



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

석사학위논문

당근 세균잎마름병에 대한
효과적 방제 수단

강현수

제주대학교 대학원
농학과

2024년 2월



당근 세균잎마름병에 대한 효과적 방제 수단

이 논문을 농학 석사 학위논문으로 제출함

강 현 수

제주대학교 대학원

농학과

지도 교수 전용철

강현수의 농학 석사 학위논문을 인준함

2023년 12 월

심사위원장
위 원
위 원

김 주 성
박 원 표
전 용 철

金 柱 成
朴 元 杓
田 溶 哲

목 차

List of Figures v

List of Tables vii

ABSTRACT 1

I. 서 론 2

II. 재료 및 방법 6

i. 당근 잎에서 방제 효과 실험

1. 당근 식물체 및 재배조건
2. 식물병원성 세균 및 배양조건
3. 당근 세균잎마름병균에 대한 항균활성 실험
4. 당근 세균잎마름병 방제 효과 평가
5. 장방출주사현미경을 이용한 당근 세균잎마름병균을 접종한 당근 잎 관찰

ii. 종자에 병원균 접종 및 방제 효과 실험

1. 당근 종자에 당근 세균잎마름병균 접종 시험

2. 당근 종자에 접종한 균 당근 잎에서 재분리
3. 분리세균 DNA 추출
4. PCR 증폭
5. 당근 종자에 방제 효과 평가

iii. 통계분석

III. 결 과 18

i. 당근 세균잎마름병 방제 효과 검정

1. 시판 농약과 식물근권세균의 당근 세균잎마름병균에 대한 항균활성
2. 생체 실험을 통한 시판 농약과 식물근권세균의 당근 세균잎마름병에 대한 방제 효과
3. 장방출주사현미경을 이용한 시판 농약에 의한 당근 세균잎마름병 방제 효과 검정

ii. 종자에서 방제 효과 검정

1. 당근 종자 접종을 통한 발병도 및 세균 분포
2. 분리 세균의 분자생물학적 동정
3. 종자를 통한 시판 농약의 당근 세균잎마름병에 대한 방제 효과

IV. 고 찰 37

V. 적 요 41

VI. 참 고 문 헌 43

List of Figures

- Fig. 1. Growth inhibitory effect by water (A), streptomycin (B), oxolinic acid (C) and rhizobacterial strain *B. gladioli* MRL408-3 (D) against *X. hortorum* pv. *carotae*. The concentration of the agrochemicals was 1,000 ppm each. The diameter of the inhibition zone by streptomycin, oxolinic acid and *B. gladioli* MRL408-3 were presented (E).
..... 19
- Fig. 2. Disease severity on carrot leaves untreated (A), pre-treated with streptomycin (B), oxolinic acid (C), kasugamycin (D), copper hydroxide (E), copper sulfate basic (F) and *B. gladioli* MRL408-3 (G) after inoculation with *X. hortorum* pv. *carotae* suspension of 2.2 cfu/ml. The photographs have been taken at 4 weeks after the inoculation with *X. hortorum* pv. *carotae*. 21
- Fig. 3 The level of disease severity on carrot leaves untreated and pre-treated with agrochemicals and rhizobacterial strain *B. gladioli* MRL408-3 after inoculation with *X. hortorum* pv. *carotae* suspension of 2.2 cfu/ml. 22
- Fig. 4. Photographs of scanning electron microscopy on healthy carrot leaves without bacterial inoculation (A) and untreated (B), pre-treated with streptomycin (C), oxolinic acid (D), kasugamycin (E) and copper hydroxide (F) after inoculation with *X. hortorum* pv. *carotae* at 3 days. Scale bar was 20 μ m. 25
- Fig. 5. Disease symptom on carrot leaves pre-treated on the seeds by water (A) and inoculated with suspension of *X. hortorum* pv. *carotae* of 2.2×10^6 (B), 2.2×10^7 (C), and 2.2×10^8 (D). The level of disease severity was shown (E) from the carrot seeds with different concentration of *X. hortorum* pv. *carotae*. The photographs have been taken at 5 weeks after the inoculation with *X. hortorum* pv. *carotae*. 29

Fig. 6. Colonies on the TSA medium isolated from the carrot leaves of which seeds were pre-treated with water (A), pre-inoculated with suspension of *X. hortorum* pv. *carotae* of 2.2×10^6 (B), 2.2×10^7 (C), and 2.2×10^8 (D). The photographs have been taken at 2 days after the inoculation with *X. hortorum* pv. *carotae*. 30

Fig. 7. PCR amplification product with specific primer 3S targeting *X. hortorum* pv. *carotae*. Lanes: 1-kb DNA ladder (BIOFACT, Co. Ltd.) (M), *X. hortorum* pv. *carotae* (*Xhc*), bacterial strains suspected of being *X. hortorum* pv. *carotae* (1: 2.2×10^6 ; 2: 2.2×10^7 ; 3: 2.2×10^8). The arrow indicates 350-bp. 33

Fig. 8. Carrot seeds that pre-treated with water (A) and pre-treated with streptomycin (B), and oxolinic acid (C) after inoculation with *X. hortorum* pv. *carotae* suspension of 2.2×10^8 cfu/ml. The length of germ tube (D) and germination rate (E) of the seeds pre-treated with water and pre-treated with streptomycin, and oxolinic acid were presented. Bar is 5 mm. 35

List of Tables

Table 1. Agrochemicals used in this study.	9
Table 2. Rhizobacteria used in this study.	10
Table 3. Number of bacterial cells on the carrot leaves pre-treated with various agrochemicals after inoculated with <i>X. hortorum</i> pv. <i>carotae</i>	26
Table 4. Number of bacterial colonies on the TSA medium inoculated with different concentration of <i>X. hortorum</i> pv. <i>carotae</i> on carrot seeds at 35 days after planting.	31

ABSTRACT

Bacterial blight of carrot caused by *Xanthomonas hortorum* pv. *carotae* (*Xhc*) is one of the serious diseases of carrot, of which control measures has not been still established in the domestic farm. In this study, in order to select effective sterilizer for bacterial blight of carrots, three antibiotics such as streptomycin, oxolinic acid, kasugamycin, two copper compounds like copper hydroxide and copper sulfate basic and three rhizobacteria *Burkholderia gladioli* MRL408-3, *Pseudomonas fluorescens* TRH415-2 and *Bacillus cereus* KRY505-3 were selected to investigate their direct antibacterial effects using artificial media, aiming to identify effective pesticides against *Xhc*. Among them, treated medium with antibiotics such as streptomycin, oxolinic acid, and the antagonistic rhizobacteria MRL408-3 were formed inhibition zone. The agrochemicals and the rhizobacteria MRL408-3, which showed antibacterial effects on carrot leaves, pre-treated on the carrot leaves and then inoculated with *Xhc*. High control effects were shown on the carrot leaves pre-treated with both streptomycin and oxolinic acid. Scanning electron microscopy images of the carrot leaf surfaces showed that the population of bacteria decreased significantly on leaves pre-treated with streptomycin and oxolinic acid. To control bacterial leaf blight, a seed-borne disease the agrochemicals which showed antibacterial effects on carrot leaves, pre-treated on the carrot seeds, and then inoculated with *Xhc*. Among them, high control effects were shown on the carrot seeds pre-treated with in order oxolinic acid and streptomycin. From these results, it can be inferred that antibiotics like streptomycin and oxolinic acid exhibit superior control effects compared to other agents and antibiotics like streptomycin and oxolinic acid exhibit superior control effects on carrot seeds compared to other agents. This study provides valuable insights towards establishing an effective control system for bacterial blight of carrot.

I. 서론

당근(*Daucus carota* L. subsp. *sativus*)은 전 세계적으로 중요한 채소작물 중 하나로, 2021년 기준 국내 당근 재배면적은 약 2,976 ha와 생산량 112,105 톤으로 보고되었다(KOSIS, 2021). 세계적으로 당근에 문제가 되고 있는 주요 세균병에는 잎마름병(*Xanthomonas hortorum* pv. *carotae*), 무름병(*Dickeya Dadantii*, *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*, *Pectobacterium atrosepticum*), 꽃썩음병(*Pseudomonas viridiflava*), 근두암종병(*Rhizobium radiobacter*), 털뿌리병(*Rhizobium rhizogenes*), 유화병(*Bacillus popilliae* var. *rhopaea*), 더뎡이병(*Streptomyces scabies*)이 보고되어 있다(Kendrick, 1934; Janse, 1988; Gardan 등, 2003; Effantin 등, 2011; Almeida 등, 2013; Bastas 등, 2021; Tekiner와 Kotan, 2022). 국내에서 당근에 발생하는 주요 병해는 모자이크병 3종(*Cucumber mosaic virus*, *Carrot red leaf virus*, *Carrot mottle virus*), 뿌리혹선충병 4종(*Meloidogyne*), 세균병인 무름병 3종(*Pectobacterium*, *Pseudomonas* 2종), 더뎡이병(*Streptomyces scabiei*) 그리고 곰팡이병 7종(*Alternaria dauci*, *Alternaria radicine*, *Cercospora carotae*, *Erysiphe heracleid*, *Fusarium* sp., *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum*)이 보고되었다(KSPP, 2009).

최근 국내에서 발견된 당근에 세균잎마름병을 일으키는 *Xanthomonas hortorum* pv. *carotae*는 미국의 캘리포니아에서 처음 보고되었으며 이후에 오리건주와 인디애나주 그리고 스페인, 터키, 일본 등 여러 나라에서 발견되었고, 국내에서도 2012년 12월에 처음 보고되었다(Kendrick, 1934; Pflieger 등, 1974; Nishiyama 등, 1979; Du Toit 등, 2014; Myung 등, 2014; Christianson 등, 2015; Bastas 등, 2021; Palomo 등, 2021).

당근 세균잎마름병은 주로 종자 생산 및 수확량 감소를 초래하는데 미국 캘리포니아의 한 재배지에서 종자 수확량 손실이 약 25% 일어났으며, 수확량 손실은 50%에 달하고 고온 다습한 지역일 경우 그 피해는 증가한다고 하였다(Kendrick, 1934; Davis, 2004; Sharma 등, 2022). 또한 당근 주요 생산 지역에서 당근 세균잎마름병으로 인한 피해액은 연간 800만 달러에서 1100만 달러에 이른다고 추정하였다(USDA, 2021). 국내에서 조사된 50개의 밭 중에서 40%의 밭에서 당근 세균잎마름병균이 발견되었으며 이후 당근 세균잎마름병이 국내에도 만연하게 된다면 이 질병으로 인한 당근 수확량 손실로 경제적 피해가 클 것으로 예상되었다(Myung 등, 2014).

X. hortorum pv. *carotae*는 1978년 *X. campestris* pv. *carotae*로 분류되었지만 분자 생물학적 동정으로 인해 1995년에 *X. hortorum* pv. *carotae*로 재분리되었다(Kimbrel 등, 2011; Dia, 2022; Dupas 등, 2023). *X. hortorum* pv. *carotae*에 의한 증상은 잎과 줄기에 불규칙한 반점이 나타나며, 이러한 반점은 암갈색을 띄고 건조하게 되어 부서지기 쉽고 종종 불규칙한 노란색의 환으로 둘러싸인다. 잎에 발생할 경우 엽선부터 말리는 증상을 나타내며, 당근에 마름병을 유발하는 *Alternaria dauci*와 *Cercospora carotae*에 의한 곰팡이병과 유사한 증상을 보이고, 이러한 증상이 심해질 경우 식물체가 고사하게 된다(Kendrick, 1934; Pflieger 등, 1974; Nishiyama 등, 1979).

세균잎마름병은 꽃과 뿌리를 통해 전파 될 수 있는데 감염된 꽃에서 생성된 당근 종자는 건전한 종자에 대해 1차 전염원이 될 수 있으며, 감염상태의 뿌리에서도 최대 1년간 잠재한다고 알려져 있다(Nishiyama 등, 1979; Kuan 등, 1985; Bastas 등, 2021). 종자전염 이외에도 기후가 덥고 습할 시 공기나 관개수 등을 통해 전파 가능하다(Gugino 등, 2004; Du Toit 등, 2005; Christianson 등, 2015).

우리나라의 당근 주재배지는 제주도이며 당근 종자가 많이 재배되고 있는 품종은 수입산 Dream 7이다(Kim 등, 2013; Kim 등, 2019). 최근 보고에 따르면 2022년

국내 당근 종자는 90%로 대부분 수입되고 있으며 주로 중국에서 수입되고 있다(Park 등, 2014; Korean Seed Association, 2022). 당근 세균잎마름병균은 종자에서 종자로 전염되는 종자전염병으로, 인공적으로 접종하였을 때와 자연적으로 감염이 된 종자 모두 종자전염이 이루어진 것이 보고되었다(Kendrick, 1934; Ark와 Gardner, 1944). 이렇게 감염된 종자를 사용하게 되면 수확량 감소, 토양 내 잔존, 질병이 나타나지 않았던 새로운 지역에 병원균 유입 등 여러 피해를 주게 된다(Umesha, 2006; Gitaitis와 Walcott, 2007). 당근 세균잎마름병균은 당근 종자 10,000립 당 10^5 cfu/seed 수준 이하에서는 발병이 되지 않으며 이 수준 이상에서는 증상이 나타나 식물의 성장을 약화시키고 종자전염하기 때문에 수확량에 심각한 손실을 초래할 수 있다(Kuan 등, 1985; Umesh 등, 1998; Kimbrel 등, 2011; Scott와 Dung, 2020).

