

## 얼음핵활성세균을 리용한 해충방지동향에 대하여

김 철 우

위대한 령도자 김정일동지께서는 다음과 같이 교시하시였다.

《과학자, 기술자들은 우리 나라 인민경제발전에 절실히 필요한 문제를 자체로 풀기 위한 과학연구사업과 함께 발전된 나라들의 과학기술성고를 우리 나라의 구체적현실에 맞게 받아들이기 위한 과학연구사업도 잘하여야 합니다.》(《김정일선집》 증보판 제13권 417페이지)

비료를 적게 요구하면서 안전한 수확을 내는 품종, 가물과 비바람, 냉해와 고온피해와 같은 불리한 자연환경과 병해충에 견딜성이 강한 품종들을 더 많이 얻어내자면 첨단과학 기술을 적극 받아들이는것과 함께 그에 대한 연구를 강화하여야 한다.

추위견딜성곤충은 당, 당알콜류를 몸안에 저축하며 한편으로는 장안잔류물과 같은 얼음을 축진하는 물질(얼음핵물질)을 배설하여 겨울기간의 낮은 온도에 의한 얼음피해로부터 자기를 보호한다. 최근에 새롭게 제기된 얼음핵활성세균을 리용한 해충피해방지는 얼음핵물질을 곤충의 몸안 또는 몸결면에 정착시켜 곤충의 추위견딜성획득을 방해하는 완전히 새로운 해충피해방지방법이다.

어느 한 연구집단은 대표적인 얼음핵활성세균인 *Pseudomonas syringae*를 곤충에 처리할 때 곤충의 몸안에서 진행되는 추위견딜성물질생성에 대한 연구를 진행하고 얼음핵활성세균처리에 의하여 곤충의 추위견딜성을 현저히 낮출수 있다는것을 해명하였으며 그것을 해충피해방지에 리용할수 있다는것을 밝혔다.[1, 2, 5] 그러나 얼음핵활성세균에 의한 해충피해방지방법은 그 효과가 오래 지속되지 못하는 등의 문제점도 있다.[3, 4]

본문에서는 얼음핵활성세균처리의 효과를 오랜 기간 지속시키기 위하여 얼음핵활성세균중에서도 곤충장안에 정착하는 세균을 리용한 새로운 해충피해방지법에 대한 최근연구 자료들을 소개한다.

### 1. 얼음핵활성세균의 리용

얼음핵활성세균이란 물이 얼 때 핵(얼음핵)으로서 작용하는 세균을 말한다. 불순물을 포함하지 않는 순수한 물은 보통  $-40^{\circ}\text{C}$ 까지도 얼지 않지만 얼음핵활성세균을 포함하고있는 물은  $-2\sim-4^{\circ}\text{C}$ 에서 언다. 이 세균은 처음에 부식된 나무잎에서 얼음핵으로 되는 능력(얼음핵활성능력)을 가진것으로서 발견되였는데 현재는 *Pseudomonas*, *Erwinia*, *Xanthomonas*속 세균들에서 얼음핵활성능력을 가지는 세균들이 새로 발견되고있다.[6-8] 이러한 세균의 대부분이 식물의 잎면우에서 살고있는 세균이라는데로부터 그후 농작물에 일찌기 또는 늦게 오는 서리에 의한 피해의 원인으로서는 그 연구가 진행되여왔다. 연구결과 얼음핵활성능력은 세포막에 존재하는 얼음핵활성단백질에 의한것이라는것이 밝혀졌고 그 유전자(얼음핵활성유전자)가 분리되였다.[5, 6, 9]

한편 얼음핵활성세균을 유용하게 리용하려는 연구도 진행되여 가공식품 특히 냉동기술이나 농축기술의 여러 분야에서 실용화되고있다.

또한 얼음핵활성세균의 유용한 리용을 촉진시킨것은 1988년 어느 한 올림픽에서 얼음

핵활성세균이 조설제로 리용된것이 계기로 되었다.[5]

최근 해충피해방지분야에서도 얼음핵활성세균을 리용하기 위한 방법이 제안되고있는데 2010년경에는 여러 나라 연구집단에 의하여 대표적인 얼음핵활성세균인 *P. syringae*를 처리하여 겨울나이곤충을 방지하는 방법이 연구되었다. 실험으로 점벌레과 열세점벌레속의 한 종인 *Hippodamia convergens*를 대상으로 진행된 실험에서는 얼음핵활성세균을 분무처리한 구의 곤충들이 미처리구의 곤충들보다 상대적으로 10°C이상이나 높은 온도에서 얼어죽었으며 또 어떤 종의 난알저장해충은 난알에 1 000ppm정도의 멸균한 얼음핵활성세균의 분말을 혼합하였을 때 -5°C에서 약 80%가 얼어죽었다는 자료도 제기[9, 10]되었다.

