

บทที่ 2

ตรวจเอกสาร

พืชตระกูลส้ม (Rutaceae ; Rue Family) มีสมาชิกจำนวน 130 สกุล และมากถึง 1,500 ชนิด พบในเขตร้อน และเขตกึ่งร้อนของซีกโลกเหนือและใต้ ส่วนใหญ่กระจายตัวอยู่ในประเทศ แอฟริกาตอนใต้ และออสเตรเลีย (จตุพรและคณะ, 2547) ส้มเป็นไม้ผลที่มีความสำคัญทาง เศรษฐกิจมากชนิดหนึ่ง โดยทั่วไปนิยมบริโภคทั้งในรูปผลสดและน้ำผลไม้ ตลาดมีความต้องการ เพิ่มมากขึ้นทั้งในด้านที่นำไปบริโภคและแปรรูป และการส่งออกไปยังประเทศเพื่อนบ้าน เช่น มาเลเซีย ออสเตรเลีย สหรัฐอเมริกา แคนาดา ฝรั่งเศส อังกอล ลาว พม่า และศรีลังกา เป็นต้น (อดิเรก, 2542)

ส้มเขียวหวาน (*Citrus reticulata* Blanco) เป็นส้มเปลือกอ่อนที่ปลูกกันอย่างแพร่หลาย ถิ่น กำเนิดอยู่ในประเทศจีน และมีการแพร่กระจายไปยังทวีปอเมริกาและยุโรป จนปัจจุบัน ส้มเขียวหวานเป็นพืชที่ปลูกกันทั่วไปทั้งเขตร้อนและเขตกึ่งร้อน ประวัติการปลูกส้มเขียวหวานใน ประเทศไทยไม่ปรากฏหลักฐานชัดเจน แต่เชื่อว่าชาวจีนเป็นผู้นำเข้ามาปลูกเมื่อประมาณปี พ.ศ. 2400 – 2410 (รวี, 2542) ปัจจุบันพบว่าการปลูกส้มเขียวหวานอย่างกว้างขวางในประเทศไทย แหล่งปลูกส้มเขียวหวานที่สำคัญได้แก่ จังหวัดเชียงราย เชียงใหม่ แพร่ น่าน สุโขทัย กรุงเทพมหานคร ลพบุรี ปทุมธานี ราชบุรี นครปฐม ปทุมธานี สมุทรสาคร นครศรีธรรมราช เป็นต้น ปัจจุบันประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกส้มประมาณ 250,000 – 300,000 ไร่ ผลผลิตรวม 600,000 – 800,000 เมตริกตันต่อปี (อำเภอวรรณและคณะ, 2542) ส้มโชกุน เป็นที่รู้จักกันใน นามของส้มสายน้ำผึ้ง หรือส้มเพชรยะลา จัดอยู่ในส้มเปลือกอ่อนเช่นเดียวกับส้มเขียวหวาน (อภิชาติ, 2545) ปัจจุบันได้รับความนิยมและเป็นที่รู้จักกันอย่างแพร่หลาย เนื่องจากมีรสชาติหวาน แหลม อร่อย และมีกลิ่นหอม ปัจจุบันจึงมีการขยายพื้นที่ปลูกเกือบทุกภาคของประเทศ พื้นที่ปลูก รวมประมาณ มากกว่า 300,000 ไร่ จังหวัดที่สำคัญที่มีการปลูกมากได้แก่ เชียงใหม่ เชียงราย กำแพงเพชร เพชรบูรณ์ เลย จันทบุรี ตราด ชุมพร สุราษฎร์ธานี กระบี่ ตรัง นครศรีธรรมราช สงขลา และยะลา เป็นต้น (อำเภอวรรณ และนิพนธ์, 2545)

การผลิตต้นส้มในปัจจุบันเกษตรกรให้ความสำคัญกับต้นต่อส้มเป็นอย่างมาก กล่าวคือ ต้นต่อส้มมีอิทธิพลต่อความแข็งแรงของต้นส้ม การเคลื่อนย้ายน้ำและธาตุอาหารของระบบราก การ ใช้น้ำและคายน้ำ สมดุลฮอร์โมน และความทนทานต่ออากาศที่หนาวเย็นของกิ่งพันธุ์ดี (scion)

(Strivastava *et al.*, 1999) การเจริญเติบโต การออกดอกติดผล รวมถึงคุณภาพของผลผลิต รวมไปถึงอายุการเก็บรักษาหลังการเก็บเกี่ยว เช่นต้นตอคลีโอพัตราสามารถช่วยให้เก็บรักษาผลผลิตได้ยาวนานกว่า (Economides *et al.*, 1977) สัมที่ขยายพันธุ์เพื่อปลูกเป็นการค้าส่วนใหญ่ในปัจจุบันขยายพันธุ์โดยวิธีการติดตา หรือทาบกิ่งโดยนำสัมพันธุ์ดี (scion) ไปติดตากับต้นตอสัม (rootstock) (Castle *et al.*, 1993) ต้นตอสัมที่มีความเหมาะสมกับกิ่งพันธุ์ดีนั้น จะต้องไม่ก่อให้เกิดความเสียหายหรือผลกระทบใดๆ บริเวณรอยต่อระหว่าง ต้นตอ (stock) และกิ่งพันธุ์ดี (scion) ต้องเข้ากันได้ดี และมีความแข็งแรง ต้นตอจะต้องปลูกง่าย โตเร็ว มีความสามารถในการปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมต่างๆ ได้ดี ให้ผลผลิตสูงและมีคุณภาพ ทนทานต่ออากาศหนาวเย็น ความแห้งแล้ง สภาพน้ำท่วมขัง ดินเค็มและดินด่าง รวมทั้งปริมาณธาตุอาหารในใบสัม ประโยชน์สูงสุดที่ได้จากการปลูกสัมโดยใช้ต้นตอคือ ทนทานต่อโรคและแมลงศัตรูสัม โดยทนทานต่อโรครากเน่าและโคนเน่าที่เกิดจากเชื้อ *Phytophthora* ไล้เดือนฝอย (*Radopholus citrophilus* Huettle.) และโรคทริสเตซ่าที่เกิดจากเชื้อ citrus tristeza virus (Castle *et al.*, 1987)

