

린회토분해균의 몇가지 물질생성특성

소명철, 리재모

위대한 령도자 김정일동지께서는 다음과 같이 지적하시였다.

《우리는 여러가지 미생물비료와 유기질비료의 생산을 빨리 높이고 그 효과성을 백방으로 높여 농사에 널리 리용하면서 화학비료의 시비량을 점차적으로 줄이도록 하여야 합니다.》(《김정일선집》 제21권 증보판 461페이지)

린회토분해용종균인 린회토분해균중에는 *Serratia marcescens*-828, *Bacillus macerans*-827도 있다.[1, 2] 린회토유기광물질비료의 질을 높이고 토양영양계를 개선하는데 린회토분해균을 리용한 연구결과들은 많이 발표[1, 2, 4-7]되었지만 그 효과성의 기초로 되는 린회토분해균의 물질생성특성에 대한 연구는 적게 진행되었다.

우리는 린회토분해균비료의 효과성을 과학기술적으로 담보하며 그 기초를 해명하기 위하여 린회토분해균의 몇가지 물질생성특성들을 밝혔다.

재료 및 방법

린회토분해균의 유기산생성과 색소발현특성을 밝히기 위하여 리용한 배지들의 조성은 다음과 같다.

배지 1: 포도당 1%, 펩톤 1%, 호모엑스 0.5%, K_2HPO_4 0.1%.

배지 2: 포도당 1%, 아스파라긴 0.1%, 린회토 1%.

배지 3: LB배지(펩톤 1%, 호모엑스 0.5%, 포도당 1%).

감자우림액배지: 감자 200g을 잘게 썰어 30min간 끓인 후 거른액의 총체적을 1L로 맞추었다.

6% 버짚엑스배지: 마른 버짚을 물에 6%되게 두고 30min간 끓이는 방법으로 만들었다.

린회토분해균이 생성분비하는 유기산의 정성 및 정량은 고속액체크로마토그래프(장치: 《Agilent 1100》, 탭: 《Zorbax SB-C18》, 이동상: 메타놀 : 물 : 0.1% 린산용액(pH 2.1)(2 : 38 : 60), 류출속도: 0.4mL/min, 탭온도: 45°C, 검출기: 굴절률검출기(RID), 시료주입량: 20μm)와 기체크로마토그래프(장치: 《GC-FID》, 분리탭: SE-54모세관탭, 수송기체: 질소, 탭류속: 1.65mL/min, 초기주입구압력: 100kPa, 검출기: 불꽃이온화검출기, 온도: 주입구-300°C, 검출기-300°C, 분리탭-280°C)를 리용하여 분석하였다.

린회토분해균이 생성분비하는 색소물질에 대한 분석은 선행연구[11-14]에 기초하여 가시선스펙트럼분석법(자외-가시선분광광도계 《UV-265》(Shimadzu))으로 진행하였다.

결과 및 고찰

1) 린회토분해균의 색소생성특성

린회토분해균 *Serratia marcescens*-828과 *Bacillus macerans*-827은 배양과정에 각각 붉은

색색소와 황색색소를 분비한다.

Serratia marcescens-828가 분비하는 색소는 물에 풀리지 않는 붉은색색소이다. 이 붉은색색소와 황색색소는 린회토분해균의 특이색소로서 해당한 미생물들에 대한 알림색소로 리용할수 있다고 볼수 있다.

Serratia marcescens-828의 붉은색색소와 *Bacillus macerans*-827의 황색색소생성에는 배지의 조성, pH, 온도 등 여러가지 요인들이 영향을 미친다.

색소생성세기는 무엇보다도 배지의 종류에 따라 서로 다르게 나타났다.(그림 1)

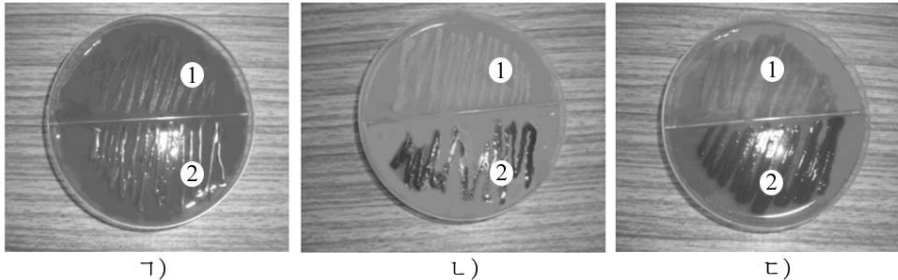


그림 1. 각이한 배지에서 색소발현특성

ㄱ) LB배지, ㄴ) 감자우림액배지, ㄷ) 6% 버짚엑스배지;

1-*Bacillus macerans*-827, 2-*Serratia marcescens*-828;

배양온도 28~30°C, 배양시간 72h

그림 1에서 보는바와 같이 각이한 배지에서 *Serratia marcescens*-828의 붉은색색소는 버짚엑스배지>감자우림액배지>LB배지순서로 세게 나타났으며 *Bacillus macerans*-827의 황색색소도 붉은색색소에서와 마찬가지로 버짚엑스배지>감자우림액배지>LB배지순서로 세게 나타났다.