최근에 감자의 주요해충인 콜로라도돼지벌레의 방지에 얼음핵활성세균을 리용하려는 연구계획이 추진되고있다. 이상에서 본것처럼 얼음핵활성세균에 의한 해충피해방지의 연구가 주목되고있는데 얼음핵활성세균인 *P. syringae*처리에 의한 해충피해방지효과는 처리한 후 그 효과가 약 1주일정도밖에 지속되지 못하는 등의 문제점도 있다.

## 2. 곤충몸안에 정착하는 세균

곤충에서는 많은 종의 병원성 또는 비병원성세균들이 분리되고있다.

일부 연구자들은 누에의 유충장안에서 세균을 분리하였는데 *Erwinia herbicola*와 *Enterobacter cloacae*가 많이 분리되었다.[9, 11] 이렇게 분리된 세균들의 곤충장안에서의 정착성과 그 증식능력을 누에유충을 리용하여 검토하였는데 5나이가 누에유충에 경구접종하였을 때 시간이 경과함에 따라 이러한 세균들이 장관과 배설물에서 분리되었으며 결국 이러한 세균들이 장안에서 정착하고 증식한다는것이 밝혀졌다. 또한 뽕나무 등 식물유래의 *Er. herbicola*이나 *Ent. cloacae*도 누에의 장안에서 증식한다는데로부터 자연계에서는 잎면에 세균이 정착하고있는 식물을 유충이 먹는 과정에 세균이 장안에 들어가 거기에서 증식한다고 보고있다. 한편 식물의 잎면우에서 생활하고있는 세균으로 잘 알려진 *P. syringae*는 경구접종하여도 장안에서 증식하지 않았다. 이러한 결과로부터 *Er. herbicola*이나 *Ent. cloacae*는 곤충장안에서 정착하고 증식하는 특성을 가지지만 *P. syringae*는 곤충장안에서 정착하고 증식하지 않는다는것을 알수 있다.

*Er. herbicola*세균들중에서 얼음핵활성능력을 가지는 균그루는 얼음핵활성유전자나 세균학적특성해석에 의하여 *Er. ananas*에 속한다는것이 밝혀졌다.[7, 10] 따라서 *Er. ananas*는 곤충장안에서 정착하고 증식이 가능한 얼음핵활성세균이라고 예상된다. 예비실험으로서 누에유충에 경구접종하였을 때 예상대로 장안에서 정착하고 증식하였다. 한편 얼음핵활성세균인 *P. syringae*를 준 경우에는 유충의 장관으로부터 세균이 분리되지 않았다.

## 3. *Erwinia ananas*에 의한 뽕나무멸구유충의 추위견딜성저하

뽕나무멸구(*Erythroneura mori*)는 뽕나무잎에 먹음피해를 주는 여러번 허물벗는 곤충이므로 마지막 나이의 유충으로 겨울을 난다. 연구자들은 뽕나무멸구유충으로부터 얼음핵활성세균인 *Er. ananas*를 분리하고 누에유충과 마찬가지로 *Er. ananas*가 거기에서 정착하고 증식한다고 보았다.[6, 7] 그리하여 겨울나기 전(9월 하순~10월)의 2~4나이의 유충에 각종 얼음핵활성세균을 바른 뽕나무잎을 2일동안 주고 그후의 유충의 추위견딜성의 변화와 부여한 얼음핵활성세균인 *Er. ananas*의 정착성을 조사하였다. 추위견딜성은 랭각점과 -6°C에서 얼어죽은 비율을, 정착성은 유충으로부터 분리되는 세균수를 지표로 하여 평가

하였다.

대조인 멸균증류수를 준 뽕나무멸구유충의 평균랭각점은 처리후 3일만에  $-11.3^{\circ}\text{C}$ 였지만 *Er. ananas*를 준 시험구 뽕나무멸구유충의 평균랭각점은  $-4.7^{\circ}\text{C}$ 로서 멸균증류수를 준 유충에 비하여  $6.6^{\circ}\text{C}$  높았다. 이 랭각점의 상승은 적어도 9일까지 안정하게 유지되었다.

