

# 산림토양에서 분리한 섬유소 분해 세균의 동정 및 생리적 특징 분석

김도선 · 김굉규 · 홍선희 · 김동주 · 박경미  
오덕화 · 김정일\* · 안태석

강원대학교 환경학과 · \*강원대학교 통계학과

## Identification of cellulose degrading bacteria from forest soil and their physiological characteristics

KIM, Do-Sun, Kwng-Kyu KIM, Sun-Hee HONG, Dong-Joo KIM, Kyoung-Mi PARK, Duck-Hwa OH, Jung-Il KIM\* and Tae-Seok AHN

Department of Environmental Science, Kangwon National University

\*Department of Statistics, Kangwon National University

### Abstract

One hundred strains of cellulose degrading bacteria was isolated from forest soils. Among these strains, 27 strains belonged to Gram positive bacteria and 73 to Gram negative. Within Gram negative bacteria identified by Biolog plate, 43 strains fit as 30 species of bacteria, while the rest 30 strains was unidentified. Two ice nucleation bacteria, *Pseudomonas syringae* pv *syringae* and *Xanthomonas campestris* pv *vesicatoria* and phytopathogenic bacteria, *Xanthomonas oryzae* pv *Oryzae*, *Agrobacterium tumefaciens* and *Erwinia amylovora* was isolated from various sources. The useful bacterium, *Alcaligenes lactus* which produces poly(3-hydroxy butyrate) (PHB) was isolated. By the statistical analysis of physiological characteristics, the Gram negative bacteria could be classified into 6 clusters, and Mt. Odae and Taegi have high bacterial physiological diversity.

Key words: microbial diversity, physiological diversity, cellulose degrading bacteria,

### 서론

토양은 물리·화학·생물학적 특성이 다른 매우 복잡한 환경이다. 이미 Winogradsky는 토양미

생물을 자생적인(autochthonous)미생물과 기회적인(zymogenous)미생물로 구분하였다(Griffin, 1985). 전자에 속하는 미생물은 토양 내에서 일정한 수와 활성을 유지하고 있고, 후자는 개체

수와 활성의 변종이 매우 크며, 이러한 미생물의 작용으로 토양의 형성과정(microbial weathering process)이 진행된다. 토양미생물은 주위의 식물과 밀접한 관계가 있다. 식물의 떨어진 잎(litter)과 뿌리 등에서 분비한 유기물질은 토양미생물 개체 수와 효소 활성을 증가시키고 물질흡수가 이루어진다. 이 과정에서 산성물질과 알칼리 물질의 생성에 의한 weathering이 진행되어 영양물질이 용출된다. 용출된 영양물질은 다시 식물이 흡수하고, 남은 무기물 등은 caly로 남게되고, 이들은 응집 등 물리·화학적 결합에 의하여 토양이 형성된다. 또 식물이 흡수하지 못한 영양염류는 다른 미생물에 의하여 토양으로 전환된다(Berthelin, 1983). 이 과정에서 토양미생물은 주위의 식물에 따라 그 조성과 활성이 달라진다. 또, 토양미생물은 주위의 물리·화학적 차이에 따라 활성이 변한다. 한 예로 중금속 ion이 토양에 첨가되면 토양미생물군집의 물질 대사능력이 감소하며(Knight et al, 1997), 유기물이 첨가될 때 다른 종류의 유기물 분해능이 떨어지기도 한다(Rasmussen et al, 1988).

그 동안 국내에서 토양 미생물에 대한 연구는 특정 지역에서 토양미생물의 분포, 질소고정 미생물의 분포와 생태에 관한 주제를 다루었고, 80년대 이후 삼림 토양을 대상으로 하는 연구가 많았다. 지금까지의 토양 미생물 조사를 정리하면, 지리산 피아골지역을 시발로 하여 태백산 일대, 민주산 일대, 월출산일대, 죽엽산 지역, 속리산 일대, 지리산 일대, 발왕산 일대, 계방산 일대 등의 제한된 삼림생태계에서 토양환경과 미생물간의 상관관계를 파악하기 위한 연구등이 있으며(안 등, 1995), 토양 미생물의 개체수의 계절적 변화(박 등, 1998a)와 생리활성물질을 탐색하기 위하여 방선균의 분포와 계절적 변화를 파악한 연구도 있다(박 등, 1998b).

