

담배장님노린재에 의한 오동나무 빗자루병 MLO의 일일초로의 전반

나용준¹ · 박원철*

¹서울대학교 농생물학과, 임업연구원 산림미생물과

Insect Transmission of Paulownia Witches'-Broom Mycoplasma-Like Organism to Periwinkle Plant by Tobacco Leaf Bug, *Cyrtopeltis tenuis* Reuter

Yong Joon La¹ and Won Chull Bak*

¹Department of Agricultural Biology, Seoul National University, Suwon 441-744, Korea
Department of Forest Microbiology, Forestry Research Institute, Seoul 130-012, Korea

ABSTRACT : Paulownia witches'-broom mycoplasma-like organism (PWB-MLO) was transmitted experimentally to periwinkle (*Catharanthus roseus* L.) plant by tobacco leaf bug (*Cyrtopeltis tenuis* Reuter). Adults of the leaf bugs were allowed to feed on the witches'-broom infected paulownia (*Paulownia tomentosa* Steud.) trees for three weeks to insure the acquisition of PWB-MLO and then transferred to healthy seedlings of periwinkle and paulownia plants. In 25~35 days after transfer of the viruliferous leaf bugs, six out of the ten periwinkle plants showed 'little-leaf' symptoms, while the paulownia seedlings remained symptomless. Presence of MLO in the infected periwinkle tissue was diagnosed by fluorescence microscopy and MLO particles were observed under electron microscope, confirming the transmission of PWB-MLO to periwinkle.

Key words : Paulownia witches'-broom, mycoplasma-like organism, *Cyrtopeltis tenuis* Reuter, periwinkle, little-leaf.

오동나무 빗자루병은 세계적으로 가장 중요한 수병의 하나로서, 현재 우리나라는 물론 일본에서 오동나무를 거의 전멸시킨 바 있고, 최근에는 대만에서 대발생하여 그곳의 오동나무재배를 위협하고 있으며, 중국대륙에서도 크게 맹위를 떨치고 있다(4, 6, 12). 이 병의 병원체는 1967년 Doi 등(3)에 의해 mycoplasma-like organism(MLO)으로 밝혀졌으며, 병이 발생하면 빨리 확산되는 것으로 알려져 있어 효과적인 방제를 위해서는 전염경로를 찾는 것이 매우 중요하다. 전염경로에 관한 연구로는 1968년 나 등(7)이 담배장님노린재를 이 병의 매개충으로 보고한 것이 처음이다. 그후 일본에서는 1979년 Shiozawa 등(8, 9)에 의해 썩덩나무노린재가 매개충으로 밝혀졌으며, 1993년 박 등(2)에 의해 재확인되었다. 이중 담배장님노린재의 충매전염은 병원체가 MLO로 밝혀지기 이전에 바이러스에 기인하는 것으로 생각하고 실시하였기 때문에 식물조작내의 MLO감염 여부를 확

인하지 못하였다. 따라서 이 실험은 담배장님노린재의 충매전염에 의해 이 병의 병원체인 MLO가 오동나무 및 검정식물인 일일초에 옮겨지는지의 여부를 구명하기 위하여 실시하였다.

재료 및 방법

공시 매개충. 임업연구원 구내에 식재된 오동나무 실생유묘에 서식하는 담배장님노린재(*Cyrtopeltis tenuis* Reuter)의 성충을 채집하여 충매전염실험에 사용하였다.

공시식물. 오동나무 빗자루병의 주기주인 오동나무(*Paulownia tomentosa* Steud.)와 MLO의 검정식물로 널리 쓰이는 일일초(*Catharanthus roseus* L.)를 곤충집종에 사용하였다. 오동나무와 일일초 모두 실생유묘를 준비하였고 6~10엽기에 달했을 때 보독된 담배장님노린재를 접종하였다.

충매전염실험. 7~8월 사이에 담배장님노린재를 채집하였다. 경기도 군포시에 있는 안양칸추리클럽

*Corresponding author.

구내의 빗자루병에 걸린 오동나무의 병든 가지에 망포를 씌우고 채집한 담배장님노린재를 그속에 넣어 흡즙보독을 시켰다. 약 3주간 보독을 시킨 곤충을 임업연구원 구내의 온도가 25°C 정도 유지되는 온실내에 준비된 6~10엽기의 오동나무 및 일일초의 실생유묘에 개체당 30마리씩 접종시키고 나일론망통으로 식물을 덮어 놓았다. 곤충이 폐사할 때까지 접종을 시켰으며, 접종이 끝난 식물은 망통을 벗기고 온실안에서 관리하면서 병징의 발현유무를 조사하였다.

