ไม่สร้างสปอร์ เชื้อสามารถเจริญบนอาหารเป็นเวลา 2-4 วัน และบนอาหาร Modified Wakimoto' s medium (M-PPA) มีลักษณะโคโลนีสีเหลืองอ่อน กลม นูน ผิวเรียบเป็นมันเยิ้ม และขอบเรียบ ไม่สร้างสปอร์เชื้อสามารถเจริญบนอาหารเป็นเวลา 2-4 วัน

การตรวจสอบโรคทริสเตซ่าของส้มจุก (Citrus Tristeza Virus พบว่า ส่วนใหญ่มีลักษณะอาการใบด่างเป็นจ้ำเขียวคล้ายกับอาการโรคกรีนนิ่ง เมื่อทำการตรวจสอบยืนยันการเข้าทำลายของเชื้อด้วยไพรเมอร์จำเพาะ พบว่า ผลการตรวจสอบไพรเมอร์ไม่สามารถสังเคราะห์ชิ้นผลิตภัณฑ์ได้ แสดงว่าไม่มีการเกิดโรคทริสเตซ่าของส้มจุกจากการเก็บตัวอย่างใบเพสลาดที่ได้ภายหลังจากการนำไปสกัด RNA และสังเคราะห์สาย cDNA จึงนำ cDNA ที่ได้มาเป็น Template เพื่อใช้ในการตรวจสอบเชื้อ CTV ด้วยไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะเจาะจงสูงกับเชื้อไวรัส CTV ในการตรวจสอบในครั้งนี้ใช้คู่ไพรเมอร์ที่เพิ่มปริมาณชิ้นผลิตภัณฑ์ในส่วนของยีนห่อหุ้มอนุภาค (*cp* gene (coat protein) ของไวรัส CTV และการตรวจสอบเชื้อสาเหตุโรคกรีนนิ่ง (Greening Disease) พบอาการเหลือง (yellow shoot) พบที่บริเวณปลายยอด ใบมีลักษณะชี้ตั้ง ใบเรียวเล็กเหลือง จะพบมากในกิ่งที่เริ่มแสดงอาการกิ่งแห้งตาย หลังจากการติดผล แสดงอาการผลเปลี่ยนสีหรือมีสีไม่สม่ำเสมอผลมีขนาดเล็กกว่าปกติ อาการใบด่างเหลือง (mosaic and yellow leaf) และเมื่อทำการตรวจสอบเชื้อ *Candidatus* Liberibacter asiaticus ด้วยเทคนิค PCR เพิ่มปริมาณชิ้นส่วน 16S rDNA ไม่พบแถบดีเอ็นเอของเชื้อ *Ca. L.* asiaticus

ศึกษาความสัมพันธ์การเกิดโรคที่สำคัญกับคุณภาพผลผลิตส้มจุก คือ ลักษณะภายนอกที่มองเห็นด้วยตาเปล่า พบว่า ลำต้นมีทั้งที่มีหนามและไม่มีหนาม ใบมีรูปร่างเป็นวงรี โคนและปลายใบแหลม ลักษณะแตกต่างระหว่างต้นที่มีหนามและไม่มีหนามเท่าที่พบ คือ (1) ต้นที่มีหนามทรงพุ่มแคบกว่าต้นไม่มีหนาม กิ่งจะลู่ขึ้นข้างบนไม่แผ่ออกด้านข้าง และ (2) ต้นที่มีหนามให้ผลใหญ่กว่าแต่ไม่ดก มีเปลือกหนาผิวขรุขระ มีตุ่มน้ำมันที่ผิวขนาดใหญ่และถี่ กลิ่นหอมเฉพาะตัว ผลมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6.50-7.00 เซนติเมตร น้ำหนักผล 145-190 กรัม เนื้อผลมีปริมาณผลที่แก่จะเปลี่ยนสีจากเขียวเป็นสีเหลืองอ่อน บริเวณขั้วผลมีปุ่มยื่นออกมาคล้ายจุก ปลายผลราบหรือเว้าเล็กน้อย เปลือกผลอ่อน แกนผลกลวง มีกลีบผลประมาณ 11 กลีบ ผนังกลีบหนาและเหนียว

ลักษณะภายในผลส้มจุกที่เก็บจากแปลงปลูกในพื้นที่อำเภอจะนะ จังหวัดสงขลา พบว่าลักษณะภายในมีถุงน้ำหวานค่อนข้างยาวและภายในมีน้ำมาก เนื้อผลมีสีเหลืองอมส้มและใส ฉ่ำน้ำ มีรสหวานอมเปรี้ยว โดยเฉพาะหากเก็บผลอ่อนถึงระยะผลสุกจะทำให้มีรสเปรียวมาก มีเมล็ดน้อยประมาณ

1-5 เมล็ดต่อผล ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ (TA) และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ (ค่าความหวาน: TSS) พบว่า เนื้อสีส้มค่อนข้างหยาบ ฉ่ำน้ำ มีค่าความเป็นกรดค่า TA เท่ากับ 0.60-0.82 เปอร์เซ็นต์ และค่าความหวาน TSS เท่ากับ 10.0-12.0 Brix มีรสชาติอร่อยถึงอร่อยมากมาก

การแยกเชื้อจุลินทรีย์จากตัวอย่างในส่วนของดินบริเวณพื้นที่ปลูกส้มจุก อำเภอจะนะ จังหวัดสงขลา สามารถแยกแบคทีเรียได้ทั้งหมด 205 ไอโซเลท ซึ่งเป็นกลุ่มที่มีจำนวนเชื้อมาก ซึ่งดินที่เก็บตัวอย่างมาในแปลงส้มจุกที่มีอายุระหว่าง 1-10 ปี พบว่า แบคทีเรียที่แยกได้จากดินปลูกยางมีจำนวนประชากรที่มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาแตกต่างกัน 5 กลุ่ม จากการจำแนกกลุ่มแบคทีเรียอย่างหยาบตามลักษณะทางสัณฐานวิทยาหรือโคโลนีของแบคทีเรียที่เจริญบนอาหาร NA (Nutrient agar) ได้ 5 กลุ่ม มีลักษณะดังนี้ กลุ่มที่ 1 โคโลนีสีแดง กลม นูน มันวาว ขอบเรียบ กลุ่มที่ 2 โคโลนีสีขาว กลมรี มันวาว ขอบเรียบ กลุ่มที่ 3 โคโลนีสีเหลืองน้ำตาล รูปร่างไม่แน่นอน ผิวขรุขระเล็กน้อย ขอบหยัก กลุ่มที่ 4 โคโลนีสีขาว ด้าน รูปร่างไม่แน่นอน ขอบเรียบ และกลุ่มที่ 5 โคโลนีสีขาว รูปร่างไม่แน่นอน ผิวหน้าลื่นๆ แผ่ขยายเต็มจานอาหาร เรียบมันวาว และเมื่อจัดจำแนกชนิดของแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ต่างๆ ลักษณะที่ใช้ในการจำแนกเบื้องต้นที่เก็บรวบรวมมาและทดสอบปฏิกิริยาของเชื้อกับ KOH 3 เปอร์เซ็นต์ พบว่า แบคทีเรียปฏิปักษ์ 3 ไอโซเลทที่เป็นแกรมบวก และเมื่อนำไปย้อมสีแกรมส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า มีลักษณะรูปแท่ง (rod) ย้อมเซลล์ติดสีน้ำเงินของ Crystal violet จึงมีคุณสมบัติเป็นแกรมบวก และแบคทีเรียปฏิปักษ์ 2 ไอโซเลทที่เป็นแกรมลบและเมื่อนำไปย้อมสีแกรมส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า มีรูปร่างเป็นท่อนตรง ติดสีแดงของ Safanin-O จึงมีคุณสมบัติเป็นแกรมลบ

ประสิทธิภาพของสารเคมีด้วยวิธี poisoning medium จำนวน 21 ชนิด พบว่า สารเคมีที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Phytopthora parasitica* ได้ดีที่สุด คือ hexaconazole thiram และ tridemorph ผลปรากฏว่า จากการทดสอบประสิทธิภาพสารเคมียับยั้งเชื้อ *Phytopthora parasitica* พบว่าเชื้อสาเหตุโรคไม่สามารถเจริญบนอาหาร PDA ที่ผสมสารเคมีทดสอบคิดเป็นเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเชื้อสาเหตุโรคเท่ากับ 94.22 94.22 และ 90.44 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และยังพบว่าสารเคมีทดสอบ azoxystrobin, copper hydroxide, cyproconazole, dimethomorph และ metalaxyl ไม่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Phytopthora parasitica* คิดเป็นเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 0.00 0.00 0.00 0.00 และ 0.00 เปอร์เซ็นต์ (ต่ำสุด) ตามลำดับ เมื่อเปรียบกับสิ่งทดลองควบคุมที่ไม่ใช้สารเคมี (control)

ประสิทธิภาพของสารเคมีและเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* สาเหตุโรคแคงเกอร์ด้วยวิธี paper-disc diffusion โดยใช้สารเคมีและเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพ จำนวน 9 ชนิด พบว่า สารเคมีและเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการยังยั้งการเจริญของเชื้อ *X. axonopodis* pv. *citri* ได้ดีที่สุดคือ ampicilin ซึ่งมีบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อเท่ากับ 1.33 เซนติเมตร เมื่อเปรียบเทียบกับสิ่งทดลองที่ไม่ใช้สารเคมีและเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ การทดสอบด้วยวิธี agar diffusion พบว่า สารเคมีและเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการยังยั้งการเจริญของเชื้อ *X. axonopodis* pv. *citri* ได้ดีที่สุด คือ tetracycline ซึ่งมีบริเวณยับยั้งเท่ากับ 1.12 เซนติเมตร และการทดสอบด้วยวิธี poisoning medium พบว่า สารเคมีและเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการยังยั้งการเจริญของเชื้อ *X. axonopodis* pv. *citri* ได้ดีที่สุด คือ copper hydrocxide, copper oxychloride, *Bacillus*

*amyloliguefacien* (KPS46), *Paenibacillus pabuli* (SW01/4), streptomycin, ampicilin และ tetracycline ซึ่งคิดเป็นเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์

**3.2 โครงการย่อยที่ 2 การจัดการที่เหมาะสมในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูส้มจุกในจังหวัดสงขลา**

**วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย**

1. เพื่อศึกษาชนิดปริมาณของหนอนเจาะลำต้น หนอนชอนใบ แมลงวันทอง และหนอนแก้วส้ม ความเสียหายที่เกิดจากการทำลายของแมลง ปัจจัยทางนิเวศวิทยาของแมลงและความสัมพันธ์กับปัจจัยสภาพแวดล้อม

2. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืช สารชีวภัณฑ์ สารน้ำมันและสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัดหนอนเจาะลำต้น หนอนชอนใบ แมลงวันทอง และหนอนแก้วส้ม

**ผลการดำเนินงานโครงการวิจัย**

จากการสำรวจชนิด และปริมาณของหนอนเจาะลำต้น หนอนชอนใบ แมลงวันทอง และหนอนแก้วส้ม ความเสียหายที่เกิดจากการทำลายของแมลง ปัจจัยทางนิเวศวิทยาของแมลงและความสัมพันธ์กับปัจจัยสภาพแวดล้อม ตั้งแต่เดือนมกราคม พ.ศ. 2561 ถึงเดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2562 ในสวนส้มจุก อำเภอจะนะ จังหวัดสงขลา พบว่า

**1. ศึกษาประชากรหนอนเจาะลำต้น หนอนชอนใบ แมลงวันทอง และหนอนแก้วส้ม ศัตรูธรรมชาติ ความเสียหายที่เกิดจากการทำลายของแมลง และความสัมพันธ์กับปัจจัยสภาพแวดล้อม**

**1.1 ความเสียหายจากหนอนเจาะลำต้น**

จากการสำรวจความเสียหายที่เกิดจากหนอนเจาะลำต้นส้มจุก พบความเสียหายที่เกิดจากหนอนเจาะลำต้น ดังนี้ จากการศึกษาความเสียหายจากหนอนเจาะลำต้นทั้ง 3 สวน พบว่า ในปี 2561 และปี 2562 พบความเสียหายจากหนอนเจาะลำต้นมากที่สุดเดือน กันยายน เฉลี่ย 1.13 ต้น/รู

**1.2 ชนิดและจำนวนปริมาณของหนอนชอนใบ และความเสียหายจากหนอนชอนใบ**

พบหนอนชอนใบ มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Phyllocnistis citrella* Stainton พบหนอนชอนใบ ชนิด *Phyllocnisti scitrella* Stainton จากการศึกษาปริมาณ และความเสียหายจากหนอนชอนใบ ทั้ง 3 สวน พบว่า ปี 2561 พบ ปริมาณหนอนชอนใบเฉลี่ยมากที่สุด ในเดือนเมษายน เฉลี่ย 2.39 ตัว/ยอด และพบความเสียหายที่เกิดจากหนอนชอนใบเดือนเมษายนมากที่สุด เฉลี่ย คือ 16.67 เปอร์เซ็นต์/ยอด ปี 2562 พบ ปริมาณหนอนชอนใบมากที่สุด เดือน เมษายน เฉลี่ย 10.09 ตัว/ยอด และพบความเสียหายของหนอนชอนใบมากที่สุด เดือน เมษายน เฉลี่ย 7.19 เปอร์เซ็นต์

**1.3 ชนิดและปริมาณของแมลงวันทอง และความเสียหายจากแมลงวันทอง**

พบแมลงวันทองในสวนส้มจุก 4 ชนิด ได้แก่ *Bactrocera dorsalis*, *B. papayae* และ *B. correcta* และ *B. carambolae* จากการศึกษาปริมาณ และความเสียหายจากแมลงวันทอง ทั้ง 3 สวน พบว่า ปี 2561 พบปริมาณแมลงวันทองมากที่สุด เดือนธันวาคม เฉลี่ย 23.27 ตัว/กับดัก พบความเสียหายที่เกิดจากแมลงวันทองมากที่สุด เดือน ธันวาคม เฉลี่ย 2.03 จุด/ผล ปี 2562 พบปริมาณแมลงวันทอง มากที่สุด เดือน มกราคม เฉลี่ย 25.94 ตัว/กับดัก และพบความเสียหายของแมลงวันทองมากที่สุด เดือน ธันวาคม เฉลี่ย 2.51 จุด/ผล

**1.4 ชนิดและปริมาณของหนอนแก้วส้มและความเสียหายที่เกิดจากหนอนแก้วส้ม**

พบหนอนแก้วส้มชนิด *Papilio demoleus malayanus* wall ในระยะแตกใบอ่อน ปริมาณของหนอนแก้วส้ม จากการศึกษาความปริมาณ และความเสียหายจากหนอนแก้วส้มทั้ง 3 สวน พบว่า ปี

