Pseudomonas syringae pv. *syringae*에 의한 수박 잎점무늬병의 발생

Occurrence of Leaf Spot Disease on Watermelon Caused by *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*

*Corresponding author

Tel: +82-31-887-6581

Fax: +82-31-873-9602

E-mail: kspark81@nongwoobio.co.kr

박경수^{1*} · 이지혜¹ · 김영탁¹ · 김혜성¹ · 이준우¹ · 이현수² · 이혁인² · 차재순³¹(주)농우바이오, ²농림축산검역본부, ³충북대학교 식물학과Kyoung-Soo Park^{1*}, Ji-Hye Lee¹, Young-Tak Kim¹, Hye-Seong Kim¹, June-woo Lee¹, Hyun-Su Lee², Hyok-In Lee², and Jae-Soon Cha³¹Nongwoo Bio Co., Ltd., Yeosu 12655, Korea²Animal and Plant Quarantine Agency, Gimcheon 39660, Korea³Department of Plant Medicine, Chungbuk National University, Cheongju 28644, Korea

Typical bacterial symptoms, water-soaking brown and black leaf spots with yellow halo, were observed on watermelon seedlings in nursery and field of Gyeongnam and Jeonnam provinces. Bacterial isolates from the lesion showed strong pathogenicity on watermelon and zucchini. One of them was rod-shaped with 4 polar flagella by observation of transmission electron microscopy. They belonged to LOPAT group 1. The phylogenetic trees with nucleotide sequences of 16S rRNA and multi-locus sequencing typing with the 4 house-keeping genes (*gapA*, *gltA*, *gyrB*, and *rpoD*) of the isolates showed they were highly homologous to *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* and grouped together with them, indicating that they were appeared as *P. syringae* genomospecies group 1. Morphological, physiological, and genetical characteristics of the isolates suggested they are *P. syringae* pv. *syringae*. We believe this is the first report that *P. syringae* pv. *syringae* caused leaf spot disease on watermelon in the Republic of Korea.

Keywords: Bacterial leaf spot, New disease, *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, Watermelon

Received October 27, 2021

Revised November 24, 2021

Accepted December 21, 2021

서론

수박은 경제적으로 중요한 작물로 수박에는 몇 가지 세균이 병을 일으켜 큰 피해를 주고 있다. 가장 대표적인 병이 *Acidovorax citullii*에 의한 과일썩음병(bacterial fruit blotch)이다. 이 병은 전 세계적으로 발생하며, 특히 수박의 수확기에 과일을 부패시켜 큰 경제적인 피해를 주고 있다(Burdman과 Walcott,

2012). 또한 이 병은 수박종자를 통해 병을 옮기는 것으로 알려져지면서 작물의 종자산업에도 큰 피해를 주고 있다(Burdman과 Walcott, 2012). 세균에 의한 다른 병은 2016년 미국 조지아주의 수박 재배지에서 *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*가 잎점무늬병을 일으킨다는 보고가 있었다(Dutta 등, 2016).

수박은 국내에서도 중요한 작물인데, 국내 수박재배면적은 노지수박 2,648 ha, 시설수박 9,325 ha로 생산량은 노지 84,469톤, 시설수박 391,346톤이 생산되고 있다(Statistics Korea, 2019). 국내에서 보고된 세균에 의한 수박의 병으로는 *A. citullii*에 의한 과일썩음병(The Korean Society of Plant Pathology, 2021)과 *Acidovorax valerianellae*에 의한 세균검은점무늬

Research in Plant Disease

pISSN 1598-2262, eISSN 2233-9191

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.

병(Han 등, 2012), 그리고 *Pseudomonas* sp.에 의한 과일썩음병(Jee 등, 1990, The Korean Society of Plant Pathology, 2021)이 보고되었다. 그런데 1990년에 보고된 병의 경우 병원균으로 보고한 *Pseudomonas*의 종(sp.)이 정확하게 동정되지 않았으며, 해당 병원균의 동정적 특징도 *P. syringae*와 차이가 있었다(Jee 등, 1990; Schaad 등, 2003). 따라서 국내에서 아직까지 *P. syringae*에 의한 수박의 병은 정확하게 보고되지 않았다.

