

## 파이토플라스마에 의한 감자빛자루병 발생

함영일\* · 류경열 · 조일찬  
고령지농업시험장 작물과 농촌진흥청

### Occurrence of Potato Witches' Broom Caused by a Phytoplasma in Korea

Young Il Hahm\*, Kyoung Yul Ryu and Il Chan Cho  
National Alpine Agricultural Experiment Station, Pyungchang 232-955, Korea  
(Received on March 16, 2001)

Witches' broom symptoms were firstly found on tubers of *Solanum tuberosum* cv. Dejima, showing dense growth of spindly sprouts in Cheju province, Korea. Plantlets from the diseased plants also produced the typical witches' broom symptoms, having densely-growing small leaves when they became adult plants. At the later stages the diseased leaves were blighted. Presence of phytoplasma in plant tissues was confirmed by DAPI-staining fluorescence microscopy and electron microscopy, exhibiting its localization in sieve tubes of stem, petiole, and midrib. This is the first report of potato witches' broom in Korea.

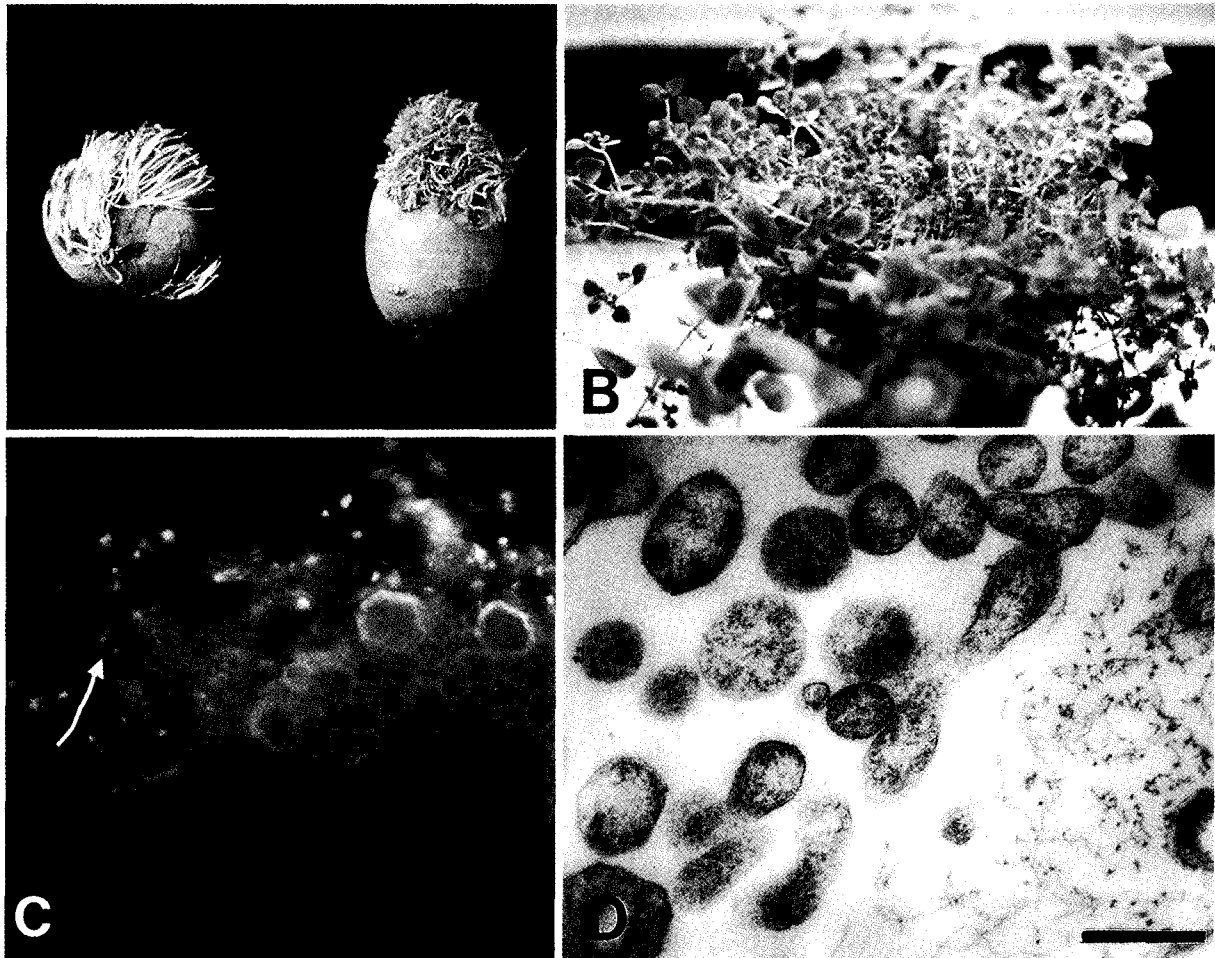
**Keywords :** phytoplasma, potato, witches' broom

