

지리적 기원이 다른 *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* 균주들의 표현형적 특성

최은진¹ · 이영선¹ · 김경희² · 고영진² · 정재성^{1*}

¹순천대학교 생물학과, ²순천대학교 식물학과

Phenotypic Characteristics of *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* Strains from Different Geographic Origins

Eun Jin Choi¹, Young Sun Lee¹, Gyoung Hee Kim², Young Jin Koh², and Jae Sung Jung^{1*}

¹Department of Biology, ²Department of Plant Medicine, Suncheon National University, Suncheon 540-950, Republic of Korea

(Received July 3, 2014 / Accepted August 5, 2014)

Pseudomonas syringae pv. *actinidiae* is the causal agent of bacterial canker in kiwifruit (genus *Actinidia*). Multilocus sequence analysis of seven housekeeping and 11 type III effector genes differentiated the virulent *P. syringae* pv. *actinidiae* isolates worldwide into three groups designated as Psa1-Psa3. In this work, a total of 12 *P. syringae* pv. *actinidiae* strains, including three Psa1, three Psa2, three Psa3 strains isolated from Korea and three Psa3 strains from Italy, were compared based on their phenotypic properties. Strains with different geographic origins had unique growth patterns as demonstrated by growth rate at several temperatures; all tested strains exhibited maximum growth at temperatures below 22°C, while the growth of Psa3 strains was completely inhibited above 30°C. Psa3 strains isolated from Korea had longer lag phases than the Psa3 strains from Italy. The Psa2 strains were different from Psa1 and Psa3 strains in the API 20NE test, in which the Psa2 strains could not utilize potassium gluconate, capric acid and trisodium citrate. Psa3 strains isolated from Korea could hydrolyze esculin. The API ZYM test showed that β-glucosidase activity was detected only from Psa3 strains. The strains belonging to the three Psa groups differed with regard to their susceptibility to ampicillin, novobiocin, and oleandomycin.

Keywords: *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae*, bacterial canker, kiwifruit, phenotype

Pseudomonas syringae pv. *actinidiae*는 참다래 속(genus *Actinidia*) 식물에 궂양병(canker)을 일으키는 원인세균이다. 참다래 궂양병은 늦겨울에서 이른 봄에 이르는 시기에 어린 가지에 마름 증세로 나타내거나 주지나 주간부의 껍질이 갈라지면서 흰색 또는 붉은색의 유출액이 흘러내리는 증세를 보인다. 잎에서는 연두색이나 노란색으로 둘러싸인 불규칙한 질은 갈색 점무늬 증상이 나타난다. 궂양병은 참다래에 가장 치명적인 질병 중 하나로 적절한 방제가 이루어지지 않을 경우 나무가 고사 되고 과수원 전체가 폐원되는 사례로 이어지기도 한다(Vanneste *et al.*, 2011; Bastras and Karakaya, 2012; Koh *et al.*, 2012).

이 병원균은 1989년 일본에서 처음 보고되었고(Takikawa *et al.*, 1989) 이어 우리나라(Koh *et al.*, 1994)와 이탈리아(Scotichini, 1994)에서 보고되었다. 참다래 궂양병의 원인균이 *P. syringae* pv. *actinidiae*로 동정된 이래 우리나라와 일본에서는 많은 참다

