

## 계절별 강변 토양 방선균의 속 분리 다양성

박동진 · 권오성 · 이상화 · 김창진\*  
생명공학연구소

**Genus Diversity of Actinomycetes Isolated Seasonally from Riverside Soils. Park, Dong-Jin, Oh-Sung Kwon, Sang-Hwa Lee, and Chang-Jin Kim\***. Korea Research Institute of Bioscience & Biotechnology, P. O. Box 115, Yusong, Taejeon 305-600, Korea - From the soils collected seasonally at the 0.5~2 cm and 50 ± 1 cm depths of riverside, different strains of actinomycetes were isolated and identified to the genus. At the 0.5~2 cm depth, *Streptomyces* and rare actinomycetes were in total 73 and 62 strains, respectively. *Streptomyces* was approximately 2-fold more in spring and autumn than summer, and rare actinomycetes was at least 4-fold more in autumn and winter than spring. At the 50 ± 1 cm depth, *Streptomyces* and rare actinomycetes were in total isolated 53 and 41 strains, and these were at least 2-fold more diverse in autumn than spring, summer, and winter.

**Key words** : seasonal change, soil actinomycetes distribution, genus diversity, riverside

방선균은 균사를 형성하는 그람양성 세균으로서 각종 생리활성물질의 중요한 탐색원으로 활용되고 있다[13, 16]. 방선균의 토양 분포 양상은 다양한 균주의 효과적 분리를 위해 선택적 분리 방법의 개발과 더불어 활발히 연구되고 있다[4, 8, 11]. 특히 humic acid-vitamin agar 배지를 이용하여 토양 방선균의 분포 다양성을 연구한 Kizuka 등[8]에 의하면 *Streptomyces* 속은 60.7%로써 가장 많으며 *Micromonospora*, *Nocardia* 속은 각각 5.9%, 10.4%씩 분포하며 나머지 방선균 속은 3% 이하였다. 또한 방선균은 토양 깊이에 따른 수직적 분포에서도 특이성을 나타낸다. Takahashi 등[15]이 연구한 결과에 따르면, 방선균은 지표면에서 10 cm 이내에 80% 이상이 분포하며 깊이에 반비례적으로 그 분포 밀도는 감소한다고 하였다. 또한 지하 1 m 까지 10 cm별로 방선균의 다양성을 조사하였을 때 각 층별로 서로 다른 방선균이 많이 분포한다고 하였다. 국내에서는 산림, 밭, 초지, 논 토양에서 방선균의 속 다양성을 조사한 저자들의 연구 결과[5-7]에 따르면 *Streptomyces* 속이 60-70%를 차지하며 *Streptomyces* 속을 제외한 모든 방선균 즉 회소방선균[10, 11]의 분포 비율은 30-40%인 것으로 나타났다. 또한 이들 토양에서 *Streptomyces* 속과 회소방선균은 계절에 따라 큰 분포 변화를 나타내었다.

본 연구에서는 방선균 분리원으로서 널리 이용되고 있는 산림, 초지 등과 달리 부식산이 매우 적고 모래, 자갈 등으로 구성된 강변의 사질토양을 대상으로 다음과 같은 방법에 따라 방선균의 계절별 속 분리 다양성을 조사하였다. 총

