

วิสาสาเหตุของโรคพริกไทยในประเทศไทย

ดวงใจ ชูปัญญา และ ชัยณรงค์ บุญเข็มทอง¹

บทคัดย่อ

โรคใบด่างของพริกไทยที่แพร่ระบาดอยู่ทั่วไปตามแหล่งปลูกในเขตจังหวัดต่างๆ ของประเทศไทยนั้น มี 2 ลักษณะอาการที่แตกต่างกัน คือ ลักษณะอาการแรก ใบมีสีเหลืองทั่วทั้งใบ ผิวใบไม่เรียบ ใบม้วนงอ ขนาดของใบเล็กลง บางครั้งแตกยอดออกเป็นใบฝอย ยอดงั้น ลำต้นแคระแกร็น ไม่เจริญเติบโตเท่าที่ควร เมื่อนำใบพริกไทยที่แสดงอาการของโรคนี้มาตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน พบเชื้อไวรัสท่อนยาวคด ขนาด 15 × 500 — 1,000 นาโนเมตร และอีกลักษณะหนึ่งที่พบ คือ ใบอ่อนมีอาการด่างสีเขียวอ่อนสลับสีเขียวเข้ม ใบมีขนาดปกติ แต่ใบแก่เห็นอาการด่างไม่ชัดเจน โรคนี้สามารถถ่ายทอดไปยังชะพลูและโคลูกบรินได้ด้วยวิธีทาบกิ่งและต่อใบ แต่ไม่สามารถถ่ายทอดผ่านทางน้ำคั้น จากการตรวจหาสาเหตุของโรคนี้ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนโดยวิธี leaf dip พบเชื้อไวรัสชนิดกลมขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 53—57 นาโนเมตร นอกจากนี้ ลักษณะภายในของเซลล์ของใบพริกไทยที่เป็นโรคจะแฟบบางและเล็กลง รวมตัวกันเป็นกระจุก และนิวเคลียสของเซลล์ผิดปกติ ดังนั้นสามารถสรุปได้ว่าโรคใบเหลืองของพริกไทยเกิดจากเชื้อไวรัสท่อนยาวคด และโรคใบด่างของพริกไทยเกิดจากเชื้อไวรัสชนิดกลม

ประเทศไทยได้มีการปลูกพริกไทย (*Piper nigrum* L.) มานานแล้ว พันธุ์ที่ปลูกกันส่วนมากเป็นพันธุ์ท้องถิ่น แต่บางแห่งอาจปลูกพันธุ์ต่างประเทศที่มีการขยายพันธุ์กันต่อ ๆ มา โดยไม่มีการคัดเลือกและปรับปรุงพันธุ์ตามหลักวิชาการ ทำให้ได้พันธุ์ที่ไม่ค่อยจะเหมาะสมกับสภาพดินฟ้าอากาศในบางท้องที่ของประเทศไทย และพันธุ์เหล่านี้เป็นพันธุ์ไม่มีความต้านทานต่อโรคและแมลง จึงเป็นผลทำให้พริกไทยที่เกษตรกรปลูกในจังหวัดต่าง ๆ ได้รับความเสียหายมาก ซึ่งเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เกษตรกรเปลี่ยนไปปลูกพืชอื่นแทนเสียเป็นจำนวนมาก ปัจจุบันเมล็ดพริกไทยเป็นที่ต้องการของตลาดต่างประเทศมากขึ้น ทำให้มีราคาสูง ถ้าผู้ปลูกให้การเอาใจใส่ดูแลรักษาอย่างสม่ำเสมอ จะช่วยทำให้ผลผลิตของพริกไทยสูง ในประเทศไทยมีแหล่งผลิตพริกไทยอยู่ที่ จ. จันทบุรี ถึงร้อยละ 90 รองลงมา คือ ระยอง ชุมพร นครราชสีมา พังงา กระบี่ และตรัง ในปี พ.ศ. 2529—2530 ผลิตได้ประมาณ 4,425 ตัน ลดลง 10—15% สาเหตุเนื่องจากต้นพริกไทยประสบปัญหาเรื่องโรคเข้าทำลาย เนื่องจากปัจจุบันเมล็ดพริกไทยมีราคาสูงขึ้นมาก ดังนั้น เกษตรกรจึงหันมาปลูกพริกไทยกันมากยิ่งขึ้น

