

다양한 식중독균과 식물병원균에 항균력을 갖는 토양유래 *Streptomyces Virginiae*의 분리

Isolates of *Streptomyces virginiae* from Soil for Inactivation of Foodborne and Plant Pathogens

방지현*

고려대학교 생명과학대학 생명공학과

Bang, Jihyun

Dept. of Biotechnology, College of Life Sciences and Biotechnology, Korea University.

Abstract

We identified a microorganism with inhibitory activities against foodborne pathogens (*Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, and *Vibrio parahaemolyticus*) and plant pathogens (*Aspergillus flavus* and *Fusarium graminearum*). A total of 2,106 microorganisms were obtained from soil, foods or food contact surfaces for isolation of the antagonistic microorganism. The antimicrobial activities of the isolates were determined against six pathogenic microorganisms using a double-layer assay. Only one microorganism showed inhibitory activity against the six pathogenic microorganisms. The microorganism was identified as *Streptomyces virginiae* by 16S rRNA gene sequence analysis and cultural characteristics in international *Streptomyces* project (ISP) media.

Keywords: foodborne pathogen, plant pathogen, antagonistic microorganism, *streptomyces virginiae*

I. 서론

Streptomyces 속에 속하는 균주는 그람양성 균이며, 해수, 식물의 주변과 같은 다양한 환경에 서식하는 것으로 알려져 있지만 주로 토양에서 발견된다 (Bouchek-Mechiche et al., 2006; Procópio et al., 2012). 이 균은 필라멘트형 균사를 형성하고 그 끝에 포자를 만들어 증식하는데 형태학적으로 곰팡이와 매우 유사하다 (Procópio et al., 2012). *Streptomyces*는 토양의 셀룰로오스 (Enger & Sleeper, 1965; Kluepfel et al.,

1986; Spear et al., 1993)나 리그닌 (Pometto & Crawford, 1986)의 분해에 관여하며, 병원성 곰팡이, 세균, 바이러스의 생육을 억제할 수 있는 이차대사산물을 생산하는 것으로 알려져 있다(Rifaat & Kansoh, 2005; Wright & Hopwood, 1976). 이 이차대사산물은 미생물들의 생육을 억제하는 것 외에도 항 고혈압 작용과 면역억제 작용을 한다고 알려져 있다(Omura et al., 2001). *Streptomyces*를 포함하는 방선균들은 10,000 종류 이상의 생리활성물질을 생산하는 것으로 알려져 있는데 이 중에서 7,600 여 종류 이상이 *Streptomyces* 속이 생산하

본 연구는 한국연구재단 (NRF-2013R1A2A2A01068475)에서 재원을 지원받아 수행하였습니다. 이 논문은 2014년도 한국생물과학회 동계 학술대회에서 포스터 발표한 것을 확장한 것입니다.

* Corresponding Author: Bang, Jihyun

Tel: +82-01-4599-9801

E-mail: ourora09@korea.ac.kr

© 2016, Korean Association of Human Ecology. All rights reserved.

는 물질 (Bérdy, 2005)이며 이 생리활성물질의 75 %가 의약분야에서, 60 %가 농업분야에서 활용되고 있다 (Miyadoh, 1993). 이 외에도 이 균은 폐기물 처리 (Kim et al., 1999), 식품의 보존제 및 첨가제 (Wright & Hopwood, 1976) 등 다양한 분야에서 활용되고 있다. *Streptomyces* 속 유래 생리활성물질이 발굴되어 다양한 산업분야에서 활용되고 있지만 (Bérdy, 2005), 현재까지 진행되어온 연구에서는 *Streptomyces* 속이 분비하는 항균물질이 그람양성균에만 항균효과를 보였거나(Wright & Hopwood, 1976), 식물병원균 또는 소수의 병원균에 대해서만 항균효과를 보였다(Saengnak et al., 2013). 식중독균과 식물 병원균에 대해 동시에 항균 활성인 보인 *Streptomyces* 속을 발굴한 적은 거의 없었다. 따라서 사람, 동물, 식물들에게 병을 유발하는 병원균을 동시에 억제할 수 있는 신규 미생물을 발굴하는 연구는 계속적으로 필요하다.

본 연구의 목적은 다양한 환경 (토양, 식품, 식품 접촉 표면)으로부터 미생물을 분리하여 식중독균 (*Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio parahaemolyticus*)과 식물병원균 (*Aspergillus flavus*, *Fusarium graminearum*)에 동시에 항균활성을 갖는 길항미생물을 발굴하는 것이다.

