

항진균성 항생물질을 생산하는 *Streptovercillium* sp. NA-4803의 분리 및 동정

임대석 · 윤상균¹ · 이명섭 · 윤원호² · 김창한*

건국대학교 동물자원연구센터 분자세포생물학교실
¹한국야쿠르트 중앙연구소, ²서일전문대학 식품가공학과

Isolation and Identification of *Streptovercillium* sp. NA-4803 Producing Antifungal Substance. Dae-Seog Lim, Sang-Kun Yoon¹, Myung-Sub Lee, Won-Ho Yoon² and Chang-Han Kim*. *Laboratory of Molecular Cell Biology, Animal Resources Research Center, Konkook University, Seoul 143-701, ¹Hankuk Yakult Milk Products Co., R & D Center 418-12 Komaeri, Kiheung-eup, Yongin-kun, Kyunggi-do 449-900, ²Department of Food Processing, Seoil Junior College, Seoul 131-208, Korea* - The aim of the present research program was to develop a strain of actinomycetes producing antifungal substance. Soil samples were collected from various sites in Korea and a number of actinomycetes were isolated from the soil samples by applying selective agar for actinomycetes. Among over 440 isolates, a strain (NA-4803) producing antifungal substance against *Trichophyton* spp. *Nannizzia otae* and *Pyricularia oryzae* was selected. The strain NA-4803 was identified as strain similar to *Streptovercillium blastmyceticum* with respect to morphological and physiological characteristics, lecithinase and lipolytic activity, degradation of organic compounds, resistance to antibiotics and utilization of carbon and nitrogen sources. But it showed some differences such as positive reaction of nitrate reduction, negative reaction of L-tyrosine degradation, resistance to cephaloridine, and utilization of I-rhamnose and inulin. The strain NA-4803 was named as *Streptovercillium* sp. NA-4803.

항진균성 항생물질에 대한 연구는 1960년대 이후부터 진균성 질환의 치료목적과 더불어 각종 농작물의 항생물질을 이용한 진균성 병해의 방제나 농축산물 가공식품의 방부 또는 보존성을 높이기 위한 목적으로 시작하여 현재까지 일본, 미국 등 여러나라에서 활발히 연구되고 있다. 항진균성 항생물질을 생산하는 균주는 대부분이 *Streptomyces*속에서 속하며, 그 외 *Streptovercillium*, *Streptosporangium*, *Aspergillus*, *Nocardia* 및 *Actinomadura* 등의 균주가 생산하는 것으로 보고되고 있다(1).

현재 사용되고 있는 항진균성 항생물질은 *Aspergillus* 등에 억제 효과를 가지는 amphotericin B, *Candida*증의 치료제인 nystatin, 피부 사상균인 *Trichophyton*, *Microsporum*, *Epidermophyton* 균속에 억제 효과를 가지는 tolnaftate, miconazole, clotrimazole, 또한 스포로트리크스증의 치료제인 iodides, *Candida*와 *Cryptococcus*, *Aspergillus* 등에 항균력을 갖는 polyene계 항생물질 등으로서 인체나 동물자체에 대한 독성이나 부작용, 좁은 항진균 스펙트럼, 물에 대한 용해성이 낮은 점 등의 문제로 인해서 실제의 사용에 있어서 만족스럽지 못한 것으로 평가되고 있다. 그래서 근래에는 수용성이 큰 항진균성 항생물질, 항균스펙트럼이 광범위한 항진균성

물질, 기존의 항진균성 물질의 수용성을 높이는 연구 등에 관해서 보고되고 있다(2).

국내에서도 새로운 질병 치료제의 탐색 및 이에 관한 연구가 유기합성 방법에 의하여 주로 진행되고 있으며, 미생물과 천연물을 대상으로도 어느정도 수행되고 있다고 보겠으나 벼 문고병(3), 고추역병(4) 등 농작물의 진균성 피해를 방지하기 위한 농약의 개발에 초점을 맞추어 연구를 수행한 몇몇 결과만이 발표되었을 뿐, 동물의 진균성 질환에 대한 치료제의 개발에 대한 보고는 거의 없는 상태이다.

본 연구에서는 인체진균증은 물론 농작물진균증에도 다소 항진균력을 나타내고, 단기간에 진균류를 사멸시킬 수 있으며 저독성인 항진균성 항생물질을 개발하기 위하여 토양으로부터 항진균활성을 나타내는 미생물을 탐색하였으며, 분리된 균주들중 항진균활성이 우수한 미생물 NA-4803을 동정하였다.

재료 및 방법

방선균의 분리

전국 각지에서 5~10 cm 깊이의 미경작지 토양을 채취하여 3주일간 그늘에서 풍건한 다음 100°C의 drying oven에서 1시간 건열처리한 것과 건열처리하지 않은 토양시료로 나누어 각각 1g씩을 멸균증류수 10 ml에 넣어 약 1분간 vortexing한 후 방치한 다음 그

*Corresponding author.

Key words: Antifungal antibiotic, numerical identification, *Streptovercillium blastmyceticum*.

상징액을 10배 희석법으로 멸균증류수로 희석하여 그 희석액 1 ml씩을 각각 멸균 petri dish에 취하고 방선균 분리용 평판배지 20 ml씩을 각각 주입하여 평판을 만든 다음 28°C에서 7~14일간 배양하였다. 평판에 나타난 콜로니들중에서 방선균의 형태적 특성이 인정되는 균주들을 분리하였다.