2561 พบปริมาณหนอนแก้วส้มมากที่สุดเดือนเมษายน เฉลี่ย 0.20 ตัว/ยอด พบความเสียหายจากหนอนแก้วส้มมากที่สุดเดือน เมษายน เฉลี่ย 1.73 เปอร์เซ็นต์ ในปี 2562 พบปริมาณหนอนแก้วส้มมากที่สุดเดือนตุลาคม เฉลี่ย 2.14 ตัว พบความเสียหายจากหนอนแก้วส้มมากที่สุดเดือนตุลาคม เฉลี่ย 5.22 เปอร์เซ็นต์

**2. ความสัมพันธ์ของประชากรหนอนชอนใบ แมลงวันทอง และหนอนแก้วส้ม กับปัจจัยสภาพอากาศ**

จากการศึกษาความสัมพันธ์ของประชากรหนอนชอนใบกับปัจจัยสภาพอากาศ ด้านอุณหภูมิ และปริมาณน้ำฝน พบว่า อุณหภูมิ และความเร็วลม มีความสัมพันธ์กับประชากรหนอนชอนใบในทิศทางตรงกันข้าม มีความสัมพันธ์ในระดับต่ำมาก (r=-0.18, p=0.51) และ (r=-0.24, p=0.57) ตามลำดับ ปริมาณน้ำฝน และความชื้นสัมพัทธ์ มีความสัมพันธ์กับประชากรหนอนชอนใบในทิศทางเดียวกัน ปริมาณน้ำฝนมีความสัมพันธ์ในระดับต่ำมาก (r=0.20, p=0.45) ความชื้นสัมพัทธ์มีความสัมพันธ์ในระดับปานกลาง (r=0.56, p=0.13)

ความสัมพันธ์ของประชากรแมลงวันทองกับปัจจัยสภาพอากาศ ด้านอุณหภูมิ และปริมาณน้ำฝน พบว่า อุณหภูมิ และความเร็วลม มีความสัมพันธ์กับประชากรแมลงวันทองในทิศทางตรงกันข้าม มีความสัมพันธ์ในระดับต่ำมาก (r=-0.28, p=0.52) และ (r=-0.14, p=0.34) ปริมาณน้ำฝน และความชื้นสัมพัทธ์ มีความสัมพันธ์กับประชากรแมลงวันทองในทิศทางเดียวกัน ปริมาณน้ำฝนมีความสัมพันธ์ในระดับปานกลาง (r=0.56, p=0.14) ความชื้นสัมพัทธ์มีความสัมพันธ์ในระดับต่ำมาก (r= 0.09, p=0.74)

ความสัมพันธ์ของประชากรหนอนแก้วส้มกับปัจจัยสภาพอากาศ ด้านอุณหภูมิ และปริมาณน้ำฝน พบว่า อุณหภูมิ และความเร็วลม มีความสัมพันธ์กับประชากรหนอนแก้วส้มในทิศทางตรงกันข้าม อุณหภูมิมีความสัมพันธ์ในระดับต่ำ (r=-0.48, p=0.32) และ ความเร็วลมมีความสัมพันธ์ในระดับต่ำมาก (r=-0.34, p=0.48) ตามลำดับ ปริมาณน้ำฝน และความชื้นสัมพัทธ์ มีความสัมพันธ์กับประชากรหนอนแก้วส้มในทิศทางเดียวกัน ปริมาณน้ำฝน และความชื้นมีความสัมพันธ์ในระดับต่ำ (r=0.11, p=0.82) และ (r=0.09, p=0.76)

**3. ประสิทธิภาพของกรรมวิธีในการป้องกันกำจัด หนอนเจาะลำต้น และหนอนชอนใบ และแมลงวันทอง ในสภาพสวนสาธิต**

**3.1 ประสิทธิภาพของกรรมวิธีในการป้องกันกำจัดหนอนเจาะลำต้น**

จากการศึกษาจำนวนรูเจาะจากหนอนเจาะลำต้นในสภาพแปลงเกษตรกร จำนวน 5 กรรมวิธี ฉีดเดือนละ 1 ครั้ง จำนวน 4 ครั้ง ระหว่างเดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2561 ถึง เดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2561

ก่อนและหลังการใช้สารชีวภัณฑ์ สารฆ่าแมลง และน้ำมัน และชุดควบคุม (ไม่ใช้สาร) พบว่า ก่อนการฉีดพ่นสารทุกกรรมวิธี พบจำนวนรูเจาะไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ หลังการฉีดสารครั้งที่ 4 พบว่า ชุดควบคุม (ไม่ใช้สาร) มีค่าเฉลี่ยจำนวนรูเจาะเพิ่มขึ้นมากที่สุด คือ 3.50 รู/ต้น บาซิลัสทูริงเจนซิส คลอไพรีฟอส การฉีดด้วยไดคลอร์วอส และน้ำมันเบนซิน มีจำนวนรูเจาะเฉลี่ย 1.00 1.00 0.75 และ 0.00 รู/ต้น ตามลำดับ

สำหรับการศึกษาประสิทธิภาพของกรรมวิธี เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (ไม่ใช้สาร) พบว่า การใช้น้ำมันเบนซิน มีประสิทธิภาพสูงสุด คือ 100 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ ไดคลอร์วอส บาซิลัสทูริงเจนซิส และคลอไพริฟอส มีประสิทธิภาพ 75.51 68.47 และ 64.84 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

**3.2 ประสิทธิภาพของกรรมวิธีในการป้องกันกำจัดหนอนชอนใบ**

จากการศึกษาจำนวนหนอนชอนใบในสภาพแปลงเกษตรกร ในพื้นที่ อำเภอจะนะ จังหวัดสงขลา ก่อนและหลังการใช้สารสกัดจากพืช สารน้ำมัน และสารฆ่าแมลงจำนวน 5 กรรมวิธี และชุดควบคุม (ไม่ใช้สาร) พบว่า จำนวนหนอนชอนใบก่อนการฉีดพ่นสารทุกกรรมวิธี ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ หลังการฉีดพ่นครั้งที่ 3 ชุดควบคุม (ไม่ใช้สาร) มีค่าเฉลี่ยจำนวนหนอนชอนใบมากที่สุด คือ 26.25 ตัวต่อต้น รองลงมาคือ การฉีดพ่นด้วยสารสกัดจากเมล็ดสะเดาไทย ยาสูบ น้ำมันปิโตรเลียม อิมิดาโคลปิด และไซฟลูทริน มีค่าเฉลี่ยจำนวนหนอนชอนใบ เท่ากับ 18.00, 12.50, 6.50, 6.22 และ 4.16 ตัวต่อต้น ตามลำดับ มีความแตกต่างทางสถิติกับชุดควบคุม (ไม่ใช้สาร) สำหรับการศึกษาประสิทธิภาพของกรรมวิธี พบว่า การใช้ อิมิดาโคลปิด มีประสิทธิภาพสูงสุด คือ 83.61 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ ไซฟลูธริน น้ำมันปิโตรเลียม ยาสูบ และสารสกัดจากสะเดาไทย มีประสิทธิภาพ 75.59 69.36 67.09 และ 33.20 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ความเสียหายที่เกิดจากหนอนชอนใบ ก่อนการฉีดพ่นสารทุกกรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ หลังการฉีดพ่นครั้งที่ 3 พบว่า ชุดควบคุม (ไม่ใช้สาร) มีค่าเฉลี่ยความเสียหายจากหนอนชอนใบมากที่สุด คือ 54.30 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาการฉีดพ่นด้วยสารสกัดจากเมล็ดสะเดาไทย ยาสูบ น้ำมันปิโตรเลียม ไซฟลูทริน และอิมิดาโคลปิด มีค่าเฉลี่ยความเสียหาย เท่ากับ 24.00 16.30 12.50 10.50 และ 8.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ มีความแตกต่างทางสถิติกับชุดควบคุม (ไม่ใช้สาร) สำหรับการศึกษาประสิทธิภาพของกรรมวิธี พบว่า การใช้ อิมิดาโคลปิด มีประสิทธิภาพสูงสุด คือ 84.51 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ ไซฟลูธริน น้ำมันปิโตรเลียม ยาสูบ และสารสกัดจากสะเดาไทย มีประสิทธิภาพ 80.43 73.84 69.49 และ 55.47 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

**3.3 ประสิทธิภาพของกรรมวิธีในการป้องกันกำจัดแมลงวันทอง**

จากการศึกษาจำนวนแมลงวันทองในสภาพแปลงเกษตรกร ในพื้นที่ อำเภอจะนะ จังหวัดสงขลา ก่อนและหลัง การห่อผล การใช้สารสกัดจากพืช สารน้ำมัน และสารฆ่าแมลงจำนวน 7 กรรมวิธี และชุดควบคุม (ไม่ใช้สาร) พบว่าก่อนการฉีดพ่นสารทุกกรรมวิธี จำนวนแมลงวันทองไม่แตกต่างกันทางสถิติ หลังการฉีดพ่นสารที่อายุผล 8 เดือน พบว่า ชุดควบคุม (ไม่ใช้สาร) มีปริมาณแมลงมากที่สุด 25.24 ตัวต่อกับดักและรองลงมาคือการฉีดพ่นด้วยสารสกัดจากข่า สารสกัดจากเมล็ดสะเดาไทย ปิโตรเลียมออยล์ อิมิดาโคลปิด คาร์โบซันแฟน อะบาเมกติน และห่อผล (ถุงหูหิ้วสีขาว) ซึ่งพบปริมาณ 17.01 15.98 12.52 4.48 3.26 3.12 และ 1.22 ตัวต่อกับดัก ตามลำดับ สำหรับการศึกษาประสิทธิภาพของกรรมวิธีเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (ไม่ใช้สาร) พบว่า การห่อผล (ถุงหูหิ้วสีขาว) มีประสิทธิภาพสูงสุด คือ 97.61 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ การฉีดพ่นด้วยอะบาเมกติน คาร์โบซันแฟน อิมิดาโคลปิด ปิโตรเลียมออยล์ สารสกัดจากสะเดาไทย และสารสกัดจากข่า มีประสิทธิภาพ 92.14 91.51 87.38 65.59 58.27 และ 49.17 เปอร์เซ็นต์

ความเสียหายที่เกิดจากแมลงวันทอง ก่อนการฉีดพ่นสาร จำนวนรอยจุดผิวผลที่เกิดจากการทำลายของแมลงวันทองไม่แตกต่างกันทางสถิติ ที่อายุผล 8 เดือน พบว่าชุดควบคุม (ไม่ใช้สาร) มีจำนวนรอยจุดที่ผิวผลที่เกิดจากการทำลายของแมลงวันทองมากที่สุด 0.25 จุดต่อผล รองลงมา คือ สาร

สกัดจากข่า สารสกัดจากเมล็ดสะเดาไทย ปิโตรเลียมออยล์ อิมิดาโคลปิด คาร์โบซันแฟน อะบาเมกติน และการห่อผล (ถุงหูหิ้วสีขาว) เฉลี่ย 0.17 0.15 0.12 0.04 0.04 0.03 และ 0.01 จุดต่อผล ตามลำดับ สำหรับการศึกษาประสิทธิภาพของกรรมวิธีเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (ไม่ใช้สาร) พบว่า การห่อผล (ถุงหูหิ้วสีขาว) มีประสิทธิภาพของกรรมวิธีดีที่สุด คือ 96.16 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ การฉีดพ่นด้วยอะบาเมกติน คาร์โบซันแฟน อิมิดาโคลปิด ปิโตรเลียมออยล์ สารสกัดจากสะเดาไทย และสารสกัดจากข่า มีประสิทธิภาพ 88.92 88.48 83.30 55.69 46.67 และ 32.00 เปอร์เซ็นต์

**คุณภาพทางกายภาพของผลส้มจุก**

จากการศึกษาการห่อผล สารสกัดจากพืช สารชีวภัณฑ์ และสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัดแมลงวันทองที่มีต่อคุณภาพทางกายภาพของผลส้มจุกในระยะเก็บเกี่ยว (8 เดือน) พบว่าชุดควบคุม (ไม่ใช้สาร) มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางผลน้อยที่สุด 5.2 เซนติเมตร ส่วนกรรมวิธีอื่นๆ มีขนาดของเส้นผ่าศูนย์กลางไม่แตกต่างกันทางสถิติอยู่ระหว่าง 6.4-7.0 เซนติเมตร ส่วนเส้นรอบวงของผลส้มจุกชุดควบคุมมีขนาดเส้นรอบวงน้อยที่สุด 19.66 ในขณะที่กรรมวิธีอื่นๆ มีขนาดเส้นรอบวงที่มากกว่าอยู่ระหว่าง 20.39-21.45 เซนติเมตร (ตารางที่ 10) ส่วนน้ำหนักของผลพบว่าชุดควบคุมให้น้ำหนักของผลต่ำสุด 198 กรัมในขณะที่กรรมวิธีอื่นๆให้น้ำหนักผลไม่แตกต่างกันทางสถิติ อยู่ระหว่าง 239-250 กรัม ด้านความหนาของเปลือก ทุกกรรมวิธีไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยที่ความหนาของเปลือกอยู่ระหว่าง 0.3-0.4 เซนติเมตร

**3.4 แมลงศัตรูส้มจุกชนิดอื่นที่พบในแปลงปลูก; เพลี้ยหอย**

**ประสิทธิภาพของกรรมวิธีในการป้องกันกำจัดเพลี้ยหอย**

จากการศึกษาจำนวนเพลี้ยหอยในสภาพแปลงเกษตรกร ในพื้นที่อำเภอทุ่งสง จังหวัดนครศรีธรรมราช ก่อนและหลังการใช้สารสกัดจากพืช สารน้ำมัน และสารฆ่าแมลงจำนวน 5 กรรมวิธี และชุดควบคุม (ไม่ใช้สาร) พบว่า ก่อนการฉีดพ่นสารทุกกรรมวิธี พบจำนวนเพลี้ยหอยไม่มีความแตกต่างทางสถิติ หลังการฉีดพ่นครั้งที่ 3 พบว่า ชุดควบคุม (ไม่ใช้สาร) มีค่าเฉลี่ยจำนวนเพลี้ยหอยมากที่สุด คือ 85.57 ตัวต่อใบ รองลงมา ได้แก่ ยาสูบ สารสกัดจากเมล็ดสะเดาไทย ปิโตรเลียมออยล์ อิมิดาโคลปิด และไซฟลูธริน เฉลี่ย 73.69 62.19 59.95 27.32 และ 19.25 ตัวต่อใบ ตามลำดับ สำหรับการศึกษาประสิทธิภาพของกรรมวิธี เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (ไม่ใช้สาร) พบว่า การใช้ไซฟลูธริน มีประสิทธิภาพดีที่สุด คิดเป็น 77.39 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา คือ อิมิดาโคลปิด ปิโตรเลียมออยล์ สารสกัดจากเมล็ดสะเดาไทย และยาสูบ ซึ่งมีประสิทธิภาพ 70.82 29.68 26.13 และ 9.98 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (ไม่ใช้สาร)

