

# 국내에서 분리된 Streptomycin 저항성 *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* Biovar 3 균주에서 *rpsL* 유전자의 돌연변이

## Mutation of *rpsL* Gene in Streptomycin-Resistant *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* Biovar 3 Strains Isolated from Korea

**\*Corresponding author**

Tel: +82-61-750-3616

Fax: +82-61-750-3208

E-mail: jjung@scnu.ac.kr

이영선<sup>1</sup> · 김경희<sup>2</sup> · 고영진<sup>2</sup> · 정재성<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>순천대학교 생물학과, <sup>2</sup>순천대학교 식물외과

Young Sun Lee<sup>1</sup>, Gyoung Hee Kim<sup>2</sup>, Young Jin Koh<sup>2</sup>, and Jae Sung Jung<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Biology, Suncheon National University, Suncheon 57922, Korea

<sup>2</sup>Department of Plant Medicine, Suncheon National University, Suncheon 57922, Korea

Received February 28, 2022

Revised March 25, 2022

Accepted March 25, 2022

*Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* (Psa) is the causal agent responsible for the bacterial canker disease of kiwifruit plants. Psa strains are divided into five different biovars based on genetic and biochemical characteristics. Among them, biovar 2 and 3 strains of Psa were isolated and have been causing widespread damages in Korea. One of the most effective ways to control Psa is to use an antibiotic such as streptomycin. However, Psa strains resistant to this antibiotic were isolated in Korea, and an earlier study revealed that the resistance in the biovar 2 is associated with *strA-strB* genes. This study aimed to determine the molecular resistance mechanism of Psa biovar 3 strains to streptomycin. Sequencing the *rpsL* gene encoding ribosomal protein S12 from three streptomycin-resistant strains screened in the laboratory revealed that a spontaneous mutation occurred either at codon 43 or 88. Meanwhile, in four streptomycin-resistant strains of Psa biovar 3 isolated from two kiwifruit orchards, a single nucleotide in codon 43 of the *rpsL*, which is AAA in streptomycin-sensitive strain, was substituted for AGA causing an amino acid change from lysine to arginine. The resistant mechanism in all biovar 3 strains obtained in Korea was identified as a mutation of the *rpsL* gene.

**Keywords:** Bacterial canker, Kiwifruit, *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae*, Streptomycin resistance

### 서 론

*Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* (Psa)는 키위에 세균성 궤양병을 일으키는 원인 세균으로 2010년부터 전 세계에 걸친 키위 재배 농가에 막대한 손해를 끼치고 있다(Vanneste, 2017). Psa는 유전학적 및 생화학적 특성에 따라 biovar 1, 2, 3, 5, 6의

5개 그룹으로 나누어진다(Sawada와 Fujikawa, 2019; Sawada 등, 2016). 그 중 우리나라에서는 biovar 2와 3가 보고되고 있다(Lee 등, 2017). Biovar 2는 1994년에 국내에서 처음 보고된 이래(Koh 등, 1994) 녹색키위(*Actinidia deliciosa*)와 황색키위(*Actinidia chinensis*)의 궤양병 병징에서 분리되고 있다(Koh 등, 2010; Lee 등, 2017). 2011년 처음 발견된 biovar 3(Koh 등, 2012)도 국내에서 재배되는 모든 키위 품종에 궤양병을 일으켜 피해를 주고 있다(Kim 등, 2016; Lee 등, 2017).

키위 궤양병의 방제를 위해 화학적 또는 비화학적 다양한 방법이 시도되고 있다(Cameron과 Sarojini, 2014). 화학적

Research in Plant Disease

eISSN 2233-9191

[www.online-rpd.org](http://www.online-rpd.org)

© The Korean Society of Plant Pathology

© This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>), which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

방제 방법으로 copper hydroxide, copper sulfate 등의 동제와 streptomycin, oxytetracycline, kasugamycin, validamycin 등이 조합으로 조성된 항생제가 사용되고 있다(Koh 등, 2017; Tyson 등, 2017). 항생제 중에서 streptomycin은 효율성이 큰데 비해 독성은 낮기 때문에 1950년대 초부터 세균성 식물병의 방제에 사용되어 왔다(Sundin과 Wang, 2018). Streptomycin은 aminoglycoside계 항생제로 원핵세포의 S12 리보솜 단백질과 비가역적으로 결합하여 단백질합성을 억제함으로써 세균을 죽게 한다.