항균활성 측정

전배양을 2일간 실시하고 4일간의 본배양이 끝난 배양액을 3,000 rpm에서 15분간 원심분리하여 상징액과 균체를 분리하여 세균 및 진균류에 대하여 *in vitro* 항균활성검정을 실시하였다. 세균은 glucose bouillon 배지, 진균류는 potato dextrose agar, 그리고 녹조류는 Arnon's A-5 배지를 사용하였고, 검정평판은 균의 종류에 따라 중층검정평판과 단층검정평판을 조제하여 사용하였으며, 중층검정평판의 조제는 배지 20 ml를 petri dish에 부어 응고시켜 하층을 만들고 진탕 또는 정치배양한 검정균을 동일배지에 접종하여 4~5 ml를 하층배지위에 중층으로 만들었고, 단층검정평판은 균을 접종한 배지 약 5 ml를 단층으로 하여 평판을 조제하여 사용하였다. 항균활성의 측정시 상징액은 penicillin의 공정검정법에 준한 원통평판법, 균체는 증류수로 두번 세정한 후 균체량과 같은 양의 acetone으로 추출하여 paper disk method에 따라 행하였으며, 28~37°C, 18~24시간 배양하여 평판에 나타난 저지원의 직경(mm)을 측정하여 그 항균활성으로 나타내었다.

사용배지

방선균 선택분리배지는 1% glycerin, 1% soluble starch, 0.03% casein, 0.2% KNO₃, 0.2% K₂HPO₄, 0.2% NaCl, 0.005% MgSO₄·7H₂O, 0.001% FeSO₄·7H₂O, 0.001% thiamine·HCl, 0.9% agar를 함유하는 S 배지(pH 7.0~7.2)와 0.1% glucose, 0.1% glycerol, 0.03% K₂HPO₄, 0.03% MgSO₄·7H₂O, 0.03% NaCl, 0.03% L-asparagine에 0.1% trace salts solution, 1% vitamins solution, 1% antibiotics solution을 함유하는 AV 배지(pH 6.4)를 사용하였고, 분리한 방선균의 보존용배지는 Bennett's 배지를 사용하였다(5).

세균검정평판을 위한 배지는 0.3% glucose, 1% polypeptone, 0.5% NaCl, 1% meat extract, 1% agar를 함유하는 glucose bouillon 배지(pH 7.0)를 사용하였고, 진균검정평판을 위한 배지는 potato dextrose agar (PDA, 합성배지)를 사용하였으며, 녹조류검정평판을 위한 배지는 0.1% KH₂PO₄, 0.1% MgSO₄·7H₂O, 0.0005% FeSO₄·7H₂O, 0.1% Arnon's A-5 solution, 0.5% yeast extract, 2% glucose, 1.2% agar를 함유하는 Arnon's A-5 배지를 사용하였다. 한편, 항생물질생산을 위한 전배양배지는 1% glucose, 0.2% polypeptone, 0.1% yeast extract, 0.1% meat extract, 0.05% asparagine,

0.01% thiamine·HCl을 함유하는 PCII 배지(pH 7.0)와 0.5% glucose, 0.3% polypeptone, 0.2% yeast extract, 0.5% meat extract, 1% soluble starch, 1% glycerol, 0.1% casein(from milk), 0.2% CaCO₃, 0.001% thiamine·HCl을 함유하는 PY 본배양배지(pH 7.0)를 사용하였다. 균주동정을 위한 배지는 ISP에서 제시한 배지를 사용하였다(6).

균주의 동정

분리균주의 수리동정을 위해 사용된 형태학적, 생리생화학적 특성분석은 Williams 등의 방법을 따랐다(7,8). 탄소원이용 이외의 모든 시험에서는 Bennett's 배지에서 14일간 배양한 후 멸균증류수 4 ml를 넣어 포자현탁액을 만들고, 이 포자현탁액을 멸균시험관에 무균적으로 옮겨서 접종원으로 사용하였다(9).

형태학적 특성 분석 기균사의 형태는 Bennett's 배지를 이용한 Groove method(10)로 28°C에서 14일간 배양한 후 위상차현미경으로 관찰하였으며, ISP 배지(6)에 배양하면서 기균사의 색깔, 배면색깔 등 콜로니 형태를 관찰하였다. 기균사 포자사슬의 관찰은 주사전자현미경(Model S-800, Hitachi, Japan)으로 12,000배로 관찰 및 촬영하였다.

세포벽의 diaminopimelic acid 이성체와 아미노산 분석 분리균주 NA-4803을 tryptic soy broth 배지로 7일간 진탕배양한 후 원심분리(11,000 g, 15분)에 의하여 균체를 회수하고 회수한 균체를 멸균증류수로 3회 세척한 후 동결건조하였다. DAP와 아미노산 분석을 위하여 동결건조된 균사 20 mg을 6 N HCl 5 ml와 같이 시험관에 넣고 밀봉한 후 100°C에서 18시간 가수분해하여 여과, 탈염산, 농축하고 이 농축액을 cellulose TLC (10×10 cm, HFTLC Cellulose, Merck Co.)의 시료로 하여 methanol-water-5 N HCl-pyridine(80 : 15 : 5 : 10)으로 전개시킨 다음 acetic ninhydrin으로 발색시켜 Sigma사 표준제품과 비교하였다(11).