**3.3 โครงการย่อยที่ 3 การเจริญเติบโตและการพัฒนาของผลส้มจุกที่เหมาะสมต่อการเก็บเกี่ยวภายใต้สภาพภูมิอากาศที่แตกต่างกัน**

**วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย**

1. เพื่อศึกษาการเจริญเติบโตและการพัฒนาของผลส้มจุกในระยะที่เหมาะสมต่อการเก็บเกี่ยว

2. เพื่อศึกษาการเจริญเติบโตและการพัฒนาของผลคุณภาพของผลส้มจุกภายใต้สภาพภูมิอากาศที่แตกต่างกัน

**ผลการดำเนินงานโครงการวิจัย**

จากการศึกษาการเจริญเติบโตและการพัฒนาของผลภายใต้สภาพแวดล้อมที่แตกต่างกัน สรุปได้ ดังนี้

**1. จากการศึกษาของอายุผลในระยะการเก็บเกี่ยวที่แตกต่างกันต่อการพัฒนาของผลส้มจุกที่อายุ 5, 6, 7, 8, และ 9 เดือน พบว่า**

1.1 น้ำหนักผล, น้ำหนักเปลือก, น้ำหนักเนื้อ, เส้นรอบวง, เส้นผ่าศูนย์กลาง, และของแข็งที่ละลายน้ำได้ (TSS) มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง อายุผล 8-9 เดือน มีเฉลี่ยสูงที่สุด

1.2 ด้านความหนาเปลือก ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ทุกช่วงอายุการเก็บเกี่ยว

1.3 ผลส้มจุกที่มีอายุผล 5 เดือน มีปริมาตรที่ไตเตรทได้ (%) มีค่าเฉลี่ยสูงสุด

**2. จากการศึกษาของช่วงการเก็บเกี่ยวที่แตกต่างกันต่อการพัฒนาของผลส้มจุก เก็บเกี่ยวในช่วงต้นปี และช่วงกลางปี พบว่า**

2.1 น้ำหนักผล, น้ำหนักเปลือก, น้ำหนักเนื้อ, เส้นรอบวง, เส้นผ่าศูนย์กลาง และของแข็งที่ละลายน้ำได้ (TSS) มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง การเก็บเกี่ยวช่วงต้นปีมีค่าเฉลี่ยสูงกว่าช่วงการเก็บเกี่ยวช่วงกลางปี

2.2 ช่วงการเก็บเกี่ยวผลต้นปี มีค่าเฉลี่ยของกรดที่ไตรเตรทได้ต่ำกว่าการเก็บเกี่ยวช่วงกลางปี

**3.4 โครงการวิจัยย่อยที่ 4 การจัดการธาตุอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและคุณภาพผลผลิตของส้มจุก**

**วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย**

1. เพื่อศึกษาผลของการจัดการธาตุอาหารพืชต่อการเจริญเติบโตของส้มจุก และผลผลิตส้มจุก
2. เพื่อศึกษาผลของการจัดการธาตุอาหารพืชต่อสมบัติของดินที่ใช้ปลูกส้มจุก

**ผลการดำเนินงานโครงการวิจัย**

การศึกษาการจัดการธาตุอาหารพืชที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและคุณภาพผลผลิตของส้มจุก ช่วงระยะเวลา 2 ปี คือ ปี 2561-2562 เป็นการจัดการธาตุอาหารพืชด้วยการใส่ปุ๋ยเคมีและปุ๋ยอินทรีย์ให้กับต้นส้มจุกโดยใส่ทางดิน ดังนี้ การใส่ปุ๋ยตามวิธีการของเกษตรกร ใส่ปุ๋ยครึ่งหนึ่งของวิธีการของเกษตรกร ใส่ปุ๋ยตามค่าการวิเคราะห์ดิน ใส่ปุ๋ยอินทรีย์ (ปุ๋ยคอก) อัตรา 50 กิโลกรัมต่อต้น และใส่ปุ๋ยอินทรีย์การค้าอัตรา 50 กิโลกรัมต่อต้น สามารถสรุปผลของการวิจัยได้ ดังนี้

1. การใส่ปุ๋ย มีผลทำให้สมบัติบางประการของดินปลูกส้มจุกเปลี่ยนแปลง โดยการใส่ปุ๋ยทำให้ค่าพีเอชของดินลดต่ำลง (เป็นกรดมากขึ้น) โดยเฉพาะปุ๋ยเคมี ทั้งดินที่ระดับความลึก 0-15 เซนติเมตร และ 15-30 เซนติเมตร ทั้งนี้พบว่าใส่ปุ๋ยอินทรีย์ (ปุ๋ยคอก) และปุ๋ยอินทรีย์การค้ามีผลทำให้พีเอชดินลดลงน้อยกว่าการใช้ปุ๋ยเคมี (ค่าพีเอชสูงกว่า) การใส่ปุ๋ยทำให้ค่าการนำไฟฟ้าของดินมีค่าสูงขึ้นทั้งดินที่ระดับความลึก 0-15 เซนติเมตร และ 15-30 เซนติเมตร ส่วนปริมาณอินทรียวัตถุในดินมีค่าเพิ่มขึ้นหลังการใส่ปุ๋ยทั้งดินที่ระดับความลึก 0-15 เซนติเมตร และ 15-30 เซนติเมตร

2. การใส่ปุ๋ย มีผลทำให้ปริมาณธาตุอาหารในดิน คือ ไนโตรเจนทั้งหมด ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ โพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ แคลเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ และแมกนีเซียมที่แลกเปลี่ยนได้มีค่าสูงขึ้นทั้งในดินที่ระดับความลึก 0-15 เซนติเมตร และ 15-30 เซนติเมตร

3. การใส่ปุ๋ย มีผลทำให้การเจริญเติบโตของส้มจุกในส่วนที่เกี่ยวกับการแตกชุดใบใหม่มีค่าสูงขึ้น โดยปีที่ 1 หลังใส่ปุ๋ย 1 2 3 4 และ 5 เดือน ส้มจุกมีการแตกชุดใบใหม่อย่างต่อเนื่อง ปีที่ 2 จำนวนการแตกชุดใบใหม่ของส้มจุกมีค่ามากในเดือนที่ 1 แล้วจะลดจำนวนลงในเดือนที่ 2 จากนั้นจำนวนการแตกชุดใบใหม่เพิ่มมากขึ้นอีกครั้งในเดือนที่ 3 แต่ลดลงในเดือนที่ 4 จากนั้นในเดือนที่ 5 ส้มจุกจะมีจำนวนการแตกชุดใบใหม่มากขึ้นอีกครั้ง

4. การใส่ปุ๋ย มีผลทำให้การเจริญเติบโตของส้มจุกในส่วนที่เกี่ยวกับเปอร์เซ็นต์การออกดอกของส้มจุกเพิ่มสูงขึ้น โดยสิ่งทดลองที่มีการการใช้ปุ๋ยเคมีมีผลทำให้ส้มจุกออกดอกมากกว่าสิ่งทดลองที่มีการใช้เฉพาะปุ๋ยอินทรีย์

5. การใส่ปุ๋ย มีผลทำให้การเจริญเติบโตของส้มจุกในส่วนที่เกี่ยวกับขนาดของใบส้มจุกมีค่าสูงขึ้น โดยหลังใส่ปุ๋ยทั้ง ปีที่ 1 และ ปีที่ 2 ทำให้ความกว้างของใบส้มจุก และ ความยาวของใบส้มจุกมีค่าเพิ่มขึ้น

6. การใส่ปุ๋ย มีผลทำให้ความเข้มข้นของธาตุอาหารในใบส้มจุก โดยหลังใส่ปุ๋ยทั้ง ปีที่ 1 และ ปีที่ 2 ความเข้มข้นของธาตุอาหารพืชในใบส้มจุก คือ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียม และแมกนีเซียม มีค่าเพิ่มสูงขึ้น

7. การใส่ปุ๋ยที่แตกต่างกันมีผลทำให้คุณภาพภายนอกและคุณภาพภายในของผลผลิตของส้มจุกมีความแตกต่างกัน โดยผลผลิตของส้มจุกจากสิ่งทดลองที่มีการใส่ปุ๋ยตามค่าการวิเคราะห์ดินมีคุณภาพ

ผลผลิตดีกว่าสิ่งทดลองอื่นๆ คือ เส้นผ่านศูนย์กลางผล เท่ากับ 9.58 เซนติเมตร น้ำหนักสดของผล เท่ากับ 276.88 กรัม ความหนาของเปลือกผล เท่ากับ 0.44 เซนติเมตร ปริมาตรน้ำคั้นของผล เท่ากับ 179.33 มิลลิลิตร/ผล ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดในน้ำคั้นของผล เท่ากับ 13.16 องศาบริกซ์ และปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ทั้งหมดในน้ำคั้นของผลส้มจุก เท่ากับ 0.64 เปอร์เซ็นต์

**3.5 โครงการย่อยที่ 5 การผลิตต้นส้มจุกที่ปลอดโรคด้วยเทคโนโลยีชีวภาพและแนวทางการอนุรักษ์พันธุ์ส้มจุก**

**วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย**

1. ผลิตต้นส้มจุกที่ปลอดโรคด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเจริญส่วนยอด

2. ตรวจสอบการปลอดเชื้อโรคที่สำคัญของต้นส้มจุกที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเจริญส่วยยอดด้วยเทคนิค PCR/ELISA

3. เก็บรักษาพันธุ์ส้มจุกทั้งในสภาพปลอดเชื้อและสภาพแปลง

**ผลการดำเนินงานโครงการวิจัย**

**1. การผลิตโคลนต้นส้มจุกที่ปลอดโรคจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเจริญส่วนยอด**

1.1 ศึกษาชนิดและระดับความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการผลิตต้นส้มจุกที่ปราศจากโรค จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนยอด พบว่าอาหารสูตร MS ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตให้เปอร์เซ็นต์การพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่สูงสุด 83.93 เปอร์เซ็นต์ มีความสูงยอดเฉลี่ยสูงที่สุด คือ 2.88 เซนติเมตร เมื่อวางเลี้ยงชิ้นส่วนยอดบนอาหารสูตร MS เติม BA เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนยอดเฉลี่ยสูงที่สุด คือ 3.33 ยอดต่อชิ้นชิ้นส่วน และการสร้างแคลลัส พบว่า อาหาร MS เติม NAA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ BA เข้มข้น 2 มิลิกรัมต่อลิตร สามารถสร้างแคลลัสได้ 40 เปอร์เซ็นต์

1.2 ศึกษาการเสียบยอดบนต้นตอในหลอดทดลอง ศึกษาการเสียบยอดบนต้นตอในหลอดทดลอง พบว่า ต้นตอส้มจุกที่ทำการเสียบส้มจุกมีการเข้ากันได้มากที่สุด 8.8 ยอดต่อชิ้นส่วน

1.3 ศึกษาผลชนิดของอาหารที่เหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณยอดรวมของส้มจุก พบว่า อาหารแข็งสูตร MS เติม BA เข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับการเติม NAA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำยอดได้สูงสุด 10.6 ยอดต่อชิ้นส่วน และให้ความสูงยอด 4.90 เซนติเมตร

1.4 ศึกษาระดับความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตและวิธีการที่เหมาะสมในการชักนำรากของต้นส้มจุกในหลอดทดลอง พบว่า อาหารสูตร MS เติม NAA เข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนรากสูงสุด 2.91 รากต่อชิ้นส่วน และให้ความยาวรากสูงสุด 3.09 เซนติเมตร

**2. การอนุบาลต้นส้มจุกที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ**

นำต้นส้มโอพันธุ์ทับทิมสยามที่เกิดรากและมีความแข็งแรงสมบูรณ์ ทำการล้างเอาอาหารวุ้นที่ติดรากออกตัดใบออกบางส่วนแล้วจุ่มแช่รากในยากันรา ปลูกต้นส้มจุกในกระถางที่มีทรายผสมขี้เถาแกลบในอัตราส่วน 1:1 ใช้ถุงพลาสติกคลุมกระถาง นำไปวางอนุบาลในเรือนเพาะชำที่มีแสงแดดประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์เป็นเวลา 1 เดือน พบว่า ต้นส้มจุกมีอัตราการรอดชีวิต 90 เปอร์เซ็นต์

**3. การตรวจสอบต้นส้มจุกที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเจริญส่วยยอดและการเสียบยอดในหลอดทดลองด้วยเทคนิค PCR/ELISA**

ไพรเมอร์ที่นำมาศึกษาไม่พบการเกิดโรคบนส้มจุกบนต้นตอทุกชนิด สามารถแยกได้อย่างชัดเจน เพราะไพรเมอร์ที่นำมาศึกษานั้นสามารถจับกับโรคได้หากต้นส้มจุกที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีการปนเปื้อนของโรคต่างๆ ก็จะปรากฏแถบดีเอ็นเอซึ่งสามารถมองเห็นได้ชัดเจน แต่ตัวอย่างที่นำมาศึกษาจากการเสียบยอดในหลอดทดลองมีความปลอดโรคลักษณะของไพรเมอร์ที่ได้ของตัวอย่าง T1-T6 จึงไม่ได้แสดงอาการของโรค

**3.6 โครงการย่อยที่ 6 ลักษณะทางสรีรวิทยาบางประการของส้มจุกบนต้นตอพืชตระกูลส้ม 5 ชนิด**
**วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย**

1. เพื่อหาชนิดของต้นตอส้มที่ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นส้มจุกโดยการเสียบยอด
2. เพื่อศึกษาอิทธิพลของต้นตอที่มีต่อสรีรวิทยาของต้นส้มจุกเสียบยอด

