

고정화된 *Pantoea agglomerans*에 의한 토양에서의 가용성 인산의 생성

임원봉^{1,7}, 정귀택¹, 박노동², 윤정환³, 김시욱⁴, 박돈희^{1,5,6}

전남대학교 화학공학부¹, 농화학과², 자원공학과³, 조선대학교 환경학부⁴,
전남대학교 생물산업기술연구소⁵, 촉매연구소⁶, (주)바이오닉스⁷
전화(062)530-0232, FAX (062)530-1849

Abstract

This experimental shows the possibility of using as biofertilizer, which convert insoluble inorganic phosphate salts to plant-usable phosphate type by immobilized microorganism with calcium alginate.

In the case of culture of *P. agglomerans* on constant medium pH, phosphate was produced 357 mg/L after 18hrs. And in the case of culture of immobilized *P. agglomerans* bead, phosphate was produced maximum 295.6 mg/L after 120 hrs. Also as using rock phosphate as insoluble phosphate salts, phosphate was respectably produced 190.3 and 195.2 mg/L after 36 hrs at free cells and immobilized cells. In our experiments, the using soils contained 23.16 g-P/kg-soil total phosphate and 3.76 g-P/kg-soil soluble phosphate. The result of 1g immobilized bead seeding, soluble phosphate was produced maximum 6.14 g-P/kg-soil phosphate and this value was increased continuously.

서론

인산염 가용화 미생물은 외부 토양에 시비하였을 경우 토양에 고착할 수 있는 가능성이 적고 강수 등의 이유로 인하여 쉽게 유출될 수 있는 문제점이 있다. 이는 미생물이 아직 충분히 제재화 되어 있지 않은 이유로 액체 상태의 미생물을 그대로 분무하여 시비할 경우 쉽게 유출되어버리는 단점을 갖는다.

이러한 이유로 미생물의 고정화를 수행하면 토양에서의 균의 유출을 막을 수 있으므로 비교적 높은 농도의 미생물을 오랫동안 충분히 토양 내에 유지시킬 수 있으며, pH나 온도 등의 외부 환경의 변화에 안정성을 갖기 때문에 이를 토양에 시비할 경우 위에서 언급하였던 분무상의 미생물 제재의 단점을 해소 할 수 있다. 또한 액상 비료로서 미생물 제재를 유통시킬 때 발생하는 운송의 문제점과 보관상의 어려운 점을 해결할 수 있는 장점을 갖는다.

본 실험에서는 *Pantoea agglomerans*를 Ca-alginate에 고정화하여 일정 pH에서

불용성 인산염을 가용화하는 정도를 조사하였고 실제로 토양에 고정화 미생물을 비료로서 시비함으로써 액상으로 미생물을 분무 시비하였을 때와 비교하여 토양 내 가용화 인산의 농도를 측정하여 인산 비료로서의 효용성을 알아보았다.

재료 및 방법

1. 사용 균주와 배지

본 실험을 위해 사용한 미생물은 *P. agglomerans*로서 생명공학연구원 유전자원센터 유전자은행에서 분양을 받아 LB배지에서 2-3일 간격으로 계대 배양을 하여 실험에 사용하였고, 고정화된 *P. agglomerans*에 의한 불용성 인산염의 분해능을 조사하기 위하여 미생물 균주를 Ca-alginate에 고정화하여 실험에 사용하였다.

2. 일정 pH에서의 인산의 생성

일정 pH하에서, 불용성 인산염으로부터 유리 인산의 생성을 확인하기 위하여 일반적인 토양의 평균 pH인 pH 5.5를 유지하면서 불용성 인산염(hydroxyapatite, rock phosphate)이 0.4%(w/v) 함유된 HY배지에서 120시간 동안 free cell과 고정화된 비드를 배양하면서 유리 인산의 생성량을 조사하였다.

3. 토양내 *P. agglomerans*가 고정화된 비드에 의한 불용성 인산염의 가용화

고정화된 *P. agglomerans*비드에 의한 토양에서의 불용성 인산염의 가용화 정도를 측정하기 위하여 최종농도 0.05 g-cell/g-soil가 되도록 균 배양액과 균 최종 농도 2%(w/v)의 고정화 비드 1 g, 2 g, 3 g을 멸균된 풍건 토양 100 g에 첨가하고 골고루 섞은 후 충분한 수분을 공급하여 배양하는 동안 일정 간격으로 시료를 채취하여 토양 내 가용성 인산의 농도를 측정하였다.

결과 및 고찰

1. 일정 pH에서의 고정화된 *P. agglomerans*의 불용성 인산 가용화

일반적으로 토양내의 pH는 평균 5.5에서 6.0정도로 일정하게 유지되는 점을 감안하여 배지내의 pH를 5.5로 일정하게 유지하면서 각각의 불용성 인산염에서의 free cell에서와 고정화된 *P. agglomerans*의 인산 가용화 능을 측정하였다. Hydroxyapatite를 불용성 인산염으로 사용하였을 경우 시간에 따라 생성되는 인산의 양은 Fig. 1과 같으며 free cell의 경우 배양 개시 후 18시간이 지났을 때 357 mg/L의 인산이 생성되었고, 고정화된 경우에는 120시간후 최고 295.6 mg/L의 인

산이 생산되었으며 free cell의 경우에서보다 72시간이 지나고 나서야 높은 농도의 인산 생성량을 확인 할 수 있었다. 불용성 인산염으로서 인광석 0.4%를 첨가하고 pH를 5.5로 일정하게 유지하면서 생성되는 인산의 농도는 Fig. 2에 나타내었다. 이 경우 free cell의 경우에서 배양개시 후 36시간이 지났을 때 190.3 mg/L의 인산이 생성되었고 또한 고정화된 경우에서도 195.2 mg/L의 인산이 생성되어 pH를 조절하지 않은 경우와 비슷한 농도의 인산 생성률을 보였다.