세포내의 당분석 동결건조한 세포 50 mg을 시험관에 넣고 밀봉한 후 6 N HCl로 2시간 가수분해시키고 Ba(OH)₂로 pH 5.0~5.2로 중화시킨 다음 원심분리(11,000 g, 15분)하여 침전물을 제거하고 상징액을 감압농축한 후 이를 0.3 ml의 증류수에 녹여 TLC 시료로 사용하였다. n-butanol-water-pyridine-toluene(10 : 6 : 6 : 1, 1% acetic acid 함유) 용매로 전개시킨 다음 2 g diphenylamine, 2 g aniline, 10 ml 85% phosphoric acid, 90 ml methanol 혼합액의 발색제로 발색시켜 세포내의 당을 확인하였다(12).

종의 수리동정을 위한 특성 분석 종의 동정은 Williams 등(7,8)의 방법에 따라 시험하였고, 형태 및 색소 형성, 항균력시험, 분해능 및 항생물질 내성시험, lecithinase 및 lipolytic 활성시험(13), 성장 및 영양요구성 시험등은 평판배지를 사용하였으며 질산염환원, 황화

수소(H₂S) 생성, hippurate 가수분해와 arbutin 분해능 시험은 시험관을 사용하였다. 접종된 배지는 28°C에서 일정기간 배양하여 결과를 관찰하였다. 모든 시험결과는 Williams 등(7,8)의 분류기준과 비교하여 동정하였다.

결과 및 고찰

항생물질 생산균의 선별

경주, 충남청양과 도고 및 서울근교 등 전국각지의 미경작지 토양에서 채취한 토양시료로부터 방선균 441 균주를 분리하였다.

분리한 방선균들을 PCII 배지에서 2일간 전배양한 후 2%의 전배양액을 PY 배지에 접종하여 4일간 배양한 다음 배양상징액을 얻었다. 각각의 균주들의 배양 상징액을 Table 1의 검정균주들에 대해 항균활성을 측정된 결과, 항진균활성을 나타내는 항생물질을 생산하는 분리균주는 16균주였으며, 그 중 비교적 강한 항진균 활성을 보이는 균주는 6균주였다(Table 1).

6균주 중 *Trichophyton mentagrophytes*, *Nannizzia otae* 및 *Pyricularia oryzae*에 광범위한 항진균스펙트럼을 나타내는 NA-4803균주를 공시균주로 최종 선별하였다.

분리균주 NA-4803의 동정

형태학적 특성 분리균주 NA-4803의 기균사 형태는 Bennett's agar 평판에서 14일간 배양하여 위상차현미경(×400, ×1000)으로 관찰한 결과, monoverticillate 형태(Fig. 1)이며, 포자표면의 형태는 ISP 3 평판배지에서 14일간 배양하여 주사전자현미경으로 관찰한 결과, 긴 직선상을 이루고 있고 smooth의 전형적인 형태를 갖고 있었다(Fig. 2).

세포벽의 diaminopimelic acid 이성체와 아미노산 조성 세포벽 DAP isomer와 아미노산 조성을 조사한



Fig. 1. Microphotograph of strain NA-4803.

Table 1. Antimicrobial activity of culture broth of 6 isolates.

Test microorganism	Inhibition zone (mm)*					
	NA-198	NA-216	NA-221	NA-386	NA-387	NA-4803
< Gram positive bacteria >						
<i>Bacillus subtilis</i> IAM 1069 (NIHJ PCI 219P)	30	0	0	0	0	9
<i>Staphylococcus aureus</i> (TK 784)	18	18	0	0	0	0
<i>Mycobacterium phlei</i> DIPH IFO 3518	35	23	0	0	0	16
<i>Sarcina lutea</i>	22	0	0	0	0	10
< Gram negative bacteria >						
<i>Escherichia coli</i>	25	21	0	0	0	11
<i>Pseudomonas fluorescense</i> IAM 1201	0	20	0	0	0	0
< Yeast >						
<i>Candida albicans</i> IAM 4905	0	0	0	0	0	0
<i>Cryptococcus neoformans</i> ATCC 13690	0	15	0	0	0	0
< Fungi >						
<i>Mucor ramannianus</i> IAM 6218	0	0	0	0	0	19
<i>Pyricularia oryzae</i> IFO 5994	23	28	19	24	17	47
<i>Aspergillus fumigatus</i> ATCC 42202	0	0	0	0	0	9
<i>Trichophyton mentagrophytes</i> ATCC 18749	11	17	24	30	30	23
<i>Trichophyton rubrum</i> ATCC 44766	25	23	0	0	0	22
<i>Nannizzia otae</i> IAM 12728	0	0	0	0	0	27
<i>Nannizzia gypsea</i> IAM 12722	0	0	0	0	0	0
< Algae >						
<i>Chlorella regularis</i>	0	19	0	0	0	19

*Antimicrobial activity was measured by cylinder method.

