

## 탄소원과 배양온도가 식물 병원세균의 Pectate lyase 생산에 미치는 영향

한광섭<sup>1</sup> · 최재을\*

<sup>1</sup>충청남도 농촌진흥원, 충남대학교 농과대학

## Effect of Carbon Sources and Culture Temperature on Pectate Lyase Production in Phytopathogenic Bacteria

Kwang Seop Han<sup>1</sup> and Jae Eul Choi\*

<sup>1</sup>Chungnam Provincial Rural Development Administration, Taejon 305-313, Korea  
College of Agriculture, Chungnam National University, Taejon 305-764, Korea

**ABSTRACT:** Phytopathogenic bacteria causing soft-rot of many vegetables; extracellular enzymes produced by them, pectate lyase (Pel) is important pathogenicity factors which cause tissue maceration and cell death. Ten of seventeen plant pathogenic bacteria showed weak Pel activity, four of them showed low Pel activity and *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*, *E. chrysanthemi*, *Pseudomonas marginalis* and *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* showed high Pel activity in the polygalacturonate yeast extract agar (PAY) plate. High Pel activity of the four bacteria species produced the highest Pel activity when pectin or polygalacturonic acid (PGA) was added to minimal salts (MS) medium. Pel activity of the four bacterial species was the highest at 20°C among different temperature conditions. The rate and amount of maceration of potato tuber tissue were the highest at 20°C in *E. carotovora* subsp. *carotovora*, *E. chrysanthemi* and *P. marginalis*, while those were the highest at 25°C in *X. campestris* pv. *campestris*.

**Key words:** *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*, *Erwinia chrysanthemi*, *Pseudomonas marginalis*, *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, pectate lyase, maceration.

식물병원세균이 생산하는 pectinase와 cellulase 등은 식물의 무름증상에 관여하는 효소로, 그 중에서도 extracellular pectate lyase(Pel)가 식물조직의 붕괴와 cell death에 관여하는 중요한 병원성 인자이다(2). 식물세포벽은 cellulose, hemicellulose, pectin, lignin 등으로 구성되어 있으며, 식물체의 부위, 나이 등에 따라 성분비율에 차이가 있다. 이중 펙틴질은 세포의 중층(middle lamella), 1차 세포벽의 중요한 구성성분으로서 세포의 유지에 필수적인 역할을 하며, galacturonic acid의 중합체(polymer)로 이루어진 다당류로서 pectic acid, pectin, protopectin 등의 3종류로 나누어진다. pectic acid는 D-galacturonic acid가  $\alpha$ -1,4-galacturonic bond로 연결되어 있으며, pectin은 pectic acid의 carboxyl기의 일부가 methyl-ester화 되어 있고, protopectin은 식물의 조직내에 들어있는 불용성 pectic성분이다(2, 14, 18, 19).

식물 세포벽의 주성분인 펙틴(pectin) 질을 분해하는 효소로는 pectinmethylesterase(PME), polygalacturonase(PG), pectate lyase(Pel), pectin lyase(PNL), oli-

gogalacturonate lyase(OGL)가 있고, 이러한 펙틴 분해 효소(pectic enzyme)는 식물조직의 붕괴를 일으키는 중요한 효소로 알려져 있다(1, 8, 11, 21). 이 중에서 식물에 무름병을 일으키는 병원세균과 가장 밀접한 관계가 있는 효소중의 하나인 Pel은 pectin산의  $\alpha$ -1,4-glucoside 결합을 무작위로 절단하여  $\beta$ -脫離에 의하여 235 nm에서 최대흡광도를 나타내는 4, 5 불포화 oligogalacturonate를 생산한다. 또한 효소반응에는  $Ca^{2+}$ 를 요구하고 Pel 활성 pH 범위는 8.0~10.0의 강한 알칼리성측에 위치하는 것이 다른 pectinase의 성질과 다른 점이다(5, 9).