래 과수원이 궂양병에 의해 폐원되는 등 막대한 경제적 피해가 발생하였으나, 동일한 세균에 의한 궂양병이지만 이탈리아에서는 비교적 경미한 증세만 보였을 뿐 궂양병에 의한 경제적 피해는 크지 않았다. 그러나 2008년부터 종전과 달리 심각한 증상을 일으키는 궂양병이 이탈리아 중부지역으로부터 발생하여 참다래 과수원을 폐원시키면서 빠른 속도로 퍼져 커다란 피해를 입히고 있다(Ferrante and Scortichini, 2009). rep-PCR과 다중 염기서열 분석(MLSA; multilocus sequence analysis) 결과 이 세균 집단은 *P. syringae* pv. *actinidiae*에 속하지만 일본과 한국에서 분리된 균주 뿐 아니라 종전에 이탈리아에서 분리된 균주와도 다른 집단인 것으로 나타났다(Ferrante and Scortichini, 2010). 이와 같이 병원성이 강한 *P. syringae* pv. *actinidiae* 균주는 이탈리아에서 처음 발견된 이후 포르투갈(Balestra *et al.*, 2010), 스페인(Balestra *et al.*, 2011), 프랑스(Vanneste *et al.*, 2011), 터키(Bastas and Karakaya, 2012) 등 유럽의 다른 나라 뿐 아니라 뉴질랜드(Everett *et al.*, 2011)와 칠레(Anonymous, 2011)에서도 보고되고 있어 현재 궂양병은 전 세계적으로 참다래 산업

*For correspondence. E-mail: jjung@sunchon.ac.kr; Tel.: +82-61-750-3616; Fax: +82-61-750-5469

Table 1. *P. syringae* pv. *actinidiae* strains used in this study

Psa group	Strain	Geographic origin	Isolated year	Host plant
Psa1	KW11	Japan	1984	<i>Actinidia deliciosa</i>
	SUPP319		1989	
	SUPP320		1989	
	CJW7		1999	
Psa2	KBE9	Korea	2008	<i>A. deliciosa</i>
	KBE29		2011	
	SYS1		2011	
Psa3	SYS2	Korea	2011	<i>A. chinensis</i>
	SYS4		2011	
	IHL1		2011	
Psa3	IVZT1	Italy	2011	<i>A. chinensis</i>
	IKB4		2011	

의 가장 큰 위협 요인으로 대두 되고 있다(Vanneste, 2012).

P. syringae pv. *actinidiae* 균주들 사이에 유전적 변이가 있다는 사실은 우리나라 균주와 일본 균주가 서로 다른 식물독소를 생산하는 것으로 보고됨으로써 처음 알게 되었다. 이 병원균의 대표균주를 포함한 일본균주는 식물독소인 phaseolotoxin을 생산하는데 반해 우리나라 균주는 coronatine을 생산하였다(Han et al., 2003). 이탈리아에서 분리된 균주들을 대상으로 분자적 및 표현형적 특성을 비교한 결과 1992년 분리된 이탈리아 균주와 일본 균주는 유전적으로 동일한 것으로 나타났으나 2008년 이후 분리된 이탈리아 균주와는 서로 다른 것으로 나타났다. 특히 새로운 이탈리아 균주는 식물독소로 phaseolotoxin과 coronatine

어느 것도 생산하지 않았다(Ferrante and Scortichini, 2010). 따라서 식물독소의 생산 측면에서 볼 때 *P. syringae* pv. *actinidiae* 집단은 적어도 일본 균주, 한국 균주 및 새로 나타난 이탈리아 균주의 세 그룹으로 나누어짐을 알 수 있었다.

Chapman 등(2012)은 지리적 기원이 다른 더 많은 수의 균주를 대상으로 7개 필수 유전자에 대한 MLSA를 실시하였다. 그 결과 전 세계에서 분리된 병원성 *P. syringae* pv. *actinidiae* 균주는 계통발생학적으로 3개의 그룹으로 나누어 졌다. 즉, 일본 균주와 1992년 분리된 이탈리아 균주, 우리나라에서 분리된 균주, 그리고 2008년 이탈리아에서 처음 발견된 이후 전 세계적으로 문제가 되고 있는 새로운 균주의 3그룹으로 나누어 졌고, 각 그룹을 각각 Psa1, Psa2 및 Psa3로 명명하였다. 흥미로운 점은 Psa2 균주는 우리나라에서만 분리되고 있다는 점이다.

