

## 토양 특성에 따른 다양한 희소방선균의 분리

김창진\* · 이강현 · 아끼라 시마즈<sup>1</sup> · 권오성 · 박동진  
KIST 유전공학연구소, <sup>1</sup>동경대학 분자세포생물학연구소

## Isolation of Rare Actinomycetes on Various Types of Soil

Chang-Jin Kim\*, Kang-Hyun Lee, Akira Shimazu<sup>1</sup>,  
Oh-Sung Kwon and Dong-Jin Park

Genetic Engineering Research Institute, KIST, Taejeon  
<sup>1</sup>Institute of Molecular and Cellular Biosciences, Tokyo University

**Abstract** — Actinomycetes occur in a wide range of environments and many more actinomycetes remain to be detected in the natural environment. In isolation stages, selection of the environment as a source of useful isolates is important. Two hundred and eighteen strains were isolated on Bennet's agar and 346 strains were on humic acid-vitamin agar from five each paddy field, field, forest, grass land, riverside soil samples. These isolates were identified to the genus level based on morphological and physiological characteristics. Among them, 386 strains were *Streptomyces*, 49 strain were *Nocardia*, 35 strains were *Microbispora* and *Micromonospora* each, 15 strains were *Nocardiopsis*, 13 strains were *Actinomadura*, 10 strains were *Streptosporangium*, and the others were isolated rarely. According to soil type, *Nocardia*, *Micromonospora*, *Microbispora* and *Streptosporangium* were dominant in paddy field, *Microbispora*, *Nocardia*, *Nocardioides* and *Micromonospora* were dominant in field, *Nocardia*, *Micromonospora*, *Microbispora* and *Actinomadura* were dominant in grass land, *Nocardia*, *Micromonospora* and *Microbispora* were dominant in forest, *Nocardia*, *Microbispora* and *Micromonospora* were dominant in riverside. Generally, *Nocardia*, *Micromonospora*, *Microbispora* and *Actinomadura* were isolated in all kinds of soils, *Streptosporangium* were paddy field, *Dactylosporangium* were forest, *Nocardiopsis* were field, forest and riverside.

일반적으로 *Streptomyces* 속 이외의 방선균을 희소방선균이라 하는데(1) 원래는 토양 등 자연계에 분포하는 밀도가 낮거나 인위적으로 분리 또는 배양이 어려운 방선균종을 의미한다(2, 3). 한편 지금까지 토양중에 존재하고 있는 전체 미생물 중 약 1% 미만만이 분리, 활용되고 있는 것으로 알려져 있어(4) 토양 등에는 아직 우리가 이용하지 못하고 있는, 희소방선균을 포함하는 많은 미지의 방선균이 있을 것으로 판단된다. 따라서 새로운 생리활성물질을 탐색하는 연구분야는 물질탐색의 재료가 되는 방선균의 새로운 탐색방법의 개발에 의해 앞으로도 지속적으로 발전될 것으로 판단된다(5, 6).

효율적인 생리활성물질 탐색을 위해서는 독창적인 물질탐색 방법의 개발과 더불어 생리활성물질 탐색 연구에 적합한 방선균 분리방법의 개발이 요구된다

(7). 일반적으로 물질탐색 연구에 적합한 방선균을 선택적으로 분리하고자 할 때에는 균분리원의 적절한 선택과 시료채취, 효과적인 시료 전처리 방법과 선택배지의 사용, 적절한 배양조건과 배양기간의 선택, 육안 또는 현미경 하에서의 효율적인 균선별 등의 여러가지 요인과 연구인력 및 시간 등의 요인을 복합적으로 잘 고려하여야 한다(8).

본 연구에서는 토양시료로부터 중복되지 않는 다양한 방선균의 분리를 위해 고려하여야 할 여러가지 요인중, 균분리원의 선택이 희소방선균의 분리에 미치는 영향을 조사하고자 토양특성이 상이한 몇가지 토양로부터 방선균을 분리하고 비교하였다.

### 재료 및 방법

#### 균분리원

균분리원으로는 1993년 4월 중순경에 대전시 유성구 소재의 삼림, 강가, 논, 초지, 밭등 토양 환경특성을

**Key words:** Rare actinomycetes, isolation, soil types, distribution

\*Corresponding author

달리하는 각 토양별로 5점 씩, 총 25점의 시료를 채취하여 사용하였다.