**ผลการดำเนินงานโครงการวิจัย**

การศึกษาลักษณะทางสรีรวิทยาบางประการของส้มจุกบนต้นต่อพืชตระกูลส้ม 5 ชนิด ช่วงระยะเวลา 24 ปี คือ ปี 2561-2562 โดยมีต้นตอพืชตระกูลส้ม 5 ชนิด คือ ส้มโอพื้นเมือง ส้มโอทองดี มะนาวควาย มะกรูด และส้มซ่า พบว่า ความสูงต้นส้มจุกที่ใช้ส้มซ่าเป็นต้นตอมีค่าเฉลี่ยสูงที่สุด รองลงมาคือส้มโอพื้นเมือง ส้มโอทองดี มะนาวควาย และสุดท้ายคือมะกรูด มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 126.20 112.80 107.40 106.20 และ 89.00 เซนติเมตร ตามลำดับ ความสูงเหนือรอยต่อต้นส้มจุกที่ใช้ส้มซ่าเป็นต้นตอมีค่าเฉลี่ยสูงที่สุด รองลงมาคือมะนาวควาย ส้มโอพื้นเมือง ส้มโอทองดี และสุดท้ายคือมะกรูด มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 98.40 94.00 90.80 90.40 และ 61.40 เซนติเมตร ตามลำดับ เส้นผ่าศูนย์กลางใต้รอยต่อต้นส้มจุกที่ใช้มะนาวควายเป็นต้นตอมีค่าเฉลี่ยสูงที่สุด รองลงมาคือส้มโอทองดี ส้มซ่า ส้มโอพื้นเมือง และสุดท้ายคือมะกรูด มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 2.22 1.90 1.83 1.73 และ 1.33 เซนติเมตร ตามลำดับ เส้นผ่าศูนย์กลางเหนือรอยต่อต้นส้มจุกที่ใช้มะนาวควายเป็นต้นตอมีค่าเฉลี่ยสูงที่สุด รองลงมาคือส้มซ่า ส้มโอทองดี ส้มโอพื้นเมือง และสุดท้ายคือมะกรูด มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1.72 1.37 1.33 1.32 และ 1.01 เซนติเมตร ตามลำดับ จำนวนใบต่อต้น ต้นส้มจุกที่ใช้มะนาวควายเป็นต้นตอมีค่าเฉลี่ยสูงที่สุด รองลงมาคือส้มซ่า ส้มโอทองดี ส้มโอพื้นเมือง และสุดท้ายคือมะกรูด มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 256.60 186.00 181.60 153.20 และ 92.20 ใบ ตามลำดับ จำนวนกิ่งต่อต้น ต้นส้มจุกที่ใช้มะนาวควายเป็นต้นตอมีค่าเฉลี่ยสูงที่สุด รองลงมาคือส้มซ่า ส้มโอทองดี ส้มโอพื้นเมือง และสุดท้ายคือมะกรูด มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 19.20 17.00 14.80 13.80 และ 11.20 กิ่ง ตามลำดับ น้ำหนักสดใบต้นส้มจุกที่ใช้ส้มซ่าเป็นต้นตอมีค่าเฉลี่ยสูงที่สุด รองลงมาคือมะนาวควาย ส้มโอพื้นเมือง มะกรูด และสุดท้ายคือส้มโอทองดี มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 2.43 2.23 2.07 1.98 และ 1.97 กรัม ตามลำดับ น้ำหนักแห้งใบต้นส้มจุกที่ใช้ส้มซ่าเป็นต้นตอมีค่าเฉลี่ยสูงที่สุด รองลงมาคือมะนาวควาย ส้มโอพื้นเมือง มะกรูด และสุดท้ายคือส้มโอทองดี มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1.08 1.04 1.03 1.00 และ 0.88 กรัม ตามลำดับ

จากการทดลองนี้จะเห็นว่าต้นส้มจุกที่ใช้ส้มซ่าเป็นต้นตอ มีลักษณะการเจริญเติบโตโดยรวมที่ดีกว่าการใช้ต้นตอชนิดอื่นๆ คือมีความสูงต้นส้มจุกเฉลี่ย 126.20 เซนติเมตร ความสูงต้นเหนือรอยต่อเฉลี่ย 98.40 เซนติเมตร เส้นผ่าศูนย์กลางใต้รอยต่อเฉลี่ย 1.83 เซนติเมตร เส้นผ่าศูนย์กลางเหนือรอยต่อเฉลี่ย 1.37 เซนติเมตร จำนวนใบต่อต้นเฉลี่ย 186.00 ใบ และ จำนวนกิ่งต่อต้นเฉลี่ย 17.00 กิ่ง น้ำหนักสดใบเฉลี่ย 2.43 กรัม และน้ำหนักแห้งใบเฉลี่ย 1.08 กรัม ความกว้างทรงพุ่มเฉลี่ย 67.40 เซนติเมตร แสดงว่าการประสานของรอยต่อของส้มจุกที่ใช้ส้มซ่าเป็นต้นตอมีการประสานเข้ากันได้ดีในเบื้องต้น ซึ่งมีแนวโน้มที่จะให้ลักษณะต่างๆ ของการเจริญเติบโตทางลำต้นที่ดีและคาดว่าน่าจะให้ผลผลิตที่ดีกว่าการใช้ต้นตอชนิดอื่น

**3.7 สรุปผลผลิตการวิจัยตามกรอบวงเงินที่ได้รับการจัดสรรงบประมาณ**

3.7.1 โครงการวิจัยภายใต้แผนงานวิจัยเรื่อง “การวิจัยและพัฒนาส้มจุกเพื่ออนุรักษ์พันธุ์พืชท้องถิ่นจังหวัดสงขลา” จำนวน 6 โครงการ ได้รับการจัดสรรงบประมาณประจำปี 2561-2562 แยกรายโครงการ ดังนี้

**ตารางที่ 1** งบประมาณที่ได้รับจัดสรร ประจำปีงบประมาณ 2561-2562 แยกรายโครงการ

| ชื่อโครงการวิจัย | ปีงบประมาณ 2561 | ปีงบประมาณ 2562 |
|---|---|---|
| **โครงการวิจัยย่อยที่ 1:** การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการแพร่ระบาดของโรคพืชที่สำคัญต่อผลผลิตส้มจุก (*Citrus reticulate* Blanco) และแนวทางในการป้องกันกำจัดโรค | 423,600 | 328,800 |
| **โครงการวิจัยย่อยที่ 2:** การจัดการที่เหมาะสมในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูส้มจุกในจังหวัดสงขลา | 492,600 | 386,600 |
| **โครงการวิจัยย่อยที่ 3:** การเจริญเติบโตและการพัฒนาของผลส้มจุกที่เหมาะสมต่อการเก็บเกี่ยวภายใต้สภาพภูมิอากาศที่แตกต่างกัน | 442,800 | 343,800 |
| **โครงการวิจัยย่อยที่ 4:** การจัดการธาตุอาหารพืชที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและคุณภาพผลผลิตส้มจุก | 497,000 | 387,700 |
| **โครงการวิจัยย่อยที่ 5:** การผลิตต้นส้มจุกที่ปลอดโรคด้วยเทคโนโลยีชีวภาพและแนวทางการอนุรักษ์พันธุ์ส้มจุก | 495,600 | 387,600 |
| **โครงการวิจัยย่อยที่ 6:** ลักษณะทางสรีรวิทยาบางประการของส้มจุกบนต้นตอพืชตระกูลส้ม 5 ชนิด | 423,600 | 328,800 |

3.7.2 จำนวนเป้าหมายผลผลิตงานวิจัย (output) ของโครงการวิจัย ตามกรอบวงเงินที่ระบุไว้ตามประกาศมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย เรื่อง การติดตาม ประเมินผล การส่งรายงานฉบับสมบูรณ์และผลผลิตจากงานวิจัย พ.ศ.2561 โครงการวิจัยภายใต้แผนงานวิจัย จำนวน 6 โครงการ ได้รับการจัดสรรงบประมาณวิจัยอยู่กรอบวงเงินงบประมาณ 300,001–500,000 บาท/ปี โดยมีรายละเอียดของผลผลิตจากงานวิจัย ซึ่งเป็นไปตามที่ระบุไว้ตามประกาศมหาวิทยาลัยฯ ดังนี้

**ตารางที่ 2** เป้าหมายผลผลิตงานวิจัย (output) ของโครงการวิจัย ตามประกาศมหาวิทยาลัย

| งบประมาณวิจัย | ผลผลิต (output) |
|---|---|
| 300,0001 ถึง 500,000 บาทต่อปี | 1. บทความวิจัย ต้องได้รับการตีพิมพ์เผยแพร่บทความวิจัยฉบับสมบูรณ์ในเอกสารสืบเนื่องจากการประชุมวิชาการระดับนานาชาติ (proceeding) หรือผลงานวิจัยที่ตีพิมพ์ในวารสารวิชาการระชาติหรือนานาชาติ ที่มีระบบตรวจสอบคุณภาพของต้นฉบับ (peer review) ที่ปรากฏในฐานข้อมูล TCI กลุ่มที่ 1 จำนวนอย่างน้อย 1 บทความหรือสูงกว่า |
| | 2. สิ่งประดิษฐ์หรือนวัตกรรม ต้องนำไปจดทรัพย์สินทางปัญญา จำนวนอย่างน้อย 1 ผลงาน |

3.7.3 สรุปรายละเอียดการส่งบทความวิจัยเพื่อตีพิมพ์ในวารสารวิชาการ ตามกรอบวงเงินงบประมาณที่ได้รับจัดสรรในแต่ละปี ดังนี้

**ตารางที่ 3** รายละเอียดข้อมูลการตีพิมพ์เผยแพร่บทความวิจัย ประจำปี 2561

| ผลผลิตตามกรอบวงเงิน | ผลผลิตที่เกิดขึ้นจริง |
|---|---|
| - ผลงานวิจัยที่ตีพิมพ์ในวารสารวิชาการระดับชาติหรือนานาชาติ ที่มีระบบตรวจสอบคุณภาพของต้นฉบับ (peer review) ที่ปรากฏในฐานข้อมูล TCI กลุ่มที่ 1 จำนวน อย่างน้อย 1 บทความหรือสูงกว่า | **1. ชื่อโครงการวิจัย:** การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการแพร่ระบาดของโรคพืชสำคัญต่อผลผลิตส้มจุก (*Citrus reticulate* Blanco) และแนวทางในการป้องกันกำจัดโรค<br>**ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัย:** ผศ.ดร.ชัยสิทธิ์ ปรีชา<br>**ชื่อบทความวิจัย:** Screening Fungicides and Antagonist to Control of Root and Foot Rot Disease of Neck orange Caused by *Phytophthora parasitica*<br>**ชื่อผู้แต่ง/คณะผู้แต่ง:** Chaisit Preecha, Pornsil seepheak and Orapin Rattanasupa<br>**สถานะผลผลิต :** อยู่ระหว่างดำเนินการ<br>**ชื่อวารสาร :** International Journal of Agricultural Technology<br>**ฐานข้อมูลของวารสาร :** TCI กลุ่มที่ 1 |
| | **2. ชื่อโครงการวิจัย:** การจัดการที่เหมาะสมในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูส้มจุกในจังหวัดสงขลา<br>**ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัย:** ผศ.ทิพาวรรรณ ทองเจือ<br>**ชื่อบทความวิจัย:** Comparative Efficacy of Plant Extracts, Petroleum Oil and Insecticides to Control Citrus Leaf-miner (*Phyllocnistis citrella* Stainton) in |

| ผลผลิตตามกรอบวงเงิน | ผลผลิตที่เกิดขึ้นจริง |
|---|---|
| | Neck Orange (*Citrus reticulata* Blanco)<br>**ชื่อผู้แต่ง/คณะผู้แต่ง:** Thongjua, T.and Thongjua, J<br>**สถานะผลผลิต :** อยู่ระหว่างดำเนินการ<br>**ชื่อวารสาร :** International Journal of Agricultural Technology<br>**ฐานข้อมูลของวารสาร :** TCI กลุ่มที่ 1 |
| | **3. ชื่อโครงการวิจัย:** การเจริญเติบโตและการพัฒนาของผลส้มจุกที่เหมาะสมต่อการเก็บเกี่ยวภายใต้สภาพภูมิอากาศที่แตกต่างกัน<br>**ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัย:** ผศ.ดร.สกุลรัตน์ หาญศึก<br>**ชื่อบทความวิจัย:** การเจริญเติบโตและการพัฒนาของผลส้มจุกที่เหมาะสมต่อการเก็บเกี่ยวภายใต้สภาพภูมิอากาศที่แตกต่างกันในรอบปี<br>**ชื่อผู้แต่ง/คณะผู้แต่ง:** สกุลรัตน์ หาญศึก และ สมพร ณ นคร<br>**สถานะผลผลิต :** อยู่ระหว่างดำเนินการ<br>**ชื่อวารสาร :** วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์<br>**ฐานข้อมูลของวารสาร :** TCI กลุ่มที่ 1 |
| | **4. ชื่อโครงการวิจัย:** การจัดการธาตุอาหารพืชที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและคุณภาพผลผลิตส้มจุก<br>**ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัย:** ผศ.อรพิน รัตนสุภา<br>**ชื่อบทความวิจัย:** ผลของปุ๋ยต่อการเจริญเติบโตและคุณภาพผลิตของส้มจุก<br>**ชื่อผู้แต่ง/คณะผู้แต่ง:** อรพิน รัตนสุภา, ชัยสิทธิ์ ปรีชา และเพ็ญศรี ท่องวิถี<br>**สถานะผลผลิต :** อยู่ระหว่างดำเนินการ<br>**ชื่อวารสาร :** วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์<br>**ฐานข้อมูลของวารสาร :** TCI กลุ่มที่ 1 |
| | **5. ชื่อโครงการวิจัย:** การผลิตต้นส้มจุกที่ปลอดโรคด้วยเทคโนโลยีชีวภาพและแนวทางการอนุรักษ์พันธุ์ส้มจุก<br>**ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัย:** ผศ.ดร.สกุลรัตน์ หาญศึก<br>**ชื่อบทความวิจัย:** Effects of BA and NAA on plant regeneration of neck orange (Citrus reticulate Blanco)<br>**ชื่อผู้แต่ง/คณะผู้แต่ง:** Hansuek,.S., Liamnimitr, N. and Khawniam, T. |

| ผลผลิตตามกรอบวงเงิน | ผลผลิตที่เกิดขึ้นจริง |
|---|---|
| | **สถานะผลผลิต :** ได้รับการตีพิมพ์แล้ว<br>**ชื่อวารสาร :** International Journal of Agricultural Technology<br>**ฐานข้อมูลของวารสาร :** TCI กลุ่มที่ 1<br>**ปีที่ตีพิมพ์ :** 2018<br>**ฉบับที่พิมพ์ :** Vol. 14(7)<br>**หน้าที่พิมพ์ :** 1225-1234 |
| | **6. ชื่อโครงการวิจัย:** ลักษณะทางสรีรวิทยาบางประการของส้มจุกบนต้นตอพืชตระกูลส้ม 5 ชนิด<br>**ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัย:** นางสุวรรณษา ชูเชิด<br>**ชื่อบทความวิจัย:** ลักษณะทางสรีรวิทยาบางประการของส้มจุกบนต้นตอพืชตระกูลส้ม 5 ชนิด<br>**ชื่อผู้แต่ง/คณะผู้แต่ง:** สุวรรณษา ชูเชิด นพ ศักดิเศรษฐ์ และสกุลรัตน์ หาญศึก<br>**สถานะผลผลิต :** อยู่ระหว่างดำเนินการ<br>**ชื่อวารสาร :** วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์<br>**ฐานข้อมูลของวารสาร :** TCI กลุ่มที่ 1 |