세균에 의한 수박 병은 과일썩음병이 큰 경제적 피해를 가져온 이후 그 중요성이 부각되었고, 종자를 통한 전염 특성상 종자산업과 식물검역에서의 중요성으로 이 병의 병원균의 정확한 동정, 생태적 특성 파악 등이 매우 중요하게 되었다.

국내에서 보고된 *P. syringae*에 의한 박과작물의 병은 *P. syringae* pv *lachrimans*이 오이, 호박 등에 모무늬병(The Korean Society of Plant Pathology, 2021)과 *P. syringae* pv *syringae*에 의한 애호박 잎점무늬병이 보고되어 있다(Park 등, 2016). 그 외에 양파, 파, 무, 배추, 마늘, 참깨, 콩, 팔 등의 채소작물에서 *P. syringae*가 병을 일으키는 것으로 알려져 있다(The Korean Society of Plant Pathology, 2021).

최근 국내 경남과 전남지역의 수박 유묘에서 잎에 점무늬병이 발생하였다. 본 연구를 통해 병원균을 분리하여 병원성을 확인하고 동정한 결과, 기존에 국내에서 보고된 병원균 및 병과 달라서 수박의 새로운 세균병으로 보고한다.

재료 및 방법

병원균 분리. 경남 밀양에서 육묘중인 수박의 병징에서 Schaad 등(2001)의 방법으로 병원균을 분리하였다. 수박잎의 병징에서 건전부위와 병징부위의 경계부위를 0.5 mm×0.5 mm 크기로 잘라낸 조각을 1% sodium hypochlorite에 2분간 표면 살균을 하였다. 표면살균 후에는 멸균수로 2회 세척하고 클린벤치에서 페이퍼 타올 위에 올려 3분간 건조하였다. 표면 살균 후 건조된 조각을 King's B 배지(peptone 20 g, magnesium sulphate heptahydrate 1.5 g, dipotassium phosphate 1.5 g, glycerol 15 ml, agar 15 g/l)에 올린 후 배양기에서 28°C, 2일 배양하였다. King's B 배지에 올려놓은 병반으로부터 자란 병원균을 순수배양하여 단일 콜로니를 얻었다. 단일 콜로니에서 순수 분리된 병원균은 King's B agar 배지에서 배양한 후 20% 글리세롤에 현탁하여 -80°C 냉동고에 동결 보존하여 실험에 사용하였다.

전자현미경 관찰. 밀양의 육묘장 수박 병징에서 분리한 2개의 분리균 중 NWB SC264 분리균을 한국과학기술원(KAIST)의

과학연구센터에 의뢰하여 투과전자현미경(transmission electron microscopy, Tecnai G2 Spirit, FEI, Hillsboro, OR, USA)으로 관찰하였다. 시료 처리는 200 mesh carbon coated grid에 시료를 올리고 2% uranyl acetate를 이용하여 염색한 후 11,000배 배율로 관찰하였다.