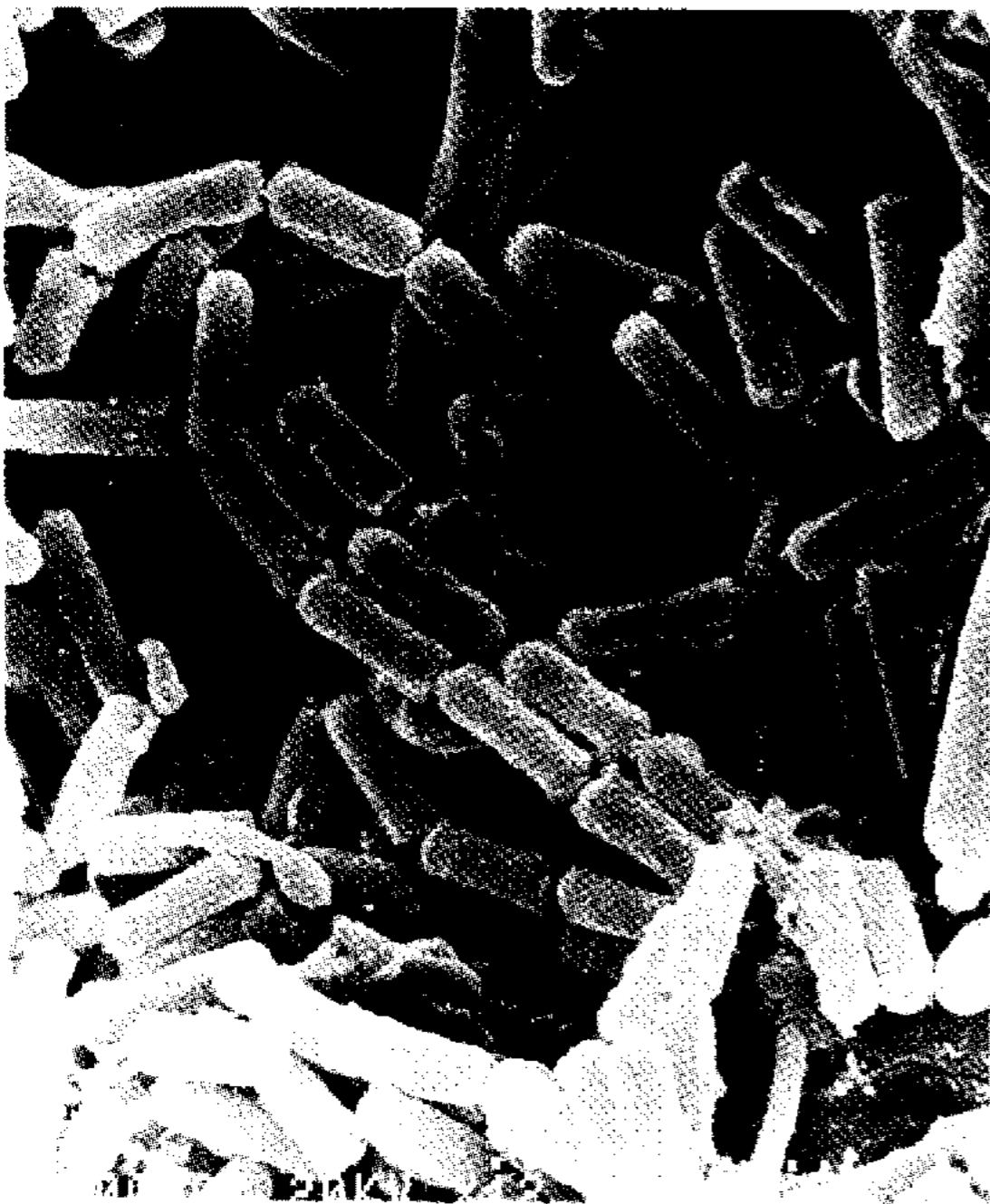


Fig. 2. Scanning electron microphotograph of spore surface of strain NA-4803. Medium: yeast extract-malt extract agar, Cultivation: 27°C for 14 days.

