

韓國産 蠶繭에서 分離된 微生物에 關한 研究 第1報 蠶繭에서 分離된 Bacteria의 分離同定

李 相 元 · 李 喆 儉

The studies on microbe isolated from the cocoon in Korea.
(Isolation and identification of bacteria)

Sang Won Lee, Chul Joon Lee,*
Korean Union College. *College of Agri. Korea Univ.

Abstract

In order to identify the bacteria living on the cocoons in Korea, the isolated bacterias' morphological, cultural and physiological characters has been determined through the detailed study. The second aim of this experiment was to protect against the bacteria which damage silk protein during storage.

1. The twelve strains of the bacteria were isolated and identified in the cocoons produced in Korea.

The results of the identification are as the following.

- No 1, No 8; *Bacillus subtilis* variation
- No 2, ; *Bacillus stearothermophilus*
- No 3, ; *Bacillus circulans*
- No 5, No 6; *Bacillus thuringiensis*
- No 7, No11; *Bacillus brevis*
- No 12, No10; *Bacillus cereus* variation

1. 緒 論

食品工業은 비롯한 많은 產業界에 微生物이 利用되어 그 產業은 劃期的인 發展을 이루게 되었다.

著者는 蠶繭에 寄生하는 微生物을 分離하여 14 strain의 fungus와 12 strain의 Bacteria를 分離하여 우선의 으르 本實驗에서는 12 strain의 Bacteria를 그의 形態學的 배양적 生理學的인 特性을 究明하므로써 12 strain의 Bacteria의 類群關係를 推定코져 하였다. 또한 蠶繭에 寄生하는 全微生物의 樣狀을 把握함으로써 蠶繭, 繭絲, 및 絹紡織物의 微生物 浸蝕을 防止하는 科學的인 根據을 얻고져 하였다.

研究史

蠶繭에 寄生하는 微生物의 分離에 關한 報告는 1939年 片桐 中瀆⁽¹⁾이 日本産 蠶繭에서 分離報告한 外는 이에 關한 報告는 찾아볼 수가 없었다.

1939年 片桐 中瀆⁽¹⁾은 腐化精練은 Bacteria의 作用에 依한 것이니 腐化精練에 關與하는 有用細菌은 好氣性에 屬함을 報告하였다. 1939年 片桐 中瀆⁽²⁾은 日本産蠶繭에서 18種의 細菌을 分離하였다. 分離된 18種의 Bacteria는 4種이 球菌, 1種이 短桿菌, 13種이 桿菌임을 報告하였다. 1939年 片桐 中瀆⁽³⁾은 分離된 2種을 形態 生理 實驗結果 *Bacillus cereus*임을 同定報告 하였다.

1957年 中瀆 今原⁽⁴⁾은 紡績原料의 膠葉精練에 有用한 好氣性 細菌 2種과 嫌氣性細菌 1種에 對하여 分離菌株의 菌學的 性質을 研究報告하였다.

韓國産 蠶繭에 寄生하는 微生物의 分離報告는 全無한 狀態이다.

三青××, *高大 農大

韓國產菌과 日本產菌은 地域의 差異가 있고 品質이 다르며 또한 氣候風土가 다르므로 寄生微生物도 다를 것을 예상하여 本人은 5種類의 試料에서 14 strain의 Fungus와 12 strain의 Bacteria를 分離하고 優劣의 本實驗에서는 12 strain의 Bacteria의 形態學的 培養學的 및 生理學的인 實驗에 着手하였다.

Ⅰ. 實驗材料 및 方法

1. 材 料

1956年 春蠶期에 水原蠶業試驗場에서 生産하여 貯藏室에 貯藏中인 蠶繭中에서 1967年 7月 4種類의 微生物 오염 蠶繭을 採取하였다. 1967年 春蠶期에 서울三育大學에서 生産되어 科學室에 貯藏中인 蠶繭에서 1967年 7月에 1種類의 微生物 오염繭을 採취하였다. 그 選擇된 材料의 蠶品種은 다음 table I과 같다.

