

## 농작물 해충 및 진균류 방제를 위한 방선균의 분리 및 동정

이은정<sup>1</sup> · 강경돈<sup>2</sup> · 황교열<sup>1</sup> · 김두호<sup>3</sup> · 김신덕<sup>4</sup> · 성수일<sup>2</sup>

<sup>1</sup>아람사료 부설연구소, <sup>2</sup>수원대학교, <sup>3</sup>농촌진흥청, <sup>4</sup>서경대학교

## Isolation and Identification of Actinomycetes for the Control of Agricultural Pests and Fungal Pathogene

Eun-jung Lee<sup>1</sup>, Kyung-Don Kang<sup>2</sup>, Kyo-Yeol Hwang<sup>1</sup>,  
Du-Ho Kim<sup>3</sup>, Shin-Duk Kim<sup>4</sup> and Su-Il Seong<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Aram Feed Co., LTD, <sup>2</sup>The University of Suwon,

<sup>3</sup>Rural Development Administration, <sup>4</sup>Seo-Kyung University

### ABSTRACT

Twenty seven out of ca. 5,000 actinomycete strains, which were isolated from soil collected throughout the country, showed antimicrobial effects against fungi, *Rhizopus stonifer* (ATCC 6227a), *Rhizoctonia solani* (KCCM 11271) and yeast, *Candida albicans* (ATCC10231). From these antifungal microorganisms, we further selected seven strains which seemed to produce insecticidal substances with *in vivo* test, using silkworm, *Bombyx mori* and beet armyworm, *Spodoptera exigua*. Morphological and biochemical experiments revealed that three strains out of seven were *Streptomyces*. Further investigations on the physical and chemical properties of these antifungal and insecticidal substances are now in progress.

Key words : Biological insecticides, Actinomycetes, Antimicrobial test, Bioassay, *Bombyx mori*

### 서 론

해충방제에는 오랫동안 유기합성농약이 널리 사용되어 왔으나, 이들 화학농약의 오남용으로 인한 생태계 파괴 및 환경오염 등 그 피해가 심각한 수준에 이르고 있다. 아울러 세계적인 화학농약 사용 규제도 점차 강화되고 있어 새로운 무공해 살충제의 개발이 절실히 요구되고 있는 실정이다. 생물농약에 관한 연구는 유럽조명나방의 방제를 위한 국제적 연구사업(1927~1931)이 그 시작으로 주로 미생물들이 해충방제에 많이 이용되었는데 특히 *Bacillus thuringiensis*는 미생물농약의 소재로서 크게 주목을 받아왔다(Angela *et al.*, 1986).

한편, 항진균성 항생물질에 대한 연구는 1960년대 이후 진균성 질환의 치료와 각종 농작물의 진균성 병해방제 및 농축산물 가공식품의 방부 또는 보존성을 높이기 위한 목적으로 미국, 일본 등 선진각국에서 활발히 진행되고 있다. 항진균성 항생물질을 생산하

는 균주는 대부분 *Streptomyces*속이며, 그 밖에 *Streptoverticillium*, *Streptosporangium*, *Aspergillus*, *Nocardia* 및 *Actinomadura* 등에서도 항진균활성이 보고되고 있다(Porter, 1975).

토양미생물의 일종인 *Streptomyces*는 그람 양성을 나타내는 진성세균(Eubacteria)으로 항생제, 생리활성물질, 비타민 등의 2차 대사산물은 물론 소염제, 소화제 및 각종 효소를 생산하는, 산업적으로 응용범위가 매우 넓은 유용한 산업미생물이다(홍, 1997). *Streptomyces*속 균을 이용한 농업용 살균제에는 *S. blastomyces*균으로부터의 도열병에 선택적 효과가 있는 blastidin S(Takeuchi *et al.*, 1958)를 비롯하여 *S. kasugaensis*균으로부터 kasugamycin, polyoxin, validomycin (Isono and Suzuki, 1979)등의 항생물질이 알려져 있으나 이들 항생물질이 실용화되기까지는 독성검정 및 대량생산에 따른 경제적 타당성 검토 등 아직도 해결해야 할 과제가 많이 남아있다.

