

국내 분리 방선균의 항균활성 특성

김소연 · 박동진 · 권오성 · 임채영 · 김판경 · 이상화 · 김창진*

한국과학기술연구원, 생명공학연구소

Evaluation of Antimicrobial Activities of Domestic Actinomycete Strains. So-Yeon Kim, Dong-Jin Park, Oh-Sung Kwon, Chae-Young Lim, Pan-Kyoung Kim, Sang-Wha Lee and Chang-Jin Kim*. *Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology, KIST, Taejeon, 305-600* – It is well known that actinomycetes would be useful for screening of biologically active compounds. Not only to isolate diverse actinomycete strains but to ferment those strains effectively would be important. Seven hundred and forty six strains were isolated from Cheju province, 216 strains were from Chungnam province, 158 strains were from the natural caves at Chungbuk and Kangwon provinces and 202 strains were from Chungwon area at Chungbuk province. All of these 1,322 strains were fermented on a small scale using two different media and tested for their antimicrobial activities against four bacterial strains and one yeast strain. As the result, 12.3% of those isolates were active against *Staphylococcus aureus* KCTC 1916, 7.6% were *Staphylococcus aureus* KCTC 1928, 3.9% were *Escherichia coli* KCTC 1924, 3.0% were *Candida albicans* KCTC 1940, and 2.2% were *Salmonella typhimurium* KCTC 1926. About 40% of those isolates showed antimicrobial activities at both two media but the others showed at either one. According to the genus of isolated strains, *Streptomyces* and *Micromonospora* showed activities with higher frequencies than others.

방선균으로부터 항균항생제, 항암제, 효소저해제, 농업용 항생제, 면역조절제등 다양한 생리활성물질을 탐색하기 위하여 많은 연구가 이루어지고 있다(1-3). 현재의 미생물 분리 및 배양기술로써 이용할 수 있는 미생물은 자연계에 존재하는 전체 미생물의 10% 미만으로 추정되고 있다. 따라서 90% 이상에 해당하는 미생물과 이들이 지닌 탁월한 기능 및 잠재적인 정보는 아직까지 많은 부분이 미개발된 상태로 있다(4). 따라서 앞으로 이러한 미생물 이용기술의 개발정도가 생물산업 전반에 미칠 영향은 더욱 커질 것으로 전망된다.

특히 방선균을 액체배양할 때에는 배지 및 기타 여러가지 조건에 의해서 활성물질의 생산성이 크게 영향을 받는다(5-8). 즉 새로운 미생물을 성공적으로 분리하고 분리된 균주가 특정한 생리활성물질을 생합성 할 수 있는 능력을 가지고 있다 하더라도 요구되는 제조조건이 충족되지 못하면 미생물이 가지고 있는 생합성 기능이 제대로 발현되지 못하고, 결과적으로 연구자가 원하는 균주를 효과적으로 스크리닝해 낼 수가 없게 된다. 그러므로 다양하고 새로운 미생물자원의 탐색과 더불어 새로운 배양기술의 개발에 관한 연구도 아주 중요하다고 하겠다.

본 연구에서는 국내 부존 방선균의 기본적인 항균 활성 특성을 조사하여 각종 생리활성물질의 스크리닝 연구에 활용하기 위하여 제주도 지역, 충청남도 서해안 지역, 강원도 및 충청북도 자연동굴 지역, 충청북도

청원군 지역 등 국내 여러 지역 토양으로부터 다양한 방선균을 분리하였다. 이렇게 분리된 방선균을 몇가지 배지상에서 액체 배양하고 몇가지 세균과 효모를 시험균주로 하여 항균활성을 조사하였으며 그 결과를 분리된 균주의 균분리 지역별, 발효배지 종류별, 시험균주별 및 genus별로 비교하여 보았다.

재료 및 방법

균분리원

균분리원으로서 1994년 4월부터 7월까지 제주도 지역에서 53점, 충청남도 서해안 지역에서 20점, 강원도 및 충청북도의 자연동굴 지역에서 18점, 충청북도 청원군 지역에서 20점 등 국내 여러 지역에서 채집한 토양시료 총 111점을 사용하였다.

균분리 배지

균분리용 배지는 방선균의 선택적인 분리배지로 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, Na₂HPO₄ 0.5 g, KCl 1.71 g, MgSO₄·7H₂O 0.05 g, FeSO₄·7H₂O 0.01 g, CaCO₃ 0.02 g, agar 20 g, 증류수 1 l) 배지를 사용하였다(9).

