

Mycoplasma 에 起因한 고구마 萎縮病의 病態解剖學的 研究*

蘇 仁 永 **

(全北大學校 農科大學 農學科)

Study on the Plant Pathological Anatomy Associated with *Mycoplasmal* Witches'-Broom Disease in Sweet Potato

In Yung So

(Dept. of Agriculture, Agricultural College, Jeonbuk University)

[接受日字 1975. 11. 20]

Summary

In order to clarify the mechanism of histological barriers to pathogens of witches'-broom diseased in sweet potatoes, this experiment has been conducted to observe the relationship between pathological characters and the transfer of mycoplasmae in the shoot apex. The material used the experiment is the sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lamm. Suwon 147).

In the experiment regarding of mycoplasmae, the upper limit zone of transfer of mycoplasmae is examined by way of the process of free stock and the shoot apex of a infected part in nature, observed in the culture of each part of the diseased plant which is cut to a certain length. The pathological change pattern of tissues infected with mycoplasmae has been observed under the light and electron microscopes.

As a result of this experiment, the following conclusion was arrived at.

1. It has been ascertained that the mycoplasmae are not existent in a promeristem and primary meristem zone from the meristem dome, and is existent in the lower part of the vascular differentiation zone, after which differential tissues the mycoplasmae become progressively enlarged, and before which undifferentiated tissues it become progressively immatured and diminished in size.
2. It can be suggested that mycoplasmae may not be existed in the shoot meristem, because the passing structures such as sieve area and plasmodesma which can be passed immatured mycoplasmae is undifferentiated.
3. In the tissue culture, free stock can be obtained in the zone between 1.0-1.5mm of the shoot apex, while it cannot in the 2.0-3.0mm zone, because of infection by mycoplasmae. It is suggested that immature mycoplasmae may be diffused according to temperature ($28 \pm 1^\circ\text{C}$) in tissue culture process.

緒 論

植物의 mycoplasma 性 疾病 系統에 대한 初期의 研究에 있어서는 그 病原体가 확인되지 못하고 virus 性 疾病과 혼동하였으나, 처음으로 Doi(1967)가 mycoplasma 樣 微生物이 그 病原体임을 電子顯微鏡下에서 관찰 확인함으로써 mycoplasma 性 疾病의 病原体가 알려졌으며 現在 50餘種의 植物에서 mycoplasma 病原体가 發見 보고되고 있다

(Maramorosch et al. 1970, Ohada 1970).

고구마의 萎縮病에 대한 研究는 Komuro(1960)에 의하여 virus 性 疾病으로 誤認 報告된 것이 처음이나 그의 病原体는 確認되지 못하였었다. 그 後에 Doi(1969)의 Sweet potato witches'-broom disease, Kahn(1972)의 Sweet potato little leaf disease의 報告로 그 病原体가 mycoplasma임을 확인하였고, 그 病原体를 罹病植物의 篩管속에서 관찰하였다.

우리나라에서의 植物의 mycoplasma性 疾病에 대한 報告는 So(1973)에 依하여 고구마 萎縮病의 病徵과 病原体인 mycoplasma가 보고되었고, Yi와 La(1973)에 依하여 매추나무 天狗巢病의 病原体가 mycoplasma임을 報告하였을 뿐이다.

Mycoplasma 病原体가 侵入한 組織의 病態解剖學의 研究에 대해서는 Doi(1967)에 依하여 뽕나무 萎縮病에서 罹病植物의 篩管細胞속에 病原体가 密集되어 있음이 처음으로 밝혀졌고, 그 後에 罹病細胞内の 異物質의 分布 (James et al. 1972, Shinkai et al. 1971), 液胞化 및 核의 萎縮 (Gourret 1971, Holmes 1972, Worley 1970), 葉綠體의 消失 및 necrosis (Kaloostian and Schneider 1971, Tatsuji 1970) 및 pinwheel 構造物 (Kahn et al. 1972)이 나타나고 있음을 보고하였다. So(1973)도 mycoplasma性 萎縮病에 罹病된 고구마의 篩管 및 다른 組織 (柔組織)에서 위와 같은 樣相을 確認하였었다.

Mycoplasma 病原体의 植物体内 移動 및 感染機作에 대한 연구는 아직 明白한 結論을 짓지 못하였으나, 篩管内에 密集되는 現象과 傳染經路가 接木傳染 (Holmes et al. 1972, Komuro 1960, So 1973)과 昆虫傳染 (Hooper and Lacy 1971, Kaloostian and Schneider 1971, Maramorosch et al. 1970, Tatsuji 1970)만으로 이루어지는 것으로 보아서 virus의 感染機作과 같이 篩管을 통하여 轉流 移動된다고 생각할 수 있다 (Hooper 1971, Schneider 1959). 細胞間 移動에 대하여 virus는 原形質連絡系를 통하여 이루어 진다고 報告되어 있으나 (Davison 1969, Kim and Fulton 1975) mycoplasma에 관한 報告는 아직 없고, Solberg와 Bald (1963), Stace와 Mellor (1968)는 器官分化가 이루어지지 못한 莖端分裂組織部位에는 mycoplasma나 virus가 存在하지 않는다고 보고하였다. 따라서 virus나 mycoplasma의 無病株 生産으로는 그 病原体가 存在하지 않는 莖端分裂組織部分의 組織培養을 함으로 이루어질 수 있다고 Hamaya (1970), Mori (1969), Raychaudhuri (1966)는 보고하였다. Hollings (1965)는 potato witches'-broom disease에 罹病된 植物의 莖端分裂組織部分을 培養하여 無病株를 얻을 수 있었으나, 이 報告는 mycoplasma를 確認하지 못하고 virus性 疾病으로 誤認하여 實驗한 結果이며 또한 mycoplasma性 고구마 萎縮病에 대한 組織培養 實驗도 아직 보고된 바 없다.

