The Korean Journal of Microbiology (2010) Vol. 46, No. 4, pp. 359-365
Copyright ⓒ 2010, The Microbiological Society of Korea

고추 세균성 점무늬병원균(*Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*)의 항균활성 *Streptomyces* sp. JR-24 균주의 분리 및 분류학적 특성

한송이[1] · 이효진[1] · 황경숙[1,2]*

[1]목원대학교 미생물나노소재학과, [2]목원대학교 미생물생태자원연구소

Isolation and Taxonomical Characterization of *Streptomyces* sp. JR-24 with Antibacterial Activity of Bacterial Leaf Spot of Pepper (*Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*)

Song-Ih Han[1], Hyo-Jin Lee[1], and Kyung-Sook Whang[1,2]*

[1]Department of Microbial and Nanomaterials, Mokwon University, Daejeon 302-729, Republic of Korea
[2]Institute of Microbial Ecology and Resources, Mokwon University, Daejeon 302-729, Republic of Korea

(Received December 2, 2010/Accepted December 21, 2010)

Fifty *Actinobacteria* strains were isolated from rhizosphere soil of *Sasa borealis*. In the course of screening for antibacterial activity against bacterial leaf spot of pepper (*Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*) of isolates, 12 isolates showed strong antibiotic activity. Basis on the 16S rRNA gene sequence, they were belonging to *Streptomyces* cluster II. Strain JR-24 exhibited strong antibiotic activity against *X. axonopodis* pv. *vesicatoria*, had a minimum inhibitory concentration of 10 μl/disc. The strain JR-24 was most closely related to *Streptomyces galbus* DSM40089^T (98.1%), *Streptomyces longwoodensis* LMG20096^T (98%) and *Streptomyces capoamus* JCM4734^T (97.8%). When assayed with the API 20NE and 50 CHE kit, it is positive for utilization of L-arabinose, D-fructose, D-glucose, D-galactose and hydrolysis of gelatin, protein, starch. The strains contained iso-$C_{14:0}$ (25.93%), iso-$C_{15:0}$ (10.13%), anteiso-$C_{15:0}$ (19.29%) and iso-$C_{16:0}$ (20.35%) as major fatty acids and MK-9 (H4), MK-9 (H6), and MK-9 (H8) as the isoprenoid quinone. Strain JR-24 was suggested new species of genus *Streptomyces* by nearest neighbors of genotypic relationships and phenotypic characterization. This study was important to microbial resources investigation for environment-friendly agriculture.

***Keywords*:** antibacterial activity, *Streptomyces*, *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*

국내 고추재배 면적은 44,584 ha (20)에 달하며 생산액에 있어 쌀 다음으로 중요한 작물이다. 고추에 피해를 주는 주요 병으로는 곰팡이 유래의 역병, 탄저병과 세균 유래의 점무늬병 그리고 바이러스병이 있으며, 이들 병에 의한 수확량의 감소는 30-100%에 이른다고 보고되고 있다(10). 특히, 고추 세균성 점무늬병은 식물체의 각 부위에서 발병하지만 주로 잎에 발병하여 조기 낙엽을 유발하므로 고추 수량에 직접적인 피해를 끼치며, 발병하면 방제가 어려운 병으로 알려져 있다(5). 이들 식물병해 방제를 위하여 많은 종류의 농약을 살포해 오면서, 화학농약의 사용에 따른 토양내 잔류농약에 의한 토양오염 및 생태계의 파괴의 문제가 지속적으로 제기되고 있다(14, 21). 이러한 문제점을 해결하기 위하여 항진균제, 효소저해제, 면역조절제 등 미생물에서 유래한 다양한 천연생리활성물질을 이용한 생물농약 개발을 위한 선도물질의 개발과 연구가 진행되고 있다(4, 9, 22, 26). 현재까지 보고된 고추 병 방제를 위한 미생물제의 경우, *Phytophthora capsici*에 의해 야기되는 역병과 *Colletotrichum gloeosporioides* 유래의 탄저병을 대상으로 항진균제가 개발되고 있으나(2, 22, 24, 25) *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*에 의한 세균성 점무늬병 방제에 관한 항세균제 개발에 관한 연구는 매우 미흡한 실정이다.

지금까지 알려진 약 16,500여 종의 항생물질 중 75% 이상이 방선균에 의해 분리되었으며, 최근 20년간의 미생물로부터 분리된 생리활성물질의 약 67%가 방선균 유래였으며, 25.6%

* For correspondence. E-mail: kswhang@mokwon.ac.kr; Tel: +82-42-829-7593, 7597; Fax: +82-42-829-7599

가 곰팡이유래, 10%가 기타 미생물로부터 분리되었다(3). 방선균은 미생물 유전자원의 보고로서 다양한 환경을 대상으로 신물질의 탐색 및 생합성기작에 대한 연구가 진행되고 있다(1, 3, 28). 공동 연구자는 선행연구에서 국내에 자생하는 왕대, 분죽, 조릿대, 호마죽과 같은 주요 대나무림 근권토양 내에 방선균이 높은 밀도로 분포하고 있음을 보고하고 다수의 방선균을 수집하였다. 특히, 조릿대 근권토양으로부터 식물 병원균(*Botrytis cinerea*, *Xanthomonas campestris* 그리고 *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*)에 대한 항균활성 균주가 다수 분리되었음을 보고 한 바 있다(17). 본 연구에서는 조릿대 근권토양에서 분리한 방선균 중 고추 세균성 점무늬병원균에 대해 항균활성능이 우수한 균주를 선발하고 세균학적 특성을 밝혀 친환경 미생물제제 개발을 위한 기반연구를 수행하고자 하였다.