본 연구진은 1990년대 이후 우리나라에서 발생하는 참다래 궤양병을 지속적으로 모니터링하여 왔고, 병원균 균주를 분리하여 왔다. 유전적 특성을 분석한 결과 우리나라에서 분리된 모든 균주는 Psa2에 속하였다. 그러나 2011년에 궤양병에 감염된 우리나라의 과수원 한 곳으로부터 지금까지 발견된 Psa2가 아닌 새로운 유형의 *P. syringae* pv. *actinidiae* 균주가 분리된 바 있다. 이 균주는 MLSA 및 rep-PCR 등의 유전적 분석을 통해 Psa3에 속하는 것을 확인할 수 있었다. 그러나 rep-PCR 결과 우리나라 Psa3 균주와 이탈리아 균주는 증폭된 DNA 양상이 매우 유사하였다. 다만 이탈리아 균주에서 나타나지 않는 530-bp의 DNA가 우리나라 균주에서 증폭되어 두 균주가 유전적으로 매우 가깝지만 완전하게 같지는 않다는 것을 알 수 있었다(Koh et al., 2014). 그러므로 현재 우리나라에서는 Psa2와 함께 이탈리아 균주와 유전적으로 차이가 나는 Psa3 균주가 참다래 궤양병을 일으키고 있다.

P. syringae pv. *actinidiae* 균주를 Psa1, 2, 3로 그룹화한 것은 균주들 사이의 유전적 차이에 따라 이루어진 것으로 각 그룹에 속한 균주들 사이의 표현형적 차이에 대해서는 보고된 바 없다. 본 연구에서는 Psa1에 속하는 일본 균주, Psa2인 우리나라 균주, 우리나라와 이탈리아에서 각각 분리된 Psa3 균주들의 표현형을 조사하여 이를 비교하였다.

실험에 사용된 균주 목록은 Table 1과 같다. *P. syringae* pv. *actinidiae*의 대표균주인 KW11을 포함한 일본에서 분리된 Psa1에 속하는 균주 3개, 우리나라에서 분리된 Psa2에 속하는 균주 3개, Psa3 그룹에 속하는 균주로 우리나라와 이탈리아에서 분리된 균주 각각 3개씩을 실험에 사용하였다.

각 그룹에 속하는 균주들의 성장곡선을 비교하기 위해, 신선하게 배양된 균주의 OD₆₀₀에서의 흡광도를 0.5 되게 맞춘 뒤 배양액 200 µl를 50 ml의 PS 배지(peptone 20 g, sucrose 20 g/L)에 접종한 후 각각의 온도에서 배양하였다. 매 6시간마다 OD₆₀₀에서 배양액의 흡광도를 측정하였으며 각 Psa 그룹에 속한 균주 3개씩을 대상으로 동일한 실험을 반복하였다. 각 그룹의 균주들은 성장곡선에서 서로 비슷한 양상을 보였으며 그 중 한 균주의 성장곡선만을 Fig. 1에 나타내었다. 성장곡선을 비교했을 때 모든 균주들은 22°C 이하 온도에서 최대의 성장을 보였으며 온도가 상승함에 따라 성장이 둔화됨을 알 수 있었다. 이러한 사실은

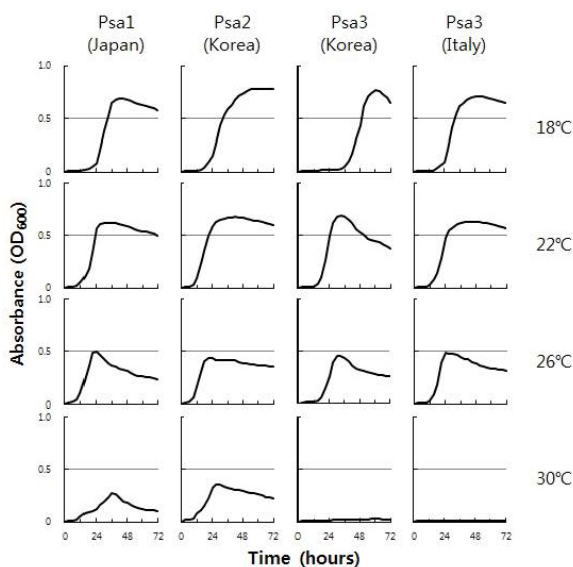


Fig. 1. Growth of *P. syringae* pv. *actinidiae* strains at 18°C, 22°C, 26°C, and 30°C. Strains were grown in peptone-sucrose broth by shaking at 250 rpm. The cell growth was determined by measuring optical density of the cell culture at 600 nm. Psa1 (Japan), strain KW11; Psa2 (Korea), strain CJW7; Psa3 (Korea), strain SYS1; Psa3 (Italy), strain IHL1.

