

2019–2023년 국내에서 분리한 *Erwinia amylovora*의 스트렙토마이신에 대한 감수성 변화

Changes of Sensitivity to Streptomycin in *Erwinia amylovora* Isolated from 2019 to 2023 in Korea

*Co-corresponding authors

H. Ham

Tel: +82-63-238-3276

Fax: +82-63-238-3838

E-mail: hhham@korea.kr

Y. H. Lee

Tel: +82-63-850-0841

Fax: +82-63-850-0834

E-mail: yonghoonlee@jbnu.ac.kr

ORCID

<https://orcid.org/0000-0002-4795-1773>

<https://orcid.org/0000-0001-9921-3871>

함현희^{1,2*}  · 오가람¹ · 이방울¹ · 이용환¹ · 이용훈^{2*} 

¹국립농업과학원 농산물안전성부 작물보호과, ²전북대학교 생명공학부

Hyeonheui Ham^{1,2*} , Ga-Ram Oh¹, Bang Wool Lee¹, Yong Hwan Lee¹, and Yong Hoon Lee^{2*} 

¹Department of Crop Protection, National Institute of Agricultural Sciences, RDA, Wanju, 55365, Korea

²Division of Biotechnology, Jeonbuk National University, Iksan 54596, Korea

Erwinia amylovora, a causal pathogen of fire blight, has been continuously inducing damage to the apple and pear trees in South Korea since 2015. Farmers apply antibiotics during blooming season to prevent the fire blight. However, continuous use of antibiotics can induce the emergence of resistant bacteria, which consequently reduces control efficacy. In this study, we assessed the minimal inhibitory concentration (MIC) of streptomycin, using a total of 361 *E. amylovora* isolates that were collected from the six provinces of South Korea from 2019 to 2023. As a result, the MIC of streptomycin ranged from 0.5 to 4 µg/ml and the *strA-strB* genes were not identified from the isolates. The MIC was higher in the isolates from Gyeonggi-do, Gangwon-do, and Chungcheongbuk-do compared to those from other three provinces. These results may bring broad attention to the use of streptomycin and aid in developing a management protocol for the occurrence of fire blight in South Korea.

Keywords: Antibiotics, Antimicrobial resistance, Fire blight

Received April 26, 2024

Revised June 12, 2024

Accepted June 13, 2024

*Erwinia amylovora*는 사과나무, 배나무 등의 장미과 식물에 화상병을 일으키는 그람음성의 식물병원세균으로 한국을 포함한 온대기후 지역에서 주로 발생하며, 사과와 배를 생산하는 국가에서 많은 경제적 손실을 일으키고 있다(Van der Zwet 등, 2012; Vanneste, 2000). *E. amylovora*는 기주의 궤양이나 잔재물에서 월동하며 봄철에 기온이 상승하면 기주의 꽃이나 상처 등을 통해 침입하여 병을 일으킨다(Van der Zwet 등, 2012). *E. amylovora*의 주된 침입 부위는 꽃으로서 다양한 경로를 통해

꽃으로 옮겨진 *E. amylovora*가 암술머리(stigma)의 표면에서 증식한 후 꽃받침통(hypanthium)을 통해 기주 내부로 침입하는 경로가 가장 널리 알려져 있다(Cui 등, 2021; Pedroncelli와 Puopolo, 2023; Thomson, 1986). 따라서, 화상병의 효과적인 방제를 위해서 동절기에 궤양 제거나 구리화합물을 사용하여 잔존하는 *E. amylovora*를 사멸시키는 방법과 개화기에 항생제 등의 방제제를 사용하여 *E. amylovora*를 사멸시키거나 증식을 억제시켜 기주 내부로 침입하지 못하도록 하는 전략을 실시하고 있다(Aćimović과 Meredith, 2017; Ham 등, 2020; Johnson 등, 2016).

특히 개화기에 화상병의 방제는 *E. amylovora*의 감염을 차단하기 위해 매우 중요한데, 이 때에는 항생제, 생물방제제, 식물생장조절제 및 기타 화학물질을 예방적 혹은 치료적 목적으로

Research in Plant Disease

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.

로 사용하고 있다(DuPont 등, 2023; Johnson 등, 2016; Yuan 등, 2023). 화상병 방제에 가장 효과적인 것으로 알려진 물질은 항생제이나, 항생제 사용에 따른 저항성균 발생, 인체 병원균으로의 저항성 유전자 전달, 생물 다양성 훼손 및 생태계 교란 등의 우려로 선진국에서는 항생제에 대한 사용 등록을 규제하거나 사용량을 점차 줄이는 추세이다(Chang 등, 2015). 그러나 농업 현장에서 사용하는 항생제가 실제로 환경이나 인체에 부정적인 영향을 끼친 직접적인 사례는 보고되지 않았다(McManus 등, 2002; Stockwell과 Duffy, 2012).

