

## 호수 생태계의 생화학적 분석

최승익\* · 안태석<sup>1</sup>

서남대학교 환경보건학과, <sup>1</sup>강원대학교 환경학과 및 서울대학교 분자미생물연구센터

수체 내에서는 식물플랑크톤이 증식하면서 공기 중의 무기물인 이산화탄소를 광합성을 통해 고정하여 용존, 입자상 물질로 전환시킨다. 이때 생성되는 유기물은 그 성질에 따라 섬유소(cellulose), hemi-cellulose, 용존물질로서 단백질, 핵산 등과 지방산, 지방 및 wax 성분과 lignin 등으로 나눌 수 있다. 호수와 같이 정체된 수역에서 대부분의 유기물은 주로 식물플랑크톤에 의한 일차생산에 의해 생성되는 자가생성(autochthonous) 물질이며, 식물플랑크톤의 세포벽 구성 물질인 섬유소로 되어 있다. 소양호의 경우 80% 이상이 이러한 유기물질로 구성되어 있으며(8), 호수에서는 유기물질의 95% 이상이 polymeric, 고분자 물질로 구성되어 있다(12). 이러한 물질은 입자상 상태에서 미생물이 바로 이용하지 못하고 주로 세균에 의해 분해되는 체외효소(extracellular enzyme)에 의하여 분해된다. 고분자 물질 분해는 초기에 미생물이 부착한 상태에서 분해가 시작되고(9), 이때에 생성된 oligomer는 미생물의 작용을 더 받아 세균의 세포막을 통과할 만한 크기로 분해되어 수중 생태계에서 이용 가능한 유기물(utilizable dissolved organic matter: UDOM) pool을 거쳐 세균에 흡수, 동화되고, 그 이후 microbial loop를 거쳐 상위 먹이 연쇄과정으로 전달된다. 이 과정에서 세포막을 통과하는 것은 monomer level이며, 따라서 이들 물질을 생성하는 cellobiohydrolase,  $\beta$ -glucosidase 등의 체외효소들은 호수 생태계에서 중요한 위치를 차지하고 있다(3). 세포막을 통과할 수 있는 UDOM의 pool은 수체 내에서 그 양이 매우 작아 성장을 제한하는 물질이 될 수 있다(7). 자연상태에서 UDOM은 낮은 농도이지만, 대부분의 수중 미생물들은 높은 생체량과 생산량을 가지고 있다. 이러한 높은 성장률은 미생물들이 polymeric DOM을 효율적으로 분해하고 있음을 의미한다. 즉 미생물이 수중에서 유기물을 섭취하려면 polymer를 step-wise depolymerization 과정을 거쳐 흡수, 이용하여야 한다. 이때 polymer 분해과정은 유기물 순환과정의 rate-limiting step이 된다(5). 최근에 형광물질을 기질(standard substrate)로 사용하여 체외 효소 활성(exoenzyme activity)을 측정하는 방법이 개발되어 많은 연구가 이루어졌다(3, 6, 10). 이러한 측정방법으로 개체수준에서 일어나는 효소의 유도, 억제와 생성제어 등의 기작이 수중 생태계에서도 파악될 수 있게 되었다.

여기에서는 호수생태계에서 일어나는 변화 중  $\beta$ -glucosidase 활성도를 중심으로 생화학적인 분석과정을 통하여 유기물질의 분해, 생성, 소비 등에 대한 과정을 설명하고자

한다.  $\beta$ -Glucosidase 효소는 비교적 기질특이성이 넓고, glucose, cellobiose, carboxy-methylcellulose 등의  $\beta$  고리를 가수분해시켜 monomer로 분해시키는 효소로서 수환경에서는 매우 중요하다. 즉 cellobiohydrolase에 의해 분해된 oligomer나 dimer를 세균의 세포막을 통과할 수 있는 크기로 분해시키는 효소이고, 이 효소의 분해 산물인 포도당은 세균에 의하여 바로 이용되고, catabolite inhibitor로 작용하므로, 이 효소 활성도의 높고 낮음은 수중생태계에서 탄소의 흐름과 세균 군집의 성장을 이해하는데 매우 중요하다(3).