植物体的 分裂組織部分의 넓이는 植物의 種類에 따라서 다르며 (Georges 1972, Kengo and Ernest 1963) 여러가지 組織培養을 통하여 virus의 植物体内 存在 部位의 確定에 대하여서는 植物種 및 virus의 系統 (Strain)에 따라서 다르다는 사실이 밝혀졌다 (Mori et al. 1969, Raychaudhuri 1966,

Solberg and Bald 1963). 또 이들은 virus의 無病株 生産을 위한 組織培養에 있어서 分化組織部分의 長이를 0.2~0.5, 0.5~1.0, 1.5~2.0mm의 범위를 取하여 培養한 結果 取하는 長이가 길수록 virus의 感染率이 많이 나타나고 있음이 보고되었다.

고구마의 virus性 疾病의 無病株 生産을 위한 組織培養은 Nielsen (1960)이 Internal cork virus에 대하여 처음으로 실시하였으며, Mori (1969) 등이 고구마 縮葉 virus病, 斑紋 virus病, Feathery mottle virus病에 罹病된 植物의 莖端 組織培養을 하였고, Linden (1971) 등이 Veinc learing virus에 대한 組織培養을 하였으나 mycoplasma病의 無病株 生産을 위한 組織培養 보고는 아직 없다.

Virus가 莖端分裂組織部分에 感染되지 않은 理由에 대해서는 Hollings (1965), Hamaya (1970) 등은 virus의 稀釋에 의한 感染力 弱화, 轉流 移動되는 通導組織과 原形質連絡系가 아직 分裂組織 部分에는 分化되지 않기 때문이라고 報告하였다. mycoplasma의 移動에 대하여는 篩域을 통하여 이루어진다고 보고하였으나 (Cousin et al. 1971, Hooper and Case 1971, Hooper and Lacy 1971), 아직 原形質連絡系를 통하여 移動된다는 報告는 없고, 分裂組織部分에 感染되지 않은 理由에 대하여서도 밝혀진 바 없었다. 따라서 著者は mycoplasma가 分裂組織部分으로 移動하지 못하는 理由에 대하여 上記 virus에 대한 보고와 同一한 理由인지, 또는 分裂組織이 갖는 特異의 性質로 mycoplasma 移動을 防禦하는 어떤 barrier가 있는 것인지를 形態解剖學의 面에서 調査하기 위하여 다음과 같은 實驗을 하였다.

實驗材料 및 方法

고구마 줄기의 分裂組織部分의 組織發生 樣相을 보기 위하여 莖端分裂組織의 組織 標本을 作成하고 光學顯微鏡下에서 原始分裂組織帶, 第1期 分裂組織帶, 維管束 分化帶를 관찰하였으며 그 속에서의 mycoplasma의 移動을 살피고, 또한 그의 移動相과 組織發生相과의 關係를 살피기 위하여 一定한 長이로 切斷한 莖端을 組織培養함으로서 mycoplasma 病原体의 感染 與否를 肉眼的 病徵과 電子顯微鏡下에서 直接 調査하였다. 또한 罹病된 植物体内的 mycoplasma 存在 限界 部位를 確認코저 自然狀態에서 罹病된 植物体的 莖端分裂組織 部位를 上記 組織發生 部位別로 電子顯微鏡으로 검경하였다. 또한 罹病組織의 病症을 對照하기 위하여 葉肉, 葉柄, 줄기등의 基本組織系도 光學 및 電子顯微鏡으로 검경하였다.

1. 實驗材料

供試 植物로서는 고구마 水原 147號 (*Ipomoea batatas* (L.) Lamm. Suwon 147)를 健全塊根 및 罹病塊根別로 苗床을 設置後 育苗한것을 實驗에 供與하였다. 罹病株는 So (1973)가 報告한 mycoplasma性 萎縮病에 걸린 塊根을 사용하였으며 健全株는 無病徵인 것을 選定하여 對照 實驗하였다.