분리균의 병원성 확인. 수박의 병징에서 분리된 2개의 균주 NWB SC263, NWB SC264를 박과 10개 작물, 수박(*Citrus vulgaris* cv. Speedggul), 애호박(*Cucurbita mochatata* cv. Nongwooe), 흑종호박(*Cucurbita ficifolia*), 신토좌'Shintoza'(*Cucurbita maxima*×*Cucurbita moschata*), 참박(*Lagenaria leucantha* cv. Shinhwachangjo), 주키니호박(*Cucurbita pepo* cv. Teayang), 오이(*Cucumis sativus* cv. Seolback), 참외(*Cucumis melo* var. makuwa cv. Obokggul), 메론(*Cucumis melo* cv. Earthtalent), 그리고 밤호박(*Cucurbita maxima* cv. Danbam)에 접종하여 병원성을 확인하였다. King's B 배지에서 28°C, 48시간 배양한 세균을 분광광도계 흡광 파장 OD_{600nm}에서 0.3 (약 1×10⁸ cfu/ml)로 현탁하고 10배 희석하여 약 1×10⁷ cfu/ml로 접종하였다. 50구 트레이에 파종 3주 된 박과작물 10품종의 1-2 엽기에 분무접종 하였다. 분무 접종 시 균주 현탁액 250 ml에 전착제(siloxane) 100 µl를 첨가하였다. 접종 후 24시간 동안 80% 습도의 압조건으로 생장실 내에서 습식처리 후 25-30°C, 40-70% 습도의 온실로 옮겨 관리하였다. 접종 7일 후 발병도를 조사하였으며, 발병도 조사는 발병 엽면적에 따라 발병수준을 0, 1, 3, 5, 7까지 나누었으며 0은 무발병, 1은 1-10% 발병면적, 3은 11-25% 발병면적, 5는 26-50% 발병면적, 7은 50% 이상의 발병 면적으로 정하였다. 발병도(%)는 각 접종구의 발병엽의 면적지수의 총합을 각 접종구의 총조사 잎수의 총 면적지수의 백분율로 구하였다. 본 연구에 대조군주로는 국립농업유전 자원센터에서 분양받은 복숭아 분리균 *P. syringae* pv. *syringae* KACC18392를 사용하였다(Park 등, 2016).

형광성, 그람반응 및 LOPAT 검정. 분리된 균들을 King's B agar 배지에 도말하여 28°C, 3일간 배양한 후 UV_{350nm} 파장에서 형광발생을 확인하였다. Schaad 등(2001)의 방법으로 그람염색을 하여 현미경으로 관찰하였다. 분리된 병원균 NWB SC 264 균주의 LOPAT (levan 형성, oxydase 활성, 감자 무름 반응, alginate dihydrolase 활성, 담배과민성반응)를 조사하였다(Lelliott과 Stead, 1987; Schaad 등, 2001). Levan 형성을 확인하기 위하여 sucrose peptone agar (5% sucrose nutrient agar) 배지에서 28°C 4일간 배양 후 dome 모양의 콜로니를 형성하는지 관찰하였다. Oxidase 활성은 여과지에 1% 검사용 시약(nitrogen

tetramethyl-p-phenol-in-diamine dihydrochloride, Sigma, St. Louis, MO, USA)을 적신 후 King's B 배지에서 24시간 배양된 세균을 백금으로 시약을 적신 여과지에 묻힌 후 10초 안에 보라색 또는 청색으로 변하는지 관찰하였다. 감자 무름 반응을 조사하기 위하여 세척한 감자를 화염 멸균한 칼로 0.5 cm 두께로 썰어 절편을 준비하였다. King's B 배지에 24시간 배양한 병원균을 백금으로 떠서 감자의 절단면에 접종하고, 28°C에서 24시간 동안에 접종한 감자에서 무름이 발생하는지 관찰하였다. Arginine dihydrolase 활성을 확인하기 위하여 Thornley's medium (0.2 g peptone, 1 g NaCl, 0.06 g K₂HPO₄, 0.6 g agar, 0.02 g phenol red, 2 g arginine HCl per 200 ml, pH 7.2)를 10 ml씩 시험관에 조제하여 24시간 King's B 배지에 배양된 균주를 접종하였다. 접종 후 멸균된 미네랄 오일로 시험관 입구를 밀봉한 후 28°C에 배양하여 4일 후 색의 변화를 관찰하였다. 담배에서 과민성반응은 파종 후 5주된 담배에 King's B 배지에 24시간 배양한 분리균을 OD_{600nm}에서 0.3 (약 1×10^8 cfu/ml)으로 현탁하고 현탁액을 약 5×10^7 cfu/ml로 희석하여 0.1 ml을 담배 잎에 주사기로 주입하여 과민성반응 여부를 확인하였다.