항생제의 지속적인 사용은 저항성 균주의 출현이라는 문제를 야기시킨다. Streptomycin 저항성 세균에서 저항성의 원인이 되는 분자적 기작은 두 가지에 기인한다. 첫째는 streptomycin의 표적이 되는 30S 리보솜 소단위의 구성성분인 S12 단백질을 암호화하는 유전자 *rpsL*, 또는 드물게 16S rRNA 유전자인 *rrs*에 돌연변이가 일어나는 것이다(Chiou와 Jones, 1995; Cuevas-Córdoba 등, 2013; Sundin과 Wang, 2018). 이들 유전자의 돌연변이로 인해 streptomycin이 표적에 결합하지 못하게 됨으로써 세균들이 저항성을 띄게 된다. *Erwinia amylovora*와 같은 식물병원성 세균에서 이러한 돌연변이체는 대단히 안정적이어서 수년간 streptomycin을 사용하지 않아도 선택압(selection pressure)이 작용하지 않는 곳에서도 분리되는 것으로 보고되었다(Loper 등, 1991). Streptomycin 저항성에 대한 두 번째 분자적 기작은 저항성 유전자의 획득이다. Streptomycin을 불활성화시키는 효소를 암호화하는 유전자인 *strA*와 *strB* 유전자가 연결된 구조로 plasmid나 transposon과 연계되어(Sundin과 Wang, 2018) 식물, 동물 및 사람에서 분리된 다양한 저항성 세균에서 발견되고 있다(Sundin과 Bender, 1996).

앞선 연구를 통해 국내에서 궤양병 병징으로부터 분리된 Psa 중에서 streptomycin에 대해 저항성을 보이는 균주가 나타났고(Lee 등, 2020), 그 중 biovar 2 균주의 저항성이 *strA-strB* 유전

자에 기인함을 알았으나(Lee 등, 2021b), 저항성인 biovar 3 균주에서는 이 유전자가 발견되지 않았다.

본 연구에서는 국내에서 분리된 Psa biovar 3 균주 중 streptomycin에 저항성을 띄는 균주의 저항성에 관련된 유전적 배경을 밝히고자 하였다.

## 재료 및 방법

**Streptomycin 저항성 균주 및 배양조건.** 실험에 사용된 균주는 Table 1과 같다. 세균성 궤양병에 감염된 국내의 키위 재배 포장에서 분리된 Psa biovar 3 균주 중에서 100 µg/ml의 streptomycin이 포함된 peptone-sucrose (PS; 20 g peptone, 20 g sucrose per liter) 배지에 접종한 뒤 28°C에서 24시간 배양하여 생장이 일어난 균주를 선발하였다(Lee 등, 2020). 선발된 균주는 같은 농도의 streptomycin이 들어 있는 PS agar 배지에 접종하여 저항성 여부를 최종적으로 확인하였다. KDS1661과 KDS1662는 2016년에 경남 사천의 한 과수원에서 분리된 Psa biovar 3 균주이고, KDN1731과 KDN1732는 2017년에 제주 서귀포에 위치한 동일한 키위 과수원에서 분리된 균주이다.

