

# 韓國土壤의 放線菌 分布에 關한 研究

朴載邑 · 崔庸哲 · 愼鏞華 · 李庚徽

PARK, J.E., Y.C. CHOI, Y.H. SIN, AND K.H. LEE : Studies on the Distribution of *Streptomyces* spp. in Soil in Korea

*Korean J. Plant Prot.* 26(1) : 47~51(1986)

**ABSTRACT** A study was undertaken to investigate the distribution of *Streptomyces* spp. in soil in Korea. Among the different types of soil surveyed, the highest population of *Streptomyces* spp. recording  $5.6 \times 10^6$  CFU/g was observed in upland soil. With reference to the soil depth, most of their population was distributed from soil surface to 5cm depth and the highest value was found in 0~2cm soil depth. Comparing the population of *Streptomyces* spp. with different soil color (by Munsell soil color chart), the highest value of  $9.2 \times 10^6$  CFU/g was showed in Oliver yellow soil (2.5Y, 6/4). On the basis of the acidity of soil samples subjected to *Streptomyces* spp. isolation, it is considered that the optimum pH range for *Streptomyces* spp. in soil lies between 6.0 to 7.5, showing the highest value of  $1.05 \times 10^6$  CFU/g at pH 7.5. Among the colors of isolated colonies, gray and white colonies occupied 60% and 26% of the total isolates respectively.

## 緒 論

最近 人口增加와 더불어 食糧의 增收는 必須 不可缺한 課題로서 그중 農業이 作物收量增大 및 安定에 決定的 役割을 해왔음은 否定할 수 없는 現實이다.

반면, 農藥이 人間과 野生動物 및 作物에 對한 毒性은 물론 土壤殘留에 따라 環境을 汚染시키는 重要한 要因으로 指摘되었으며 이같은 社會的 關心이 無公害 農藥開發의 必要性을 加重시켜 오늘날 有機合成農藥의 短點을 補完시킬 수 있는 生物農藥이란 새로운 農藥開發에 拍車를 加하고 있다.<sup>9)</sup>

歐美에서 醫藥用 抗生物質의 研究가 처음 시작된 1943年 penicillin의 tank培養法이 發見되면서 農業用 抗生物質에 關한 研究가 始作되었으나 그 당시에는 期待한 만큼 成果를 얻지 못했다.

그 以後 美國에서 cycloheximide, 英國에서 Griseofulvin이 植物病害防除에 應用되었고, 1955年 以後 日本에서 農業用 抗生物質 開發에 着手하게 되어 Blasticidin S, Kasugamycin, Polyoxin, Validamycin, Tetranactin이 開發되

었으며 1984년에는 除草劑인 bialaphos까지 登場하므로써 農業用 抗生物質은 殺菌劑, 除草劑, 殺虫劑의 各 分野에 應用되어 앞으로 이의 開發에 더 많은 拍車를 加하게 되었다.<sup>9,11)</sup>

지금까지 開發된 抗生物質의 生産菌은 50% 이상이 放線菌이고 10~11%가 不完全菌類, 10%가 桿菌, 6%가 擔子菌類 및 子囊菌類이었다. 이중에서도 放線菌內의 *Streptomyces* 屬菌株에서 대부분의 抗生物質이 生産되어졌고, 새로운 菌株 分離와 菌株改良의 研究가 進行되고 있다.

*Streptomyces* 屬菌株는 細菌으로 分類되고 있으며 gram 陽性菌으로 現在까지 Bergey's manual<sup>17)</sup>에 依하면 416種 47亞種이 收錄되어 있으며 1974年の ISP(International *Streptomyces* Project) 報告에는 458種이 報告되어 있다.<sup>14)15)</sup>

한편 國內에서 放線菌에 關한 研究로는 全南 영광地方의 國內資源調查로서의 李等<sup>8)</sup>과 曹等<sup>2)</sup>의 放線菌分離 및 同定에 關한 研究가 있으나 內容으로는 모두 抗菌力檢定에 主眼的 報告로 實際의 國內土壤內의 分布에 對해서는 調查 報告된바 없는 實情이다.

本 研究는 放線菌內의 *Streptomyces* 屬菌株의 遺傳資源確保와 農業用 抗生物質 生産菌株 分離를 爲한 基礎資料를 얻기 위해 全國土壤으로 부터 *Streptomyces* 屬菌株의 分布에 對한 몇가지 結果를 얻었기에 報告하는 바이다.