Table I 試 料 蠶 名

材料의 略稱	品 種 名	生 產 地
A	雪岳 X 昭陽	水原 蠶試
B	荊 繭	"
C	中14 號	"
D	綠191號	"
E	雪岳 X 昭陽	三 育 大

2. 寄生微生物의 分離方法及 使用培地

Nutrient Agar^(6,7,8)를 使用하여 Bacteria를 培養했고 Czapek's Solution Agar^(10,11)를 使用하여 Fungus를 培養했다.

上記 培地를 使用하여 Streak method와 pour plate method^(7,8,10)로 菌分離와 純粹培養을 試圖하였다. 分離된 菌들에 對하여는 Colony의 크기 形態^(7,8) Gram 染色性^(7,8) Spore 染色性^(7,8) 運動性^(7,8,9)을 調査하였다.

3. 固體培地

- 1) Nutrient Agar^(6,7,8,12)
- 2) Starch Nutrient Agar^(7,8,14)
- 3) Glucose Nutrient Agar^(7,8,14)
- 4) Glucose Nitrate Agar^(7,8,14)
- 5) Lead Acetate Agar^(7,8,14)
- 6) Soybean Agar^(7,8,14)
- 7) Potato Media^(6,7,8,14)
- 8) Motility Media⁽⁷⁾
- 9) Uric Acid Media⁽⁷⁾
- 10) Nutrient Gelatin Media^(7,8,14)

上記 各 media에 Nutrient agar slant에서 37°C로 調節된 incubator에서 24시간 incubation시킨 菌體를 白金耳를 使用 同量 接種한후 37°C에서 24—48시간 incubation시키면서 그 發育狀을 檢討하였다.

4. 液體培地

Nutrient agar slant를 培地로 37°C에서 24시간 培養된 菌體를 pH 7.0으로 調節된 Nutrient broth^(7,8,14)에서 白金耳를 使用 한 loopful씩 接種하여 37°C에서 24시간 培養하면서 生長有無^(6,7) 被膜形成^(6,7) 混濁^(6,7) 浸潤量^(6,7) 등의 狀態를 觀察하였다.

5. 繁殖溫度의 影響^(3,6,7,8,14)

Nutrient agar slant를 培地로 37°C로 調節된 incubator에서 24시간 培養된 菌體를 Nutrient agar slant에 培

金耳로 同量 接種하여 20°C, 30°C, 37°C, 50°C로 各々 調節된 incubator에서 24-48시간 incubation 시키면서 그 發育狀態를 觀察하였다.

6. pH의 影響^(6,7,8,14,3)

Nutrient broth에 N/10의 鹽酸 및 N/10의 可性 soda를 添加하여 pH 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0, 9.0으로 各 調節하여 여기에 Nutrient agar slant에서 24시간 培養한 菌體를 同量 接種하여 37°C로 調節된 incubator에서 24-72時間 培養하면서 그 繁殖狀態를 觀察하였다.

7. 澱粉 分解作用^(3,6,7,8,15)

無糖 0.5%의 peptone水에 0.2%의 可溶性澱粉을 添加하여 常法대로 試驗管에 分注하고 15Lb 壓力에서 20分間 Autoclaving 한 다음 Nutrient agar slant를 培地로 37°C에서 24시간 培養한 白金耳로 한 Loopful씩 接種한 후 37°C로 調節된 incubator에서 18시간 incubation 시킨 후 沃度呈色反應을 實施하였다.

8. Gelatin 液化作用^(3,6,7,8)

Nutrient gelatin stab에 Nutrient agar slant를 培地로 37°C에서 24시간 培養한 菌體를 白金針으로 同量 接種한 후 30°C로 調節된 incubator에서 24시간 培養하였다. 培養後 Nutrient gelatin을 20°C에서 1時間 冷却後 凝固如否를 觀察하였다.

9. Catalase test^(6,12)

Nutrient agar slant를 培地로 37°C에서 18시간 培養한 菌體를 10 ml test tube에 3%의 過酸化 水素水 3 ml을 넣고 白金耳로써 한 loopful씩 菌체를 接種하여 잘 混合한 후 觀察하였다.

