Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.
Vol. 24, No. 5, 534-539 (1996)

자연 동굴 토양 방선균의 속 다양성 분포

임채영 · 권오성 · 김판경 · 박동진 · 이동희[1] · 김창진*
한국과학기술연구원 생명공학연구소, [1]건국대학교 미생물공학과

Distribution Pattern of Soil Actinomycetes at Natural Caves. **Chae-Young Lim, Oh-Sung Kwon, Pan-Kyung Kim, Dong-Jin Park, Dong-Hee Lee[1] and Chang-Jin Kim*.** *Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology, KIST, P.O. Box 115, Yusung, Taejon, 305-600, Korea, [1]Department of Microbial Engineering, Kunkuk University, Seoul 143-701, Korea* – Total 276 soil actinomycete strains were isolated from 46 soil samples collected at domestic natural caves; the Kosu, Chundong, and Nodong caves at Chungbook province, the Kossi cave at Kangwon province, the Sungruye cave at Kyungbook province, the Hyupjae, Ssangyong, and Manjang caves at Cheju province. All of these isolates were identified to the genus level based on morphological and physiological characteristics. As the result, 52.5% of those isolates were *Streptomyces*, 16.3% were *Micromonospora*, 22.8% were Nocardioform group, 1.1% were *Actinomadura*, 0.3% were *Nocardiopsis*, 0.3% were *Streptosporangium*, 0.3% were *Nocardioides*, 1.4% were *Kineosporia*, 4.7% were the others. Streptomycete strains were the most abundant, but were relatively less comparing to general distribution pattern. Nocardioform and *Micromonospora* strains were quite abundant, and other rare actinomycete groups were somewhat abundant comparing to general distribution pattern previously reported. Especially Nocardioform strains were highly abundant at almost of the natural caves.

현재까지 미생물에 의해 생산되는 것으로 밝혀진 10,000여 종의 항생물질 가운데 약 2/3에 해당하는 64% 정도가 방선균으로부터 발견되었으며, 세균으로부터는 13% 정도, 곰팡이로부터는 23% 정도가 발견되어(1) 각종 생리활성물질의 탐색에 있어서 방선균이 차지하는 비중은 아주 크다.

이러한 방선균을 연구 대상으로 하거나 이용하기 위해서는 먼저 균 분리를 하여야 한다. 일반적으로 방선균은 자연계에 다양하게 분포하지만 토양 중에 가장 많이 존재하고 있다. 그러나 토양 중에 존재하는 방선균의 분포에 관한 연구는 별로 되어 있지 않은 편이다. 그 중 Lechevalier 등(2)은 1967년에 16종의 토양으로부터 5,000주의 방선균을 분리한 후, 각 균주의 속명을 동정하고 속별로 정리하여 토양 중의 방선균 분포에 관하여 보고한 바 있다. 이들의 연구 결과에 의하면 토양 중에는 *Streptomyces*속 방선균이 95% 정도로 대부분을 차지한다고 한다. 그리고 *Nocardia, Micromonospora*속이 1~2% 정도 분포하며, 다음으로 *Thermomonospora, Actinoplanes, Microbispora*속 등의 순서로 분포하고 있으며 기타 속에 속하는 방선균은 극히 적게 분포하고 있다고 하였다. 이와 같이 분포하는 비율이 낮거나 통상적인 분리 방법으로는 잘 분리되지 않는 방선균을 희소방선균(rare actinomycetes)이라고 하는데 일반적으로는 *Streptomyces*속 이외의 방선균을 가리킨다.

*Corresponding author.
Key words: Natural caves, actinomycetes, distribution, genus, diversity

Weinstein 등(3)이 1963년, *Micromonospora*속 방선균으로부터 gentamicin을 발견하였는데 이 때부터 세계적으로 희소방선균에 대한 관심이 고조되기 시작하였다고 하겠다. 즉 gentamicin의 발견을 시작으로 활성물질의 스크리닝 재료로써 본격적으로 희소방선균을 이용하게 되었으며 그 결과 희소방선균에서 유래한 신규 생리활성물질 탐색 빈도가 크게 증가하게 되었다(4). 따라서 최근에는 산성, 알카리성, 고온, 고압, 호염 등 소위 특수 환경 하의 시료를 많이 이용하므로써 균 분리원을 다양화하고 이를 통하여 희소방선균 등을 포함하여 지금까지 많이 이용되지 못했던 희소한 미생물을 탐색하고자 하는 경향이 나타나고 있다(5-7).

