

셀룰로오스 분해균을 이용한 흰점박이꽃무지(*Protaetia brevitarsis seulensis*) 사육과 부산물 응용 기술

강상진 · 박천우¹ · 한상찬 · 이영근 · 김용균*

안동대학교 생명자원과학부, ¹(주)그린아그로텍

A Grub (*Protaetia brevitarsis seulensis*) Rearing Technique Using Cellulose-digesting Bacteria and Natural Recycling of Rearing Byproduct to an Organic Fertilizer

Sang-Jin Kang, Chun-Woo Park¹, Sang-Chan Han, Young-Keun Yi and Yonggyun Kim*

Department of Agricultural Biology, Andong National University, Andong 760-749, Korea

¹Green Agrotech Inc., Daegu, Korea

ABSTRACT : Cellulose-digesting bacteria were isolated from hindgut of *Allomyrina dichotoma* (Coleoptera: Dynastidae). The bacterial isolates were identified as *Yersinia* sp. and *Bacillus* sp. The addition of the identified bacteria to diet increased growth rate of the cetoniid beetle, *Protaetia brevitarsis seulensis* (Coleoptera: Cetoniidae), probably by digesting cellulose nutrient contained in the oak tree sawdust diet. An additive of wheat flour at more than 10% to the sawdust diet significantly enhanced growth of *P. brevitarsis seulensis*. Trimmed branches of apple trees have been disposed in the apple farms and could be used for a diet component of the cetoniid beetle when the cellulose-digesting bacteria were mixed with the derived-sawdust. Resulting manure from mass rearing of *P. brevitarsis seulensis* contained high organic matters and trace amounts of toxic metals. When the manure were sprayed on soil, it was effective as a natural compost and significantly stimulated lettuce growth. This research suggests a model technology to use cellulose-digesting bacteria to use for culturing grub, which results in natural recycles of trimmed branches in apple farms as grub diet, and to use grub manure as a natural compost.

KEY WORDS : *Allomyrina dichotoma*, *Bacillus*, Cellulose, Compost, Gut bacteria, Natural recycling, *Protaetia brevitarsis seulensis*, *Yersinia*

초 록 : 장수풍뎅이(*Allomyrina dichotoma*(Coleoptera: Dynastidae)) 후장에서 셀룰로오스 분해균을 분리하였다. 분리된 두 세균은 각각 *Yersinia*와 *Bacillus* 속으로 동정되었다. 이 두 세균의 셀룰로오스 분해능력은 참나무 톱밥으로 사육되는 흰점박이꽃무지(*Protaetia brevitarsis seulensis* (Coleoptera: Cetoniidae))의 성장을 촉진시켰다. 이때 먹이 톱밥에 10% 이상의 밀가루를 첨가할 경우, 흰점박이꽃무지의 발육은 더욱 증진되었다. 한편 동정된 셀룰로오스 분해균을 사과원 전정목 톱밥에 첨가할 경우, 흰점박이꽃무지는 이를 먹이원으로 성장하였다. 이들 굽벥이의 대량사육에 따른 배설물은 높은 유기물 함량과 극소량의 독성 중금속을 함유하여 퇴비로서의 기능을 보유하고 있다. 이 굽벥이 배설물을 상추 재배지에 투입할 경우 상추발육을 촉진시켰다. 본 연구는 장수풍뎅이 유래 셀룰로오스 분해균을 이용하여 굽벥이 사육을 도모하는 데 일차 응용성을 보여주었으며, 이를 통해 부차적으로 사과원 폐목과 굽벥이 배설물의 자연 순환 모델을 제시하였다.

검색어 : *Bacillus*, 셀룰로오스, *Yersinia*, 자연 순환, 장내세균, 장수풍뎅이, 퇴비, 흰점박이꽃무지

*Corresponding author. E-mail: hosanna@andong.ac.kr

식물 목질부를 섭식하는 곤충류에서는 먹이에 있는 셀룰로오스를 분해하기 위해 공생미생물에 의존하게 된다 (Breznak and Brune, 1994). 이들 곤충류는 특별히 중장과 후장이 분화되어 있어서, 중장은 높은 알카리성을 유지하여 리그닌과 결합되어 있는 셀룰로오스를 가용화시키는 역할을 담당하고, 후장에서는 서식하는 공생미생물에 의해 주로 화학적 셀룰로오스 분해가 일어나게 된다(Lemke *et al.*, 2003).

딱정벌레 유충으로 굶뎡이는 식물의 지하부 뿌리를 가해하면서, 목재의 셀룰로오스를 영양원으로 이용하게 된다. 그러나, 굶뎡이 자신은 셀룰로오스를 분해시킬 수 있는 효소를 생성하지 못한다(Lo *et al.*, 2003). 이들은 후장의 일부 영역에 공생세균을 밀생시킨 발효실을 두고 세균 기원의 C₁-cellulase에 의해 셀룰로오스 분해를 유도한다(Grayson, 1958; Bayon and Mathelin, 1980).