อีก โดยปลูกทั้งพันธุ์พื้นเมือง เช่น พันธุ์ใบยาว จันทบุรี พันธุ์เมืองกระบี่ ปะเหลียน และพันธุ์ต่างประเทศ เช่น พันธุ์มาเลเซีย ชาราวัก ศรีลังกา (เอียน, 2529) อีกทั้งเกษตรกรยังได้มีการคัดเลือกพันธุ์มาปลูกเพื่อให้เหมาะสมกับสภาพท้องถิ่น แต่โรคของพริกไทยก็ยังเกิดขึ้นเสมอ โรคที่พบมากกระบาดรุนแรงเสมอ ได้แก่ โรคโคนและรากเน่า ซึ่งเป็นโรคที่สำคัญที่สุด นอกจากนี้ยังมีโรคอื่น ๆ อีก (เอียน, 2521) แต่โรคที่มีสาเหตุเกิดจากเชื้อไวรัสระบาดในแปลงพริกไทยนั้น โดยทั่วไปโรคนี้มี 2 ลักษณะอาการที่แตกต่างกัน คือ ลักษณะอาการแรก ใบมีสีเหลืองทั่วทั้งใบ ผิวใบไม่เรียบ ใบม้วนงอ ขนาดของใบเล็กลง บางครั้งแตกยอดออกเป็นใบฝอย ยอดชะงักงั้น ลำต้นแคระแกร็น ไม่เจริญเติบโตเท่าที่ควร (Holliday, 1959) ส่วนอาการอีกลักษณะหนึ่ง คือ ใบอ่อนแสดงอาการด่างสีเขียวอ่อนสลับกับสีเขียวเข้ม ใบมีขนาดปกติ แต่ใบแก่เห็นอาการด่างไม่ชัดเจน โรคนี้ทำให้ผลผลิตลดลง 27—43% (Smith, 1972) โรคที่เกิดจากเชื้อไวรัสของพริกไทยนี้ได้เคยพบในประเทศฟิลิปปินส์ด้วยเช่นกัน (Del Rosario, 1961) การทดลองครั้งนี้เพื่อให้ทราบแน่ชัดว่า ลักษณะอาการของโรคดังกล่าวที่เกิดขึ้นเป็นกับพริกไทยในประเทศไทยมีสาเหตุเกิดจากเชื้อไวรัสหรือไม่ และมีการถ่ายทอดไปสู่พืชในสกุลเดียวกับ *Piper* spp. โดยวิธีใด เพื่อเป็นแนวทางในการหาวิธีป้องกันกำจัดต่อไป

¹นักวิชาการโรคพืช กลุ่มงานนิสิตวิทยา กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร บางเขน กทม. 10900

