

# 감마선에 의한 감귤 궤양병균의 불활성화와 감귤 궤양병 감염에 미치는 영향

## Inactivation of *Xanthomonas citri* subsp. *citri* and Effect on Infection of Citrus Canker by Gamma Irradiation

김경남<sup>1</sup> · 송민아<sup>1</sup> · 한상헌<sup>2</sup> · 송성준<sup>3</sup> · 전용철<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>제주대학교 식물자원환경전공, <sup>2</sup>제주대학교 원예환경전공, <sup>3</sup>제주대학교 원자력과학기술연구소

Kyung Nam Kim<sup>1</sup>, Min A Song<sup>1</sup>, Sang Heon Han<sup>2</sup>, Seong Joon Song<sup>3</sup> and Yong Chull Jeun<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>Major of Plant Resources & Environment, Jeju National University, Jeju 690-756, Korea

<sup>2</sup>Major of Horticultural Science, The Research Institute for Subtropical Agriculture and Biotechnology, Jeju National University, Jeju 690-756, Korea

<sup>3</sup>Institute for Nuclear Science and Technology, Jeju National University, Jeju 690-756, Korea

**\*Corresponding author**

Tel : +82-64-754-3319

Fax: +82-64-725-2351

E-mail: ycjeun@jejunu.ac.kr

Received October 12, 2014  
Revised December 2, 2014  
Accepted December 4, 2014

Citrus canker caused by *Xanthomonas citri* subsp. *citri* (Xcc) has been quarantined by many countries in the world. Recently, the usage of methyl bromide should be limited, application by gamma irradiation on the agricultural production is raised as an alternative method. In this study, the level of gamma irradiation which could decrease of population of Xcc in the suspension or on the surface of citrus fruit was investigated. The D<sub>10</sub> value of Xcc, which is radiation dose required to reduce the number of the microorganism, was 55 and 28 Gy in the suspension and on the surface of citrus fruit, respectively. Furthermore, disease severity was suppressed on the citrus leaves inoculated with Xcc suspension pre-treated with gamma irradiation. Based on this study, it is suggested that Xcc on the citrus fruit could be eradicated by gamma irradiation and the results of this study may be valuable for application of gamma ray in quarantine activity.

**Keywords :** Environment friendly, Ionization, Jeju Island, Radio activity, Sterilization

### 서 론

아시아 감귤 궤양병은 *Xanthomonas citri* subsp. *citri*에 의해 감귤류에 발생하는 병이다(Parnell 등, 2009). 감귤 궤양병은 주로 자연 개구인 기공, 수공 또는 상처를 통하여 감귤 잎, 열매 또는 가지에 침입하여 병을 발생시킨다(Schubert 등, 2001). 제주에서 주로 재배하는 감귤 품종 중 하나인 온주 밀감(Satsuma

mandarin)은 이 병에 대해 어느 정도 저항성을 나타내기 때문에(Shiotani 등, 2009) 국내 시장에 공급하기 위해서는 이 병으로 인하여 심각한 문제는 발생하지는 않는다.

그러나 감귤 수입국 대부분이 감귤 궤양병을 검역 대상 병으로 지정하고 있어 수출을 위해서는 감귤 궤양병을 철저하게 관리해야 한다. 감귤 최대 수입국인 미국 플로리다 주에서 주로 생산되는 대부분의 감귤류는 감귤 궤양병에 감수성이므로 감귤 궤양병에 대한 지속적인 검역을 실시하였으나 2006년 궤양병의 확산을 결국 막지 못했다(Dewdney와 Graham, 2014). 그럼에도 불구하고 검역이 다소 완화되었지만 수입 감귤에 대해

**Research in Plant Disease**

©The Korean Society of Plant Pathology  
pISSN 1598-2262, eISSN 2233-9191

서는 감귤 궤양병에 대한 검역은 여전히 실시되고 있다. 또한 유럽 연합에 속한 나라인 경우도 나라 간 차이는 있지만 감귤 궤양병에 대한 검역은 수입에 있어서 필수 조건으로 여겨진다 (Shiotani 등, 2009).

지금까지 감귤 궤양병 방제는 수확 후 보다는 재배 중 방제 수단이 주로 수행되었는데(Gottwald 등, 2009; Hyun 등, 2012) 감귤 재배지 주위를 방풍하거나 구리제와 같은 농약 살포가 효과가 있다고 알려져 있다(Behlau 등, 2010; Gottwald와 Timmer, 1995). 또한 수확 후 감귤 생과실에 대한 관리로는 감귤 궤양병 보다는 상처에 의해 발생하는 감귤 푸른곰팡이병(*Penicillium digitatum*)에 대한 연구가 주로 수행되었다(Eckert와 Eaks, 1989). 미국 캘리포니아 주에서는 감귤 푸른곰팡이병을 유기합성농약인 imazalil, thiabendazole, sodium o-phenylphenate을 살포함으로써 주로 방제하고 있다고 하였다(Holmes와 Eckert, 1999; Palou 등, 2002; Smilanick 등, 2006).

