

산림 토양 중 저 영양성 방선균의 분포

정은예 · 이상화 · 박동진 · 이항범 · 박철¹ · 김창진*
생명공학연구소, ¹북경시 중국농업대학

Distribution of Oligotrophic Actinomycetes in Forest Soil. Jeong Eun-Ye, Sang Hwa Lee, Dong-Jin Park, Hyang Burm Lee, Piao Zhe¹, and Chang-Jin Kim*. Korea Research Institute of Bioscience & Biotechnology, P.O. Box 115, Yusong, Taejeon 305-600, Korea and ¹China Agriculture University, Beijing, China, 100094 - From 5 forest soil samples, the isolation frequency of oligotrophic Actinomycetes was investigated with nutrient and minimal media. The frequency of soil Actinomycetes by the minimal media of DHV, WA, BA, and NA was similar to the value by HV nutrient medium. In addition, different Actinomycetes were isolated from all the media used in this experiment and then their growth were tested on nutrient (Bennett's agar) and minimal media(WA). In consequent, the number of different Actinomycetes from minimal media was 26.1 strains, whereas the number from nutrient medium (HV) was 26.6 strains. Furthermore, the percentage of facultative and obligate strains among the oligotrophic Actinomycetes was 90% and 10%, respectively.

Key words: Oligotroph, Actinomycetes, soil distribution

중속 영양균(heterotroph)의 일부 균주는 유기 영양원의 농도가 낮은 조건에서도 뚜렷한 생육 활동을 하는 것으로 보고되고 있다[4-8]. 이러한 균주와 관련하여 Kuznetsov는 유기 탄소원의 농도가 극히 낮은 0.0001~0.0015%인 저 영양배지에서도 증식할 수 있는 미생물을 저 영양성(oligotroph)이라고 정의하였으며[7], 또한, 유기 영양배지에서의 증식 유무에 따라 통성(facultative)과 절대성(obligate) 균주로 구분하였다[12-14]. 현재까지 저 영양성 균주의 생육 기구는 거의 규명되지 않았으며, 단지 공기 중에 존재하는 탄소화수소물 또는 이산화탄소를 이용하는 것으로 알려지고 있다[9,10]. 저 영양성 균주의 자연계 분포로서는 일부 해양과 토양에서 세균이나 진균을 대상으로 보고되고 있으며, Tada 등은 특히 사람의 소변, 타액, 질 분비물 등으로부터 세균성 oligotroph의 분포를 조사하여 보고한바 있다[14]. 한편 Iwasaki 등은 Streptomyces 속의 한 oligotroph 방선균주로부터 새로운 항암성 항생물질 glycopiperidicin을 분리하여 그 산업적 유용성을 보여주었다[15].

본 연구에서는 각종 생리활성물질의 중요한 탐색원으로 활용되고 있는[1,2] 방선균류에 있어서 다양한 균주를 확보하기 위한 기초 자료로서 우선 지금까지 미 보고된 oligotroph 방선균들의 토양 분포 양상을 조사하였다. 산림 지역으로부터 토양 시료 5점을 각각 채취하여 1g 씩을 멸균 생리 식염수 10 ml에 현탁하여 10⁻⁵배까지 희석한 후, 그 현탁액 0.1 ml을 Table 1의 각 배지에 각각 도말한

후, 28°C에서 10일간 배양하였다. 이때 각각의 배지 상에 나타난 방선균의 집락수를 조사하여 토양 시료 1g 당 방선균의 분리 빈도를 알아보았다(Fig. 1). 그 결과, 영양배지 HV에 의한 방선균의 분리 빈도는 7.7 × 10⁶ CFU/g soil이었다. 또한 최소배지로서 DHV, BA, NA, WA에 의한 방선균의 분리 빈도는 각각 7.5 × 10⁶ CFU/g soil, 7.5 × 10⁶ CFU/g soil, 7.4 × 10⁶ CFU/g soil, 7.6 × 10⁶ CFU/g soil이었으며 이들은 HV 영양배지 상의 결과와 큰 차이가 없었다. 따라서 저 영양성 방선균은 영양배지에서만 생육할 수 있는 copiotroph 방선균과 비슷한 토양 분포 밀도를 나