**ตารางที่ 4** รายละเอียดข้อมูลการตีพิมพ์เผยแพร่บทความวิจัย ประจำปี 2562

| ผลผลิตตามกรอบวงเงิน | ผลผลิตที่เกิดขึ้นจริง |
|---|---|
| - ผลงานวิจัยที่ตีพิมพ์ในวารสารวิชาการระดับชาติหรือนานาชาติ ที่มีระบบตรวจสอบคุณภาพของต้นฉบับ (peer review) ที่ปรากฏในฐานข้อมูล TCI<br>กลุ่มที่ 1 จำนวน อย่างน้อย 1 บทความ<br>หรือสูงกว่า | **1. ชื่อโครงการวิจัย:** การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการแพร่ระบาดของโรคพืชสำคัญต่อผลผลิตส้มจุก (*Citrus reticulate* Blanco) และแนวทางในการป้องกันกำจัดโรค<br>**ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัย:** ผศ.ดร.ชัยสิทธิ์ ปรีชา<br>**ชื่อบทความวิจัย:** Diagnosis of Tristeza and Greening on Neck Orange<br>**ชื่อผู้แต่ง/คณะผู้แต่ง:** Chaisit Preecha, Pornsil seepheak and Orapin Rattanasupa<br>**สถานะผลผลิต :** อยู่ระหว่างดำเนินการ<br>**ชื่อวารสาร :** International Journal of Agricultural |
| | **2. ชื่อโครงการวิจัย:** การจัดการที่เหมาะสมในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูส้มจุกในจังหวัดสงขลา<br>**ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัย:** ผศ.ทิพาวรรรณ ทองเจือ |

| ผลผลิตตามกรอบวงเงิน | ผลผลิตที่เกิดขึ้นจริง |
|---|---|
| | **ชื่อบทความวิจัย:** Comparative Efficacy of Plant Extracts, Petroleum Oil and Insecticides to Control Citrus Leaf-miner (*Phyllocnistis citrella* Stainton) in Neck Orange (*Citrus reticulata* Blanco)<br>**ชื่อผู้แต่ง/คณะผู้แต่ง:** Thongjua, T. and Thongjua, J.<br>**สถานะผลผลิต :** รอการตีพิมพ์<br>**ชื่อวารสาร :** International Journal of Agricultural Technology<br>**ฐานข้อมูลของวารสาร :** TCI 1 |
| | **3. ชื่อโครงการวิจัย:** การเจริญเติบโตและการพัฒนาของผลส้มจุกที่เหมาะสมต่อการเก็บเกี่ยวภายใต้สภาพภูมิอากาศที่แตกต่างกัน<br>**ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัย:** ผศ.ดร.สกุลรัตน์ หาญศึก<br>**ชื่อบทความวิจัย:** Fruit Growth and Development of Neck Orange at the Optimal Time for Harvesting under the Different Period of Climate<br>**ชื่อผู้แต่ง/คณะผู้แต่ง:** Hansuek, S. and Na Nakorn, S.<br>**สถานะผลผลิต :** รอการตีพิมพ์<br>**ชื่อวารสาร :** International Journal of Agricultural Technology<br>**ฐานข้อมูลของวารสาร :** TCI กลุ่มที่ 1 /Scopus<br>**ปีที่ตีพิมพ์ :** 2018<br>**ฉบับที่พิมพ์ :** Vol. 14(7)<br>**หน้าที่พิมพ์ :** 1225-1234 |
| | **4. ชื่อโครงการวิจัย:** การจัดการธาตุอาหารพืชที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและคุณภาพผลผลิตส้มจุก<br>**ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัย:** ผศ.ดร.ชัยสิทธิ์ ปรีชา<br>**ชื่อบทความวิจัย:**<br>**ชื่อผู้แต่ง/คณะผู้แต่ง:** ชัยสิทธิ์ ปรีชา, อรพิน รัตนสุภา และเพ็ญศรี ท่องวิถี<br>**สถานะผลผลิต :** อยู่ระหว่างดำเนินการ<br>**ชื่อวารสาร :** วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์ |
| | **5. ชื่อโครงการวิจัย:** การผลิตต้นส้มจุกที่ปลอดโรคด้วยเทคโนโลยีชีวภาพและแนวทางการอนุรักษ์พันธุ์ส้มจุก<br>**ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัย:** ผศ.ดร.สกุลรัตน์ หาญศึก |

| ผลผลิตตามกรอบวงเงิน | ผลผลิตที่เกิดขึ้นจริง |
|---|---|
| | **ชื่อบทความวิจัย:**<br>**ชื่อผู้แต่ง/คณะผู้แต่ง:**<br>**สถานะผลผลิต :** รอการตีพิมพ์<br>**ชื่อวารสาร :**<br>**ฐานข้อมูลของวารสาร :** |
| | **6. ชื่อโครงการวิจัย:** ลักษณะทางสรีรวิทยาบางประการของส้มจุกบนต้นตอพืชตระกูลส้ม 5 ชนิด<br>**ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัย:** นางสุวรรณษา ชูเชิด<br>**ชื่อบทความวิจัย:**<br>**ชื่อผู้แต่ง/คณะผู้แต่ง:** สุวรรณษา ชูเชิด นพ ศักดิเศรษฐ์ และสกุลรัตน์ หาญศึก<br>**สถานะผลผลิต :** อยู่ระหว่างดำเนินการ<br>**ชื่อวารสาร :** วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์ |

# เอกสารอ้างอิง


กรมส่งเสริมการเกษตร. 2546. สถิติการปลูกไม้ผล-ไม้ยืนต้น ปี 2554. กรมส่งเสริมการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ.

กรมส่งเสริมการเกษตร. 2558. สถานการณ์ปลูกส้มจุก ปี 2558 “ส้มจุก”. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา: www. Agriinfo.doae.go.th./year59/plant/rortor/fruit2/somjuk.pdf (23 มิถุนายน 2559)

ชนินทร์ ศิริขันตยกุล จรัสศรี วงศ์กำแหง อภิญญา ศราวุธ ประสพโชค ตันไทย อริญาจูดคง อุดร เจริญแสง. 2551. การพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตและฟื้นฟูส่งเสริมการปลูกส้มจุกในภาคใต้พื้นที่จังหวัดสงขลา.สำนักงานพัฒนาการเกษตร เขตที่ 8. จ.สงขลา.

จำเป็น อ่อนทอง. 2547. คู่มือการวิเคราะห์ดินและพืช. ภาควิชาธรณีศาสตร์คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. สงขลา.

ดารุณี ปุญญพิทักษ์ เยาวภา ตันติวานิช บูรณี พั่ววงษ์แพทย์ และ ณัณฐิมา โฆษิตเจริญกุล. 2553. การสำรวจและจำแนกเชื้อโรคกรีนนิ่งในประเทศไทยด้วยเทคนิคทางอณูชีววิทยา. กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักพัฒนาการอารักขาพืช. หน้า 1858-1862.

นพรัตน์ เหมรัตน์. 2536. การแยกและเพาะเลี้ยงโปรโตพลาสต์ส้มจุก. วิทยานิพนธ์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

นลินี ศิวากรณ์ บูรณี พวงแพทย์ และ เพลินพิศ สงสังข์. 2559. การใช้พืชสมุนไพรเพื่อควบคุมโรคแคงเกอร์ของส้มโอ. กลุ่มวิจัยโรคพืช. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา: http://doa.go.th/research/attachment.php?aid=1092 (23 มิถุนายน 2559).

บุญชนะ วงศ์ชนะ, ชญานุช ตรีพันธ์ และ ศุภลักษณ์ อริยภูชัย. 2557. การเจริญเติบโตและการเปลี่ยนแปลงธาตุอาหารของผลส้มจุก. วารสารแก่นเกษตร 42 ฉบับพิเศษ 3 : 99-104.

พิมพา พงศ์พัฒนบุตร. 2556. การผลิตกิ่งพันธุ์ปลอดโรคของส้มโอ [*Citrus maxima* (Burm.) Merr.] พันธุ์ทับทิมสยาม. วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาโรคพืชวิทยา มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา.

ลัดดาวัลย์ สมเพาะ นิพนธ์ ทวีชัย ศรีเมฆ ชาวโพงพาง อรินทิพย์ ธรรมชัยพิเนต และอำไพวรรณ ภราดร์นุวัฒน์. 2550. การวินิจฉัยโรคทริสเตซ่าและโรคกรีนนิ่งของมะนาวในประเทศไทยโดยใช้เทคนิคพีซีอาร์. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 45. 30 มกราคม – 2 กุมภาพันธ์ 2550. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. หน้า 226-233.

ศูนย์วิจัยพืชยืนต้นและไม้ผลเมืองร้อน. 2559. การเก็บเกี่ยวผลส้มจุก. คณะทรัพยากรธรรมชาติ. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา.

สมศักดิ์ มณีพงศ์. 2556. การจัดการธาตุอาหารเพื่อผลิตส้มโอคุณภาพ. โครงการวิจัยธาตุอาหารเพื่อผลิตส้มโอคุณภาพ สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์, นครศรีธรรมราช.

สันติภาพ รามสูต. 2559. เคล็ดลับปลูก “ส้มจุก” สำเร็จ ฟื้นไม้ผลเมืองใต้สู่เศรษฐกิจ. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา: www.komchadluek.net/new/lifesyle/144562 (23 มิถุนายน 2559).

สำนักงานเกษตรจังหวัดสงขลา. 2546. สถิติการปลูกพืชเศรษฐกิจ. เอกสาร. สำนักงานเกษตรจังหวัดสงขลา. สงขลา.

สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 8. 2553. การพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตและฟื้นฟูส่งเสริมการปลูกส้มจุกในเขตภาคใต้.[ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา: http://www.oard8.go.th (23 มิถุนายน 2559).

สุธาสินี แก้วกันดา และ เกษม สร้อยทอง. 2544. การใช้สารชีวผลิตภัณฑ์ของ *Chaetomium* spp. และ *Trichoderma* spp. ในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่า และโรคแอนแทรคโนสของส้มเขียวหวาน. ภาควิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช สถาบันเทคโนโลยีพระเจ้าจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ.

หฤษฎี ภัทรดิลก พีระศักดิ์ ศรีนิเวศน์ วิทยา สุริยาภณา อเนก ศิลปะพันธุ์ นดา จันทร์อ่อน และนคร สาระคุณ. 2539. วิชาการปรับปรุงพันธุ์และการขยายพันธุ์พืช. เอกสารการสอน. มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช. กรุงเทพฯ.

อิสริยาภรณ์ ดำรงรักษ์. 2558. ธาตุอาหารพืชกับคุณภาพผลผลิตส้มโชกุน. วารสารมหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา 2.1 (2015): 56-74.

Eiras, M., R. Resende, A. Missiaggia and C. Devila. 2001. RT-PCR and dot blot hybridization methods for a universal detection of Tospoviruses. Fitopatologia Brasileira. 26:170-175.

Niblett, C. L., H. Genc, B. Cevik, S. Halbert, L. Brown, G. Nolasco, B. Bonacalza, K. L. Manjunath, V. J. Febres, H. R. Pappu and R. E. Lee. 2000. Progress on strain differentiation of *Citrus tristeza virus* and its application to the epidermiology of citrus tristeza disease. Virus Research. 71:97-106.

Rocha-Pena, M. A., R. E. lee, R. Lastra, C. L. Niblett and F. M. Ochoa-Corona. 1995. *Citrus tristeza virus* and its aphid vector *Toxoptera citricida*. Plant Disease. 79: 437-445.

# ภาคผนวก

# ภาคผนวก ก

# ผลผลิตงานวิจัยที่ได้รับการตีพิมพ์

ISSN: 2630-0613 (Print) 2630-0192 (Online)

# International Journal of Agricultural Technology

Volume 14, No. 7, December 2018

The special issue of conference publication from International Conference on Integration of Science and Technology for Sustainable Development (ICIST), the 7th ICIST2018 in Bali, Indonesia

http://www.ijat-aatsea.com

International Journal of Agricultural Technology 2018 Vol. 14(7): 1225-1234
Available online http://www.ijat-aatsea.com
ISSN: 2630-0613 (Print) 2630-0192 (Online)

# Effects of BA and NAA on plant regeneration of neck orange (*Citrus reticulate* Blanco)

**Hansuek, S.[1*], Liamnimitr, N.[1] and Khawniam, T.[2]**

[1]Faculty of Agriculture, Rajamangala University of Thechnology Srivijaya Nakhon Sri Thammarat Saiyai Campus, Nakhon Sri Thammarat Province, Thailand, 80110; [2]Department of Plant Science, Faculty of Natural Resources, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla Province, Thailand, 90112.

Hansuek, S., Liamnimitr, N. and Khawniam, T. (2018). Effects of BA and NAA on plant regeneration of neck orange (*Citrus reticulate* Blanco). International Journal of Agricultural Technology 14(7): 1225-1234.

**Abstract** Neck orange (*Citrus reticulate* Blanco) is native orange that very popular in southern of Thailand. It had health benefits and also used in many industries of citrus processing. There are expansion of the plantation area to increase the production of sufficient to demand of consumers. The branches are currently not enough to cultivation. This study showed the effect of benzyladenine (BA) and naphthalene acetic acid (NAA) to develop a new plant of Neck orange. The seeds of orange were surface sterilized with sodium hypochlorite and culturing on Murashige and Skoog (MS) medium supplemented with BA (0-2 mg/L) and NAA (0-1 mg/L), 3% sucrose, with and without 0.2% activated charcoal for 6 weeks. The result revealed that MS free medium (without plant growth regulators) gave the highest percentage of germination (83.93 percent). The highest of Shoot length (3.17 cm) were obtain from MS medium containing 0.5 mg/L BA adding activated charcoal, whereas MS medium with 2.0 mg/L BA gave the highest number of shoot (3.33 shoots/seed) and MS medium with 0.5 mg/L NAA, 0.5 mg/L BA adding activated charcoal gave the highest root length (21.30 cm).

