

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ:	RDG6020207
ชื่อโครงการ:	ผลของยาปฏิชีวนะต่อการตกค้างในผลิตภัณฑ์จากส้มเขียวหวานสำหรับการผลิตอย่างแม่นยำ ลุ่มน้ำฝาง จังหวัดเชียงใหม่
ชื่อนักวิจัย:	บุษบัน ศิริธัญญาลักษณ์ (หัวหน้าโครงการ) จักรพันธ์ ศิริธัญญาลักษณ์ สิริพร บุรพาเดชะ ปิยรัตน์ นิมมานพิภักดิ์ กรรณิกา เทียรชนธิกุล สุพัฒน์ จิรานุสรณ์กุล ศศิธร ศิริลูน เฉลิมพงษ์ แสนจุ่ม วศิน วงศ์วิไล
ชื่อนักศึกษาช่วยวิจัย:	วิภาวดี อยู่อินทร์ ปุกณานุช เรือนทา
Email address:	busaban.s@cmu.ac.th
ระยะเวลาโครงการ:	วันที่ 15 สิงหาคม พ.ศ. 2560-14 พฤศจิกายน พ.ศ. 2561
คำหลัก:	การผลิตอย่างแม่นยำ ส้มเขียวหวาน ยาปฏิชีวนะ

ประเทศไทยบริเวณเขตลุ่มน้ำฝาง จังหวัดเชียงใหม่ เป็นพื้นที่สำคัญในการเพาะปลูกส้มเขียวหวาน และพบปัญหาที่ควบคุมคือการจัดการโรคระบาดในส้มเขียวหวานโดยเฉพาะโรคกรีนนิ่ง (citrus greening disease) และโรครากและโคนเน่า (Citrus root rot and Phytophthora foot rot) ซึ่งมีสาเหตุจากเชื้อแบคทีเรีย *Candidatus Liberibacter asiaticus* และเชื้อรา *Phytophthora parasitica* Dastur ตามลำดับ โดยในช่วง 10 ปีที่ผ่านมาถึงปัจจุบันเกษตรกรมีการใช้ยาปฏิชีวนะเพื่อยับยั้งการเกิดโรคดังกล่าว ซึ่งอาจนำมาสู่ปัญหาการตกค้างของยาปฏิชีวนะในผลิตภัณฑ์ส้ม รวมถึงปัญหาการเกิดเชื้อดื้อยาในบริเวณเพาะปลูก ซึ่งอาจส่งผลกระทบต่อผู้บริโภคได้ ทั้งนี้ปัจจุบันยังไม่พบรายงานวิจัยและแนวปฏิบัติ (guideline) แนะนำการใช้ยาปฏิชีวนะในการป้องกันและ/หรือรักษาโรคในส้ม รวมถึงข้อมูลการตกค้างในผลิตภัณฑ์ทั้งเชิงปริมาณและเชิงคุณภาพ ดังนั้นในการวิจัยนี้ จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการใช้ยาปฏิชีวนะโดยเฉพาะตัวยาปฏิชีวนะแอมพิซิลลินที่ใช้เพื่อจัดการโรคในส้มเขียวหวานในทุกบริบท ตั้งแต่การตรวจติดตามจนผลศาสตร์ของยาปฏิชีวนะและอนุพันธ์ที่เกิดจากการสลายตัวของยาปฏิชีวนะในส่วนต่าง ๆ ของต้นส้มเขียวหวาน การตรวจวิเคราะห์การตกค้างของยาปฏิชีวนะและอนุพันธ์ในแหล่งน้ำบริเวณโดยรอบสวนส้มเขียวหวานที่มีการใช้ยาปฏิชีวนะ การตรวจวิเคราะห์แบคทีเรียที่ดื้อยาปฏิชีวนะในต้นและผลส้มเขียวหวาน รวมทั้งดินและน้ำในสวนส้มเขียวหวาน และการพัฒนาวิธีวิเคราะห์อย่างง่ายเพื่อตรวจสอบการตกค้างของยาปฏิชีวนะและอนุพันธ์สำหรับใช้ในการควบคุมคุณภาพของส้มเขียวหวานก่อนการเก็บเกี่ยว รวมถึงการประเมินความรู้ความเข้าใจและการให้ความรู้แก่เกษตรกรในการใช้ยาปฏิชีวนะในสวนส้ม และการศึกษาความเป็นไปได้ของกลไกการออกฤทธิ์ของยาปฏิชีวนะจากการสร้างแบบจำลองโมเลกุล เพื่อเป้าหมายให้เกิดการผลิตส้มเขียวหวานอย่างแม่นยำในลุ่มน้ำฝาง จังหวัดเชียงใหม่

