

Clavibacter michiganensis subsp. *michiganensis*에 의한 고추 궤양병

이승돈* · 윤창만 · 이영기 · 최용철 · 조용섭¹
농업과학기술원 식물병리과, ¹서울대학교 응용생물화학부

Occurrence and Distribution of Bacterial Canker of Red Pepper Caused by *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*

Seung-Don Lee*, Chang-Mann Yoon, Young-Kee Lee, Yong-Chul Choi and Yong-Sup Cho¹
Plant Pathology Division, National Institute of Agricultural Science and Technology, Suwon 441-707, Korea
¹School of Applied Biology and Chemistry, Seoul National University, Suwon 441-744, Korea

Bacterial leaf spot by *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* has been known to cause serious problem in red pepper in Korea. However, recent survey showed that most symptoms in the leaves were mixed with two different symptoms, one was leaf spot and the other was canker. Bacteria isolated from canker were identified as *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* on the basis of biochemical and physiological characteristics. The causal bacteria were non-motile, rod-shaped and Gram-positive. The lesions on pepper leaves appeared at first as small blisters or pimple-like white spots, which enlarged in size at a later stage. The centers of some of the spots became necrotic and brown, and were surrounded by a white halo. Pathogenicity tests were performed on pepper cv. Alchan seedling by spraying of bacterial suspension. During 1997 and 1998, total 17% of 527 fields surveyed were infected by *C. michiganensis* subsp. *michiganensis*. The canker of red pepper caused by *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* was first identified in this study in Korea, and new name "gueyangbyung" was tentatively given to the disease.

Keywords : bacterial canker, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, red pepper

서 론

고추 잎에 반점을 일으키는 세균성점무늬병(bacterial leaf spot)과 *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*에 의한 궤양병(bacterial canker)이 세계적으로 보고되어 있으나 (Hassan 등, 1968; Higgins, 1922), 우리나라에는 *X. campestris* pv. *vesicatoria*에 의한 고추 더듬이병만이 보고되어 있다(한국 식물보호학회, 1986). *C. michiganensis* subsp. *michiganensis*에 의해 발생하는 토마토 궤양병은 1909년 미국 Michigan에서 Smith에 의해서 처음으로 보고되었다(Bryan, 1930). 이후 1968

년 미국에서 *C. michiganensis* subsp. *michiganensis*가 고추에 병을 일으킬 수 있다는 가능성을 제시하였고, 1970년 이스라엘에서 *C. michiganensis* subsp. *michiganensis*가 자연상태에서 sweet pepper(*Capsicum annuum*)의 잎과 열매에 반점을 일으킨다고 최초로 보고하였다(Hassan 등, 1968; Volcani 등, 1970). 1976년 미국 California에서 *C. michiganensis* subsp. *michiganensis*가 bell pepper(*Capsicum frutescens*)에 궤양병을 일으킨다는 보고가 있었고, 1995년 미국 Indiana에서 bell pepper (*Capsicum sativum*)에 궤양병이 발생하였다는 보고가 있었다(Lai, 1976; Latin 등, 1995).

토마토 궤양병은 발생초기에 아래 잎이 밑으로 처지며 어린잎의 가장자리에 괴사가 일어나고 점점 진전되면서 잎이 뒤 틀리고 시들다가 죽는다. 줄기에는 갈색의 줄무늬가 형성되고 궤양증상이 나타난다. 잎에 흰색의 수포 모양의 반점이 형성되기도 하는데 반점 주위에는 괴사된 조직으로 인하여 짙은

* Corresponding author
Phone) +82-331-290-0425 Fax) +82-331-290-0453
e-mail) sdlee@niast.go.kr

갈색의 돌출된 테두리를 형성한다. 열매에는 갈색 반점 주위에 흰색 테두리(halo)가 형성되어 새눈무늬반점(bird's-eye spot)을 형성한다(Jones 등, 1991).