II. 연구방법

1. 길항미생물을 발굴하기 위한 위해 미생물의 준비

본 연구에 사용된 위해 미생물은 *Escherichia coli* O157:H7 ATCC 43895 (Ground beef isolate), *Listeria monocytogenes* KCTC 3569 (Poultry isolate), *Staphylococcus aureus* KCTC 1621 (Clinical isolate), *Vibrio parahaemolyticus* KCTC 2729 (Food poisoning patient isolate), *Aspergillus flavus* KCCM 60330 (Corn isolate), *Fusarium graminearum* KACC 46434 (Rice isolate)이다. -20 °C의 냉장고에서 15 % 글리세롤이 함유된 tryptic soy broth (TSB; BBL/Difco, Sparks, MD, USA)에 저장되어 있던 *E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes*, *S. aureus* stock과 15 % 글리세롤이 함유된 marine broth (MB; BBL/Difco, Sparks, MD, USA)에 저장되어 있던 *V. parahaemolyticus* stock 1 mL을 10 mL의 TSB와 MB에 각각 접종하였다. *E. coli* O157:H7, *L.*

monocytogenes, *S. aureus*는 24 시간 동안 37 °C에서 배양하였고 *V. parahaemolyticus*는 48 시간 동안 30 °C에서 배양하였다. *E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes*, *S. aureus*와 *V. parahaemolyticus*를 각각 24 시간과 48 시간 동안 배양한 후에 다시 각각 24 시간과 48 시간 간격으로 백급이를 이용하여 TSB와 MB에 세번 계대 배양하였다. 세 번 계대 배양 후 *E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes*, *S. aureus*는 TSB에 *V. parahaemolyticus*는 MB에 ca. 7 log CFU/mL이 되도록 희석하였다. *A. flavus*는 potato dextrose agar (PDA; BBL/Difco) slant에 직선으로 접종한 후 7일 동안 30 °C에서 배양하였다. 7일 후, 이 slant에 0.02 %의 tween 80 (Junsei, Tokyo, Japan)이 포함된 멸균수 10 mL을 넣고 loop를 이용하여 PDA 배지에서 *A. flavus*를 떼어내었다. 떼어낸 *A. flavus*를 멸균된 거즈에 걸러내고, 걸러진 포자를 20,000 x g에서 15분 동안 원심분리 한 후 potato dextrose broth (PDB; BBL/Difco)에 희석해서 ca. 7 log CFU/mL이 되도록 만들었다. *F. graminearum*는 PDA plate에 접종한 후 25 °C에서 7일 동안 배양하였다. 7일 후 *F. graminearum*이 자란 PDA를 조직검사를 위해 사용하는 펀치 (Stiefel Biopsy Punch; Stiefel Laboratories, FL, USA)를 이용하여 6 mm의 크기로 5 곳을 뚫고 이 5개의 agar plug를 250 mL의 carboxymethyl cellulose (CMC) broth (ammonium nitrate [NH₄NO₃], 1 g; monopotassium phosphate [KH₂PO₄], 1 g; magnesium sulphate heptahydrate [MgSO₄ · 7H₂O], 0.5 g; yeast extract, 1 g; carboxymethyl cellulose, 15 g; DW, 1 L)에 넣고 25 °C에서 5일 동안 진탕배양 (200 rpm) 하였다. 5일 후, spore를 멸균된 거즈에 걸러내고, PDB에 희석하여 10⁷ spore/mL이 되도록 조절하였다.

2. 토양, 식품, 식품 접촉 표면으로부터 미생물의 분리

다양한 위해 미생물에 대해 동시에 항균활성을 보이는 미생물을 발굴하기 위하여 토양, 식품, 식품 접촉 표면으로부터 미생물들을 분리하였다. 토양에서 미생물을 분리하기 위하여 황성, 오대산, 설악산, 백운호수, 충주댐, 계룡산, 속리산 등의 주변 환경에 존재하는 흙을 채집하였다. 흙은 10 cm정도의 깊이로 파서 내부에 있는 흙을 채취하였다. 이 흙 1 g을 10 mL의 멸균된 증류수에 현탁 시키고 진탕 배양하였다 (200 rpm, 1-3시간, 상온). 진탕 배양 후 배양액에서 흙이 가라앉으면 상등액 100 µL를 humic acid vitamin agar에 도말 하고 28 °C

