

제주지역에서 분리한 감자 줄기검은병균의 유전적 특성

서상태 · 이승돈^{1*} · 이중섭 · 한경숙 · 장한익 · 임춘근²원예연구소 원예환경과, ¹농업과학기술원 식물병리과, ²강원대학교 농생물학과

Genetic Characterization of Potato Blackleg Strains from Jeju Island

Sang-Tae Seo, Seungdon Lee^{1*}, Jung-Sup Lee, Kyoung-Suk Han,
Han-Ik Jang and Chun-Keun Lim²Department of Horticultural Environment, National Horticultural Research Institute,
Rural Development Administration, Suwon 441-440, Korea¹Plant Pathology Division, National Institute of Agricultural Science and Technology,
RDA, Suwon 441-707, Korea²Division of Biological Environment, College of Agriculture and Life Science,
Kangwon National University, Chunchon 200-701, Korea

(Received on July 4, 2005)

A collection of 12 *Erwinia carotovora* strains from blackleg diseased potato in Jeju island was characterized genetic diversity by *E. carotovora* subsp. *atroseptica* (Eca)-specific PCR, PCR-RFLP of the two genes (16S rRNA and *pel*) and repetitive sequence PCR (ERIC-PCR). The results were compared with those of the other *E. carotovora* representative strains. None of the blackleg strains produced PCR amplicons with Eca-specific primers in contrast to the single 690 bp amplicon obtained with Eca strains. In addition, on the basis of *pel* gene RFLP with *Sau3AI*, the blackleg strains belonged to the pattern 2 whereas Eca strains belonged to the other one (pattern 3). By analysis of 16S rDNA RFLP generated with *HinfI*, the most strains including the *E. carotovora* subsp. *carotovora* (Ecc) representative strains used in this study belonged to the pattern 1 whereas the blackleg strains belonged to the pattern 2 except for one strain. Moreover, ERIC-PCR analysis showed that the blackleg strains were closely related to each other and had an unique DNA band. Based on these molecular approaches, we have confirmed that the blackleg disease of potato is caused by a different *E. carotovora* from Eca and Ecc in Jeju island.

Keywords : Blackleg, *Erwinia carotovora*, PCR, RFLP, Soft rot

*Erwinia carotovora*는 감자를 포함한 많은 경제적 작물에 무름병을 일으키는 세균이다. *E. carotovora*는 5개의 아종, 즉 *E. carotovora* subsp. *atroseptica*(Eca), *E. carotovora* subsp. *carotovora*(Ecc), *E. carotovora* subsp. *betavascularum*(Ecb), *E. carotovora* subsp. *wasabiae*(Ecw), *E. carotovora* subsp. *odorifera*(Eco)로 분류되어 있다(Annie 등, 1992; Goto와 Matsumoto, 1987; Thomson 등, 1981). 최근에는 *E. carotovora* subsp. *brasiliensis*(Ecb)가 새로운 아종으로 보고되었다(Duarte 등, 2004). Ecb는 사탕무

무름병, Ecw는 고추냉이 무름병, Eco는 치커리 무름병, Eca는 감자 줄기검은병을 주로 일으키며 기주범위가 한정되어 있으나, Ecc는 매우 광범위한 지역과 기주에서 무름병을 일으킨다(De Boer와 Kelman, 2000).

현재 *E. carotovora* 내에서 경제적으로 가장 문제가 되고 있는 아종은 Ecc와 Eca이다. 그들의 구별은 생리·생화학 방법에 기초하여 이루어지고 있으며(Lelliot와 Dickey, 1984), 분자생물학적 방법 등의 다른 방법들도 보고되어 있다(Darrasse 등, 1994). 그러나 Ecc내에는 다양한 변이 균들이 존재하며 유전적으로도 매우 다양한 특성을 보여 주고 있어 Ecc와 Eca의 구별에 어려움이 있다(Seo 등, 2002; Tanii, 1984).

Seo 등(2004)은 제주지역의 감자 줄기검은병징으로부터

*Corresponding author

Phone)+82-31-290-0419, Fax)+82-31-290-0406

E-mail) sdlee@rda.go.kr

분리한 균주가 전형적인 Eca와는 다른 특성을 보인다고 보고하였다. 따라서 이번 연구에서는 제주지역의 감자 줄기검은병징으로부터 분리한 12균주에 대한 유전적 특성을 조사하였으며, 그 결과들을 1997~2000년 사이에 국내의 다양한 지역과 기주에서 분리한 무름병균과 *E. carotovora* 내의 여러 아종들과 서로 비교한 결과를 보고한다.