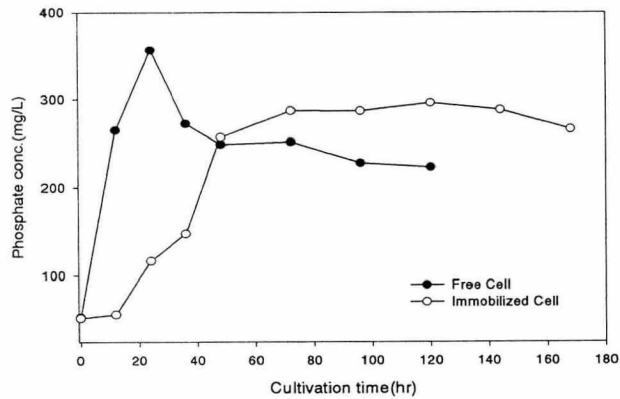


Fig. 1. Time course of phosphate solubilization by free cell and immobilized *P. agglomerans* in HY medium at 30°C, 100 rpm for 72 hrs, and fixed pH 5.5 in 300 mL flask experiment.

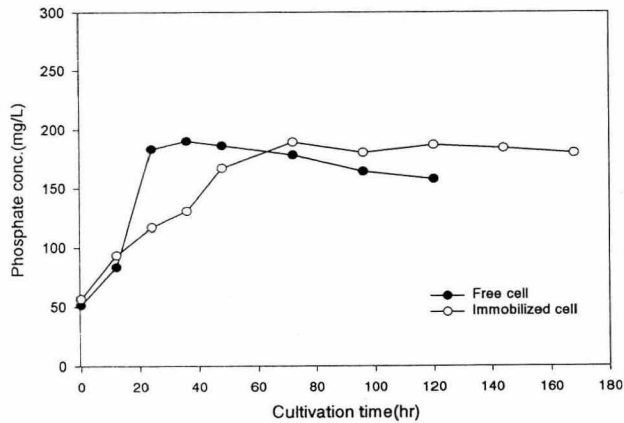


Fig. 2. Time course of phosphate solubilization by free cell and immobilized *P. agglomerans* in HY medium containing 0.4% rock phosphate instead of hydroxyapatite at 30°C, 100rpm for 72hrs, and fixed pH 5.5 in 300mL flask experiment.

2. 토양에서의 고정화된 *P. agglomerans*에 의한 유리 인산의 생성

멸균된 토양 100 g에 미생물 제재로서 고정화된 *P. agglomerans* 비드를 각각 1 g, 2 g, 3 g을 시비하고 충분히 물을 공급하면서 free cell을 액상 분무한 토양과 일정 간격으로 인산 가용화 정도를 확인하였다(Fig. 3). 그 결과 평균 23.16 g-P/Kg-soil의 총인 함량을 가진 토양에서 평균 3.76 g-P/Kg-soil의 가용성 인 중 1 g의 비드를 시비한 결과 최고 6.14 g의 가용성 인이 생성되었고 지속적으로 그 수치가 상승하였다. 그러나 액상으로 미생물 배양액을 분무한 경우에는 분무후 6일까지 가용성 인 농도가 상승하다가 그 이후에는 점점 감소되었고, 2 g 이상의 비드를 토양에 시비한 경우는 토양 내 유리 인산의 농도 증가가 뚜렷히 확인되지 않았다.

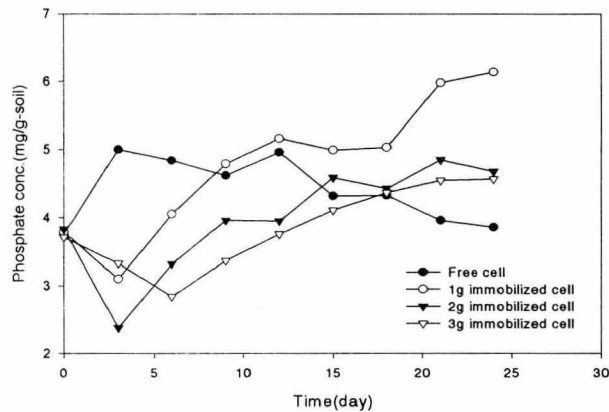


Fig. 3. Time course of phosphate solubilization by free cell and immobilized *P. agglomerans* in soil for 24 days.

사사

본 연구는 2000년도 전남대학교 학술연구비 지원에 의해 연구되었으며, 이에 감사드립니다.

참고 문헌

1. Rodriguez, H., R. Fraga (1999), Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion, *Biotechnol. adv.* **17**, 319-339.
2. Jung, I. (2001), A study on phosphate solubilization by using immobilized *Pantoea agglomerans*, MS Theses Chonnam National University, kwangju, Korea
3. Kim, K. Y. (1997), Hydroxyapatite solubilization and organic acid production by *Enterobacter agglomerans.*, *The J. Soc. Soil Sci. Fert.* **30**, 189-195.