미생물에 대한 살충성 탐색방법에는 시료처리 후

해충의 발육상태를 관찰하는 직접탐색법과 해충의 효소저해제 또는 신경전달방해물질 등을 조사하는 간접탐색법이 있다. 간접탐색법은 짧은 시간 내에 대량의 균을 대상으로 유효균주를 선별할 수 있는 장점은 있으나 실제 해충을 대상으로 한 생물검정 결과와 일치하지 않는 단점이 있는 반면, 직접탐색법은 대상 해충의 사육, 탐색 시간의 소요 등 시간적, 경제적 부담이 따르고 있다.

본 연구에서는 전국에서 수집한 5,000여 토양미생물의 2차 대사산물을 대상으로 항균성시험을 통한 간접탐색법과 누에를 이용한 직접탐색법을 통하여 살충효과가 있는 유효균주를 선별하고, 선별된 이들 균주의 형태학적 및 화학적 성상을 토대로 균을 동정하므로써 장차 무공해 생물농약의 개발을 위한 기초 자료를 얻고자 하였다.

본 연구는 농촌진흥청 농업특정연구개발사업(1996-1999)의 연구비에 의해 수행되었으며, 본 연구를 위해 곤충시료를 제공해 주신 농촌진흥청 잠사곤충연구소 관계관 여러분께 깊은 감사를 드립니다.

## 재료 및 방법

### 1. 방선균분리 및 순수배양

전국 각지로부터 채취한 토양시료를 50~60°C의 온도에서 2시간 건열 건조시킨 후 각각의 토양시료 1g을 9 ml 멸균식염수에 넣어 10분간 진탕하였다. 다음, 각 시료 1 ml를 멸균식염수로 단계별 희석을 통해 농도가  $10^2 \sim 10^4$ 로 되게 조정하고 Bennet's 평판배지(1.0% glucose, 0.2% peptone, 0.1% beef extract, 0.1% yeast extract, 1.5% 한천, 5ppm Nystatin)에 도말하여 28°C에서 7일간 배양한 후 배지 상에서 자란 균들을 각각 분리시켜 역시 같은 Bennet's 평판배지에서 순수 배양하였다. 분리 배양된 균주들은 한천과 Nystatin이 빠진 액체 Bennet's배지에 접종하여 28°C에서 10일간 180 rpm의 진탕 속도로 배양 증식시켰다.

### 2. 항균성 검정

10일간 진탕배양한 배양액은 8,000 rpm에서 15분간 원심분리하여 상등액과 균체를 분리한 후, 그람 양성균인 *Bacillus subtilis* (KCCM11316)와 그람 음성균인 *Escherichia coli* (KCCM12214)는 LB배지(1% Tryptone, 0.5% yeast extract, 0.5% NaCl, 0.012%  $MgSO_4$ , 0.12% Tris base, 1.5% 한천), 진균류인 *Rhizopus strombifer* (ATCC6227a), *Rhizoctonia solani* (KCCM 11271)는 *Potato dextrose agar* (Difco) 배지, 그리고 *Candida albicans* (ATCC10231)는 YM (Difco)배지로 각각 중층

검정평판을 만들어 항균활성을 검정하였다(Ichikawa et al., 1971). 항균활성검정은 penicillin공정검정법에 의한 원통평판법에 따라 배양원심상등액 200  $\mu$ l를 penicillinder내에 적하시켜 28°C에서 24~72시간 배양한 후 평판에 나타난 저지원의 직경을 측정하므로써 각각의 항균성 정도를 조사하였다(임 등, 1996).

### 3. 살충효과 검정

살충효과 검정에는 갓 탈피한 3령 누에(*Bombyx mori*)와 파밤나방(*Spodoptera exigua*)의 유충을 사용하였다. 약제처리는  $3 \times 5 \times 0.5$  cm 크기의 사료에 1 ml의 방선균배양상등액을 적하하여 잠시 풍건한 후 곤충에 섭식시켰다. 사료는 2일에 한번씩 교환하였으며, 매 사료교환시 마다 균배양액을 사료에 처리하여 곤충에 급여하였다. 살충효과 검정에는 유충의 발육상태, 탈피율, 및 폐사율등을 관찰하였으며, 최종 폐사율은 용화탈피까지의 폐사 곤충 수를 포함하여 산출하였다.