**자연발생적 streptomycin 저항성 돌연변이체의 획득.** Streptomycin에 저항성을 갖는 Psa biovar 3 돌연변이체는 streptomycin이 포함된 배지에서 자연발생적으로 생기는 저항성 균주를 선발하는 방법을 통해 얻었다(Lyu 등, 2019). Streptomycin에 민감성을 보이는 Psa biovar 3 균주 HYH1471을 지수기까지 배양한 뒤 10<sup>8</sup> cfu/ml로 희석하였다. 희석한 배양액 200 µl를 100 µg/ml의 streptomycin이 들어 있는 PS agar 배지에 도말하여 28°C에서 24–36시간 배양하였다. 생장이 일어난 콜로니 중에서 3개 균주(S1-HYH, S2-HYH, S3-HYH)를 선발하여 다음 실험에 사용하였다.

**Table 1.** Bacterial strains and relevant characteristics

Strain	Origin	Sm <sup>a</sup>	MIC (µg/ml)	<i>rpsL</i>			
				Codon 43		Codon 88	
HYH1471	Jeju	S	2.0	AAA	Lysine	AAA	Lysine
S1-HYH	This study	R	>2,048	AGA	Arginine	AAA	Lysine
S2-HYH	This study	R	>2,048	AAA	Lysine	AGA	Arginine
S3-HYH	This study	R	>2,048	AGA	Arginine	AAA	Lysine
KDS1661	Gyeongnam	R	>2,048	AGA	Arginine	AAA	Lysine
KDS1662	Gyeongnam	R	>2,048	AGA	Arginine	AAA	Lysine
KDN1731	Jeju	R	>2,048	AGA	Arginine	AAA	Lysine
KDN1732	Jeju	R	>2,048	AGA	Arginine	AAA	Lysine

<sup>a</sup>Sm, streptomycin; S, sensitive; R, resistant.

**최소저해농도의 측정.** Streptomycin에 대한 Psa biovar 3 균주의 최소저해농도(minimum inhibitory concentration, MIC) 측정은 Lyu 등(2019)의 방법을 변형하여 수행하였다. 3 ml의 PS 배지가 들어 있는 시험관에 streptomycin의 농도가 각각 0, 1, 2, 4, 8, 16, 32, 64, 128, 256, 512, 1,024, 2,048 µg/ml 되게 하였다. 여기에 PS 배지에서 지수기까지 전 배양한 Psa 균주 10 µl를 접종하여 28°C에서 24시간 진탕하며 배양한 뒤 600 nm에서 흡광도를 측정하여 0.1 이상인 경우 생장이 일어난 것으로 판정하였다.

**DNA 추출.** PS배지에서 배양한 Psa biovar 3 균주 1.5 ml를 12,000 ×g에서 5분간 원심분리하여 세균 세포를 수확하였다. 세포로부터의 DNA 추출은 Genomic DNA extraction kit (Bioneer, Daejeon, Korea)를 사용하여 수행하였다. 추출된 DNA 양은 Nanodrop One Spectrophotometer (Thermo Scientific, Madison, WI, USA)로 측정하였다.

**rpsL 유전자의 PCR 증폭과 염기서열의 결정.** Psa biovar 3 균주의 rpsL 유전자를 증폭하기 위한 PCR primers는 NCBI에 등록된 Psa 유전체 염기서열 중 rpsL 부분으로부터 설계하였다 (GenBank accession no. CP032871.1). 설계된 primer인 rpsL-F (5'-ATGGCAACTATCAACCAGCT-3')와 rpsL-R (5'-CTACTTAG-GCTTCTTGTTAC-3')은 Psa의 rpsL 유전자의 열린해독틀(open reading frame, ORF)인 372 bp를 증폭하게 된다. PCR 반응액은 5 µl의 10× 반응완충액, 5 µl의 10 mM dNTP, 각각 20 pmol의 primer, 2.0 U의 Top DNA polymerase (Bioneer), 20 ng의 주형 DNA를 포함하여 50 µl가 되도록 하였다. PCR 조건은 95°C에서 5분간 denaturation 시킨 후, 95°C에서 30초의 denaturation, 50°C에서 30초 간 annealing, 72°C에서 30초간 extension을 30회 반복하였다. 마지막으로 72°C에서 5분간 final extension을 실행하였다. 증폭된 rpsL 유전자는 1.2%의 agarose gel에서 전기영동하여 확인한 뒤 AccuPrep PCR Purification Kit (Bioneer)로 정제하였다. 염기서열의 결정은 Cosmogenetech Inc. (Daejeon, Korea)에 의뢰하여 양쪽 방향으로 실시하였다.