Lanham 등(10)은 *in vitro*에서 배양온도가 *E. carotovora* subsp. *atroseptica*가 생산하는 Pel 활성에 영향을 미친다고 하였고(15, 16), McGuire와 Kelman(12)은 식물조직의 붕괴 정도는 식물세포벽의  $Ca^{2+}$ 과  $K^{+}$  함량의 영향을 받는다고 하였으며(12, 13, 17), Cooper와 Wood(6)는 탄소원이 *Verticillium albo-atrum*이 생산하는 식물세포벽 붕괴효소의 유도에 미치는 영향에 대해 보고하였다.

본 연구는 주요 식물병원세균의 Pel 생산능력을 검정하고, 채소에 무름병을 일으키는 *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*(Ecc), *E. chrysanthemi*(Ech), *Pseudom-*

\*Corresponding author.

*onas marginalis*(Pm)와 십자화과 채소에 검은빛 썩음병을 일으키는 *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Xcc)에 있어서 배양온도 및 탄소원이 pectate lyase 생산에 미치는 영향과 조직봉괴에 미치는 온도조건을 조사하기 위하여 실시하였다.

## 재료 및 방법

**공시균주 및 배양조건.** 본 실험에 공시한 16균주 중 Ecc와 Ech는 미국의 Missouri 대학, Xcc는 일본의 九州大學에서 분양받아 사용하였고, 그 밖의 균주는 충남대학교 농과대학 농학과에 보관중인 균주를 사용하였다. 균주보존은 15~20% glycerol에 현탁후 -85°C 초저온 냉동고에서 보관하였다. Pel 생산유무는 nutrient broth에서 약 48시간 액체배양한 배양 상징액 10 µl를 여지에 묻혀 polygalacturonic acid yeast-extract agar(PYA) 배지(polygalacturonic acid; 10 g, yeast extract; 10 g, agar; 15 g, phenol red(0.1%); 10 ml, pH 7.2)에 올려놓고 28°C에서 24~48시간 배양한 후, 배지위에 4 N HCl을 부어 colony 주변의 기질분해(clear zone) 유무(Fig. 1)를 조사하였다(2).

**Pel 활성측정.** Pel 활성측정은 Starr 등(18)이 보고한 방법으로 실시하였다. 0.26 ml의 reaction buffer(0.5 M Tris-HCl, pH 8.5, 0.06 M CaCl<sub>2</sub>), 0.24 ml의 polygalacturonate(5.75 mg/ml), 0.1 ml의 세균 배양 상징액을 잘 혼합하여 30°C에서 spectrophotometer로 235 nm에서 흡광도(optical density, O. D.)를 측정하였다. Pel 활

성단위는 1분동안 흡광도를 1.0 증가시키는 효소의 량을 1 unit/ml로 하였다.

**탄소원 첨가가 Pel 활성에 미치는 영향.** 탄소원(Carbon source)은 arabinose 등 16종류(Table 2)를 membrane filter(pore size 0.2 µl)로 여과 멸균한 후 minimal salts(K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>; 7.0 g, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; 2.0 g, MgSO<sub>4</sub> 0.1 g, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.1 g) 액체배지에 0.5%의 농도가 되도록 첨가하여 진탕배양한 후 12,000 rpm에서 5분간 원심분리한 다음 배양 상징액을 취하여 Pel 활성을 측정하였다.

**식물 조직봉괴량 측정.** 감자괴경을 70% 에탄올에 1분, 0.35% NaOCl로 3분간 표면소독하고 멸균수로 3회 세척후 micropipette용 tip으로 감자괴경 표면에 구멍을 내어 nutrient broth에서 약48시간 배양한(28°C) 병원세균 현탁액을 10 µl씩 접종하여 wasserin으로 구멍을 막고 비닐랩으로 덮어 습실처리 하여 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35°C 배양기에 각각 배양하여 24시간 간격으로 봉괴된 괴경조직의 평균 무게를 측정하였고, 3반복 실시하였다.

## 결 과

**식물 병원세균의 Pel 활성검정.** PYA 배지상에서 Pel 생산유무를 확인한 결과, 16균주 중에서 Ecc, Ech, Pm와 Xcc는 직경 3 mm 이상의 clear zone을 형성하여 높은 Pel 활성을 나타냈고, *P. viridiflava*, *P. fragi*, *P. syringae* pv. *coronafaciens*는 직경 1~3 mm로 낮은 Pel 활성을 나타냈으며, *E. rhapontici*를 포함한 나머지 9균주는 직경 1 mm 이하로 Pel 활성이 아주 미약하거나 활성이 전혀 없었다(Table 1).