### 4. 균주동정

#### 1) 균의 형태학적 관찰

분리균주는 International Streptomyces Project(ISP)방법(Shirling and Gottlieb, 1966)과 Bergey's방법 (Cross, 1994)에 준하여 균의 형태적 및 배양상의 특성을 관찰하였다. 즉, ISP 배지에서 온도별 배양을 통한 공중균사 및 기저균사의 유무, 균사의 형태와 분절여부 그리고 포자의 형태 등을 대상으로 균의 특성을 조사하였다. 한편, 기균사 포자사슬의 모양은 주사전자현미경(Model S-570, Hitachi, Japan)에 의해 5,000배와 10,000배의 배율로 관찰하였다.

#### 2) 세포벽의 diaminopimelic acid(DAP) 이성체와 아미노산 분석

분리균주를 Bennet's배지에서 10일간 진탕배양한 후 원심분리(8,000 g, 30분)하여 균체를 회수하고 회수한 균체를 멸균증류수로 3회 세척한 후 건열건조하였다. 세포벽의 DAP구조와 아미노산 분석을 위하여 균체 0.3 g을 6N 염산 20 ml에 넣고 진공펌프로 공기를 제거하며 질소 가스로 치환한 다음 120°C에서 12시간 가수분해하였다. 가수분해물은 0.45  $\mu$ m 여과 필터로 여과하고 여액을 진공 농축하였다. 진공 농축된 여액 5  $\mu$ l를 실리카겔 TLC(silica-gel 60, Merck)상에 적하하여 methanol : water : 10N HCl : pyridine 이 80 : 17.5 : 2.5 : 10의 비율로 혼합된 용매에서 전개하였으며, 전개시 표준물질로서 LL-DAP 및 meso-DAP 혼합물, alanine, glycine, glutamic acid, lysine, ornithine (이상 sigma제) 등을 사용하였다. 전개가 끝난

TLC판은 건조한 후 아세톤에 용해된 ninhydrin(5 mg/ml)을 분무하여 60°C에서 발색시켰다(Yamada and Kamagata, 1970).

### 3) 세포내의 당분석

건열건조한 균체 0.3 g에 1N황산 20 ml를 넣고 진공펌프로 공기를 제거하며 질소 가스로 치환시킨 후 120°C에서 3시간동안 가수분해하였다. 가수분해물은 1N 수산화바륨으로 중화하고 0.45 µm 여과 필터로 여과하여 그 여액을 진공 농축하였다. 농축된 여액은 실리카겔 TLC(silica-gel 60, Merck)상에 적하하여 n-butanol : pyridine : water : toluene 이 5 : 3 : 3 : 4의 비율로 혼합된 용매에서 전개하였으며, 이 때 표준당으로서 rhamnose, xylose, arabinose, glucose, mannose, galactose, fructose(이상 sigma제) 등과 함께 전개하였다. 전개가 끝난 TLC판은 건조후 2 ml aniline, 100 ml methanol, 2 g diphenylamine, 10 ml 85% 인산의 혼합액을 분무하여 104°C에서 발색시켰다(Staneck and Robert, 1974).

## 결과 및 고찰

### 1. 항균 및 살충물질 생산균의 선발

전국각지에서 채취한 토양시료로부터 방선균 5,000 균주를 분리하여 Bennet's 배지에서 10일간 진탕배양한 후 배양 상등액을 얻었다. 각 균주들의 배양 상등액에 대한 항균활성검정을 실시하여 항진균 활성을 나타내는 27개의 균주를 선발하였다(표 1). 선발된 27개 균주는 그람 양성세균과 음성세균에서 대부분 항균활성을 나타내지 않았으나 곰팡이와 효모에 대해서는 대부분 항균활성을 보였다(그림 1). 특히, SS-4993균을 비롯한 몇몇 균주는 곰팡이에 대한 항균능력이 높았고, SS-4222, SS-4227등의 균은 효모에 대한 항균작용이 강한 것으로 나타났다. 또한, SS-4993등 11개 균주는 곰팡이와 효모 양쪽에 공통으로 항균작용을 나타내고 있음이 확인되었다.