이 연구는 강원도 산림에서 섬유소 분해세균

을 분리하여 동정하였다. 또, 분리된 균주들의 생리적 특징을 통계 분석하고 생리적 특징에 따라 지역적 특성을 고찰하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 토양 채취

강원도내의 산림(오대산 등 15곳)에서 토양을 채취한 후 토양의 함수율, pH, 온도를 기록하고, 실험실로 옮겨 2mm 체로 토양을 거른 후, 걸러진 토양 10g을 100ml 멸균 증류수에 넣고 shaking 한 후에 상등액을 준비하였다.

### 2. 섬유소 분해 세균 분리

준비한 상등액을  $10^1$ ,  $10^2$ ,  $10^3$ ,  $10^4$ 로 희석한 후에 배지에 도말하고, 20°C incubator에서 7일간 배양한 후, 콜로니를 다시 순수 배양하였다(Germida, 1993). 배지는 토양 1Kg을 2.5 l 증류수와 섞은 후 멸균한 soil extract에 cellulose와 영양분을 첨가한 배지를 사용하였다.

### 3. 세균의 동정

순수 배양된 세균 100 균주를 Gram 염색을 통하여 음성과 양성을 구분하였다. 멸균된 saline용액에 음성 세균을 optical density 590nm에서 0.08~0.17로 cell 농도를 맞춘 후, 미리 예열(28~35°C)된 Biolog plate에 150 $\mu$ l 씩 접종하였다. 이 plate를 30°C incubator에서 2시간 배양한 후에 반응된 색깔 변화를 관찰하였다. 반응이 왕성한 진한 보라색과, 약한 반응을 보인 연보라색, 그리고 반응을 나타내지 않은 것으로 구분하여 기록지에 표시한 후, 컴퓨터 Biolog의 data base에 입력하여 세균을 동정하였다.

4. 생리적 특징 파악

리하여 생리적 특징으로 삼았다. Biolog plate의 유기물 종류와 구분은 Table 1과 같다.

Biolog plate의 95개 탄소원을 이용하는가를 정

Table 1. The organics for physiological test.

Category	Organic materials
Polymers (5)	$\alpha$ -cyclodextrin, dextrin, glycogen, Tween 40, Tween 80
Carbohydrates (28)	N-acetyl-D-galactosamin, N-acetyl-D-glucosamin, adonitol, L-arabinose, L-arabitol, cellobiose, i-erythritol, D-fructose, L-fucose, D-galactose, gentiobiose, $\alpha$ -D-glucose, m-inositol, $\alpha$ -D-lactose, lactulose, mannitol, D-mannitol, D-mannose, K-melibiose, $\beta$ -methyl D-glucoside, D-psiocese, D-raffinose, L-rhamnose, D-sorbitol, sucrose, D-trehalose, glucuronic, xylitol
Ester(2)	methyl pyruvate, mono-methyl succinate
Carboxylic acid (24)	acetic acid, cis-aconitic acid, citric acid, formic acid, D-galactonic acid lactone, D-galacturonic acid, D-gluconic acid, D-glucosamic acid, D-glucuronic acid, $\alpha$ -hydroxybutyric acid, $\beta$ -hydroxybutyric acid, $\gamma$ -hydroxybutyric acid, p-hydroxy phenylacetic acid, itaconic acid, $\alpha$ -keto butyric acid, $\alpha$ -keto glutaric acid, $\alpha$ -keto valeric acid, D,L-lactic acid, malonic acid, propionic acid, quinic acid, D-saccharic acid, sebacic acid, succinic acid
Brominated chemical (1)	bromo succinic acid
Amides (3)	succinamic acid, glucuronamide, alaninamide
Amino acids (20)	D-alanine, L-alanine, L-alanyl-glycine, L-asparagine, L-aspartic acid, L-glutamic acid, glycyl-L-aspartic acid, glycyl-L-glutamic acid, L-histidine, hydroxy L-proline, L-leucine, L-ornithine, L-phenylalanine, L-proline, L-pyrogutamic acid, D-serine, L-serine, L-threonine, D,L-carnitine, $\gamma$ -aminobutyric acid
Aromatic chemicals (4)	urocanic acid, inosine, uridine, thymidine
Amines (3)	phenyl ethylamine, putrescine, 2-amino ethanol
Alcohols (2)	2,3-butanediol, glycerol
Phosphorylated chemicals (3)	D,L- $\alpha$ -glycerol phosphate, glucose-1-phosphate, glucose-6-phosphate