방선균 분리

채취한 각 토양시료는 전처리하지 않은 것과 100°C에서 1시간 열처리한 것을 각각 10⁻³~10⁻⁵으로 희석

*Corresponding author.

Key words: Actinomycetes, fermentation media, antimicrobial activities

하여 Bennet's agar 배지와 humic acid-vitamin agar 배지에 도말하고 28°C에서 2주 및 2개월간 배양하였다. 각 처리 및 기간별로 배양한 후 배지상에 나타난 colony를 다시 Bennet's agar 배지상에 옮겨 일정기간 배양하였다. 배지상에 나타난 각 colony의 형태적인 특성들을 비교하여 상호 상이하다고 판단되는 균주를 순수 분리하였다(10).

분리 방선균주

제주도 지역에서 분리한 746주, 충청남도 서해안 지역에서 분리한 216주, 강원도 및 충청북도 자연동굴 지역에서 분리한 158주, 그리고 충청북도 청원군 지역에서 분리한 202주 등 총 1,322주의 방선균을 사용하였다.

분리 방선균의 배양

방선균으로부터 생리활성물질의 생산을 유도하기 위한 효과적인 배지로 알려져 있는 glucose-soybean meal-starch(G.S.S.) 배지(soluble starch 10 g, glucose 20 g, soybean meal 25 g, beef extract 1 g, yeast extract 4 g, NaCl 2 g, K₂HPO₄ 0.25 g, CaCO₃ 2 g, pH 7.2)와 fish meal 배지(soybean meal 12.5 g을 fish meal로 대체하고 나머지는 G.S.S. 배지와 동일)를 사용하였다(10). 항균활성을 조사하기 위하여 분리된 각 방선균을 상기의 두가지 배지를 이용하여 500 ml 삼각플라스크에서 28°C, 160 rpm의 조건하에서 7일간 진탕 배양하였다(11).

항균활성 측정

일정시간 배양한 배양액을 시료로 하여 그람양성 세균인 *Staphylococcus aureus* KCTC 1916(IFO 12732)와 이를 모균주로 하여 몇가지 항생제에 대한 내성 변이주인 *Staphylococcus aureus* KCTC 1928(R-209), 그람음성 세균으로서 약제 감수성 변이주인 *Escherichia coli* KCTC 1924(BE 1186)와 *Salmonella typhimurium* KCTC 1926(SL 1102), 그리고 *Candida albicans* KCTC 1940(IFO 1594) 등 5종의 균주를 피검균으로 하여 paper disc assay 법으로 항균활성을 측정하였다. 시험균주의 전배양과 검정용 plate의 제작등은 고 등의 방법(11)에 준하였으며 항균활성을 측정한 후 생육저지환이 0.5 mm 이상으로 나타난 경우 항균활성이 있는 것으로 판정하였다.

결과 및 고찰

화산섬으로 알려진 제주도내 53개 지점의 표층 토양시료, 충청남도 지방의 서해안을 중심으로 하는 20개 지점의 표층 토양시료, 강원도 및 충청북도 지방의 석회암으로 형성된 자연동굴인 고수굴, 고씨굴, 천동굴,

노동굴 등의 동굴 내부 토양시료 18점, 충청북도의 청원군 지역을 중심으로 하여 표층, 지하 10 cm, 지하 50 cm 등 3가지 깊이별로 채집한 20점의 시료 등 총 111점의 토양시료를 사용하였다. 이들 토양시료로부터 총 1,322주의 방선균을 분리하고 이들 균주의 배양액을 대상으로 *Escherichia coli* KCTC 1924, *Salmonella typhimurium* KCTC 1926, *Staphylococcus aureus* KCTC 1916, *Staphylococcus aureus* KCTC 1928, *Candida albicans* KCTC 1940 등 5종의 시험균주에 대한 항균활성을 조사하였다. G.S.S.(glucose-soybean meal-starch) 배지와 fish meal 배지등 2종류의 배지를 사용하여 항균활성물질의 생산을 유도하였으며 각 배양액을 대상으로 항균활성을 조사하고 그 결과를 분리된 균주의 균분리원 지역별, 배양배지별, 분리된 방선균의 속별 등으로 정리하여 각 시험균주에 대한 항균활성 특성을 나타내었다.

