

***Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*을 침해하는 박테리오파지의 분리**

지삼녀 · 스웨타 말호트라 · 노은정 · 정규석 · 이동환 · 최재혁 · 윤종철 · 허성기*

국립농업과학원 유해생물과

Isolation of Bacteriophages Which Can Infect *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*

Samnyu Jee, Shweta Malhotra, Eunjung Roh, Kyusuk Jung, Dongwhan Lee, Jaehyuk Choi, Jongchul Yoon and Sunggi Heu*

Division of Microbial Safety, National Academy of Agricultural Science, Rural Development Administration, Suwon 441-707, Korea

(Received on June 18, 2012; Revised on September 6, 2012; Accepted on September 8, 2012)

Bacteriophages of *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* which causes soft rot on diverse vegetables had been isolated from 6 major Chinese cabbage cultivation areas in Korea. In order to isolate bacteriophages, total 15 different strains of *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* isolated from nation-wide of Korea had been used as a host. When we tested 30 different soil samples individually from Pyeongchang and Taebaek with 15 different strains as a host, Taebek soil samples showed bacteriophage plaques with almost all different indicator strains but Pyeongchang soil samples showed plaques only with *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* Pcc2 and Pcc3 strains. Especially, *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* Pcc3 strain was able to produce plaques with almost all soil samples. Thus, this strain can be used as an indicator strain for *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* bacteriophage screening. Electron microscope observation revealed *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* bacteriophages isolated in Korea were belonged to three different families, *Myoviridae*, *Siphoviridae* and *Podoviridae* in order *Caudovirales*.

Keywords : Bacteriophage, *Myoviridae*, *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*, *Podoviridae*, *Siphoviridae*

서 론

병원세균 *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* 은 그램음성 세균으로 배추, 무, 양파 등 100여종의 거의 모든 채소과 식물에 무름병(soft rot)을 일으킨다. 병원균이 20여개의 펙틴 및 cellulose 분해 효소를 가지고 있어 거의 모든 식물의 조직을 분해시키며 무름병을 일으킨다. 증상은 잎의 밑둥에 처음엔 반점으로 나타나고 진전되면 담갈색 내지 회갈색의 부정형 병반으로 변하며 썩기 시작한다. 배추 등이 결구가 되기 전에 나타나면 완전히 물러 썩어 거의 모든 식물체가 물러 식물체의 잔해조차 보

기 힘들게 된다. 병원균은 보통 흙이나 병든 식물표면 등에 존재하다 aerosol 상태나 물에 섞여 다른 식물체로 이동한다. 이러한 세균은 농작업이나 해충, 바람 등에 의해 생긴 상처로 감수성 식물에 침입한다. 침입한 세균은 펙틴 분해 효소를 분비하고 또한 섬유소 분해 효소로 세포벽 섬유소를 분해하여 세포 사이로 이동하면서 인접한 세포를 파괴 함으로서 무름증상을 나타낸다(Whitehead 등, 2002). 각종 채소 무름병은 세균병으로 장마 후 수분과 강한 태양열에 의한 지온상승으로 짧은 기간 내에 확산되는 병으로 농가소득에 막대한 피해를 주고 있는 병이다. 그러나 각종 채소 무름병은 지금까지의 방제기술이나 약제로는 완전방제가 이루어지지 않고 대부분 항생물질을 원료로 한 화학농약살포가 주를 이루고 있어 농약잔류 및 약제 내성균의 출현 등의 문제로 이를 대체할 수 있는 새로운 방제기술의 개발이 요구되고 시점에서 새로

*Corresponding author

(Phone) +82-31-290-0455, (Fax) +82-31-290-0406

(Email) sunggiheu@korea.kr

운 방법으로 박테리오파지가 주목받고 있다(Erskin, 1973; Gill 등, 2003; Ravensdale 등, 2007).