재료 및 방법

사용균주 및 배지. 제주지역에서 분리한 12개의 감자 줄기검은병균과 대조균은 Table 1과 같다. 본 시험에 사용한 대부분의 균주는 1997~2000년 사이에 분리한 균들로, 분리방법은 병발생 기주의 일부분을 70% 에탄올로

Table 1. Origins and RFLP patterns of 16S rRNA and *pel* gene

Strain ^a	Source	Isolated from	Year isolated	Eca-specific PCR	RFLP pattern	
					16S rDNA	<i>pel</i>
SL0292	Jeonnam Damyang	Tomato	1997	-	1	1
SL0386	Jeju Namjeju	Potato	1997	-	1	1
SL0387	Jeju Bukjeju	Potato	1997	-	1	2
SL0389	Jeju Bukjeju	Potato	1997	-	1	2
SL0390	Jeju Namjeju	Potato	1997	-	1	1
SL0397	Jeju Namjeju	Potato	1997	-	1	1
SL0398	Jeju Namjeju	Potato	1997	-	1	1
SL0399	Jeju Bukjeju	Potato	1997	-	1	2
SL0400	Jeju Bukjeju	Potato	1997	-	1	2
SL0401	Jeju Bukjeju	Potato	1997	-	1	2
SL0402	Jeju Bukjeju	Potato	1997	-	1	2
SL0403	Jeju Bukjeju	Potato	1997	-	1	2
SL0404	Jeju Bukjeju	Potato	1997	-	1	2
SL0405	Jeju Bukjeju	Potato	1997	-	1	2
SL0406	Jeju Bukjeju	Potato	1997	-	1	2
SL0407	Jeju Bukjeju	Potato	1997	+ ^b	2	3
SL0408	Jeju Bukjeju	Potato	1997	+	2	3
SL0410	Jeju Bukjeju	Potato	1997	-	1	2
SL0412	Jeju Bukjeju	Potato	1997	-	1	2
SL0426	Jeju Bukjeju	Potato	1997	-	1	2
SL0632	Chungnam Seosan	Radish	1997	-	1	2
SL0668	Gangwon Chunchon	Potato	1997	-	1	1
SL0669	Gangwon Chunchon	Potato	1997	-	1	2
SL0679	Gangwon Chunchon	Potato	1997	-	1	2
SL0671	Gangwon Chunchon	Potato	1997	-	1	2
SL0672	Gangwon Chunchon	Potato	1997	-	1	2
SL0679	Gangwon Chunchon	Chinese Cabbage	1997	-	1	1
SL0681	Gangwon Hongchon	Chinese Cabbage	1997	-	1	2
SL0884	Gyeongnam Hapchon	Chinese Cabbage	1997	-	1	1
SL0891	Jeonbuk Jangsu	Radish	1997	-	1	1
SL0967	Gangwon Hongchon	Lettuce	1997	-	1	2
SL0968	Gangwon Taebaek	Chinese Cabbage	1997	-	1	2
SL0969	Gangwon Taebaek	Radish	1997	-	1	1
SL1323	Gangwon Pyeongchang	Carrot	1997	-	1	2
SL1325	Gangwon Pyeongchang	Carrot	1997	-	1	2
SL1326	Gangwon Pyeongchang	Carrot	1997	-	1	2
SL1327	Gangwon Pyeongchang	Carrot	1997	-	1	2