2. 實驗方法

(1) 組織培養

苗床에서 育苗한 健全株 및 罹病株를 Nielsen(1960)의 方法에 의하여 sodium hypochloride 7% 液으로 5分間 前處理를 하고 無菌箱 속에서 같은 液으로 7分間 後處理를 하였다. 다음에 莖端分裂帶를 Mori(1969)의 方法에 依하여 0.5, 1.0, 1.5, 2.0mm 別로 切斷하여 얻은 切片을 培養液에 삼식하였다. 이때 사용한 培養液은 豫備實驗에서 最適임을 確認한 Murashige and Skoog의 基本培地에 sucrose 20g, yeast extract 2g, agar 7.5g을 1 l 에 첨가하고 最終 pH를 5.6으로 調節한 뒤에 28 ± 1°C에서 培養하였다. 生長物質은 NAA (α -Naphthalene acetic acid), 2, 4-D (2, 4-Dichlorophenoxy acetic acid), Kinetine 등을 각각 1, 3, 5mg /l 別로 첨가하고 繼代培養을 하여 50日後 成體를 얻을 수가 있었다.

(2) 光學顯微鏡 觀察

莖端分裂組織部分의 各 部位別 組織帶를 原始分裂組織帶, 第1期 分裂組織帶, 維管束 分化帶의 3 部位로 定하고 光學顯微鏡으로 確認을 하기 위하여 苗床의 健全株를 材料로 사용하였다. 한편 感染에 의한 組織의 徵狀을 보기 위한 材料는 苗床의 罹病株를 使用하였다. 이들 材料는 모두 改良 navashin 固定液에 40時間 固定한 뒤 paraffin 方法에 의하여 組織標本을 作成하고 染色은 haematoxylin 과 light green으로 二重 染色을 하였다.

(3) 電子顯微鏡 觀察

電子顯微鏡으로 mycoplasma 存在 여부를 檢定하기 위하여 上記 4 部位別 組織培養에서 얻은 無病株의 篩管과 그 附近의 細胞를 觀察하고, 다음에 mycoplasma에 起因한 組織의 徵狀을 살펴보고 아울러 mycoplasma의 存在를 確認하기 위하여 罹病된 苗床의 材料를 莖端 1.0, 1.5, 2.0, 3.0mm 部位別로 관찰하였으며 또한 葉肉組織도 살펴보았다. 이렇게 관찰하므로써 分裂組織帶 속에서의 mycoplasma의 上昇 限界를 確定할수 있었다.

電子顯微鏡 檢鏡에서는 glutaraldehyde로 前固定을 하고 osmium tetra-oxide (O₄) 1% (phosphate buffer pH. 7.2)로 後固定시켜 二重固定을 하

였다. 包埋는 Epon 樹脂로 하여 Sorval MT-2 type ultramicrotome 으로 絶斷한 切片을 uranyl acetate 로 電子染色을 한 뒤에 Hitachi HS-6 type 電子顯微鏡으로 檢鏡하였다.

實驗結果 및 考察

1. 莖端 組織發生 部位의 確定

고구마 莖端 部位의 組織發生相의 pattern을 살펴보면 Figure 1에서 관찰되는 바 最終 葉原基의 上位 部位에는 核이 뚜렷한 細胞群으로 되어 있는 原始分裂組織層이 存在한다 (Fig. 1~A). 그 基部에는 第1期 分裂組織層이 存在하는데 이 層에는 작은 細胞들이 稠密排列을 하고 排列狀은 극히 規則的으로 되어 있다 (Fig. 1~B). 따라서 原始分裂細胞群과 維管束 分裂層과는 明白한 差異를 나타내고 있다. 그 밑에는 第1期 分裂組織層 속의 前形成層에서 由來되어 나오는 細胞群이 存在 하는데 그들 細胞들은 크기가 차차 커지고 細胞의 分化가 이루어지는 傾向을 갖이고 있으며 이에 連續하여 維管束이 分化되어 있는 維管束 分化層이 存在하고 있다 (Fig. 1~C). 이 層은 처음에는 篩細胞 및 假導管의 分化가 이루어지고 점차 篩管要素 및 導管이 分化되어 나가는 것을 觀察할 수가 있었다.

이상과 같은 莖端分裂組織의 發生相으로 보아 原始分裂組織層, 第1期 分裂組織層 및 維管束 分化層의 3 部位로 區分이 된다. 이 3 部位의 細胞의 分化相은 서로 틀리고 따라서 mycoplasma의 轉流와의 사이에 連關性이 있는 것을 볼수가 있다.

그들의 길이를 測定하여 보면 Table 1에서 보는 바와 같이 原始分裂組織層은 頂端에서 平均 0.40 mm의 길이이며, 第1期 分裂組織層은 頂端에서 平均 0.57mm 길이의 範圍이고, 維管束 分化層은 頂端에서 平均 0.87mm 길이의 下位部分의 범위에 해당이 된다. 따라서 維管束 分化가 시작되는 곳은 이 0.87mm의 길이에서 부터 시작이 된다고 본다.