5. 통계 분석

결과 및 고찰

각 plate에서 탄소원을 이용하는 생리적 특징을 dissimilarity 방법으로 분석하였다.

균주의 분리

강원도 산림 토양에서 다양한 세균들을 분리

하여 콜로니 형태, 색상과 현미경에서 관찰되는 특성을 위주로 총 100개의 균주를 분리하였다 (Table 2). 이 중 삼악산에서 12균주, 태기산에서 32균주, 오대산에서 10균주, 경포 소나무숲에서 7

균주, 진고개에서 11균주, 둔내에서 17균주 등을 분리하였고, 활엽수림에서 53균주, 소나무, 전나무 숲에서 47균주를 분리하였다.

Table 2. Isolated strain numbers from various soil.

Source	Plant	Numbers of isolated strain
Mt. Samak	Pine tree	5
	Broadleaf tree	7
Mt. Samak	Broadleaf tree	25
	Fir tree	7
Jinbu	Pine tree	2
Jeong Seon	Pine tree	6
Mt. Odae	White birch	2
	Fir tree	5
	Bush	3
GyeongPo	Pine tree	7
Mt. Odae(Jingogea)	Broadleaf tree	11
Mt. Taegi	Fir tree	3
Dunae Broadleaf tree	Pine tree	7
	10	

### 균주의 동정

Gram 음성 73균주를 대상으로 Biolog plate를 이용하여 동정한 결과 43균주가 Biolog의 data base와 일치하였으며, 30균주는 일치하지 않았다. 동정이 가능한 43균주는 30종의 세균으로 확인되었으며, 이 중 *Pseudomonas*가 8균주로 가장 많았고, *Xanthomonas*가 3균주 이었다. *Kingless denitrificans*는 둔내와 태기산에서 3균주가 동정되었다(Table 3). 동정된 균주 중 진고개에서 분리된 *Pseudomonas syringe*는 얼음핵 생성세균으로 냉해를 유발하는 세균이다(Lindow et al. 1993). 냉해는 이 균 외에도 *Pseudomonas viridiflava*, *Erwinia herbicola*, *Xanthomonas campestris*에 의해 영하 5°C보다 높은 온도에서 얼음을 생성하는 촉매작용으로 발생한다(Maki et

al. 1974). 정선의 토양에서도 냉해를 유발하는 *Xanthomonas campestris*가 분리된 것도 이 지역의 고랭지 채소의 냉해와 관련지어야 한다. 이 균은 xanthan gum 과 같은 exopolysaccharide(EPS)를 다량 생산 하는 균주로서(Kamoun and Kado, 1990) 향후 산업적 이용이 가능한 균주이다. 또, 경포대 소나무 숲에서 분리, 동정된 *Agrobacterium tumefaciens*는 식물·줄기에 crown gall을 생성하는 세균으로 식물 병리학에서는 매우 중요한 균이다. 이 균은 다양한 식물에게 피해를 주는 것으로 알려져 있으며(Vicedo et al. 1993) 이 crown gall의 방제는 *A. radiobacter* K84를 이용하는 방법이 있다. 이 지역에서는 쌀에 질병을 일으키는 *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae*가 발견되어, 모두 2종의 식물 병원균이 발견되었다.

