

數種 *Streptomyces*의 分離 同定에 관하여(II)

曹聖昊 · 安正善 · 權寧命

(서울대학교 植物學科)

The Isolation and Identification of Some *Streptomyces*

CHO, Sung Ho, Chung Sun AHN and Young Myung KWON

(Department of Botany, Seoul National University, Seoul)

Abstract

A taxonomical study was made on the *Streptomyces* species isolated from soils collected in Yeosu and Mt. Jiri, from May to June, 1977. I.S.P. Methods (1966) and I.S.P. Descriptions (1968-1972) were used for the methods and identifications.

As a result, 6 species were newly identified as follows; *S. tanashiensis*, *A. virido-diastaticus*, *S. rutgersensis*, *S. citreus*, *A. alborubidus* and *S. fragilis*.

우리나라 土壤에서 分離된 *Streptomyces*의 同定에 관해서는 이미 여러 사람들에 의하여 研究 發表된 바 있으며(Jun, 1956; Seo and Hong, 1977; Kim and Hah, 1977), 著者들도 I.S.P.(International Streptomyces Project)의 統一된 實驗方法과 分類基準(Shirling and Gottlieb, 1966)에 의하여 이미 46種을 同定 發表한 바 있고(Lee et al., 1976; Ahn et al., 1977), 본 研究에서 새로이 6種이 同定되었기에 追加 發表한다.

본 實驗에 使用된 土壤試料은 1977年 5月과 6月에 경기도 여주 지방과 지리산 부근에서 採取하였다. 採取된 土壤은 Johnson 등(1960)의 方法에 의해서 滅菌된 수도물로 50倍로 稀釋하여 振盪機(90 strokes/min)에서 30分 동안 振盪시킨 후 10⁴~10⁶배로 다시 稀釋하여 귀리培地와 효모-맥아培地에 接種하였다.

一次的으로 形成된 colony 중에서 *Streptomyces*에 속한다고 認定되는 strain들을 分離하여 I.S.P의 實驗方法에 의해서 形態의,

生理的 特性을 관찰하였다.

形態的 特性은 yeast extract-malt extract agar培地(Pridham et al., 1956-57) oatmeal agar培地(Küster, 1959) inorganic salts-starch agar培地(Küster, 1959), glycerol-asparagine agar培地(Pridham and Lyons, 1961)에 分離한 strain을 同時에 接種하여 成熟한 菌體의 색깔, 孢子사슬의 形態 및 配列狀態, colony의 上面과 底面의 색깔 및 그 외의 特性을 觀察하였고, 孢子表面의 形態는 電子顯微鏡(JEM-T7)으로 觀察하였다. 以上の 모든 特性은 7日, 14日, 21日 동안 각각 培養後 觀察하였다.

生理的 特性은 tryptone-yeast extract액체培地(Pridham and Gottlieb, 1948), peptone-yeast extractiron agar培地(Tresner and Danga, 1958), tyrosine agar培地(Shinobu, 1958)에 각각 菌을 接種하여 2~4日 배양한 후 melanoid色素生成 여부를 觀察하였고, 炭素化合物의 利用은 tryptone-yeast extract 액체배지에서 2日 배양한

후 washed inoculum을 준비하여 carbon utilization 배지(Pridham and Gottlieb, 1948)에接種하여 10~16일에 걸쳐 菌의 生長 정도로 炭素化合物의 利用與否를 관찰하였으며 이때 使用한 炭素化合物은 D-glucose, L-arabinose, sucrose, D-fructose, D-xylose, rhamnose, *i*-incitol, raffinose, D-mannitol, galactose등이었다.

이와같은 方法으로 分離된 23個의 strain을 Bergy's Manual of Determinative Bacteriology(1974)에 準하여 成熟한 菌體의 색깔, 胞子사슬의 形態, 胞子表面의 形態, melanoid色素生成의 4가지 基本性質에 따라 5個의 prime group으로 나눈 다음, I.S.P.의 descriptions(Shirling and Gottlieb, 1968a, 1968b, 1969, 1972)과 Nonomura (1974)의 key에 의해서 soluble pigment의 生成과 炭素化合物의 利用 및 培地에 따른 特性 등을 基準으로 分類한 結果 6種이 새로이 同定되었다(Table 1). 이들을 記載하면 다음과 같다.

S. tanashiensis

成熟한 菌體는 灰色系統이다. 胞子사슬은 매우 길고(菌糸 當 10個 내지 50個 혹은 그 以上の 胞子) 波狀이나(Fig. 1), 염류—진분 培地와 글리세롤—아스파라진培地에서는 후크형도 드물게 나타난다. 胞子表面은 smooth form이다(Fig. 2).