農村振興廳 農藥研究所 農藥生物科(Dept. of Agricultural Chemicals Biology, Agricultural Chemicals Research Institute, RDA, Suwon, Korea)

### 材料 및 方法

本 試驗에 使用된 供試土壤 및 放線菌 分離用 培地는 다음과 같다.

#### 가. 供試土壤

試驗에 供試한 200點의 土壤은 京畿道 41點, 忠淸南道 19點, 忠淸北道 29點, 慶尙北道 80點, 濟州道 31點이며 이들 土壤은 各已 地帶別(논, 밭, 임야), 部位別(表面으로부터 0~2cm, 2~5cm, 5~10cm, 10cm 이하)로 採集하였다. 採集한 土壤은 陰乾 磨碎한후 20mesh 채로 걸러 Munsell's soil color chart에 依해 土壤色을 分類하고 土壤保存瓶에 保存하면서 本 試驗에 供試하였다.

#### 나. 分離用 培地

本 試驗에 供試한 *Streptomyces* 屬菌株의 分離用 培地는 starch agar(Waksman 21 media: starch soluble 10g,  $K_2HPO_4$  1g,  $MgSO_4$  1g,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  1g, NaCl 1g,  $(NH_4)_2SO_4$  1g,  $CaCO_3$  3g, agar powder 18g, D.W. 1l, pH 7.4~7.6)<sup>14,15)</sup> oatmeal agar (ISP 3 media; oatmeal 20g, agar 18g, D.W., 1l, pH 7.2)<sup>14)</sup>, glycerol asparagine agar (ISP 5 media: Glucose 10g, asparagine 0.5g,  $K_2HPO_4$  0.5g, agar 15g, D.W. 1l, pH 6.8)<sup>14)</sup>, yeast-malt extract agar (ISP 2 media: yeast extract (Difco) 4g, malt extract (Difco) 10g, glucose 4g, agar 17g, D.W. 1l, pH 7.3)<sup>14)</sup>, inorganic salt agar (ISP 4 media: soluble starch 10g,  $K_2HPO_4$  1g,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  1g, NaCl 1g,  $(NH_4)_2SO_4$  2g,  $CaCO_3$  2g, D.W. 1l, pH 7.0~7.4)<sup>14)</sup>를 使用하였으며 各 培地에서의 菌分離를 比較 檢討하였다.

#### 다. 放線菌 分離

採取한 土壤試料 1g을 秤量한 후, 殺菌水 10cc의 試驗管에 넣어 稀釋하고 充分히 振盪시킨 30秒後 上澄液 1cc를 取하여, 稀釋方法으로 稀釋 1cc를 供試分離用 培地에서 平板培養(28±1°C)시킨 4~5日後, 培地로부터 培養된 *Streptomyces*屬 菌株의 集落 (Colony)數를 調查하였다.

單 colony는 各各 斜面培地에 移植한 後 菌株의 培養의 性質과 顯微鏡에 依한 形態 觀察로 *Streptomyces*屬의 菌株를 確認하였다.

### 結果 및 考察

放線菌 分離用 培地間의 菌分離程度는 ISP<sup>14)</sup>에서 提示한 分離用 培地를 對象으로 實施해 本 結果는 Table 1과 같이 starch agar에서 分離 菌株數가  $8.5 \times 10^5$  colonies/g으로 가장 많이 分離되었고 colony의 形成도 明確했으며 그 다음으로는 glycerol asparagine agar로 colony形成은 良好했으나 分離菌株數가 starch agar보다  $6.5 \times 10^5$  colonies/g으로 多少떨어지는 傾向이었다.

그 以外の inorganic salts agar, oatmeal agar, yeast-malt extract agar에서는 分離菌數도 낮았을 뿐만 아니라 colony 形成狀態도 明確하지 않아 分離用 培地로는 適合하지 않았음을 알 수 있었다.

國內에서 報告된 分離用 培地는 李等<sup>8)</sup>은 kraminsky's asparagine glucose agar를, 金等<sup>4)</sup>은 Czapeck agar, glycerol asparagine agar, oatmeal agar, Seo와 Hong<sup>13)</sup>은 glucose asparagine agar, yeast-malts extract agar를 分離用 培地로 使用하였으며 報告者에 따라 分離用 培地가 달랐고 또한 培地別로 菌株分離 程度가 다름을 알 수 있었다.

本 試驗 結果 放線菌의 *Streptomyces* 屬菌株의 分離時는 starch agar의 使用이 보다 效果的이고 分離培地로 適合함을 알 수 있었다.