### 소양호 지류에서 $\beta$ -Glucosidase 활성도의 일변화

1993년 4월, 6월, 8월에 걸쳐 소양호 지류에서  $\beta$ -glucosidase 활성도를 측정하였다. Diatom이 우점하는 4월에  $\beta$ -glucosidase의  $V_{max}$ 는 4.5-53.0 nmol l<sup>-1</sup> hr<sup>-1</sup> 범위로서 06:00에 가장 낮은 값을 보였으며, 익일 06:00에 가장 높은 값을 보였다(Fig. 1) 하루 동안에도 수온의 변화가 7°C 내외로 큰 변화가 없음에도 불구하고  $V_{max}$ 는 약 10배의 활성도 차이를 보이며 Kt+Sn의 값도 낮동안에 높아지는 현상을 보여 식물플랑크톤이 광합성을 왕성하게 하는 낮동안에 다양한 종류의 기질이 생성됨을 알 수 있었다. 또한 수환경내 기질의 양과 종류가 빠르게 변화하고 있고 다양한 대사 경로를 가지고 있는 세균은 기질의 양과 질의 변화에 빠르게 적응하고 있는 것으로 판단된다. 6월과 8월 조사에서는 각각 15.9-144.4 nmol l<sup>-1</sup> hr<sup>-1</sup>, 2.8-21.6 nmol l<sup>-1</sup> hr<sup>-1</sup>의 범위였다. 6월 조사에서는 4월보다 전체적으로 활성도가 높아졌으며, 실험 초기인 06:00와 다음날 10:00에 측정된 값을 제외하고는 약 40 nmol l<sup>-1</sup> hr<sup>-1</sup> 내외로 큰 변화가 없었으며(Fig. 2), 8월에는 20 nmol l<sup>-1</sup> hr<sup>-1</sup> 내외의 값으로 6월보다는 활성도가 낮아졌고, 하루중 큰 변화가 없었다(Fig. 3). 전체적으로 6월에 비교적 높은  $V_{max}$  값을 보였으며, 여름철인 8월에 다른 조사시기보다 낮은 값을 보였다. 기질의 친화력을 나타내는 Kt+Sn의 값을 보면 4월, 6월, 8월에 각각 13.4-217.3  $\mu$ mol l<sup>-1</sup>, 15.1-545.6  $\mu$ mol l<sup>-1</sup>, 81.0-306.6  $\mu$ mol l<sup>-1</sup>의 범위를 보였다(Fig. 1-3).

이 시기에 분해산물인 glucose의 흡수율(glucose uptake rate)을 보면 4월, 6월, 8월에 각각 0.01-0.03  $\mu$ g l<sup>-1</sup> hr<sup>-1</sup>, 0.01-0.21  $\mu$ g l<sup>-1</sup> hr<sup>-1</sup>, 0.06-0.22  $\mu$ g l<sup>-1</sup> hr<sup>-1</sup>의 범위로서 4월보다 6월과 8월에 높은 흡수율을 보였다(1). 8월에 glucose의 흡수율이 높고, 수온이 높음에도 불구하고  $\beta$ -glucosidase 활성도가 낮

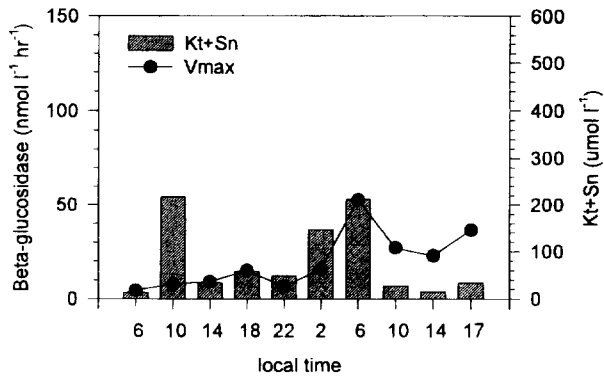


Fig. 1. The diurnal variations of  $\beta$ -glucosidase activity at Sangkuli of Lake Soyang from 17 April to 18 April, 1993.

