บทที่ 2
การตรวจเอกสาร

ส้มที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจในปัจจุบันมีถิ่นกำเนิดในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ และอินเดีย (Whiteside, 2000) ส้มเจริญเติบโตได้ดีในเขตร้อนถึงกึ่งร้อนรวมทั้งเขตแห้งแล้ง และที่มีความชื้นสูง พืชในสกุล *Citrus* เป็นสมาชิกในพืชตระกูล Rutaceae จำแนกได้เป็น 4 กลุ่มที่สำคัญ ได้แก่ กลุ่มส้มเกลี้ยง (orange) กลุ่มส้มเปลือกล่อน (mandarins) กลุ่มส้มโอ และเกรฟฟรุต (pummelos and grapefruits) และกลุ่มส้มที่มีรสเปรี้ยว (common acid members) นอกจากนี้ยังมีพืชที่อยู่ในสกุลใกล้เคียงที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจด้วย เช่นกลุ่มกัมควอท (*Fortunella* sp.) และกลุ่มของส้มสามใบ (trifoliate orange; *Poncirus trifoliata*)(รวี, 2542)

ส้มเขียวหวาน (*Citrus reticulata* Blanco) จัดอยู่ในกลุ่มส้มเปลือกล่อน หรือแมนดาริน (อำไพวรรณ และคณะ, 2542) ชาวจีนเป็นผู้นำเข้ามาปลูกในประเทศไทย เมื่อปีพ.ศ. 2410 (อำไพวรรณ และคณะ, 2541) พื้นที่ปลูกส้มเขียวหวานทั่วประเทศในปี 2545 มีจำนวน 268,712 ไร่ แบ่งเป็นพื้นที่ที่ให้ผลผลิต 160,079 ไร่ และพื้นที่ที่ยังไม่ให้ผลผลิต 108,633 ไร่ (สำนักส่งเสริมและพัฒนาการเกษตร, 2545)

ส้มโชกุน คือส้มเปลือกล่อนในภาคเหนือเรียกว่าส้มสายน้ำผึ้ง ส่วนภาคใต้ และภาคอื่น ๆ เรียกว่าส้มโชกุน ส้มชนิดนี้ได้รับความนิยมในการบริโภคมากเนื่องจากมีรสชาติหวาน อร่อย และมีกลิ่นหอม ปัจจุบันจึงมีการขยายพื้นที่ปลูกเกือบทุกภาคของประเทศมากกว่า 300,000 ไร่ จังหวัดที่มีการปลูกมาก ได้แก่ เชียงใหม่ เชียงราย กำแพงเพชร เพชรบูรณ์ เลย จันทบุรี ตราด ชุมพร สุราษฎร์ธานี กระบี่ ตรัง นครศรีธรรมราช สงขลา และยะลา (อำไพวรรณ และนิพนธ์, 2545)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

2.1 โรคทริสเตซ่า

เป็นโรคที่สำคัญของส้มที่ก่อให้เกิดความเสียหายอย่างรุนแรงกับส้มทางซีกโลกตะวันตก และทั่วโลกหลังจากเกิดการแพร่ระบาดในแอฟริกาซึ่งต่อมาพบที่อเมริกาใต้ (South America) ในปี 1920 สำหรับโรคทริสเตซ่านี้มีรายงานว่าน่าจะพบครั้งแรกในประเทศจีน (Meisaku, 2002) ในอดีตปัญหาของการปลูกส้มเกิดจากเชื้อรา *Phytophthora* ที่ทำให้เกิดโรครากและโคนเน่าซึ่งต่อมาได้มีการนำเอาส้มที่ติดตาบนต้นส้ม sour orange ที่ต้านทานต่อโรคดังกล่าวมาปลูกแทน แต่หลังจากนั้นไม่นานได้เกิดการระบาดของโรคทริสเตซ่าในส้มที่ติดตาบนต้นส้ม sour orange และทำความ

เสียหายกับต้นส้มอย่างมากในประเทศอาร์เจนติน่า บราซิล และอูรูกวัย โดยมีการรายงานถึงความเสียหายของส้มที่เกิดจากโรคนี้เป็นครั้งแรกในประเทศอาร์เจนติน่าในปี 1930 ซึ่งส้มที่ปลูกในประเทศอาร์เจนติน่าประมาณ 90 เปอร์เซ็นต์เป็นส้มที่ติดตาบนต้นส้ม sour orange ต่อมามีการรายงานที่ประเทศออสเตรเลีย และนิวซีแลนด์ในปี 1940 และในปี 1981 มีรายงานว่าส้มทั่วโลกเกิดความเสียหายจากโรคนี้ทั้งหมดกว่า 50 ล้านต้น (Mooney e*t al*., 1992) สำหรับประเทศไทยพบและมีรายงานเป็นครั้งแรกเมื่อปีพ.ศ. 2515 (ไมตรี, 2540)