재료 및 방법

Xanthomonas axonopodis pv. *vesicatoria* 에 대한 항균활성 검정

선행연구에서는 조릿대(*Sasa boreali*) 근권토양에서 분리한 방선균 50균주를 대상으로 *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*을 검정균으로 사용하여 항균활성능을 조사하였다. 항균활성 검정은 disc paper법에 따라 수행하였다. 병원균의 배양액을 육즙배지(NA, nutrient broth agar) 평판 배지 위에 접종 한 후, paper disc (8 mm)를 올려놓고 방선균의 배양액을 200 μl씩 흡수시킨 다음, disc paper 주위에 형성된 생육저지대(growth inhibitor clear zone)의 크기를 확인하였다.

최소억제농도(minimal inhibitory concentration, MIC)의 측정은 한천배지 확산법(agar diffusion method)을 이용하였다. 선발된 항균활성 방선균를 Mcfaland 0.5의 탁도로 배양하고, 13,000×g에서 5분간 원심분리하여 상층액을 분리하였다. 분리된 상층액은 *X. axonopodis* pv. *vesicatoria*을 도말한 NB배지에 10 μl, 20 μl, 50 μl, 80 μl, 100 μl 그리고 150 μl씩 접종한 후, 48시간 배양하여 최소 억제농도를 확인하였다(5, 9).

항균활성 균주에 의한 생육저해효과 검정

Xanthomonas axonopodis pv. *vesicatoria*의 생육저해효과검정을 위하여 NB 배지에 병원균을 접종하고 6시간 배양 후 배양액을 1%, 0.5% 그리고 1% 첨가하여 28°C에서 48시간 배양하였다. 배양 6, 12, 18, 24, 30, 36, 42 및 48시간에 Spectrophotometer (UV1650-PC, SHIMADZU, Inc., Japan)를 이용하여, 595 nm에서 흡광도를 측정하여 생육저해효과를 검정하였다(9, 31).

16S rRNA 유전자 염기서열 분석

16S rRNA 유전자 염기서열 분석은 순수 배양된 단일 colony를 주형으로 사용하여 직접 PCR 증폭을 수행하였으며, bacterial 16S rRNA universal primer를 이용하여 16S rRNA유전자를 증폭시켰다. *E. coli* 16S rDNA 부분의 conserved sequence를 기초로 한 27F (5′-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3′) primer와 1492R (5′-AAGGAGGTGATCCAGCCGC-3′) primer를 사용하였다. PCR 조건은 1× PCR buffer, 0.2 mM dNTPs, 0.2 μM primer, 2.5 U Taq DNA polymerase (Solgent co., Korea) 그리고 template로 하였다. 16S rRNA 유전자의 PCR 반응은 Perkin Elmer (GeneAMPR PCR System 9700, Applied Biosystems, USA)를 이용하여 94°C에서 2분간 변성 후, 94°C에서 30초, 54°C에서 40초, 72°C에서 1분 반응을 30회 반복 시행하였으며, 72°C에서 10분간 반응 후 4°C로 내려 종료하였다. 증폭된 PCR product는 1% agarose (Agarose LE, Promega Co.) gel을 0.5 μg/ml ethdium bromide로 염색하여 확인하였다. 증폭산물은 ABI 3730XL capillary DNA sequencer (Applied Biosystems, USA)를 사용하여 PCR product의 염기서열 분석을 수행하였다(23).

계통도작성

결정된 16S rRNA 유전자 염기서열은 RDP (http://rdp.cme.msu.edu/)에서 계통군을 확인하고 각 균주는 DDBJ/ NCBI/ GenBank database의 BLAST program을 이용하여 homology를 비교하였다. 각 염기서열은 CLUSTAL X algorithm를 이용하여 alignment 되고 근린 결합법에 의거한 MEGA4.0 program을 이용하여 계통도를 작성하였다(30).

균체지방산조성분석

균체지방산 분석을 위하여 TSB (Trypticase soy broth) 배지에 균체를 접종하고 28°C에서 5일간 배양한 후 대수기의 균체를 회수하였다. 회수한 균체 약 50 mg (wet weight)을 teflon-lined screw cap tube (13×100 mm, pyrex)에 옮긴 후, Ikemoto & Miyagawa의 방법(10, 18)에 의해 균체지방산을 methyl ester화 시켜 추출하였다. 지방산 분석은 Microbial Identification System (MIDI; Microbial ID, Inc., USA)을 이용하였다.