Table 1. Continued

Strain ^a	Source	Isolated from	Year isolated	Eca-specific PCR	RFLP pattern	
					16S rDNA	<i>pel</i>
SL1328	Gagnwon Pyeongchang	Lettuce	1997	-	1	2
SL1329	Gagnwon Pyeongchang	Lettuce	1997	-	1	2
SL1940	Chungnam Yesan	Tobacco	1998	-	1	2
SL1941	Chungnam Yesan	Tobacco	1998	-	1	2
SL1942	Chungnam Yesan	Tobacco	1998	-	1	2
SL2478	Jeju Namjeju	Potato (blackleg)	1999	-	2	2
SL2479	Jeju Namjeju	Potato (blackleg)	1999	-	2	2
SL2481	Jeju Namjeju	Potato (blackleg)	1999	-	2	2
SL2549	Jeju Namjeju	Potato (blackleg)	1999	-	1	2
SL2553	Jeju Namjeju	Potato (blackleg)	1999	-	2	2
SL2554	Jeju Namjeju	Potato (blackleg)	1999	-	2	2
SL2555	Jeju Namjeju	Potato (blackleg)	1999	-	2	2
SL2557	Jeju Namjeju	Potato (blackleg)	1999	-	2	2
SL2558	Jeju Namjeju	Potato (blackleg)	1999	-	2	2
SL2562	Jeju Namjeju	Potato (blackleg)	1999	-	2	2
SL2563	Jeju Namjeju	Potato (blackleg)	1999	-	2	2
SL2565	Jeju Namjeju	Potato (blackleg)	1999	-	2	2
SL2888	Jeonbuk Jinan	Chinese Cabbage	1999	-	1	1
SL3232	Chungbuk Chungju	Tomato	2000	-	1	2
SL3233	Chungbuk Chungju	Tomato	2000	-	1	2
SL3234	Chungbuk Chungju	Tomato	2000	-	1	2
SL3235	Chungbuk Chungju	Tomato	2000	-	1	2
ATCC15713 ^T	<i>E. carotovora</i> subsp. <i>carotovora</i>			-	1	2
LMG2432	<i>E. carotovora</i> subsp. <i>carotovora</i>			-	1	2
ATCC33260 ^T	<i>E. carotovora</i> subsp. <i>atroseptica</i>			+	2	3
LMG6693	<i>E. carotovora</i> subsp. <i>atroseptica</i>			+	2	3
ATCC43762 ^T	<i>E. carotovora</i> subsp. <i>betavascularum</i>			-	1	NA ^c
ATCC43316 ^T	<i>E. carotovora</i> subsp. <i>wasabiae</i>			-	2	2
ATCC11663 ^T	<i>E. chrysanthemi</i>			-	2	NA

^aATCC, American Type Culture Collection; LMG, Laboratorium voor Microbiologie.

^bPresence of Eca-specific PCR amplicon.

^cNot amplified.

멸균한 후 적당한 크기로 잘라 tube에 넣고 마쇄하였다. 마쇄한 조직은 멸균수를 가하여 10^{-1} ~ 10^{-5} 배로 희석한 다음 YPDA(yeast extract 3 g, peptone 0.6 g, dextrose 3 g, agar 15 g/l, pH7.2) 배지에 도말배양하여 단일 colony를 얻었다. 순수분리한 균들은 동결 보존용 배지(10% skimmed milk, 1.5% sodium glutamate)에 보관하면서 시험에 이용하였다.

유전적 특성조사. 실험에 이용된 균주들의 DNA는 InstaGene matrix(Bio-Rad)를 이용하여 제조회사가 제시한 방법에 따라 분리하였고, -20°C 에 보관하면서 실험에 사용하였다. PCR-RFLP 분석에서는 *pel* 유전자와 16S rRNA

유전자를 증폭하여 분석하였다. *pel* 유전자는 Darrasse 등 (1994)이 보고한 *E. carotovora*에 특이적인 primer(Y1, Y2)를 이용하여 증폭하였고, 증폭된 유전자는 제한효소 *Sau3AI* (Toyobo)로 처리하였다. 16S rRNA 유전자는 universal primer인 fD1, rP2(William 등, 1991)를 이용하여 증폭하였고, 제한효소는 *HinfI*(Toyobo)로 처리하여 조사하였다. PCR 조건은 Seo 등(2002)이 보고한 조건에 준하였고, polymerase는 *Taq* DNA polymerase(Takara)를 사용하였다. 제한효소 처리 후 1.7% agarose gel에 전기영동 하였고 EtBr로 염색하여 band pattern을 관찰하였다.

제주지역의 무름병징과 줄기검은병징을 나타내는 감자

로부터 분리한 31개 분리균주의 유전적 관계를 조사하기 위해 ERIC2, ERIC1R primer(Versalovic 등, 1991)를 이용하여 Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus (ERIC)-PCR을 실시하였고, 증폭된 산물은 1.7% agarose gel에 전기영동한 후 band pattern을 관찰하였다.

Eca-specific PCR. Eca를 동정하기 위해 De Boer와 Ward(1995)가 보고한 Eca-specific primer(ECA1f, ECA2r)를 이용하여 PCR를 실시한 후 증폭산물의 유무를 조사하였다.