한편, 우리 나라는 4계절이 뚜렷한 온대 지역에 해당되므로 미생물 자원이 풍부하게 존재할 것으로 판단되나 국토 면적이 비교적 협소하여 여러 가지 특수 환경에 해당되는 시료를 얻기는 비교적 어렵다. 그러나 국내에는 지형의 특성상 자연 동굴이 많이 존재하고 있다. 일반적으로 지역별로 보면 강원도, 충청북도, 경상북도 소재의 동굴은 석회암으로 구성되어 있으며 제주도 지역의 동굴은 용암으로 구성되어 있어 소재가 다양하다(8). 동굴 내부의 평균 온도는 13~15℃로써 연중 변화가 아주 적으며 오랫동안 격리된 환경으로 보존되어 왔다.

따라서 본 연구에서는 다양한 방선균의 균 분리원으로서 특수 환경 지역에 속하는 국내 유명 자연 동굴을 대상으로 하였으며 동굴 내부에 내재하고 있는 토양 방선균의 속 다양성을 조사하였다. 즉 석회암 토양 지역인 강원도 영월군 하동면 소재의 고씨굴, 충청북도

단양군 대강면 소재의 고수굴, 노동굴, 천등굴, 경상북도 울진군 근남면 소재의 성류굴, 제주도 북제주군 소재의 협재굴, 쌍용굴, 만장굴 등으로부터 중복성을 배제하면서 방선균을 분리하였으며, 분리된 각 균주의 속명을 동정하고, 방선균의 속 분포 다양성을 조사 비교하므로써 생리활성물질 탐색 연구의 기초 자료로 삼고자 하였다.

재료 및 방법

토양 시료

방선균의 분리를 위한 시료로서는 충청북도 단양군 대강면 소재의 고수굴, 천등굴에서 8점씩, 노동굴에서 7점, 강원도 영월군 하동면 소재의 고씨굴, 경상북도 울진군 근남면 소재의 성류굴 등에서 8점씩, 제주도 북제주군 소재의 협재굴, 쌍용굴에서 2점씩, 만장굴에서 3점 등 총 46점의 토양 시료를 1994년 10월경에 수집하여 사용하였다. 본 연구에서는 일반에 공개되어 접근이 가능한 자연동굴을 대상으로 하였는데 시료 채취시에는 오염된 부분을 지양하였으며 바다의 퇴적층을 중심으로 동굴 입구로부터 200 m 내외의 일정한 간격으로 실시하였다.

총 균수 측정

채취한 토양 시료는 멸균 생리식염수로 1～10^{-5}배 희석한 후, nutrient agar(Difco), potato dextrose agar (Difco), humic acid-vitamin agar(9) 배지 상에 도말 접종하고 27℃에서 일정 기간 배양하였다. 세균은 nutrient agar 배지, 곰팡이는 potato dextrose agar 배지, 방선균은 humic acid-vitamin agar 배지(Table 1) 상에 나타난 colony 수로써 각 균 종별 총 균수를 측정하였다.

Table 1. Media composition for isolation of actinomycetes

Bennet's (B) agar		Humic acid-vitamin (HV) agar	
Glucose	10.0 g	Humic acid	1.0 g*
Yeast extract	1.0 g	Na_2HPO_4	0.5 g
Bacto-peptone	2.0 g	KCl	1.7 g
Beef extract	1.0 g	$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.05 g
Agar	18.0 g	$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	0.01 g
Vitamin complex	**	$CaCO_3$	0.02 g
Cychloheximide	50 mg	Agar	18.0 g
Nalidixic acid	50 mg	Vitamin complex	**
pH	7.0～7.2	Cycloheximide	50 mg
Distilled water	1 L	Nalidixic acid	50 mg
		pH	7.0～7.2
		Distilled water	1 L

*Dissolved in 10 m*l* of 0.2N NaOH.
**0.5 mg each of thiamine-HCl, riboflavin, niacin, pyridoxin-HCl, inositol, Ca-pantothenate, p-aminobenzoic acid, and 0.25 mg of biotin.