เชื้อไวรัสทริสเตซ่า เป็นไวรัสในกลุ่ม closterovirus มีรูปร่างยาวแบบ flexuous rod มีขนาด 11 x 2,000 นาโนเมตร และมีจีโนมเป็นแบบ single-stranded RNA โดยที่บริเวณ 5′ จะแตกต่างกันขึ้นกับสายพันธุ์ของเชื้อ (ภาพที่ 1) เชื้อไวรัสมีหลายสายพันธุ์ทั้งสายพันธุ์รุนแรง (severe strains) และไม่รุนแรง (mild strains) อาศัยอยู่ในท่ออาหาร และรบกวนระบบการลำเลียงภายในต้นส้ม (Roberts *et al.*, 2001; Lee and Bar-Joseph, 2000) เชื้อไวรัสเข้าทำลาย และเพิ่มปริมาณได้ดีที่อุณหภูมิ 20-25 องศาเซลเซียส (Meisaku, 2002) และสามารถแพร่ระบาดได้โดยติดไปกับตาหรือกิ่งพันธุ์ และเพลี้ยอ่อนซึ่งเป็นแมลงพาหะ แต่ไม่ถ่ายทอดโรคโดยเมล็ด และอุปกรณ์เครื่องมือ (Robert *et al*., 2001)

โรคทริสเตซ่า สามารถเกิดได้กับส้มทุกพันธุ์รวมทั้งส้มลูกผสม ส้มที่เป็นโรคจะมีอาการที่แตกต่างกันขึ้นกับสายพันธุ์ของเชื้อไวรัส พันธุ์ของส้ม และความเข้ากันได้ของกิ่งพันธุ์กับต้นตอ (Lee and Bar-Joseph, 2000) เชื้อไวรัสสายพันธุ์ไม่รุนแรงจะไม่ทำให้เกิดอาการส่วนสายพันธุ์รุนแรงมัก จะทำให้เกิดอาการเหลือง (seedling yellows) อาการต้นโทรม (decline) หรืออาการร่องปุ่ม (stem pitting) ซึ่งอาการเหล่านี้อาจจะเกิดอย่างใดอย่างหนึ่งหรือเกิดร่วมกัน อาการเหลือง มักเกิดกับต้นส้ม sour orange, Hutsudaidai, lemon, grapefruit, buntan และส้มที่ติดอยู่บนต้นส้ม sour orange ส้มที่เป็นโรคจะเกิดอาการใบเหลืองอย่างรุนแรง ต้นแคระแกรน และตายภายในระยะเวลาไม่นาน ส่วนอาการต้นโทรม เกิดจากการแห้งตายของเซลล์ท่อลำเลียงอาหารบริเวณรอยต่อระหว่างกิ่งพันธุ์ (scion) กับต้นตอ (rootstocks) ทำให้ลำต้นเกิดการรัดตัวคล้ายเข็มขัดการส่งผ่านอาหารไปสู่รากน้อย ต้นส้มจะแคระแกรน ใบเหลือง เหี่ยว กิ่งแห้งตาย ผลมีขนาดเล็ก และตายในที่สุด นอกจากนี้จะพบว่าบริเวณรอยต่อเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล อาการโทรมอาจจะเกิดขึ้นอย่างช้า ๆ หรือเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว โดยอาการโทรมที่เกิดขึ้นอย่างช้า ๆ นั้น จะพบเนื้อไม้บริเวณลำต้นมีลักษณะเป็นร่องปุ่มขนาดเล็กคล้ายรังผึ้ง (honeycombing) บนต้นส้ม sour orange ส่วนอาการโทรมอย่างรวดเร็วจะไม่เกิดร่องปุ่มขนาดเล็ก แต่จะพบรอยขีดสีน้ำตาลบนเนื้อไม้บริเวณรอยต่อ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ระหว่างกิ่งพันธุ์กับต้นตอต่อมาต้นส้มจะเหี่ยว และตายภายในระยะเวลาไม่กี่สัปดาห์ (Brlansky *et al*.,2004) อาการต้นโทรมมักเกิดกับส้มที่ติดตาบนต้นส้ม sour orange, pummelo และ lemon ยกเว้น rough lemon สำหรับอาการร่องปุ่มมักจะทำให้ต้นส้มแคระแกรน ใบเหลือง กิ่งเปราะแตกหักง่าย ลำต้นหรือกิ่งขนาดใหญ่บิดเป็นคลื่นหรือร่องยาวขนานไปตามลำต้นหรือกิ่ง เมื่อเปิดเปลือกตรงบริเวณที่เป็นคลื่นหรือร่องจะพบเนื้อไม้เป็นร่องเว้าลึกลงไป และหากอาการรุนแรงมากจะพบยางสีน้ำตาล ส้ม lime และ grapefriut จะเกิดอาการร่องปุ่มได้ง่ายกว่าส้ม sweet orange ส่วนส้ม mandarin, Rangpur lime, rough lemon และ Volkamer lemon ค่อนข้างทนทาน (Knorr *et al*., 1973; Mooney *et al*.,1992; Robert *et al*., 2001; Meisaku, 2002; Chang and Peterson, 2004)