10. 窒酸鹽 還元^(6,7,8,13)

Nutrient agar에 0.1%의 窒酸加里(KNO₃)를 添加한 培地에 Nutrient agar를 培地로 37°C에서 24시간 培養한 菌체를 同量 接種한 후 37°C로 調節된 incubator에서 5일간 培養한 후 Sulphoanilic acid α -naphthyl amin method에 의한 p-sulphobenzene-azo α -naphthylamine의 赤色有無를 觀察하였다.

그리고 Nessler's Reagent로 Amonia 生成 有無를 觀察하였다.

11. Indol 生産^(6,7,8)

Gnezda oxalic acid method⁽⁷⁾에 依해서 tryptone broth에 Nutrient agar slant를 培地로 37°C에서 24시간 培養한 菌체를 白金耳를 使用 各々 한 loopful씩 接種하고 各 test tube에 Oxalic acid test paper를 Suspend 시켜서 37°C로 調節된 incubator에서 48시간 incubation 시키면서 pink color 有無를 觀察했다.

12. Urease test^(6,7,8)

Koser's의 Uric acid media⁽⁷⁾에 Nutrient broth를 培地로 37°C에서 24시간 培養한 菌체를 白金耳로 同量 接種하고 37°C로 조절된 incubator에서 4日間 incubation 하면서 觀察했다.

13. 硫化水素 test^(6,7,8,13)

鹽酸澱 agar stab에 Nutrient agar slant를 培地로 37°C에서 24시간 培養한 菌체를 白金耳로 同量 接種한 후 37°C로 조절된 incubator에서 培養하면서 成長部面의 黑變有無를 觀察하였다.

14. 糖類로 부터의 酸生成 및 gas 生成有無^(6,7,8)

分離菌체의 炭水化物的 醱酵能을 檢討하기 위하여 pH 7.0으로 조절된 Nutrient broth에 各 2%의 糖과 0.2%의 bromothymol blue를 添加하여 15Lb 壓力으로 20分間 autoclaving 한 다음 Nutrient broth를 培地로 37°C에서 24시간 培養된 菌체를 白金耳로 한 loopful씩 接種 37°C로 調節된 incubator에서 1~2週間 incubation 하면서 觀察하였다.

II. 結果 및 考察

1. Cultural characters^(3,6,7,8)

分離된 strain 들에 對해서는 Nutrient Agar에 依한 平面 培養基上에 생긴 colony의 form, Internal structure, elevation, edge를 colony counter上에서 擴大하여 各各 檢索하고 Nutrient agar 培養基上에서 stab 및 streak culture를 하면서 各菌株의 特性을 觀察하였다.

이들 特性을 綜合하던 다음 table II와 같다

Table II The characteristic type of colonies

Character Strain	Internal Structure	Edge	Elevation	Streak Culture	Stab Culture
1	Opaque	Undulate	Umbonate	Echinulate	Echinulate
2	Opaque	Entire	Effuse	"	Bead
3	Opaque	Fimbriate	Low Convex	"	Rhizoid
4	Coarsely Granular	Ramose	Low Convex	"	Arborescent
5	Smooth	Entire	R.W.C. Beveledge	Filiform	Echinulate
6	Smooth	Entire	"	"	"
7	Opaque	Crenate	Umbonate Translucent	Echinulate	Arborescent
8	Smooth	Undulate	Umbonate Translucent	"	Echinulate
9	Smooth	Entire	Pulvinate	Bead	"
10	Finely Granular	Undulate	Convex Papilate	Echinulate	"
11	Smooth	Crenate	Raised	"	Rhizoid
12	Finely Granular	Undulate	Convex Papilate	"	Echinulate

※ R.W.C; raised with concave

1. Morphological characters^(3,6,7,8)

分離된 菌들에 對하여는 Nutrient agar를 培地로 37°C로 調節된 incubator에서 24시간 incubation시킨後에 Gram 染色性을 調査한 結果 全菌이 Gram negative로써 大部分이 桿菌이었다.

培養 24시간後에 spore를 形成하는 strain은 No 3, No 4, No 11이었고 代價는 48시간 以後에 形成하였다. 分離菌株들의 細胞의 크기, Spore stain, motility等 全菌株의 形態의인 特性을 綜合하던 table III과 같다.