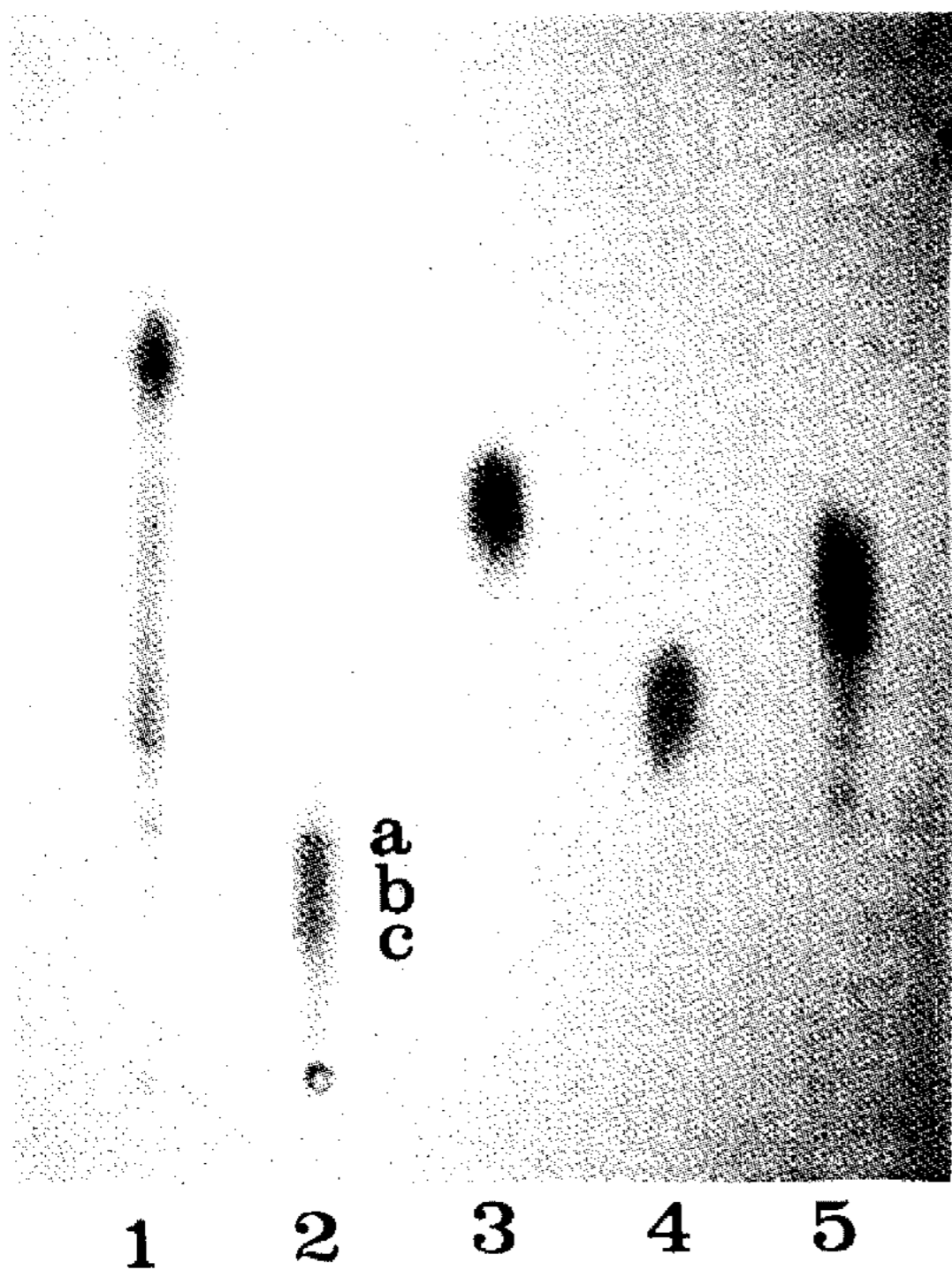


Fig. 3. Cellulose thin layer chromatogram of cell wall diaminopimelic acid (DAP) isomers and amino acids. Lane 1: whole cell hydrolysate of strain NA-4803, Lane 2: DAP isomers (a: LL-DAP, b: meso-DAP, c: 3-OH-DAP), Lane 3: alanine, Lane 4: glycine, Lane 5: glutamate.

결과, 세포벽의 peptide는 glycine으로 연결된 peptidoglycan type A3Y이며, wall type I으로 밝혀졌다(Fig. 3).