에서 3-7일 동안 배양한 후 다양한 형태와 색을 갖는 집락을 분리하였다. 식품 샘플로는 신선채소 (상추, 양상추, 적상추, 적근대, 깻잎 등)와 수산물 (생선류, 패류, 갑각류)을 선정하였다. 신선채소는 청량리 시장에서 구입하였고 수산물은 노량진 수산 시장에서 구입하였다. 식품 샘플은 10 g을 100 mL의 펩톤수에 넣고 1 분 동안 균질기를 이용하여 균질화한 후, 이 용액 1 mL을 펩톤수에 순차적으로 희석하여 tryptic soy agar (TSA; BBL/Difco, Sparks, MD, USA)에 평판 도말 하였다. 25 °C 배양기에서 48시간 배양 후, 다양한 형태와 색의 단일 집락을 분리하였다. 이 집락을 다시 TSA에 희석 도말하여 24-48 시간 배양하였다. 식품 환경 표면으로는 육류와 수산물을 자르기 위해 사용하는 도마와 칼을 선정하였다. 도마와 칼을 멸균된 면봉으로 긁어 10 mL의 0.1 % 펩톤수를 포함하는 튜브에 담고 vortex 장비를 이용하여 2 분 동안 최대 속도로 회전시켜 면봉에 부착되어 있는 미생물을 분리 하였다. 이 분리된 미생물이 포함된 펩톤수(1 mL)를 9 mL의 펩톤수에 순차적으로 희석하고 TSA에 평판 도말 하였다. 25°C의 배양기에서 48시간 배양 후 단일 집락을 분리하였고, 이 단일 집락을 다시 TSA에 희석 도말 하고 24-48시간 동안 25 °C의 배양기에서 배양하였다.

3. 토양, 식품, 식품 접촉 표면으로부터 분리한 미생물들의 위해 미생물에 대한 항균력 확인

토양, 식품, 식품 접촉 표면에서 분리한 2,106개의 미생물 중에서 *S. aureus*, *E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes*, *V. parahaemolyticus*, *F. graminearum*, *A. flavus*에 대해 동시에 항균 활성을 갖는 미생물이 있는지를 확인해 보았다. 총 6 종류의 위해 미생물에 대해 항균활성을 보이는 균주가 있는지를 확인하기 위하여, 토양에서 분리한 미생물의 경우 단일 집락을 백금이를 이용하여 Bennet's agar (glucose, 10 g; yeast extract, 1 g; tryptone, 2 g; beef extract, 1 g; agar, 15 g; DW, 1 L)에 희석 도말하고 25 °C에서 6일 동안 배양하였다 (3 일 배양 후, 균주가 잘 자랐는지 확인하여 잘 자라지 못한 균주는 멸균 면봉을 이용하여 2차 희석 도말 한 후 다시 25 °C에서 3일 동안 배양 하였다). 6일 후, 대략 1-5의 집락을 유리 구슬 (0.5 g; Glass bead 1, Glastechnique Mfg., Germany)이 함유된 10 mL의 TSB에 접종하여 진탕 배양 하였다 (200 rpm, 3일, 25 °C).

식품과 식품 접촉 표면에서 분리한 미생물의 경우 단일 집락을 백금이를 이용하여 TSB (10 mL)에 접종하고 25 °C에서 24 시간 간격으로 세번 계대 배양하였다. TSB에서 3일 동안 배양하였던 토양 미생물과 TSB에서 24시간 배양하였던 식품과 식품 접촉 표면에서 분리한 미생물들을 TSA에 10 µL씩 점 접종하고 15분-30분 동안 증류 생물 안전 캐비닛 후드에서 건조 한 후 25 °C 배양기에서 24 시간 동안 배양하였다. 24 시간 배양 후, 45 °C로 유지한 99 mL의 TSA, MA, PDA를 준비하였고 37 °C에서 24 시간 동안 TSB에 배양된 *E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes*, *S. aureus* 1 mL을 준비한 99 mL의 TSA에, 30 °C에서 48 시간 동안 MB에 배양된 *V. parahaemolyticus* 1 mL을 MA (99 mL)에, 그리고 7일 동안 30 °C에서 PDA에 배양된 *A. flavus*와 5일 동안 25 °C에서 CMC broth에 배양된 *F. graminearum*을 위에 언급된 방법으로 PDB에 희석한 후 1 mL을 준비한 PDA (99 mL)에 넣어 10⁵ CFU/mL의 균을 포함하는 100 mL의 한천배지 (TSA, MA, PDA)를 준비하였다. 각각의 위해 미생물이 혼합된 한천배지를 점 접종한 균주가 자란 TSA에 10 mL씩 분주하였다. 이 한천 배지들을 증류 생물 안전 캐비닛 후드에서 30분 동안 건조한 후, *S. aureus*, *E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes*는 37 °C에서 24 시간, *V. parahaemolyticus*는 30 °C에서 48시간, *A. flavus*와 *F. graminearum*은 각각 30 °C와 25 °C에서 48시간 배양하여 저해환의 형성유무와 크기를 확인하였다. 6 종류의 위해 미생물 모두에 항균력을 보이는 미생물이 있는지를 확인해 보았다.

