

점액세균 KR025의 분리 동정 및 생리활성물질의 탐색

김병섭* · 안종웅¹ · 조광연¹
강릉대학교 원예과, ¹한국화학연구소

Isolation and Identification of Myxobacteria KR025 and Searching of Their Bioactive Compounds

Byung Sup Kim*, Jong Woong Ahn¹ and Kwang Yun Cho¹

*Department of Horticulture, Kangnung National University, Kangnung 201-702, Korea

¹Korea Research Institute of Chemical Technology, Taejon 305-606, Korea

ABSTRACT: Fifty isolates of myxobacteria were isolated from soils from several areas in Korea during 1996-1997 and bioactivity against plant pathogenic fungi of these isolates was examined. A myxobacterial isolate KR025 showed good antifungal activities against *Pyricularia oryzae*, *Cryphonectria parasitica*, *Colletotrichum lagenarium*, and *C. gloeosporioides* but did not against *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum* and *Pythium ultimum*. The bacterium was identified as *Myxococcus fulvus* based on morphological and physiological characteristics. Antifungal substances were extracted from culture broth and bacterial cell of *Myxococcus fulvus* KR025 by ethyl acetate. Antifungal substance of *Myxococcus fulvus* KR025 was purified and identified as myxothiazole by MS and NMR analysis. The myxothiazole (100 µg/ml) produced by *Myxococcus fulvus* KR025 controlled over 97.0% rice blast, tomato late blight, wheat leaf rust, and barley powdery mildew and showed 45.0 and 82.6% disease control of rice sheath blight and cucumber gray mold, respectively.

Key words: myxobacteria, *Myxococcus fulvus*, antifungal compounds, myxothiazole, plant pathogens.

농약을 사용하지 않고는 농사를 지을 수 없을 정도로 병해충에 의한 손실은 크다고 할 수 있다. Fujita(6)는 농약을 사용하지 않을 경우의 수량 및 출하 금액의 감소를 조사하였는데 벼 및 맥류는 20~30%의 감소를 나타냈으며, 사과, 복숭아는 전혀 수확할 수 없었고, 다른 작물도 막대한 피해를 받음을 보고하였다. 병해의 피해는 단순히 수량 감소뿐만 아니라 병원균이 생산하는 2차 대사산물에 의해 인축이 강한 독성 피해를 받는 것으로도 알려졌다(2, 19). 직접 간접적으로 막대한 피해를 끼치는 식물병의 방제를 위하여 유기합성 농약을 널리 사용하고 있으나 계속적이고 광범위한 사용으로 인하여 환경오염, 저항성 출현, 인축독성 등의 많은 문제가 야기되었다(2, 5, 18, 19). 이러한 유기합성 농약의 문제를 극복하기 위하여 환경과 조화를 이루는 방제 수단으로 저항성 품종의 이용, 경종적 방제, 생물학적 방제, 천연물 농약 등이 이용되고 있다. 특히 천연물 농약은 그 활성 성분 자체 뿐 아니라 그 골격을 이용하여 새로운 합성 농약을 만들 수 있기 때문에 이 분야의 연구는 널리 수행되고 있다(3, 10, 13, 15, 16).

이제까지 유기 합성 주도의 신물질 연구는 선도 화합물의 부족으로 한계 상황에 처해있는 실정이며 현재 주도적으로 우위를 차지하는 농약의 대부분이 미생물에서 유래한 화합물이다. 미생물은 곰팡이의 경우 150만종이 있을 것으로 추정하지만 이제까지 알려진 곰팡이는 70,000종(4.7%)에 지나지 않으며 95.4%는 숨겨져있는 것으로 생각되고, 세균의 경우는 300만종이 있을 것으로 추정되며 그중 이제까지 알려진 종은 4,000여종으로 단지 0.1% 지나지 않는 실정이다(15). 따라서 아직 분리하지 않은 미생물을 찾아내어 자원화할 때 그 부가가치는 무진장하다고 할 수 있다.