방선균 분리 및 보존용 배지

방선균 분리용 배지로서는 Table 1과 같은 Bennet's agar 배지와 humic acid-vitamin agar 배지를 사용하였다. 방선균 보존용 배지로서는 Bennet's agar 배지를 사용하였다.

방선균 분리

채취한 토양 시료는 멸균 생리 식염수로 10^{-3}～10^{-4}배 희석한 후, humic acid-vitamin agar 배지 상에 도말 접종하고 27℃에서 2주 및 2개월간 배양하였다. 배양 후에 나타난 각 colony를 Bennet's agar 배지 상에 다시 옮겨 일정 기간 재 배양하였다. 육안 및 광학 현미경 하에서 형태학적으로 서로 상이한 균주를 선정하고 순수 분리하였다.

분리 방선균의 속 동정

순수 분리된 각 균주의 형태 및 화학적 특성을 조사하여 속명을 동정하였다. 형태적인 관찰을 위해서는 Bennet's agar 배지 상에서 일정 시간 배양 후 육안 및 광학 현미경(long working distance 렌즈 장착) 하에서 균 동정에 필요한 형태적 특징을 조사하였다.

또한 균사체 세포벽 성분의 하나인 diaminopimelic acid의 형태를 조사하였다. 즉 agar 배지 상에서 적절하게 생육된 일정량의 균체를 취하고 이를 염산으로 가수분해한 후 thin layer chromatography(cellulose TLC, Merck no. 5715, 전개 용매 : methanol-H_2O-5N HCl-pyridine＝80 : 15 : 5 : 10) 방법(10)으로 분석하였다. 속동정은 DAP의 형태와 더불어 균사에 있어서 공중균사와 기질균사의 유무, 형태 및 분절여부, 포자의 수 및 형태, 포자낭의 유무 및 형태 등 각종 형태적 특징을 중심으로 실시하였으며(11, 12) 세포벽의 당 성분과 같이 몇가지 생리화학적인 분석이 필요한 경우에는 ISP(International Streptomyces Project) 방법(13)과 Bergey's manual(14)에 준하여 조사하였다. 그러나 menaquinone, phospholipid, mycolic acid 등의 분석에 의해서 동정 및 구분이 가능한 *Nocardia, Amycolata, Amycolatopsis, Pseudoamycolata*는 구별하지 않고 Nocardioform 군으로 종합하여 분류하였고 menaquinone, phospholipid 등의 분석에 의해 동정이 가능한 *Nocardiopsis*와 *Saccharothrix*는 구별하지 않고 *Nocardiopsis*로 분류하였다. 그리고 이와 같은 몇 가지 방법에 의해 속명을 구분하여 동정하기 어려운 균주들은 기타 속으로 정리하였다.

결과 및 고찰

본 연구에서는 환경적으로 특이한 자연 동굴 중 접

근하기가 비교적 용이한 국내 유명 동굴을 대상으로 토양 중 일반 미생물의 분포와 방선균의 속 다양성 분포를 조사한 후 그 결과를 비교하였다. 즉 8개 자연 동굴에서 채취한 총 46점의 토양 시료로부터 nutrient agar, potato dextrose agar, humic acid-vitamin agar 배지 상에서 세균, 곰팡이, 방선균별 총 균수를 측정하였다. 또한 Bennet's agar 배지와 humic acid-vitamin agar 배지를 이용하여 중복성이 배제된 총 276주의 방선균을 분리하였으며 분리된 모든 방선균을 동정하여 속명을 결정한 후 각 동굴별로 비교해 보았다.

미생물의 일반적 분포

조사된 동굴 토양에 존재하는 세균, 곰팡이, 방선균별 총 균수는 Table 2와 같았다. 각 토양시료의 그람당 총 균수를 측정하여 중심치는 산술평균(arithmetic mean)으로, 산포도는 범위(range)와 평균편차(mean deviation)로 나타내었다. 그 결과를 산술평균± 평균편차로 정리하면 세균이 $1.4\times10^6\pm0.3\times10^6$ colony forming unit(cfu), 곰팡이가 $1.9\times10^4\pm0.5\times10^4$ cfu, 방선균이 $1.3\times10^5\pm0.2\times10^5$ cfu이었다. 이 결과는 충청북도의 청원군 소재의 산림, 초지, 밭, 논, 강가 등의 토양 시료를 대상으로 하여 미생물의 분포를 조사한 박 등의 연구 결과(15)와 비교해 볼 때 동굴 토양에 존재하는 세균, 곰팡이, 방선균의 총 균수는 1/10~1/100 정도로 적지만 상당히 존재한다는 것을 알 수 있다. 각 동굴별로 방선균의 수를 보면 제주도 지역의 동굴에서 비교적 많았으나 전체적으로 큰 차이는 없었다.