ในคริสต์ศักราชที่ 5 เป็นระยะแรกที่มีการใช้ต้นตอสัม เพื่อความต้องการขยายพันธุ์ปลูกเป็นหลักโดยวิธีการติดตาและ grafting จนกระทั่งปี ค.ศ. 1842 เกิดการระบาดของโรครากเน่าโคนเน่าที่เกิดจากเชื้อ *Phytophthora* ขึ้นในสัมบนเกาะ Azores ในระยะเวลาต่อมาโรคนี้ได้ถูกตรวจพบทุกประเทศในแถบเมดิเตอร์เรเนียน และทุกแหล่งปลูกสัมทั่วโลก ซึ่งส่งผลให้มีการศึกษาต้นตอที่มีความทนทานมากขึ้น และได้ต้นตอ sour orange (*Citrus aurantium*) แต่พบปัญหาในระยะเวลาต่อมา คือพบอาการต้นทรุดโทรมในออสเตรเลียและแอฟริกาใต้ จึงได้เปลี่ยนมาใช้ต้นตอ Rough lemon (*Citrus jambhiri*) แทน ในปี ค.ศ. 1946 เกิดการระบาดของโรคทริสเตซ่าไวรัสขึ้นในแหล่งปลูกสัมที่มีการใช้ต้นตอ sour orange ไปด้วยทุกแห่งของโลกหลายล้านต้นทั้งในออสเตรเลีย แอฟริกาใต้ อเมริกาใต้ และคาลิฟอร์เนีย ต่อมาจึงได้ศึกษาหาต้นตอสัมที่ทนทานต่อโรคทริสเตซ่าไวรัส ในแหล่งปลูกสัมใหญ่ของโลก โดยในบราซิลใช้ต้นตอ Rangpur lime (*C. limonia*) แทนต้นตอ sour orange และต้นตอ Troyer citrange (*C. sinensis X Poncirus trifoliata*) ในแคลิฟอร์เนีย ซึ่งถือได้ว่าการเกิดโรครากเน่าโคนเน่าที่เกิดจากเชื้อ *Phytophthora* กระตุ้นให้มีการใช้ต้นตอสัมในการปลูกสัม (รวี, 2542)

ลักษณะของต้นตอส้ม (Citrus rootstock)

Troyer citrange (*C. sinensis* X *Poncirus trifoliata*) เป็นต้นตอส้มที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ ได้จากการผสมระหว่าง trifoliolate orange กับ navel sweet orange ให้ต้นส้มมีการเจริญที่ดี ได้มาตรฐาน ผลผลิตสูง ให้ผลขนาดใหญ่และคุณภาพดี สามารถปรับตัวเข้ากับดินได้ทุกสภาพ ยกเว้นดินด่างจัด ต้นส้มมักมีแนวโน้มการขาดธาตุสังกะสี และแมกนีเซียม เช่นเดียวกับส้มบนต้นตอ trifoliolate orange ทนทานต่อโรครากเน่าโคนเน่าที่เกิดจากเชื้อ *Phytophthora* และทริสเตซ่า และทนอากาศหนาวได้ปานกลาง (Castle *et al.*, 1987)

Cleopatra mandarin (*C. reshni*) เป็นต้นตอส้มที่มีการศึกษามากที่สุดชนิดหนึ่ง เป็นต้นตอที่ทนทานต่อโรคทริสเตซ่าไวรัส และ exocortis ทนทานต่อสภาพหนาวเย็น อ่อนแอโรครากเน่าโคนเน่าที่เกิดจากเชื้อ *Phytophthora* และไส้เดือนฝอย (Castle *et al.*, 1987) ให้ต้นที่มีขนาดใหญ่ ผลมีขนาดเล็กแต่คุณภาพดี ผิวบางและเกลี้ยง แต่มักพบปัญหาเรื่องผลแตก สามารถปรับตัวได้ดีในดินหลายประเภท และต้องการความชื้นในดินสูง หรือต้องการน้ำในปริมาณมาก (Wutscher *et al.*, 1979)

Rough lemon (*Citrus jambhiri*) ให้ต้นขนาดใหญ่ แข็งแรง เจริญเติบโตดี และรวดเร็ว อายุยืน ผลมีขนาดใหญ่ ให้ผลผลิตคุณภาพอยู่ในระดับปานกลาง อ่อนแอต่อสภาพหนาวเย็น สามารถปรับตัวเข้ากับดินได้กว้าง ทนทานต่อดินเกลือ และโบรอนในระดับปานกลาง มีระบบรากที่แข็งแรงแต่อ่อนแอต่อ burrowing nematode และโรครากเน่าที่เกิดจากเชื้อ *Phytophthora* และโรค exocortis แต่ทนทานต่อโรคทริสเตซ่า (Castle *et al.*, 1987)

Rangpur lime (*C. limonia*) ให้ต้นขนาดใหญ่ แข็งแรงและผลผลิตสูง ผลมีขนาดปานกลาง ถึงขนาดใหญ่ คุณภาพผลปานกลาง อ่อนแอต่อสภาพหนาวเย็น และโรครากเน่าที่เกิดจากเชื้อ *Phytophthora* รวมทั้ง burrowing nematode มีระบบรากที่แข็งแรง ทนทานต่อโรคทริสเตซ่า แต่อ่อนแอต่อโรค exocortis สามารถปรับตัวเข้ากับดินได้กว้าง (Castle *et al.*, 1987)

Volkamer lemon (*C. volkamerina*) มีต้นกำเนิดในประเทศอิตาลี เป็นพันธุ์ผสมระหว่าง lemon กับ sour orange มีลักษณะคล้ายกับส้มพันธุ์ rough lemon ทนทานต่อสภาพหนาวเย็น ให้ผลผลิตสูง ทนทานต่อโรครากเน่าโคนเน่าที่เกิดจากเชื้อ *Phytophthora paracitica* แต่อ่อนแอต่อเชื้อ *P. citrophthora* และโรคใบไหม้ รวมทั้ง woody gall เช่นเดียวกับต้นตอ rough lemon (Castle *et al.*, 1987) ทนทานต่อสภาพดินเค็มและดินด่างได้ในระดับดี แต่คุณภาพส้มอาจด้อยกว่าต้นตออื่นๆ (Wutscher *et al.*, 1979)

ปัญหาของโรคและแมลงศัตรูส้ม สามารถเกิดกับต้นส้มได้ตั้งแต่ระยะแรกปลูก และเกิดได้ตลอดระยะเวลาของการปลูก บางครั้งความเสียหายอาจเกิดกับผลผลิตจนทำให้ผู้ปลูกไม่ประสบความสำเร็จในการปลูกส้ม โรคส้มเป็นปัญหาที่สำคัญที่ทำความเสียหายให้กับเกษตรกรมากที่สุด โดยเฉพาะโรคกรีนนิงและโรคทริสเตซ่า (อำไพวรรณ และคณะ, 2542)

