

III *Xanthomonas* 속 세균의 분류 및 동정

농촌진흥청 작물시험장 작물환경과
최 성 호

1. 서 론

Xanthomonas 속에 속하는 세균은 대부분 식물 병원균이거나 혹은 식물체에서 분리되는 것으로 알려져 있다. 우리나라에 분포하는 *Xanthomonas* 속 세포들은 표1에서 보는 바와 같이 주로 잎이나 줄기에 반점 및 줄무늬 썩음증상을 일으키거나 도관부를 침입 식물체를 말라죽게 하는 병징을 나타내고 있다. 대표적인 병으로는 벼흰잎마름병, 배추검은빛썩음병, 감귤케양병 등이 있다.

과거의 세균분류는 표현형에 의해 주로 이루어졌으며 많은 분류체계가 아직도 중요하다고 생각되는 표현형에 기초를 두고 있다. *Xanthomonas* 속의 분류는 기주특이성이라는 한가지 표현형이 본 속의 분류를 결정해 왔다는 점에서 표현형에 기초를 두어왔다고 할 수 있다. *Xanthomonas*의 최초 보고로부터 1974년까지 새로운 기주식물로부터 분리된 병원성 *Xanthomonas*는 새로운 *Xanthomonas* 종으로 정의하는 것이 통상적이었다. 이러한 경우로부터 결과된 비정상적인 증명은 기주특이성 이외의 다른 특징으로는 증명을 구별하는 것이 불가능한 것을 기초로 재분류를 시도했던 Dye와 Lelliot (1974)의 의해 크게 줄어들었다. 이후 이전의 증명은 *X. campestris* pathovar 이름으로서 특정한 목적을 지닌 분류체계로 유지되었다.

X. campestris 병원성 변이주 모두를 별개의 종으로 구분했던 원래의 *Xanthomonas* 속의 분류는 분류학적으로 문제가 있었다. 기주특이성의 모호한 특성을 제외하고는 종을 구별하기 위해 사용된 생화학적, 형태적 특성은 거의 없었다. 지난 몇 년 동안 연구자들은 140개 이상의 병원형을 포함한 *Xanthomonas*의 현 분류체계는 유전적 연관정도를 반영하지 못한다는 것을 증명해왔다. Murata와 Star (1973)는 *Xanthomonas* 종을 가지고 최초의 핵산교잡 실험을 수행하였으며, 그들이 공시한 종들에서 50% 이상의 핵산 상동성을 관찰하였다. Schroth와 Hildebrand (1983)는 *Pseudomonas*와 *Xanthomonas* 속 내의 분류학적 관계를 명확히 하기 위해서 계놈핵산 상동성 비교의 필요성을 강조하였다. SDS-PAGE 단백질 전기영동, 지방산의 가스크로마토 분석, 계놈핵산의 제한효소단편 다형화(RFLP), rRNA의 제한효소 형태 및 핵산교잡은 *X. campestris* 내에 명확하거나 혹은 불명확하게 구분된 그룹이 존재하며, 많은 종류의 병원형 (pathovar)들이 이질적이라는 것을 보여 주어왔다. 지금까지 보고된 대부분의 핵산교잡 결과는 단편적이었거나, 혹은 장미과나 citrus로부터 분리한 병원형과 같은 특정한 그룹들을 다루었을 뿐이다. 따라서 *Xanthomonas* 속의 전반적인 계놈핵산 상동성 비교는 종과 병원형의 재분류를 위한 기초로서 사용되어야만 한다.

단순히 전체적인 계놈핵산의 차이에 근거를 둔 분류체계는 많은 경우 동정을 위한 목적 특히 표현형이 일상적으로 분류를 위해 사용되는 실험실에서는 실용적이질 못하다. 세균분류에 관한 최근의 방법 중에는 미리 준비되어진 재료를 이용하여 한 번의 실험에서 많은 수의 특성 차이를 구별해낼 수

있는 finger printing 방법이 있다. 그러한 기술은 computer를 이용한 통계학적 비교와 함께 분류학자들로 하여금 합리적이고 실험 오차가 적은 상태에서 많은 수의 미생물에서 여러 특성을 비교할 수 있게끔 한다. 상술한 각 조건들 (신속한 finger printing 검정체계, 많은 균주, 통계적 비교)은 현대의 분류체계에서 매우 중요하다. 반면에, 세포의 전체 핵산 교잡수준으로 표현되는 핵산 상동성은 세균 종의 한계(경계)에 대한 궁극적인 범주로 남아있다. 이상적으로 다면적인 분류는 표현형, 화학적 및 유전적 접근 자료에 근거를 두어야 하며, 이러한 분류체계는 이상의 모든 연구에서 얻어진 결과들이 상당한 정도로 일치될 때 만이 유용하고 안정적이 될 것이다.

본 고찰에서는 계놈핵산의 상동성과 생화학적 대사활성 및 기주에 대한 병원성을 기초로 하고 SDS-PAGE에 의한 단백질 분석과 지방산 조성 분석 등의 자료를 종합하여, 1995년 Vauterin 등에 의해 제안된 *Xanthomonas* 속의 새로운 분류체계를 중심으로 소개하고, 식물병리학자들이 식물조직과 토양에서 쉽게 균을 분리하고 동정할 수 있는 실험법을 응용적인 측면에서 다루었다.

2. 분 류

(1) 분류방법

- 1) 표현형에 의한 분류 : 세균 분류를 위해 기본적으로 검정하는 특성에는 영양요구성, 혐기적 성장성, 그람염색반응과 세포의 형태, 색소생산 여부와 몇 가지 기초적인 생리적 특성 (Oxidase, Catalase test, 설탕환원)들이 있다. 이 외에도 분류를 위해 사용되는 특수한 검정 항목은 영양원에 대한 대사활성, 세포단백질의 형태분석 (SDS-PAGE), 지방산조성 분석 (FAME), 항혈청반응 분석 등이 있다. 식물병원세균인 *Xanthomonas*에서는 기주식물에 대한 병원성이 중요한 검정 항목이다.
- 2) 계놈핵산의 상동성 : 두 가지 다른 균주간 계놈핵산 전체의 염기서열 상동성 정도를 검정하는 방법으로서 용액상태에서와 멤브레인을 이용한 여러 가지 방법들이 개발되어 있다. 일반적으로 80% 이상의 유사성을 보이면 같은 그룹으로 구분하며, 그룹 간 상동성은 40~50% 이하이다.
- 3) rRNA의 상동성 분석 : 주로 원연간의 비교시 사용하는 방법으로서 rRNA와 계놈핵산의 상동성을 비교하거나, 혹은 rRNA 자체나 rRNA 유전자의 핵산염기서열을 결정하여 비교하는 방법이다.
- 4) 핵산 탐침인자를 이용한 핵산분석: 핵산단편을 탐침인자로하여 계놈에 분포하는 유사염기서열의 분포와 숫자를 비교하는 방법이다.