본 연구의 목적은 고추 껍질병과 고추 세균성점무늬병의 정확한 병징을 구분하고 우리나라의 피해 정도를 조사하는 것이다.

재료 및 방법

발생조사. 1997년 3월부터 1998년 9월까지 전국 59 개 시·군의 고추 재배 포장을 대상으로 발생상황을 조사하였으며, 발병된 식물체로부터 병원균을 분리·동정하였다. 발병율은 조사포장에서 임의로 20주를 선정하여 발병주율로 조사하였으며, 동일포장에서 5회 반복 실시하였다.

병원균 분리 및 병원성 검정. 병원균 분리는 병에 걸린 기주의 잎, 줄기, 과병, 열매 등의 병환부와 건전부의 경계에서 작은 조각을 잘라 1% 차아염소산나트륨(NaOCl)으로 표면 살균한 후 살균수로 2회 씻고 표면 살균된 조각을 1 ml의 살균수가 들어 있는 Eppendorf tube에 넣고 1시간 정도 상온에서 방치하였다. 이후 현탁액을 yeast extract dextrose calcium-carbonate(YDC, Dye, 1962) 배지와 Nutrient-broth yeast extract(NBY, Vidaver, 1967) 배지에 streaking하고 28°C에서 3-4일 배양하여 단 콜로니를 순수 분리하였다. 순수 분리된 균은 15% 글리세롤액에 현탁하여 -70°C 저온냉동고에 장기보존하고, 계속 사용하는 균은 살균수에 현탁하여 상온에 보존하면서 실험에 사용하였다.

병원성 검정은 세 가지 방법으로 수행하였다. 첫째, NBY 배지에서 배양한 세균을 살균수에 현탁하여 농도를 1×10^8 cfu/ml로 맞춘 다음 잎이 완전히 전개된 담배(*Nicotiana tabacum* cv. Samsun) 잎에 3 반복으로 주입하여 48 시간 이내에 과민성반응 여부를 조사하였다. 둘째, 토마토(*Lycopersicon esculentum* cv. Seokwang) 잎에 세균 현탁액을 주사 접종하여 5-7일 후에 병징이 발현되는 것을 조사하였다. 셋째, 고추(*Capsicum annuum* cv. Alchan) 떡잎(cotyledon)에 분무 접종하여 검정하였다(Chaldecott와 Preece, 1983). 유묘 1주당 세균 현탁액을 1.5ml 씩 분무 접종한 후 습실상(온도, 25°C; 상대습도, 100%)에서 48시간 배양 후 온실로 옮겼다. 온실 조건은 자연광 아래에서 24-30°C로 유지하였다. 대조군으로 *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* SL-1974를 충북대에서 분양 받아 이용하였다.

병원균의 생리·생화학 및 형태적 특성. 그람 염색은 Difco사에서 판매하는 시약을 이용하여 수행하였으며, 3% KOH 용

액을 이용하여 그람 양성결과 음성을 재확인하였다. 세포 형태와 편모의 존재유무는 NBY 배지에서 36시간 배양한 후 0.5% uranylacetate로 염색하여 투과전자현미경(Hitachi H800)을 이용하여 관찰하였다. *Clavibacter* 속의 종 수준의 동정을 위하여 CNS 배지(Carlsom과 Vidaver, 1982)와 TZC 배지(Kelman, 1954)에 접종한 후 28°C에서 배양하여 생육여부를 측정하였다. Ribose, sorbitol, inulin을 이용한 산 생성여부는 RSD 배지(Davis 등, 1984)에 glucose를 빼고 검정할 시약을 0.5% 씩 첨가하여 조사하였으며, acetate와 formate 이용여부는 RSD 배지에 bovine serum albumine fraction V를 빼고 검정할 시약을 0.1% 씩 첨가하여 조사하였다. 한편 esculin과 casein 액화능력은 SC 배지(Davis 등, 1980)에 ferric citrate 0.05%를 첨가하고 casein은 1%, esculin은 0.1% 첨가하여 조사하였다.