Table 2. Characteristics that differentiate Psa groups

Characteristic	Psa1 (Japan)	Psa2 (Korea)	Psa3 (Korea)	Psa3 (Italy)
Enzyme activities (API ZYM):				
β-Glucosidase	-	-	+	w
Hydrolysis of				
Esculin	-	-	+	-
Assimilation of				
Potassium gluconate	+	-	+	+
Capric acid	+	-	+	+
Trisodium citrate	+	-	+	+
Susceptibility to:				
Ampicillin	-	+	+	+
Novobiocin	+	+	+	-
Oleandomycin	+	-	-	+

+, Positive; -, negative; w, weakly positive

Strains: 1, Psa1 (KW11, SUPP319, SUPP320); 2, Psa2 (CJW7, KBE9, KBE29); 3, Psa3 (Korean strains: SYS1, SYS2, SYS4); 4, Psa3 (Italian strains: IHL1, IVZT1, IKB4). All strains were positive for acid phosphatase, alkaline phosphatase, leucine arylamidase, naphthol-AS-BI-phosphohydrolase, esterase (w), esterase lipase (w), hydrolysis of gelatin, assimilation of L-arabinose, D-glucose, D-mannose, D-mannitol, malic acid and susceptibility to (μg/disc) amikacin (30), carbenicillin (100), chloramphenicol (30), erythromycin (15), gentamicin (10), kanamycin (30), nalidixic acid (30), neomycin (30), polymyxin B (300 IU), rifampin (5), streptomycin (10), tetracycline (30). All strains were negative for NO₃⁻, N-acetyl-glucosamine, arginine dihydrolase, cystine arylamidase, α-chymotrypsin, α-fucosidase, α-galactosidase, β-galactosidase, α-glucosidase, β-glucuronidase, indole production, lipase, α-mannosidase, para-nitrophenyl-β-D-galactopyranosidase, trypsin, urease, valine arylamidase, assimilation of N-acetyl-β-glucosamine, adipic acid, D-maltose, phenylacetic acid, fermentation of glucose and susceptibility to (μg/disc) lincomycin (15), penicillin (10 IU), vancomycin (30).

참다래 궤양병이 1-2월에 처음 시작되어 4-5월에 붉은 세균 유출액이 흘러나오면서 진행되지만 온도가 올라가는 6월에는 병징이 나타나지 않는 일반적인 참다래 궤양병의 증세(Koh *et al.*, 1994)와 일치한다. Psa1과 Psa2 균주 사이에는 뚜렷한 차이를 발견할 수 없었다. 다만, Psa1이 Psa2 균주 보다 짧은 정체를 거쳐 사멸기로 들어 가는 특성을 보였다. Psa3 균주는 30℃에서 전회 성장이 이루어지지 않는 점에서 Psa1과 Psa2 균주와 구별되었다. 그러나 실제로 Psa1이나 Psa2 균주 보다 Psa3 균주가 기온이 높아짐에 따라 병원성이 더 약해지는지 여부는 확인되어야 할 문제이다. 한편, 같은 Psa3 그룹에 속하는 균주 중 SYS1 등 우리나라 Psa3 그룹 균주와 IHL1을 비롯한 이탈리아 Psa3 그룹 균주는 유사한 성장패턴을 보였으나, SYS1의 지연기가 IHL1보다 유의성 있게 연장되는 것으로 나타났다. 특히 18℃에서 IHL1의 지연기는 약 12 h였으나 SYS1은 그보다 2배 정도 긴 약 24 h였다. 이러한 현상은 22℃와 26℃에서도 동일한 양상으로 나타났다.