박테리오파지는 세균을 특이적으로 감염하여 용균시키거나 용원하는 바이러스로서, 보통 파지라고 줄여서 부르기도 한다. 1915년 영국의 세균학자 Frederick Twort 와 1917년 프랑스의 세균학자 Felix d'Herelle이 각각 독립적으로 발견하였으며 진핵생물인 동물이나 식물의 바이러스에 비해 원핵생물인 세균류만 감염하며 세균 기주에 대한 선택성이 대단히 높은 바이러스이다(Ackerman 등, 1997). 박테리오파지를 생물학적 방제제로 이용하려는 시도는 오래전부터 연구되어 왔으나, 항생제나 농약의 개발과 더불어 그 중요성이 잊혀져 왔다(Schnabel과 Jones, 2001). 그러나 최근에는 앞서 언급한 장점들로 인해 박테리오파지에 대한 관심이 급격히 증가하고 있으며, 관련분야의 연구 또한 급속히 증가하는 추세에 있다. 해외 각국의 박테리오파지에 관한 연구 개발 성과에 비하여 국내에서의 박테리오파지에 관한 연구는 이제 시작 단계이다(Eayre 등, 1995; Gross 등, 1991; Toth 등, 1993). 현재 박테리오파지 개발 및 활용 기술은 국외에 집중되어 *Ralstonia solanacearum* 치료용 파지와 *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* 치료용 파지가 상업적으로 시판되고 있다. 현재 국외에서는 박테리오파지를 이용한 다양한 상품을 개발하고 있다. 식품산업에서는 유럽의 EBI food system 회사는 박테리오파지를 이용하여 리스테리아균에 의한 식중독을 방지하는 식품첨가제 제품인 Listerix-P100을 개발하여 최초로 미국 FDA의 승인을 받았고 리스테리아균 통제 식품첨가제 박테리오파지 제품 LMP-102를 개발하여 GRAS (Generally regarded as safe)의 인증을 받았다. 또한 2006년 8월에는 미국과 네덜란드의 venture 기업 2곳이 축산물에 도포하여 리스테리아균을 제거할 수 있는 박테리오파지를 개발하였으며, 미국 FDA의 사용 허가를 받아 박테리오파지 사용의 안전성이 검증되었다.

이와 같이 본 논문에서 신선 농산물의 무름병 및 수확 후 부패에 의한 병해를 최소화 하기 위한 기초연구를 위하여 국내 무름병균을 용균할 수 있는 박테리오파지를 분리하고 분석하여 3종의 박테리오파지를 밝히고 전국적 분포를 발표한다.

재료 및 방법

국내 배추 주요 재배단지 토양 샘플 수집 및 파지의 분리. 채소 무름병균 *P. carotovorum* subsp. *carotovorum*을 용균할 수 있는 박테리오파지 탐색 및 분포를 조사하기 위하여 채소 무름병이 발생하는 토양(감자밭, 배추밭, 무

우밭 등등)과 병든 식물과 그 잔재 등을 채취하여 시료를 분리하였다. 전국에서 분리한 무름병균 15종을 파지 증식용 기주로 이용하였다. 각 토양 및 수계 시료에서 파지의 증식을 위해 토양은 적정량을 인산 완충용액에 현탁하고 수계시료는 그대로 0.45 μm 의 membrane filter를 통해 여과하였다. 여과된 수용액 시료를 기주 세균과 함께 LB 배지에 섞어서 배양하여 박테리오파지를 증식하고 고체배지에 도말하여 plaque를 분리하였다. 각 기주 세균에 따라 plaque를 재 증식하여 순수한 single plaque를 분리하고 증식하여 냉동보관하며 차후 연구에 이용하였다. 각각의 분리 파지를 다시 각종 채소에서 분리한 *P. carotovorum* subsp. *carotovorum*에 접종하여 용균 여부를 검사하여 기주 spectrum을 조사하였다.

박테리오파지들의 순수분리 및 형태적 분석. 용균 파지를 분리하기 위해 각 plaque들을 서로 다른 병원균에 처리하여 plaque 형성 유무를 관찰하였다. 기주 특이적 plaque를 형성하는 파지들은 따로 분류 보존하였다. 순수 분리를 위하여 plaque를 형성하는 파지들은 기주에 처리하여 파지를 증식하고 그 용균 lysate를 확보하였다. 이 lysate들은 10% PEG를 이용하여 농축하고 SM 완충액으로 녹이고 CsCl 밀도구배 고속 원심분리법(28,000 rpm, 2시간, 4°C)을 통해 분리하였다. 분리된 파지입자를 SM 완충액으로 투석하여 순수분리하고 4°C에 보존하며 이용하였다. 순수분리된 파지의 형태는 TEM을 이용하여 phage head의 크기, tail 유무와 길이 등을 분석하며 International Committee of Taxonomy of Viruses에서 제시한 형태적 분류방법에 따라 분류하였다(Aekerman 등, 1997).