결과 및 고찰

고추는 전체 채소 면적의 20%를 차지하는 주요작물로서 고추 더듬이병은 고추 생산에 가장 큰 영향을 미치는 세균병으로 알려져 있다(김, 1988). 지금까지 고추 잎에 반점을 일으키는 세균병은 *X. campestris* pv. *vesicatoria*에 의한 더듬이병으로 인식되어져 왔으나 본 연구 결과 대부분의 포장에 더듬이증상과 반점증상이 복합되었음을 알 수 있었으며 반점증상의 경우 *X. campestris* pv. *vesicatoria*가, 더듬이증상의 경우 *C. michiganensis* subsp. *michiganensis*가 검출되었다.

X. campestris pv. *vesicatoria*는 *Xanthomonas* 판별배지인 YDC배지에서 배양 2-3일 후에 밝은 노란색의 콜로니가 형성되었으나, 더듬이 병징에서 분리한 *C. michiganensis* subsp. *michiganensis*는 대부분 배양한지 3-4일 만에 콜로니를 볼 수 있었으며 색깔도 노란색보다는 주황색 쪽에 가까웠다. NBY 배지에서 키웠을 때도 *X. campestris* pv. *vesicatoria*가 더듬이 병징에서 분리한 *C. michiganensis* subsp. *michiganensis*보다 1-2일 빠르게 성장하였다.

더듬이증상에서 분리한 *C. michiganensis* subsp. *michiganensis*를 완전히 전개된 담배 잎에 주사 접종하였을 때 접종부위가 24-48시간 이내에 짙은 갈색으로 괴사되었고, 토마토 잎에 주사 접종하였을 때는 5-7일 후 접종부위가 흰색으로 괴사되었다(Fig. 1G). 그리고, 고추 떡잎에 분무 접종하였을 때는 접종 4-5일 만에 반점이 생기고 점점 진전되어 떡잎에 균열이 생겼다(Fig. 1F).

C. michiganensis subsp. *michiganensis*의 속동정은 Schaad 지침서와 Bergey's manual을 참고로 하여 수행되었다(Table 1). *X. campestris* pv. *vesicatoria*는 그람 음성인 반면 더듬이증상에서 분리한 *C. michiganensis* subsp. *michiganensis*는 그

Table 1. Characteristics of present bacterial isolates obtained from infected red pepper compared with those of *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* and *Xanthomonas*.

Characteristics	Present isolates	<i>C. michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i>		<i>Xanthomonas</i>	
		Holt ^a	Schaad ^b	Holt ^a	Schaad ^b
Gram stain	+	+	+	-	-
Cell shape	irregular rod	irregular rod	irregular rod	rod	rod
Pigment	orange or yellow	yellow or various	yellow or various	yellow	yellow
Flagella	-	-	-	polar	polar
Growth on CNS	+		+		
TZC	+		+		
Acid production from Ribose	-		-		
Sorbitol	-	-	-		
Inulin	-	-	-		
Utilization of Acetate	-	+	-		
Formate	-	-	-		
Hydrolysis of Casein	-	-	-		
Esculin	+	+	+		

^aHolt et al. (1994) in Bergey's manual of determinative bacteriology, 9th ed.

^bSchaad, N. W. (1988) in Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria, 2nd ed.

Table 2. Occurrence of bacterial canker and bacterial leaf spot in red pepper during 1997 and 1998 in Korea

Location ^a	No. of surveyed fields	Bacterial canker			Bacterial leaf spot		
		No. of diseased fields	Disease incidence (%) ^b		No. of diseased fields	Disease incidence (%) ^b	
			Mean	Range		Mean	Range
Kyunggi	53	11	7±11.3	1-40	24	43±37.1	10-100
Kangwon	82	20	22±30.3	1-100	12	10±6.0	1-19
Chungbuk	45	3	2±1.5	1-5	14	56±29.8	21-100
Chungnam	65	28	50±39.3	1-100	6	25±12.0	12-45
Chunbuk	29	9	4±6.1	1-20	10	54±28.0	22-98
Chunnam	39	6	5±6.9	1-20	9	17±10.7	1-30
Kyungbuk	164	6	2±1.5	1-5	53	54±35.6	1-100
Kyungnam	44	9	38±38.2	1-100	18	43±35.1	1-95
Cheju	6	0	0±0.0	0	2	8±3.5	5-10
Total	527	92	25±34.1	0-100	148	43±34.2	1-100

