韓國林學會誌 78(2) : 103-118. 1989.
Jour. Korean For. Soc. 78(2) : 103-118. 1989.

Mycoplasma性 왕쥐똥나무 빗자루病에 關한 硏究[1]

蔡正基[2] · 金榮浩[3]

Studies on Witches' Broom of *Ligustrum ovalifolium* Hasskarl Caused by Mycoplasma-like Organism(MLO)[1]

Jyung-Ki Chai[2] and Young-Ho Kim[3]

要 約

왕쥐똥나무빗자루病은 國內外的으로 처음 發見된 病으로서 그 病原體, 病徵, 傳染經路, 抗生物質反應, 電子顯微鏡 및 螢光顯微鏡 觀察, 電氣永動에 依한 蛋白質 및 peroxidase 分離 等을 調査한 結果를 要約하면 다음과 같다.

1. 왕쥐똥나무빗자루病의 病徵은 枝葉의 叢生 節間短縮, 器官의 萎縮, 萎黃 等 빗자루病 特有의 樣相을 나타냈다.

2. 罹病株의 葉主脈 組織을 電子顯微鏡에 依하여 觀察한 結果 篩管細胞 및 篩部柔細胞에서 mycoplasma-like organism이 發見되었다.

3. 本 病原體는 unit membrane에 싸여 있고 二分法에 依하여 增殖되며 篩孔을 통해서 植物體內 移動을 한 것 같은 像이 觀察되었다.

4. 電子顯微鏡 觀察 結果 篩部柔細胞에는 異常結晶物이 觀察되었다.

5. 芽接, 切接, 綠枝接에 依한 接木傳染이 왕쥐똥나무, 쥐똥나무, 광나무에 可能했으며 接芽나 接穗가 活着되지 않았어도 傳染이 可能했다.

6. 마름무늬매미충에 依하여 왕쥐똥나무와 쥐똥나무에 虫媒傳染이 되었다.

7. Teracyclin 1,000 ppm 水溶液에 根部浸漬한 結果 一時的인 治療效果는 있었으나 永久治療는 되지 않았다.

8. DAPI 染色에 依한 螢光顯微鏡 觀察結果 病原體가 篩部要素에 存在함이 確認되었다.

9. 電氣泳動法에 依한 蛋白質 및 peroxidase 分離像이 健全株와 罹病株의 葉에서 뚜렷한 差異가 있었다.

ABSTRACT

The occurrence of witches' broom in *Ligustrum ovalifolium* was first noticed in Korea by author in 1984. The present study was carried out with particular emphasis on the symptomatology, etiology, transmission of the disease and antibiotic treatments. The infected tissue was observed by the fluorescence and electron microscopy and its biochemical characteristics were compared with healthy one by electrophoresis.

[1] 接受 1988年 11月 2日 Received on November 2, 1988.

[2] 全南大學校 農科大學 College of Agriculture, Chonnam National University, Kwangju, Korea.

[3] 全北大學校 農科大學 College of Agriculture, Chonbuk National University, Chonju, Korea.

The results are summarized as follows :

1. Symptoms of the infected trees were characterized by the dwarfing of the organs, yellowing and brooming of the foliage.
2. The observation by the trans electron microscopy on the witches' broom of *L. ovalifolium* revealed the occurrence of numerous mycoplasma-like organisms(MLOs) in the phloem tissue cells of the midribs of infected leaves.
3. The MLOs were surrounded by a single unit membrane, and they appeared to be multiplied by binary fission.
4. The presence of crystals unidentified in the phloem parenchyma cells was noticed by electron microscopy.
5. The disease was able to be transmitted by budding, crown, and greenwood graftings to *L. ovalifolium*, *L. obtusifolium*, *L. japonicum* and also transmitted, even when the stocks and scions were not completely grafted.
6. Insect transmission on *L. ovalifolium* and *L. obtusifolium* was carried by *Hishimonus sellatus*.
7. The infected roots dipped in the 1,000 ppm of teracyclin solution was only temporarily effective in controlling the disease.
8. Infected plant with MLOs showed specific fluorescent reactions in phloems with DAPI stain.
9. The protein and peroxidase separated by electrophoresis showed strikingly distinctive difference between the healthy and diseased leaves.

Key words : Ligustrum ovalifolium ; *witches' broom* ; *grafting* ; *MLO*(*Mycoplasma-like organism*) ; Hishimonus sellatus.

緖 言

왕쥐똥나무(*Ligustrum ovalifolium* Hasskarl)는 물푸레나무科에 屬하는 半常綠闊葉灌木으로서 생울타리 및 都心地의 綠化에 널리 利用되고 있는 重要한 造景樹이다.

쥐똥나무屬 植物은 우리나라를 비롯하여 日本, 中國등에 分布되어 있으며 우리나라에는 왕쥐똥나무, 쥐똥나무, 광나무等 12個 樹種이 自生하고 있다.[11]

왕쥐똥나무의 病害에 關해서는 報告된 것이 없고 同屬(*Ligustrum*)의 쥐똥나무 점무늬病(*Pestalotia* spp.)[17], 쥐똥나무 銹病(*Aecidium Klugkistianum*)[17], 광나무斑紋病(*Cercospora ligustri*)[44], 광나무褐點病(*Mycosphaerella ilicis*)[44] 等이 밝혀졌을뿐 쥐똥나무屬의 빗자루病에 對해서는 報告된바 없다.

빗자루病은 흔히 Virus 혹은 菌類에 起因된 것으로 알려져 왔으나 1967年 土居 等[14]이 오동나무 빗자루病, 감자빗자루病에 感染된 잎에서 mycoplasma- like organism(MLO)을 報告한 後 많은 mycoplasma 性 植物病이 報告되고 있다.[1,2,4,6-10,14,24,25,27-29,31,32,39,45,46,50,53,54,57,58,66,67,69,71,73,76,78-80]

우리나라에서 報告 된것은 오동나무빗자루病[35]을 비롯하여 대추나무빗자루病[80], 붉나무빗자루病[29] 참싸리빗자루病[32], 뽕나무오갈病[6], 고구마오갈病[67], 양파萎黃病[31], 천궁빗자루病[9], 시호萎黃病[9], 질경이萎黃病[9] 等이다.

Mycoplasm의 傳染經路를 보면 接木傳染,[20,29,30,50,51] 虫媒傳染,[15,34,35,37,40,41,59-65,70,75] 새삼을 통한 傳染[12,18,26] 等이 主로 알려져 있다.

MLO에 對한 藥劑反應은 石家 等[21]이 뽕나두오갈病에 感染된 苗木에 tetracycline系 抗生物質을 處理하여 一時的으로 回復시켰다는 報告를 비롯하여 많은 硏究가 이루어지고 있으나 永久治療에는 여러가지 問題가 있는것으로 報告되고 있다.[1,3,13,15,21,23,29,38,47,72,74,75]

植物體內에 寄生하고 있는 MLO를 確認하기 爲하여 電子顯微鏡이 利用되고 있으며 最近에는 螢光色素染色法을 應用한 螢光顯微鏡診斷法이 開發되고 있다.[19,42,43,49,55]

罹病植物의 生理的 變化로써 健全植物과 mycoplasma性 罹病植物에 含有된 蛋白質의 變化

를 電氣泳動法으로 分析 報告하였다.[16,22,36,52,68]

今般 全州市 道路邊과 全南大學校 附屬演習林內에 植栽되어 있는 왕쥐똥나무에서 萎縮 叢生 症狀을 發見하고 그 病因究明을 爲하여 病徵, 傳染方法, 抗生物質 處理에 依한 反應, 그리고 電子顯微鏡에 依한 MLO의 確認 等으로 그 病原이 MLO임이 確實視 되는 病害이기에 報告하는 바이다.