한편 얼음핵활성세균인 *P. syringae*를 준 유충의 평균랭각점은  $-9.0^{\circ}\text{C}$ 로서 약  $2.5^{\circ}\text{C}$  높았다. 그러나 처리후 5일만에 멸균증류수를 준 유충과 같은 수준까지 낮아졌다. 이러한 랭각점을 측정한 유충에서 세균을 분리하고 곤충몸안의 세균수를 조사하였다. 얼음핵활성세균인 *P. syringae*를 준 유충에서는 세균이 거의 분리되지 않았다. 한편 얼음핵활성세균인 *Er. ananas*를 준 경우에는 랭각점과 분리세균수가 상관관계에 있었으며 분리세균수가 많은 개체일수록 랭각점이 높은 경향성을 나타냈다.

이로부터 유충의 랭각점은 곤충몸안의 얼음핵활성세균수와 상관이 있으며 유충장안에서 증식하는 *Er. ananas*와 증식하지 않는 *P. syringae*에서는 유충의 랭각점을 상승시키는 효과에서 큰 차이가 있다는것이 알려졌다. 다음으로  $-6^{\circ}\text{C}$ 에서의 얼어죽은 비율을 조사하였다. [8, 10] 얼음핵활성세균 *Er. ananas*를 준 구에서는 저온접촉 2h사이에 약 50%의 개체가 얼어죽었으며 18h 저온접촉에서는 약 80%의 개체가 얼어죽었다. 한편 멸균증류수를 준 구에서 죽은 개체수는 약 20%미만이었는데 이로부터 명백하게 얼음핵활성세균에 의하여 얼어죽은 비율이 증가한다는것이 밝혀졌다. 얼음핵활성세균인 *P. syringae*를 준 구에서 얼어죽은 개체수는 약 36%로서 얼어죽은 비율은 크게 증가하지 않았다. 이러한 결과로부터 *Er. ananas*는 뽕나무멸구유충에서 정착하고 증식하며 유충의 추위견딜성을 효과적으로 저하시킨다는것이 명백해졌다.

#### 4. 얼음핵활성유전자를 도입한 곤충정착세균의 리용

얼음핵활성세균인 *Er. ananas*가 곤충의 추위견딜성을 효과적으로 낮춘다는것이 밝혀졌는데 *Er. ananas*는 식물의 잎면우에서 생존하는 세균으로 알려져있으므로 야외산포 등을 하면 식물에 대해 서리얼굴피해를 일으킬 위험성이 있다. 따라서 곤충몸안에서만 증식하고 식물체우에서 증식하지 않는 얼음핵활성세균을 리용하는 방법이 작물 등에 주는 영향을 최소한 줄일수 있다고 보고있다.

유감스럽게도 곤충의 장안정착세균에 대한 연구가 깊이 진행되지 않은데도 있지만 현재까지 그러한 세균은 발견되지 않았다. 그러나 얼음핵활성능력은 얼음핵활성유전자의 지배를 받으며 이 유전자가 도입된 세균은 얼음핵활성능력을 획득하므로 곤충에만 정착하고 증식하는 세균에 이 유전자를 도입하면 곤충장안에 정착하고 증식할수 있는 새로운 얼음핵활성세균을 만들어내는것은 가능하다. 그리하여 누에장안에 증식하고 정착한다는것이 밝혀진 *Er. ananas*와 *Ent. cloacae*에 대하여 식물잎면에 대한 친화성을 조사하였다. [8, 10] 대표적인 식물잎면세균인 *P. syringae*나 *Er. ananas*는 건조조건후의 습기조건에서 증식하며 건조조건전까지 세균수가 회복된다는데로부터 친화성이 높다는것이 밝혀졌다. 한편 *Ent. cloacae*는 건조조건후의 습기조건에서 증식하는데 건조조건전까지의 세균수까지 회복되지 않았다는데로부터 친화성은 그리 높지 않다고 볼수 있다. 이러한 결과로부터 *Ent. cloacae*는 식물잎면우에서는 그리 증식하지 않는다는것이 밝혀졌다. 그리하여 이 세균에 얼음핵활성유전자를 도입한 새로운 얼음핵활성세균을 만들고 해충피해방지효과를 검토하였다. [10, 11] 우와 같은 방법으로 얼음핵활성유전자를 도입한 *Ent. cloacae*를 뽕나무멸구유충에 처리하고 유충의 랭각점을 측정하였을 때 처리 후 3일만에는  $-3.3^{\circ}\text{C}$ 로서 멸균증류수를 준 유