**Keywords:** Neck Orange, plant growth regulators, plant regeneration

## Introduction

Neck orange (*Citrus reticulata* Blanco) is an economic crop in southern of Thailand. It is very popular in Chana district and another district of Songkhla province and expanded to other areas such as Yala, Nakhon Si Thammarat and Chumphon province (Sujit, 2017). Plants propagation of the species has sexual (seed) and asexual (vegetative plant) such as cuttings, etc., also have tissue culture that can propagate faster and more. The explants are cultured on sterile media (synthesis) and controlled environment such as temperature. Parts of the plant can grow and develop to new complete plantlet (Jantaratin, 2013). The area of citrus plantation was changed to other economic crops, causing the area

[*]**Corresponding Author:** Hansuek, S. ; **Email:** sakulrat_s@hotmail.co.th

of citrus to decrease until it became extinct, while the market was in high demand but yield was not enough. The rapid spread of citrus to the death of a large number of plants until lost from native area by disease virus and greening bacterium which is a major producer of citrus (George *et al*., 2008). Moreover, plant regeneration by tissue culture methods and genetic transformation has been shown to be a powerful strategy for cultivar improvement (khan *et al*., 2009). Thus, this experiment showed an efficient protocol for *in vitro* plantlet is successful micropropagation or genetic transformation procedure. The plants have a capacity to generate whole plant from any cell/explant (Perez-Torner*oet al*., 2010; Tallon *et al*., 2013). It also relates to type of plant growth regulators (PGRs) such as an auxin and cytokinins ratio to development of the tissue culture (Te-chato and Nooduang, 2003; Nooduang, 1998; Kaweeta, 1998). Savita *et al*. (2011) reported that tissue culture of lemon by seed and then callus induction from cotyledons on MS medium 2.0 mg/L 2,4-dichlorophenoxy acetic acid (2,4-D) and 0.75 mg/L benzyladenine (BA) gave the highest callus induction (83%). Shoot induction on MS supplemented with 3.0 mg/L BA gave the highest shoot induction (87.50%) and root induction (100%) obtains from MS supplemented with 2 mg/L NAA. Plant regeneration of Mexican lime and Mandarin from stem culture of seedlings on MS medium supplemented with 3.0 mg/L BA and 0.5 mg/L NAA gave the highest shoot induction at 96% and 88%, respectively (Perez and Alejo, 1997). Shawkat and Mirza (2006) reported that tissue culture from root, leaf, cotyledon and stem of lemon seedlings on MS medium supplemented with 1.5 mg/L NAA showed that stem culture gave the highest callus induction (92%), shoot induction (70%) on MS medium supplemented with 3.0 mg/L BA and transfer to MS medium supplemented with 0.5 mg/L NAA gave the highest root induction (70%). The aims of this study were to evaluate the possibility of *in vitro* plant regeneration of neck orange from seed and effect of plant growth regulator.

**Materials and methods**

Fruit of neck orange (*Citrus reticulate* Blanco) were collected from orchard in Chana district, Songkhla province, Thailand (Fig. 1A). Seeds (Fig. 1B) were washed with under running tap water. The seeds were sterilized by immersion in 70% ethanol for 30 to 45 seconds and then immersed in 20% of sodium hypochlorite together with1-2 drops of Tween-20 for 20 minutes, respectively. The seeds were rinsing 3 times with sterilized distilled water under laminar air flow. Then cut the seed coat and culture on MS medium supplemented with various concentrations (0, 0.5, 1.0, 1.5 and 2.0 mg/L) of BA and (0, 0.5, and 1.0 mg/L) of NAA, 3% sucrose, with and without 0.2%

International Journal of Agricultural Technology 2018 Vol. 14(7): 1225-1234

activated charcoal. The pH of MS medium was adjusted to 5.7 with 1 N NaOH or HCl and autoclaved at 121 ˚C with for 15 min. After that the cultures were kept under controlled environment at 27±2 ˚C under a 14-h photoperiod of 25 µmol/$m^2s^1$ irradiance provided by cool white fluorescent. The emergence of shoot number and percentage of germination were recorded. The experiment with factorial in completely randomized design (CRD) with 10 replicates was performed. Percentage of germination, number of shoot, shoots and root length were recorded after culturing for 6 weeks. Data were analyzed by ANOVA. Means were separated by using Duncan's multiple range tests (DMRT) at the 0.01 of probability. The F-test showed significant differences among means.

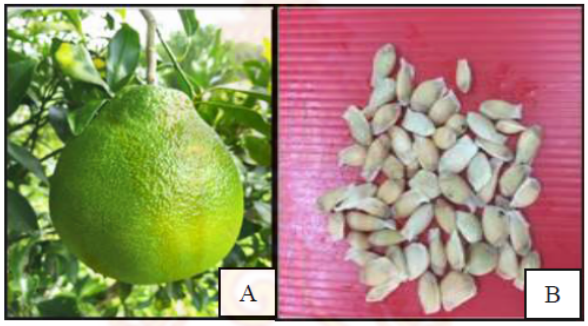



**Figure 1.** Characteristic of neck orange (*Citrus reticulata* Blanco) (A) and their seed (B)

**Results**

Seeds were placed on MS medium containing BA either alone or combination with NAA for seed germination. The faster response was recorded on explant cultured on media supplemented with only BA. After 1 week of culture, the seed explants swelled after two weeks and adventitious shoots were developed in all disinfectant. The development of germinated neck orange after cultured for 6 weeks was showed in Fig. 2.

After cultured for 6 weeks, the results showed that MS medium without plant growth regulator and activated charcoal gave the highest percentage of germination at 83.93%, while the addition of activated charcoal gave the highest germination at 80.08% (Table 1). Media containing only BA gave the higher germination than BA and NAA combination. Root occurred in activated charcoal and the characteristics of neck orange germination on MS free medium with and without activated charcoal showed in fig.3.

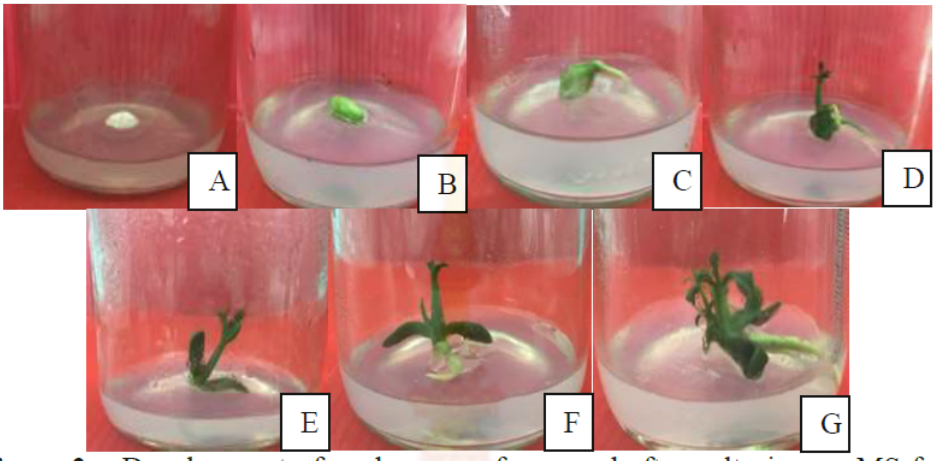



**Figure 2**. Development of neck orange from seed after culturing on MS free medium without activated charcoal for 6 weeks (bar = 0.5 cm). A: initiation culture B: after cultured for 1 week C: after cultured for 2 weeks, D: after cultured for 3 weeks E: after cultured for 4 weeks F: after cultured for 5 weeks G: after cultured for 6 weeks

Number of shoots, MS medium with 2.0 mg/L BA gave the highest number of shoots (3.33 shoots per seed) (Table 2), while MS medium containing 2.0 mg/L BA adding activated charcoal gave the number of shoots (1.22 shoots per seed). In this study clear that BA at the concentration of 2.0 mg/L gave the affect effecting on number of shoot. Number of shoot occurred on different various concentration of BA and NAA showed in fig.4.

For shoot length, the grater shoot length were obtain from MS medium supplemented with 0.5 mg/L BA adding activated charcoal (3.17 cm.), while MS free medium and without activated charcoal gave the shoot length (2.88 cm.) (Table 3). Overall, the shoot lengths were greater in treatment adding activated charcoal than without activated charcoal (Fig. 5). In this result showed that plant growth regulator combination with activated charcoal gave the effect on shoot length.

It is clears that the experiment data to MS medium supplemented with 0.5 mg/L BA, 0.5 mg/L NAA and activated charcoal gave the highest root length (21.30 cm) (Table 4), while the MS medium with 0.5 mg/L BA and 1.0 mg/L NAA gave the root length (8.22 cm) (Fig. 6). But the increase NAA did not promote the root length: there were downward trends of 1.46 to 3.61 cm, and root was more slender. The root obtained from media with activated charcoal was small and long, besides it appeared that white and healthy. On the other hand, Media without activated charcoal was big, thick and short.

International Journal of Agricultural Technology 2018 Vol. 14(7): 1225-1234

**Table 1.** Germination percentage of neck orange after cultured on MS medium supplemented with various concentration of BA and NAA for 6 weeks

| Culture Medium | Percentage of germination (%) | |
|---|---|---|
| | activated charcoal | without activated charcoal |
| 1. MS Free | 80.08a | 83.93a |
| 2. MS+0.5BA | 62.45g | 62.97h |
| 3. MS+1.0BA | 75.33c | 76.16c |
| 4. MS+1.5BA | 62.67g | 66.87g |
| 5. MS+2.0BA | 78.55b | 80.53b |
| 6. MS+0.5 NAA+0.5BA | 71.57e | 77.11d |
| 7. MS+0.5NAA+1.0BA | 44.36k | 44.85J |
| 8. MS+0.5NAA+1.5BA | 69.67f | 70.83f |
| 9. MS+0.5 NAA+2.0BA | 73.33d | 75.67cd |
| 10. MS+1.0NAA+0.5BA | 60.64h | 66.77g |
| 11. MS+1.0NAA+1.0BA | 45.53j | 50.51i |
| 12. MS+1.0NAA+1.5BA | 54.97i | 66.88g |
| 13. MS+1.0NAA+2.0BA | 70.30f | 71.63e |
| F-test | ** | ** |
| C.V. (%) | 10.46 | 7.05 |

Mean followed by the same letter within the column are not significantly different at P≤0.01 according to DMRT.

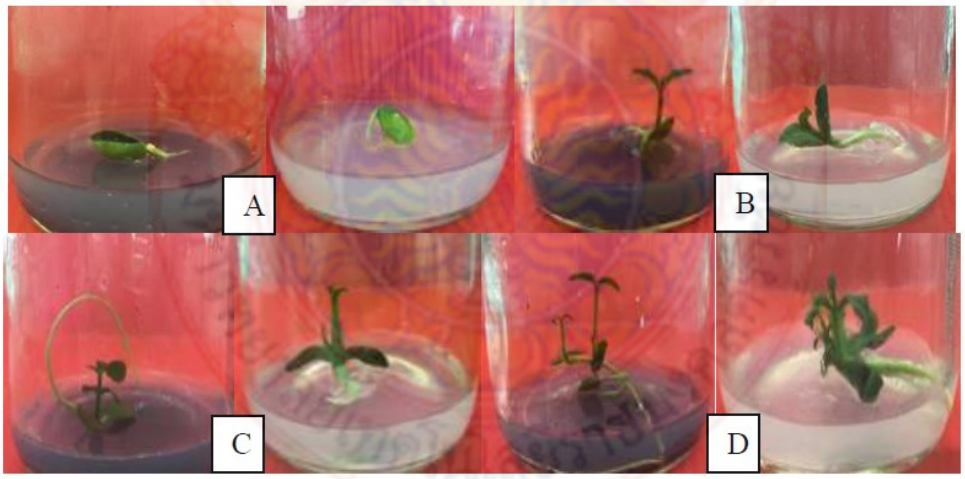



**Figure 3.** Germination of neck orange on MS medium without plant growth regulator, with and without activated charcoal for 6 weeks (bar = 0.5 cm). A: after cultured for 2 weeks B: after cultured for 4 weeks, C: after cultured for 5 weeks, D: after cultured for 6 weeks

**Table 2.** Shoots number of neck orange after cultured on MS medium supplemented with various concentration of BA and NAA for 6 weeks

| Culture Media | No. of shoot (shoot/seed) | |
|---|---|---|
| | activated charcoal | without activated charcoal |
| 1. MS Free | 1.00c | 1.33e |
| 2. MS+0.5BA | 1.22abc | 1.44e |
| 3. MS+1.0BA | 1.33ab | 2.56cd |
| 4. MS+1.5BA | 1.44ab | 1.44e |
| 5. MS+2.0BA | 1.22abc | 3.33a |
| 6. MS+0.5 NAA+0.5BA | 1.11bc | 2.44d |
| 7. MS+0.5NAA+1.0BA | 1.11bc | 1.56e |
| 8. MS+0.5NAA+1.5BA | 1.11bc | 2.67bcd |
| 9. MS+0.5 NAA+2.0BA | 1.0c | 3.00ab |
| 10. MS+1.0NAA+0.5BA | 1.22abc | 2.78bcd |
| 11. MS+1.0NAA+1.0BA | 1.33abc | 2.89bc |
| 12. MS+1.0NAA+1.5BA | 1.22abc | 2.89bc |
| 13. MS+1.0NAA+2.0BA | 1.56a | 3.00ab |
| F-test | ** | ** |
| CV.(%) | 13.59 | 18.39 |

Mean followed by the same letter within the column are not significantly different at P≤0.01 according to DMRT.