감자(*Solanum tuberosum* L.)는 세계 5대 식량작물 중 하나로 해마다 국내감자 소비량이 증가하고 있지만 한동 안 타 작물에 비하여 수익성이 낮아 재배면적이 감소된 적도 있었으나, 최근 감자가 알카리성 건강식품으로 알려져 식용 감자 이외에 다양한 기능성 감자 요구가 증가하여 국내 재배면적이 일부 증가하고 있다. 감자 재배과정에 발생하는 여러 가지 병해는 생산성 및 품질 저하를 가져오고, 그 결과 농업 채산성 악화를 초래하므로 병 방제 효율을 높이는 조기진단은 필수적 요소가 되고 있다. 따라서 감자에 발생하는 병해조사를 위하여 주산단지 감자 포장에 순회하던 중, 1997과 1998년에 제주도 북제주군 대정읍에서 춘작감자를 수확하여 저장중이던 감자괴경에서 대추나무 빛자루병과 같은 총생증상을 확인하였다(Fig. 1A).

수집한 감자는 대지품종(cv. Dejima)으로 우리나라 남부지방에 2기작 품종으로 보급되어 재배되는 중만생종으로 생육이 왕성한 것이 특징이다. 그러나 제주지역에 재배되는 대지품종의 씨감자 일부는 일본에서 수입한 것을 사용하는 농가도 있으며, 현재도 일부농가는 이들 수입된 씨감자를 자가채종을 통하여 씨감자로 이용하고 있는 실정이다. 따라서 우리나라에 발생기록이 없는 이들 병원체

는 수입씨감자를 통해 유입된 것으로 추정할 수 있을 것이다. 빛자루 병징을 유발하는 병원체인 phytoplasma는 순환물기생체로 인공배지에서 배양이 되지 않기 때문에 병원체를 유지하는 것은 매우 어려운 과제 중 하나였으나, 이 실험에서는 조직배양기술을 이용하여 병든 식물체를 유지하며 실험재료로 사용하였고 그 결과는 Table 1과 같다. 병 걸린 식물체 조직내에 병원균의 분포를 확인할 목적으로 지상부 줄기를 1 cm 간격으로 절단하여 감자 조직배양용 MS배지가 있는 직경 15 mm 유리관속에 옮겨두고, 광주기(낮 10시간, 밤 14시간)를 조절한 23°C 조직배양실에서 배양하며 총생 병징 발현 여부를 조사하였다. 초기 병징은 병든 식물체를 조직배양용 배지에 이식한 30일 후부터 나타나기 시작하였고, 지상부 조직이 완전히 고사 할 때까지 살아있는 조직에서는 총생 증상이 계속하여 발생하고 있었다. 지상부 조직의 절단부위에 따른 병징 발현 정도에 큰 차이가 없었고, 처리한 5 개체에서 총생 증상이 균일하게 발생하였다. 절단조직 중 0~10, 41~50 mm 부위에서는 4개체만 총생 증상이 발생하였고, 11~20, 21~20, 31~40 mm에서는 5개체 모두 감자포장에서 발생한 것과 동일한 증상이 나타났다. 이는 조직배양에 이용된 병 걸린 조직에서 새로 분화된 지상부 조직에는 감자빛자루병 병원균인 phytoplasma가 증식하여 병징을 유발할 수 있는 정도로 균일하게 분포하고 있음을 설명하는 것이다. 병원균은 적당한 생육환경이 유지될 경우