材料 및 方法

供試材料

罹病植物은 全州市 八福洞 道路邊 생울타리 및 全南大學校 附屬演習林內(光州市 龍鳳洞)에 植栽되어 있는 왕쥐똥나무(*Ligustrum ovalifolium* Hassk.) 中 빗자루 症狀이 나타난것을 供試 하였으며 이들 罹病株에서 接木傳染試驗을 爲한 接穗와 接芽를 採取하였고 健全台木으로는 왕쥐똥나무, 쥐똥나무(*Ligustrum obtusifolium* S. et Z.), 광나무(*Ligustrum japonicum* Thunb.)等의 3年生 苗木을 供試하였다.

抗生物質處理에 供試한 罹病株는 接木傳染으로 感染시킨 것이다.

媒介虫 傳染試驗에는 왕쥐똥나무와 쥐똥나무苗木을 網室에서 育苗하여 6~8葉期에 使用하였다.

電氣泳動에 使用한 材料는 8月初旬 왕쥐똥나무 健全株와 罹病株에서 各各 新梢部位의 잎을 採取한 것을 -20℃ 냉장고에 保管하여 使用하였다.

方 法

病徵觀察 : 1984年 4月 初부터 1986年 10月 末까지 빗자루症狀이 나타난 왕쥐똥나무 罹病株 및 接木傳染에서 얻어진 罹病株를 中心으로 外部形態의 變化를 健全株의 것과 比較 觀察하였다.

電子顯微鏡觀察 : 罹病株의 新梢部 頂端小葉의 主脈을 1-2mm³ 小片으로 切斷하여 0.1M cacadilate buffer pH7.2, v/v로 2.5% glutaraldehyde를 만들어 4℃에서 2시간 前固定하고, 0.1 M cacadilate buffer pH7.2, v/v로 2% osmic tetraoxide를 만들어 2時間 後固定하여 ethanol 系 (50%~100%)로 脫水하여 epon樹脂에 包埋하였다.

Sorval MT-2 Ultramicrotome으로 切片을 만들어 uranyle acetate 및 lead acetate로 二重染色하여 電子顯微鏡(Carl Zeiss-10C)으로 檢鏡하였다.

螢光顯微鏡觀察 : 罹病株 頂端部位의 小葉主脈을 1mm 切斷하여 0.1M Phosphate buffer(pH 7.0)로 緩衝 된 5% glutaraldehyde에 4℃에서 2時間 固定하였다. 固定한 試料를 凍結microtome으로 20μm 두께로 切片한 後 4',6-diamidino-2-phenylindole · 2 Hcl(DAPI)로 20分間 染色하고 同一 緩衝液으로 洗滌하여 檢鏡하였다.

DAPI의 染色過程은 Seemüller[55]의 方法에 준하여 實施하였으며 染色試藥濃度는 1μg DAPI/ml 0.1M phosphate buffer(pH 7.0)였다. 螢光顯微鏡檢鏡은 DAPI로 染色한 切片을 高壓水銀燈(Wotan HBO · 200W)과 exiter filter UG(transmitance Ca. 300-400nm) 및 barrier filter L 400(transmitance above 400nm)을 裝着시킨 Vicker M17 螢光顯微鏡下에서 檢鏡하였다.

接木傳染 : 切接은 1985年 3月 30日에, 芽接은 1985年 9月 11日에, 綠枝接은 1985年 6月 30日에 各各 왕쥐똥나무 罹病株에서 接穗를 採取하여 3年生 實生苗 各 20株에 實施하였고, 罹病台木에 健全接穗를 接木한것은 왕쥐똥나무의 切接에서만 實施하였다. 切接 및 芽接은 圃場에서 綠枝接은 溫室內에서 實施하고 傳染與否를 觀察하였다.

昆虫媒介試驗 : 全南地方의 빗자루病에 感染된 왕쥐똥나무와 健全한 왕쥐똥나무에서 昆虫類를 1986年 4月 初부터 10月初까지 2週 간격으로 採集하였다. 이들중 供試한 마름무늬매미충(*Hishimonus sellatus* Uhler)은 왕쥐똥나무에는 그 棲息密度가 높지 않았기 때문에 뽕나무에서 1986年 9月에 마름무늬매미虫을 捕獲하여, 接木傳染으로 罹病된 罹病株에서 3~6日間 吸汁시켜, 網室內에서 養苗한 一年生 實生苗木(6~8엽기)인 왕쥐똥나무, 쥐똥나무를 網系로 씌우고 1株當 20마리씩을 放飼하여 斃死 할때까지 飼育하면서 發病有無를 觀察하였다.

抗生物質處理 : 1986年 6月 10日에 terramycin (oxytetracycline · Hcl, 250mg, 한국 화이자) teracyclin(tetracycline · Hcl, 250mg, 종근당)을 主成分對比로 1,000, 2,000ppm溶液을 만들어서 200ml들이 병에 붓고 여기에 왕쥐똥나무빗자루病에 接木傳染된 왕쥐똥나무의 뿌리 一部를 浸漬시키고 50日間 病徵抑制效果를 觀察하였다.

罹病植物體內의 蛋白質과 Peroxidase의 變化 : 왕쥐똥나무의 罹病葉 및 健全葉의 生組織 3g에 0.1M phosphate buffer (pH 7.5)로 만든 2mM EDTA 1ml, polyvinylpyrolidone 0.5g과 黃酸處理된 海沙를 少量 添加하여 冷却시킨 막자사발을 使用하여 磨碎한 後 4℃ 냉장고에서 12時間 抽出하여 20,000rpm(Hitachi 20PR-50)으로 15分間 遠心分離(4℃)하여 얻은 上淸을 電氣泳動材料로 使用하였다.

電氣泳動은 Shapiro 等[56] 과 Weber와 Osborn[77]方法을 參考하였으며 LKB 2001 Vertical electrophoresis system을 利用하여 두께 1.5 mm gel을 使用 하였다.

遠心分離하여 얻은 蛋白質과 peroxidase의 電氣泳動試料 各各의 上淸과 Sample buffer를 4 : 1로 稀釋하여 蛋白質은 항온수조에서 30分間 前處理하고, peroxidase는 4℃ 냉장고에서 12時間 前處理하여 slab gel mould當 試料 100μl씩 넣고 gel mould當 3mA의 電流로 3.5時間 泳動시켜 蛋白質은 24時間 染色시킨후 脫色過程을 거쳐 蛋白質 泳動帶를 觀察하였으며, peroxidase는 發色液에서 泳動帶가 나타날때까지 發色시켜 peroxidase 泳動像을 觀察하였다. 蛋白質 및 peroxidase의 電氣泳動用 separating gel, stacking gel, electrode buffer, sample buffer의 調成 및 染色, 脫色 과정은 다음에 의하였다.

Protein : 1. Separating gel(pH 8.8), Acrylamide(25%) 30.0ml, 1M tris-Hcl (pH 8.8) 22.5ml, D.W. 5.55ml, 10% SDS 0.6ml, Ammonium persulfate(1.5%) 1.35ml, TEMED 0.038ml. 2. Stacking gel (pH 6.8), Acrylamide(25%) 3.2ml, 0.5M tris-Hcl (pH 6.8) 5.0ml, D.W. 10.9ml, 10% SDS 0.2ml, Ammonium persulfate(1.5%) 0.7ml, TEMED 0.02ml. 3. Electrode buffer ; SDS 1.0g, Tris 3.0g, Glycine 14.4g, D.W. 1.0l. 4. Sample buffer ; Glycerol 10.0ml, SDS 2.0g, Mercaptoethanol 5.0ml, Bromophenol 0.1g, 0.125 M tris-Hcl (pH 6.8) 25.0ml, D.W. 68.0ml, 5. Fixing and staining ; Mix 100ml of 10% acetic acid with 100ml of the stain concentrate (Dissolve 2.5g of Coomassie blue R 250 in 1 liter of 95% ethanol) just before use. Staining time : overnight. 6. Destaining procedure ; 1st step, Mix 200ml of 95% ethanol and 300ml of 5% acetic acid, 1-2 hrs. 2nd step; Mix 150ml of 95% ethanol and 350ml of 5% acetic acid, 1-2 hrs. 3rd step ; Repeat 2nd step. 4th step; Mix 100ml of 95% ethanol and 400ml of 5% acetic acid, 2 hrs.