Table 3. Environmental factors and bacterial species of cellulose degrading bacteria in forest of Kangwon Province.

Site	Moisture content	pH	Temp (°C)	Identification
White birch of Mt. Odae	40	7.0	12.9	<i>Pseudomonas corrugata</i>
The Mid slope of Mt. Odae	40	5~6	11.1	<i>Hydrognophaga felava</i>
	40	5~6	11.1	<i>Capnocytophaga gingivalis</i>
The bottom of Mt. Odae	45	6.9	25.4	<i>Burkholderia solanacerum</i> b
Pine tree of Kyongpode	20	6.8	25.4	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> a
	20	6.8	25.4	<i>Pseudomonas nucidolens</i>
	20	6.8	25.4	<i>Salmonella subspecies</i> 1g
	20	6.8	25.4	<i>Acidovorax facilis</i> b
	20	6.8	25.4	<i>Xanthomonas oryzae</i> pv <i>Oryzae</i> e
Jingogae in Youn gok	52	6.2	22.3	<i>Klebsiella planticola/ornithinolytica</i>
	52	6.2	22.3	<i>Burkholderia solanacerum</i> b
	52	6.2	22.3	<i>Weeksella solanacerum</i> b
	52	6.2	22.3	<i>Pseudomonas syringae</i> pv <i>syringaea</i>
	52	6.2	22.3	<i>Deleya marina</i>
Fir tree Mt. Taegi	35	6.9	21.0	<i>Pseudomonas cichorii</i>
Pine tree of Dunae				<i>Erwinia amylovora</i> a
				<i>Kingella denitrificans</i>
Broadleaf tree of Dunae				<i>Kingella denitrificans</i>
				<i>Hydrognophaga Pseudoflava</i>
				<i>Klebsiella planticola/ornithinolytic</i>
Mt. Damak Pine	35	6.8	8.8	<i>Deleya marina</i>
	50	6.5	6.9	<i>Hydrognophaga felava</i>
	50	6.5	6.9	<i>Alcaligenes latus</i>
Mt. Samak Bradd leaves	35	6.8	8.8	<i>Weeksella zoohelcum</i>
	22	6.8	9.9	<i>Kingella denitrificans</i>
Mt. Taegi	26	6.6	6.6	<i>Alcaligenes latus</i>
	26	6.6	6.6	<i>Kingella kingae</i>
	40	6.6	9.5	<i>photobacterium phosphireum</i>
	40	6.6	9.5	<i>Alcaligenes latus</i>
	50	6.7	7.8	<i>Kingella denitrificans</i>
	50	6.7	7.8	<i>Kingella kingae</i>
	50	6.7	7.8	<i>Xanthomonas oryzae</i> pv <i>Oryzae</i>
Mt. Taegi Fir tree	50	6.5	10	<i>Pseudomonas mucidolens</i>
	50	6.5	10	<i>Xanthomonas oryzae</i> pv <i>Oryzae</i> e
	50	6.5	10	<i>Pseudomonas cichorii</i>
	50	6.5	10	<i>Pseudomonas corrugata</i>
Jinbu	30	6.8	14	<i>Hydrogenophaga pseudoflava</i>
	30	6.8	14	<i>Hydrogenophaga pseudoflava</i>
Jeongsun Pine tree	50	6.9	14.7	<i>Pseudomonas putida</i> type a1
	10	7.0	14.9	<i>Pseudomonas corrugata</i>
	10	7.0	14.9	<i>Xanthomonas campestris</i> pv <i>vesicatoria</i> b
	10	7.0	14.9	<i>Pantoea agglomerans</i>

둔내에서 발견된 *Erwinia amylovora*는 사과, 배 등의 작물에 질병을 일으키는 원인 균이다. Fire blight로 불리는 이 질병은 유럽과 미국 등에서 흔한 질병으로 전파경로는 식물, 과일과 목재의 이동이며, 새들에 의해서도 전파된다(Bereswill et al. 1992). 경포 소나무 숲의 토양과 태기산에서 분리, 동정된 *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*는 쌀에 질병을 일으키는 균으로 이 균들은 인근에 논에서 유래된 것으로 사료된다(Leach et al. 1992).