린회토분해균의 색소생성세기는 배양온도에 따라서도 서로 다르게 나타났다.(그림 2)

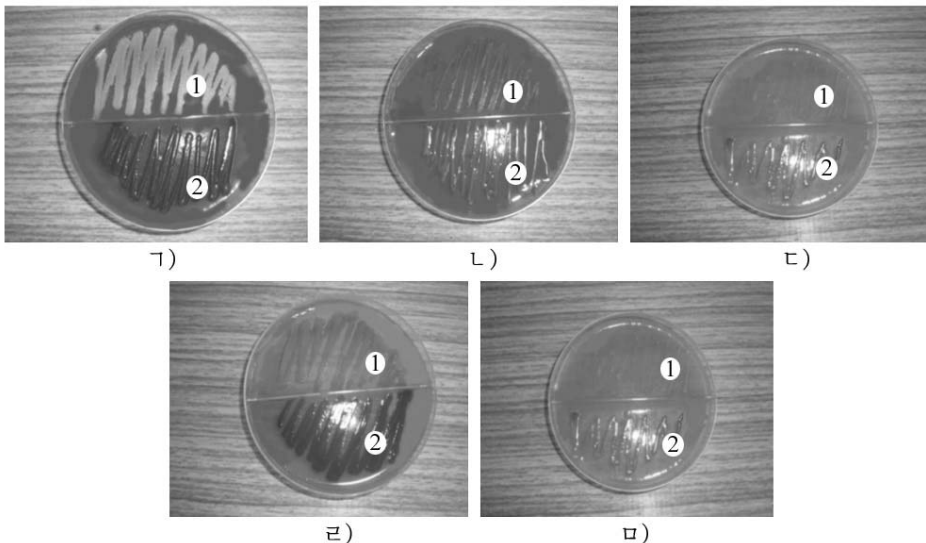


그림 2. 각이한 배양온도에서의 색소발현특성

ㄱ) (5±2)°C, ㄴ) (10±2)°C, ㄷ) (20±2)°C, ㄹ) (30±2)°C, ㅁ) (40±2)°C;

1-*Bacillus macerans*-827, 2-*Serratia marcescens*-828

그림 2에서 보는바와 같이 린회토분해균이 분비하는 색소들은 $(30 \pm 2)^{\circ}\text{C}$ 에서 가장 세게 나타났다.

린회토분해균의 2차대사산물인 붉은색색소가 어떤 부류에 속하는 물질인가를 확정하기 위하여 가시선스펙트르분석을 하였는데 그 결과는 그림 3과 같다.

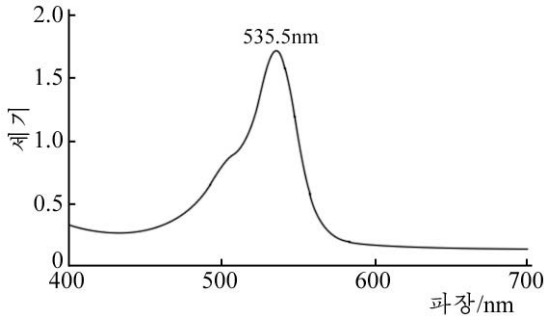


그림 3. *Serratia marcescens*-828이 생성분비하는 붉은색색소의 가시선스펙트르

그림 3에서 보는바와 같이 *Serratia marcescens*-828이 생성분비하는 붉은색색소의 최대흡수는 535.5nm의 파장에서 나타났는데 이것은 세균항생소로 알려진 프로디기오신류에 해당되는것이다.[11, 12]

린회토분해균이 벼와 강냉이, 감자를 비롯한 여러가지 농작물의 병원균들에 대하여 억균특성을 가지는것도 바로 린회토분해균의 빠른 성장특성과 함께 이러한 항생물질을 분비하는것과 관련된다.