4. 길항미생물의 동정

6 종류의 위해 미생물에 대해 동시에 항균력을 나타낸 길항미생물의 16S rRNA 분석을 위해 Bennet's agar에 희석 도말하여 25 °C에서 3일 동안 배양하였다. 이 미생물이 도말된 고체배지를 (주) 마크로젠 (Macrogen, Seoul, Korea)에 의뢰하여 16S rRNA 유전자 정보를 분석하였다. 분석된 길항미생물의 16S rRNA 유전자 정보와 유사한 미생물들의 유전자 정보를 NCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov)에서 확보하였고 이 유전자 정보들을 이용하여 계통도 (phylogenetic tree)를 Mega software (version 5.05)의 neighbor-joining 방법으로 그려 유사한 유전 정보를 갖는 미생물의 속명을 확인하였

다. 이 미생물의 속명이 맞는지 검토하기 위하여 Shirling and Gottlieb (1966)의 문헌에 나와있는 International Streptomyces project (ISP) 배지를 사용하였다. 간단히 설명하면 성분이 다른 6 종류 (ISP 1; Tryptone-yeast extract agar, ISP 2; Yeast extract-malt extract agar, ISP 3; Oatmeal agar, ISP 4; Inorganic salts-starch agar, ISP 5; Glycerol-asparagine agar, ISP 6; Peptone-yeast extract iron agar)의 ISP 배지에 분리한 미생물을 도말하여 25°C에서 대략 14일 저장한 후 형성된 집락의 기균사와 기저균사체 색, 성장능력을 확인하였고, 다른 문헌에 나와있는 이 미생물과 특성이 유사한지를 비교하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 토양, 식품, 식품 접촉 표면으로부터 미생물의 분리

<Table 1>은 토양, 식품, 식품 접촉 표면에서 분리한 미생물의 개수이다. 토양으로부터 분리된 미생물은 1,691 개, 식품 샘플로 신선채소와 수산물에서 분리된 미생물은 각각 208개와 102개였으며, 식품 접촉 표면 샘플로 도마와 칼에서 분리된 미생물이 각각 51와 54개로 토양, 식품, 식품 접촉 표면으로부터 총 2,106개의 미생물을 분리하였다. 토양에서 가장 많은 수의 미생물을 분리하였고 그 다음으로 식품과 식품 접촉 표면의 순서였다.

2. 토양, 식품, 식품 접촉 표면으로부터 분리한 미생물들의 위해 미생물에 대한 항균력 확인

토양, 식품, 식품 접촉 표면으로부터 분리한 미생물

(2,106 개) 중에서 *E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *V. parahaemolyticus*, *A. flavus*, *F. graminearum*에 대한 항균력을 double layer assay를 이용하여 확인했을 때, 6 개의 병원균에 대해 동시에 항균 활성을 나타낸 균주는 토양에서 분리한 미생물 1개 뿐이었다. <Table 2>은 토양에서 분리한 미생물을 이용하여 double layer assay로 *E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *V. parahaemolyticus*, *A. flavus*, *F. graminearum*에 대해 항균력을 확인했을 때 저해환의 크기를 면적으로 환산한 값이다. 토양에서 분리한 미생물은 *S. aureus* (4.52 cm²)>*L. monocytogenes* (3.80 cm²)>*E. coli* O157:H7 (2.54 cm²)>*F. graminearum* (1.78 cm²)>*V. parahaemolyticus* (1.54 cm²)>*A. flavus* (0.38 cm²)의 순서로 큰 저해환을 형성하였다. 이 결과로 보았을 때 분리한 토양유래 미생물은 *S. aureus*에 대해 가장 우수한 항균력을 보였고 *A. flavus*에 대해 가장 적은 항균력을 나타내었다.