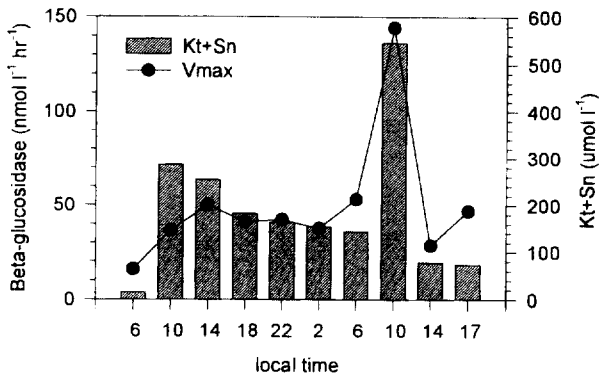


Fig. 2. The diurnal variations of  $\beta$ -glucosidase activity at Sangkuli of Lake Soyang from 31 May to 1 June, 1993.

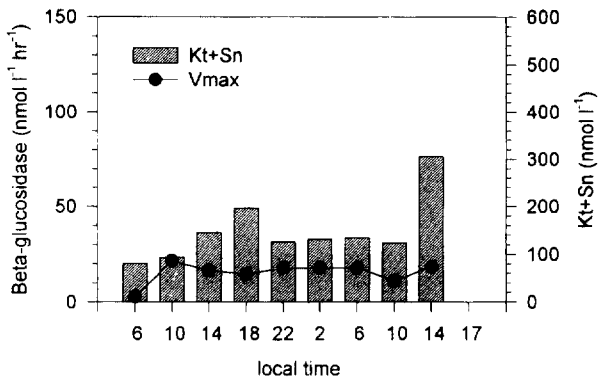


Fig. 3. The diurnal variations of  $\beta$ -glucosidase activity at Sangkuli of Lake Soyang from 28 August to 29 August, 1993.

게 나타난 것은 다음과 같이 설명할 수 있다.

소양호와 같은 대형 인공호에서 유기물은 식물플랑크톤에서 유래된다. 식물플랑크톤이 성장하면서 세포 안과 밖의 유기물 농도 차이로 인한 수동 확산(passive diffusion)으로 유기물이 유출되는데, 이 유출유기물을 EOC(excreted organic carbon)라 하고, 주로 당당류, 아미노산, 유기산 등의 저분자 유기물로 구성되어 있다. 또, 식물플랑크톤이 노쇠하면서, 고분자물질(high molecular weight; HMW)의 유기물이 유출되며, phage 등의 기생과 동물플랑크톤의 'sloppy fe-

eding'도 HMW 유기물을 체외로 유출시킨다(12). 따라서 수중의 algae가 증가하게 되면 algae의 체외 배출물(exudate)이 수체로 용출되고 이러한 배출물은 세균이 바로 이용할 수 있는 유기물(UDOM)이므로 glucosidase 활성도가 낮아질 수 있다. 본 조사에서도 엽록소 a의 농도가 봄철보다 하절기에 약 10배 높게 나타났고, 일차생산에 의한 배출이 4월, 6월, 8월에 각각 0.1-0.6  $\mu\text{gCl}^{-1}\text{hr}^{-1}$ , 1.7-3.0  $\mu\text{gCl}^{-1}\text{hr}^{-1}$ , 51.7-142.7  $\mu\text{gCl}^{-1}\text{hr}^{-1}$ 의 범위로서 하절기로 갈수록 그 값이 증가하였으며, 8월 배출물은 4월보다 200-500배 증가하였다(1). 즉, 하절기에는 식물플랑크톤이 성장하면서 체외로 분비하는 LMW유기물에 의하여 glucose uptake는 높아지나, 이 물질이  $\beta$ -glucosidase 활성을 억제하는 것으로 나타났다.