Table III Morphological characters of Isolates

Strain	width	Length	Form	Motility	Grams stain	Spore stain
1	0.65 μ	1.65 μ ~ 2.17 μ	Bacillus	+	-	+
2	0.55 μ	2.5 μ ~ 3.0 μ	"	+	-	+
3	0.65 μ	2.5 μ ~ 3.03 μ	"	++	-	+
4	0.55 μ	0.65 μ	"	+++	-	+
5	0.255 μ	2.2 μ ~ 2.75 μ	"	+++	-	+
6	0.33 μ	1.65 μ ~ 2.75 μ	"	++	-	+
7	0.65 μ	2.75 μ	"	++	-	+
8	0.65 μ	2.2 μ ~ 2.7 μ	"	+	-	+
9	0.55 μ	0.55 μ	Coccus	-	-	-
10	0.35 μ	1.65 μ	Bacillus	+	-	+
11	0.65 μ	1.1 μ ~ 2.75 μ	"	+++	-	+
12	0.35 μ	1.1 μ ~ 1.65 μ	"	+++	-	+

※ Strain No와 Fig I 및 II의 No와 同一함

3. Solid culturing^(3,6,7,8)

分離菌株中 No 2 strain 은 LAA, SBA 에서 成長이 不良하였고 No 4 strain 은 LAA, SBA, PM 에서 成長이 不良하였고 그外 培地에서는 成長이 良好하였다. No 9 strain 은 SNA 에서 잘 자랐고 그 外培地에서는 成長이 不良하였다. 그 結果는 table IV 와 같다.

4. Liquid culturing^(3,6,7,8)

分離菌株中 No 1 No 2 No 5 No 6 No 8 No 10 No 12 는 pellicle 을 形成했고 No 3 No 4 No 9 은 Sediment 물 이 浮었고 No 7 No 11 은 Turbidity 물 이 浮었다. 그 實驗結果는 Table IV 와 같다.

Table IV Culturing characters of Isolates on Solid media and Lequid media (24-hr).

S.N.	medium									※
	SNA	GNA	GNiA	LAA	SBA	PM	NA	NB		
1	+++	++	+++	+++	+++	+++	+++	P+++		SNA: Starch Nutrient Agar
2	+++	+++	+++	+	+	+++	+++	P+++		GNA: Glucose Nutrient Agar
3	+++	+++	+++	++	++	+++	+++	S++		GNiA: Glucose Nitrate Agar
4	+++	+++	+++	+	+	+	+++	S++		
5	+++	+++	++	++	++	+++	+++	P+++		LAA: Lenz Aceted Agar
6	+++	+++	++	++	++	+++	+++	P+++		SBA: Soybean Agar
7	+++	+++	+++	++	++	+	+++	T++		PM: Potato Media
8	+++	+++	++	++	++	+++	+++	P+++		NA: Nutrient broth
9	+++	+	+	+	+	+	+	S+		P: Pellicle
10	+++	+	++	++	+++	+++	+++	P++		S: Sediment
11	+++	+++	+++	+++	+++	+	+++	T++		T: Turbidity
12	+++	+++	++	++	+++	+	+++	P+++		

+ : Slight ※ S.N: No. of strain
 ++ : Moderate
 +++ : Strong

5. Optimum temperature for development condition

分離菌의 繁殖最適溫은 30°C~37°C 이었다. 實驗結果는 table V 와 같다.

Table V Development condition of temperature

SN	hr Temp	24				48			
		20°C	30°C	37°C	50°C	20°C	30°C	37°C	50°C
1		+	++	+++	+	+	+++	+++	+
2			+	++	++		++	++	+++
3			++	++		+	+++	+++	
4			++	++	+	+	+++	+++	++
5			++	++			++	+++	+
6			++	++			++	+++	
7			++	+++	+	+	+++	+++	++
8			++	+++			+++	+++	+
9			+	+			++	++	+
10			++	++			+++	+++	+
11			++	++	+	+	+++	+++	++
12			++	+++		+	+++	+++	+

+ : Slight
 ++ : Moderate
 +++ : Strong

6. Influence of pH

分離菌의 pH別 繁殖程度의 實驗結果는 table VI와 같다.