อุปกรณ์และวิธีการ

ศึกษาลักษณะอาการและสาเหตุโรคใบด่างของพริกไทย

ทำการสำรวจตามแหล่งที่มีการปลูกพริกไทยในจังหวัดต่าง ๆ ทางภาคตะวันออก คือ ระยองและจันทบุรี และทางภาคใต้ คือ ชุมพร ระนอง กระบี่ พังงา และตรัง ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2522 เมื่อพบโรคของพริกไทยที่มีลักษณะคล้ายกับอาการที่เกิดจากเชื้อไวรัส ก็ทำการบันทึกลักษณะอาการของโรค และนำตัวอย่างมาศึกษาหาเชื้อสาเหตุของโรคในห้องปฏิบัติการ ด้วยวิธี leaf dip โดยตัดเนื้อใบพริกไทยตรงบริเวณเป็นโรค บดในหยดของสารละลาย 0.1 M potassium phosphate buffer pH 7.2 นำกริดขนาด 400 mesh ซึ่งเคลือบด้วยคาร์บอนทับบนเยื่อฟอรัมวาร์ซึ่งทำลายประจุแล้ว มาวางคว่ำบนหยดตัวอย่างดังกล่าวนาน 5 นาที หลังจากนั้นล้างกริดด้วยบัฟเฟอร์ แล้วย้อมด้วย 2% uranyl acetate และนำไปตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน เปรียบเทียบกับใบปกติ นอกจากนี้ยังนำตัวอย่างใบเป็นโรคมาศึกษาลักษณะภายในโดยตัดส่วนใบอ่อนของพริกไทยและชะพลูที่แสดงอาการของโรคให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ รักษาสภาพของเนื้อเยื่อตามขั้นตอนของการ embed tissue (Spurr, 1969) จนได้ชิ้นส่วนของพืชอยู่ในแท่ง Spurr's resin ทำการตัดชิ้นส่วนของพืชให้เป็นชิ้นบาง ๆ ด้วยเครื่องตัดเนื้อเยื่อชนิดบาง นำชิ้นส่วนที่ตัดได้ไปย้อมด้วย lead citrate และ 5% uranyl acetate ตามลำดับ แล้วนำไปตรวจดูลักษณะภายในด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนเปรียบเทียบกับใบปกติ

ศึกษาการถ่ายทอดเชื้อไวรัสของพริกไทยโดยวิธีน้ำคั้น (Sap inoculation)

ศึกษาการถ่ายทอดเชื้อไวรัสโดยวิธี sap inoculation โดยนำใบพริกไทยที่แสดงลักษณะอาการของโรคมาบดในสารละลาย 0.1 M potassium phosphate buffer pH 7.2 แล้วนำน้ำคั้นที่ได้ไปทาบนใบของต้นพริกไทยปกติซึ่งไร่องคาร์บอนรันต์มไว้ก่อนแล้ว เก็บต้นพริกไทยไว้ในกรงกันแมลง หลังจากนั้นตรวจดูว่ามีลักษณะอาการของโรคเกิดขึ้นหรือไม่ (Anon., 1966)

ศึกษาการถ่ายทอดเชื้อไวรัสของพริกไทยโดยวิธีทาบกิ่ง (Graft transmission). 2 แบบ

1. เสียบยอด (Approach graft) โดยใช้ส่วนยอดของต้นพริกไทยที่เป็นโรคมาทาบกิ่งเข้ากับต้นพริกไทยที่ไม่

เป็นโรค โดยใช้ดินที่มีขนาดเท่า ๆ กัน แล้วใช้เทปพันตรงรอยต่อให้สนิท (Bos, 1967) หลังจากนั้นคอยสังเกตอาการของโรคว่าสามารถถ่ายทอดได้หรือไม่ นอกจากนี้ ยังนำส่วนยอดของต้นพริกไทยที่เป็นโรคไปทาบกิ่งของพืชต่าง ๆ ในตระกูลเดียวกันกับพริกไทย ได้แก่ ชะพลู (*Piper sarmentosum*) โคลubrimum (*Piper colubrinum*) และสะคร้าน (*Piper ribersoides*)

2. ต่อใบ (Leaf graft) ทำการทดลองโดยการนำใบพริกไทยที่เป็นโรคมาทาบกิ่งกับใบของต้นปกติ โดยใช้มีดโกนคม ๆ ตัดประมาณกึ่งกลางของใบ แล้วนำปลายใบส่วนที่เป็นโรคมาทอกับโคนใบของต้นปกติ ใช้เทปติดตรงรอยต่อโดยจัดให้เส้นกลางใบของทั้งสองส่วนตรงกัน ใช้ถุงพลาสติกเล็ก ๆ หุ้มใบที่ทำการทาบกิ่งไว้เพื่อป้องกันการระเหยของน้ำซึ่งจะทำให้ใบเหี่ยวแล้วเก็บไว้ในที่ร่ม หลังจากนั้นคอยสังเกตลักษณะอาการของโรคว่าสามารถถ่ายทอดได้หรือไม่ (McWhorter and Allen, 1964)

