

## *Serratia marcescens* Strain P 성장에 미치는 중금속 내성

유관희 · 이호용\*  
상지대학교 생물학과

### Resistance of Some Metal Ions on Growth of *Serratia marcescens* Strain P

Yoo, K. H. and H. Y. Lee\*

Dept. of Biology, Sang-Ji University, Wonju 220-702, Korea

**Abstract**— The resistant effect of several heavy metal ions to *Serratia marcescens* strain P was studied by the method of minimal inhibitory concentration(MIC), and testing for their metal biosorption. *S. marcescens* strain P showed a good survival in the presence of high concentrations of some metal ions, namely cadmium, lead, iron, magnesium, and manganese. Copper had the most inhibitory effect among tested. The MIC value was ranged from 0.79 to 1.58 mM. Cells of *S. marcescens* strain P exhibit an abnormally long lag phase when incubated in high concentrations of zinc and cadmium. Pigment production was reduced by zinc and cadmium, but enhanced by lead and iron. *S. marcescens* strain P was resistant to ampicillin, tetracycline, cefamandole and chloramphenicol with minimal inhibitory concentration of 128 µg/ml, 32 µg/ml, 256 µg/ml, and 8 µg/ml, respectively. The kinetics study of biosorptive uptake by *S. marcescens* strain P revealed that 16.59% of cadmium and 35.38% of lead were eliminated from the media.

중금속은 공장 폐수를 비롯한 광범위한 환경에 오염되어 있으며 거의 대부분의 생물들에 대해 독성 물질로 작용한다. 중금속은 밀도가 5보다 큰 원소로서 약 40종이 존재하며 그중 일부는 생물체에 미량씩 필수 원소로 작용하기도 하나 일부 중금속, 특히 수은과 카드뮴 등은 생물체에 필요하지 않을 뿐 아니라 저농도에서도 미생물들에 대해 매우 큰 독성을 나타내고 있다(1-3).

이러한 중금속의 제거를 위한 방법 중 생물체를 이용하는 방법은 근래에 들어 관심이 높아지고 있다. 생물체를 이용한 중금속 제거의 장점으로는 2차 오염을 최소한으로 줄일 수 있으며 필요한 원소의 신속한 회수 및 다양한 종류의 중금속을 동시에 제거할 수 있는 등이며, 아울러 폐수의 일부 유기물 제거에 이르기까지 그 실용 방안이 매우 크다고 할 수 있다(4-7).

**Key words:** Heavy metal, antibiotics, MIC, biosorbant, *Serratia marcescens* strain P

\*Corresponding author

*Serratia marcescens*는 *Enterobacteriaceae*에 속하는 그람 음성균의 장내 세균으로서 prodigiosin이라는 붉은색 색소를 형성하는 특징이 있으며 항생제에 대한 내성 유전자를 지닌 plasmid를 다양하게 갖고 있는 것으로 알려져 있다(8, 9). 일반적으로 중금속 내성 유전자는 항생제 내성을 지닌 plasmid와 밀접한 관계가 있음으로(10, 11) 본 균주 역시 중금속 내성 능력을 갖고 있을 것으로 가정하였다.

특히 *Serratia marcescens*를 대상으로 중금속에 대한 실험을 한 경우는 거의 없으며 일부의 경우 *Serratia marcescens*에서 생성되는 색소인 prodigiosin 생성에 미치는 영향에 대한 연구가 일부 있을 뿐이다(12-15).

본 실험의 목적은 중금속들이 *S. marcescens* strain P의 생물학적 기능에 어떠한 영향을 미치며 그 내성의 정도는 어떠한지 조사하여 본 균주가 앞으로 환경에서 중금속을 제거할 수 있는 생물학적 제거제로서의 사용 가능성을 알아보는 데 있으며, 아울러 항생제에 대한 감수성을 조사함으로써 항생제 내성과

중금속 내성과의 관계도 알아보고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 사용균주 및 배지

본 실험에 사용된 균주인 *S. marcescens* strain P는 한양대학교 생물학과 최영길 교수로부터 분주받아 사용하였으며 이 균주의 성장 및 생리적 특징은 비교적 많이 연구되어 있다(16-18). 배지로는 Luria-Bertani(LB)를 사용하였으며, 그 조성은 tryptone 10 g, yeast extract 5 g, NaCl 10 g, D.W. 1l로 하여 pH를 7.0으로 조절하였다. 균체의 성장은 30°C의 shaking incubator에서 100 rpm의 속도로 6시간 전배양하여 사용하였으며, 중금속 처리시 언제나 대조군에서 3회 전배양하였다. 접종량은 접종시 600 nm에서 흡광도 0.01~0.05 사이가 되게 조절하였다.