충보다 8°C, *Er. ananas*를 준 유충보다는 1.4°C 높아졌다. 이 랭각점의 상승은 적어도 9일까지 안정하게 유지되었다. 더우기 -5°C에서 18h동안 저온접촉한 때 얼어죽은 개체수 및 죽은 개체수를 측정했을 때 *Ent. cloacae*를 준 유충은 저온접촉 2h만에 약 60%가 얼었고 18h 후에는 모든 개체가 얼어죽었다. 한편 멸균증류수를 준 유충에서는 저온접촉 18h후에도 얼어죽은 개체는 없고 모든 유충이 살아있었다. 이상과 같이 얼음핵활성유전자를 도입한 *Ent. cloacae*는 *Er. herbicola*이상으로 강한 생물방어활성을 가진다는것이 밝혀졌다.

## 맺 는 말

얼음핵활성세균을 리용한 해충피해방지방법은 겨울의 얼점아래로 되는 때에 세균의 얼음핵활성능력에 의하여 곤충을 얼구어죽이는 방법이므로 이 생물학적방지방법을 야외에서 리용하려는 경우에는 자연조건에 의존하게 된다. 따라서 겨울기온이 평하로 되는 랭한지대에서 리용되어야 한다. 또한 얼음핵활성세균은 곤충이 활동하는 시기에 처리하는것이므로 겨울이 오기 전까지의 기간 세균이 곤충몸안에서 유지되어있어야 할 필요가 있다. 예비실험단계에 있지만 처리후 약 4개월간 시험세균이 뽕나무멸구유충의 몸안에서 유지되고 그 랭각점은 대조와 비교하였을 때 약 10°C 높아진다는데로부터 오랜 기간 안정된 효과를 기대할수 있는가 하는 문제도 있다. 또 많은 곤충은 번데기 또는 성충단계에서 겨울을 나기때문에 번데기나 성충에 얼음핵활성세균을 정착시키는 방법에 대해서도 검토할 필요가 있다. 곤충장안정착세균은 여기에서 본 세균이외에도 많은 종의 세균이 존재한다고 보고있으며 그중에는 공생세균과 같이 숙주특이성이 매우 높은것도 많이 존재한다. 특정한 곤충에만 정착하여 증식하는 세균에 얼음핵활성유전자를 포함한 해충피해방지관련유전자를 도입하면 선택적으로 해충피해를 방지하는 세균을 만들어낼수 있으며 생태계에 미치는 영향도 적을것으로 보고있다. 앞으로 이 부문에 대한 연구가 심화되어 각종 곤충에 정착하여 살수 있는 세균상을 밝히는것과 함께 곤충의 장안정착과 관련한 인자들이 해명되면 보다 강력한 미생물방지제가 개발되리라고 본다.

## 참 고 문 헌

- [1] P. G. Fields et al.; Environ. Entomol., 45, 470, 2016.
- [2] R. L. Green et al.; Nature, 345, 645, 2013.
- [3] S. E. Lindow et al.; Annu. Rev. Phytopathol., 54, 363, 2016.
- [4] L. R. Maki et al.; Appl. Microbiol., 58, 456, 2004.
- [5] J. M. Gunderson et al.; J. Insect Physiol., 56, 153, 2010.
- [6] K. Takahashi et al.; Ann. Phytopathol. Soc. Jpn, 67, 28, 2011.
- [7] K. Watanave et al.; Curr. Microbiol., 52, 201, 2013.
- [8] K. Watanave et al.; Cryobiology, 51, 289, 2012.
- [9] K. Watanave et al.; J. Invertebr. Pathol., 83, 104, 2010.
- [10] K. Watanave et al.; J. Appl. Microbiol., 98, 91, 2010.
- [11] K. Watanave et al.; J. Appl. Microbiol., 103, 104, 2015.

## **A Tendency to Prevent of Insect Pests by Using Ice Nucleation-Active Bacteria**

*Kim Chol U*

To prevent insect pests by ice nucleation-active bacteria is a totally new method to repress the cold resistance of insect pests by fixing ice nucleation materials in or on insect body. This article shows recent research results of a new insect prevention method to use insect intestine-fixed bacteria among ice nucleation-active bacteria.

Keywords: ice nucleation-active bacteria, insect pests