<Table 2> Antimicrobial activity of isolates from soil, foods, and food contact surfaces against *S. aureus*, *E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes*, *V. parahaemolyticus*, *A. flavus*, and *F. graminearum*.

Microorganisms	Zone of inhibition (cm ²)
<i>S. aureus</i>	4.52
<i>L. monocytogenes</i>	3.80
<i>E. coli</i> O157:H7	2.54
<i>F. graminearum</i>	1.78
<i>V. parahaemolyticus</i>	1.54
<i>A. flavus</i>	0.38

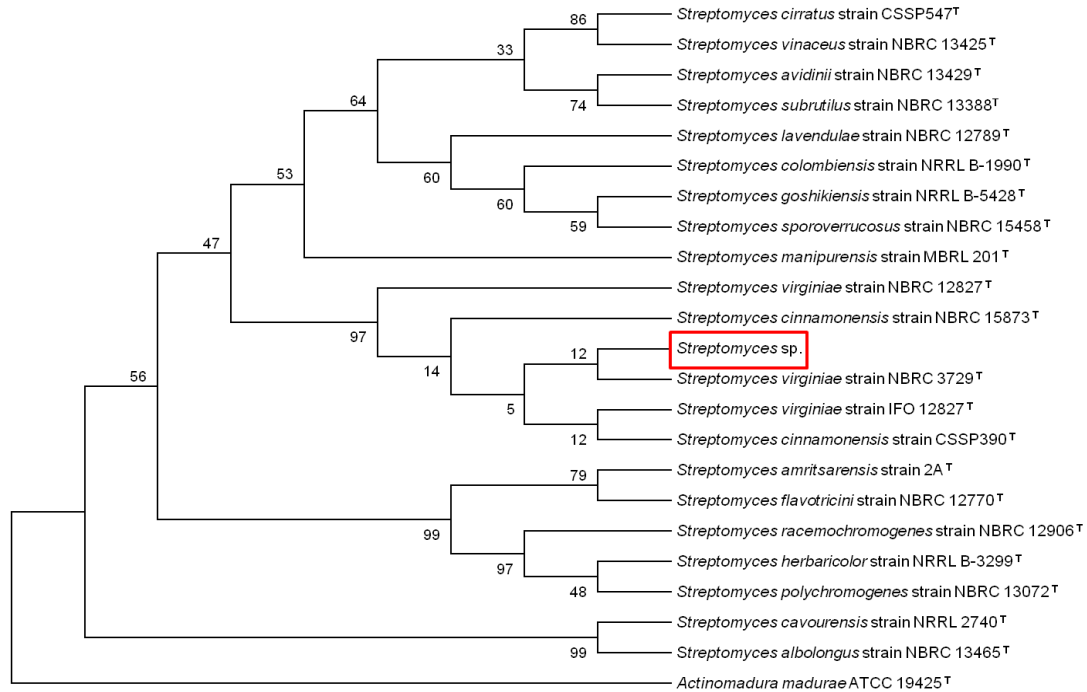
<Table 1> Numbers of microorganisms isolated from soil, foods and food-contact surfaces

Source	Sub-category of source	Numbers of isolated microorganisms
Soil		1,691
Foods	Fresh produces	208
	Sea foods	102
Food-contact surfaces	Cutting boards	51
	Knives	54
Total		2,106

3. 길항미생물의 동정

[Figure 1]는 6 종류의 위해 미생물에 대해 항균력을 보였던 토양 유래 미생물의 16S rRNA 유전자를 이용하여 phylogenetic tree를 그렸을 때 *Streptomyces virginiae*에 가깝다는 것을 보여주는 결과이다. 이 토양

유래 미생물의 16S rRNA의 유전자 정보는 NCBI에 등록된 *S. virginiae* NBRC 3729의 유전자 정보와 가장 가깝게 나타났다. 이 미생물이 *S. virginiae*가 맞는지 확인하기 위하여 *Streptomyces* spp.를 동정할 수 있는 ISP 배지를 사용하여 배양 특성을 확인해 보았다. <Table 3>는 6 종류의 위해미생물에 대해 동시에 항균력을 보였던