**strA-strB 유전자의 확인.** Streptomycin에 인산기를 붙여 불활성화 시키는 효소를 암호화하는 유전자인 strA와 strB의 존재를 확인하기 위한 PCR은 Lee 등(2021b)의 방법을 따랐다. strA를 증폭하기 위한 primers로 aph(3'')-F (5'-GCTCAAAGGTCGAGGTGTGG-3')와 aph(3'')-R (5'-CCAGTCTCTTCGGCGTTAG-3')을 사용하였고, strB의 증폭은 aph(6)-F

(5'-GACTCCTGCAATCGTCAAGG-3')와 aph(6)-R (5'-GCAATGC-GTCTAGGATCGAG-3') primers로 수행하였다. 두 경우 모두 annealing 온도는 55°C였다.

## 결과 및 고찰

Psa biovar 3 균주에서 자연발생적 돌연변이에 의해 생기는 streptomycin 저항성의 분자적 기작을 알아보기 위해 실험실 조건에서 생길 저항성 돌연변이체를 선발하여 분석하였다. Streptomycin 민감성 Psa biovar 3 균주인 HYH1471의 배양액으로부터 streptomycin에 저항성을 보이는 3개의 돌연변이 균주 S1-HYH, S2-HYH, S3-HYH를 선발하였다. 이들 저항성 균주는 자연발생적 돌연변이체로 야생형 균주인 HYH1471과 다르게 100 µg/ml의 streptomycin이 포함된 PS agar에서 콜로니를 형성하였다. Streptomycin에 대한 MIC를 측정한 결과 HYH1471이 2 µg/ml이었던 반면 돌연변이체들의 MIC는 2,048 µg/ml 이상으로 높은 수준의 저항성을 보였다(Table 1).

rpsL-F/R primer 세트를 사용한 PCR에서, 실험에 사용한 Psa biovar 3 균주 모두에서 예상되었던 372 bp의 DNA 절편이 증폭되었다. 유전자 증폭에 사용된 primer쌍은 rpsL 유전자의 염기서열로부터 제작하였다. Forward primer는 개시코돈에서 시작하여 3' 방향으로 20 bp를, reverse primer는 종결코돈을 포함한 20 bp로 설계하였다. 따라서 Psa 균주에서 증폭된 372 bp는 정확히 rpsL의 ORF이다. 그러나 Psa와는 달리 *E. amylovora* (Chiou와 Jones, 1995)와 *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola* (Zhang 등, 2011) 등에서는 rpsL의 ORF가 375 bp로 구성되어 있음이 보고되고 있다.

야생형 균주인 HYH1471의 rpsL의 염기서열은 Fig. 1과 같다. 이 균주의 염기서열은 GenBank에 등록된 Psa biovar 3 균주 ICMP 18884의 rpsL 염기서열(GenBank accession no. CP011972.2)과 100% 상동성을 보였다.

한편, 실험실에서 선발된 streptomycin 저항성 Psa biovar 3 돌연변이체에서는 하나의 염기가 다른 염기로 치환된 것으로 나타났다. 즉, S1-HYH와 S3-HYH에서는 43번째 코돈이 AAA에서 AGA로 바뀌었고, S2-HYH 균주에서는 88번째 코돈이 AAA에서 AGA로 바뀌었다. 이러한 단일 염기의 변화는 아미노산을 lysine (K)에서 arginine (R)으로 치환시킨다(Table 1).