菌體의 低面은 特別한 色을 띠지 않는다. 펩톤—효모—철培地와 트립톤—효모液體培地에서는 melanoid色素가 生成되나 타이로신培地에서는 生成되지 않는다. soluble pigment의 生成은 없다.

炭素化合物로서 D-glucose, D-xylose, L-arabinose, D-galactose는 利用하나 raffinose는 利用하지 않으며 L-rhamnose, D-fructose, mannitol, *i*-incitol, sucrose의 利用은 미약하나마 좋은 生長을 보였다(±표)

L-Rhamnose, D-mannitol, *i*-incitol, sucrose의 利用은 이들 化合物을 利用하지 않는 type species와 差異가 있었으나 前述한

여러 性質로 미루어 이 種에 屬하는 strain으로 同定하였다.

A. virido-diastaticus

成熟한 菌體는 綠色을 띠는 灰色系統이다. 胞子사슬은 비교적 길며(菌糸 當 10個 내지 50個의 胞子)느슨한 나선형이다(Fig. 3). 胞子表面은 spiny form이나 smooth form도 관찰되었다(Fig. 4).

菌體의 低面은 特別한 色을 띠지 않는다. melanoid色素는 모든 培地에서 生成되지 않으며 soluble pigment의 生成도 없다.

炭素化合物로서 모든 化合物을 利用하였고 raffinose의 利用은 미약하나마 좋은 生長을 보였다.

前述한 모든 性質은 type species와 一致한다. 단, type species의 경우 sucrose와 raffinose의 利用에 대한 확정적인 記載가 없으나 이 strain은 sucrose는 生長에 利用하고 raffinose의 利用은 미약하나마 좋은 生長을 보인 것으로 나타났다.

S. rutgersensis

成熟한 菌體는 노란색 系統으로 특히 효모—맥아培地에서는 綠色이 약간 도는 노란색이다. 胞子사슬은 비교적 짧으며(菌糸 當 3個 내지 10個의 胞子)굴곡이 심한 波狀이고(Fig. 5), 胞子表面은 smooth form이다(Fig. 6).

菌體의 表面은 노란색 내지 갈색을 띠며 pH의 영향을 받지 않았다. melanoid色素는 모든 培地에서 生成되지 않으며 soluble pigment도 生成되지 않는다.

炭素化合物로서 D-glucose, L-arabinose, D-fructose, D-galactose, D-mannitol은 利用하였고 D-xylose의 利用은 미약하나마 좋은 生長을 보였으나 그 외의 化合物은 利用하지 않았다.

D-Xylose의 利用은 type species에 비해 미약한 生長을 보였으나 前述한 여러 性質로 미루어 이 種에 屬하는 strain으로 同定하였다.

Table 1. A key to the *Streptomyces* species identified

Prime group	Species name	Strain number	Utilization of carbon compounds									
			D-Glucose	D-Xylose	L-Arabinose	L-Rhamnose	D-Fructose	D-Galactose	Raffinose	D-Mannitol	<i>i</i> -Inositol	Sucrose
GY; RF; C+; SM	<i>S. tanashiensis</i>	314	+	+	±	±	±	+	-	±	±	±
GY; S; C-; SPY	<i>A. virido-diastaticus</i>	315	+	+	±	+	+	+	±	+	+	+
Y; RF; C-; SM	<i>S. rutgersensis</i>	322	+	±	+	-	+	+	-	+	-	-
	<i>S. citreus</i>	309	+	±	+	-	+	+	±	+	-	+
R; RF; C-; SM	<i>A. alborubidus</i>	312	+	+	-	-	+	+	±	±	-	+
R; S; C-; SM	<i>S. fragilis</i>	302	+	-	±	-	-	+	-	-	-	±

Spore color *en masse* indicated as Gray(GY), Yellow(Y) and Red(R).

RF=Rectus flexibilis; spores in straight or flexuous chains.

S=Spira; spore chains in form of coils, open loops and hooks.

Melanoid pigments produced C+, not produced C-.

Spore wall ornamentation: SM=Smooth, SPY=Spiny.

+ indicates carbon compound utilized; -not utilized; ±slightly utilized.

S. citreus

成熟한 菌體는 노란색 系統이나 염류-전 분배지에서는 옅은 灰色이다. 胞子사슬은 비교적 길고(菌糸 當 10個 내지 50個의 胞子) 波狀이나 루프형과 후크형도 많으며(Fig.7) 특히 염류-전 분배지에서는 느슨한 나선형도 관찰되었다. 胞子表面은 smooth form 이다(Fig. 8).