화상병의 화학적 방제에 가장 널리 사용하는 항생제인 스트렙토마이신(Stockwell과 Duffy, 2012)은 *Streptomyces* 속 세균에서 발견된 aminoglycoside계 물질로, 세균 리보솜 30S 단백질의 하위 구성단백질인 12S에 결합하며 세균의 단백질 합성을 억제하여 결국 죽게 만든다(Spickler 등, 1997). 스트렙토마이신의 뛰어난 살세균 효과로 전 세계적으로 많은 국가에서 스트렙토마이신을 화상병 방제에 사용해왔으며, 이로 인해 저항성균이 출현하였다(McManus 등, 2002; Stockwell과 Duffy, 2012). 미국에서는 1950년대부터 스트렙토마이신을 화상병 방제에 사용하였고, 1970년대에 스트렙토마이신 저항성균이 출현한 이래로 옥시테트라사이클린과 가스가마이신을 대체제로 사용하고 있다(McGhee와 Sundin, 2011; McManus와 Jones, 1994; Miller와 Schroth, 1972).

국내에서는 화상병이 발생한 2015년부터 스트렙토마이신, 옥시테트라사이클린, 옥솔린산을 화상병의 개화기 방제에 사용하고 있는데(Ham 등, 2022), 현재까지 국내에서 분리된 *E. amylovora*에서 옥시테트라사이클린과 옥솔린산에 대한 저항성은 확인되지 않았다(Ham 등, 2023). 본 연구는 기존 옥시테트라사이클린과 옥솔린산 저항성 평가에 대한 후속 연구로써 Ham 등(2023)이 보고한 균주와 2023년에 분리한 103균주를 대상으로 하여 액상 희석법으로 스트렙토마이신에 대한 최소 억제농도(minimum inhibitory concentration, MIC)를 조사하였고, 이것의 연도별, 기주별, 지역별 차이를 분석하였다. 또한 화상병 양성으로 진단된 시료에서 세균을 분리 및 동정하고, 스트렙토마이신에 대한 감수성과 저항성 유전자 보유 여부를 확인하였다. 이를 통해 국내에서 스트렙토마이신 저항성균의 발생 여부와 MIC 변화 양상을 구명하여 방제 대책을 수립하기 위한 기초 자료로 활용하고자 하였다.

본 연구에 사용한 *E. amylovora* 균주는 국내의 화상병 발생 지역에서 2019년부터 2023년까지 5개년에 걸쳐 수집한 361균주를 사용하였으며(Ham 등, 2022, 2023), 균주들의 수집 연도와 분리한 기주에 따른 분포도는 Quantum Geo-spatial Information System (QGIS) 3 (v3.8; Open Source Geospatial

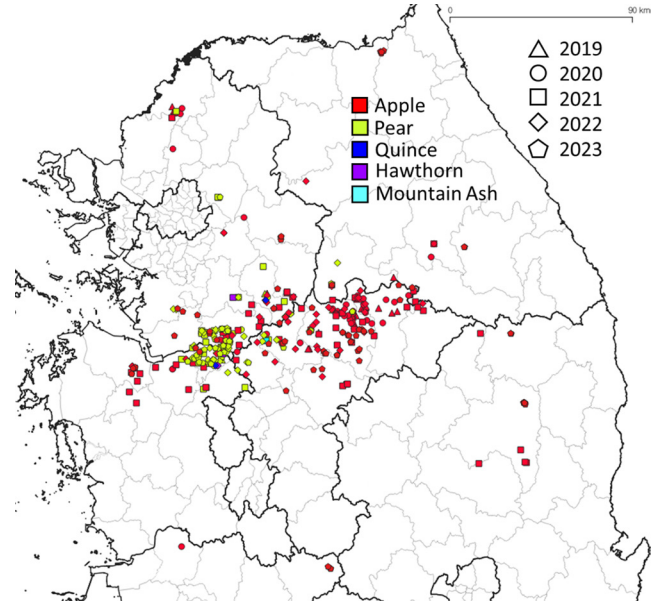


Fig. 1. Distribution of *Erwinia amylovora* isolates collected from 2019 to 2023 in South Korea. The map was generated by Quantum Geo-spatial Information System (QGIS) 3 (v3.8; Open Source Geospatial Foundation, Boston, MA, USA). The color of symbol represents the isolated host (apple-red, pear-yellow, quince-blue, hawthorn-purple, mountain ash-sky blue). The shape of the symbol represents the isolated year (2019-triangle, 2020-circle, 2021-square, 2022-diamond, 2023-pentagon).