항균물질을 생산하는 27개 균주에 대해 누에와 파밤나방을 대상으로 생물검정을 실시하였다. 검정결과

Table 1. Antimicrobial activities of culture broth from selected strains

Samples	Target org. (KCCM11316)	<i>Bacillus subtilis</i> (KCCM11316)	<i>Escherichia coli</i> (KCCM12214)	<i>Rhizoctonia solani</i> (KCCM11271)	<i>Rhizopus stromifer</i> (ATCC6227a)	<i>Candida albicans</i> (ATCC10231)
SS-0011	--	--	--	15	14	-
SS-0019	--	--	--	15	++	14
SS-0102	--	--	--	15	++	15
SS-0222	--	--	--	15	-	10.5
SS-0247	--	--	--	13	12	15
SS-1202	--	--	--	11	++	15
SS-1294	--	--	--	13	12	16
SS-2000	--	--	--	--	-	14
SS-2020	--	--	--	11	14	-
SS-2718	--	--	--	15	12	13
SS-2857	--	--	--	14	11	12
SS-2922	--	--	--	15	12	14
SS-2964	--	--	+	13	++	14
SS-3027	--	--	--	16	15	-
SS-3224	--	--	++	--	-	11
SS-3295	--	--	--	16	-	13
SS-3299	--	--	--	15	15	-
SS-3772	--	--	--	14	-	14
SS-3825	--	--	--	--	14	15.5
SS-3922	--	--	--	12	+	13
SS-4100	--	--	--	14	12	13
SS-4222	--	--	+	16	15	16.5
SS-4227	--	--	+++	17	14	17.5
SS-4299	--	--	--	13	14	-
SS-4579	--	--	--	--	-	12
SS-4782	--	--	--	17	15	14
SS-4993	--	--	--	17	18	12

Each number stands for the diameter of antifungal circle (mm) formed around the penicillinder.

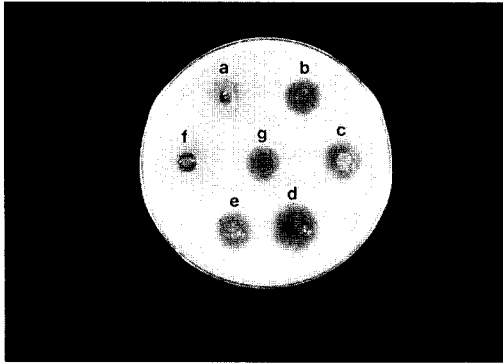


Fig. 1. Antiyeast activities of the culture broths of seven actinomycete strains. Antiyeast activities are formed as circles around the penicillin disc. a, SS-2020; b, SS-2718; c, SS-2964; d, SS-3825; e, SS-4227; f, SS-4299; g, SS-4993.

누에의 발육저해물질을 생산하는 것으로 보이는 7개의 균주를 선발하였다(표 2). 살충효과의 판정기준은 80% 이상의 폐사율을 나타내는 균주를 대상으로 하였으나, 폐사의 내용에는 각 균주에 따라 뚜렷한 차이가 인정되었다. 즉, 배양액 처리 후 1~2일 내에 곧 폐사하는 경우, 발육상태가 불량하여 성장이 지연되다가 결국 5령기에 폐사하는 경우, 정상적인 발육은 진행되나 최종 용화탈피에 실패하여 폐사하는 경우 등 다양한 폐사형태가 관찰되었다(그림 2). 선발된 7개 균주중 SS-4993은 3령기에 바로 폐사하였고, SS-2020, SS-2718, SS-2964, SS-3825, SS-4299 등은 5령기에, 그리고 SS-4227은 용화탈피 과정 중에 각각 폐사하였다.