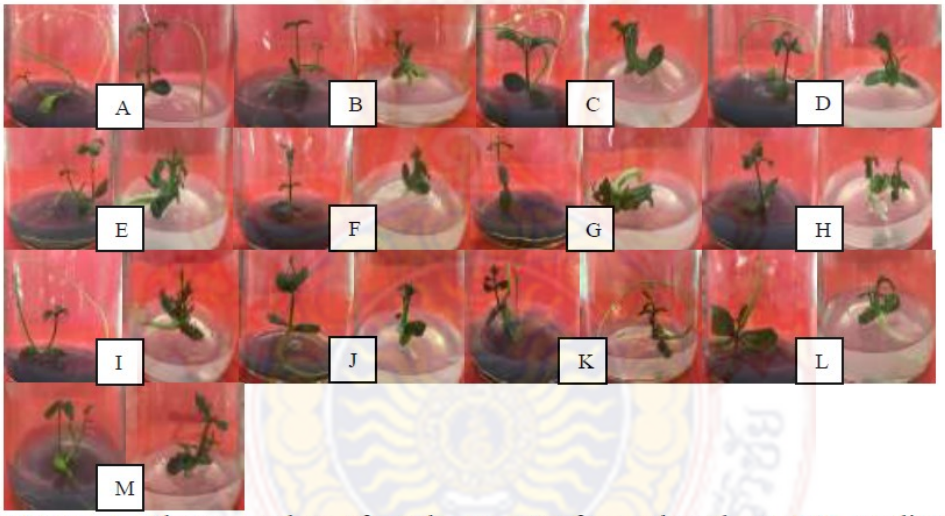



**Figure 4.** Shoot number of neck orange after cultured on MS medium supplemented with various concentration of BA and NAA with and without activated charcoal for 6 week (bar= 0.6 cm). (A) MS free (B) MS+0.5 mg/L BA (C) MS+1.0 mg/L BA (D) MS+1.5 mg/L BA (E) MS+2.0 mg/L BA (F) MS+0.5 mg/L NAA+0.5 mg/L BA (G) MS+0.5 mg/L NAA+1.0 mg/L BA (H) MS+0.5 mg/L NAA+1.5 mg/L BA (I) MS+0.5 mg/L NAA+2.0 mg/L BA (J) MS+1.0 mg/L NAA+0.5 mg/L BA (K) MS+1.0 mg/L NAA+1.0 mg/L BA (L) MS+1.0 mg/L NAA+1.5 mg/L BA (M) MS+1.0 mg/L NAA+2.0 mg/L BA

International Journal of Agricultural Technology 2018 Vol. 14(7): 1225-1234

**Table 3.** Shoot length of neck orange after cultured on MS medium supplemented with various concentrations of BA and NAA for 6 weeks

| Culture Media | Shoot length (cm.) | |
|---|---|---|
| | activated charcoal | without activated charcoal |
| 1. MS Free | 2.26e | 2.88a |
| 2. MS+0.5BA | 3.17a | 1.87c |
| 3. MS+1.0BA | 2.26e | 2.17b |
| 4. MS+1.5BA | 2.67c | 1.31h |
| 5. MS+2.0BA | 2.50d | 1.67e |
| 6. MS+0.5 NAA+0.5BA | 2.70bc | 1.76d |
| 7. MS+0.5NAA+1.0BA | 2.48d | 1.50e |
| 8. MS+0.5NAA+1.5BA | 2.32e | 1.91c |
| 9. MS+0.5 NAA+2.0BA | 2.80b | 1.57f |
| 10. MS+1.0NAA+0.5BA | 2.78bc | 1.72de |
| 11. MS+1.0NAA+1.0BA | 2.50d | 1.29h |
| 12. MS+1.0NAA+1.5BA | 2.72bc | 1.40g |
| 13. MS+1.0NAA+2.0BA | 2.47d | 1.20i |
| F-test | ** | ** |
| C.V. (%) | 5.20 | 5.39 |

Mean followed by the same letter within the column are not significantly different at P≤0.01 according to DMRT.

**Table 4.** Root length of neck orange after cultured on MS medium supplemented with various concentration of BA and NAA for 6 weeks

| Culture Media | Root length (cm.) | |
|---|---|---|
| | activated charcoal | without activated charcoal |
| 1. MS Free | 17.80ef | 4.24d |
| 2. MS+0.5BA | 19.13c | 2.24i |
| 3. MS+1.0BA | 17.11g | 7.21b |
| 4. MS+1.5BA | 17.83e | 5.84c |
| 5. MS+2.0BA | 19.70b | 2.74g |
| 6. MS+0.5 NAA+0.5BA | 21.30a | 2.95f |
| 7. MS+0.5NAA+1.0BA | 5.80k | 2.31hi |
| 8. MS+0.5NAA+1.5BA | 13.10h | 1.76k |
| 9. MS+0.5 NAA+2.0BA | 6.50i | 3.61e |
| 10. MS+1.0NAA+0.5BA | 17.60f | 8.22a |
| 11. MS+1.0NAA+1.0BA | 18.19d | 2.04j |
| 12. MS+1.0NAA+1.5BA | 17.20g | 1.46l |
| 13. MS+1.0NAA+2.0BA | 6.10j | 2.39h |
| F-test | ** | ** |
| C.V. (%) | 6.59 | 9.82 |

Mean followed by the same letter within the column are not significantly different at P≤0.01 according to DMRT.

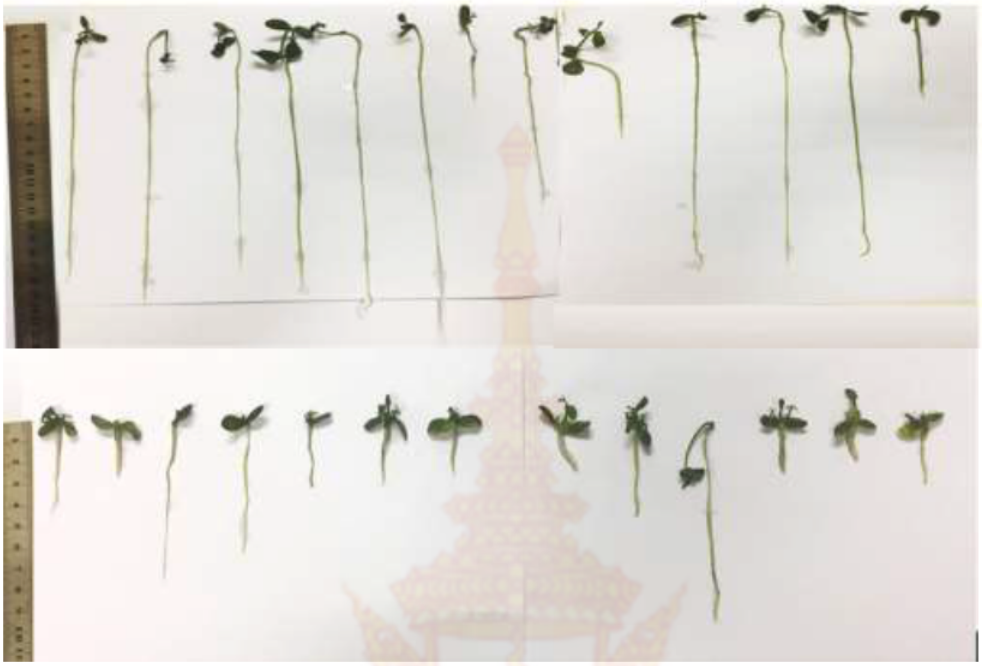


**Figure 6**. Characteristics of neck orange roots after cultured on MS medium supplemented with various concentration of BA and NAA with (A) and without (B) activated charcoal for 6 week (bar = 2 cm)

**Discussion**

Plant growth regulators, auxin and cytokinin, alone or in combination, are important role in development of plant regeneration of neck orange. In addition, different plant growth regulators provide different plant responses. On the other hand, seed germination can be proliferated in MS medium without plant growth regulator, while the addition of plant growth regulator this observation is supported the number of shoot, shoots and root length according to Savita *et al*. (2011) reported that lime seed were cultured on MS medium containing 2.0 mg/L 2,4-D and 0.75 mg/L BA gave the highest percentage of callus (83%) follow by transferred to shoots induction on MS medium supplemented with BA 3.0 mg/L gave the shoot ratio (87.50%) and then subculture on MS supplemented with 2.0 mg/L NAA for root induction gave the root (100%). The result showed that different varieties of plant gave the different respond on plant regeneration. Techaipiyawat (2001) reported that the processing of germinated seeds BA had accumulated within the cell in high doses; BA stimulates cell division, lateral growth and trunk growth. It helps to move the food from the roots to the shoots, so a little BA is enough for germination. In

addition, adventitious roots can develop from alternate tissues under certain conditions. When treated with exogenous auxin and cytokine. According to Datta *et al*. (2007) reported that *in vitro* clonal propagation of *Jatropha curcas* L gave the rate of root induction on MS medium supplemented with 1.0 µM IBA in 2–3 weeks from nodal explants gave the elongation of roots (8.7 ± 1.35 cm) was obtained.

The effects of PGRs on the number of citrus shoots are the high concentration gave the high number of shoots. However, the highest percentage of rooting obtained in the higher concentrations of auxins because they are a powerful growth hormone produced naturally by plants, the root plant showed a weak growth after transferring to soil when compared the root plant without plant growth regulators or low-concentration of auxin.

It concluded that MS medium without plant growth regulator and activated charcoal gave the highest percentage of germination (83.93%). MS medium supplemented with 2.0 mg/L BA gave the highest number of shoots (3.33 shoots per seed). MS medium supplemented with BA 0.5 mg/L adding activated charcoal gave the highest shoot length (3.17 cm.). MS medium supplemented with 0.5 mg/L BA and 0.5 mg/L NAA with activated charcoal gave the highest root length (21.30 cm.)

## Acknowledgment

The authors would like to thank to the Faculty of Agriculture of Agriculture of Rajamangala University of Technology Srivijaya Nakhon Sri Thammarat Saiyai Campus and National Research Council of Thailand (NRCT) for financial support.

## References

Datta, M. M., Jha, T. B. and Mukherjee, P. (2007). In vitro clonal propagation of biodiesel plant (*Jatropha curcas* L.). Current Sciences. 30:1438-1442.

George, E. F., Hall, M. A. and De Klerk, G. J. (2008). Plant Propagation by tissue culture 3rd edition. Plant Research International at Wageningen University, Netherlands.

Jantaratin, P. (2013). The importance of the history and importance of plant tissue culture. Faculty of Agricultural Technology and Innovation at Bangkok Thonburi University, Thailand. pp. 107.

Kaweeta, R. (1998). Role of plant tissues: principles and techniques. Farmer Field Crops, Kasetsart University.

Khan, E. U., Fu, X. Z., Wang, J., Fan, Q. J., Huang, X. S., Zhang, G. N., Shi, J. and Liu, J. H. (2009). Regeneration and characterization of plants derived from leaf in vitro culture of two sweet orange (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) cultivars. Scientia Horticulturae. 120:70-76.

Nooduang, S. (1998). Culture of *Citrus reticulata* Blanco and Acrobatic gene transfer. Master of Science thesis Department of Plant Science. Faculty of Natural Resources at Prince of Songkla University, Thailand.

Perez, M. B. and Alejo, N. O. (1997). *In vitro* plant regeneration of mexican lime and mandarin by direct organogenesis. Horticultural Science. 32:931-934.

Perez-Tornero, O., Tallon, C. I. and Porras, I. (2010). An efficient protocol for micropropagation of lemon (*Citrus limon*) from mature nodal segments. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 100:263-271.

Shawkat, A. and Mirza, B. (2006). Micropropagation of rough lemon (*Citrus jambhiri* Lush.): Effect of explant type and hormone concentration. Acta Botanica Croatica. 65:137-146.

Singh, B., Virk, G. S. and Nagpal, A. K. (2011). An efficient plant regeneration protocol from callus cultures of *Citrus jambhiri* Lush. Physiology and Molecular Biology of Plants 17:161-169.

Sujit, M. (2017). Neck orange of Chana, Songkla province. Technology chaoban. Songkla, Thailand.

Tallon, P. P., Ramirez, R. V. and Short, J. E. (2013). The information artifact in IT governance: toward a theory of information governance. Journal of Management Information Systems. 30:141-178.

Techaipiyawat, S. (2001). Physiology of plants. Department of Botany. Faculty of Science at Kasetsart University, Thailand. pp. 267.

Te-chato, S. and Nooduang, S. (2003). Cultivation of various parts from *Citrus reticulata* Blanco cv. Shogun. Journal of Prince of Songkla University. 21:309-317.

(Received: 7 September 2018, accepted: 31 October 2018)

# Comparative Efficacy of Plant Extracts, Petroleum Oil and Insecticides to Control Citrus Leaf-miner (*Phyllocnistis citrella* Stainton) in Neck Orange (*Citrus reticulata* Blanco)

**Thongjua, T.[1*] and Thongjua, J. [2]**

[1,2]Faculty of Agriculture, Rajamangala University of Technology Srivijaya, Nakhon Si Thammarat, Thailand, 80110

Thongjua, T. and Thongjua, J. (YEAR). Comparative Efficacy of Plant Extracts, Petroleum Oil and Insecticides to Control Citrus Leaf-miner (*Phyllocnistis citrella* Stainton) in Neck Orange (*Citrus reticulata* Blanco). International Journal of Agricultural Technology.X(X): XX-XX

**Abstract** The comparative efficacy of plant extracts, petroleum oil and insecticides to control citrus leaf-miner (*Phyllocnistis citrella* Stainton) on neck orange (*Citrus reticulata* Blanco) for the purpose of evaluated the best method to control citrus leaf-miner in the field.The study was conducted on neck orange orchard, 4-5 years old in Thung Song district, Nakhon Si Thammarat province, Thailand during 18 May to 8 June 2018. The experimental design using RCBD with 4 replications and 6 methods were 1) Thai neem extract 0.1% at the rate of 5 ml/L. 2) tobacco extract at the rate of 30 g/L. 3) petroleum oil 83.9% EC at the rate of 2.50 ml/L. 4) imidacloprid 10% SC at the rate of 0.4 ml /L. 5) cyflutrin 5% EC at the rate of 0.25 ml /L. and 6) control (non-treated). The number of citrus leaf-miner was recorded before and after spraying methods (three-times, one week apart), for calculated the effectiveness method. The result showed that after spraying the 3rd times, imidacloprid was the highest effectiveness method at 83.29% followed by cyflutrin, petroleum oil, tobacco extract and Thai neem extract at 81.46, 78.96, 77.91 and 31.23 %, respectively, compared with control (non-treated)

**Keywords:** plant extracts, petroleum oil, citrus leaf-miner

## Introduction

Neck Orange (*Citrus reticulata* Blanco), is the Southern local citrus in Thailand. Its has fruit knot which different from other citrus fruits. 'Chana district', Songkhla province is the original planting area, in smallholder farmer especially in the group of muslim farmer, multiple cropping or combinations agriculture which many kind of fruits such as longkong, mangoteen, durain banana, coconut, neck orange and raising goats and cows. When the neck orange is popular fruit, its distributed planting area to another district such as Thepha , Saba Yoi, Na Thawi , Hatyai and another province such as Yala and Chumporn. In the past, plant area was approximately 51,000 rai ( 800 hectare). But from the

*** Corresponding author**: Tipawan, T.; Kai_thipawan@hotmail.com

survey data planting area found that the planting area decreased to 1,798 rai ( 286.84 hectare) ( DOAE, 2003 ). Due to the problem from cultural practices, environments changing, insects outbreak, farmers lacking of knowledge for pest management, which were caused plant death. The citrus leaf miner damage was found that the larvae attack young leaves, making tunnels or "mines" under the surface layer of the leaf, that causes the young leaves to twist and distort. The edges of the leaves curl so that they become narrow, cupped or strap-like but they remain on the tree. The long (50-100 mm) irregular mines fill with air and this gives them a silvery or shiny appearance.