นอกจากอาการที่กล่าวมาแล้ว อาจพบอาการเส้นใบโปร่งใส (vein claring) ใบเหลืองซีดคล้ายกับอาการขาดธาตุอาหาร ใบมีขนาดเล็ก และหนาผิดปกติ ขอบใบม้วนเข้าคล้ายรูปถ้วย ใบแก่เส้นใบนูนแข็งหรือแตก (corky vein) ซึ่งจะเห็นได้ชัดเจนในมะนาว การแตกยอดใหม่หรือกิ่งก้านลดลง กิ่งแห้งตาย ติดผลมากแต่มีขนาดเล็ก และมักหลุดร่วงง่าย ต้นส้มอาจแสดงอาการของโรคอย่างชัดเจนหรือไม่ชัดเจน และบางครั้งอาจไม่แสดงอาการของโรคเลย สำหรับอาการของโรคบนส้มเขียวหวานไม่ชัดเจนเหมือนกับอาการที่เกิดกับมะนาวจะแสดงอาการทรุดโทรม เจริญเติบโตช้า กิ่งแห้งตาย และใบมีลักษณะคล้ายกับขาดธาตุอาหาร โดยทั่วไปแล้วต้นส้มที่เป็นโรคมักแสดงอาการเมื่ออายุ 2 ปีขึ้นไปหรือหลังจากให้ผลผลิตแล้ว 4- 5 ปี และอาจพบอาการร่องปุ่มตามลำต้นร่วมด้วย ส่วนอาการของโรคบนส้มเกลี้ยง ส้มตรา ส้มโอ คล้ายกับส้มเขียวหวานแต่เชื้อไวรัสจะอยู่แบบแฝงไม่แสดงอาการในระยะแรก เมื่อต้นส้มที่ได้รับเชื้ออ่อนแอหรือให้ผลผลิตมากเกินไปก็จะเกิดอาการอย่างชัดเจน (ไมตรี, 2540; นิพนธ์ และคณะ, 2544)

โรคทริสเตซ่าสามารถถ่ายทอด และแพร่ระบาดได้โดยติดไปกับกิ่งพันธุ์หรือตาพันธุ์ และแมลงพาหะนำโรค โดยเฉพาะอย่างยิ่งเพลี้ยอ่อน *Toxoptera citricidus* ที่มีประสิทธิภาพสูงในการถ่ายทอดเชื้อจากต้นหนึ่งไปยังอีกต้นหนึ่งโดยใช้เวลาเพียงไม่กี่นาที แต่เพลี้ยอ่อนจะสูญเสียความสามารถในการถ่ายทอดโรคภายใน 24 - 48 ชั่วโมงเมื่อไม่ได้รับเชื้อจากต้นที่เป็นโรค โรค ทริสเตซ่าสามารถถ่ายทอดได้ง่าย และมีระยะเวลาพักตัวบนต้นส้มสั้นเพียง 3 เดือนก็จะแสดงอาการ (ไมตรี, 2540; Knorr *et al*., 1973; Robert *et.al*., 2001; Lee *et al*., 2002; Brlansky *et al*.,2004)

การตรวจสอบหรือวินิจฉัยโรคทริสเตซ่าสามารถทำได้หลายวิธีได้แก่ การใช้พืชทดสอบ (indicator plants) เช่นส้ม Mexican lime, Eureka lemon (*C. limon*), sour orange (*C.aurantium*), Madam Vinous orange และ Duncan grapefruit ซึ่งหากเป็นโรคพืชทดสอบจะแสดงอาการเส้นใบ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

โปร่งใส (vein clearing) เส้นใบนูนแข็ง และแตก (corky vein) ใบเหลืองซีด ใบโค้งงอเป็นรูปถ้วย ต้นแคระแกรน หรือเกิดอาการร่องบุ๋มทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของเชื้อไวรัส ส้ม Mexican lime ใช้ตรวจหาเชื้อไวรัสทั้งสายพันธุ์ที่ไม่รุนแรง และสายพันธุ์รุนแรง ส้ม sour orange ใช้ตรวจหาไวรัสสายพันธุ์ที่ทำให้เกิดอาการเหลือง (seedling yellow) ส้ม sweet orange บนต้นตอส้ม sour orange ตรวจหาไวรัสสายพันธุ์ที่ทำให้เกิดอาการต้นโทรม (decline) ส้ม Madam Vinous orange ตรวจหาไวรัสสายพันธุ์ที่ทำให้เกิดอาการร่องบุ๋มบนส้ม sweet orange และ Dancan grapefruit ใช้ตรวจหาเชื้อไวรัสสายพันธุ์ที่ทำให้เกิดอาการร่องบุ๋มบน grapefruit ทั้งนี้การตรวจหาเชื้อไวรัสสายพันธุ์ที่ทำให้เกิดอาการร่องบุ๋มด้วยการใช้พืชทดสอบ จะใช้เวลาประมาณ 10 – 12 เดือน (ไมตรี, 2540; Roberts *et al*., 2001; Meisaku, 2002) เทคนิคทางเซรุ่มวิทยาได้แก่ ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) เป็นวิธีการตรวจสอบเชื้อไวรัส ทริสเตซ่าที่รวดเร็ว โดยใช้แอนติบอดีไปจับกับเชื้อไวรัส ซึ่งแอนติบอดีที่ใช้มี 2 ชนิด ได้แก่ polyclonal antibody ใช้ตรวจหาเชื้อไวรัสทั้งสายพันธุ์รุนแรง และไม่รุนแรง ส่วน monoclonal antibody (MLA-13) ใช้ตรวจหาเฉพาะเชื้อไวรัสสายพันธุ์ Florida ที่ทำให้เกิดอาการต้นโทรมบนส้ม sour orange และสายพันธุ์ที่ทำให้เกิดอาการร่องบุ๋มเท่านั้น ไม่สามารถตรวจหาสายพันธุ์ mild strain ได้ (Roberts *et al*., 2001) นอกจากวิธีที่กล่าวมาแล้วยังมีอีกหลายวิธีที่สามารถตรวจหาเชื้อไวรัสทริสเตซ่าได้ เช่น dot immunobinding assay, Western blot analysis, Tissue blot assay, Polymerase chain reaction (PCR), electron microscopy และ light microscopy (ไมตรี, 2540; Lee and Bar-Joseph, 2000)