따라서 식물플랑크톤의 광합성과 세균군집의 활성이 활발하고, *Peridinium*이 우점하는 6월에는 수층내 유기탄소량의 변화가 효소 활성도 등 세균군집의 활성에 의하여 영향받고 있음을 알 수 있으며, 식물 플랑크톤 배출물의 높은 이용도(평균 41%)도 이와 부합되어 (1) 6월에는 식물플랑크톤의 일차생산과 체외 배출물의 세균군집에 의한 이용이 밀접하게 연결되어 있음을 알 수 있었다. 그러나, *Anabaena*가 우점하는 8월에는 수층내 유기물의 양이 풍부하여 식물플랑크톤과 체외 배출물의 이용이 헐겁게 연결되어 있음을 알 수 있었다.

### 인공기질에서 $\beta$ -Glucosidase 활성도의 수심별 변화

소양호에서 cellulose film을 기질로 주고 30-50일간 수심별로 노출시킨 후에 여기에 붙은 세균수와  $\beta$ -glucosidase 활성도를 구하였다. 수중생태계에서  $\beta$ -glucosidase 활성의 95% 이상이 세균에 의한다는 보고(5)에 따라 cellulose film에서 나타난  $\beta$ -glucosidase도 대부분 세균에 의한 것으로 유추할 수 있다.

1차 조사(노출기간 1993. 9. 1-10. 10)에서는 2 m 수심에서 613  $\text{fmol cell}^{-1}\text{hr}^{-1}$ , 20-30 m 수심에서 261  $\text{fmol cell}^{-1}\text{hr}^{-1}$ 의 값으로 두 개의 peak를 나타내었다. 50 m 이하 심층부에서는 활성이 거의 없었다(Fig. 4). 수온이 더 낮아진 2차 조사(11월 1일-12월 20일)에서는 표층에서 538  $\text{fmol cell}^{-1}\text{hr}^{-1}$ 의 가장 높은 값이었고, 10 m까지 320  $\text{fmol cell}^{-1}\text{hr}^{-1}$ 의 비교적 높은 값이었다. 3차 조사(1994. 3. 2-4. 20)에서는 전수심에서 20  $\text{fmol cell}^{-1}\text{hr}^{-1}$  이하의 매우 낮은 값이었다. 수온이 점차 상승하는 4차 조사(4월 29일-6월 24일)에서는 5 m 수심에서 110  $\text{fmol cell}^{-1}\text{hr}^{-1}$ , 50 m 수심에서 218  $\text{fmol cell}^{-1}\text{hr}^{-1}$ 의 peak를 보였으나, 다른 수심에서는 매우 낮은 활성을 보였다. 하절기인 5차 조사(7월 4일-8월 13일)에서는 5 m 수심에서 162  $\text{fmol cell}^{-1}\text{hr}^{-1}$ 이였으며, 그 외의 수심에서는 60  $\text{fmol cell}^{-1}\text{hr}^{-1}$  이하의 낮은 활성을 나타내었다.

$\beta$ -Glucosidase는 유기물을 세균 막을 통과하는 크기로 분해하므로 수중생태계에서 DOM과 세균의 성장을 연결하는 중요한 효소이다(3). 따라서 수중생태계에서  $\beta$ -glucosidase 활성은 세균의 성장과 생체량 증가와 밀접한 관련이 있다. 이러한  $\beta$ -glucosidase specific 활성도의 변화(Fig. 4)에서 다