Quinone 분석

Isoprenoid quinone 분자종의 동정은 Collins 등의 방법을 이용하여 분석하였다. 동결 건조된 균체로부터 지질혼합물을 추출하고, silica-gel TLC plate에 전개하여 표준물질과 동일한 R*f*를 갖는 band를 분리·정제하였다. 정제된 Quinone 혼합물과 각각의 표준물질은 HPLC (SPD-10AV, SHIMADZU, Inc., Japan)를 이용하여 분자종을 동정하였다(23).

형태학적, 생화학적 특성

국제미생물방선균위원회(ISP; International Streptomyces Project)의 방선균 분류 기준에 따라 각각의 배양배지에 24일간 배양 후 Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 8판에 의거하여 방선균 형태(기균사; aerial mycelium, 기중균사; substrate mycelium 및 색소형성)를 관찰하였다. 생리·생화학적인 특성은 API 20NE (bioMérieux, France), API 50 CHE (bioMérieux)와 API ZYM (bioMérieux)을 이용하였으며 추가적으로 그람 염색 및 배양학적 특성을 확인하였다(19, 29, 30, 31).

결과 및 고찰

항균활성 방선균의 분리 및 계통학적 특성

조릿대 근권토양으로부터 분리된 50균주를 대상으로 고추 세균성 점무늬병원균(*Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* KACC12872)에 대한 항균력 검토하였다. Disc paper법을 이용하여 방선균 주위에 형성된 생육저지대(growth inhibitor clear zone)를 측정하고 항균활성을 검정한 결과, 12균주가 고추 세균성 점무늬병원균에 대한 우수한 항균력을 나타내었다.

Xanthomonas axonopodis pv. *vesicatoria*에 대해 항균력을 나타내는 12균주에 대해 16S rRNA 유전자 염기서열을 결정하고 RDP (http://rdp.cme.msu.edu/)를 이용하여 계통학적 위치를 확인한 결과, 항균활성 방선균은 모두 *Streptomyces* 속에 속하는 것으로 확인되었다.

지금까지 *Streptomyces* 속에 속하는 방선균은 550여 종이 보고 되고 있으며(6), Lanoot 등은 주요 *Streptomyces* 158균주의 16S rRNA 유전자 염기서열 해석을 통해 4개의 cluster와 25개의 subcluster로 분류한 바 있다(16). 본 연구에서 선발된 상기의 모든 균주가 Lanoot 등에 의해 분류된 cluster 중 *Streptomyces acidiscabies*, *Streptomyces capoamus*, *Streptomyces graminofaciens*, *Streptomyces griseochromogenes*, *Streptomyces olivochromogene*, 그리고 *Streptomyces tauricus* 등을 포함하는 cluster II에 속하는 특징을 나타내었다(Fig. 1).

JR-24 균주의 고추 세균성 점무늬병원균에 대한 최소저해농도 검정

선발된 항균활성 균주 중, 반경 8 mm 이상의 강한 생육저지대를 나타낸 JR-24 균주를 최종 선발하고 최소저해농도(MIC)를 확인하였다. 항균활성 방선균 JR-24 균주는 최소저해농도는10 μl/disc로 나타났으며, 50~150 μl/disc에서 높은 활성을 나타내었다(Fig. 2).

Xanthomonas axopodis pv. *vesicatoria*의 생육저해 효과 검정

항균활성 방선균 JR-24 균주에 의한 *Xanthomonas axopodis* pv. *vesicatoria*의 생육저해를 측정하였다. *X. axopodis* pv. *vesicatoria*에 JR-24 균주 배양액 1 μl/ml 처리하여 배양한 경우, 배양 12시간 이후 *X. axopodis* pv. *vesicatoria*가 10^{-1}로 감소하였다. JR-24 균주 배양액 5 μl/ml를 처리한 경우, 배양 6시간 이후부터 증식률이 감소하다 배양 12시간 이후 2.3×10^{2} CFU/ml로 약 10^{-4}로 현저하게 증식이 감소됨을 나타내었다. 또한, JR-24 균주 배양액 10 μl/ml 처리에서도 배양액 5 μl/ml 처리에서와 유사한 결과를 나타내었다(Fig. 3). Kang 등이 발표한 제주도 토양에서 분리한 식물병원균의 항균활성 균주 *Streptomyces* sp. JJ45의 경우, 배양액을 20 μl 처리하고 24시간 배양한 결과, *Xanthomona* 속에 생육저해효과가 있음을 보고하였다(11). 본 연구에서 분리된 JR-24 균주의 경우, 배양액을 5 μl/ml 처리하고 12시간 배양 후 강한 생육저해효과를 나타낸 결과와 비교하여 볼 때, JR-24 균주는 세균성 고추점무늬병원균에 매우 탁월한 미생물 자원으로 활용 될 수 있을 것으로 기대된다.

JR-24 균주의 계통분류

선발된 항균활성 우수 방선균 JR-24 균주의 계통학적 위치를 검토하기 위하여, 16S rRNA 유전자 염기서열(1,394 bp; GenBank accession no. HQ267979)을 결정하고. NCBI/RDP/GenBank의 database와 상동성을 검색하였다 그 결과, *Streptomyces* 속에 속하며, *Streptomyces galbus* DSM40089^{T} (X79852)와 98.1%, *Streptomyces longwoodensis* LMG20096^{T} (AJ781356)와 98% 그리고 *Streptomyces capoamus* JCM4734^{T} (AB045877)와 97.8%의 상동성을 나타내었다(Fig. 4).