파밤나방의 생물검정을 통해서서는 70% 이상의 폐사

Table 2. Effect of the culture broths from selected strains on mortality of silkworm, *Bombyx mori*

Samples	Mortality(%)	Types	Samples	Mortality(%)	Types
SS-0011	8/14(57) 4/20(20)	C	SS-3224	12/14(85) 5/20(25)	C
SS-0019	6/14(43) 2/20(10)	C	SS-3295	7/14(50) 5/20(25)	C
SS-0011	8/14(57) 5/20(25)	C	SS-0102	11/14(78) 5/20(25)	C
SS-3299	10/14(71) 4/20(20)	C	SS-3224	12/14(85) 5/20(25)	C
SS-0222	7/14(57) 4/20(20)	C	SS-3224	12/14(50) 4/20(20)	C
SS-3772	11/14(78) 4/20(20)	C	SS-3224	12/14(85) 4/20(20)	C
SS-0247	12/14(85) 2/20(10)	C	SS-3825	14/14(100) 14/20(70)	B
SS-1202	8/14(57) 3/20(15)	C	SS-3922	11/14(78) 3/20(10)	B
SS-1294	11/14(78) 1/20(5)	C	SS-4100	10/14(71) 2/20(10)	B
SS-2000	9/14(64) 4/20(20)	B	SS-4222	10/14(71) 4/20(20)	C
SS-2020	14/14(100) 20/20(75)	C	SS-4227	14/14(100) 20/20(100)	C
SS-2718	14/14(100) 15/20(75)	B	SS-4299	14/14(100) 20/20(100)	B
SS-2857	11/14(78) 8/20(40)	C	SS-4579	14/14(100) 12/20(60)	B
SS-2922	14/14(100) 3/20(15)	C	SS-4782	14/14(100) 10/20(50)	B

Table 2. Continued

Samples	Mortality(%)	Types	Samples	Mortality(%)	Types
SS-2964	14/14(100) 16/20(80)	B	SS-4993	14/14(100) 20/20(100)	A
SS-3027	13/14(92) 5/20(25)	B	Control	1/14(7) 3/20(15)	B

A, B and C types show the patterns of insect growth regulation by the treatment of culture broths on diet. A, died during the 3rd to the 4th instar larvae; B, died during the 5th instar larvae; C, died during larval to pupal stage.

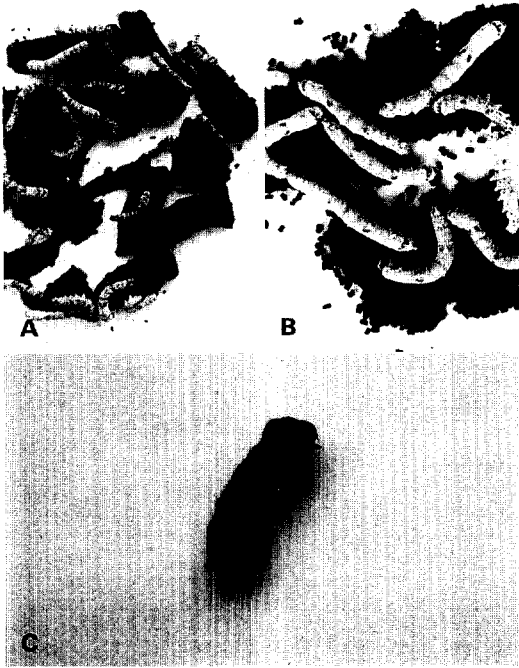


Fig. 2. Effects of the culture broths on the developments of the silkworm, *Bombyx mori*. Silkworm larvae (A) treated with culture broth strain SS-4993 died one to two days after treatment, while the larvae of control(B) showed regular growth. Larval-pupal ecdysis did not occur in the silkworm treated with culture broth strain SS-4227(C).

을 기준 하여 5개의 균주를 선발하였다(표 3). 파밤나방에서도 균배양액 처리 후 3령기에 곧 폐사하는 경우와 3령~5령의 유충 전기간을 통하여 산발적으로 폐사하는 경우 등 상이한 폐사 형태가 인정되었으나, 누에의 경우와 같이 용화탈피중에 폐사하는 시험구는 없었다. 선발된 균주중 SS-4782, SS-4993은 3령 처리 후 1~2일 이내에 곧 폐사하였고, SS-3772는 3령과 4령에 걸쳐 모두 폐사하였으나 유충기간이 대조구에 비해 1~2일 정도 연장되었다. 또한 SS-0011, SS-0222는

Table 3. Effect of the culture broths from selected strains on mortality of beet armyworm, *Spodoptera exigua*