^aKangwon (Chulwon, Chuncheon, Hoingsong, Hongcheon, Hwacheon, Jeongseon, Pyungchang, Taeback), Kyunggi (Anseong, Hwaseong, Kanghwa, Kapyung, Paju, Pocheon, Pyungtaek, Suwon, Yangpyung, Yeoncheon), Chungbuk (Cheongwon, Jecheon, Koisan, Okcheon, Tanyang, Youngdong), Chungnam (Cheonan, Cheongyang, Kongju, Poryung, Seosan, Yeosan), Kyungbuk (Andong, Cheongsong, Euseong, Kyungju, Munkyoung, Pohang, Ponghwa, Yecheon, Youngcheon, Youngju, Youngyang), Kyungnam (Changryung, Hapcheon, Keochang, Kimhae, Koseong, Ulsan, Yangsan), Chunbuk (Cheongup, Imsil, Jangsu, Muju, Namwon), Chunnam (Haenam, Hampyung, Jangseong, Poseong, Suncheon), Cheju (Bukcheju).

^bDisease incidence (%) = diseased plants/total plants examined × 100.

램 양성이고 크기는 0.7-0.8×1.0-1.3 μm이며, 형태는 불규칙한 간상이고 편모가 없었다(Fig. 1H). 종 수준으로 동정조사에서는 CNS 배지와 TZC 배지에서 자랐으며 ribose, sorbitol, inulin을 이용하여 산을 생성하지 않았고, acetate, formate를 이용하지 않았으며, esculin을 액화시켰으나, casein은 액화시키지 않았다(Table 1).

X. campestris pv. *vesicatoria*에 의한 고추의 세균성점무늬 병은 병 발생 초기에 잎에 회갈색의 작은 점무늬를 나타냈다. 진전되면 중심부는 흰색으로 변하고, 병반의 가장자리는 암갈색을 띠며 그 주위로 황색의 테두리(halo)가 형성되었다. 잎 뒷면에도 앞면과 마찬가지로 갈색 반점 가운데 흰색 괴사가 일어나고 그 주위로 황색 테두리가 형성되었다. 심한 경우에