[Figure 1] Neighbor-joining phylogenetic tree based on 16S rRNA gene sequence showing the phylogenetic relationships between the isolate with antimicrobial activity against six pathogens and *Streptomyces* species. Bootstrap values of 1000 replications are shown at the branch points

<Table 3> Cultural characteristics of the isolates showing antimicrobial activity against *S. aureus*, *E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes*, *V. parahaemolyticus*, *A. flavus*, and *F. graminearum*

Media	Cultural characteristics				
	Aerial mycelium	Substrate mycelium	Soluble pigment	Growth	
ISP1 (Trypton-yeast extract agar)	None	(slightly) Brown	None	Good	
ISP2 (Yeast extract-malt extract agar)	Purplish-gray	Yellow ocher	None	Good	
ISP3 (Oatmeal agar)	Purplish-gray	Yellowish brown	None	Good	
ISP4 (Inorganic salts starch agar)	Gray	Beige	None	Good	
ISP5 (Glycerol asparagine agar)	None	(slightly) Beige	None	Good	
ISP6 (Peptone-yeast extract iron agar)	None	Purplish-Black	Purplish-black	Good	
Bennett's agar	Purplish-white	Yellow ocher	None	Good	

토양유래 미생물을 ISP 배지에 획선 도말하여 14일 동안 배양했을 때 배양상 특징을 나타내는 결과이다. 이 미생물은 ISP 1, 2, 3, 4, 5, 6번 배지에서 모두 잘 자랐다. ISP 배지에 형성된 기균사의 색은 ISP 1, 5, 6번 배지를 제외하고 대부분 회색에 가까웠다. ISP 1, 5, 6 배지에서는 기균사를 약간 형성하였거나 형성하지 않았다. 배양배지의 뒷면에서 확인할 수 있는 기저균사체의 색은 ISP 1과 6번 배지를 제외하고 모두 노란색에 가까웠고, ISP 1 배지에서는 갈색, ISP 6 배지에서는 자줏빛 흑색을 띠었다. ISP 배지에서 색소를 생성하는지를 확인했을 때 ISP 6번 배지에서만 자줏빛 흑색의 색소를 생성하였고 나머지 배지에서는 색소를 형성하지 않았다. ISP 2, 3, 4번 배지에서 기균사의 색이 회색, 그리고 ISP 2, 3, 5번 배지에서 기저균사체의 색이 노란색이며 색소를 형성하지 않는 특징이 이 기록되어 있는 *S. virginiae*와 유사했다. 또한 Boeck et al. (1885)의 ISP taxonomy test 결과에서 언급하고 있는 포자의 색이 회색이라는 것과 기저균사체가 노란색이라는 것이 우리의 결과와 유사했다. NCBI에서 등록된 *S. virginiae*와의 유전자 정보가 유사하고 문헌에 기록되어있는 배양 배지에서의 특징이 *S. virginiae*와 유사했기 때문에 우리는 이 균을 *S. virginiae*로 명명했다.

IV. 결론 및 논의

소비자들이 건강하고 안전한 삶을 지향함에 따라 식품, 농업, 환경, 의약품 산업 분야에서 화학적 합성물보다 천연물 제제의 사용에 관심이 증대되고 있다. 이에 대응하기 위하여 전 세계 다국적 기업 및 연구 기관에서 식물 및 미생물에 관련된 천연물 제제를 발굴하고 제품으로 개발하고 있지만 천연물 제제의 발굴에 한계가 있어 개발되고 있는 제품의 종류가 매우 제한적이다. 그러므로 다양한 천연물 제제가 함유된 제품을 개발하기 위해서 천연물 제제의 발굴은 계속 연구되어야 한다. 본 연구의 목적은 다양한 식중독균과 식물병원균을 동시에 억제할 수 있는 길항 미생물을 발굴하고 이 미생물이 다양한 산업 분야에서 활용 될 수 있는 안전한 미생물인지 확인하기 위하여 동정하는 것이다.

