

Thiobacillus와 종속영양 미생물의 상호작용에 대하여

이 서 금

서울대학교 자연과학대학 미생물학과

서 론

미생물을 이용한 광물의 제련(microbial leaching)은 미생물의 몇 가지 기전에 의해 광물성 sulfide를 산화시킴으로써 금속을 수용화시키는 과정이다. 이 방법은 현재는 구리나 우라늄 제련에 이용되고 있으며 광물질에 금속의 함량이 낮을 때 재래적 화학적 처리로 제련하는 것에 비해 훨씬 경제적이므로 앞으로의 자원획득문제에 기술적 및 생태적 중요성을 갖고 있다.

pH 2~3 용액에서 일어나는 이 과정에 가장 중요한 미생물은 *Thiobacillus ferrooxidans*와 *Thiobacillus thiooxidans*로 산화제로 작용하는 Fe^{3+} 는 *T. ferrooxidans*에 의해 생성되며 *T. thiooxidans*는 황을 산화하여 광석에서 황의 피막을 제거해주고 용액을 낮은 산도로 유지시킴으로 광물의 산화를 촉진한다 (1).

*Thiobacilli*를 leaching시 최적상태에서 이용하여 자연보호를 위해 생태계에서의 *Thiobacilli*의 역할을 더 알기 위해서 여러 biotope에서의 미생물의 분포 및 혼합배양에 의한 leaching 활성화 등에 대한 연구가 필요하다. 금속정련시 *Thiobacilli*와 종속영양 미생물의 상호작용에 대한 연구는 Tsuchiya(2)가 *T. ferrooxidans*와 *Beijerinckia lacticogenes*의 mutualism을 연구함으로써 시작되었다.

본 연구에서는 호산성의 *Thiobacilli*와 같은 biotope에 생존하는 종속영양미생물을 분리한 후 혼합배양을 통해 *Thiobacilli*의 일차 생산자로서의 역할 및 이 때 생성된 유기물의 영향 및 종속영양 미생물이 *Thiobacilli*에 미치는 영향에 대해 조사하고자 하였다.

1. 균주의 분리 및 동정

여러 biotope(주로 광산, 산성의 폐수 등)에서 채취한 35개의 시료에서 *T. thiooxidans* 10주, *T.*

ferrooxidans 12주, 종속영양 세균 7주, 진균 46주를 순수분리하였다. *Thiobacilli*의 동정은 Hutchinson 등(3) 및 Kuenen 등(4)에 따라 행하였다. *T. ferrooxidans*는 Guay(5), Shafia(6)에 의한 adaptation culture를 한 결과 모두 chemolithoautotroph로 밝혀졌다. *Thiobacilli*의 생장 및 에너지 대사를 증가시킬 수 있는 종속영양 균주를 일부 동정한 바(7-9) *Beijerinckia*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Leucosporidium*, *Trichosporon*, *Sporendonema*, *Rhodotorula*로 밝혀졌다.

2. 종속영양 미생물과의 혼합배양에 의한 *Thiobacilli*의 생장증가

*Thiobacilli*의 최적배양조건을 얻기 위해 종속영양 미생물의 *Thiobacilli*에 미치는 영향을 조사하였다. 무기염 배지에서 혼합배양한 결과 *T. thiooxidans*와 종속영양 미생물의 583개의 조합 중 76개의 혼합 배양에서 산의 생성 및 *Thiobacilli*의 생장이 순수 배양 때보다 크게 증가되었다(예, Fig. 1).

689개의 *T. ferrooxidans*의 혼합배양에서는 뚜렷한 생장증가를 발견할 수 없었다.

3. *Thiobacilli*의 종속영양 미생물에 대한 영향

C-종속영양 미생물이 *Thiobacilli*가 생성한 유기물로 충분히 자랄 수 있는가를 알아보기 위해 *Thiobacilli*의 순수배양 여과액을 배양액으로 사용하였다. 분리해낸 세균 7주 중 3주 및 진균 46주 중 14주는 이 배양액에서 잘 자랐다. 이에 비해 다른 biotope에서 분리해낸 실험실에서 흔히 사용되는 균주 13주를 배양한 결과 12주는 자랄 수가 없었다. 이로써 *Thiobacilli*는 같은 biotope에서 분리해낸 종속영양 미생물이 이용하여 생장할 수 있는 유기물을 생산함을 알 수 있다.