청북도 청원군 현도면 소재 금강 변의 특정 3 지점으로부터 표층 (0.5~2 cm)과 심층 (50 ± 1 cm 깊이)에서 1995년 4월 (봄), 7월 (여름), 10월 (가을), 그리고 이듬해 1월 (겨울)에 각각 토양 시료를 채취하여 실온에서 풍건한 다음 각 1 g을 멸균 생리 식염수 10 ml에 현탁하여 10<sup>-4</sup> 배까지 희석한 후 그 0.1 ml을 humic acid-vitamin agar 배지[2]에 도말하였다. 이들을 28°C에서 2주간 배양하면서 배지상에 나타나는 방선균 집락을 Bennett's agar 배지[1] 상에 옮겨 28°C에서 1주일 배양한 후 형태적 특징을 상호 비교하여 서로 다른 방선균을 순수 분리하였다. 분리된 방선균은 Bergey's manual[3]과 ISP방법[14]에 따라 형태 및 화학적 특성을 조사하여 동정하였다. 즉, 기균사 색상, 배면 색상, 수용성 색소의 생성 여부와 광학 현미경(Nikon사, Labophot-2, 40×, 100×)을 이용한 포자 시슬 등의 형태학적 특징과, 그리고 균주 세포벽 성분인 diaminopimelic acid(DAP) 등의 화학적 특성을 조사하였다. DAP 분석은 Lechevalier 등의 방법[9]에 따라 충분히 생육된 일정량의 균체를 6 N HCl로 가수분해한 후 thin layer chromatography (cellulose TLC; Merck 5715, 전개용매: methanol: water : 6 N HCl : pyridine = 80:26:4:10) 상에서 전개시켜 LL-DAP 혹은 meso-DAP를 확인하였다. 속 동정한 방선균은 크게 *Streptomyces* 속과 이를 제외한 회소방선균으로 구분하였으며, 또한 회소방선균은 *Micromonospora* 속과 nocardioform 균, 그리고 분리 빈도가 2% 이하인 *Actinomadura*, *Kineosporia*, *Microbispora*, *Nocardiopsis*, *Saccharopolyspora*, *Streptosporangium* 속과 미동정 균주를 합쳐 기타 균주로 구분하였다.

그 결과 표층(0.5~2 cm)에서는 총 135주의 서로 다른 방선균이 분리되었으며 계절에 따라 큰 변화를 나타내었다.

\*Corresponding author

Tel. (042)-860-4332. Fax. (042)-860-4595

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

즉, *Streptomyces* 속 균주는 봄과 가을에 각각 21주와 23주가 분리된 반면, 겨울에는 다소 적은 17주, 그리고 여름에는 봄과 가을의 절반 수준인 12주가 분리되었다. 회소방선균은 가을과 겨울에 각각 21주와 24주가 분리되었으며 봄과 여름에는 각각 절반 이하 수준인 5주와 12주가 분리되었다. *Streptomyces* 속과 회소방선균을 합한 전체 방선균은 가을과 겨울에 많이 분리되었으며 봄과 여름에는 그 절반 수준이었다. 또한 분리된 방선균들의 상대적 비율에서 *Streptomyces* 속 방선균은 여름(50.0%), 가을(52.3%), 겨울(41.5%)에 비해 봄(80.8%)에 높았으며 회소 방선균은 봄(19.2%)에 비해 여름(50.0%), 가을(47.7%), 겨울(58.5%)에 높았다 (Table 1).

심층(50 ± 1 cm 깊이)에서는 총 94주의 서로 다른 방선균이 분리되었으며 표층에서처럼 계절에 따른 큰 분리 변화를 나타내었다. 즉, *Streptomyces* 속은 가을에 29주가 분리되었으며 봄, 여름, 겨울에는 각각 가을의 절반 수준 이하인 13주, 7주, 4주가 분리되었다. 회소방선균도 가을에 가장 많이 분리되었으며 봄, 여름, 겨울에는 각각 가을의 절반 이하 수준인 5주, 6주, 10주가 분리되었다. 따라서 *Streptomyces* 속과 회소방선균을 합한 전체 방선균은 봄(18주), 여름(13주), 겨울(14주)에 비해 가을에 특히 높은 분리 빈도(49주)를 나타내었으며 이는 표층의 최고 분리 빈도(44주) 이상이었다. 또한 분리된 방선균들의 상대적 비율에서 *Streptomyces* 속 방선균은 봄에 72.2%였으나 겨울에는 28.6%였고 회소방선균의 경우 여름, 가을, 겨울에 각각 46.2%, 40.8%, 71.4%였으나 봄에는 단지 27.8%

였다(Table 2).