### 시약

중금속 처리를 위한 시약들로는 cadmium chloride, lead nitrate, iron sulfate, magnesium sulfate, zinc sulfate, manganese sulfate, copper sulfate로 Wako Co.의 특급 시약을 사용하였으며, 배지 조성에 필요한 시약은 Difco Co.로부터 구입하였다.

### 중금속에 대한 최소억제농도 측정

여러 종류의 중금속들에 대한 생존 능력을 알아보기 위하여 최소억제농도(MIC) 방법을 사용하였다. LB배지에 두배씩의 연속 농도 조절 방법으로 중금속들을 처리한 후 균주를 30°C에서 배양하여 관찰하였다. 배양은 액체 배지와 한천 고체 배지 두가지를 사용하였다. 액체 배양은 100 ml Erlenmeyer flask에 각각 25 ml의 배양액을 넣고 각 처리 농도당 세 개씩 배양하였다.

처리 중금속의 농도는 중금속 자체의 parts per million(ppm) 농도를 기준으로 적용하였으며 25 ppm 농도부터 두 배씩 적용하였다. 성장 관찰은 110시간까지 24시간 간격으로 조사하였으며, 성장의 확인은 눈에 의한 colony 관찰과 분광 광도계를 통한 탁도로 관찰하였고, 분광 광도계에 의한 관찰은 600 nm에서의 흡광도가 접종 균체수보다 10배 이상 증가하면 성장한 것으로 판단하였다.

### 항생제 내성검사와 항생제에 대한 최소억제농도 측정

*S. marcescens* strain P의 중금속 노출에 따른 항생제에 대한 내성 변화를 알아보기 위하여 카드뮴과 납 300 ppm에서 6시간 내지 10시간 배양한 세균을 amikacin, ampicillin, aztreonam, cefamandole, ceftazidime, ceftriaxone, cephalothin, chloramphenicol, gentamycin, ofloxacin, piperacillin, tetracycline, ticarcillin, tobramycin, trimethoprim-sulfamethoxazole 등의 15가지 항생제들을 대상으로 조사하였다. 조사 방법은 National Committee for Clinical Laboratory Standards(NCCLS) 권장 방법에 따라 디스크 확산법(19)과 한천 희석법(20)을 병행하여 시험하였다. 항생제 내성의 판단은 디스크 확산의 경우 억제환의 직경을 자로재어 그 직경이 15 mm 이하의 디스크 확산을 내성균주로 판단하였다.

내성 항생제에 대한 최소억제농도(MIC) 측정은 한천 희석법 감수성 시험방법으로 조사하였다. 한천 희석법 감수성 검사는 Muller-Hinton medium(Difco)에 항생제를 넣어서 각 구간별 항생제 배지를 만들었다. 시험 세균을 tryptic soy broth(Difco)에 접종하여 배양한 후 McGaigland nephelometer의 제 0.5 관의 탁도에 맞춘 다음 Steers replicator(Craft Machine Inc.)를 이용하여 배지에 접종하였다. 접종된 배지를 35°C 항온기에 18시간 배양한 후에 규정된 방법에 따라서 최소억제농도를 판독하였다. 감수성 검사의 정도 관리를 위해서 표준균주 *E. coli* ATCC 25922를 동시에 시험하였다. 항생제 내성검사에 사용된 항생제들은 항생제 감수 시험용 평판배지를 만들때까지 규정된 용제에 녹여 -20°C에 냉동 보관하였다.

### 중금속 흡착에 대한 원자 흡광 분석

카드뮴과 납을 각각 100, 300 ppm 농도로 처리하여 30°C에서 12시간 배양한 후 원심분리기로 균을 수확하였다(5,000 rpm, 30 min, 4°C). 수확된 균체를 0.01 M Tris-HCl, pH 7.0 buffer로 3회 씻어 묻어있는 배양액을 제거하였다. 수확된 시료와 blank에 진한 질산을 가하여 24시간 방치한 후 마르기 직전까지 끓인다. 진한 질산 5 ml를 가하고 약 5 ml가 남을 때까지 다시 끓이며 50 ml volumetric flask에서 여과하여 증류수로 총량이 50 ml되게 맞추어 원자 흡광 분석 시료로 사용하였다. 분석 시료는 3회 추출하여 각 4회 측정하였다. 분석은 Varian Spectra 30을 이용하여 air-acetylene 연소 기체를 이용하여 측정하였다.