제주지역에서 분리된 방선균의 항균활성 특성

제주도내의 53개 지점으로부터 746주의 방선균을 분리하여 항균활성을 조사한 결과 이중 12.6%에 해당하는 94균주에서 활성이 나타나 전체 평균치인 16.3%에 비하여 낮은 편이었다. 시험균주별로는 *Staphylococcus aureus* KCTC 1916에 대하여 10.6%, *Staphylococcus aureus* KCTC 1928에 대하여 5.6%, *Escherichia coli* KCTC 1924에 대하여 3.6%, *Candida albicans* KCTC 1940에 대하여 3.6%, *Salmonella typhimurium* KCTC 1926에 대하여는 2.5%가 항균활성을 나타내었다(Table 1).

Table 1. Antimicrobial activities of the isolated strains from Cheju province on various test microorganisms

Media	Test microorganisms				
	BE	SL	209	R-209	CAN
G.S.S.	*18/746 **(2.4)	15/746 (2.0)	65/746 (8.3)	27/746 (3.2)	22/746 (2.5)
Fish meal	18/746 (2.4)	16/746 (2.1)	46/746 (6.2)	28/746 (3.8)	20/746 (2.7)
Both ¹	9/27 (33.3)	12/19 (63.2)	29/79 (36.7)	10/42 (23.8)	12/27 (44.4)
Total ²	27/746 (3.6)	19/746 (2.5)	79/746 (10.6)	42/746 (5.6)	27/746 (3.6)

Cultivations were carried out in various media at 28°C for 7 days.

*active isolates/total isolates, **active ratio (%)

¹active at both media, ²active at either medium

BE: *Escherichia coli* KCTC 1924, SL: *Salmonella typhimurium* KCTC 1926, 209: *Staphylococcus aureus* KCTC 1916, R-209: *Staphylococcus aureus* KCTC 1928, CAN: *Candida albicans* KCTC 1940

Table 2. Antimicrobial activities of the isolated strains from Cheju province on actinomycete genera

Genus	Test microorganisms				
	BE	SL	209	R-209	CAN
<i>Streptomyces</i>	*22/503 **(4.4)	13/503 (2.6)	59/503 (11.7)	26/503 (5.2)	23/503 (4.6)
<i>Micromonospora</i>	2/92 (2.2)	4/92 (4.3)	8/92 (8.7)	7/92 (7.6)	2/92 (2.2)
Nocardioform	1/64 (1.6)	1/64 (1.6)	1/64 (1.6)	1/64 (1.6)	1/64 (1.6)
<i>Streptosporangium</i>	0/7 (0)	0/7 (0)	0/7 (0)	1/7 (14.3)	0/7 (0)
<i>Actinomadura</i>	1/14 (7.1)	1/14 (7.1)	2/14 (14.3)	0/14 (0)	0/14 (0)
<i>Nocardioiopsis</i>	0/18 (0)	0/18 (0)	0/18 (0)	0/18 (0)	0/18 (0)
<i>Microbispora</i>	0/10 (0)	0/10 (0)	0/10 (0)	0/10 (0)	0/10 (0)
Others	1/38 (2.6)	0/38 (0)	6/38 (15.8)	4/38 (10.5)	0/38 (0)

Cultivations were carried out in various media at 28°C for 7 days.

*active isolates/total isolates, **active ratio (%)

BE: *Escherichia coli* KCTC 1924, SL: *Salmonella typhimurium* KCTC 1926, 209: *Staphylococcus aureus* KCTC 1916, R-209: *Staphylococcus aureus* KCTC 1928, CAN: *Candida albicans* KCTC 1940

또한 genus별로 보면 *Streptomyces*, *Micromonospora*, *Actinomadura*와 기타속 균주에서 항균활성이 나타나는 빈도가 비교적 높았으며 *Nocardioiopsis*와 *Microbispora* 속 균주가 특히 낮았다. 그리고 *Candida albicans* KCTC 1940에 대하여는 *Streptomyces* 속 균주에서 활성이 나타나는 빈도가 높았다(Table 2).