Table 2. Microbial populations in soil samples collected at several natural caves

Caves	No. of colonies (cfu/g soil)		
	Bacteria ($\times10^6$)	Fungi ($\times10^4$)	Actinomycetes ($\times10^5$)
Kosu	1.0± 0.1	1.1± 0.2	0.4± 0.1
Chundong	1.1± 0.2	0.3± 0.2	1.2± 0.1
Nodong	0.4± 0.3	0.4± 0.3	1.0± 0.5
Kohssi	0.2± 0.1	0.9± 0.4	0.7± 0.2
Sungryue	2.1± 0.7	0.6± 0.2	0.7± 0.2
Hyupjae	4.0± 1.0	8.3± 1.9	2.2± 0.1
Ssangyong	1.4± 0.1	2.7± 0.8	2.3± 0.1
Manjang	0.7± 0.1	1.0± 0.1	2.0± 0.4
Mean	1.4± 0.3	1.9± 0.5	1.3± 0.2

Results are described as the mean± mean deviation.

동굴별 방선균의 속 다양성 분포

본 실험에서 분리된 총 276주의 방선균을 동정한 후 각 동굴별로 비교하여 나타낸 방선균의 속 다양성 분포는 Table 3과 같다. 46점의 시료로부터 276 균주가 분리되어 토양 시료 1점 당 평균적으로 6균주씩 분리되므로써 일반 토양의 경우(15)에 비하여 아주 적게 분리되는 경향이었다. 시료 1점 당 분리된 균주수를 동굴별로 보면 협재굴에서 12균주로서 가장 많았고, 만장굴과 쌍용굴이 8~10균주, 고수굴, 고씨굴, 성류굴, 천동굴 등이 5~6균주, 그리고 노동굴에서 3균주로서 가장 적었다.

속 별로 방선균 분포 경향을 살펴보면 *Streptomyces*는 전체 분리된 균주의 52.5%에 해당하는 145 균주가 분리되었고, *Micromonospora*는 16.3%에 해당하는 45주가 분리되었고, *Nocardioform*은 22.8%에 해당하는 63주가 분리되었고, *Actinomadura*는 1.1%에 해당하는 3주가 분리되었고, *Norcardiopsis, Norcardioides, Streptosporangium*은 각각 1주씩만이 분리되었으며, *Kineospora*는 1.4%에 해당하는 4주, 그리고 기타 균주 13주가 분리되었다.

한편 30년 전 16종의 토양으로부터 5,000주의 방선균을 분리하여 속 동정한 후 각 속별 분포 경향을 정

Table 3. Distribution of actinomycetes in soil samples collected at several natural caves

Genus / Caves	No. of soil samples	*Stm.*	*Mim.*	Noc.	*Acm.*	*Ncp.*	*Ncd.*	*Sts.*	*Kin.*	Oth	Total
Kosu (%).	8	32(65.3)	6(12.2)	9(18.3)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(2.0)	1 (2.0)	49
Chundong (%)	8	20(46.5)	12(27.9)	9(20.9)	1(2.3)	0(0)	1(2.3)	0(0)	0(0)	0 (0)	43
Nodong (%)	7	13(52.0)	4(16.0)	8(32.0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0 (0)	25
Kohssi (%)	8	37(82.2)	5(11.1)	1 (2.2)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(2.2)	1 (2.2)	45
Sungryue (%)	8	17(37.7)	6(13.3)	14(31.1)	1(2.2)	1(2.2)	0(0)	1(2.2)	2(4.4)	3 (6.6)	45
Hyupjae (%)	2	5(20.8)	5(20.8)	12(50.0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	2 (4.6)	24
Ssangyong (%)	2	5(31.2)	3(18.7)	7(43.7)	1(6.2)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0 (0)	16
Manjang (%)	3	16(55.1)	4(16.7)	3(10.3)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	6(20.6)	29
Total (%)	46	145(52.5)	45(16.3)	63(22.8)	3(1.1)	1(0.4)	1(0.4)	1(0.4)	4(1.4)	13 (4.7)	276