### 균분리 배지

균분리용 배지는 방선균의 선택적인 분리배지로서 많이 알려져 있는 Bennet's agar(glucose 10 g, yeast extract 1 g, bacto peptone 2 g, beef extract 1 g, agar 20 g, 증류수 1 l)와 humic acid-vitamin agar(humic acid 1 g, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.5 g, KCl 1.71 g, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.05 g, FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.01 g, CaCO<sub>3</sub> 0.02 g, agar 20 g, 증류수 1 l) 배지(9)를 사용하였다.

### 방선균 분리

채취한 각 토양시료는 전처리하지 않은 것과 100°C에서 1시간 열처리한 것을 각각 10<sup>-3</sup>~10<sup>-5</sup>으로 희석하여 Bennet's agar 배지와 humic acid-vitamin agar 배지에 접종하고 온도 28°C에서 2주 및 2개월간 배양하였다. 각 처리 및 기간별로 배양한 후 배지상에 나타난 각 colony를 Bennet's agar 배지상에 옮기고 다시 일정기간 배양한 후 형태적인 특성들을 상호 비교하여 상이한 균주를 순수 분리하였다.

### 방선균 동정

각기 분리된 방선균은 genus 수준에서 동정하였다. 즉 육안 및 광학현미경(long working distance 렌즈 장착)을 이용하여 일반적으로 방선균 동정에 필요한 각종 형태적인 특징을 조사하였다. 또한 thin layer chromatography(cellulose TLC, Merck 5715, 전개용매: methanol-H<sub>2</sub>O-5 N HCl-pyridine=80:15:5:10) 방법(10)에 의해 균사 세포벽 성분의 하나인 diaminopimelic acid의 형태를 조사하였으며 필요한 경우에는 ISP 방법(11)과 Bergey's manual(12)에 준하여 몇가지 생리화학적 특징을 조사하였고 이러한 결과들을 종합하여 각 분리균주의 genus를 판단하였다. 그러나 menaquinone, phospholipid, mycolic acid 등의 분석에 의해서 동정 및 구분이 가능한 *Nocardia*, *Amycolata*, *Amycolatopsis*, *Pseudoamycolata*는 구별하지 않고 *Nocardia* 균으로 종합하여 분류하였고 menaquinone, phospholipid 등의 분석에 의해 동정이 가능한 *Nocardioopsis*와 *Saccharothrix*는 구별하지 않고 *Nocardioopsis* 균으로 분류하였다. 그리고 본 실험에서와 같은 몇가지 방법에 의해 genus를 구분하여 동정하기 어려운 균주들은 기타균주로서 정리하였다.

## 결과 및 고찰

방선균 분리를 위하여 본 실험에 사용된 논, 밭, 초지, 삼림, 강가 등 총 25점의 토양시료를 균분리원으로 하여 Bennet's agar 배지상에서 218균주 그리고 humic acid-vitamin agar 배지상에서 346균주 등 총 546주의 방선균을 분리할 수 있었다. 각 균분리 배지별 분리된 방선균의 수와 genus 별 분포는 다음과 같았다.

### Bennet's agar 배지상의 방선균 분포

Bennet's agar 배지상에서 분리된 방선균 수를 각 토양특성별로 비교하면 밭토양에서 가장 많은 55균주가 분리되었다. 그리고 논토양에서는 46균주로서 그 다음으로 많이 분리되는 경향이었으며 초지, 삼림, 강가 토양에서는 상대적으로 적은 수가 분리되는 경향이었으나 큰 차이는 없었다. 분리된 방선균의 genus 별로는 *Streptomyces* 속이 142균주(65.1%), *Nocardia* 속이 39균주(17.9%), *Micromonospora* 속이 14균주(6.4%) 등으로 분리빈도가 높았으며 다음으로 *Nocardioopsis* 속, *Microbispora* 속, *Actinomadura* 속 균주의 순이었고 *Dactylosporangium* 속, *Nocardioides* 속, *Kineosporia* 속 등의 균주는 분리되지 않았다.

토양특성별 희소방선균의 분리빈도를 보면 논토양에서는 *Nocardia* 속과 *Micromonospora* 속 균주, 밭토양에서는 *Nocardia* 속, *Nocardioopsis* 속, *Micromonospora* 속, *Microbispora* 속 균주, 그리고 초지, 삼림, 강가토양에서는 *Nocardia* 속 균주의 분리빈도가 높았다. 그리고 강가 토양에서는 *Streptomyces* 속 균주의 분리빈도가 76.3%로 나타나 다른 토양에서는 60% 내외인데 비하여 특히 높은 경향이였다(Table 1).