자연동굴에서 분리된 방선균의 항균활성 특성

강원도 및 충청북도 지방의 석회암에 의하여 형성된 자연동굴인 고수굴, 고씨굴, 천동굴, 노동굴 등의 동굴 내부 토양시료 18점으로부터 158주의 방선균을 분리하여 항균활성을 조사한 결과 이중 22.2%에 해당하는 35균주에서 활성이 나타나 비교적 높은 빈도로 활성을 보였다. 이는 년중 온도 변화가 적고 석회 성분인 동굴 내부의 특수환경과 관련되어 다른 일반 토양중에 분포하는 방선균과는 다양성등에서 어느 정도 차이가 있을 것이고 항균활성 특성도 이와 연관된 결과로 추정된다.

시험균주별로는 *Staphylococcus aureus* KCTC 1916에 대하여 17.1%, *Staphylococcus aureus* KCTC 1928에 대하여 7.6%, *Escherichia coli* KCTC 1924에 대하여

Table 3. Antimicrobial activities of the isolated strains from natural caves on various test microorganisms

Media	Test microorganisms				
	BE	SL	209	R-209	CAN
G.S.S.	*3/158 **(1.9)	1/158 (0.6)	22/158 (13.9)	10/158 (6.3)	2/158 (1.3)
Fish meal	5/158 (3.2)	0/158 (0)	13/158 (8.2)	7/158 (4.4)	2/158 (1.3)
Both ¹	1/7 (14.3)	0/1 (0)	8/27 (29.6)	5/12 (41.7)	1/3 (33.3)
Total ²	7/158 (4.4)	1/158 (0.6)	27/158 (17.1)	12/158 (7.6)	3/158 (1.9)

Cultivations were carried out in various media at 28°C for 7 days.

*active isolates/total isolates, **active ratio (%)

¹active at both media, ²active at either medium

BE: *Escherichia coli* KCTC 1924, SL: *Salmonella typhimurium* KCTC 1926, 209: *Staphylococcus aureus* KCTC 1916, R-209: *Staphylococcus aureus* KCTC 1928, CAN: *Candida albicans* KCTC 1940

Table 4. Antimicrobial activities of the isolated strains from natural caves on actinomycete genera

Genus	Test microorganisms				
	BE	SL	209	R-209	CAN
<i>Streptomyces</i>	*7/79 **(8.9)	1/79 (1.3)	15/79 (1.9)	8/79 (10.1)	2/79 (2.5)
<i>Micromonospora</i>	0/44 (0)	0/44 (0)	9/44 (20.5)	3/44 (6.8)	1/44 (2.3)
Nocardioform	0/26 (0)	0/26 (0)	1/26 (3.8)	0/26 (0)	0/26 (0)
<i>Actinomadura</i>	0/2 (0)	0/2 (0)	0/2 (0)	0/2 (0)	0/2 (0)
<i>Nocardioiopsis</i>	0/2 (0)	0/2 (0)	1/2 (50.0)	0/2 (0)	0/2 (0)
Others	0/5 (0)	0/5 (0)	1/5 (20.0)	1/5 (20.0)	0/5 (0)

Cultivations were carried out in various media at 28°C for 7 days.

*active isolates/total isolates, **active ratio (%)

BE: *Escherichia coli* KCTC 1924, SL: *Salmonella typhimurium* KCTC 1926, 209: *Staphylococcus aureus* KCTC 1916, R-209: *Staphylococcus aureus* KCTC 1928, CAN: *Candida albicans* KCTC 1940

4.4%, *Candida albicans* KCTC 1940에 대하여 1.9%, *Salmonella typhimurium* KCTC 1926에 대하여는 0.6%가 항균활성을 나타내었다(Table 3).

동굴지역에서는 *Micromonospora* 속과 *Nocardia* 군

균주가 비교적 많이 분리되는데(12) genus별로 항균활성 결과를 보면 *Streptomyces*와 *Micromonospora* 속 균주에서 항균활성이 나타나는 빈도가 비교적 높았으며 *Nocardia* 군과 *Nocardiosis*와 *Actinomadura* 속 등 대부분의 균주에서 낮았다. 그리고 *Streptomyces*는 *Escherichia coli* KCTC 1924 균주와 *Staphylococcus aureus* KCTC 1928 균주에 대하여 8.9%와 10.1%로서 높은 빈도의 활성을 보였으며 *Micromonospora*는 *Staphylococcus aureus* KCTC 1916에 대하여 20.5%로서 특히 높은 빈도의 활성을 나타내었다(Table 4).