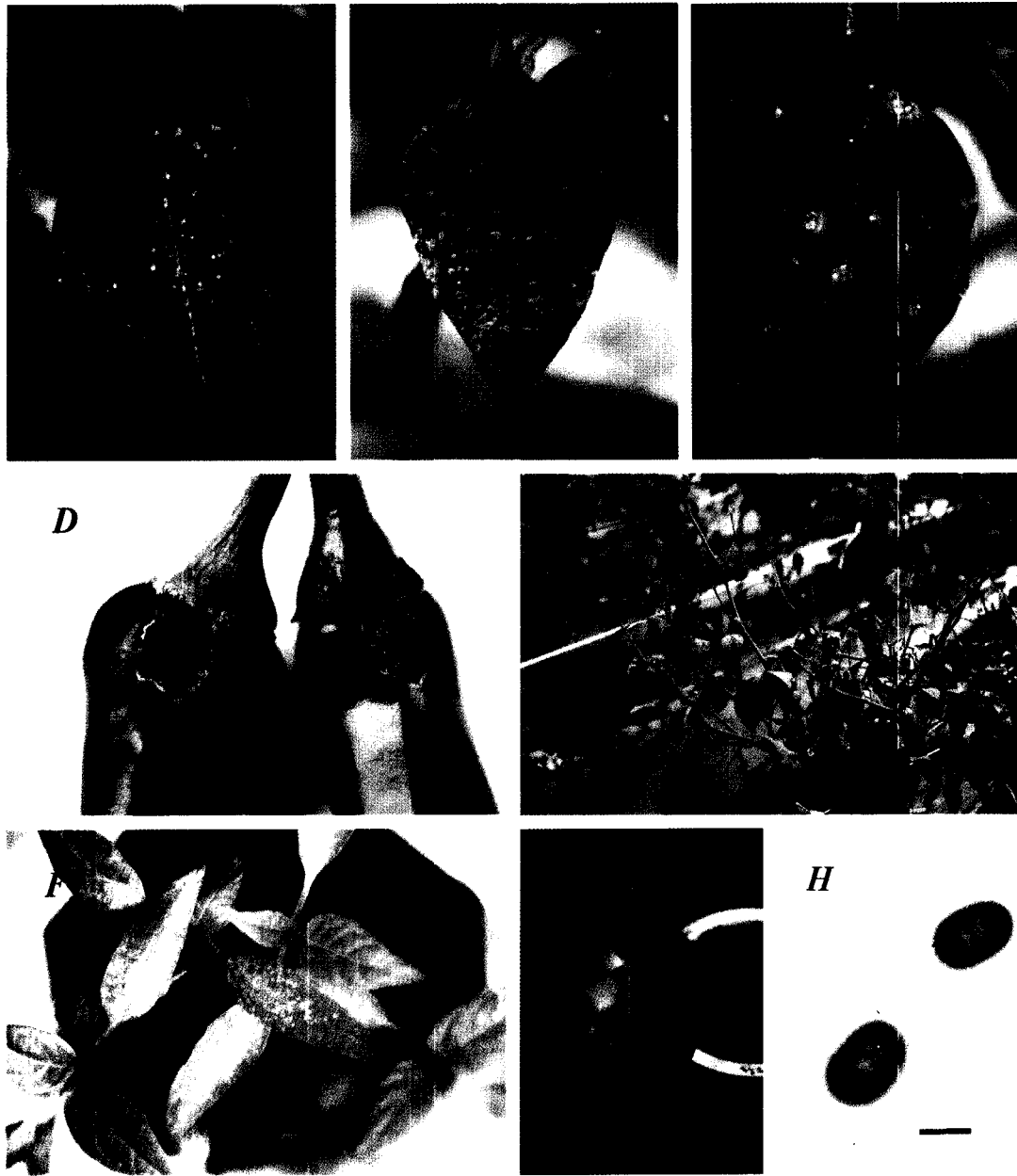


Fig. 1. Symptoms of bacterial canker (A, B and D) and bacterial leaf spot (C) and electron microscopy of its causal agent, *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* (H). A: upper surface of diseased leaf, B: lower surface of diseased leaf, D: the diseased fruit, E: severely diseased pepper plant. C: upper leaf surface of pepper diseased with bacterial leaf spot caused by *X.campestris* pv. *vesicatoria*. Symptoms on seedling by artificial inoculation (F) and the hypersensitive response on tobacco leaf (G). Bar represents 1 μ m.

는 잎 전체가 갈색으로 변해 떨어졌다. 잎자루와 열매자루에는 갈색의 둥근 반점이 형성되고, 진전되면 암갈색 부정형으로 약간 확대되었다(Fig. 1C). 반면, *C. michiganensis* subsp. *michiganensis*에 의한 썩음병은 처음에는 잎에 수포 (pimple)와 같은 작은 흰색 반점이 나타나고, 진전되면서 점점 커졌다

(Fig. 1A). 반점의 중심에는 괴사가 일어나고 갈색으로 변하며, 그 주위로 흰색 테두리가 형성되었다. 잎 뒷면에는 반점이 돌출되어 더뎠이 증상을 나타내었다(Fig. 1B). 줄기 및 잎자루에는 갈색 반점이 생기며 가지가 약간 쪼개지며 병반은 돌출되는 썩음증상을 보였다. 열매자루에는 갈색 반점이 생기

는데 *X. campestris* pv. *vesicatoria*에 의한 증상과는 거의 구별이 되지 않았다. 열매에는 초기에는 약간 돌출된 갈색 반점이 생기고 그 주위로 흰색 테두리가 형성되었으며 점차 진전되어 궤양증상이 나타났다(Fig. 1D).