감염된 당근 종자를 방제하기 위해 보편적으로 종자 소독에 사용되는 온탕 침지를 이용하여 소독하는 방법이 있다(Umesh 등, 1998; Scott와 Dung, 2020; Bastas 등, 2021). 하지만 이러한 방법은 많은 비용이 들며 종자 수명이 줄어들고 병원균을 완전히 박멸할 수 없기 때문에 방제에 한계가 있다(Strandberg와 White, 1989; Scott와 Dung, 2020). 그 외에 당근 세균잎마름병은 구리제와 같은 농약을 살포하는 방법으로 방제가 이루어지고 있지만 여전히 효과적인 방제는 불가능한 실정이다(Umesh 등, 1998; Du Toit 등, 2005; Christianson 등, 2015).

세균병 방제에는 가장 확실하고 빠르게 방제할 수 있는 화학적 방제를 주로 선호하며 많이 사용되고 있다(Saxena 등, 2016). 하지만 화학적 방제를 남용할 경우 저항성균이 나타날 우려가 있으며, 환경에 좋지 않은 영향을 미칠 수 있다(Serwecińska, 2020). 이를 보완하기 위해 화학농약의 대체제로 친환경적인 방법인 식물근권세균을 이용한 미생물제제와 같은 생물적 방제를 이용하기도 한다(Montesinos, 2003).

국내에서는 당근 세균잎마름병에 대한 연구가 많이 되어있지 않으며 방제 방

법이 아직 구축되어 있지 않다. 따라서 본 연구는 당근 세균잎마름병에 대한 효과적인 방제 수단을 찾기 위해 시중에 판매하는 5종의 농약과 3종의 길항근권세균을 대상으로 당근 세균잎마름병균에 대한 직접적인 항균 효과를 알아보았다. 또한 당근 잎을 대상으로 한 접종 실험을 통해 당근 세균잎마름병에 대한 살균제의 효과를 알아보고 감염 부위를 장방출주사현미경(field emission scanning electron microscopy)을 이용하여 관찰하였다. 또한 종자에 병원균을 접종하여 병징의 유무를 확인하고 분리한 균을 분자생물학적 방법을 통해 동정하였으며 종자를 대상으로 한 접종 실험을 통해 당근 세균잎마름병에 대한 시판 농약의 효과를 알아보았다.

II. 재료 및 방법

i. 당근 잎에서 방제 효과 실험

1. 당근 식물체 및 재배조건

당근은 제주 구좌에서 많이 재배되고 있는 당근 종자(cv. Dream 7)를 실험에 사용하였다(Jeon 등, 2021). 건전한 당근 종자를 임의로 30 개를 선택하여 WB-22 water bath(Daihan scientific, Wonju, Korea)에 50°C, 30 분간 담가 종자 소독을 하였다(Nega 등, 2003). 소독한 종자를 시판되고 있는 더존원예용상토(Gungon Geotec, Jincheon, Korea)를 채운 플라스틱 포트(직경 8 cm)에 1 cm 깊이로 파종하고 28±1°C, 12 시간 일광조건인 식물 배양실에서 배양하였다. 14 일 후 포트(직경 8 cm)에 건전한 식물을 선택해 아주 심기 하였으며 본 1 엽이 완전히 전개한 식물을 실험에 사용하였다.

2. 식물병원성 세균 및 배양조건

당근 세균잎마름병균인 *Xanthomonas hortorum* pv. *carotae*(JJ2001)를 국립농업

과학원 농업미생물은행(Korean Agricultural Culture Collection)으로부터 분양받아 사용하였다. 균주는 tryptic soy broth(TSB; KisanBio, Seoul, Korea)에 글리세린(glycerin)을 30% (w/v) 첨가하여 28°C에서 2 일 동안 보관한 후 -80°C에 동결하고 실험에 필요할 때마다 배양하여 사용하였다. 균 배양은 tryptic soy agar(TSA; BD Difco, Franklin Lakes, NJ, USA) 배지에 도말한 후 28°C LMI-3004PL incubator(Daihan Labtech, Namyangju, Korea)에 옮겨 2 일 동안 배양하였다. 균이 배양된 TSA 배지에 살균수 10 ml 를 넣고 멸균한 루프를 이용해 균을 풀어주어 현탁액을 만든 후 Optizen Pop Spectrophotometer(Mecasys, Daejeon, Korea)를 이용하여 세균 농도를 2.2×10^8 cfu/ml 로 조정하여 접종원으로 사용하였다.

3. 당근 세균잎마름병균에 대한 항균활성 시험

당근 세균잎마름병 방제 약제로 등록되어 시판 중인 5종의 단제 약제 streptomycin 수화제(20% active), kasugamycin 수화제(10% active), oxolinic acid 수화제(20% active), copper hydroxide 수화제(77% active)와 copper sulfate basic 수화제(58% active)의 당근 세균잎마름병균에 대한 직접적인 항균 효과를 알아보기로 각 농약의 농도를 1,000 ppm으로 조정하였다(Table 1). 또한 감귤 궤양병에 방제 효과를 나타냈던 식물근권세균 *Burkholderia gladioli* MRL408-3와 *Pseudomonas fluorescens* TRH415-2(Yang 등, 2014)와 감귤 역병에 억제효과가 있는 *Bacillus cereus* KRY505-3(Kang과 Jeun, 2010)를 대상으로 당근 세균잎마름병균에 대한 항균 효과를 조사하고자 각 세균의 농도를 spectrophotometer를 이용해 2.5×10^8 cfu/ml로 현탁하여 사용하였다(Table 2). 항균 효과

를 알아보기 위해 당근 세균잎마름병균을 TSA배지에 도말하고, 준비한 농약 및 식물근권세균 현탁액을 각각 20 μ l씩 점적한 paper disk (직경 8 mm)를 배지의 중앙 부분에 배치한 후 28°C에서 3일간 배양하였다. 항균 효과는 농약 또는 식물근권세균에 의해 형성된 억제환(Inhibition zone)의 직경을 측정하여 조사하였다.

Table 1. Agrochemicals used in this study.

Agrochemical		Active ingredient %	Concentration (ppm)	Application rate
Antibiotic	Streptomycin	20%, WP ^{a)}	1,000	20g/20L
	Kasugamycin	10%, WP	1,000	20g/20L
	Oxolinic acid	20%, WP	1,000	20g/20L
Copper compound	Copper hydroxide	77%, WP	1,000	20g/20L
	Copper sulfate basic	58%, WP	1,000	40g/20L

^{a)}Wettable powder

Table 2. Rhizobacteria used in this study.

Scientific name	Strains	Concentration (cfu/ml)
<i>Burkholderia gladioli</i>	MRL408-3	2.5×10^8
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	TRH415-2	2.5×10^8
<i>Bacillus cereus</i>	KRY505-3	2.5×10^8

4. 당근 세균잎마름병 방제 효과 평가

항균활성 실험을 통해 당근 세균잎마름병에 대한 In vivo 방제 효과시험이 확인된 농약과 식물근권세균이 당근 식물체에서도 당근 세균잎마름병 발생을 억제하는지 확인하기 위해 실험을 실시하였다. 농약 농도는 농업 현장에서 사용하는 약제 희석 배수인 1,000 ppm으로 조정하였고 길항근권세균 *Burkholderia gladioli* MRL408-3은 인공배지에서 항균 효과가 나타난 농도인 2.5×10^8 cfu/ml로 조정하여 당근 식물체 엽면에 충분히 젖을 정도로 분무 처리하였다. 처리한 당근 식물체를 상온에서 1시간 동안 건조시킨 후 당근 세균잎마름병균 접종원(2.2×10^8 cfu/ml)에 Tween 20을 0.01% (w/v) 첨가하여 당근 식물체 엽면에 분무 접종하였다. 그 후 접종된 당근 식물체를 상대습도 99%와 28°C를 유지하는 DA-DC dew chamber(DONG-A, Siheung, Korea)에서 24시간 동안 보관한 다음 $28 \pm 1^\circ\text{C}$, 습도 $90\% \pm 10\%$ 그리고 12시간의 일광조건으로 유지되는 식물배양실에 배양하면서 병 발생 여부를 관찰하였다. 대부분의 처리구에서 병이 발병되는 접종 후 28일째에 발병정도를 조사하였으며 발병지수는 0: 병징 없음, 1: 잎 끝에 부분 1~25% 발병, 2: 잎의 26~50% 절반정도 발병, 3: 잎의 51~75% 발병하거나 마르는 증상, 4: 잎의 76~100% 발병하였으며 완전고사로 구분하였다. 또한 발병도(disease severity)는 $\sum \{(\text{발병지수} \times \text{발병엽수}) / (4 \times \text{조사엽수}) \times 100$, 방제가는 $\{(\text{무처리구의 방제가} - \text{처리구의 방제가}) / \text{무처리구의 방제가}\} \times 100$ 으로 산출하였다.

5. 장방출주사현미경을 이용한 당근 세균잎마름병균을 접종한 당근 잎 관찰

처리한 농약의 당근 세균잎마름병균에 대한 효과를 알아보기 위해 당근 잎에 당근 세균잎마름병균을 접종한 지 3 일과 7 일 후에 당근 잎 표면의 초미세구조를 관찰하였다. 접종한 잎을 소독한 메스를 사용하여 $2 \times 2 \text{ mm}^2$ 크기로 잘라 2% glutaraldehyde 를 포함한 0.05 M sodium phosphate buffer(pH 7.2)에 담가 4°C 에서 2 시간 동안 1 차 고정(primary fixation)한 후 동일한 buffer 에 10 분간 4°C 에서 3 회 washing 하였다. 1 차 고정을 마친 식물 시료를 1% osmium tetroxide 를 포함한 0.05 M sodium phosphate buffer(pH 7.2)로 4°C에서 2 시간 동안 2 차 고정(post-fixation)한 후 살균된 3 차 증류수로 실온에서 10 분간 3 회 washing 하였다. 그 후 시료의 탈수(dehydration)는 30, 50, 70, 80, 90, 100% ethanol series 로 각 10 분간 1 회 실시하고 최종 100% ethanol 를 2 회 추가로 탈수하였다. 시료의 표면을 손상시키지 않게 건조하기 위해서 임계점 건조기인 EM CPD300 critical piont dryer(Leica Mikrosusteme, Vienna, Austria)를 이용하여 건조시킨 후 시료를 진공증착기 ion sputter coater(Quorum Technologies, East Sussex, England)로 platinum 을 이용해 샘플을 균일하게 코팅하였다. 시료는 실리카겔(Silicagel Blue, Daejung chemicals & metals, Siheung, Korea)을 담은 건조된 보관용 통에 담아 실온에서 보관하였다. 시료의 초미세구조는 MAIA3 장방출주사현미경(Tescan, Brno, Czechia)을 이용하여 5.0 kV 에서 관찰하였으며 표면의 세균 수는 3,000 배 확대된 이미지에서 임의로 선택하여 계수하였다.

ii. 종자에 병원균 접종 및 방제 효과 실험

1. 당근 종자에 당근 세균잎마름병균 접종 시험

당근 세균잎마름병균은 당근 종자를 감염시키는 종자 전염병으로 실험에 사용되는 Dream 7 품종에도 종자 감염이 되는지 확인하기 위해 접종 실험을 진행하였다. 건조한 당근 종자를 온탕침지하여 소독한 후 filter paper에 건조시켜 거즈로 감싸 petri dish에 담았다. 당근 종자를 담은 petri dish에 미리 배양한 세균을 spectrophotometer을 이용해 농도별 2.2×10^6 , 10^7 , 10^8 cfu/ml로 희석하였으며 10 ml씩 접종하여 28°C에서 24시간 동안 배양하였다. 종자에 병원균을 접종 후에 filter paper에 건조시켜 상토를 채운 플라스틱 포트(직경 8 cm)에 1 cm 깊이로 파종하고 28±1°C, 습도 90%±10% 그리고 12시간 일광조건인 식물배양실에서 배양하면서 당근 잎에서의 병 발생 여부를 관찰하였다. 대부분의 처리구에서 병이 발병되는 접종 후 35일째에 발병정도를 조사하였으며, 발병지수는 당근 잎에서의 당근 세균잎마름병 방제 효과 평가에서의 발병지수와 같다.

2. 당근 종자에 접종한 균 당근 잎에서 재분리

종자에 병원균을 접종한 후 35일이 지난 당근 잎에서 나타난 당근 세균잎마름

병원균과 유사한 증상을 확인하고 세균을 분리하여 균 형태와 색을 확인하였다. 병원균 농도별로 당근 세균잎마름병으로 의심되는 증상이 나타난 당근 잎을 3개씩 선택하여 1% 차아염소산나트륨(sodium hypochloride), 70% 알코올, 살균수에 각 30초씩 담가 표면을 살균하였으며 살균수 1 ml를 넣은 1.5 ml tube에 시료를 넣고 1분간 혼합하여 현탁액을 만들어 주었다. 현탁액을 TSA배지에 멸균한 루프를 이용하여 100 µl를 도말하였으며 28°C에 2일간 배양하였다. 배양 후 배지상에서 *X. hortorum* pv. *carotae*로 의심되는 노란색 계열의 불룩하고 동그란 형태의 콜로니를 육안 동정하여 세균을 선택하였다. 의심되는 세균을 TSA배지에 삼단분리하여 세균을 분리하였으며 분리된 단일 콜로니를 TSA배지에 전체적으로 도말하여 28°C에 2일간 배양하였다. 배양한 균은 TSB배지에 글리세린을 30% (w/v) 첨가하여 -80°C 냉동고에 보관하였다.