### Humic acid-vitamin agar 배지상의 방선균 분포

Humic acid-vitamin agar 배지상에서 분리된 방선균수를 각 토양특성별로 비교하면 밭토양에서 가장 많은 76균주가 분리되었다. 그리고 삼림토양에서는 71균주, 논토양과 초지에서는 68균주로서 다음으로 많이 분리되는 경향이었으며 강가토양에서는 상대적으로 적은 수가 분리되는 경향이었으나 큰 차이는 없었다. 한편 삼림토양에서의 방선균 분리빈도가 Bennet's agar 배지에 비하여 humic acid-vitamin agar 배지상에서 높은 것은 배지성분의 차이에 의한 것으로 판단된다(9). 분리된 방선균의 genus 별로는 *Streptomyces* 속이 244균주(70.5%), *Microbispora* 속이 30균주(8.7%), *Micromonospora* 속이 21균주(6.1%), *Nocardia* 속과 *Actinomadura* 속이 각각 10균주(2.9%), *Streptosporangium* 속과 *Nocardioopsis* 속이 각각 8균주(2.3%) 등으로 비교적 분리빈도가 높았으며 그 다음

**Table 1. Distribution of actinomycetes from various types of soils (Bennet's agar)**

Soil type	Stm.	Mim.	Noc.	Mib.	Mit.	Sts.	Das.	Acm.	Ncd.	Ncp.	Pnc.	Kin.	Sap.	Oth	Total
Paddy field	29	5	9	1	1	1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	46
Isolation frequency(%)	63.0	10.9	19.6	2.2	2.2	2.2									
Field	36	3	9	2	ND	1	ND	ND	ND	4	ND	ND	ND	ND	55
Isolation frequency(%)	65.5	5.5	16.4	3.6		1.8				7.3					
Grass land	23	2	10	ND	ND	ND	ND	2	ND	2	ND	ND	ND	ND	39
Isolation frequency(%)	59.0	5.1	25.6					5.1		5.1					
Forest	25	2	6	2	ND	ND	ND	1	ND	ND	ND	ND	1	3	40
Isolation frequency(%)	62.5	5.0	15.0	5.0				2.5					2.5	7.5	
Riverside	29	2	5	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1	ND	ND	ND	1	38
Isolation frequency(%)	76.3	5.3	13.2							2.6				2.6	
Total	149	14	39	5	1	2	0	3	0	7	0	0	1	4	218
Isolation frequency(%)	65.1	6.4	17.9	2.3	0.5	0.9		1.4		3.2			0.5	1.8	100

\*Stm.: *Streptomyces*, Mim.: *Micromonospora*, Noc.: *Nocardia*, Mib.: *Microbispora*, Mit.: *Microtetraspora*, Sts.: *Streptosporangium*, Das.: *Dactylosporangium*, Acm.: *Actinomadura*, Ncd.: *Nocardioides*, Ncp.: *Nocardiosis*, Pnc.: *Pseudonocardia*, Kin.: *Kineosporia*, Sap.: *Saccharopolyspora*, Oth: Other unidentified actinomycetes, ND: Not detected

으로는 *Dactylosporangium* 속, *Nocardioides* 속, *Pseudonocardia* 속, *Microtetraspora* 속, *Saccharopolyspora* 속, *Kineosporia* 속 균주의 순서이었다.

토양특성별 희소방선균의 분리빈도를 보면 논토양에서는 *Micromonospora* 속, *Microbispora* 속, *Streptosporangium* 속 균주, 밭토양에서는 특히 *Microbispora* 속 균주, 초지에서는 *Micromonospora* 속, *Microbispora* 속, *Actinomadura* 속 균주, 삼림토양에서는 *Micromonospora* 속, *Microbispora* 속, *Dactylosporangium* 속 균주, 강가토양에서는 *Microbispora* 속, *Micromonospora* 속, *Nocardia* 속 균주의 분리빈도가 높았다. 그리고 전반적으로 *Microbispora* 속, *Micromonospora* 속, *Nocardia* 속, *Actinomadura* 속의 균주는 토양특성에 상관없이 각종 토양에 널리 분포하고 있는 것으로 판단되었다. 일부 국소적으로 분포하는 것으로서 *Streptosporangium* 속 균주는 논토양에, *Dactylosporangium* 속 균주는 삼림토양에, *Nocardiosis* 속 균주는 밭, 초지, 강가토양 등에 비교적 많이 분포하고 있는 것으로 나타났다(Table 2).