Table VI Development condition of pH

SN	PH		4.0	5.0	6.0	7.0	8.0	9.0
	hr							
1	24				++	+++	+	
	48			+	+++	+++	+++	+
	72			++	+++	+++	+++	++
2	24			+	++	++		
	48			+++	+++	++		
	72			+++	+++	++		
3	24			+++	+			
	48			+++	++			
	72			+++	+++			
4	24				+	++	+	
	48				++	+++	++	
	72				+++	+++	+++	+
5	24			+	+	+		
	48			++	++	++		
	72			+++	+++	++		
6	24			+	++	+		
	48			+++	+++	++		
	72			+++	+++	++		
7	24					++	+++	+
	48					++	+++	++
	72					+++	+++	+++
8	24				++	++	++	
	48				+++	+++	+++	+
	72				+++	+++	+++	++
9	24				+	+++		
	48				++	+++		
	72					+++		
10	24			+	+++	+		
	48			+++	+++	+		
	72			+++	+++	+		
11	24					++	+++	+
	48					+++	+++	+++
	72					+++	+++	+++
12	24			++	+++	+		
	48			+++	+++	++		
	72			+++	+++	+++		

7. Physiological Characters of Isolates

分離菌의 綜合的인 生理的 實驗結果는 Endol, Hydrogen Sulfid 生成能은 全部 Negative 이며 Starch 液化能은 No 9만 Negative 이고 全部 Positive 로 나타났다. 全般的인 實驗結果는 table VII과 같다.

Table VII Physiological character's of Isolated strains

SN	Characte	Ni	Ca	Ur	En	Hs	α -A	P	Ge
1		+	+	+	-	-	+	+	+
2		+	-	-	-	-	+	+	-
3		+	-	-	-	-	+	-	+
4		-	-	++	-	-	+	-	-

5		+	+++							+	+	-
6		+	+++							+	+	-
7		++										+
8		+	++		++					+	+	+
9		-	+++		+					+	-	-
10		+	++							+	+	+
11		+										+
12		+	++							+	+	+

※ Ni; Nitrate α-A; α-amylase + Slight
 Ca; Catalase Pr; Protease ++ Moderate
 En; Endol Ge; Gelatin +++ Strong
 HS; Hydrogen Sulfid - Negative

8. 炭水化物로부터의 酸生成 및 gas 生成

分離菌株의 各 炭水化物로 부터의 酸生成 및 gas 生成 有無는 그 實驗結果가 table VIII과 같다.

Table VIII Acid producibility from carbohydrate of the isolates

SN	Carbo												
	Ar	Fr	Ga	Gl	Sa	Ma	La	Ra	De	St	In		
1		+		+	+				+	+			Ar : Arabinose
2			+	+	+	+	+	+		+	+	+	Fr : Fructose
3		+		+	+								Ga : Galactose
4			+	+	+						+		Gl : Glycerol
5			+		+	+		+					Sa : Saccharose
6			+		+	+	+						Ma : Maltose
7		+	+	+	+								La : Lactose
8			+		+	+	+			+			Ra : Raffinose
9		+	+	+	+	+	+					+	De : Dextrose
10			+	+	+	+					+		St : Starch
11			+	+	+		+			+			In : Inulin
12			+	+	+	+	+						+ : Positive

以上 各菌株에 對한 生理學的 및 形態學的인 實驗結果를 基本으로 標徵 및 類群關係를 Bergy's manual에 依據하여 推定하면 다음과 같다.

No 1. strain은 Gram negative의 桿菌으로써 motile 및 spore 形成能이 있었다. Glucose Nutrient 와 Glucose Nitrate Agar slant에서 生長이 良好하였다. Soybean agar slant 와 Potato media에서도 잘 자랐다. Nutrient broth에서는 pellicle을 形成했다. 生酸性 糖類로는 Fructose, Glycerol, Dextrose, Raffinose 이었으며 各糖에서 gas 生成은 없었다. Starch 및 Gelatin 液化能이 있었으며 Catalase, Nitrite, Urease 등 生成했다. Optimum Temperature 가 30°C~37°C Optimum pH가 6.0-7.0 이었다.