식물병을 명명할 때는 일반적으로 병징을 기초로 명명한다. 본 연구의 경우 *C. michiganensis* subsp. *michiganensis*에 의한 병은 고추 잎 뒷면에 더뎡이 증상을 보이므로 더뎡이병이라고 명명하는 것이 타당하지만 더뎡이병은 기존에 *X. campestris* pv. *vesicatoria*에 의한 병으로 명명되어 있다. 또한 토마토에서도 *C. michiganensis* subsp. *michiganensis*에 의한 병을 궤양병이라고 명명하고 있으므로 본 병을 '고추 궤양병'이라고 명명하는 것이 바람직하다고 생각된다. 한편 지금까지 *X. campestris* pv. *vesicatoria*에 의한 병을 더뎡이병이라고 명명하였지만 더뎡이 증상이 없고 병징과 병명과 일치되지 않기 때문에 '세균성점무늬병'으로 개명하는 것이 옳다고 생각된다. 고추 궤양병이 전국적으로 만연되어 있음에도 지금까지 보고되지 않은 이유는 궤양병과 더뎡이병이 매우 유사하며, 두 가지 병원균이 복합감염 되었을 때 YDC 배지에서 병환부로부터 병원균 분리시 성장속도가 느린 *C. michiganensis* subsp. *michiganensis*를 분리하지 못하고 *X. campestris* pv. *vesicatoria*만 분리되어 더뎡이 증상을 일으키는 병징도 *X. campestris* pv. *vesicatoria*에 의한 것으로 잘못 진단한 것으로 사료된다.

1997년 3월부터 1998년 9월까지 전국 59개 시군에서 527개 고추 포장을 조사한 결과 세균성점무늬병은 148개 (28%) 포장에서 발견된 반면 궤양병은 92개 (17%) 포장에서 궤양병이 발견되었다(Table 2). 고추 궤양병은 1997년에는 전국적으로 분포되고 있었고, 대부분의 포장에서 0-1%의 낮은 발병율을 보였으나 경상남도 고성군 2개 포장에서는 80-100%의 높은 발병율을 보였다. 1998년 3월에 충청남도의 한 육묘장에서 재배되는 일부 품종에 100% 궤양병이 발생하였고, 강원도와 충청남도에도 대 발생하여 많은 피해를 주었다. 감염된 유묘의 앞에는 수많은 수포모양의 흰색 반점이 생기고 줄기에는 궤양 증상을 보였다. 감염된 유묘를 온실에 재배하였을 때 처음에는 병반이 있는 잎이 모두 떨어지고, 심하게 감염된 묘는 시들어 죽었으며, 대부분 생육이 매우 저조하였다. 따라서 저온 다습한 환경에서 잘자라는 병원균의 특성상 겨울철 비닐하우스 재배 또는 육묘시 초기에 감염되면 큰 피해가 예상된다.

요 약

최근까지 국내에서 고추에 반점증상을 일으키는 세균병으로는 *X. campestris* pv. *vesicatoria*에 의한 더뎡이병으로 알려져 왔다. 그러나 본 연구에 의하면 많은 포장에서 잎에 반점과 더

뎡이 증상이 혼재되어 있었으며, 더뎡이 증상에서 분리된 병원세균은 *C. michiganensis* subsp. *michiganensis*로 동정되었다. 이 병원세균은 짧은 막대모양의 그램양성이며 운동성이 없었다. 처음에 고추 잎에서 작은 수포 모양의 하얀 반점이 생기고 진전되면 반점이 커지며, 반점의 중심부에는 괴사가 일어나 갈색으로 변하고 주위에는 하얀색 테두리가 형성되었다. 병원성은 고추(품종: 알찬)의 유묘에 분무접종하여 검정하였다. 여러가지 특징을 종합하여 본 병을 *C. michiganensis* subsp. *michiganensis*에 의한 고추 궤양병으로 명명하였다. 1997년 3월부터 1998년 9월까지 전국 59개 시군에서 527개 고추 포장을 조사한 결과 92개 (17%) 포장에서 궤양병이 발견되었다.