They look like a snail trail over the leaf. Generally, the mines are less common on the upper surface and rarely cross the leaf midrib ( Jackson, 1998) . To prevent from the insects infestation, the farmers chosed insecticide which was the popular method due to easy to buy, convenient to use, fast results and effectivelly. Such methods were following many causing problem, such as dangerous to the sprayer, toxic residues in the products, harmful for beneficial insects, resurgence of insect and insecticide resistance. So that the studied on comparative efficacy of plant extracts, petroleum oil and insecticides to control citrus leaf miner (*Phyllocnistis citrella stainton*) in neck orange ( *Citrus reticulata* Blanco) was done for solving the problem from control citrus leaf miner in the famer's orchard as an alternative way to reduced the using of toxicity of synthetic insecticides.

**Materials and methods**

The experimental was conducted on 4-5 years neck orange famer's orchard in Thungsong, Nakhon Si Thammarat province, Thailand, with RCBD experimental design, 4 replications and 6 treatments, consist of

1. Thai neem extract 0.1% at the rate of 5 ml/L.
2. tobacco extract at the rate of 30 g/L.
3. petroleum oil 83.9% EC at rate of 2.5 ml/L.
4. imidacloprid 10%SC at the rate of 0.4 ml/L.
5. cyflutrin 5% EC at the rate of 0.25 ml/L.
6. control (non-treated)

Random sampling the young shoot of citrus tree with 10 shoot/tree/ replication, the numbers of citrus leaf miner on the young shoots before and after spraying treatments once a week for three times were recorded.

The collected data were analyzed statistically for analysis of variance to determine the significant difference among the treatments and Duncan's Multiple Rang Test (DMRT) were used to differentiate of treatment means. The effectiveness of methods at the last spray compared with the non-treated (control) were calculated by Henderson and Tilton's formula (Henderson and Tilton, 1995).

$$\text{Effectiveness of methods (\%)} = \frac{C2\ T1 - C1\ T2}{C2\ T1} \times 100$$

C1 and C2 : Numbers of citrus leaf miner per tree before and after spraying in non treated (control)

T1 and T2 : Numbers of citrus leaf miner per tree before and after spray in each methods

**Results**

***Mean number of citrus leaf miner per tree before and after spraying***

The results showed that before treatments the mean number of citrus leaf miner per tree of all treatments (methods) were no significantly difference from the control (non-treat) with the mean number of citrus leaf miner were 27.00-34.50 per tree (Table 1)

After spraying treatments the first time (7 day after the first spraying), the mean number of citrus leaf miner was found that the control treatment was the highest

number of citrus leaf miner 31.75 per tree with significantly from thaineem extract treatment with 31.00 per tree. Imidacloprid was the less mean number of citrus leaf miner 13.25 per tree, significantly difference from control(non-treated), but no significantly different from cyflutrin, petroleum oil and tobacco extract treatments, with the numbers of citrus leaf miner were 14.00 14.25 and 17.50 per tree, respectively. (Table 1)

After the second times spray, control treatment was the highest mean number of the citrus leaf miner 31.50 per tree, no significantly differences from thai neem extract treatment with 27.50 per tree, but showed significant different from petroleum oil, imadacloprid, cyflutrin and tobacco extract treatments which mean number of citrus leaf miner were 8.00, 8.25, 8.50 and 13.85 per tree , respectively.

After the third times spray, control treatment was the highest mean number of the citrus leaf miner 24.50 per tree, significantly different compared to all treatments, which imidaclopid, petroleum oil, cyflutrin, tobacco extract and Thai neem extract, the mean numbers of the citrus leaf miner were 4.00, 6.25, 6.85, 12.25 and 17.75 per tree, respectively. (Table 1)

For the effectiveness method (treatment), after the last spray, imadacloprid was the highest effectiveness method at 83.29%, followed by cyflutrin, petroleum oil, tobacco extract and Thai neem extract at 81.46, 78.96, 77.91 and 31.23%, respectively compared with the control(non-treated).

**Table 1** Mean number of citrus leaf miner per tree before and after spray at various interval and the effectiveness of treatments (%) after the last spray compared with control (non-treated)

| Treatment | Rate (ml / 4 liters of water) | Mean number of citrus leaf miner per tree[1/] | | | | effectiveness after the last spray (%) [3/] |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | before spray | 7 days after spray | | | |
| | | | 1[2/] | 2[2/] | 3[2/] | |
| T1: Thai neem extract | 20 | 34.50 | 31.00[a] | 27.50[a] | 17.75[b] | 31.23 |
| T2: tobacco extract | 600 g | 30.25 | 17.50[b] | 13.25[b] | 12.25[b] | 77.91 |
| T3: petroleum oil | 10 | 27.00 | 14.25[b] | 8.00[b] | 6.25[c] | 78.96 |
| T4: imidaclopid | 1.6 | 32.00 | 13.25[b] | 8.25[b] | 4.00[c] | 83.29 |
| T5: cyflutrin | 1 | 34.25 | 14.00[b] | 8.50[b] | 6.25[c] | 81.46 |
| T6: control (non-treated) | - | 32.75 | 31.75[a] | 31.50[a] | 24.50[a] | - |
| F-test | | ns | ** | ** | ** | |
| C.V. (%) | | 22.22 | 18.54 | 21.90 | 22.95 | |

[1/] average from 4 replications ( 10 shoot/tree/ replication)

[ns] non-significantly ($p>0.05$), ** significantly different ($P<0.01$)

[2/] number in the column with same letters not significantly different ($p>0.05$)

[3/] Effectiveness of methods (%) $= \frac{C2\ T1 - C1\ T2}{C2\ T1} \times 100$ (adapted from Handerson and Tilton, 1995)

C1 and C2 : Numbers of citrus leaf miner per tree before and after spray in non-treated control

T1 and T2 : Numbers of citrus leaf miner per tree before and after spray in each methods

## Discussion

From the experimental found that after the third times treatment spraying, synthetics insecticide such as imidaclopid, cyflutrin and petroleum oil, the number of citrus leaf miner were significantly less than the method of plant extract (tobacco extract, Thaineem extract) which the effectiveness of methods were 83.29, 81.46 and 78.69%, respectively, while tobacco extract and thaineem extract methods were 77.91 and 31.23, respectively. Imidaclopid acts on the nervous system, fit in to receptor molecules in the nervous system that normally receive the molecule acetylcholine, irreversibly block acetylcholine receptors, (Caroline, 2011) which show symptoms inactive weakness starves and finally die (Angkana, 2019). Cyflutrin acts as a stomach poison and throught contact with the insect attacking the nerves, causes constant muscle spasms, eventually, the insect is paralysis or strarves (NPIC, 2019)

Petroleum oil acts on contact during egg stage and larva stage. In the egg stage, oil cover egg shell that interrupt $o_2$ diffusion into the egg. In the larva stage which larvar located inside the leaf mine, petroleum oil block the air holes (spiracles) of the body, throught with insects breathe, causing them to die from asphaxiation, disturb laying and feeding of adults (Rut, 1998).

Thai neem extract effects on insect, such as antifeeddant, growth retardant, progeny development disrupting, and oviposition deterent (Anchalee, 2013). Tobacco contains nicotine, the substance acting as an insecticides by contact and oral. Nicotin, strong toxicity, is wellknow to exert its in secticidal effect by interacting with nicotin acetylcholine receptors (Duke *et.al*, 2010). Because of toxicity of tobacco ($LD_{50}$ 50 mg/kg) and rapidly toxicity more than thaineem extract (LD50>5,000 mg/kg), so that, after the third treatment application the number of citrus-leaf miner were less than the method, Thaineem extract. Thongjua (2002) reported that imidacolprid 10.%SL, cyflutrin 5%EC cabosanfan 20%EC, Tiam oil 100%, petrolium oil 83.9% and Thaineem extract 0.1% were effectiveness methods for controlling citrus leafminer in *Citrus reticulata* Blanco cv. Shogun at 81.84 79.53 75.85 73.29 and 45.73 %, respectively.

Wu *et al*. (2005) reported that the chemical control was effectiveness control measures and their continue used that face negative effect to the natural biological system and led to dramatic resurgences in insect pest outbreak. From this experiment found that petroleum oil and tobacco extract methods were the effectiveness in the some with synthetic insecticides, It is the good way to replace synthetics insecticides with the petroleum oil and plant extract method. For the successful to control insect, many methods are used by integrated pest management, which must be concern about environment, kind of plant, time spraying, quatity of the insect outbreak and the important key factors for the successful are the knowledge and experience of the farmer.

**Acknowledgement**

We thank our Agriculture Faculty and all for the kind comments, suggestions and thank for the fund supported by Office of National Research Council of Thailand (NRCT).With best regards.

**References**

Anchalee, S. (2013). Production and use of neem extracts for the prevention and removal of pests. No. 2. Research and development institute rajamangala university of technology, Thanyaburi, Triple Group Company Limited. Pathum Thani.

Angkana, S. (2019). Neonicotinoids . Department of agriculture. ministry of agriculture and cooperatives. Retrieved from http://doa. go.th/pibai/pibai/n16/v_3-apr/ceaksong.html.

Caroline, C. (2011). Imidacloprid. Journal of Pesticide. 21:1.

Department of Agricultural Extension (DOAE). (2003). Fruit planting statistics - perennial plants, 2002. Department of agricultural extension. Ministry of agriculture and cooperatives. Bangkok.

Duke, S. O., Charles L. Cantrell, Kumudini M. Meepagala, David E. Wedge, Nurhayat Tabanca, and Kevin K. Schrader. 2010. Natural toxins for use in pest management. Toxins. 2(8): 1943–1962.

Henderson, C.F. and Tilton, E.W. (1955). Tests with acaricides against brown wheat mite. Journal of Economic Entomology. 48: 157-161.

Jackson, C.G. (1998). Biological control of insect pest: Southeast Asian Propects. ACTAR Mongraph. No.4. 8 p.

National Pest Information Center (NPIC). 2019. Cyfluthrin: general fact sheet. Oregon state university. 6 p. Retrieved from http://npic.orst. edu/ factsheets/ cyfluthringen.pdf.

Rut Morakot. (1998). General knowledge: Petroleum pesticides. Journal of Entomology and Zoology. 20 (2):219-220.

Thongjua, T. (2002). The biology of orange citrus leaf miner, *Phyllocnistis citrella* Stainton. (Lipidoptera: Phyllocnistidae) and its insecticidal control. Master of science thesis entomology. Faculty of natural resources Prince of Songkla University. Songkhla.

Wu, H., Ito, K. and Shimoi, H. (2005). Identification and characterization of a novel biotin biosynthesis gene in *Saccharomyces cerevisiae*. Applied and Environmental Microbiology. 71 : 6845-55.

# ภาคผนวก ข

## ประมวลภาพการดำเนินงานของชุดโครงการวิจัย

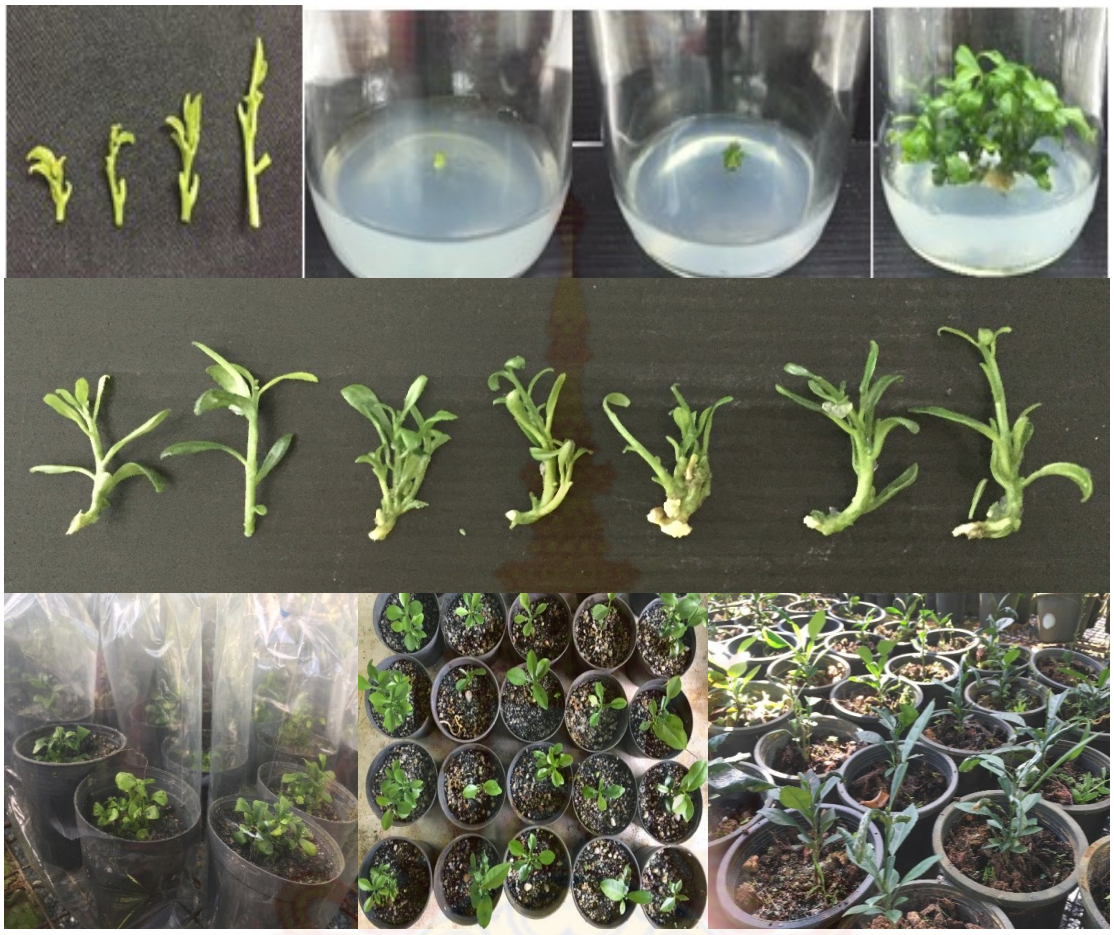
**ภาพภาคผนวกที่ 1** คณะนักวิจัยออกสำรวจและคัดเลือกสวนเกษตรกรที่เข้าร่วมโครงการวิจัย

**ภาพภาคผนวกที่ 2** ประมวลภาพดำเนินงานโครงการย่อยที่ 1

**ภาพภาคผนวกที่** 3 ประมวลภาพดำเนินงานโครงการย่อยที่ 2

**ภาพภาคผนวกที่ 4** ประมวลภาพดำเนินงานโครงการย่อยที่ 3

**ภาพภาคผนวกที่ 5** ประมวลภาพดำเนินงานโครงการย่อยที่ 4



**ภาพภาคผนวกที่ 6** ประมวลภาพดำเนินงานโครงการย่อยที่ 5

**ภาพภาคผนวกที่ 7** ประมวลภาพดำเนินงานโครงการย่อยที่ 6