이상의 결과를 종합해 볼 때, 방선균은 강변의 표층(135주)과 심층(93주)에서 시료 당 평균 9.5주가 분리되었으며 이는 본 연구와 동일한 조건에서 수행되었던 산림, 밭, 초지, 논 토양의 시료 당 10.8주[5, 6]와 큰 차이가 없는 것으로 생각된다. 강변에서 분리된 전체 방선균 중 *Streptomyces* 속과 회소방선균은 각각 55.0%(126주)와 45.0%(103주)이었는데 앞서 언급한 이들의 전형적 분포 비율에 비해 회소방선균의 비율이 높은 것으로 판단된다. 또한 본 연구에서는 Kizuka 등[8]의 연구 결과와 달리 회소방선균 중 특히 *Micromonospora* 속은 평균 18.3%의 높은 분리 비율을 나타내었는데 이는 Okazaki 등[11]이 지적한 것처럼 수분이 많은 강변의 환경적 특성에 기인한 것으로 보여진다. 한편 방선균의 계절별 분포 변화를 조사한 전 연구[12]에 따르면 산림, 밭, 초지, 논 토양에서 전반적으로 *Streptomyces* 속의 다양성은 봄에 높고 여름에는 낮았으며 회소방선균의 경우 겨울에 높고 봄에는 낮았다. 그러나 강변 토양에서 *Streptomyces* 속은 항상 가을에 높고 여름에는 낮은 특징을 보였으며 회소방선균도 항상 가을에 높고 봄과 여름에는 낮은 다양성을 나타내었다. 따라서 강변에서의 방선균의 계절별 분포 변화는 전 연구 결과[12]와 다소 차이가 있는 것으로 보여지나, 여름에 방선균의 분포 다양성이 항상 높지 않은 점은 일치하는 것으로 판단된다. 본 연구로서 계절에 의한 토양의 환경적 변화가 어떤 기작으로 방선균의 속 다양성 분포에 영향을 미치는지 알 수 없으나, 단지 계절 변화에 따른 온도, 수분

**Table 1. Number of actinomycetes isolated seasonally at the 0.5~2 cm depth of riverside soil**

Season	<i>Stm</i>	Rare actinomycetes			Subtotal	Total
		<i>Mim</i>	Noc	Oth		
Spring	21(80.8) <sup>†</sup>	4(15.4)	0(0)	1(3.8)	5(19.2)	26
Summer	12(50.0)	1(4.2)	1(4.2)	10(41.7)	12(50.0)	24
Autumn	23(52.3)	11(25.0)	3(6.8)	7(15.9)	21(47.7)	44
Winter	17(41.5)	6(14.6)	13(31.7)	5(12.2)	24(58.5)	41

<sup>†</sup>Number (%) of different strains. *Stm*: *Streptomyces*, *Mim*: *Micromonospora*, Noc: Nocardioform, Oth: other genera including *Actinomadura*, *Kineosporia*, *Microbispora*, *Nocardioopsis*, *Saccharopolyspora*, *Streptosporangium*, and unidentified genera.

**Table 2. Number of actinomycetes isolated seasonally at the 50 ± 1 cm depth of riverside soil**

Season	<i>Stm</i>	Rare actinomycetes			Subtotal	Total
		<i>Mim</i>	Noc	Oth		
Spring	13(72.2) <sup>‡</sup>	4(22.2)	0(0)	1(5.6)	5(27.8)	18
Summer	7(53.8)	2(15.4)	2(15.4)	2(15.4)	6(46.2)	13
Autumn	29(59.2)	10(20.4)	1(2.0)	8(16.3)	20(40.8)	49
Winter	4(28.6)	4(28.6)	3(21.4)	3(21.4)	10(71.4)	14

<sup>‡</sup>Number (%) of different strains. *Stm*: *Streptomyces*, *Mim*: *Micromonospora*, Noc: Nocardioform, Oth: other genera including *Actinomadura*, *Kineosporia*, *Microbispora*, *Nocardioopsis*, *Saccharopolyspora*, *Streptosporangium*, and unidentified genera.