**탄소원이 Pel 활성에 미치는 영향.** Ecc는 16종류의 탄소원 중 pectin에서 1.8 unit/ml, PGA에서는 1.7 unit/ml의 Pel 활성을 나타냈으나, D-raffinose에서는 0.3 unit/

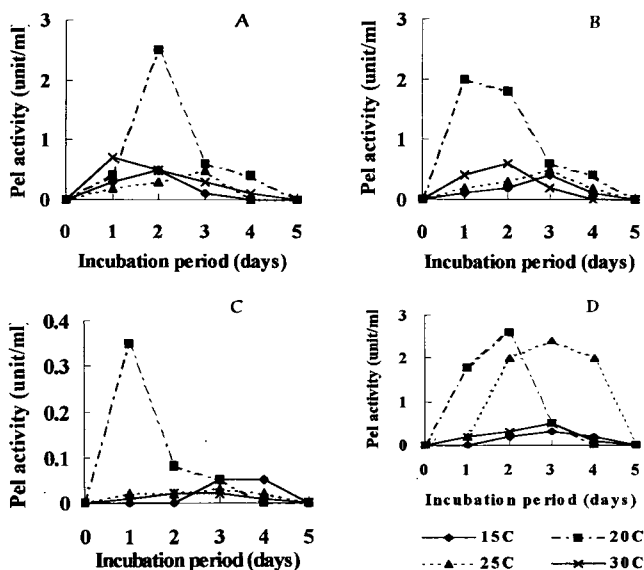


Fig. 1. Effect of temperature on pectate lyase formation by *E. carotovora* subsp. *carotovora* (A), *E. chrysanthemi* (B), *P. marginalis* (C) and *X. campestris* pv. *campestris* in minimal salts medium added polygalacturonic acid (0.5%).

Table 1. Comparison of size of clear zone formed by phytopathogenic bacteria on PYA plate<sup>a</sup>

Clear zone (mm) <sup>b</sup>		
(>3.0)	(1.0~3.0)	(<1.0)
<i>E. c. subsp. carotovora</i>	<i>P. viridiflava</i>	<i>E. rhapontici</i>
<i>E. chrysanthemi</i>	<i>P. fragi</i>	<i>A. avenae</i>
<i>P. marginalis</i>	<i>P. s. pv. coronafaciens</i>	<i>B. glumae</i>
<i>X. c. pv. campestris</i>		<i>R. solanacearum</i>
		<i>P. s. pv. glycinea</i>
		<i>P. s. pv. tabaci</i>
		<i>B. cepacia</i>
		<i>B. gladioli</i>
		<i>X. a. pv. vesicatoria</i>

<sup>a</sup> Pel activity of tested bacteria was assayed in a PYA medium containing 0.5% of PGA.

<sup>b</sup> Pel activity was quantified by diameter of clear zone on PYA medium.

ml, 그밖의 탄소원에서는 0.1 unit/ml 이하로 Pel 활성이 거의 없었다(Table 2). Ech는 pectin에서 1.4 unit/ml, PGA에서 1.5 unit/ml의 Pel 활성을 나타냈고, D-raffinose에서는 0.4 unit/ml의 약한 Pel 활성을 보였다(Table 2). Pm는 pectin과 PGA에서 1.3 unit/ml, D-raffinose, glycerol, sucrose와 glucose에서 약한 Pel 활성을 보였으며, Xcc는 pectin에서 1.4 unit/ml, PGA에서 1.0 unit/ml, mannitol에서 1.6 unit/ml, cellobiose에서 0.9 unit/ml의 비교적 높은 Pel 활성을 나타냈으며, D-mannose, D-raffinose, glycerol, L-rhamnose, cellobiose와 glucose에서는 약한 Pel 활성을 나타냈다(Table 2).