採集土壤地帶別 放線菌의 分布는 Table 2와 같이 밭土壤과 林野地帶에서 많이 分布해 있고 논土壤에서 적은 分布를 보였다. 밭土壤에서 平均  $5.6 \times 10^5$  colonies/g, 林野에서  $5.5 \times 10^5$  colo-

**Table 1.** Relationship of isolation of *Streptomyces* spp. according to a various medium.

Medium	Formation of colony	No. of isolated colonies ( $\times 10^5$ CFU/g)
Starch Agar	Good	8.5
Glycerol Asparagine	Good	6.5
Inorganic Salts	Poor	4.2
Oatmeal Agar	Poor	2.8
Yeast-Malt Extract Agar	Poor	3.0

\* Soil sample (3 upland soil)

**Table 2.** Relationship of isolation of *Streptomyces* spp. in each collected soil.

Area	No. of collected soil	No of isolated colonies ( $\times 10^5$ CFU/g)
Paddy field	20	2.2
Upland field	147	5.6
Forest	44	5.5

nies/g으로 비슷한 分布傾向을 보였고 논土壤에서는  $2.2 \times 10^5$  colonies/g 이었다. 대체로 우리나라의 토양 1g 중에는 平均  $4.4 \times 10^5$  colonies의 放線菌이 分布해 있는 것으로 나타났다.

이와 같이 밭, 林野에서 논보다 菌株가 많이 分布하는 理由로는 放線菌의 培養的 性質이 好氣性인데 原因이 있지 않나 생각된다.

지금까지 報告된 結果를 보면 Bergey's manual<sup>17)</sup>에는 土壤 1g 당 放線菌이  $1.3 \times 10^6$  colonies가 分布되어 있다고 報告한 바 있고, Maarit Nien 等<sup>10)</sup>은 湖水 및 江물에서도 많은 放線菌이 分布되어 있으며 湖水보다 강물에 보다 많은 放線菌이 分布되어 있음을 報告한 바 있다.

또한, 李等<sup>8)</sup>이 調査한 結果로는 放線菌이 居住地栽培圃場에 가장 많이 分布되어 있고 그 다음으로 언덕 및 草地, 논 順序로 分布돼 있었다.

그러나, 同一한 地帶內에서도 菌分布는 各기 相異한 結果를 보이고 있음은 그 地帶內의 放線菌棲息에 關係가 깊은 土壤有機物, 濕度, pH의 影響이 큰 것으로 思料된다.

採取土壤 深度別 放線菌의 分布調査 結果는 Table 3과 같이 採取土壤의 表面에서  $1.05 \times 10^6$  colonies/g, 3~5cm 土壤에선  $0.95 \times 10^6$  colonies/g, 5~10cm 土壤에서는  $0.37 \times 10^6$  colonies/g, 10cm 以下の 土壤에서는  $0.2 \times 10^6$  colonies/g으로 表面에 가장 많이 分布돼 있었고 大體로 논, 밭土壤 公히 0~5cm 以內에 많이 分布돼 있었

**Table 3.** Relation between soil depth and frequent of *Streptomyces* spp.

Soil depth (cm)	No. of Isolated Colonies ( $\times 10^6$ CFU/g)		
	Upland	Forest	Average
0~2	1.1	1.0	1.05
3~5	0.8	1.1	0.95
5~10	0.3	0.4	0.37
Above 10	0.2	0.2	0.2

**Table 4.** Isolation frequency of *Streptomyces* spp. according to comparison by Munsell soil color chart.

Colors of the soil	No. of collected soil	No. of isolated colonies ( $\times 10^5$ CFU/g)
Olive yellow(2.5Y 6/4)	5	9.2
Light yellowish brown(10YR 6/4)	8	7.0
Dark brown(10YR 4/3)	34	6.7
Yellowish brown(10YR 6/8)	27	5.7
Pale yellow(2.5Y 7/4)	15	5.6
Pale brown(10YR 6/3)	10	5.4
Light olive brown(10YR 6/4)	10	5.4
Yellow(10YR 6/3)	7	4.7
Strong brown(7.5YR 5/6)	3	4.3
Grayish brown(2.5Y 5/2)	4	4.0
Brownish yellow(10YR 6/8)	5	0.6

으나 그 以下の 土壤에서는 漸次的으로 減少하는 傾向을 보였다. 이와 같은 結果는 放線菌의 培養條件이 好氣的 性質에 依해 土壤表面 가까이 많이 分布되는 것으로 알려져 있다. 日本의 境遇에는 放線菌이 肥沃한 火山灰土의 5cm 以內에 많이 分布되는 것으로 報告되어 있다.<sup>12)</sup>

이와 같이 相異한 土壤內의 深度別 菌分布는 土壤의 好氣的 條件 以外에도 많은 要因에 依해 달라질 수 있겠으나 大體로 土壤表面에 많이 存在하고 있는 傾向이었다.