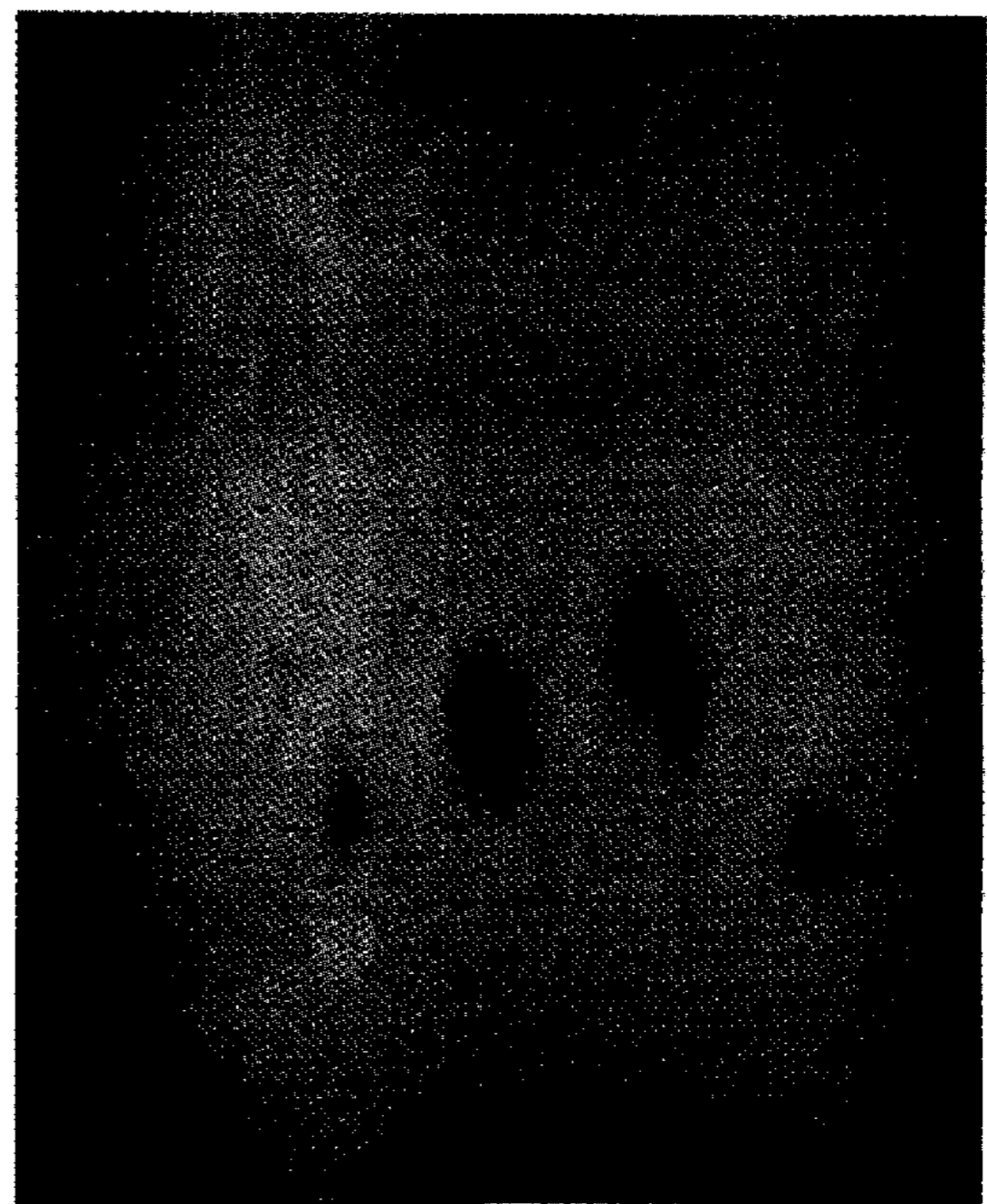


Fig. 4. Cellulose thin layer chromatogram of whole cell sugar extract. Lane 1: whole cell extract, Lane 2: glucose, Lane 3: arabinose, Lane 4: xylose, Lane 5: galactose.

세포내의 당성분 세포내의 당은 특징적인 당이 나타나지 않는 sugar pattern C(14)에 해당하는 것으로 판명되었다(Fig. 4).

따라서, 분리균주 NA-4803은 전형적인 기균사의 형태에 비추어 볼때, *Streptoverticillium* 속으로 동정되었다(Table 2).

생리적 특성, 항균활성, 효소활성, 각종 유기물의 분해력, 항생물질에 대한 저항성, 온도, pH 및 화학저해제의 첨가에 따른 생육, 질소원의 이용성 및 탄소원의 이용성 등에 있어서 Williams 등(7,8)이 보고한 Cluster group F에 속하며 Cluster No. 58에 해당하는 *Streptoverticillium blastmyceticum*과 가장 유사하게 비교·동정되었으나 nitrate 환원성의 양성반응, L-tyrosine 분해력의 음성반응 및 cephaloridine에 대한 저항성에 음성반응을 보였고, 탄소원 중 L-rhamnose와 inulin을 이용하는 것으로 보아 *Streptoverticillium blastmyceticum*과 몇가지 다른 특성을 나타내었다. 따라서 분리균주 NA-4803을 *Streptoverticillium* sp. NA-4803으로 명명하였다(Table 3).

Streptoverticillium spp.의 특징으로 기균사의 형태는 cottony의 형태를 갖는 것이 많으며, 길고 직선상의 filament를 형성하며 일정한 간격을 두고 가지를 치고 있는데, 이 가지의 형태는 Baldacci 등(15)의 분류에 의하여 monoverticillate sporophore, umbellate monoverticillate sporophore 및 biverticillate sporophore의 세가지로 분류되고 있다. Cluster No. 58에 속하는 균

Table 2. Comparison of diagnostic characteristics among *Streptomyces*, *Streptovorticillium* and strain NA-4803.

Characteristics	<i>Streptomyces</i>	<i>Streptovorticillium</i>	NA-4803
Colony size	Discrete	Discrete	Discrete
Substrate mycelium	+	+	+
Spore	+	-	-
Sporangia	-	-	-
Motile spore	-	-	-
Aerial mycelium	+	+	+
Chains of arthrospores	+	+	+
Arthrospore in verticils	-	+	+
Spore surface smooth	+	+	+
Spore surface hairy, spiny, or warty	+	-	-
Motile spores	-	-	-
Sugar in hydrolysates			
Arabinose, galactose, xylose	-	-	-
DAP isomer in cell wall			
LL-DAP	+	+	+
meso-DAP	-	-	-

Table 3. Characteristics of strain NA-4803.

Characteristics	<i>Stv. blastmyceticum</i>	Strain NA-4803
Morphology and pigmentation		
presence of spores (aerial mycelium)	5	+
Spore chain morphology		
Rectiflexibles	0	-
Retinaculiaperti	0	-
Spirales	0	-
Verticillati	5	+
Spore chain ornamentation		
Smooth	5	+
Warty	0	-
Spiny	0	-
Hairy	0	-
Rugose	0	-
Production of aerial spore mass	5	+
Color of spore mass		
Red	2	-
Yellow	2	-
Gray	0	-
Blue	1	-
White	0	+
Melanoid pigment production in Tryptone-yeast ext. broth (ISP No. 1)	2	-
Nitrate reduction Degradation of organic compound	0	+
L-tyrosine	5	-
Xanthin	0	+
RNA	5	-
Urea	5	-
Antibiotics ($\mu\text{g/ml}$)		
Cephaloridine (100)	5	-
Carbon source (1.0% w/v)		
L-rhamnose	0	+
Inulin	0	+

*Values in the *Stv. blastmyceticum* column are the percentage of strains with positive character states among 5 strains in cluster No. 58.