รัตนา (2537) ใช้แกมมากลอบูลิน (gamma-glubulin, Ig-G) ที่สกัดจากแอนติเซรัมที่ความเข้มข้น 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และแกมมากลอบูลินปิดฉลากด้วยเอ็นไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเทส (alkaline-phosphatase enzyme-antibody conjugate) เจือจาง 1:1000 ในการตรวจหาเชื้อไวรัสทริสเตซ่าในส้มจุกจากสวนส้มเกษตรกรในอำเภอจะนะ พบว่าวิธีดังกล่าวสามารถตรวจพบเชื้อไวรัสทริสเตซ่าในตัวอย่างส้มจุกที่นำมาตรวจ

Brlansky and Lee (1990) ได้ทำการศึกษาจำนวน inclusion bodies ของส้ม 7 สายพันธุ์ที่เกิดจากเชื้อไวรัสทริสเตซ่า 5 isolates โดยการตัดก้านใบแล้วย้อมด้วย azure A พบว่าจำนวน inclusion bodies มีความสัมพันธ์กับสายพันธุ์ของเชื้อไวรัส และปริมาณไวรัสหลังจากตรวจด้วยวิธี ELISA ซึ่งผลการทดลองดังกล่าวมีแนวโน้มปรากฏชัดเจนในพันธุ์ส้มที่อ่อนแอต่อโรคทริสเตซ่า เช่น *C. aurantifolia*, *C. excelsa*, *C. hystrix* และ *C. sinensis*

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

การควบคุมโรคทริสเตซ่าสามารถทำได้แต่ขึ้นกับการแพร่ระบาด และสายพันธุ์ของเชื้อไวรัส ในพื้นที่ที่ไม่มีโรค การกักกันพืช (quarantine) การใช้ต้นพันธุ์ที่ปลอดโรค การดูแลต้นส้มให้สมบูรณ์แข็งแรง และหมั่นสำรวจโรคเป็นประจำ จะช่วยป้องกันไม่ให้เชื้อเข้าไปในพื้นที่ และหากพบต้นส้มเป็นโรคต้องรีบถอนทำลายก่อนที่จะระบาด ส่วนในพื้นที่ที่พบการระบาดของเชื้อไวรัสสายพันธุ์ไม่รุนแรง และสายพันธุ์ที่ทำให้เกิดอาการต้นโทรมบนต้นตอส้ม sour orange การกักกันพืชจะช่วยป้องกันไม่ให้เชื้อไวรัสสายพันธุ์ที่ทำให้เกิดอาการร่องบุ๋มเข้าไปในพื้นที่ ส่วนการใช้ต้นพันธุ์ที่ปลอดโรค การดูแลต้นส้มให้สมบูรณ์แข็งแรง และการเลือกใช้ต้นตอที่ทนทานต่อโรค เช่นส้ม trifoliate และลูกผสมของส้ม trifoliate จะช่วยป้องกันการเกิดโรคได้ในระยะยาว สำหรับในพื้นที่ที่มีการระบาดของเชื้อไวรัสสายพันธุ์รุนแรง ที่ทำให้เกิดอาการร่องบุ๋มบนต้นตอส้ม sweet orange และ grapefruit หรือสายพันธุ์รุนแรงที่ทำให้เกิดอาการโทรมบนต้นตอที่ทนทานต่อโรค การควบคุมโรคนั้นทำได้ยาก จะต้องมีการควบคุมแมลงพาหะให้มีประสิทธิภาพ เลือกใช้ต้นตอที่ทนทานเช่นส้ม trifoliate, Sunki, Shiikuwasha (*C. desdepressa* Hayata) และส้มลูกผสมเช่นส้ม Troyer citrange, Swingle citromelo หรือเลือกพันธุ์ส้มที่ทนทานต่อโรคเช่น ส้ม mandarins นอกจากนี้การสร้างภูมคุ้มกันหรือภูมิต้านทานให้กับต้นส้ม (mild-strain cross prote) โดยการนำของแมลงพาหะ และลดความเสียหายจากโรคทริสเตซ่าได้สำเร็จในหลายประเทศ เช่นประเทศสหรัฐอเมริกา ประเทศบราซิล และประเทศอิสราเอล (ไมตรี, 2540; Mooney *et al*., 1992; Lee and Bar-Joseph, 2000; Meisaku , 2002)

2.2 โรคกรีนนิ่ง หรือ ฮวงลองบิง (huanlongbin; HLB)