採集土壤試料의 土色에 따른 放線菌의 分布를 調査한 結果는 Table 4에서와 같이 olive yellow (2.5Y, 6/4) 土壤에서  $9.2 \times 10^5$  colonies/g으로 가장 많이 分布돼 있었고 그 다음으로 light yellowish brown(10YR, 6/4) 土壤이  $7.0 \times 10^5$  colonies/g이며 그 以의 土壤에서는 비슷한 分布를 보였고 brown yellow(10YR, 6/8) 土壤에서  $6.0 \times$

**Table 5.** Relation between soil pH and frequency of *Streptomyces* spp.

Soil pH	No. of samples	No. of isolated colonies ( $\times 10^5$ CFU/g)
5.1	5	4.0
5.5	7	4.0
6.0	7	7.3
6.5	7	7.3
7.0	7	7.6
7.5	5	10.5
7.8	4	4.3
8.0	1	4.0

Table 6. The Comparison of isolated *Streptomyces* spp. by colony color.

Province	No. of collected soil	No. of total isolates	% of isolation frequency of the color series				
			gray	White	pink	blue	yellow
Kyung Gi-Do	41	126	63	21	9	4	2
Chung Cheong Nam-Do	19	168	69	31	0	0	0
Chung Cheong Buk-Do	29	152	61	29	4	5	1
Kyung Sang Buk-Do	80	384	63	28	8	1	0
Che Ju-Do	42	269	48	22	21	3	6
Means			60	26	9	2	2

10<sup>4</sup> colonies/g으로 가장 적게 分布돼 있었다. 스페인의 Valego等<sup>16)</sup>의 報告에서 *Nocardia*屬의 境遇 土壤의 色이 alluvial이나 serosem brown soil 系統에서 分離되고 calcic brown soil이나 Solontchak, Rogosol系統의 土壤에서는 거의 分離되지 않는다고 했으며 C/N率과의 關係에서는 C/N率이 11~12사이에서 1.2×10<sup>4</sup>colonies/g으로 가장 많이 分離되었다고 報告한 바 있으나, 土壤色과 有機物과의 關係가 正의 相關關係가 아니기 때문에 有機物에 따른 分布關係를 正確히 比較할 수는 없었다.

그러나, 土壤 有機物과 放線菌 分布는 密接한 關係에 있기 때문에 추후 우리나라 土壤의 有機物含量別 放線菌 分布關係가 究明되어야 할 것으로 생각된다. 다음으로는 採集土壤의 酸도와 放線菌의 分布를 比較하여 본 結果 Table 5와 같았다.

各 酸度別 菌分布로는 酸性인 pH 5.1~5.5에서와 알칼리性 土壤인 pH 7.8~8.0 部分에서는 菌의 分離가 적었으며 大體로 弱酸性에서 弱알칼리性인 pH 6.0~7.5 部分에서 많은 菌이 分布하고 있음을 알 수 있었으며 이중에서도 특히 pH 7.5에서 1.05×10<sup>6</sup> colonies/g으로 가장 많은 菌이 分離되었다.

이와 같은 結果는 放線菌의 適正酸도가 中性에서 가장 發育이 잘되는 것과 깊은 關係가 있음을 알 수 있었다.

위와 같은 結果는 Valego等<sup>16)</sup>에 依한 報告에서 放線菌中 *Nocardia*屬의 分離時 pH 7.2의 中性部分에서 가장 많이 分布하고 있는 結果와도 一致하는 傾向이었다.

地域別로 分離한 放線菌의 菌叢色比較에서는

Table 6과 같이 調査地域 公히 灰色系統이 60%로써 거의 大部分을 차지하고 있었고 그 다음으로 白色系統이 26%를 차지하고 있었으나, 火山灰土인 濟州道 土壤에서 분홍색系統이 21%로 他地域에 비해 많이 分布돼 있는 特徵을 보였다.

放線菌의 菌叢色은 Bergey's 記述에서는<sup>17)</sup> 白色, 灰色, 노란색, 푸른색, 분홍색으로 나누었고 본 試驗結果와 같이 灰色系統이 거의 大部分을 차지한다고 했다.