결과 및 고찰

국내 배추 주요 재배단지 토양 샘플 수집 및 파지의 분리. 무름병균을 기주로 살 수 있는 파지를 분리하기 위하여 무름병에 의한 피해를 경험한 밭의 시료를 준비하여야 하였다. 국내 대규모 배추 재배 단지의 경우 거의 무름병균 *P. carotovorum* subsp. *carotovorum*의 피해를 한번은 경험하였을 것으로 추정하여 먼저 평창, 태백, 고창, 무안, 해남, 제주도 대규모 배추 재배단지를 주요 시료 수집 대상으로 정하였다(Fig. 1). 국내 주요 배추 재배 단지를 겨울배추 재배단지 및 여름배추 재배단지 등 2종류로 나누어 평창, 태백 등 여름배추 재배단지의 시료채취는 8월에 하였으며 해남, 고창, 무안은 10월에 그리고 제주도의 시료는 12월에 준비하였다. 시료는 토양, 병든 식물, 또는 식물잔재 등으로 분리하여 준비하였다.

먼저 파지를 분리하기 위하여 기주로 살 수 있는 무름

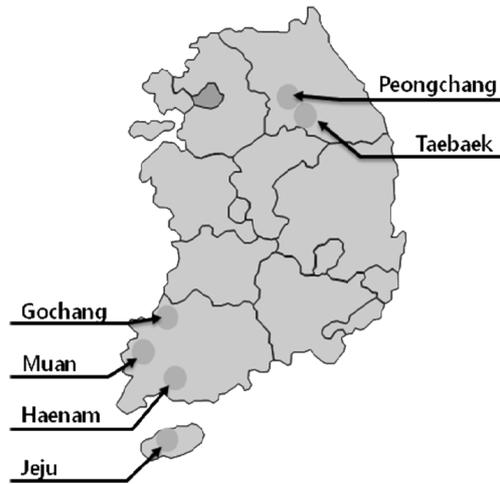


Fig. 1. Locations of six major Chinese cabbage cultivation area in Korea. Pyeongchang and Taebaek are the location that the summer Chinese cabbage cultivation. Gochang, Muan and Haenam are the place for the winter Chinese cabbage cultivation. Jeju island cultivate Chinese cabbage during winter in Korea.

Table 1. Number of soil samples from Pyeongchang or Taebaek that showed phage plaques with 15 different strains of *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*

Seed bacteria	No. of positive soil samples from	
	Pyeongchang	Taebaek
<i>P. carotovorum</i> subsp. <i>carotovorum</i>		
Pcc1	0/30* (0%)	3/30 (10%)
Pcc2	13/30 (43%)	10/30 (33%)
Pcc3	28/30 (93%)	30/30 (100%)
Pcc4	0/30 (0%)	0/30 (0%)
Pcc5	0/30 (0%)	3/30 (10%)
Pcc6	0/30 (0%)	0/30 (0%)
Pcc7	0/30 (0%)	3/30 (10%)
Pcc8	0/30 (0%)	5/30 (17%)
Pcc9	0/30 (0%)	2/30 (7%)
Pcc10	0/30 (0%)	3/30 (10%)
Pcc11	0/30 (0%)	12/30 (40%)
Pcc12	0/30 (0%)	3/30 (10%)
Pcc13	0/30 (0%)	0/30 (0%)
Pcc14	0/30 (0%)	0/30 (0%)
Pcc15	0/30 (0%)	0/30 (0%)

*; Number of positive samples that showed bacteriophage plaques out of 30 samples.

