식물병연구 Res. Plant Dis. 21(1) : 40-43(2015)
Note Open Access http://dx.doi.org/10.5423/RPD.2015.21.1.040

콩 잎 엽모에 의한 불마름병균 부착 저해

Hairs as Physical Barrier against Adhesion of *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines* on Soybean Leaf

김승한* · 박석희 · 우진하 · 최성용

경상북도농업기술원 농업환경연구과

***Corresponding author**
Tel : +82-53-320-0234
Fax: +82-53-602-5783
E-mail: kshan0234@korea.kr

Seung-Han Kim*, Seuk-Hee Park, Jin-Ha Woo and Sung-Young Choi

Department of Agricultural Environment Research, Gyeongbuk Agricultural Research and Extension Services, Daegu 702-708, Korea

Bacterial pustule of soybean is caused by *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines,* one of the most important diseases in soybean. The symptom of bacterial pustule is mainly distributed around leaf veins. However, the reason has not been known. In order to determine pathosystem of bacterial pustule in leaf, soybean leaves were collected and observed using scanning electron microscopy (SEM) and light microscopy. Many hairs were observed at abaxial sides of the leaf, few hairs were observed at tissue around the leaf veins. In addition, unidentified bacterial cells and dusts at the no hair part near veins were observed. In the inoculation assays, the cells of *X. axonopodis* pv. *glycines* were observed near leaf veins. The imprint of underside of soybean leaves inoculated with *X.axonopodis* pv. *glycines* on PDA showed that the growth of bacteria around veins was observed but no bacterial growth at the part with leaf hairs. Our data demonstrated that soybean leaf hairs play an important role as a physical barrier for structural resistance of soybean against bacterial pustule pathogen.

Keywords : Leaf hairs, Physical barrier, *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines*

Received September 2, 2014
Revised February 1, 2015
Accepted February 23, 2015

콩은 세계적으로 중요한 식량작물이며 국내에서는 메주의 원료로 사용되어 우리나라 식생활에 반드시 필요한 작물이다. 콩에 병을 일으키는 병원체는 바이러스, 진균, 세균 등으로 이 중 세균에 의한 병은 불마름병, 세균점무늬병, 세균갈색점무늬병(KSPP, 2009), 들불병(Myung 등, 2009)의 4종이 보고되어 있다. 불마름병은 *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines*에 의해 발생하는데 전형적인 병징은 주변이 옅은 황색인 적갈색의 원형병반으로 잎 전면에 병반이 나타나며 주로 엽맥을 중심으로 병반이 분포한다(Fig. 1). 병징 또는 병원균의 분포에 관한 연구로 오이 잎에서 *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*의 상대습도에 따른 분포가 잎 기부와 엽맥주위로 분포한다고 보고하였으며(Leben, 1988), Krimm 등(2005)은 형광현미경을 이용하여 딸기의 trichome에 세균이 부착된 것을 관찰하여 보고한 바 있다. 또한 세균의 침입은 기공의 개폐여부를 비롯하여(Ramos와 Volin, 1987), 여러 화학적 요인 또한 관여하는 것으로 알려져 있다(Underwood 등, 2007). 그러므로 발병이 엽맥주변에서 주로 된다면 엽맥주변의 trichome이나 기공 등의 분포 등 형태적 특성이 병발현과 관련이 있을 것이라 추측할 수 있다. 이 시험은 병반이 엽맥주변에 분포하는 현상에 대한 원인을 밝히고자 주사전자현미경(SEM)을 이용한 형태적 관찰을 실시하였고 그 결과를 보고한다.

전자현미경 관찰. 경상북도 농업기술원 시험포장에 재배중인 태광 품종의 잎을 채취하여 주사전자현미경(VP1250,

Research in Plant Disease
©The Korean Society of Plant Pathology
pISSN 1598-2262, eISSN 2233-9191