3. 분리세균 DNA추출

앞서 분리된 세균을 확인하고자 DNeasy blood & tissue kit(Qiagen, Hilden, Germany)를 이용하여 그람 음성세균의 DNA를 추출하였다. -80°C 냉동고에 보관하던 분리 균주를 9 ml의 TSB에 200 µl를 풀어 28°C, 80 rpm의 조건인 진탕 배양기(HB-201SL, Hanbaek Scientific, Bucheon, Korea)에서 2일간 배양하였다. 배양된 균을 2 ml tube에 담아 5,000 × g에서 10분간 원심분리기(1730MR, Gyrozen, Kimpo, Korea)를 이용하여 액체 배지와 세균을 분리하였다. 이후 세포벽, 세포막과 단백질을 녹이기 위해 ATL buffer 180 µl와 proteinase K 20 µl을 넣은 후 vortexing 하여 56°C에서 투명해질 때까지

water bath에서 배양하였다. 배양이 끝나면 vortexing 한 뒤 AL buffer 200 μ l와 ethanol(96-100%) 200 μ l 넣고 vortexing하였다. 이후 2 ml DNeasy Mini spin column placed에 옮겨 6,000 \times g에 1분 원심분리하여 DNA를 침전시킨 후 AW1 buffer 500 μ l와 AW2 buffer 500 μ l를 순서대로 진행한 뒤 6,000 \times g에서 3분간 원심분리하였다. 완전히 건조시킨 후 AE buffer 50 μ l를 첨가 후 원심분리하여 세균 total DNA추출하였다.

4. PCR 증폭

추출한 세균은 350 bp 크기의 *X. hortorum* pv. *carotae*를 타겟으로 하는 specific primer 3Sf(5'-CATTCCAAGAAGCAGCCA-3)'와 3Sr(5'-TCGCTCTTAACACCGTCA-3')를 사용하여 PCR 증폭을 진행하였다(Meng 등, 2004). PCR mixture는 세균의 total DNA 2 μ l, primer set 각 1 μ l, 10 \times buffer 5 μ l, dNTP 2 μ l, MgCl 4 μ l, Teq polymerase(iNtRON Biotechnology, Seoul, Korea) 0.25 μ l와 3차 살균수를 포함하여 50 μ l의 total volume을 작성하였다. 작성된 PCR mixture는 SimpliAmp Thermal Cycler(Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA)을 사용하여 95 $^{\circ}$ C에서 5분 진행 후, DNA 변성단계(Denaturation step)인 94 $^{\circ}$ C에서 15초, primer의 annealing단계(Annealing step)에서는 58 $^{\circ}$ C에 15초, DNA가 합성되는 단계(Extension step)인 72 $^{\circ}$ C에서 30초 동안 총 35번 반복 후 72 $^{\circ}$ C에서 5분 동안 처리하여 DNA를 증폭하였다(Bastas 등, 2021). 증폭된 DNA는 1.0% agarose gel과 1 \times TAE를 혼합하여 gel을 만들었으며 80 V에 60분간 전기영동을 통하여 DNA 증폭 유무를 확인하였다.

5. 당근 종자에 방제 효과 평가

당근 세균잎마름병은 종자전염병으로 종자에 직접적으로 농약을 처리하여 방제 효과를 알아보기 위해 당근 잎에서 효과가 있었던 항생제 streptomycin, oxolinic acid 를 처리하여 발아율과 발아관 성장에 미치는 영향을 평가하였다. 당근 종자를 50°C, 30 분간 온탕침지하여 종자 소독을 한 뒤 filter paper 에 건조하고 거즈에 건조된 종자를 담아 petri dish 에 담았다. 무처리구는 살균수에 배양하였으며 streptomycin 과 oxolinic acid 는 1,000 ppm 으로 희석하여 종자를 담은 petri dish 에 15 ml 를 넣어 침지시킨 뒤 28°C, 80 rpm 의 HB-201SL shaking incubator 에서 24 시간 배양하였다. 배양 후 종자를 filter paper 에 건조한 후 새로운 거즈에 담아 petri dish 에 옮겨주었다. 앞서 종자에 농도별로 병원균을 처리하였을 때 가장 발병도가 높았던 2.2×10^8 cfu/ml 농도로 희석하여 종자에 10 ml 접종하였으며 28°C, 80 rpm 진탕 배양기에서 24 시간 배양하였다. 접종된 종자는 filter paper 에 건조한 뒤 미리 50 ml tube 에 만들어 둔 1.5% water agar(WA; BD Difco, Franklin Lakes, NJ, USA) 배지에 처리된 종자를 배지의 표면과 최대한 가깝게 심어주었으며 빛이 나오는 28°C 배양기에서 7 일간 배양하여 발아관의 길이를 측정하였다. 실험에 사용된 모든 filter paper 와 거즈는 멸균한 상태로 사용하였으며 petri dish 는 종자를 옮겨줄 때마다 새로 바꾸어 사용하였다. 발아관 길이는 종자를 제외한 발아된 부분만을 측정하였으며 발아율(germination rate)은 (발아한 종자 수/전체 종자 수) \times 100 로 산출하였다.

iii. 통계분석

무처리, 농약 처리 및 식물근권세균에 의해 형성된 당근 세균잎마름병균의 억제환 직경과 이들을 전처리한 당근 잎에서 당근 세균잎마름병균 접종 후 조사된 발병 정도와 장방출주사현미경으로 세균의 수를 계수하고 종자 접종 후 당근 잎에서 조사된 발병 정도와 종자에 병원균을 접종 후 당근 잎에서 의심되는 증상을 분리 후 배지상에서 의심되는 콜로니를 계수하고 종자에서 방제 평가를 위한 발아관의 길이와 발아율의 평균을 비교를 위하여 분산분석(ANOVA)과 Duncan의 다중검정을 SAS 9.4(SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)를 이용하여 분석하였다.

III. 결 과

i. 당근 세균잎마름병 방제 효과 검정

1. 시판 농약과 식물근권세균의 당근 세균잎마름병균에 대한 항균활성

시판 중인 5개의 농약과 3개의 길항근권세균 중에서 인공 배지에서 당근 세균잎마름병균에 대한 항균 효과가 있는 것은 streptomycin, oxolinic acid와 길항근권세균 *B. gladioli* MRL408-3인 것으로 나타났다(Fig. 1). 특히 oxolinic acid에 의해 형성된 억제환 직경은 평균 2.2 cm로 다른 처리구에 비해 가장 크게 나타난 것으로 보아(Fig. 1E), 당근 세균잎마름병균에 대한 직접적인 항균 효과가 가장 높은 것으로 나타났다.

다음으로 *B. gladioli* MRL408-3은 2.0 cm, streptomycin은 1.4 cm 크기의 억제환을 형성하였다(Fig. 1E). 이러한 결과를 통해 항생제인 oxolinic acid와 streptomycin 그리고 길항근권세균 *B. gladioli* MRL408-3은 당근 세균잎마름병균에 대한 직접적인 항균 효과가 있는 것을 알 수 있었다. 그러나 kasugamycin, copper hydroxide와 copper sulfate basic 그리고 길항근권세균인 *B. cereus* KRY505-3와 *P. fluorescens* TRH415-2에 의해서는 억제환을 형성하지 않았으므로 당근 세균잎마름병균에 대한 직접적인 항균 효과가 없는 것으로 확인되었다(사진 미첨부).

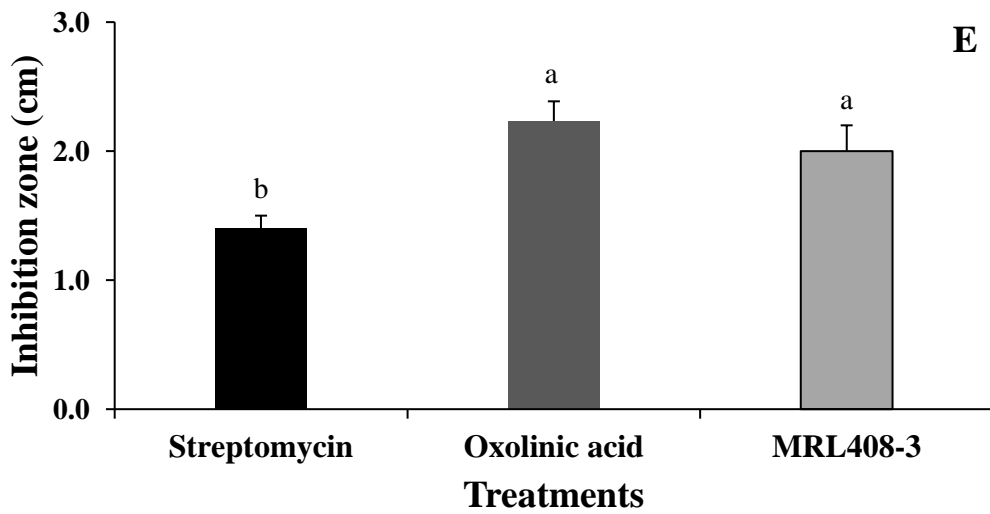
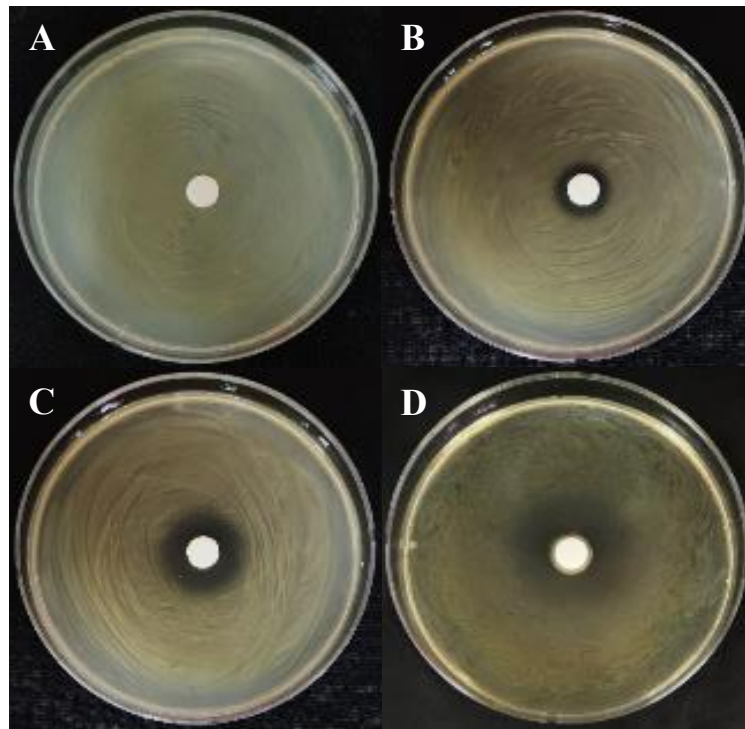


Fig. 1. Growth inhibitory effect by water (A), streptomycin (B), oxolinic acid (C) and rhizobacterial strain *B. gladioli* MRL408-3 (D) against *X. hortorum* pv. *carotae*. The concentration of the agrochemicals was 1,000 ppm each. The diameter of the inhibition zone by streptomycin, oxolinic acid and *B. gladioli* MRL408-3 were presented (E).

2. 생체 실험을 통한 시판 농약과 식물근권세균의 당근 세균잎마름병에 대한 방제 효과

전처리를 하지 않고 당근 세균잎마름병균만 접종한 무처리에서는 대부분의 잎이 당근 세균잎마름병의 전형적인 병징인 끝에서부터 전체적으로 마르거나 오그라들며, 어두운 갈색의 증상을 나타내었으며, 대부분의 잎에서 92.6%로 높은 발병도를 보였다(Fig. 2A, 3).

그러나 streptomycin을 전처리한 잎에서는 잎 끝부분이 흰색으로 변하는 증상이 있었지만 잎의 대부분이 건전한 상태를 유지하였다(Fig. 2B, 3). Oxolinic acid을 전처리한 잎에서도 부분적으로 갈변하는 증상이 나타났지만 37%의 매우 약한 발병도를 보였다(Fig. 2C, 3).

하지만 kasugamycin을 전처리한 잎에서는 당근 세균잎마름병 증상인 어두운 갈색을 띄고 마르거나 오그라드는 현상이 약하게 나타났으며 67.6%의 발병도를 나타내었다(Fig. 2D, 3). 가장 높은 발병도는 구리제인 copper hydroxide와 copper sulfate basic을 전처리한 잎에서 나타났는데 *Xhc*만 처리한 잎과 유사하게 전형적인 당근 세균잎마름병 증상을 보였으며 80.6%, 85.2%의 높은 발병도를 보였다(Figs. 2, 3). 한편, 길항근권세균 *B. gladioli* MRL408-3을 전처리한 잎에서의 발병률은 75%로 나타났으며, 인공 배지에서 직접적인 항균 효과를 보인 것과는 다르게 당근 잎에 전처리로 인한 방제 효과는 낮은 것으로 나타났다(Fig. 2G, 3).