청원군지역에서 분리된 방선균의 항균활성 특성

충청북도의 청원군 지역을 중심으로 표층, 지하 10 cm, 지하 50 cm 등 3가지 깊이별로 채집한 20점의 시료로부터 202주의 방선균을 분리하여 항균활성을 조사한 결과 이중 24.3%에 해당하는 49균주에서 활성이 나타나 비교적 높은 빈도로 활성이 나타났다. 이는 타 지역에서 채집한 시료의 경우 토양 표층을 위주로 한 반면에 청원군지역에서 분리한 시료는 몇가지 깊이별로 분리하므로써 통상적으로 일정한 깊이에서만 분리한 경우에 비하여 다양한 방선균이 분리되었기 때문으로 보여져(13) 차후 토양 깊이별로 방선균의 다양성을 체계적으로 검토할 필요가 있을 것으로 판단된다.

한편 시험균주별로 조사한 항균활성 결과를 보면 *Staphylococcus aureus* KCTC 1916에 대하여 14.4%, *Staphylococcus aureus* KCTC 1928에 대하여 11.9%, *Escherichia coli* KCTC 1924에 대하여 6.4%, *Candida*

Table 5. Antimicrobial activities of the isolated strains from Chungwon county at Chungbuk province on various test microorganisms

Media	Test microorganisms				
	BE	SL	209	R-209	CAN
G.S.S.	*12/202 **(5.9)	6/202 (3.0)	24/202 (11.9)	20/202 (9.9)	4/202 (2.0)
Fish meal	8/202 (4.0)	4/202 (2.0)	18/202 (8.9)	12/202 (5.9)	2/202 (1.0)
Both ¹	7/13 (53.8)	2/8 (25.0)	13/29 (44.8)	8/24 (33.3)	1/5 (20.0)
Total ²	13/202 (6.4)	8/202 (4.0)	29/202 (14.4)	24/202 (11.9)	5/202 (2.5)

Cultivations were carried out in various media at 28°C for 7 days.

*active isolates/total isolates, **active ratio (%)

¹active at both media, ²active at either medium

BE: *Escherichia coli* KCTC 1924, SL: *Salmonella typhimurium* KCTC 1926, 209: *Staphylococcus aureus* KCTC 1916, R-209: *Staphylococcus aureus* KCTC 1928, CAN: *Candida albicans* KCTC 1940

albicans KCTC 1940에 대하여 2.5%, *Salmonella typhimurium* KCTC 1926에 대하여는 4.0%가 항균활성을 나타내었으며 타지역에서 분리된 방선균에 비하여 특히 *Staphylococcus aureus* KCTC 1928에 대하여 높은 항균활성 빈도를 나타내었다(Table 5).

genus별로 항균활성 결과를 보면 *Streptomyces* 속 균주에서 항균활성이 나타나는 빈도가 비교적 높았으며 *Nocardia* 군과 *Micromonospora*, *Microbispora*와 기타 속 등 대부분의 균주에서 낮았다. 그리고 *Streptomyces*는 *Escherichia coli* KCTC 1924 균주와 *Staphylococcus aureus* KCTC 1916 균주와 *Staphylococcus aureus* KCTC 1928 균주에 대하여 9.6%와 17.8%와 14.8%로서 높은 빈도의 활성을 보였다(Table 6).

서해안지역에서 분리된 방선균의 항균활성 특성

충청남도 지방의 서해안을 중심으로 하는 토양시료 20점으로부터 216주의 방선균을 분리하여 항균활성을 조사한 결과 이중 17.6%에 해당하는 38균주에서 활성이 나타났다. 시험균주별로는 *Staphylococcus aureus* KCTC

Table 6. Antimicrobial activities of the isolated strains from Chungwon county at Chungbuk province on actinomycete genera

Genus	Test microorganisms				
	BE	SL	209	R-209	CAN
<i>Streptomyces</i>	*13/135 **(9.6)	6/135 (4.4)	24/135 (17.8)	20/135 (14.8)	4/135 (3.0)
<i>Micromonospora</i>	0/17 (0)	1/17 (5.9)	2/17 (11.8)	1/17 (5.9)	0/17 (0)
Nocardioform	0/22 (0)	1/22 (4.5)	1/22 (4.5)	2/22 (9.1)	1/22 (4.5)
<i>Streptosporangium</i>	0/4 (0)	0/4 (0)	0/4 (0)	0/4 (0)	0/4 (0)
<i>Actinomadura</i>	0/2 (0)	0/2 (0)	0/2 (0)	0/2 (0)	0/2 (0)
<i>Nocardiosis</i>	0/2 (0)	0/2 (0)	0/2 (0)	0/2 (0)	0/2 (0)
<i>Microbispora</i>	0/2 (0)	0/2 (0)	1/2 (50.0)	0/2 (0)	0/2 (0)
Others	0/18 (0)	0/18 (0)	1/18 (5.6)	1/18 (5.6)	0/18 (0)

Cultivations were carried out in various media at 28°C for 7 days.