Samples	Mortality (%)	Types	Samples	Mortality (%)	Types
SS-0011	20/25(80)	B	SS-3224	10/25(40)	B
SS-0019	7/25(28)	B	SS-3295	17/25(68)	B
SS-0102	10/25(40)	B	SS-3299	4/25(20)	B
SS-0222	18/25(72)	B	SS-3772	24/25(96)	B
SS-0247	12/25(48)	B	SS-3825	15/25(60)	B
SS-1202	13/25(52)	B	SS-3922	17/25(68)	B
SS-2000	6/25(24)	B	SS-4100	19/25(76)	B
SS-2020	12/25(48)	B	SS-4222	14/25(56)	B
SS-2718	13/25(52)	B	SS-4227	17/25(68)	B
SS-2857	7/25(28)	B	SS-4229	16/25(64)	B
SS-2922	15/25(60)	B	SS-4782	25/25(100)	A
SS-2964	16/25(64)	B	SS-4993	21/25(84)	A
SS-3027	17/25(68)	B	Control	8/25(32)	B

A and B types are shown as Table 2.

3령에서 5령 유충기간에 걸쳐 산발적으로 폐사하였다.

위의 결과들로부터 3령기에 바로 폐사하는 균주의 배양액에는 살충성이 비교적 강한 물질이 함유되어 있을 가능성이 있고, 성장이 대조구보다 불량하여 3령 이후에 폐사하거나 또는 용화탈피에 실패한 균주의 배양액에는 살충능력이 다소 떨어지는 물질이 함유되어 있을 것으로 생각되어진다. 그러나 이러한 살충성의 차이에 대해서는 이들 물질의 곤충 발육저해에 미치는 영향이 우선 해명되어야 할 것으로 생각되며, 따라서 현재 이들 물질의 살충기작에 대한 연구가 진행 중에 있다.

이상과 같이 항균 및 살충물질 생산 균주의 선발을 통해 이들 균주들의 각종 농작물의 병해와 해충의 피해를 동시에 방제할 수 있는 생물농약 소재 개발 가능성이 높아졌다. 다만 본 실험의 항균 및 살충효과는 제한된 균과 곤충만을 대상으로 하여 확인한 것으로 앞으로 이들 선발균주에 의해 방제 가능한 병해 및 해충의 적용 범위 또는 농작물 생장에 미치는 이들 균주의 영향 등에 대해 보다 엄밀한 검토가 필요할 것으로 생각된다.

## 2. 균주 동정

### 1) 균의 형태학적 특성

공시된 27개 항진균성 균들 가운데 누에에 대하여 살충성을 보인 7종의 선발균주에 대하여 균동정을 실시하였다. 우선, 선발균주의 온도와 pH의 적응범위를 조사한 결과, 25~42°C의 온도범위에서 생장이 가능하였으며 pH 8에서 생장이 특히 양호하였다. 또한, 선발균주를 모든 ISP 배지상에서 7, 14, 21일간 배양한 결과, 생육정도는 모든 균주에서 peptone-yeast extract iron agar 배지를 제외하고는 대체로 양호하였다. 또한, 공중균사와 기저균사가 다 함께 존재하였는데 기저균사는 모두 흰색 또는 회색을 나타냈고, 공중균사는 회색 또는 녹색으로 관찰되어 임 등(1996)이 *Streptomyces*속 방선균에서 관찰한 결과와 유사하였다. 단, SS-4993균만은 ISP6 배지상에서 분홍색으로 나타났다. 배면색은 모든 균에서 짙은 갈색으로 관찰되었고, 또한 콜로니의 형태는 velvety한 모양으로 나타났다(자료 미제시).

### 2) 세포벽 DAP 이성체와 아미노산 조성 및 세포내 당 성분

선발된 7개 균주의 세포벽 펩티드는 glycine으로 연결된 peptidoglycan type A3 $\gamma$ 이고, 세포벽의 peptidoglycan층에 존재하는 DAP 구조는 LL-DAP를 함유하는

