

## BOX-, REP-, ERIC-PCR을 이용한 국내 수집 *Pseudomonas tolaasii*와 WLRO(White line reacting organism) 균주들의 유전적 다양성

지희윤\* · 오세종<sup>1</sup> · S. P. Lincoln<sup>2</sup>

농업과학기술원 작물보호부 병리과, <sup>1</sup>농업과학기술원 생물자원부 응용미생물과  
<sup>2</sup>Horticulture Research International, UK

### Genetic Diversity of Korean Isolates of *Pseudomonas tolaasii* and WLRO (White Line Reacting Organism) using BOX-, REP-, and ERIC-PCR

Hee Youn Chee\*, Se-Jong Oh<sup>1</sup> and S. P. Lincoln<sup>2</sup>

\*Department of Plant Pathology, National Institute of Agricultural Science and Technology, RDA, Suwon 441-707

<sup>1</sup>Department of Applied Microbiology, National Institute of Agricultural Science and Technology, RDA, Suwon 441-707

<sup>2</sup>Horticulture Research International, UK

**ABSTRACT:** Genetic diversity of Korean isolates of *Pseudomonas tolaasii* and WLRO (White line reacting organism) was assessed using BOX-, REP-, and ERIC-PCR analysis. *P. tolaasii* showed nearly identical band patterns among isolates, whereas considerable DNA polymorphism was found among isolates of WLRO. On the basis of dendrogram, WLRO is characterized as a complex group with high degree of genetic differentiation. Genetic relatedness based on repetitive DNA regions was low between *P. tolaasii* and WLRO isolates.

**KEYWORDS:** Mushroom, *P. tolaasii*, WLRO, Genetic diversity, BOX, ERIC, REP, PCR

재배 버섯에서 발생하는 세균성갈반병은 버섯의 대나 갓 부분의 균사조직에 주로 발병하여 버섯의 상품적 가치를 감소시키는 중요한 버섯 병해이다. 갈반병의 원인 세균인 *Pseudomonas tolaasii*는 WLRO(white line reacting organism)라고 호칭되는 비병원성 *Pseudomonas* 속 세균과 PAF (*Pseudomonas* Agar F) 배지에서 대치 배양 시 중앙부위에 white line을 형성하는 특징을 가진 fluorescent *Pseudomonas* 속으로 분류된다(Wong and Preece, 1979). WLRO에 대하여는 아직 공식명명이 되어있지 않은 상태이며 white line inducing principle이라는 물질을 생산하여 *P. tolaasii*로부터 나오는 tolaassin 과 반응하여 white line을 형성시키는 능력을 가진 세균들의 복합 군으로 총칭되고 있으며 아직은 세균학적 분류 동정이 체계적으로 되어 있지 않은 상태이다(Gorr 등, 1986).

Gorr 등(1986)은 *P. tolaasii*와 WLRO중에는 일반세균학적 특성이 유사하고 버섯에 대한 병원성 만이 다른 것도 있다고 보고하였으며, 김 등(1995)은 일반세균학적 특성 및 병원성 검정결과를 토대로 국내 수집된 WLRO 균주들과 *P. tolaasii* 균주들을 각각 23개와 5개 group으로 나누고 *P. tolaasii*와 WLRO 사이에는 일반 세균학적 성상이 동일한 세균이 존재한다고 보고하였다. Wells 등(1996)은 WLRO

중에 병원성을 가지는 균주들을 보고하였는데 지방산 및 세균학적 특성 분석 결과 병원성 WLRO는 *P. gingeri*와 상동성이 높은 반면 비병원성 WLRO는 *P. fluorescens*와 상동성이 높은 것으로 보고하였다. 이와 같이 WLRO와 *P. tolaasii* 균주의 분류학적 근연관계는 명확하지 않은 실정이며 일반 세균학적 특성을 이용한 방법만으로는 *P. tolaasii*나 WLRO와 같은 *Pseudomonas* 속 세균들의 근연관계를 측정하기에는 한계가 있다.