식물병 방제를 위한 길항 미생물로는 *Trichoderma* spp., *Pseudomonas* spp., *Streptomyces* spp., *Agrobacterium* spp., *Bacillus* spp. 등이 널리 이용되고 연구가 진행되고 있다(3, 4, 13, 16). 이러한 길항 미생물 자체를 병방제에 이용하는 것은 아직 미미한 수준이지만 'Mycostop'(Kemira/*S. griseoviridis*), 'Kodiak'(Gustafson/*B. subtilis*), 'Binab' T(*T. viride* Fries)가 상품화되었다(13, 16). 이들 미생물이 분비하는 대사 물질이 항균 활성을 가지는 경우 병해 방제에 이용되어진다. 식물병 방제를 위한 미생물의 이용은 크게 미생물 자체를 이용하는 방법, 미생물 발효에

*Corresponding author.

의해 생산되는 대사물질을 이용하는 방법과 새로운 살균제 합성을 위한 선도 화합물로 미생물이 분비하는 물질을 이용하는 방법 등으로 다양하다(15).

점액 세균은 그람 음성의 gliding bacteria의 일종으로 일정한 조건에서 자실체(fruiting bodies)와 spore(myxospore)를 형성하는 특징을 지녔다(1, 14, 20, 21). 점액 세균은 흥미있는 2차 대사 산물을 많이 분비하는데, 항생물질로 myxothiazole, althiomycin, coralopyronins, angiolam, sorangicins, soraphen 등이 보고되었다(8, 9, 11, 12, 17). 그러나 이 세균은 자연 상태에서 토양, 동물의 분비물 및 부패한 식물 잔재물 등에 널리 존재하지만 분리가 어렵고, 저 영양 세균이기 때문에 대량 배양이 어려워 이 균에 대한 선행 연구는 매우 저조한 실정이다(1, 14, 20, 21).

본 연구에서는 150개 토양으로부터 50균주의 점액세균을 분리하여 이들 대사 산물에 대한 각종 생리 활성을 검색한 결과, 분리된 균주중 식물 병원균에 대한 높은 활성을 나타내는 KR-025균주를 동정하였으며 활성물질을 분리 정제하여 구조를 결정하였다.

재료 및 방법

점액 세균의 분리 및 분리 균주의 항균 활성. 본 실험에 사용한 균주는 대전 및 충남 조치원, 공주, 천안, 논산 등에서 채집한 토양으로부터 분리하였다. 먹이균을 이용하는 Yamanaka 등(21)의 분리 방법을 이용하였는데, 먹이균으로는 효모(*Rhodotorula rubra*)를 이용하였다. 균분리는 효모를 도말한 SP agar(Yeast extract 1 g, sucrose 1 g, galactose 1 g, casitone 1 g, soluble starch 5 g, raffinose 1 g, MgSO₄ · 7H₂O 0.5 g, K₂HPO₄ 0.25 g, agar 15 g, D. W. 1 l, pH 7.4) plate에 토양을 올려놓고 26°C에서 배양하면서 자실체의 형성을 해부현미경하에서 수시로 관찰하였다. 형성된 자실체는 조심스럽게 떼어내어 새로운 배지에 반복 배양하여 순수 분리하여 본 실험에 이용하였다. 분리된 점액세균은 *Pyricularia oryzae* 외 18가지 식물 병원균과 대치 배양하여 항균 활성을 조사하였다. SP agar plate에 분리한 점액세균과 벼 도열병균(*P. oryzae*) 외 18종의 식물 병원 곰팡이를 함께 접종하여 25°C 배양기에서 7일간 대치 배양한 후 억제 정도(inhibition zone)를 조사하였다. 대치배양을 통하여 항균 활성이 높게 나타난 대전의 산림토양에서 분리한 KR025균주를 선발하였다. *In vitro* 활성을 지닌 점액세균 KR025균주의 *in vivo* 활성 조사는 순수 분리 정제된 항균 물질을 한국화학연구소 스크리닝연구부의 살균제 스크리닝팀에 의뢰하여 벼도열병 외 5가지 식물병원균에 대한 방제 효과를 조사하였다.