4. 종속영양 미생물에 의한 *Thiobacilli*의 활성화의 원인

이 활성화의 원인이 위 2와 3의 결과로 미루어 보아 생장을 저하시키는 유기물의 제거에 기인한다

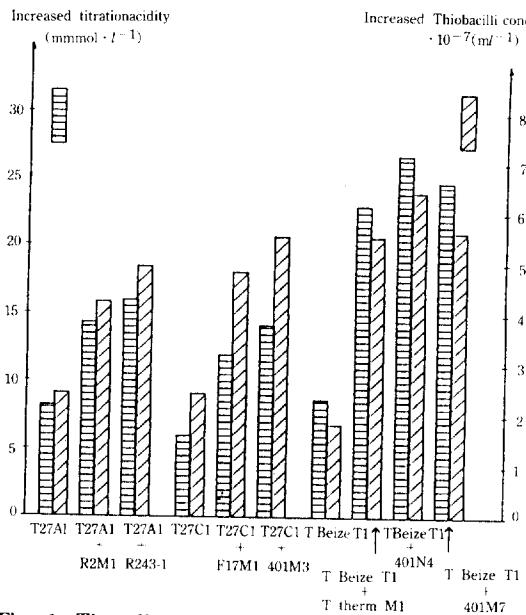


Fig. 1. The effect of heterotrophs on the energymetabolism and the growth of *T. thiooxidans* strain T27A1, T27C1, T Beize T1
Culturemedium : Sulfur-Mineral-Salt-Medium
Incubation : 7d, 30c, aerob.

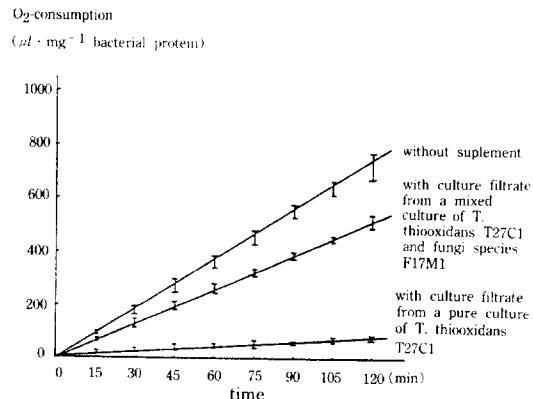


Fig. 2. O_2 -consumption at the thiosulfate-oxidation by *T. thiooxidans* T27C1

고 측정할 수 있다. 따라서 어떠한 종속영양 미생물이 Thiobacilli의 생장을 저해하는 유기물을 이용하여 잘 자랄 수 있으며, 혼합배양을 통하여 이런 유기물의 저해가 감소됨으로써 Thiobacilli의 생장이 증가될 수 있는가를 조사하였다.

Fig. 2에서 보는 바와 같이 순수배양한 *T. thiooxidans*의 배양여과액과 *T. thiooxidans*의 생장을 증가시킨 종속영양 미생물과 혼합배양한 배양여과액의

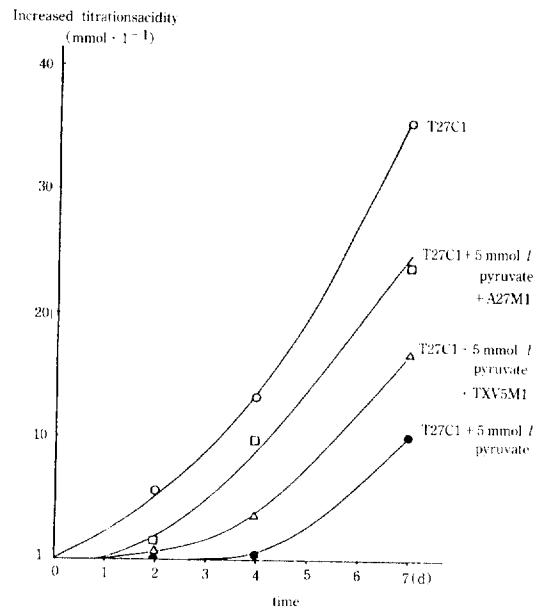


Fig. 3. Sulfur-oxidation in culture of *T. thiooxidans* T27C1.

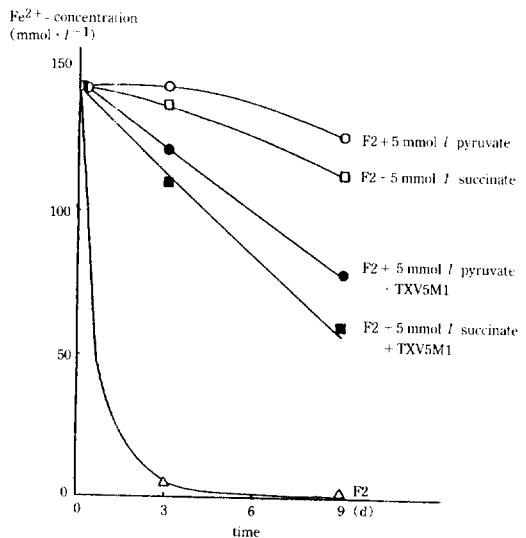


Fig. 4. Fe^{2+} -oxidation by *T. ferrooxidans* F2

*T. thiooxidans*에 대한 영향을 Warburg 방법으로 QO_2 를 비교한 결과 순수배양의 여과액이 혼합배양의 여과액보다 Thiobacilli의 에너지원인 thiosulfate의 산화속도를 감소시켰다.