以上の 特特性으로 미루어 보전대 Cell의 크기에 있어 差異가 있으나 Bergy's manual의 Bacillus subtilis⁽²⁾와 거의 일치하였다. Subtilis는 Arabinose에서 酸이 生成되었으나 No 1 strain은 Arabinose에서 酸을 生成치 않았다

Gram stain도 Subtilis는 Positive이고 Variation에서는 Variable로 나타났다. 故로 No 1 Strain은 Bacillus Subtilis Variation⁽²⁾이라고 生覺된다.

No 2 strain은 Gram negative의 桿菌으로써 motile 및 spore 形成能이 있었다. Glucose Nutrient 와 Glucose Nitrate agar slant에서 發育이 良好하였으며 potato media에서는 잘 자랐으나 Soybean agar slant에서는 發育이 不良하였다.

Nutrient broth에서 Pellicle을 形成했다. 酸生成 糖類로는 Fructose, Dextrose, Lactose, Maltose, Starch, Galactose, Inulin, Glycerol, saccharose 이었으며 gas 生成은 없었다. Starch 液化能이 있으며 Gelatin 液化能은 없었다. Catalase는 生成치 않았고 Indol 및 硫化水素도 생성치 않았다. No 2 strain은 그生理 形態的인 實驗結果가 Bergy's manual의 Bacillus stearothermophilus⁽²⁾와 거의 비슷하며 Nutrient broth에서의 被膜生成能이 差

뜻이 있었다. optimum pH 4.5~6.0으로 되어있으나 No 2 strain은 pH 5.0이하에서의 생장이 불량하였다.

No 3 strain은 Gram negative의桿菌으로써 motile 및 spore 形成能이 있었다. Nutrient agar stab에서 Rhizoid 狀으로 生長하였다. Glucose agar와 Soybean agar에서 생장이 旺盛하였다. 酸生成類로는 Glycerol galactose arabinose가 있었으며 gas 生成은 없었다. starch 및 Gelatin 液化能이 있었고 Catalase, Urease 및 Indol을 生成치 않았으며 Nitrite는 生成했다. 이는 生理的 形態의 特性이 Bacillus circulans⁽⁶⁾과 같았다.

No 5 strain은 Gram negative의桿菌으로써 motile 및 spore 形成能이 있었다. Glucose Nutrient와 Glucose nitrate agar slant에서 잘 生長하였다. Nutrient agar stab에서 Echinulate 狀으로 Streak에서 filiform으로 生長했다. Nutrient broth에서 pellicle을 形成했다. 生酸性類로는 Fructose glycerol maltose 등이며 starch 분해능은 있었으나 Gelatin 液化能⁽⁶⁾이 없었다. Catalase 및 Nitrite를 生成했고 Indol 및 Urease는 生成치 않았다. 이는 Bergy's manual의 Bacillus cereus와 비슷하나 Gelatin 液化能이 다르며 Cell size가 작고 Casein 분해능이 弱하였다. 이는 Bacillus thuringiensis⁽⁶⁾가 아닌가 生覺한다. 이 Bacillus thuringiensis는 몇몇 곤충의 幼蟲의 病原이 되며 이 菌의 Source가 Flower moth의 유충으로 되어 있는 것으로 보아서 이 No 5 strain은 分離當時 菌內層의 蠶蛹體로부터 分離된것으로 思料된다.

No 6 strain은 모든 形態的 生理的 特性이 No 5 strain과 같았다.

No 7 strain은 Gram negative의桿菌으로써 motile 및 spore가 positive이였으며 Nutrient Agar slant와 Glucose Nutrient agar slant, Glucose Nitrate agar slant에서 생장이 旺盛하였고 Potato media에서 생장이 불량하였다. Nutrient broth에서 turbidity를 形成하였다. 生酸性類로는 Glycerol Galactose arabinose이었고 gas 生成은 없었다. starch 및 Gelatin 液化能⁽⁶⁾이 있었고 Catalase, Indol을 生成치 않았고 nitrite는 生成했다. 이는 Bergy's manual의 Bacillus brevis⁽⁶⁾와 같았다. No 8 strain은 Raffinose에서의 酸生成이 No 1과 다르고 形態的 生理的 實驗結果가 거의 No 1과 같았다. 故로 No 8 Strain은 Bacillus Subtilis Variation⁽⁶⁾이라고 生覺된다.