ศึกษาการเตรียมเชื้อไวรัสบริสุทธิ์ของโรคใบเหลืองของพริกไทย

นำใบพริกไทยที่เป็นโรคซึ่งมีลักษณะอาการใบเหลืองเล็กเรียวยาว หักงอ แยกมาปั่นใน 0.05 M phosphate buffer pH 8-8.2 โดยใช้อัตราส่วนใบพริกไทย : buffer = 1 : 2 เมื่อปั่นละเอียดแล้ว ใส่ในขวดแช่แข็งเป็นเวลา 24 ชม. แล้วนำออกมาวางไว้ให้ละลาย กรองผ่านผ้าขาวบาง กากทิ้งไป นำส่วนน้ำไปปรับ pH เป็น 4.8 แล้วตั้งไว้ในตู้เย็นเป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นนำมาปั่นด้วยความเร็วต่ำ 9,000 rpm นาน 15 นาที ตะกอนทิ้งไป นำส่วนน้ำใสมาปั่นโดยใช้ความเร็วสูง 30,000 rpm นาน 2 ชม. นำส่วนตะกอนมาละลายใน 0.01 M phosphate buffer ที่มี 0.01 M thioglycolate อยู่ด้วยโดยใช้ magnetic stirrer ทำในตู้เย็นนาน 45-60 นาที นำส่วนน้ำใสมาปั่นด้วยความเร็วต่ำ 9,000 rpm นาน 15 นาที ส่วนที่เป็นตะกอนทิ้งไป นำส่วนน้ำใสมาปั่นด้วยความเร็วสูง 30,000 rpm แล้วนำตะกอนที่ได้มาละลายใน buffer นำไปปั่นด้วยความเร็วต่ำอีกครั้ง ส่วนตะกอนทิ้งไป ได้น้ำใสมีสีน้ำตาลอ่อน แล้วนำมาทำ density gradient โดยปั่นในสารละลายน้ำตาลซูโครส ความเข้มข้น 10-40% ความเร็วสูง 30,000 rpm นาน 2 ชม. แยกส่วนที่เป็นแถบสีขาวขุ่นออกมา ได้เชื้อไวรัสบริสุทธิ์ (Maramorosch and Koprowski, 1967; Albuquerque and Conduru, 1971; Caner and Ikeda, 1972)

ผลการทดลอง

ผลจากการสำรวจพบว่า ทุกแห่งที่มีการปลูกพริกไทย มีโรคที่มีลักษณะอาการคล้ายเกิดจากเชื้อไวรัสระบาดอยู่ทั่วไป ซึ่งมี 2 ลักษณะอาการด้วยกัน คือ ลักษณะอาการแรก ใบมีสีเหลือง และมีขนาดเล็ก ใบเรียวยาว ถ้าเป็นมากผิวใบไม่เรียบ มีรอยบวมเป็นบางแห่ง ทำให้ใบม้วนงอ ช่วงระหว่างข้อสั้นลง ทำให้ลำต้นเตี้ย แคระแกร็น ยอดงั้น และใบออกเป็นฝอย (ภาพที่ 1) เมื่อเปรียบเทียบกับต้นที่ไม่เป็นโรคซึ่งอยู่ใกล้เคียงกัน จะเห็นความแตกต่างของการเจริญเติบโต ตลอดจนผลผลิตของพริกไทยอย่างชัดเจน และอาการอีกลักษณะหนึ่งที่พบ คือ ใบอ่อนแสดงอาการต่างสีเขียวย่อ่นสลับสีเขียวเข้ม และใบมีขนาดปกติ (ภาพที่ 2) แต่ในใบแก่เห็นอาการต่างไม่ชัดเจน