Foundation, Boston, MA, USA)을 이용하여 작성하였다(Fig. 1).

E. amylovora 균주들의 스트렙토마이신 MIC 분석은 주문 제작한 Sensititre MIC plate (KRNASF; TREK Diagnostics Systems, West Sussex, UK)를 사용하여 액상 희석법(broth dilution)으로 수행하였다(Wiegand 등, 2008). MIC plate의 스트렙토마이신 농도는 0.12, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, 16, 32, 64, 128, 256, 512 및 1,024 $\mu\text{g/ml}$ 로 하였다. 순수 분리된 *E. amylovora*는 tryptic soy agar (TSA; Difco, Detroit, MI, USA)에 희석도말하여 27°C에서 48시간 동안 배양하였다. 배양한 콜로니 5-7개를 멸균한 loop로 취하여 멸균증류수 5 ml에 풀어 vortexing한 후 현탁액을 탁도계(Sensititre Nephelometer; Thermo Fisher Scientific, Cleveland, OH, USA)를 이용하여 McFarland turbidity 0.5로 맞추었다. 이 중 100 μl 를 취하여 11 ml의 Mueller Hinton Broth (Sensititre; TREK Diagnostics Systems)에 넣고 vortexing하여 세균의 농도가 약 10^5 cells/ml가 되도록 하였다. 세균 현탁액은 50 μl 를 96 well MIC plate에 각각 분주하여 27°C에서 24시간 동안 배양하였다. 배양한 MIC plate는 판독기(Sensititre ViZion; Thermo Fisher Scientific)를 이용하여 *E. amylovora*가 어느 농도까지 자랐는지 확인한 후 MIC를 판정하였다.

*E. amylovora*의 스트렙토마이신 저항성 유전자의 존재 여부

Table 1. Frequency of minimal inhibitory concentration (MIC) level of streptomycin in *Erwinia amylovora* collected from 2019 to 2023 in South Korea

Antibiotic	MIC level (µg/ml)	Year				
		2019	2020	2021	2022	2023
Streptomycin	0.5	-	-	1	-	-
	1	30	26	54	19	83
	2	2	23	31	70	20
	4	-	1	1	-	-
	N	32	50	87	89	103
	Mean	1.0625	1.5200	1.3851	1.7865	1.1942
	F value	24.75				
Pr > F	<0.0001					
Group ^a		a	b	b	c	a

^aDuncan's multiple range test ($\alpha=0.05$).

를 확인하기 위해 *strA*와 *strB* 유전자를 증폭하는 각각의 프라이머 세트 *strA-F/R* 및 *strB-F/R* (Palmer 등, 1997)을 이용하여 polymerase chain reaction (PCR)을 실시하였다. PCR 반응액 조성은 DNA 1× buffer, 0.2 mM dNTP, 4 mM MgCl₂, 1.25 U GoTaq Flexi DNA polymerase (Promega, Madison, WI, USA) 및 25 ng DNA template를 넣어 총 25 µl로 하였다. PCR은 95°C에서 5분간 주형 DNA를 변성시킨 후 95°C에서 30초, 58°C에서 30초, 72°C에서 30초로 35 cycle을 반복한 후 72°C에서 10분간 반응하였다. 증폭 산물은 6× LoadingSTAR (Dyn Bio, Seoul, Korea)로 염색하여 1% agarose gel에 90V로 전기영동한 후 UV transilluminator로 *strA* (301 bp)와 *strB* (303 bp)의 밴드가 증폭되는지 확인하였다.

*E. amylovora*의 MIC가 연도와 지역별로 유의미한 차이가 있는지 확인하기 위해 SAS 9.4 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)를 이용하여 일원분산분석(analysis of variance)과 던컨다중검정(Duncan's Multiple Range Test, DMRT)을 수행하였다. 또한 MIC가 기주(사과, 배)에 따라 차이가 있는지 확인하기 위해 SAS 9.4로 *t*-검정을 수행하였다.

E. amylovora 균주들의 스트렙토마이신의 MIC 범위는 0.5에서 4 µg/ml 사이였으며 1–2 µg/ml인 것의 빈도가 높았다(Table 1). 또한 국내 균주 중에서 스트렙토마이신의 MIC가 2–4 µg/ml로 비교적 높게 나타난 균주 6종을 선발하여 *strA-strB* 유전자가 존재하는지 조사한 결과 대조균을 제외하고 모든 균주에서 해당 유전자가 증폭되지 않았다(data not shown).