rpsL 유전자의 코돈 43 또는 88에서 일어난 단일 염기의 돌연변이가 아미노산을 치환시켜 streptomycin이 표적에 결합하지 못하게 됨으로써 저항성을 갖게 되는 현상은 *E. amylovora*, *Clavibacter michiganensis*, *Mycobacterium tuberculosis*, *X. oryzae* pv. *oryzicola*, *Thermus thermophilus* 등 여러 세균에서 공

ATG GCA ACT ATC AAC CAG CTG GTA CGT CAG CCG CGT AAG CGT ATC GTC GAG AAA TCC GAC 60  
 M A T I N Q L V R Q P R K R I V E K S D  
 GTG CCT GCG CTG CAG AAC TGC CCG CAA CGT CGC GGT GTG TGC ACT CGT GTG TAT ACC ACC 120  
 V P A L Q N C P Q R R G V C T R V Y T T  
 ACG CCG **AAA** AAA CCT AAC TCG GCA TTG CGT AAA GTC TGC CGT GTG CGC CTG ACC AAC GGT 180  
 T P **K** K P N S A L R K V C R V R L T N G  
 TTC GAG GTT TCC TCG TAC ATC GGT GGT GAA GGT CAC AAC CTG CAAGAG CAC AGCGTG GTA 240  
 F E V S S Y I G G E G H N L Q E H S V V  
 CTG ATC CGT GGC GGT CGT GTA **AGA** GAC TTG CCA GGT GTT CGC TAT CAC ACC GTT CGT GGT 300  
 L I R G G R V **K** D L P G V R Y H T V R G  
 TCT TTG GAT ACC TCC GGC GTC AAA GGT CGT AAC CAG GGT CGC TCG AAA TAC GGT ACC AAG 360  
 S L D T S G V K G R N Q G R S K Y G T K  
AAG CCT AAG TAG 372  
 K P K

**Fig. 1.** Nucleotide sequences of the *rpsL* gene from streptomycin-sensitive strain HYH1471 of *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* biovar 3. The deduced amino acid sequence is indicated below the second nucleotide of each codon. A mutation at 43rd or 88th codon resulted in the change from Lys (AAA) to Arg (AGA) was associated with streptomycin resistance. The nucleotides and amino acid at codon 43 and 88 are shown in box. The bases corresponding to polymerase chain reaction primers used for amplification of *rpsL* gene are underlined.

통적으로 보고된 바 있다(Dobner 등, 1997; Gregory 등, 2001; Ponce de León-Door 등, 2013; Valenzuela 등, 2019; Zhang 등, 2011). 이러한 돌연변이에 의한 표적의 변형은 높은 수준의 streptomycin 저항성 표현형으로 나타난다(Chiou와 Jones, 1995).

실험실에서 선발된 3개의 streptomycin 저항성 Psa biovar 3 균주 중 2개는 43번째 코돈에, 나머지 한 개는 88번째 코돈에 점 돌연변이가 발생하였으므로, Psa biovar 3에서도 다른 세균처럼 두 곳에서 각각 일어난 돌연변이가 streptomycin 저항성의 원인이 됨을 알 수 있었다. 이들 돌연변이체 균주들도 높은 수준의 streptomycin 저항성을 나타냈다(Table 1).

세균성 궤양병이 발생한 키위 과수원으로부터 분리한 Psa biovar 3 균주 중 streptomycin에 저항성을 보이는 4개 균주를 확보하였다. 이들 균주에서는 biovar 2 균주에서 저항성의 원인이 되었던 *strA-strB* 유전자가 검출되지 않았다(data not shown). 따라서, 저항성이 효소에 의한 항생물질의 불활성화와는 다른 기작에 의하는 것으로 추정되었고, 이를 밝히기 위해 streptomycin 저항성 균주의 *rpsL* 유전자 염기서열을 민감성 균주인 HYH1471과 비교하였다. 그 결과 4개의 저항성 균주(KDS1661, KDS1662, KDN1731, KDN1732) 모두에서 코돈 43이 AAA에서 AGA로 변하는 점 돌연변이가 일어났음이 확인되었다. 그러나 코돈 88에서 돌연변이가 일어난 균주는 없었다(Table 1).