Thiobacilli가 여러 유기물에 의해 저해를 받는다는 것이 밝혀졌는데(10-12) 분리된 Thiobacilli 군주도 여러 가지 유기산(acetate, pyruvate, succinate

등 $5 \text{ mmol} \cdot l^{-1}$)에 의해 생장이 저해되었다. 그러나 혼합배양할 경우 몇몇의 종속영양 미생물에 의해서 이 유기산에 의한 생장저해가 순수배양 때보다 훨씬 감소되었다(Fig. 3, 4).

결 론

Chemolithotroph인 *Thiobacilli*는 같은 biotope의 종속영향 미생물의 성장에 필요한 유기물을 생성하는 일차 생산자로 증명되었다. *Thiobacilli*와 종속영향 미생물의 혼합배양의 이점의 원인은 종속영향 미생물이 이 유기물을 분해 제거함으로써 이 유기물이 *Thiobacilli*의 대사 및 생장을 저해시키는 것을 감소할 수 있기 때문이다. 따라서 *Thiobacilli*와 종속영향 미생물 사이에는 mutualism^o 존재하며 이러한 상호작용이 자연상태의 biotope에도 존재한다고 측정할 수 있다.

참고문헌

1. Bösecker, K.(1984) Mikrobielle Laugung(Leaching) Handbuch der Biotechnologie, Ed : Präve, P., Faust, U., Sittig, W., Sukatsch, D.A., Oldenbourg Verlag, München, 535-555.
2. Tsuchiya, H.M., Triverdi, N.C., Schuler, M.L., (1974) Microbial mutualism in ore leaching. *Biotech. Bioengin.* **16**, 991-995.
3. Hutchinson, M., Johnstone, K.I., White, D.(1969) Taxonomy of the genus *Thiobacillus*: the outcome of numerical taxonomy applied to the group as a whole. *J. Gen. Microbiol.* **57**, 397-410.
4. Kuennen, J.G., Tuovenin, O.H.(1981) The genera *Thiobacillus* and *Thiomicrospora* in : The Prokaryotes, Section k : The obligately chemo-
- lithotrophic bacteria, Ed. : Starr, M.P., Stolp, M., Trüper, H.G., Balows, A., Schlegel, H.G., Springer Verlag, New York, Heidelberg 1023-1036.
5. Guay, R., Silver, M.(1975) *Thiobacillus acidophilus* sp. nov. : isolation and some physiological characteristics. *Can. J. Microbiol.* **21**, 281-288.
6. Shafiq, F., Brinson, K.R., Heinzman, M.W., Brady, J.M.(1972) Transition of chemolithotroph *Ferrobacillus ferrooxidans* to obligate organotrophy and metabolic capabilities of glucose-grown cells. *J. Bacteriol.* **111**, 56-65.
7. Buchanan, R.E., Gibbons, N.E.(1974) Bergeys manual of determinative bacteriology 8th Ed. The Williams et Wilkins Company, Baltimore.
8. Beech, F.W., Davenport, R.R., Goswell, R.W., Burnett, J.U.(1968) Two simplified schemes for identification yeast cultures in : Identification Methods for Microbiologists, Part B., Ed. : B.M. Gibbs, D.A. Shapton, Academic Press, New York, London, 151-175.
9. Barnett, J.A., Payne, R.W., Yarrow, P.A.(1979) A guide to identifying and classifying yeasts, Cambridge University Press, Cambridge, London, New York, Melbourne.
10. Borichewski, R.M.(1967) Keto acids as growth-limiting factors in autotrophic growth of *T. thiooxidans*. *J. Bacteriol.* **93**, 597-599.
11. Buttler, R.G., Umbreit, W.W.(1966) Absorption and utilization of organic matter by the strict autotroph *T. thiooxidans*, with special reference to aspartic acid. *J. Bacteriol.* **91**, 661-666.
12. Tuttle, J.H., Dugan, P.R.(1976) Inhibition of growth, iron, and sulfur oxidation in *Thiobacillus ferrooxidans* by simple organic compounds. *Can. J. Microbiol.* **22**, 719-730.