2019년도부터 2023년도까지 연도별 *E. amylovora*의 스트렙토마이신 MIC 평균은 각각 1.06, 1.52, 1.39, 1.79 및 1.19 µg/ml였다(Table 1). 분산분석과 DMRT 결과 유의 수준 0.05에서 2019년과 2023년, 2020–2021년, 2022년의 세 그룹으로 구분되는 차

이를 보였는데, 그룹 간 MIC 평균은 2023년을 제외하고 연도가 경과할수록 증가하는 것으로 나타났다. 2023년에는 총 103균주 중 MIC가 1 µg/ml인 것이 83균주, 2 µg/ml인 것이 20균주로 전년도보다 MIC가 감소하였는데 이러한 차이는 매우 근소한 수치로 MIC 양상을 확인하기 위하여 지속적인 모니터링이 필요할 것으로 생각된다.

국내에 등록된 스트렙토마이신 약제(단제 및 합제)를 권장사용농도로 사용 시 스트렙토마이신의 함유량은 75–160 µg/ml로(Lee 등, 2018), 국내 분리 균주는 이보다 MIC가 훨씬 낮았으며 이는 병원균에 스트렙토마이신 저항성 유전자가 존재할 경우 나타나는 MIC보다도 훨씬 낮은 수준이었다. 일반적으로 스트렙토마이신의 저항성 기작은 크게 두 가지로 알려져 있다. 첫째로 phosphotransferase를 암호화하며 스트렙토마이신을 무독성의 형태로 전환하는 *strA-strB* 유전자가 transposon으로써 plasmid를 통해 수평적으로 전달되는 방식이 있는데, 이는 세균 간 항생제 저항성 유전자의 전달이 용이하나 상대적으로 약한 저항성을 나타낸다(McManus 등, 2002). *E. amylovora*에서는 일반적으로 *strA-strB* 유전자가 transposon인 Tn5393에 존재하고, 이것이 플라스미드인 pEa34, pEa29 등에 결합되어 있으며, 이들 유전자가 존재하면 MIC가 500–750 µg/ml의 범위로 나타난다고 보고되어 있다(McGhee 등, 2011; McManus 등, 2002). 반면 transposon이나 plasmid의 특성에 따라 병원균이 낮은 정도의 저항성(moderately resistant-low)을 나타내는 경우가 있었는데 미국 캘리포니아에서는 *strA-strB* 유전자가 IS1133이 결합된 “Tn5393a” transposon에 존재하고, 이것이 pEU30에 위치하는 균주들에서 MIC가 11.5–32.2 µg/ml로 낮게 나타났다(Förster 등, 2015). 두 번째 기작은 병원균 chromosome 상의

Table 2. Frequency of minimal inhibitory concentration (MIC) level of streptomycin in *Erwinia amylovora* depending on the six different provinces of South Korea

Antibiotic	MIC ($\mu\text{g/ml}$)	Region					
		Gyeonggi-do	Gangwon-do	Chungcheong-buk-do	Chungcheong-nam-do	Gyeongsang-buk-do	Jeollabuk-do
Streptomycin	0.5	-	-	1	-	-	-
	1	59	9	79	45	15	5
	2	54	8	60	21	3	-
	4	2	-	-	-	-	-
	N	115	17	140	66	18	5
	Mean	1.5304	1.4706	1.4179	1.3182	1.1667	1.0000
	Pr > F	0.0101					
	Group ^a	b	b	b	ab	ab	a

^aDuncan's multiple range test ($\alpha=0.05$).

ribosomal protein S12를 암호화하는 *rpsL* 유전자에서 점돌연변이가 발생하는 것으로 강한 저항성을 유발한다고 알려져 있으며, *E. amylovora*에서 2,000 $\mu\text{g/ml}$ 이상의 MIC를 나타내는 것으로 보고되었다(Chiou와 Jones, 1995; McManus 등, 2002). 국내에서 분리된 균주는 스트렙토마이신에 대한 MIC가 4 $\mu\text{g/ml}$ 이하로 나타났으며, MIC가 2–4 $\mu\text{g/ml}$ 로 비교적 높게 나타난 6개 균주에서도 *strA-strB* 유전자가 검출되지 않아(data not shown) *strA-strB* 유전자를 보유하거나 *rpsL*에 점돌연변이가 발생하였을 가능성은 매우 낮음을 시사하였다. 따라서, 스트렙토마이신이 함유된 약제를 처리하였을 때 충분한 방제 효과를 볼 수 있다고 사료된다. 다만 연도가 경과할수록 스트렙토마이신의 MIC가 약간씩 증가하는 양상을 나타내므로, 저항성균이 발생하지 않도록 약제를 안전사용기준에 맞추어 권장 농도로 살포하고 동일한 성분이 포함된 약제를 반복하여 사용하지 않도록 유의하여야 할 것이다.