최근 methyl bromide와 같은 화학 훈증제가 오존층 파괴물질로 규정되어 몬트리올 환경 협약에 의해 사용이 제한됨에 따라(FAO, 2003) 수출입 식품류 및 농수축산물의 검역 처리를 위한 methyl bromide 대체 방안이 강구되고 있다. 한편, 감마선과 같은 이온화 에너지가 식품의 안전한 보존을 위해 이용되고 있으며 최근 50개국 이상이 식품에 이온화 에너지 적용을 허가하고 있다(Farkas와 Farkas, 2011).

이온화 에너지는 의료 기구의 살균, 가공 식품의 살균 처리, 곤충의 살처분, 농작물의 돌연변이 육종 등 다양하게 이용되고 있으며(Andres 등, 2007; Aquino, 2012; Froelicher 등, 2007) 감귤에서는 감마선 처리에 의해 과실의 부패가 지연되고 저장 중 과실의 품질에 좋은 영향을 미친다고 보고되었다(Mahmoud 등, 2010). 그러나 감귤 궤양병과 같은 검역 대상 병에 대한 이온화 에너지를 이용한 사례는 아직까지 보고되지 않았다.

본 연구에서는 현탁액 형태의 감귤 궤양병균과 생과실 표면에 존재하는 감귤 궤양병균의 밀도를 효과적으로 감소시킬 수 있는 이온화 에너지 감마선의 선량을 알아보고자 한다. 또한 감마선을 처리한 감귤 궤양병균을 감귤 잎에 접종하여 감마선에 의한 감귤 궤양병균의 병원성을 변화를 bio-test를 통해 알아보았다.

## 재료 및 방법

**감귤 궤양병균 현탁액에 감마선 처리.** 감귤 궤양병균은 제주지역 감귤원의 감귤(품종 궁천조생) 잎에서 분리한 균주 *X. citri* subsp. *citri* N5-1(Yang 등, 2014)를 이용하였다. 전형적인 감귤 궤양병 병반을 포함한 감귤 잎에서 감귤 궤양병균을 분리하였으며, 분리한 감귤 궤양병균에서 DNA를 추출하여 ITS 염기 서열을 분석하여 감귤 궤양병균임을 확인하였다. 감귤 궤양병균을 tryptic soy broth(TSB; Becton, Dickson and Company, France) 배지에 접종하여 28°C 현탁배양기(HB-201SL, Hanbaek

Scientific Co., Korea)에서 120 rpm으로 3일 동안 배양하였다. 배양된 감귤 궤양병균을 혈구계수기(Bright-Line Hemacytometer, Hausser Scientific)를 이용하여 농도가  $1.0 \times 10^7$  cfu/ml가 되도록 조절하였다.

감귤 궤양병균 현탁액에 서로 다른 감마선 선량으로 처리하기 위하여 5개의 15 ml conical tube에 각각 10 ml씩 넣고 뚜껑을 닫아 봉하였다. 감귤 궤양병균 현탁액에 제주대학교 원자력과학기술연구소의  $^{60}\text{Co}$  감마선 조사 시설인  $\gamma$ -ray irradiator(C-188 irradiator, MDS Nordion, Canada)을 이용하여 감마선을 100, 200, 300, 400 Gy로 처리하였으며 감마선을 처리하는 동안 대조구로 무처리한 감귤 궤양병균 현탁액은 상온에 보관하였다. 감마선 처리 시 감귤 궤양병균은 혐기성 조건, 수분함량 100%, 온도 18°C인 상태에서 실시하였다.

**감귤 생과실에 감마선 처리.** 감귤 생과실 표면에 존재하는 감귤 궤양병균이 어느 정도의 감마선 선량에 의해 살균되는지 알아보기 위해 본 실험을 실시하였다. 감귤은 시중에 판매하는 일정한 크기의 감귤을 구입하여 흐르는 물로 깨끗이 세척하여 표면에 있는 먼지와 미생물들을 제거하였다. 세척된 감귤 생과실을 상온에서 건조한 후  $1.0 \times 10^7$  cfu/ml 농도의 감귤 궤양병균 현탁액을 분무기를 이용하여 표면에 골고루 접종하였다. 감귤 궤양병균이 접종된 감귤 생과실을 상온에서 1시간 건조한 후 감마선을 처리하였다.

감마선 처리는 감귤 궤양병균 현탁액을 처리한 방법과 동일하게 수행하였다. 단, 감귤 생과실 표면에 감마선이 골고루 조사(照射)되게 하기 위해 감귤 생과실을 Turn table(VMD, Korea) 위에 올려 놓고 이들을 방사능 주위에 설치하여 3회/min 속도로 회전하면서 감마선을 처리하였다. 감마선 처리는 30, 50, 70, 100 Gy 선량으로 하였으며 대조구는 감마선이 처리되는 동안 아무 처리도 하지 않은 채 상온에 보관하였다.