16S rRNA 염기서열 분석. 수박의 병반에서 분리된 6개 균주를 King's B 배지에 28°C, 24시간 배양하여 (주)바이오팩트 (BIOFACT, Daejeon, Korea)에 16S rRNA sequencing을 의뢰하였다. National Center for Biotechnology Information (NCBI) GenBank에 등록되어 있는 *P. syringae* complex 균주들의 16S rRNA 염기서열을 이용하여 CLUSTAL W 프로그램으로 염기서열을 다중정렬한 후 분석하였다(Thompson 등, 1994). 유전자 염기서열의 상동성은 Mega ver. 5.05 (Tamura 등, 2011) BioEdit ver. 7.01 프로그램을 통하여 분석하였다.

정렬된 각 염기서열의 evolutionary distance matrix는 Kimura 2-parameter (K2P)로 구하였고, phylogenetic tree algorithm은 maximum likelihood (ML)를 이용하여 계통도를 그렸으며, 지지도를 확인하기 위하여 1,000번의 bootstrap을 수행하여 500 이상의 값을 표기하였다.

Multi-locus sequencing typing 분석. Multi-locus sequencing typing (MLST)에 의한 분리균의 계통수(phylogenetic analysis) 분석은 Hwang 등(2005)에 의해 개발된 프라이머를 이용하였다. MLST 분석에 사용된 유전자염기서열은 총 1,800 bp로 4개의 항존유전자(housekeeping gene) *gapA*, *rpoD*, *gltA* 및 *gyrB*의 400 bp, 600 bp, 400 bp, 400 bp이다. 본 연구에서 사용된 각 균주들의 염기서열은 Plant Associated and Environmental Microbes Database (PAMDB, <http://genome.ppws.vt.edu/cgi-bin/MLST/home.pl>)에 등록되어 있는 *P. syringae* complex 64균주의 해당 항존유전자의 염기서열을 바탕으로 CLUSTAL W 프로그램을 이용하여 다중정렬한 후 분석하였다(Thompson 등, 1994). 유전자염기서열의 상동성은 Mega ver. 5.05 (Tamura 등, 2011) BioEdit ver. 7.01 프로그램을 통하여 분석하였다. 정렬된 각 염기서열의 evolutionary distance matrix는 K2P로 구하였고 phylogenetic tree algorithm은 ML을 이용하여 계통도를 그렸으며, 지지도를 확인하기 위하여 1,000번의 bootstrap을 수행하여 500 이상의 값을 표기하였다.

결 과

병 발생·병징·병원균 분리. 2018년 4월 경남 밀양시 육묘장과 전남의 육묘장 그리고 정식한 포장의 수박에서 병이 발생하였다. 신토좌 대목과 접목한 수박 앞에서 수침상에 어두운 갈색 혹은 흑색의 부정형 점무늬가 관찰되었고, 병징주변에 노란색 무리가 발생하였다(Fig. 1A). 병이 진전되면서 어두운 회색의 마름 증상이 나타났다(Fig. 1B). 병징 발생 초기에는 수박 잎에 수침상의 작은 점무늬와 노란색 둘레무리가 발생하였고, 진전되면 병징부위가 넓어지고 어두운 갈색의 점무늬가 발생하며 시간이 지나면서 병징 부분이 마르는 증상으로 발전되었다. 그리고 정식된 포장의 수박에서도 유사한 병징이 확인되었다(Fig. 1C).

병든 수박에 나타난 병징은 전형적인 세균에 의한 병징으로 2018년 밀양의 육묘장 2곳에서 채집한 병징으로부터 2개의 세균을 분리하였고, 전남의 2곳의 육묘장에서 채집한 병징으로부터 4개의 세균을 분리하였다. 분리한 6개 세균은 King's B 배지

Fig. 1. Disease symptoms were appeared on watermelon leaves in the nursery (A, B) and field (C). Arrows indicate disease symptoms.

Fig. 2. Colonies of NWB SC263 on King's B medium (A) and symptoms (B) on the watermelon seedling after inoculation of NWB SC263 which was isolated from nursery of Miryang-si. Arrows indicate disease symptoms.