결과 및 고찰

제주지역의 감자 줄기검은병징으로부터 분리한 12균주

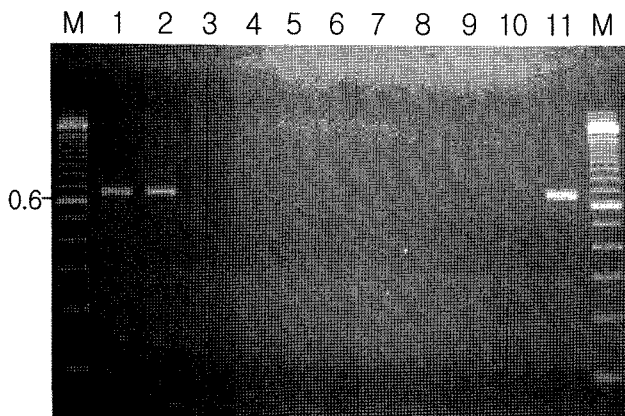


Fig. 1. Agarose gel electrophoresis of PCR-amplification products from Eca strains with primers ECA1f and ECA2r. Lanes: M, DNA ladder (100 bp); 1, SL0407; 2, SL0408; 3, SL2478; 4, SL2558; 5, SL2562; 6, SL2565; 7, ATCC 15713^T; 8, ATCC 43762^T; 9, ATCC 43316^T; 10, ATCC 11663^T; 11, ATCC 33260^T.

와 국내의 여러 지역과 기주에서 분리한 47균주의 병원성은 감자 슬라이드 접종방법으로 간이 검정한 결과 모두 24시간 안에 무름증상을 나타내는 강한 병원성을 나타내었다(결과 미제시). 아시아 지역의 여러 기주에서 분리된 87개의 무름병균도 4가지 작물에 대해 병원성을 확인한 결과 감자에서는 모두 병원성을 나타내었다(Seo 등, 2002). 따라서 감자 슬라이드 접종방법이 무름병균의 간이 병원성 검정에 용이한 방법이라고 생각되었다.

Eca-specific PCR 결과 국내 분리 무름병균 47균주중 2개 균주(SL0407, SL0408)와 2개 대조균주(ATCC 33260^T, LMG 6693)에서 Eca 특이적 밴드(690bp)가 증폭되어(Fig. 1), 2개 분리균주를 Eca로 동정하였다. 국외의 경우 감자 무름병은 Ecc, Eca, Ech에 의해 병징이 매우 유사하게 나타난다고 하였는데(Durate 등, 2004; Perombelon과 Kelman, 1980), 이번 결과로 국내에서도 Eca에 의한 감자 무름병의 발생을 시사하였다. 이번 실험에서 제주지역의 감자 줄기검은병징으로부터 분리한 12균주는 Eca 특이적인 밴드를 형성하지 않았다(Table 1). 이는 제주지역에 발생하는 감자 줄기검은병은 Eca에 의한 것이 아니라 다른 무름병균에 의해서 발생할 수 있다는 것을 나타내었다. Seo 등(2004)도 제주지역의 감자 줄기검은병징에서 분리한 균이 생리·생화학적으로는 Eca에 유사한 특성을 나타내었지만 유전적으로는 전형적인 Eca와 다른 특성을 보였다고 보고하였다.

12개 줄기검은병 균주와 국내 47개 무름병 균주의 16S rRNA 유전자에 대한 PCR-RFLP 결과 2개의 band pattern이 관찰되었고(Fig. 2), 46개 균주는 pattern 1, 13개 균주는 pattern 2를 나타내었다. Seo 등(2002)은 한국에서 분리한 23개의 Ecc 중 1개 균주만 pattern 2를 나타내었다