Table 1. The length of differentiation region from the shoot apex to each tissue zones.

tissues	promeristem zone (stem tip)	primary meristem zone	vascular differentiation zone
length (mm)	0.40 ± 0.12 n=41	0.57 ± 0.14 n=41	0.87 ± 0.20 n=41

이상과 같은 觀察는 Nielsen(1960)이 고구마 莖端 分裂組織培養에서 莖端의 0.4mm, 1.0mm 部位의 切斷組織片을 가지고 培養하였는데 이것은 본 觀察에서 0.4mm 部位는 原始分裂組織層에 該當되고, 1.0mm의 것은 維管束 分裂層이 包含되고 있는 것

으로 볼수있다. Mori (1969)는 0.2~0.4mm 部位, 1.0~2.0mm 部位의 莖端分裂組織培養을 하였는데 이것 亦是 본 실험의 관찰에서 原始分裂 組織部位와 維管束 分化層으로 나눈것과 같다. Hamaya (1970)는 0.3~1.0mm, 1.0~2.0mm의 2部分으로 나누었는데, 이것은 原始 및 第1期 分裂層을 전부 망라한 것과 維管束 分化層을 망라한 것으로 볼수 있다. Linden (1971)등은 0.6mm, 2.0mm로 각각 切斷한 莖端을 培養하였는데 이것은 第1期 分裂組織까지의 部位와 維管束 分化層을 망라한 層을 찾이고 實驗한 것이다.

以上の 4 가지 고구마 莖端分裂組織培養 實驗에서 使用한 莖端의 길이는 본 관찰에서 그의 部位 決定의 妥當性을 지적할 수가 있게 되었다.

2. Mycoplasma의 上昇限界 部位의 確定

罹病植物体内的 mycoplasma의 上昇限界 部位를 確定하기 위하여 罹病植物의 莖端을 上記 관찰에서 얻은 分裂組織帶의 各 部位를 電子顯微鏡으로 관찰하여 그 속의 mycoplasma의 存在與否를 알아 보았다. 그 檢鏡 結果는 莖端의 1.0mm 部位는 mycoplasma가 관찰되지 않으나 mycoplasma의 感染 徵狀인 細胞質 萎縮 및 液胞化 現象을 볼 수 있었다 (Fig. 2, 3). 1.5mm 部位에서는 病原體의 크기가 극히 작으며 (60~300nm) 數도 적게 관찰되었다 (Fig. 4). 2.0mm 部位에는 比較的 小形인 (100~450 nm) mycoplasma가 많이 存在함을 관찰할 수 있었다 (Fig. 5). 2.0~3.0mm 部位에서는 mycoplasma의 크기도 크며 數도 많이 存在하고 있는 것을 관찰할 수 있었고, 이 部位의 mycoplasma는 成熟된 形態로 圓形인 큰 粒子들이 (600nm) 密集하여 存在하며 增殖 分裂하는 모양도 나타난다 (Fig. 6~A, B).

이와 같은 結果를 살펴 볼때 電子顯微鏡下에서 直接 mycoplasma가 관찰된것은 1.5mm 部位 부터 이나 1.0mm 部位의 細胞들이 細胞質 萎縮 및 液胞化 現象을 나타내는 것으로 보아서 直接 mycoplasma를 관찰할 수 없으나 그 徵狀으로 보아 1.0mm 部位까지 mycoplasma가 移動 上昇한다고 볼수 있고, 이 部位에서 관찰되지 않은 것은 그의 크기가 극히 작고 數도 매우 적기 때문에 mycoplasma가 검경되지 않은 것으로 생각된다. 1.0mm 以下の 頂端 部分에서는 mycoplasma의 直接 관찰이나 그의 感染 徵狀이 一切 없는것으로 보아서 本 實驗에서는 mycoplasma가 存在하는 頂端分裂組織部分은 1.0mm의 밑部分이라고 본다. 即 第1期 分裂組織의 前形成層에서 維管束이 發生하여 생긴 細胞群이 維管束으로 分化하기 始作하는 部分까지가 mycoplasma의 上昇限界帶라고 볼수가 있다. 이 mycoplasma의 上昇限界帶의 確定 報告는 아직 없으며

mycoplasma와 비슷한 virus에 대하여서도 또한 報告된 바 없다. 따라서 本 實驗에서 直接 mycoplasma의 上昇限界를 처음으로 確定한 것으로 본다.

3. 組織培養에 의한 無病株 生産

Mycoplasma의 上昇限界를 間接적으로 살펴보기 위하여 罹病植物體의 莖端分裂組織을 培養하여 無病株를 生産하였다. 即 莖端을 각각 0.5, 1.0, 1.5, 2.0~3.0mm로 切斷하여 培養하므로써 無病株가 生産되는 部位中の 가장 下部 莖端 部分의 것으로 mycoplasma의 上昇限界로 삼을수가 있다. 本 實驗에서 上記한 各 部分을 培養하므로써 얻어지는 無病株中 가장 下部 莖端部分은 1.5mm임이 밝혀졌다. 이 部分은 組織發生相으로 볼 때에 維管束 分化層이므로써 直接 觀察하여 얻어진 mycoplasma 限界層인 第1期 分裂組織 및 維管束 母細胞群帶 (0.57~0.9mm)와는 差異가 생긴다.