## 결과 및 고찰

### 균체 성장에 미치는 중금속의 영향

*S. marcescens* strain P의 성장에 미치는 중금속들의 영향을 최소억제농도 측정 방법으로 24시간과 48시간 배양 후 성장을 조사한 결과는 Table 1, 2와 같다. 이때 고체 배양과 액체 배양의 배양 방법에 따른 차이는 거의 없었다.

결과에서 나타났듯이 본 균주는 처리한 거의 모든 중금속들에 대해 비교적 높은 저항성을 갖고 있었으며, 따라서 생물학적 오염원 제거제로서 유용한 균주로 판단되었다. 각 중금속에 대한 최소억제농도는 *S. marcescens*에 대한 기준에 밝혀진 결과와 비교해 매우 높아(13, 14) 새로운 방향을 제시할 수 있었다.

중금속 중 구리와 아연에서 제일 심한 저해현상을 보였으며 카드뮴에서 약간의 저해 현상을 보였다. 아연과 카드뮴 처리시 24시간 처리군에 비해 48시간 처리군에서 MIC농도가 두 배 높아짐을 볼 수 있는데 이는 고농도의 중금속 처리군에서 균체 성장의 적응기가 길어지기 때문으로 판단되며, 또한 카드뮴 처리군에서 48시간 배양시까지는 색소형성이 관찰되지 않았으나 110시간 배양시에는 일부 저농도 처리군에서 색소형성이 나타나 이들 중금속들이 본 균주의 1차 대사과정을 저해시키고 있음을 알았다. 이러한 결과는 금속 이온들이 세포막 부근에서 복합체를 형성하기 때문에 일차적으로 세포막의 형태적, 기능적 변화를 유도하며(1, 21), 이차적으로는 세포의 분열현상이나 세포 자체에 타격을 줌으로 성장하는 동안 계속하여 세포의 원상회복 기능이 일어나기 때문으로 추정된다(15, 22). 몇가지 금속들은 많은 효소들의 cofactor로

작용하고 있는데, 처리된 중금속들이 세포내에 들어가 이들 금속들과 서로 교환됨으로 효소들이 불활성되거나 활성도가 떨어지므로 세포 성장에 영향을 줄 가능성도 있을 것으로 판단된다.

세포의 중금속 독성에 대한 일차적 반응은 세포의 막의 ionogenic(음이온) 물질과 금속 이온을 결합시켜 비이온화 결합물을 생성하는 것이다(1). 중금속의 독성 정도는 공유 결합력의 크기와 비례한다고 알려져 있는데(13), 이러한 결과에 따르면 chromium, manganese, iron들에 비해 cobalt, nickel, copper, zinc들이 세포의 성장에 더 큰 저해를 보인다. 본 실험의 결과 처리 중금속들을 대상으로 조사해 보면 이러한 가정과 일치함을 알 수 있었다.

또한 납과 철 처리군에서는 색소의 형성이 20~30% 증가하였는데(결과 생략), 이러한 결과는 3가 철 실험을 통해 이미 발표된 바 있으며(15, 23, 24) 저자들은 철이 균체의 최고 성장과 prodigiosin 생성에 필수적이기 때문이라고 밝힌바 있다. 그러나 일부 prodigiosin들이 세포막 또는 cell envelope를 뚫고 나와 수용성의 단백질-색소 결합을 세포벽 주위에서 형성할 가능성도 충분히 예상되었다.

### 항생제 감수성 검사와 최소억제농도 측정

카드뮴과 납 처리에 의한 항생제 내성의 변화는 발견되지 않았으나 cefamandole 경우 카드뮴 처리군에서 다른 실험군에 비해 더욱 성장이 저해되었다. Table 3에서 보듯이 amikacin, aztreonam, ceftazidime, ceftriaxone, chloramphenicol, gentamycin, ofloxacin, piperacillin, ticarcillin, tobramycin, trime-

Table 1. Effect of some metal ions on growth of *Serratia marcescens* strain P cultured for 24 hrs at 30°C in a rotary shaker

Metal ion	Minimal inhibitory concentrations
Cd <sup>2+</sup>	500 ppm, 815.0 µg/ml, 4.45 mM
Pb <sup>2+</sup>	1,000 ppm, 1,598.0 µg/ml, 4.80 mM
Fe <sup>2+</sup>	1,000 ppm, 2,720.1 µg/ml, 17.90 mM
Mg <sup>2+</sup>	1,000 ppm, 2,734.6 µg/ml, 41.14 mM
Cu <sup>2+</sup>	50 ppm, 125.2 µg/ml, 0.79 mM
Zn <sup>2+</sup>	500 ppm, 1,261.3 µg/ml, 7.72 mM
Mn <sup>2+</sup>	1,000 ppm, 2,750.2 µg/ml, 18.17 mM

Used metal salts were cadmium chloride, lead nitrate, iron sulfate, magnesium sulfate, copper sulfate, zinc sulfate and manganese sulfate.