한약재료 등으로 굶뎡이의 수요가 늘어나 굶뎡이의 대량 인공사육이 증가하면서 참나무 톱밥이 주로 굶뎡이 먹이원으로는 사용되었으나, 참나무 톱밥의 사용은 필연적으로 참나무의 훼손을 가져오게 된다는 문제가 있었다. 또 굶뎡이 사료로 이용하기 위해서는 참나무 톱밥을 일정 기간 발효시켜야 되는데, 이러한 목재 발효에는 통상 50 일 정도의 장기간이 요구되고 있다. 한편, 국내 과수 중 사과와 감의 경우 2만 6천 ha, 배의 경우 2만 5천 ha, 복숭아의 경우 만 6천 ha에서 나오는 전정목과 2,890 ha의 표고버섯 폐목이 발생하고 있는 것으로 보고되고 있다(Lee, 1997). 특히, 과수원의 경우에는 새로운 수종으로 재식되기 위하여 버려지거나 태워지는 폐목과 해마다 전정작업을 통하여 생기는 전정목이 많이 생성되고 있으나, 예전과 같이 땀감으로서의 활용은 거의 이루어지지 않고 있는 실정이다. 따라서, 이렇게 버려지는 전정목과 폐목을 산업적 측면에서 재활용할 필요성이 있으며, 환경적으로 볼 때 자연 생태계 위해성 요소 제거라는 면에서 폐목이 미생물에 의해 분해되어 자연으로 순환되는 기간을 단축시킬 필요성이 있다. 이에 본 연구는 이러한 폐목을 굶뎡이 사료로 재활용하는 기술을 개발하기 위해 수행되었다.

이를 위해 비교적 소화관 크기가 커서 공생미생물의 분리가 용이한 장수풍뎡이(*Allomyrina dichotoma*) 유충 장내의 셀룰로오스 분해균을 분리 및 동정하고, 이 분해균을 이용하여 외부에서 목재의 셀룰로오스 분해를 유도시켜 줌으로써 산업적으로 널리 대량 사육되고 있는 흰점박이꽃무지(*Protaetia brevitarsis seulensis*) 굶뎡이의 사료에 대한 소화 흡수율을 증가시켜 발육을 촉진하는 원리를 이용하는 사육방법을 개발하였다. 같은 원리로 과수원의

전정목과 같은 버려지는 폐목을 굶뎡이 사료로 활용하는 가능성을 모색하였다. 아울러 본 연구는 사과 폐목으로 굶뎡이를 대량 사육할 경우, 필연적으로 발생하게 될 굶뎡이 배설물을 다시 자연 순환시킬 전략으로, 이를 작물체의 유기질 비료로서의 가능성을 연구하였다.

재료 및 방법

굶뎡이 사육 및 배설물 수거

시험곤충인 흰점박이꽃무지(*P. brevitarsis seulensis*) 유충의 먹이는 목질부 톱밥과 밀가루를 혼합하여 제조하였다. 처리 목적에 따른 목재는 대조목으로서 참나무와 시험 대상 나무로서 사과 전정목을 파쇄기(DY-104CM 모터용 파쇄기, (주) 동양공업)를 이용하여 길이 10-120 mm 크기로 분쇄하였다.

사료는 톱밥과 밀가루를 3:1 비율로 혼합시킨 후, 실온에서 충분한 수분과 함께 4 주간 숙성시켰다. 사육 용기(40×30×30 cm)에 먹이(700 g)를 넣고 흰점박이꽃무지 유충 100 마리를 넣은 후, 온도 25℃, 상대 습도 60 ± 5 % 조건에서 30 일 동안 사육시켰다. 굶뎡이 배설물은 2 mm 체를 이용하여 수거하였고, 수거된 배설물은 처리되기 전까지 5℃ 항온기에 보관하였다.

장내세균 분리

장수풍뎡이(*A. dichotoma*) 3령충을 70 % 에탄올로 10 분간 표면 소독한 후, 살균수를 이용하여 10 분간 3 회에 걸쳐 에탄올을 세척하였다. 유충 굶뎡이의 복부가 절개되고, 소화관이 적출되었다. 후장 영역을 다시 절개하고, 살균수로 세척한 후, 이들의 장내 내용물을 1.5 ml 튜브에 옮겼다. 원심분리 방법으로 1,000 ppm에서 5분간 침전시킨 후, 상층액을 얻어 순차적으로 희석하여 nutrient agar(NA, Difco, USA) 배지 위에 도말하였다. 이후 37℃에서 16 시간 배양 후, 특징적인 단일 균총을 선별하여 NA 배지에서 다시 순수 분리하였다.

세균의 동정

선발된 균주는 Bergey's manual (Holt *et al.*, 1994) 에 근거하여 Lee (2000)의 방법으로 그람 분석, 옥시다제 활성, 카탈라제 활성, 산소요구성, 셀룰로오스 이용성, 포

도당 이용성을 확인하였다. 전자현미경 관찰은 Park et al. (2002)의 방법을 따랐다.

먹이원에 따른 흰점박이꽃무지 유충 생육

포도당/셀룰로오스 분해 능력이 있는 선발 균주를 nutrient broth(NB)에서 인공배양시켰다. 이들 세균이 10^6 colony forming unit(cfu)의 농도로 포함된 현탁액을 굼벵이 먹이에 50 ml 씩 일주일 간격으로 4 회에 걸쳐서 처리 혼합하였고, 대조구에는 살균수를 50 ml 씩 처리하였다. 먹이 비율은 톱밥 대 밀가루 비율을 각각 100:0, 95:5, 90:10, 75:25(g/g)로 혼합하여 사용하였다. 숙성된 먹이를 굼벵이 유충에 공급하고, 각 처리구별로 10 마리씩의 굼벵이의 체중변화를 5 일 또는 7 일 간격으로 시험목적에 따라 측정하였다.