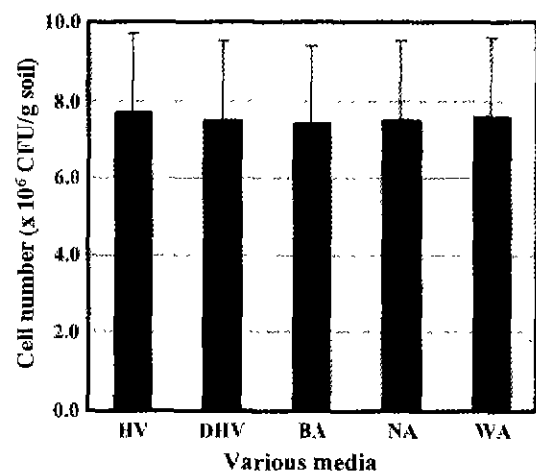


Fig. 1. Total number of soil Actinomycetes colonized on the oligotrophic media.

HV; Humic acid-vitamin agar DHV; Difuted(1/100) HV agar BA; Basal salts agar NA; Nitrate agar WA; Water agar

*Corresponding author

Tel. 042-860-4332, Fax 042-860-4595

E-mail: changjin@mail.kribb.re.kr

Table 1. Media composition for isolation of *Actinomyces* from forest soil

Nutrient			Minimal		
HV	Bennett's	DHV	BA	NA	WA
Humic acid 1.0 g	Glucose 10 g	Humic acid 0.01 g	NaNO ₃ 2.0 g	NaNO ₃ 2.0 g	Agar 18 g
Na ₂ HPO ₄ 0.5 g	Yeast extract 10 g	Na ₂ HP ₄ 0.005 g	KH ₂ PO ₄ 5.25 g	Agar 18 g	dH ₂ O 11
KCl 1.7 g	Bacto-peptone 2.0 g	KCl 0.017 g	K ₂ HPO ₄ 10.63 g	dH ₂ O 11	pH 7.2
MgSO ₄ ·7H ₂ O 0.05 g	Beef extract 1.0 g	MgSO ₄ 7H ₂ O 0.0005 g	KCl 0.5 g	pH 7.2	
FeSO ₄ ·7H ₂ O 0.01 g	Agar 20 g	FeSO ₄ ·7H ₂ O 0.0001 g	MgSO ₄ 7H ₂ O 0.5 g		
CaCO ₃ 0.02 g	dH ₂ O 11	CaCO ₃ 0.0002 g	FeSO ₄ ·7H ₂ O 0.01 g		
Agar 18 g	pH 7.2	Agar 18 g	Agar 18 g		
dH ₂ O 11		dH ₂ O 11	dH ₂ O 11		
pH 7.2		pH 7.2	pH 7.2		

HV; Humic acid-vitamin agar DHV; Diluted(1/100) HV agar BA; Basal salts agar NA; Nitrate agar WA; Water agar

Table 2. Number of different oligotrophic *Actinomyces* cultivated on various media

Various media	Number of strain		
	Copiotroph	Facultative oligotroph	Obligate oligotroph
Nutrient HV	4.2	22.4	0
DHV	0	23.0	2.8
Minimal BA	0	22.6	2.8
NA	0	27.4	1.8
WA	0	20.8	3.0

HV; Humic acid-vitamin agar DHV; Diluted(1/100) HV agar BA; Basal salts agar NA; Nitrate agar WA; Water agar

타내는 것으로 사료된다.

또한 본 연구에서는 토양에 분포하는 저 영양성 방선균의 다양성을 알아보기 위해, HV, DHV, BA, NA, WA 배지를 이용하여 산림지역의 토양 시료 5점으로부터 위와 동일한 방법으로 방선균을 순수 분리하였다. 각 배지 상에 나타난 방선균 집락은 영양배지 Bennett's agar [1] 및 최소배지 WA에 접종하여 28°C에서 7일간 배양한 후, 생육한 콜로니의 형태적 특징을 상호 비교하여 서로 다른 균주를 순수 분리하였다. 이들 균주를 다시 선별하기 위해 BA와 WA 배지에 재 접종하여 28°C에서 7일간 배양한 후, BA에서만 자라는 copiotroph, WA 및 BA 모두에서 자라는 통성 oligotroph, WA에서만 자라는 절대성 oligotroph으로 구분하였다(Table 2). 그 결과, HV 영양 배지에서는 토양 시료 당 평균 26.6주의 서로 다른 방선균이 분리되었으며, 이들 중 copiotroph은 단 4.2주였고 나머지 22.4주는 모두 통성 oligotroph이었다. 반면, 최소배지 DHV, BA, NA, WA에서는 토양 시료 당 각각 25.8, 25.4, 29.2, 23.8주의 서로 다른 방선균이 분리되었다. 이들 중 copiotroph은 없었으며, 통성 oligotroph은 각각 23.0주, 22.6주, 27.4주, 20.8주이었고 절대성 oligotroph은 각각 2.8주, 2.8주, 1.8주, 3.0주이었다. 따라서 토양 중에 분포하는 서로 다른 통성 oligotroph 방선균의 분리는 영양배지 뿐만 아니라 최소배