This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/2.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Zeiss) 관찰에 사용하였다. 채취한 잎은 1×10^7 cfu/ml의 농도로 *X. axonopodis* pv. *glycines*를 희석한 현탁액을 분무기로 살포하여 상온에서 건조한 다음 가운데 엽맥을 포함하여 5 mm 정도 크기의 사각형으로 절단하고 뒷 면이 위로 오도록 시료대에 고정시킨 다음 상온에서 3일간 건조한 후 골드코팅을 하여 관찰에 사용하였다. 잎의 SEM 관찰시 엽맥과 약 40 μm 정도 떨어진 부분부터 작은 엽모가 촘촘히 배열되어 있는 것이 관찰되었으나 엽맥 주변은 이러한 엽모가 관찰되지 않았다. 또한 엽모가 있는 표면은 먼지나 미생물등 이물질이 부착되어 있는 것이 거의 관찰되지 않은 반면 엽맥 주변의 엽모가 없는 표면은 미생물을 포함한 이물질이 많이 부착되어 있는 것이 관찰되었다(Fig. 2A). Trichom을 실체현미경 관찰시 잎 전체에 분포하고 있었으나 주로 엽맥을 따라 형성되어 있었다(Fig. 2B2). Trichome은 일반적으로 세균이 부착하거나 서식하는 장소를 제공하여 발병을 일으키는 원인이 되는 것으로 알려져 있으므로(Gets 등, 1983; Schneider와 Grogan, 1977), 콩 잎에서 trichome의 분포를 고려할 때 trichome 부위 세균 부착이 엽맥을 따라 발병이 되는 원인 중의 하나일 가능성은 있다. 그러나 SEM 관찰시 trichome에 세균이 부착된 모습은 관찰할 수 없어 직접적인 상관관계는 찾지 못하였다(Fig. 2B1). SEM에서 관찰된 엽모의 크기는 1 μm 이하로 일반적인 세균의 크기보다 작았으며 동일한 시료에서 관찰된 세균으로 추정되는 부착체보다 작은 것을 확인할 수 있었다(Fig. 2C, D). 콩잎의 표면 세포를 광학현미경으로

Fig. 1. Typical symptom of bacterial pustule in soybean leaf. The symptoms were developed along the veins.

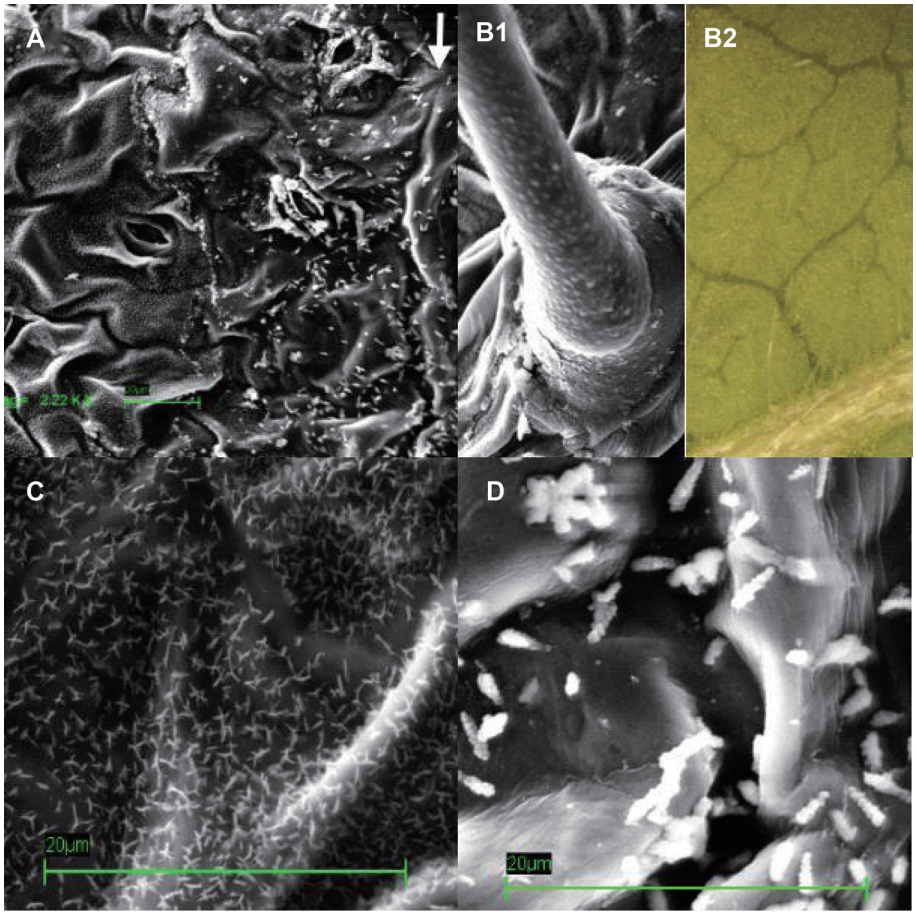

Fig. 2. Photograph of electron microscope of soybean leaf inoculated with *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines*. **A**: Bacteria and small hairs were observed only near vein, An arrow indicates vein, **B1**: Trichome, bacteria were not observed on the surface, **B2**: trichomes were observed over leaf, but mainly distributed on vein, **C**: small hairs were abundantly observed on the surface, **D**: bacteria-like-organism were attached near the vein.