굼벵이 배설물 유기물 조성 및 상추 생육 촉진 효과

굼벵이 배설물 약 500 g을 경상북도 농업기술원에 보내, 비료 표준시험법에 준하여 유기물 조성분석을 실시하였다. 상추의 발육분석은 작물체 지상부가 약 10 cm 높이가 되었을 때(파종 후 30 일) 이식하여, 실험을 진행하였으며 각 처리구마다 상추 10 포기씩을 심어 300 mg의 배설물을 처리하였다. 배설물 처리 횟수는 1 회로 국한하였고, 대조구는 살균수만 처리하여, 3 반복으로 실험하였다. 이후 10 일 간격으로 무작위로 10 포기 상추를 채취하고 지상부 및 지하부의 크기 및 무게를 측정하였다.

통계분석

굼벵이의 생육 및 비료 효과의 통계처리를 위하여, 백분율 자료를 arcsine transformation 한 후 one way ANOVA로 분석하였다. 이때 평균간 비교는 최소유의차검정법 (Least squared difference: LSD)으로 SAS (SAS Institute, 1988)의 PROC GLM을 이용하여 분석하였다.

결 과

셀룰로오스 분해 세균 분리 및 동정

장수풍뎅이 3령충(중령유충, Fig. 1A)의 소화관이 관찰되었다. 소화관 주변에 많은 지방체가 둘러싸여 있으며,

전장과 증장은 비교적 직선 모양이지만, 후장 영역은 구형의 비대 영역과 이후의 굽은 영역으로 구성되어 있는 모습을 보였다(Fig. 1B). 증장은 적어도 3부분의 외부로 돌출된 증장 맹관(gastric caeca)을 관찰할 수 있었다. 적출한 소화관을 직선화시킴을 통해 영역별 길이를 비교한 결과, 전장(약 2 cm)에 비해 증장(약 5 cm)과 후장(약 6 cm)이 상대적으로 소화관의 대부분을 차지하는 모습을 보였다(Fig. 1C).

후장의 소화관 내용물을 채취하여 영양배지에서 세균을 배양시켰다. 많은 세균이 나타났으며, 이중 균총의 형태로 상이한 10개 균주를 선발하였다. 주요 세균의 생화학적 분석을 한 결과, 이들 10개 균주 가운데 'H1'과 'H10'이 각각 셀룰로오스 분해균으로 판명되었다(Table 1).

'H1' 균주는 그람 음성균으로 간균이며, 무모균의 형태로서 운동성이 없고, 균체는 약 $1.3 \mu\text{m}$ 의 크기를 가졌다(Fig. 2, Table 2). 이 균주는 또한 포도당 분해 능력도 보유하고 있었으며, 장내세균과에 속하는 Enterobacteriaceae 과에 속하였다(Table 2). 이용 탄소원을 분석한 결과 *Yersinia* 속의 균주와 반응성이 일치하였다(Table 3).

'H10' 균주는 그람 양성균으로 간균이며, 내생포자를 형성하며, 주모균의 형태로서 운동성이 있고, 균체는 약 $1.6 \mu\text{m}$ 의 크기를 가졌다(Fig. 2, Table 4). 이러한 성질은 Bacillaceae 과의 특징과 일치하였다. 탄소 이용원이나 다른 생화학적 특징은 'H10' 균주가 *Bacillus* 속의 균주 특징과 일치하였다(Table 5).

이상의 생화학적 및 형태적 동정 분석 결과를 종합하여 보면, 셀룰로오스 분해균주는 조사된 10개 균주에서 'H1'과 'H10'의 두 균주로 국한된다. 'H1' 균주는 Enterobacteriaceae 과 *Yersinia* 속에 속하는 것으로 판명되고, 'H10' 균주는 Bacillaceae 과 *Bacillus* 속에 속하는 것으로 동정되었다.

셀룰로오스 분해균의 굼벵이 생육촉진 효과

셀룰로오스 분해 능력을 가진 2종류의 균주를 참나무 톱밥에 처리하여 한달 간 숙성시킨 처리구에서 흰점박이꽃무지 유충의 생체중 증가율을 분석하였다(Fig. 3). 종류수로 톱밥을 숙성시킨 대조구에 비하여 'H1' 또는 'H10' 균주로 처리된 처리구의 경우는 약 70-80% 정도 더 발육을 촉진시키는 것으로 나타났다.

셀룰로오스 분해균의 먹이 효율 증가 효과를 확인한 후, 톱밥과 밀가루를 배합한 최적의 먹이 혼합비율을 결정하기 위한 연구가 병행되었다(Fig. 4). 기대한 바와 같이