#### 토양특성별 방선균 분포

상기 두가지 배지상에서의 방선균 분리 결과를 종합하여 각 토양특성별로 비교하면 분리된 방선균수에 있어서는 밭토양에서 131균주로서 가장 많이 분리되었고 논토양에서 114균주, 삼림토양에서 111균주, 초지에서 107균주의 순서로 많이 분리되는 경향이었으며 강가토양에서는 101균주로서 상대적으로 적은 수가 분리되는 경향이였다. 분리된 방선균을 genus 별로 보면 *Streptomyces* 속이 386균주(68.4%), *Nocardia* 속이 49균주(8.7%), *Microbispora* 속과 *Micromonospora* 속이 각각 35균주(6.2%), *Nocardiosis* 속이 15균주(2.7%), *Actinomadura* 속이 13균주(2.3%), *Streptosporangium* 속이 10균주(1.8%) 등의 순으로 분리빈도가 비교적 높았으며 그 다음으로는 *Dactylosporangium* 속, *Nocardioides* 속, *Pseudonocardia* 속, *Microtetraspora* 속, *Saccharopolyspora* 속, *Kineosporia* 속 균주의 순이었다.

토양특성별로 희소방선균의 분리빈도를 보면 논토양에서는 *Nocardia* 속, *Micromonospora* 속, *Microbis-*

**Table 2. Distribution of actinomycetes from various types of soils (Humic acid-vitamin agar)**

Soil type	Stm.	Mim.	Noc.	Mib.	Mit.	Sts.	Das.	Acm.	Ncd.	Ncp.	Pnc.	Kin.	Sap.	Oth	Total
Paddy field	45	6	2	5	ND	5	ND	2	1	1	1	ND	ND	ND	68
Isolation frequency(%)	66.2	8.8	2.9	7.4		7.4		2.9	1.5	1.5	.15				
Field	53	2	1	10	ND	2	1	2	ND	3	1	1	ND	ND	76
Isolation frequency(%)	69.7	2.6	1.3	13.2		2.6	1.3	2.6		3.9	1.3	1.3			
Grass land	46	6	2	6	ND	ND	ND	4	1	2	ND	ND	ND	1	68
Isolation frequency(%)	67.6	8.8	2.9	8.8				5.9	1.5	2.9				1.5	
Forest	56	3	2	3	1	1	3	1	ND	ND	ND	ND	1	ND	71
Isolation frequency(%)	78.9	4.2	2.8	4.2	1.4	1.4	3.2	1.4					1.4		
Riverside	44	4	3	6	ND	ND	ND	1	ND	2	ND	ND	ND	3	63
Isolation frequency(%)	69.8	6.3	4.8	9.5				1.6		3.2				4.8	
Total	244	21	10	30	1	8	4	10	2	8	2	1	1	4	346
Isolation frequency(%)	70.5	6.1	2.9	8.7	0.3	2.3	1.2	2.9	0.6	2.3	0.6	0.3	0.3	1.2	100

\*Stm.: *Streptomyces*, Mim.: *Micromonospora*, Noc.: *Nocardia*, Mib.: *Microbispora*, Mit.: *Microtetraspora*, Sts.: *Streptosporangium*, Das.: *Dactylosporangium*, Acm.: *Actinomadura*, Ncd.: *Nocardioides*, Ncp.: *Nocardioopsis*, Pnc.: *Pseudonocardia*, Kin.: *Kineosporia*, Sap.: *Saccharopolyspora*, Oth: Other unidentified actinomycetes, ND: Not detected