**Stm.*; *Streptomyces, Mim.*; *Micromonospora,* Noc.; Nocardioform, *Acm.*; *Actinomadura, Ncp.*; *Nocardiopsis, Ncd.*; *Nocardiodes, Sts.*; *Streptosporangium, Kin.*; *Kineosporia,* Oth; other unidentified actinomycetes.

리한 Lechevalier등(2)의 연구 결과에 의하면 *Streptomyces*속 균주가 95% 정도로 대부분을 차지하며 *Nocardia, Micromonospora*속 등이 그 다음으로 1~2% 정도씩 분포하며, *Thermomonospora, Actinoplanes, Microbispora*속 등이 그 다음으로 0.2% 정도씩 분포하고 있고 기타 속에 속하는 방선균은 극히 적게 분포하고 있다고 하였다. 그리고 최근 국내 토양에 있어서 산림, 강가, 논, 초지, 밭 토양 등 서로 다른 환경에 존재하는 방선균의 속 다양성 분포를 조사한 김 등(16)의 연구 결과에 의하면 평균적으로 볼 때 *Streptomyces*속 균주가 68.4%로서 가장 많으며, *Micromonospora*속이 6.2%, *Nocardia*속이 8.7%, *Actinomadura*속이 2.3%, *Norcardiopsis*속이 2.7%, *Streptosporangium*속이 1.8%의 순으로 분포하고 있다고 하였다.

따라서 본 연구에서 조사된 자연 동굴에서의 방선균의 속 다양성 분포를 지금까지 보고된 위와 같은 연구 결과와 비교해 보면 *Streptomyces*속은 가장 많이 분포하는 방선균이었으나 그 분포 비율은 크게 낮은 편이었고, *Micromonospora*와 Nocardioform 균주는 그 분포 비율이 높았으며 특히 Nocardioform 균주의 분포 비율이 아주 높은 것으로 나타나 자연 동굴 토양에는 Nocardioform군 방선균이 많이 존재하고 있는 것으로 판단된다. 그리고 소수 희소방선균 중에서는 *Kineosporia*가 비교적 많은 경향을 보였다.

동굴별로는 *Streptomyces*의 분포 비율이 고씨굴에서 82.2%로써 가장 높게 나타났고, 고수굴에서 65.3%, 만장굴에서 55.1%, 노동굴에서 52%, 천동굴에서 46.5%, 성류굴에서 37.7%, 쌍용굴에서 31.2%, 그리고 협재굴에서는 가장 낮은 20.8%의 분포 비율을 나타내므로 써 동굴간에 큰 차이를 보였다. *Streptomyces*의 분포 비율이 고씨굴에서 가장 높게 나타난 것은 고씨굴이 동굴의 형태에 있어서 높이가 높은 반면에 길이가 짧아 동굴 외부 환경과 큰 차이를 나타내지 못하는 것과 연관이 있을 것으로 추정된다. *Micromonospora*의 경우에는 천동굴에서 가장 높은 27.9%, 그 다음이 협재굴에서 20.8%로서 높게 분포하였으며 고씨굴에서는 가장 낮은 11.1%를 나타내었고 기타 동굴에서는 12.2~18.7% 정도로 분포하였다. Nocardioform의 경우에는 협재굴과 쌍용굴에서 각각 50.0%와 43.7%를 나타내어 *Streptomyces*보다 더 우점하는 방선균이었으며, 그 다음으로 노동굴이 32.0%, 성류굴이 31.1%로서 높게 분포하였으며 고씨굴에서는 가장 낮은 2.2%를 나타내었고 기타 동굴에서는 10.3~20.9%로서 비교적 높게 분포하였다. 고씨굴에서 Nocardioform이 적게 분리된 것은 앞서 나타낸 바와 같이 상대적으로 *Streptomyces*가 많이 분리된 것과 관련이 있을 것으로 보인다.