2019–2023년에 분리된 361개 균주에 대하여 화상병이 발생한 지역별로 경기, 강원, 충북, 충남, 경북, 전북으로 구분하여 분리된 균주의 MIC에 유의미한 차이가 있는지 통계 분석을 수행하였다. 스트렙토마이신은 경기와 강원 및 충북 지역에서 MIC 평균이 각각 1.53, 1.47, 1.42 $\mu\text{g/ml}$ 로 다른 지역보다 높게 나타났고, 그 다음 충남 1.32 $\mu\text{g/ml}$, 경북 1.17 $\mu\text{g/ml}$, 전북 1.0 $\mu\text{g/ml}$ 순으로 나타났다(Table 2). 이러한 지역별 MIC 차이는 주로 노출된 항생제 종류에 따라 다를 수 있는데, 1995년도 이래로 배나무에 *Erwinia pyrifoliae*에 의한 가지검은마름병이 발생해 온 강원과 경기북부 지역에서는 스트렙토마이신을 방제제로 사용해 왔을 가능성이 높으며 이러한 요인이 스트렙토마이신의 MIC에 영향을 미쳤을 수 있다(Shrestha 등, 2005). 특히 스트렙토마이신에 대한 MIC가 4 $\mu\text{g/ml}$ 이상인 균주 2종은 경기도 남양주와 광주에서 분리되었으며, 오랜

Table 3. Frequency of minimal inhibitory concentration (MIC) level of streptomycin in *Erwinia amylovora* isolated from apple and pear trees ($\alpha=0.05$)

Antibiotic	MIC ($\mu\text{g/ml}$)	Host	
		Apple	Pear
Streptomycin	0.5	1	-
	1	144	66
	2	99	43
	4	1	1
	N	245	110
	Mean	1.4143	1.4182
	Pr > F	0.5139	
	Pr > t	0.9499	

기간 스트렙토마이신에 노출되면서 항생제에 견디는 능력(persistence)이 증가한 것으로 사료되었다(Brauner 등, 2016). 그러나 스트렙토마이신에 대한 절대적인 MIC 수치가 낮아 저항성이 발생할 만한 수준은 아닌 것으로 판단된다.

한편, 주요 기주인 사과와 배에 대한 MIC 차이를 조사하기 위해 등분산 분석과 *t*-검정(유의 수준 0.05)을 수행하였다. 그 결과 사과나무(245균주)와 배나무(110균주)에서 분리된 대부분의 *E. amylovora* 균주는 MIC가 1–2 $\mu\text{g/ml}$ 범위에 속하였다. 스트렙토마이신의 MIC 평균은 사과나무에서 분리한 균이 1.41 $\mu\text{g/ml}$ 였고 배나무에서 분리한 균은 1.42 $\mu\text{g/ml}$ 였으며, *t*-검정 결과 분리한 기주에 따라 MIC에 유의미한 차이가 확인되지 않았다(Table 3).

추가적으로 2020년 화상병 발병 과원 13곳에서 채취한 사

Table 4. List of isolated streptomycin-resistant bacteria from the diseased tissues of apple and pear trees

Sample by region	Host	Isolate number	Gram negative bacteria	Gram positive bacteria
Gyeonggi-do				
Anseong 1	Pear	7	5	2
Anseong 2	Pear	12	3	9
Anseong 3	Pear	3	3	0
Anseong 4	Pear	3	2	1
Anseong 5	Pear	2	1	1
Chungcheongnam-do				
Cheonan 1	Pear	1	0	1
Cheonan 2	Pear	4	3	1
Chungcheongbuk-do				
Chungju 1	Apple	4	4	0
Chungju 2	Apple	3	3	0
Chungju 3	Apple	4	4	0
Chungju 4	Apple	4	4	0
Chungju 5	Apple	5	5	0
Jecheon	Apple	2	2	0
Total		54	39	15

과, 배 나무의 잎 또는 가지 시료에서 스트렙토마이신에 저항성인 세균의 존재 여부와 *strA-strB* 유전자의 보유 여부를 조사하였다. 식물체의 병반에서 세균을 추출한 후 추출액 10 µl를 스트렙토마이신 50 µg/ml가 함유된 TSA 배지에 27°C에서 48시간 동안 배양하여 자라는 콜로니를 취하였고, 이를 동일한 배지에 3회 계대배양하여 순수분리하였다. 순수분리한 세균은 DNA를 추출하여 농도를 25 ng/µl로 맞추고 *strA-F/R* 및 *strB-F/R* 프라이머로 PCR을 수행하였다. 또한 *strA-strB*를 옮기는 transposon으로 알려진 Tn5393의 존재 여부를 *tnpA* 증폭(Jones와 Schnabel, 2000)을 통해 확인하였다. PCR 증폭을 위한 반응액 조성은 *strA*, *strB*와 동일하게 하였다.