No 11은 그 生理的 形態的 實驗結果가 No 7과 같았다. 故로 No 11은 Bacillus brevis variation⁽⁶⁾으로 生覺된다

No 12 strain은 gram negative의桿菌으로써 motile 및 spore 形成能⁽⁶⁾이 있었다. Glucose Nutrient와 glucose nitrate agar slant, potato media, soybean agar slant에서 생장이 旺盛하였다.

生酸性類로는 Saccharose glycerol Fructose maltose이였으며 gas 生成은 없었다. starch 및 Gelatin 液化能⁽⁶⁾이 있었고 Catalase와 Nitrite 生成이 있었고 Urease 및 Indol 生成이 없었다. optimum pH 5.0~6.0 optimum temperature 30°C-37°C이었다.

以上の 特性으로 Bacillus Cereus와 같은 點이 많으며 cell size가 差異가 있었고 Nutrient Broth에서 Bacillus Cereus는 Sediment를 形成했으나 No 12 strain은 pellicle을 形成했다. 全般的인 特性이 Bergy's manual,⁽⁵⁾과 片桐中濱⁽⁸⁾의 同定에 依據하여 이는 Bacillus Cereus Variation⁽⁶⁾으로 간주된다.

No 10은 No 12와 그 形態的 生理的 實驗結果가 비슷하고 maltose에서의 酸生成이 差異가 있었고 Casein 液化能⁽⁶⁾이 No 12보다 약간 弱하였다. 故로 No 10 strain은 Bacillus Cereus Variation⁽⁶⁾으로 生覺된다.

No 4 strain은 Gram negative의桿菌으로써 形態的 生理的인 實驗結果가 Bacillaceae⁽⁶⁾인것을 알수있으나 그 變化가 深하여서 species 分類가 어려웠다.

No 9 strain은 gram negative의 球菌으로써 그 變化가 深하여서 分類하기가 어려웠다.

IV. 摘 要

本實驗은 韓國產 蠶繭에 寄生하는 細菌을 分離하여 生理學的 形態學的 및 培養的인 特性을 把握하여 그 微生物을 同定하고 貯藏中인 蠶繭에 微生物 侵蝕을 防止하는 科學的인 根據을 도색했다. 그 實驗結果는 다음과 같다.

1. 蠶繭으로부터 分離된 12 strain의 Bacteria의 형태학적인 實驗結果 colony의 형태는 table I과 같다.

종합적인 形態的 특성은 table I과 같으며 gram stain과 spore stain은 Fig. I, II와 같다.

2. 分離된 12 strain의 培養的인 特性은 table IV, V, VI와 같다.

3. 分離된 12 strain의 생리적인 特性은 table VII와 같다.

4. 以上, 形態學的 培養的 生理學的 特性에 依據하여 分離菌株의 類群關係를 推定하면 다음과 같다.

(1) No 1 No 8; Bacillus subtilis variation

- (2) No 2 ; *Bacillus stearothermophilus*
- (3) No 8 ; *Bacillus circulans*
- (4) No 5 No 9; *Bacillus thuringiensis*
- (5) No 7 No 11; *Bacillus brevis*
- (6) No 12 No 10; *Bacillus cereus* variation