표1. 우리나라에 분포하고 있는 *Xanthomonas* 속에 의한 작물병

작 물	병원균 학명	병 명
벼	<i>X. campestris</i> pv. <i>oryzae</i> <i>X. atroviridigenum</i> <i>X. itoana</i>	Bacterial blight, 흰잎마름병 Black eye spot of rice grains, 쌀검은눈무늬병 Black rot of rice grains, 검은점박이병
보 리	<i>X. campestris</i> pv. <i>translucens</i>	Bacterial streak, 잎줄무늬병
조	<i>X. campestris</i> pv. <i>panici</i>	Bacterial blight, 세균성마름병
콩	<i>X. campestris</i> pv. <i>glycins</i>	Bacterial pustule, 불마름병
강낭콩	<i>X. campestris</i> pv. <i>phaseoli</i>	Bacterial blight, 불마름병
목 화	<i>X. campestris</i> pv. <i>malvacearum</i>	Angular leaf spot, 모무늬병
황 마	<i>X. nakatae</i>	Bacterial leaf spot, 세균성점마름병
삼	<i>X. campestris</i> pv. <i>cannabis</i>	Bacterial blight, 세균성마름병
피마자	<i>X. campestris</i> pv. <i>ricini</i>	Bacterial leaf spot, 세균성점마름병
무 우 배 추 양배추 고 추 상 치	<i>X. campestris</i> pv. <i>campestris</i> <i>X. campestris</i> pv. <i>campestris</i> <i>X. campestris</i> pv. <i>campestris</i> <i>X. campestris</i> pv. <i>vesicatoria</i> <i>X. campestris</i> pv. <i>campestris</i>	Bacterial rot, 검은썩음병 Bacterial rot, 검은썩음병 Bacterial rot, 검은썩음병 Bacterial spot, 더덩이병 Bacterial spot, 세균성점무늬병
귤 복숭아 살 구 자 두	<i>X. campestris</i> pv. <i>citri</i> <i>X. campestris</i> pv. <i>pruni</i> <i>X. campestris</i> pv. <i>pruni</i> <i>X. campestris</i> pv. <i>pruni</i>	cirtus canker, 궤양병 Bacterial shot hole, 세균성구멍병 Bacterial shot hole, 세균성구멍병 Bacterial shot hole, 세균성구멍병
양귀비	<i>X. campestris</i> pv. <i>papavericola</i>	Bacterial blight, 세균성점무늬병

(한국식물병, 해충, 잡초명감, 1986, 한국식물보호학회)

(2) *Xanthomonas* 속

*Xanthomonas*는 식물병원균이거나 혹은 식물과 관계가 있다. 대부분의 *Xanthomonas* 균주는 노란색의 끈끈하고 매끄러운 colony (균총)를 형성한다. 노란색 색소는 Xanthomonadin이라고 하는 mono- 또는 dibromo arylpolyens이며, 본 세균 속의 특징이다. 세포외 다당질은 끈끈한 점액상 생육의 원인이 되며, 본 세균 속의 전형적인 특성이다.

세포는 그램음성으로서 0.4-0.6 x 1.0-2.9 μm 의 크기이다. 대부분 단세포나 혹은 쌍으로 나타나며, 흔히 쇠상으로 나타나기도 하나, 간혹 사상형태의 세포도 나타난다. 세포는 보통 한 개의 극모에 의해서 운동성을 가진다.

Catalase가 존재하나 urease와 indole은 생성하지 않는다. nitrate를 nitrite로 환원시키지 않으며, oxidase가 존재하지 않거나 혹은 매우 약하다. Acetone을 형성하지 않으며, 리트머스 우유를 산화시

키지 않는다. pH 4.5 혹은 4 이하나 37°C 이상에서는 자라지 않으며, NaCl 6%와 30%의 sucrose, 0.01% methyl green, 0.01% thionin, 0.01% lead acetate와 0.1% triphenyl tetrazoliumchloride 상태에서도 자라지 않는다. 균주들은 대부분 erythromycin과 tetracycline에 민감하다. 여러 종류의 탄소원으로부터 약간의 산을 생성하나, L-rhamnose, adonitol, sorbose, D-sorbitol, meso-erythritol과 meso-inositol에서는 산을 생성하지 않는다. Glycin과 L-glutamine, L-asparagine은 유일한 탄소원과 질소원으로서 이용되지 않는다. *Xanthomonas* 속 균주들은 chemoorganotropic (영양요구성)이며 하나 또는 그 이상의 growth factor (생장소)를 필요로 한다.

Xanthomonas 균주들은 11:0 iso 3 OH, 12:0 3 OH, 13:0 iso 3 OH, 15:0 iso, 16:1 cis-9, 16:0, 17:1 iso F, 17:0 iso 와 같은 9 가지의 지방산을 함유하고 있다. 이들 중 11:0 iso, 11:0 iso 3 OH 13:0 iso 3 OH는 *Xanthomonas*의 특징적인 것으로서 다른 세균으로부터 *Xanthomonas* 속을 구별하는데 유용한 형질이다.

Xanthomonas 균주들은 주요 polyamine으로서 spermidine을 함유하고 있다. Spermine은 보통 검출될 만한 양으로 존재하는 반면, 2-hydroxyputrescine, 1,3-diaminopropane, putrescine은 결코 존재하지 않는다. 몇몇 균주들은 cadaverine을 함유한다.

Biolog의 GN microplate에서 D-fructose, α -D-glucose, D-mannose, methylpyruvate와 α -ketoglutaric acid 같은 탄소원들은 최소한 공시균주의 94% 이상에 의해 산화되며, 따라서 *Xanthomonas* 속의 특징으로 볼 수 있다. 반대로 α -cyclodextrin, adonitol, D-arabitol, meso-erythritol, meso-inositol, Xylitol, D-glucosaminic acid, γ -hydroxybutyric acid, itaconic acid, sebacic acid, L-ornithine, L-pyroglytamic acid, D-serine, DL-carnithine, γ -aminobutyric acid, phenyl ethylamine, putrescine, 2-amino ethanol과 2,3-butanediol은 94% 이상의 균주들에 의해 산화되지 않는다. G+C 함량은 63.3-69.7 mol%이며, 표준종은 *Xanthomonas campestris*이다.

(3) 종 분류와 특성

계능핵산의 상동성과 Biolog의 GN microplate, 생화학적 특성, 지방산 조성 분석 및 단백질 분석 자료를 종합하여 Vauterin 등(1995)이 새로이 제시한 *Xanthomonas* 속 내 종들의 분류와 특성은 다음과 같다.

1) *Xanthomonas fragariae*

종내에서 균주간 상동성이 높으며, 다른 종들과 뚜렷이 구별된다. 아직 pathovar가 보고된 바 없다. 계능핵산 상동성과 탄소원 이용여부 등에 의해서 다른 종과 구별된다. 탄소원 중 dextrin, glycogen, D-fructose, gentiobiose, α -D-glucose, maltose, D-mannose, D-psicose, D-trehalose, methylpyruvate, L-glutamic acid 등을 이용하며, 반면에 α -cyclodextrin, Tween 40, Tween 80, N-acetyl-D-galactosamine, Adonitol, L-arabinose, D-arabitol, cellobiose, meso-erythritol, meso-inositol, α -D-lactose, lactulose, D-mannitol, D-melibiose, β -methyl-D-glucoside, D-raffinose, L-rhamnose, D-sorbitol, xylitol, monomethylsuccinate, acetic acid, cis-aconitic acid, citric acid, formic acid, D-galactonic acid lactone, D-galacturonic acid, D-gluconic acid, D-glucosaminic acid, D-glucuronic acid, α -hydroxybutyric acid, β -hydroxybutyric acid, γ

-hydroxybutyric acid, *p*-hydroxyphenylacetic acid, itaconic acid, α -ketobutyric acid, α -ketovaleric acid, DL-lactic acid, malonic acid, propionic acid, quinic acid, sebacic acid, glucuronamide, alaninamide, D-alanine, L-alanine, L-alanyl-glycine, L-asparagine, L-aspartic acid, glycyl-L-aspartic acid, glycyl-L-glutamic acid, L-histidine, hydroxy-L-proline, L-leucine, L-ornithine, L-phenylalanine, L-proline, L-pyroglutamic acid, D-serine, L-serine, L-threonine, DL-carnithine, *r*-aminobutyric acid, urocanic acid, inosine, uridine, thymidine, phenyl ethylamine, putrescine, 2-aminoethanol, 2,3-butanediol, glycerol, DL- α -glycerolphosphate, glucose 1-phosphate, glucose 6-phosphate 등을 이용하지 못한다.