에서 크림색의 콜로니를 보였고(Fig. 2A), 수박 유묘에 재접종한 결과 수박 잎 전체에 검은 수침상의 병징을 일으켰고, 병이 진전되면서 병징부위의 잎 가장자리가 마르고, 심하게 감염된 부분은 붕괴하는 특징을 보였다(Fig. 2B).

분리균의 병원성. 박과 작물인 애호박, 주키니호박, 참외, 신토좌, 참박, 흑종호박, 단호박, 수박, 멜론, 오이 총 10종에 경남 분리균 NWB SC263과 전남 분리균 NWB SC264 그리고 대조균 주로 복숭아에서 분리한 *P. syringae* pv. *syringae* KACC18392 균주를 접종하여 수박과 다른 박과작물에서 병원성을 확인하고 비교하였다. 분리균 NWB SC263과 NWB SC264는 접종한 박

Table 1. Disease severity on the 10 Cucurbitaceae plants by inoculation of the two watermelon isolates from Gyeongnam and Jeonnam and *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* (Pss) strain from the peach

Isolate/ Strain	Disease severity (%) ^a									
	<i>Cucurbita</i> <i>mochata</i> cv. Nong- wooeae	<i>Cucurbita</i> <i>pepo</i> cv. Teayang	<i>Lagenaria</i> <i>leucantha</i> cv. Shinhwa changjo	<i>Cucumis</i> <i>melo</i> var. makuwa cv. Cham- miso	<i>Cucurbita</i> <i>maxima</i> x <i>Cucurbita</i> <i>moschata</i>	<i>Cucurbita</i> <i>ficifolia</i>	<i>Cucurbita</i> <i>maxima</i> cv. Danbam	<i>Citrullus</i> <i>vulgaris</i> cv. Wooriggul	<i>Cucumis</i> <i>melo</i> cv. Earthtal- ent	<i>Cucumis</i> <i>sativus</i> cv. Smile
Pss KAC- C18392 ^b	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
NWB SC 263	51.0 c	91.7 a	54.7 bc	27.0 e	58.0 b	56.7 bc	44.0 d	89.3 a	57.3 bc	43.7 d
NWB SC 264	54.0 e	95.7 a	79.3 b	33.3 g	67.0 c	67.7 c	62.7 cd	95.3 a	57.0 de	45.0 f

^aDisease severity was examined by 3 replicates of 50 plants of each Cucurbitaceae and values denoted by the same letter were not significantly different by Duncan's multiple range test ($P \leq 0.05$).

^bPss KACC18392 isolated from peach (Park et al., 2016).

Fig. 3. Symptoms on the 10 Cucurbitaceae plants (3 replicates of 50 plants each) at 7 days after inoculation of the NWB SC263 isolate in a green house.

Fig. 4. Transmission electron micrograph of the NWB SC263 isolate. Rod shape bacterium with 4 polar flagellum was observed.

과 작물 10종의 모두에서 잎에 점무늬를 일으켰으며(Table 1, Fig. 3), *P. syringae* pv. *syringae* KACC18392 균주는 10종의 박과 품종 모두에 병을 일으키지 못했다. 수박에서 분리한 NWB SC263과 NWB SC264는 추키니 호박과 수박에 높은 병심각도를 보였고 참외에서 가장 낮은 병심각도를 보여 박과 품종에 따라 병원성에 차이가 있었다(Table 1, Fig. 3).

분리균의 형태적·생리적 특징. 분리균 중에서 NWB SC263의 형태를 전자현미경을 이용하여 관찰한 결과, 한쪽 극에 4개의 편모를 가진 막대형 세균이 관찰되었다(Fig. 4). LOPAT 검정 결과, 분리균 NWB SC263과 NWB SC264는 King's B 배지에서 형광을 보여주었으며, levan 형성 양성, 감자 무름 반응 음성, oxydase 활성 음성, arginine dihydrolase의 활성 음성이었으며, 담배에서 과민성반응은 양성으로 확인되었다(Table 2). LOPAT 결과는 이 2가지 분리균이 LOPAT group I에 속하는 것을 의미한다. 또한 2 균주의 16S 염기서열은 *P. syringae*와 99% 이상 상동성이 확인되었다(Fig. 5). 분리균의 형태적 특징과 함께 16S 염기서열, LOPAT 결과를 종합하여 분리균을 *P. syringae*로 동정하였다.