최근에 PCR(Polymerase Chain Reaction)을 이용한 분자생물학적 방법이 세균의 분류 및 동정에 널리 사용되고 있다. Dolzani 등(1994)은 ribosomal DNA의 16S와 23S 사이의 부위를 RFLP(Restriction Fragment Length Polymorphism) 분석을 통하여 *Staphylococcus aureus*를 분류 동정하였고, Christensen 등(1994)은 23S ribosomal DNA 부위를 염기배열 분석하여 *Pseudomonas* 속을 분류하였다. 그렇지만 ribosomal DNA 분석을 이용한 세균의 분류동정은 동일종 내의 균주간의 유전적 변이성을 검정하는데 많은 한계가 있다. Versalovic 등(1991)은 세균의 genomic DNA에도 식물이나 진균류 등의 진핵세포 DNA처럼 repetitive DNA sequence가 존재한다고 보고하였으며, 이러한 repetitive DNA sequences들이 세균의 분류 동정에 유용하게 이용될 수 있다고 보고된 후 repetitive DNA primer를 이용한 PCR 방법으로 세균들의 분류동정이 널리 행하여지고 있다.

\*Corresponding author

Lupski와 Weinstock 등(1992)은 REP(Repetitive Extragenic Palindromic), ERIC(Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus), BOX element 등의 repetitive DNA sequence가 다양한 세균들의 DNA에 분포하는 것을 밝혔으며, Brujin (1992)은 REP과 ERIC-PCR을 이용하여 *Rhizobium meliloti* 균주들을 동정하였으며, Louws 등(1994)은 REP, ERIC, BOX-PCR을 사용하여 *Xanthomonas*와 *Pseudomonas* 등을 분류하였다. Thom과 Tsuenda(1996)는 16S ribosomal DNA 증폭 및 RFLP 그리고 REP-PCR을 이용하여 *P. tolaasii* 균주들과 *Pseudomonas fluorescens* 균주 등의 다른 종류 세균들과의 분류적 근연 관계와 *P. tolaasii* 종 내의 유전적 변이를 분석하였다. 이러한 분자생물학적 분류 동정법은 균주의 유전적 분석을 토대로 하고 있으므로 보다 정확하고 높은 분리능을 가지고있어 형태적, 생리적 특성을 근거로한 분류 동정을 체계화시킬 수 있는 장점이 있다. 본 연구에서는 ERIC, REP, BOX-PCR을 이용한 분자생물학적 방법을 이용하여 국내수집 *P. tolaasii*와 WLRO 세균들의 동일종 내 균주간의 유전적 다양성을 분석하고 상호 유전적 근연관계를 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 공시균주 및 white line 형성실험

본 실험에서 사용한 공시균주들의 목록은 Table 1과 같다. 국내 수집균주들은 1997년과 1998년에 전국 각지의 버섯재배 농가에서 수집된 이병버섯에서 분리하였고, ATCC