โรคกรีนนิง

โรคกรีนนิง หรือปัจจุบันเรียกว่า ฮวงหลงบิง (huanglongbin : HLB) ในประเทศไต้หวัน เรียกว่า Likubin ฟิลิปปินส์เรียกว่า leaf mottle yellow ประเทศอินเดียเรียกว่า citrus dieback และอินโดนีเซียเรียกว่า citrus vein phloem degeneration เป็นโรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ *Candidatus Liberobacter* spp. ซึ่งเป็นจีโนสปีส์ใหม่ใน alpha-proteobacterial subdivision อาศัยอยู่ในท่ออาหารของต้นส้ม ไม่สามารถนำมาเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ได้ เชื้อแบคทีเรียชนิดนี้แบ่งได้เป็น 2 สายพันธุ์ได้แก่ สายพันธุ์แอฟริกัน (*Candidatus Liberobacter africanus*) สามารถก่อโรคได้ในสภาพที่มีอุณหภูมิต่ำประมาณ 20-25 °C (heat sensitive African form) และสายพันธุ์เอเชีย (*Candidatus Liberobacter asiaticus*) สามารถก่อโรคได้ในสภาพอากาศที่เย็นและร้อน ที่มีอุณหภูมิตั้งแต่ 25 °C ขึ้นไป (heat sensitive Asian form) (Garnier *et al.*, 2000) และในปี 2004 พบแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคกรีนนิงในประเทศบราซิล คือ *Candidatus Liberobacter americanus* ซึ่งเป็นสายพันธุ์ใหม่ (Teixeira *et al.*, 2004) จากการศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ของ 16S rRNA genes ในปี ค.ศ. 1992 พบว่าเป็นแบคทีเรียพวก filamentous มีรูปร่างหลายแบบ (polymorphic) มีความยาวและขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางไม่แน่นอน (รูปที่ 1) (Villechanoux *et al.*, 1993) โดยแบคทีเรียสาเหตุโรคกรีนนิงสามารถเข้าทำลายพืชตระกูลส้มได้ทุกชนิด ทุกสายพันธุ์รวมถึงพันธุ์ผสม (hybrid) มีรายงานว่าพบโรคนี้ครั้งแรกในประเทศจีนปี ค.ศ. 1925 ต่อมาพบในแอฟริกาใต้ในปี ค.ศ. 1947 ปัจจุบันพบโรคนี้ในเขตร้อนและเขตกึ่งร้อนในทวีปเอเชีย สำหรับประเทศไทยมีรายงานการสำรวจพบโรค และแมลงพาหะเมื่อปี พ.ศ. 2516 มีรายงานว่าระหว่างปี ค.ศ. 1961-1970 พบว่าโรคกรีนนิงทำความเสียหายให้กับส้มในประเทศฟิลิปปินส์ ทำให้ผลผลิตลดลงถึง 60% (Chang *et al.*, 2003) เนื่องจากพบว่าโรคกรีนนิงสามารถถ่ายทอดผ่านการติดตาได้ในประเทศจีนเมื่อปี ค.ศ. 1956 จึงได้มีการเปลี่ยนชื่อสามัญของโรคกรีนนิงเป็น huanglongbin (Garnier *et al.*, 2000) อย่างไรก็ตามมีข้อสังเกตว่าโรคกรีนนิง มีลักษณะอาการของโรคเหมือนหรือคล้ายกับโรคใบแก้ว หรืออาการใบแก้วของส้ม ซึ่งเกิดเนื่องจากการขาดธาตุสังกะสีมากจนแยกความแตกต่างได้ยาก หรือไม่สามารแยกความแตกต่างได้ หากจะอาศัยการสังเกตจากอาการของโรคเพียงประการเดียว จึงต้องอาศัยการวินิจฉัยโรค และวิธีการอื่นๆ ประกอบด้วย เช่นการวิเคราะห์หาปริมาณธาตุสังกะสีในใบส้ม การใช้

เทคนิคทางด้าน molecular เป็นต้น โรคใบแก้วของส้มเป็นโรคที่เกษตรกรและนักวิชาการเกษตร รู้จักมานานพอสมควร ดังปรากฏในบันทึกข้อสังเกตและรายงาน ซึ่งกล่าวถึงความเสียหายที่เกิด ขึ้นกับส้มเขียวหวานที่ปลูกในหลายจังหวัดในประเทศไทย จึงมีแนวโน้มที่เป็นไปได้ว่า โรคใบแก้ว หรืออาการใบแก้วของส้มที่รู้จักกันในอดีตนั้น ในบางกรณีอาจเป็นโรคกรีนนิ่งที่รู้จักในปัจจุบัน หรือการขาดธาตุสังกะสีของส้มอาจมีความสัมพันธ์กับการเข้าทำลาย และการอยู่อาศัยของเชื้อ สาเหตุของโรคกรีนนิ่งที่อาศัยอยู่เฉพาะในท่ออาหารของส้ม (อำไพวรรณและคณะ, 2527)

ลักษณะอาการ

อาการของโรคกรีนนิ่ง เริ่มแรกใบส้มแสดงอาการเหลืองตรงปลายยอดส่วนใดส่วนหนึ่งของต้น เนื่องจากเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเคลื่อนที่อย่างช้าๆ ภายในท่ออาหาร ใบมีสีเหลืองจนถึง เหลืองซีดโดยที่เส้นกลางใบและเส้นแขนงยังคงมีสีเขียวอยู่ เนื้อใบส่วนที่ติดกับเส้นใบอาจจะยังคง มีสีเขียว แต่ในต้นที่เป็นโรครุนแรงใบมีสีเหลืองทั้งใบเหลืออยู่เฉพาะ โคนเส้นกลางใบเท่านั้นที่มีสี เขียว บางครั้งพบอาการใบด่างเป็นแต้มประสีเขียวยกระจ่ายทั่วทั้งใบ ขนาดของใบเล็กลง เรียววาว หนากว่าปกติ และปลายใบชี้ตั้งขึ้น อาการเหล่านี้ปรากฏชัดเจนบนใบยอดหรือใบอ่อน ส่วนใบแก่ที่ เป็นโรคอาจแสดงอาการเส้นใบโปร่งใส ใบดำน และโค้งงอทางด้านหน้าใบ กิ่งแห้งตายจากส่วน ปลาย (dieback) ผลมีขนาดเล็ก และมักร่วงก่อนสุก เปลือกของส้มบางผลมีอาการเป็นแต้มหรือเป็น จ้ำ ๆ สีเขียว เมล็ดลีบ ต้นส้มที่มีการเจริญเติบโตดีหากได้รับเชื้อสาเหตุของโรค จะเริ่มแสดงอาการ จากกิ่งใดกิ่งหนึ่งก่อนแล้วจึงลุกลามไปทั่วต้น ทำให้ต้นโทรมและตายในที่สุด ซึ่งการปรากฏของ อาการของโรคในลักษณะนี้แตกต่างจากโรคใบแก้วในระยะแรกเริ่ม เพราะโรคใบแก้วมักปรากฏ อาการพร้อมๆ กันบนกิ่งทุกกิ่งและปรากฏอาการบนต้นส้มส่วนมากในแปลงปลูกนั้น (Chang *et al.*, 2003)

การถ่ายทอดโรค

การถ่ายทอดโรคกรีนนิ่งสามารถถ่ายทอดผ่านการติดตา (graft transmission) ซึ่งการ ถ่ายทอดเชื้อแบคทีเรีย *Candidatus Liberobacter* spp. ด้วยวิธีการติดตานั้นอัตราการแพร่ระบาดจะ ขึ้นอยู่กับส่วนของพืชที่ใช้ในการติดตา จำนวนตาที่ใช้เป็น inoculum ชนิดของเชื้อสาเหตุ และการ กระจายตัวภายในพืชอาศัยของเชื้อสาเหตุ ในการปลูกเชื้อสาเหตุโรคกรีนนิ่งสายพันธุ์แอฟริกัน (*Candidatus Liberobacter africanus*) จำนวน 1 ตา พบว่าเกิดความแปรปรวนในการเกิดโรคกรีนนิ่ง 0% ถึง 50% ซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อสาเหตุด้วย (Van Vuuren *et al.*, 1993) และในสภาพ ห้องทดลองยังพบว่าเชื้อสาเหตุโรคนี้อาจสามารถถ่ายทอดได้ด้วยกาฝาก (dodder; *Cuscuta campestris*)