또한 *strA*, *strB* 및 *tnpA*에 대한 타겟 밴드가 검출된 균주들은 16S rRNA sequencing (Bionics Corp., Daejeon, Korea)을 통해 균 동정을 실시하였다. 결과적으로 총 54균주를 분리하였으며(Table 4), 이 중 39균주에서 *strA*, *strB* 유전자와 이것을 옮기는 Tn5393 transposon이 존재하는 것을 확인하였다(Fig. 2A-C). 이들 세균은 *Pseudomonas* spp.가 41%로 가장 비중이 높았으며, *Stenotrophomonas* spp.가 15%, *Enterobacter* spp.와 *Pantoea* spp.가 각각 13%를 차지하고 있었다(Fig. 2D). 나머지 15균주는 그람양성세균으로 *strA*, *strB* 및 *tnpA* 증폭 시 타겟 밴드가 나타나지 않았다. 결과적으로 *E. amylovora*에서는 아직까지 *strA*, *strB* 유전자가 확인되지 않았으나 함께 존재하는 다른 세균들에서는 *strA-strB*와 이를 운반하는 transposon을 보유한

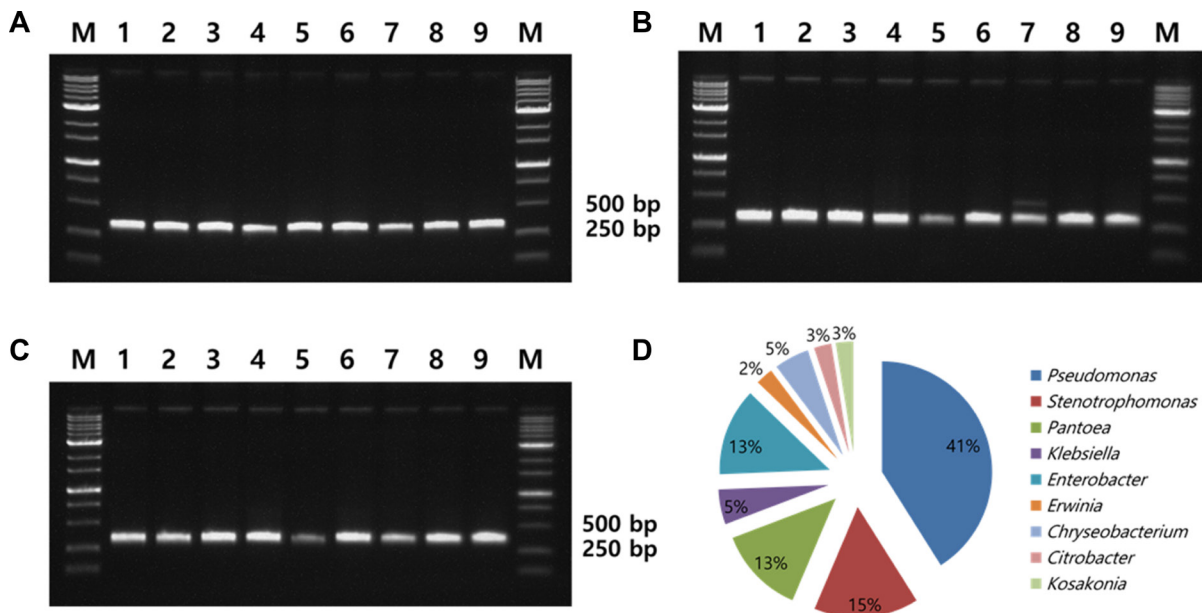


Fig. 2. Polymerase chain reaction amplification of *strA*, *strB*, and *tnpA* from Tn5393 and composition of the bacterial genus of streptomycin-resistant gram-negative bacteria. Detection of *strA* (A), *strB* (B), and *tnpA* (C). Lane M, 1kb marker; lane 1, *Pseudomonas*; lane 2, *Stenotrophomonas*; lane 3, *Pantoea*; lane 4, *Klebsiella*; lane 5, *Enterobacter*; lane 6, *Erwinia*; lane 7, *Chryseobacterium*; lane 8, *Citrobacter*; lane 9, *Kosakonia*. (D) A total of 39 isolates were investigated by 16S rRNA sequencing and the Basic Local Alignment Search Tool from the National Center for Biotechnology Information database.