Peroxidase : 1. Separating gel (pH 8.8) ; Acrylamide (25%) 18.0ml, 1M tris-Hcl (pH 8.8) 22.5ml, D.W. 18.15ml, Ammonium persulfate(1.5%) 1.35ml, TEMED 0.038ml. 2. Stacking gel(pH 6.8); Acrylamide(25%) 2.4ml, 0.5M tris-Hcl (pH 6.8) 5.0ml, D.W. 11.9ml, Ammonium persulfate(1.5%) 0.7ml, TEMED 0.02ml. 3. Electrode buffer Tris 0.6g, Glycine 2.88g, D.W. 1.0ℓ. 4. Sample buffer; Glycerol 45.0ml, Bromophenol 5.0ml, 0.125M tris-Hcl (pH 6.8) 50.0ml. 5. Staining procdure ; Benzidine 0.5g+acetic acid 4.5ml+D.W. 20 ml, D.W. 100ml, 0.9% H_2O_2 25ml.

結 果

1. 病 徵

罹病株는 矮小한 枝葉의 叢生과 黃化 症狀의 典型的인 witches' broom의 樣相을 이루었다(Fig. 1). 病發現은 時日이 경과함에 따라 심하게 나타나며, 健全株가 生長을 멈춘 가을까지도 섬세한 잎이 叢生하고 이런 部位는 대개 당년에 枯死하게 된다. 일단 罹病되면 稚樹는 1~3年內에 枯死하게

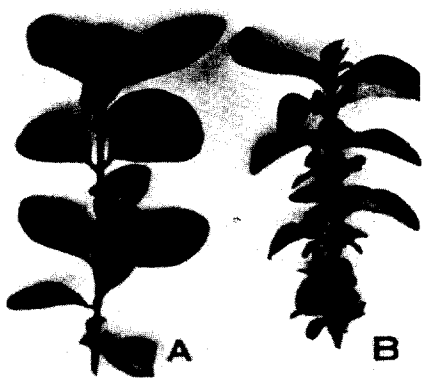

Fig. 1. Healthy(A) and witches' broomed leaves (B).

Fig. 2. Infected young shoots sprouting from base

Fig. 3. Infected young shoots sprouting on stem

Fig. 4. Infected leaves flush earlier than healthy on in spring

되며 樹令이 많은 나무는 數年間 生存하며 根部位에서 不定芽가 多數 發生하는 경우도 있다(Fig. 2).

2. 電子顯微鏡觀察

病原體를 確認하기 爲하여 電子顯微鏡으로 罹病植物의 葉脈 篩部組織을 觀察하였다.

篩部組織의 篩細胞에 많은 mycoplasma-like organism이 密集되여 있었고 同伴細胞 및 篩部柔細胞에서도 MLO를 觀察할 수 있었다,.

MLO의 形態는 球形, 卵形, 아령形(Fig. 5)을 이루고 있었으며 特히 連鎖形(Fig. 9)과 C字形(Fig. 7)을 觀察할 수 있었다. 크기는 100×1200 nm~200×1200nm범위 이였다.

또한 增殖形으로 생각되는 二分모형도 觀察되었다. 篩部細胞의 篩孔部位에는 MLO가 密集되여 있으며 篩孔을 통하여 移動한다고 생각되는 像을 觀察할 수 있었다.(Fig. 8) MLO는 單位膜으로 둘러싸이고 그 內部에는 ribosome-like body와 DNA라고 믿어지는 纖維狀構造도 觀察되었다(Fig. 6). 罹病株 葉脈의 篩部細胞 및 同伴細胞, 篩部柔細胞에서는 健全株에서 볼 수 없는 不規則한 異常結晶物質들이 觀察되었다(Fig. 10.).

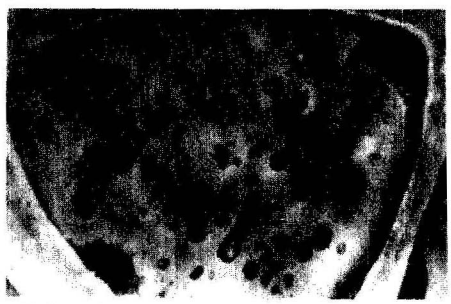

Fig. 5. MLOs in a sieve tube cell of the leat midrib. (×10, 000)

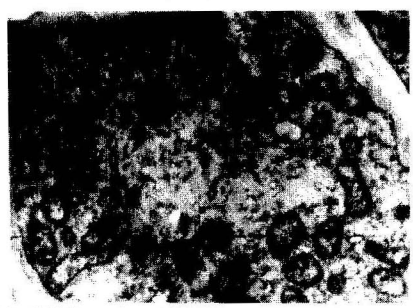

Fig. 6. MLOs showing a unit membrane. (×15, 000)

Fig. 7. MLO forming "C" type. (×8,000)→

Fig. 8. Some MLOs near the sieve pores, possibly passing through the sieve pore. (×20,000)

Fig. 9. Chain forming MLO. (×10,000)→

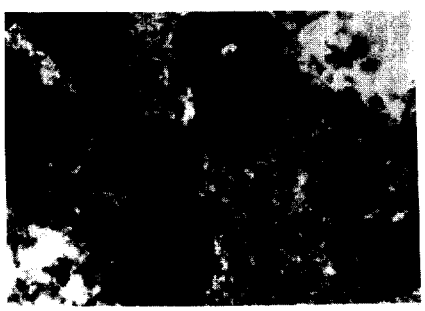

Fig. 10. A phloem parenchyma cell of the infected midrib usually containing abundant unidentified crystals. (×25,000)

3. 螢光顯微鏡觀察

왕취똥나무의 罹病株 및 健全株의 組織切片을 螢光色素인 DAPI로 染色하여 螢光顯微鏡下에서 檢鏡 하였던 바 罹病植物의 葉主脈切片의 篩部에서 pale bright yellow 螢光이 나타났으며 健全植物의 組織에서는 이 같은 反應이 나타나지 않았다 (Fig. 11, 12).

罹病組織에서의 螢光反應은 篩管部位의 篩細胞를 中心으로 나타났으며 다른 組織部位 에서는 反應이 나타나지 않았다. 이것은 MLO가 篩部要素에 密集하여 存在하는 것을 確認하여주는 結果라고 생각된다.

Fig. 11. Phloems of diseased midrib of *L. ovalifolium* show fluorescent spots after staining with DAPI.

Fig. 12. Phloems of healthy midrib of *L. ovalifolium* did not show fluorescent spots after staining with DAPI

4. 傳染經路

1) 接木傳染

切接은 1985年 8月 30日에 빗자루病에 感染된 왕쥐똥나무, 쥐똥나무, 광나무 健全株 20株씩을 各各 台木으로 하여 切接한 結果 왕쥐똥나무 15株(Fig. 13), 쥐똥나무 12株(Fig. 14), 광나무 7株(Fig. 16)가 接木에 成功하여 빗자루 病徵이 나타났으며 나머지는 活着 되지 안했으나 그중 왕쥐똥나무 1株, 쥐똥나무 1株, 광나무 2株는 接穗가 枯死하였어도 빗자루症狀이 나타났고, 나머지 台木은 病徵發現을 볼 수 없었다. 傳染率은 왕쥐똥나무 80%, 쥐똥나무 65%, 광나무 45%의 傳染率을 나타냈다(Table 1). 한편 왕쥐똥나무 罹病台木에 健全 接穗를 接한것은 20株中 15株가 傳染되어 75%의 傳染率을 나타내었다(Table 1). 芽接은 왕쥐똥나무 罹病株에서 採取한 接芽를 3種의 健全台木 各 20株씩에 芽接한 結果, 活着된 왕쥐똥나무 12株, 쥐똥나무 9株, 광나무 5株의 全部에서 빗자루 病徵이 나타났으며, 왕쥐똥나무에서는 活着되지 않은 8株中 2株가 病徵을 나타냈고, 쥐똥나무에서는 11株中 2株, 그리고 광나무에서는 15株中 1株가 各各 病徵을 나타내 結果的으로 왕쥐똥나무 70%, 쥐똥나무 55%, 광나무 30%의 傳染率을 보였다(Table 2).