이것은 Kahn (1972)이 고구마 萎縮病의 徵狀이 38℃에서 逃避現象이 일어나고 自然狀態에서 平均 25℃에서도 일어남을 밝힌 바 있는데 25℃ 以上の 溫度에서는 徵狀이 없어지는 것은 mycoplasma의 增殖抑制에 起因하는 것으로 說明되고 있어 本 實驗에서 培養溫度가 28±1℃이기 때문에 1.5mm에서는 無病株가 되는 것이 溫度의 영향 때문으로 생각이 된다. 이 無病株는 露地 栽培에서도 徵狀이 나타나지 않고 있으나 2.0~3.0mm의 것은 培養箱속에서는 徵狀이 없다가 溫度가 낮은 露地로 移管하면 病徵이 나타난다. 이 事實은 1.5mm의 組織속에는 mycoplasma가 있다 하더라도 아직 未熟狀態의 것이기 때문에 溫度處理로 말미암아 消失이 되고, 2.0~3.0mm의 組織속의 mycoplasma는 成熟되어 있기 때문에 增殖이 抑制될뿐 25℃, 以下の 露地에서는 또 다시 增殖이 이루어져서 病徵이 나타나는 것으로 說明된다.

莖端 分裂組織을 部位別로 切斷하여 無病株 生産을 위한 組織培養의 結果를 보면 Table 2와 같다.

Table 2. Numbers of mycoplasma free plants obtained by shoot tip culture*

Length of shoot tip (mm)	No. of tip excised	No. of plants obtained	No. of mycoplasma eliminated
0.5	10	2	2
1.0	10	2	2
1.5	10	3	3
2.0~3.0	10	3	0
Total	40	10	7

* Shoot tip cultured on M S medium plus 2mg /l of NAA.

4. *Mycoplasma*의 細胞內 變化, 移動 및 病徵
本實驗에서 얻어진 *mycoplasma*의 細胞內 變化
相을 살펴보면 다음과 같이 要約할 수 있다.

(1) 增殖相을 살펴보면 Figure 6, A에서 보는 바
와 같이 二分法 및 出芽方法이 主가 되며 成熟
*mycoplasma*가 分裂하여 작은 未熟한 *mycoplasma*
를 만들어 내고 있다(Maramorosch 1970). 따라서
增殖되어 나오는 *mycoplasma*는 극히 작고 未熟한
것이다.

(2) 未熟 *mycoplasma*는 成熟함에 따라서 차차 커
지는 것을 볼수 있다(Fig. 4, 5). 2.0mm 部位의
Fig. 5에서 살펴보면 直徑 100~450nm의 變化幅
을 볼수 있고, Figure 4의 1.5mm 部位에서 보면
60~300nm으로 그의 生長相을 관찰할 수 있으나,
3.0mm의 Figure 6, B에서 보는 바와 같이 成熟
*mycoplasma*는 크기의 變化가 거의 없이 全體的으로
600nm으로 比較的 均一한 것이 特徵이고, 이것이
增殖하면 小形인 基本體의 *mycoplasma*가 나타나
고 있다.

따라서 維管束 分化가 完全히 이루어진 組織層
에서는 成熟 *mycoplasma*를 볼수 있고 여기서 增
殖하여 나온 未熟한 小形인 *mycoplasma*가 上昇하
는 것으로 볼수 있어 2.0, 1.5mm의 莖端으로 갈수
록 小形 및 未熟 *mycoplasma*가 많이 관찰된다.
即 成熟한 *mycoplasma*에서 나온 未熟 *mycoplasma*
는 移動 및 上昇하여 移動된 細胞內에서 또 生長
하고 成熟하면 다시 增殖하여 다른 細胞로 移動되
는 것으로 볼수있다.

(3) *Mycoplasma*의 移動은 주로 篩管要素를 따라
서 이루어지며 篩管속에 *mycoplasma*가 많이 存在
하는 것을 볼수 있고 特히 篩管의 篩板 部分에 密
集된 것을 볼수 있다.

(4) *Mycoplasma*가 感染된 細胞는 처음에 細胞質
의 萎縮現象이 일어나고, 液胞化 現象이 일어난
(Fig. 2, 3, 8) 다음에 液胞속에 特異物質인 結晶物
質이 나타나고 있다(Fig. 7).

以上的 *mycoplasma*의 變化 移動相에 관해서는
James(1972)는 elementary body 方法과 出芽法으로
增殖을 하여 이것이 未熟狀態에서 크기가 커지
면서 成熟한다고 하였다. Hooper(1971)는 出芽法
및 二分法으로 增殖을 한다고 하였고 또한 그의 移
動은 未熟한 小形 *mycoplasma*가 篩域을 통하여 이
루어 진다고 하였다. Abd El-Shefy(1972)는 *my*-
*coplasma*를 人工培養 시켜본 結果 *mycoplasma*가
糸狀으로 되어 이것이 切斷하므로써 增殖된다고 하
였다. Maramorosch(1970)는 細胞間 移動에 대하

여 篩域을 통하여 螺旋形으로 變形하면서 滑走하
여 통과한다고 하였다.

*Mycoplasma*의 크기를 보면 그의 狀態에 따라서
많은 變化相을 나타내는데 뽕나무 萎縮病 *myco*-
plasma 크기에 대하여 Doi(1967)는 100~250nm로
보고 하였고, James(1972)는 400~850nm로 보고
했으며, Tatsuji(1970)는 80~800nm로 3種가 모
두 差異性을 나타내고 있다. 고구마 萎縮病 *my*-
*coplasma*의 크기에 대해서는 Doi와 Shinkai(1969)
는 70~900nm로 報告한데 比하여 Kahn(1972)은
100~1,000nm로 보고 한것으로 보아서 本實驗에
서도 最小 60nm에서 最大 850nm까지 多變性을
가지고 있었다.