pora 속, *Streptosporangium* 속 균주, 밭토양에서는 *Microbispora* 속, *Nocardia* 속, *Nocardioides* 속, *Micromonospora* 속 균주, 초지에서는 *Nocardia* 속, *Micromonospora* 속, *Microbispora* 속, *Actinomadura* 속 균주, 삼림토양에서는 *Nocardia* 속, *Micromonospora* 속, *Microbispora* 속 균주, 강가토양에서는 *Nocardia* 속, *Microbispora* 속, *Micromonospora* 속 균주의 분리빈도가 상대적으로 높았다. 그리고 전반적으로는 *Nocardia* 속, *Micromonospora* 속, *Microbispora* 속, *Actinomadura* 속 균주는 각종 토양에 널리 분포하고 있는 것으로 판단되었다. 그리고 국소적으로 분포하는 것으로서 *Streptosporangium* 속 균주는 논토양에, *Dactylosporangium* 속 균주는 삼림토양에, *Nocardioopsis* 속 균주는 밭, 초지, 강가토양 등에 비교적 많이 분포하고 있는 것으로 나타났다(Table 3).

#### 희소방선균 내재범위

희소방선균의 각 genus 별로 토양특성에 따른 분포 경향을 보면 Table 4와 같다. 희소방선균 중에서 가장

많이 분리된 *Nocardia* 속 균주는 9가지 type이 분리되었는데, 각 토양별로 8~11주 썩 고르게 분리되었고 특히 humic acid-vitamin agar 배지보다는 Bennet's agar 배지상에서 많이 분리되었다. 그 다음으로 많이 분리된 *Micromonospora* 속과 *Microbispora* 속 균주는 4가지 type이 분리되었는데 다소 차이는 있으나 각 토양별로 비교적 고르게 분포하였고 humic acid-vitamin agar 배지에서 상대적으로 많이 분리되었다. 그 다음으로 많이 분리된 *Nocardioopsis* 속 균주는 3가지 type이 분리되었는데, 밭, 초지, 강가토양에서는 몇 균주씩 분리되었으나 삼림토양에서는 분리되지 않았다. 그 다음으로 많이 분리된 *Actinomadura* 속 균주는 6가지 type이 분리되었는데, 다소 차이는 있으나 각 토양별로 비교적 고르게 분포하였고 humic acid-vitamin agar 배지에서 상대적으로 많이 분리되었다. 그 다음으로 많이 분리된 *Streptosporangium* 속 균주는 2가지 type이 분리되었는데, 논, 밭토양에서는 다소 분리되었으나 초지와 강가토양에서는 분리되지 않았고 humic acid-vitamin agar 배지에서 상대적으로

Table 3. Distribution of actinomycetes from various types of soils

Soil type	Stm.	Mim.	Noc.	Mib.	Mit.	Sts.	Das.	Acm.	Ncd.	Ncp.	Pnc.	Kin.	Sap.	Oth	Total
Paddy field	74	11	11	6	1	6	ND	2	1	1	1	ND	ND	ND	114
Isolation frequency(%)	64.9	9.6	9.6	5.3	0.9	5.3		1.8	0.9	0.9	0.9				20.2
Field	89	5	10	12	ND	3	1	2	ND	7	1	1	ND	ND	131
Isolation frequency(%)	67.9	3.8	7.6	9.2		2.3	0.8	1.5		5.3	0.8	0.8			23.2
Grass land	69	8	12	6	ND	ND	ND	6	1	4	ND	ND	ND	1	107
Isolation frequency(%)	64.5	7.5	11.2	5.6				5.6	0.9	3.7				0.9	19.0
Forest	81	5	8	5	1	1	3	2	ND	ND	ND	ND	2	3	111
Isolation frequency(%)	73.0	4.5	7.2	4.5	0.9	0.9	2.7	1.8					1.8	2.7	19.7
Riverside	73	6	8	6	ND	ND	ND	1	ND	3	ND	ND	ND	4	101
Isolation frequency(%)	72.3	5.9	7.9	5.9				1.0		3.0				4.0	17.9
Total	386	35	49	35	2	10	4	13	2	15	2	1	2	8	564
Isolation frequency(%)	68.4	6.2	8.7	6.2	0.4	1.8	0.7	2.3	0.4	2.7	0.4	0.2	0.4	1.4	100

\*Stm.: *Streptomyces*, Mim.: *Micromonospora*, Noc.: *Nocardia*, Mib.: *Microbispora*, Mit.: *Microtetraspora*, Sts.: *Streptosporangium*, Das.: *Dactylosporangium*, Acm.: *Acinomadura*, Ncd.: *Nocardioidea*, Ncp.: *Nocardiopsis*, Pnc.: *Pseudonocardia*, Kin.: *Kineosporia*, Sap.: *Saccharopolyspora*, Oth: Other unidentified actinomycetes, ND: Not detected

많이 분리되었다.