선발 균주의 동정. 점액세균 KR025균주의 용균 현상

을 관찰하기 위하여 식물병원세균인 *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*와 대치 배양하였고, 동정을 위하여는 Bergey's manual of determinative bacteriology (14)에 따라 colony 및 자실체 조사, 균체의 Gram staining, 전자 현미경 관찰 및 여러 가지 생리 생화학 실험을 수행하였다.

항균 물질의 분리 정제 및 동정. 항균 물질 생산을 위하여 점액세균 KR025균주를 SP broth에 접종하여 28°C에서 7일간 진탕 배양한 후 배양액을 12,000 rpm으로 30분간 원심 분리한 후 배양여액과 균체를 얻었다. 배양여액은 ethyl acetate(1:1)로 두번 추출하였고 균체는 acetone으로 3번 추출하였다. 두 추출물은 혼합하여 silica gel column에 처리하고, ethyl acetate/n-hexane의 용매계에서 ethyl acetate의 농도(10, 30, 50, 100%)를 변화시키면서 차례로 용출시켰다. 활성 분획은 다시 silica gel과 Sephadex LH-20 column을 거친 다음, TLC와 HPLC{ODS column, MeOH/H₂O(8:2)}를 수행하여 활성 물질을 순수 분리하였다. 분리한 물질은 MS와 NMR 분석을 통하여 구조를 결정하였다. 분리 정제 과정에서 분획의 활성 조사 방법은 paper disk(8 mm thick, Toyo Roshi Kaisha, Ltd.) methods를 이용하였다. 도열병균의 포자 현탁액을 넣어 균한 PDA에, 각 분획을 50 µl을 넣어 용매를 건조시킨 paper disk를 올려놓고 25°C에서 3일간 배양한 후 억제 정도(inhibition zone)를 조사하였다.

결과 및 고찰

점액세균의 분리 및 항균 활성을 나타내는 균주의 선발. 이제까지 우리나라에서는 선행 연구실적이 전혀없는 점액 세균으로부터 신규 살균제 개발을 위한 선도 화합물을 얻기 위하여 충남 지방의 150개 토양으로부터 효모균을 먹이로 넣은 SP agar로부터 50개의 점액세균을 분리하였다. 분리된 균주에 대한 항균활성을 벼도열병균을 이용하여 조사한 결과 KR025균주가 활성이 크게 나타났다. 이 균의 항균범위를 조사하기 위하여 벼도열병균의 18종의 식물 병원균과 대치 배양한 결과 *Pyricularia oryzae*, *Cryphonectria parasitica*, *Colletotricum lagenarium*, *C. gloeosporioides*는 크게 생장이 억제되었고, *Pestalotiopsis theae*, *Alternaria solani*, *Corynespora cassicola*, *Drechslera* sp., 및 *Cochliobolus miyabeanus*는 중간 정도로 생장이 억제되었으며, *Botrytis cinerea*, *Phoma asparagi*, *Alternaria alternata*, *Phytophthora* spp.는 약간 생장이 억제되었다. 그러나 *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum* 및 *Pythium ultimum*은 생장이 억제되지 않았다(Table 1).