토양, 식품, 식품 접촉 표면에서 분리된 2,106개의 미생물 중 6 종류의 위해 미생물 (*E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *V. parahaemolyticus*, *A.*

flavus, *F. graminearum*)에 대해 항균력을 나타내었던 균주는 토양에서 분리한 *S. virginiae* 1개 뿐이었다. 대부분의 미생물 (1,962개)이 6 종류의 위해 미생물 중 1개의 위해 미생물에 대해 항균력을 나타내었고 2개의 위해 미생물에 대해 동시에 항균력을 보였던 미생물의 수는 72개, 3개의 위해 미생물에 대해 항균력을 보였던 미생물의 수는 41개, 4개의 위해 미생물에 대해 항균력을 보였던 미생물의 수는 29개, 5개의 위해 미생물에 대해 항균력을 보였던 미생물의 수는 1개로 여러 종류의 위해 미생물에 대해 동시에 항균력을 나타내는 미생물의 수는 위해 미생물의 수가 증가할수록 감소하였다. 다른 연구자의 연구에서도 위해 미생물에 대해 항균력을 나타내는 미생물을 분리한 사례는 많이 있었다. Brashears et al. (2003)은 소의 분변에서 *E. coli* O157:H7을 억제하는 Lactic acid bacteria를 분리했다고 보고했다. Kim et al. (2013)도 새싹종자와 새싹채소로부터 *E. coli* O157:H7을 억제하는 *Paenibacillus polymixa*를 분리했다고 보고하였다. Khleekorn과 Wongrueng(2014)도 바나나에 탄저병을 유발하는 병원균인 *Colletotrichum musae*를 억제하는 길항 미생물을 분리하였다고 보고하였다. 이처럼 위해 미생물에 대해 항균력을 나타내는 길항 미생물을 발굴하려는 시도는 많이 연구되어 왔지만 우리의 연구에서처럼 식중독균과 식물병원균을 포함하는 다양한 위해 미생물에 대해 항균력을 보이는 길항 미생물을 발굴하고자 시도한 사례는 거의 없었다.

우리가 동정한 *S. virginiae*는 식중독균과 식물병원균에 항균력을 나타내었다. 다른 연구자의 보고에서도 *S. virginiae*가 다양한 종류의 박테리아, 곰팡이, 효모에 대해 항균력을 나타내었다는 연구 보고가 있었다. Rifaat와 Kansoh (2005)가 이집트 토양으로부터 *S. virginiae*를 분리했고 다양한 미생물에 대해 항균력을 확인했다. 그들은 *Bacillus* spp., *Sarcina lutea*, *S. aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus terreus*, *Fusarium oxysporum*, *Saccharomyces cerevisiae*에 대해 항균력을 나타내었다고 보고하였다. *S. virginiae*는 virginiamycin이라는 항균 물질을 내는 것으로 알려져 있다. 아마도 이 항균물질이 6 종류의 위해 미생물에 대해 항균 효과를 낸 것 같다. Di Giambattista et al. (1989)도 *S. virginiae*에 의해 생산되는 virginiamycin은 다양한 종류의 그람양성균에 대해 효과적이었다고 보고했다. Papich와 Riviers (2009)도 *S. virginiae*에 의해 생산되는 virginiamycin이

대부분의 그람양성균, 그람음성균인 *Haemophilus* spp., *Neisseria* spp., 프로토조아인 *Toxoplasma* spp.에 항균 효과가 있었다고 보고하였다.

우리가 분리한 *S. virginiae*는 다양한 미생물에 동시적으로 항균력을 나타내므로 식품, 농업, 환경 산업 등에 넓게 적용시킬 수 있을 것으로 예상된다. 예를 들어 식품 산업 현장에서는 다양한 위해 미생물이 유입될 수 있는데, 이 미생물을 식품 접촉 표면 등에 바이오필름으로 유도한다면 유입되는 여러 위해 미생물에 대해 동시적으로 항균성을 부여할 수 있을 것으로 예상된다.

본 연구에서는 다양한 환경에서 분리한 2,106개의 미생물을 이용하여 6 종류의 식중독균과 식물병원균에 대해 모두 항균력을 나타내는 미생물을 분리하였고, 이 미생물은 *S. virginiae* 로 동정되었다. 본 연구의 개발은 식품, 의약품, 농업 분야에서 사용 할 수 있는 약제를 개발할 때 기초 자료로 활용할 수 있을 것이다.