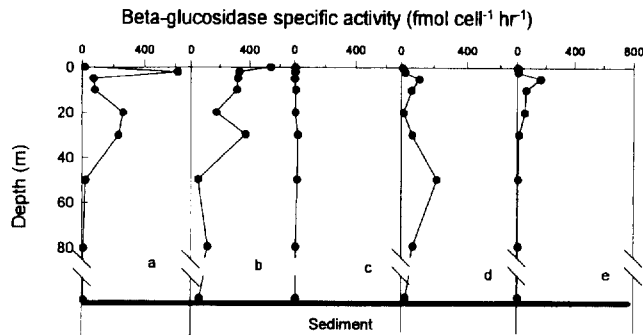


Fig. 4. The vertical profiles of specific  $\beta$ -glucosidase activity of attached bacteria on cellulose submerged in Lake Soyang a) from September 1 to October 10, b) Nov. 1-Dec. 21, c) Mar. 2-Apr. 20, 1994, d) Apr. 29-June 24, e) July 4-Aug. 13.

음과 같이 유추할 수 있다. 가을에 *Anabaena*가 우점하는 식물플랑크톤이 증식하면서 엽록소 농도는  $20 \mu\text{g l}^{-1}$ 에 달하는 등 엽록소 농도가 높아지고 이들의 사체가 분해되면서 표층의 DOM pool에는 HMW 유기물이 많아진다. 이때 세균은 유기물을 분해하여 흡수하기 위하여  $\beta$ -glucosidase를 분비하고, 효소 활성도가 높아지며 중층에서도 수온약층과 밀도차이로 생성된 DOM pool에 표층에서부터 내려온 식물플랑크톤의 사체가 많아지면서 HMW도 증가하고, 이에 따라 활성도도 증가한다. 이후 겨울철이 되면서 수온약층이 약해지면서 표층과 중층에는 계속 식물플랑크톤의 분해산물인 HMW가 많아 활성도가 높아지며, 심층부에도 표층에서 내려온 HMW 유기물로 인하여 활성도가 증가한다. 이듬해 봄에 규조류가 우점하면서 식물플랑크톤이 성장하지만 엽록소 양도 적고 EOC인 LMW 유기물이 나오면서  $\beta$ -glucosidase 활성이 낮아진다. 또, 수온도 낮아 활성은 더 낮아진다. 이후 수온이 상승하고, 식물플랑크톤이 증가하면서 HMW 유기물이 증가하고  $\beta$ -glucosidase도 활성이 높아져 5차 조사시기에는 다시 5 m 수심에서 활성도가 높아지는 것으로 사료된다. 즉, 가을과 겨울에 소양호의 DOM pool은 주로 HMW 유기물인 dissolved combined carbohydrate로 구성되어 있으며, 봄철에는 LMW 유기물인 dissolved free carbohydrate로 구성되어 있는 것으로 판단된다. 이러한 결과는 Plussee 호수에서 조사한 결과(13)와도 일치하였다.

### 부착세균의 천이과정 중 $\beta$ -Glucosidase 활성의 변화

부착세균의 천이과정동안 활성의 변화를 파악하고자 성층이 깨지는 시기인 1993년 11월과 성층이 형성된 1994년 6월 대양정점에 cellulose film을 0, 10, 50 m 수심에 노출시킨 후 10일 간격으로 회수하여 부착세균수,  $\beta$ -glucosidase, cellobiohydrolase 활성도를 측정하였다.

$\beta$ -Glucosidase 활성도의 변화는 각각의 조사시기에 따라 큰 차이를 보였다. 11월 0 m 수심에서는 노출 40일 후까지 서서히 높아졌으나 10 m 수심에서는 노출 30일 후에  $2616 \text{ nmol cm}^{-2} \text{ hr}^{-1}$ 로 가장 높은 활성도를 보였다. 그러나 50 m 수심에서는 약  $150 \text{ nmol cm}^{-2} \text{ hr}^{-1}$ 로 변화가 없었다. 성층이