점액세균 KR025의 동정. 점액 세균은 크게 용균성

Table 1. Growth inhibition of various plant pathogens by *Myxococcus fulvus* KR025 in dual culture on SP agar

Pathogens	Inhibition rate ^a
<i>Pyricularia oryzae</i>	+++
<i>Rhizoctonia solani</i>	-
<i>Botrytis cinerea</i>	+
<i>Pestalotiopsis theae</i>	++
<i>Phoma asparagi</i>	+
<i>Alternaria alternata</i>	+
<i>Alternaria solani</i>	++
<i>Corynespora cassiicola</i>	++
<i>Cryphonectria parasitica</i>	+++
<i>Drechslera</i> sp.	++
<i>Colletotrichum lagenarium</i>	+++
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	+++
<i>Cochliobolus miyabeanus</i>	++
<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cucumerinum</i>	-
<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i>	-
<i>Pythium ultimum</i>	-
<i>Phytophthora infestans</i>	+
<i>Phytophthora capsici</i>	+
<i>Phytophthora nicotianae</i>	+

^a - : no inhibition, + : 0~5 mm, ++ : 5~10 mm, +++ : >10 mm.

(bacteriolytic group)과 cellulose 분해성(cellulolytic group) 균으로 나뉘어진다(14). 점액세균 KR025균주는 식물 병원세균인 *X. campestris* pv. *campestris*와 대치 배양한 결과 확실한 용균현상을 나타내어 용균성 점액 세균이었다(Fig. 1A). 이 균의 동정을 위하여 Bergey's manual(14)에 따라 여러 가지 생리 생화학적 실험을 하였다. 이 균은 Gram 음성의 호기성균으로 SP agar 위에서 reddish orange의 simple mounds형인 자실체를 형성하였다(Fig. 1B). 이 균은 전형적인 점액 세균으로 영양 세포는 간상이었으며, 구형의 myxospores를 형성하였다(Fig. 1C). Diffusible pigment는 형성하지 않았고, starch 및 esculin을 가수분해하지 못하였으며 oxidase의 활성은 없는 것으로 나타나 이 균을 *Myxococcus fulvus*로 동정하였다(Table 2).

항균 물질의 분리 정제 및 동정. *Myxococcus fulvus*로 동정된 KR025균주가 분비하는 항균 물질을 동정하기 위하여 분리 정제된 colorless oil의 항균물질을 EIMS m/z(rel. int.)분석 결과, 487[M]⁺(8), 472(5), 455(5), 359(100), 343(6), 279(5)였다. ¹H NMR(CDCl₃)분석 결과는 δ1.01(3H×2, d, J=6.7 Hz), 1.18(3H, d, J=6.8 Hz), 1.55(3H, d, J=7.0 Hz), 2.31(1H, m), 3.33(3H, s), 3.58(3H, s), 3.81(1H, t, J=8.4 Hz), 3.94(1H, m), 4.10(1H, m), 4.94(1H, s), 5.69(1H, dd, J=7.0, 15.3 Hz), 5.80(1H, dd, J=7.7, 15.1 Hz), 6.02(1H, dd, J=10.2, 15.3 Hz), 6.18(1H, dd, J=10.2, 15.3 Hz), 6.42(1H, dd, J=8.1, 15.5 Hz), 6.56(1H, d, J=15.5 Hz), 7.11(1H, s), 7.85(1H, s)로 나타났다. 따라서 이 물질은 분자량이