เป็นโรคที่ทำความเสียหายให้กับส้มหลายประเทศในแถบ India, Asia, Southeast Asia, Arabian Peninsula และ Africa (Planck, 1999) และสัณนิษฐานว่าพบในประเทศจีนเมื่อปี 1919 (Timmer *et al*., 2003) โรคกรีนนิ่งมีการรายงานเป็นครั้งแรกในประเทศแอฟริกาใต้ในปี 1937 สำหรับในประเทศไทยพบเมื่อปี 2516 โดยกลุ่มงานวิสาวิทยา กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร โรคกรีนนิ่งมีชื่อเรียกแตกต่างกันในแต่ละประเทศเช่น yellow shoot (huanlongbin) (ประเทศจีน), likubin (ไต้หวัน), leaf mottle (ฟิลิปปินส์), die back (อินเดีย), vein-phloem degeneration (อินโดนีเซีย), yellow branch, blotchy-mottle หรือ greening (South Africa) (ไมตรี, 2540; Lee and Bar-Joseph, 2000)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

โรคกรีนนิ่งแต่เดิมมีการสัณนิฐานว่าเกิดจากเชื้อไวรัสจนกระทั่งปี 1970 จึงพบว่าเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Candidatus* Liberobacter spp. ซึ่งจัดอยู่ใน subdivision alpha-proteobacterial เชื้อจะอาศัยอยู่ภายในท่ออาหารเท่านั้น และไม่สามารถเจริญบนอาหารสังเคราะห์ได้ เชื้อแบคทีเรียกรีนนิ่ง มี 2 สายพันธุ์ได้แก่สายพันธุ์แอฟริกัน (*Cadidatus* Liberobacter africanus) สามารถก่อโรคได้ดีในสภาพที่มีอุณหภูมิต่ำประมาณ 20-25 องศาเซลเซียส (heat sensitive form) และสายพันธุ์เอเชีย (*Candidatus* Liberobacter asiaticus) (ภาพที่ 2) สามารถก่อโรคได้ทั้งในสภาพอากาศเย็น และร้อนที่มีอุณหภูมิตั้งแต่ 27-35 องศาเซลเซียส (heat tolerant form) เชื้อแบคทีเรียกรีนนิ่งมีรูปร่างไม่แน่นอนโดยทั่วไปมีขนาด 350-550 x 600-1,500 นาโนเมตร หนา 20-25 นาโนเมตร มีผนังหุ้ม 2 ชั้น ในระยะเจริญเชื้อจะมีลักษณะเป็นท่อนยาวโค้งงอขนาด 100-250 x 500-2,500 นาโนเมตร เมื่ออายุมากขึ้นรูปร่างจะเป็นแบบทรงกลม (spherical) มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 700-800 นาโนเมตร และเชื้อแบคทีเรียสามารถเพิ่มปริมาณได้ภายในตัวแมลง (Capoor *et al.*,1974; Planck, 1999; Garnier and Bove/, 2000; Su, 2001)

Garnier and Bove/ (2000) รายงานว่ามีการพบเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ใหม่ในพืชตระกูลส้มอีกชนิดหนึ่งคือ Cape chestnut (*Calodendrun capense*) บริเวณ western cape ในประเทศแอฟริกาใต้ แต่ยังไม่มีการยืนยันว่าเชื้อที่พบสามารถทำลายส้มพันธุ์ที่ปลูกเป็นการค้าได้

เชื้อแบคทีเรียกรีนนิ่งสามารถทำให้เกิดโรคได้กับส้มทุกชนิด ทุกพันธุ์ รวมทั้งส้มลูกผสมและพืชที่อยู่ในตระกูลเดียวกับส้ม (ไมตรี, 2542) อาการเริ่มต้นของโรคที่เห็นได้ชัดเจนคือยอดเหลืองซึ่งเป็นที่มาของชื่อ Huanlongbing (yellow dragon disease) อาการนี้มักจะเกิดขึ้นตรงส่วนใดส่วนหนึ่งของต้นก่อนเนื่องจากเชื้อแบคทีเรียเคลื่อนที่ได้ช้าประมาณ 30-50 เซนติเมตรภายใน 12 เดือน (da Graca, 1991) ต่อมาใบจะร่วง และกิ่งแห้งตาย ส้มที่เป็นโรคกรีนนิ่งจะแตกกิ่งน้อย เส้นใบเหลืองบางครั้งพบว่ามีลักษณะนูนแข็ง และแตก ใบจะมีอาการด่างเหลือง ใบอ่อนที่แตกออกมาใหม่จะมีขนาดเล็กเรียวยาว และแข็งคล้ายกับขาดธาตุสังกะสี และแมกนีเซียม ใบแก่มีสีเหลืองปนเขียวระหว่างเส้นกลางใบ และเส้นใบ หากอาการรุนแรงใบจะซีด และมีจุดสีเขียว ผลจะมีขนาดเล็กผิดรูปร่าง การพัฒนาสีไม่สม่ำเสมอซึ่งเป็นที่มาของชื่อ greening เมล็ดลีบ น้ำน้อย ปริมาณกรดสูง และมีรสชาติขม (Capoor *et a.,*1974; Garnier and Bove/, 2000; Su, 2001; Chang and Peterson, 2004)

Schwarz *et al.*(1973) รายงานว่าอาการของโรคกรีนนิ่งใน Southeast Asia และ South Africa จะมีความแตกต่างกันเพราะสภาพอากาศ สายพันธุ์ของส้ม แมลงพาหะ และความรุนแรงของเชื้อแตกต่างกัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