綠枝接은 健全台木 各 20株씩에 왕쥐똥나무 罹病株에서 採取한 接穗를 接한 結果 活着된 왕쥐똥나무 9株, 쥐똥나무 10株, 광나무 6株 全部에서 病徵이 나타났고 活着되지 않은것 중 왕쥐똥나무

Fig. 13. An infected plant sprout from the healthy stock(*L. ovalifolium*) to which an infected scion had been grafted.〈st : stock, sc : scion〉

Fig. 14. An infected plant sprout from the healthy stock (*L. obtusifolium*) to which an infected scion had been grafted.〈st : stock, sc : scion〉

Fig. 15.16. An infected plant sprout from the healthy stock (*L. japonicum*) to which an infected scion had been grafted

Fig. 17. An healthy plant sprout from the healthy stock (*L. japonicum*) to which an infected scion had been grafted.〈st : stock, sc : scion〉

에서 2株 그리고 광나무 1株에서도 빗자루 症狀을 보였다. 傳染率은 왕쥐똥나무 55%, 쥐똥나무 50%, 광나무 35%의 비교적 낮은 傳染率을 나타냈으며, 綠枝接에 依한 傳染期間은 約 1個月 後면 傳染이 되어 빗자루 病徵의 初期症狀인 腋芽의 出現을 볼 수 있었다(Table 3).

2) 昆虫 媒介傳染

1986年 4月부터 10月까지 全南地方의 왕쥐똥나무에서 採集한 昆虫類는 Table 4와 같으며, 本試驗에서 供試한 마름무늬매미충은 健全한 뽕나무에서 採集하였지만 保毒의 與否를 確認하기 爲하여 健全한 왕쥐똥나무에서 飼育한 結果 10株中 1株도 病徵이 나타나지 않았다.

왕쥐똥나무 罹病株에서 吸汁시킨후 健全왕쥐똥나무에 옮기어 폐사(11~29日) 할때까지 放飼하면서 病徵發現與否를 觀察하였다. 왕쥐똥나무罹病株에 3日間 吸汁시키고 왕쥐똥나무 1年生 實生苗에 飼育한 結果 5株中 4株가, 그리고 6日間 吸汁시킨 것은 5株中 3株가 接種後 30日만에 腋芽가 2mm 程度 生長하여 罹病됨을 나타냈다. 왕쥐똥나무罹病株에 3日間 吸汁시키어 쥐똥나무 1年生苗에 接種 시킨것은 5株中 3株가, 그리고 6日間 吸汁 시킨것도 5株中 3株에 腋芽의 發生을 보였다(Fig. 18).

卽 왕쥐똥나무는 70%가, 쥐똥나무에서는 60%

Table 1. Transmission of witches' broom of *Ligustrum ovalifolium* by crown grafting

Species	Grafting method	No. of transmission /No. of tested tree	Tansmission ratio	No. of unions by callusing
L. ovalifolium	Healthy scion with diseased stock	15/20	75%	15
	Diseased scion with healthy stock	16/20	80%	15
L. obtusifolium	Diseased scion with healthy stock	13/20	65%	12
L. japonicum	Diseased scion with healthy stock	9/20	45%	7

Table 2. Transmission of witches' broom of *Ligustrum ovalifolium* by budding

Species	No. of transmission/ No. of tested tree	Transmission ratio	No. of unions by callusing
L. ovalifolium	14/20	70%	12
L. obtusifolium	11/20	55%	9
L. japonicum	6/20	30%	5

Grafting method : Infected scion with healthy stock

Table 3. Transmission of witches' broom of *Ligustrum ovalifolium* by greenwood grafting

Species	No. of transmission/ No. of tested tree	Transmission ratio	No. of unions by callusing
L. ovalifolium	11/20	55%	9
L. obtusifolium	10/20	50%	10
L. japonicum	7/20	35%	6

Grafting method : Infected scion with healthy stock

가 마름무늬매미虫에 依해 媒介되었다.

Table 4. List of insects collected on *Ligustrum ovalifolium*

Scientific name	(Korean name)
Hishimonus sellatus	(마름무늬 매미충)
Macrosiphum ibotum	(쥐똥나무 수염진딧물)
Brachycaudus ligustri	(쥐똥나무 둥굴진딧물)
Cargara genistae	(둥굴 뿔매미)
Gargara ligustri	(잔뿔 매미)
Ericerus pela	(쥐똥나무 밀깍지벌레)
Dolbina exacta	(애물결 박각시)
Dolbina tancrei	(물결 박각시)
Psilogramma menephron increta	(큰쥐 박각시)
Brahmaea carpenteri	(왕물결나방)
Brahmaea wallichii japonica	(쥐똥나방)
Spilosoma lubricipeda	(배점무늬 불나방)
Spilarctia subcarnea	(배 붉은 흰불나방)
Archips longicellana	(사과잎말이나방)
Artopoetes pryeri	(선녀부전나비)
Celastrina argiolus	(푸른부전나비)
Argopistes coccinelliformis	(무당잎벌레)
Ricania japonica	(대모선녀벌레)

Collection period : April~October 1986.

5. 抗生物質治療效果

根部浸漬 : TC系 抗生物質에 對한 反應을 보기 위하여 teracyclin 및 terramycin의 1,000 ppm과 2,000 ppm 水溶液에 根部浸漬處理한 結果는 teracyclin에서는 處理後 12日頃 부터, terramycin에서는 15日頃 부터 病徵 抑制反應을 나타내었다. 그러나 處理後 30日頃 부터 共히 病徵이 再現되기 始作 하였다.

Fig. 18. An infected seedling transmitted by *Hishmonus sellatus*.

達觀에 依하면 teracyclin 1,000 ppm區 에서도 處理後 12日 부터 病徵이 抑制되어 18~30日 까지는 約 50% 程度 回復되었다가 33日을 前後하여 다시 病徵이 나타나기 始作하였다. Teracyclin 2,000 ppm 區에서는 處理後 12日째부터 病徵이 抑制되면서 回復하기 始作하여 18~27日 까지는 約 50% 程度의 回復을 보이다가 30日째 부터는 다시 病徵이 나타나기 始作 하였다. terramycin 1,000 ppm 區에서는 處理後 18日째 부터 病徵이 抑制되어 약간의 減少現象이 나타났으며, 30日後 부터는 재차 病徵이 發現하기 시작하였다. terramycin 2,000 ppm 區에서는 處理後 15日째 부터 病徵이

Table 5. Transmission of *Ligustrum ovalifolium* witches' broom by *Hishimonus sellatus*

Serial No.	Feeding period on diseased tree	Survival days of vector	Symptom
1	0	25	H
2	0	20	H
3	0	20	H
4	0	17	H
5	0	23	H
6	3	12	H
7	3	29	I
8	3	27	I
9	3	23	I
10	3	20	I
11	6	19	H
12	6	25	I
13	6	27	I
14	6	21	H
15	6	20	I

I : Infected H : Healthy

No. of insects inoculated per one tree : 20

Table 6. Transmission of *Ligustrum ovalifolium* witches' broom to Ligustrum obtusifolium by *Hishimonus sellatus*

Serial No.	Feeding period diseased tree	Survival days of vector	Symptom
1	0	24	H
2	0	19	H
3	0	26	H
4	0	28	H
5	0	19	H
6	3	15	H
7	3	11	I
8	3	14	I
9	3	15	H
10	3	19	I
11	6	19	I
12	6	15	H
13	6	20	I
14	6	15	H
15	6	17	I

I : Infected H : Healthy
No. of insects inoculated per one tree : 20

多少 減少趨勢를 보이다가 33日째 부터는 다시 病徵이 나타나기 始作하였다. (Fig. 19, 20) teracyclin과 teramycin 共히 濃度差에 依한 病徵 抑制 效果는 없었으며 反應效果는 teracyclin이 terramycin 보다 3日 程度 빨랐으나 共히 永久治療는 되지 않았다.