Streptomyces, Micromonospora, Nocardioform 이외의 희소방선균으로서는 성류굴에서 *Actinomadura, Nocardiopsis, Streptosporangium, Kineosporia* 등이 다양하게 분리되었고 만장굴에서는 미동정의 방선균이 다수 분리되어 속 다양성이 풍부한 편이었다.

노동굴 내부와 외부의 방선균 분포

일반적으로 동굴 외부의 경우는 계절적인 변동에 따라 기온, 습도 등 환경적인 변화가 크겠지만 내부의 경우는 온도 등이 일정하여 년중 변화가 적다. 또한 성분에 있어서도 국내 자연 동굴의 경우 중동부 지방에서는 석회암, 제주도 지방에서는 용암으로 이루어져

Table 4. Distribution of actinomycetes in soil samples collected at in- and outside of Nodong cave

Genus / Samples	*Stm.*	*Mim.*	Noc.	*Acm.*	*Ncp.*	*Ncd.*	*Sts.*	*Kin.*	Oth	Total
Inside										
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	1	1	3	0	0	0	0	0	0	5
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	3	1	1	0	0	0	0	0	0	5
5	4	0	1	0	0	0	0	0	0	5
6	5	1	2	0	0	0	0	0	0	8
7	0	1	1	0	0	0	0	0	0	2
Total (%)	13(52.0)	4(16.0)	8(32.0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	25
Outside										
1	8	2	2	0	0	0	0	0	1	13
2	13	1	0	0	0	0	0	0	1	15
Total (%)	21(75.0)	3(10.7)	2(7.1)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	2(7.1)	28

**Stm.*; *Streptomyces, Mim.*; *Micromonospora,* Noc.; Nocardioform, *Acm.*; *Actinomadura, Ncp.*; *Nocardiopsis, Ncd.*; *Nocardiodes, Sts.*; *Streptosporangium, Kin.*; *Kineosporia,* Oth; other unidentified actinomycetes.

Table 5. Aerial mass colors of isolated *Streptomyces* strains

Caves	Aerial mass colors						
	Gray	Red	Yellow	Green	White	Poor	Total
Kosu (%)	14(43.8)	4(12.5)	1 (3.1)	3 (9.4)	8(25.0)	2(6.2)	32
Chundong (%)	7(35.0)	2(10.0)	0 (0)	4(20.0)	7(35.0)	0(0)	20
Nodong (%)	10(76.9)	0 (0)	0 (0)	3(23.0)	0 (0)	0(0)	13
Kohssi (%)	19(51.3)	1 (2.7)	0 (0)	1 (2.7)	14(37.8)	2(5.4)	37
Sungryue (%)	4(23.5)	3(17.6)	2(11.7)	3(17.6)	4(23.5)	1(5.8)	17
Hyupjae (%)	3(60.0)	0 (0)	0 (0)	1(20.0)	1(20.0)	0(0)	5
Ssangyong (%)	2(40.0)	0 (0)	0 (0)	2(40.0)	1(20.0)	0(0)	5
Total (%)	59(45.7)	10 (7.8)	3 (2.3)	17(13.2)	35(27.1)	5(3.9)	129

있어서 일반 토양과는 구분이 된다. 따라서 이러한 요인들이 방선균의 분포에도 영향이 있을 것으로 판단되어 충청북도 단양군에 소재 하는 노동굴 지역을 대상으로 하여 동일 지역을 동굴의 내부와 외부로 나누어 방선균의 속 다양성 분포를 조사하였다(Table 4). 그 결과 동굴의 내부에서는 토양 시료 7점으로부터 25 균주가, 외부에서는 토양 시료 2점으로부터 28 균주가 분리되어 전체 분리 균수에 있어서는 동굴 내부가 아주 적은 편이었다.

각 속별로 비교해 보면 동굴의 내부에서는 *Streptomyces*가 52.0%, *Micromonospora*가 16.0%, Nocardioform 균주가 32.0%인 반면에 동굴의 외부에서는 *Streptomyces*가 75.0%, *Micromonospora*가 10.7%, Nocardioform 균주가 7.1%로 나타났다. 동굴 외부에는 김 등(15)의 연구 결과와 일치하여 *Streptomyces*의 분포 비율이 높았으나 동굴의 내부에는 *Streptomyces*의 분포 비율은 다소 감소한 반면에, *Micromonospora*와 Nocardioform 균주는 크게 증가하였다. 따라서 전항의 연구 결과와 함께 판단해 볼 때 일반적으로 국내 자연 동굴에서는 *Micromonospora*와 Nocardioform 균주의 다양성이 풍부한 것으로 보인다.