2) *Xanthomonas hortorum*

계놈핵산교잡시 종내 균주간 상동성이 92% 이상으로 매우 높으며, 다른 종과는 뚜렷이 구별된다. Biolog의 GN microplate 반응으로 다른 종들과의 구별이 가능하다. Cellobiose, gentiobiose, maltose, D-melibiose, D-psicose, D-trehalose, monomethylsuccinate, DL-lactic acid, succinic acid, bromosuccinic acid, succinic acid, alaninamide, L-alanine, L-alanyl-glycine, L-glutamic acid, L-serine 등을 이용하며, 반면에 N-acetyl-D-galactosamine, L-arabinose, α -D-lactose, D-mannitol, β -methyl-D-glucoside, L-rhamnose, D-sorbitol, formic acid, D-galactonic acid lactone, β -hydroxybutyric acid, *p*-hydroxyphenylacetic acid, α -ketovaleric acid, quinic acid, D-saccharic acid, glucuronamide, L-asparagine, glycyl-L-aspartic acid, L-histidine, L-leucine, L-phenylalanine, urocanic acid, inosine, uridine, thymidine 등을 이용하지 못한다. Pathovar *pelargonii*, pv. *hederae*, pv. *vitians*가 있으며 단백질분석과 지방산 분석으로 종내 pathovar 간 구별이 부분적으로 가능하다.

G+C 함량은 63.6-65.1 mol%이다.

3) *Xanthomonas populi*

계놈핵산 상동성과 다른 여러 가지의 표현형으로서 다른 종과 구별되며, 아직 종내 pathovar는 분류되고 있지 않다. 탄소원 중 dextrin, glycogen, D-fructose, α -D-glucose, maltose, D-mannose, D-psicose, sucrose, D-trehalose, alaninamide 등을 이용하며, 반면에 α -cyclodextrin, Tween 40, Tween 80, N-acetyl-D-galactosamine, Adonitol, L-arabinose, D-arabitol, cellobiose, *meso*-erythritol, L-fucose, *meso*-inositol, α -D-lactose, lactulose, D-melibiose, D-raffinose, L-rhamnose, xylitol, formic acid, D-galactonic acid lactone, D-galacturonic acid, D-glucosaminic acid, D-glucuronic acid, α -hydroxybutyric acid, β -hydroxybutyric acid, γ -hydroxybutyric acid, *p*-hydroxyphenylacetic acid, itaconic acid, α -ketobutyric acid, α -ketovaleric acid, propionic acid, quinic acid, D-saccharic acid, sebacic acid, succinamic acid, glucuronamide, D-alanine, L-asparagine, L-aspartic acid, L-glutamic acid, glycyl-L-aspartic acid, L-histidine, hydroxy-L-proline, L-leucine, L-ornithine, L-phenylalanine, L-pyroglutamic acid, D-serine, DL-carnithine, *r*-aminobutyric acid, urocanic acid, inosine, uridine, phenyl ethylamine, putrescine, 2-aminoethanol, 2,3-butanediol, DL- α -glycerolphosphate, glucose 1-phosphate, glucose 6-phosphate 등을 이용하지 못한다.

4) *Xanthomonas arboricola*

기주특이적 병원성으로 pathovar *corylina*, pv. *juglandis*, pv. *pointsetticola*, pv. *populi*, pv. *pruni*가 분류되어 있으며, 종내 계놈핵산 상동성은 89%로 매우 높다. 특히 Quinate를 이용할 수 있으며, 이는 대부분의 다른 종들과 구별되는 특징이다. 탄소원 중 dextrin, glycogen, Tween 80, N-acetyl-D-glucosamine, cellobiose, L-fucose, D-galactose, gentiobiose, maltose, D-psicose, D-trehalose, monomethylsuccinate, acetic acid, DL-lactic acid, succinic acid, bromosuccinic acid, succinamic acid, L-glutamic acid, glycy-L-glutamic acid, glycerol 등을 이용하며, 반면에 N-acetyl-D-galactosamine, L-arabinose, D-mannitol, β -methyl-D-glucoside, D-raffinose, L-rhamnose, formic acid, D-galactonic acid lactone, D-galacturonic acid, D-gluconic acid, D-glucuronic acid, *p*-hydroxyphenylacetic acid, α -ketovaleric acid, quinic acid, D-saccharic acid, glucuronamide, L-phenylalanine, thymidine, glucose-6-phosphate 등을 이용하지 못한다.

G+C 함량은 66.0-67.0 mol%이다.

5) *Xanthomonas cassavae*

계놈핵산 상동성과 단백질 패턴, 지방산 구성 등에 의해서 다른 종들과 구별이 된다. 기주특이적 병원형 (pathovar)은 아직 분류되지 않고 있다. 탄소원 중 L-fucose, gentiobiose, maltose, D-melibiose, D-trehalose, monomethylsuccinate, succinic acid, bromosuccinic acid, succinamic acid, alaninamide, D-alanine, L-alanine, L-alaninylglycine, L-glutamic acid, glycy-L-glutamic acid, L-serine 등을 이용하며, 반면에 α -D-lactose, D-mannitol, β -methyl-D-glucoside, D-raffinose, L-rhamnose, D-sorbitol, formic acid, D-galacturonic acid, α -hydroxybutyric acid, β -hydroxybutyric acid, *p*-hydroxyphenylacetic acid, malonic acid, propionic acid, quinic acid, glucuronamide, L-histidine, L-leucin, L-phenylalanine, urocanic acid, thymidine, glucose 6-phosphate 등을 이용하지 못한다.

G+C 함량은 64.2-66.1 mol%이다.

6) *Xanthomonas codiae*

본 종에 속하는 균주들은 *Cordiaum variegatum*에 시들음병을 일으키며 기존 분류체계 중 *X. campestris* pv. *pointsetticola* type B균주가 여기에 속한다. 아직까지 pathovar가 분류되어 있지 않다. 계놈핵산 상동성과 단백질 패턴 및 탄소원 이용여부 등에 의해서 다른 종과 구별된다. 탄소원 중 dextrin, glycogen, Tween 40, Tween 80, N-acetyl-D-glucosamine, cellobiose, D-galactose, gentiobiose, α -D-lactose, lactulose, maltose, D-melibiose, β -methyl-D-glucoside, D-psicose, sucrose, D-trehalose, turanose, monomethylsuccinate, acetic acid, *cis*-aconitic acid, citric acid, α -ketobutyric acid, malonic acid, propionic acid, D-saccharic acid, succinic acid, bromosuccinic acid, succinamic acid, alaninamide, D-alanine, L-alanine, L-alaninylglycine, L-glutamic acid, glycy-L-aspartic acid, glycy-L-glutamic acid, hydroxy-L-proline, L-proline, L-serine, glycerol 등을 이용하며, 반면에 N-acetyl-D-galactosamine, L-arabinose, L-fucose, L-rhamnose, formic acid,

D-galactonic acid lactone, D-galacturonic acid, D-gluconic acid, D-glucuronic acid, p-hydroxyphenylacetic acid, α -ketovaleric acid, DL-lactic acid, quinic acid, glucuronamide, L-asparagine, L-histidine, urocanic acid, inosine, uridine, thymidine, DL- α -glycerolphosphate, glucose 1-phosphate, glucose 6-phosphate를 이용하지 못한다.

G+C 함량은 66.3 mol%이다.

7) *Xanthomonas bromi*

본 종에 속하는 균주들은 bromegrass (*Bromus* spp.)에 시들음병을 일으키며, 아직까지 pathovar가 분류되어 있지 않다. 게놈핵산 상동성과 단백질 패턴, 지방산 구성 및 탄소원 이용여부 등에 의해서 다른 종과 구별된다. 탄소원 중 dextrin, N-acetyl-D-glucosamine, cellobiose, D-galactose, gentibiose, maltose, D-psicose, sucrose, D-trehalose, turanose, monomethylsuccinate, D-glucuronic acid, DL-lactic acid, succinic acid, bromosuccinic acid, succinamic acid, alaninamide, L-alaninylglycine, L-aspartic acid, L-glutamic acid, glycyl-L-glutamic acid, L-serine 등을 이용하며, 반면에 N-acetyl-D-galactosamine, D-raffinose, cis-aconitic acid, formic acid, D-galactonic acid lactone, D-galacturonic acid, α -hydroxybutyric acid, p-hydroxyphenylacetic acid, α -ketovaleric acid, malonic acid, quinic acid, D-saccharic acid, D-alanine, L-asparagine, glycyl-L-aspartic acid, L-histidine, hydroxy-L-proline, L-leucine, L-phenylalanine, L-threonine, urocanic acid, uridine을 이용하지 못한다.

G+C 함량은 65.6 mol%이다.