จากการตรวจติดตามจนพบผลศาสตร์ของยาปฏิชีวนะทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ ยาปฏิชีวนะแอมพิซิลลิน ออกซีเตตราไซ-
คลิน และสเตรพโทไมซิน เป็นระยะเวลา 90 วัน ในต้นส้ม 2 กลุ่ม คือกลุ่มที่ผ่านการได้รับยาปฏิชีวนะแอมพิซิลลินอย่าง
ต่อเนื่องมากกว่า 5 ครั้งกับกลุ่มที่ยังไม่เคยได้รับยาปฏิชีวนะแอมพิซิลลิน ด้วยเทคนิค LC-MS/MS พบว่าผลส้มที่ผ่านการให้
ยามาอย่างต่อเนื่องตรวจพบปริมาณยาแอมพิซิลลินตั้งแต่วันที่ 0 ถึงวันที่ 90 ของการให้ยา สามารถตรวจพบยาแอมพิซิลลิน
ได้ตั้งแต่วันที่ 1 หลังการให้ยา พบปริมาณแอมพิซิลลินสูงสุดในวันที่ 7 เท่ากับ 254.9 ppb และลดลงเหลือ 20.2 ppb ในวันที่
90 ขณะที่กลุ่มที่ยังไม่เคยได้รับยาจะตรวจพบได้เมื่อได้รับยาไปแล้ว 3 วัน เท่ากับ 2.7 ppb และตรวจพบปริมาณสูงสุดใน
วันที่ 20 เท่ากับ 137.4 ppb และค่อย ๆ ลดลงจนถึงวันที่ 90 ของการให้ยา เท่ากับ 1.1 ppb ทั้งนี้ผลการวิเคราะห์การ
ตกค้างของยาปฏิชีวนะออกซีเตตราไซคลินและสเตรพโทไมซินก็มีแนวโน้มไปในทางเดียวกันกับยาปฏิชีวนะแอมพิซิลลิน
และการตรวจวิเคราะห์การตกค้างของยาปฏิชีวนะแอมพิซิลลินในตัวอย่างน้ำด้วยเทคนิค LC-MS/MS จากลำน้ำสาธารณะใน
รัศมี 5 กิโลเมตรจากสวนส้มที่มีการให้ยาปฏิชีวนะแอมพิซิลลินทุก ๆ 90 วัน มามากกว่า 5 ครั้ง จำนวน 10 จุด ทุกระยะ
500 เมตร พบปริมาณยาปฏิชีวนะแอมพิซิลลินที่ตกค้าง อยู่ในช่วง 19.139-103.541 ppb โดยปริมาณแอมพิซิลลินที่ตรวจ
วิเคราะห์ได้ไม่สัมพันธ์กับระยะที่เก็บตัวอย่าง อาจเนื่องจากแหล่งน้ำธรรมชาติมีการไหลผ่านสวนส้มเขียวหวานอื่นที่มีการใช้
ยาปฏิชีวนะแอมพิซิลลินเช่นกัน ซึ่งส่งผลต่อปริมาณยาปฏิชีวนะแอมพิซิลลินที่ตรวจวิเคราะห์ และเมื่อเปรียบเทียบปริมาณ
สารตกค้างในตัวอย่างน้ำจากแหล่งน้ำธรรมชาติของสวนส้มเขียวหวานแห่งที่ 2 ซึ่งใช้ยาปฏิชีวนะแอมพิซิลลินเป็นครั้งแรก
โดยเก็บตัวอย่างหลังจากการให้ยาปฏิชีวนะแอมพิซิลลินเป็นเวลา 15 วัน จำนวน 30 จุด พบว่าไม่สามารถตรวจพบยา
ปฏิชีวนะแอมพิซิลลินตกค้างในแหล่งน้ำธรรมชาติทั้ง 30 จุด ซึ่งมีความเป็นไปได้ว่าปริมาณยาในตัวอย่างมีปริมาณที่ต่ำกว่า
ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจวิเคราะห์ได้ (Limit of detection, LOD) ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.100 ppb