**Table 1.** Bacterial strains used in this study

Isolation	Host	Identified as	Location
ASJ013	<i>Pleurotus ostreatus</i>	WLRO	Suwon
ASJ017	<i>P. ostreatus</i>	WLRO	Suwon
ASJ018	<i>P. ostreatus</i>	WLRO	Kimchen
ASJ033	<i>P. ostreatus</i>	<i>Pseudomonas tolaasii</i>	Chungju
ASJ035	<i>P. ostreatus</i>	<i>P. tolaasii</i>	Chungju
ASJ042	<i>P. ostreatus</i>	WLRO	Wonju
ASJ046	<i>P. ostreatus</i>	WLRO	Busan
ASJ048	<i>P. ostreatus</i>	<i>P. tolaasii</i>	Wonju
ASJ053	<i>P. ostreatus</i>	<i>P. tolaasii</i>	Suwon
ASJ061	<i>P. ostreatus</i>	WLRO	Pocheon
ASJ072	<i>P. ostreatus</i>	WLRO	Pocheon
ASJ083	<i>P. ostreatus</i>	WLRO	Kimcheon
ASJ085	<i>P. ostreatus</i>	WLRO	Busan
ASJ086	<i>P. ostreatus</i>	WLRO	Busan
ASJ088	<i>P. ostreatus</i>	<i>P. tolaasii</i>	Chungju
ASJ092	<i>P. ostreatus</i>	WLRO	Wonju
ASJ099	<i>P. ostreatus</i>	WLRO	Wonju
ASJ124	<i>P. ostreatus</i>	WLRO	Pocheon
ASJ132	<i>P. ostreatus</i>	WLRO	Cheonan
ASJ133	<i>P. ostreatus</i>	WLRO	Pocheon
ASJ135	<i>P. ostreatus</i>	<i>P. tolaasii</i>	Pocheon
ASJ142	<i>P. ostreatus</i>	WLRO	Wonju
ASJ146	<i>P. ostreatus</i>	<i>P. tolaasii</i>	Wonju
ASJ148	<i>P. ostreatus</i>	WLRO	Haenam
ASJ0149	<i>P. ostreatus</i>	WLRO	Haenam
14340	<i>Agaricus bisporus</i>	WLRO	ATCC
33618	<i>A. bisporus</i>	<i>P. tolaasii</i>	ATCC

33618, ATCC 14340 의 표준균주들은 American Type Culture Collection으로부터 구입하여 사용하였다. 균주들을 DNA 분리를 위해 LB 액체 배지에 접종하여 24°C에서 이틀간 배양하여 사용하였다. White line 형성 실험은 공시균주들을 PAF(*Pseudomonas Agar F*) 배지에서 표준균주 ATCC 33618과 ATCC 14340에 각각 24°C에서 48시간 대치배양한 후 중앙부위에 white line 형성 유무를 관찰하였다.

### 병원성 검정

느타리버섯에 갈반병을 일으키는 병원균의 병원성을 검정하기 위하여 세균의 농도를  $10^8$  cfu/ml로 희석한 다음 petri dish에 filter paper를 깔고 멸균수로 filter paper를 충분히 적신후 건전한 버섯의 갓을 petri dish에 넣어 세균의 현탁 희석액을 갓 표면에 묻질러 25°C 항온기에 24시간 두었다.

### 지방산 분석

지방산 분석을 위하여 WLRO 균주들을 TSBA(Trypticase soy agar) 배지에 접종하여 26°C에서 24시간 배양하였다. 지방산은 Sherlock Microbial Identification System의 operating manual version 6에 제시된 방법대로 분리하였다. 배양된 세균을 loop으로 약간 취하여 10 ml 시험관 바닥에 옮기고 NaOH-methanol액을 첨가하여 100°C에서 5분간 끓이고 vortex한 후에 25분간 다시 끓여 가수분해시켰다. Methanol과 HCl을 첨가하여 80°C에서 10분간 처리하여 methylation시키고 지방산을 hexane과 methyl tertiary butyl ether 용액에 추출하였다. 추출액을 NaOH로 수세하고 증발시킨 후 GC vial에 옮겼다. 지방산은 silica capillary column을 사용한 Hewlett Packard 6890A chromatography에서 gas chromatography로 분리하였다.

### DNA 추출

LB 액체배지에서 키운 균주들을 원심 분리하여 회수한 후 1 M NaCl 용액으로 2회 세척한 다음 extraction buffer (50 mM EDTA, 0.15 M NaCl, pH 8.0)를 첨가하여 현탁시키고 20% SDS 용액 150  $\mu$ l와 proteinase K(150  $\mu$ g/ml)를 첨가하여 50°C에서 1시간 배양했다. 동량의 phenol/chloroform/isoamyl alcohol(25:24:1) 용액을 첨가하고, 12,000 rpm에서 10분간 원심분리한 후, 상층액을 취하여 새 1.5 ml centrifuge tube에 넣고 10분의 1 부피의 3 M NaAcOH와 동량의 isopropanol을 첨가하여 원심분리시켜 genomic DNA를 침전 시켰다. 침전된 pellet을 70% ethanol로 세척하고 실온에서 약 2 시간 정도 건조시킨 후 TE buffer(10 mM Tris-HCl, 2 mM EDTA pH 8.0) 70  $\mu$ l에 녹인 후 ribonuclease(10 mg/ $\mu$ l)를 첨가하여 37°C에서 1시간 배양하고 0.8% agarose gel에 전기영동하여 DNA 농도 및 순도를 조사하였다.