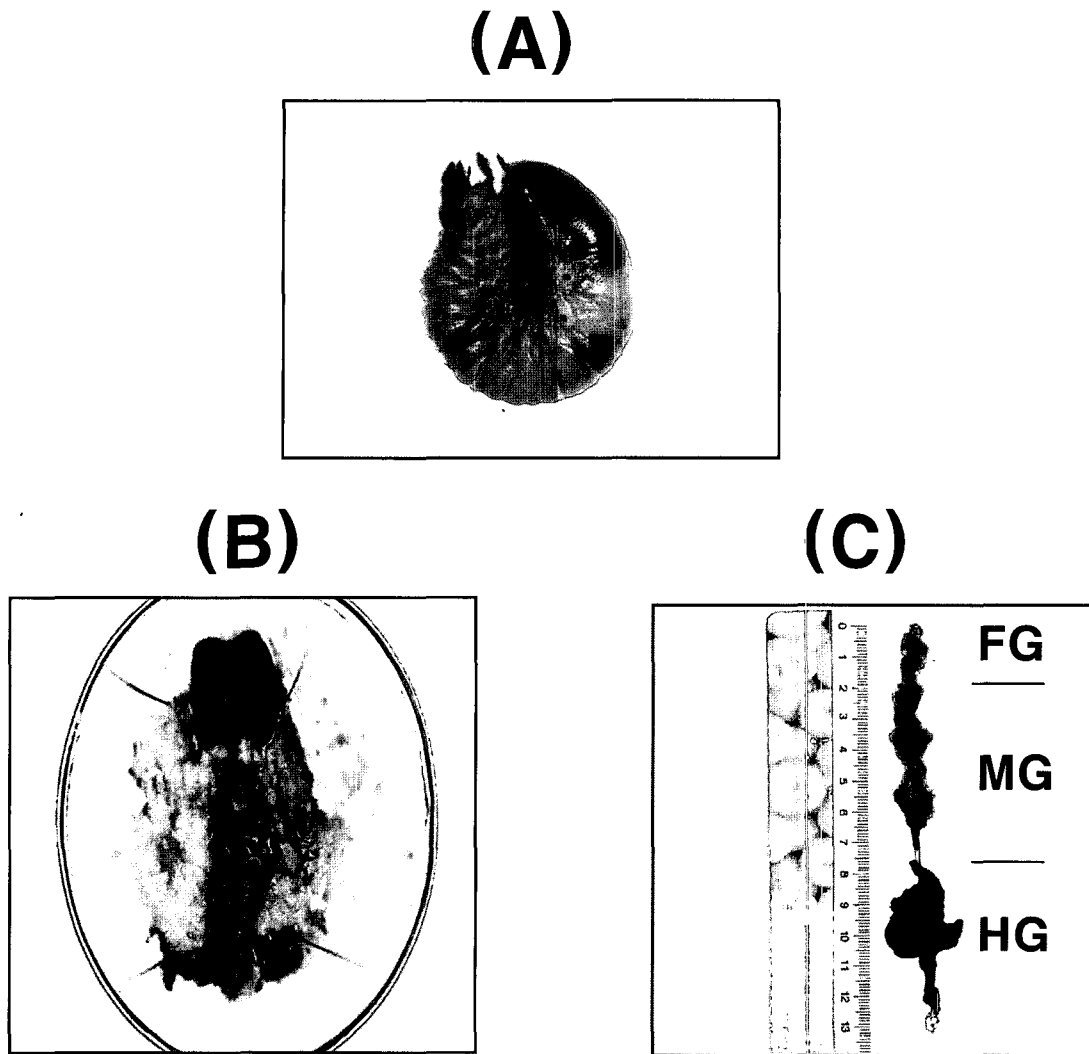


Fig. 1. External and internal structure of *Allomyrina dichotoma* larvae. (A) A typical grub structure (B) Internal structure focusing intestine (C) entire intestine, which can be divided into foregut (FG), midgut (MG), and hindgut (HG).

Table 1. Biochemical characters of the bacteria isolated from hindgut of *Allomyrina dichotoma* larvae

Characters	H1	H2	H3	H4	H5	H6	H7	H8	H9	H10
Gram test	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+
Oxidase	-	+	+	-	-	-	+	-	+	-
Catalase	+	-	-	+	-	+	+	+	-	+
Oxygen demand ¹	f	f	f	f	f	f	f	f	f	f
Glycogen digestion	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+

¹ 'f' represents facultative.

소화 효율면에서 우수한 밀가루의 함량이 증가함에 따라 굽병이 발육을 촉진시켰다. 이는 두 셀룰로오스 분해균을 혼합한 결과, 굽병이 톱밥 사료에 약 10%의 밀가루가

배합된 사료에서 굽병이 사육 효율이 최적이라는 것을 보여 주었다.



Fig. 2. TEM photos of two different bacteria digesting cellulose isolated from hindgut of *Allomyrina dichotoma* larvae. The bar represents 1 μm .

Table 2. Family identification of 'H1' isolate from hindgut of *Allomyrina dichotoma* larvae

Characters	H1	Reactivity ¹ of bacterial families		
		Pasteurellaceae	Vibrionaceae	Enterobacteriaceae
Cell size (μm)	1.0-1.3	0.2-0.3	0.3-1.3	0.3-1.5
Rod-shaped	+	-	d	+
Motility	-	-	+	d
Oxidase	-	+	+	-

¹ 'd' indicates slight (76-89%) motility.

Table 3. Genus identification of 'H1' isolate from hindgut of *Allomyrina dichotoma* larvae

Carbon source	H1	Reactivity ¹ of bacterial genus				
		<i>Escherichia</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Serratia</i>	<i>Shigella</i>	<i>Yersinia</i>
Indole	-	+	-	-	-	d
Methyl red	+	+	+	+	+	+
Voges-Proskauer	+	-	-	+	-	+
D-glucose acid production	+	+	+	+	+	+
D-glucose gas production	-	+	+	d	-	-
D-adonitol	-	-	-	d	-	-
L-arabinose	+	+	d	+	d	+
D-arabitol	+	-	-	d	-	d
cellobiose	+	-	-	d	-	+
Maltose	+	+	+	+	d	+
D-sorbitol	+	-	-	d	-	+
D-xylose	+	+	+	+	-	+

¹ '+' = 90-100%; 'd' = 76-89%; '-' = 0-25%

Table 4. Family identification of 'H10' isolate from hindgut of *Allomyrina dichotoma* larvae

Characters	H10	Bacilliaceae
Gram test	+	+
Endospore	+	+
Cell shape	rod	rod/coccus

¹'r' represents rod shape.

²'d' indicates slight (76-89%) motility.