จากการตรวจวิเคราะห์แบคทีเรีย *E. coli* และ *Staphylococcus aureus* ที่ดื้อยาปฏิชีวนะแอมพิซิลลินในตัวอย่าง
ดินรอบลำต้นส้ม ลำต้นส้ม ใบต้นส้ม ผลส้ม และน้ำจากแหล่งน้ำรอบสวนส้มเขียวหวาน ทั้งในส่วนที่ผ่านการให้ยาปฏิชีวนะ
แอมพิซิลลินมาเป็นเวลานานและในส่วนที่เพิ่งทดลองใช้ พบว่าสวนที่ผ่านการให้ยาปฏิชีวนะแอมพิซิลลินมาเป็นเวลานาน
ตรวจพบความหลากหลายของจุลินทรีย์ต่ำ จุลินทรีย์ส่วนใหญ่ที่พบได้แก่ เชื้อราและแบคทีเรียบางชนิด โดยรวมประมาณ
 $10-10^2$ colony forming unit (cfu) ต่อดิน 1 กรัม ตรวจไม่พบจุลินทรีย์ในบางตัวอย่าง และตรวจพบแบคทีเรีย *E. coli* ที่ดื้อ
ต่อยาคิดเป็นร้อยละ 100 และพบแบคทีเรีย *S. aureus* ที่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะแอมพิซิลลินในปริมาณสูง สำหรับสวนส้มที่เพิ่ง
ทดลองใช้ยาปฏิชีวนะแอมพิซิลลินตรวจพบความหลากหลายของจุลินทรีย์ในปริมาณสูงมากกว่า 10^5-10^7 cfu ต่อดิน 1 กรัม
และตรวจไม่พบแบคทีเรีย *E. coli* และ *S. aureus* ที่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะแอมพิซิลลิน และคณะผู้วิจัยยังได้พัฒนาวิธีวิเคราะห์
อย่างง่ายเพื่อตรวจสอบการตกค้างของยาปฏิชีวนะแอมพิซิลลินและ อนุพันธ์ โดยใช้เทคนิคโวลแทมเมตรี (cyclic
voltammetry) และแอมเพโรเมตรี (amperometry) ซึ่งเป็นเทคนิคการวิเคราะห์ทางไฟฟ้าเคมีที่เกี่ยวข้องกับการให้
ศักย์ไฟฟ้าแก่ขั้วไฟฟ้าของเซลล์ไฟฟ้าเคมีเพื่อใช้ในการควบคุมคุณภาพของส้มเขียวหวานก่อนการเก็บเกี่ยว พบว่าความ
เข้มข้นของสารละลายแอมพิซิลลินที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคแอมเพโรเมตรีอยู่ในช่วงความเข้มข้น 0.2-1 มิลลิ
โมลาร์ และสามารถให้ร้อยละการคืนกลับที่ 97.0-103.0 จากการเติมสารละลายมาตรฐานลงในน้ำส้มตัวอย่าง

ในด้านการประเมินและให้ความรู้เกษตรกรเกี่ยวกับการใช้ยาปฏิชีวนะและผลกระทบทั้งต่อสุขภาพและสิ่งแวดล้อม
ที่อาจเกิดขึ้นจากใช้ยาปฏิชีวนะในสวนส้มเขียวหวาน พบว่าเกษตรกรได้มีการใช้ยาปฏิชีวนะแอมพิซิลลินในสวน
ส้มเขียวหวานมาเป็นระยะเวลาหนึ่งแล้ว ซึ่งได้มีการประเมินความรู้ของเกษตรกรเกี่ยวกับการใช้ยาปฏิชีวนะ พบว่าเกษตรกรมี
ชุดความรู้ในส่วนของเตรียมน้ำยา การใช้ยาที่มีส่วนผสมของยาปฏิชีวนะ ตามที่ได้รับการแนะนำจากนักวิชาการ
เกษตรและการบอกกล่าวสืบทอดกันมา และสามารถปรับชุดความรู้ให้เข้ากับบริบทของสวนส้มเขียวหวานของตนเอง เพื่อทำ
ให้ได้ผลผลิตส้มเขียวหวานตามที่ได้วางแผนการผลิตไว้อย่างแม่นยำ อย่างไรก็ตามเกษตรกรยังขาดรายละเอียดของความรู้
เกี่ยวกับปัจจัยอื่นจะส่งผลต่อประสิทธิภาพของยาปฏิชีวนะที่เลือกใช้ และความน่าเชื่อถือของแหล่งที่มาหรือแหล่งจำหน่าย