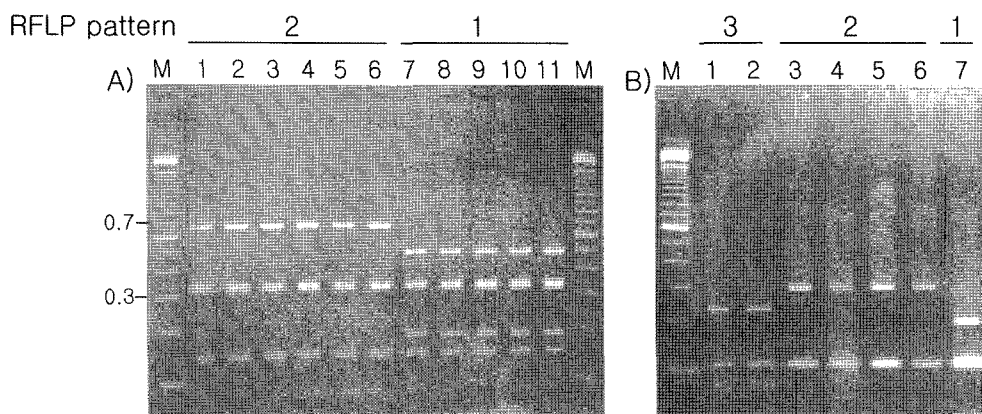


Fig. 2. RFLP analysis of the amplified fragments of 16S rRNA gene (A) and *pel* gene (B). (A) The DNA products of 16S rRNA gene were digested with *Hinf*I. Lanes: 1, SL0407; 2, SL0408; 3, SL2553; 4, SL2554; 5, SL2562; 6, SL2565; 7, SL0292; 8, SL0389; 9, SL0406; 10, SL0670; 11, SL0969. (B) The DNA products of *pel* gene digested with *Sau*3AI. Lanes: 1, SL0407; 2, SL0408; 3, SL0400; 4, SL0404; 5, SL2478; 6, SL2563; 7, SL0386. All DNA fragments were separated on 1.7% agarose gels and stained with ethidium bromide. Lanes labeled M were run with the DNA size standard (kb).

고 보고하였다. 그러나 이번 실험에서는 pattern 2가 비교적 높은 비율로 나타났고, pattern 2를 나타내는 13개 균주는 모두 제주지역의 감자에서 분리한 균주들로 무름병징으로부터 분리한 Eca로 동정된 2개 균주를 제외하면 모두 줄기검은병징으로부터 분리한 균주들이었다(Table 1). 감자 줄기검은병은 주로 Eca에 의해 발생되지만, Ecc에 의해서 발생하는 경우도 보고되어 있다(Stanghellini와 Meneley, 1975). 그러나 이번 실험결과는 제주지역에 발생하는 감자 줄기검은병균은 Ecc균들과도 다른 특성을 가진 균임을 나타내었다.

Pectate lyase(Pel)는 무름병균의 병원성 관련 요인 중 가장 중요하며(Liao 등, 1996), 무름병균의 분류 및 다양성 연구에 많이 이용된다(Darrasse 등, 1994). 이번 연구에서 *pel* 유전자의 PCR에 이용된 Y1, Y2 primer는 *E. carotovora*에 특이적이다(Darrasse 등, 1994). 이번 실험에 이용된 분리균주는 모두 특이적 밴드(434bp)를 형성하여 *E. carotovora*임을 확인하였다. 무름병은 주로 Ecc, Eca, Ech에 의해서 발생되는데, 이번 실험에서는 Ech가 분리되지 않았다. 이점은 국내 무름병은 주로 Ecc에 의해 발생된다는 보고(Kang 등, 2003)와 일치하였으며, 국내 무름병의 생태연구에 중요한 자료가 될 수 있을 것으로 생각되었다. *pel* 유전자에 대한 PCR-RFLP에서는 3개의 band pattern이 관찰되었는데(Fig. 2), 11개 균주는 pattern 1, 46개 균주는 pattern 2를 나타내었고, Eca-specific PCR을 이용해 Eca로 동정된 2개 균주(SL0407, SL0408)만이 pattern 3을 나타내었다. 2개의 Eca 대조균주(ATCC 33260^T, LMG 6693)도 pattern 3을 나타내어 Eca-specific PCR을 이용해

Eca로 동정된 2균주는 Eca임을 다시 확인할 수 있었다. 이번 실험에 이용된 국내 47개 무름병 균주 중 Eca로 동정된 2개 균주(SL0407, SL0408)를 제외한 45개 균주는 분리기주, Eca-specific PCR, RFLP 분석결과를 토대로 Ecc로 임의 동정하였다.