2) 린회토분해균의 유기산생성특성

일반적으로 토양미생물들은 자기의 생존에 필요한 무기영양물질들 특히 중요한 영양원소의 하나인 린을 토양속에 들어있는 합린광물이나 불용성린화합물들을 가용화시켜 얻는데 이것은 미생물자체가 생성분비하는 무기산이나 유기산들에 의하여 실현된다.[2, 3, 6-10]

각이한 배지에 린회토분해균을 접종한 다음 배양(30°C , 진탕회전수 200r/min)시간에 따르는 배지의 pH변화를 측정한 결과는 그림 4와 같다.

그림 4에서 보는바와 같이 수용성린산이 포함된 배지 1에서는 배양시간 6h후부터 18h사이에 배지의 pH가 약간 낮아졌다가 그후부터는 pH 8까지 완만하게 높아지는 경향성을 나타냈다. 그러나 수용성린산이 들어있지 않는 배지 3에서는 배양시간 6h후부터 30h까지 기간에 pH가 2.5까지 떨어졌으며 그후 42h까지 그대로 유지되었다.

마찬가지로 린원천으로서 린회토를 넣은 배지 2에서도 배양시간 42h까지 배지의 pH가 3까지 낮아졌다.

이와 같이 배양과정에 pH가 낮아지는 것은 배지에 접종한 린회토분해균에 의해 생성분비되는 산에 의한것으로 볼수 있다. 실제로 배지속에서 산의 존재를 입증하기 위하여 배지 3에서 린회토분해균을 30h동안 배양한 후의 총산도를 결정한 결과 *Serratia marcescens*-828의 경우에 0.5mg/mL, 혼합균의 경우에 0.85mg/mL였다.

고속액체크로마토그래프법을 리용하여 *Serratia marcescens*-828과 *Serratia marcescens*-828 + *Bacillus macerans*-827 혼합배양액의 유기산조성을 확인하였다.(그림 5, 6)

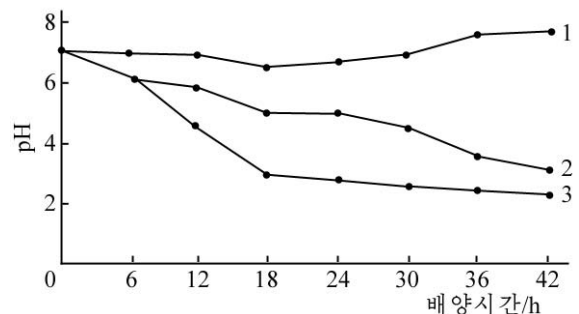


그림 4. 혼합균접종매 배지조성 및 시간에 따르는 배지의 pH변화

1-배지 1, 2-배지 2, 3-배지 3; *Serratia marcescens*-828 + *Bacillus macerans*-827접종

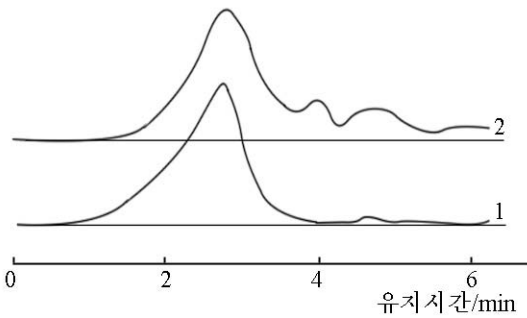


그림 5. *Serratia marcescens*-828배양액과

글루콘산표품의 HPLC그람

1-글루콘산표품, 2-*Serratia marcescens*-828배양액

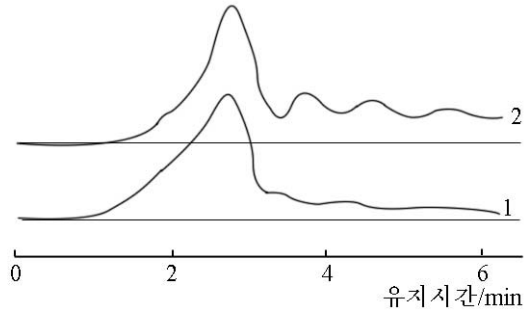


그림 6. 혼합균배양액과 글루콘산표품의 HPLC그람

1-글루콘산표품, 2-혼합균(*Serratia marcescens*-828 + *Bacillus macerans*-827)배양액

그림 5, 6에서 보는바와 같이 린회토분해균배양액에서는 크게 네가지 종류의 유기산들이 나타났는데 각각 66.17, 10.74, 8.69, 9.10%의 비율을 차지하고있었다. 유기산표품과의 비교를 통하여 주도적인 유기산은 글루콘산이라는것을 알수 있다.