참고문헌

- Bryan, M. K. 1930. Studies on bacterial canker of tomato. *J. Agric. Res.* 41:825-851.
- Carlson, R. R. and Vidaver, A. K. 1982. Taxonomy of *Corynebacterium* plant pathogens, including a new pathogen of wheat, based on polyacrylamide gel electrophoresis of cellular proteins. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 32:315-326.
- Chaldecott, M. A. and Preece, T. F. 1983. The use of a tomato cotyledon test to identify *Corynebacterium michiganensis* subsp. *michiganensis*. *Plant Pathol.* 32:441-448.
- Davis, M. J., Gillaspie, A. J. Jr., Harris, R. W. and Lawson, R. H. 1980. Ratoon stunting disease of sugarcane: Isolation of the causal bacterium. *Science* 210:1365-1367.
- Davis, M. J., Gillaspie, A. J. Jr., Vidaver, A. K. and Harris, R. W. 1984. *Clavibacter*: A new genus containing some phytopathogenic coryneform bacteria, including *Clavibacter xyli* subsp. *xyli* sp. nov., subsp. nov. and *Clavibacter xyli* subsp. *cynodontis* subsp. nov., pathogens that cause ratoon stunting disease of sugarcane and Bermudagrass stunting disease. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 34:107-117.
- Dye, D. W. 1962. The inadequacy of the usual determinative tests for the identification of *Xanthomonas* spp. *N. Z. J. Sci.* 5:393-416.
- Hassan, A. A., Strider, D. L. and Konsler, T. R. 1968. Application of cotyledonary symptoms in screening for resistance to tomato bacterial canker and in host range studies. *Phytopathology* 58:233-239.
- Higgins, B. B. 1922. The bacterial spot of pepper. *Phytopathology* 12:501-516.
- Holt, J. G., Krieg, N. R., Sneath, P. H. A., Staley, J. T. and Williams, S. T. 1994. Bergey's manual of determinative bacteriology, 9th ed. Williams & Wilkins, Maryland, USA. 787pp.
- Jones, J. B., Jones, J. P., Stall, R. E. and Zitter, T. A. 1991. Compendium of tomato diseases. The American Phytopathological Society, St. Paul, MN, USA. 73pp.
- Kelman, A. 1954. The relationship of pathogenicity in *Pseudomonas solanacearum* to colony appearance of a tetrazolium medium. *Phytopathology* 44:693-695.
- 김병수. 1988. 고추 더뎡이병 저항성 계통과 역병 저항성 계통의 특성. *한국원예학회지* 29:247-252.
- 한국식물보호학회. 1986. 한국 식물병·해충·잡초명감. 633pp.
- Lai, M. 1976. Bacterial canker of bell pepper caused by *Corynebacterium michiganensis*. *Plant Dis. Repr.* 60:339-342.
- Latin, R., Tikhonova, I. and Rane, K. 1995. First report of bacterial

- canker of pepper in Indiana. *Plant Dis.* 79:860.
- Schaad, N. W. 1988. Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria, 2nd ed. The American Phytopathological Society, St. Paul, MN, USA. 164pp.
- Vidaver, A. K. 1967. Synthetic and complex media for rapid detection of fluorescence of phytopathogenic pseudomonads: Effect of the carbon source. *Appl. Microbiol.* 15:1523-1524.
- Volcani, Z., Zutra, D. and Cohn, R. 1970. A new leaf and fruit spot disease of pepper caused by *Corynebacterium michiganensis*. *Plant Dis. Repr.* 54:804-806.