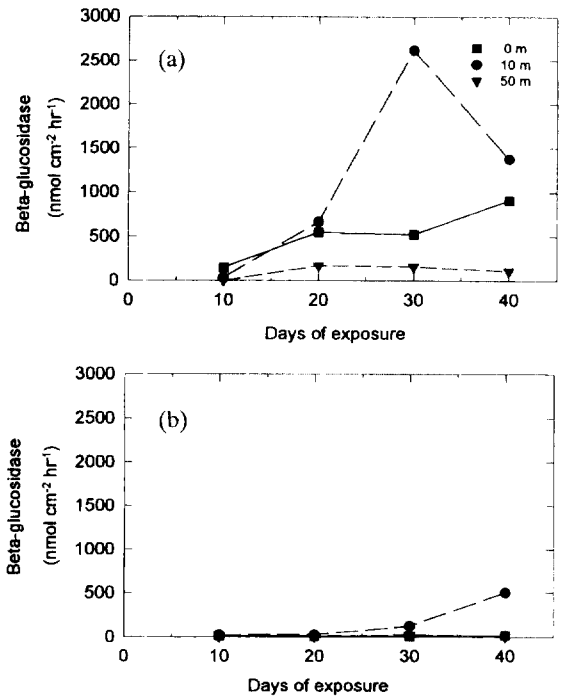


Fig. 5. The variations of  $\beta$ -glucosidase activity of cellulose films submerged during a) destratification (from Nov. 1, 1993) and b) stratification periods (from July 4, 1994).

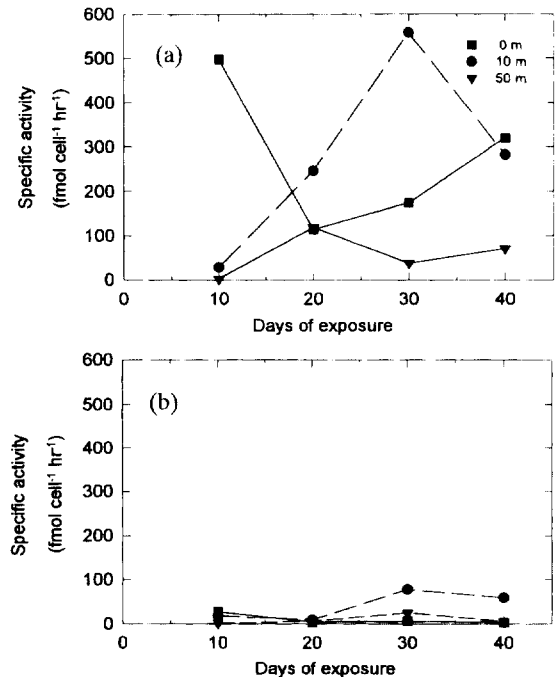


Fig. 6. The variations of specific  $\beta$ -glucosidase activity of attached bacteria on cellulose films submerged during a) destratification and b) stratification periods.

형성된 6월에 0 m, 50 m 수심에서는  $30 \text{ nmol cm}^{-2} \text{ hr}^{-1}$  이하의 낮은 활성도를 보였다(Fig. 5). 노출 40일 후에 10 m 수층에서만  $502 \text{ nmol cm}^{-2} \text{ hr}^{-1}$ 로 가장 높은 활성도를 보였으나

11월 측정된 값보다 1/15에 불과한 값이었다. Specific activity는 6월보다 11월에 높은 활성도를 보였다. 특히 11월 0 m 수심에서 노출 10일 후에 약 500 fmol cell<sup>-1</sup>hr<sup>-1</sup>이었으며, 10 m 수심에서는 노출 30일 후 560 fmol cell<sup>-1</sup>hr<sup>-1</sup>의 값을 보였다(Fig. 6). 그러나 성층이 형성된 6월에는 1.2-77.5 fmol cell<sup>-1</sup>hr<sup>-1</sup> 범위의 값으로 11월과는 상대적으로 일정한 변화를 보였다.