*rpsL* 유전자의 돌연변이에 의한 streptomycin 저항성 균주 중 43번째 코돈에서 돌연변이가 일어난 경우가 88번째 코돈에서 보다 더 빈번하게 일어난 예가 *M. tuberculosis* (Cuevas-Córdoba 등, 2013; Dobner 등, 1997), *E. amylovora* (Chiou와 Jones, 1995; Ponce de León-Door 등, 2013), *X. oryzae* pv. *oryzicola* (Zhang 등, 2011), *C. michiganensis* (Valenzuela, 등, 2019) 등에서 보고되고 있으나 그 원인에 대해서는 알려진 바 없다.

국내에서 분리된 streptomycin 저항성 Psa biovar 2 균주의 경우, 저항성 기작이 streptomycin 불활성화 효소를 암호화하는 *strA-strB* 유전자에 기인하는데 반해(Lee 등, 2021b), biovar 3 균주는 *rpsL* 유전자의 돌연변이에 의하는 것으로 나타났다. 같은 종에서도 지리적 기원에 따라 발견되는 streptomycin 저항성 기작이 다를 수 있다. *E. amylovora*의 경우 미국 서부의 일부 주와(Chiou와 Jones, 1995), 이스라엘(Manulis 등, 1998), 뉴질랜드(Thomson 등, 1993) 및 멕시코(Ponce de León-Door 등, 2013) 등에서는 *rpsL* 유전자의 코돈 43 돌연변이가 저항성 기작인 반면, 미국의 캘리포니아 주의 일부와 뉴욕, 미시간 주에서는 *strA-strB* 유전자에 의한 저항성 균주가 주로 발견되고 있다(McGhee 등, 2011; Russo 등, 2008).

Psa biovar 2 균주는 우리나라에서만 분리되므로 이들 균주에서 발견된 *strA-strB* 유전자는 국내 환경에서 일어난 유전자의 수평적 이동에 기인할 것으로 추정할 수 있다. Biovar 3 균주의

경우, *rpsL* 돌연변이체가 외국으로부터 유입되었을 가능성(Lee 등, 2021a)과 함께 국내에서 생긴 자연발생적 돌연변이일 가능성이 함께 존재한다.

Streptomycin 저항성인 Psa의 출현을 막기 위해서는 키위 세균성 궤양병의 방제에 streptomycin이 포함된 약제의 사용을 최소화하고, 아울러 다른 작용 기작을 갖는 항생제 성분의 약제와 교대로 사용하는 것이 필요하다.

## 요 약

*Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* (Psa)는 키위에 세균성 궤양병을 일으키는 병원균이다. Psa 균주는 유전적 및 생화학적 특징에 따라 5개의 biovar로 나누어진다. 그중 biovar 2와 3이 국내에서 발견되어 광범위한 피해를 주고 있다. Psa를 방제하는 효율적인 방법 중 한가지는 streptomycin과 같은 항생제를 사용하는 것이다. 그러나, 이 항생제에 저항성을 갖는 균주가 국내에서 분리되었고, 선행 연구에서 biovar 2 균주의 저항성이 *strA-strB* 유전자에 의한 것으로 밝혀졌다. 본 연구에서는 Psa biovar 3 균주에서 streptomycin 저항성의 분자적 기작을 밝히고자 하였다. 실험실에서 선발된 streptomycin 저항성 균주의 리보솜 단백질 S12를 암호화하는 유전자인 *rpsL*의 염기서열을 결정된 결과, 43번째 또는 88번째 코돈에서 자연발생적 점 돌연변이가 일어난 것을 확인하였다. 한편, 두 곳의 키위 과수원에서 분리된 4개의 streptomycin 저항성 biovar 3 균주에서는 민감성 균주에서 AAA인 *rpsL*의 코돈 43이 AGA로 단일 염기 치환이 일어났고, 이는 아미노산을 lysine에서 arginine으로 변화시키게 된다. 국내에서 발견된 biovar 3 균주 모두의 저항성 기작은 *rpsL* 유전자의 돌연변이에 기인하였다.