### PCR

DNA 증폭을 위하여 사용한 oligonucleotide primer들은

**Table 2.** Nucleotide sequences of BOX<sup>a</sup>, ERIC<sup>b</sup>, REP<sup>c</sup> primers

BOX primer	5'-CTACGGCAAGGCGACGCTGACG-3'
ERIC-1	5'-ATGTAAGCTCCTGGGGATTAC-3'
ERIC-2	5'-AAGTAAGTGACTGGGGTGAGCG-3'
REP-1	5'-IIICGICGICATCIGGC-3'
REP-2	5'-ICGICTTACIGGCCTAC-3'

a: reference 10; b: reference 6; c: reference 4.

바이오니아(Bioneer Co., Korea)에서 합성하여 사용하였으며 각 primer들의 염기배열은 Table 2와 같다. ERIC, REP, BOX primer들에 대한 PCR 증폭은 10 ng의 genomic DNA와 50 pmole의 각 primer, 1.25 mM의 dNTP, 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 1X reaction buffer(10 mM Tris-HCl, pH 9.0, 50 mM KCl), 5 unit of Taq DNA polymerase(Promega Co.)를 혼합하여 총 20  $\mu$ l의 reaction mixture를 0.2 ml PCR tube 에 넣어 수행하였다. PCR 반응은 Versalovic 등(1991)이 서술한 방법대로 수행하였다. ERIC과 BOX PCR의 증폭 조건은 94°C에서 5분간 initial denaturation시키고 94°C에서 1 분간 denaturation, 5°C에서 1분간 annealing, 65°C에서 8분간 extension 과정을 30회 반복시킨 뒤 65°C에서 15 분간 마지막 extension 시켰다. REP PCR에 대한 증폭은 annealing 온도만 58°C로 조정하고 다른 조건은 ERIC과 BOX PCR과 동일하게 수행하였다. 증폭된 PCR 산물은 1.5% agarose gel 에서 전기영동하여 분리하였고 ethidium bromide염색을 통하여 u.v. light에서 band pattern을 분석하였다.

### 집괴 분석

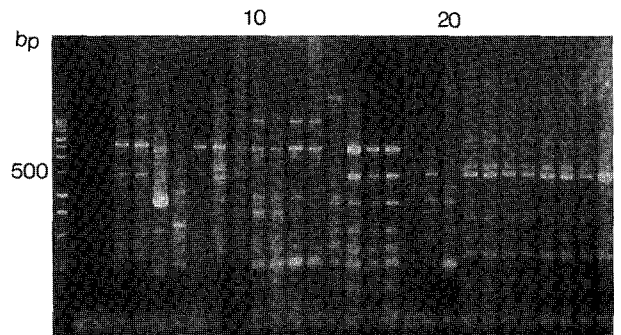
각 균주의 band pattern의 비교는 동일한 크기의 band는 동일 부위의 증폭band로 가정하여 band의 유무에 따라 1과 0으로 구분하여 NTSYS-PC(Ver. 1.7) 프로그램에 입력하여 유사도를 구하고 유사도 값을 근거로 UPGMA(unweighted paired group methods with arithmetic average)법을 이용하여 dendogram을 작성하였다.