\*Corresponding author  
Phone) +82-33-330-7802, FAX) +82-33-330-7715  
E-mail) yih0512@rda.go.kr



**Fig. 1.** Symptoms and micrographs of potato witches' broom phytoplasma. **A)** Typical symptoms of naturally infected potato tuber with an excessively large number of spindly sprouts. **B)** Many slender, spindly stems and sprouts of an infected potato plant on pot derived from infected tuber sprouts. **C)** Fluorescence micrograph of cross section of potato stem infected with phytoplasma (phytoplasma-specific fluorescent particles (arrows) are observed in the phloem of the stem stained with DAPI). **D)** Witches' broom phytoplasma cells in infected tissue of potato (electron microscope photograph, bar represents 1 µm).

**Table 1.** Witches' broom symptoms produced on different parts of diseased potato plants in tissue culture

Variety	No. of plants tested	No. of plants with witches' broom				
		0~10 mm <sup>a</sup>	11~20 mm	21~30 mm	31~40 mm	41~50 mm
Deijima	5	4	5	5	5	4

<sup>a</sup>Sampling distance from the bottom of a sprout.

지상부 부위에 관계없이 활발하게 증식하여 빛자루병 발생이 가능하다는 것을 간접적으로 설명하고 있었다(Fig. 1B).

감자빛자루병 병원균 phytoplasma 여부를 확인하기 위하여 형광현미경과 전자현미경 기법을 이용하였다. 형광현미경으로 검경하기 위하여 병든 감자의 줄기, 엽병 과 엽맥을 1 cm 크기로 절단하여 2.5% glutaraldehyde용액에 고정하여 4°C에 보관하며 실험에 이용하였다. 고정액 속

에 병든 조직은 양날면도칼을 이용하여 0.1~0.2 mm 두께로 절단하여 절편을 만들고, 슬라이드글라스 위에서 DNA와 특이적으로 반응하는 형광염색소 DAPI(4,6-diamidino-2-phenylindole, 2 HCl) 0.001% 용액을 2~3방울 떨어뜨린 후 20~30초 동안 염색하여 형광현미경(Nikon Eclipse E 600, Excitation filter 330~380 nm, Dichromatic mirror RPK 400 nm, Suppression filter 420 nm) 시료대에 놓고 압

**Table 2.** Comparison of fluorescence reaction in the three parts of diseased potato plant stained with DAPI

Plant tissue	Tested samples	No. of samples with fluorescent reaction <sup>a</sup>			
		Strong	Moderate	Weak	None
Stem	15	8	6	1	0
Petiol	15	6	7	2	0
Leaf midrib	15	3	6	4	2

<sup>a</sup>Strong : more than 10 fluorescent spots, Moderate : 5-10 spots, Weak : 1-4 spots, None : no fluorescent spot.

실에서 검경하였다(Fig. 1C). 병든 식물의 줄기조직 사부에서 phytoplasma와 반응한 특이적 형광이 발생함으로써 간접적으로 이병여부를 확인 할 수 있었다. 감자 빗자루 병징으로 보이는 줄기와 엽병의 사부조직에서는 큰 차이 없이 밝은 형광반응이 나타났으나 엽맥에서는 다소 약한 반응을 보였다. 지상부 조직 내 병원균의 분포는 식물체의 발달단계에 따라 다소 차이는 있으나 병원균이 이미 조직 내에 존재하고 있으므로 언제든지 증식 할 수 있는 환경이 일정하게 유지되면 병징이 발생할 것으로 생각된다(박, 1991; Dale, 1988; Schaper와 Converse, 1985). 그러나 빗자루 병징이 없었던 감자의 줄기, 엽병과 엽맥의 사부조직에서는 이와 유사한 형광반응이 나타나지 않았다(Table 2).

이들 특이 형광반응이 phytoplasma에 의한 것인지를 직접 확인하기 위하여 2.5% glutaraldehyde 용액속에 보관 중인 신선한 병 걸린 조직을 1% OsO<sub>4</sub> 용액에 2시간 고정하고 ethanol series로 탈수, prophyllene oxide로 치환하여 epon수지로 포매하였다. 그 후 초박편절단기로 두께 80 nm이하의 초박편을 만들어 uranyl acetate와 lead citrate로 이중 염색하여 전자현미경(Hitachi 7100S)으로 병든 식물체 사부조직의 미세구조를 확인한 결과, 사관세포에서 대량으로 존재하는 다형성의 세포형태를 확인 할 수 있었고, 이는 Doi등(1967)이 보고한 phytoplasma 세포와 일치하였다(Fig. 1D).