*active isolates/total isolates, **active ratio (%)

BE: *Escherichia coli* KCTC 1924, SL: *Salmonella typhimurium* KCTC 1926, 209: *Staphylococcus aureus* KCTC 1916, R-209: *Staphylococcus aureus* KCTC 1928, CAN: *Candida albicans* KCTC 1940

Table 7. Antimicrobial activities of the isolated strains from western seaside of Chungnam province on various test microorganisms

Media	Test microorganisms				
	BE	SL	209	R-209	CAN
G.S.S.	*4/216 **(1.9)	1/216 (0.5)	19/216 (8.8)	14/216 (6.5)	5/216 (2.3)
Fish meal	5/216 (2.3)	0/216 (0)	20/216 (9.3)	15/216 (6.9)	2/216 (0.9)
Both ¹	4/5 (80.0)	0/1 (0)	12/27 (44.4)	6/23 (26.0)	2/5 (40.0)
Total ²	5/216 (2.3)	1/216 (0.5)	27/216 (12.5)	23/216 (10.6)	5/216 (2.3)

Cultivations were carried out in various media at 28°C for 7 days.

*active isolates/total isolates, **active ratio (%)

¹active at both media, ²active at either medium

BE: *Escherichia coli* KCTC 1924, SL: *Salmonella typhimurium* KCTC 1926, 209: *Staphylococcus aureus* KCTC 1916, R-209: *Staphylococcus aureus* KCTC 1928, CAN: *Candida albicans* KCTC 1940

1916에 대하여 12.5%, *Staphylococcus aureus* KCTC 1928에 대하여 10.6%, *Escherichia coli* KCTC 1924에 대하여 2.3%, *Candida albicans* KCTC 1940에 대하여 2.3%, *Salmonella typhimurium* KCTC 1926에 대하여는 0.5%가 항균활성을 나타내었다(Table 7).

액체배양 배지별 항균활성 특성

상기 토양시료 111점으로부터 분리한 총 1,322주의 방선균을 대상으로 *Escherichia coli* KCTC 1924, *Salmonella typhimurium* KCTC 1926, *Staphylococcus aureus* KCTC 1916, *Staphylococcus aureus* KCTC 1928, *Candida albicans* KCTC 1940 등 5종의 시험균주에 대하여 액체배양법에 의한 항균활성 측정 결과를 종합하면 Table 8과 같다.

그 결과 전체 균주중에서 16.3%에 해당하는 216균주가 활성을 나타내었으며 시험균주별로는 *Staphylococcus aureus* KCTC 1916에 대하여 12.3%, *Staphylococcus aureus* KCTC 1928에 대하여 7.6%, *Escherichia coli* KCTC 1924에 대하여 3.9%, *Candida albicans* KCTC 1940에 대하여 3.0%, *Salmonella typhimurium* KCTC 1926에 대하여는 2.2%가 항균활성을 나타내므로써 그람양성 세균에 대하여 항균활성을 나타내는 빈도가 비교적 높았다.

배지별로는 G.S.S. 배지에서 배양된 경우가 fish meal 배지에 비해 항균활성을 나타내는 경우가 다소 많았으나 큰 차이는 없었다. 그러나 배양에 사용된 두가지 배지상에서 공통적으로 동시에 활성이 발현된 빈도를

Table 8. Rate of biologically active isolates among tested strains on various test microorganisms

Media	Test microorganisms				
	BE	SL	209	R-209	CAN
G.S.S.	*37/1322 **(2.8)	23/1322 (1.7)	127/1322 (9.6)	68/1322 (5.1)	30/1322 (2.3)
Fish meal	36/1322 (2.7)	20/1322 (1.5)	97/1322 (7.3)	62/1322 (4.7)	26/1322 (2.0)
Both ¹	21/52 (40.4)	14/29 (48.3)	62/162 (38.3)	29/101 (28.7)	16/40 (40.0)
Total ²	52/1322 (3.9)	29/1322 (2.2)	162/1322 (12.3)	101/1322 (7.6)	40/1322 (3.0)

Cultivations were carried out in various media at 28°C for 7 days.