**배양온도와 Pel 활성.** Ecc는 20°C에서 2일간 배양하였을 때의 Pel 활성은 2.5 unit/ml로 매우 높았고, 3일간 배양하였을 때에는 0.6 unit/ml로 Pel 활성이 급격히 저하되었으며, 5일간 배양하였을 때에는 Pel 활성이 전혀 없었다. 또한 20°C 보다 높거나 낮은 온도범위에서는 1.0 unit/ml 이하의 낮은 Pel 활성을 보였고, 배양시간에 따른 Pel 활성은 배양온도에 따라 약간의 차이를 나타냈다(Fig. 1A). Ech는 20°C에서 1일간 배양하였을 때 2.0 unit/ml로 비교적 높은 Pel 활성을 보였으며, 배양 2일째에는 1.8 unit/ml, 3일째에는 0.6 unit/ml로 Pel 활성이 급격히 낮아졌다. 20°C 보다 높거나 낮은 온도조건에서는 0.6 unit/ml 이하의 낮은 Pel 활성을 나타냈다(Fig. 1B). Pm는 20°C에서 1일간 배양하였을 때 0.35 unit/ml의 Pel 활성을 나타냈고, 배양 2일째에는 0.08 unit/ml, 배양 3일째에는 0.05 unit/ml로 Pel 활성이 떨어지다가 배양 4일째에는 Pel 활성이 전혀 나타나지 않았다. 또한 20°C 보다 높거나 낮은 온도조건에서 배양하였을

**Table 2.** Effects of carbon source on pectate lyase production in phytopathogenic bacteria

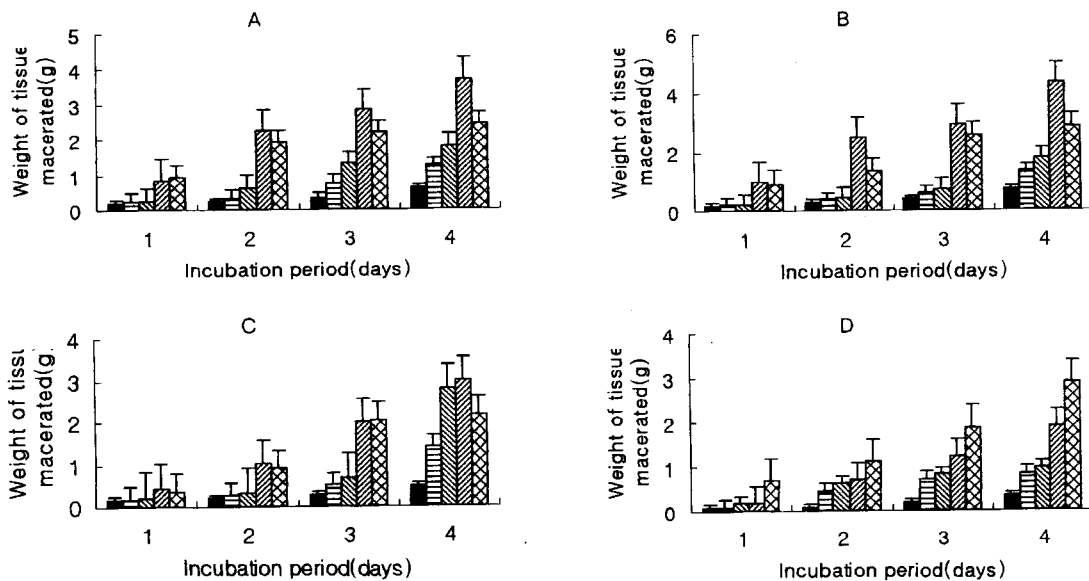
Carbon sources <sup>a</sup>	Pel activity (unit/ml)			
	Ecc	Ech	Pm	Xcc <sup>b</sup>
Arabinose	0 <sup>c</sup>	0	0	0
D-Mannose	0.1	0	0.1	0.3
Lactose	0.1	0	0	0
Pectin	1.8	1.4	1.3	1.4
PGA	1.7	1.5	1.3	1.0
D-Melobiose	0.1	0	0.1	0
D-Tartrate	0.1	0	0	0
D-Raffinose	0.3	0.4	0.3	0.5
Mannitol	0.1	0	0	1.6
D-Maltose	0	0	0.1	0.1
Glycerol	0.1	0	0.2	0.3
L-Rhamnose	0	0	0.1	0.2
Cellobiose	0	0	0.1	0.9
Sucrose	0	0.1	0.3	0
α-Methyl glucoside	0	0.1	0.1	0
Glucose	0	0	0.2	0.3

<sup>a</sup>Bacteria were grown in minimal salts medium supplemented with 5% of each carbon source (0.5%) by shaking culture at 25°C for 2 days.