## Conflicts of Interest

No potential conflicted interest relevant to this article was reported.

## References

- Cameron, A. and Sarojini, V. 2014. *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae*: chemical control, resistance mechanisms and possible alternatives. *Plant Pathol.* 63: 1-11.
- Chiou, C. S. and Jones, A. L. 1995. Molecular analysis of high-level streptomycin resistance in *Erwinia amylovora*. *Phytopathology* 85: 324-328.
- Cuevas-Córdoba, B., Cuellar-Sánchez, A., Pasissi-Crivelli, A., Santana-Álvarez, C. A., Hernández-Illezcas, J. and Zenteno-Cuevas, R. 2013. *rrs* and *rpsL* mutations in streptomycin-resistant isolates of *Mycobacterium tuberculosis* from Mexico. *J. Microbiol. Immunol. Infect.* 46: 30-34.
- Dobner, P., Bretzel, G., Rüscher-Gerdes, S., Feldmann, K., Rifai, M., Löscher, T. et al. 1997. Geographic variation of the predictive values of genomic mutations associated with streptomycin resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *Mol. Cell. Probes* 11: 123-126.
- Gregory, S. T., Cate, J. H. D. and Dahlberg, A. E. 2001. Streptomycin-resistant and streptomycin-dependent mutants of the extreme thermophile *Thermus thermophilus*. *J. Mol. Biol.* 309: 333-338.
- Kim, G. H., Kim, K.-H., Son, K. I., Choi, E. D., Lee, Y. S., Jung, J. S. et al. 2016. Outbreak and spread of bacterial canker of kiwifruit caused by *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* biovar 3 in Korea. *Plant Pathol. J.* 32: 542-551.
- Koh, Y. J., Cha, B. J., Chung, H. J. and Lee D. H. 1994. Outbreak and spread of bacterial canker in kiwifruit. *Korean J. Plant Pathol.* 10: 68-72.
- Koh, Y. J., Kim, G. H. and Jung, J. S. 2017. A proposed manual for the efficient management of kiwifruit bacterial canker in Korea. *Res. Plant Dis.* 23: 1-18.
- Koh, Y. J., Kim, G. H., Jung, J. S., Lee, Y. S. and Hur, J. S. 2010. Outbreak of bacterial canker on Hort16A (*Actinidia chinensis* Planchon) caused by *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* in Korea. *N. Z. J. Crop Hort. Sci.* 38: 275-282.
- Koh, Y. J., Kim, G. H., Koh, H. S., Lee, Y. S., Kim, S.-C. and Jung, J. S. 2012. Occurrence of a new type of *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* strain of bacterial canker on kiwifruit in Korea. *Plant Pathol. J.* 28: 423-427.
- Lee, Y. S., Kim, G. H. and Jung, J. S. 2021a. Distribution of subgroups in *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* biovar 3 strains isolated from Korea. *J. Life Sci.* 31: 52-58.
- Lee, Y. S., Kim, J., Kim, G. H., Choi, E. D., Koh, Y. J. and Jung, J. S. 2017. Biovars of *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* strains, the causal agent of bacterial canker of kiwifruit, isolated in Korea. *Res. Plant Dis.* 23: 35-41.
- Lee, Y. S., Kim, G. H., Koh, Y. J. and Jung, J. S. 2021b. Identification of *strA-strB* genes in streptomycin-resistant *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* biovar 2 strains isolated in Korea. *Plant Pathol. J.* 37: 489-493.
- Lee, Y. S., Kim, G. H., Song, Y.-R., Oh, C.-S., Koh, Y. J. and Jung, J. S. 2020. Streptomycin resistant isolates of *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* in Korea. *Res. Plant Dis.* 26: 44-47.
- Loper, J. E., Henkels, M. D., Roberts, R. G., Grove, G. G., Willet, M. J. and Smith, T. J. 1991. Evaluation of streptomycin, oxytetracycline, and copper resistance of *Erwinia amylovora* isolated from pear orchards in Washington State. *Plant Dis.* 75: 287-290.
- Lyu, Q., Bai, K., Kan, Y., Jiang, N., Thapa, S. P., Coaker, G. et al. 2019. Variation in streptomycin resistance mechanisms in *Clavibacter michiganensis*. *Phytopathology* 109: 1849-1858.
- Manulis, S., Zutra, D., Kleitman, F., Dror, O., David, I., Zilberstaine, M. et al. 1998. Distribution of streptomycin-resistant strains of