지에 의해서도 가능하며, 특히 낮은 빈도일지라도 최소배지를 이용할 경우, 영양배지에 의해서는 분리가 불가능한 절대성 oligotroph 균주도 분리된다. 이상의 결과를 종합해 보면, 토양 중에 분포하는 대부분의 방선균은 통성 oligotroph이며, 그 분포 밀도 및 다양성은 지금까지 알려지고 있는 방선균의 분포 수준과 큰 차이가 없는 것으로 사료된다.

REFERENCES

- Porter, N. and F. M. Fox 1993. Diversity of microbial products-discovery and application *Pestic. Sci.* **39**: 161-168.
- Zahner, H. 1985. The secondary metabolism of microorganisms: an inexhaustible source for new products. *Pestic. Sci.* **16**: 424-425.
- Castellani, A. 1939. Viability of some pathogenic fungi in distilled water. *Journal of tropical medicine and hygiene* **42**: 225-226.
- Baxter, M. and J. M. Sieburth. 1984. Metabolic and ultrastructural response to glucose of two eurytrophic bacteria isolated from seawater at different enriching concentrations. *Appl. Environ. Microbiol.* **47**: 31-38.
- Carlucci, A. F., S. L. Shimp, and D. B. Craven. 1986. Growth characteristics of low nutrient bacteria from the north-east and central pacific ocean. *FEMS Microbiol. Ecol.* **38**: 1-10.
- Kuznetsov, S. I., G. A. Dubinina, and N. A. Lapteva. 1979. Biology of oligotrophic bacteria *Annu. Rev. Microbiol.* **33**: 377-387.
- Wainwright, M., F. Barakah, I. A. L., Turk, and T. Ali. 1991. Oligotrophic organisms in industry, medicine and the environment. *Sci. prog.* **75**: 313-322.
- Parkinson, S. M. and K. Killham. 1990. Assimilation of ¹⁴CO₂ by *Fusarium oxysporum* grown under oligotrophic conditions. *Mycol. Res.* **94**: 959-964.
- Parkinson, S. M., R. Jones, A. A. Meharg, M. Wainwright, and K. Killham. 1991. The quantity and fate of carbon assimilated from ¹⁴CO₂ by *Fusarium oxysporum* grown under oligotrophic and near oligotrophic conditions. *Mycol.*

- Res.* **95**: 1345–1349.
10. Yamagita, T., T. Ichikawa, T. Tsui, Y. Kamata, K. Ito, and M. Sasaki. 1978. Two trophic groups of bacteria, oligotrophs and eutrophs: their distributions in fresh and seawater areas in the central northern Japan. *J. Gen. Appl. Microbiol.* **24**: 59–88.
 11. Mirocha, C. A. and J. E. Devay. 1971. Growth of fungi on an inorganic medium. *Can. J. Microbiol.* **17**: 1373–1378.
 12. Tribe, H. T. and S. A. Mabadeje. 1972. Growth of moulds on media prepared without organic nutrients. *Transactions of the British Mycological Society* **58**: 127–137.
 13. Wainwright, M. and S. J. Grayston. 1988. Fungal growth and stimulation by thiosulphate under oligocarbotrophic conditions. *Transactions of the British Mycological Society* **91**: 149–156.
 14. Tada, Y., M. Ihmori, and J. Yamaguchi. 1995. Oligotrophic bacteria isolated from clinical materials. *J. Clinical Microbiol.* **33**: 493–494.
 15. Iwasaki, H., K.-I. Kamisango, H. Kuboniwa, H. Sasaki, and S. Matsubara. 1991. 3'-Deoxytalopiericidin A₁, a novel analog of antitumor antibiotics from oligotroph. *J. Antibiotics* **44**: 451–452.

(Received May 16, 2000)