Table 2. Effect of some metal ions on growth of *S. marcescens* strain P cultured for 48 hrs at 30°C in a rotary shaker

Metal ion	Minimal inhibitory concentrations
Cd <sup>2+</sup>	1,000 ppm, 1,630.0 µg/ml, 8.90 mM
Pb <sup>2+</sup>	1,000 ppm, 1,598.0 µg/ml, 4.80 mM
Fe <sup>2+</sup>	1,000 ppm, 2,720.1 µg/ml, 17.90 mM
Mg <sup>2+</sup>	1,000 ppm, 2,734.6 µg/ml, 41.14 mM
Cu <sup>2+</sup>	50 ppm, 125.2 µg/ml, 0.79 mM
Zn <sup>2+</sup>	1,000 ppm, 2,522.5 µg/ml, 15.44 mM
Mn <sup>2+</sup>	1,000 ppm, 2,750.2 µg/ml, 18.17 mM

Used metal salts were cadmium chloride, lead nitrate, iron sulfate, magnesium sulfate, copper sulfate, zinc sulfate and manganese sulfate.

**Table 3. Antibiotic resistance of *S. marcescens* strain P after treatment of lead and cadmium**

	ATZ	CAZ	Amp	Amk	Tic	Cep	CM	GM	TE	Tob	CRO	Cfm	Oxf	Pip	Co-Tr
Control	32	32	12	24	30	6	28	25	13	20	32	14	28	30	26
	S	S	R	S	S	R	S	S	R	S	S	R	S	S	S
Lead	32	32	12	24	28	6	26	25	12	18	30	15	30	28	26
	S	S	R	S	S	R	S	S	R	S	S	wS	S	S	S
Cadmium	32	32	10	24	28	6	28	24	13	18	30	6	26	30	26
	S	S	R	S	S	R	S	S	R	S	S	R	S	S	S

ATZ: aztreonam, CAZ: ceftazidime, Amp: ampicillin, Amk: amikacin, Tic: ticarcillin, Cep: cephalothin, CM: chloramphenicol, GM: gentamycin, TE: tetracycline, Tob: tobramycin, CRO: ceftriaxone, Cfm: cefamandole, Oxf: ofloxacin, PIP: piperacillin, Co-Tr: trimethoprim-sulfamethoxazole, S: sensitive, R: resistant, wS: weak sensitive, number means size of disk (mm). The organism was treated with lead (1.44 mM) and cadmium (2.67 mM) for 24 hrs at 30°C.

**Table 4. Minimal Inhibitory Concentrations(MIC) of the resistant antibiotics to *S. marcescens* strain P**

Antibiotics	Ampicillin	Tetracycline	Cefamandole	Chloramphenicol
MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )	128	32	256	8

MIC readings were taken after 18 hrs incubation at 35°C.

**Table 5. Cadmium and lead accumulation by *S. marcescens* strain P**

	Total weight of metal ions in 1l culture	Total accumulated metal ions	Total cell mass in 1l culture	Accumulated metal ions per g of cell wet weight
Cadmium	163.0 mg	27.04 mg	76.19 mg	354.9 $\mu\text{g}$
Lead	479.4 mg	169.61 mg	85.66 mg	1.98 mg

thoprim-sulfamethoxazole에 대해서는 민감한 저해를 보인 반면, ampicillin, cefamandole, cephalothin, tetracycline에 대해서는 내성을 나타내었다. 이러한 결과는 ampicillin, cephalothin, cefamandole, tetracycline 등 네가지 항생제에 대한 기존의 내성 결과(25, 8)들과 일치한 반면 chloramphenicol의 경우 다른 두 논문에서 모두 저항성을 보였다고 한 반면 본 실험 결과에서는 8  $\mu\text{g/ml}$ 의 최소억제농도를 나타내 본 균주가 chloramphenicol에 매우 민감함을 보여주는 특이성을 보였다. 저항성을 보이는 항생제 3종에 대한 최소억제농도를 측정된 결과는 Table 4와 같다.