### 결과 및 고찰

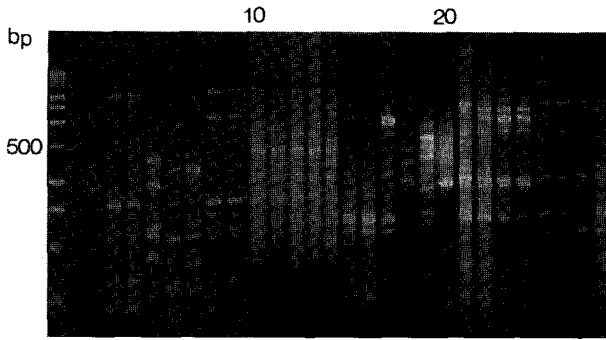
이병 버섯조직으로부터 분리한 균주들에 대하여 병원성 검정 및 white line 형성실험을 수행하여 *P. tolaasii*와 WLRO 세균에 대한 동정을 하였다. 이전 보고에 의하면 *P. tolaasii* 균주들 중에는 계대배양 시 병원성은 유지하나 white line이 형성능력이 소실되는 균주가 관찰되었음을 보고하였으나(김 등, 1995) 본 실험에서 사용된 시료에서는 그러한 균주는 발견하지 못하였으며, *P. tolaasii*로 동정된 모든 균주들은 계대배양 시에도 느타리버섯에서 병원성을 나타내었으며 WLRO와 white line을 형성하였다. White line 형성은 *P. tolaasii*에서 분비하는 tolaasin과 WLRO에서 분비되는 물질이 반응하여 침강되는 현상으로서 병원성은 있으나 white line은 형성하지 않는 *P. tolaasii* 균주에 대하여는 White line 형성 물질이자 동시에 병원성 인자인 tolaasin 물질이 상반되는 현상을 보인다는 점에서 의문점이

제기되며, 이와 같은 현상을 보이는 균주들은 white line 형성 실험의 환경적 조건에 민감하여 white line이 형성이 되지 않았던 것으로 사료된다. WLRO 균주들은 모두 *P. tolaasii* 표준균주인 ATCC 33618과 PAF 배지에서 대치배양 시 white line을 형성하는 균주를 선발하였으며, 예비 실험에서 ASJ018과 ASJ042 균주경우는, 처음에는 white line 형성능력을 보였으나 2개월 후의 동일 실험에서는 white line 형성능력을 소실한 것으로 관찰되어서 다른 균주들과의 유전적 비교분석을 위하여 PCR 실험에 포함시켰다. WLRO 선발균주들의 지방산 분석을 실시한 결과 균주마다 성분의 차이가 있었으나, WLRO는 여러종류의 균주들로 이루어진 복합세균군이기 때문에 본 실험의 지방산 분석으로 균주들의 종으로서의 동정은 어려웠으나 모든 WLRO 균주들은 *Pseudomonas* 속으로 동정되었다(자료 미 제시).

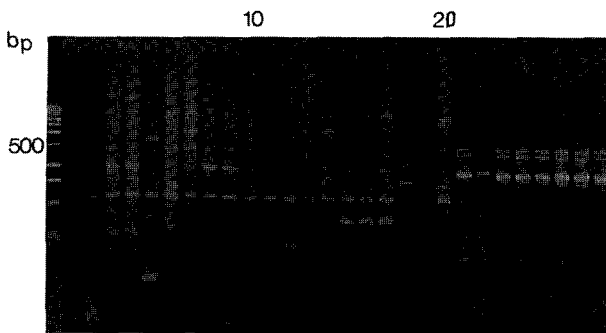
본 실험에서는 여러 종류 세균들의 genomic DNA에 분포하는 것으로 보고되어있는 repetitive DNA 염기서열 즉인 BOX element, ERIC sequence와 REP sequence 부위에 대한 primer들을 이용한 PCR 방법으로 WLRO에 속하는 세균들과 *P. tolaasii* 균주들에 대한 유전적 분류 동정 및 근연 관계를 조사하였다. *P. tolaasii*와 WLRO균주들의 genomic DNA는 BOX, ERIC, REP primer들을 이용한 PCR에서 모두 증폭되었으며 각 primer 종류에 따라 증폭된 band수는 다르게 나타났다. 국내 수집 *P. tolaasii* 균주들과 ATCC 표준균주 33618의 BOX, ERIC, REP PCR의 band pattern 분석에서는 균주들 간에 매우 유사한 유전적 양상을 나타내었다(Figs. 1, 2, 3). Thorn과 Tusenda는(1996) REP-PCR을 통하여 *P. tolaasii* 균주들이 기주버섯들의 종류에 따라 유전적으로 군집화하는 양상을 보여주었으나 본 실험에서는 수집균주 모두가 느타리버섯에서 수집하였으므로, 기주인 버섯 종류에 따른 *P. tolaasii* 균주간의 유전적 변이는 관찰할 수 없었다. WLRO 균주들은 BOX-, ERIC-, REP-PCR 분석에 의하면 여러 group으로 나누어지는 양상을 보여 주었