태기산에서 분리, 동정된 *Alcaligenes lactus*는 poly(3-hydroxy butyrate) (PHB)를 생성하는 유용한 균이다. PHB는 polyhydroxy alkanoate (PHA)의 한 종류로서 비닐과 플라스틱의 대체 물질로 사용이 가능한 물질이다. PHA는 유용한 물질이지만, 생산비가 비싼 단점이 있으며, *A. lactus*는 고생산성과 고농도로 PCB를 생산하는 능력이 있는 좋은 균주이다(Choi et al. 1998). 이 균은 산업적으로 이용이 가능한 균주이다.

### 생리적 특징에 의한 균주의 구분

토양미생물은 분리 배지의 사용 등에 따라 개체수가 상당한 차이가 난다. 따라서, 분리된 균주들의 생리적 특징이 생태학적으로는 더 큰 의미가 있다. 이러한 관점에서 95개의 유기물 이용능력을 이용하여 각 균주들을 clustering하였다. Clustering 결과에서 dissimilarity가 0.3이하, 즉, similarity가 0.7이상을 유사 군집으로 묶었다. 그 결과, 6개의 cluster로 나눌 수 있었다 (Table 4). 이러한 생리적 군집구조를 살펴보면, 태기산은 cluster 1,2,3,6 등 4개의 cluster에 속하는 균주가 분리되어 매우 다양한 세균을 보유한 토양생태계이다. 오대산 지역도 cluster 1,2,3,4 등 다양한 세균이 분리되었다. 반면에 경포 소나무 숲에서는 cluster 4에만 속하는 세균이, 삼악산에서는 cluster 5에만 속하는 세균이 검출되었다.

각 cluster의 특징은 다음과 같다. Cluster 1의 특징은 Carboxylic acid 중 15~19로 70% 이상의 carboxylic acid를 이용한다는 점이다. 또, amino acid도 60% 이상 이용하는 것으로 나타났다. Cluster 2는 polymer 중 4개(80%) 이상 이용하며, carboxylic acid와 amino acid중 많은 화합물을 이용하는 group이다. Cluster 3은 Amide 화합물 이용이 낮으며, 전체적으로 이용 가능한 유기물의 종류가 적은 group이다. Cluster 4는 adonitol 등 carbohydrate 이용률이 70%이상 되는 group이다. 이 group는 carbohydrate외에도 amino acid이용률이 높다. Cluster 5는 polymer 모두를 이용하는 group이며, ester, brom화합물(bromo succinate), Amide, Aromatic 화합물을 전혀 이용하지 못하는 특징을 가지고 있었다. 마지막 Cluster 6은 모두 태기산에서 분리된 균주로서 polymer Tween 40, Tween 80 등 lipid를 이용하는 세균으로 나뉘어져 있다. 이 균주들은 지방과 섬유소를 분해하는 능력이 있는 균주로 향후 이용이 가능하다.

각 지역에 따른 세균의 생리적 다양성은 토양 환경에 기인한다. 한 예로 가장 간단한 glucose의 대사도  $Fe^{2+}$  ion의 농도에 따라 carbonate, acetate, propionic acid, butyrate, lactate, succinate, ethanol 등의 다양한 대사물질이 생성된다(Lovely et al. 1989). 또, hemicellulose는 cellulose의 분해능을 감소시키는 역할을 한다(Rasmussen et al, 1988). 특히 토양은 호수와 바다 등 물과는 달리 군집의 분포가 균일하지 못한 특징이 있고, 뿌리권(Rhizosphere)에는 다른 지역보다 미생물 개체수가 많고 활성도도 높다(Chao and Chang, 1988). 이미 호수에서는 유기물의 종류에 따라 체외 효소능이 조절된다는 결과가 발표되었다(김 등, 1999). 따라서 토양에서도 존재하는 유기물의 종류와 농도에 의하여 토양미생물의 수와 활성이 달라질 것으로 예상되며, 이 부분은 앞으로 더 연구하여야 할 부분이다.