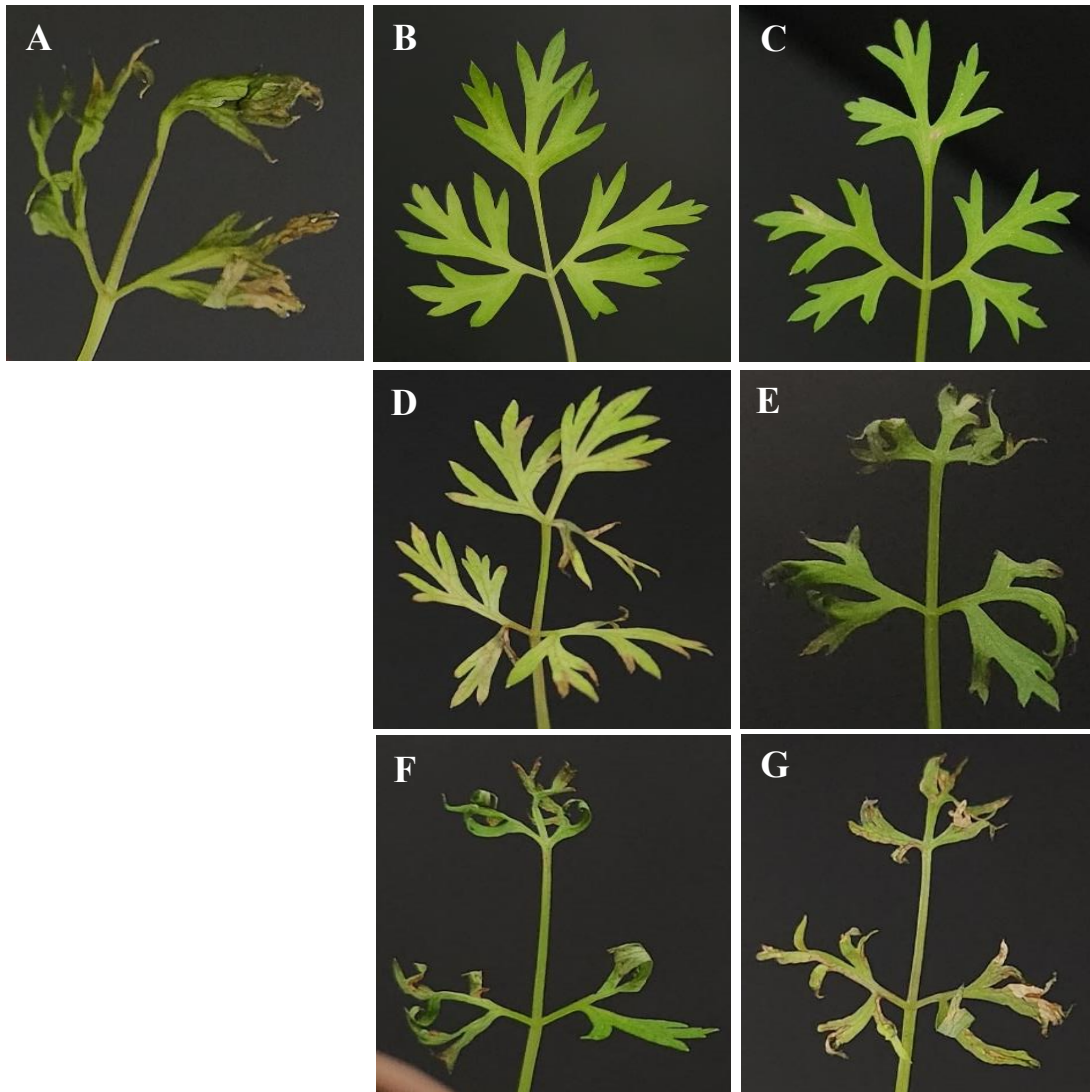


Fig. 2. Disease severity on carrot leaves untreated (A), pre-treated with streptomycin (B), oxolinic acid (C), kasugamycin (D), copper hydroxide (E), copper sulfate basic (F) and *B. gladioli* MRL408-3 (G) after inoculation with *X. hortorum* pv. *carotae* suspension of 2.2 cfu/ml. The photographs have been taken at 4 weeks after the inoculation with *X. hortorum* pv. *carotae*.

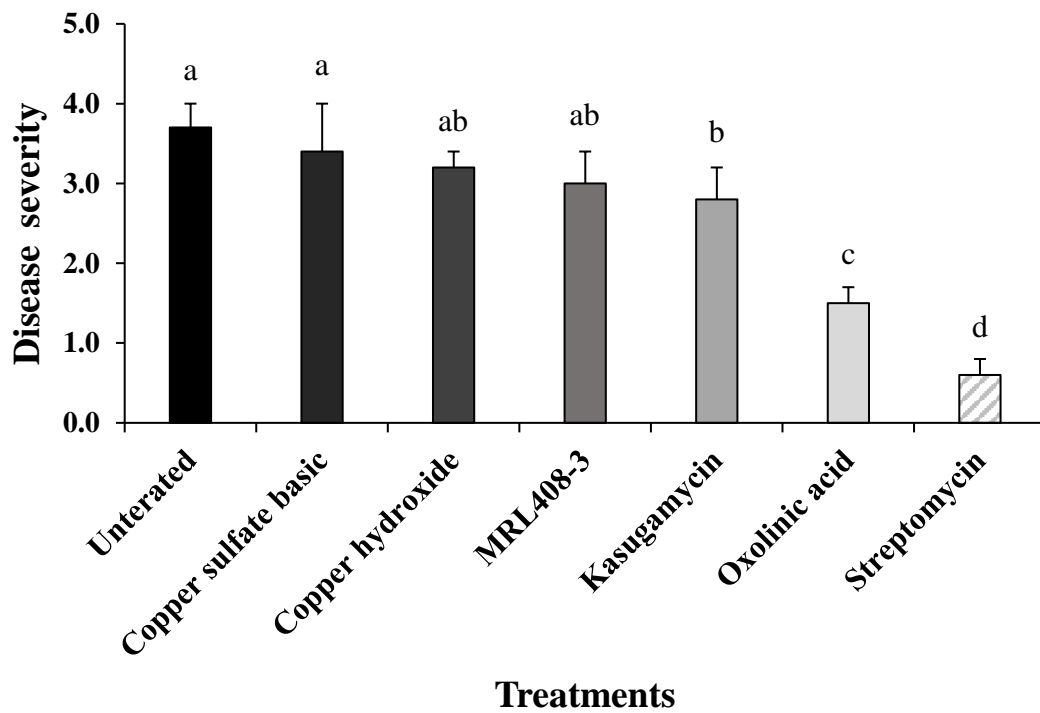


Fig. 3. The level of disease severity on carrot leaves untreated and pre-treated with agrochemicals and rhizobacterial strain *B. gladioli* MRL408-3 after inoculation with *X. hortorum* pv. *carotae* suspension of 2.2 cfu/ml.

3. 장방출주사현미경을 이용한 시판 농약에 의한 당근 세균잎마름병 방제 효과 검증

당근 세균잎마름병에 대해 방제 효과가 있는 streptomycin, oxolinic acid, kasugamycin 및 copper hydroxide를 전처리한 후 당근 세균잎마름병균을 접종한 당근 잎을 장방출주사현미경을 이용하여 관찰하였다. 당근 세균잎마름병균을 접종하지 않은 건전한 당근 잎에서는 세균이 전혀 발견되지 않았다. 그러나 농약을 전처리를 하지 않고 당근 세균잎마름병균을 접종한 당근 잎 표면에는 많은 수의 세균이 관찰되었다(Fig. 4A, 4B, Table 3). 이를 통하여 장방출주사현미경을 통한 이미지에서 발견된 세균은 당근 세균잎마름병균임을 확인할 수 있었다.

Streptomycin을 전처리한 잎 표면에는 당근 세균잎마름병균을 접종한 후 3일째의 초미세 이미지를 관찰한 결과 당근 세균잎마름병균 수가 급격히 감소하였다(Fig. 4C, Table 3). 마찬가지로 oxolinic acid를 전처리한 잎에서도 매우 적은 수의 당근 세균잎마름병균이 발견되었다(Fig. 4D, Table 3). 이와 같이 당근 잎 표면에서의 당근 세균잎마름병균 수의 감소는 병 발생 정도의 억제와 동일한 결과를 나타냈다(Figs. 3, 4).

그러나 kasugamycin과 copper hydroxide를 전처리한 당근 잎에서는 당근 세균잎마름병균 수가 무처리구에 비해서 감소하기는 했지만 현저하게 감소하지 않았다(Fig. 4E, 4F, Table 3). 이들 농약을 전처리하였을 때 당근 세균잎마름병균 수의 감소가 저조한 것은 당근 잎에서 병 발생이 무처리한 잎에서의 병 발생 정도가 유사한 것과 연관이 있는 것으로 보인다(Figs. 3, 4).

당근 세균잎마름병균을 접종한 후 7 일째의 당근 잎에서 당근

세균잎마름병균의 수는 접종 후 3 일째에 비해 무처리뿐만 아니라 농약을 전처리한
앞에서 대체로 감소하기는 하였지만 큰 차이는 없었다(Table 3).

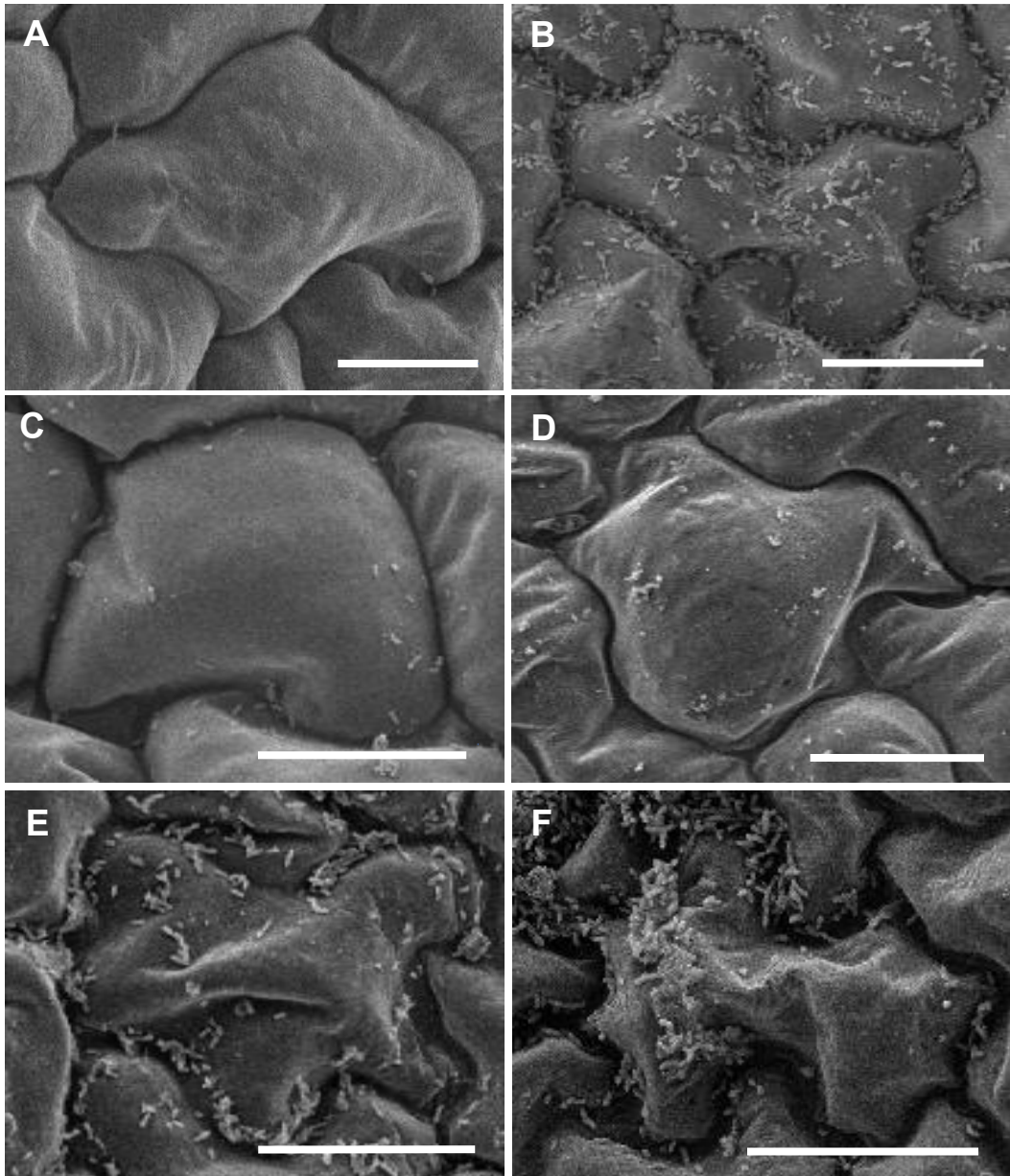


Fig. 4. Photographs of scanning electron microscopy on healthy carrot leaves without bacterial inoculation (A) and untreated (B), pre-treated with streptomycin (C), oxolinic acid (D), kasugamycin (E) and copper hydroxide (F) after inoculation with *X. hortorum* pv. *carotae* at 3 days. Scale bar was 20 μ m.