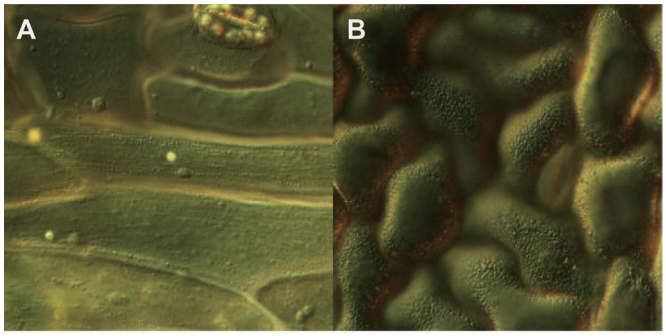

Fig. 3. Photograph of light microscope of leaf cell. Specimens were observed at 1,000× magnification. Hairs were not observed around near vein(**A**), but abundant hairs were observed at other part (**B**).

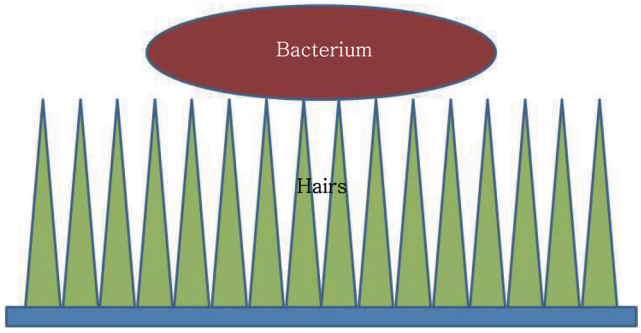

Fig. 4. Diagram about adhesion of bacteria to leaf surface. Bacteria could not adhere leaf surface because leaf hairs would inhibit the adhesion of bacteria by reducing contact area between bacterium and leaf.

관찰하기 위해 미세핀셋으로 엽맥부위가 포함되게 껍질을 벗겨 관찰에 이용하였다. 광학현미경 관찰시 400배 배율에서는 특별한 구조적 차이는 관찰되지 않았으며 1,000배의 배율로 관찰하였을 때 엽맥주위 세포에서는 특별한 구조가 관찰되지 않았으나(Fig. 3A) 엽맥과 떨어진 부위의 세포에서는 엽모로 보이는 소형입자들이 다수 관찰되었다(Fig. 3B). 이는 SEM 관찰과 동일하게 엽맥 부근에서는 관찰되지 않았으므로 엽모로 판단할 수 있었다. 따라서 엽모는 광학현미경 1,000배의 배율이나 전자현미경을 이용할 때 관찰이 가능한 미세조직으로 trichome과는 구별되는 구조임을 확인할 수가 있었다. 엽모가 없는 부분으로 발병이 되는 원인은 세균이 표면에 도달할 경우 엽모가 일반적인 세균의 크기보다 작아서 식물체 잎 표면에 부착하지 못하고 엽모에 부착하게 되는데 엽모의 크기가 세균보다 작으므로 세균과 식물체와의 접촉면이 줄어들게 되어 세균이 견고하게 부착하지 못하고 쉽게 떨어져 나가는 것으로 추측된다(Fig. 4).

잎 표면 미생물의 배양. 세균이 엽맥주위로 부착이 된다면 엽맥 주위에서 세균이 검출될 것이므로 이를 알아보기 위해 표면 미생물의 배양을 실시하였다. 온실에서 지름 12 cm의 포트

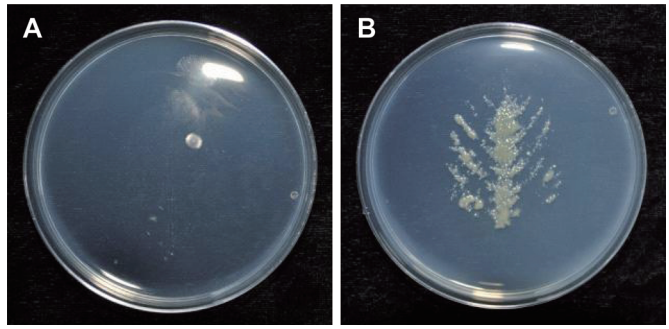

Fig. 5. Imprint of soybean leaves inoculated with *X. axonopodis* pv. *glycines* on PDA. **A**: Leaf sprayed with sterile water, **B**: Soybean leaf inoculated with *X. axonopodis* pv. *glycines*. Bacteria were mainly grown near vein.