생리·생화학적 특성은 API 20NE와 API ZYM kit (bioMérieux, France)를 사용하여 조사하였으며 실험방법은 제조사가 제시한 방법을 따랐다. 요약하면, API 20NE의 경우 NaCl 0.85% 배지 2 ml에 세균 집락을 풀어 혼탁도를 0.5 McFarland 되게 한 다음 NO₃부터 PNPG까지 튜브 부분을 기포 없이 채웠다. 이 희석액

200 μl를 API AUX 배지에 넣어 GLU부터 PAC까지 튜브와 큐플을 모두 채워서 접종하였다. 접종 후 GLU, ADH, URE 큐플에는 mineral oil을 넣어 혐기성 조건을 만들어 준 다음 배양판 뚜껑을 닫고 29℃에서 24 h 배양하였다. 그 결과 네 그룹 중 esculin을 가수분해하는 능력은 우리나라에서 분리된 Psa3 균주인 SYS1, SYS2, SYS4에서만 나타났다. 한편, 최소배지에서 각각의 기질을 유일한 탄소원으로 이용할 수 있는지 여부를 판별하는 실험에서 우리나라에서 분리된 Psa2 그룹 균주인 CJW7, KBE9, KBE29가 Psa1 및 Psa3 그룹의 균주들과 다른 특성을 보였다. 즉, Psa2 균주들은 potassium gluconate, capric acid, trisodium citrate를 이용하지 못하였다(Table 2).

API ZYM의 경우는 증류수 2 ml에 세균 집락을 풀어 5-6 McFarland로 혼탁도를 맞춘 뒤 각 큐플에 65 μl씩 접종하여 37℃에서 4 h 배양하였다. 배양이 끝난 후 각 큐플에 ZYM A와 ZYM B 시약을 한 방울씩 넣어 5분 후 결과를 판독하였다. 그 결과 Psa3에 속하는 균주들은 β-glucosidase 활성을 보였으나 Psa1과 Psa2에 속하는 균주들에서는 효소활성이 없었다(Table 2).

항생제에 대한 감수성 여부는 디스크 확산법을 사용하여 조사하였다. 시판되는 항생제 디스크(BBL Becton Dickinson, USA)를 사용하였으며 사용된 항생제 종류 및 농도(별도 표시가 없는 한 디스크 당 μg)는 다음과 같다: amikacin (30), ampicillin (10), carbenicillin (100), chloramphenicol (30), erythromycin (15), gentamicin (10), kanamycin (30), lincomycin (15), nalidixic acid (30), neomycin (30), novobiocin (30), oleandomycin (15), penicillin (10 IU), polymyxin B (300 IU), rifampin (5), streptomycin (10), tetracycline (30), vancomycin (30). 전체 18개 항생제에 대해 감수성을 조사 한 결과 조사된 모든 균주가 penicillin, vancomycin 및 lincomycin에 대하여 저항성을 나타내었다. 균주에 따라 감수성 여부에서 차이를 보인 항생제는 ampicillin, novobiocin과 oleandomycin이었다. 그 결과는 Table 2와 같다.

유전적인 면에서 볼 때 Psa1, Psa2 및 Psa3 그룹에 속하는 균주들 간에는 서로 차이가 나는 것이 분명하지만(Chapman *et al.*, 2012), 동일한 Psa 그룹에 속하는 균주들 사이에는 유전적 차이는 없을 것으로 생각되었다. 그러나 Psa3 그룹에 속하는 균주들 중 지리적 기원이 다른 균주들의 유전체를 분석한 결과 균주 사이에 유전적 차이가 있음이 밝혀졌다(Mazzaglia *et al.*, 2012). 이러한 차이점은 중심 유전체(core genome) 부위에서 보다 integrative conjugative elements (ICEs) 같은 유전체 섬(genomic island)에서 나타났다. ICE 부위의 염기서열 분석을 통해 현재 이탈리아를 비롯한 유럽에서 발병되고 있는 균주는 뉴질랜드 및 칠레 균주와 서로 다르며 이들 모두가 중국에서 기원한 서로 다른 클론이라는 사실이 밝혀졌다(Butler *et al.*, 2013b). 최근 우리나라에서 분리된 Psa3 균주의 유전체를 분석한 결과 우리나라 균주인 SYS1, SYS2, SYS4는 지금까지 다른 나라 균주에서 발견된 것과 다른 ICE를 가지고 있는 것으로 밝혀 졌다(Butler *et al.*, 2013a).