Table 3. Number of bacterial cells on the carrot leaves pre-treated with various agrochemicals after inoculated with *X. hortorum* pv. *carotae*.

Days after inoculation	Number of bacterial cells				
	Non-treated control	Streptomycin	Oxolinic acid	Kasugamycin	Copper hydroxide
3	163.7±11.4a*	7.6±2.2d	12.5±3.1c	81.2±9.5b	85.5±10.5b
7	127.3±8.8a	5.7±1.6e	11.3±3.2d	58.2±5.1c	65.5±8.7b

* Means ± SD. Different letters indicate significant differences ($p<0.05$) according to Duncan's multiple range test.

ii. 종자에서 방제 효과 검증

1. 당근 종자 접종을 통한 발병도 및 세균 분포

종자에 당근 세균잎마름병균을 농도별로 접종하여 배양한 뒤 잎에서 병징을 확인한 후 발병정도와 배지상에서 콜로니를 관찰하였다. *Xanthomonas* sp.는 TSA 배지에서 노란색의 윤기 나는 볼록한 콜로니를 가지고 있으며(Dupas 등, 2023), *X. hortorum*은 어떤 배지에서든 노란색의 윤기 나는 볼록한 콜로니를 가지고 있다(Rainey 등, 2015). 실험에서 살균수만 처리한 건전한 당근에서는 어떠한 병징도 나타나지 않았으며(Fig. 5A), 당근 잎에서도 당근 세균잎마름병균이 발견되지 않았다(Fig. 6A).

당근 세균잎마름병균을 10^6 cfu/ml 농도로 처리한 잎 끝부분에서는 연한 갈색으로 갈변되고 마르는 증상도 약하게 나타났지만 대부분이 건전한 상태를 보였으며 처리구 중에서 40.7%로 가장 약한 발병도를 나타냈다(Fig. 5B, 5E). 또한 잎에서 분리한 세균에서는 *X. hortorum* pv. *carotae*의 콜로니와 유사한 노란색이고 윤기 나는 볼록한 모양의 콜로니가 나왔으며 이와 색깔과 형태가 다른 크림색이며 작은 볼록한 모양의 콜로니가 관찰되었다(Fig. 6B).

또한 10^7 cfu/ml로 접종한 잎에서는 잎 끝부분을 포함하여 잎 여러 곳에 검은색의 불규칙한 증상을 나타냈으며 두 번째로 높은 57.4%의 발병도를 보였다(Fig. 5C, 5E). 또한 잎에서 분리한 세균 콜로니 중에서 노란색의 윤기 나는 볼록한 모양의 *X. hortorum*

pv. carotae 와 유사한 콜로니가 10^6 cfu/ml 농도로 처리한 잎보다 다수 나타났다(Fig. 6C, Table 4).

가장 높은 농도인 10^8 cfu/ml 로 처리한 잎에서는 전체적으로 암갈색과 검은색의 증상이 나타나고 잎 끝부분부터 마르기 시작하여 고사하기 시작되었다(Fig. 5D). 또한 이 농도에서 가장 피해가 컸으며 100%의 발병도를 보였다(Fig. 5E). 그리고 *X. hortorum pv. carotae* 로 추정되는 콜로니도 가장 많이 발견되었다(Fig. 6D, Table 4).

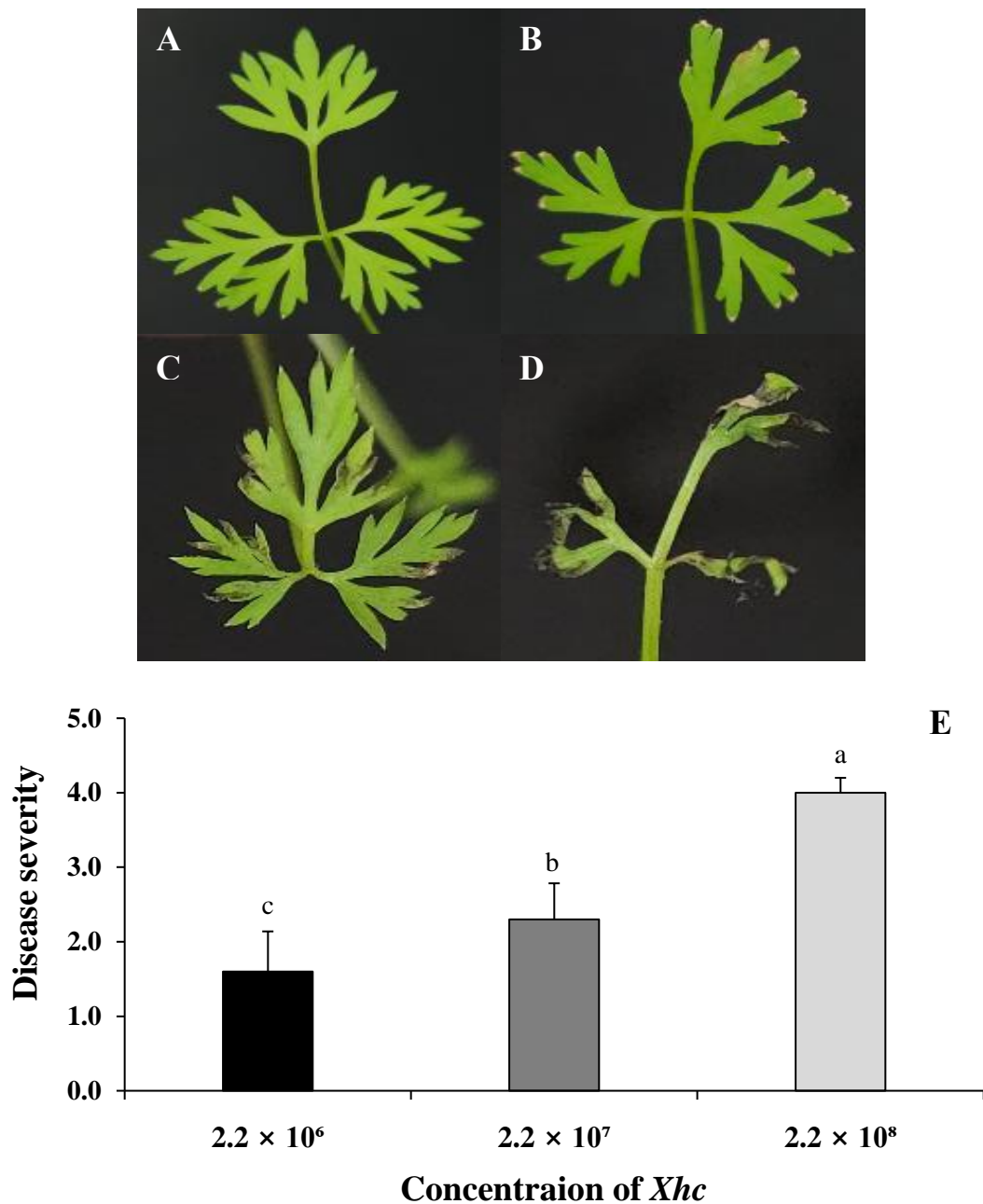


Fig. 5. Disease symptom on carrot leaves pre-treated on the seeds by water (A) and inoculated with suspension of *X. hortorum* pv. *carotae* of 2.2×10^6 (B), 2.2×10^7 (C), and 2.2×10^8 (D). The level of disease severity was shown (E) from the carrot seeds with different concentration of *X. hortorum* pv. *carotae*. The photographs have been taken at 5 weeks after the inoculation with *X. hortorum* pv. *carotae*.

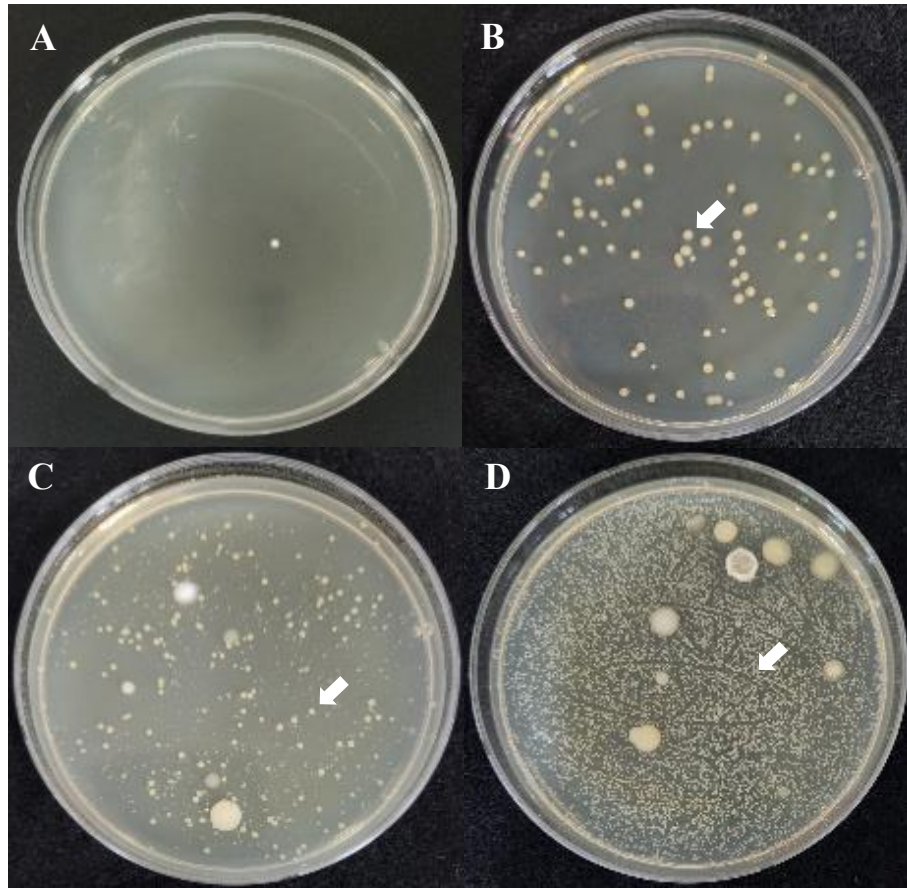


Fig. 6. Colonies on the TSA medium isolated from the carrot leaves of which seeds were pre-treated with water (A), pre-inoculated with suspension of *X. hortorum* pv. *carotae* of 2.2×10^6 (B), 2.2×10^7 (C), and 2.2×10^8 (D). The photographs have been taken at 2 days after the inoculation with *X. hortorum* pv. *carotae*.

Table 4. Number of bacterial colonies on the TSA medium inoculated with different concentration of *X. hortorum* pv. *carotae* on carrot seeds at 35 days after planting.

No. bacterial colony	Concentration of <i>Xhc</i>		
	2.2×10^6	2.2×10^7	2.2×10^8
Yellow mucoid convex	78±3.8a*	362±30.2b	5570±438.4c

* Means ± SD. Different letters indicate significant differences ($p < 0.05$) according to Duncan's multiple range test.

2. 분리 세균의 분자생물학적 동정

당근 앞에서 분리한 세균이 *X. hortorum* pv. *carotae* 와 동일한 균인지 알아보기 위해 *X. hortorum* pv. *carotae* 와 유사한 콜로니를 농도별로 하나씩 선택하였으며 specific primer 인 3S primer set 를 이용해 PCR 증폭을 진행하였다. 국립농업과학원 농업미생물은행에서 분양받은 *X. hortorum* pv. *carotae* 를 기준으로 잡았으며, 이 균은 PCR 증폭 시 350 bp 의 크기에 증폭되었다(Fig. 7). 마찬가지로 당근 앞에서 분리한 2.2×10^6 , 10^7 , 10^8 cfu/ml 농도에서 나온 의심되는 모든 세균이 350 bp 크기에서 확인되었으며 *X. hortorum* pv. *carotae* 으로 동정하였다(Fig. 7).