주인 *Streptomyces caespitosus*(ISP 5604), *Streptoverticillium blastmyceticum*(ISP 5029), *Streptoverticillium griseoverticillatum*(ISP 5507) 및 *Streptoverticillium orinoci*(ISP 5571)는 umbellate monoverticillate type인 반면 *Streptoverticillium mobaraense*(ATCC 29032)와 분리균주 NA-4803은 monoverticillate type이었다. 또한, ISP (16)에 보고된 이들 균주의 생리적 및 생육특성을 분리균주 NA-4803과 비교하여 보았을 때 분리균주 NA-4803은 melanin 색소를 형성하지 않는 nonchromogenic type의 균주인 반면, *Stv. blastmyceticum*과 *Stv. caespitosus*는 melanin 색소를 형성하는 chromogenic type의 균주라는 점에서 차이가 있었으며, *Stv. griseoverticillatum*은 당이용성 면에서는 분리균주 NA-4803과 rhamnose의 이용성을 제외하고 모두 같았으며, 기균사는 분리균주 NA-4803이 흰색을 나타낸 반면, *Stv. griseoverticillatum*은 붉은색을 나타내었다. *Stv. orinoci*는 분리균주 NA-4803과 비교하여 당이용성에 있어서 상당한 차이를 나타내었다. 즉 분리균주 NA-4803은 glucose, fructose, rhamnose 및 inositol을 이용한 반면, *Stv. orinoci*는 glucose외에는 전혀 이용하지 못하였다. 그리고 *Stv. mobaraense*는 spore mass의 색깔과 melanin 색소를 형성하지 않는 점에 있어서 분리균주 NA-4803과 유사한 결과를 보였으나 glycerol-asparagine agar상에서의 생육도에서 *Stv. mobaraense*는 생육도가 좋은 반면, 분리균주 NA-4803은 거의 자라지 않았다.

*Streptoverticillium blastmyceticum*은 현재까지 teleocidin 계통의 tumor promoter를 생산하는 균주로서 보고된 반면(17-19), 본 균주 *Streptoverticillium* sp. NA-4803은 항진균스펙트럼이 광범위한 항진균성 항생물질을 생산하는 것으로 볼 때, 신규 항진균성 항생물질을 생산할 가능성이 높은 것으로 추정되었다.

요 약

전국 각지의 토양에서 441균주의 방선균을 분리한 결과 *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton rubrum*, *Nannizzia otae* 및 *Pyricularia oryzae* 등의 진균에 광범위한 항진균활성을 나타내는 방선균 NA-4803을 선발하여 그 균주의 동정을 실시하였다. 분리균주 NA-4803은 Gram 양성세균 4균주, Gram 음성세균 2균주, 효모 2균주, 곰팡이 5균주, 조류 1균주에 대해 약한 항진균활성을 보이는 반면, 곰팡이 *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton rubrum*, *Nannizzia otae* 및 *Pyricularia oryzae*에 대해서는 비교적 강한 항진균활성을 나타내었다. 분리균주 NA-4803은 생리적 특성, 항진균활성, lecithinase 및 lipolytic 활성, 각종 유기물의 분해력, 항생물질에 대한 저항성, 온도, pH 및 화학저해제의 첨가에 따른 생육, 질소원의 이용성 및 탄소원의

이용성 등에 있어서 cluster group F에 속하며 Cluster No. 58에 해당하는 *Streptoverticillium blastmyceticum*과 가장 유사하게 비교·동정되었으나 nitrate 환원성의 양성반응, L-tyrosine 분해력의 음성반응 및 cephaloridine에 대한 저항성에 음성반응을 보였고, 탄소원 중 L-rhamnose와 inulin을 이용하는 것으로 보아 *Streptoverticillium blastmyceticum*과 다른 특성을 나타내었다. 따라서 분리균주 NA-4803은 *Streptoverticillium* sp. NA-4803으로 동정되었다.

감사의 글

본 연구는 전국대학교 동물자원연구센터의 중점육성 과제 연구비 지원에 의하여 수행되었으며 지원에 감사드립니다.

참고문헌

1. Porter, J.N. 1975. Cultural conditions for antibiotic-producing microorganisms, pp. 3-23. In John H. Hash(ed.), *Method in Enzymology*, Vol. 63.
2. McGinnis, M.R. and M.G. Rinaldi. 1980. Antifungal drugs, pp. 198-257. In Victor Lorian, M.D.(ed.), *Antibiotics in laboratory medicine*.
3. Lee S.Y., W.G. Sang, J.R. Hwang, H.W. Yoon, Y.C. Shin and M.J. Cho. 1992. Antifungal activity of *Serratia marcescens* culture extracts against phytopathogenic fungi (possibility for the chitinases role). *J. Microbiol. and Biotechnol.* **2**: 209-214.
4. 김창진, 이인경, 윤봉식, 유익동. 1993. *Streptomyces neyagawaensis* 38D10 균주가 생산하는 *concanamycin B*의 항고추역병 활성. *한국산업미생물학회지* **21**: 322-328.
5. 김창한, 김시관, 김상석. 1990. *Streptomyces melanosporofaciens*가 생산하는 새로운 항생물질. 1. 생산균주의 분류. *한국산업미생물학회지* **18**: 642-647.
6. Shirling, E.B. and D. Gottlieb. 1966. Methods for the characterization of *Streptomyces* species. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **16**: 313-340.
7. Williams, S.T., M. Goodfellow, E.M.H. Wellington, J.C. Vickers, G. Alderson, P.H.A. Sneath, M. Sackin and A. M. Mortimer. 1983. A probability matrix for the identification of some streptomycetes. *J. Gen. Microbiol.* **129**: 1815-1830.
8. Williams, S.T., M. Goodfellow, G. Alderson, E.M.H. Wellington, P.H.A. Sneath and M. Sackin. 1983. Numerical classification of *Streptomyces* and related genera. *J. Gen. Microbiol.* **129**: 1743-1813.
9. Shirling, E.B. and D. Gottlieb. 1966. Methods for characterization of *Streptomyces* species. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **16**: 313-340.
10. Okami, Y. and M. Suzuki. 1958. A simple method for microscopical observation of streptomycetes and critique of *Streptomyces* grouping with reference to aerial structure. *J. Antibiot.* **11**: 250-253.
11. Yamada, K. and K. Kamagata. 1970. Taxonomic studies