Streptomyces sp. JR-24 균주의 형태학적 특성

분리된 JR-24 균주는 국제미생물방선균위원회(I.S.P; International Streptomyces Project)에 의해 정해진 방선균 분류 기준에 의거하여 Yeast extract agar (ISP 2), Oatmeal agar (ISP 3), Inorganic salts-starch agar (ISP 4), Glycerol-asparagine agar (ISP 5), Peptone-yeast extract-iron agar (ISP 6), Tyrosine agar (ISP 7), Czapek's agar 그리고 Nutrient agar 배지에서 방선균의 증식여부와 형태(기균사; aerial mycelium, 기중균사; substrate mycelium 및 색소형성)를 관찰하였다. 그 결과 JR-24 균주는 모든 배지에서 생육이 가능하였으며 기균사의 색상은 ISP 3 (white), ISP 4 (white), ISP 5 (yellow), ISP 7 (gray) 그리고 Nutrient agar에서 light gray를 나타내었다. 기중균사는 ISP 2 (ivory), ISP 3 (ivory), ISP 4 (light yellow), ISP 5 (yellow), ISP 6 (light gray), ISP 7 (yellow), Czapek's agar (ivory), Nutrient agar에서 white 색을 나타내었다. 또한, ISP 6 과 ISP 7에서는 배지 내 brown 계열의 수용성 색소를

Table 1. Cultural characteristics of strain JR-24 on International Streptomyces Project (ISP) media

Media	Growth	Sporulation	Diffusible pigment	Colony colour	
				aerial mycelium	substrate mycelium
Yeast extract agar (ISP 2)	good	none	none	none	ivory
Oatmeal agar (ISP 3)	good	good	none	white	ivory
Inorganic salts-starch agar (ISP 4)	good	moderate	none	white	light yellow
Glycerol-asparagine agar (ISP 5)	good	good	none	yellow	yellow
Peptone-yeast extract-iron agar (ISP 6)	good	none	dark black	none	light gray
Tyrosine agar (ISP 7)	good	good	dark brown	gray	yellow
Czapek's agar	good	none	none	none	ivory
Nutrient agar	good	good	none	light gray	white