菌體의 低面은 갈색을 띠며 pH의 영향을 받지 않는다. melanoid色素와 soluble pigment는 모든 배지에서 생성되지 않는다.

炭素化合物로서 L-rhamnose는 利用하지 않았으나 D-xylose, raffinose의 利用은 미약하나마 좋은 生長을 보였고, 그 외의 化合物은 모두 生長에 利用하였다.

D-Xylose의 利用은 type species에 비해 미약한 生長을 보였으나 前述한 여러 性質로 미루어 이 種에 屬하는 strain으로 同定하였다.

A. alborubidus

成熟한 菌體는 붉은 빛이 약간 도는 흰색 系統이나 키리배지에서는 옅은 핑크색이다. 胞子사슬은 비교적 짧고(菌糸 當 3個 내지

10餘個의 胞子) 주로 波狀이지만 루프형이나 후크형도 나타난다(Fig. 9). 胞子表面은 smooth form이다(Fig. 10).

菌體의 低面은 特別한 色을 띠지 않는다. melanoid色素는 모든 배지에서 생성되지 않으며 soluble pigment의 生成도 없다.

炭素化合物로서 D-glucose, D-xylose, D-fructose, D-galactose, sucrose는 利用하나 L-arabinose, L-rhamnose, *i*-inositol은 利用하지 않으며 raffinose와 D-mannitol의 利用은 미약하나마 좋은 生長을 보였다.

Type species의 경우는 L-arabinose는 利用하고 raffinose, sucrose는 利用하지 않는 데 비해 이 strain은 L-arabinose는 利用하지 않고 raffinose와 sucrose는 利用하는 것으로 나타났으나 前述한 여러 性質로 미루어 이 種에 屬하는 것으로 同定하였다.

S. fragilis

成熟한 菌體는 붉은색 내지 흰색 系統이다. 胞子사슬은 비교적 짧으며(菌糸 當 10個 내지 20個의 胞子) 波狀이거나 루프형 혹은 후크형이고(Fig. 11), 胞子表面은 smooth form이다(Fig. 12).

菌體의 底面은 붉은 빛이 도는 갈색을 띠며 이는 0.05N HCl에 의해 갈색으로 변한다. Melanoid色素는 生成되지 않으며 soluble pigment의 生成도 없다.

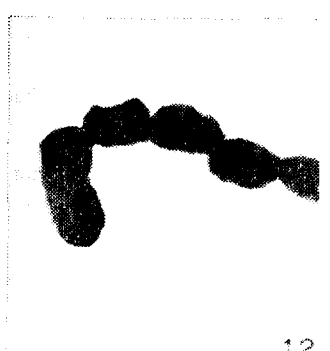
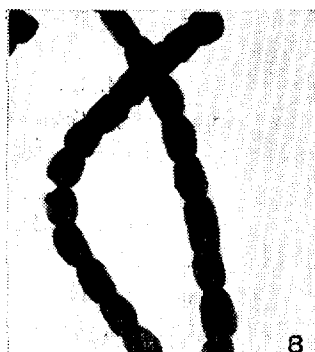
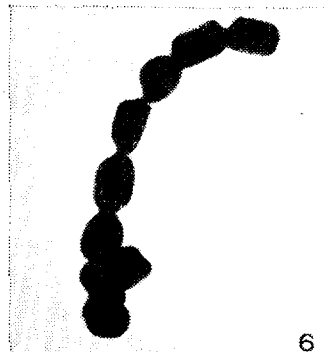
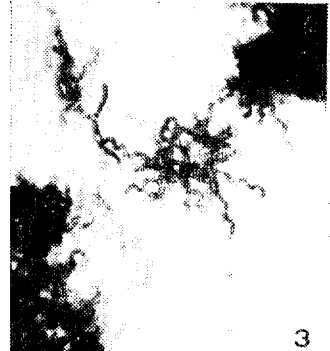
炭素化合物로서 D-glucose, D-galactose는 利用하나 L-rhamnose, D-fructose, raffinose, D-mannitol, *i*-inositol은 利用하지 않으며

D-xylose, L-arabinose, sucrose의 利用은 미약하나나 좋은 生長을 보였다.

D-Xylose와 L-arabinose의 利用은 type species에 비해 미약한 生長을 보였으나 前述한 여러 性質로 미루어 이 種에 屬하는 strain으로 同定하였다.