MLO감염의 형광현미경진단. 형광현미경기법은 박과 나(1)의 방법을 사용하였다. 즉, 곤충접종을 한 후 이상증상을 나타내는 식물의 가느다란 가지를 5% glutaraldehyde에 2시간 이상 고정한 후 약 30 µm 두께의 횡단도수절편을 만들고, 0.1 M phosphate buffer, pH 7.0에 녹여 1 µg/ml의 농도를 만든 형광염색소 DAPI(4'-6-diamidino-2-phenyl-indole·2HCl)로 염색하여, A필터를 사용한 Leitz Laborlux D 형광현미경으로 관찰하였다.

MLO의 전자현미경 관찰. 이상증상을 보이는 식물조직내의 MLO존재 여부를 형광현미경으로 진단한 후, MLO입자를 관찰하기 위하여 가느다란 가지를 5% glutaraldehyde 및 1% osmium tetroxide로

고정하고 ethanol계열로 탈수한 다음, epon수지에 포매하여 ultramicrotome으로 초박절편을 만들었다. 이들 절편을 초산우라닐 및 구연산연으로 2중염색하여 Hitachi HU-11E-1 전자현미경으로 검경하였다.

결 과

공시식물의 병징발현조사. 담배장님노린재(Fig. 1)가 오동나무 빗자루병을 매개전염하는 지의 여부를 구명하기 위하여 병에 걸린 오동나무에서 약 3주일간 흡즙시킨 성충을 공시식물에 접종하고, 약 4개월간에 걸쳐 병징발현여부를 조사한 결과는 Table 1과 같다.

Table 1에서 보는 바와 같이 보독된 담배장님노린재를 2종의 공시식물에 접종한 결과, 접종을 시작한 지 25~35일이 지난 후에 일일초 10개체 중 6개체에서 소엽병징(11)을 보이기 시작했다(Fig. 2). 즉,

Table 1. Transmission test of paulownia witches'-broom mycoplasma-like organism (PWB-MLO) by tobacco leaf bug (*Cryptopeltis tenuis* Reuter)

Test plants ^a	No. of inoculated plants ^b	No. of infected plants	Incubation period (days)
<i>Catharanthus roseus</i> L.	10	6	25~35
<i>Paulownia tomentosa</i> Steud.	10	0	—

^a Healthy seedlings of 6~10th leaf-stage were used.

^b Thirty viruliferous tobacco leaf bugs were fed on each plant.

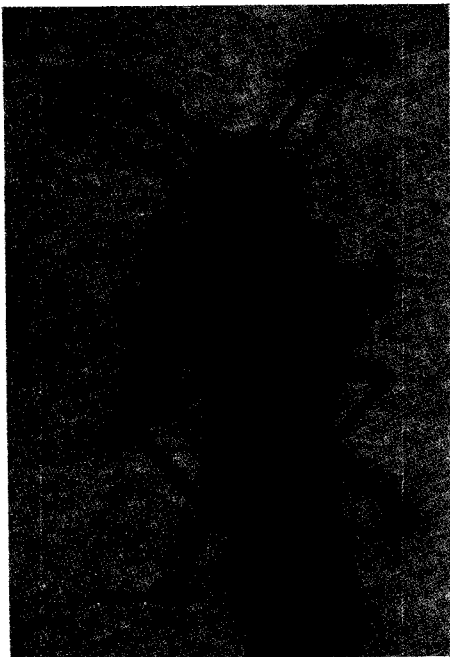


Fig. 1. Imago of tobacco leaf bug, *Cryptopeltis tenuis* Reuter. Bar represents 1 mm.



Fig. 2. Symptoms of "little-leaf" (arrows) developed in leaves of *Catharanthus roseus* L. infected with paulownia witches'-broom mycoplasma-like organism (PWB-MLO) through the tobacco leaf bug (left). Healthy seedling of *C. roseus* L. (right).

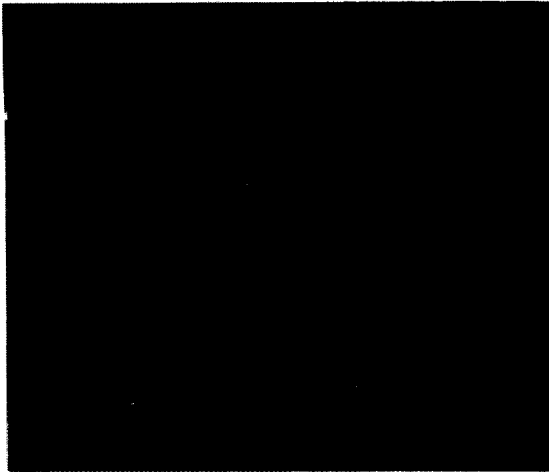


Fig. 3. Fluorescence micrograph of transverse stem section of *Catharanthus roseus* L. infected with paulownia witches'-broom mycoplasma-like organism (PWB-MLO). Arrows indicate MLO-specific fluorescence in the phloem of the stem stained with DAPI (4'-6-diamidino-2-phenylindole·2HCl). OP=outer phloem, IP=inner phloem, X=xylem.