에 콩을 파종하여 5마디까지 자랐을 때 PDA 배지에 3일간 배양한 *X. axonopodis* pv. *glycines*를 살균된 니들로 채취하여 살균수에 1×10^7 cfu/ml의 농도로 희석하였다. 희석액은 가정용 500 ml 분무기를 이용하여 준비한 콩 식물체에 살포하였으며 대조구로는 살균수를 분무하였다. 살포 1일 후 잎을 채취하여 potato dextrose agar(PDA) 배지에 잎 뒷면이 접촉되게 올린 다음 문질러줌으로써 표면의 미생물이 배지에 부착되도록 한 다음 25°C 배양기에서 2일간 배양하고 결과를 관찰하였다. 살균수를 분무한 처리의 경우 세균은 전혀 관찰되지 않았으나 불마름병균을 살포한 처리의 경우 표면배양을 한 콩 잎의 엽맥 위치에서 세균이 자랐으며(Fig. 5), 이를 채취하여 Lee 등(2013)의 방법에 따라 PCR을 실시하였을 때 불마름병균임을 확인할 수 있었다(Data not shown). 이러한 결과는 SEM에서 관찰한 엽모가 없는 위치에 세균이 부착되어 있는 결과와 동일하다 할 수 있다. 또한, 엽맥에 다수 존재하는 trichome이 엽맥을 따라 병징이 생기는 원인중의 하나일 가능성도 있으나 이 경우 trichome이 엽맥에 많이 분포하지만 잎 전체에 산재해 있기 때문에 세균 배양시 잎 전면에 세균이 배양이 되어야 할 것이다. 그러므로 불마름병의 병징이 엽맥 주변으로 형성되는 원인은 엽모가 물리적 장벽 역할을 하여 엽모가 존재하는 부위는 병원균의 부착이 저해됨으로 엽모가 없는 엽맥 주위로 병원균이 부착되어 발병이 되는 것으로 판단할 수 있다.

요 약

콩에 발생하는 불마름병은 주로 엽맥을 따라 병징이 형성되며, 이러한 병징의 형성에 대한 원인을 밝히고자 광학현미경 및 주사전자현미경으로 표면을 관찰하였다. 광학현미경 관찰에 의한 조직의 차이는 볼 수 없었으나 주사전자현미경으로 표면 관찰시, 잎 뒷면 미세한 엽모가 잎표면에 존재하였으며 엽맥 주위로는 엽모가 관찰되지 않았다. 세균은 엽맥 주위 엽모가 없는 부분에 주로 부착되어 있었고, 엽모가 있는 부분에서 세균은 관

찰되지 않았다. 또한 잎에 불마름병균을 접종 후 표면 미생물을 배양시 엽맥주위에서 주로 세균이 검출되어 엽모의 존재가 불마름병균의 부착을 방해하여 엽맥주변으로 병징이 발현된 것으로 판단된다.

Acknowledgement

This work was carried out with the support of "Cooperative Research Program for Agriculture Science & Technology Development (Project No. PJ00934304)" Rural Development Administration, Korea.

References

Gets, S., Fulbright, D. W. and Stephens, C. T. 1983. Scanning electron microscopy of infection sites and lesion development on tomato fruit infected with *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*. *Phytopathology* 73: 39–43.

Krimm, U., Abanda-Nkpwatt, D., Schwab, W. and Schreiber, L. 2005. Epiphytic microorganisms on strawberry plants (*Fragaria ananassa* cv. *Elsanta*): identification of bacterial isolates and analysis of their interaction with leaf surfaces. *FEMS Microbiol. Ecol*. 53: 483–492.

Leben, C. 1988. Relative humidity and the survival of epiphytic bacteria with buds and leaves of cucumber plants. *Phytopathology* 78: 179–185.

Lee, Y. H., Kim, N. G., Yoon, Y. N., Lim, S. T., Kim, H. T., Yun, H. T., Baek, I. Y. and Lee, Y. K. 2013. Multiplex PCR assay for the simultaneous detection of major pathogenic bacteria in soybean. *Korean J. Crop Sci*. 58: 142–148. (In Korean)

Myung, I. S., Kim, J. W., An, S. H., Lee, J. H., Kim, S. K., Lee, Y. K. and Kim, W. G. 2009. Wildfire of soybean caused by *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci*, a new disease in Korea. *Plant Dis*. 93: 1214.

Ramos, L. J. and Volin, R. B. 1987. Role of stomatal opening and frequency on infection of *Lycopersicon* spp. by *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. *Phytopathology* 77: 1311–1317.

Schneider, E. W. and Grogan, R. G. 1977. Tomato leaf trichomes, a habitat for resident populations of *Pseudomonas tomato*. *Phytopathology* 67: 898–902.

The Korean Society of Plant Pathology, 2009. List of plant diseases in Korea, 5th ed. Suwon, Korea. 853 pp.

Underwood, W., Melotto, M. and He, S. Y. 2007. Role of plant stomata in bacterial invasion. *Cell. Microbiol*. 9: 1621–1629.