8) *Xanthomonas curcurbitae*

본 종에 속하는 균들은 *Citrullus vulgaris*, *Cucumis sativus*, *Curcurbita* spp. (Cucurbitaceae) 등의 병걸린 식물체에서 분리되며, 아직까지 pathovar가 분류되어 있지 않다. 게놈핵산 상동성과 단백질 패턴, 지방산 구성 및 탄소원 이용여부 등에 의해서 다른 종과 구별된다. 탄소원 중 dextrin, glycogen, cellobiose, maltose, D-psicose, D-trehalose, monomethylsuccinate, DL-lactic acid, succinic acid, bromosuccinic acid, L-glutamic acid, L-serine 등을 이용하며, 반면에 N-acetyl-D-galactosamine, L-arabinose, gentibiose, α -D-lactose, lactulose, D-mannitol, β -methyl-D-glucoside, D-raffinose, L-rhamnose, D-sorbitol, sucrose, turanose, acetic acid, cis-aconitic acid, citric acid, formic acid, D-galactonic acid lactone, D-galacturonic acid, D-gluconic acid, D-glucuronic acid, β -hydroxybutyric acid, p-hydroxyphenylacetic acid, α -ketovaleric acid, α -ketovaleric acid, malonic acid, propionic acid, quinic acid, glucuronamide, D-alanine, L-asparagine, glycyl-L-aspartic acid, L-histidine, hydroxy-L-proline, L-leucine, L-phenylalanine, L-threonine, urocanic acid, inosine, uridine, thymidine, DL- α -glycerolphosphate, glucose 1-phosphate, glucose 6-phosphate를 이용하지 못한다.

G+C 함량은 65.1-66.8 mol%이다.

9) *Xanthomonas axonopodis*

본 종은 가장 많은 종류의 병원형들이 속해 있는 종으로서 계놈핵산 상동성과 탄소원 이용여부 등에 의해 다른 종과 구별된다. 기주특이적 병원성에 따라 모두 24개의 pathovar 가 분류되어 있으며, pv. *axonopodis*를 제외하고는 모두 기존의 *X. campestris* pathovar 에 속하는 균들이 새로이 본 종으로 분류되었다. 본 종에 속하는 pathovar는 pv. *alfalfa*, *bauhiniae*, *begoniae*, *cajani*, *cassavae*, *cassiae*, *citri*, *aurantifolii* (기존의 *X. campestris* pv. *citri* B, C & D), *citrumelo* (기존의 *X. campestris* pv. *citri* E), *clitoriae*, *coracanae*, *cyamopsidis*, *desmodii*, *desmodiigangetici*, *desmodiiritundifolii*, *dieffenbachiae*, *erythrinae*, *glycins*, *lespedezae*, *malvacearum*, *manihotis*, *patelii*, *phaseoli*, *phaseoli var. fuscans*, *phyllanthi*, *pointsettiicola*, *rhynchosiae*, *ricini*, *sesbaniae*, *tamarindi*, *vasculorum*, *vesicatoria*, *vignaeradiatae*, *vignicola*, *vitians* 등이 있다. 탄소원 중 dextrin, cellobiose, gentiobiose, maltose, D-psicose, D-trehalose, monomethylsuccinate, succinic acid, bromosuccinic acid, succinamic acid, D-alanine, L-alanine, L-alanylglycine, L-glutamic acid, glycyl-L-glutamic acid 등을 이용하며, 반면에 β -methyl-D-glucoside, L-rhamnose, formic acid, D-galactonic acid lactone, D-galacturonic acid, D-glucuronic acid, *p*-hydroxyphenylacetic acid, α -ketovaleric acid, quinic acid, glucuronamide, L-phenylalanine, thymidine을 이용하지 못한다.

G+C 함량은 65.0-67.6 mol%이다.

10) *Xanthomonas oryzae*

본 종은 계놈핵산 상동성과 표현형에 의해 다른 종과 구별되며, pv. *oryzae*와 pv. *oryzicola*로 분류되어 있다. 탄소원 중 dextrin, cellobiose, D-fructose, α -D-glucose, maltose, D-mannose, D-psicose, D-trehalose, methylpyruvate, α -ketoglutaric acid, succinic acid 등을 이용하며, 반면에 α -cyclodextrin, N-acetyl-D-galactosamine, Adonitol, D-arabitol, *meso*-erythritol, *meso*-inositol, α -D-lactose, lactulose, D-mannitol, D-melibiose, β -methyl-D-glucoside, D-raffinose, L-rhamnose, D-sorbitol, xylitol, acetic acid, *cis*-aconitic acid, citric acid, formic acid, D-galactonic acid lactone, D-galacturonic acid, D-gluconic acid, D-glucosaminic acid, D-glucuronic acid, α -hydroxybutyric acid, β -hydroxybutyric acid, γ -hydroxybutyric acid, *p*-hydroxyphenylacetic acid, itaconic acid, α -ketobutyric acid, α -ketovaleric acid, malonic acid, propionic acid, quinic acid, D-saccharic acid, sebacic acid, glucuronamide, L-asparagine, L-aspartic acid, glycyl-L-aspartic acid, L-histidine, hydroxy-L-proline, L-leucine, L-ornithine, L-phenylalanine, L-proline, L-pyroglutamic acid, D-serine, L-serine, L-threonine, DL-carnithine, *r*-aminobutyric acid, urocanic acid, inosine, uridine, thymidine, phenyl ethylamine, putrescine, 2-aminoethanol, 2,3-butanediol, glycerol, DL- α -glycerolphosphate, glucose 1-phosphate, glucose 6-phosphate 등을 이용하지 못한다.

11) *Xanthomonas vasicola*

본 종은 계놈핵산 상동성과 단백질 패턴, 지방산 구성 및 탄소원 이용여부 등에 의해서 다른 종과 구별되며, pv. *holicola*와 pv. *vasculorum*으로 분류되어 있다. 탄소원 중 D-psicose, L-glutamic

acid 등을 이용하며, 반면에 N-acetyl-D-galactosamine, L-arabinose, α -D-lactose, D-melibiose, β -methyl-D-glucoside, L-rhamnose, D-sorbitol, formic acid, D-galactonic acid lactone, D-galacturonic acid, D-gluconic acid, D-glucuronic acid, *p*-hydroxyphenylacetic acid, α -ketovaleric acid, quinic acid, glucuronamide, L-asparagine, L-histidine, L-phenylalanine, urocanic acid, inosine, uridine, thymidine, DL- α -glycerolphosphate, glucose 1-phosphate, glucose 6-phosphate를 이용하지 못한다.

G+C 함량은 64.2 mol%이다.

12) *Xanthomonas pisi*

본 종에 속하는 균들은 *Pisum sativum* (Fabaceae)의 병결린 식물체에서 분리되며, 아직까지 pathovar가 분류되어 있지 않다. 계놈핵산 상동성과 단백질 패턴 및 탄소원 이용여부 등에 의해서 다른 종과 구별된다. 탄소원 중 dextrin, glycogen, Tween 40, Tween 80, N-acetyl-D-galactosamine, L-arabinose, cellobiose, L-fucose, D-galactose, gentiobiose, α -D-lactose, lactulose, maltose, D-mannitol, D-melibiose, β -methyl-D-glucoside, D-psicose, D-raffinose, L-rhamnose, D-sorbitol, sucrose, D-trehalose, turanose, monomethylsuccinate, *cis*-aconitic acid, citric acid, formic acid, D-galactonic acid lactone, D-galacturonic acid, D-gluconic acid, D-glucuronic acid, α -hydroxybutyric acid, *p*-hydroxyphenylacetic acid, α -ketobutyric acid, DL-lactic acid, malonic acid, propionic acid, D-saccharic acid, succinic acid, bromosuccinic acid, succinamic acid, glucuronamide, alaninamide, D-alanine, L-alanine, L-alanylglycine, L-asparagine, L-aspartic acid, L-glutamic acid, glycyl-L-aspartic acid, glycyl-L-glutamic acid, L-histidine, L-phenylalanine, L-proline, L-serine, L-threonine, urocanic acid, inosine, uridine, thymidine, glycerol, DL- α -glycerolphosphate, glucose, 1-phosphate, glucose 6-phosphate 등을 이용하며, 반면에 acetic acid, β -hydroxybutyric acid, α -ketovaleric acid을 이용하지 못한다.