것을 확인하였으며, 이러한 세균들이 *E. amylovora*에 스트렙토마이신 저항성 유전자를 전달할 수 있는 가능성을 시사하였다.

스트렙토마이신은 화상병 방제에 가장 효과가 좋은 약제로 알려져 있으나 저항성이 발생한 사례가 많으므로(McManus 등, 2002; Stockwell과 Duffy, 2012; Sundin과 Wang, 2018) 저항성균이 발생하지 않도록 특별히 유의해야 한다. 본 연구를 통해 국내에서 2019–2023년도에 분리된 *E. amylovora*의 스트렙토마이신 MIC가 1–2 µg/ml의 분포를 나타냈으며, 병반에서 함께 분리된 세균들에서 전달이 가능한 스트렙토마이신 저항성 유전자(*strA-strB*)를 보유한 것으로 나타나 국내에서도 스트렙토마이신 저항성균이 발생할 가능성이 있음을 시사하였다. 따라서 저항성균의 출현을 예방하기 위해 동일한 기작의 항생제를 반복하여 사용하는 것을 피하고 농약의 안전사용 지침을 준수하며 항생제 오남용을 지양해야 할 것으로 사료된다.

요 약

*Erwinia amylovora*는 화상병의 원인균으로 국내에서는 2015년 이후 사과와 배 나무에 큰 피해를 일으키고 있다. 농가에서는 화상병 예방을 위해 개화기에 항생제를 살포하고 있다. 그러나 항생제의 지속적인 사용은 저항성균의 출현을 유발하고, 이로 인해 방제 효율의 저하를 초래할 수 있다. 따라서, 본 연구에서는 2019–2023년 동안 국내에서 분리한 *E. amylovora* 361균주를 대상으로 스트렙토마이신에 대한 최소억제농도의 변화 양상을 조사하였다. 국내에서 분리한 연구 대상 균주들에 대한 스트렙토마이신의 최소억제농도는 0.5–4 µg/ml였고 균주에서 스트렙토마이신에 약한 저항성을 유도하는 *strA-strB* 유전자는 확인되지 않았다. 또한 경기도, 강원도 및 충청북도에 다른 지역에 비해 스트렙토마이신의 최소억제농도가 높았다. 이러한 연구 결과는 스트렙토마이신의 사용에 대한 주의를 유도하고 방제 대책을 수립하기 위한 기초 자료로 활용될 수 있을 것이다.

Conflicts of Interest

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

Acknowledgments

This research was supported by a Cooperative Research Program (Project no. RS-2020-RD009337) from Rural Development Administration, Republic of Korea.

References

- Aćimović, S. G. and Meredith, C. L. 2017. Evaluation of dormant copper sprays with bark penetrating surfactants in reduction of *Erwinia amylovora* in cankers and of low-rate copper sprays in blossom blight control. *Fruit Q.* 25: 15-20.
- Brauner, A., Fridman, O., Gefen, O. and Balaban, N. Q. 2016. Distinguishing between resistance, tolerance and persistence to antibiotic treatment. *Nat. Rev. Microbiol.* 14: 320-330.
- Chang, Q., Wang, W., Regev-Yochay, G., Lipsitch, M. and Hanage, W. P. 2015. Antibiotics in agriculture and the risk to human health: how worried should we be? *Evol. Appl.* 8: 240-247.
- Chiou, C.-S. and Jones, A. L. 1995. Molecular analysis of high-level streptomycin resistance in *Erwinia amylovora*. *Phytopathology* 85: 324-328.
- Cui, Z., Huntley, R. B., Zeng, Q. and Steven, B. 2021. Temporal and spatial dynamics in the apple flower microbiome in the presence of the phytopathogen *Erwinia amylovora*. *ISME J.* 15: 318-329.
- DuPont, S. T., Cox, K., Johnson, K., Peter, K., Smith, T., Munir, M. et al. 2023. Evaluation of biopesticides for the control of *Erwinia amylovora* in apple and pear. *J. Plant Pathol.* Online publication. <https://doi.org/10.1007/s42161-023-01372-7>.
- Förster, H., McGhee, G. C., Sundin, G. W. and Adaskaveg, J. E. 2015. Characterization of streptomycin resistance in isolates of *Erwinia amylovora* in California. *Phytopathology* 105: 1302-1310.
- Ham, H., Lee, K. J., Hong, S. J., Kong, H. G., Lee, M.-H., Kim, H.-R. et al. 2020. Outbreak of fire blight of apple and pear and its characteristics in Korea in 2019. *Res. Plant Dis.* 26: 239-249. (In Korean)
- Ham, H., Oh, G.-R., Lee, B. W., Lee, Y. H. and Lee, Y. H. 2023. Assessment of oxytetracycline and oxolinic acid resistance of *Erwinia amylovora* isolated from 2019 to 2022 in Korea. *Korean J. Pestic. Sci.* 27: 283-292. (In Korean)
- Ham, H., Oh, G.-R., Park, D. S. and Lee, Y. H. 2022. Survey of oxolinic acid-resistant *Erwinia amylovora* in Korean apple and pear orchards, and the fitness impact of constructed mutants. *Plant Pathol J.* 38: 482-489.
- Johnson, K. B., Smith, T. J., Temple, T. N., Gutierrez, E., Elkins, R. B. and Castagnoli, S. P. 2016. Integration of acibenzolar-S-methyl with antibiotics for protection of pear and apple from fire blight caused by *Erwinia amylovora*. *Crop Prot.* 88: 149-154.
- Jones, A. L. and Schnabel, E. L. 2000. The development of streptomycin-resistant strains of *Erwinia amylovora*. CABI Publishing, Wallingford, UK. 235-251 pp.
- Lee, M. S., Lee, I., Kim, S. K., Oh, C.-S. and Park, D. H. 2018. In vitro screening of antibacterial agents for suppression of fire blight disease in Korea. *Res. Plant Dis.* 24: 41-51. (In Korean)
- 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^R*) strains of *Erwinia amylovora* suggests that dissemination of two genotypes is responsible for