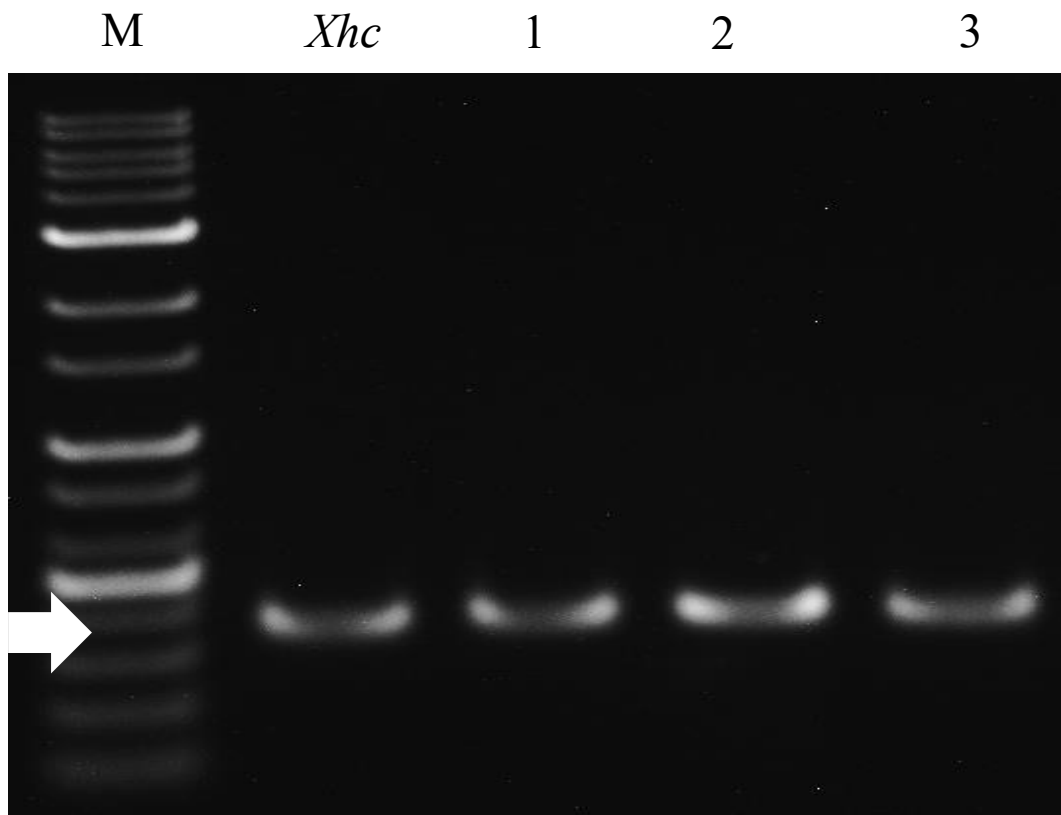
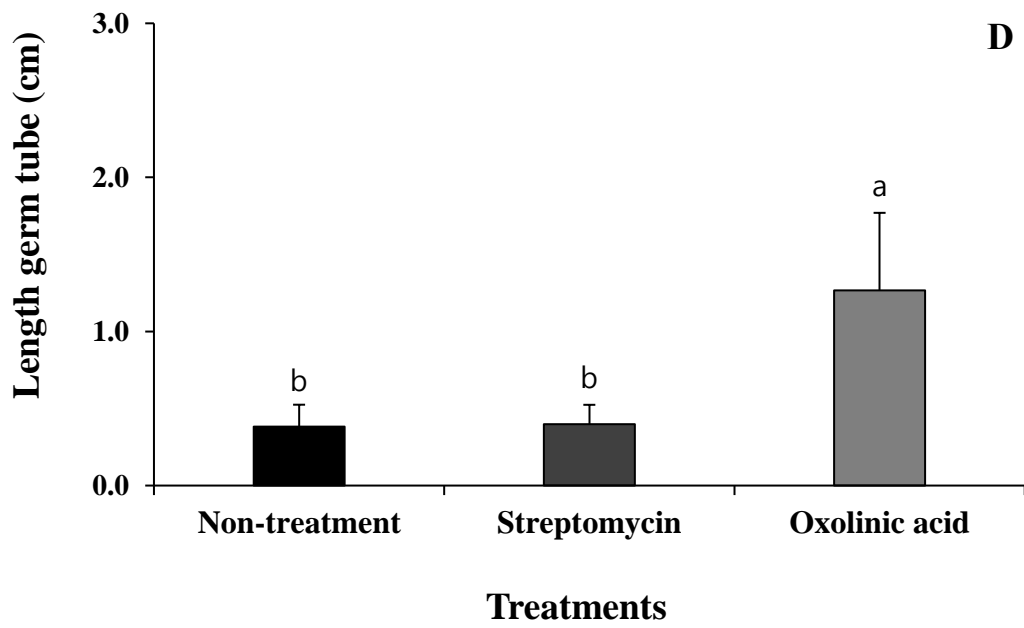
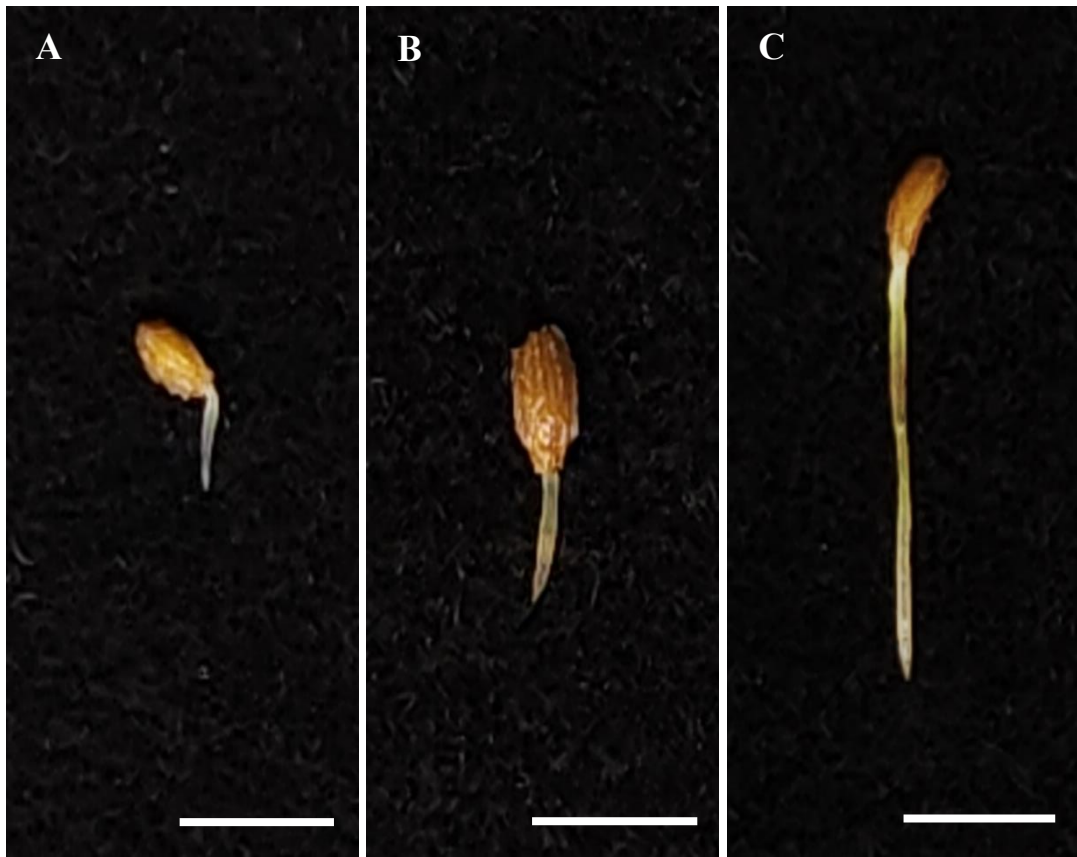


Fig. 7. PCR amplification product with specific primer 3S targeting *X. hortorum* pv. *carotae*.
 Lanes: 1-kb DNA ladder (BIOFACT, Co. Ltd.) (M), *X. hortorum* pv. *carotae* (Xhc), bacterial strains suspected of being *X. hortorum* pv. *carotae* (1: 2.2×10^6 ; 2: 2.2×10^7 ; 3: 2.2×10^8).
 The arrow indicates 350-bp.

3. 종자를 통한 시판 농약의 당근 세균잎마름병에 대한 방제 효과

당근 잎에서 효과가 있었던 항생제 streptomycin 과 oxolinic acid 을 종자에 전처리하여 식물에서 효과가 좋았던 항생제의 항균 효과를 조사하였다. 농약을 전처리하지 않고 당근 세균잎마름병균만 처리하였을 때 발아관의 길이가 0.4 cm 로 가장 짧은 길이를 보였으며 가장 낮은 발아율을 보였다(Fig. 8A, 8D, 8E). 종자에 streptomycin 을 전처리하였을 때 발아관의 길이가 0.4 cm 로 짧았지만 높은 발아율을 보였다(Fig. 8B, 8D, 8E). Oxolinic acid 을 전처리한 종자에서 발아관은 1.3 cm 로 발아관의 길이가 가장 길었으며 높은 발아율을 보였다(Fig. 8C, 8D, 8E).



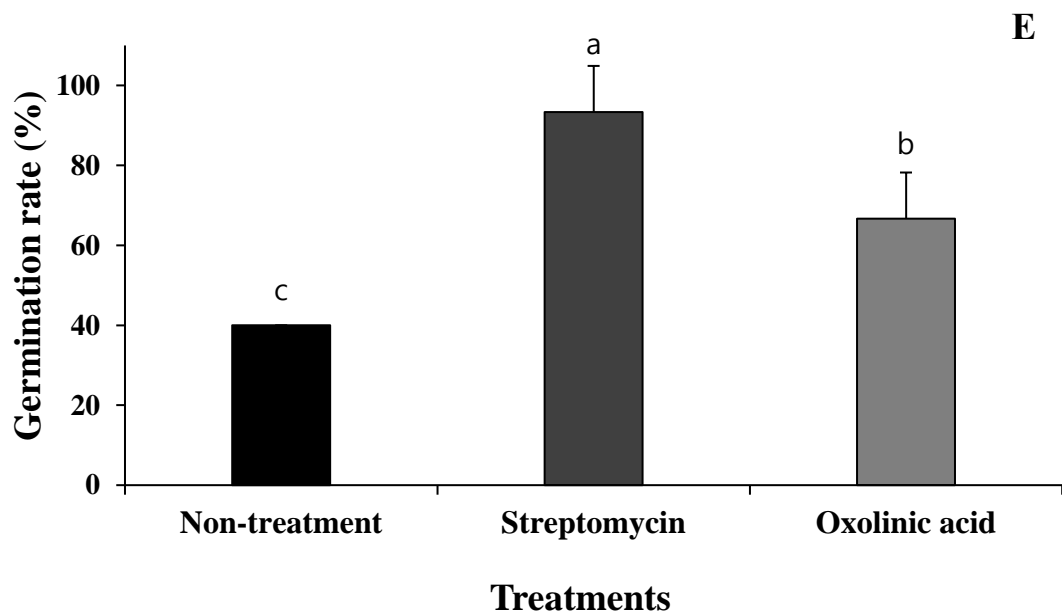


Fig. 8. Carrot seeds that pre-treated with water (A) and pre-treated with streptomycin (B), and oxolinic acid (C) after inoculation with *X. hortorum* pv. *carotae* suspension of 2.2×10^8 cfu/ml. The length of germ tube (D) and germination rate (E) of the seeds pre-treated with water and pre-treated with streptomycin, and oxolinic acid were presented. Bar is 5 mm.

IV. 고 찰

작물에서 세균병은 곰팡이병보다 방제하기 어려우며 화학적 방제 수단으로 주로 항생제나 구리제를 이용한다(McManus 등, 2002; Norelli 등, 2003; Vu 와 Oh, 2020). 국내에는 streptomycin, kasugamycin, oxolinic acid 등이 농용항생제로 등록되어 세균병 방제에 이용되고 있으나, 당근 세균병 방제 효과에 대한 연구가 부족하다. 일반적으로 항생제는 세균의 생명활동에 중추적인 기작을 특이적으로 저해하여 강한 살균효과를 나타낸다. 예를 들어 streptomycin 은 아미노글리코사이드계에 속하며 리보솜의 16S rRNA 와 상호작용하여 단백질 합성을 저해시켜 살균 작용을 하고(Sundin 과 Bender, 1993; Chiou 와 Jones, 1995; Vianna 등, 2019), 또 다른 아미노글리코사이드계 항생제인 kasugamycin 은 리보솜 소단위체에 대한 aminoacyl-tRNA 의 결합을 방해하여 단백질 생성을 억제하는 것으로 알려져 있으며 같은 계열인 streptomycin 과는 다른 작용방식을 가지고 있다(Tanaka 등, 1966; Copping 과 Duke, 2007; Adaskaveg 등, 2011). 또한 oxolinic acid 는 그람 음성세균에 대한 항균활성을 갖는 quinolone 계로 퀴놀론이 type II topoisomerases 에 결합하게 되면 DNA 복제를 억제해 세포분열과 성장을 억제하는 살균작용을 한다(Shungu 등, 1983; Hickichi 등, 2001; Stockwell 과 Duffy, 2012; Ham 등, 2022). 항생제가 당근 세균잎마름병균에 방제 효과가 있었는지 확인하기 위해 배지상에서 살균효과를 시험한 결과에 항생제 streptomycin 과 oxolinic acid 는 당근 세균잎마름병균(*X. hortorum* pv. *carotae*)에 직접적인 살균효과가 있었고, 생체실험에서도 유의미한 수준의 당근 세균잎마름병 방제 효과를 나타내었다(Figs. 1-3). 다른 연구에서도 streptomycin 과 oxolinic acid 가 *Xanthomonas* 속 식물병원세균

방제에 효과가 있다는 보고가 있었다. Streptomycin 은 호두의 개화기에 *Xanthomonas campestris* pv. *juglandis* 에 효과를 보였으며, 마찬가지로 oxolinic acid 는 딸기의 육묘기에서 *X. fragariae* 에 의한 모무늬병 방제에 큰 효과를 보였다(Polito 등, 2002; Kim 등, 2015). 한편 kasugamycin 이 세균 *Erwinia amylovora* 에 의한 사과 화상병 방제에 효과를 나타낸다는 다른 보고가 있지만(McGhee 와 Sundin, 2011), 본 연구에서는 당근 세균잎마름병균에 대한 kasugamycin 의 식물병 방제 효과가 뛰어나지 않았다(Figs. 2, 3).