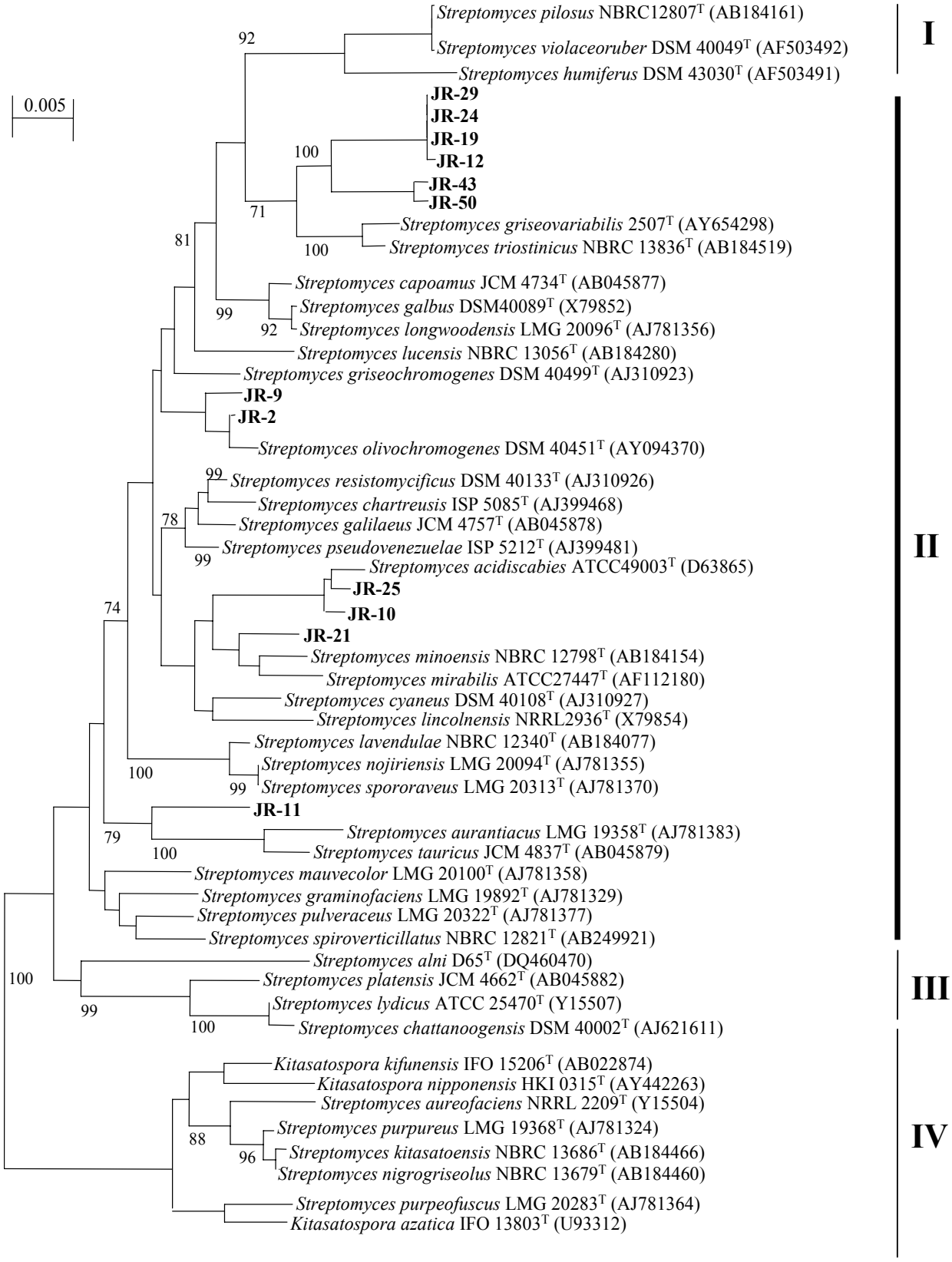

Fig. 1. Neighbour-joining tree based on complete 16S rRNA gene sequences, showing relationships between antibacterial isolates and member of the genus *Streptomyces*. Numbers at the nodes are levels of bootstrap support (%), based on neighbour-joining analyses of 1,000 resampled datasets. Bar, 0.005 nucleotide substitutions per position.

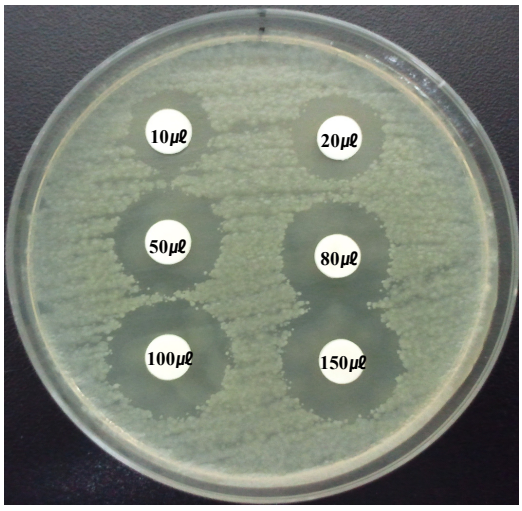

Fig. 2. Minimum inhibitory of strain JR-24 by paper disc method.

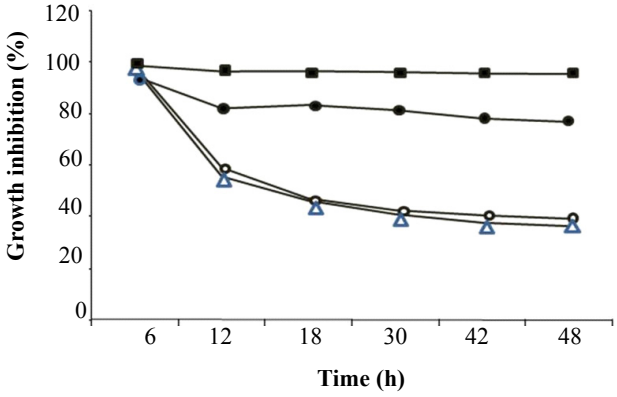

Fig. 3. Growth inhibition of *Xanthomonas axopodis* pv. *vesicatoria* according to strain JR-24. (■), control; (●) 1 μl/ml; (○) 5 μl/ml; (△) 10 μl/ml

형성하는 것으로 확인되었다(Table 1).

Streptomyces sp. JR-24 균주의 균체 지방산 조성 및 Quinone 종 분석

선발된 항균활성균주 JR-24의 지방산 methyl ester에 대한 균체지방산을 분석한 결과, 주요 지방산으로 iso-$C_{14:0}$ (25.93%), iso-$C_{15:0}$ (10.13%), anteiso-$C_{15:0}$ (19.29%) 그리고 iso-$C_{16:0}$ (20.35%) 함유하였으며, iso-$C_{16:1}$ H, iso-$C_{17:1}$ ω9c, anteiso $C_{17:1}$ ω9c, iso-$C_{17:0}$ 그리고 anteiso $C_{17:0}$와 같은 다양한 분지형 지방산을 함유하는 특성을 나타내었다(Table 2).

Isoprenoid quinone 종을 HPLC에 의해 정량분석 분석한 결과, menaquinone을 함유하였으며, MK-9 (H_4) 4.37%, MK-9 (H_6) 51.22% 그리고 MK-9 (H_8) 49.47%로 동정되었다.

Streptomyces sp. JR-24 균주의 생리 · 생화학적 분석

항균활성 방선균 *Streptomyces* sp. JR-24 균주의 배양특성, 당분해능 및 산화·환원능 등 생리 생화학적 특성을 확인한 결과, melanin과 soluble pigments을 생성하며, L-arabinose, D-fructose, D-glucose, D-galactose을 이용할 수 있는 것으로 나타났다. 또한 gelatin, protein, starch에 대하여 분해능이 있는 것으로 확인되었다(Table 3).