ในการถ่ายทอดเชื้อแบคทีเรีย *Liberobacter* ไปยังต้น periwinkle (*Catharanthus roseus*) และยาสูบ (Garnier *et al.*, 1983) นอกจากนี้พาหะที่สำคัญในการถ่ายทอดเชื้อสาเหตุของโรครินนิ่งคือ เพลี้ยไก่อแจ้ (psyllid) ซึ่งทำให้เกิดการแพร่ระบาดของโรครินนิ่งได้อย่างรวดเร็วและกว้างขวาง ซึ่งเพลี้ยไก่อแจ้ *Trioza erytreae* (Del Guercio) เป็นพาหะนำโรครินนิ่งสายพันธุ์แอฟริกัน ซึ่งจะพบแมลงชนิดนี้ในแอฟริกา อราเบีย เม็กซิโก และเกาะบางแห่งในมหาสมุทรอินเดีย ส่วนเพลี้ยไก่อแจ้ที่แพร่กระจายในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ อินเดีย รวมถึงบราซิล คือ *Diaphorina citri* (Kawayama) เป็นพาหะนำโรครินนิ่งสายพันธุ์เอเชีย (Garnier *et al.*, 2000) ทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยสามารถถ่ายทอดโรคได้โดยตัวเต็มวัยใช้ปากแทงเข้าไปในท่อลำเลียงอาหารของต้นส้มเพื่อดูดน้ำเลี้ยงจากต้นส้ม หากต้นส้มที่เพลี้ยไก่อแจ้ดูดกินน้ำเลี้ยงมีเชื้อสาเหตุโรครินนิ่ง เพลี้ยไก่อแจ้ก็จะได้รับเชื้อสาเหตุ หลังจากนั้น 7-20 วัน เชื้อจะเพิ่มปริมาณในตัวของแมลง และตัวอ่อนระยะที่ 4 และ 5 สามารถรับเชื้อจากต้นที่เป็นโรคและทำการถ่ายทอดได้เช่นกัน ในการถ่ายทอดโรคไปยังต้นอื่นใช้เวลาอย่างน้อย 15 นาทีถึง 24 ชั่วโมง เมื่อต้นส้มได้รับเชื้อสาเหตุแล้วจะแสดงอาการของโรคภายใน 4 เดือนถึง 1 ปี หรือนานกว่านั้น (ไมตรี, 2542)

เพลี้ยไก่อแจ้ทั้งตัวอ่อน และตัวเต็มวัยของเพลี้ยไก่อแจ้ส้มสามารถดูดกินน้ำเลี้ยงจากใบอ่อนที่ยังไม่โตเต็มที่ ทำให้ใบอ่อนเป็นจุดสีเหลือง ไม่เจริญเติบโตและเล็กผิดปกติ เมื่อเกิดการระบาดของเพลี้ยไก่อแจ้มาก ๆ ใบจะหงิกงอ แห้งและร่วงหมด นอกจากนั้นยังทำให้ยอดอ่อนแห้งและตายได้ ในระหว่างการเจริญเติบโตของตัวอ่อนจะขับสารที่ผึ้งสีขาวออกมาเป็นสาเหตุทำให้เกิดเชื้อราดำขึ้นในภายหลัง (Timmer *et al.*, 2003)

การวินิจฉัยโรค

การวินิจฉัยโรครินนิ่งในสภาพสวนนั้นค่อนข้างยากและขาดความแม่นยำ เนื่องจากลักษณะอาการคล้ายคลึงกับอาการขาดธาตุสังกะสีในส้ม ในอดีตการตรวจโรครินนิ่งจะใช้ต้นกล้าของส้ม sweet orange เป็น biological indexing และการใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนในการตรวจหาเชื้อแบคทีเรีย *Candidatus Liberobacter* spp. ในท่ออาหารบริเวณเส้นกลางใบส้ม ต่อมามีการพัฒนาเทคนิคทางด้านโมเลกุลชีวภาพเพื่อตรวจหาเชื้อสาเหตุโรครินนิ่งคือ เทคนิค DNA/DNA hybridization โดยใช้โพรบ (probe) ในการติดตามเชื้อสาเหตุ ปัจจุบันมีวิธีการตรวจหาเชื้อสาเหตุโรคที่มีประสิทธิภาพสูงและมีความแม่นยำคือ เทคนิค Polymerase Chain Reaction (PCR) ซึ่งจะใช้ primer ที่เฉพาะเจาะจงในการเพิ่มปริมาณของ 16S rRNA และ ribosomal protein genes (Jayoueix *et al.*, 1996)

เทคนิค PCR พัฒนาขึ้นมาเมื่อประมาณปี ค.ศ.1985 โดย นักชีวเคมีที่ชื่อว่า Kary Mullis ถูกนำมาใช้เพื่อการจำแนก specific DNA sequence ในสารละลายที่มีกลุ่มของ sequences DNA เป็นจำนวนมากปะปนกันอยู่ แล้วเพิ่มปริมาณส่วน targeted sequence นี้ขึ้นมาเป็นล้านเท่าโดยผ่านวิธีการกึ่งอัตโนมัติซึ่งใช้เวลาเพียง 1 หรือ 2 ชั่วโมง ดังนั้นจุดเด่นของเทคนิค PCR ก็คือสามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้อย่างจำเพาะเจาะจง โดยมีขั้นตอนในการทำงาน และการใช้เวลาน้อย ต่อมาได้มีการพัฒนาปรับปรุงในหลายๆ ด้านเพื่อให้วิธีการปฏิบัติง่ายขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งการค้นพบ เอนไซม์ polymerase ที่ทนต่ออุณหภูมิสูงได้ และการทำให้กระบวนการต่าง ๆ ดำเนินไปได้โดยอัตโนมัติ โดยผ่านการใช้ microprocessor controlled thermal cyclers แม้แต่การจำแนกและเพิ่มปริมาณ RNA sequence ก็สามารทำได้ โดยการใช้ปฏิกิริยาการทำงานของเอนไซม์ reverse transcriptase (RT) เปลี่ยนให้เป็นต้นแบบ cDNA ก่อนซึ่งเรียกว่า RT-PCR (พิศสุวรรณ, 2540) ในปัจจุบัน PCR ถูกนำมาใช้กันอย่างแพร่หลายในงานด้านเทคโนโลยีชีวภาพ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในห้องปฏิบัติการอนุชีววิทยา ซึ่งใช้กันเป็นประจำสำหรับงานตรวจจำแนกดีเอ็นเอ และการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ งานด้านการโคลนยีน (gene cloning) การทำแผนที่ยีน (gene mapping) และการทำพันธุวิศวกรรม (genetic engineering) ในทางด้านการแพทย์ PCR ถูกนำมาใช้ในการตรวจวินิจฉัยเชื้อสาเหตุของโรค การวินิจฉัยโรคที่ถ่ายทอดผ่านทางพันธุกรรม ตลอดจนการศึกษาถึงกลไกการเกิดโรค ทางด้านนิติเวชศาสตร์ PCR เข้ามามีบทบาทมากในส่วนของการทำ DNA fingerprint ทางด้านพันธุศาสตร์พืช สัตว์ แมลงและจุลินทรีย์ต่าง ๆ มีการนำเอาเทคนิค PCR มาเป็นเครื่องมือที่สำคัญสำหรับการวิเคราะห์ศึกษาด้านการปรับปรุงพันธุ์ การพัฒนา molecular marker ที่มีประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์พืช สัตว์ การตรวจวินิจฉัยโรคพืช โรคสัตว์ และโรคแมลงที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ การติดตามหาสิ่งมีชีวิตที่มีการดัดแปลงพันธุกรรม (GMOs) การศึกษารูปแบบของ DNA fingerprint แบบต่าง ๆ ของสิ่งมีชีวิตต่าง ๆ เพื่อให้ทราบถึงลักษณะทางพันธุกรรม ใช้ประโยชน์ทั้งด้านการจัดจำแนกอนุกรมวิธาน และศึกษาวิวัฒนาการ เป็นต้น (เพชรรัตน์, 2545)