#### 세포내 중금속 흡수

카드뮴과 납을 처리하여 12시간 배양한 후 중금속이 과연 세포내로 흡수되는지 atomic absorption spectrophotometer로 조사하여 본 결과(Table 5), 카드뮴 처리균의 경우 세포내로 흡수된 양이 wet weight 1 g당 354.9  $\mu\text{g}$ 이었으며 흡수율은 16.59%로 나타났다.

또한 납 처리균에서의 균체 wet weight 1 g당 납의 흡착은 1.98 mg, 세포내 흡수는 35.38%로 나타났다. 이러한 결과는 금속 이온의 크기에 따라 세포내 흡착능력이 달라진다는 Pighi(26)의 논문과 일치하였다. 또한 본 결과는 카드뮴 흡착에 관한 기존 논문들(7, 26, 27)에 비해 흡수율은 떨어지나 본 균주의 특성이 대다수 중금속들에 대해 고농도에서도 좋은 성장을 보이는 이점이 있으며, 중금속의 세포내 흡수를 위한 최적 조건이 맞춰지지 않은 상태에서 이루어진 결과임으로 그 흡수율이 더욱 높아질수 있으리라 판단하였다.

금속 이온들은 세균의 세포벽과 잘 결합한다. 그 이유는 세균 세포외벽의 매우 높은 음이온 극성이 양이온의 금속 이온들과 결합하기 때문이다. 작은 분자량을 갖는 이온들의 세포 외막 투과성은 일반적으로 외막내의 단백질 분자에 의해 영향을 받는다(28). Lutkenhaus(29)는 *Escherichia coli*의 구리 내성 균주에서 한 단백질이 없어짐을 확인하였다. 본 실험의



결과, 일부 금속 이온의 세포내 흡수는 확인하였으나 그 투과 기작과 세포내 동태는 더욱 연구되어야 할 것이다.

## 요 약

공장 폐수를 비롯한 중금속 오염 환경으로부터 효율적인 중금속 제거를 위해 생물학적 오염제거에 관한 연구가 많이 이루어지고 있다. 본 실험에서는 항생제 내성 유전자를 많이 가지고 있는 것으로 알려진 *Serratia marcescens*를 대상으로 이 균주가 중금속들에 대해 어떤 경향을 보이는지 조사하였다. 그 결과 lead, iron, magnesium, manganese 등의 처리군에서 24시간내에 1,000 ppm 이상의 고농도 처리군에서 최소억제성장농도(MIC)를 나타냈으며, cadmium에서는 600 ppm 처리군에서, 구리는 800 ppm의 처리군에서 MIC를 보였으며, 아연 처리군에서는 50 ppm에서 MIC를 나타냈다. 또한 48시간 배양에 따른 MIC 비교 결과, 중금속의 고농도 처리군에서 매우 긴 적응기를 갖는것으로 확인하였다. 15가지의 항생제를 대상으로 저항성을 조사한 결과, ampicillin, tetracycline, cefamandole, cephalothin에서 저항성을 보였으며 다른 *S. marcescens* 균주들에 비해 chloramphenicol에 대한 특이한 민감성을 보였다. 카드뮴과 납을 대상으로 중금속의 세포내 흡수를 조사한 결과 16.59%와 35.38%의 중금속이 세포내로 흡수되었음을 확인하였다.

## 참고문헌

1. Sommers, E. 1961. The fungitoxicity of metal ions. *Ann. Appl. Biol.* **49**: 246-253.
2. Bitton, G. and V. Griehofer. 1978. Influence of extracellular polysaccharide on the toxicity of copper and cadmium toward *Klebsiella aerogenes*. *Microbial Ecol.* **4**: 119-125.
3. Schreiber, D.R., A.S. Gordon, and F.J. Millero. 1985. The toxicity of copper to the marine bacterium *Vibrio alginolyticus*. *Can. J. Microbiol.* **31**: 83-87.
4. Tsezos, M. and B. Volesky. 1981. Biosorption of uranium and thorium. *Biotechnol. Bioeng.* **23**: 583-604.
5. Khummongkol, D., G.S. Canterford, and C. Fryer. 1982. Accumulation of heavy metals in unicellular algae. *Biotechnol. Bioeng.* **24**: 2643-2660.
6. Tsezos, M. 1984. Recovery of uranium from bio-