以上과 같은 報告로 보아서 本實驗에서도 增殖
이 特히 二分法 및 出芽方法으로 증식됨이 증명되
었고(Fig. 6, A), 成熟 *mycoplasma*에서 分裂하여
나온 小形의 未熟 *mycoplasma*가 篩域을 통하여 細
胞間 移動을 하고 있다고 말할 수 있다.

(5) 莖端分裂組織에서의 *mycoplasma* 上昇 防禦機
작을 보면 첫째 未分化 細胞에 갈수록 *mycoplasma*
도 比例하여 小形 未熟임이 밝혀졌고, 둘째 篩板에
모여있는 *mycoplasma*는 주로 小形 未熟인것이 특
징적이다. 이런 事實로 미루어 보아 未熟 *myco*-
*plasma*가 篩域을 通過하여 移動됨을 確認할수 있
다.

이 事實은 Chen(1971)이 밝힌 未分化 組織에 갈
수록 *mycoplasma*의 數도 적어지고 크기도 작아진
다는 報告와 Shinkai(1971)의 *mycoplasma*性 고구
마 萎縮病에서 成熟한 篩部에서는 成熟한 *myco*-
*plasma*가 있고, 生長點 部位에는 未熟한 *myco*-
*plasma*가 存在하며 그 數도 적게 存在한다고 報告
된 事實로 보아서 *mycoplasma*의 移動은 分裂組織
의 先端으로 갈수록 적어진다고 볼수 있다.

本實驗에서 보는 바와 같이 原始分裂組織 및 第
1期 分裂組織에서는 *mycoplasma*를 찾아볼 수 없
는 것으로 보아 *mycoplasma*의 上昇은 莖端으로 갈
수록 차차 數가 적어지고 다음에는 아주 上昇이
되지 못한 것을 보아 이 上昇限界는 分裂組織(原
始 및 第1期 分裂組織)帶로 볼수가 있다. 이와같
은 사실을 解剖學上, 組織發生上으로 考察하여 보
면 위의 分裂組織帶에는 *mycoplasma*를 通過시키
는 篩域이나 原形質連絡系의 分化가 되어있지 않
기 때문에 일어나는 現象이라고 볼수 있다. 따라서
이와같은 通過構造가 未分化되기 때문에 *myco*-
*plasma*의 上昇을 防禦 하는것으로 볼수 있는 것이
다.

摘 要

고구마 萎縮病의 病態解剖學的 變化相과 mycoplasma 病原體의 植物體內 移動 關係를 調査하여 莖端分裂組織에서의 組織學的 防禦機作을 研究하고자 고구마 水原 147號 (*Ipomoea batatas* (L.) Lamm. Suwon 147)를 材料로 하여 光學 및 電子顯微鏡으로서 組織觀察 및 無病株 生産을 위한 組織培養 實驗을 하였다. Mycoplasma의 感染經路의 調査를 위하여 罹病株의 莖端分裂組織을 部位別로 組織培養을 하여서 mycoplasma의 上昇限界를 測定하고 아울러 mycoplasma의 細胞內的 變化相과 移動相을 살핀 結果는 다음과 같다.

1. Mycoplasma는 原始 및 第1期 分裂組織을 포함한 莖端에서는 存在하지 않음을 確認하였고 그 밑의 維管束 分化層에서는 存在하고 있으며 分化組織으로 갈수록 그의 크기가 커지고 未分化 組織에 갈수록 小形이며 未熟한 mycoplasma가 存在함을 관찰하였다.
2. 莖端分裂組織속에 mycoplasma가 存在하지 않는 것은 未熟 mycoplasma가 通過 할 수 있는 篩域 및 原形質連絡系와 같은 通過構造가 未分化되기 때문에 通過되지 못하는 것으로 認定된다.
3. 組織培養에서 莖端 1.0~1.5mm 部位를 培養하여 얻어진 植物은 罹病되지 않았으며 莖端 2.0~3.0mm 部位의 것에서는 罹病이 됨을 볼 수 있었다. 이것은 培養溫度에서는 未熟한 mycoplasma가 退化되며 消失된다는 사실을 알 수 있다.

References

Abd El-Shafy A. Fudl-Allah, Calavan E. C., and Igwgbé E. C. K. 1972. Culture of a mycoplasma-like organism associated with Stubborn disease of *Citrus*. *Phytopathology* 62 : 729-731.

Chang Keun, Yi and Yong Joon, La. 1973. Mycoplasma-like bodies found in the phloem elements of jujube trees infected with Witches' broom disease Research reports of the forest research institute, Seoul, Korea. 20 : 111-114.

Charles L. W., Carl E. S., and Charles R. K. 1972. Mycoplasma-like bodies associated with elm phloem necrosis. *Phytopathology* 62 : 140-143.