Meisaku *et al*.,(1994); Garnier and Bove/, (2000) รายงานว่าส้มที่แสดงอาการของโรคอย่างรุนแรงได้แก่ส้ม sweet orange, mandarins และลูกผสมของส้ม mandarin ส่วนส้ม grapefriut, Ranpur lime, lemons, calamondin, pummelos, ส้มแป้น และส้ม Ladu ค่อนข้างทนทาน สำหรับส้ม Maxican lime, trifoliate, ลูกผสมของส้ม trifoliate, Avon ever bearing และ rough lemon จัดว่าทนทานต่อโรคนี้

โรคกรีนนิ่งสามารถถ่ายทอดโรคได้โดยติดไปกับตาพันธุ์หรือกิ่งพันธุ์ แต่อัตราการถ่ายทอดโรคไม่แน่นอนเพราะการกระจายตัวของเชื้อในต้นส้มไม่สม่ำเสมอ และถ่ายทอดผ่านแมลงพาหะคือเพลี้ยไก่แจ้ส้มซึ่งมี 2 สายพันธุ์ ได้แก่สายพันธุ์แอฟริกัน (*Trioza erytreae*) ถ่ายทอดเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์แอฟริกัน (*Candidatus* Liberobacter africanus) และสายพันธุ์เอเชีย (*Diaphorina citri* Kuwayama) ถ่ายทอดเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์เอเชีย (*Candidatus* Liberobacter asiaticus (Garnier and Bove/, 2000) เพลี้ยไก่แจ้ที่สามารถถ่ายทอดโรคได้ ได้แก่ ตัวเต็มวัย และตัวอ่อนในระยะสุดท้ายคือ ระยะ 4 และ 5 (da Garca, 1991)

การวินิจฉัยโรคกรีนนิ่งในสภาพสวนมักจะสังเกตุอาการที่เกิดขึ้นบนยอด ใบ และผล ร่วมกับการสำรวจแมลงพาหะ (Roistacher, 1991) แต่อาการดังกล่าวจะไม่แน่นอนเพราะบางครั้งจะมีอาการคล้ายโรคทริสเตซ่า และการขาดธาตุอาหารจึงต้องทำการตรวจหาเชื้อสาเหตุด้วยวิธีอื่นเพื่อยืนยัน เช่นการติดลงบนพืชทดสอบ (indicator plant) เช่นต้นส้ม sweet orange, Orlando tangelo และ Ponkan mandarin ซึ่งถ้าเป็นโรคจะแสดงอาการใบด่าง และมีขนาดเล็กหลังติดนาน 8-12 สัปดาห์ การตรวจหาเชื้อภายในท่ออาหารจากเส้นกลางใบส้มด้วย electron microscopy ปัจจุบันวิธีที่นิยมใช้กันอย่างกว้างขวางคือ เทคนิคทางชีวโมเลกุลเพราะให้ผลที่รวดเร็ว และแม่นยำ เช่น DNA/DNA hybridization เป็นการตรวจหาเชื้อแบคทีเรียโดยใช้โพรบ (probes) ที่เฉพาะเจาะจงต่อดีเอ็นเอของเชื้อ คือ In-2.6 ใช้สำหรับตรวจหาเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์เอเชีย ส่วน AS-1.7 ใช้ตรวจหาเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์แอฟริกัน เทคนิค Polymerase chain reaction (PCR) เป็นวิธีการตรวจหาเชื้อแบคทีเรียโดยใช้ไฟร์เมอร์ (primer) ที่มีลำดับเบสที่เฉพาะเจาะจง ต่อดีเอ็นเอของเชื้อบริเวณ 16S rDNA เช่น OI1/ OA1/ OI2c หรือเฉพาะเจาะจงต่อ ribosomal protein genes คือ A2/ J5 (Garnier and Bove/, 2000)

Sdoodee and Garnett, 1994) ทำการตรวจหาเชื้อแบคทีเรียกรีนนิ่งในส้มด้วยเทคนิคอิมมูโนบรอททิงค์ ที่ผลิตแอนติเซรัมจากเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์แอฟริกา พบว่าแอนติเซรัมที่ใช้สามารถตรวจพบเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ไทยได้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

การควบคุมโรคกรีนนิ่งทำได้หลายวิธีเช่น ไม่นำต้นที่เป็นโรคเข้าไปในพื้นที่โดยเฉพาะพื้นที่ที่มีการระบาดของแมลงพาหะ การเลือกใช้กิ่งพันธุ์หรือต้นพันธุ์ที่ไม่เป็นโรค การควบคุมปริมาณแมลงพาหะด้วยสารป้องกันกำจัดแมลงหรือชีววิธี การลดปริมาณเชื้อที่ติดมากับตาพันธุ์ด้วยการใช้ความร้อน (thermotherapy) และสารปฏิชีวนะ (antibiotics) เช่น tetracycline hydrochloride หรือ penicillin และการลดแหล่งสะสมเชื้อโดยการทำลายต้นที่เป็นโรค (da Graca, 1991; Kapur *et al*.,1999; Garnier and Bove', 2000)