Table 5. Genus identification of 'H10' isolate from hindgut of *Allomyrina dichotoma* larvae

Characters	H10	Reactivity ¹ of bacterial genus			
		<i>Sporolactobacillus</i>	<i>Clostridium</i>	<i>Desulfotomaculum</i>	<i>Bacillus</i>
Rod-shaped	+	+	+	+	+
Cell size (>2.5 μ m)	-	-	-	-	-
Endospore	+	+	+	+	+
Motility	+	+	+	+	+
Gram	+	+	+	-	+
Catalase	+	+	+	-	+
L-arabinose	+	+	d	+	d
Oxidase	-	ND	-	ND	-
Glucose utility	+	+	d	-	+
Facultative anaerobic	+	-	-	-	+

¹ '+' = 90-100%; 'd' = 76-89%; '-' = 0-25%; 'ND' = not determined

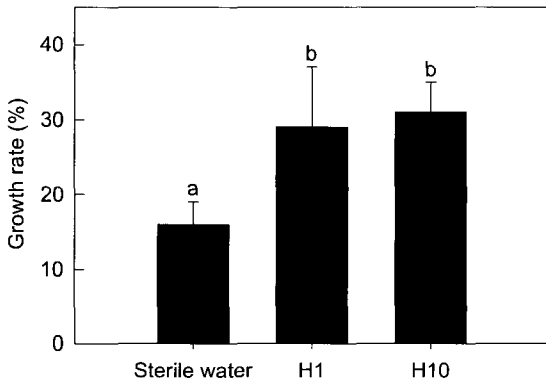


Fig. 3. Effect of cellulose-digesting bacterial isolate, 'H1' or 'H10', on development of a grub, *Protaetia brevitarsis seulensis*. Different letters indicate significant difference among means at Type I error = 0.05 (LSD test).

곰뽕이 먹이원으로서 사과 전정목

서론에서 언급하였듯이 현행 참나무 톱밥의 구입은 필수 불가결하게 참나무의 훼손과 산림 훼손의 문제점을 낳고 있다. 과수원의 경우에는 새로운 수종으로 재식되기 위하여 버려지거나 태워진 사과 폐목과 해마다 전정작업을 통하여 생기는 전정목이 많이 생성된다. 그러나 예전과 같이 연료용으로서 이들의 활용이 거의 이루어 지지 않는 현실에서 버려지는 사과 폐목의 활용이 시급한 시점이다. 그래서 본 실험은 흰점박이꽃무지 사육을 위한 먹이원으로서 그 활용을 평가하고, 이를 바탕으로 타종의 곰뽕이 사육에 응용하기 위해 본 실험이 진행되었다.

과쇄한 사과 전정목 톱밥에 공시충인 흰점박이꽃무지

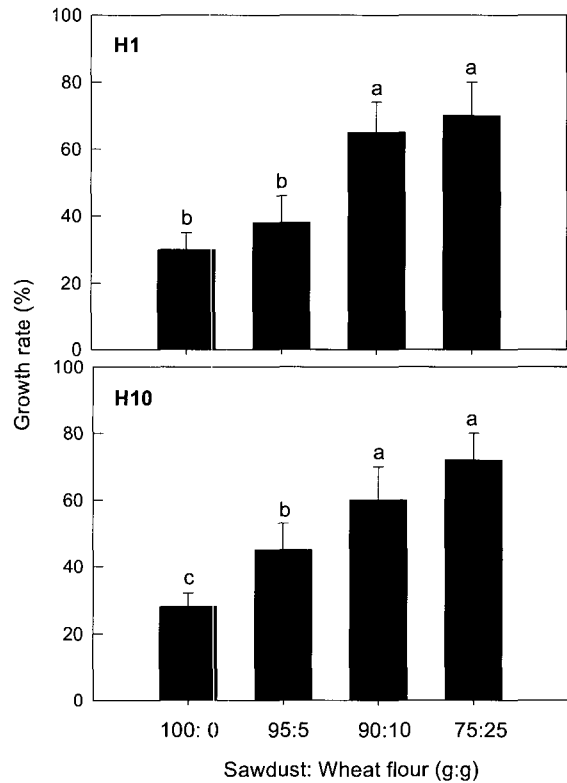


Fig. 4. Additive effect of wheat flour to sawdust diet on development of a grub, *Protaetia brevitarsis seulensis*. All diet treatments fermenting sawdusts used cellulose-digesting bacterial isolate, 'H1' or 'H10'. Different letters indicate significant difference among means at Type I error = 0.05 (LSD test).

3령충을 사육한 결과, 사과 전정목 톱밥의 이용성이 셀룰로오스 분해균 'H10'을 첨가한 경우 월등하게 증가하는 것을 알 수 있었다(Fig. 5). 이러한 곰뽕이 사육 효과는

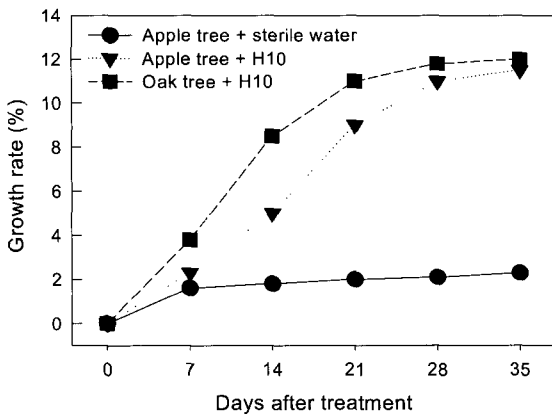


Fig. 5. Effect of a cellulose-digesting bacterial isolate ('H10') on availability of apple branches as a diet source for development of a grub, *Protaetia brevitarsis seulensis*. All tree samples were macerated into sawdust and mixed with 'H10' bacterial isolate for 4 weeks (see Materials and Methods).