*Dactylosporangium* 속 균주는 humic acid-vitamin agar 배지상에서만 2가지 type이 분리되었는데 3균주가 삼림토양에서, 1균주는 밭토양에서 분리되었다. *Microtetraspora* 속과 *Saccharopolyspora* 속 균주는 각각 논과 밭토양 그리고 삼림토양에서 1가지씩, 특성이 유사한 2균주가 두가지 균분리 배지상에서 공히 분리되었다. *Nocardioidea* 속과 *Pseudonocardia* 속 균주는 각각 논과 초지토양 그리고 논과 밭토양에서 1가지씩, 특성이 유사한 2균주가 humic acid-vitamin agar 배지상에서만 분리되었다. *Kineosporia* 속 균주는 유일하게 밭토양에서 1균주가 humic acid-vitamin agar 배지상에서만 분리되었다(Table 4).

이상의 결과를 종합해 볼 때, 효율적으로 다양한 종류의 방선균을 분리하고자 하는 경우에는 1차적으로는 논, 밭, 삼림토양 등이 다소 유리하다고 하겠다. 그러나 비교적 다양하지는 않지만 삼림토양에서는 *Actinomadura* 속과 *Nocardiopsis* 속 균주가, 강가토양에서는 *Nocardiopsis* 속과 기타속 균주들이 잘 분리되는 특징을 나타냈다. 이러한 결과는 계절, 시기,

온도 등 여러가지 환경적 요인에 의해서 다소 달라질 수는 있겠지만 이와같은 적절한 균분리원의 선택에 따라서도 다양한 종류의 방선균 분리에 큰 영향을 미친다는 것을 알 수 있다. 그러므로 본 연구에 의해 얻어진 연구결과를 기초로 하여 각 screening 연구 목적에 맞게 합리적으로 적용하여 균분리원을 선정한다면 다양한 방선균을 탐색하게 되고 궁극적으로 각종 생리활성물질의 screening 효율성은 한층 높아질 것이다.

#### 분리된 *Streptomyces* 속 방선균의 형태적 특성

분리된 *Streptomyces* 속 방선균주들의 포자연쇄형태, 기균사색등 형태적 특징을 종합해 보면 Table 5와 같다. 이는 분리된 *Streptomyces* 속 균주중 기균사형성이 비교적 양호한 262균주에 대하여 조사한 결과인데, 기균사의 색깔은 전체의 58.4%에 해당하는 균주가 회색계열을 나타내 대부분을 차지하였으며 초록과 청색계열은 3.8%와 2.3%로서 희소하였다. 따라서 기균사색으로 판단할 때에 초록과 청색계열의 기균사를 나타내는 *Streptomyces* 속 방선균주들은 희

**Table 4. Incidence of rare actinomycete genera from various types of soils**

Genus	Species	DAP	Soil samples	Media
<i>Nocardioides</i>	1	LL	Pf(1), Gl(1)	HV(2)
<i>Kineosporia</i>	1	LL	Fi(1)	HV(1)
<i>Microtetraspora</i>	1	meso	Fi(1), Pf(1)	HV(1), B(1)
<i>Pseudonocardia</i>	1	meso	Pf(1), Fi(1)	HV(2)
<i>Dactylosporangium</i>	2	meso	Fo(3), Fi(1)	HV(4)
<i>Saccharopolyspora</i>	1	meso	Fo(2)	HV(1), B(1)
<i>Streptosporangium</i>	2	meso	Pf(6), Fi(3), Fo(1)	HV(8), B(2)
<i>Actinomadura</i>	6	meso	Pf(2), Fi(2), Gl(6), Fo(2), Rs(1)	HV(10), B(3)
<i>Micromonospora</i>	4	meso	Pf(11), Fi(5), Gl(8), Fo(5), Rs(6)	HV(21), B(14)
<i>Microbispora</i>	4	meso	Pf(6), Fi(12), Gl(6), Fo(5), Rs(6)	HV(30), B(5)
<i>Nocardiosis</i> ( <i>Saccharothrix</i> )	3	meso	Pf(1), Fi(7), Gl(4), Rs(3)	HV(8), B(7)
<i>Nocardia</i> ( <i>Amycolata</i> , <i>Amycolatopsis</i> , <i>Pseudoamycolata</i> )	9	meso	Pf(11), Fi(10), Gl(12), Fo(8), Rs(8)	B(39), HV(10)