**감마선 효과 검증  $D_{10}$  value 산정.** 감마선을 0, 100, 200, 300, 400 Gy로 처리한 감귤 궤양병균 현탁액 100  $\mu\text{l}$ 를 semi selective medium(SSM, Cleci 등, 2009)에 접종하여 루프를 이용하여 골고루 도말한 후 28°C 배양기에서 72시간 동안 배양하였다. 또한 감귤 생과실에서의 감마선 효과를 알아보기 위해서 감마선을 0, 30, 50, 70, 100 Gy로 처리한 감귤 생과실을 각각 멸균수 150 ml가 담겨 있는 500 ml 비커에 넣고 알루미늄 호일로 입구를 봉하여 25°C 현탁배양기에서 150 rpm으로 2시간 동안 세척한 후 세척액 100  $\mu\text{l}$ 를 SSM에 접종하여 도말한 후 28°C 배양기에서 72시간 동안 배양하였다.

감마선을 처리한 감귤 궤양병균 현탁액과 생과실의 세척액을 배양한 배지에서 생성된 감귤 궤양병균 콜로니 수를 육안으로 관찰하여 계수하였다. 계수된 균총 수는 추세선 그래프로 기울기를 구한 다음  $D_{10}$  value를 아래 공식과 같이 산출하였다.  $D_{10}$  value는 초기 미생물 농도와 비교하여 90% 사멸시키거나 원래

균수에 비해 개체수가 10배 감소시키는 선량을 말한다(Whitby와 Gelda, 1979).

$$D_{10} \text{ value} = \frac{D_t}{\text{Log}_{10} N_0 - \text{Log}_{10} N_t}$$

$D_t$  = 대상 생물에 조사되는 방사선량 (Radiation dose)  
 $N_0$  = 초기 콜로니 수  
 $N_t$  =  $D_t$ 에서 생존한 콜로니 수

본 실험은 3번의 분리된 실험을 실시하였으며 각각의 실험에 3개의 반복된 현탁액을 이용하였다.

**감마선을 처리한 감귤 궤양병균의 병원성 조사.** 감귤나무 (품종: 궁천)에서 신초를 포함한 가지를 절취하여 1% 차아염소산나트륨(NaOCl)으로 30초 동안 절단된 부위를 살균하고 멸균수로 세척한 후 멸균수가 담긴 삼각플라스크에 꽂았다. 이때 공기를 통한 오염을 막기 위해 알루미늄 포일로 플라스크 입구를 봉하였다. 감마선을 50, 100, 200 Gy로 처리한 감귤 궤양병균 현탁액을 냉동 원심분리기(1730MR, Gyrozen)에서 3,000 rpm에 10분간 3회 원심분리 후, 상등액은 버리고 균을 회수한 뒤, 멸균수로 균농도를  $1.0 \times 10^7$  cfu/ml가 되도록 희석한 현탁액 100ml에 tween20(총 농도가 0.01%로 맞춘) 10  $\mu$ l 첨가하여 접종원을 준비하여 감귤 신초에 골고루 살포했다. 비교구로서는 감마선을 처리하지 않은 감귤 궤양병균을  $1.0 \times 10^7$  cfu/ml의 농도가 되도록 조절하여 살포하였다.

접종된 감귤의 잎을 28°C의 100% 상대습도가 유지되는 습실에서 24시간 습실 처리 후 28 ± 1°C의 식물배양실의 옮겨 병진 과정을 관찰하였다. 실험은 동일한 방법으로 3번을 실시하였고 각 실험마다 처리구당 3개의 감귤 가지를 이용하였다. 병 발생 정도는 병원균 접종 14일이 경과 후 감귤 잎에 형성된 감귤 궤양병 병반 수를 계수하여 조사하였다. 결과는 분산분석과 처리평균 사이의 비교를 위하여 Duncan검정(P = 0.01)을 실시했으며, Statistical Analysis System(SAS Institute, version 8.02) program을 이용하였다.

### 결과 및 고찰

**감마선에 의한 감귤 궤양병균 불활성화.** 감마선의 처리 수준에 따라 감귤 궤양병균의 불활성화되는 수가 증가되었다. 감마선을 100 Gy를 처리하였더니 감귤 궤양병균의 농도가 100배 정도 감소하였고 감마선 처리 수준을 높일수록 감소되는 감귤 궤양병균의 수가 증가하였다(Fig. 1). 감귤 궤양병균의 현탁액에서 감귤 궤양병균이 완전히 치사시키는 감마선 선량은 300에서 400 Gy 사이의 범위에 있었고 이는 세 차례의 분리된 반복 실험에서 유사한 결과를 나타냈다(Fig. 1).

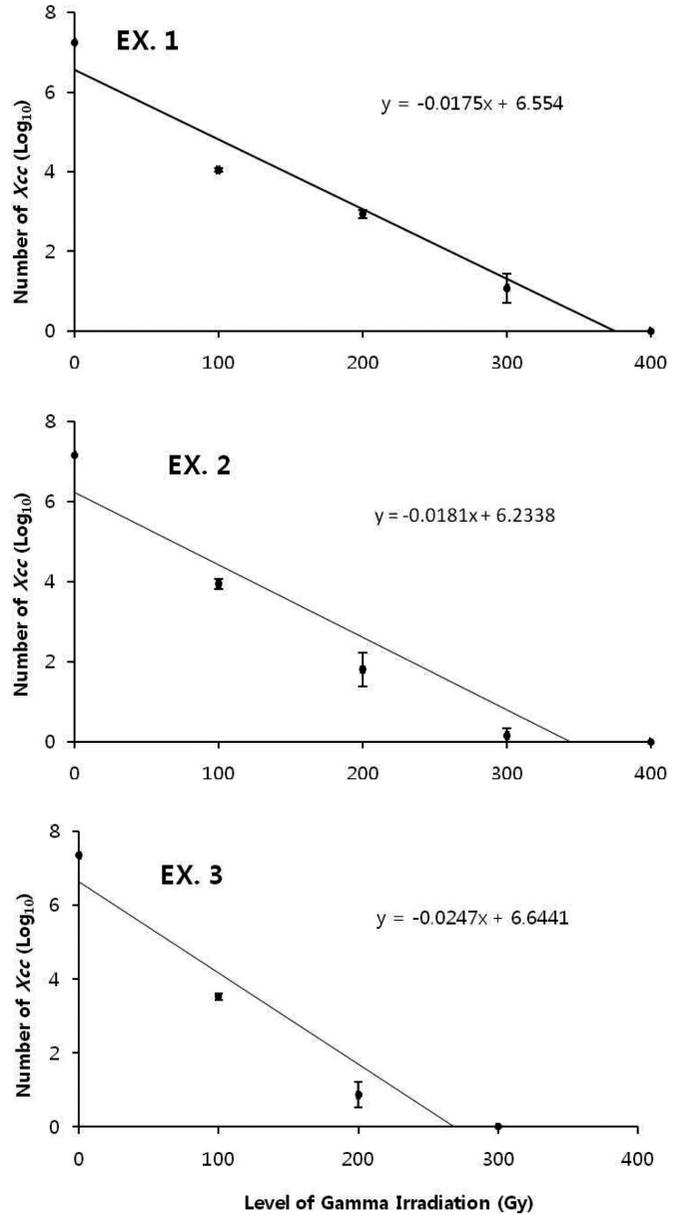


Fig. 1. Number of *Xanthomonas citri* subsp. *citri* in the suspension by treatment of different level of gamma irradiation. The concentration of the bacterial suspension was  $1.0 \times 10^7$  cfu/ml. The vertical bars indicated the standard deviation of three replications of the bacterial suspensions.

감귤 궤양병균의 전체 개체수의 90%를 치사시킬 수 있는 감마선 선량, 즉  $D_{10}$  value는 53에서 58 Gy 사이의 선량인 것으로 나타났다(Table 1). 살아있는 생물에 대한 감마선의  $D_{10}$  value는 미생물의 종류, 산소의 유무, 수분 함량, 온도 및 배지의 종류 등에 영향을 받는 것으로 알려져 있다(Aquino, 2012).

감마선이 살아 있는 세포에 미치는 영향은 간접적 또는 직접적인 영향으로 나눌 수 있다. 간접적인 영향은 보통 생물에 존재하는 물 분자가 감마선에 의해 수산화기(OH·)와 전자(e<sup>-</sup>) 그리고 수소이온(H<sup>+</sup>)을 생성함으로써 나타난다. 이 중 OH· 라디칼

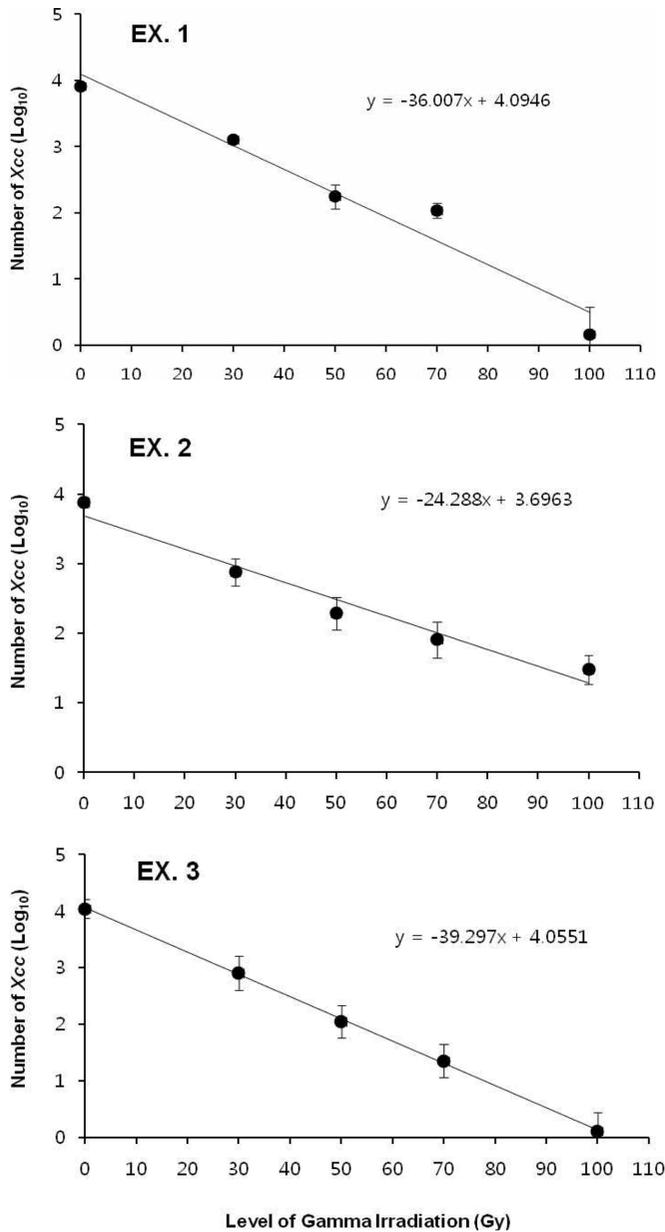


Fig. 2. Number of *Xanthomonas citri* subsp. *citri* on the surface of citrus fruit by treatment of different level of gamma irradiation. The citrus fruits were sprayed with the bacterial suspension at the concentration with  $1.0 \times 10^7$  cfu/ml before irradiation with gamma ray. The vertical bars indicated the standard deviation of three replications of the bacterial suspensions.

이 살아있는 세포에 간접적 영향을 미치는데 중요한 역할을 한다. 또한 감마선에 의한 살아 있는 세포의 직접적인 영향은 이온화 에너지에 의해 생성된 OH<sup>-</sup> 라디칼이 세포 내의 DNA 분자 주위에 수산화층(hydration layer)을 형성하여 DNA에 손상을 입힌다고 알려져 있다(Borrelly 등, 1998). 따라서 본 연구에서도 감귤 궤양병균이 감마선에 의해 이러한 영향을 받아 현탁액의 개체 수가 감소한 것으로 생각된다.

감마선에 의한 감귤 궤양병균의 D<sub>10</sub> value가 60 Gy 이하로 비

Table 1. The D<sub>10</sub> values of *Xanthomonas citri* subsp. *citri* in the suspension or in the surface of citrus fruits

<i>X. citri</i> subsp. <i>citri</i>	Experiment	D <sub>10</sub> value (Gy)	R <sup>2</sup>
Suspension*	1	58	0.9546
	2	55	0.9064
	3	53	0.9296
Fruit**	1	29	0.9327
	2	31	0.9137
	3	25	0.9618

\*The concentration of *Xanthomonas citri* subsp. *citri* was  $1.0 \times 10^7$  cfu/ml.

\*\*The fruits were sprayed with the suspension of *Xanthomonas citri* subsp. *citri* in the concentration of  $1.0 \times 10^7$  cfu/ml and dried at the room temperature.

교적 저선량으로 밝혀짐에 따라 감귤 생과실에 대한 감마선을 이용한 소독 처리가 감귤 생과실에 대한 살균 방법으로 현장에 적용하기에 매우 용이할 것으로 판단된다.

**감마선 처리에 의한 감귤 생과실의 소독 효과.** 감귤 궤양병균을 접종한 감귤 생과실 표면에 존재하는 감귤 궤양병균이 감마선에 의해 그 수가 감소하는 것으로 나타났다. 감마선 30 Gy를 처리하였을 때 감귤 생과실 표면에 존재하는 감귤 궤양병균 개체 수 10배가 감소하였고 100 Gy를 처리하였을 때 감귤 궤양병균 대부분이 치사하였다(Fig. 2).

감귤 생과실에 존재하는 감귤 궤양병균에 대한 감마선 D<sub>10</sub> value는 29에서 31 사이로 나타났다(Table 1). 이는 감귤 궤양병균의 현탁액에 대한 값보다 낮았는데 감귤 생과실에 존재하는 감귤 궤양병균의 개체수가 상대적으로 적기 때문인 것으로 생각된다.

낮은 수준의 감마선은 여러 가지 과실 또는 채소의 수확 후 저장 기간을 연장하는 것으로 보고되었다(Thomas, 1988). 또한 감마선 처리는 저장 중인 감귤에 물리화학적, 영양적 그리고 관능적 성질을 향상시킨다고 하였고(Mahrouz 등, 2002), 감귤의 부패를 지연시키고 좋은 품질이 유지시킨다고 보고되었다(Mahmoud 등, 2010). 본 연구에서는 감귤 궤양병균에 대한 D<sub>10</sub> 값이 비교적 낮게 나타났으므로 수출 시 감귤 생과실에 적용하면 병 방제 뿐만 아니라 품질 향상에도 도움을 줄 것으로 판단된다. 감귤 생과실에 존재하는 감귤 궤양병균에 대한 감마선에 의한 살균 효과를 알아보기 위한 본 실험에서 D<sub>10</sub> value가 30 Gy 정도의 매우 낮은 선량으로 나타남에 따라 만약 100 Gy 이상의 고선량으로 처리한다면 감귤 생과실에서 감귤 궤양병균이 생존할 가능성은 매우 희박하다고 본다.

**감마선에 의한 감귤 궤양병균의 병원성 변화.** 감귤 궤양병균 현탁액을 감마선을 처리한 후 감귤 잎에 접종하였더니 감마선 처리 수준에 따라 병 발생이 점차로 억제되었다. 감마선을 50 Gy로 처리한 현탁액을 접종한 감귤 잎에서는 무처리한

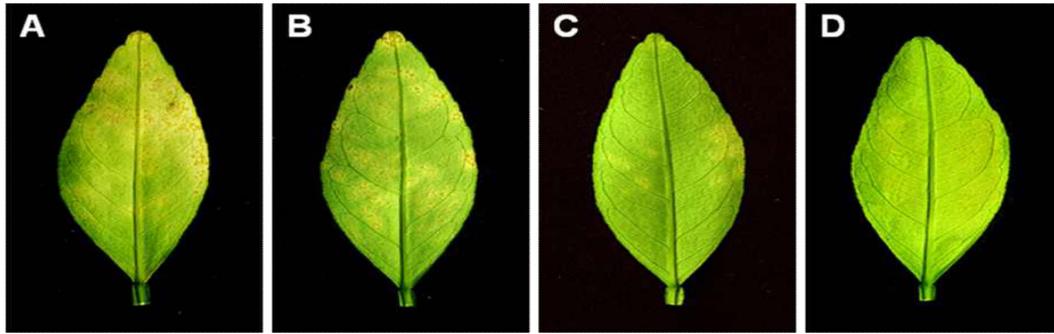


Fig. 3. Disease severity on Satsuma mandarin leaves non-treated (A), pre-treated with 50 (B), 100 (C) and 200 (D) Gy of gamma irradiation at 14 days after inoculation with citrus canker pathogen *Xanthomonas citri* subsp. *citri*. The concentration of the suspension of *X. citri* subsp. *citri* was  $1.0 \times 10^7$  cfu/ml.

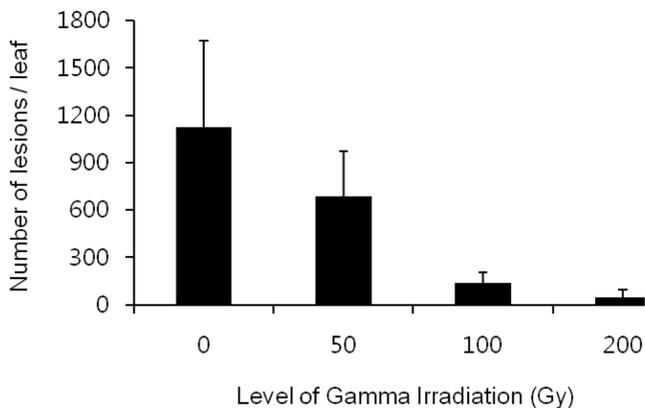


Fig. 4. Number of lesions on Satsuma mandarin leaves pre-treated with different level of gamma irradiation at 14 days after inoculation with citrus canker pathogen *Xanthomonas citri* subsp. *citri*. The concentration of the suspension of *X. citri* subsp. *citri* was  $1.0 \times 10^7$  cfu/ml.

감귤 궤양병균을 접종한 잎에 비해 병반 수가 감소하였고 100 Gy를 처리한 현탁액을 접종한 잎에서는 병반 수가 현저하게 감소하였으며 200 Gy의 궤양병균 현탁액은 감귤 잎에 거의 병반을 형성시키지 못했다(Fig. 3, 4). 감마선을 처리하지 않은 감귤 궤양병균을 접종한 감귤 잎에서는 전형적인 감귤 궤양병 증상을 나타냈으며 접종원의 농도가 높을수록 병반 수가 증가하여  $1.0 \times 10^7$  cfu/ml로 접종하였을 때 병반 수가 가장 많이 나타났다(Yang 등, 2014).

감마선 처리는 백합에 잎마름병을 일으키는 *Botrytis elliptica*의 포자 발아와 균사 성장을 억제시킬 뿐 아니라 백합 잎 절편에 잎마름병 발생도 억제시킨다고 보고하였다(Kim과 Yun, 2014). 또한 감마선을 1.5 kGy 수준으로 감귤 품종 ‘Nagpur’과 ‘Kagzi’ 그리고 오렌지 품종 ‘Mosambi’에 처리하였더니 ‘Nagpur’에서는 처리하지 않은 감귤에 비해 *Penicillium*에 의한 부패 속도를 지연시킨다고 하였다(Ladaniya 등, 2003).

감마선에 의해 감귤 궤양병균의 병원성이 감소하므로 만약 감귤 생과실 표면에 감귤 궤양병균이 존재한다고 하더라도 이

를 통해 다른 감귤류로의 전반은 어려울 것으로 보인다. 따라서 감귤 궤양병이 발생하지 않는 감귤 수입국으로의 감귤 수출 시 감마선을 이용하여 감귤 생과실을 살균 처리한다면 좋은 효과가 있을 것으로 기대된다. 또한 본 연구는 감마선을 이용한 감귤 생과실 살균 처리 방법을 개발하는데 기본 정보를 제공하는 데 역할을 할 수 있다고 판단된다.

### 요 약

감귤 궤양병은 *Xanthomonas citri* subsp. *citri*에 의해 발생하는 병으로서 많은 나라에서 이 병에 대해 검역을 실시하고 있다. 최근 methyl bromide의 검역 시 사용이 제한됨에 따라 감마선을 이용한 농수축산물에 대한 살균 방안이 대두되고 있다. 본 연구에서는 현탁액 형태의 감귤 궤양병균과 생과실 과피에 존재하는 감귤 궤양병균의 밀도를 감소시킬 수 있는 감마선의 선량을 알아보았다. 미생물의 밀도를 90% 감소시키는 선량인 감귤 궤양병균의  $D_{10}$  value는 현탁액과 감귤 생과실 과피에서 각각 55와 28 Gy였다. 또한 감마선을 처리한 감귤 궤양병균 현탁액을 감귤 잎에 접종하였더니 병 발생이 억제되었다. 본 연구를 통하여 감마선 처리에 의해 감귤 생과실에 존재하는 감귤 궤양병균을 박멸할 수 있다고 판단되며 본 연구 결과는 감마선을 검역에 활용하는데 가치가 있다고 생각된다.

### Acknowledgement

This research was supported by 2014 Export Promotion Technology Development Program, Ministry for Agriculture, Food and Rural Affairs.

### References

Andres, V. S., Ortego, F. and Castañera, P. 2007. Effects of gamma-irradiation on midgut proteolytic activity of the mediterranean

- fruit fly, *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). *Arch. Insect Biochem.* 65: 11–19.
- Aquino, K. A. S. 2012. Sterilization by gamma irradiation, gamma radiation, Prof. Feriz Adrovic (Ed.), ISBN: 978-953-51-0316-5, In: INTECH, available. URL <http://www.intechopen.com/books/gammaradiation/sterilization-by-gamma-irradiation>.
- Behlau, F., Belasque, J., Graham, J. H. and Leite, R. P. 2010. Effect of frequency of copper applications on control of citrus canker and the yield of young bearing sweet orange trees. *Crop Prot.* 29: 300–305.
- Borrelly, S. I., Cruz, A. C., Del Mastro, N. L., Sampa, M. H. O. and Somessari, E. S. 1998. Radiation processing of sewage and sudge. A review. *Prog. Nucl. Energ.* 33: 3–21.
- Cleci, D., Antonio, C. M., Jose, O. M. and Renata, C. C. 2009. Semi-Selective culture medium for *Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum* detection in cotton seeds (*Gossypium hirsutum* L.). *Asian J. Plant Pathol.* 3: 39–49.
- Dewdney, M. M. and Graham, J. H. 2014. 2014 Florida Citrus Pest Management Guide: Citrus Canker. IFAS Extension, *U Fla.* 1–5.
- Eckert, J. W. and Eaks, I. L. 1989. Postharvest disorders and diseases of citrus fruits. In: Reuther, W., Calavan, E., Clair, Carman, G. E., Jeppson, L. R. (Eds.), *The Citrus Industry*, revised ed. University of California, Division of Agriculture and Natural Resources, Oakland, CA, pp. 179–259.
- FAO. 2003. Guideline for the use of irradiation as a phytosanitary measures. International Plant Protection Convention, ISPM No. 18, Rome, Italy.
- Farkas, J. and Farkas, C. M. 2011. History and future of food irradiation. *Trends Food Sci. Tech.* 22: 121–126.
- Froelicher, Y., Bassene, J. B., Jedidi-Neji, E., Dambier, D., Morillon, R., Bernardini, G., Costantino, G. and Ollitrault, P. 2007. Induced parthenogenesis in mandarin for haploid production: induction procedures and genetic analysis of plantlets. *Plant Cell Rep.* 26: 937–944.
- Gottwald, T., Graham, J., Bock, C., Bonn, G., Civerolo, E., Irey, M., Leite, R., McCollum, G., Parker, P., Ramallo, J., Riley, T., Schubert, T., Stein, B. and Taylor, E. 2009. The epidemiological significance of post-packinghouse survival of *Xanthomonas citri* subsp. *citri* for dissemination of Asiatic citrus canker via infected fruit. *Crop Prot.* 28: 508–524.
- Gottwald, T. R. and Timmer, L.W. 1995. The efficacy of windbreaks in reducing the spread of citrus canker caused by *Xanthomonas campestris* pv. *citri*. *Trop. Agric.* 72: 194–201.
- Holmes, G. J. and Eckert, J. W. 1999. Sensitivity of *Penicillium digitatum* and *P. italicum* to postharvest citrus fungicides in California. *Phytopathology* 89: 716–721.
- Hyun, J. W., Kim, H. J., Yi, P. H., Hwang, R. Y. and Park, E. W. 2012. Mode of action of streptomycin resistance in the citrus canker pathogen (*Xanthomonas smithii* subsp. *citri*) in Jeju Island. *Plant Pathology J.* 28: 207–211.
- Kim, J. H. and Yun, S. C. 2014. Effect of gamma irradiation and its convergent treatments on lily leaf blight pathogen, *Botrytis elliptica* and the disease development. *Res. Plant Dis.* 20: 71–78. (In Korean)
- Ladaniya, M. S., Singh, S. and Wadhawan, A. K. 2003. Response of 'Nagpur' mandarin, 'Mosambi'sweet orange and 'Kagzi'acid lime to gamma radiation. *Radia. Phys. Chem.* 67: 665–675.
- Mahmoud, G. A., El-Tobgy, K. M. K. and Abo-El-Seoud, M. 2010. Application of combined biocides and gamma radiation for keeping good quality stored grapefruits. *Arch. Phytopathol. Pfl.* 43: 712–721.
- Mahrouz, M., Lacroix, M., D'aprano, G., Oufedjikh, H., Boubekri, C. and Gagnon, M. 2002. Effect of  $\gamma$ -irradiation combined with washing and waxing treatment on physicochemical properties, vitamin C, and organoleptic quality of *Citrus clementina* Hort. Ex. Tanaka. *J. Agric. Food Chem.* 50: 7271–7276.
- Palou, L., Usall, J., Muñoz, J. A., Smilanick, J. L. and Viñas, I. 2002. Hot water, sodium carbonate, and sodium bicarbonate for the control of postharvest green and blue molds of clementine mandarins. *Postharvest Biol. Tec.* 24: 93–96.
- Parnell, S., Gottwald, T. R., van den Bosch, F. and Gilligan, C. A. 2009. Optimal strategies for the eradication of Asiatic citrus canker in heterogeneous host landscapes. *Phytopathology* 99: 1370–1376.
- Schubert, T. S., Rizvi, S. A., Sun, X., Gottwald, T. R., Graham, J. H. and Dixon, W. N. 2001. Meeting the challenge of eradication citrus canker in Florida-Again. *Plant Dis.* 85: 340–356.
- Shiotani, H., Uematsu, H., Tsukamoto, T., Shimizu, Y., Ueda, K., Mizuno, A., and Sato, S. 2009. Survival and dispersal of *Xanthomonas citri* subsp. *citri* from infected Satsuma mandarin fruit. *Crop Prot.* 28: 19–23.
- Smilanick, J. L., Mansour, M. F., Mlikota Gabler, F. and Goodwine, W. R., 2006. The effectiveness of pyrimethanil to inhibit germination of *Penicillium digitatum* and to control citrus green mold after harvest. *Postharvest Biol. Tec.* 42: 75–85.
- Thomas, P. 1988. Radiation preservation of foods of plant origin. Part VI. Mushrooms, tomatoes, minor fruits and vegetables, dried fruits and nuts. *CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 26: 313–358.
- Whitby, J. L. and Gelda, A. K. 1979. Use of incremental doses of cobalt 60 radiation as a means to determining radiation sterilization dose. *J. Parent. Drug Assoc.* 33: 144–155.
- Yang, J. S., Kang, S. Y. and Jeun, Y. C. 2014. Suppression of citrus canker by pretreatment with rhizobacterial strains showing antifungal activity. *Res. Plant Dis.* 20: 101–106. (In Korean)