병균 *P. carotovorum* subsp. *carotovorum*을 이용하여야 하는데 국내 무름병균 파지에 대한 정확한 정보가 없어 전 세계에서 수집한 무름병균 15종을 모두 기주로 하여 실험

을 하였다(Table 1). 먼저 평창과 태백에서 수집한 토양 시료 30점씩을 대상으로 15개 균에 모두 접종하여 plaque 형성 유무를 관찰한 뒤 기주 여부를 조사하였다. 지역적으로 큰 차이가 없으며 모두 배추 재배단지에서 수집한 토양 시료임에도 불구하고 평창의 토양 시료와 태백에서 수집한 토양 시료의 무름병균에 대한 반응이 크게 차이가 있었다. 평창의 토양 시료는 매우 좁은 기주 범위를 보여 *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* Pcc2 균주와 Pcc3 균주에서 만 plaque를 형성한 반면 태백에서 수집한 토양은 10개 균주에서 plaque를 형성하여 비교적 넓은 기주 범위를 보여 주었다. 시료는 *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* Pcc2 균주에서 10개의 시료가, Pcc11 균주에서 12개의 시료가 plaque를 형성하였다. *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* Pcc3 균주는 평창에서 채집한 28개 시료와 태백에서 채집한 30개 시료에서 모두 plaque를 형성하여 매우 넓은 기주 범위를 보여 주었다. 이 균주는 앞으로의 실험에서 파지의 screening에 기주로 사용이 가능한 균주로 선발하였다(Table 1).

본 실험에서 토양, 병든 식물, 그리고 식물 잔재 등에서 파지의 분리를 시도하였으나 토양시료에서만 plaque 형성이 가능하였다. 거의 대부분의 토양 시료는 육안으로 어떠한 병징도 관찰할 수 없는 매우 양호한 배추밭 토양이었음에도 많은 수의 plaque가 형성됨을 관찰할 수 있었다. 재배 기간 또는 수확 후에 육안으로 관찰 가능한 병징이 없었음에도 병원균은 계속 토양 속에서 월동하고 있음을 시사한다(Erskine, 1973; Gill 등, 2003). 앞으로 *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* Pcc3과 같은 다양한 파지에 공통으로 기주가 될 수 있는 균주를 사용하여 채소 재배 단지의 토양에 잔존하는 무름병균의 진단 및 발병 예측도 가능할 수 있을 것이다.

박테리오파지의 형태학적 분류. 각각의 기주에서 형성된 plaque의 형태는 먼저 크기에 따라 대체로 3종류로 구분된다. Plaque의 크기가 4-6 mm 정도의 매우 크고 깨끗한 plaque, 1-3 mm 정도의 중간 크기의 plaque 그리고 약 0.5 mm 정도의 매우 작은 크기의 plaque를 관찰할 수 있었다(Fig. 2). Plaque의 형성 모습도 크게 3종류로 구분이 되며, 깨끗한 형태의 plaque, 안에 환이 하나 더 있는 형태의 plaque, 그리고 불투명한 plaque 등으로 구분이 된다(Fig. 3). 그러나 이러한 다양한 plaque의 크기나 모양은 기주와 파지의 특성보다는 기주의 상태와 배지의 흡기 정도에 따라 결정되는 것으로, 파지 고유의 형태적 특징으로 간주하기는 어렵다. 그러나 대체로 *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* Pcc2를 기주로 사용할 경우 0.5 mm 정도의 작은 크기의 투명한 plaque를 형성하였으며 *P.*

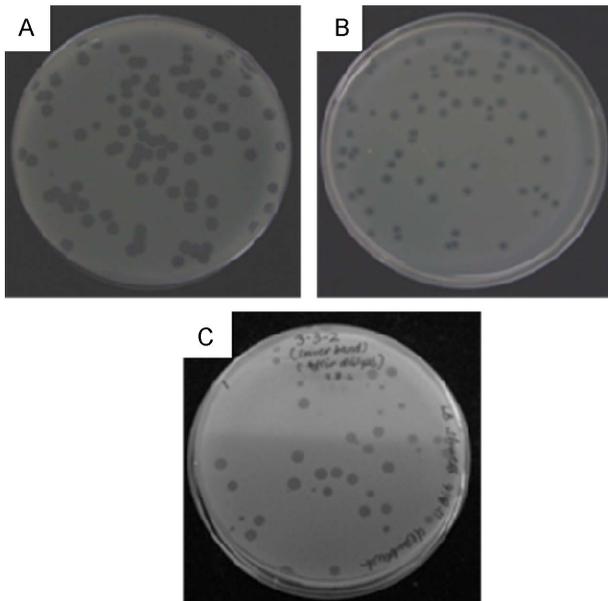


Fig. 2. Different sizes of plaque on solid media. (A) largest clear plaque. (B) Medium sizes of plaques. (C) mixture of largest plaques and smallest plaques.