G+C 함량은 64.6 mol%이다.

13) *Xanthomonas melonis*

본 종에 속하는 균들은 melones (*Cucumis melo*)의 병결린 식물체에서 분리되며, 아직까지 pathovar가 분류되어 있지 않다. 계놈핵산 상동성 및 탄소원 이용여부 등에 의해서 다른 종과 구별된다. 탄소원 중 dextrin, glycogen, Tween 40, Tween 80, N-acetyl-D-glucosamine, cellobiose, L-fucose, D-galactose, gentiobiose, lactulose, maltose, D-melibiose, D-psicose, sucrose, D-trehalose, monomethylsuccinate, acetic acid, *cis*-aconitic acid, citric acid, α -ketobutyric acid, malonic acid, propionic acid, D-saccharic acid, succinic acid, bromosuccinic acid, succinamic acid, glucuronamide, alaninamide, D-alanine, L-alanine, L-alanylglycine, L-glutamic acid, glycyl-L-glutamic acid, hydroxy-L-proline, L-leucine, L-proline, L-serine, L-threonine 등을 이용하며, 반면에 N-acetyl-D-galactosamine, L-arabinose, D-mannitol, L-rhamnose, D-sorbitol, formic acid, D-galactonic acid lactone, D-galacturonic acid, D-gluconic acid, D-glucuronic acid, *p*-hydroxyphenylacetic acid, quinic acid, glucuronamide, L-asparagine, L-histidine,

L-phenylalanine, urocanic acid, inosine, thymidine, DL- α -glycerolphosphate, glucose 1-phosphate, glucose 6-phosphate 등을 이용하지 못한다.

G+C 함량은 66.1 mol%이다.

14) *Xanthomonas vesicatoria*

본 종에 속하는 균들은 pepper (*Capsicum annum*), tomato (*Lycopersicon spp.*)과 여러 종류의 Solanaceous의 병걸린 식물체에서 분리되며, 아직까지 pathovar가 분류되어 있지 않다. 게놈핵산 상동성과 단백질 패턴 및 탄소원 이용여부 등에 의해서 다른 종과 구별된다. 탄소원 중 dextrin, Tween 80, L-fucose, gentiobiose, maltose, D-psicose, D-trehalose, monomethylsuccinate, succinic acid, bromosuccinic acid, succinamic acid, alaninamide, L-alanine, L-serine, 등을 이용하며, 반면에 L-arabinose, D-galactose, α -D-lactose, β -methyl-D-glucoside, D-raffinose, *cis*-aconitic acid, formic acid, D-galactonic acid lactone, D-gluconic acid, D-glucuronic acid, *p*-hydroxyphenylacetic acid, α -ketobutyric acid, quinic acid, glucuronamide, glycyl-L-aspartic acid, thymidine, glucose 6-phosphate 등을 이용하지 못한다.

G+C 함량은 65.6 mol%이다.

15) *Xanthomonas campestris*

본 종에 속하는 균들은 Brassicaceae에 속하는 여러 종류의 crucifer의 병걸린 식물체에서 분리되며, pv. *aberrans*, pv. *armoraciae*, pv. *barbareae*, pv. *campestris*, pv. *incanae*, pv. *raphani* 등의 pathovar로 분류되어 있다. 게놈핵산 상동성과 단백질 패턴, 지방산 조성 및 탄소원 이용여부 등에 의해서 다른 종과 구별된다. 탄소원 중 dextrin, glycogen, N-acetyl-D-glucosamine, cellobiose, L-fucose, D-galactose, gentiobiose, lactulose, maltose, D-melibiose, D-psicose, D-trehalose, monomethylsuccinate, malonic acid, D-saccharic acid, succinic acid, bromosuccinic acid, L-glutamic acid 등을 이용하며, 반면에 N-acetyl-D-galactosamine, L-arabinose, α -D-lactose, D-mannitol, β -methyl-D-glucoside, L-rhamnose, D-sorbitol, formic acid, D-galactonic acid lactone, D-galacturonic acid, D-gluconic acid, D-glucuronic acid, β -hydroxybutyric acid, *p*-hydroxyphenylacetic acid, α -ketovaleric acid, quinic acid, glucuronamide, L-asparagine, glycyl-L-aspartic acid, L-histidine, L-leucine, L-phenylalanine, urocanic acid, uridine, thymidine, DL- α -glycerolphosphate 등을 이용하지 못한다.

G+C 함량은 65.8-66.6 mol%이다.

16) *Xanthomonas translucens*

본 종에 속하는 균들은 Poaceae에 속하는 여러 종류의 병걸린 식물체에서 분리되며, 기주특이적 병원성이나 병원력에 따라 pathovar *arrhenatheri*, pv. *cerealis*, pv. *graminis*, pv. *hordei*, pv. *phlei*, pv. *phleipratensis*, pv. *poae*, pv. *secalis*, pv. *translucens*, pv. *undulosa*로 분류되어 있다. 게놈핵산 상동성과 단백질 패턴, 지방산 조성 및 탄소원 이용여부 등에 의해서 다른 종과 구별된다. 탄소원 중 dextrin, maltose, D-psicose, D-trehalose, turanose, alaninamide, L-alanylglycine,

L-glutamic acid 등을 이용하며, 반면에 N-acetyl-D-galactosamine, α -D-lactose, D-mannitol, D-melibiose, β -methyl-D-glucoside, D-raffinose, L-rhamnose, D-sorbitol, acetic acid, cis-aconitic acid, formic acid, D-galactonic acid lactone, D-galacturonic acid, D-gluconic acid, D-glucuronic acid, *p*-hydroxyphenylacetic acid, α -ketobutyric acid, α -ketovaleric acid, malonic acid, propionic acid, quinic acid, D-saccharic acid, glucuronamide, L-histidine, L-leucine, L-phenylalanine, L-proline, L-threonine, urocanic acid, inosine, thymidine, DL- α -glycerolphosphate 등을 이용하지 못한다.

G+C 함량은 69.1-69.7 mol%이다.

17) *Xanthomonas hyacinthi*

본 종에 속하는 균들은 *Hyacinthus orientalis*에 시들음병을 일으키며, 아직까지 pathovar가 분류되어 있지 않다. 계놈핵산 상동성과 단백질 패턴, 지방산 조성 및 탄소원 이용여부 등에 의해서 다른 종과 구별된다. 탄소원 중 dextrin, glycogen, cellobiose, D-galactose, gentiobiose, maltose, D-psicose, sucrose, D-trehalose, monomethylsuccinate, β -hydroxybutyric acid, succinic acid, bromosuccinic acid, succinamic acid, L-glutamic acid, glycyl-L-glutamic acid, glycerol, glucose 1-phosphate, glucose 6-phosphate 등을 이용하며, 반면에 N-acetyl-D-galactosamine, L-fucose, α -D-lactose, lactulose, D-mannitol, D-melibiose, D-raffinose, L-rhamnose, D-sorbitol, acetic acid, cis-aconitic acid, citric acid, formic acid, D-galactonic acid lactone, D-galacturonic acid, D-gluconic acid, D-glucuronic acid, α -hydroxybutyric acid, *p*-hydroxyphenylacetic acid, α -ketobutyric acid, α -ketovaleric acid, DL-lactic acid, malonic acid, propionic acid, quinic acid, D-saccharic acid, glucuronamide, alaninamide, D-alanine, L-alanine, L-alanyl-glycine, L-asparagine, L-histidine, L-leucine, L-phenylalanine, L-proline, thymidine 등을 이용하지 못한다.

G+C 함량은 69.2-69.3 mol%이다.