JR-24 균주는 계통학적 근연종인 *Streptomyces galbus* DSM40089^T (27)와 생리 · 생화학적 특성을 비교한 결과, D-xylose, inositol, salicin, D-raffinose, L-rhamnose, sucrose 이용능 및 gelatin, protein 분해능 등 다수의 표현형적 특성 차이를 나타내었다. 한편, *Streptomyces galbus* DSM40089^{T}의 경우, 지방산 조성 및 퀴논종에 대한 보고가 되어 있지 않아 비교가 곤란하였다. 이상, 고추 세균성 점무늬병의 항균활성균주 JR-24 균

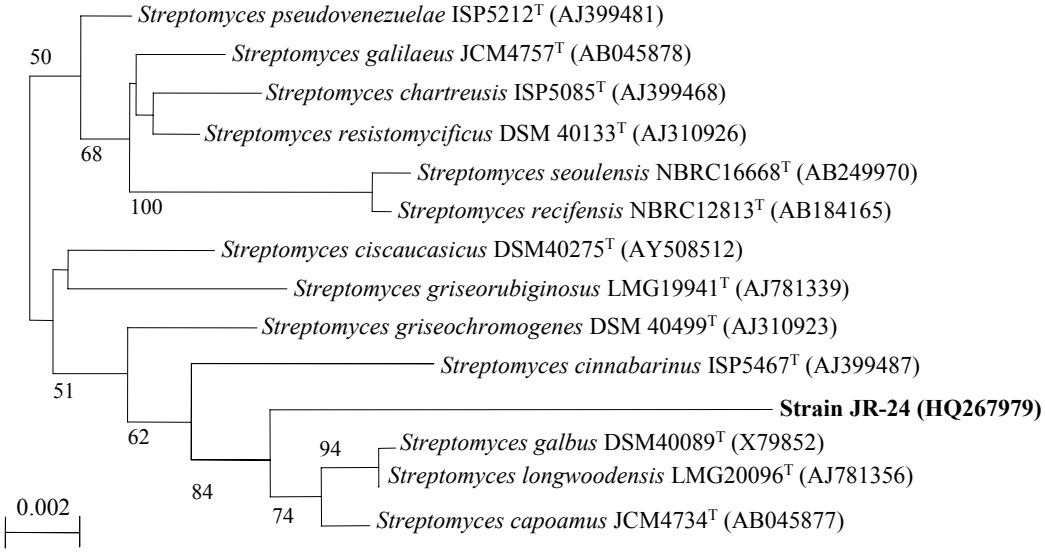

Fig. 4. Phylogenetic relationships of strain JR-24 and genera *Streptomyces* based on similarities of 16S rRNA gene sequences. The phylogenetic tree was constructed using the neighbor-joining method. Bootstrap values are shown at nodes. Scale bar, 1 nucleotide substitutions in 500 bases.

주의 형태학적 특성, 생리·생화학적 특성, 균체 지방산 조성, Quinone 종 및 16S rRNA 유전자 염기서열 분석을 수행한 결과, *Streptomyces* 속의 근연종과 표현형적 및 계통학적으로 다수의 차이를 나타내어 *Streptomyces* 속의 신종으로 제안할 수 있었다.

자연환경 내에 광범위하게 분포하는 것으로 알려진 *Streptomyces* 속은 항생물질, 효소, 면역조절제 등 다양한 종류의 생리활성물질을 생산하는 미생물 유전자원의 보고로서 신규 미생물 분리 및 신물질의 탐색 대해 깊이 연구되어 왔다(3, 9, 18). 지금까지 밝혀진 *Streptomyces* 속에 속하는 방선균은 550여 종으로, 우리나라에서 분리 동정된 *Streptomyces* 속의 표준균주는 12종이 보고되었다(6, 17). 본 연구에서 분리한 JR-24 균주는 *Streptomyces* 속에 속하는 신종으로 미생물 유전자원의 다양성 확보차원에서 매우 긍정적인 의의가 있는 것으로 판단되었다.

현재까지 고추세균성 점무늬 병원균(*Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*)의 항균활성 균주로는 *Bacillus* 속, *Micromonospora* 속, *Ochrobactrum* 속, *Streptomyces* 속에 속하는 균주가 다수 보고되었다(12, 13, 15). 한국특허정보원(http://www.kipi.or.kr/)에 등록된 항균활성 미생물을 이용한 고추 세균성 점무늬병 방제제는 2건만이 등록(7, 8)되어 있어 실용화 연구가 매우 미흡한 실정이다. 향후, *Streptomyces* sp. JR-24 균주가 생산하는 항균활성물질의 정제, 구조해석 및 대량 생산 최적조건 구축 등 기초·응용연구를 통하여 식물병 방제용 친환경 미생물 제제의 산업화에 기여할 수 있을 것으로 사료된다.