- Erwinia amylovora* in Israel and occurrence of blossom blight in the autumn. *Phytoparasitica* 26: 223-230.
- McGhee, G. C., Guasco, J., Bellomo, L. M., Blumer-Schuette, S. E., Shane, W. W., Irish-Brown, A. et al. 2011. Genetic analysis of streptomycin-resistant (Sm<sup>R</sup>) strains of *Erwinia amylovora* suggests that determination of two genotypes is responsible for the current distribution of Sm<sup>R</sup> *E. amylovora* in Michigan. *Phytopathology* 101: 182-191.
- Ponce de León-Door, A., Romo Chacón, A. and Acosta Muñoz, C. 2013. Detection of streptomycin resistance in *Erwinia amylovora* strains isolated from apple orchards in Chihuahua, Mexico. *Eur. J. Plant Pathol.* 137: 223-229.
- Russo, N. L., Burr, T. J., Breth, D. I. and Aldwinckle, H. S. 2008. Isolation of streptomycin-resistant isolates of *Erwinia amylovora* in New York. *Plant Dis.* 92: 714-718.
- Sawada, H., Kondo, K. and Nakaune, R. 2016. Novel biovar (biovar 6) of *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* causing bacterial canker of kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) in Japan. *Jpn. J. Phytopathol.* 82: 101-115.
- Sawada, H. and Fujikawa, T. 2019. Genetic diversity of *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae*, pathogen of kiwifruit bacterial canker. *Plant Pathol.* 68: 1235-1248.
- Sundin, G. W. and Bender, C. L. 1996. Dissemination of the *strA-strB* streptomycin-resistance genes among commensal and pathogenic bacteria from humans, animals, and plants. *Mol. Ecol.* 5: 133-143.
- Sundin, G. W. and Wang, N. 2018. Antibiotic resistance in plant-pathogenic bacteria. *Annu. Rev. Phytopathol.* 56: 161-180.
- Thomson, S. V., Gouk, S. C., Vanneste, J. L., Hale, C. N. and Clark, R. G. 1993. The presence of streptomycin resistant isolates of *Erwinia amylovora* in New Zealand. *Acta Hort.* 338: 223-230.
- Tyson, J. L., Dobson, S. J. and Manning, M. A. 2017. Effect of a protectant copper application on Psa infection of kiwifruit trap plants. *N. Z. Plant Prot.* 70: 310-314.
- Valenzuela, M., Méndez, V., Montenegro, I., Besoain, X. and Seeger, M. 2019. Streptomycin resistance in *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* from Chile is related to an *rpsL* gene mutation. *Plant Pathol.* 68: 426-433.
- Vanneste, J. L. 2017. The scientific, economic, and social impacts of the New Zealand outbreak of bacterial canker of kiwifruit (*Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae*). *Annu. Rev. Phytopathol.* 55: 377-399.
- Zhang, Y., Chen, Y., Zhu, X., Xu, Y., Hou, Y., Gao, T. et al. 2011. A molecular mechanism of resistance to streptomycin in *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola*. *Phytoparasitica* 39: 393-401.