$\beta$ -Glucosidase activity는 monomer가 세균에 이용되는 지표로서 의미가 크다(4). 여름철과 늦가을을 비교해 보면 가을철이 여름철보다 높아 이때 생성되는 glucose의 양이 5배 정도 높은 것으로 사료된다. 그러나 두 시기에 엽록소 a 농도를 비교해 보면 저분자물질(LMW)과 이용 가능한 용존유기물(utilizable dissolved organic carbon; UDOC)의 농도는 성층이 형성된 여름에 높다. 성층이 형성된 시기에 엽록소 a 농도를 보면 0 m와 10 m 수심에서 각각 1.6-2.1 mg m<sup>-3</sup>, 2.3-2.4 mg m<sup>-3</sup>이었다. 반면에 성층이 깨지는 시기에는 0 m, 10 m, 50 m 수심에서 각각 0.9-1.1 mg m<sup>-3</sup>, 0.5-0.9 mg m<sup>-3</sup>, 0.7 mg m<sup>-3</sup>이었다. 빛이 강한 조건에서 식물플랑크톤은 과도한 광합성을 하게 된다. 이 과정 중 glycolate와 같은 저분자물질이 체외로 배출되게 된다(13). 또한 수층에 amino acid, dissolved free carbohydrate, glycolate와 같은 LMW는 낮동안은 높고 밤동안은 낮다(11). 성층이 형성된 시기에  $\beta$ -glucosidase activity가 낮은 것은 수중에 이용 가능한 저분자 물질이 많기 때문으로 사료된다.

체외효소 활성도는 온도, pH, 기질의 종류와 양에 따라 영향을 받는다. 성층이 깨지는 시기에 수온은 11.8-16.2°C였고, 성층이 형성된 시기에는 26.8-30.2°C였으며, pH도 큰 차이가 없었다. 독일의 Plussee 호수에서  $\beta$ -glucosidase 활성도는 28°C에서 기질과의 친화력이 가장 높다(4). 늦가을에 수온이 낮은 상태였지만 specific  $\beta$ -glucosidase 활성도는 여름철보다는 높았다(Fig. 6 참조). 이것은 소양호의 경우  $\beta$ -glucosidase 활성도의 조절은 LMW와 DOC의 농도에 의해 영향을 받는 것으로 판단된다. 같은 시기에 소양호 수체에서 exoenzymatic 활성도는 낮고 계절적인 변화가 뚜렷하게 나타나지 않았다. 이러한 현상은 수체의 turbulence, movement, 식물플랑크톤의 천이, 상대적으로 낮은 엽록소 a 농도 때문일 것으로 사료된다. 이러한 문제점들은 부착세균을 이용하면 극복할 수 있다. 소양호에서 free living bacteria의 specific activity는 0.01-0.7 fmol cell<sup>-1</sup>hr<sup>-1</sup>의 범위였으나 부착세균은 0.8-479 fmol cell<sup>-1</sup>hr<sup>-1</sup>의 값으로 부착세균이 훨씬 좋은 지표임을 알 수 있었다.

## 결론

생체내에서 일어나는 모든 반응은 효소에 의한 생화학적 반응이다. 효소의 억제, 유도, 조절 등 생화학적 조절작용은 생체내에서만 일어나는 것이 아니라 자연 생태계에서도 나타날 수 있으며, 이 과정을 파악하면 호수 생태계에 대하여 더 많은 정보를 얻을 수 있는 것이다. 이미 phosphatase 활성이 DIP가 높을 때에 활성이 낮아지고, DIP가 낮을 때에 활성이 높아지는 현상을 밝혀내었다. 이 경우 DIP 농도는

10배 미만의 변화폭이었으나, 효소 활성은 2,000배 이상의 차이를 내어 민감한 부영양화의 지표로 사용할 수 있음을 알 수 있었다(2). 플랑크톤 등 고등생물도 분비하는 phosphatase와는 달리 수중에서  $\beta$ -glucosidase 활성은 대부분 세균에서 유래된다. 이러한 관점에서 세균의 생태학적 기능을 이해하는데에 체외 효소 활성도가 많은 정보를 준다. 얼마나 많은 세균이  $\beta$ -glucosidase를 분비하는지, 또, 활성이 있는지는 앞으로 연구하여야 할 사항이다.