Fig. 19. A diseased plant before the treatment of antibiotic

Fig. 20. A diseased plant temporarily cured by dipping root into 1,000ppm teracyclin.

6. 罹病植物 體內의 蛋白質과 peroxidase의 變化

Mycoplasma에 罹病된 植物體內의 物質代謝活

Table 7. Effects of the antibiotic application by root dipping on witches' broom of *Ligustrum ovalifolium*

Antibiotic	Days after treatment										
concentration	9	12	15	18	21	24	27	30	33	36	39
Teracyclin 1,000 ppm	+++	++	++	+	+	+	+	+	++	++	+++
Teracyclin 2,000 ppm	+++	++	++	+	+	+	+	++	++	+++	+++
Terramycin 1,000 ppm	+++	+++	+++	++	++	++	++	+++	+++	+++	+++
Terramycin 2,000 ppm	+++	+++	++	++	++	++	++	++	+++	+++	+++

+--+ : servity ++ : remissed + : 50% remissed

性을 보기 위하여 蛋白質과 효소의 電氣泳動分離를 하여 보았다.

1) 蛋白質

Fig. 21에서 나타난 바와같이 mycoplasma에 罹病된 왕쥐똥나무 葉에서는 健全葉에서 전혀 볼 수 없는 特異蛋白質泳動帶가 Rf=0.1과 Rf=0.32의 두 곳에서 나타났다. 健全株와 罹病株에서 共히 Rf=0.03, 0.07에서 電氣泳動帶가 나타났고, 높은 Rf 値에서는 전혀 泳動帶가 나타나지 않았다. 卽, 蛋白質의 電氣泳動分離帶는 健全株는 2個 罹病株에서는 4個의 分離帶만이 나타났으며, 이는 왕쥐똥나무 잎에서의 蛋白質 分離像이 比較的 단순함을 알 수 있다.

2) **Peroxidase**

Fig. 22에서 보는 바와같이 mycoplasma에 感染된 왕쥐똥나무 葉에서는 健全葉에서 나타나지 않은 特異的인 peroxidase의 泳動帶가 Rf=0.51~0.53의 比較的 높은 數値에서 나타났으며, 健全株와 罹病株 共히 Rf=0.28~0.30, Rf=0.36~0.38, Rf=0.40~0.42, Rf=0.47~0.49等 4個의 泳動帶가 나타났으나 其中 Rf=0.28~0.30, Rf=0.47~0.49의 두 泳動帶는 健全株 보다 罹病株에서 더욱 뚜렷하고 높은 活性 度를 보였다. 이것은 mycoplasma에 感染 되므로써 왕쥐똥나무葉內에서의 peroxidase의 活性이 活潑하다는 것을 間接的으로 알 수 있는 것이다.

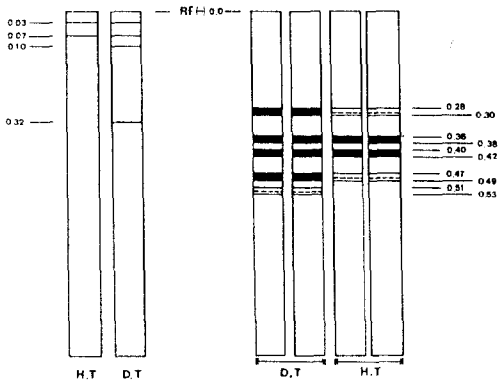

Fig. 21 Protein

Fig. 22 Peroxidase

Fig. 21. Electrophoresis profile of protein from healthy (H.T) and diseased leaves(D.T) of *Ligustrum ovalifolium*

Fig. 22. Electrophoresis profile of peroxidase from healthy(H.T) and diseased leaves (D.T) of *Ligustrum ovalifolium*

考 察

뽕나무오갈병, 오동나무빗자루病 等의 病原이 MLO임이 土居 等[14]에 依하여 究明되고 부터, 많은 萎黃, 叢生病이 MLO에 起因됨이 報告되고 있다.

病徵: 왕쥐똥나무에 빗자루 樣狀을 띄는 病에 對해서는 國內外에서 報告된 바 없는 新病害로서 그 病原究明을 爲하여 檢討한 結果 MLO인이 確認되었다. 그 病徵은 枝葉의 萎縮, 叢生, 萎黃, 不定腋芽의 發生 및 全身病 等 MLO에 依한 典型的인 外部形態的 特徵을 나타냈다. 罹病株에서는 健全株에서 볼 수 없는 腋芽의 發生으로 節間이 짧은 小枝와 矮小한 잎이 叢生하여 마치 꽃망울 모양을 이루듯 빗자루病 特有의 病徵을 나타내고 있으나 花器의 葉化現象은 發見하지 못하였다. 叢生이 甚할때에는 그 部位의 重量의 加重으로 아래쪽으로 휘어지는 것을 볼 수 있는데 이런 現象은 대추나무빗자루病에서도 나타난다. 樹令이 많은 罹病株에서는 根部로 부터의 不定萌芽發生으로 莖下部에도 叢生現象을 이루었다.

봄철에 罹病株가 健全株 보다 開葉이 빨리 되는 것은(Fig. 4) 벚나무빗자루病에서도 볼 수 있는 것으로 이는 病原體의 刺戟에 依하여 開葉이 빨리 되리라고 생각되며 健全株의 生長이 停止한 가을에도 罹病株는 계속 纖細한 枝葉의 發生을 볼 수 있고, 이들 叢生한 細枝는 枯死하게되며 따라서 落葉이 되지 않은채 越冬하였다.

電子顯微鏡에 依한 病原體 確認: MLO의 病原體를 直接 觀察 確認하기 爲하여 電子顯微鏡으로 罹病組織을 檢鏡 하였던바, 왕쥐똥나무빗자루病의 病原體라고 믿어지는 MLO는 罹病株의 葉脈篩部細胞와 篩部柔細胞에서 觀察되었으며 그 形態는 球形, 卵形, 아령形, 連鎖形이였으며 MLO가 篩部細胞와 篩部 柔細胞에 密集되여 있다고 報告한 土居 等[14], Yi 等[80], 奧田 等[45] 및 金[29]의 報告와 같으며 그 形態도 이들 報告와 一致한다. 다만 왕쥐똥나무에서는 C字形을 한 MLO가 보이는 것이 特異하다.