등의 비영양적 요소와 영양적 요소의 변화, 그리고 토양 생태계를 구성하는 생물 요소들 간의 복잡한 상호 작용에 의해 결정될 것으로 보여진다.

결론적으로 강변 토양은 산림, 초지 등과 충분히 비교할 수 있는 방선균의 분포 다양성을 나타내며 전반적으로 회소방선균의 비율이 높은 것으로 보여진다. 또한 강변 토양 방선균의 분포는 계절 변화에 의해 크게 좌우되며 가을에는 항상 높은 다양성을 나타내는 것으로 보여진다.

## REFERENCES

1. Atlas, R. M. 1993. *Handbook of Microbiological Media*, pp. 126-127. 1st ed. CRC, Florida.
2. Hayakawa, M. and H. Nonomura. 1987. Humic acid-vitamin agar, a new medium for the selective isolation of soil actinomycetes. *J. Ferment. Technol.* **65**: 501-509.
3. Holt, J. G., N. R. Krieg, P. H. A. Snea, J. T. Staley, and S. T. Williams. 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, pp. 605-703. 9th ed. Williams and Wilkins, Baltimore.
4. Horst, W. 1981. Characteristics of actinomycetes isolated from marine sediments, pp. 309-314. In K. P. Schaal and G. Pulverer (eds.), *Actinomycetes, suppl. 11*. Gustav Fisher Verlag · Stuttgart, New York.
5. Kim, C. -J., K. -H. Lee, A. Shimazu, and I. -D. Yoo. 1994. Reisolation frequency of soil actinomycetes on multiple isolation media. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **22**: 329-331.
6. Kim, C. -J., K. -H. Lee, A. Shimazu, O. -S. Kwon, and D. -J. Park. 1995. Isolation of rare actinomycetes on various types of soil. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **23**: 36-42.
7. Kim, P. -K., O. -S. Kwon, C. -Y. Lim, D. -J. Park, and C. -J. Kim. 1997. Genus distribution of soil actinomycetes on different depth. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **25**: 534-536.
8. Kizuka, M., R. Enokita, K. Takahashi, and T. Okazaki. 1997. Distribution of the actinomycetes in the Republic of South Africa investigated using a newly developed isolation method. *Actinomycetol.* **11**: 54-58.
9. Lechevalier, M. P. and H. Lechevalier. 1970. Chemical composition as a criterion in the classification of aerobic actinomycetes. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **20**: 435-443.
10. Okami, Y. and K. Hotta. 1988. Search and discovery of new antibiotics, pp. 33-67. In M. Goodfellow (ed.), *Actinomycetes in Biotechnology*. Academic Press, London.
11. Okazaki, T. 1987. Rare actinomycetes: New breed of actinomycetes. *The Bimonthly J. Microorganism* **3**: 453-461.
12. Park, D. -J., S. -H. Lee, S. H. Park, and C. -J. Kim. 1998. Distribution pattern of soil actinomycetes on the seasonal change. *Kor. J. Microbiol.* **34**: 149-153.
13. Porter, N. and F. M. Fox. 1993. Diversity of microbial products-discovery and application. *Pestic. Sci.* **39**: 161-168.
14. Shirling, E. B. and D. Gottlieb. 1966. Methods for characterization of *Streptomyces* species. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **16**: 313-340.
15. Takahashi, Y., Y. Seki, Y. Tanaka, R. Oiwa, Y. Iwai, and S. Omura. 1990. Vertical distribution of microorganisms in soils. *J. Actinomycetol.* **4**: 1-6.
16. Zahner, H. 1985. The secondary metabolism of microorganisms: An inexhaustible source for new products. *Pestic. Sci.* **16**: 424-425.

(Received June 30, 1999)