참나무 톱밥을 이용할 때와 유사한 효과를 보였다. 본 연구에서는 목재 원료의 효과만 검정하기 위해 밀가루를 배합하지 않았지만, 위에서 보여 주었듯이 밀가루를 사과 전정목 톱밥에 배합하게 되면, 훨씬 우수한 사료로서의 효과를 보여주리라 기대된다.

곰팡이 배설물의 식물생육에 대한 유기질 비료 효과

곰팡이 사육의 결과로 얻어진 부산물 중에서 배설물의 비료 효과를 알아보기 위한 기초 자료로서 관행적 표준 부산물 비료 분석방법에 의거하여 곰팡이 배설물이 퇴비로서 적합성을 확인하였다(Table 6). 그 결과 흰점박이꽃

무지 유충 배설물은 높은 유기물 함량을 보였다. 또한 염류나 독성 중금속의 함량이 매우 낮아 그린 1급 비료로서 평가될 수 있다.

이러한 화학적 성질을 보유하고 있는 곰팡이 배설물을 실질적으로 작물의 생육을 촉진 할 수 있는 지를 분석하였다. 본 실험에서는 흰점박이꽃무지 3령충의 배설물을 이용한 상추의 성장 촉진 효과를 분석하였다(Fig. 6). 배설물이 멸균된 토양과 혼합된 처리구에 생육 한달 된 상추를 재식하여 이로부터 한달이 지난 후 상추의 생육을 확인한 결과, 모든 성장 지수에서 대조구에 비하여 확연한 성장 촉진 효과를 나타냈다.

고 찰

장내 미생물은 특히 식물의 목질부와 토양 부식토의 유기물을 섭취하는 토양 곤충에게 중요한 소화 인자이다. 주요 탄소원인 셀룰로오스를 이당류인 셀로바이오스로 분해시킬 수 있는 효소가 결여되어 있는 동물류는 이들 효소를 발현하는 미생물에게 의존할 수밖에 없다. 이러한 장내 미생물의 셀룰로오스 분해에 관해서 가장 많이 연구된 곤충류는 흰개미류이다(Brune, 1998; Brauman, 2000; Brauman et al., 2000). 또한 이러한 연구는 일부 딱정벌레에서 진행되었다(Cazemier et al., 2003; Egert et al., 2003; Lemke et al., 2003). 종합하여 보면, 이들 곤충의 소화는 중장의 알칼리성과 후장의 공생 미생물에 의한 화학분해로 이해될 수 있다. 즉, 중장의 높은 알칼리는 토양중 유기물을 무기물로 부터 유리시켜 수용액상의 가

Table 6. Chemical composition of the manure of *Protaetia brevitarsis seulensis* larvae with references of commercial composts

Chemicals	Guide line		Composition of the grub manure
	Byproduct compost	Green compost (First Grade)	
Total organic matter	> 25%	> 40%	49.9
Organic : Nitrogen	< 50	< 40	99.8
Water content	< 45%	< 45%	38.6
NaCl	< 1.0%	< 1.0%	0.1
As	< 50mg/kg	< 25mg/kg	Trace*
Cd	< 5mg/kg	< 2.5mg/kg	0.1
Hg	< 2mg/kg	< 1mg/kg	Trace
Pb	< 150mg/kg	< 75mg/kg	Trace
Cr	< 300mg/kg	< 150mg/kg	2.7
Cu	< 300mg/kg	< 200mg/kg	7.6
Ni	< 50mg/kg	< 25mg/kg	Trace
Zn	< 900mg/kg	< 500mg/kg	32.3