Chen Tseh An. 1971. Mycoplasma-like organisms in sieve tube elements of plants infected with blueberry stunt and cranberry false blossom. *Phytopathology* 61 : 233-236.

Cousin M. T., Moreau J. P., Kartha K. K., T. Staron et A. Faivre-Amiot. 1971. Etude ultrastructurale des mycoplasmes infectant les tubes cribles de lavandins "Abrial" atteints de "Deperissement jaune". *Ann. Phytopathol.* 3 : 243-250.

Davison E. M. 1969. Cell to cell movement of tobacco ringspot virus. *Virology* 37 : 694-696.

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* yellow, or paulowina Witches' -broom. *Ann. Phytopath. Japan* 33 : 259-266.

Doi Y., Yora K., Asuyama H., and Shinkai A. 1969. Mycoplasma like organisms found in plant infected with sweet potato Witches' -broom, soybean Witches' -broom. *Ann. Phytopath. Japan* 33 : 344. (Abst.)

Georges M. Morel. 1972. Morphogenesis of stem apical meristem cultivated in vitro: Application to clonal propagation. *Phytomorphology* 22 : 265-277.

Gourret J. P. 1971. Evolution des plaques dans les végétaux infectés par des mycoplasmes: Problèmes de la jaunisse et des pétioles verts. *Physiol. Veg.* 9:583-594.

Granett A. L., and Cilmer R. M. 1971. Mycoplasmas associated with X-disease in various *Prunus* species. *Phytopathology* 61 : 1036-1037.

Hamaya Etsuji. 1970. The review of virus free stock production by meristem culture. *Plant protection, Japan* 24 : 287-392.

Hendrina Brants D. 1963. Transport of C¹⁴ -labeled tobacco mosaic virus material in tobacco leaves. *Virology* 20 : 388-390.

Hibino H., and Schneider H. 1970. Mycoplasma-like bodies in sieve tubes of pear trees affected with pear decline. *Phytopathology* 60 : 499-501.

Hollings M. 1965. Disease control through virus-free stock. *Annual review of Phytopathology* 3:367-396.

Holmes F. O., Hirumi H., and Maramorosch K. 1972. Witches' -broom of willow: *Salix* yellows. *Phytopathology* 62 : 826-828.

Hooper G. R., Case F. W. Jr., and Myers R. 1971. Mycoplasma-like bodies associated with a flower greening disorder of a wild flower, *Trillium grandiflorum*. *Plant disease reporter*. 55 : 1108-1110.

Hooper G. R., and Lacy M. L. 1971. Mycoplasma: New causes for old diseases in Michigan. *Farm science series. Extension bulletin* E-644.