18) *Xanthomonas theicola*

본 종에 속하는 균들은 차나무 (*Camellia sinensis*)에 병을 일으키며, 아직까지 pathovar가 분류되어 있지 않다. 계놈핵산 상동성과 단백질 패턴, 지방산 조성 및 탄소원 이용여부 등에 의해서 다른 종과 구별된다. 탄소원 중 dextrin, glycogen, Tween 40, Tween 80, cellobiose, L-fucose, D-galactose, gentiobiose, maltose, D-psicose, β -hydroxybutyric acid, α -ketovaleric acid, DL-lactic acid, alaninamide, D-alanine, L-alanine, L-alanyl-glycine, hydroxy-L-proline 등을 이용하며, 반면에 N-acetyl-D-galactosamine, N-acetyl-D-glucosamine, α -D-lactose, lactulose, D-mannitol, D-melibiose, β -methyl-D-glucoside, D-raffinose, sucrose, cis-aconitic acid, citric acid, formic acid, D-galactonic acid lactone, D-galacturonic acid, D-gluconic acid, D-glucuronic acid, *p*-hydroxyphenylacetic acid, α -ketobutyric acid, malonic acid, propionic acid, quinic acid, D-saccharic acid, bromosuccinic acid, glucuronamide, L-asparagine, glycyl-L-aspartic acid, L-histidine, L-leucine, L-phenylalanine, urocanic acid, thymidine 등을 이용하지 못한다.

G+C 함량은 69.2 mol%이다.

19) *Xanthomonas sacchari*

본 종에 속하는 균들은 병에 걸린 사탕수수 (*Saccharum officinarum*)에서 분리되며, 아직까지 pathovar가 분류되어 있지 않다. 계놈핵산 상동성과 단백질 패턴, 지방산 조성 및 탄소원 이용여부에 의해서 다른 종과 구별된다. 탄소원 중 dextrin, glycogen, Tween 40, Tween 80, N-acetyl-D-glucosamine, L-arabinose, cellobiose, L-fucose, D-galactose, gentiobiose, α -D-lactose, lactulose, maltose, D-melibiose, β -methyl-D-glucoside, D-psychose, sucrose, D-trehalose, turanose, monomethylsuccinate, acetic acid, *cis*-aconitic acid, citric acid, α -hydroxybutyric acid, β -hydroxybutyric acid, α -ketobutyric acid, α -ketovaleric acid, DL-lactic acid, propionic acid, quinic acid, succinic acid, bromosuccinic acid, succinamic acid, alaninamide, D-alanine, L-alanine, L-alanyl-glycine, L-asparagine, L-aspartic acid, L-glutamic acid, glycyl-L-glutamic acid, hydroxy-L-proline, L-leucine, L-phenylalanine, L-serine, L-threonine, glycerol 등을 이용하며, 반면에 N-acetyl-D-galactosamine, D-raffinose, L-rhamnose, D-sorbitol, *p*-hydroxyphenylacetic acid, malonic acid, glucuronamide, L-histidine, urocanic acid, glucose 1-phosphate, glucose 6-phosphate 등을 이용하지 못한다.

G+C 함량은 68.5 mol%이다.

20) *Xanthomonas albilineans*

기존의 균주들이 본 종에 속하며 아직까지 pathovar가 분류되어 있지 않다. 계놈핵산 상동성과 탄소원 이용여부 등에 의해서 다른 종과 구별된다. 탄소원 중 N-acetyl-D-glucosamine, D-fructose, α -D-glucose, D-mannose, sucrose, methylpyruvate, DL-lactic acid 등을 이용하며, 반면에 α -cyclodextrin, dextrin, glycogen, Tween 80, N-acetyl-D-galactosamine, Adonitol, D-arabitol, *meso*-erythritol, D-galactose, gentiobiose, *meso*-inositol, α -D-lactose, lactulose, maltose, D-mannitol, D-melibiose, β -methyl-D-glucoside, D-psychose, D-raffinose, L-rhamnose, D-sorbitol, D-trehalose, turanose, xylitol, monomethylsuccinate, acetic acid, *cis*-aconitic acid, citric acid, formic acid, D-galactonic acid lactone, D-galacturonic acid, D-gluconic acid, D-glucosaminic acid, D-glucuronic acid, α -hydroxybutyric acid, β -hydroxybutyric acid, γ -hydroxybutyric acid, *p*-hydroxyphenylacetic acid, itaconic acid, α -ketobutyric acid, α -ketovaleric acid, malonic acid, propionic acid, quinic acid, D-saccharic acid, sebacic acid, succinic acid, bromosuccinic acid, succinamic acid, glucuronamide, D-alanine, L-alanine, L-asparagine, L-aspartic acid, glycyl-L-aspartic acid, glycyl-L-glutamic acid, L-histidine, hydroxy-L-proline, L-leucine, L-ornithine, L-phenylalanine, L-pyroglutamic acid, D-serine, L-serine, L-threonine, DL-carnithine, *r*-aminobutyric acid, urocanic acid, inosine, uridine, thymidine, phenyl ethylamine, putrescine, 2-aminoethanol, 2,3-butanediol, glycerol, DL- α -glycerolphosphate, glucose 1-phosphate, glucose 6-phosphate 등을 이용하지 못한다.

21) *Xanthomonas* sp.

기존의 분류체계 중에서 66 종류의 *X. campestris* pv. 가 아직 종단위로 분류되어 있지 않다. 비록 단백질 형태나 지방산 조성에 관한 데이터가 있으나, 아직 이들을 어떤 종이나 또는 새로운 종으로 독립시키기에는 부족한 상태로서, 이들은 *Xanthomonas* sp.로 사용하되 괄호를 두어 기존의 Pathovar를 명시하여 한시적으로 사용하도록 권고되고 있다.

3. 분리 및 동정

(1) 분리

주로 활발히 진전되는 이병부위에서 분리를 하며 때로는 말라버린 이병조직이나 세균괴, 토양 등에서 분리하기도 한다. 분리시에는 Appendix 1과 표 2의 일반배지나 선택배지를 이병물 표본의 상태에 따라 선택하여 사용한다.

활발히 진전되는 병반에서는 병에 걸린 부위와 주변의 건전조직을 잘라내어 배지에 직접 올려 놓거나 혹은 이병조직을 마쇄한 다음 루프로 찍어내어 배지에 획선배양한다.

Table 2. Media of choice for isolation of some species or pathovars of *Xanthomonas*

Species and Pathovar*	Medium**
<i>X. campestris</i> pv. <i>campestris</i>	SX, SM, NSCAA
<i>X. translucens</i> pv. <i>translucens</i>	XTS
<i>X. axonopodis</i> pv. <i>phaseoli</i>	MXP
<i>X. arboricola</i> pv. <i>pruni</i>	XPS
<i>X. arboricola</i> pv. <i>juglandis</i>	BS
<i>X. vesicatoria</i>	Tween, XCS, XTS
<i>X. axonopodis</i> pv. <i>malvacearum</i>	XCS
<i>X. axonopodis</i> pv. <i>manihoti</i>	XCS
<i>X. axonopodis</i> pv. <i>beqoniae</i>	SX, SM, MD-5
<i>X. hortorum</i> pv. <i>pelargonii</i>	XTS, XCS, Tween
<i>X. fragariae</i>	SX, SM
<i>X. axonopodis</i> pv. <i>dieffenbachiae</i>	XCS, Tween
<i>Xanthomonas</i> spp. (<i>X.c. nigromaculans</i>)	XCS, Tween
<i>X. arboricola</i> pv. <i>corylina</i>	SX
<i>X. axonopodis</i> pv. <i>alfalfae</i>	XTS, XCS

* 괄호안은 기존의 분류체계

** Appendix 1 참조

(2) 동 정

1) 속 동정

그람음성, YDC 배지에서 노란색을 띄고, MS 배지에서 자라지 않거나 혹은 혐기적 상태에

서 자라지 않는 특성을 가진다. 반드시 보충적으로 검정하여야 할 사항은 식물체에 접종하여 병원성을 확인하는 것이며, 추가로 세포의 형태가 간상인 것을 확인할 필요가 있다. 정확한 동정을 위해서는 Chapter II에서 기술한 *Xanthomonas* 속의 특성을 검정하여 결정한다.