분리된 *Streptomyces*속 방선균의 형태학적인 특징

방선균의 동정에 있어서 특히 *Streptomyces*속 방선균은 형태적인 특징이 아주 중요하다(14). 따라서 본 연구에서 분리된 방선균 중 만장굴을 제외한 7개 동굴에서 분리된 총 129 균주의 *Streptomyces*속 방선균에 대해서 기균사의 색과 포자 연쇄의 형태를 각 동굴 별로 비교해 보았다. 그 결과 기균사의 색에 있어서는 Table 5에 나타낸 바와 같이 회색 계열 45.7%, 적색 계열 7.8%, 황색 계열 2.3%, 녹색 계열 13.2%, 백색 계열 27.1%, 불량 3.9%의 분포를 나타내었다. 이와 같은 결과를 김 등(16)의 연구 결과와 비교해 볼 때 *Streptomyces*속 방선균에서 흔히 잘 분리되는 회색과 적색 계열의 분리 비율은 크게 낮았으나 희소한 녹색과 백색 계열의 분리 비율이 크게 증가하였다. 그리고 성류굴에서는 황색, 녹색, 백색 계열 등 다양한 계열의 *Streptomyces*속 방선균이 많이 분리되었다. 따라서 *Streptomyces*속 방선균에 있어서도 희소한 계열의 *Streptomyces*속 방선균이 자연 동굴에는 많이 분포하는 것으로 판단된다.

Table 6. Spore chain types of isolated *Streptomyces* strains

Caves	Spore chain types			
	Rectiflexibiles	*Retinaculiaperti*	*Spirales*	Total
Kosu (%)	16(50.0)	13(40.6)	3 (9.3)	32
Chundong (%)	8(40.0)	5(25.0)	7(35.0)	20
Nodong (%)	6(46.2)	6(46.2)	1 (7.6)	13
Kohssi (%)	22(59.4)	13(35.1)	2 (5.4)	37
Sungryue (%)	7(41.2)	9(52.9)	1 (5.8)	17
Hyupjae (%)	4(80.0)	0 (0)	1(20.0)	5
Ssangyong (%)	4(80.0)	0 (0)	1(20.0)	5
Total (%)	67(51.9)	46(35.7)	16(12.4)	129

포자 연쇄의 형태는 Table 6에 나타낸 바와 같이 *retinaculiaperti*(RA) 형태가 35.7%, *spirales*(S) 형태가 12.4%, *rectiflexibiles*(RF) 형태가 51.9%이었다. 즉 RF의 형태가 가장 많았으며 그 다음으로는 RA, S의 순서이었다. 이와 같은 결과를 김 등(16)이 조사한 연구 결과와 비교해 볼 때 자연 동굴에서는 RF의 형태가 더 많이 분포하는 경향을 나타내었으며 반대로 RA와 S 형태는 다소 적은 경향이었다.

요 약

국내에 소재 하는 자연 동굴 중 충청북도의 고수굴, 천등굴, 노동굴, 강원도의 고씨굴, 경상북도의 성류굴, 제주도의 협재굴, 쌍용굴, 만장굴 등 8개 동굴의 내부에 존재하는 토양 방선균 분포를 조사하였다. 그 결과 전체적인 속 수준의 분포로서는 *Strptomyces*가 52.5%, *Micromonospora*가 16.3%, Nocardioform이 22.8% 정도