- Hooper G. R., Lacy M. L., and Vest G. 1971. Mycoplasma-like bodies associated with onion bulbs sprouting in storage. *Plant disease reporter* 55 : 824-828.
- Igweg E. C. K., and Calavan E. C. 1970. Occurrence of mycoplasma-like bodies in phloem of stubborn infected *Citrus* seedlings. *Phytopathology* 60 : 1525-1526.
- Ishie T., Doi Y., Yora K., and Asuyama H. 1967. Suppressive effects of antibiotics of tetracycline group on symptom development of mulberry dwarf disease. *Ann. Phytopath. Japan* 33 : 267-275.
- James X. H., Hooper G. R., and James E. B. 1972. Occurrence and nature of mycoplasma-like organisms in stunt disease of Michigan highbush blueberry. *Journal of Michigan Academician* 4 : 461-467.
- Kahn R. P., Lawson R. H., Monroe R. L., and Hearon S. 1972. Sweet potato little-leaf (Witches' -broom) associated with a mycoplasma-like organism. *Phytopathology* 62 : 903-909.
- Kahn R. P., and Monroe R. L. 1969. Detection of sweet potato little leaf (Witches' -broom) agent in an introduction of *Ipomoea batatas* from Tonga. *FAO plant protection, Bulletin* 17 : 104-106.
- Kaloostian G. H., Hibino H., and Schneider H. 1971. Mycoplasma-like bodies in periwinkle: Their cytology and transmission by pear psylla from pear trees affected pear with decline. *Phytopathology* 61 : 1177-1179.
- Kengo S., and Ernest B. 1963. Studies of the surface growth of the shoot apex *Lupinus albus*. Meristem and differentiation. Report of symposium held June 3-5. Brookhaven national laboratory. Upton, New York. 16 : 13-45.
- Kim K. S., and Fulton J. P. 1975. An association of plant cell microtubules and virus particles. *Virology* 64 : 560-565.
- Komuro Y. 1960. A study on the Witches' -broom disease of sweet potato in the Ryukyu Islands. *Agriculture Bulletin, Japan* 45 : 1-33.
- Lawson H. R., Hearon S. S., and Smith F. F. 1971. Development of pinwheel inclusions associated with sweet potato russet crack virus. *Virology* 46 : 453-463.
- Linden A. J. O. D., and Elliott R. F. 1971. Virus infection in *Ipomoea batatas* and a method for its elimination. *New Zealand Journal of agricultural research* 14 : 702-704.
- Maramorosch K., Granados R. R., and Hirumi H. 1970. Mycoplasma disease of plants and insects. *Advances in virus research* 16 : 136-187. Academic press. New York.
- Mitra G. C. 1971. Studies on seeds, shoot-tips and stem-discs of an orchid grown in aseptic culture. *Indian journal of experimental biology* 9 : 79-85.
- Mori K., Hamaya E., Shimomura T., and Ikegami Y. 1969. Production of virus-free plants by means of meristem culture. *J. Cent. Agr. Expt. Sta.* 13 : 45-110.
- Murakishi H. H., Hartmann J. X., Beachy R. N., and Pelcher L. E. 1971. Growth curve and yield of tobacco mosaic virus in tobacco callus cells. *Virology* 42 : 62-68.
- Nielsen L. W. 1960. Elimination of the internal cork virus by culturing apical meristems of infected sweet potatoes. *Phytopathology* 50 : 840-841.
- Ohada S. 1970. Review of yellow drawf disease associated with mycoplasma-like organism. *Plant Protection, Japan*. 24 : 155-159.
- Raychaudhuri S. P. 1966. Plant viruses in tissue culture. *Advances in virus research*. 12 : 175-202. Academic press, New York.
- Schneider I. R., and Worley J. F. 1959. Upward and downward transport of infectious particles of southern bean mosaic virus through streamer portions of bean stems. *Virology* 8 : 230-242.
- Schneider I. R., and Worley J. F. 1959. Rapid entry of infectious particles of southern bean mosaic virus into living cells following transport of the particles in the water stream. *Virology* 8 : 243-249.
- Shinkai A. et al. 1971. Cytological distribution of mycoplasma-like organism in sweet potato Witches' -broom disease. *Ann. Phytopath. Japan* 37 : 262. (Abst.)
- Shu-chen Lin, Ching-Shiou Lee, and Renjong Chiu. 1970. Isolation and cultivation of, and inoculation with a mycoplasma causing white leaf disease of Sugar-cane. *Phytopathology* 60 : 795-797.
- So, In Yung. 1973. Studies on the mycoplasma-like Witches' -broom of sweet potato in Korea (I). *Korean Journal of Microbiology* 11 : 19-30.
- Solberg R. A., and Bald J. G. 1963. Distribution of a natural and an alien form of tobacco mosaic virus in the shoot apex of *Nicotiana glauca* Grah. *Virology* 21 : 300-308.
- Stace-smith R., and Mellor F. C. 1968. Eradication of potato viruses X and S by thermotherapy and axillary bud culture. *Phytopathology* 58 : 199-203.
- Tatsuji I. 1970. Mycoplasma-like organism, causal agent of mulberry dwarf disease. *Japan agricultural research quarterly* 5 : (3), 48-53.

- Thomas A. S. 1959. Relations of tobacco mosaic virus and barley stripe mosaic virus to their host cells as revealed by ultrathin tissue-sectioning for the electron microscope. *Virology* 7 : 193-219.
- Worley J. F. 1970. Possible replicative forms of a mycoplasma-like organism and their location in *Aster* yellows diseased *Nicotiana* and *Aster*. *Phytopathology* 60 : 284-292.
- Yarwood C. E. 1960. Topical susceptibility of plants to viruses. *Virology* 12 : 245-257.
- Yarwood C. E., Resconich E. C., and Kado C. I. 1962. Translocated stimuli affecting plant virus infections. *Virology* 16 : 414-418.
- Yarwood C. E., and Nienhaus F. 1963. Translocated wound stimuli affecting plant virus infections. *Virology* 20 : 477-483.

Explanation of the plates :

Similar 1 micron scale lines are in all figures.

- Figure 1. Longitudinal section of the shoot apex from sweet potato (800 X). Promeristem zone (A). Primary meristem zone (B). Vascular differentiation zone (C).
- Figure 2-3. Phloem cell in 1.0 mm area from the shoot tip of diseased plant (9,000 X).
Showed the vacuolation and etiolation of cytoplasm, but not mycoplasma in those area.
- Figure 4. Phloem cell in 1.5 mm area from the shoot apex of diseased plant (9,000 X). Appeared small immatured particles of mycoplasma (arrow). M: Mycoplasma.
- Figure 5. Phloem cell in 2.0 mm area from the shoot apex of diseased plant (9,000 X).
Showed the many particles of mycoplasmae (M) and many sieve areas in the sieve plate (arrow).
- Figure 6. Phloem cell in 3.0 mm area from the shoot apex of diseased plant. A: Showed the many matured particles of mycoplasmae (M). Note apparent binary fission (arrows) or production of a new body on stalk like structure (arrow) (9,000 X). B: Note apparent larger matured bodies with unit membrane surrounding the body (arrow) (12,000 X).
- Figure 7. Phloem area with parenchyma cell containing inclusion crystalline particles (CRY) and osmophilic bodies (OB) from diseased plant (9,000 X).
- Figure 8. Parenchyma cell in the mesophyll tissue of diseased plant. A and B showed the vacuolation of cytoplasm and degeneration of the grana system (9,000 X).
- Figure 9. Mycoplasma free plant from the shoot tip cultured in M S medium plus 3 mg NAA (60 days).