Table 2. Cellular fatty acid composition of strain JR-24

Fatty acid	Composition (%)
Saturated acids	
$C_{12:0}$	0.7
$C_{14:0}$	1.79
$C_{15:0}$	0.83
$C_{16:0}$	3.82
Unsaturated acids	
$C_{18:1}$ ω9c	2.14
Branched chain	
iso-$C_{10:0}$	0.48
iso-$C_{11:0}$	0.32
anteiso $C_{11:0}$	0.29
iso-$C_{12:0}$	1.06
iso-$C_{13:0}$	1.16
iso-$C_{14:0}$	25.93
iso-$C_{15:0}$	10.13
anteiso $C_{15:0}$	19.29
iso-$C_{16:1}$ H	0.62
iso-$C_{16:0}$	20.35
iso-$C_{17:1}$ ω9c	1.06
anteiso $C_{17:1}$ ω9c	0.46
iso-$C_{17:0}$	2.2
anteiso $C_{17:0}$	4.05
Hydroxy acids	
$C_{18:0}$ 3OH	1.33

적요

조릿대 근권토양으로부터 분리한 방선균 50균주를 대상으로 고추 세균성 점무늬병원균(*Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*)의 항균활성 12균주를 선발하였다. 이들 항균활성 12균주의 계통학적 위치를 검토한 결과, 모두 *Streptomyces* 속의 Cluster II에 속하는 특징을 나타내었다. JR-24 균주는 최소저해농도(MIC) 10 μl/disc를 나타내었으며, 배양액 5 μl/ml를 처리하여 12시간 배양한 결과 *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*에 강한 생육저해효과를 나타내어 최우수 균주로 선발되었다. 항균활성 균주 JR-24의 16S rRNA 유전자 염기서열을 검토한 결과, *Streptomyces galbus* DSM40089^T (X79852)와 98.1%, *Streptomyces longwoodensis* LMG20096^T (AJ781356)와 98% 그리고 *Streptomyces capoamus* JCM4734^T (AB045877)와 97.8%의 상동성을 나타내었다. API 20NE와 API 50CHE를 이용하여 JR-24 균주의 생리·생화학적 특성을 확인한 결과, L-arabinose, D-fructose, D-glucose, D-galactose을 이용하며 gelatin, protein, starch에 대하여 분해능이 있는 것으로 확인되었다. 주요지방산으로는 iso-$C_{14:0}$ (25.93%), iso-$C_{15:0}$ (10.13%),

Table 3. Physiological and biochemical features of strain JR-24 and *Streptomyces galbus* DSM40089^T

Characteristic	JR-24	*S. galbus* DSM40089^T
Colony morphology	white	gray
Reverse side color	yellow	yellow to orange
Melanin	+	-
Soluble pigments	+	+
Degradation of:		
Cellulose	-	-
Gelatin	+	-
Protein	+	-
Starch	+	+
Growth at / with:		
NaCl (%, w/v)	< 3	< 7
37°C	+	+
pH	4-8	ND
Carbon utilization:		
L-Arabinose	+	+
D-Fructose	+	+
D-Glucose	+	+
D-Galactose	+	+
D-Xylose	-	+
Inositol	-	+
Salicin	-	+
D-Raffinose	-	+
L-Rhamnose	-	-
Sucrose	-	-
Lysocellin production	-	-
Nitrate reduction	-	-

anteiso-$C_{15:0}$ (19.29%) 그리고 iso-$C_{16:0}$ (20.35%) 등을 함유하였으며, 퀴논종은 MK-9 (H_4) 4.37%, MK-9 (H_6) 51.22% 그리고 MK-9 (H_8) 49.47%로 동정되었다. *Streptomyces* sp. JR-24 균주의 계통학적 특성을 근연종인 *Streptomyces galbus* DSM 40089^{T}와 비교한 결과, 다수의 표현형적 및 계통학적 차이를 나타내었다. 본 연구에서 분리된 *Streptomyces* sp. JR-24는 친환경 미생물제제 개발을 위한 유전자원 확보에 있어서 매우 큰 의의가 있을 것으로 사료 된다.