분포하고 있었으며 *Kineosporia, Actinomadura, Nocardiopsis, Nocardioides, Streptosporangium*의 순서로 방선균이 0.3~1.4% 정도 분포하고 있었다. 지금까지 보고된 일반적인 방선균 분포와 비교해 볼 때 특히 *Strptomyces*의 분포 비율이 낮고 상대적으로 *Micromonospora*, Nocardioform이 많이 분포하고 있었다. 한편 노동굴 지역을 대상으로 동굴 내부와 외부로 나누어 방선균 분포를 비교해 보았다. 그 결과 동굴의 내부에는 *Streptomyces*가 52.0%, *Micromonospora*가 16.8%, *Nocardia*가 32.0% 정도 분포하였고 외부에는 *Streptomyces*가 75.8%, *Micromonospora*가 10.7%, *Nocardia*가 7.1% 정도 분포하였다. 따라서 동일 지역 내에서도 동굴의 내부와 외부에 따라서 큰 차이를 나타내고 있었다. 그리고 분리된 방선균 중에서 *Strptomyces*속 균주의 형태적인 특징을 조사한 결과, 기균사의 색에 있어서는 회색 계열 45.7%, 적색 계열 7.8%, 황색 계열 2.3%, 녹색 계열 13.2%, 백색 계열 27.1%, 불량 3.9%의 분포를 나타내었다. 일반적으로 *Streptomyces*속 방선균에서 잘 분리되는 회색과 적색 계열의 분리 비율은 크게 낮아 졌으나 희소한 녹색과 백색 계열은 분리 비율이 크게 증가하였다. 그리고 성류굴에서는 황색, 녹색, 백색 계열 등 다양한 계열의 *Streptomyces*속 방선균이 많이 분리되었다. 포자연쇄의 형태에 있어서는 *retinaculiaperti* 형태가 35.7%, *spirales* 형태가 12.4%, *rectiflexibiles* 형태가 51.9%로 나타났다.

참고문헌

1. Berdy, J. 1989. The discovery of new bioactive microbial metabolites: screening and identification, Pp. 3-25. *In* Bushell M.E. and U. Gräfe (ed.), Bioactive metabolites from microorganisms, Elsevier, Amsterdam.
2. Lechevalier, H.A. and M.P. Lechevalier. 1967. Biology of actinomycetes. *Ann. Rev. Microbiol.* **21**: 71.
3. Weinstein, M.J., G.M. Luedemann, E.M. Oden and G.H. Wagman. 1963. Gentamicin, a new broad-spectrum antibiotic complex. *Antimicrobial Agents and Chemotheraphy*. 1-7.
4. Nisbet, L.J. 1982. Current strategies in the search for bioactive microbial metabolites *J Chem. Technol. and Biotechnol.* **32**: 251-270.
5. Horst, W. 1981. Characteristics of actinomycetes isolated from marine sediments actinomycetes, Zbl. Bakt. Suppl. II Gustav Fisher Verlag stuttgart. New York 309-314.
6. Jiang, C., L. Xu, Y. Yang, L. Wang, Z. Shi and G. Guo. 1993. A study on alkalophilic actinomycetes in Yunnan. *J. Actinomycetol.* **7**: 58-64.
7. Amira, M. Mahmoud, A. and J. Ruan. 1994. Nocardiopsis halophillic sp. nov. a new halophillic actinomycetes isolated from soil. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **44**: 474-478.
8. 강구진, 김근수 등. 1982. 동아 원색 세계 대백과 사전. 동아출판사 **21**: 167, **26**: 29, **8**: 268, 7: 368, **17**: 222, **30**: 216.
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. Cross, T. 1994. The actinomycetes, Pp. 605-623. *In* Holt, J.G., N.R. Krieg, P.H. A. Sneath, J.T. Staley and S.T. Williams (ed.), Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 9th, Williams and Wilkins, Baltimmore.
12. 김창진. 1995. 계통분류학적 미생물탐색 기본기술 개발. 과학기술처 연구보고서 (BSN81550-738-3), 24-25.
13. Shirling, E.B. and D. Gottlieb. 1966. Method for characterization of *Streptomyces* speices. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **16**: 313-340.
14. 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 and Wilkins, Baltimmore.
15. 박동진, 김소연, 김판경, 임채영, 권오성, 전은수, 김창진. 1996. 토양 환경에 따른 방선균의 genus 분포 특성. Pp. 197. *In* Procedings of the international symposium-Recent advances in bioindustry. The Korean Society for Applied Microbiology.
16. 김창진, 이강현, 아끼라 시마즈, 권오성, 박동진. 1995. 토양 특성에 따른 다양한 희소 방선균의 분리. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* **23**: 36-42.

(Received 20 June 1996)