**Fig. 1.** Amplification products of BOX-PCR of *Pseudomonas* isolates. M. DNA ladder; 1. ASJ013; 2. ASJ017; 3. ASJ018; 4. ASJ042; 5. ASJ046; 6. ASJ061; 7. ASJ072; 8. ASJ077; 9. ASJ083; 10. 14340; 11. ASJ085; 12. ASJ086; 13. ASJ092; 14. ASJ099; 15. ASJ124; 16. ASJ132; 17. ASJ133; 18. ASJ142; 19. ASJ148; 20. ASJ149; 21. ASJ033; 22. ASJ035; 23. ASJ048; 24. ASJ053; 25. ASJ088; 26. ASJ135; 27. ASJ146; 28. 33618.

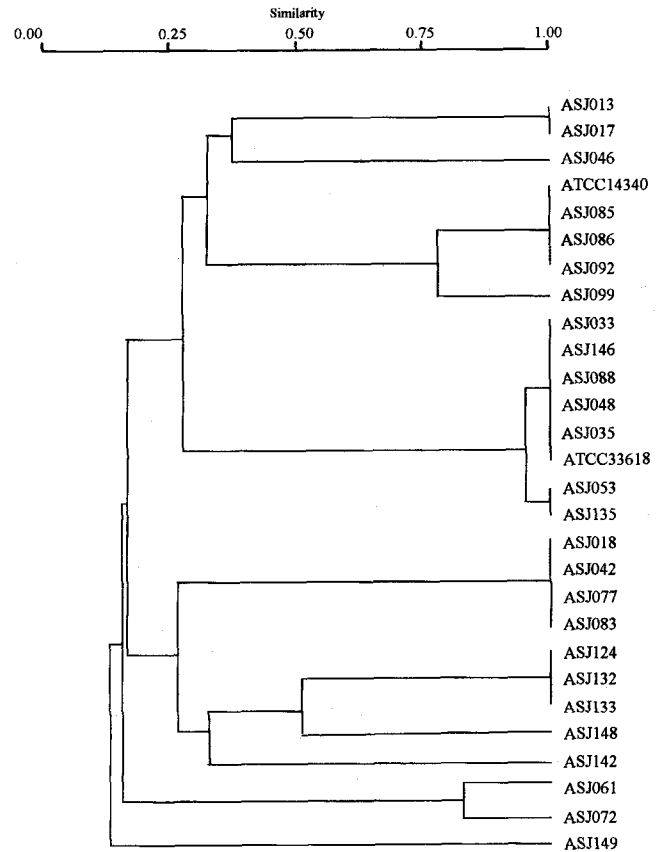


**Fig. 2.** Amplification products of ERIC-PCR of *Pseudomonas* isolates. M. DNA ladder; 1. ASJ013; 2. ASJ017; 3. ASJ018; 4. ASJ042; 5. ASJ046; 6. ASJ061; 7. ASJ072; 8. ASJ077; 9. ASJ083; 10. 14340; 11. ASJ085; 12. ASJ086; 13. ASJ092; 14. ASJ099; 15. ASJ124; 16. ASJ132; 17. ASJ133; 18. ASJ142; 19. ASJ148; 20. ASJ149; 21. ASJ033; 22. ASJ035; 23. ASJ048; 24. ASJ053; 25. ASJ088; 26. ASJ135; 27. ASJ146; 28. 33618.