Table 4. The physiological characteristics of isolated strain

( A : polymer, B : Carbohydrate, C : Esters, D : Carboxylic acid, E : Brominated chemical  
 F : Amides, G : Amino acids, H : Aromatic chemicals, I : Amines, J : Alcohols, K : Phosphorylated chemicals)

Group of Carbon Source		A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K
Number of carbon source		5	28	2	24	1	3	20	4	3	2	3
Cluster 1	Mt. Taegi	2	8	2	17	1	1	12	2	1	1	0
	Mt. Taegi	2	9	2	15	1	1	14	3	2	1	1
	Jingogae	2	9	2	19	1	0	16	3	2	2	1
	Dunae	2	8	2	15	1	3	17	3	2	1	0
Cluster 2	Mt. Taegi	5	17	2	17	1	2	19	2	2	1	0
	YounGok	4	12	2	15	1	2	15	2	3	1	0
	Jeong Seon	4	7	2	19	1	3	18	2	2	1	0
	Mt. Odae	4	7	1	18	1	3	15	3	2	1	0
Cluster 3	Mt. Taegi	2	8	0	17	1	0	16	2	3	1	0
	Mt. Odae	2	7	1	13	1	0	12	2	2	1	0
	YounGok	2	6	1	12	1	1	12	2	2	1	0
	YounGok	2	5	2	12	1	0	12	2	2	1	0
	YounGok	2	7	1	12	1	0	12	2	2	1	0
Cluster 4	Jeong Seon	4	20	2	19	1	2	18	3	3	1	3
	GyeongPo	4	27	2	23	1	3	17	3	2	1	1
Dunae	Broadleaf tree		24	2	20	1	3	16	4	2	1	2
	GyeongPo	4	24	2	17	1	1	14	3	2	1	2
	Mt. Odae	4	19	2	16	1	0	16	3	2	1	1
Dunae	Broadleaf tree	3	22	0	16	0	0	13	3	1	1	2
Cluster 5	Mt. Samak	5	20	0	15	0	0	8	0	3	2	0
	Mt. Samak	5	20	0	15	0	0	8	0	3	2	0
Cluster 6	Mt. Taegi	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Mt. Taegi	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Mt. Taegi	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Mt. Taegi	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

적 요

강원도 산림토양에서 섬유소 분해 세균을 활엽수림에서 53균주, 소나무 숲 등에서 47균주 등 모두 100균주 분리하였다. 이 중 Gram 양성균이 27균주, Gram 음성균이 73균주 이었다. Gram음

성세균을 Biolog plate로 동정한 결과 43개 균주는 data base와 일치하여 30종으로 분류되었으며, 나머지 30개 균주는 data base와 일치하지 않았다. 동정된 세균 중에는 냉해를 일으키는 *Pseudomonas syringae* pv *syringae*와 *Xanthomonas campestris* pv *vesicatoriab*가 발견되었다. 또, 식물 병리학에서 중요한 *Xanthomonas oryzae* pv

*Oryzae*와 *Agrobacterium tumefaciens*, *Erwinia amylovora*가 발견되었다. 유용한 세균으로는 비닐 대체물질로 개발이 가능한 poly(3-hydroxybutyrate) (PHB)를 생성하는 *Alcaligenes lactus*가 분리되었다. 분리된 균주들의 생리학적 특징을 토대로 구분한 결과 6개 group으로 나눌 수 있었고, 오대산과 태기산이 세균 군집 다양성이 높은 지역으로 나타났다.

## 사 사

본 연구는 1995년도 한국학술진흥재단 대학부설연구소과제 연구비에 의하여 연구되었음.