* 'Trace' means below detection limit

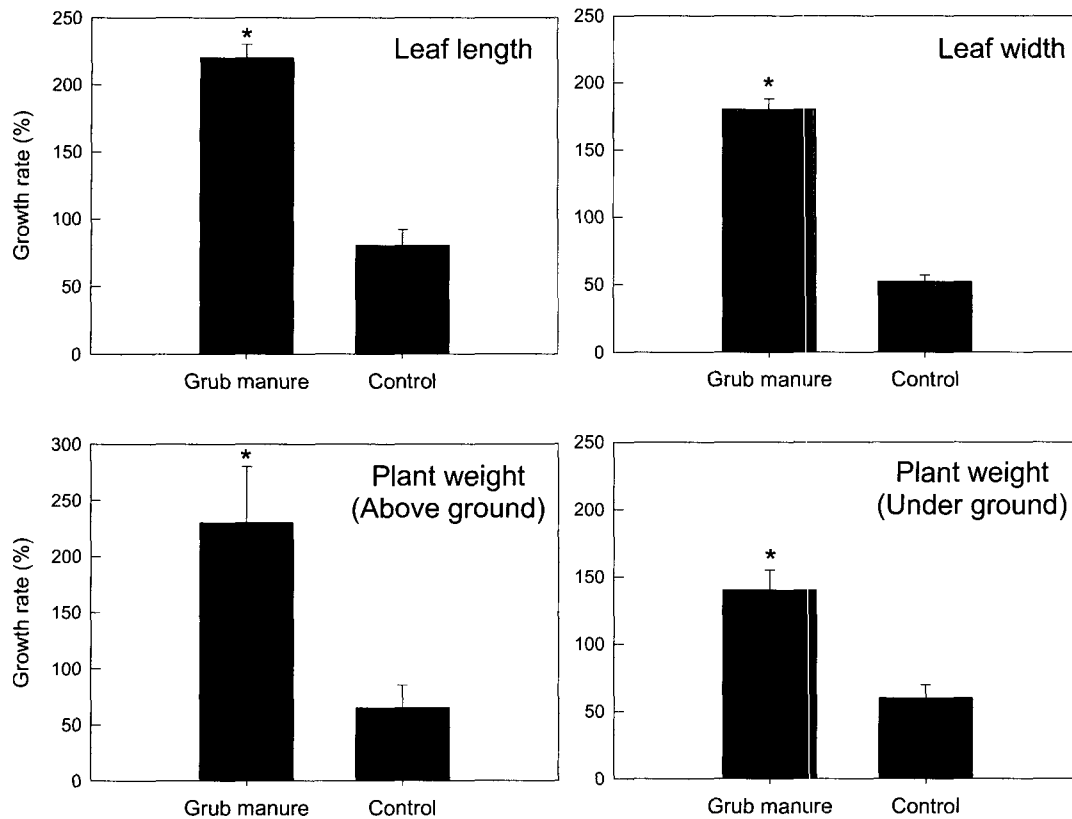


Fig. 6. Effect of a grub, *Protaetia brevitarsis seoulensis*, manure on growth of lettuce. The grub manure of the 3rd instar larvae was collected and resuspended with sterile water. Three hundred mg of manure was sprayed on 10 lettuce plants when the crop grew 10 cm in height. Lettuce growth was measured from 10 randomly chosen plants every 10 days since the manure treatment. The asterisk indicates significant difference in means between treatment and control at Type I error = 0.05 (LSD test).

용화 상태로 이르게 하고, 이는 다시 중성화된 후장에 이르러서 다양한 셀룰로오스 분해균과 발효균에 의해 화학적 분해가 일어나게 된다(Cazemier *et al.*, 2003; Lemke *et al.*, 2003). 서식하는 토양 미생물과는 상이한 다양한 많은 발효 대사 관련 세균류(Lactobacillales, Clostridiales, Bacillales, Cytophaga-Flavobacterium-Bacteroides (CFB))가 이들 장내에 서식하게 된다. 그러나, 이들의 분포는 중장과 후장의 물리화학적 차이에 따라 상이하게 분포된다(Egert *et al.*, 2003). 꽃무지류인 *Pachnoda ephippiata*는 중장에 주로 Actinobacteria류가 서식하고, 후장에는 CFB류가 서식한다(Egert *et al.*, 2003). 실질적으로 다양한 셀룰로오스 분해균이 이 곤충의 후장에서 발견되었고, 이 가운데 신종도 발표되었다(Cazemier *et al.*, 2003). 본 연구는 장수풍뎅이 유충 후장에서 두 종의 셀룰로오스 분해 세균을 분리하였다. 이들은 *Yersinia*와 *Bacillus* 속으로 판명되었다. 그러나 아직 좀 더 중수준의

세부적인 정확한 동정이 필요하다. 일부 16S rDNA 염기서열 분석 결과 이 두 균주는 기존의 알려진 세균류와 매우 서열적으로 상이한 것으로 나타나고 있다.

두 셀룰로오스 분해균주는 모두 굼벵이 발육을 위한 참나무 톱밥의 사료 효율성을 제고시켰다. 또한 이들이 보유하고 있는 포도당 분해 효율은 또한 밀가루를 첨가할 경우 더욱 사료 효율을 제고시켰다. 본 연구에서는 굼벵이 사료를 일반적으로 숙성시키는 기간인 4주를 고정하여 처리하였다. 그러나, 이들 세균의 소화효율을 고려하여 볼 때, 이 숙성기간도 단축시킬 가능성이 있다. 이에 관한 추후 연구가 필요하다. 즉, 이러한 결과들을 예상하여 볼 때, 선발 셀룰로오스 분해균주들은 굼벵이의 소화효율을 높여서 발육을 촉진할 뿐만 아니라 사료의 숙성기간을 단축시켜, 굼벵이 사육의 효율성을 높여 주리가 기대된다. 굼벵이 사육에서 필연적으로 발생하는 것이 배설물이다. 이를 방지하여 자연계로 돌려보낼 경우 또 다른 유기물

집적의 환경 피해 요인이 될 수 있다. 이러한 유기물 순환의 전략으로 이를 다시 작물의 생육에 순화시키는 방법을 고려하였고, 이러한 전략은 효과적이라는 것이 본 연구를 통해 입증되었다.

산업적 방향성을 갖는 본 연구를 통해 개발된 응용기술은 크게 두 가지를 고려할 수 있다. 즉, 사과폐목을 이용한 굽벥이 사육 기술과 이들로부터 파생되는 굽벥이 배설물을 이용한 유기질비료 기능 및 상품화로 축약된다. 이러한 기술들은 다음과 같은 분야의 기술적 및 산업적 효과를 기대할 수 있다. 첫째로, 버려지는 과수원의 전정목과 표고버섯 폐목을 활용하여 굽벥이를 키울 수 있고, 여기에서 배출되는 배설물을 유기질 퇴비화 함으로서 자연의 순환 기간을 단축시키게 된다. 일반적으로 토양 유기물의 분해는 대형 무척추동물류인 지렁이, 흰개미류 및 일부 딱정벌레류가 담당하고 있다(Lavelle et al., 1997; Wolters, 2000). 본 연구는 다시 이들로부터 파생된 유기물을 식물체로 순환시키는 고리를 인위적으로 연결시켰다는 데서 생태학적 및 산업적 의미를 가질 수 있다. 둘째로, 셀룰로오스 분해균을 이용한 식품 및 원재료 가공 분야로의 접목이 기대된다. 식품의 셀룰로오스 유래 올리고당 (저감미성, 다이어트성, 제독성, 유산균 강화) 제조용 효소 상품화(Hong and Kim, 1998), 과즙 추출용 cellulase 제품화(Choi et al., 1996) 및 곡류 및 두류의 탈피용으로 전분 추출용 제품화(Kim and Ahn, 1996)를 대상으로 할 수 있다.