2.3 ต้นตอส้ม

การใช้ต้นตอส้มเริ่มขึ้นหลังการระบาดของโรคไฟทอปเทอร่า *(Phythopthora)* กับส้มที่ปลูกบนเกาะ Azores ในปี 1842 ซึ่งต่อมาจึงได้เปลี่ยนมาใช้การติดตาแทน และพบว่าส้ม sour orange มีความทนทานต่อโรคไฟทอปเทอร่าจนกระทั่งเกิดปัญหาต้นส้มทรุดโทรมในประเทศออสเตรเลีย และแอฟริกาใต้ จึงได้เปลี่ยนมาใช้ส้ม rough lemon เป็นต้นตอแทน และในปี 1946 ได้เกิดการระบาดของโรคทริสเตซ่าในแหล่งปลูกส้มที่มีการใช้ส้ม sour orange เป็นต้นตอทั่วโลกทั้งในแอฟริกาใต้ ออสเตรเลีย อเมริกาใต้ และแคลิฟอร์เนีย ด้วยเหตุนี้จึงได้มีการศึกษาเพื่อหาต้นส้มที่ทนทานต่อโรคทริสเตซ่าเพื่อใช้เป็นต้นตอในหลายประเทศเช่นประเทศบราซิล และประเทศสหรัฐอเมริกา โดยในระยะแรกการวิจัยที่เกี่ยวกับต้นตอส้มทำในส้มไม่กี่ชนิดเท่านั้นได้แก่ส้ม rough orange , sour orange, grapefruit, trifoliate orange, sweet orange และ Cleopatra mandarin และต่อมาจึงมีการศึกษาวิจัยเพื่อหาต้นตอส้มที่มีคุณสมบัติเหมาะสมตามต้องการมากยิ่งขึ้น (รวี, 2540)

การปลูกส้มในต่างประเทศส่วนใหญ่จะใช้ส้มที่ติดตาบนส้มต้นตอ เพราะจะทำให้ส้มมีอายุยืนยาวนานหลายสิบปี และทำให้ส้มที่ติดอยู่บนต้นตอเจริญเติบโตดีเช่นเดียวกัน สำหรับในประเทศไทยนิยมใช้ต้นพันธุ์ที่มาจากการตอนกิ่ง เพราะราคาไม่แพง และสามารถทำได้เอง แต่ต้นส้มจะมีอายุสั้น มักแสดงอาการทรุดโทรม และตายเมื่อมีอายุเพียง 5-7 ปี (อำไพวรรณ และคณะ, 2542)

พันธุ์ส้มที่มีอยู่ในปัจจุบันหลายชนิดสามารถนำมาใช้เป็นต้นตอได้ แต่การเลือกพันธุ์ส้มต้องคำนึงถึงปัจจัยหลายอย่างนอกเหนือจากอายุที่ยืนยาวของต้นส้มได้แก่ การเจริญเติบโต เช่น ผลผลิตต่อต้น ความสมบูรณ์แข็งแรงของต้นส้ม ขนาดต้นส้ม และคุณภาพของผลส้มรวมถึงความเข้ากันได้ของกิ่งพันธุ์กับต้นตอ ความทนทานต่อสภาพแวดล้อม ความทนทานต่อโรค และแมลงซึ่ง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ต้นตอส้มแต่ละชนิดจะแตกต่างกัน และตามความเป็นจริงแล้วไม่มีกิ่งพันธุ์หรือต้นตอพันธุ์ใดจะมีความเหมาะสม และดีที่สุดในทุกด้าน และทุกสภาพแวดล้อม (Castle and Gmitter, 1999)

ส้ม Volkameriana (*Citrus Volkameriana*) เป็นลูกผสมของส้ม lemon ให้ผลผลิตสูง และคุณภาพส้มดี ส้มที่ติดบนต้นส้มชนิดนี้จะทนทานต่อสภาพอากาศเย็น ทนทานต่อโรคราก และโคนเน่า อ่อนแอต่อโรคทริสเตซ่า ส้ม Cleopatra mandarin (*Citrus reticulata*) เป็นส้ม mandarin ชนิดหนึ่ง ส้มที่ติดบนต้นตอนี้จะเจริญเติบโตดีแต่ผลมีขนาดเล็ก และร่วงง่ายเมื่อแก่ ทนทานต่อโรคราก และโคนเน่า และโรคทริสเตซ่า ปรับตัวได้ดีในดินทราย และดินเหนียว เหมาะสำหรับส้ม Temple และส้มลูกผสมของส้ม mandarin เช่น Orlando, Nova, Murcott, Robinson, Sunburst และ Minneola สำหรับส้ม Troyer เป็นลูกผสมของส้ม trifloliate และ Navel เช่นเดียวกับส้ม Carrizo นิยมใช้เป็นต้นตอมากในปัจจุบัน ส้ม Troyer ทนทานต่อโรคราก และโคนเน่า และโรคทริสเตซ่า แต่ไม่ทนต่อดินเค็ม และดินที่มีแคลเซียมสูง ส้มที่ติดตาบนต้นตอชนิดนี้รวมถึงส้ม mandarin จะให้ผลผลิตดีแต่ส้ม mandarin ที่ติดบนต้นตอนี้จะเจริญได้ช้ากว่าต้นตอทำให้เกิดอาการ overgrowth ขึ้นในส่วนของต้นตอซึ่งลักษณะดังกล่าวอาจมีผลต่ออายุของต้นส้ม (Castle and Gmitter, 1999; Davies and Albrigo, 1994)