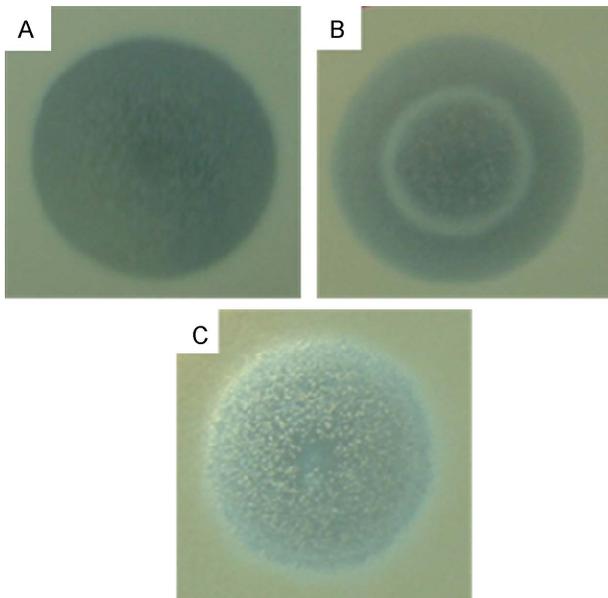


Fig. 3. Different types of plaque morphology. Three different types of plaques were observed during the isolation of *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* phages. (A) Typical clear plaque. (B) Clear plaque with white band. (C) Turbid plaque.

carotovorum subsp. *carotovorum* Pcc3 균주를 기주로 사용할 경우 4–6 mm 정도 크기의 투명한 형태의 plaque를 형성하였다.

하나의 단 plaque를 분리하여 다시 증폭한 다음 순수

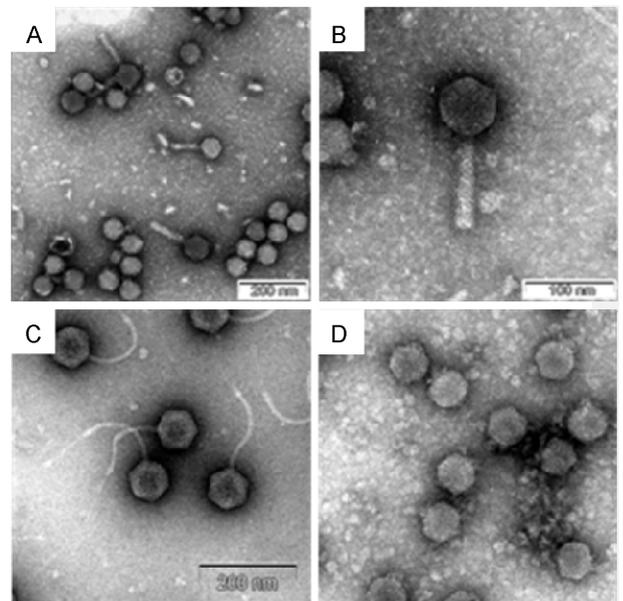


Fig. 4. The electron microscopic pictures of three different types of phages. (A) mixture of *Podoviridae* and *Myoviridae*. (B) typical *Myoviridae* with expanded sheath and tail. (C) *Siphoviridae* with long non-contractile tail. (D) *Podoviridae* with very short tail.

분리하기 위하여 PEG로 침전하고 CsCl gradient 원심분리를 한 후 전자현미경으로 촬영하였다(Fig. 3). 완전히 순수 분리한 시료가 아닌 경우에 2종류의 다른 형태의 파지가 관찰되었으며 심지어 3종류의 파지가 관찰되기도 하였다(Fig. 4). 일반적으로 식물병원세균에 감염하는 박테리오파지는 *Caudovirales* 목에 속하는 과(Family) 3종류 *Myoviridae*, *Podoviridae*, 그리고 *Siphoviridae*가 보고되어 있다(Ackerman 등, 1997). 국내에서 분리한 *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* 균주들을 침해하는 bacteriophage는 3종류 모두 관찰되었다(Fig. 4). 먼저 가장 대표적인 박테리오파지의 형태인 *Myoviridae*의 경우 머리는 약 100 nm 크기로 매우 크고 목(Neck)의 길이는 10×8 nm, 그리고 sheath는 펼쳐져 있을 경우 250×20 nm 크기가 되고 움츠러졌을 경우 90×30 nm 정도가 된다(Fig. 4B). 두번째 종류는 *Podoviridae*로 머리는 *Myoviridae* 보다는 작은 60 nm 정도이며 sheath는 없고 머리와 꼬리만 있다(Fig. 4C). 세번째 종류인 *Siphoviridae*는 머리는 *Podoviridae*와 비슷하게 60–80 nm가 되나 매우 긴 꼬리를 가지고 있다. *Myoviridae*와는 달리 꼬리가 수축되거나 하지 않으며 약간 휘어진 긴 꼬리가 특징이다(Fig. 4D).