MLST 특성. *P. syringae*는 60개 이상의 pathovar를 가지고

Fig. 5. Maximum likelihood tree inferred from 16S rRNA gene sequences of the Watermelon isolates (NWB SC 263, 264, 281, 282, 283, 284) and *Pseudomonas syringae* strains. Bootstrap values ($\geq 50\%$) based on 1,000 replicates are shown at the branches. The bar indicates the nucleotide substitutions per site.

있어서 기주범위를 확인하여 정확한 병원형(pathovar)을 결정하는 것은 불가능하다(Bull 등, 2011; Dye 등, 1980). 따라서 유전적 특성을 이용한 MLST 결과를 이용하여 pathovar를 동정하고자 하였다.

Table 2. Physiological characteristics of the isolates from lesions on watermelon

Isolate/Strain	Levan test	Oxydase test	Potato soft rot test	Arginine dihydrolase activity	Tobacco hypersensitive reaction	Fluorescence on KB	Gram staining
NWB SC 263	+	-	-/+	-	+	-	-
NWB SC 264	+	-	-/+	-	+	-	-
Pss ^a	+	-	-	-	+	+	-

KB, King's B media.

+, positive reaction; -, negative reaction.

^a*Pseudomonas syringae* pv. *syringae* (Pss) KACC18392 isolated from peach (Park et al., 2016).

Fig. 6. Maximum likelihood tree inferred from *gapA*, *rpoD*, *gltA*, and *gyrB* sequences of the watermelon isolates (NWB SC263, 264), *Pseudomonas* and other bacteria. The four gene sequences of *Pseudomonas* and other bacteria were obtained from the Plant Associated and Environmental Microbes Database (PAMDB, <http://genome.ppw.vt.edu/cgi-bin/MLST/home.pl>). Bootstrap values ($\geq 70\%$) based on 1,000 replicates are shown at the branches. The bar indicates the nucleotide substitutions per site. Gsp is genomospecies.

분리균주와 다른 *P. syringae* 균주들의 *gapA*, *rpoD*, *gltA*, *gyrB* 유전자 염기서열을 이용하여 유연관계도를 작성하였다(Fig. 6). 수박에서 분리한 NWB SC263과 NWB SC264균은 *P. syringae* pv. *syringae*와 동일한 그룹(clade)으로 묶였고, 9개의 genomospecies group 중 genomospecies group 1에 속하였다(Fig. 6).

고 찰

육묘상의 육묘와 포장에서 자연 발생한 병징과 분리균의 인

공접종에 의해 나타난 병징은 수침상, 황색둘레무리, 병이 심해지면서 조직이 붕괴하고 마르는 전형적인 세균병 병징의 특징을 가지고 있었다. 그리고 분리균은 10개의 박과작물 중에서 주키니와 수박에 강한 병원성을 보여주었다. 이상의 결과는 분리균이 이 병을 일으킨 병원균임을 시사하고 있다.