유전체 연구를 바탕으로 Psa3 중 유럽 균주와 뉴질랜드 균주에 특이적인 PCR 프라이머가 각각 개발된 바 있다(Balestra *et al.*, 2013). 그러나 우리나라에서 분리된 Psa3 균주는 두 프라이머 쌍 모두에서 예상되었던 크기의 DNA 절편을 증폭하지 못하

였다(자료 미제시). 이러한 결과는 우리나라 Ps3 균주가 현재 유럽이나 뉴질랜드에서 격발하고 있는 궂양병 균주와 유전적으로 서로 다르다는 것을 말해주며, 본 연구에서 나타난 표현형의 차이는 이러한 사실을 다시 한번 확인시켜 주었다.

지금까지 밝혀진 참다래 궂양병 균주들의 유전체 분석과 본 연구에서 제시된 표현형의 차이를 연관시켜 균주들 사이의 병원성 정도가 차이 나는 원인을 구명하고, 궂양병 병원균 *P. syringae* pv. *actinidiae*의 기원과 전파 및 방제에 관한 연구가 앞으로 진행되어야 할 것이다.

적 요

Pseudomonas syringae pv. *actinidiae*는 참다래 속(genus *Actinidia*) 식물에 궂양병을 일으키는 원인세균이다. 7개의 필수 유전자와 11개의 타입 III 효소기 유전자에 대한 다중염기서열 분석을 통해 전 세계 여러 곳에서 분리된 병원성 균주들은 세 그룹으로 나눌 수 있었고 각각 Ps1-Ps3 그룹으로 명명되었다. 본 연구에서는 3개의 Ps1, 3개의 Ps2 및 우리나라와 이탈리아에서 분리된 3개씩의 Ps3 균주 등 총 12 균주를 대상으로 그룹별 표현형을 비교하였다. 그 결과 모든 그룹의 균주가 22℃ 이하에서 최대의 성장을 보였으며, Ps3 균주들은 30℃ 이상의 온도에서 성장이 정지되었다. 또한 우리나라의 Ps3 균주의 지연기가 이탈리아 Ps3 균주 보다 긴 특징을 보였다. API 20NE 시험에서 Ps2 균주는 potassium gluconate, capric acid 및 trisodium citrate를 이용하지 못하는 점에서 Ps1과 Ps3 균주와 구별되었다. 다른 그룹과 달리 우리나라 Ps3 균주는 esculin을 가수분해할 수 있었다. API ZYM 시험에서는 Ps3에 속하는 균주들에서만 β-glucosidase 활성이 있는 것으로 나타났다. Ps3 그룹에 따라 ampicillin, novobiocin 및 oleandomycin 등의 항생물질에 대한 민감성 양상이 서로 달랐다.

감사의 말

본 논문은 농촌진흥청 공동연구사업(과제번호: PJ009326)의 지원에 의해 이루어진 것임.