*active isolates/total isolates, **active ratio (%)

¹active at both media, ²active at either medium

BE: *Escherichia coli* KCTC 1924, SL: *Salmonella typhimurium* KCTC 1926, 209: *Staphylococcus aureus* KCTC 1916, R-209: *Staphylococcus aureus* KCTC 1928, CAN: *Candida albicans* KCTC 1940

시험균주별로 보면 *Escherichia coli* KCTC 1924에 대하여 40.4%, *Salmonella typhimurium* KCTC 1926에 대하여 48.3%, *Staphylococcus aureus* KCTC 1916에 대하여 38.3%, *Staphylococcus aureus* KCTC 1928에 대하여 28.7%, *Candida albicans* KCTC 1940에 대하여 40.0%이었다. 즉 두 종류 배지에서 동시에 활성이 나타난 균주가 약 40%에 해당되고 나머지는 한 가지 배지에서만 활성이 나타났다.

따라서 생리활성물질을 생산하는 균주를 스크리닝 할 때에는 몇가지 발효배지를 동시에 사용할 필요성이 높을 것으로 판단된다.

분리된 방선균의 속별 항균활성 특성

실험에 사용된 방선균중에서 속명이 동정된 균주 즉, 제주도 지역에서 분리한 746주, 자연동굴에서 분리한 158주, 청원군 지역에서 분리한 202주 등 총 1,106주에 대하여 각 균주의 genus별로 항균활성 결과를 종합하여 보았다(Table 9).

그 결과 1,106 균주중에서 18.0%에 해당하는 199균주가 활성을 나타내었으며 genus별로 보면 *Streptomyces*가 717주 분리되었는데 이 중 150주에서 활성이 나타나 21.0%의 활성빈도를, *Micromonospora*가 153주 분리되었는데 이 중 25주에서 활성이 나타나 16.3%의 활성빈도를, *Nocardia* 균이 112주 분리되었는데 이 중 8주에서 활성이 나타나 7.1%의 활성빈도를, *Streptosporangium*이 11주 분리되었는데 이 중 1주에서 활성이 나타나 9.1%의 활성빈도를, *Actinomadura*가 18주 분

Table 9. Antimicrobial characteristics of the isolates on actinomycete genera

Stm.	Mim.	Noc.	Sts.	Acm.	Ncp.	Mib.	Oth	Total
*150/717**(21.0)	25/153(16.3)	8/112(7.1)	1/11(9.1)	2/18(11.1)	2/22(9.1)	1/12(8.3)	10/61(16.4)	199/1106(18.0)

Cultivations were carried out in various media at 28°C for 7 days.

*active isolates/total isolates, **active ratio (%)

Stm.: *Streptomyces*, Mim.: *Micromonospora*, Noc.: Nocardioform, Sts.: *Streptosporangium*, Acm.: *Actinomadura*, Ncp.: *Nocardiosis*, Mib.: *Microbispora*, Oth: the other genus

리되었는데 이 중 2주에서 활성이 나타나 11.1%의 활성빈도를, *Nocardiosis*가 22주 분리되었는데 이 중 2주에서 활성이 나타나 9.1%의 활성빈도를, *Microbispora*가 12주 분리되었는데 이 중 1주에서 활성이 나타나 8.3%의 활성빈도를, 기타 속 균주가 61주 분리되었는데 이 중 10주에서 활성이 나타나 16.4%의 활성빈도를 나타내었다.

즉 *Streptomyces* 속 균주의 경우가 21.0%로서 전체 평균치인 16.3%에 비하여 비교적 높은 빈도로 항균활성을 나타내었다. 기타 속과 *Micromonospora* 속의 경우 전체 평균치와 비슷한 항균활성 빈도를 나타내었고 *Actinomadura* 속을 비롯한 나머지 균주들에 있어서는 항균활성을 나타내는 빈도가 비교적 낮았다. 따라서 *Streptomyces* 속 균주에 비하여 소위 희소방선균에 속하는 균주에 있어서 항균활성을 나타내는 빈도가 낮은 것으로 보여진다. 그러나 지금까지의 방선균 연구가 *Streptomyces* 속 균주에 치중되어 *Streptomyces* 속 균주의 배양에 적합한 배지등이 많이 개발된 것을 감안하여 보면 이러한 경향은 앞으로 희소방선균에 대한 배양연구가 많아짐에 따라 다소 달라질 수도 있을 것으로 여겨진다. 그리고 신규 생리활성물질을 찾고자 하는 경우에는 활성을 나타내는 빈도와 함께 탐색 재료인 미생물의 다양성이나 신규성도 중요할 것이다. 따라서 앞으로 희소방선균군에 속하는 균주를 대상으로 이에 적합한 배양조건을 검토하는 연구가 절실히 요구된다 하겠다.