- the current distribution of Sm^R *E. amylovora* in Michigan. *Phytopathology* 101: 182-191.
- McGhee, G. C. and Sundin, G. W. 2011. Evaluation of kasugamycin for fire blight management, effect on nontarget bacteria, and assessment of kasugamycin resistance potential in *Erwinia amylovora*. *Phytopathology* 101: 192-204.
- McManus, P. S. and Jones, A. L. 1994. Epidemiology and genetic analysis of streptomycin-resistant *Erwinia amylovora* from Michigan and evaluation of oxytetracycline for control. *Phytopathology* 84: 627-633.
- McManus, P. S., Stockwell, V. O., Sundin, G. W. and Jones, A. L. 2002. Antibiotic use in plant agriculture. *Annu. Rev. Phytopathol.* 40: 443-465.
- Miller, T. D. and Schroth, M. N. 1972. Monitoring the epiphytic population of *Erwinia amylovora*. *Phytopathology* 62: 1175-1182.
- Palmer, E. L., Teviotdale, B. L. and Jones, A. L. 1997. A relative of the broad-host-range plasmid RSF1010 detected in *Erwinia amylovora*. *Appl. Environ. Microbiol.* 63: 4604-4607.
- Pedroncelli, A. and Puopolo, G. 2023. This tree is on fire: a review on the ecology of *Erwinia amylovora*, the causal agent of fire blight disease. *J. Plant Pathol.* Online publication. <https://doi.org/10.1007/s42161-023-01397-y>.
- Shrestha, R., Lee, S. H., Hur, J. H. and Lim, C. K. 2005. The effects of temperature, pH, and bactericides on the growth of *Erwinia pyrifoliae* and *Erwinia amylovora*. *Plant Pathol J.* 21: 127-131.
- Spickler, C., Brunelle, M.-N. and Brakier-Gingras, L. 1997. Streptomycin binds to the decoding center of 16 S ribosomal RNA. *J. Mol. Biol.* 273: 586-599.
- Stockwell, V. O. and Duffy, B. 2012. Use of antibiotics in plant agriculture. *Rev. Sci. Tech.* 31: 199-210.
- Sundin, G. W. and Wang, N. 2018. Antibiotic resistance in plant-pathogenic bacteria. *Annu. Rev. Phytopathol.* 56: 161-180.
- Thomson, S. V. 1986. The role of the stigma in fire blight infections. *Phytopathology* 76: 476-482.
- Van der Zwet, T., Orolaza-Halbrendt, N. and Zeller, W. 2012. Fire blight : history, biology, and management. APS Press, St. Paul, MN, USA. 421 pp.
- Vanneste, J. L. 2000. Fire blight: the disease and its causative agent, *Erwinia amylovora*. CABI Publishing, New York, NY, USA.
- Wiegand, I., Hilpert, K. and Hancock, R. E. 2008. Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances. *Nat. Protoc.* 3: 163-175.
- Yuan, X., Gdanetz, K., Outwater, C. A., Slack, S. M. and Sundin, G. W. 2023. Evaluation of plant defense inducers and plant growth regulators for fire blight management using transcriptome studies and field assessments. *Phytopathology* 113: 2152-2164.