본 연구에서 수박의 병징으로부터 분리한 분리균이 4개의 속생모를 가진 막대형 세균의 형태적 특징과 LOPAT 결과의 생리적 특징, 그리고 16S 염기서열의 상동성 등은 분리균이 *P. syringae*에 속하는 세균임을 의미한다. *P. syringae*에는 60개 이상의 pathovar를 가지고 있다(Young, 2010). 그런데 pathovar는 분리균의 기주범위를 기초한 동정법으로 아주 엄격한 기주범위를 조사하여도 *P. syringae*는 많은 pathovar를 가지고 있고, pathovar들 사이에 기주범위가 겹치며, pathovar 동정표준법이 정해져 있지 않아서 정확한 pathovar 동정은 매우 어렵고 불가능하다(Bull 등, 2011; Dye 등, 1980; Starr, 1959; Stead, 1992). 이러한 *P. syringae*의 분류 및 동정을 좀 더 안정적으로 개선하기 위하여 세균의 DNA-DNA hybridization의 결과를 기초로(Gardan 등, 1999) 또는 몇 개의 안정적인 house-keeping 유전자의 염기서열을 기초한 MLST를 통해 pathovar genomospecies로 분류하기도 하였다(Bull 등, 2011). MLST에 의한 *P. syringae*의 pathovar 동정은 1개 이상의 pathovar가 한 개의 genomospecies로 묶이기 때문에 *P. syringae*의 pathovar 분류 동정의 문제를 완벽하게 해결하지는 못하지만 *P. syringae*의 pathovar 사이의 유연관계를 가장 안정적으로 보여주는 방법으로 생각되고 있다. 본 연구에서 수박에서 분리된 2균주는 *gapA*, *rpoD*, *gltA*, *gyrB*의 유전자 염기서열을 이용한 MLST 결과 *P. syringae* pv. *syringae* 균주들과 함께 그룹 되었다. 이 결과는 이 2균주가 *P. syringae* pv. *syringae*임을 암시한다.

국내에서 보고된 세균에 의한 수박의 병으로는 *Acidovorax citullii*에 의한 과일썩음병(The Korean Society of Plant Pathology, 2021)과 *Acidovorax valerianellae*에 의한 세균검은점무늬병(Han 등, 2012; The Korean Society of Plant Pathology, 2021), 그리고 *Pseudomonas* sp.에 의한 과일썩음병(The Korean Society of Plant Pathology, 2021)이 보고되었다. 그런데 1990년에 보고된 병의 경우 병원균으로 보고한 *Pseudomonas*의 종이 정확하게 동정되지 않았으며, 해당 병원균의 동정적 특징도 *P. syringae*와 차이가 있었다(Jee 등, 1990; Schaad 등, 2003). 따라서 국내에서 아직까지 *P. syringae*에 의한 수박의 병은 정확하게 보고되지 않았다. 따라서 *P. syringae* 또는 *P. syringae* pv. *syringae*에 의한 수박 잎점무늬병 발생은 최초의 보고로 평가한다.

요 약

경남과 전남의 육묘중인 수박과 정식한 포장의 유묘에서 황색의 둘레무리와수침상의 갈색 및 검은색의 반점의 병반이 관찰되었다. 병반에서 분리한 분리균은 수박과 주키니에서 높은 병원성을 보여주었다, 분리균은 4개의 속생모를 가진 막대형 세균이었다. 분리균은 그람음성으로 LOPAT group 1a에 속하였으며, King'B 배지에서 형광성이 없었다. 16S rRNA 유전자 염기서열을 이용한 계통수 분석과 4개의 항존유전자 염기서열(*gapA*, *gltA*, *gyrB*, *rpoD*)을 이용한 multi-locus sequencing typing 분석 결과 분리균들은 *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*와 가장 높은 상동성을 보여주었고, 같은 그룹(clade)으로 묶이었다. 또한 이들은 *P. syringae* genomospecies group 1에 속하였다. 수박의 잎점무늬병징에서 분리한 세균의 형태적, 생리적, 유전적 특징은 이들이 *P. syringae* pv. *syringae*임을 제시한다. 본 논문은 한국에서 *P. syringae* pv. *syringae*가 수박에서 점무늬병을 일으키는 최초의 보고이다.

Conflicts of Interest

No potential conflict of interest relevant to this article was reported.