- on Coryneform bacteria. II. Principle amino acids in the cell wall and their taxonomic significance. *J. Gen. Appl. Microbiol.* **16**: 103-113.
12. Stanek, J.L. and G.D. Robert. 1974. Simplified approach to identification of aerobic actinomycetes by thin-layer chromatograph. *Appl. Microbiol.* **28**: 226-231.
 13. Nitsch, B. and H.J. Kutzner. 1969. Egg-yolk agar as a diagnostic medium for *Streptomyces*. *Experimentia.* **25**: 113-118.
 14. Lechevalier, H.A. and M.P. Lechevalier. 1980. The Chemotaxonomy of actinomycetes, pp. 227-291. In A. Dietz and D.W. Thayer.(ed.), *Actinomycete taxonomy*, special publication 6. Society for Industrial microbiology, Arlington.
 15. Baldacci, E., G. Farina and R. Locci. 1966. Emendation of the genus *Streptoverticillium* Baldacci (1958) and revision of some species. *Giornale di microbiologia.* **14**: 153-171.
 16. Shirling, E.B. and D. Gottlieb. 1968. Cooperative description of type cultures of *Streptomyces*. II. Species descriptions from first study. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **18**: 69-189.
 17. Irie, K., S. Kajiyama, S. Okuno, M. Kondo, K. Koshimizu, H. Hayashi, M. Arai, H. Nishino and A. Iwashima. 1994. New teleocidin-related metabolites, (-)-7-geranylindolactam-V and blastmycetin F, from *Streptoverticillium blastmyceticum*. *J. Nat. Prod.* **57**: 363-368.
 18. Irie, K., A. Funaki, K. Koshimizu, H. Hayashi and M. Arai. 1989. Structure of blastmycetin E, a new teleocidin-related compound, from *Streptoverticillium blastmyceticum*. *Tetrahedron Lett.* **30**: 2113-2116.
 19. Irie, K., N. Hagiwara, A. Funaki, H. Hayashi, M. Arai and K. Koshimizu. 1987. Isolation of blastmycetin D, a possible precursor of teleocidins, from *Streptoverticillium blastmyceticum*. *Agric. Biol. Chem.* **51**: 1733-1735.
 20. Dietz, A. and J. Mathews. 1971. Classification of *Streptomyces* spore surfaces into five groups. *Appl. Microbiol.* **2**: 527-533.
 21. Becker, B., M.P. Lechevalier, R.E. Gordon and H.A. Lechevalier. 1964. Rapid differentiation between *Nocardia* and *Streptomyces* by paper chromatography of whole-cell hydrolysates. *Appl. Microbiol.* **12**: 421-423.
 22. Goodfellow, M. 1989. Supregentic classification of actinomycetes. pp. 2333-2339. In Williams, S.T., Elisabeth Sharpe, M. and Holt, J. G. (ed.), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol. 4. Williams and Wilkins.
 23. Goodfellow, M., G. Alderson and J. Lacey. 1979. Numerical taxonomy of *Actinomadura* and related actinomycetes. *J. Gen. Microbiol.* **112**: 95-111.
 24. Goodfellow, M. and V.A. Orchard. 1974. Antibiotic sensitivity of some nocardioform bacteria and its value as a criterion for taxonomy. *J. Gen. Microbiol.* **83**: 375-387.
 25. Lechevalier, H.A., Y. Okami and M. Arai. 1988. Antibiotics produced by actinomycetes. pp. 1-349. In Laskin, A.I. and Lechevalier, H.A. (ed.) *Handbook of Microbiology*, 2nd ed., Vol. 9, Part A., CRC Press.
 26. Lechevalier, M.P. and H.A. Lechevalier. 1970. Chemical composition as a criterion in the classification of aerobic actinomycetes. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **20**: 435-443.
 27. Locci, R. 1989. Streptomycetes and related genera. pp. 2451-2508. In Williams, S.T., Elisabeth Sharpe, M. and Holt, J.G. (ed.), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol. 4. Williams and Wilkins.
 28. Bibel, D.J., R. Aly and H.R. Shinefield. 1995. Topical sphingolipids in antisepsis and antifungal therapy. *Clinical and Experimental Dermatology.* **20**: 395-400.
 29. Willcox, W.R., S.P. Lapage, S. Bascomb and M.A. Curtis. 1972. Identification of bacteria by computer: theory and programming. *J. Gen. Microbiol.* **77**: 317-330.
 30. Nonomura, H. and Y. Ohara. 1969. The distribution of actinomycetes in soil. IV. A selective plate-culture isolation method for *Microbispora* and *Streptosporangium* strains. Part I. *J. Ferment. Technol.* **47**: 463-469.

(Received 11 September 1996)