- logical adsorbents-desorption equilibrium. *Biotechnol. Bioeng.* **26**: 973-981.
7. Kuyucak, N., and B. Volesky. 1988. Biosorbents for recovery of metals from industrial solutions. *Biotechnol. Lett.* **10**: 137-142.
8. Gray, J., D. McGhie, and A.P. Ball. 1978. *Serratia marcescens*: a study of British isolates to antibacterial agents and the combinations. *J. Antimicrob. Chemother.* **4**: 551-559.
9. Qian, H.L., J.S. Feng, and J.C. Tsang. 1982. Pigments and antibiogram of transconjugants from nonpigmented mutants of *Serratia marcescens*. *Microbios* **33**: 101-110.
10. Mergeay, M., C. Houba, and J. Gerits. 1978. Extrachromosomal inheritance controlling resistance to cadmium, cobalt, and zinc ions: evidence from curing in a *Pseudomonas*. *Arch. Int. Physiol. Biochem.* **86**: 440-441.
11. Diels, L., and M. Mergeay. 1989. Large plasmids governing multiple resistance to heavy metals: a genetic approach. *Toxicol. Environ. Chem.* **23**: 79-89.
12. Wassermann, H.H., J.E. McKeon, L.A. Smith, and P. Forgionne. 1966. Studies of prodigiosin and the bipyrrrole precursor. *Tetrahedron* **8**: 647-662.
13. Furman, C., V.I. Owusu, and J.C. Tsang. 1984. Inhibitory effect of some transition metal ions on growth and pigment formation of *S. marcescens*. *Microbios* **40**: 45-51.
14. Michols, C.R., C.R. Furman and J.C. Tsang. 1984. Susceptibility of *Serratia marcescens* to several heavy metal ions. *Microbios Lett.* **26**: 43-47.
15. Lowe, J.A., Y.M. Chan, and J.C. Tsang. 1987. Investigation of biosynthesis of prodigiosin and its condensing enzyme in *Serratia marcescens*. 2: Effects of various transition metal ions. *Microbios* **51**: 71-80.
16. Ahn, T.S., Y.K. Choi and S.W. Hong. 1977. Studies on the microbial pigment. (I): The effects of environmental factors to the pigmentation. *Kor. J. Microbiol.* **15**: 159-169.
17. Ahn, T.S., B.R. Min and S.W. Hong. 1978. Studies on the microbial pigment (III): The effect of tyrosine. *Kor. J. Microbiol.* **16**: 16-20.
18. Lee, H.Y., H.B. Cho and Y.K. Choi. 1984. Studies on the microbial pigment (V): The effect of some detergent on pigment formation in *Serratia marcescens* strain P. *Kor. J. Microbiol.* **22**: 191-195.
19. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 1988a. *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Test*. 4th ed. NCCLS, Villanova, Pa.

20. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 1988b. *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Test for Bacteria That Grow Aerobically*. 2nd ed., NCCLS, Villanova, Pa.
21. Beveridge, T.J. 1989. Role of cellular design in bacterial metal accumulation and mineralization. *Annu. Rev. Microbiol.* **43**: 147-171.
22. Mitra, R.S., R.H. Gray, B. chin and I.A. Bernstein. 1975. Molecular mechanisms of accomodation in *Escherichia coli* to toxic levels of Cd<sup>2+</sup>. *J. Bacteriol.* **121**: 1180-1188.
23. Waring, W.S., and C.H. Werkman. 1943. Iron requirements of heterotrophic bacteria. *Arch. Biochem.* **1**: 425-433.
24. Allen, G.R., J.L. Reichelt, and P.P. Gray. 1983. Influence of environmental factors and medium composition on *Vibrio gazogenes* growth and prodigiosin production. *Appl. Environ. Microbiol.* **45**: 1727-1732.
25. 정운섭. 1991. 항균제 내성의 최근 동향. 화학요법학회지 **9**: 5-11.
26. Pighi, L., T. P mpel, and F. Schinner. 1989. Selective accumulation of silver by fungi. *Biotechnol. Lett.* **11**: 275-280.
27. Yu, T.S., H.I. Song, and K.T. Chung. 1990. Mechanism of cadmium accumulation into the cell of cadmium-ion tolerant yeast. *Kor. J. Appl. Microbiol. Bioeng.* **18**: 233-238.
28. Nakae, T., and H. Nikaido. 1975. Outer membrane as a diffusion barrier in *Salmonella typhimurium*. *J. Biol. Chem.* **250**: 7359-7365.
29. Lutkenhaus, J.F. 1977. Role of a major outer membrane protein in *E. coli*. *J. Bacteriol.* **131**: 631-637.

(Received October 20, 1992)