2) 종의 동정

기존의 분류체계에서는 표 3과 4에서 보는 바와 같이 몇 가지 생화학적인 특성과 선택배지를 이용하여 부분적으로 구분하여 왔으나, 본 고찰에서 인용한 새로운 분류체계에서는 Chapter II에서 기술한 바와 같이 Biolog사의 GN microplate를 이용하여 신속하게 동정할 수 있음을 보여주고 있다.

3) pathovar 동정

Pathovar는 식물병원성에 의한 것으로서 기주식물에 대한 검정을 제외하고는 아직까지 실용적으로 사용할 수 있는 기술이 개발되어 있지 않다.

Table 3. Diagnostic tests for differentiation of *Xanthomonas* spp.

Tests	<i>X. cam- pestris</i>	<i>X. fragariae</i>	<i>X. albi- lineans</i>	<i>X. axo- nopodis</i>	<i>X. am- pelina</i>
Mucoid growth on GYCA/YDC	+	+	-	-	-
Growth at 35°C	+	-	+	+	-
Asculin hydrolysis	+	-	+	+	-
Gelatin liquefaction	v	+	v	-	-
Protein digestion	+	-	-	-	-
Urease production	-	-	-	-	+
Acid from:					
Arabinose	+	-	-	-	+
Glucose	+	+	+	+	-
Mannose	+	+	+	-	-

Table 4. Growth of some species or pathovars of *Xanthomonas* on semiselective agar media

Species or pathovar	SX	SM	BSCAA	MPX	XPSa	XCS	MD-5	Tween
<i>X. c. campestris</i>	+	+	+	v+	-	+	v-	+
<i>X. t. translucens</i>	-	-	+	v	-	+	v	+
<i>X. axo. phaseoli</i>	v-	-	v-	+	v-	+	+	(+)
<i>X. arb. pruni</i>	v-	v	+	v-	+	v	(+)	+
<i>X. vesicatoria</i>	-	-	v	v+	v	+	v	+
<i>X. o. oryzae</i>	-	-	-	-	-	-	ND	ND
<i>X. axo. malvacearum</i>	-	v	v-	v+	-	+	v	+
<i>X. axo. manihotis</i>	-	-	v-	-	-	+	v	v
<i>X. axo. beqoniae</i>	+	+	+	(+)	v	(+)	+	+
<i>X. h. pelargonii</i>	-	v	+	v	v	+	v	+
<i>X. fragariae</i>	+	+	+	+	v	+	v	+
<i>X. axo. dieffenbachiae</i>	v+	(+)	+	v	-	+	v	+
<i>X. sp. (X.c. pv. nigromaculans)</i>	+	v	+	(+)	v	+	v	+
<i>X. axo. alfalfae</i>	(+)	(+)	+	v	ND	+	-	(+)

* 괄호안은 기존의 분류체계 임.

4. 결 론

게놈핵산교잡과 rRNA 분석, SDS-PAGE에 의한 단백질분석, 지방산조성 분석과 생화학적 특성 분석 등은 일상적으로 세균분류를 수행하지 않는 식물병리학자들에게는 실용적이질 못하다. 최근에는 많은 표현형을 단시간 내에 검정할 수 있는 상업적인 자동화 검정방법들이 개발되어 있으며, 그 중의 하나인 Biolog사의 GN micoplate는 tetrazolium을 환원지시약으로 95개의 다른 탄소원에 대한 세균의 대사활성을 나타냄으로서 그램음성세균을 표지하도록 개발되어있다. 비록 이전의 연구에서 상업적 데이터베이스는 정확한 동정율이 낮았지만, 그램음성세균들을 뚜렷히 구별하고 이들을 동정하는데 큰 가능성을 보여주어왔다. 본 고찰에서 주로 인용한 *Xanthomonas* 속의 새로운 분류체계에서 Biolog GN micoplate 방법은 게놈핵산상동성으로 분류한 *Xanthomonas* 속의 그룹들과 대부분 일치함으로써, *Xanthomonas* 속의 신속하고 간편한 동정에 매우 유용할 것으로 생각된다.

5. 참고문헌

1. Gerhardt, P., Murray, R. G. E., Wood, W. A., and Krieg, N. R. 1994. Methods for general and molecular bacteriology. American Society for Microbiology, Washington, D.C. 791pp.
2. Krieg, N. R. et al. 1984. Bergey's manual of systematic bacteriology. vol. 1. Williams and Wilkins, Baltimore, London.
3. Schaad, N. W. 1988. Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria. 2nd edition. The American Phytopathological Society, St.Paul, Minnesota. 158pp.
4. Vauterin, L., Hoste, B., Kersters, K., and Swings, J. 1995. Reclassification of *Xanthomonas*. International Journal of Systematic Bacteriology 45:472-489.
5. 국식물보호학회. 1986. 한국 식물병, 해충, 잡초명감. 633pp.

Appendix 1.

A. Recipes for differential media

1) Yeast extract nutrient agar (YNA)

	<u>g/L</u>
Yeast extract	5
Nutrient agar	23

Used for general isolation from plant tissues.

2) Glucose yeast chalk agar (GYCA)

	<u>g/L</u>
Yeast extract	5.0
Glucose	5.0
Calcium carbonate (not refined)	40.0
Agar	15.0

3) Yeast extract-dextrose-CaCO₃ (YDC)

	<u>g/L</u>
Yeast extract	10.0
Dextrose (glucose)	20.0
Calcium carbonate	20.0
Agar	15.0

After autoclaving, cool to 50°C and swirl before pouring the plate to suspend CaCO₃.
Slants are recommended for short-term (3 mo) storage of cultures.
Can be used for general isolation from plant tissues.

4) Miller-Schroth (MS) medium for differentiating *Xanthomonas* and *Erwinia*

	<u>g/L</u>
Agar	15.0

When the agar is dissolved in 800 ml of distilled water, add each of the following ingredients in the order listed. Make sure each is dissolved before adding the next.

Mannitol (or Sorbitol)	10.0
Nicotinic acid	0.5
L-asparagine	3.0
K ₂ HPO ₄ , dibasic powder	2.0
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0.2
Sodium taurocholate	2.5
Agar	15.0

Put the following liquid ingredients together in a container and mix into medium above.

Tergitol 7 (sodium heptadecyl sulfate)	0.1 ml
Nitrilotriacetic acid (2% solution)	10.0 ml
Bromthymol blue (0.5% solution)	2.5 ml
Sodium hydroxide (1 N)	5.0 ml
Thallium nitrate (1% solution)	1.75 ml
Cobalt chloride (1% solution)	50.0 ml
Cycloheximide (1% solution)	5.0 ml

Bring the volume to 1,000 ml, adjust pH 7.0 and autoclaving.

5) Yeast extract sucrose peptone agar (YSP)

	g/L
Yeast extract	5.0
Sucrose	20.0
Peptone	10.0
Agar	15.0

Recommended for isolation of *X. albilineans*.

6) Yeast salts (YS) broth and yeast salts agar (YSA) (5)

	g/L
NH ₄ H ₂ PO ₄	0.5
K ₂ HPO ₄	0.5
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0.2
NaCl	5.0
Yeast extract	5.0

If solid media required (YSA), add 12.0 g agar. Particularly useful as a storage medium and a basal medium for some cultural tests.

B. Recipes for semiselective media

1) *X. c. pv. campestris*

a. SX agar (15)

	per L
Starch (soluble-potato)	10.0 g
Beef extract	1.0 g
Ammonium chloride	5.0 g
Dipotassium phosphate	2.0 g
Methyl violet 2B	1.0 ml*
Methyl green	2.0 ml**
Agar	15.0 g

After autoclaving add:

Cycloheximide 5.0 ml***

* 1% solution in 20% ethanol- Be sure to use methyl violet 2B and not methyl violet B as the latter is more toxic to *X. c. campestris*.