\*DAP: diaminopimelic acid, Pf: paddy field, Fi: field, Gl: grass land, Fo: forest, Rs: riverside, HV: humic acid-vitamin agar, B: Bennet's agar, LL: LL-DAP, meso: meso-DAP

**Table 5. Morphological characteristics of isolated streptomycete strains**

Soil type	Spore chain morphology	Aerial mass color						Total (%)	
		Grey	Red	Yellow	Green	Blue	Poor		
Paddy field	S, RA	23	3	ND	ND	ND	6	32	59.3
	RF	15	2	1	ND	ND	4	22	40.7
Field	S, RA	20	8	1	1	1	4	35	63.6
	RF	12	1	3	ND	ND	4	20	36.4
Grass land	S, RA	20	5	2	1	4	6	38	77.6
	RF	5	2	2	ND	ND	2	11	22.4
Forest	S, RA	21	10	ND	4	ND	3	38	80.1
	RF	6	2	1	ND	ND	ND	9	19.9
River-side	S, RA	22	8	2	4	1	2	39	68.4
	RF	9	5	2	ND	ND	2	18	31.6
Total		153	46	14	10	6	33	262	
Isolation frequency (%)		58.4	17.6	5.3	3.8	2.3	12.6	100	

\*S; *Spirales*, RA: *Retinaculiaperti*, RF: *Rectiflexibiles*, ND: not detected

소 *Streptomyces* 속 균주군에 해당된다고 할 수 있을 것이다.

포자연쇄형태에 있어서는 *Spiral* 또는 *Retinaculiaperti* 형태를 보인 균주가 전체의 69.5%, *Rectiflexibiles* 형태를 보인 균주가 30.5%에 해당하였다. 균분리원인 토양의 특성별로 비교해 볼 때는, 기균사색에 있어서는 특별한 특징이 없었으나 포자연쇄형태에 있어서는 *Spiral* 또는 *Retinaculiaperti* 형태를 나타내는 균주가 삼림과 초지토양에서 각각 80.1%와 77.6%로서

비교적 많은 경향이었고 논토양에서는 59.3%로서 상대적으로 적은 경향이었던(Table 5).

## 요 약

토양시료로부터 희소방선균을 포함하여 다양한 방선균을 분리하고자 할 때 고려하여야 할 여러가지 요인중 균분리원의 선택이 희소방선균 분리에 미치는 영향을 조사하였다. 대전시 유성구 소재의 삼림, 강가,

논, 초지, 밭 등 총 25점의 토양시료로부터 Bennet's agar 배지상에서 218균주 그리고 humic acid-vitamin agar 배지상에서 346균주 등 총 546균주를 분리하고 genus 수준에서 동정하였다.

분리된 방선균수로서는 밭토양에서 131균주로 가장 많이 분리되었고 논토양에서 114균주, 삼림토양에서 111균주, 초지에서 107균주로서 다음으로 많이 분리되었으며 강가토양에서는 101균주로서 상대적으로 적은 수가 분리되었다. 분리된 방선균을 genus 별로 보면 *Streptomyces* 속이 386균주(68.4%), *Nocardia* 속이 49균주(8.7%), *Microbispora* 속과 *Micromonospora* 속이 각각 35균주(6.2%), *Nocardiopsis* 속이 15균주(2.7%), *Actinomadura* 속이 13균주(2.3%), *Streptosporangium* 속이 10균주(1.8%) 등의 순으로 분리빈도가 비교적 높았으며 그 다음으로는 *Dactylosporangium* 속, *Nocardioides* 속, *Pseudonocardia* 속, *Microtetraspora* 속, *Saccharopolyspora* 속, *Kineosporia* 속 균주의 순서이었다.