Fig. 4. Electron micrograph of cross section of periwinkle stem infected with paulownia witches'-broom mycoplasma-like organism (PWB-MLO). PWB-MLOs are visible in the sieve tube. ST=sieve tube, CW=cell wall. Bar represents 1 μ m.

잎이 정상엽의 1/3정도로 작아지고 잎의 폭은 좁아지며, 색이 열리는 증상을 나타냈고, 수주일내에 시들기 시작했다. 그러나 접종한 오동나무 실생묘 10개체에서는 모두 4개월이 지나도록 아무런 증상도 나타나지 않았다.

감염조직의 형광현미경관찰. 일일초에 나타난 소엽병징이 PWB-MLO의 감염에 의한 것인지를 확인

하기 위하여 소엽병징을 보이는 일일초의 가느다란 가지를 채취하여 조직내의 MLO 존재여부를 형광현미경으로 조사하였다. 일일초의 조직절편을 형광염색소인 DAPI로 염색하여 형광현미경으로 검경한 결과, Fig. 3에서 보는 바와 같이 조직의 사부에서 MLO-특이형광이 관찰됨으로써 MLO가 존재함을 확인할 수 있었다. 그러나, 병징이 나타나지 않는 일일초 및 오동나무의 사부조직에서는 이러한 MLO-특이형광이 관찰되지 않았다.

감염조직의 전자현미경관찰. 형광현미경기법으로 MLO의 존재가 확인된 일일초의 감염조직에서 MLO입자를 관찰하기 위하여 전자현미경으로 검경한 결과, 감염조직의 사관에서 다수의 MLO입자가 관찰됨으로써(Fig. 4), 담배장님노린재에 의한 오동나무 빗자루병 MLO의 충매전염이 확인되었다.

고 찰

그 동안 오동나무 빗자루병의 방제의 기초가 되는 전염경로가 뚜렷하게 구명되어 있지않아 이 병의 효과적인 방제대책을 수립하는데 어려움이 많았다. 그러나 이 연구의 결과, 담배장님노린재가 오동나무 빗자루병 MLO를 옮기는 매개충으로 밝혀짐으로써 매개충구제를 통한 방제대책을 강구할 수 있게 되었다. 담배장님노린재는 이미 1968年 나 등(7)에 의해서 주기주인 오동나무를 비롯하여 금잔화, 나팔꽃 등으로 충매전염시키는 매개충으로 보고되었지만, 그 당시는 이 병의 병원체를 바이러스로 생각하였으며, MLO의 존재여부도 확인하지 못하였다. 따라서, 이 실험에서 이러한 담배장님노린재의 충매전염 능력이 재확인되었고 아울러 병원체인 MLO가 전염되었음이 밝혀졌다.

오동나무 빗자루병은 종자전염과 토양전염을 하지 않는 것으로 알려져 있으며, 접목에 의한 전염을 잘되는 것으로 보고되어 있다(10). 그러나 자연상태에서 이 병이 접목을 통해 전염된다고 생각할 수는 없다. 따라서 오동나무 빗자루병 MLO는 다른 식물 MLO와 같이 흡즙성곤충인 노린재류 및 매미충류에 의해 충매전염될 가능성이 많다고 생각되며, 담배장님노린재외에도 썩덩나무노린재(*Halyomorpha halys* Stål=*H. mista* Uhler) 등 노린재류가 이 병의 매개충으로 보고된 바 있다(2, 8, 9). 그 동안 다년간에 걸쳐 충매전염실험을 수행하는 과정에서 이들 2종 곤충의 출현빈도는 해와 장소에 따라 상당한 차이가 있었다고 생각되며, 이 실험의 시험지인 군포지역에서는 이들 곤충이 여러해동안 전혀 나타나지 않았음에도

불구하고 병이 발생되면 급속도로 퍼져나가 이 병의 전파에 관련되는 매개체가 이들 곤충외에 여러 종이 더 존재할 것으로 추정할 수 있다. 한편 새로운 매개체의 탐색도 중요하지만 주기주인 오동나무로의 충매전염을 성공시키는 것이 커다란 과제로 남아있다. 일반적으로 목본식물은 초본식물에 비해 MLO의 접종이 어려울 뿐만 아니라, 잠복기간이 길고 병징 발현이 불규칙한 편이다. 그러므로 오동나무 빗자루병의 전염을 연구하는데 있어서 MLO접종 후 비교적 단시일내에 정확한 발병여부를 알 수 있는 초본류의 검정식물이 절실히 요구되어 온 바, 이 실험에서 일일초가 짧은 기간에 병징을 나타내 MLO에 예민한 감수성을 보여주고 있으므로, 이 병의 충매전염실험에 검정식물로서 매우 유용하게 사용될 것으로 기대된다.