## 참고문헌

- 김광규 · 홍선희 · 김동주 · 최승익 · 안태석, 1999. 소양호 용존유기물의 분자량 크기에 따른 세균수와  $\beta$ -Glucosidase 활성도 변화. 미생물학회지, 35:35-40.
- 박동진 · 이상화 · 김창진, 1998. 계절에 따른 토양 중 미생물의 밀도 변화. 미생물학회지, 34:144-148.
- 박동진 · 이상화 · 박상호 · 김창진, 1998. 계절에 따른 토양 방선균의 속 다양성 분포. 미생물학회지, 34:149-153.
- 안연준 · 한명수 · 민병례 · 최영길, 1995. 토양미생물 생태계의 발달지표에 관한 연구. 환경생물학회지, 13:203-213.
- Bereswill, S., A. Pahl, P. Bellemann, W. Zeller, & K. Geider, 1992. Sensitive and Species-Specific detection of *erwinia amylovora* by polymerase chain reaction analysis. Appl. Environ. Microbiol, 58:3522-3526.
- Berthelin, J., 1983. Microbiol weathering process, In Microbiol Geochemistry (Edited by Krumbain), pp. 223-262. Alden, Oxford.
- Chao, W., R. Li, & W. Chang, 1988. Effect of root agglutinin on microbial activities in the rhizosphere. Appl. Environ. Microbiol, 54:1838-1841.
- Choi, J.I., S.Y. Lee, & K.B. Han, 1998. Cloning of the *Alcaligenes latus* polyhydroxyalkanoate biosynthesis genes and use of these genes for enhanced production of poly(3-hydroxybutyrate) in *Escherichia coli*. Appl. Environ. Microbiol, 64:4897-4903.
- Germida, J.J., 1993. Culture methods for soil microorganisms, In Soil Sampling and Methods of Analysis (Edited by Carter), pp. 263-276. Lewis Publishers, London.
- Griffin, D.M., 1985. A comparison of the roles of bacteria and fungi, In Bacterial In Nature (Edited by Leadbetter & Poindexter), pp. 221-255. Plenum, New York and London.
- Kamoun, S. & C. I. Kado, 1990. Phenotypic switching affecting chemotaxis, xanthan production, and virulence in *Xanthomonas campestris*. Appl. Environ. Microbiol, 56:3855-3860.
- Knight, B.P., S. P. Mcgrath, & A. M. Chaudri, 1997. Biomass carbon measurements and substrate utilization patterns of microbial populations from soils amended with cadmium, copper, or zinc. Appl. Environ. Microbiol, 63:39-43.
- Leach, J. E., M. L. Rhoads, C. M. Vera Cruz, F. F. White, T. W. Mew, & H. Leung, 1992. Assessment of genetic diversity and population structure of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* with a repetitive DNA



- element. Appl. Environ. Microbiol, 58:2188-2195.
- Lindow, S.E., G. Andersen, & G.A. Beattie, 1993. Characteristics of insertional mutants of *Pseudomonas syringae* with reduced epiphytic fitness. Appl. Environ. Microbiol, 59:1593-1601.
- Lowley, D.R. & Elizabeth J.P. Phillips, 1989. Requirement for a microbial consortium to completely oxidize glucose in Fe(III)-reducing sediments. Appl. Environ. Microbiol, 55:3234-3236.
- Maki, L.R., E.L. Galyon, M. Chang-Chien & D.R. Caldwell, 1974. Ice nucleation induced by *Pseudomonas syringae*. Appl. Environ. Microbiol, 28:456-460.
- Rasmussen, M.A., R. B. Hespell, B. A. White, & R. J. Rothast, 1988. Inhibitory effects of methylcellulose on cellulose degradation by *Ruminococcus flavefaciens*. Appl. Environ. Microbiol, 54:890-897.
- Vicedo, B.R., Penalver, M.J., Asin & M.M. Lopez, 1993. Biological Control of *Agrobacterium tumefaciens*, Colonization, and pAgK84 Transfer with *Agrobacterium radiobacter* K84 and the Tra-Mutant Strain K1026.. Appl. Environ. Microbiol, 59:309-315