ยาปฏิชีวนะดังกล่าว ซึ่งมีผลโดยตรงต่อปริมาณตัวยาสำคัญ ทำให้มีผลกระทบต่อประสิทธิภาพและความแม่นยำในการผลิตตามมาได้ สำหรับความรู้ด้านผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมและสุขภาพของผู้บริโภค เกษตรกรเชื่อว่ายาปฏิชีวนะแอมพิซิลลินมีความปลอดภัย เพราะเป็นยาที่ใช้ในการรักษาโรคในคน จึงเห็นว่าน่าจะปลอดภัยต่อสิ่งแวดล้อมด้วย

นอกจากนั้น คณะผู้วิจัยยังได้ศึกษาความเป็นไปได้ของกลไกการออกฤทธิ์ของยาปฏิชีวนะแอมพิซิลลิน ออกซีเตตราไซคลิน และสเตรปโตไมซิน ด้วยเทคนิคการสร้างแบบจำลองโมเลกุลการเข้าจับ (molecular docking) ของยาปฏิชีวนะทั้ง 3 ชนิดผ่านการยับยั้งโปรตีน SecA ของเชื้อ *Candidatus Liberibacter asiaticus* ซึ่งเป็นโปรตีนที่สำคัญในการเจริญเติบโตและดำรงชีวิตของเชื้อ โดยพิจารณาจากค่าพลังงานในการเข้าจับกับบริเวณกัมมันต์ (active site) ของโปรตีน SecA ด้วยยาปฏิชีวนะแต่ละชนิดและอนุพันธ์ของมันเทียบกับ ATP ซึ่งเป็นสารตั้งต้นธรรมชาติ (natural substrate) ของโปรตีน SecA พบว่า ยาปฏิชีวนะแอมพิซิลลินและออกซีเตตราไซคลินมีความสามารถในการเข้าจับบริเวณกัมมันต์ได้ดีกว่า ATP คาดว่ายาทั้งสองชนิดนี้จะมีกลไกการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อโดยการแย่งจับกับ ATP ของโปรตีน SecA และพบว่ายาปฏิชีวนะแอมพิซิลลินมีการจัดเรียงตัวที่ใกล้เคียงกับ ATP มากกว่ายาปฏิชีวนะออกซีเตตราไซคลิน จึงคาดว่ายาปฏิชีวนะแอมพิซิลลินมีแนวโน้มในการออกฤทธิ์ที่ดีกว่ายาปฏิชีวนะอีก 2 ชนิดที่มีการใช้ในส้มเขียวหวานด้วยเหตุผลด้านประสิทธิภาพและความปลอดภัย อย่างไรก็ตามยังมีความจำเป็นที่ต้องทำการศึกษาเพื่อค้นหาสารอื่นที่เหมาะสมในการออกฤทธิ์และศึกษาโปรตีนเป้าหมายอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องกับการเกิดโรคต่อไป

ดังนั้นเพื่อให้เกิดการผลิตส้มเขียวหวานอย่างแม่นยำ ในด้านผลของยาปฏิชีวนะต่อการป้องกันและ/หรือรักษาโรคในส้ม ห่วงโซ่คุณภาพที่ควรคำนึงถึง ด้านทาง ได้แก่ การได้ยาปฏิชีวนะหรือสารใหม่ที่มีประสิทธิภาพต่อการป้องกันและ/หรือรักษาโรค เกษตรกรมีความรู้ความเข้าใจในการเลือกยาปฏิชีวนะจากแหล่งที่มีคุณภาพ กลางทาง ได้แก่ กระบวนการผสมเสถียรภาพของยาปฏิชีวนะหลังผสม การเก็บรักษา ขนาดและปริมาณการใช้ยาปฏิชีวนะที่ถูกต้องเพื่อให้ได้ผลผลิตส้มในปริมาณสูง และปลายทาง ได้แก่ การลดปริมาณสารตกค้างให้มีผลต่อสิ่งแวดล้อมและสุขภาพของผู้บริโภคให้น้อยที่สุด ซึ่งจาก Codex Alimentarius (2018) ระบุค่า maximum residue limit (MRL) ของยาปฏิชีวนะแอมพิซิลลินในอาหาร (เนื้อปลา) ไม่เกิน 50 µg/kg (ppb) จากการวิจัยครั้งนี้พบว่าเกษตรกรควรเก็บผลผลิตหลังจากมีการฉีดยาปฏิชีวนะแล้ว 60 วัน จะทำให้มียาปฏิชีวนะแอมพิซิลลินตกค้างต่ำกว่า 20 ppb และจากผลการวิจัยครั้งนี้ยังพบว่าในกรณีที่พื้นที่สวนส้มที่ไม่เคยได้รับยาปฏิชีวนะแอมพิซิลลินมาก่อนควรทำการเว้นระยะการฉีดยาปฏิชีวนะแอมพิซิลลินในแต่ละครั้งมากกว่า 90 วัน เพื่อลดการตกค้างของยาปฏิชีวนะแอมพิซิลลินในต้นส้ม อีกทั้งการพัฒนาเครื่องมือวิเคราะห์สารตกค้างก่อนการเก็บเกี่ยว จะช่วยประเมินความปลอดภัยและเป็นการสนับสนุนการเกษตรแม่นยำในที่สุด