**Fig. 3.** Amplification products of REP-PCR of *Pseudomonas* isolates. M. DNA ladder; 1. ASJ013; 2. ASJ017; 3. ASJ018; 4. ASJ042; 5. ASJ046; 6. ASJ061; 7. ASJ072; 8. ASJ077; 9. ASJ083; 10. 14340; 11. ASJ085; 12. ASJ086; 13. ASJ092; 14. ASJ099; 15. ASJ124; 16. ASJ132; 17. ASJ133; 18. ASJ142; 19. ASJ148; 20. ASJ149; 21. ASJ033; 22. ASJ035; 23. ASJ048; 24. ASJ053; 25. ASJ088; 26. ASJ135; 27. ASJ146; 28. 33618.

으며(Figs. 2, 3, 4). 각 primer들이 생성하는 band pattern은 동일 group 균주들에 대하여 매우 유사한 양상을 나타내었다. ASJ018, ASJ042, ASJ077과 ASJ083은 BOX-, ERIC-, REP-PCR에서 동일한 band pattern을 나타내었으나 앞서 언급한 바와 같이 ASJ018과 ASJ042는 계대배양 중에 *P. tolaasii*와의 white line 형성능력을 소실하였으므로 본 실험의 결과로는 비록 repetitive sequence primer를 이용한 PCR에서는 동일한 유전적 양상을 보였으나 white line 반응형성능력에 관여하는 유전인자에서 유전적 변이가 있을 것으로 추측된다. 균주 ASJ124, ASJ132 그리고 ASJ133은 동일 group을 형성하였으며, 균주 ASJ085, ASJ086, 그리고 ASJ092는 ATCC14340과 동일 균주 group으로 동정되었다. ASJ013과 ASJ017도 ERIC과 REP-PCR에서 동일한 band pattern을 보였으나 BOX-PCR에서는 증폭이 되지 않았다. ERIC-, BOX-, REP-PCR에서 생성된 모든 band를 사용한



**Fig. 4.** Dendrogram of *Pseudomonas* isolates based on REP, ERIC, BOX-PCR.

집괴분석 결과 국내 수집 WLRO 균주들은 동일한 유전적 특성을 가진 균주들로 이루어진 4개의 group 외에 나머지 균주들은 유전적으로 독립적 양상을 나타내었다(Fig. 4). 이들 균주 group 및 독립균주간의 repetitive DNA element를 분석한 유전적 근연관계는 낮았으며 *P. tolaasii* 균주 group과 WLRO 균주들간의 유전적 근연 관계도 본 실험에서 사용한 repetitive DNA marker에서는 높지 않은 것으로 나타났다. 각 균주군에 대한 band pattern은 각 primer에 따라 매우 유사한 양상을 보였고 이는 각 primer 이용하는 PCR 방법 분석능력의 일괄성을 나타내었으며 한 종류의 primer 사용만으로도 동정 분류가 가능함을 보여주었다. 본 실험 결과 국내수집 *P. tolaasii* 균주들은 유전적으로 매우 유사한 집단으로 구성되었고, WLRO 균주들은 다양한 유전적 특성을 가진 *Pseudomonas* 속 세균들로 구성되어있으며 이는 WLRO가 여러 가지 일반 세균학적 특징을 가진 세균들의 복합 군들로 이루어졌다는 보고와 일치하였다(김 등, 1995).

**요 약**

*Pseudomonas tolaasii*와 WLRO(White line reacting organism)의 국내 수집 균주들에 대하여 REP, ERIC, BOX-PCR 분석을 이용하여 유전적 다양성을 측정하였다. *P. tolaasii* 균주들은 매우 유사하였으나 WLRO 균주들은 상호

간의 큰 차이를 보였다. 유전적 근연관계 분석 결과 WLRO 균주들은 유전적으로 변이가 높은 복합 집단 양상을 나타내었다. *P. tolaasii* 균주들과 WLRO 균주들 사이의 repetitive DNA 부위의 유전적 근연 관계는 적은 것으로 나타났다.