REFERENCES

1. Ahn, C.S., Y.C. Hah and Y.M. Kwon, 1977. Isolation and identification of some streptomycetes. In Comm. Papers for Professor M.J. Lee. pp. 289—304.
2. Buchanan, R.E. and N.E. Gibbons(eds.), 1974. Bergy's manual of determinative bacteriology, 8th ed. Williams Wilkins.
3. Johnson *et al.*, 1960. Methods for studying soil microflora plant disease relationships. Burgess Publishing Company.
4. Jun, D., 1956. *Anti. and Chemot.* 6, 321.
5. Kim, Y.H. and Y.C. Hah, 1977. Unpublished data.
6. Küster, E., 1959. Outline of a comparative study of criteria used in characterization of the actinomycetes. *Intern. Bull. Bact. Nomen. and Taxon.* 9, 98—104.
7. Lee, M.J., Y.C. Hah and C.S. Ahn, 1976. Studies on the isolation and identification of genus *Streptomyces*. *Kor. J. Microbiol.* 14, 25—35.
8. Nonomura, H., 1974. Key for classification and identification of 458 species of the streptomycetes included in ISP. *J. Ferment. Technol.* 52, 78—92.
9. Pridham, T.G., P. Anderson, C. Foley, L. A. Lindenfelser, C.W. Hesseltine and R.G. Benedict, 1956—57. A selection of media for maintenance and taxonomic study of streptomycetes. *Antibiotics Ann.* 1956/57, pp. 947—53.
10. _____ and D. Gottlieb, 1948. The utilization of carbon compounds by some Actinomycetales as an aid for species determination. *J. Bacteriol.* 56, 107—114.
11. _____ and A.J. Lyons, Jr., 1961. *Streptomyces albus*(Rossi Doria) Waksman *et* Henrici: Taxonomic study of strains labeled *Streptomyces albus*. *Ibid.* 81, 431—411.
12. Seo, Y.M. and S.W. Hong, 1977. On the isolation of antibiotic producing *Streptomyces* spp. from soil. *Kor. J. Microbiol.* 15, 93—99.
13. Shinobu, R., 1958. Physiological and cultural study for the identification of soil actinomycete species. *Mem. Osaka Univ. B. Nat. Sci.* 7, 1—76.
14. Shirling, E.B. and D. Gottlieb, 1966. Methods for characterization of *Streptomyces* species. *Int. J. System.* 16, 313—340.
15. _____ and _____, 1968a. Cooperative description of type cultures of *Streptomyces*. II. Species descriptions from first study. *Ibid.* 18, 69—189.
16. _____ and _____, 1968b. Cooperative description of type cultures of *Streptomyces*. III. Additional species descriptions from first and second studies. *Ibid.* 18, 279—392.
17. _____ and _____, 1969. Cooperative description of type cultures of *Streptomyces*. IV. Species descriptions from the second, third and fourth studies. *Ibid.* 19, 391—512.
18. _____ and _____, 1972. Cooperative description of type strains of *Streptomyces*. V. Additional descriptions. *Ibid.* 22, 265—394.
19. Tresner, H.D. and F. Danga, 1958. Hydrogen sulfide production by *Streptomyces* as a criterion for species differentiation. *Bacteriol.* 76, 239—244.



Explanation of Figures

1. *S. tanashiensis*: RF spore chains on oatmeal agar, 21 days, $\times 1,000$.
2. *S. tanashiensis*: Smooth spores; electron micrograph from 14-day-old culture on oatmeal agar, $\times 2,000$.
3. *A. virido-diastaticus*: Spiral spore chains on oatmeal agar, 21 days, $\times 750$.
4. *A. virido-diastaticus*: Spiny spores, but spines may not be apparent on some spores; electron micrograph from 14-day-old culture on oatmeal agar, $\times 8,700$.
5. *S. rutgersensis*: RF or crooked spore chains on yeast-malt agar, 21 days, $\times 500$.
6. *S. rutgersensis*: Smooth spores; electron micrograph from 14-day-old culture on yeast-malt agar, $\times 10,000$.
7. *S. citreus*: RF spore chains on oatmeal agar, 21 days, $\times 950$.
8. *S. citreus*: Smooth spores; electron micrograph from 14-day-old culture on oatmeal agar, $\times 8,700$.
9. *A. alborubidus*: Crooked spore chains on yeast-malt agar, 21 days, $\times 500$.
10. *A. alborubidus*: Smooth spores; electron micrograph from 14-day-old culture on yeast-malt agar, $\times 9,300$.
11. *S. fragilis*: RF to RA spore chains on oatmeal agar, 21 days, $\times 1,000$.
12. *S. fragilis*: Smooth spores; electron micrograph from 14-day-old culture on yeast-malt agar, $\times 14,000$.