Abstract

Project Code: RDG6020207

Project Title: Effects of Antibiotics on Residues in Tangerine Products for Precision Production, Fang Watershed, Chiang Mai Province

Researchers: Busaban Sirithunyalug (Project leader)
Jakkapan Sirithunyalug
Siriporn Burapadecha
Piyarat Nimmanpipug
Kannika Thisnkhanithikun
Supat Jiranusornkul
Sasithorn Sirilun
Chalermpong Saenjum
Wasin Wongwilai

Research assistants: Wipawadee Yooi
Poonyanuch Ruanta

Email address: busaban.s@cmu.ac.th

Project Duration: 15 August 2017-14 November 2018

Keywords: Precision production, Tangerine, Antibiotics

Fang watershed, Chiang Mai Province, Thailand is an important area for tangerine cultivation. Management of Citrus greening disease and Citrus root rot and Phytophthora foot rot caused by *Candidatus Liberibacter asiaticus* and *Phytophthora parasitica* Dastur, respectively, is a crucial problem in the tangerine production. During the past 10 years, some antibiotics have been used to control the tangerine diseases that may lead to antibiotic residues in tangerine products and antibiotic-resistant microbes in the tangerine orchard which produce some undesirable effects to consumer. Unfortunately, there is no antibiotic usage guideline for the control of those tangerine diseases and also the qualitative and quantitative reports on the antibiotic residues in tangerine products. This studies aimed to investigate effects of antibiotic usage, particularly ampicillin, for precision agriculture of tangerine production in Fang watershed via 1) the kinetic behavior and derivatives of antibiotics in tangerine, 2) quantitative analysis of antibiotic residues in water samples around the tangerine orchards, 3) antibiotic-resistant microbes in tangerine, soil and water samples from the surrounding sources of both the tangerine orchards, 4) development of a fast screening device for residue detection at the pre-harvest site, 5) knowledge assessment of farmers on the usage of antibiotics in tangerine cultivation, and 6) possible mechanism of action of antibiotics in tangerine disease through molecular modeling.

The studies on kinetic behavior and residues of ampicillin, oxytetracycline and streptomycin antibiotics using LC-MS/MS was performed for a 90-day period in two sample groups namely those tangerine plants received the antibiotic 1) more than 5 times before, and 2) for the first time. The results here indicated that in the tangerine

plants received ampicillin more than 5 times before, ampicillin was detected from the first day to the peak on day 7 at approximately 254.9 ppb and decreased to approximately 20.2 ppb on day 90 when compared to the use of ampicillin in the tangerine orchard where the antibiotic was used for the first time that ampicillin was initially detected on day 3 at 2.7 ppb and increased to the highest level of 137.4 ppb at day 20 and then the level of ampicillin was gradually decreased to 1.1 ppb on the day 90. The results of oxytetracycline and streptomycin residue analyzes are likely to be in the same direction as those of ampicillin. Moreover, the water samples within 5 kilometers from the tangerine orchards were also taken at every 500 meters for 10 points. Analysis of ampicillin in the samples by LC-MS/MS was performed and the antibiotic was found in the range of 19.139–103.541 ppb. The detected ampicillin concentrations were not significantly correlated with the sampling interval due to the natural streams flow through other ampicillin-used tangerine orchards that affects the amount of the detected antibiotic ampicillin. When compared to the samples from the natural water sources of the newly-used ampicillin tangerine orchards, the samples were collected after 15 days of the antibiotic treatment at 30 points. No antibiotic residue was detected in 30 points of the natural water sources. It is possible that the ampicillin concentrations in the samples were lower than the limit of detection (LOD) which is equal to 0.100 ppb.