REFERENCE

- Bérdy, J. (2005). Bioactive microbial metabolites. *Journal of Antibiotics*, 58(1), 1-26.
- Boeck, L. D., Mertz, F. P., & Clem, G. M. (1985). A41030, a complex of novel glycopeptide antibiotics produced by a strain of *Streptomyces virginiae*. Taxonomy and fermentation studies. *The Journal of Antibiotics*, 38(1), 1-8.
- Bouček-Mechiche, K., Gardan, L., Andrivon, D., & Normand, P. (2006). *Streptomyces turgidiscabies* and *Streptomyces reticuliscabiei*: one genomic species, two pathogenic groups. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 56, 2771-2776.
- Brashears, M. M., Jaroni, D., & Trimble, J. (2003). Isolation, selection, and characterization of lactic acid bacteria for a competitive exclusion product to reduce shedding of *Escherichia coli* O157:H7 in cattle. *Journal of Food Protection*, 66(3), 355-363.
- Di Giambattista, M., Chinali, G., & Cocito, C. (1989). The molecular basis of the inhibitory activities of type A and type B synergimycins and related antibiotics on ribosomes. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 24(4), 485-507.
- Enger, M. D. & Sleeper, B. P. (1965). Multiple cellulase system from *Streptomyces antibioticus*. *Journal of Bacteriology*, 89(1), 23-27.
- Khleekorn, S. & Wongrueng, S. (2014). Evaluation of antagonistic bacteria inhibitory to *Colletotrichum musae* on banana. *Journal of Agricultural Technology*, 10(2), 383-390.
- Kim, K. H., Kim, J. Y., & Lee, K. B. (1999). Isolation of aerobic bacteria and its efficacy for the treatment of Korean food-wastes. *Journal of Life Science*, 9(5), 510-517.
- Kim, S., Bang, J., Kim, H., Beuchat, L. R., & Ryu, J. H. (2013). Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 on stainless steel upon exposure to *Paenibacillus polymyxa* biofilms. *International Journal of Food Microbiology*, 167(3), 328-336.
- Kluepfel, D., Shareck, F., Mondou, F., & Morosoli, R. (1986). Characterization of cellulase and xylase activities of *Streptomyces lividans*. *Applied Microbiology and Biotechnology* 24(3), 230-234.
- Miyadoh, S. (1993). Research on antibiotic screening in Japan over the last decade: a producing microorganisms approach. *Actinomycetologica*, 7(2), 100-106.
- Omura, S., Ikeda, H., Ishikawa, J., Hanamoto, A., Takahashi, C & Shinose, M. et al. (2001). Genome sequence of an industrial microorganism *Streptomyces avermitilis*: deducing the ability of producing secondary metabolites. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(21), 12215-12220.
- Papich, M. G. & Ribier, J. E. (2009). Chloramphenicol and derivatives, macrolides, lincosamides, and miscellaneous antimicrobials In: Riviere, J. E. & Papich, M. G. (Eds.), *Veterinary pharmacology & Therapeutics*, 9rd edn. Wiley-Blackwell, Ames, Iowa, USA, pp. 945-982.

- Pometto, A. L. & Crawford, D. L. (1986). Effects of pH on lignin and cellulose degradation by *Streptomyces viridosporus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 52(2), 246-250.
- Procópio, R. E., Silva, I. R., Martins, M. K., Azevedo, J. L., & Araújo, J. M. (2012). Antibiotics produced by *Streptomyces*. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 16(5), 466-471.
- Rifaat H. M. & Kansoh, A. L. (2005). *Streptomyces virginiae*: Taxonomy, identification and biological activities. *Arab Journal of Biotechnology*, 8(1), 29-34.
- Saengnak, V., Chaisiri, C., & Nalumpang, S. (2013). Antagonistic *Strptomycetes* species can protect chili plants against wilt disease caused by *Fusarium*. *Journal of Agricultural Technology*, 9(7), 1895-1908.
- Shirling, E. R. & Gottlieb, D. (1966). Methods of characterization of *Streptomyces* species. *International journal of systematic bacteriology*, 16(3), 313-340.
- Spear, L., Gaallagher, J., McHale, L., & McHale, A. P. (1993). Production of cellulase and β -glucosidase activities following growth of *Streptomyces hygroscopicus* on cellulose containing media. *Biotechnology Letters*, 15(12), 1265-1268.
- Whitman, W., Goodfellow, M., Kämpfer, P., Busse, H.-J., Trujillo, M., & Ludwig, W., et. al. (2012) *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology: Volume 5, second ed.* Springer New York, Dordrecht Heidelberg, London.
- Wright, L. F., & Hopwood, D. A. (1976). Actinorhodin is a chromosomally determined antibiotic in *Streptomyces coelicolor* A3(2). *Journal of General Microbiology*, 96(2), 289 - 297.

Received 23 March 2016;

1st Revised 19 October 2016;

Accepted 19 October 2016