References

- Bull, C. T., Clarke, C. R., Cai, R., Vinatzer, B. A., Jardini, T. M. and Koike, S. T. 2011. Multilocus sequence typing of *Pseudomonas syringae* sensu lato confirms previously described genomospecies and permits rapid identification of *P. syringae* pv. *coriandricola* and *P. syringae* pv. *apii* causing bacterial leaf spot on parsley. *Phytopathology* 101: 847-858.
- Burdman, S. and Walcott, R., 2012. *Acidovorax citrulli*: generating basic and applied knowledge to tackle a global threat to the cucurbit industry. *Mol. Plant Pathol.* 13: 805-815.
- Dutta, B., Gitaitis, R. D., Driver, J. E. and Smith, S. 2016. First report of bacterial leaf spot on watermelon caused by *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* in Georgia. *Plant Dis.* 100: 518.
- Dye, D. W., Bradbury, J. F., Goto, M., Hayward, A. C., Lelliott, R. A. and Schroth, M. N. 1980. International standards for naming pathovars of phytopathogenic bacteria and a list of pathovar names and pathotype strains. *Rev. Plant Pathol.* 59: 153-168.
- Gardan, L., Shafik, H., Belouin, S., Broch, R., Grimont, F. and Grimont, P. A. D. 1999. DNA relatedness among the pathovars of *Pseudomonas syringae* and description of *Pseudomonas tremiae* sp. nov. and *pseudomonas cannabina* sp. nov. (ex Sutic and Dowson 1959). *Int. J. Syst. Bacteriol.* 49: 469-478.
- Han, Y.-K., Han, K.-S., Lee, S.-C., Kim S. and Lee, J. 2012. First report of bacterial black spot disease in watermelon caused by *Acidovorax valerianellae* in Korea. *Plant Dis.* 96: 759.
- Hwang, M. S. H., Morgan, R. L., Sarkar, S. F., Wang, P. W. and Guttman, D. S. 2005. Phylogenetic characterization of virulence and resistance phenotypes of *Pseudomonas syringae*. *Appl. Environ. Microbiol.* 71: 5182-5191.
- Jee, H. J., Kim, B. S., Yoo, S. N., Cho, E. K. and Lee, E. J. 1990. Bacterial spot caused by *Pseudomonas* sp. of watermelon. *Korean J. Plant Pathol.* 6: 237-244.
- Lelliott, R. A. and Stead, D. E. 1987. Methods for the Diagnosis of Bacterial Diseases of Plants. Blackwell Scientific Publications, Oxford, UK. 216 pp.
- Park, K.-S., Kim, Y.-T., Kim, H.-S., Lee, J.-H., Lee, H.-I. and Cha, J.-S. 2016. Bacterial spot disease of green pumpkin by *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*. *Res. Plant Dis.* 22: 158-167. (In Korean)
- Schaad, N. W., Jones, J. B. and Chun, W. 2001. Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria. APS Press, St. Paul, MN, USA. 373 pp.
- Schaad, N. W., Postnikova, E. and Randhawa, P. 2003. Emergence of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* as a crop threatening disease of watermelon and melon. In: *Pseudomonas syringae* and Related Pathogens, eds. by N. S. Iacobellis, A. Collmer, S. W. Hutcheson, J. W. Mansfield, C. E. Morris, J. Murillo, et al., pp. 573-581. Springer, Dordrecht, Germany.
- Starr, M. P. 1959. Bacteria as plant pathogens. *Annu. Rev. Microbiol.* 13: 211-238.
- Statistics Korea. 2019. Version: December 2019. URL <https://kostat.go.kr/portal/korea/index.action> [27 October 2021].
- Stead, D. E. 1992. Grouping of plant-pathogenic and some other *Pseudomonas* spp. by using cellular fatty acid profiles. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 42: 281-295.
- Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M. and Kumar, S. 2011. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Mol. Biol. Evol.* 28: 2731-2739.
- The Korean Society of Plant Pathology. 2021. List of Plant Disease in Korea 6th edition. URL <http://genebank.rda.go.kr/kplantdisease.do> [27 October 2021].
- Thompson, J. D., Higgins, D. G. and Gibson, T. J. 1994. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res.* 22: 4673-4680.
- Young, J. M. 2010. Taxonomy of *Pseudomonas syringae*. *J. Plant Pathol.* 92(1 Suppl): S1.5-S1.14.