요 약

제주도지역, 충청남도 서해안지역, 강원도 및 충청북도 자연 동굴지역, 그리고 충청북도 청원군 등지에서 채집한 205점의 토양시료로부터 분리된 총 1,322주의 방선균을 대상으로 *Escherichia coli* KCTC 1924, *Salmonella typhimurium* KCTC 1926, *Staphylococcus aureus* KCTC 1926, *Staphylococcus aureus* KCTC 1928, *Candida albicans* KCTC 1940등 5종의 시험균주에 대하여 항균활성을 조사하였다. 액체배양을 위해서는 G.S. S.(glucose-soybean meal-starch) 배지와 fish meal 배지등 2종류의 배지를 사용하였으며 그 결과를 균분리원 지역별, 배지별, 시험균주별, 그리고 방선균 종류별로 비교하였다.

그 결과 전체 균주중에서 16.3%에 해당하는 216균주에서 활성이 나타났으며 시험균주별로는 *Staphylococcus aureus* KCTC 1916에 대하여 12.3%, *Staphylococcus aureus* KCTC 1928에 대하여 7.6%, *Escherichia coli* KCTC 1924에 대하여 3.9%, *Candida albicans* KCTC 1940에 대하여 3.0%, *Salmonella typhimurium* KCTC 1926에 대하여는 2.2%가 항균활성을 나타내었다. 균분리원 지역별로는 자연 동굴지역 등에서 분리된 균주에서 항균활성이 나타나는 빈도가 높았다. 배지별로는 G. S.S. 배지에서 배양된 경우가 fish meal 배지에 비해 항균활성을 나타내는 빈도가 다소 높았으나 약 40% 정도에 해당하는 균주에서만 두 배지에서 동시에 활성이 나타나고 나머지는 한 가지 배지에서만 활성이 나타났다. 또한 genus별로 보면 *Streptomyces*와 *Micromonospora*가 21.0%와 16.3%로서 다른 genus에 속하는 균주에 비하여 항균활성을 나타내는 빈도가 높았다.

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. Tanaka, Y. 1992. Fermentation process in screening for new bioactive substances. Pp. 303-326. In S. Omura (ed.), *The Search for Bioactive Compounds from Microorganisms*. Springer-Verlag, New York.
6. Lancini, G.C. 1989. Fermentation and biosynthesis of glycopeptide antibiotics. Pp. 283-296. In M.E. Bushell and U. Grafe (ed.), *Bioactive Metabolites from Microorganisms*. Elsevier, New York.
7. Omura, S. and Y. Tanaka. 1986. Macrolide antibiotics. Pp. 359-391. In Paper, H. and H.J. Rehm (ed.), *Biotechnology-A Comprehensive Treatise in 8 Volumes*, Verlag-Chemie Weinheim.

8. Bushell, M.E. 1988. Growth, product formation and fermentation technology. Pp. 185-217. In M. Goodfellow, S.T. Williams and M. Mordarski (ed.), *Actinomycetes in Biotechnology*, Academic Press, San Diego.
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. 김창진외. 1993. 유용물질생산 미생물의 탐색. 과학기술처 연구보고서. BSN80400-346-3. 31-34.
11. 고영희외. 1991. 생체활성물질 탐색을 위한 미생물의 분리에 관한 연구(I). 과학기술처 연구보고서. BSG70110-295-3.
12. 김창진외. 1995. 계통분류학적 미생물탐색 기본기술 개발. 과학기술처 연구보고서. BSN81550-738-3. 31-33.
13. 김판경외. 1995. 토양별 깊이에 따른 방선균의 속 다양성과 분포특성. 한국산업미생물학회 춘계학술대회. 포스터 발표.

(Received 20 October 1995)