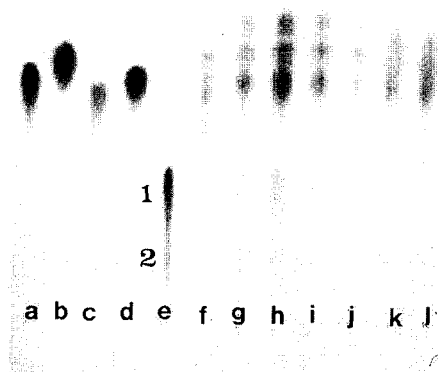


Fig. 3. Analysis of amino acids and DAP isomers in cell walls of seven actinomycete strains by cellulose thin layer chromatogram. a, glucosamine; b, glycine; c, alanine; d, glutamic acid; e, DAP isomer (e-1, LL-DAP; e-2, meso-DAP); f, SS-2020; g, SS-2718; h, SS-2964; i, SS-3825; j, SS-4227; k, SS-4299; l, SS-4993.

chemotypes I인 세포벽 형태로 밝혀졌다(Cross, 1994). 이 외에도 세포벽에는 alanine, glutamic acid, glucosamine과 같은 아미노산 등이 함유되어 있었다(그림 3). 세포내 당성분은 SS-4993을 제외한 6균주에서 특징적인 당성분이 나타나지 않는 patterns C로 밝혀졌으나(Cross, 1994), SS-4993은 방선균에서 나타나지 않는 과당(fructose)이 흔적으로 검출되었다.

### 3) 균의 주사전자현미경 관찰

7개 선발균주를 주사전자현미경으로 관찰한 결과, 공중균사와 기저균사가 모두 공통으로 존재하였다. 포자의 모양은 방선균의 속을 결정하는데 매우 중요한 요소로서 굵은 균주의 포자 모양은 균주에 따라 차이를 보였다. 즉, SS-2964, SS-3825, SS-4227 등의 포자 표면은 smooth한 레몬 모양으로 이러한 형태는 전형적인 *Streptomyces* 속을 나타내는 것이라 하겠다(이 등, 1997). SS-2718, SS-4299는 긴 막대 모양의 그리고 SS-2020, SS-4993은 짧은 막대 모양의 포자 형태를 나타냈으며, 포자의 표면은 모두 smooth하였으

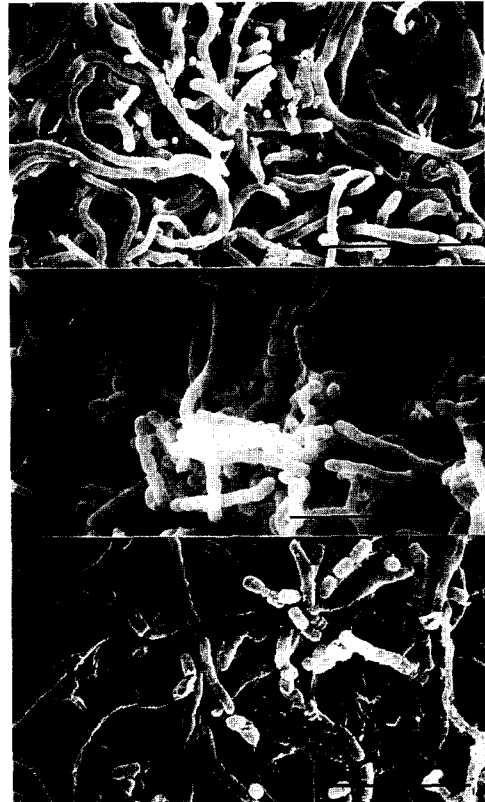


Fig. 4. Scanning electron microphotograph of spore surface of strain SS-4299(A), SS-4227(B) and SS-4993(C) (scale=6  $\mu$ m).

나, SS-4993은 다소 warty한 모양을 보였다(그림 4).