## 감사의 말

본 연구는 서울대학교 분자미생물학연구센터를 통한 한국 과학재단 우수연구센터 지원금에 의하여 연구한 것을 재정의한 것입니다.

## 참고문헌

1. 김상중, 안태석, 안태영, 조기성, 광노태, 이동훈, 박호완. 1995. 소양호 지류에서 식물플랑크톤 변화에 따른 미생물 활성도의 일변화. 한국미생물학회지 32, 580-585
2. Ahn, T.S., S.I. Choi, and K.I. Joh. 1993. Phosphatase activity in Lake Soynag, Korea. *Verh. Internat. Verein. Limnol.* 25, 183-186
3. Chróst, R.J. 1989. Characterization and significance of  $\beta$ -glucosidase activity in lake water. *Limnol. Oceanogr.* 34, 660-672.
4. Chróst, R.J. 1994. Microbial enzymatic degradation and utilization of organic matter. In Overbeck, J. and R.J. Chróst (eds.) *Microbial ecology of Lake Plussee*. Springer-Verlag, New York, pp. 118-174.
5. Chróst, R.J. and J. Overbeck. 1987. Kinetics of alkaline phosphatase activity and phosphorus availability for phytoplankton and bacterioplankton in lake Plussee (north German eutrophic lake). *Microb. Ecol.* 13, 229-248.
6. Hoppe, H.G. 1983. Significance of exoenzymatic activities in the ecology of brackish water: measurements by means of methylumbelliferyl-substrate. *Mar. Ecol.* 11, 299-318.
7. Jorgensen, N.O.G. 1987. Free amino acids in lakes; concentrations and assimilation rates in relation to phytoplankton and bacterial production. *Limnol. Oceanogr.* 32, 97-111.
8. Kim, B.C., K.S. Cho, and T.S. Ahn. 1985. A Horizontal variation of primary productivity and environmental factors in Lake Soyang. *Kor. J. Limnol.* 18, 1-10.
9. Ljungdahl, L.G. and K.E. Eriksson. 1985. Ecology of microbial cellulose degradation. *Adv. Microb. Ecol.* 8, 237-299.
10. Münster, U. 1991. Extracellular enzyme activity in eutrophic and polyhumic Lakes. p. 96-122. In Chróst, R.J. (ed.), *Microbial Enzymes in Aquatic Environments*. Springer-Verlag, New York.
11. Münster, U. and D. Albrecht. 1994. Dissolved organic matter: Analysis of composition and function by a molecular biochemical approach. p. 24-62. In Overbeck, J. and R. J. Chróst (ed.), *Microbial ecology of Lake Plussee*. Springer-Verlag, New York.
12. Münster, U. and R.J. Chróst. 1990. Origin, composition

- and microbial utilization of dissolved organic matter. p. 8-46. In Overbeck, J. and R.J. Chróst (ed.), *Aquatic Microbial Ecology; Biochemical and Molecular Approaches*. Springer Verlag, New York.
13. **Sell, A.F.** 1994. Phytoplankton-excreted organic carbon. p. 81-91. In Overbeck, J. and R.J. Chróst (ed.), *Microbial Ecology of Lake Plussee*. Springer-Verlag, New York.
14. **Thurman, E.M.** 1985. *Organic geochemistry of natural waters*. Nijhoff/Junk, Boston.
15. **Tilbeurrgh, H., G. Pettersson, R. Bhikabhai, H. Boeck, and M. Claeysens.** 1985. Studies of the cellulolytic system of *Trichoderma reesei* QM 9414-reaction specificity and thermodynamics of interactions of small substrates and ligands with the 1,4- $\beta$ -glucan cellobiohydrolase. *Eur. J. Biochem.* **15**, 141-168.

(Received March 15, 1997)