일반적으로 구리제는 병원균 세포 내 단백질이나 탈수소화의 S-H 기와 결합하여 생리작용에 피해를 주며, 식물체에 살포 시 구리제가 피복된 식물 표면에서만 보호 작용을 한다고 알려져 있으나(Whiteside, 1977; Hyun 등, 2005), 본 연구에서 시험한 구리제(copper hydroxide, copper sulfate basic)는 유의미한 수준의 당근 세균잎마름병 억제 효과를 나타내지 않았다(Figs. 2, 3).

최근 세균병을 방제하는데 길항근권세균을 이용하는 것이 효과적이라는 보고가 있다(Cui 등, 2020; Vu와 Oh, 2020; Choi 등, 2022; Kim 등, 2022; Kim과 Sang, 2023). 특히 *B. gladioli*은 토마토 점무늬병을 일으키는 *X. perforans*, 감귤 궤양병을 일으키는 *X. citri* 등 여러 가지 *Xanthomonas* 속 식물병원세균에 대해 직접적인 항균 효과가 알려져 있다(Yang 등, 2014; Shantharaj 등, 2021). 본 연구에 사용된 길항미생물 *B. gladioli* MRL408-3도 당근 세균잎마름병균(*X. hortorum* pv. *carotae*)에 대한 직접적인 항균 효과를 보였으나(Fig. 1), 기대한 바와 달리 생체실험에서는 유의미한 수준의 당근 세균잎마름병 방제 효과를 나타내지 못했다(Figs. 2, 3). 이와 같이 직접적인 항균 효과가 있더라도 식물에 처리하였을 때 효과가 다르게 나타난 것은 식물체 주변의 환경, 즉 다른 미생물과의 영양 경쟁 또는 식물체에서 분비되는 화학성분과 같은 요인들에 의한 것일 수 있으나, 이를 확인하기 위해서는 더 많은 연구가 필요하다(Weller, 1988; Roberts 등, 2005; Kim 등, 2008).

장방출주사현미경을 이용하여 농약을 처리한 당근 잎을 당근 세균잎마름병균 접종한 후 표면을 관찰하였더니(Fig. 4), 생체 실험에서 강한 방제 효과를 나타냈던 streptomycin과 oxolinic acid를 전처리한 잎에서는 당근 세균잎마름병균 수가 91-95% 감소한 반면, 방제 효과가 낮았던 kasugamycin과 copper hydroxide를 전처리한 잎에서는 당근 세균잎마름병균 수가 49-54% 정도 감소하였다(Fig. 2, Table 3). 농약의 방제 효과는 잎 표면에서의 병원세균 개체수와 역의 상관관계가 있다(Figs. 3, 4). 그러므로 방제 효과를 나타내기 위해서는 농약을 처리한 잎에서 당근 세균잎마름병균의 개체수를 크게 감소시킬 수 있는 강력한 살균효과가 필수적이다.

해외 종자 수입이 증가하게 되면서 국내로 들어온 감염된 종자를 통해 건전한 종자를 전염시키는 종자전염이 일어나고 있으며 이로 인해 수확량과 발아율에 큰 영향을 미치고 있다(Hong 등, 2020). 국내에 종자전염을 일으키는 세균 관리병원균으로는 박과류에 세균잎반점을 일으키는 *Xanthomonas cucurbitae*, 벼에 흰잎마름병을 일으키는 *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola*, 양파 세균마름병을 일으키는 *Xanthomonas axonopodis* pv. *allii* 등이 있다(EPPO, 2007; Picard 등, 2008; Anonymous, 2012). 마찬가지로 국내 관리병원균인 당근 세균잎마름병균도 종자전염병이며 2.2×10^6 cfu/ml 이상부터 당근에 발병한다. 종자에 세균을 농도별로 접종하였을 때 발병 차이를 확인하기 위해 국내 제주도에 많이 재배되고 있는 Dream 7 품종으로 실험한 결과 2.2×10^6 cfu/ml 농도로 접종하였을 때보다 2.2×10^8 cfu/ml로 접종하였을 때 높은 발병도를 보였으며 실험에 사용된 당근 종자는 *X. hortorum* pv. *carotae*에 대해 감수성인 것으로 확인되었다(Fig. 5).

Xanthomonas 속에 속하는 *X. hortorum* pv. *carotae*은 YDC, MKM 배지와 XCS agar 배지에서 노란색의 윤기 나는 불룩한 콜로니를 나타냈으며(Temple 등, 2013; ISTA, 2014), 마찬가지로 실험에서 농도별로 접종한 TSA배지에서도 유사한 노란색의 윤기

나는 불룩한 콜로니를 확인하였다(Fig. 6). 또한 *X. hortorum* pv. *carotae*로 의심되는 콜로니의 수를 계수하였을 때 높은 농도로 갈수록 세균의 수가 많아지는 것을 확인하였다(Fig. 6, Table 4). 이는 앞서 종자에 접종하여 발병된 발병정도와 관계가 있는 것으로 보이며 당근 세균잎마름병균의 콜로니로 의심되던 세균은 모두 *X. hortorum* pv. *carotae*으로 동정되었다(Fig. 7).

병원균이 종자에서도 감염력이 있는 것을 확인한 후 종자에 항생제 2종 streptomycin과 oxolinic acid를 전처리하여 방제 효과를 검증하였다. 실험에서는 당근 종자에 streptomycin을 처리하였을 때 항생제 중에서 가장 높은 발아율을 보였지만 처리구 중에서 가장 성장이 느린 것으로 보이며, 다른 실험에서는 감염된 완두콩 종자를 streptomycin에 침지하였을 때 콩 세균성마름병에 대한 방제 효과는 좋았지만 높은 농도에서는 약해를 받아 종자의 정상적인 발달이 저해된 것과 같이(Taylor와 Dye, 1976), streptomycin의 약해를 받은 것으로 보인다(Fig. 8B). 쌀에 세균성 원추마름병을 일으키는 *Burkholderia glumae*는 종자전염을 하며, 감염된 종자에 oxolinic acid를 처리하였을 때 효과적인 방제를 보였다(Monira 등, 2020). 마찬가지로 oxolinic acid를 종자에 전처리하였을 때 발아관의 발육과 발아율 모두 높은 것으로 나타났으며 당근 세균잎마름병에 대한 방제 효과가 높았다(Fig. 8C). 종자에서 방제 효과와 잎에서의 방제 효과가 서로 비슷한 결과를 보였지만 streptomycin을 전처리한 종자는 성장에 영향을 받았으므로 앞으로 당근 세균잎마름병에 대해 방제할 시 농약에 대한 약해 평가와 현장 실험에 더 많은 연구가 필요할 것으로 보인다.

본 연구는 최근 제주도를 포함하여 국내에 발생한 당근 세균잎마름병균을 방제하기 위하여 효과적인 농약을 선별하는데 중요한 자료로 이용될 뿐 아니라 당근 세균잎마름병균에 대한 방제 시스템을 구축하기에 도움이 되는 자료가 될 것으로 사료된다.

V. 적 요

당근 세균잎마름병을 일으키는 *Xanthomonas hortorum* pv. *carota* 는 당근 생산량에 큰 피해를 주는 병 중 하나로 국내에서 아직 방제에 대한 연구가 미흡한 실정이다. 본 연구에서는 당근 세균잎마름병균에 효과적인 농약을 선별하기 위하여 3종의 항생제 streptomycin, oxolinic acid, kasugamycin, 2종의 구리제 copper hydroxide, copper sulfate basic 그리고 길항근권세균 *Burkholderia gladioli* MRL408-3, *Pseudomonas fluorescens* TRH415-2, *Bacillus cereus* KRY505-3 을 선정하여 인공배지를 이용해 이들의 직접적인 항균 효과를 조사하였다. 이 중 항생제 streptomycin, oxolinic acid 와 길항미생물 MRL408-3 을 처리한 배지에서 억제환이 형성되었다. 당근 잎에 농약과 항균 효과를 보였던 길항미생물 MRL408-3 을 전처리한 후 당근 세균잎마름병균을 접종하였더니 streptomycin 과 oxolinic acid 을 전처리한 당근 잎에 높은 방제 효과를 보였다. 이들 당근 잎 표면의 장방출주사현미경 이미지에서 streptomycin 과 oxolinic acid 를 전처리한 잎에서는 세균 수가 무처리한 잎과 비교하여 급격히 감소하였다. 이들 결과를 통해 streptomycin 과 oxolinic acid 와 같은 항생제가 다른 약제에 비해 방제 효과가 뛰어나다는 것을 알 수 있었다. 종자 접종 실험을 통하여 당근 종자에서는 2.2×10^6 cfu/ml 접종부터 2.2×10^8 cfu/ml 까지 발병되며 제일 높은 농도에서 심각한 발병률을 보였다. 종자에서도 발병이 되는 것을 확인한 후에 당근 잎에서 방제 효과를 보였던 항생제 streptomycin, oxolinic acid 를 종자에 전처리하여 세균잎마름병에 대한 방제 효과를 알아보았다. Streptomycin 을 처리한 당근 종자에서는 높은 발아율을 보였고 oxolinic acid 를 처리한 당근 종자에서는 높은 발아율과 성장세를 보였다. 이러한 결과를 통해 당근 종자에서도

병을 근본적으로 방제할 수 있는 효과적인 방제 수단임을 알 수 있다. 본 연구는 당근 세균잎마름병에 대한 이상적인 방제 시스템을 구축하는데 도움이 되는 자료로서 가치가 있을 것으로 사료된다.

VI. 참고 문헌

- Adaskaveg, J. E., Förster, H., and Wade, M. L. 2011. Effectiveness of kasugamycin against *Erwinia amylovora* and its potential use for managing fire blight of pear. *Plant Dis*, 95(4), 448-454.
- Almeida, I. M. G., Maciel, K. W., Neto, J. R., and Beriam, L. O. S. 2013. *Pseudomonas viridiflava* in imported carrot seeds. *Australas Plant Dis Notes*, 8, 17-19.
- Anonymous. 2012. Bacterial spot of cucurbits. University of Illinois Extension Report on Plant Disease No. 949. URL <http://extensio.cropsciences.illinois.edu/fruitveg/pdfs/949> [28 July 2020].
- Ark, P. A., and Gardner, M. W. 1944. Carrot bacterial blight as it affects the roots. *Phytopathology*, 34, 415-420.
- Bastas, K. K., Butt, H., and Gur, A. 2021. Seedborne Bacteria of Orange and Black Colour Carrots in Turkey. *Intl. J. Phytopathol*, 10(3), 203-214.
- Chiou, C. S., and Jones, A. L. 1995. Molecular analysis of high-level streptomycin resistance

in *Erwinia amylovora*. *Phytopathology*, 85(3), 324-328.

Choi, D. H., Choi, H. J., Kim, Y. J., Lim, Y. J., Lee, I., and Park, D. H. 2022. Screening of bacterial antagonists to develop an effective cocktail against *Erwinia amylovora*. *Res. Plant Dis.*, 28(3), 152-161.

Christianson, C. E., Jones, S. S., and Du Toit, L. J. 2015. Screening carrot germplasm for resistance to *Xanthomonas hortorum* pv. *carotae*. *HortScience*, 50(3), 341-350.

Copping, L. G., and Duke, S. O. 2007. Natural products that have been used commercially as crop protection agents. *Pest Manag Sci: Formerly Pesticide Science*, 63(6), 524-554.

Cui, G., Yin, K., Lin, N., Liang, M., Huang, C., Chang, C. et al. 2020. *Burkholderia gladioli* CGB10: a novel strain biocontrolling the sugarcane smut disease. *Microorganisms*, 8(12), 1943.

Davis, R. M. 2004. Carrot diseases and their management. In *Diseases of Fruits and Vegetables Volume I: Diagnosis and Management* (pp. 397-439). Dordrecht: Springer Netherlands.

Dia, N. C., Morinière, L., Cottyn, B., Bernal, E., Jacobs, J. M., Koebnik, R. et al. 2022. *Xanthomonas hortorum*—beyond gardens: Current taxonomy, genomics, and virulence repertoires. *Mol Plant Pathol*, 23(5), 597-621.

Du Toit, L. J., Crowe, F. J., Derie, M. L., Simmons, R. B., and Pelter, G. Q. 2005. Bacterial

- blight in carrot seed crops in the Pacific Northwest. *Plant Dis*, 89(8), 896-907.
- Du Toit, L. J., Derie, M. L., Christianson, C. E., Hoagland, L., and Simon, P. 2014. First report of bacterial blight of carrot in Indiana caused by *Xanthomonas hortorum* pv. *carotae*. *Plant Dis*, 98(5), 685-685.
- Dupas, E., Durand, K., and Jacques, M. A. 2023. Analysis of the worldwide diversity of *Xanthomonas hortorum* pv. *carotae*, the agent of bacterial blight of carrot, reveals two distinct populations. *bioRxiv*, 2023-04.
- Effantin, G., Rivasseau, C., Gromova, M., Bligny, R., and Hugouvieux-Cotte-Pattat, N. 2011. Massive production of butanediol during plant infection by phytopathogenic bacteria of the genera *Dickeya* and *Pectobacterium*. *Mol Microbiol*, 82(4), 988-997.
- EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization). 2007. *Xanthomonas oryzae*. *Bull OEPP* 37: 543-553.
- Gardan, L., Gouy, C., Christen, R., and Samson, R. 2003. Elevation of three subspecies of *Pectobacterium carotovorum* to species level: *Pectobacterium atrosepticum* sp. nov., *Pectobacterium betavasculorum* sp. nov. and *Pectobacterium wasabiae* sp. nov. *Int J Syst Evol Microbiol*, 53(2), 381-391.
- Gitaitis, R., and Walcott, R. 2007. The epidemiology and management of seedborne bacterial

diseases. *Annu Rev Phytopathol.*, 45, 371-397.