โรคทริสเตซ่า

โรคทริสเตซ่า นับได้ว่าเป็นโรคที่สำคัญของพืชตระกูลส้มที่สัมพันธ์กับโรคกรีนนิ่ง โรค ทริสเตซ่าเกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อ Citrus Tristeza Virus (CTV; Family: Closteroviridae; Genus: Closteovirus) (Karasev *et al.*, 1995) นอกจากนี้ยังมีชื่อเรียกโรคนี้ตามลักษณะอาการที่ปรากฏเช่น citrus quick decline virus (Fawcett *et al.*, 1946) citrus seedling yellows virus (Fraser, 1952) grapefruit stem pitting virus (Hughes *et al.*, 1946) เชื้อไวรัส CTV เป็นไวรัสในกลุ่ม

closteovirus มีรูปร่างยาวแบบ flexuous rod มีขนาด 12 x 2,000 นาโนเมตร ประกอบด้วย ribonucleic acid ชนิดสายเดี่ยว มีโปรตีนห่อหุ้ม อาศัยอยู่ในท่ออาหารของพืช และระบบกระบวนการลำเลียง เชื้อสามารถเข้าทำลายและเพิ่มปริมาณได้ดีที่อุณหภูมิ 20-25°C (Robert *et al.*, 2003) มีรายงานพบโรคนี้อันแรกปี ค.ศ. 1946 ในทวีปแอฟริกาใต้ ซึ่งเกิดโรคนี้อันกับส้มพันธุ์ mandarin และ sweet orange บนต้นต่อส้มพันธุ์ sour orange ในเวลาต่อมาเกิดการระบาดไปยังพื้นที่ปลูกส้มในประเทศบราซิล ทำความเสียหายแก่ส้มมากกว่า 6 ล้านต้น และเข้าทำลายส้มในประเทศอาร์เจนตินามากกว่า 10 ล้านต้น รวมทั้งสหรัฐอเมริกาอีกกว่า 3 ล้านต้น (Bar-Joseph *et al.*, 1989) รวมทั้งพื้นที่ปลูกส้มในทวีปเอเชีย อิสราเอล และเวเนซุเอลา (Goldschmidt *et al.*, 1996)

ลักษณะอาการ

อาการของโรคทริสเตซ่าแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของต้นส้มและสายพันธุ์ไวรัส (strain) เชื้อไวรัส CTV ทุกสายพันธุ์ทำให้เกิดอาการเส้นใบใส (vein clearing) ส่วนสายพันธุ์รุนแรงทำให้ใบส้มแสดงอาการเส้นใบแตก (vein corking) และอาจทำให้เกิดอาการลำต้นนูน (stem pitting) (Bar-Joseph *et al.*, 1989) ทำให้ผลผลิตลดลง ขนาดของผลส้มเล็กลง กิ่งแห้งตาย ในที่สุดจะทำให้ส้มแห้งตายทั้งต้น (dieback) (Garnier *et al.*, 2000) ใบอ่อนของส้มที่เป็นโรคทริสเตซ่ามีสีซีดหรือต่างคล้ายอาการขาดธาตุอาหาร ใบมีขนาดเล็กลง การแตกยอดใหม่หรือกิ่งก้านน้อยลง คิดผลมากแต่มีกลิ่นหืน ผลมีขนาดเล็ก บริเวณลำต้นหรือกิ่งก้านใหญ่ๆ มีลักษณะไม่เรียบ ต้นส้มที่เป็นโรคทริสเตซ่า อาจแสดงอาการของโรคชัดเจนหรือไม่ชัดเจน บางครั้งต้นส้มอาจไม่แสดงอาการของโรคเลย โดยทั่วไปต้นส้มที่เป็นโรคทริสเตซ่าจะแสดงอาการหลังการปลูกเมื่อต้นส้มอายุ 2 ปี (อำไพพรรณและคณะ, 2542)

การถ่ายทอดโรค

โรคทริสเตซ่าสามารถถ่ายทอดโรคและแพร่กระจายได้โดยติดไปกับท่อนพันธุ์ (propagative material) การติดตา หรือทาบกิ่งจากต้นพันธุ์ที่เป็นโรค นอกจากนี้ยังสามารถติดไปกับอุปกรณ์ และเครื่องมือที่ใช้ในการตัดแต่งกิ่ง พาหะที่สำคัญและมีประสิทธิภาพสูงในการถ่ายทอดเชื้อโรคคือ แมลงพาหะนำโรค ซึ่งได้แก่ เพลี้ยอ่อนส้มสีดำ (*Toxoptera citricita* Kirk.) และเพลี้ยอ่อนฝ้าย (*Aphis gossypii* Glov.) (Garnier *et al.*, 2000) อาการของส้มที่เป็นโรคทริสเตซ่ามีหลายลักษณะอาการที่แตกต่างกัน เช่น อาการต้นโทรม และค่อยๆ ตาย มักเกิดกับส้ม grapefruit และส้มเปลือกอ่อน ที่ติดตาบนต้นต่อ sour orange โดยเชื้อไวรัสจะเข้าสู่ต้นส้มบริเวณกิ่งพันธุ์ จากนั้นเชื้อจะทำให้เซลล์บริเวณท่อลำเลียงอาหาร (pholem) แห้งตายบริเวณใต้รอยต่อลงมา ทำให้