Quantitative analysis of ampicillin-resistant strains of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* were performed by collecting soil samples around the tangerine trees, tangerine stems, leaves, fruits, and water from the surrounding sources of both the tangerine orchard where ampicillin has been used more than 5 times and the orchard where ampicillin has just been used. It was found that the long-used ampicillin orchard was found a low variety of microorganisms. Most of the found microorganisms were some fungi and bacteria strains approximately $10\text{--}10^2$ colony forming unit (cfu) per 1 gram of soil. There was no microbe in some samples. The ampicillin resistant *E. coli* was found as 100 percent and antibiotic-resistant *S. aureus* was highly found. For newly-used ampicillin orchard, a high diversity of microorganisms was found in excess of $10^5\text{--}10^7$ cfu per 1 g. of soil and no antibiotic-resistant *E. coli* and *S. aureus* were detected. In addition, alternative methods of analyzing ampicillin residue and its derivatives using cyclic voltammetry and amperometry have also been developed in order to do the residue detection at the preharvest site. These are the electrochemical analysis technique related to applying the electrical potential controlled by external electronics circuits to electrochemical cell electrodes. It was found that the calibration graph from the amperometric method in optimum condition was linear between 0.2–1 millimolar and the percent recovery by spike standard ampicillin was in the range of 97–103 %.

For the impacts on health and the environment, knowledge assessment of farmers on the usage of antibiotics in tangerine cultivation was investigated and essential knowledge for the antibiotic usage was further informed. It was found that the farmers had a knowledge of the preparation and treatment of antibiotic-based solution as they were told from agricultural scholars and other farmers. They can adapt their knowledge to the context of their own tangerine orchards to get the tangerine yields as precisely expected. However, the farmers still lack knowledge regarding the antibiotic resources, stability, storage, effective and safe use, so the lacked knowledge was supplied in order to enable the farmers to know, understand and apply the knowledge to practice. For the impacts on the environment and health of consumers, the farmers believe that ampicillin is safe because it is a medicine for humans and so it is likely to be safe for the environment.

The plausible mechanism of action of ampicillin, oxytetracycline and streptomycin that are used in the prevention and treatment of Citrus greening disease was investigated using molecular modeling approach. Molecular docking was conducted through the inhibition of the SecA protein of *Candidatus Liberibacter asiaticus*, an important protein for the growth and survival of the organism. Based on the minimum energy of the antibiotics required to bind the active site of SecA, ampicillin and oxytetracycline exhibited the lower binding energy values than its natural substrate, ATP, leading to inhibiting the growth of the bacteria. From the binding conformations of the drug structures in the active site of SecA, ampicillin showed the most closely alignment compared to ATP and has a better affinity than those of other antibiotics used in the study. It may be concluded that ampicillin is likely to outperform the other two antibiotics used for the tangerine trees by the reason of performance and safety. However, it is necessary to study the other target proteins related to the disease including health and environmental impacts.

To be concluded for precision agriculture of tangerine cultivation, there are three main concerns in the value chain for the effects of antibiotics on the prevention and/or treatment of Citrus greening disease and Citrus root rot and Phytophthora foot rot. First, the upstream is an effective and precise antibiotic or other agents to control the citrus diseases and a certified resource of antibiotics. Second, the midstream is the right information related to antibiotic usage for farmers including preparation, stability, storage, and dosage administration. Final, the downstream is the reduction of antibiotic residues to minimize the impacts on health and the environment. According to Codex Alimentarius (2018), maximum residue limit (MRL) of ampicillin in fish fillet is not more than 50 µg/kg (ppb), our findings suggest that tangerine products should be harvested after 60 days of the antibiotic injection (ampicillin residues less than 20 ppb) and in the tangerine orchard where the antibiotic was used for the first time, the injection of ampicillin into the stems should be restrained for more than 90 days. The development of an alternative device for antibiotic residue detection at the pre-harvest site will be valuable for safety assessment and precision agriculture.