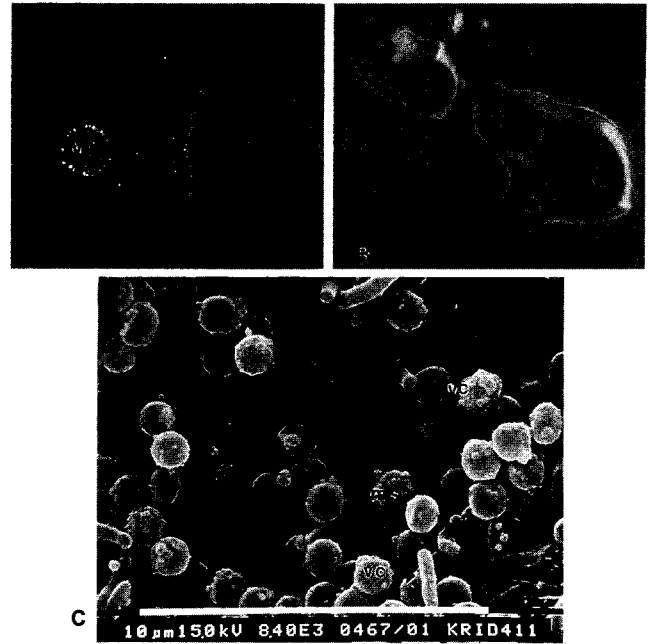


Fig. 1. A, Bacteriolysis against *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Xc) of *Myxococcus fulvus* KR025 (Mf). B, Fruiting bodies of *Myxococcus fulvus* KR025 on modified SP agar medium. C, Scanning electron micrograph of myxospores (ms) and vegetative cells (vc) of *Myxococcus fulvus* KR025. Bar, 10 μm.

Table 2. Characteristics of myxobacteria KR025 and *Myxococcus fulvus*

Characteristics	KR025	<i>Myxococcus fulvus</i> ^a
Gram staining	- ^b	-
Fruiting bodies raised on a well defined, persistent stalk	-	±
Myxospores 1.5 μm or more in diameter	-	-
Color of vegetative cell masses		
Yellow	-	-
Buff to tan	-	-
Flesh-colored to reddish orange	+	+
Greenish diffusible pigment on agar	-	-
Hydrolyzes starch in 3 days or less	-	-
Hydrolyzes esculin	-	-
Oxidase	-	-

^a Data from the Bergey's manual of determinative bacteriology, 8th edition (14).

^b symbols : +=positive, -=negative.

487(C₂₅H₃₃N₃S₂)인 thiazole계의 물질로 *Myxococcus* spp.가 분비하는 항균 물질로 알려진 myxothiazole로 동정되었다(Fig. 2).

점액세균 KR025이 분비하는 Myxothiazole의 항균 활성. 점액 세균 KR025균주를 SP broth에서 배양하여

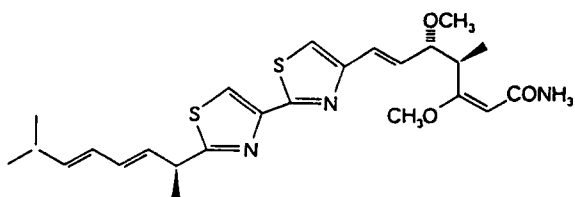


Fig. 2. Structure of myxothiazole produced from *Myxococcus fulvus* KR025.

얻은 균체 및 배양액으로부터 순수 분리하여 동정된 myxothiazole의 항균활성을 *in vivo* 유묘 검정으로 조사한 결과, 20 $\mu\text{g/ml}$ 을 병점중 24시간전에 경엽 처리한 처리구에서 벼 도열병, 토마토 역병, 밀 녹병, 보리 흰가루병에 대하여 96.7, 93.8, 98.7, 98.8%의 높은 방제 효과를 나타내었지만 벼 잎집무늬마름병 및 오이 잿빛곰팡이병에 대하여는 27.8 및 23.5%의 낮은 병방제 효과를 나타내었다. 100 $\mu\text{g/ml}$ 을 살포했을 때는 잿빛곰팡이병의 방제 효과가 82.6%로 높게 나타났다(Table 3). 대부분의 호흡 저해제가 그렇듯이 이 화합물은 벼 도열병과 토마토 역병 및 절대기생체인 밀 녹병 및 보리 흰가루병에 대하여 높은 활성을 나타내어 살균 스펙트럼이 넓은 특징을 나타내었다.