การตรวจหาเชื้อสาเหตุของโรคนั้น ได้ส่งตัวอย่างใบพริกไทยที่มีลักษณะอาการใบเหลือง ผิวใบไม่เรียบ ใบม้วนงอ ไปตรวจสอบที่ประเทศญี่ปุ่น (Hibi ติดต่อบริษัท) พบอนุภาคของเชื้อไวรัสท่อนยาวคดมีขนาด $15 \times 500 - 1,000$ นาโนเมตร ส่วนเชื้อไวรัสจากตัวอย่างใบพริกไทยและใบชะพลูซึ่งมีลักษณะอาการต่างสีเขียวย่อ่นสลับสีเขียวเข้ม ถ้าเป็นมากผิวใบจะเป็นคลื่นไม่เรียบ (ภาพที่ 3) เมื่อนำมาศึกษาโดยตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน พบเชื้อไวรัสตัวกลมขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง $53-57$ นาโนเมตร (ภาพที่ 5 และ 6) แต่ไม่พบเชื้อไวรัสท่อนยาวคด

ตารางที่ 1 เปอร์เซ็นต์การถ่ายทอดโรคใบด่างของพริกไทย และลักษณะอาการที่เกิดขึ้นหลังจากการนำยอดของต้นพริกไทยเป็นโรคมารับ (เสียบยอด) กับพืชต่าง ๆ

ยอดของต้นพริกไทย เป็นโรคมารับกับ ยอดของพืชปกติ	เปอร์เซ็นต์ การเกิดโรค	ลักษณะอาการที่ เกิดขึ้นหลังจาก เสียบยอดแล้ว
พริกไทยพันธุ์มาเลเซีย	100(90/ 90) ¹	ใบด่าง
พริกไทยพันธุ์ชาราวัก	100(100/ 100)	ใบด่าง
ชะพลู	92.7(76/ 82)	ใบด่าง mottle บางใบ มีอาการคล้ายวงแหวน (ring)
โคกูบรินัม	81.8(9/ 11)	ใบด่าง
สะคร้าน	0(0/ 4)	— ²

¹จำนวนต้นที่เกิดโรค/ จำนวนต้นทั้งหมดที่ทาบกิ่ง

²ไม่แสดงอาการ

ตารางที่ 2 เปอร์เซ็นต์การถ่ายทอดโรคใบด่างของพริกไทย และลักษณะอาการที่เกิดขึ้นหลังจากนำส่วนปลายใบพริกไทยเป็นโรคมารับกับใบพืชปกติ

การต่อใบพืช เป็นโรคกับ ใบพืชปกติ	เปอร์เซ็นต์ การเกิดโรค	ลักษณะอาการที่ เกิดขึ้นหลังจาก ต่อใบแล้ว
ใบพริกไทยเป็นโรคต่อกับ ใบพริกไทยพันธุ์มาเลเซีย ปกติ	15(3/ 20) ¹	ใบด่าง
ใบพริกไทยเป็นโรคต่อกับ ใบพริกไทยพันธุ์ชาราวัก ปกติ	20(4/ 20)	ใบด่าง
ใบชะพลูเป็นโรคต่อกับ ใบชะพลูปกติ	80(16/ 20)	ใบด่าง

¹จำนวนต้นที่เกิดโรค/ จำนวนต้นทั้งหมดที่ต่อใบ

และจากการนำใบอ่อนของพริกไทยและชะพลูที่เป็นโรคมารับเนื้อเยื่อเป็นชิ้นบาง ๆ นำไปตรวจดูลักษณะภายในเปรียบเทียบกับใบปกติ พบว่าลักษณะของเซลล์ที่เป็นโรคนั้นแฟบเล็กลง และรวมตัวกันเป็นกระจุก และพบความผิดปกติในนิวเคลียสของเซลล์ แต่ลักษณะดังกล่าวไม่พบในชิ้นส่วนที่ตัดจากใบปกติ

การถ่ายทอดโรคใบด่างของพริกไทย พบว่าไม่ถ่ายทอดโรคผ่านทางน้ำคั้น แต่สามารถถ่ายทอดโรคได้โดยวิธีทาบบ คือ เสียบยอด (ตารางที่ 1, ภาพที่ 4) และต่อใบ (ตารางที่ 2)