감사의 말

본 연구는 교육과학기술부와 한국산업기술진흥원의 지역혁신인력양성사업(M-02-20080704171810)으로 수행된 연구결과로 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. Bae, M. 1978. Present status and future of antibiotics of agriculture. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* 20, 141-148.
2. Banos, S.B., M.H. Lopez, E.B. Molina, and C.L. Wilson. 2003. Effects of chitosan and plant extracts on growth of *Colletotrichum gloeosporioides*, anthracnose levels and quality of papaya fruit. *Crop Protection* 22, 1087-1092.
3. Berdy, J. 1989. The discovery of new bioactive microbial metabolites: Screening and identification, pp. 3-27. *In* M.E. Bushell (ed.), Bioactive metabolites from microorganisms, Elsevier, Amsterdam, Netherlands
4. Chang, J.Y., H.H. Lee, I.C. Kim, and H.C. Chang. 2001. Characterization of a bacteriocin produced by *Bacillus licheniformis* cy2. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 30, 227-233.
5. Cho, Y.S., C.S. Park, S.K. Lee, Y.K. Lee, C.K. Lim, J.S. Cha, Y.C. Choi, J.Y. Choi, S.K. Her, and I.K. Hwang. 1999. Plant pathology, Seoul University Press.
6. Euzeby, J.P. 2009. List of Prokaryotic Names with Standing in Nomenclature. http://www.bacterio.cict.fr/
7. Ghim, S.Y., J.H. Jung, D.Y. Jung, Q.T. Phi, and C.M. Ryu. 2008. *Bacillus megaterium* KNUC251 for controlling plant disease and accelerating plant growth, and plant disease controlling agent and plant growth accelerant using the same. Korea Patent, 1009637740000
8. Ghim, S.Y., M.S. Ham, S.J. Park, S.Y. Chen, C.M. Ryu, Y.M. Park, and H.R. Sung. 2009. *Ochrobactrum* sp. KUDC1013, and plant disease controlling agent and plant growth accelerant using the same. Korea Patent, 1020090033377.
9. Go, Y.H. 1991. Screening of the new bioactive materials from Actinomyces (I). Ministry of education science and technology. BSG 70110-295-303.
10. Hadden, J.F. and L.L. Black. 1986. The Status of ripe rot in Louisiana peppers. National Pepper Conferences. pp. 14.
11. Ikemoto, S., M. Kuraishi, K. Komagata, R. Azuma, R. Suto, and H. Murooka. 1978. Cellular fatty acid composition in Pseudomonas species. *J. Gen. Appl. Microbiol.* 24, 199-213.
12. Kang Y.S., Y. Lee, S.K. Cho, K.H. Lee, B.J. Kim, M. Kim, Y. Lim, and M. Cho. 2009. Antibacterial activity of a disaccharide isolated from *Streptomyces* sp. strain JJ45 against *Xanthomonas* sp. *FEMS Microbiol. Lett.* 294, 119-125.
13. Kim, B.S., S.S. Moon, and B.K. Hwang. 1999. Isolation, antifungal activity, and structure elucidation of the glutarimide antibiotic, streptimidone, produced by *Micromonospora coerulea*. *J. Agric. Food Chem.* 47, 3372-3380.
14. Kim, S.H., Y.D. Lee, W.S. Ha, and H.M. Ro. 1998. A study on the transport phenomena of hydrophobic pesticides influenced by the interfaces of groundwater in unsaturated inorganic porous media. *J. KSEE.* 20, 1545-1553.
15. Kloepper, J.W., C.M. Ryu, and S. Zhang. 2004. Induced systemic resistance and promotion of plant growth by *Bacillus* spp. *Phytopathology* 94, 1259-1266.
16. Lanoot. B., M. Vancanneyt, B. Hoste, K. Vandameulebroecke, M.C. Cnockaert, P. Dawyndt, Z. Liu, Y. Huang, and J. Swings. 2005. Grouping *streptomycetes* using 16S-ITS RFLP fingerprinting. *Res. Microbiol.* 156, 755-762.
17. Lee, H.J. and K.Y. Whang. 2010. Biodiversity and phylogenetic analysis of *Streptomyces* collected from bamboo forest soil. *Kor. J. Microbiol.* 46, 262-269.
18. Lee, J.Y. and B.K. Hwang. 2002. Diversity of antifungal actinomycetes in various vegetative soils of Korea. *Can. J. Microbiol.* 48, 407-417.
19. Mcfaddin, J.F. 1980. Biochemical tests for identification of medical bacteria, pp. 308-320. 2nd ed. Williams and Wilkins, Baltimore, USA.
20. National Statistical Office (NSO). 2010. The rice plant and red pepper area under cultivation investigation result.
21. Oh, Y.K. and J.H. Kim. 1997. Effects of residual organochlorine pesticides in the coastal environment on the Cheju Island. *J. KSWQ.* 13, 317-324.
22. Paik, S.B. and D.W. Kim. 1995. Screening for phyllospheral antagonistic microorganism for control of red-pepper anthracnose *Colletotrichum gloeosporioides*. *Kor. J. Mycol.* 23, 190-195.
23. Park, J.S., K.S. Whang, and J.S. Cheon. 2005. Procedure of microbial classification and identification. Worldscience. Korea
24. Park, K.S. and C.H. Kim. 1992. Identification, distribut characteristics of anthracnose fungi of red pepper in Korea. *Kor. J. Plant Pathol.* 8, 61-69.
25. Park, S.B. and D.W. Kim. 1995. Screening for phyllosheral anta microorganism for control of red-peper anthracnose *Colletotrichum gloeosporioides*. *Kor. J. Myco.* 23, 190-195.
26. Park, S.M., S.H. Han, and T.S. Yu. 2005. Culture conditions and antifungal activity of *Bacillus licheniformis* KMU-3 against crop pathogenic fungi. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* 33, 112-116.
27. Prosser, B.L.T. and N.J. Palleroni. 1976. *Streptomyces longwoodensis* sp. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 26, 319-322.
28. Shirling, E.B. and D. Gottlieb. 1966. Methods for characterization of *Streptomyces* species. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 16, 313-340.
29. Takashi, S. 1987. Cosmopolitan actinomycetes. *J. Microorganism* 3, 482-492.
30. Thomson, J.D., D.G. Higgins, and T.J. Gibson. 1994. CLUSTAL W; improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, positions specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res.* 22, 4673-4680.
31. Yang, C.S. and J.S. Kim. 2002. Experiment method of soil microorganism. Worldscience. Korea.