형광현미경기법에 관하여는 병징이 나타난 식물 조직내의 MLO를 전자현미경으로 확인하기에 앞서 간단히 MLO의 존재여부를 판단하여줌으로써 사용이 매우 효과적이었으며, 앞으로 MLO의 전염실험에 귀중하게 쓰여질 진단도구로 생각된다.

요 약

오동나무 빗자루병이 담배장님노린재에 의해 일일초로 전염되었다. 건전오동나무에서 채집한 담배장님노린재의 성충을 빗자루병에 걸린 오동나무에 약 3주일간 획득 흡즙시킨 후, 오동나무 및 일일초의 실생유묘에 개체당 30마리씩 넣고 모두 폐사할 때까지 접종시켰다. 접종개시일로부터 25~35일 후에 공시한 일일초 10개체중 6개체에서 소엽병징이 나타났다. 그러나 공시한 오동나무에서는 아무런 증상도 관찰되지 않았다. 병징이 나타난 일일초의 사부조직을 형광현미경으로 진단한 바 MLO에 감염되었음을 알 수 있었고, 전자현미경으로 검정한 결과 MLO입자가 관찰되어 담배장님노린재에 의한 충매전염이 확인되었다.

참고문헌

1. Bak, W. C. and La, Y. J. 1985. Fluorescence micros-

- scopic diagnosis of mycoplasma infections in jujube, mulberry and periwinkle plants. *Korean J. Plant Pathol.* 1(1): 12-16.
2. 박원철, 여운홍, 나용준. 1993. 썩덩나무노린재의 매개전염으로 오동나무 빗자루병에 감염된 일일초의 소엽증상. *한식병지*. 9(3): 236-238.
3. Doi, Y., Teranaka, M., Yora, K. and Asuyama, H. 1967. Mycoplasma- or PLT group-like microorganisms found in the phloem elements of plants infected with mulberry dwarf, potato witches' broom, aster yellows, or paulownia witches' broom. *Ann. Phytopath. Soc. Japan* 33: 259-266.
4. Jin, K. X. 1983. Mycoplasma diseases of trees and their control in China. *Abstract of papers, 6th IUFRO Mycoplasma Conference*. Hiroshima, Japan.
5. Katsuya, N. and Hidehiko, K. 1961. Hemipterous insects observed in the virus-diseased paulownia. *Jap. J. Forestry* 43: 146.
6. 나용준. 1990. 우리나라의 식물마이코플라스마병. *한국마이코플라스마학회지* 1: 71-75.
7. 나용준, 변병호, 심공자. 1968. 담배장님노린재(*Cyrtopeltis tenuis* REUTER)에 의한 오동나무천구소병(도깨비집병) 바이러스의 매개전염. *한국식물보호학회지* 5: 1-6.
8. Shiozawa, H., Yamashita, S., Doi, Y., Yora, K. and Asuyama, H. 1979. Trial of transmission of paulownia witches' broom by two species of bug, brown-marmorated stink bug and brown-winged green bug, observed on paulownia. *Ann. Phytopathol. Soc. Japan* 45: 130-131 (Abstract, Japanese).
9. Shiozawa, H., Yamashita, S., Doi, Y., Yora, K. and Asuyama, H. 1979. Transmission of mycoplasma-like organism (MLO) in the infective insects. *Ann. Phytopathol. Soc. Japan* 45: 556 (Abstract, Japanese).
10. Tokushige, Y. 1951. Whiches'-broom of *Paulownia tomentosa*. *J. Fac. Agr. Kyushi Univ.*, 10: 45: 67.
11. Whitcomb, R. F. and Tully, J. G. (eds.). 1990. *The mycoplasma. Vol. V. Spiroplasmas, Acholeplasmas, and Mycoplasmas of Plants and Arthropods*. Academic Press.
12. Yuan, T. L. 1984. Some studies on witches' broom disease of paulownia in China. *Int. J. Trop. Plant Dis.* 2: 181-190.