박테리오파지의 지역적 분포. 국내 박테리오파지의 분포 정도를 알아보기 위하여 전국 배추 주요 재배단지 여섯 곳에서 토양 시료를 수집하여 파지를 분리하고 전자

Table 2. Type of bacteriophages isolated in different regions of Korea

Location	Type of Bacteriophage			Location	Type of Bacteriophage		
	Myoviridae	Siphoviridae	Podoviridae		Myoviridae	Siphoviridae	Podoviridae
Haenam				Pyeongchang			
HH1	-	O	O	PO1	-	O	-
HH2	-	O	O	PO2	-	O	-
HH3	-	O	-	PO3	-	O	-
HH4	-	O	-	PO4	-	O	O
HH5	-	O	O	PO5	-	O	O
HH6	O	O	O	PO6	-	O	O
HH7	-	O	O	PO7	-	O	O
HH8	O	O	-	PO8	-	O	O
HH9	-	O	-	PO9	-	-	O
HH10	-	O	O	PO10	-	O	-
Rate (%)	20%	100%	60%	PO11	-	O	O
Taebaek				PO12	-	O	O
TB1	-	O	O	PO13	-	O	-
TB2	-	O	O	Rate (%)	0%	92%	62%
TB3	-	O	O	Muan			
TB4	-	O	O	MH1	-	O	-
TB5	-	O	O	MH2	-	O	-
TB6	-	O	O	MH3	-	O	O
TB7	-	-	O	MY1	-	O	O
TB8	-	-	O	MY2	-	O	O
TB9	-	O	-	MY3	-	O	-
TB10	-	O	O	MY4	-	O	O
Rate (%)	0%	80%	90%	MY5	O	O	O
Gochang				MY6	O	-	O
GG1	-	O	-	Rate (%)	22%	89%	67%
GG2	-	O	-	Jeju			
GG3	-	O	-	JJ1	-	O	O
GG4	-	O	O	JJ2	-	O	O
GS2	-	O	O	JJ3	-	O	O
GS3	-	O	-	JJ4	-	O	-
GS4	-	O	-	JJ5	-	O	O
GS5	-	O	-	JJ6	-	O	O
GM1	-	O	O	JS1	-	O	O
Rate (%)	0%	100%	33%	Rate (%)	0%	100%	86%

현미경으로 그 형태를 관찰하였다. 해남, 태백 지역에서는 10곳에서 채취한 토양 시료를 사용하였고 평창은 13지역, 무안, 고창은 9지역, 그리고 제주도에서는 7지역의 토양시료를 채취하여 파지를 분리한 후 전자현미경으로 관찰하여 그 형태를 알아 보았다(Table 2). 우리나라의 경우 전국의 모든 배추 재배 토양에서 파지가 나왔다. 이

는 우리나라 배추 재배 토양에는 항상 *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* 병원균이 존재함을 의미한다고 할 수 있다. 우리나라 토양 중에는 *Siphoviridae*의 형태를 가진 파지의 분포가 98%로 거의 모든 배추 재배 토양에 *Siphoviridae*가 존재한다고 할 수 있다. 그 뒤를 이어 *Podoviridae*가 78%로 매우 높게 나왔으며 *Myoviridae*의 경우 60지역의