사 사

본 연구는 제11차 안동대학교 산학연공동기술개발 컨소시엄 사업으로 지원되었다. 세균 동정과 특성 규명예조언을 하여주신 안동대학교 농생물학과 이영근 교수께 감사드립니다. 또한 셀룰로오스의 산업적 이용성에 대해서 조언하여주신 안동대학교 식품생명공학과 이종화 교수에게 감사드립니다. 끝으로 본 연구의 물품조달과 연구분위기 조성에 도움을 준 송영임에게도 감사드립니다.

Literature Cited

- Bayon, C. and J. Mathelin. 1980. Carbohydrate fermentation and by-product absorption studied with labelled cellulose in *Oryctes nasicornis* larvae (Coleoptera: Scarabaeidae). *J. Insect Physiol.* 26: 819-828.
- Brauman, A. 2000. Effect of gut transit and mound deposit on soil organic matter transformations in the soil feeding termite: a review. *Eur. J. Soil Biol.* 36: 117-125.
- Brauman, A., D.E. Bignell and I. Tayasu. 2000. Soil-feeding termites: biology, microbial associations and digestive mechanisms. pp. 233-259. In *Termites: evolution, sociality, symbiosis, ecology*, eds. T. Abe, D.E. Bignell and M. Higashi. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
- Breznak, J.A. and A. Brune. 1994. Role of microorganisms in the digestion of lignocellulose by termites. *Annu. Rev. Entomol.* 39: 453-487.
- Brune, A. 1998. Termite guts: the world's smallest bioreactors. *Trends Biotechnol.* 16: 16-21.
- Cazemier, A.E., J.C. Verdoes, F.A.G. Reubsat, J.H.P. Hackstein, C. van der Drift and J.M. Op den Camp. 2003. *Promicromonospora pachnodae* sp. nov., a member of the (hemi)cellulolytic hindgut flora of larvae of the scarab beetle *Pachnoda marginata*. *Antonie van Leeuwenhoek* 83: 135-148.
- Choi, J.S., J.K. Hwang, C.T. Kim and D.S. Dong. 1996. Enzymatic solubilization of thermally treated Jujube tissues. *Food Ind. Nut.* 1: 49-79.
- Egert, M., B. Wagner, T. Lemke, A. Brune and M.W. Friedrich. 2003. Microbial community structure in midgut and hindgut of the humus-feeding larva of *Pachnoda ephippiata* (Coleoptera: Scarabaeidae). *Appl. Environ. Microbiol.* 69: 6659-6668.
- Grayson, J.M. 1958. Digestive tract pH of six species of Coleoptera. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 51: 403-405.
- Holt, J.G., N.R. Krieg, P.A. Sneath, J.T. Stanley and S.T. Williams. 1994. *Bergey's manual of determinative bacteriology*. Williams & Wilkins, Baltimore.
- Hong, S.P. and D.S. Kim. 1998. Chitosanolytic characteristics of cellulase from *Trichoderma viride* and *Trichoderma reesei*. *Korean J. Food Sci. Tech.* 30: 245-252.
- Kim, Y.K. and S.Y. Ahn. 1996. The effect of cellulase treatment on the physicochemical properties of rice and the texture of cooked rice. *Korean J. Food Sci. Tech.* 28: 720-729.
- Lavelle, P., D. Bignell, M. Lepage, V. Wolters, P. Roger, P. Ineson, O.W. Heal. 1997. Soil function in a changing world: the role of invertebrate ecosystem engineers. *Eur. J. Soil Biol.* 33: 159-193.
- Lee, S.C. 1997. Agricultural development strategy in Bong-Wha country. *Korean J. Agri. Ext.* 4: 195-199.
- Lee, Y.K. 2000. *Laboratory manual for plant bacterial pathology*. 110 pp. Andong National University. Agricultural Science and Technology Institute, Andong.
- Lemke, T., U. Stingl, M. Egert, M.W. Friedrich and A. Brune. 2003. Physicochemical conditions and microbial activities in the highly alkaline gut of the humus-feeding larva of *Pachnoda ephippiata* (Coleoptera: Scarabaeidae). *Appl. Environ. Microbiol.* 69: 6650-6658.
- Lo, N., H. Watanabe and M. Sugimura. 2003. Evidence for the presence of a cellulase gene in the last common ancestor of bilaterian animals. *Proc. R. Soc. Lond. B* 270: S69-S72.
- Park, Y., K. Kim and Y. Kim. 2002. A pathogenic bacterium, *Enterococcus faecalis*, to the beet armyworm, *Spodoptera exigua*. *J. Asia-Pacific Entomol.* 5: 221-225.
- SAS Institute, 1988. *SAS/STAT user's guide*, Release 6.03, Ed. Cary, N.C.
- Wolters, V. 2000. Invertebrate control of soil organic matter stability. *Biol. Fertil. Soils* 31: 1-19.

(Received for publication 24 August 2005;
accepted 17 September 2005)