本 MLO의 構造는 細胞壁이 없이 unit membrane에 쌓여 있고 內部에는 ribosom-like body 및 DNA性 纖維構造가 나타났다. 이것은

이제까지 報告된 mycoplasma性 植物病原體의 構造와 一致한다. MLO의 膜系는 single unit membrane[29,69], double unit membrane[13,46], trilaminar unit membrane[4,14], 으로 되었다는 等 硏究者에 따라 意見이 相異하나 本 硏究에서 病原體의 膜系는 金[29]과 Story[69]의 報告와 같이 single unit membrane이었다. MLO의 分裂樣狀은 二分法만을 觀察할 수 있었고 出芽와 內生現象은 觀察되지 않았다. MLO의 出芽 및 二分增殖에 關해서는 土居 等[14]과 奧田 等[45] 이 報告하였고, 內生現象은 Carl 等[4]이 報告한바 있다. 罹病株 葉脈의 篩部細胞에서 健全株에서는 볼 수 없는 不規則한 異常構造物이 觀察 된것은 James 等[24], Robert 等[53] 및 Chales 等[7]의 報告에서 찾아 볼 수 있는 바와 같이 病으로 因한 代謝物質의 異常蓄積이라 생각된다.

螢光顯微鏡에 依한 病原體 確認 : Mycoplasma의 核酸物質이 DNA로 되여 있으며 DNA에 예민한 反應을 나타내는 螢光色素인 DAPI를 利用하여 MLO의 存在 確認과 存在 部位를 알아보고져 하였다. Mycoplasma에 感染된 왕쥐똥나무 罹病株의 篩部組織에서 特異 螢光反應이 나타났으나 健全한 왕쥐똥나무의 篩部에서는 特異螢光反應이 觀察되지 않았다.

이것은 本 植物이 mycoplasma에 感染 되었음을 알 수 있는 것이며 이는 朴 等[49], 難波 等[43], Hiruki[19], Seemuller 等[55]의 報告와 一致하였다.

또한 罹病組織에서도 篩部要素에서만 反應이 나타나고, 다른 部位에서는 螢光反應이 나타나지 않았다.

이것은 MLO가 主로 篩部要素에만 密集하여 存在한다는 것을 立證하는 結果라고 생각된다.

따라서 螢光色素反應方法은 植物의 MLO感染을 迅速 正確하게 診斷하는데 매우 有用한 方法이라고 생각된다.

接木傳染 : 本 病의 傳染經路를 究明하기 爲하여 接木傳染, 媒介昆虫實驗을 한 結果 모두 傳染이 可能하였다.

接木에 依한 傳染實驗에서는 春季의 切接이나 秋季의 芽接 모두가 接木된 苗木은 傳染이 되였으며 接穗가 枯死한 苗木에서도 傳染이 되는 것이 있었다. 이중 春季의 切接이 제일 높은 傳染率을 보였으나 接木의 方法이나 時期에 따라 큰 差異는 認定할 수 없었고 接穗가 活着만 되면 왕쥐똥나무와 쥐똥나무에서는 傳染이 可能하였다. 切接에 있어서 罹病台木에 健全接穗를 接한 것이나, 健全台木에 罹病接穗를 接한 것은 傳染率에서는 큰 차이가 없었다.[5] 광나무에서는 오히려 역으로 接穗가 活着하여 生長을 계속하는 苗木은 台木에 病徵이 나타나지 않고(Fig. 17) 接穗만이 罹病된채 生長하고 있었으며 罹病接穗가 活着되었다가 枯死한 광나무에서는 잎이 萎縮 혹은 畸形이 되거나, 소수이지만 腋芽의 發生現象도 볼 수 있었다(Fig. 15, 16).

이는 광나무가 왕쥐똥나무 보다 mycoplasma에 對한 感受性이 적기 때문이라고 思料된다.

이것은 川北[28]가 뽕나무 萎縮病에 感染된 뽕나무에서 마름무늬매미충을 吸汁시키어 대추나무에 飼育한 結果 대추나무는 빗자루病이 發生하지 않고 잎이 萎縮만 되었다고 한 報告와 같은 結果이다.

接穗가 活着하지 안했어도 傳染이 可能했던 것은 接穗로부터 病原體가 台木에 移入될 때까지 一定期間 접촉되면 傳染이 可能했던 것으로 생각된다. 이는 金[30]이 報告한 대추나무 빗자루病 接木實驗 結果 및 金[30]이 報告한 붉나무빗자루病 接木傳染 結果와 一致함을 알 수 있다.

昆虫媒介傳染 : 마름무늬매미虫 成虫을 罹病株에서 3~6日間 吸汁시키어 왕쥐똥나무와 쥐똥나무 1年生實生苗(6~8葉期)에 吸汁 接種시킨 結果, 接種後 30~45日만에 왕쥐똥나무는 10株中 7株가 쥐똥나무는 10株中 6株가 傳染되었다.

이것은 뽕나무오갈병[72]과 대추나무빗자루病[37]을 마름무늬매미虫이 媒介한다는 報告가 있으므로 이들 病과 왕쥐똥나무빗자루病과의 關係도 앞으로 追究해야 할 것이다.

虫媒傳染에서 MLO의 獲得所要時間을 正確히 測定하지 못한 것은 長期間 吸汁 시키었으므로 계속해서 吸汁 상황을 觀察할 수 없었기 때문이며 接種 所要時間 測定도 같은 理由이었다. 이 問題는 앞으로 더욱 精密實驗을 걸쳐서 確認할 과제라고 생각하며, 또한 왕쥐똥나무가 屬해 있는 쥐똥나무屬에는 韓國에만도 12種이 自生하고 있으므로 本 實驗에서 確認한 2種外 나머지 10種間의 傳染與否도 檢討하여야 할 課題인 것이다.

抗生物質治療效果 : Mycoplasma性 植物病害에

對한 抗生物質處理硏究는 1967年 石家 等[21]이 뽕나무오갈病에 感染된 罹病苗에 tetracyclin系 抗生物質을 處理하여 效果가 있었다는 報告가 있은 後 많은 mycoplasma性 植物病害에 抗生物質을 處理하여 一時的인 病徵 抑制效果는 있었으나 永久治療가 되지 않았다고 報告한 바 있다.[3,13,21,23,29,38,47,72,74,75] 本 實驗에서도 一時的인 效果는 있었으나 永久治療는 되지 않았다.

抗生物質 種類別 效果에 對해서는 金[29]이 붉나무빗자루病 硏究에서 報告한 바와 같이 本 實驗에서도 terramycin 보다 teracyclin의 效果가 있는 것으로 나타났다.

處理方法에서도 왕쥐똥나무가 灌木이기 때문에 實際活用面을 생각하여 根部浸漬法만을 實驗하였다.

罹病植物體內의 蛋白質의 Peroxidase의 變化: MLO에 罹病된 왕쥐똥나무葉에서 健全葉에서는 形成되지 않은 特異蛋白質泳動像과 酵素泳動像이 나타난 것은 特徵的이었다.

羅 等[36]은 MLO에 感染된 대추나무에서, Ishizaka[22]는 MLO에 感染된 뽕나무에서, 蘇 等[68]은 고구마萎縮病과 붉나무빗자루病 罹病株를 材料로 하여 電氣泳動實驗을 하여 蛋白質像을 比較한 結果 健全葉과 罹病葉간에 差異가 있음을 報告하였다.

MLO에 罹病된 왕쥐똥나무葉에서 健全葉에서는 볼 수 없는 peroxidase의 isozyme이 뚜렷하게 形成된 것은 罹病株에서 peroxidase가 健全株에서보다 活性이 强하기 때문으로 생각된다.

이는 朴 等[48]이 大豆罹病種子의 peroxidase의 活性度變化에서 大豆의 健全種子와 紫斑病 感染種子의 種皮 및 子葉內의 蛋白質含量에는 큰 差異가 없으나 peroxidase의 活性度는 感染種子에서 越等히 높았다는 報告와 一致한다. 이와같이 MLO 罹病株에서 蛋白質의 種類 및 酵素의 活性과 種類의 差異가 나타나는 것은 MLO 感染으로 因하여 寄主植物의 物質代謝가 變化된 것으로 생각된다.

따라서 이와같이 代謝産物의 變化像을 調査하는 것도 方法이 복잡하지만 MLO病 診斷方法의 補助手段으로 應用될 수 있는 것으로 思料된다.