이 실험을 통하여 감자 빗자루병을 유발시키는 병원균은 phytoplasma에 의한 것임이 확인되었고, 이러한 결과는 기 보고자들(Doi 등, 1967; Schaper와 Converse, 1985; Walla 등 2000)과 일치하였다. phytoplasma에 의해서 발생하는 주요 병징은 지상부 총생, 잎이 소형화되거나 줄기가 가늘어지고 완전히 고사할 때까지 총생 증상은 계속하여 발생하고 있음을 알 수 있었다.

감자에 발생하는 빗자루병은 한국식물병목록(한국식물병리학회, 1998)에 보고가 없었던 병으로, 감자 빗자루병의 유입경로 및 전염방법 등이 더 많이 연구되어야 할 것으로 생각된다. 또한 감자는 영양번식 작물로 덩이줄기를

이용함으로써, 여러 가지 병원균이 덩이줄기를 통하여 전염될 가능성이 매우 높다는 것이 실험을 통하여 확인되었다. 따라서 병원균에 대한 효율적인 진단기술 개발은 병에 의한 피해를 최소화하는 중요한 과제로, 이 실험에서 이용한 조직배양기술, 형광 및 전자현미경 방법은 비교적 단시간에 병원균의 존재여부를 판단 할 수 있었다. 그러나 병징 발현이 없는 덩이줄기의 이병여부를 진단하는 것은 많은 노력과 시간이 요구되며, 그 진단효율은 낮은 것이 현실이다. 감자 빗자루병이 발견된 지역에서 씨감자 생산을 피하는 것이 덩이줄기를 통한 병원균의 확산을 최소화하는 유일한 방법으로 생각된다. 한편 병원균을 매개하는 매개곤충인 매미총류를 채집하고자 이병식물 수집지역을 여러 차례 방문하였으나, 특이적인 매개충 확보는 하지 못하였다. 그러나 다른 보고자들에 의하면 3종류 이상의 매개충이 보고되어 있는 것으로 보아, 감자 빗자루병 발생지역에 매개충이 존재할 가능성은 매우 높다고 생각된다. 또한 우리나라에서 남부지방의 봄 감자 재배 주산지인 제주도 이외 지역인 전북에서도 감자빗자루병 증상을 관찰한 적이 있다는(personal communication) 것으로 보아 우리나라의 다른 감자 재배지에서도 발생하고 있을 가능성이 높다고 생각된다. 따라서 감자빗자루병은 증상이 매우 특이하므로 병 걸린 감자 발견과 제거에 의한 방제에 특별한 관심이 필요하다고 생각된다.

## 감사의 말씀

전자현미경 시료제작에 도움을 준 농업과학기술원 식물병리과 이준성 선생에게 감사드립니다.

## 참고문헌

- 박원철. 1991. 식물 마이코플라스마의 형광현미경적 검경을 위한 acridine orange의 이용. *한식병지* 7: 130-132.
- 한국식물병리학회. 1998. *한국식물병명명목록*. 제3판. 436p.
- Dale, J. L. 1988. Rapid compression technique for detecting mycoplasma-like organisms in leaf midrib sieve tubes by fluorescence microscopy. *Phytopathology* 78: 118-120.
- Doi, Y., Teranka, 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.
- Schaper, U., and Converse, R. H. 1985. Detection of mycoplasma-like organisms in infected blueberry cultivars by the DAPI technique. *Plant Dis.* 69: 193-196.
- Walla, J. A., Jacobi, W. R., Tisserat, N. A., Harrell, M. O., Ball, J.

J., Neill, G. B., Reynard, D. A., Guo, Y. H. and Spiegel, L.  
2000. Condition of green ash, incidence of ash yellows  
phytoplasma, and their association in the Great Plains and

Rocky Mountain regions of North America. *Plant Dis.* 84:  
268-274.