신물질 개발에 있어서 선도 화합물 탐색은 필수적인 과정이라고 할 수 있다. 새로운 합성 살균제 합성을 위한 선도 화합물로 이용하는 것으로 담자균류가 분비하는 strobilurins와 토양 세균인 *Pseudomonas pyrrocinia*가 분비하는 pyrrolnitrin이 잘 알려져 있는데 이러한 물질은 광에 불안정하므로 안정성을 증가시켜 신규 살균제로 상품화하였다(7). 본 연구에서 얻은 물질은 *Myxococcus fulvus*에서 분비하는 것으로 Gerth 등(8)이 보고한 myxothiazole로서 β -methoxyacrylate계 살균제와 마찬가지로 cytochrom-bc1 complex(complex III)를 억제하는 작용 메커니즘을 가지는 호흡 저해제로 이전에 알려진

다른 호흡 저해제와는 다른 작용 메커니즘을 지닌 화합물로 살균제 사용에 따른 저항성균의 출현이 어려울 것으로 생각된다(7).

따라서 본 연구에서 얻은 항균 물질과 같이 이전에 알려진 작용 메커니즘과는 다른 특성을 가지는 물질은 신규 살균제 개발에 이용될 수 있을 것으로 생각된다. 이후에 새로운 점액 세균을 분리하여 항균 활성을 검토할 때 신규 물질의 탐색 가능성이 높고 앞으로 신물질 연구에 적용이 가능할 것으로 사료되어 집중적 연구가 기대된다.

요 약

1996~1997년에 충남지방의 여러 토양으로부터 50균주의 점액세균을 분리하였고, 분리된 균주의 식물병원균에 대한 항균 활성을 조사하였다. 토양에서 분리한 점액세균 KR025균주를 대치 배양 방법으로 벼 도열병균 외 18종의 식물 병원균에 대한 억제 효과를 조사하였다. 이 균주는 벼 도열병균, 밤나무 줄기마름병균, 오이 탄저병균 및 고추 탄저병균에 대하여는 높은 항균 활성을 나타내었으나 벼 잎집무늬마름병균, 오이 덩굴쪄짐병균, 토마토 시들음병 및 모잘록병균에 대한 항균 활성은 없었다. 이 균을 형태 및 생리적 특성을 조사한 결과 *Myxococcus fulvus*로 동정되었다. 이 균을 SP 액체 배지에서 배양 후 균체 및 배양액으로부터 항균 물질을 ethyl acetate로 추출하여 순수 분리하였다. MS와 NMR 분석을 통하여 분리한 물질이 myxothiazole로 밝혀졌다. *Myxococcus fulvus* KR025가 생산한 myxothiazole을 100 $\mu\text{g/ml}$ 살포할 때 벼 도열병, 토마토 역병, 밀 녹병 및 보리 흰가루병을 97.0% 이상 방제하였으며, 벼 잎집무늬마름병과 오이 잿빛곰팡이병에 대하여 45.0% 및 82.6%의 방제 효과를 나타내었다.

참고문헌

Table 3. Disease control effect of myxothiazole purified from *Myxococcus fulvus* KR025 on several plant diseases

Disease	Pathogen	Control value (%) ^a	
		20 $\mu\text{g/ml}$	100 $\mu\text{g/ml}$
Rice blast	<i>Pyricularia oryzae</i>	96.7	99.0
Rice sheath blight	<i>Rhizoctonia solani</i>	27.8	45.0
Cucumber gray mold	<i>Botrytis cinerea</i>	23.5	82.6
Tomato late blight	<i>Phytophthora infestans</i>	93.8	97.7
Wheat leaf rust	<i>Puccinia recondita</i>	98.7	97.3
Barley powdery mildew	<i>Erysiphe graminis</i>	98.8	97.3

^aThe control activity of myxothiazole isolated from *Myxococcus fulvus* KR025 was evaluated by *in vivo* test using seedlings. Disease control effects were compared with disease severity of untreated control.