สำหรับการเตรียมเชื้อไวรัสบริสุทธิ์ของโรคใบด่างของพริกไทยเพื่อนำไปผลิตแอนติซีรัมสำหรับใช้ตรวจสอบโรคในขั้นต่อไปนั้นยังไม่ประสบผลสำเร็จ

วิจารณ์และสรุปผลการทดลอง

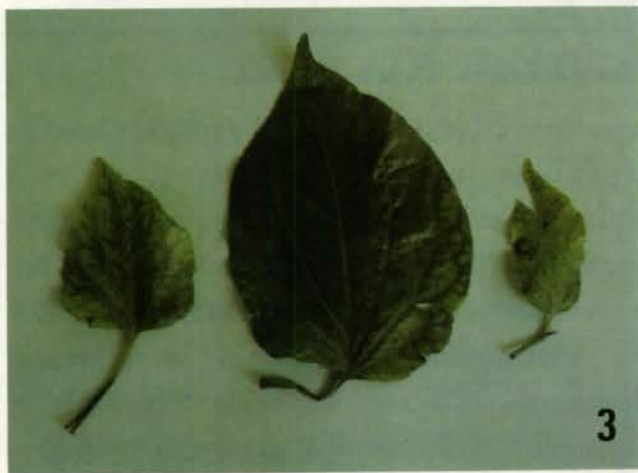
อาการใบเหลืองของพริกไทยที่พบในประเทศไทยซึ่งตรวจพบเชื้อไวรัสท่อนยาวคดนั้น มีลักษณะคล้ายกับโรค stunt virus ของพริกไทยที่พบในชาราวัก (Holliday, 1959; Smith, 1972) คือ ใบอ่อนมีลักษณะอาการเหลืองอย่างรุนแรง ใบม้วนงอ ขนาดของใบเล็กลง และลำต้นแคระแกร็น แต่ไม่มีรายงานเกี่ยวกับเชื้อไวรัสสาเหตุของโรคนี้อีก และลักษณะอาการใบด่างเขียวย่อ่นสลับเขียวแก่ของพริกไทยซึ่งตรวจพบเชื้อไวรัสตัวกลมนั้นก็มียักษณะเช่นเดียวกับที่พบในต่างประเทศ ซึ่งได้รายงานว่าเกิดจากเชื้อ Cucumber mosaic virus (CMV) ซึ่งเป็นเชื้อไวรัส



ภาพที่ 1 ใบพริกไทยเป็นโรค มีลักษณะอาการเหลืองทั่วทั้งใบ ผิวใบไม่เรียบ ขนาดของใบเล็กลง เปรียบเทียบกับใบปกติ (ใบด้านขวาสุด)



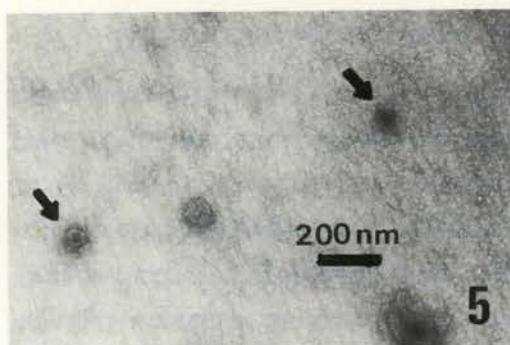
ภาพที่ 2 ใบพริกไทยเป็นโรค มีลักษณะอาการด่างสีเขียวอ่อนสลับกับสีเขียวเข้ม



ภาพที่ 3 ใบชะพลูเป็นโรค มีลักษณะอาการด่าง สีเขียวอ่อนสลับกับสีเขียวเข้ม



ภาพที่ 4 การเสียบยอดของพริกไทยเป็นโรคใบด่างบนต้นโคกบวรินทร์ที่ไม่เป็นโรค ในการทดสอบการถ่ายทอดโรค



ภาพที่ 5 อนุภาคไวรัสตัวกลมที่ตรวจพบในใบพริกไทยที่มีลักษณะอาการด่าง (ลูกศร) ถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน



ภาพที่ 6 อนุภาคไวรัสตัวกลมที่ตรวจพบในใบชะพลูที่มีลักษณะอาการด่าง (ลูกศร) ถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน

ตัวกลม มีขนาด 30 นาโนเมตร (Albuquerque and Condura, 1971; Caner and Ikeda, 1972) เชื้อไวรัสที่พบในพริกไทยไม่ถ่ายทอดโรคด้วยวิธีน้ำคั้น แต่สามารถถ่ายทอดโรคได้ด้วยวิธีทาบ คือ เสียบยอดและต่อใบ เช่นเดียวกับที่มีรายงานในต่างประเทศ (Anon., 1966) การเตรียมเชื้อไวรัสที่ไม่ประสบความสำเร็จ เนื่องจากใบพริกไทยไม่เหมาะที่จะนำมาใช้สำหรับเตรียมเชื้อไวรัสบริสุทธิ์ เพราะมีสาร tannin มาก ทำให้น้ำคั้นที่ได้มีสีดำ ดังนั้นจะต้องหาพืชชนิดอื่นที่เหมาะสมสำหรับเพิ่มปริมาณเชื้อไวรัสที่เป็นสาเหตุโรคใบด่างพริกไทยเพื่อใช้เตรียมเชื้อไวรัสบริสุทธิ์ต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- เอียน คิลาย้อย. 2521. โรคของพริกไทย. วารสารพืชสวน 13(4) : 39-54.
 เอียน คิลาย้อย. 2529. พริกไทย. เกษตรการเกษตร 10(119) : 25-41.
- Albuquerque, F.C. De and J.M.P. Condura. 1971. Black pepper cultivation in the Amazon region. Fitotecnia 2(3) : 123-138.
 Anonymous. 1966. Annual report of the department of agriculture, Federation of Malaya. 82 pp.
 Bos, L. 1967. Graft transmission of plant viruses, pp. 403-411. In: K. Maramorosch and H. Koprowski. Methods in virology. Vol. I, Academic Press, New York.
 Caner, J. and H. Ikeda. 1972. A virus disease of black pepper in Sao Paulo State. Biologico 38(3) : 93-94.
 Del Rosario (Maria S.). 1961. A new virus disease of black pepper. Phil. Agri. 45(3) : 141-143.
 Holliday, P. 1959. Suspected virus in black pepper, Phytopath. News 5(4) : 49-52.
 Maramorosch, K. and H. Koprowski. 1967. Methods in virology, Vol. I. Academic Press, New York. 640 pp.
 McWhorter, F.P. and T.C. Allen. 1964. Transfer of lily curl stripe by a leaf union method applicable to monocotyledonous plants. Nature. 204 : 604-605.
 Smith, K.M. 1972. Black pepper stunt virus, In: Holliday text book of plant virus diseases, Longman. 684 pp.
 Spurr, A.R. 1969. A low-viscosity epoxy resin embedding medium for electron microscopy. J. Ultrastructure Research 26 : 31-43.

Virus Diseases of Black Pepper in Thailand

By

Duangchai Choopanya and Chainarong Boonkemthong

Virology Section, Plant Pathology and Microbiology Division
Department of Agriculture, Bangkok, Bangkok, Thailand 10900

ABSTRACT

Symptoms of two different diseases of black pepper are widely observed in Thailand. The first disease is characterised by a yellowing of the leaves and roughening of the leaf surfaces, with leaf curling. The leaves are also reduced in size and there is a shortening of internodes and stunting of stem growth. Sometimes many small leaves develop from a bud where normally there would be a single leaf. The internal structure of the diseased leaves showed the leaf cells were shrunken and aggregated, with the nuclei also being abnormal. The causal agent of this disease was detected using an electron microscope and leaf-dip method. Flexuous rod virus particles about $15 \times 500-1000$ nm. long were isolated from the yellowing portions of the leaves.

The second disease is characterised by mosaic symptoms with the size of the leaves remaining normal. Electron microscope examination black pepper leaves and wild betel leafbush leaves with the symptoms, showed isometric virus particles 53-57 nm. in diameter.

Both diseases can be transmitted by grafting but not by sap transmission.