引 用 文 獻

1. Bar-Joseph, M., A. Zelcer, and G. Loebenstein. 1975. Association of mycoplasma-like organisms with bermudagrass yellow leaf. *Phytopathology* 65 : 640-641.
2. Bilijana, P.B., P. Hunt, and K. Maramorosch. 1972. Mycoplasma-like bodies associated with lethal yellowing disease of coconut palms. *Phytopathology* 62 : 298-299.
3. Bowyer, J.W., and E.C. Calavan. 1974. Antibiotic sensitivity in virto of the mycoplasma-like organism associated with citrus stubborn disease. *Phytopathology* 64 : 346-349.
4. Carl, E.S., C.L. Wilson, and E.B. Carol. 1973. Mycoplasma-like bodies found in phloem of black locust affected witches' broom. *Phytopathology* 63 : 30-34.
5. 蔡正基. 1986. 왕쥐똥나무 빗자루病에 關한 硏究. 全南大 演習林誌 8 : 1-8.
6. Chang, B.H., and C.J. Kim. 1971. Studies on the dwarf disease of mulberry tree. *Seri. J. Korea* 13 : 17-21.
7. Charles, L.W., C.E. Seliskar, and C.R. Krause. 1972. Mycoplasma-like bodies associated with elm phloem necrosis. *Phytopathology* 62 : 140-143.
8. Chen, T.A., and R.R. Grandados. 1971. Mycoplasma-like organism in sieve tube elements of plants infected with blueberry stunt and cranberry false blossom. *Phytopathology* 61 : 233-236.
9. 崔容文·李淳炯·金政洙·李應權. 1985. 萎縮. 叢生. 증상의 천궁, 시호, 질경이의 마이코프라스마 病에 關한 硏究. 韓國 菌學會誌 13 : 49-51.
10. 崔容文·監見敏樹·杉浦巳代治·奈須壯兆. 1981. ミシマサイフ 萎黃病(假稱)の寄主範圍. 日植病報. 47 : 139.
11. 鄭台鉉. 1958. 韓國 植物圖鑑(上). 新志社. 서울 : pp.436-442.
12. Dale, J.L., and K.S.Kim. 1969. Mycoplasma-like bodies in dodder parasitizing aster yellows-infected plants. *Phytopathology* 59 :

1765.

13. Dianne, P.H., and R.H. Converse. 1971. Temporary symptom remission of strawberry june yellows and witches' broon by use of oxytetracycline. *Phytopathology* 61 : 1137-1139.
14. 土居養二·寺中理明·與良淸·明日山水文. 1967. クワ萎縮病, ジヤガイモてんぐ巢病, Aster yellows 感染 ペチユニア ならびにキリ てんぐ巢病の罹病 莖葉篩部に見出される Mycoplasma 樣(あるいは PLT樣) 微生物について. 日植病報 33 : 259-266.
15. Freitag, J.H., and S.H.Smith. 1969. Effects of tetracycline on symptom expression and leafhopper transmission of aster yellows. *Phytopathology* 59 : 1820-1823.
16. Hames, B.D., and D. Rickwood. 1983. Gel electrophoresis of proteins. IRL PRESS. Oxford. Washington D C. : pp.1-86.
17. 韓國 植物保護學會. 1986. 植物病害蟲 雜草名鑑. 二友印刷所. 서울 : p.76.
18. Hibben, S.R., and B.Wornski. 1970. Dodder transmission of a mycoplasma from ash tree with yellow type symptom. *Phytopathology* 60 : 1295.
19. Hiruki, C.. 1981. Fluorescence microscopy in diagnosis of tree disease associated with mycoplasma-like organism(MLO). Proceedings referateexposes(XVII IUFRO) div. 2 : 317-322.
20. Hutchins, L.M., and H.V. Wester. 1947. Graft transmissible brooming disease of walnut. *Phytopathology* 37 : 317-322.
21. 石家達爾·土居養二·與良淸·明日山秀文. 1967. テトラサイクリン系抗生物質のクワ萎縮病治療効果. 日植病報 33 : 315.
22. Ishizaka, T.. 1971. Agarose-gel electrophoresis of proteins in the leaves from dwarf -diseased mulberry tree. *J.Sericult. Sci. Japan* 40 : 391-394.
23. Ishiie, T., Y. Doi, K. Yora, and H. Asuyama. 1967. Suppressive effects of antibiotics of tetracycline group on symptom development of mulberry dwarf diseases. *Ann. Phytopath. Soc. Japan* 33 : 267-275.
24. James, X.H., G.R. Hooper, and J.E. Batn. 1972. Occurrence and nature in stunt disease of Michigan highbush blueberry. *The Michigan academian* 4 : 461-467.
25. Jenifer, H.M., G. Nyland, and A.R. Spurr. 1972. Morphology of mycoplasma-like bodies associated with peach X-diseased in *Prunus persica*. *Phytopathology* 62 : 935-937.
26. Jones, A.L., G.R.Hooper, D.Rosenberger, and J. Chevalier. 1973. Mycoplasma-like bodies associated with peach and periwinkle exhibiting symptoms of peach yellow. *Phytopathology* 64 : 1154-1156.
27. Jones, A.L. G.R. Hopper, and D.A.Rosenberger. 1974. Association of mycoplasma-like bodies with little peach and X-disease. *Phytopathology* 64 : 755-756.
28. 川北弘. 1983. ヒシモンヨユバイによる クワ萎縮病病原のナツメへの感染. 日植病報 49 : 425.
29. 金榮浩. 1980. Mycoplasma性 붉나무 빗자루病에 關한 硏究(1). 韓國林學會誌 47 : 1-15.
30. 金鍾鎭. 1965. 대추나무 미친病에 關한 硏究 (第3報) 接木傳染. 微生物學會誌 3 : 1-6.
31. 金鍾鎭·金昌煥. 1986. 양파에 發生한 mycoplasma-like organism. 韓國植物病理學會誌 : 11.
32. 金鍾鎭·沈在郁. 1984. 참싸리 빗자루病. 江原大 論文集 20 : 43-45.
33. Kirkpatrick, H.C., S.K.Low, and G.Nyland. 1975. Peach rosette the morphology of an associated with mycoplasma-like organism and the chemotherapy of the disease. *Phytopathology* 65 : 864-870.
34. Maramorosch, K., E.Shikata, and R.R. Granados. 1986. Mycopplasma-like bodies in leafhopper and diseased plants. *Phytopathology* 58 : 886.
35. 羅瑢俊·邊炳浩·沈公子. 1968. 담배장님노린재(*Crytopeltis' tenyis*)에 依한 오동나무天狗巢病(도깨비집병) 바이러스의 媒介傳染. 韓國植物保護學會誌5 : 1-8.
36. 羅瑢俊·朴元穆·李鎔世. 1984. 빗자루病에 感染된 대추나무 組織內 蛋白質의 電氣泳動. 韓國林學會誌66 : 79-81.

37. 羅瑢俊·禹建錫. 1980. 대추나무빗자루病의 마름무늬 매미충에 依한 媒介傳染. 韓國林學會誌 47 : 29-39.

38. 任綱彬·羅瑢俊·林雄圭·張卓重·申載斗·李淳炯. 1985. 옥시테트라 싸이크린을 處理한 대추나무빗자루病 感染木의 病態解剖學的 硏究. 韓國植物病理學會誌 1 : 101-108.

39. Miyahara, K., M.Matuszaki, K. Tanaka, and N. Sako. 1982. A new disease of onion caused by mycoplasma-like organism in Japan. *Ann. Phytophy. Soc. Japan* 48 : 551-554.

40. 宮原和夫·脇部秀彦·松崎正文·田中欽二. 1983. ヒメフタテンヨユバイによるタマネギ萎縮病 病原體マイユプラズマ様 微生物の媒介様式. 日植病報49 : 87.