제주지역에서 발생하는 감자 무름병균과 감자 줄기검은병균과의 유전적 유연관계를 알아보기 위해 ERIC-PCR을 실시한 결과 12개의 줄기검은병균 중 11개의 균주(이 균주들은 모두 16S rDNA의 RFLP pattern 2로 나타났음)는 유전적 유연관계가 높게 나타났고(Fig. 3), 11개 균주에 대한 특이적 밴드들도 관찰되었다(Fig. 3의 화살표). 특이적 밴드들은 다른 밴드들보다 증폭량이 많았는데 이는 특이적 밴드들이 rDNA gene과 같이 high copy number로 존재할 가능성을 시사하였다. ERIC-PCR에 의한 유연관계 분석으로 제주지역의 감자 줄기검은병균은 같은 지역내의 감자 무름병균과 다른 특성을 나타내고 있음을 알 수 있었다.

이번 실험에 사용된 유전적 분석결과로 제주지역의 감자 줄기검은병징으로부터 분리한 12균주 중 11균주는 Ecc, Eca와는 다른 특성을 나타내고 있음을 알 수 있었다. 이 균들의 보다 정확한 특성을 알아보기 위해서는 앞으로 보다 많은 균주들을 수집하여 추가 실험이 필요하다고 사료된다.

요 약

제주지역의 감자 줄기검은병징으로부터 분리한 12균주의 유전적 특성을 분석하기 위해 Eca-specific PCR, PCR-

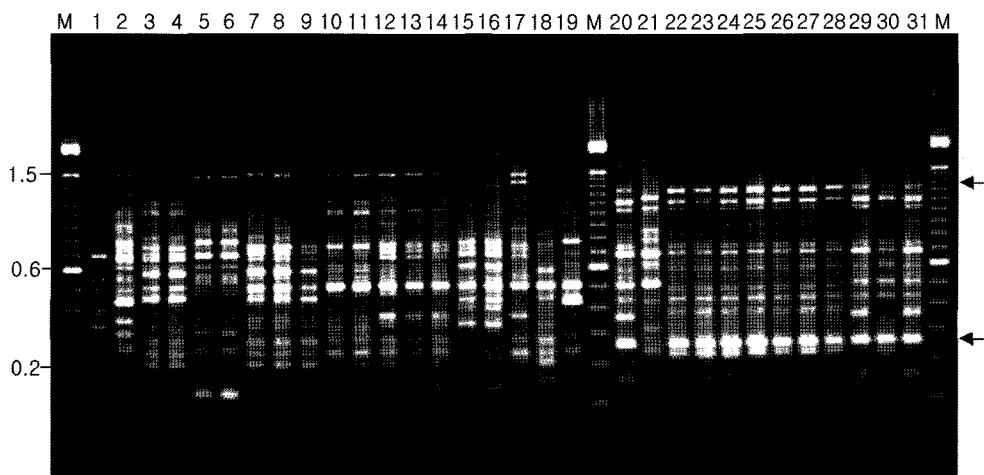


Fig. 3. Agarose gel electrophoresis of ERIC-PCR products generated from genomic DNA of *E. carotovora* strains isolated from potato in Jeju island. The arrows indicate blackleg strains-specific ERIC bands. Lanes 1-31 contain, respectively, SL0386, SL0390, SL0387, SL0389, SL0397, SL0398, SL0399, SL0400, SL0401, SL0402, SL0403, SL0404, SL0405, SL0406, SL0407, SL0408, SL0410, SL0412, SL0426, SL2481, SL2549, SL2478, SL2479, SL2553, SL2554, SL2555, SL2557, SL2558, SL2562, SL2563, SL2565. Molecular size markers (100 bp ladder) were run in lane M.

RFLP, ERIC-PCR을 실시하여 그 결과를 *E. carotovora* 대조균들과 비교하였다. Eca-specific PCR 결과 Eca 대조균들은 특이적 밴드를 형성한 반면, 줄기검은병균은 특이적 밴드를 형성하지 않았다. 또한, *pel* 유전자의 RFLP 분석 결과 줄기검은병균은 pattern 2를 나타내었으나, Eca 균주는 pattern 3을 나타내어 Eca와는 다른 특성을 보여주었다. 16S rDNA의 RFLP 분석결과 이번 실험에 이용된 대부분의 균주가 pattern 1을 나타냈지만, 12개의 줄기검은병균 중 11개의 균이 pattern 2을 나타내어 Ecc와도 다른 특성을 보여주었다. 제주지역의 무름병징과 줄기검은병징을 나타내는 균주들의 유전적 관계를 분석하기 위해 ERIC-PCR을 실시한 결과 줄기검은병균들은 특이적 밴드를 형성하였으며, 서로 높은 유연관계를 보여주었다. 따라서 제주지역의 줄기검은병징으로부터 분리한 균주들은 Eca, Ecc 균들과는 다른 특성을 가지고 있음을 알 수 있었다.