<sup>b</sup>Ecc: *E. carotovora* subsp. *carotovora*, Ech: *E. chrysanthemi*, Pm: *P. marginalis*, Xcc: *X. campestris* pv. *campestris*.

<sup>c</sup>One unit of activity is defined as the amount of enzyme which increases of 1.0 absorbance at 30°C per minute.

때에는 0.1 unit/ml로 낮은 Pel 활성을 나타냈다(Fig. 1C). Xcc는 20°C에서 2일간 배양하였을 때 2.6 unit/ml, 25°C에서 3일간 배양하였을 때에는 2.4 unit/ml로 비교적 높은 Pel 활성을 나타냈으며, 20~25°C 보다 높거나 낮은 온도조건에서는 0.5 unit/ml 이하의 낮은 Pel 활성



**Fig. 2.** Temporal development of potato tuber maceration by *E. carotovora* subsp. *carotovora* (A), *E. chrysanthemi* (B), *P. marginalis* (C) and *X. campestris* pv. *campestris* (D) at different temperature (■ 5°C, ≡ 10°C, ▨ 15°C, ▩ 20°C, ▮ 25°C).

을 나타냈다(Fig. 1D).

감자괴경 조직붕괴(tissue maceration)에 미치는 온도의 영향. Ecc는 20°C에서 접종후 4일째에는 약 3.8 g의 감자괴경 조직을 붕괴시켰고, 접종후 1일 이후부터 조직 붕괴량이 급격히 증가하였으며, 25°C에서는 접종후 4일째 약 2.6 g의 감자괴경 조직을 붕괴시켰고, 접종후 3일째까지는 조직붕괴량이 거의 직선적으로 증가하였다. 그러나 5°C, 10°C, 15°C에서의 감자조직 붕괴량은 1~2일까지의 조직붕괴 증가량은 미약하였으나 3~4일에서는 많은 량의 조직을 붕괴시켰다(Fig. 2A).

Ech는 20°C에서 접종후 4일째 감자괴경 조직의 붕괴량은 약 4.4 g, 25°C에서는 접종후 4일째 약 2.8 g으로 Ecc보다 조직붕괴량이 많았고, 저온에서도 Ecc보다 조직 붕괴량이 많았으나, 경향은 유사하게 나타났다(Fig. 2B).

Pm는 20°C에서 접종후 4일째 약 3.0 g의 감자괴경을 붕괴시켰고, 25°C에서는 접종후 4일째 약 2.2 g의 조직을 붕괴시켜 Ecc와 Ech보다는 감자괴경 조직의 붕괴력이 약한 것으로 나타났다(Fig. 2C).

Xcc는 25°C에서 접종후 4일째 감자괴경 조직의 붕괴량은 약 2.0 g 이었고, 25°C에서 접종후 4일째의 조직붕괴량은 약 2.9 g으로 나타났다(Fig. 2D).

## 고 찰

식물에 무름(soft rot) 증상을 일으키는 식물병원세균이 생산하는 효소에 대한 연구(2, 4, 8, 10, 12, 15, 20, 21)는 활발히 수행되어 왔으며, 그중에서도 특히 무름병의 발병과 밀접한 관계가 있는 Pel에 대한 연구가 다른 효소에 비하여 많은 연구가 수행되어 왔다.

본 연구에서는 16균주의 식물병원세균에 대한 Pel 활성을 검정한 결과 Ecc, Ech, Pm와 Xcc 4균주만이 Pel 활성이 높은 것으로 나타났으며, Xcc를 제외하고는 채소의 무름병을 일으키는 식물병원세균으로 Pel의 활성과 식물조직 붕괴와는 밀접한 관계가 있다는 것을 의미한다.