1. 阿部直樹, 渡 敏彦, 伊崎和夫, 高橋 甫. 1986. 粘液細菌の分離とその性質. 日本微生物生態學會報 1:1-7.
2. Ames, B. N. 1979. Identifying environmental chemicals causing mutations and cancer. *Science* 204:587-593.
3. Baker, C. J., Stavely, J. R., Thomas, C. A., Sasser, M. and MacFall, J. S. 1983. Inhibitory effect of *Bacillus subtilis* on *Uromyces phaseoli* and on development of rust pustules on bean leaves. *Phytopathology* 73:1148-1152.
4. Becker, J. O. 1993. Control of soil-borne pathogens with living bacteria and fungi: status and outlook. *Pestic. Sci.* 37:355-363.
5. Delp, C. J. 1988. Fungicide resistance in North America. APS Press, 133pp.
6. 藤田 俊一. 1993. 農藥を使用しないで栽培した場合の病害蟲等の被害. 農藥春秋 66:24-26.

7. Gasztonyi, M. and Lyr, H. 1995. Miscellaneous fungicides. In: *Modern selective fungicides-properties, applications, mechanisms of action*, ed. by Lyr, H., pp. 390-414. Gustav Fischer Verlag, New York.
8. Gerth, K., Irschik, H., Reichenbach, H., and Trowitzsch, W. 1980. Myxothiazole, an antibiotic from *Myxococcus fulvus* (Myxobacterales). I. Cultivation, isolation, physico-chemical and biological properties. *J. Antibiotics* 33: 1474-1479.
9. Irschik, H., Jansen, R., Hofle, G., Gerth, K., and Reichenbach, H. 1987. The sorangicins, novel and powerful inhibitors of eubacterial RNA polymerase isolated from myxobacteria. *J. Antibiotics* 40: 7-13.
10. Katz, E. and Demain, A. 1977. The peptide antibiotics of *Bacillus*: chemistry, biogenesis, and possible functions. *Bacteriol. Rev.* 41: 449-474.
11. Kunze, B., Reichenbach, H., Augustiniak, H. and Hofle, G. 1982. Isolation and identification of althiomycin from *Cystobacter fuscus* (Myxobacterales). *J. Antibiotics* 35: 635-636.
12. Kunze, B., Kohl, W., Hofle, G. and Reichenbach, H. 1985. Production isolation, physico-chemical and biological properties of angiolam A, a new antibiotic from *Angiococcus disciformis* (Myxobacterales). *J. Antibiotics* 38: 1649-1654.
13. Lange, L., Breinholt, J., Rasmussen, F. W. and Nielsen, R. I. 1993. Microbial fungicides-the natural choice. *Pestic. Sci.* 39: 155-160.
14. McCurdy, H. D. 1974. The gliding bacteria. In: *Bergey's manual of determinative bacteriology*, 8th ed. by R. E. Buchanan and N. E. Gibbons, pp. 76-127. The Williams & Wilkins Co., Baltimore.
15. Porter, N. and Fox, F. M. 1993. Diversity of microbial products-discovery and application. *Pestic. Sci.* 39: 161-168.
16. Powel, K. A. and Jutsum, A. R. 1993. Technical and commercial aspects of biocontrol products. *Pestic. Sci.* 37: 315-321.
17. Reichenbach, H. and Hofle, G. 1994. Discovery of a new antifungal mechanism of action: Soraphen- an almost success story. *GBF Scientific Annual Report*, pp. 5-22.
18. Staub, T. and Sozzi, D. 1984. Fungicide resistance: A continuing challenge. *Plant Dis.* 68: 1026-1031.
19. Vesonder, R. F. and Golinski, P. 1989. Metabolites of *Fusarium*. In: *Fusarium-mycotoxins, taxonomy and pathogenicity*, ed. by J. Chelkowski, pp. 1-39. Amsterdam, Elsevier.
20. 山中 茂. 1989. 粘液細菌-フル-ティンクボディを形成する細菌. *化学と生物* 27: 656-662.
21. Yamanaka, S., Kawaguchi, A. and Komagata, K. 1987. Isolation and identification of myxobacteria from soils and plant materials, with special reference to DNA base composition, quinone position, and with a description of a new species, *Myxococcus flavescens*. *J. Gen. Appl. Microbiol.* 33: 247-265.

(Received May 20, 1998)