ลำต้นแสดงอาการผิดปกติ และไม่สามารถส่งผ่านอาหารได้ เกิดอาการต้นโทรมอย่างช้าๆ ผลผลิตค่อยๆ ลดลง แต่ต้นส้มยังไม่ตาย และแสดงอาการแคะแกระน ไม่เจริญเติบโตและหากพบการแพร่ระบาดของเพลี้ยอ่อน *Toxoptera citricida* จะพบอาการ stem pitting บนลำต้นและกิ่ง (Mooney *et al.*, 2002) เนื่องจากเชื้อไวรัสทริสเตซ่าเป็นเชื้อสาเหตุของโรคส้มที่มีขนาดเล็กและอาศัยอยู่ในเซลล์ท่ออาหารของพืชเท่านั้น ดังนั้นการวินิจฉัยโรคจึงจำเป็นต้องใช้เทคนิคที่ให้ผลแน่นอน

การวินิจฉัยโรค

การตรวจสอบโรคทริสเตซ่าสามารถทำได้โดยวิธีการใช้พืชทดสอบ (indicator plant) คือส้มพันธุ์เม็กซิกันไลม์ (Mexican lime) ใช้ทดสอบไวรัสทุกสายพันธุ์ ส่วนต้นกล้ำส้ม sour orange ใช้ทดสอบไวรัสสายพันธุ์ที่ทำให้เกิดอาการต้นเหลือง (seedling yellow) ส้มพันธุ์ sweet orange บนต้นคอ sour orange ใช้ทดสอบไวรัสที่ทำให้เกิดอาการต้นโทรม ส้มพันธุ์ mandarin vinous orange ใช้ทดสอบไวรัสที่ทำให้เกิดอาการ stem pitting บนส้มพันธุ์ sweet orange และต้นกล้ำ ซึ่งการตรวจสอบโรคทริสเตซ่าด้วยวิธีนี้ใช้เวลานาน 10-12 เดือน (Robert *et al.*, 2003) และวิธีทางเซรุ่มวิทยา คือ วิธี IEM (Immuno electron microscope) หรือวิธี ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) (ไมตรี และคณะ, 2542) เป็นเทคนิคการวิเคราะห์หาสารที่มีปริมาณน้อยๆ เป็นเทคนิคทางด้านภูมิคุ้มกันจึงมักเรียกกันว่าเป็น Immunoassay โดยอาศัยหลักการจับกันอย่างจำเพาะระหว่างแอนติเจน (Ag) และแอนติบอดี (Ab) ซึ่งจะทำให้การติดฉลาก (label) แอนติเจน (Ag) หรือแอนติบอดี (Ab) ด้วยเอนไซม์ โดยเอนไซม์นี้เมื่อทำปฏิกิริยากับ substrate แล้วทำให้เกิดสี ซึ่งเป็นวิธีที่ทำได้ง่าย รวดเร็วและปลอดภัย (นภาพร, 2536)

การจัดการปุ๋ยหรือธาตุอาหารส้มเป็นขั้นตอนสำคัญ หากส้มได้รับปริมาณที่ไม่สมดุลอาจทำให้ส้มแสดงอาการของโรคได้ ซึ่งอาการของโรคดังกล่าวอาจคล้ายคลึงกับโรคที่สำคัญของส้มซึ่งได้แก่ โรคกรีนนิ่งและทริสเตซ่า ส่งผลต่อผลผลิต การเจริญเติบโต คุณภาพของผล อายุของต้นส้ม และอ่อนแอต่อการเข้าทำลายของโรคและแมลง รวมทั้งเพิ่มต้นทุนการผลิต การจัดการธาตุอาหารในสวนส้มโดยวิธีวิเคราะห์ดินและพืชอย่างสม่ำเสมอเป็นวิธีการที่ช่วยให้ระดับธาตุอาหารในดินและพืชอยู่ในระดับที่เหมาะสม ซึ่งสามารถทำได้โดยวิเคราะห์ดินก่อนปลูก และหลังจากปลูกพืชอย่างสม่ำเสมอ การวิเคราะห์ธาตุอาหารในใบส้มช่วยให้สามารถปรับระดับธาตุอาหารในต้นให้เป็นไปอย่างเหมาะสม โดยจัดการให้สัมพันธ์กับปริมาณผลผลิตที่ได้ ลักษณะอาการของโรคส้มที่เกิดจากการขาดธาตุอาหารบางชนิดมีลักษณะคล้ายกับโรคส้มที่เกิดจากเชื้อไวรัส และโรคอื่นๆ ของส้ม เช่น โรคทริสเตซ่าไวรัส โรคกรีนนิ่ง และโรครากเน่าโคนเน่าที่เกิดจากเชื้อ *Phytophthora* เป็น

ต้น (Chang *et al.*, 2003) ซึ่งไม่สามารถวิเคราะห์ได้ด้วยตาเปล่า ลักษณะอาการของส้มที่เกิดจากการได้รับธาตุอาหารที่ไม่สมดุลเช่น

แมกนีเซียม (Mg) ใบส้มจะแสดงอาการต่างเหลืองหรือสีบรอนซ์ เส้นกลางใบและเนื้อใบมีสีเขียว คล้ายกับรูปตัววีหัวกลับ (inverted V-shaped) อาการต่างเหลืองจะปรากฏบนใบแก่ก่อน หากอาการรุนแรงใบอ่อนจะเกิดอาการเหลืองชัดเจน เช่นเดียวกับใบแก่ ใบที่ขาดธาตุแมกนีเซียมอย่างรุนแรงจะเหลืองทั้งใบ และหลุดร่วง (อำไพวรรณ และนิพนธ์, 2545)

แมงกานีส (Mn) ส้มที่ขาดธาตุแมงกานีส มักแสดงอาการผิดปกติร่วมกับการขาดธาตุสังกะสี จนบางครั้งยากต่อการแยกความแตกต่าง อาการขาดธาตุแมงกานีสสามารถเกิดได้ทั้งบนใบอ่อนและใบแก่ อาการจะเด่นชัดมากในใบแก่ โดยใบมีสีเหลืองตามบริเวณสองข้างของเส้นใบ ขณะที่เส้นใบและเส้นกลางใบยังคงเขียวอยู่ มองดูคล้ายร่างแห ใบบางกว่าปกติแต่ขนาดของใบไม่เล็กลง (อำไพวรรณ และนิพนธ์, 2545)

สังกะสี (Zn) ส้มที่ขาดธาตุสังกะสี เริ่มแรกใบส้มจะแสดงอาการต่างเหลืองอยู่ระหว่างเส้นกลางใบของใบอ่อน ต่อมามีอาการต่างเหลืองชัดเจนมากขึ้น ทำให้ใบเป็นสีเขียวอยู่บนเนื้อใบสีเหลือง ถ้าอาการรุนแรงใบอ่อนจะมีขนาดเล็กลง ปลายใบเรียวแหลม และชี้ตั้งขึ้น มีการสร้างกิ่งมากมาย ซึ่งลักษณะอาการดังกล่าวคล้ายกับอาการของโรคกรีนนิ่ง หากส้มได้รับธาตุสังกะสีมากเกินไป จะทำให้ใบไหม้ ส้มทั้งใบ (อำไพวรรณ และนิพนธ์, 2545)