또한, 菌叢色은 培地種類나 環境條件에 따라 菌叢色이 달라 放線菌 分類에 어려움이 많아 ISP에서도<sup>14,15)</sup> yeast-malt extract agar, oatmeal agar에 生成되는 菌叢의 色에서만 分類에 利用하자고 規定한 바도 있다.

### 摘 要

有用資源 確保와 農業用 抗生物質 探索을 爲한 基礎資料를 얻기 위해 全國에서 採集한 土壤 200點에 對해 放線菌中 *Streptomyces*屬 菌株의 分布를 調査한 結果,

1. 地帶別 菌分布는 밭과 林野에서 비슷한 分布를 나타내었으나 밭에서는 5.6×10<sup>5</sup> colonies/g으로 林野보다 더 많이 分布되어 있었고 논에서는 2.2×10<sup>5</sup> colonies/g으로 가장 적게 分布되어 있었다.
2. 土壤 深度別 菌株分布에서는 土壤 表面에서 1.05×10<sup>6</sup> colonies/g으로 가장 많이 分布되어 있었고 대체로 5cm 이내에 많은 分布를 보였으며 5cm 以下에서는 深度別로 減少하는 傾向이었다.
3. 土色에 따른 菌株 分布에서는 採取土壤의 色이 olive yellow 土壤에서 9.2×10<sup>5</sup> colonies/g으로 가장 많이 分離되었다.

4. 土壤 酸度別 菌株 分布에서는 pH 7.5에서  $1.05 \times 10^6$  colonies/g으로 가장 많은 分布를 보였다.
5. 分離한 菌株를 菌叢色으로 分類한 結果는 灰色系統이 60%, 白色系統이 26%를 차지하였다.

#### 引用 文 獻

1. Bradley, S.G. 1959. Sporulation by some Strain of Nocardiae and Streptomycetes. Appl. Microbiol. 7 : 89~93.
2. 曹聖昊·安正善·權寧命. 1977. 數種 Streptomycetes의 分離同定에 關하여. Kor. J. Microbiol. 15(4) : 170~175.
3. Goto, M. and Y. Takikawa. 1984. Methods for identification of plant pathogenic bacteria (2). protection of plant. Japan. pp. 41~45.
4. 金禎禹·崔應七·金炳珪. 1984. 韓國 土壤菌 중 抗生物質 生産菌에 關한 研究. Kor. J. Mycol. 12(3) : 85~92.
5. Kurylowicz, W. 1976. Antibiotics, A critical review. pp. 19~25.
6. Kaiakoutskii, L.V. and N.S. Agre. 1976. Comparative aspects of development and differentiation in Actinomycetes. Bact. Rev. 40(2) : 469~524.
7. Lee, D.Y., S.W. Kim and K.K. 1981. Studies on the development of antibiotics in Korea. Kor. J. Mycol. 9(2) : 103~108.
8. 李敏載·河永七·安正善. 1976. Streptomycetes속의 分離 및 同定에 關하여. Kor. J. Microbiol. 14 : 25~35.
9. Misato, T. 1982. Present status and future prospects of agricultural antibiotics. J. Pesticide Sci. 7 : 301~305.
10. Maarit, N.R., S. Knuth and K. Lundstrom. 1981. Actinomycetes and fungi in surface water. Appl. and Envor. Microbiol. 43(2) : 378~388.
11. Mase, S. 1984. Meiji herbicide(Bialaphos). Japan. pesticide Inform. 45 : 27~29.
12. Okami, Y., S. Arima and M. Suzuki. 1963. Influence of agar on the morphology and pigmentation of Streptomycetes. Appl. Microbiol. 11 : 493~497.
13. Seo, Y.M., S.W. Hong. 1977. On the isolation of antibiotics producing *Streptomyces spp.* from soil. Kor. J. Mycol. 15 : 93~99.
14. Shiring, E.B., D. Gottlieb. 1966. Methods for characterization of Streptomycetes species. Internal. Bull. Bact. Nomen. Taxon. 16(3) : 313~340.
15. Szabo, I., and M. Marton. 1964. Comments of the first results of the international cooperative work of criteria used in characterization of Streptomycetes. Internal. Bull. Bact. Nomen. Taxon. 14(1) : 17~38.
16. Balego-Guillen, P. L., and F. Martin-Luengo. 1984. Nocordia in soils of southeastern Spain : Abundance, distribution and chemical characterization. Can. J. Microbiol. 30 : 1088~1092.
17. Williams and Wilkins. 1974. Bergey's manual of determinative bacteriology. 8th ed. pp. 747~829.