배지의 종류에 따르는 유기산생성특성을 보기 위하여 각이한 배지우에서 린회토분해균의 개별적인 종균들을 30℃에서 48h동안 진탕배양한 다음 분석하였다.

린산용액(K_2HPO_4 0.1%)을 첨가한 배지 1과 첨가하지 않은 배지 3에서 자래운 *Serratia marcescens*-828배양물의 기체크로마토그래프분석결과는 그림 7과 같다.

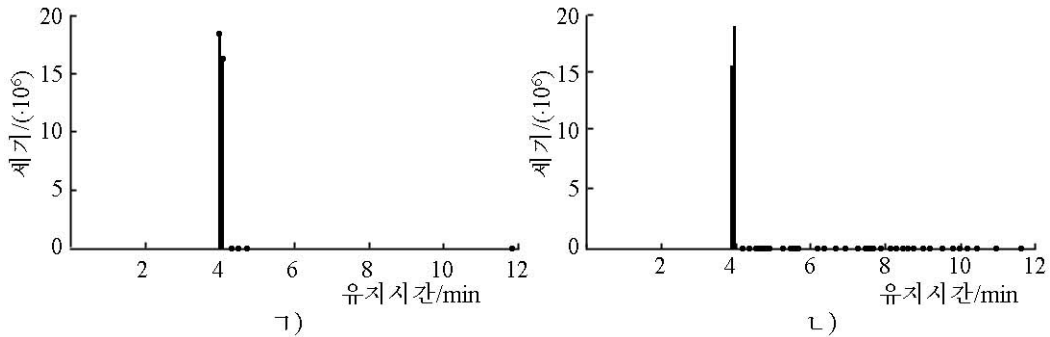


그림 7. *Serratia marcescens*-828 배양물의 기체크로마토그램

ㄱ) 린산이 첨가된 배지(배지 1), ㄴ) 린산이 첨가되지 않은 배지(배지 3)

그림 7에서 보는바와 같이 무기린산이온을 첨가한 배지 1에 비해 첨가하지 않은 배지 3에서 *Serratia marcescens*-828은 더 많은 종류의 유기산들을 생성분비하였다. 이것은 배양액속에 린산이온이 없는 조건에서 *Serratia marcescens*-828이 균생장과 물질합성에 필요한 린원천을 다른 물질들로부터 용해흡수하기 위하여 여러가지 유기산을 생성분비하는 것과 관련된다고 볼수 있다.

이러한것은 린원천으로서 풀립성이 낮은 린회토를 첨가하는 경우에도 유기산생성이 많아진다는 분석자료로부터 확증할수 있다.(그림 8)

린회토분해균의 다른 균종인 *Bacillus macerans*-827도 배양과정에 글루콘산을 비롯한 여러가지 유기산들을 분비한다.(그림 9)

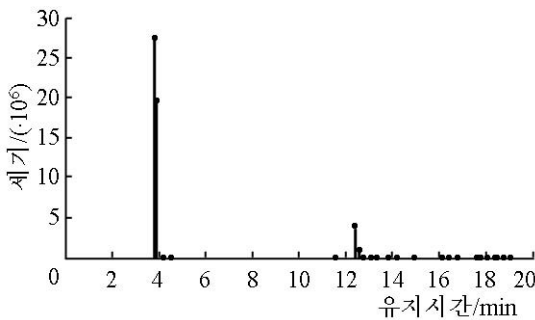


그림 8. 린회토를 첨가한 배지(배지 2)에서 *Serratia marcescens*-828의 유기산생성활성

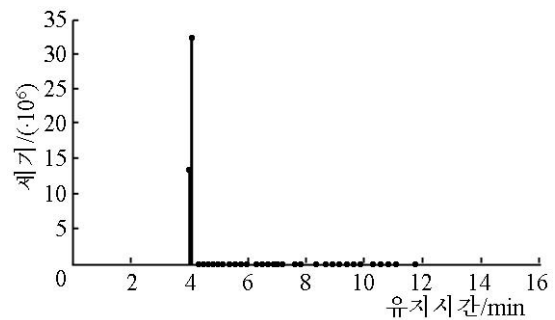


그림 9. 린회토를 첨가한 배지(배지 2)에서 *Bacillus macerans*-827의 유기산생성활성

한편 유기산표품들과 린회토분해균배양물의 기체크로마토그래프분석결과에 의하면 *Serratia marcescens*-828과 *Bacillus macerans*-827배양물에 들어있는 주요유기산은 글루콘산과 레몬산 등이었으며 그 함량을 보면 표와 같다.