เหล็ก (Fe) หากส้มได้รับธาตุเหล็กน้อยเกินไป ใบส้มบริเวณระหว่างเส้นกลางใบของใบอ่อนจะแสดงอาการเหลืองขณะที่เส้นใบยังเขียวอยู่ ถ้าขาดมากไปใบส้มจะเหลืองชี้ตั้งทั้งใบ ใบร่วงและกิ่งแห้งตาย ติดผลน้อย ผลมีขนาดเล็กและแข็ง หากได้รับปริมาณมากเกินไปจะทำให้เกิดอาการใบไหม้ (อำไพวรรณ และนิพนธ์, 2545)

มงคล และคณะ (2543) ศึกษาผลสำเร็จในการเลียบยอดส้มโชกุนบนต้นต่อส้ม 8 ชนิด และอิทธิพลของต้นต่อส้มที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของกิ่งพันธุ์ส้มโชกุน พบว่าต้นต่อส้มเขียวหวานให้ผลสำเร็จในการเลียบกิ่งสูงสุด 96% และการเจริญเติบโตของกิ่งพันธุ์ส้มโชกุนดีกว่าต้นต่อส้มพันธุ์อื่นๆ และพบว่าเมื่อทำการเลียบกิ่งไปได้ 12 เดือนแล้ว ส้มโชกุนต้นต่อส้มเขียวหวานและฟิมองค์ มีการเจริญเติบโตทางด้านกิ่งใบ ความสูง ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางลำต้นสูงสุด ทั้งนี้เนื่องจากเป็นพันธุ์ที่ใกล้เคียงกับส้มโชกุนมากที่สุด

นาตยา และคณะ (2546) ศึกษาถึงคุณภาพของส้มโชกุนบนต้นต่อส้มพันธุ์ต่างๆ ได้แก่ ทรอยเยอร์ คลีโอพัตรา สวิงเกิล และส้มแดง พบว่าส้มโชกุนบนต้นต่อคลีโอพัตราให้ทรงพุ่มที่โปร่ง แดกกิ่งได้ดี และมีกิ่งค่อนข้างมาก มีการเชื่อมต่อได้ดีของต้นต่อและกิ่งพันธุ์ดี หลังการติดตาม

ไปแล้วเป็นระยะเวลา 3 ปี และมีการเจริญบนต้นตอดีกว่า ซึ่งสรุปได้ว่าต้นตอคลีโอพัตราเหมาะสมที่สุดในสภาพแวดล้อมที่เป็นดินทรายของ อำเภอฝาง

Anderson และ Benatena (1996) ทดลองปลูกส้มในประเทศอาร์เจนตินา จำนวน 12 ชนิด โดยใช้ต้นตอส้ม trifoliate orange, rough lemon, rangpur lime, sweet orange, Cleopatra mandarin และ troyer citrange พบว่าส้มทุกพันธุ์ที่ติดตามต้นตอ rough lemon มีขนาดต้นใหญ่ที่สุด ปริมาณผลผลิตสูง แต่คุณภาพต่ำ

Prommintara (2532) ศึกษาโรคกรีนนิงและทริสเตซ่า โดยปลูกเชื้อกรีนนิงและทริสเตซ่าร่วมกัน และแยกเป็นปลูกเชื้อกรีนนิงอย่างเดียว และเชื้อทริสเตซ่าอย่างเดียว บนต้นส้มพันธุ์เขียวหวาน อายุ 1 ปี 6 เดือน ด้วยวิธี grafting ลักษณะอาการที่ปรากฏคือ ต้นที่ปลูกเชื้อกรีนนิงและทริสเตซ่าร่วมกัน แสดงอาการของโรครุนแรงกว่าต้นที่ปลูกเชื้อกรีนนิงและทริสเตซ่าเพียงอย่างเดียว บางต้นหลังจากปลูกเชื้อไปแล้วเป็นระยะเวลา 5 เดือนยังไม่ปรากฏอาการ แต่เมื่อครบ 7 เดือนแสดงอาการ dieback เนื่องจากอาการของโรคกรีนนิงและทริสเตซ่า สาเหตุเกิดจากการทำงานผิดปกติของระบบราก ทำให้ไปกระตุ้นให้เกิดอาการ dieback ทั้งทั้งต้น และจากการศึกษาจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน พบว่ามีเชื้อ CTV อยู่มากมายในท่ออาหาร ซึ่งมีมากกว่าเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคกรีนนิง

Robert *et al.*, (2003) รายงานว่าเทคนิค ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) เป็นวิธีการตรวจสอบหาเชื้อ CTV ที่รวดเร็ว โดยใช้แอนติบอดี (Ab) ไปจับกับไวรัส แอนติบอดีที่ใช้มี 2 ชนิดคือ polyclonal antibody ใช้ในการตรวจหาเชื้อ CTV ได้ทุกสายพันธุ์ ส่วน monoclonal antibody ใช้ตรวจสอบไวรัสเฉพาะสายพันธุ์ florida ที่ทำให้เกิดอาการต้นโทรมบนต้นตอ sour orange และสายพันธุ์ที่ทำให้ส้มแสดงอาการ stem pitting เท่านั้น ไม่สามารถตรวจสอบไวรัสสายพันธุ์ที่อ่อนแอได้ (mild strains) และพบว่าเพลี้ยอ่อนที่สามารถถ่ายทอดเชื้อไวรัสทริสเตซ่าได้มี 4 ชนิด ได้แก่ melon aphid (*Aphis gossypii*), spirea aphid (*Aphis spiraecolai*), black citrus aphid (*Toxoptera aurantii*) และ brown citrus aphid (*Toxoptera citricida*) ซึ่งพบว่า brown citrus aphid (*Toxoptera citricida*) มีประสิทธิภาพในการถ่ายทอดเชื้อโรครมากกว่า melon aphid (*Aphis gossypii*) ถึง 20 เท่า เพลี้ยอ่อนจะได้รับเชื้อทริสเตซ่าไวรัสหลังจากดูดกินน้ำเลี้ยงจากต้นที่เป็นโรคนาน 10 นาที และสามารถถ่ายทอดเชื้อสู่ต้นปกติได้ทันที และหากเพลี้ยอ่อนดูดกินน้ำเลี้ยงจากต้นที่เป็นโรคนาน 24 ชั่วโมงขึ้นไป ประสิทธิภาพในการถ่ายทอดโรคก็จะเพิ่มขึ้น