References

- Anonymous.** 2011. Bacterial canker, kiwifruit-Chile: First report (O'Higgins, Maule). ProMed mail: International Society for Infectious Disease.
- Balestra, G.M., Renzi, M., and Mazzaglia, A.** 2010. First report of bacterial canker of *Actinidia deliciosa* caused by *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* in Portugal. *New Dis. Rep.* **22**, 10.
- Balestra, G.M., Renzi, M., and Mazzaglia, A.** 2011. First report of *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* on kiwifruit plants in Spain. *New Dis. Rep.* **24**, 10.
- Balestra, G.M., Taratufolo, M.C., Vinatzer, B.A., and Mazzaglia, A.** 2013. A multiplex PCR assay for detection of *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* and differentiation of populations with different geographic origin. *Plant Dis.* **97**, 472-478.
- Bastas, K. and Karakaya, A.** 2012. First report of bacterial canker of kiwifruit caused by *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* in Turkey. *Plant Dis.* **96**, 452.
- Butler, M.I., Jung, J.S., Kim, G.H., Lamont, I., Stockwell, P., Koh, Y.J., and Poulter, R.T.M.** 2013a. Genomic features of *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* recently isolated in Korea. p. 84. Abstr. 1st International Symposium on Bacterial Canker of Kiwifruit (Psa).
- Butler, M.I., Stockwell, P.A., Black, M.A., Day, R.C., Lamont, I.L., and Poulter, R.T.M.** 2013b. *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* from recent outbreaks of kiwifruit bacterial canker belong to different clones that originated in China. *PLoS ONE* **8**, e57464.
- Chapman, J.R., Taylor, R.K., Weir, B.S., Romberg, M.K., Vanneste, J.L., Luck, J., and Alexander, B.J.R.** 2012. Phylogenetic relationships among global populations of *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae*. *Phytopathology* **102**, 1034-1044.
- Everett, K.R., Taylor, R.K., Romberg, M.K., Rees-George, J., Fullerton, R.A., Vanneste, J.L., and Manning, M.A.** 2011. First report of *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* causing kiwifruit bacterial canker in New Zealand. *Aust. Plant Dis. Notes* **6**, 67-71.
- Ferrante, P. and Scortichini, M.** 2009. Identification of *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* as causal agent of bacterial canker of yellow kiwifruit (*Actinidia chinensis* Planchon) in central Italy. *J. Phytopathol.* **157**, 768-770.
- Ferrante, P. and Scortichini, M.** 2010. Molecular and phenotypic features of *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* isolated during recent epidemics of bacterial canker on kiwifruit (*Actinidia chinensis*) in central Italy. *Plant Pathol.* **59**, 954-962.
- Han, H.S., Koh, Y.J., Hur, J.S., and Jung, J.S.** 2003. Identification and characterization of coronatine-producing *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae*. *J. Microbiol. Biotechnol.* **13**, 110-118.
- Koh, H.S., Kim, G.H., Lee, Y.S., Koh, Y.J., and Jung, J.S.** 2014. Molecular characteristics of *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* strains isolated in Korea and a multiplex PCR assay for haplotype differentiation. *Plant Pathol. J.* **30**, 96-101.
- Koh, Y.J., Cha, B.J., Chung, H.J., and Lee, D.H.** 1994. Outbreak and spread of bacterial canker in kiwifruit. *Kor. J. Plant Pathol.* **10**, 68-72.
- 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.
- Mazzaglia, A., Studholme, D.J., Taratufolo, M.C., Cai, R., Almeida, N.F., Goodman, T., Guttman, D.S., Vinatzer, B.A., and Balestra, G.M.** 2012. *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* (PSA) isolates from recent bacterial canker of kiwifruit outbreaks belong to the same genetic lineage. *PLoS ONE* **7**, e36518.
- Scortichini, M.** 1994. Occurrence of *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* on kiwifruit in Italy. *Plant Pathol.* **43**, 1035-1038.
- Takikawa, Y., Serizawa, S., Ichikawa, T., Tsuyumu, S., and Goto, M.** 1989. *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* sp. nov., the causal bacterium of canker in kiwifruit in Japan. *Ann. Phytopathol. Soc. Japan* **55**, 437-444.
- Vanneste, J.L.** 2012. *P. syringae* pv. *actinidiae* (Psa): a threat to the New Zealand and global kiwifruit industry. *N. Z. J. Crop Horticul. Sci.* **40**, 265-267.
- Vanneste, J.L., Poliakov, F., Audusseau, C., Cornish, D.A., Pailard, S., Rivoal, C., and Yu, J.** 2011. First report of *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae*, the causal agent of bacterial canker of kiwifruit in France. *Plant Dis.* **95**, 1311.