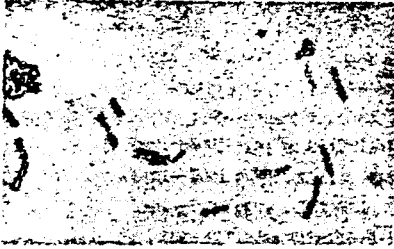
參 考 文 獻

1. 片桐, 中濱; 醱酵精練에 關한 研究; 日本農藝化學會誌 13 권 11 책(1939) page 1003—1006
2. ———— " 13 권 11 책(1939) page 1007—1016
3. ———— " 13 권 11 책(1939) page 1017—1022
4. 中濱, 今原; 醱酵精練에 關한 研究; 日本農藝化學會誌 31 권 6 책(1957) page 363—366
5. ROBERTS, BREED, E,G,D, MURRAY. NATHAN,S, SMITH; *Bergys manual of determination Bacteriology* 7 Edition
6. Chung Yun Su: Microbiological Studies on Soysance Isolation and Identification of Bacteria to Brew by Conventional Process, Korean Journal of Microbiology Vol1 oct(1963) p. 30—33
7. SALLE: Laboratory Manual of Fundamental Principles of Bacteriology p. 14—85
8. SALLE: Fundamental Principle of Bacteriology p. 66—431
9. ROBERT, J. BALL. WALTER, SELLER; *Applid Microbiology* Vol 14 July(1936) v. 670—673.
10. Laboratory Manual for Introduction Mycology p. 2—6
11. The Microbial World Second Edition
12. Lee B.H. and Lee H.W: Identification and Classification of *Aspilli* on Meju in Korea
13. 傳染病研究所學友會; 細菌實習提要(1953) p. 137—169
14. Lee S.K. and Lee H.C.: Studies on the Amylase Producing Bacteria, Korean Journal of Microbiology Vol (1964) p. 19—24.
15. Hand Book of Microbiology p. 1207—1224.

Acknowledgement

本實驗을 遂行함에 있어 아낌없는 激勵과 諸般의 便宜를 제공하여주신 李培成 博士任과 朴啓仁 先生任께 深
 深한 謝意를 드리며 廂重熙 學兄과 洪承喆 閔泰益 金尙材 學兄께 感謝를 드리는 바이다.

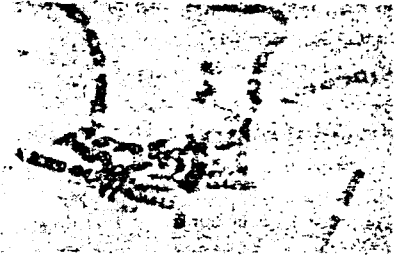
Fig. I Gram's stain of Isolates



No. 1.



No. 2.



No. 3.



No. 4.



No. 5.



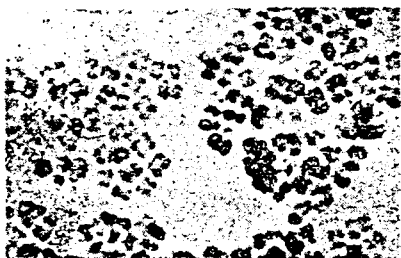
No. 6.



No. 7.



No. 8.



No. 9.



No. 10.

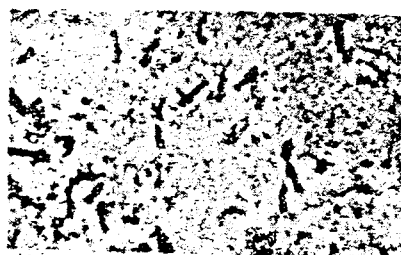


No. 11.

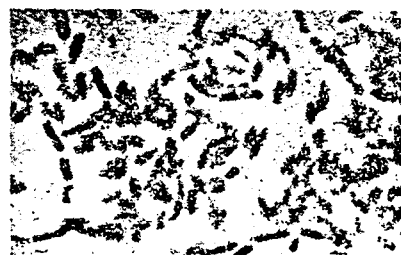


No. 12.

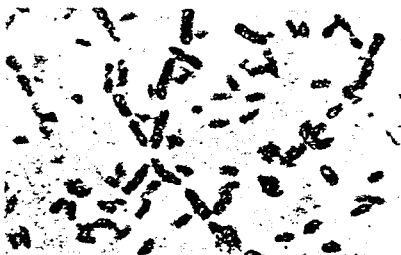
Fig II Spore stain of Isolates



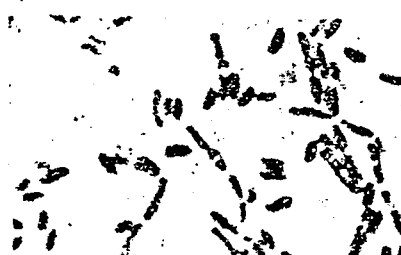
No. 2-2



No. 2-3



No. 2-4



No. 2-11