이상의 균 배양상의 형태적 특성, 균세포의 화학적 조성 및 전자현미경 관찰 등에 기초하여 살충 및 항균성을 나타내는 7균주의 동정을 시도하였다. Cross (1994)와 Shirling and Gottlieb (1966)에 의하면 세포벽이 chemotypes I이고 세포내 당성분이 patterns C인 형태의 방선균에는 *Thermoactinomyces*, *Terrabacter*, *Intrasporangium*, *Kineosporia*, *Sporichthya*, *Kitasatosporia*, *Norcardioides*, *Streptomyces*, *Streptoverticillium*, *Thermomonospora*, *Norcardiopsis*, *Actinosynema*, *Geodermatophilus* 등과 같은 속들이 속하고 있다. 이 균들의 특성을 본 실험에서 선발된 균주들의 특성과 비교하였을 때 45°C 이상의 온도에서도 성장 가능한 *Thermoactinomyces*는 성장온도(25°C-42°C)가 맞지 않으며, *Terrabacter*, *Intrasporangium*, *Kineosporia* 등은 공중균사가 없고, *Sporichthya*는 기저균사가 없는 등의 차이점으로 제외되었다. 또한, 대부분 속들의 포자사슬 모양이 분리균주의 전자현미경구조와 달라 제외됨으로 결국 *Streptomyces*, *Streptoverticillium*, *Norcardioides*의 세가지 속으로 압축되었다. 이 중에서 균주의 포자 모양을 임 등(1996)이 보고한 *Streptoverticillium* 속과 비교해 볼 때 그 모양이 같지 않고 그 밖에 항균력시험, 색소형성, 영양요구성 시험(미발표) 등을 종합하여 검토한 결과, 선발균주 SS-2964, SS-3825, SS-4227은 전형적인 *Streptomyces*속임이 밝혀졌고, SS-2020은 *Norcardioides*속일 가능성이 높은 것으로 생각되었다. 그러나 SS-2718, SS-4299, SS-4993의 3균주에 대해서는 아직 확실한 동정은 못하였다. 앞으로 균의 호흡연쇄에서 전자전달계에 관여하는 quinon 형태, 지방산의 분석, G+C 몰 함량비 등의 화학적 특성조사 등을 통해 좀 더 정확한 균동정이 이루어져야 할 것이다.

## 요 약

전국에서 수집한 토양으로부터 토양방선균 5,000 균주를 분리, 순수배양하고 이들 균배양액으로부터 항균성검정과 누에 및 파밤나방을 이용한 생물검정을 통해 항균 및 살충성을 보이는 7개의 유용 균주를 선발하였다. 이들 7균주에 대한 균동정 결과, 적어도 3개의 균주는 *Streptomyces* 속으로 판명되어졌으며,

현재 이들 항균 및 살충물질에 대한 물리·화학적 특성을 검토중이다.

## 인용문헌

- Angela, B., J. C. Hunter-Cevera and M. E. Fonda (1986) Isolation of Cultures. In: Manual of industrial Microbiology and Biotechnology (Arnold L.D., N.A. Solomon). American society for Microbiology, pp.3~23.
- Cross, T.(1994) The actinomycetes. 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. Williams and Wilkins, pp.605~703.
- 홍순광(1997) 방선균의 균주육종과 대사산물 생산. 생물산업. 9: 37~44.
- Ichikawa, T., M. Date, T. Ishikura and A. Ozaki (1971) Improvement of kasugamycin producing strain by the agar piece method and the prototroph method. *Folia Microbiol.* 16: 218~224.
- Isono, K. and S. Suzuki(1979) The polyoxin, pyrimidine nucleoside peptide antibiotics inhibiting fungal cell wall biosynthesis. *Heterocycles.* 13: 333~351.
- 이인구·주길재·권기석(1997) 내열성 포도당 이성화효소를 생산하는 *Streptomyces chibaensis* J-59의 분리 및 동정. 산업미생물학회지. 25: 15~22.
- 임대석·윤상균·이명섭·윤원호·김창환(1996) 항진균성 항생물질을 생산하는 *Streptoverticillium* sp. NA-4803의 분리 및 동정. 한국산업미생물학회지. 24: 664~670.
- Porter, J.N.(1975) Cultural conditions for antibiotic-producing microorganism. In John H. Hash(ed.). *Method in Enzymology.* 63: 3~23.
- Shirling, E.B. and D. Gottlieb(1966) Method for characterization of Streptomyces speices. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 16: 313~340.
- Staneck, J.L. and G.D. Robert(1974) Simplified approach to identification of aerobic actinomycetes by thin layer chromatograph. *Appl. Microbiol.* 28: 226~231.
- Takeuchi, S., K. Hirayama, K. Ueda, H. Sasaki and H. Yonehara(1958) Blasticidins, a new antibiotic. *J. Antibiot.* 11: 1~5.
- 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.