시료 중 해남과 무안의 2지역, 4곳에서만 관찰되어 매우 낮게 존재함을 알 수 있었다. 이는 2003년 *Erwinia amylovora*를 캐나다에서 조사하고 보고한 내용과 다르게 관찰되어 매우 흥미롭다. Gill 등이 캐나다에서 50 샘플의 파지를 분리한 결과 *Myoviridae*와 *Podoviridae*만 관찰되었고 *Siphoviridae*는 관찰되지 않았다고 보고하였다(Gill 등, 2003). 현재 *Pectobacterium*을 대상으로 대규모의 파지 분포를 조사한 결과가 세계적으로 보고가 없어 *P. carotovorum* 종에만 *Siphoviridae*가 존재하는 것인지 아니면 *Erwinia amylovora*와 매우 유사한 우리나라의 *Erwinia pyrifoliae*도 *Siphoviridae*가 관찰되지 않을 것인지 앞으로 연구가 더 필요할 것이다(Schnabel 등, 2001; Toth 등, 1993).

요 약

국내 주요 배추재배단지 6곳을 정하여 토양 샘플에서 무름병균을 용균할 수 있는 bacteriophage를 분리하였다. 여름배추를 재배하는 평창과 태백의 토양 샘플에서 국내에서 분리한 15개의 다른 무름병균을 기주로 파지를 분리한 결과 태백의 토양은 다양한 병원균을 기주로 증폭하는 반면 평창의 파지는 두 종류의 균에서만 증폭이 되어 매우 좁은 기주 범위를 가졌다. 무름병균 *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* Pcc3의 균주는 거의 모든 토양 샘플에서 파지를 증폭할 수 있어 앞으로 파지를 이용한 무름병균 예찰 균주로 사용될 수 있는 가능성을 보여 주었다. 국내 무름병균을 용균할 수 있는 파지는 *Myoviridae*, *Podoviridae*, *Siphoviridae* 세 종류로 밝혀 졌으며 국내 거의 전 지역에서 *Siphoviridae*가 분리되었다.

Acknowledgement

This paper was supported by the grant (#PJ0082832012) by the Rural Development Administration of Republic of Korea.

References

- Ackerman, H. W., DuBow, M. S., Gershman, M., Karska-Wysocki, B., Kasatiya, S. S., Loessner, M. J., Mamet-Bratley, M. D. and Regue, M. 1997. Taxonomic changes in tailed of enterobacteria. *Arch. Virol.* 142: 1381–1390.
- Eayre, C. G., Bartz, J. A. and Concelmo, D. E. 1995. Bacteriophages of *Erwinia carotovora* and *Erwinia ananas* isolated from freshwater lakes. *Plant Dis.* 79: 801–804.
- Erskine, J. M. 1973. Characteristics of *Erwinia amylovora* bacteriophages and its possible role in the epidemiology of fire blight. *Can. J. Microbiol.* 19: 837–845.
- Gill, J. J., Svircev, A. M., Smith, R. and Castle, A. J. 2003. Bacteriophages of *Erwinia amylovora*. *Appl. Environ. Microbiol.* 69: 2133–2138.
- Gross, D. C., Powelson, K. M. L., Regner, K. M. and Rademaker, G. K. 1991. A bacteriophage-typing system for surveying the diversity and distribution of strains of *Erwinia carotovora* in potato fields. *Phytopathology* 81: 220–226.
- Ravensdale, M., Blom, T. J., Gracia-Garza, J. A., Svircev, A. M. and Smith, R. J. 2007. Bacteriophages and the control of *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*. *Can. J. Plant Pathol.* 29: 121–130.
- Schnabel, E. L. and Jones, A. L. 2001. Isolation and characterization of five *Erwinia amylovora* bacteriophages and assessment of phage resistance in strains of *Erwinia amylovora*. *Appl. Environ. Microbiol.* 67: 59–64.
- Toth, I., Perombelon, M. and Salmond, G. 1993. Bacteriophage ϕ KP mediated generalized transduction in *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*. *J. General Microbiology* 139: 2705–2709.
- Whitehead, N. A., Byers, J. T., Commander, P., Corbett, M. J., Coulthurst, S. J., Everson, L., Harris, A. K., Pemberton, C. L., Simpson, N. J., Slater, H., Smith, D. S., Welch, M., Williamson, N. and Salmond, G. P. 2002. The regulation of virulence in phytopathogenic *Erwinia* species: quorum sensing, antibiotics and ecological considerations. *Antonie Van Leeuwenhoek* 81: 223–231.