** 1% aqueous solution

*** add 5.0 g to 10.0 ml methanol, bring to 100 ml with water, and filter sterilize (0.22 μ m membrane).

SX medium can be used for isolation of *X. c. pv. campestris* and several other starch positive species from plant tissues and soil. Also useful for direct plating of contaminated seeds.

b. SM agar

	<u>per L</u>
KH ₂ PO ₄	1.0 g
Na ₂ HPO ₄	2.6 g
NH ₄ Cl	1.0 g
NaCl	12.0 g
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0.2 g
CaCl ₂ · 2H ₂ O	67.0 ml
Glucose	1.0 g
L-methionine	0.2 g
Starch (soluble potato)	10.0 g
Methyl violet 2B	1.0 ml*
Methyl green	2.0 ml**
Trace element solution	1.0 ml***
Triphenyltetrazolium chloride	1.0 ml****
Cycloheximide	50.0 mg
Agar	20.0 g

* 1% solution in 20% ethanol

** 1% aqueous solution

*** Dissolve the following in 100 ml H₂O: EDTA, 250 mg; FeSO₄ · 7H₂O, 500 mg; ZnSO₄ · 7H₂O, 10 mg; CuSO₄ · 5H₂O, 10 mg; MnSO₄ · H₂O, 10 mg; NaMoO₄ · 2H₂O, 25 mg; Na₂B₄O₇ · 10H₂O, 18 mg; CoSO₄ · 7H₂O, 10mg.

**** 1% aqueous solution

Especially useful for isolating *X. c. pv. campestris* from soil and debris in soil. Less selective than SX but results in higher recoveries of most strains.

c. NSCAA

	<u>per L</u>
Nutrient agar	23.0 G
Starch (soluble-patato)	15.0 g
Agar	15.0 g

After autoclaving add the following:

Cycloheximide	5.0 ml*
Nitrofurantoin	1.0 ml**
Vancomycin	1.0 ml***

- * add 5.0 g to 10.0 ml methanol, bring to 100 ml with water. and filter sterilize (0.22 μ m membrane).
- ** add 50 mg to 5 ml of 50% dimethyl formamide.
- ** add 12.5 mg to 25 ml water, and filter as above.

Especially useful for isolating *X. c. pv. campestris* from seeds.

d. BSCAA

	per L
Starch (soluble-potato)	10 g
Glycine	0.2 g
K ₂ HPO ₄	1.0 g
KH ₂ PO ₄	1.0 g
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0.2 g*
Methyl green	0.2 ml**
Agar	15.0 g

After autoclaving, add:

cycloheximide	5.0 ml***
---------------	-----------

- * Add first and be sure it is fully dissolved.
- ** 1% aqueous solution.
- *** Add 5.0 g to 10.0 ml methanol, bring to 100 ml with water, and filter sterilize (0.22 μ m membrane).

Especially useful for isolating *X. c. pv. campestris* from seeds.

2) BS medium for *X. arboricola* pv. *juglandis*

	per L
Starch (soluble potato, Difco)	10.00 g
K ₂ HPO ₄ · 3H ₂ O	3.00 g
KH ₂ PO ₄	1.50 g
L-methionine	0.25 g
Nicotinic acid	0.25 g
L-glutamine	0.25 g
Brilliant cresyl blue	10.00 mg*
Methylene green	10.00 mg
Agar	15.00 g

- * Dye content of 55%.

Before autoclaving, adjust pH to 6.8-7.0, with 8.0 ml/L of 1 N NaOH. The medium may be stored in bottles and remelted when needed.

3) XPS medium of *X. arboricola* pv. *pruni*

	<u>per L</u>
Alginic acid	2.0
8-azaguanine	0.2
Nicotinic acid	2.0 mg
Cysteine	3.0 g
KH ₂ PO ₄	0.8 g
K ₂ HPO ₄	0.8 g
MgSO ₄	0.1 g
Agar	15.0 g

After autoclaving add:

Chlorothalonil	80.0 mg
Kasugamycin	16.0 mg

4) *X. translucens* pv. *translucens*

a. Kim's medium

	<u>per L</u>
Lactose	10.0 g
D(+) trehalose	4.0 g
Thiobarbituric acid	0.2 g
K ₂ HPO ₄	0.8 g
Yeast extract	30.0 mg
NH ₄ Cl	1.0 g
Agar	15.0 g

Dissolve above on hot plate, and adjust to pH 6.6 with 1 N NaOH

After autoclaving, cool to 50°C and add:

Cycloheximide	100.0 mg
Tobramycin	8.0 mg
Ampicillin	1.0 mg

Especially useful for isolating *X. a. pv. translucens* from soil.

b. XTS agar

	<u>per/L</u>
Nutrient agar	23.0 g
Glucose	5.0 g

After autoclaving add:

Cycloheximide	2.0 ml*
Gentamycin	0.5 ml**
Cephalexin	1.0 ml***

The following stock solutions should be prepared:

- * 1.0 g to 10 ml of 75% ethanol (use only when assaying seeds)
- ** 50 mg to 5 ml of the ethanol (omit if antagonism occurs)
- *** 50 mg to 5 ml of 75% ethanol

Especially useful for isolating *X. a. pv. translucens* from seeds.

5. *Xanthomonas* sp. (*X. campestris* pv. *carotae*)

a. Modified D-5

	<u>per/L</u>
D-Cellobios	10.0 g*
K ₂ HPO ₄	3.0 g
NaH ₂ PO ₄	1.0 g
NH ₄ Cl	1.0 g
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0.3 g*
Agar	15.0 g

- * Add filter-sterilized (0.22 μm) D-cellobiose and cycloheximide after autoclaving.

Especially useful for isolating *X. c. pv. carotae* from seed and soil.

b. XCS agar

	<u>per/L</u>
Lactose	10.0 g
D(+) Trehalose	4.0 g
2-Thiobarbituric Acid	0.2 g
K ₂ HPO ₄	0.8 g
KH ₂ PO ₄	0.8 g
NH ₄ Cl	1.0 g
Yeast extract	0.5 g
Agar	15.0 g

Combine all ingredients except agar and antibiotics and adjust to pH 6.6. After autoclaving, cool to 50°C and add the following after filter-sterilizing:

Tobramycin	1.0 ml*
Ampicillin (Na salt)	0.5 ml**
Vancomycin	0.5 ml***
Cycloheximide	5.0 ml****

- ※ Add 80 mg to 10 ml water.
- ※※ Add 20 mg to 10 ml water.
- ※※※ Add 10 mg to 10 ml water.
- ※※※※ Add 5 g to 10 ml methanol and bring to 100 ml with water.

Especially useful for isolating *X. c. pv. carotae* from seeds.

Normally not selective enough for isolation from soils.

6. MXP ager for *X. axonopodis* pv. *phaseoli*

	<u>per L</u>
Starch (soluble potato, Difco)	8.0 g
Glucose	1.0 g
Yeast extract	0.7 g
K ₂ HPO ₄	0.8 g
KH ₂ PO ₄	0.6 g
Potassium bromide	10.0 g
Methyl violet 2B	30.0 μl*
Methyl green	60.0 μl**
Agar	15.0 g

After autoclaving add the following filtered, sterilized stock solutions:

Chlorothalonil	1.0 ml***
Cephalexin	10.0 ml****
Kasugamycin	10.0 ml*****
Gentamycin	5.0 ml*****

- ※ 1% solution in 10% ethanol
- ※※ 1% aqueous solution
- ※※※ 1.2 ml to 38.8 ml water
- ※※※※ 1.0 g to 500 ml water
- ※※※※※ 100 mg to 500 ml water

7. Tween medium for *X. vesicatoria*

	<u>per L</u>
Peptone	10.0 g
Potassium bromide	10.0 g
Calcium chloride	250.0 mg
Agar	15.0 g

After autoclaving add:

Tween 80	10.0 g
Cephalexin	25.0 mg
5-Fluorouracil	6.0 mg
Tobramycin	0.4 mg
Cycloheximide	75.0 mg

8. XOS medium for *X. oryzae* pv. *oryzae*

	<u>per/L</u>
Peptone	2.0 g
L-glutamic acid	5.0 g
Sucrose	20.0 g
Fe(EDTA)	1.0 g
Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O	0.2 g
K ₂ HPO ₄	0.2 g
Agar	17.0 g

After autoclaving add:

Cephalexin	20 mg
Cycloheximide	100 mg
Kasugamycin	20 mg
Methyl violet 2B	3 mg