ส้มจี๊ด (calamondin) สัณนิษฐานว่าเป็นลูกผสมของส้ม kumquat ไม่นิยมใช้เป็นต้อตอสำหรับส้มที่ปลูกเป็นการค้าเพราะจะเกิดรอยพับ (crease) บริเวณรอยต่อระหว่างกิ่งพันธุ์กับต้นตอ ส่วนใหญ่มักปลูกเป็นไม้ประดับ พบครั้งแรกที่ประเทศฟิลิปปินส์ (Castle , 1987)

นอกจากการเลือกต้นตอแล้ว การเลือกกิ่งพันธุ์หรือพันธุ์ส้มที่นำมาติดบนต้นตอก็มีความสำคัญด้วยเช่นเดียวกัน ทั้งนี้พันธุ์ส้มที่จะนำมาติดบนส้มต้นตอนั้นต้องสามารถปรับตัวเข้ากับสภาพภูมิอากาศได้ดี เป็นที่ต้องการของตลาด เหมาะสมกับพื้นที่ปลูก ไม่มีโรคติด และเข้ากันได้ดีกับต้นตอ (Davies and Albrigo, 1994)

Knorr *et al*.,(1973); Meisaku *et al*., (1994) รายงานว่าต้นตอส้มที่ทนทานต่อโรคทริสเตซ่า ได้แก่ส้ม roung lemon, Volkameriana, sweet orange, Cleopatra mandarin, Rangpur lime, trifoliate orange (*Poncirus trifoliata*) และ citumelo ส่วนส้ม Avon ever bearing, rough lemon, ส้มแป้น และส้ม Ladu ค่อนข้างต้านทานต่อโรคกรีนนิ่ง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) เป็นเทคนิคทางด้านภูมิคุ้มกันวิทยาอาศัยหลักการการจับกันอย่างจำเพาะระหว่างแอนติเจน และแอนติบอดี ซึ่งจะทำการติดฉลาก (label) แอนติเจน และแอนติบอดีด้วยเอนไซม์โดยเอนไซม์นี้เมื่อทำปฏิกิริยากับ substrate แล้วจะทำให้เกิดสี วิธีนี้ทำได้ง่าย รวดเร็ว และปลอดภัย แบ่งเป็น 2 ประเภทได้แก่ competitive ELISA ใช้ในการ

วิเคราะห์โดยชุดตรวจสำเร็จรูป (ELISA test kit) และ non-competitive ELISA ซึ่งแบ่งย่อยได้ 2 วิธี คือ Direct ELISA หรือ Sandwich ELISA และ Indirect ELISA ส่วนใหญ่นิยมใช้ในทางการแพทย์ แต่ปัจจุบันเริ่มมีการนำมาใช้ในการตรวจหาเชื้อจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืชมากขึ้น (นภาธร, 2536; รัตนา, 2537)

Polymerase chain reaction (PCR) เป็นเทคนิคสำหรับเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยการสังเคราะห์ดีเอ็นเอสายใหม่จากดีเอ็นเอที่ใช้เป็นต้นแบบ ในสภาพหลอดทดลองภายในระยะเวลาอันสั้น ปฏิกิริยา PCR มี 3 ขั้นตอน และหมุนเวียนต่อเนื่องกันไปภายใต้สภาวะที่เหมาะสมของแต่ละขั้นตอน ขั้นตอน Denaturing เป็นการแยกสายดีเอ็นเอที่เป็นต้นแบบจากสภาพที่เป็นสายคู่ให้เป็นเส้นเดี่ยว ใช้อุณหภูมิสูง 92 – 95 องศาเซลเซียส Annealing เป็นขั้นตอนที่ลดอุณหภูมิลง และจัดให้ไพรเมอร์ (primer) สายสั้น ๆ ที่มีลำดับเบสเป็นคู่สมกับดีเอ็นเอที่เป็นต้นแบบจับคู่กันใช้อุณหภูมิในช่วง 37-60 องศาเซลเซียส และขั้นตอน Extension เป็นการสังเคราะห์ดีเอ็นเอสายใหม่โดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์โพริเมอเรส (DNA polymerase) ที่อุณหภูมิ 72 – 75 องศาเซลเซียส หลังจากเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอต้นแบบแล้วจึงนำดีเอ็นเอที่ได้ซึ่งเรียกว่า PCR product ไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค gel electrophoresis โดยอาศัยกระแสไฟฟ้าเพื่อแยกขนาดของดีเอ็นเอบน agarose gel จากนั้นนำเจลที่ได้ไปย้อมด้วย ethidiumbromide แล้วดูแถบดีเอ็นเอภายใต้แสงอุลตราไวโอเลต (UV) เทียบกับขนาดดีเอ็นเอมาตรฐาน (DNA marker) ปัจจุบันเทคนิค PCR ได้รับการปรับปรุงและพัฒนาจนกระทั่งเป็นที่ยอมรับโดยทั่วไป สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ทั้งงานวิจัยทางชีวโมเลกุล และพันธุวิศวกรรม (พิสสวรรณ, 2540; อังสนา, 2546)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved