

*Fusarium*속 내의 section Elegans, section Liseola와 유사종의 Isozyme Patterns

민병례* · 권오영

상명여자대학교 생물학과

Isozyme patterns of section Elegans, section Liseola and similar species in the genus *Fusarium*

Byung-Re Min* and O-Yeong Kweon

Department of Biology, College of Natural Science, Sang Myung Women's University

ABSTRACT: To investigate taxonomical relationships of *Fusarium* species, esterase- α , - β , acid phosphatase, malate dehydrogenase, peroxidase and polygalacturonase were extracted and the isozyme patterns were compared by using polyacrylamide gel electrophoretic analysis. Only polygalacturonase was monozyme and the other enzymes showed little differences in banding patterns. Genetic similarities based on the isozyme banding patterns were as follows: the interspecific similarity between *F. subglutinans* and *F. moniliforme* in Liseola showed the closest relationship of 74.3% of all species studies. And the similarity between section Elegans and section Liseola was 45.4%. *F. napiforme* and *F. nygamai* showed the similarity of 64.7%, similar to the correlation between species in the same section. The similarity of these two species to Liseola and Elegans showed 55.2% and 45.4%, being revealed that they would be closer to Liseola than Elegans. However, these results were similar to those of any other sections. Therefore it suggested that these 2 species should be in a different section from any other sections. And *F. graminearum* showed the similarity of 28.2% to the other 6 species.

KEYWORDS: *F. nygamai*, *F. beomiforme*, *F. napiforme*

Fusarium 속은 광범위한 host plants에 wilt disease를 일으키며, 식물 뿐만 아니라 사람과 동물에도 질병을 일으키며 균독소 생성, 음식물 부패, 가축의 병원체 등으로서 인간과 매우 밀접한 관계를 가지고 있고 경제적으로 중요한 균류 중의 하나로, 이 속내에서의 빠르고 정확한 분류 동정이 필요하다. 이 속은 다수의 분류체계가 주장되었으며 종의 통일성과 형태적 안정성이 부족하여 고전적인 방법을 이용하여 분류하기는 어려운 실정이다(Drysdale과 Bratt, 1971). 다양한 방법이 제시되고 있는 가운데 isozyme 분석은 균류 분류에 유용한 criteria가 된다는 보고가 있다(Micales 등, 1992).

본 연구에서 사용된 균주는 *Fusarium* 속의 균주 중 가장 많은 변이를 일으키며 100 이상의 formae speciales와 races를 가지고 있고 section Elegans에 속하는 *F. oxysporum*과 section Elegans와 가까운 유연관계에 있는 section Liseola에 속하는 *F. subglutinans*, *F. moniliforme* 그리고 이들 두 section 사이에 많은 중복된 특징을 가지며 새로운 종으로 발표된 *F. beomiforme*(Nelson 등, 1987), *F. nygamai*(Burgess와 Trimboli, 1986), *F. napiforme*(Marasas 등, 1987) 등과 이들과 비교적 유연관계가 먼 section Discolor에 속하는 *F. graminearum*이다.

Section Elegans와 section Liseola는 분류학적으로 매우 가까운 유연관계에 있으며, 중요한 차이점으로는 section Elegans가 chlamydospore를 형성한

*Corresponding author

다는 것과 두 section 간에 microconidia를 형성하는 형태에 차이가 있음을 들 수 있다. *F. nygamai*는 chlamydospore 형성으로 section Liseola와 구분되며, false head에서 뿐만 아니라 short chain에서 microconidia의 형성으로 section Elegans와 구분되어 두 section 사이의 중간형으로 보고되어 있다(Burgess와 Trimboli, 1986). *F. beomiforme*는 section Liseola의 *F. anthophilum*과 매우 유사하지만 4~6주 후에 chlamydospore를 형성하므로 새로운 종으로 발표되었고(Nelson 등, 1987), *F. napiforme*는 *F. nygamai*와 매우 유사하지만 napiform의 microconidia를 형성한다는 점으로 구분되어져 발표된 종이다(Marasas 등, 1987).

Nelson 등(1990)은 이 두 section과 신종들을 재료로 하여 온도와 삼투압이 성장에 미치는 영향과 Soil Agar(SA)와 Carnation Leaf Agar(CLA)에서 삼투압이 *Fusarium*의 sporodochia, microconidia, chlamydospore 형성에 미치는 영향을 비교 연구하였다. 아직은 이 두 section 사이에 존재하는 신종들의 분류학적 위치는 명확하지 않아, 본 연구는 이들의 정확한 분류학적 위치를 알아보는데 목적이 있다.

실험 대상으로 사용한 효소의 선택은 Brayford (1989)의 보고를 참고로 하였고, 그 중에서 *Fusarium* 속의 분류에 유용하다고 보고된 효소 6가지 중 가수분해 작용을 하는 esterase- α , β 와 acid phosphatase, 산화환원에 작용하는 malate dehydrogenase와 peroxidase 그리고 식물 병원성균이 세포벽을 침투하는데 관여하는 효소로 알려진 polygalacturonase를 택하여 isozyme pattern을 비교하였다. 그 결과는 기존의 분류형태와 유사하게 나타났으며 분류학적인 의미에서 유용하게 이용될 수 있을 것이라 사료된다.

材料 및 方法

시약은 모두 Sigma 제품을 사용하였다.

균주

균주는 *F. graminearum*은 동국대학교 이민웅 교수로부터 분양받았으며, 나머지 6종은 Australia Sydney 대학의 Burgess교수로부터 분양받았다(Table 1). 모균주는 Potato Dextrose Agar(PDA) 사면배지

Table 1. *Fusarium* species used in this studies

Species	Isolate Number
<i>F. beomiforme</i> Nelson, Toussoun	9758
<i>F. graminearum</i> Schwabe	
<i>F. moniliforme</i> Sheldon	7150
<i>F. napiforme</i> Marasas, Nelson and Robie	6129
<i>F. nygamai</i> Burgess and Trimboli	5668
<i>F. oxysporum</i> Schlecht	7500
<i>F. subglutinans</i> (Wollenw and Reinking) Nelson, Toussoun and Marasas	1082

에서 5일간 배양한 후 4℃에서 보관하였다.

효소 추출을 위한 액체배양

Esterase, acid phosphatase, malate dehydrogenase, peroxidase 추출을 위한 배양은 1.25×10^7 spores/ml 농도의 포자현탁액 4 ml를 취해 200 ml Potato Dextrose Broth(PDB)에 접종한 후 28℃에서 180 rpm으로 진탕배양하였다. Polygalacturonase 추출을 위하여 포자현탁액 3 ml를 50 ml 액체배지에 접종하였으며 액체배지는 탄소원으로 citrus pectin과 polygalacturonic acid가 포함된 Czapek-Dox 배지(pH 5.0)를 사용하였다. 배양시간은 Somogyi(1952)의 방법으로 효소의 활성을 비교하여 결정하였다.

효소의 추출

효소 추출을 위한 전과정은 4℃에서 수행하였다. Esterase, acid phosphatase, malate dehydrogenase, peroxidase의 extraction buffer는 0.1M Tris-HCl(pH 7.5)를 사용하였으며 이 때 protease 저해제로 Phenylmethylsulfonyl fluoride(PMSF)를 첨가하였다. 냉동된 균사체를 소량의 Quartz sand와 함께 유발에 마쇄한 후, extraction buffer : 균체의 습중량 = 1 : 1(V/W)의 비율로 현탁하였으며, 이 현탁액은 초음파 분쇄하였고(Sonics & Ins, VC600), extraction buffer에 protease 저해제로 1 ml PMSF를 첨가하였다. 이 때 세포벽의 파괴 정도는 현미경 하에서 확인하였다. 초음파 분쇄한 현탁액은 15,000 g로 30분간 원심분리(Beckmann, JA-21)하였으며,

상등액은 취하여 효소용액으로 사용하였다.

Polygalacturonase의 추출은 Chung과 Park(1990)의 방법을 변형하여 사용하였다. 배양한 균체를 Whatman No.2로 여과하고 여액을 취해 8,000 g로 20분간 원심분리하여 상등액을 취하였다. 이 crude extract에서 효소를 분별침전시키기 위하여 70~90% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 를 사용하였으며, 농축된 침전물은 PMSF가 첨가된 extraction buffer [10 mM Sodium acetate, 1 mM EDTA(Ethyldiaminetetraacetic acid) pH 4.5]에 녹이고, extraction buffer에 투석하여 농축시켰다.

전기영동

단백질의 전기영동은 Laemmli(1970)의 방법으로 실시하였으며, separating gel은 10%, stacking gel은 4.5%의 polyacrylamide gel을 사용하였다. Polygalacturonase 전기영동에는 0.1% pectin이 첨가된 10% separating gel과 4.5%의 stacking gel을 사용하였다. Separating gel의 준비가 끝난 후, 세포로부터 추출하는 효소의 경우는 음극에 37.6 mM Tris-40 mM glycine(pH 8.89), 양극에 63 mM Tris-50 mM HCl (pH 7.47)을 electrode buffer로 사용하였으며, 배지로부터 추출하는 효소의 경우는 0.116 M boric acid-0.042 M sodium tetraborate(pH 8.7)을 electrode buffer로 하여 4°C에서 7 mA constant로 5시간 동안 pre-electrophoresis 하였다(BRL, Model 4,000). Sample buffer의 조성은 20% glycerin, 0.004% bromophenol blue, 0.062 M Tris-HCl(pH 6.8)을 사용하였으며, sample loading 후, pre-electrophoresis 할 때와 동일한 electrode buffer를 4°C로 냉각하여 사용하였다. 단백질의 전개는 먼저 4.5 mA로 하였으며, tracking dye가 separating gel과 stacking gel의 경계면에 이르면, 전류세기를 8 mA로 바꿔주고, tracking dye가 separating gel을 완전히 빠져나올 때까지 전개시켰다. 전개가 끝나면 gel을 mold로부터 분리하여 발색 반응을 보았다.

전기영동을 통한 효소들의 발색은 esterase(EST)의 경우는 Kahler와 Allard(1970)의 방법에 따라 esterase- α 는 α -naphthyl acetate, esterase- β 는 α -naphthyl acetate 대신에 β -naphthyl acetate를 기질로, fast blue RR salt를 발색시약으로 사용하였으며, acid phosphatase(ACPH)는 Park 등(1988)의 방법에

따라 fast garnet GBC salt를 발색시약으로 사용하였고, malate dehydrogenase(MDH)는 Pasteur 등(1988)의 방법에 따라 hydrogen acceptor로 nitroblue tetrazolium(NBT), phenazine methosulphate(PMS), thiazolyl blue(MTT)를 사용하였다. Peroxidase(PER)는 Drysdale과 Bratt(1971)의 방법에 따라 1% pyrogallol과 0.4% H_2O_2 를 이용하였으며 polygalacturonase(PG)는 Cruickshank와 Wade(1980)의 방법에 따라 0.02% ruthenium red를 이용하였다.

유사도 조사

결과는 사진(Nikon Camera, Kodak film ASA 100)으로 기록을 남기고 결과분석은 Whitney 등(1968)의 방법을 참고로 하였고 각 section과 유사종간의 genetic similarity를 산출하였고 이를 근거로 Sneath와 Sokal(1973)의 방법으로 dendrogram을 그렸다.

結果 및 考察

균주의 성장시기와 효소생성의 비교

균주의 성장시기에 따른 효소 생성을 비교하여 보았을 때 대수기 초기에 해당하는 24시간 배양되었을 때 가장 많은 수의 bands가 뚜렷하게 나타났으며 isozyme patterns 비교를 위한 적당한 배양시간으로 결정하였다. Polygalacturonase는 배양시간에 따르는 효소의 activity를 비교하여 48시간 배양한

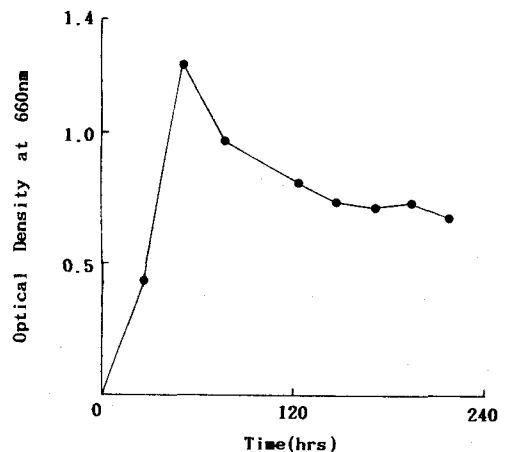


Fig. 1. Polygalacturonase activities according to culture of *F. oxysporum* in PD broth

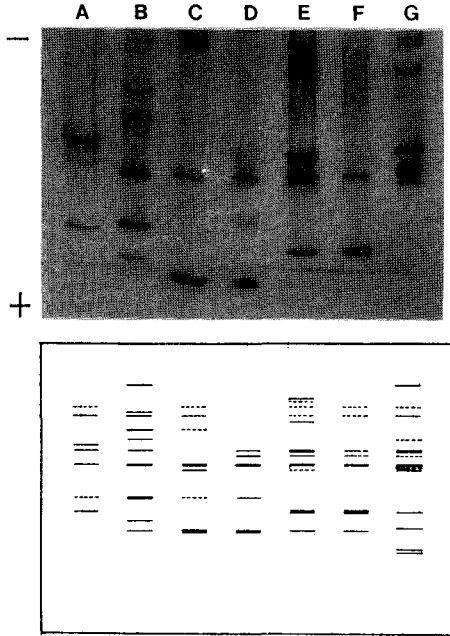


Fig. 2. Banding patterns of esterase- α . A: *F. oxysporum*, B: *F. beomiforme*, C: *F. napiforme*, D: *F. nygamai*, E: *F. subglutinans*, F: *F. moniliforme*, G: *F. graminearum*

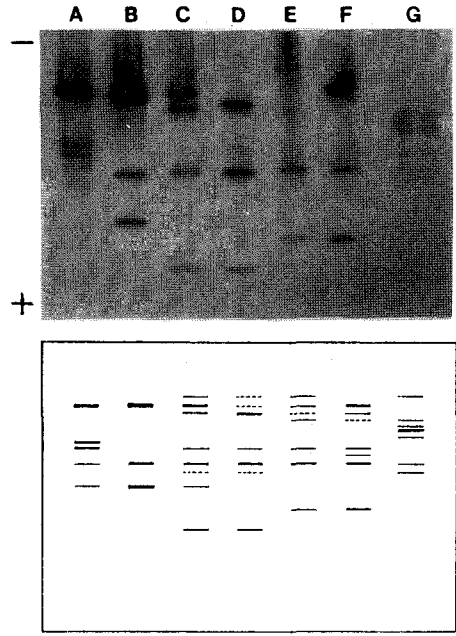


Fig. 3. Banding patterns of esterase- β . A: *F. oxysporum*, B: *F. beomiforme*, C: *F. napiforme*, D: *F. nygamai*, E: *F. subglutinans*, F: *F. moniliforme*, G: *F. graminearum*

재료를 택하였다(Fig. 1).

ESTERASE(EST)

EST- α 의 bands는 모두 22개가 나타났으며(Fig. 2) 그 중 7종 모두에게 공통된 band는 1개($R_f=0.42$) 뿐이고 나머지는 약간씩 차이를 보였다. 동일한 section Liseola에 속하는 *F. subglutinans*와 *F. moniliforme*는 7개의 동일한 band를 나타내어 가장 가까운 관계임을 보여주었으며, *F. nygamai*가 $R_f=0.37$ 이상의 banding patterns을 나타내어 나머지 6종이 전체적으로 고르게 분포되어 있는 것과 차이를 보였다.

EST- β 는 모두 15가지 bands로 나타났으며(Fig. 3) 그 중 7종 모두에서 공통된 bands는 1개($R_f=0.42$)로 *Fusarium* 속을 나타내는 band로 생각된다. *F. graminearum*을 제외한 6종에서 공통된 bands는 1개($R_f=0.22$)로 나타나 *F. graminearum*이 다른 종들과 유연관계가 먼 종임을 나타냈다.

3가지 중간종에서 *F. napiforme*와 *F. nygamai*는 7개의 공통된 band를 나타내어 동일 section 내의

공통 bands 수와 유사하였으나 *F. beomiforme*는 다른 두 종과 2~3개의 공통 bands를 나타내어 차이를 보였다.

ACID PHOSPHATASE(ACPH)

ACPH bands는 모두 8가지가 나타났으며(Fig. 4) 그 중 7종 모두에서 공통된 band는 1개($R_f=0.10$)였다. EST- β 에서와 같이 이 효소에서도 *F. graminearum*을 제외한 6종이 공통된 bands를 2개($R_f=0.16, 0.27$) 더 가지고 있어, *F. graminearum*은 다른 종들과 크게 차이가 있음을 알 수 있었다. Section Liseola 내의 *F. subglutinans*와 *F. moniliforme*의 공통된 bands가 4개로 가장 많았으며 특히 $R_f=0.21$ 의 band는 이 두 종에서만 나타난 것으로 특징적이다.

EST와 비교해 볼 때 종에 따른 변이가 낮은 것을 알 수 있었다.

MALATE DEHYDROGENASE(MDH)

MDH의 총 bands는 8가지로 나타났는데(Fig. 5)

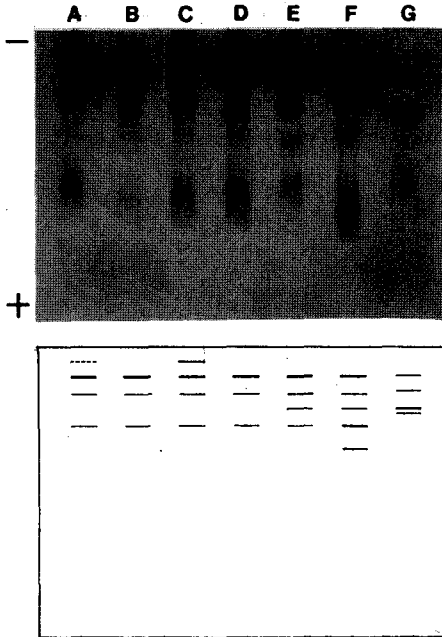


Fig. 4. Banding patterns of acid phosphatase. A: *F. oxysporum*, B: *F. beomiforme*, C: *F. napiforme*, D: *F. nygamai*, E: *F. subglutinans*, F: *F. moniliforme*, G: *F. graminearum*

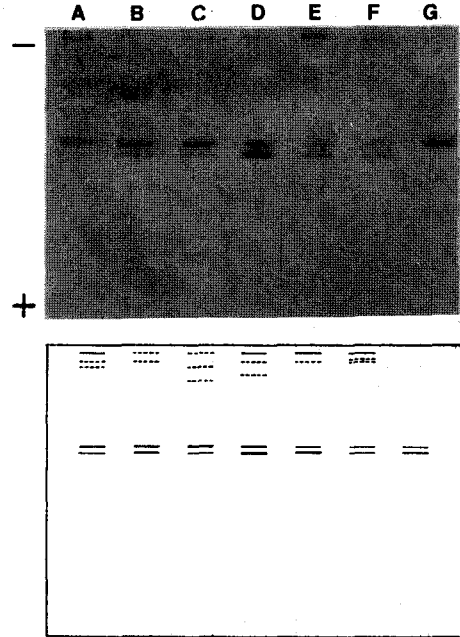


Fig. 5. Banding patterns of malate dehydrogenase. A: *F. oxysporum*, B: *F. beomiforme*, C: *F. napiforme*, D: *F. nygamai*, E: *F. subglutinans*, F: *F. moniliforme*, G: *F. graminearum*

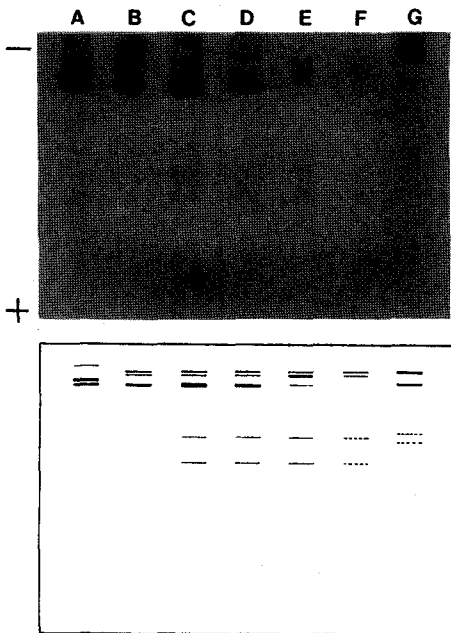


Fig. 6. Banding patterns of peroxidase. A: *F. oxysporum*, B: *F. beomiforme*, C: *F. napiforme*, D: *F. nygamai*, E: *F. moniliforme*, F: *F. subglutinans*, G: *F. graminearum*

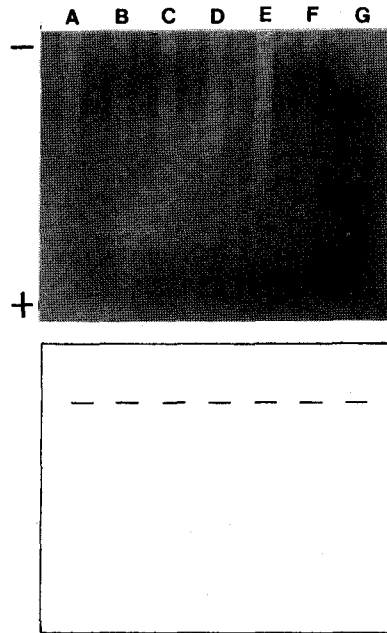


Fig. 7. Banding patterns of polygalacturonase. A: *F. oxysporum*, B: *F. beomiforme*, C: *F. napiforme*, D: *F. nygamai*, E: *F. subglutinans*, F: *F. moniliforme*, G: *F. graminearum*

그 중 7종 모두에 공통인 bands는 2개($R_f=0.35, 0.37$)였고, *F. graminearum*을 제외한 6종에서는 공통인 band가 1개($R_f=0.03$) 더 나타났다.

PEROXIDASE(PER)

PER의 isozyme bands는 총 9개로 나타났으며 (Fig. 6), 7종 모두에서 공통인 band는 없었다. *F. moniliforme*와 *F. napiforme*, *F. nygamai*가 동일한 banding patterns을 나타내었으며, 종에 따른 변이가 매우 낮았다. *F. graminearum*에서만 나타난 bands가 2개($R_f=0.31, 0.34$)로 이 효소에서도 다른 종들과는 구분되는 특징을 보였다.

POLYGALACTURONASE(PG)

Fusarium 속에서 PG는 7종이 모두 하나의 동일한 band만 나타났다(Fig. 7). Horst(1965)의 *F. oxysporum*, *F. callisitephi*에 대한 보고에서 polygalacturonase의 활성과 병원학적 반응에서 isolate에 따른 차이가 없었다고 보고하였으며, Strand 등(1976)과 Harman과 Corden(1972)의 보고에서는 PG는 두가지 isozymes로 구성되어 있으며 두 isozymes는 전하에만 차이가 있고 크기에 차이가 있는 것이 아니라고 보고하였다. 본 실험에서는 전하에 차이를 둔 분리가 아닌 크기에 따른 분리로, 하나의 band로 나타났음을 알 수 있다.

GENETIC SIMILARITY

각 종의 banding patterns는 종마다 조금씩 차이를 볼 수 있었는데, 이들 효소의 banding patterns를 종합해 보면 총 63개의 bands가 나타났으며, 동일한 section Liseola에 속하는 *F. subglutinans*와 *F. moniliforme*의 공통 bands는 26개이고 이 두 종과 section Elegans에 속하는 *F. oxysporum*과 공통인 bands는 16~17개로 나타났다. 이런 결과를 정리하여 genetic similarity를 구하여 보면 Table 2와 같고, 이를 바탕으로 정리한 dendrogram은 Fig. 8와 같다. Table 2와 Fig. 8에서 볼 수 있는 바와 같이 동일한 section Liseola에 속하는 *F. subglutinans*와 *F. moniliforme*의 종간유사도는 74.3%로 가장 높았으며, section Elegans의 *F. oxysporum*과 section Liseola의 두 종의 관계는 45.4%의 유사성을 보여 동일한 section 내의 *F. subglutinans*와 *F. moniliforme*의

Table 2. Genetic relationship between seven species in the genus *Fusarium* by Whitney's similarity^a

	beo	gra	mon	nap	nyp	oxy
gra	27.9					
mon	45.9	32.6				
nap	50.0	27.1	50.0			
nyg	51.5	26.7	60.0	64.7		
oxy	48.5	24.4	44.7	48.6	41.7	
sub	41.0	34.8	74.3	52.5	58.3	40.0

beo: *F. beomiforme*, gra: *F. graminearum*, mon: *F. moniliforme*, nap: *F. napiforme*, nyg: *F. nygamai*, oxy: *F. oxysporum*, sub: *F. subglutinans*

^aWhitney's similarity(%)= Numbers of pairs of similar bands divided by numbers of different bands plus numbers of pairs similar band

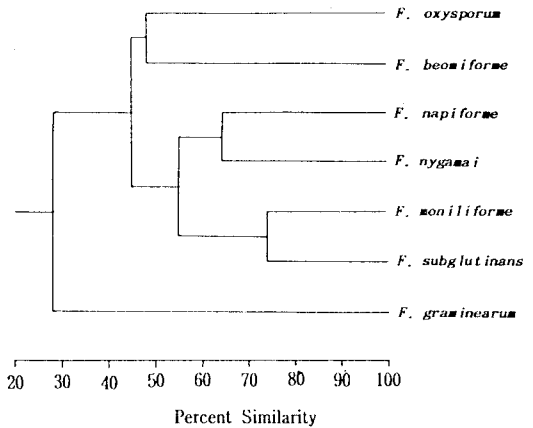


Fig. 8. Dendrogram showing genetic similarity among seven species of section Elegans, section Liseola and similar species in the genus *Fusarium*, as based on seven different isozyme patterns

유사성보다 낮은 유사성을 나타내었다. *F. graminearum*과 다른 6종 사이의 유사도는 28.2%의 낮은 수치를 나타내어 서로의 유사성이 가장 낮다는 것을 보여주었다.

이는 Ellis(1988)의 DNA complementarity를 이용하여 종간의 genetic relatedness를 비교한 보고와 비슷한 결과이다. 즉, 동일한 section Liseola에 속하는 *F. subglutinans*와 *F. moniliforme*는 48~52%

의 genetic relatedness를 나타냈고, *F. moniliforme*와 *F. oxysporum*은 42%이고, 비교적 유연관계가 먼 section인 *F. graminearum*과 *F. moniliforme*와는 12%, *F. graminearum*과 *F. oxysporum*과는 35%를 나타내고 있다고 보고한 바가 있다.

이상의 결과를 종합하여 볼 때 *F. napiforme*와 *F. nygamai*의 유사도는 64.7%로 동일 section 간의 종간유사도와 비슷한 수치를 나타내었다. 이들 두 종은 section Liseola에 대하여 55.2%, section Elegans에 대하여 45.4%의 유사도를 보여 분류학적 위치에 있어서 section Elegans 보다는 section Liseola에 더 가까운 경향을 나타내지만 이는 다른 section 간의 유사도와 비슷한 수치로 하나의 독립된 section으로 추정된다. *F. beomiforme*는 2종과는 차이가 있고 앞으로 polypeptide의 비교가 보충되어진 후 좀 더 정확한 위치가 판명될 것으로 기대된다.

摘 要

Fusarium 속내 종들의 분류학적 위치를 알아보기 위하여, 각 균의 esterase- α , - β , acid phosphatase, malate dehydrogenase, peroxidase, polygalacturonase를 추출하여 전기영동의 방법으로 isozyme patterns를 비교하여 보았다.

Banding patterns은 polygalacturonase만이 7종 모두에서 monozyme이었고, 나머지 효소는 종마다 약간씩 다르게 나타났다.

Isozyme banding patterns을 바탕으로 genetic similarity를 산출하여 dendrogram으로 보았을 때, 동일한 section Liseola에 속하는 *F. subglutinans*와 *F. moniliforme*의 종간 유사도는 74.3%로 가장 높았으며, section Elegans와 section Liseola의 서로 다른 section 간의 유사도는 45.4%로 비교적 낮았다. *F. napiforme*와 *F. nygamai*의 유사도는 64.7%로 동일 section 내의 종간 유사도와 비슷한 수치를 나타내었다. 이들 두 종은 section Liseola에 대하여 55.2%, section Elegans에 대하여 45.4%의 유사도를 보여 분류학적 위치에 있어서 section Liseola에 더 가까운 경향을 나타내지만, 이는 다른 section 간의 유사도와 비슷한 수치로 하나의 독립된 section으로 추정된다.

*F. graminearum*과 다른 6종 사이의 유사도는 28.2

%의 낮은 수치를 나타내어 서로의 유사성이 매우 낮다는 것을 보여 주었다.

사사

본 연구는 93~94년도 한국과학재단의 목적기초 연구비지원(931-0500-032-2)에 의해 수행된 일부이며 한국과학재단의 연구비 지원에 감사드립니다.

參考文獻

- Brayford, D. 1989. Progress in the study of *Fusarium* and some related genera. *J. Appl. Bacteriol.* Symposium Supplement 47s-60s.
- Burgess, L. W. and D. Trimboli. 1986. Characterization and distribution of *Fusarium nygamai* sp. nov. *Mycologia* 78: 223-229.
- Chung, S. H. and K. H. Park. 1990. Purification and characterization of plant cell wall lytic enzyme from *Fusarium moniliforme*. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotech.* 18: 154-158.
- Cruickshank, R. H. and G. C. Wade. 1980. Detection of pectic enzymes in pectin-acrylamide gels. *Anal. Biochem.* 107: 177-181.
- Drysdale, R. B. and D. M. Bratt. 1971. Electrophoretic patterns of enzymes from isolates of *Fusarium graminearum*. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 57: 172-175.
- Ellis, J. J. 1988. Section Liseola of *Fusarium*. *Mycologia* 30: 255-258.
- Harman, G. E. and M. E. Corden. 1972. Purification and partial characterization of the polygalacturonases produced by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *Biochim. Biophys. Acta* 264: 328-338.
- Horst, R. K. 1965. Pathogenic and enzymatic variations in *Fusarium oxysporum* f. *cellistephi*. *Phytopathol.* 55: 848-851.
- Kahler, A. L. and R. W. Allard. 1970. Genetics of isozyme variants in baley. I. Esterases. *Crop Science* 10: 444-448.
- Laemmli, U.K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head bacteriophage T4. *Nature* 227: 680-685.
- Marasas, W. F. O., C. J. Rabio, A. Lübben, P. E. Nelson, T. A. Toussoun and P. S. van Wyk. 1987. *Fusarium napiforme*, a new species from Millet and Sorghum in Southern Africa. *Mycologia* 79: 910-914.
- Micales, J. A., M. R. Bonde and G. L. Peterson. 1992.

- Isozyme analysis in fungal taxonomy and molecular genetics. pg. 57-79. In D. K. Arora(ed.), Handbook of Applied Mycology, vol.4, Marcel Dekker, Inc. New York.
- Nelson, D. E., L. W. Burgess and B. A. Summerell. 1990. Some morphological and physiological characters of *Fusarium* species in sections *Liseola* and *Elegans* and similar species. *Mycologia* **82**: 99-106.
- Nelson, P. E., T. A. Toussoun and L. W. Burgess. 1987. Characterization of *Fusarium beomiforme* sp. nov. *Mycologia* **79**: 884-889.
- Park, Y. H., M. O. Byun and F. Hiroslu. 1988. Comparison of electrophoretic isozyme band pattern of *Pleurotus* spp. Korea I. Homogeneous gel. *Kor. J. Mycol.* **16**: 87-94.
- Pasteur, N., G. Pasteur, F. Bonhomme, J. Catalan, J. B. Davidian, M. Cobb. 1988. Practical isozyme genetics. John Wiley and Sons, New York.
- Sneath, P. H., A and R. R. Sokal. 1973. Numerical taxonomy, W. H. Freeman and Company, San Francisco.
- Somogyi, M. 1952. Notes on sugar determinations. *J. Biol. Chem.* **195**: 19-23.
- Strand, L. L., M. E. Corden and D. L. MacDonald. 1976. Characterization of two endopolygalacturonase isozymes produced by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *Biochim. Biophys. Acta.* **429**: 870-883.
- Whitney, P. J., J. G. Vaughn and J. B. Heale. 1968. A disc electrophoretic study of the proteins of *Verticillium albo-strum*, *Verticillium dahliae* and *Fusarium oxysporum* with reference to their taxonomy. *J. Exp. Bot.* **19**: 419-426.