탄소원이 Pel 활성에 미치는 영향에서는 본 실험에 사용한 모든 균주가 pectin과 PGA를 첨가한 배지에서 Pel 활성이 매우 높게 나타났는데, 이는 Collmer와 Bateman(4), Gijsegem(7), Tsuyumu와 Chatterjee 등(20)이 보고한 결과와 일치하며, Chatterjee 등(3)은 기본배지에 PGA를 첨가하여 *E. carotovora*를 배양하였을 때에는 Pel 활성이 매우 높았고, glucose를 첨가하여 배양하였을 때에는 Pel 활성이 매우 감소한다고 하였으며, glucose 첨가시 효소활성이 떨어지는 것은 균의 증식에 제한을 받아 효소합성이 억제되기 때문이라고 하였고, 식물세포벽의 구성요소인 pectin과 PGA의 첨가가 Pel 활성을 증가 시키는 것은 이들이 Pel 유도 및 생산에 중요한 기질(substrates)로서의 기능을 하기 때문인 것으로

생각된다.

배양온도와 Pel 활성은 4균주 모두 20~25°C에서 배양하였을 때가 30°C에서 배양하였을 때보다 Pel 활성이 높은 것으로 나타났는데, 이는 고온에서 이러한 효소의 활성이 억제되기 때문인 것으로 생각된다.

감자괴경 조직붕괴와 온도와의 관계에서는 20°C에서 가장 붕괴력이 강하였으며, 이보다 높거나 낮은 온도에서는 붕괴력이 감소하였다. 이는 Pel 활성이 20°C에서 가장 높은 것보다도 잘 일치하였다. 또한 4균주 모두 저온(5°C)에서도 조직붕괴가 일부 일어나는 것으로 보아 수확전에 이러한 병원균에 감염된 채소를 저온저장 하면 저장중에는 물론 수송중에도 무름병에 의한 피해가 클 것으로 생각된다.

## 요 약

16종의 식물 병원세균의 Pel 활성을 측정된 결과 식물에 무름병을 일으키는 *E. carotovora* subsp. *carotovora*, *E. chrysanthemi*, *P. marginalis*와 십자화과 채소에 검은 빛 썩음병을 일으키는 *X. campestris* pv. *campestris* 4균주가 모두 높은 Pel 활성을 나타냈고, MS배지에 16종류의 탄소원을 각각 첨가하여 배양한 후 배양여액의 Pel 활성을 측정된 결과 pectin 또는 PGA를 각각 첨가하였을 때 4균주 모두 가장 높은 Pel 활성을 나타냈으며, Pel 활성은 균주 및 탄소원의 종류에 따라 차이가 있었다. Ecc, Ech, Pm 및 Xcc의 Pel 활성은 20°C에서 배양하였을 때 가장 높은 활성을 나타냈고, 이보다 높거나 낮은 온도에서는 Pel 활성이 감소하였다. Ecc, Ech와 Pm는 20°C에서 감자괴경 조직의 붕괴속도가 가장 빨랐고, 조직붕괴량도 많은 반면, Xcc는 25°C에서 감자괴경 조직의 붕괴속도가 빠르고 조직붕괴량도 많았다.

## 참고문헌

1. Andro, T., Chambost, J. P., Kotoujanski, A., Cattaneo, J., Berthe, T. Barras, F., Gijsegem, F. and Coleno, A. 1984. Mutants of *Erwinia chrysanthemi* defective in secretion of pectinase. *J. Bacteriol.* 160: 1199-1203.
2. Bateman, D. F. and Millar, R. L. 1966. Pectic enzymes in tissue degradation. *Annu. Rev. Phytopathol.* 4: 119-146.
3. Chatterjee, A. K., Buchaman, G. E., Behrens, M. K. and Starr, M. P. 1979. Synthesis and excretion of polygalacturonic acid transeliminase in *Erwinia*, *Yaersinia*, and *Klebsiella*, species. *Can. J. Microbiol.* 25: 94-102.
4. Collmer, A., Whalen, C. H., Beer, S. V. and Bateman, D. F. 1982. An exo-poly- $\alpha$ -D-galacturonosidase implicated in the regulation of extracellular pectate lyase production in *E. chrysanthemi*. *J. Bacteriol.* 149(2): 626-634.
5. Collmer, A. and Keen, N. T. 1986. The rate of pectic enzymes in plant pathogenesis. *Ann. Rev. Phytopathol.* 24:

- 383-409.
6. Cooper, R. M. and Wood, R. K. S. 1973. Induction of synthesis of extracellular cell wall degrading enzymes in vascular wilt fungi. *Nature* 246: 309-311.
  7. Gijsegem, F. 1986. Analysis of the pectin-degrading enzymes secreted by three strains of *Erwinia chrysanthemi*. *J. Gen. Microbiol.* 132: 617-724.
  8. Hinton, J. C. D., Sidebotham, J. M., Gill, D. R. and Salmond, G. P. C. 1989. Extracellular and periplasmic isoenzymes of pectate lyase from *Erwinia carotovora* subspecies *carotovora* belong to different gene families. *Mol. Microbiol.* 3: 1785-1795.
  9. Kotoujansky, A. 1987. Molecular genetics of pathogenesis by soft-rot *Erwinias*. *Ann. Rev. Phytopathol.* 25: 405-430.
  10. Lanham, P. G., McIlarvey, K. I. and Perombelon, M. C. M. 1991. Production of cell wall dissolving enzymes by *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* *in vitro* at 27°C and 30.5°C. *J. Appl. Bacteriol.* 25: 405-430.
  11. Lei, S. P., Lin, H. C., Heffernan, L. and Wilcox, G. 1985. Evidence that polygalacturonase is a virulence determinant in *Erwinia carotovora*. *J. Bacteriol.* 164(2): 831-835.
  12. McGuire, R. G. and Kelman, A. 1986. Reduced severity of *Erwinia* soft rot in potato tubers with increased calcium content. *Phytopathol.* 74: 1250-1256.
  13. McGuire, R. G. and Kelman, A. 1986. Calcium in potato tuber cell walls in relation to tissue maceration by *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*. *Physiol. Biochem.* 76: 401-406.
  14. McNeil, M., Darvill, A. G., Fry, S. C. and Albersheim, P. 1984. Structure and function of the primary cell walls of plants. *Annu. Rev. Biochem.* 53: 625-663.
  15. Perombelon, M. C. M. and Lowe, R. 1980. Pectic enzymes production by *Erwinia carotovora*. *Ann. Report Scottish Horticultural Research Institute.* 1979. pp.74-75. Dundee, UK.
  16. Rhue, R. D., Hensel, D. R. and Kidder, G. 1986. Effect of fertilization on yield and leaf nutrient concentrations of potatoes grown on a sandy soil. *Am. Potato. J.* 63: 665-681.
  17. Sakai, T. 1992. Degradation of pectins. In: *Microbial Degradation of Natural Products*, ed. by G. Winkelmann, pp. 57-81. VCH. Verlagsgesellschaft, Weinheim.
  18. Starr, M. P., Chatterjee, A. K., Starr, P. B. and Buchanan, G. E. 1997. Enzymatic degradation of polygalacturonic acid by *Yersinia* and *Klebsiella* species in relation to clinical laboratory procedures. *J. Clin. Microbiol.* 6: 379-396.
  19. Tamaki, S. J., Gold, S., Robeson, M., Manulis, S. and Keen, N. T. 1988. Structure and organization of *pel* genes from *Erwinia chrysanthemi* EC 16. *J. Bacteriol.* 170: 3468-3478.
  20. Tsuyumu, S. and Chatterjee, A. K. 1984. Pectin lyase production in *Erwinia chrysanthemi* and other soft-rot *Erwinia* species. *Physiol. Pl. Pathol.* 24: 291-301.
  21. Zuker, M. and Hankin, L. 1970. Regulation of pectate lyase synthesis in *Pseudomonas fluorescens* and *Erwinia carotovora*. *J. Bacteriol.* 104(1): 13-18.

(Received March 9, 1998)