41. 都崎芳久·上原等. 1977. ニンジン萎黃病の媒介昆蟲. 日植病報43 : 102.

42. Namba, S., S. Yamashita, Y. Doi, and K. Yora. 1981. Direct fluorescence detection method(DFD method) for diagnosing yellow-stype virus diseases and mycoplasma diseases of plants. *Ann. Phytopath. Soc. Japan* 47 : 258-263.

43. 難波成任·山下修一·土居養二·與良淸. 1981. Clostero, Luteo-Virus などの篩部局在性ウイルスならびMLO感染植物の直接螢光診斷法. 日植病報 47 : 96.

44. 日本植物病理學會. 1965. 日本有用植物病名目錄 第2卷. 共立印刷 株式會社. 東京 : p. 203.

45. 奧田誠一·西村典夫. 1974. ミツバてんぐ巢病. 日植病報 40 : 439-451.

46. 奧田誠一·土居養二·與良淸·明室秀文·小室康雄. 1968. ミツバてんぐ巢病について. 日植病報 34 : 349.

47. 田浜康夫. 1975. クワ萎縮病に對する硏究 回復桑における マイコプラズマ様微生物の動靜. 日植病報41 : 298.

48. 朴元穆·高榮嬉·兪瑛濬. 1982. 大豆種子의 紫斑病感染과 Peroxidase 活性度 變化. 韓國植物 保護學會誌 21 : 23-26.

49. 朴元喆·羅瑢俊. 1985. 螢光顯微鏡的 技法에 依한 대추나무, 뽕나무 및 일일초의 마이코플라스마 感染診斷. 韓國植物病理學會誌 1 : 12-16.

50. Parthasarathy, M.V. 1974. Mycoplasma-like organisms associated with lethal yellowing disease of palms. *Phytopathology* 64 : 667-674.

51. Rhoads, A.S.. 1942. The successful transmission of psoriasis of citrus trees in Floride by bark grafting. *Phytopathology* 32 : 410-413.

52. Rickwood, D., and B.D. Hames. 1983. Gel electrophoresis of nucleic acids. IRLPRESS. Oxford. Washington DC : pp.1-38.

53. Robert, P.K., R.H. Lawson, R.L. Monroe. and H.Suzanne. 1972. Sweet potato little-leaf (witches' broom) associated with a mycoplasma-like organism. *Phytopathology* 62 : 903-909.

54. Schaper, V., and E. Seemuller. 1982. Condition of the phloem and the persistence of mycoplasma-like organisms associated with apple proliferation and pear decline. *Phytopathology* 72 : 736-742.

55. Seemüller, E.. 1976. Investigation to demonstrate mycoplasma-like organism in diseased plants by fluorescence microscopy. *Acta Horticulturae Deutchland* 67 : 109-111.

56. Shapiro, A.L., Vinuela, E., and Maizel, J. V., 1967. Biochen. Biophys. Res. Comm. 28 : p.815.

57. Shikata, E., and K. Maramorosch. 1969. Mycoplasma-like bodies in sieve pores of yellows diseased plants and in fatty body cells of two insect vectors. *Phytopathology* 59 : 1559.

58. Shiomi, T., and M. Sugiura. 1984. Difference among *macrosteles orientalis* transmitted MLO, potato purple-top wilt MLO in Japan and aster yellow MLO from USA. *Ann. Phytopath. Soc. Japan* 50 : 455-460.

59. 監見敏樹·西村十郎·杉浦巳代治. 1983. 兵庫に發生した タマネギ萎黃病の寄生範圍および傳搬様. 日植病報 49 : 425.

60. 監見敏樹·大久保一磨·杉浦巳代治·奈須壯非. 1981. 福井におけるミシマサイコ萎黃病(假稱)の發生とその媒介昆虫. 日植病報 47 : 24.

61. 監見敏樹·杉浦巳代治. 1984. ミツバてんぐ巢

病, ミシマサイコ萎黃病, タマネギ萎黃病, ジャカイモ紫染 萎黃病および aster yellows の各 媒介昆蟲による相互媒介試驗. 日植病報 50 : 88.

62. 監見敏樹・杉浦巳代治. 1984. ヒメフタテンヨコバイガ 媒介するマイコプラズマ 樣微生物の 寄主範圍による類別. 日植病報 50 : 149-157.
63. 監見敏樹・杉浦巳代治・竹谷宏二・八本敏江. 1982. 石川懸における セリ萎黃病(假稱)と シユンギクてんぐ巢病の發生と その媒介昆蟲. 日植病報 18 : 10.
64. 監澤宏康・山下修一・土居養二・與良淸・明日山秀文. 1979. キリ てんぐ巢病 MLO のクサギカメムシによる ニチニチソウへの傳搬と保毒蟲體內 MLOの所見. 日植病報 45 : 556.
65. 監澤宏康・山下修一・土居養二・與良淸・明日秀文. 1979. キリにつく2種のカメムシ, クサギカメムシならびにチャバネアオガメムシによるキリてんぐ巢病の傳搬の試み. 日植病報 45 : 130-131.
66. 新海昭. 1973. レタス萎黃病. 日植病報 39 : 172.
67. 蘇仁永. 1973. Mycoplasma性 고구마 萎縮病에 關한 硏究(I) 韓國微生物學會誌 11 : 19-30.
68. 蘇仁永・金榮浩・金炯茂・李貴章・蔡正基. 1987. Mycoplasma에 罹病된 고구마와 붉나무葉의 電氣泳動에 依한 蛋白質 比較. 全北農大 論文集 18 : 14-17.
69. Story, G.E., and R.S.Halliwell. 1969. Association of a mycoplasma-like organism with the bunchy top disease of papaya (*Carica Papaya*) in the Dominican Republic. Phytopathology 59 : 118.
70. 杉浦巳代治・監見敏樹・鈴井孝仁. 1983. 靜岡懸における イチゴてんぐ巢病の發生と その媒介蟲ならびに寄主範圍. 日植病報 49 : 425.
71. 杉浦巳代治・海田春美・奈須壯兆・脇本哲・飯田俊武. 1968. イネ萎黃病 保毒蟲における病原の所在. 日植病報 35 : 130.
72. 須藤芳三・石家達爾. 1969. クワ萎黃病 の蟲媒傳染に及ぼすテトラサイクリン系 抗生物質の影響. 日植病報 45 : 132.
73. 田浜康夫. 1974. クワ萎縮病 關する硏究(31) 越冬クワに おける マイコプラズマ樣微生物の電子顯微鏡觀察. 日植病報. 40 : 231.
74. 田中欽二・佐古宣道・野中福次. 1983. タマネギ萎黃病の テトラサイクリンによる 治療效果. 日植病報. 49 : 87.
75. 田中欽二・佐古宣道・宮原和夫・野中福次. 1983. タマネギ 萎縮病の發生狀況. 日植病報 49 : 87.
76. Thomas, D.L.. 1979. Mycoplasma-like bodies associated with lethal declines of palms in Florida. *Phytopathology* 69 : 928-934.
77. Weber, K., and Osborn, M.J.. 1968. Biol. Chem. 244 : p.4406.
78. Worley, J.F.. 1970. Possible replicative forms of a mycoplasma-like organism and their location in aster yellow, diseased nicotiana and aster. *Phytopathology* 60 : 284-292.
79. Yamada, Y., K. Nagashima, K. Inoue, and S. Kojima. 1978. Mycoplasma-like organisms found in the phloem of petiole from young leaf naturally infected with mulberry dwarf. *Ann. Phytopath. Soc. Japan* 44 : 35-46.
80. Yi, C.K., and Y.J.La. 1973. Mycoplasma -like bodies found in the phloems elements of jujube infected with witches' broom disease. *Forest Research Insitude of Korea* 20 : 111-114.