Hung *et al.* (2000) รายงานว่า โรคกรีนนิงส้มเป็นโรคที่สำคัญในแถบทวีปเอเชีย รวมถึงภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคตะวันตกของทวีปแอฟริกา โดยมีเชื้อสาเหตุคือ *Candidatus Liberobacter asiaticus* ซึ่งแบคทีเรียชนิดนี้ถูกถ่ายทอดโดยมีเพลี้ยไก่อั่วเป็นพาหะ (*Diaphorina citri*) ดังนั้นจึงได้มีการนำเอาเทคนิค PCR มาวิเคราะห์ และตรวจหาเชื้อสาเหตุในเพลี้ยไก่อั่ว โดยสกัดเอา DNA ของ

เชื้อสาเหตุจากตัวเพลี้ยไก่อแจ้ และเพิ่มปริมาณโดยใช้ PCR ทั้งขบวนการใช้เวลาทั้งหมด 5 ชั่วโมง ซึ่งการตรวจหาเชื้อสาเหตุดังกล่าวในตัวเพลี้ยไก่อแจ้ได้นำตัวเต็มวัย และตัวอ่อนมาตรวจ ซึ่งพบว่า มีเชื้อสาเหตุดังกล่าวในตัวเพลี้ยไก่อแจ้ ทั้งตัวเต็มวัยและตัวอ่อน แต่เมื่อนำไข่ของเพลี้ยไก่อแจ้มาตรวจ ไม่พบว่ามีเชื้อสาเหตุโรคดังกล่าวในไข่ของเพลี้ยไก่อแจ้

Das *et al.* (2002) ศึกษาโรคกรีนนิงของส้มในประเทศอินเดีย พบว่าโรคกรีนนิงเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Candidatus Liberobacter asiaticus* ที่อาศัยอยู่ในท่อลำเลียง สามารถตรวจสอบได้โดยการศึกษาจากลักษณะอาการและการศึกษาชีววิทยา พบว่าต้นส้มที่ทำการศึกษาพบมีอาการต่างเส้นใบสีเขียว เกิด chlorosis ระหว่างเส้นใบ และพืชจะแสดงอาการหลังจากที่เชื้อเข้าทำลายแล้วประมาณ 90-120 วัน นอกจากนี้ยังพบแมลงพาหะคือเพลี้ยไก่อแจ้ส้มในบริเวณที่ทำการศึกษาอีกด้วย ต่อมาได้ทำการศึกษาโดยนำเอาส่วนใบพืชที่เป็นโรคมานำมาทดสอบทางชีววิทยาและเซรัมวิทยา พบว่าพืชที่นำมาทดสอบนั้นมีการเข้าทำลายระหว่างเชื้อ citrus tristeza closterovirus (CTV) และเชื้อแบคทีเรีย *Candidatus Liberobacter asiaticum* ต่อมาได้ทำการปลูกเชื้อด้วยวิธีการทาบกิ่ง พบว่าพืชจะแสดงอาการของโรคกรีนนิงออกมาก่อน และอาการที่พบนั้นก็จะมีเชื้อ CTV แทรกซ้อนอยู่ด้วยและเมื่อนำไปตรวจหาเชื้อสาเหตุโดยวิธี ELISA แล้วพบเพียงเชื้อ CTV อย่างเดียว แสดงว่าการตรวจหาเชื้อสาเหตุโดยวิธี ELISA เหมาะสมต่อการตรวจหาเชื้อสาเหตุโรคทริสเตซ่า

Su *et al.* (1990) รายงานว่า citrus likubin (greening) disease เกิดจากเชื้อ fastidius bacterium organism ที่ไปจำกัดการลำเลียงของท่ออาหารในส้ม ซึ่งโรคนี้น่าส่งผลกระทบต่อด้านเศรษฐกิจของส้มในได้หวัน เชื้อสาเหตุมีประสิทธิภาพมากในช่วงฤดูร้อนและฤดูใบไม้ร่วง สามารถตรวจพบเชื้อสาเหตุโรคกรีนนิงได้ หลังจากต้นส้มเป็นโรคและแตกใบใหม่เป็นเวลา 2 เดือนครึ่งถึง 3 เดือนครึ่ง จำนวนเชื้อโรคเพิ่มมากขึ้น 4 เดือนหลังจากที่ใบแสดงอาการ และตรวจพบเชื้อได้ในรากของต้นกล้า luchen อายุ 5 เดือน หลังจากทาบกิ่งด้วยต้นที่เป็นโรค และหลังจากนั้น 2 เดือน ก็แพร่ระบาดไปได้อย่างกว้างขวาง

Teixeira *et al.*, (2004) รายงานว่าพบเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคกรีนนิงสายพันธุ์อเมริกัน (*Candidatus Liberobacter americanus*) โดยตรวจหาเชื้อสาเหตุจากต้นส้มที่แสดงอาการด้วยเทคนิค PCR และนำเพลี้ยไก่อแจ้ส้ม (*Diaphorina citri*) จากต้น sweet orange ที่ถูกเข้าทำลายโดย *Candidatus Liberobacter americanus* มาตรวจหาเชื้อสาเหตุ ผลปรากฏว่าพบเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวในเพลี้ยไก่อแจ้ส้ม จึงยืนยันได้ว่า *Diaphorina citri* เป็นแมลงพาหะของ *Candidatus Liberobacter americanus* ที่เกิดการแพร่ระบาดในประเทศบราซิล

Brlansky *et al.*, 2004 รายงานการแพร่ระบาดของโรคทริสเตซ่าในรัฐฟลอริดา ประเทศอเมริกา ว่าเกิดจากเพลี้ยอ่อนส้มและกิ่งตอนที่นำมาขยายพันธุ์ โดยเชื้อไวรัสทริสเตซ่าที่เข้าทำลาย

กิ่งพันธุ์ที่ติดตาบนต้นต่อ sour orange ทำให้ส้มแสดงอาการต้นเตี้ย การเจริญเติบโตผิดปกติ และพบว่าเพลี้ยอ่อนสีน้ำตาล (*Toxoptera citricida*) เป็นพาหะนำโรคที่มีประสิทธิภาพมาก สร้างความเสียหายแก่ส้มบนต้นต่อ sour orange อย่างรวดเร็ว ในบางพื้นที่พบว่าต้นส้มแสดงอาการลำต้นบวม (stem pitting) บนกิ่งพันธุ์ติดต้นต่ออื่นด้วย เกิดร่องบวมบนลำต้น กิ่งก้าน รวมทั้งต้นต่อด้วย บางกิ่งแสดงอาการบิดเบี้ยว กิ่งแขนงเปราะและหักง่าย ต้นส้มที่ได้รับเชื้อไวรัสทริสเทซ่าสายพันธุ์รุนแรง จะแสดงอาการลำต้นบวม เจริญเติบโตได้ไม่ดี ให้ผลผลิตต่ำ ผลมีขนาดเล็ก ในมะนาว และ grapefruit แสดงอาการลำต้นบวมทั้งหมด แต่ใน sweet orange พบอาการดังกล่าวบางต้น ส่วน Tangerine และส้มพันธุ์อื่นๆ ทนทานต่อโรคทริสเทซ่า สายพันธุ์รุนแรง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
 Copyright © by Chiang Mai University
 All rights reserved