토양특성별 희소방선균의 분리빈도를 보면 논토양에서는 *Nocardia* 속, *Micromonospora* 속, *Microbispora* 속, *Streptosporangium* 속 균주 밭토양에서는 *Microbispora* 속, *Nocardia* 속, *Nocardiopsis* 속, *Micromonospora* 속 균주, 초지에서는 *Nocardia* 속, *Micromonospora* 속, *Microbispora* 속, *Actinomadura* 속 균주, 삼림토양에서는 *Nocardia* 속, *Micromonospora* 속, *Microbispora* 속 균주, 강가토양에서는 *Nocardia* 속, *Microbispora* 속, *Micromonospora* 속 균주의 분리빈도가 상대적으로 높았다. 그리고 전반적으로 볼 때 *Nocardia* 속, *Micromonospora* 속, *Microbispora* 속, *Actinomadura* 속 균주는 각종 토양에 널리 분포하고 있는 것으로 판단된다. 그리고 국소적으로 분포하는 것으로서 *Streptosporangium* 속 균주는 논토양에, *Dactylosporangium* 속 균주는 삼림토양에, *Nocardiopsis* 속 균주는 밭, 초지, 강가토양에 비교적 많이 분포하고 있는 것으로 나타났다. 이상의 결과를 종합해 볼 때, 효율적으로 다양한 종류의 방선균을 분리하고자 하는 경우에는 1차적인 균분리원으로서 논, 밭, 삼림토양 등이 유리하다고 하겠다.

한편 분리된 *Streptomyces* 속에 속하는 균주의 기균사의 색깔은 58.4%가 회색이었으며 초록과 청색은 각각 3.8%와 2.3%로서 희소하였다. 포자연쇄형태에 있어서는 *Spiral* 또는 *Retinaculiaperti* 형태를 보인 균주가 전체의 69.5%, *Rectiflexibiles* 형태를 보인 균주가 30.5%에 해당하였다. 균분리원인 토양의 특성 별로 비교해 볼 때는, 기균사색에 있어서는 특별한 특징이 없었으나 포자연쇄형태에 있어서는 *Spiral* 또

는 *Retinaculiaperti* 형태를 나타내는 균주가 삼림과 초지토양에서 각각 80.1%와 77.6%로서 비교적 많은 경향이었고 논토양에서는 59.3%로서 상대적으로 적은 경향이였다.

## 참고문헌

1. Okami, Y. and K. Hotta. 1988. Search and discovery of new antibiotics, Pp. 33-67. In M. Goodfellow(ed.), *Actinomycetes in biotechnology*, Academic Press, London.
2. Iwai, Y. and Y. Takahashi. 1992. Selection of microbial sources of bioactive compounds, Pp. 281-302. In S. Omura(ed.), *The Search for Bioactive Compounds from Microorganisms*, Springer-Verlag, New York.
3. Okazaki, T. 1987. Rare actinomycetes, new breed of actinomycetes. *J. microorganism.* 3: 453-461.
4. Horikoshi, K. and T. Akiba. 1987. *Microorganisms as Cattle*, Pp. 3-8. In *Yomiuri Science*, Vol. 20, Yomiuri Press, Tokyo.
5. Zaehner, H., H. Drautz, P. Fiedler, R. Grote, W. Keller-Schierlein, W.A. Koenig, and A. Zeeck. 1988. *Ways to new metabolites from actinomycetes*, Pp. 171-183. In Y. Okami(ed.), *Biology of Actinomycetes '88*, Japan Scientific Societies Press, Tokyo.
6. Berdy, J. 1989. The discovery of new bioactive microbial metabolites: screening and identification, Pp. 3-25. In M.E. Bushell(ed.), *Bioactive Metabolites from Microorganisms*, Elsevier, Amsterdam.
7. 김창진. 1994. 미생물의 관점에서 본 신규 생리활성 물질 탐색 전략. *생물산업* 7: 6-8.
8. 김창진. 1992. 자연계로부터 방선균의 선택적인 분리 및 탐색. *미생물과 산업* 18: 35-40.
9. Hayakawa, M. and H. Nonomura. 1987. Humic acid-vitamin agar, a new medium for the selective isolation of soil actinomycetes. *J. Ferment. Technol.* 65: 501-509.
10. Lechevalier, M.P. and H. Lechevalier. 1970. Chemical composition as a criterion in the classification of aerobic actinomycetes. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 20: 435-443.
11. Shirling, E.B. and D. Gottlieb. 1966. Methods for characterization of *Streptomyces* species. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 16: 313-340.
12. Lechevalier, H.A. 1989. A practical guide to generic identification, Pp. 2344-2347. In S.T. Williams, M.E. Sharpe, and J.G. Holt(ed.), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol. 4, Williams & Wilkins, Baltimore.

(Received 1 October 1994)