## References

- Christensen, H., Boye, M., Poulsen, L. K. and Rasmussen, O. F. 1994. Analysis of fluorescent *Pseudomonas* based on 23S ribosomal DNA sequences. *Appl. Environ. Microbiol.* **60**: 2196-2199.
- De Bruijn, F. J. 1992. Use of repetitive (repetitive extragenic palindromic and enterobacterial repetitive intergeneric consensus) sequences and the polymerase chain reaction to fingerprinting the genomes of *Rhizobium meliloti* isolates and other soil bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* **58**: 2180-2187.
- Dolzani, L., Tonin, E., Lagatolla, C. and Monti-Bragadin, C. 1994. Typing of *Staphylococcus aureus* by amplification of the 16S-23S rRNA intergenic spacer sequence. *FEMS Microbiol. Lett.* **119**: 167-174.
- Gilson, E., Clement, J. M., Brutlag, D. and Hofnung, M. 1984. A family of dispersed repetitive extragenic palindromic DNA sequences in *E. coli*. *EMBO J.* **3**: 1417-1421.
- Goor, M., Vantomme, R., Swings, J., Gillis, M., Kersters, K. and de Ley, J. 1986. Phenotypic and genotypic diversity of *Pseudomonas tolaasii* and white line reacting organisms isolated from cultivated mushrooms. *J. Gen. Microbiol.* **132**: 2249-2264.
- Hulton, C. S. J., Higgins, C. F. and Sharp, P. M. 1991. ERIC sequences: A novel family of repetitive elements in the genomes of *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* and other enterobacteria. *Mol. Microbiol.* **5**: 825-834.
- Kim, J. W., Kwon, S. I. and Kang, H. J. 1995. Studies on the pathogenic *Pseudomonas* causing bacterial disease of cultivated mushrooms in Korea. 2. Bacteriological characteristics of *P. tolaasii* causing mushroom brown blotch and white line reacting organisms. *Korean J. Plant pathol.* **11**: 353-360.
- Louws, F. J., Fulbright, D. W., Stephen, C. T. and De Bruijn, F. J. 1994. Specific genomic fingerprints of phytopathogenic *Xanthomonas* and *Pseudomonas* pathovars and strains generated with repetitive sequences and PCR. *Appl. Environ. Microbiol.* **60**: 2286-2295.
- Lupski, J. R. and Weinstock, G. M. 1992. Short, interspersed repetitive DNA sequences in prokaryotic genomes. *J. Bacteriol.* **174**: 4525-4529.
- Martin, B., Humbert, Q., Camara, M., Guenzi, E., Walker, J., Mitchell, T., Andrew, P., Prudhomme, M., Alloing, G., Hackenbeck, R., Morrison, D. A., Bounois, G. J. and Claverys, J. P. 1992. A highly conserved repeated DNA element located in the chromosome of *Streptococcus pneumoniae*. *Nucleic Acids Res.* **20**: 3479-3483.
- Thorn, G. and Tsuneda, A. 1996. Molecular genetic characterization of bacterial isolates causing brown blotch on cultivated mushrooms in Japan. *Mycosciences* **37**: 409-416.
- Versalovic, J., Koeuth, T. and Lupski, J. R. 1991. Distribution of repetitive DNA sequences in eubacteria and application to fingerprinting of bacterial genome. *Nucleic Acid Res.* **19**: 6823-6831.
- Well, J. M., Sapers, G. M., Fett, W. F., Butterfield, J. E., Jones, J. B., Bouzar, H. and Miller, F. C. 1996. Postharvest discoloration of the cultivated mushroom *Agaricus bisporus* caused by *Pseudomonas tolaasii*, *P. 'reactants'*, and *P. 'gingeri'*. *Phytopathology* **86**: 1098-1104.
- Wong, W. C. and Preece, T. F. 1979. Identification of *Pseudomonas tolaasii*: the white line in agar and mushroom tissue block rapid pitting tests. *J. Appl. Bacteriol.* **47**: 401-407.