참고문헌

- Annie, G., Regine, S., Elisabeth, A. and Patrick, A. D. G. 1992. *Erwinia carotovora* subsp. *odorifera* subsp. nov., associated with odorous soft rot of chicory (*Cichorium intybus* L.). *Int. J. Syst. Bacteriol.* 42: 582-588.
- Darrasse, A., Priou, S., Kotoujansky, A. and Bertheau, Y. 1994. PCR and restriction length polymorphism of a *pel* gene as a tool to identify *Erwinia carotovora* in relation to potato diseases. *Appl. Environ. Microbiol.* 60: 1437-1443.
- De Boer, S. H. and Kelman, A. 2000. Gram-negative bacteria: *Erwinia* soft rot group. In: *Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria*. 3rd ed., ed. by N. W. Schaad, J. B. Jones, and W. Chun, pp. 56-72. St Paul, MN: American Phytopathological Society.
- De Boer, S. H. and Ward, L. J. 1995. PCR detection of *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* associated with potato tissue. *Phytopathology* 85: 854-858.
- Duarte, V., De Boer, S. H., Ward, L. J. and De Oliveira, A. M. R. 2004. Characterization of atypical *Erwinia carotovora* strains causing blackleg of potato in Brazil. *J. Appl. Microbiol.* 96: 535-545.
- Goto, M. and Matsumoto, K. 1987. *Erwinia carotovora* subsp. *wasabiae* subsp. nov. isolated from diseased rhizomes and fibrous roots of Japanese horseradish (*Eutrema wasabi* Maxim). *Int. J. Syst. Bacteriol.* 37: 130-135.
- Kang, H. W., Kwon, S. W. and Go, S. J. 2003. PCR-based specific and sensitive detection of *Pectobacterium carotovorum* ssp. *carotovorum* by primers generated from a URP-PCR fingerprinting-derived polymorphic band. *Plant Pathol.* 52: 127-133.
- Lelliot, R. A. and Dickey, R. S. 1984. Genus VII. *Erwinia* Winslow, Broadhurst, Buchanan, Krumwiede, Rogers and Smith 1920, 209^{AL}. In Krieg, N. R., Holt, J. G. eds. *Bergey's manual of systematic bacteriology*, vol. 1. Baltimore, USA.
- Liao, C. H., Gaffney, T. D., Bradley, S. P. and Wong, L. J. C. 1996. Cloning of a pectate lyase gene from *Xanthomonas campestris* pv. *malvacearum* and comparison of its sequence relationship with *pel* genes of soft-rot *Erwinia* and *Pseudomonas*. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 9: 14-21.
- Perombelon, M. C. M. and Kelman, A. 1980. Ecology of the soft rot erwinias. *Ann. Rev. Phytopathol.* 18: 361-387.
- Seo, S. T., Furuya, N., Lim, C. K., Takanami, Y. and Tsuchiya, K. 2002. Phenotypic and genetic diversity of *Erwinia carotovora* ssp. *carotovora* strains from Asia. *J. Phytopathol.* 150: 120-127.
- Seo, S. T., Koo, J. H., Hur, J. H. and Lim, C. K. 2004. Characterization of Korean *Erwinia carotovora* strains from potato and Chinese cabbage. *Plant Pathol. J.* 20: 283-288.
- Stanghellini, M. E. and Meneley, J. C. 1975. Identification of soft-rot *Erwinia* associated with blackleg of potato in Arizona. *Phytopathology* 65: 86-87.
- Tanii, A. 1984. Studies on the blackleg disease of potato in Hokkaido. *Hokkaido Pref. Agr. Exp. Sta.* 45: 104.
- Thomson, S. V., Hildebrand, D. C. and Schroth, M. N. 1981. Identification and nutritional differentiation of the *Erwinia* sugar beet pathogen from members of *Erwinia carotovora* and *Erwinia chrysanthemi*. *Phytopathology* 71: 1037-1042.
- Versalovic, J., Koeuth, T. and Lupski, J. R. 1991. Distribution of repetitive DNA sequences in eubacteria and application to fingerprinting of bacterial genomes. *Nucl. Acid Res.* 19: 6823-6831.
- William, G. W., Susan, M. B., Date, A. P. and David, J. L. 1991. 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. *J. Bacteriol.* 173: 697-703.