표. 린회토분해균배양물의 유기산함량(mg/mL)			
균주	배지	글루콘산	레몬산
<i>Serratia marcescens</i> -828	배지 1	3.08	—
	배지 2	9.39	0.76
	배지 3	5.77	1.75
<i>Bacillus macerans</i> -827	배지 1	14.69	—
	배지 2	25.94	0.86
	배지 3	14.3	0.23

배양온도 30℃, 배양시간 48h

827종균들이 포도당수소메기효소의 작용에 영향을 받음을 증명하였다.

이와 같이 린회토분해균들인 *Serratia marcescens*-828과 *Bacillus macerans*-827은 생장 과정에 세균항생소와 함께 킬레트화능력이 매우 큰 글루콘산, 레몬산을 비롯한 여러가지 유기산들을 생성분비하는것으로 하여 린회토유기광물질비료의 종균으로서뿐만아니라 그 자체로서도 토양의 난용성린을 가용화시킬수 있는 미생물접종제로 리용할수 있다.

맺 는 말

1) 린회토분해균 *Serratia marcescens*-828과 *Bacillus macerans*-827은 배양과정에 각각 물에 풀리지 않는 붉은색색소와 황색색소를 분비하는데 색소생성세기는 버짚엑스배지>감자우림엑스배지>LB배지순서로, 온도 (30±2)℃ 조건에서 가장 세게 나타난다.

2) *Serratia marcescens*-828가 생성분비하는 붉은색색소는 세균항생소로 알려진 프로디기오신류(최대흡수파장 535.5nm)이다.

3) 린회토분해균은 생장과정에 글루콘산(주도적인 유기산), 레몬산을 비롯한 여러가지 유기산들을 생성분비하며 글루콘산생성량은 린원천을 첨가하지 않거나 풀림성이 낮은 린원천(린회토)을 첨가한 경우에 수용성린산을 첨가한 경우보다 1.8~3배이상 높다.

참 고 문 헌

- [1] 김일성종합대학학보(자연과학), 52, 2, 115, 주체95(2006).
- [2] 김일성종합대학학보(자연과학), 50, 1, 137, 주체93(2004).
- [3] 김일성종합대학학보(자연과학), 38, 2, 85, 1992.
- [4] 김일성종합대학학보(자연과학), 52, 3, 110, 주체95(2006).
- [5] 리선득 등; 전국대학교원과학토론회논문집(생물 화학 지리), 김일성종합대학출판사, 105~108, 주체94(2005).
- [6] 리재모 등; 전국대학교원과학토론회논문집(생물 화학 지리), 김일성종합대학출판사, 108~110, 주체94(2005).
- [7] 리재모; 기술혁신, 1, 7, 주체97(2008).
- [8] 허장춘; 농업과학기술, 12, 32, 1996.
- [9] F. Selles et al.; Soil Soc. Am. J., 59, 140, 1995.
- [10] A. C. Gaur; Phosphate Solubilizing Microorganisms as Biofertilizer, Omega Science Publisher, 142~147, 1990.
- [11] Anita Khanafari et al.; Journal of Biological Sciences, 6, 1, 1, 2006.
- [12] W. C. de A. Helvia et al.; Molecules, 15, 6931, 2010.
- [13] N. Sundaramoorthy et al.; Indian Journal of Science and Technology, 2, 10, 2009.
- [14] R. A. M. Ekhael et al.; J. Duhok Univ., 12, 1, 268, 2009.

주체103(2014)년 4월 5일 원고접수

Some Material Generating Properties of Phosphorus Solublizing Bacteria

So Myong Chol, Ri Jae Mo

The strains (*Serratia marcescens*-828 and *Bacillus macerans*-827) secrete water-insoluble red and yellow pigments respectively during cultivation. The production of pigment appears greatly in order of rice straw extract medium, potato extract medium and LB medium, and in the temperature of $(30 \pm 2)^{\circ}\text{C}$.

The red pigment generated by *Serratia marcescens*-828 is prodigiosines (its maximum absorption wavelength is 535.5nm) known as antibiotic substance.

The strains generate and secrete various organic acids including gluconic acid and citric acid during cultivation. The generation of gluconic acid is 1.8~3 times as high when no source of phosphorus is added or low soluble phosphorous materials(weathered phosphorite) are added, than in case of that water soluble phosphatic acid was added.

Key words: *Serratia marcescens*, *Bacillus macerans*, phosphorus solubilizing bacteria, prodigiosine, gluconic acid