Gugino, B. K., Carroll, J., Chen, J., Ludwig, J. W., and Abawi, G. S. 2004. Carrot leaf blight diseases and their management in New York.

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(5), 482.

Hickichi, Y., Tsujiguchi, K., Maeda, Y., and Okuno, T. 2001. Development of increased oxolinic acid resistance in *Burkholderia glumae*. *J gen Plant Pathol.* 67:58-62

Hong, Y. S., Choi, H. J., Lee, I., Lim, Y. J., Park, S. W., Nam, B. W. et al. 2020. Investigation of Prohibited Seed-Borne Plant Pathogenic Bacteria in Korea. *Res. Plant Dis*, 26(3), 134-143.

Hyun, J. W., Ko, S. W., Kim, D. H., Han, S. G., Kim, K. S., Kwon, H. M. et al. 2005. Effective usage of copper fungicides for environment-friendly control of citrus diseases. *Res. Plant Dis*, 11(2), 115-121.

ISTA (International Seed Testing Association). 2014. Detection of *Xanthomonas hortorum* pv. *carotae* on *Daucus carota* (carrot). International Rules for Seed Testing Annexe to Chapter 7: Seed Health Testing Methods. Switzerland. EU.

- Janse, J. D. 1988. A *Streptomyces* species identified as the cause of carrot scab. *Eur J Plant Pathol*, 94, 303-306.
- Jeon, K. W., Kim, M. G., Park, J. H., and Kim, C. S. 2021. Changes of the qualities and active components of new carrot cultivar 'Tamnahong' according to different harvest time. *J Korean Soc Food Sci Nutr*. 50(10), 1101-1107.
- Kang, S. Y., and Jeun, Y. C. 2010. Suppressive effect of bacterial isolates from plant rhizosphere against late blight caused by *Phytophthora citrophthora* on citrus fruits. *Res. Plant Dis*. 16(1), 35-40.
- Kendrick, J. B. 1934. Bacterial blight of Carrot. *J Agric Res*, 49(6).
- Kim, B. W., Ko, S. B., Moon, A. K., Kim, J. S. 2019. Breeding on high quality and yield to F1 hybrid 'Tamnahong' in carrot. Proceeding of the 110th Annual Meeting of the Korean Society for Horticulture Science. 2019 May 22-25. Gyeongju, Korea. p 100.
- Kim, D. R., Gang, G. H., Myung, I. S., Yoon, H. S., and Kwak, Y. S. 2015. Development of control method for strawberry bacterial angular spot disease (*Xanthomonas fragariae*). *Korean J. Pesticide Sci*. 19(3), 287-294.
- Kim, H. S., Sang, M. K., Jeun, Y. C., Hwang, B. K., and Kim, K. D. 2008. Sequential selection and efficacy of antagonistic rhizobacteria for controlling *Phytophthora* blight of pepper.

Crop Prot. 27(3-5), 436-443.

Kim, J. and Sang, M. K. 2023. Biocontrol activities of *Peribacillus butanolivorans* KJ40, *Bacillus zanthoxyli* HS1, *B. siamensis* H30-3 and *Pseudomonas* sp. BC42 on anthracnose, bacterial fruit blotch and Fusarium wilt of cucumber plants. *Res. Plant Dis.* 29(2), 188-192.

Kim, S. H., Seo, D. C., Park, J. H., Lee, S. T., Lee, S. W., Kim, H. C. et al. 2013. Effects of green manure crops on growth and yield of carrot for reduction of continuous cropping injury of carrot through crop rotation. *Korean J Environ Agric*, 32(4), 279-286.

Kim, Y. S., Ngo, M. T., Kim, B., Han, J. W., Song, J., Park, M. S. et al. 2022. Biological control potential of *Penicillium brasilianum* against fire blight disease. *Plant Pathol J.* 38(5), 461.

Kimbrel, J. A., Givan, S. A., Temple, T. N., Johnson, K. B., and Chang, J. H. 2011. Genome sequencing and comparative analysis of the carrot bacterial blight pathogen, *Xanthomonas hortorum* pv. *carotae* M081, for insights into pathogenicity and applications in molecular diagnostics. *Mol Plant Pathol*, 12(6), 580-594.

Korean Seed Association. 2022. Import status by vegetable seed crop in 2022. URL http://kosaseed.or.kr/sub/sub04_03.php?boardid=data3&mode=view&idx=39&sk=1&sw

=&offset=&category= [12 January 2023].

KOSIS (Korea Statistical Information Service). 2020. URL <http://kosis.kr/index/index.do> [10 May 2021].

Kuan, T. L., Minsavage, G. V., and Gabrielson, R. L. 1985. Detection of *Xanthomonas campestris* pv. *carotae* in carrot seed. *Plant Dis*, 69(9), 758-760.

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(2), 192-204.

McManus, P. S., Stockwell, V. O., Sundin, G. W., and Jones, A. L. 2002. Antibiotic use in plant agriculture. *Annu Rev Phytopathol*. 40(1), 443-465.

Meng, X. Q., Umesh, K. C., Davis, R. M., and Gilbertson, R. L. 2004. Development of PCR-based assays for detecting *Xanthomonas campestris* pv. *carotae*, the carrot bacterial leaf blight pathogen, from different substrates. *Plant Dis*, 88(11), 1226-1234.

Myung, I. S., Yoon, M. J., Lee, J. Y., Kim, G. D., Lee, M. H., Hwang, E. Y. et al. 2014. First report of bacterial leaf blight of carrot caused by *Xanthomonas hortorum* pv. *carotae* in Korea. *Plant Dis*, 98(2), 275-275.

Monira, U. S., Rashid, M. O., Parvin, R., and Doha, S. 2020. Bacterial Panicle Blight: A New

Challenge of Rice. *Bangladesh J*, 36(1&2), 61-68.

Montesinos, E. 2003. Development, registration and commercialization of microbial pesticides for plant protection. *Int. Microbiol.* 6: 245-252.

Nega, E., Ulrich, R., Werner, S., and Jahn, M. 2003. Hot water treatment of vegetable seed-an alternative seed treatment method to control seed-borne pathogens in organic farming/Heißwasserbehandlung von Gemüsesaatgut-eine alternative Saatgutbehandlungsmethode zur Bekämpfung samenbürtiger Pathogene im ökologischen Landbau. *J Plant Dis Prot.* 220-234.

Nishiyama, K., Fukunishi, T., Terada, T., and Ezuka, A. 1979. Bacterial blight of carrot caused by *Xanthomonas carotae*, a bacterial disease new to Japan. *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.* 45(5), 683-688.

Norelli, J. L., Jones, A. L., and Aldwinckle, H. S. 2003. Fire blight management in the twenty-first century: using new technologies that enhance host resistance in apple. *Plant Dis* 87:756-765.

Palomo, J. L., Shima, M., Monterde, A., Navarro, I., Barbé, S., and Marco-Noales, E. 2021. First report of bacterial leaf blight caused by *Xanthomonas hortorum* pv. *carotae* on carrots in Spain. *Plant Dis*, 105(9), 2712.

Park, Y. D., Shim, E. J., Park, J. Y., Oh, G. D., Hwang, E. M., Lee, J. W. et al. 2014.

Development of hairless carrot seed cultivar and molecular markers for export. p. 13-21.

Pfleger, F. L., Harman, G. E., and Marx, G. A. 1974. Bacterial blight of carrots: Interaction of

temperature, light, and inoculation procedures on disease development of various carrot

cultivars. *Phytopathology*, 64(5), 746-749.

Picard, Y., Roumagnac, P., Legrand, D., Humeau, L., Robene-Soustrade, I., Chiroleu, F. et al.

2008. Polyphasic characterization of *Xanthomonas axonopodis* pv. *allii* associated with

outbreaks of bacterial blight on three *Allium* species in the Mascarene archipelago.

Phytopathology 98: 919-925.

Polito, V. S., Pinney, K., Buchner, R., and Olson, W. 2002. Streptomycin applications to

control walnut blight disease can prevent fertilization and increase fruit

drop. *HortScience*, 37(6), 940-942.

Rainey, F., Kämpfer, P., Trujillo, M., Chun, J., DeVos, P., Hedlund, B. et al. 2015. Bergey's

manual of systematics of Archaea and Bacteria (Vol. 410). W. B. Whitman (Ed.).

Hoboken, NJ: Wiley.

Roberts, D. P., Lohrke, S. M., Meyer, S. L., Buyer, J. S., Bowers, J. H., Baker, C. J. et al. 2005.

Biocontrol agents applied individually and in combination for suppression of soilborne

- diseases of cucumber. *Crop Prot.* 24(2), 141-155.
- Saxena, A., Raghuwanshi, R., Gupta, V. K., and Singh, H. B. 2016. Chilli anthracnose: the epidemiology and management. *Front Microbiol* 7: 1527
- Scott, J. C., and Dung, J. K. 2020. Distribution of *Xanthomonas hortorum* pv. *carotae* populations in naturally infested carrot seed lots. *Plant Dis*, 104(8), 2144-2148.
- Serwecińska, L. 2020. Antimicrobials and antibiotic-resistant bacteria: a risk to the environment and to public health. *Water* 12(12): 3313.
- Shantharaj, D., Williams, M. A., Potnis, N. S., and Liles, M. R. 2021. *Burkholderia gladioli* C101 metabolites protect tomato plants against *Xanthomonas perforans* infection. *J Plant Dis Prot.* 128, 379-390.
- Sharma, A., Abrahamian, P., Carvalho, R., Choudhary, M., Paret, M. L., Vallad, G. E. et al. 2022. Future of bacterial disease management in crop production. *Annu Rev Phytopathol*, 60, 259-282.
- Shungu, D. L., Weinberg, E., and Gadebusch, H. H. 1983. In vitro antibacterial activity of norfloxacin (MK-0366, AM-715) and other agents against gastrointestinal tract pathogens. *Antimicrob Agents Chemother.* 23(1), 86-90.
- Stockwell, V. O., and Duffy, B. 2012. Use of antibiotics in plant agriculture. *Rev Sci Tech*,

31(1).

Strandberg, J. O., and White, J. M. 1989. Response of carrot seeds to heat treatments. *J Am Soc Hortic Sci*, 114(5), 766-769.

Sundin, G. W., and Bender, C. L. 1993. Ecological and Genetic Analysis of Copper and Streptomycin Resistance in *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*. *Appl Environ Microbiol.* p.1018-1024.

Tanaka, N., Yamaguchi, H., and Umezawa, H. 1966. Mechanism of kasugamycin action on polypeptide synthesis. *J Biochem*, 60(4), 429-434.

Taylor, J. D., and Dye, D. W. 1976. Evaluation of streptomycin seed treatments for the control of bacterial blight of peas (*Pseudomonas pisi* Sackett 1916). *N Z J Agric Res*, 19(1), 91-95.

Tekiner Aydın, N., and Kotan, R. 2022. Pathogenicity of different *rhizobium radiobacter* (*agrobacterium tumefaciens*) isolates and their identification with conventional methods.

Temple, T. N., du Toit, L. J., Derie, M. L., and Johnson, K. B. 2013. Quantitative molecular detection of *Xanthomonas hortorum* pv. *carotae* in carrot seed before and after hot-water treatment. *Plant Dis*, 97(12), 1585-1592.

The Korean Society of Plant Pathology (KSPP) List of plant diseases in Korea. 5th ed. KSPP;

- Suwon, Korea: 2009. p. 85-86. (in Korean)
- Umesh, K. C., Davis, R. M., and Gilbertson, R. L. 1998. Seed contamination thresholds for development of carrot bacterial blight caused by *Xanthomonas campestris* pv. *carotae*. *Plant Dis*, 82(11), 1271-1275.
- Umesha, S. 2006. Occurrence of bacterial canker in tomato fields of Karnataka and effect of biological seed treatment on disease incidence. *Crop Prot*, 25(4), 375-381.
- USDA. 2021. Research, Education & Economics Information System. URL <https://portal.nifa.usda.gov/web/crisprojectpages/1023567-a-systems-approach-for-managing-bacterial-blight-of-carrot.html> [31 August 2021].
- Vianna, J. F., Bezerra, K. S., Oliveira, I. N., Albuquerque, E. L., and Fulco, U. L. 2019. Binding energies of the drugs capreomycin and streptomycin in complex with tuberculosis bacterial ribosome subunits. *Phys Chem Chem Phys*. 21;21(35):19192-19200.
- Vu, N. T., and Oh, C. S. 2020. Bacteriophage usage for bacterial disease management and diagnosis in plants. *J gen Plant Pathol*. 36(3), 204.
- Weller, D. M. 1988. Biological control of soilborne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. *Annu Rev Phytopathol*. 26(1), 379-407.
- Whiteside, J. O. 1977. Sites of action of fungicides in the control of citrus

melanose. *Phytopathology*, 67(8), 1067-1072.

Yang, J. S., Kang, S. Y., and Jeun, Y. C. 2014. Suppression of Citrus Canker by Pretreatment with Rhizobacterial Strains Showing Antibacterial Activity. *Res. Plant Dis.* 20(2), 101-106.