

국내에서 생산된 *Bacillus thuringiensis* 살충제의 특성

길미라 · 김다아 · 최수연 · 백승경 · 김진수 · 김대용 · 황인천¹ · 유용만*

충남대학교 농업생명과학대학 응용생물과, ¹(주)경농 중앙연구소

(2007년 7월 20일 접수, 2007년 9월 12일 수리)

Characterization of Biopesticides (*Bacillus thuringiensis*) Produced in Korea

Mi-Ra Kil, Da-A Kim, Su-Yeon Choi, Seung-Kyoung Paek, Jin-Su Kim, Da-Yong Jin², In-Chon Hwang¹ and Yong-Man Yu* (Dept. Applied Biology, College of Agriculture and Life Sciences, Chungnam National University, Daejeon, 305-764. Korea, ¹Central Research Institute, Kyung Nong Co., Gyeong-ju, Koera)

Abstracts : Characteristics of the 5 biopesticides that included *Bacillus thuringiensis* and on the domestic markets were investigated. These products were contained different strains of *B. thuringiensis*, for examples; product A and E was *B. thuringiensis* subsp *aizawai*; product B was *B. thuringiensis*; product C was *B. thuringiensis* Berline var. *kurstaki*; product D was *B. thuringiensis* var. *kurstaki*. Number of active spores were counted because they could influence the bio-activity against target pests. Only product C are contained the fixed quantity as its label, however, product D and E were a tenth part, and product A and B were a hundredth part of their descriptions. The pHs of product A and B were measured 3.67 and 3.73, and C, D and E were 5, respectively. Typical bypyramidal crystals produced from *B. thuringiensis* was found in only product C under a phase contrast microscope. For the uniform formulation of products that conformed whether *B. thuringiensis* were equally spreaded on the crops, *B. thuringiensis* in the C, D and E were equally grown on the nutrient agar medium. As a results, product A were more different from product C than any other products. When product A and C were bioassayed against different larval stages of diamondback moth, their mortalities with spraying application were showed 100% after 48 hours.

Key Words : Biopesticides, *Bacillus thuringiensis*, Bypyramidal crystals, Activity

서 론

Bacillus thuringiensis(이하 *Bt*)는 죽은 누에로 부터 Ishiwata(1901)에 의해서 처음 발견되었다. 그 이후 *Bt*의 발견은, 곤충의 사체(Ishiwata 1901; Berliner 1915), 토양(DeLucca et al. 1981), 양잠(Ohba et al. 1984), 저장작물(DeLucca et al. 1982), 식물체의 잎 표면(Smith & Couche 1991), 그리고 연못(Goldberg & Margalit, 1977)등에서 분리 보고 되었다. 이것으로 *Bt*가 어떤 특정 지역에만 존재하는 것이 아니고 곤충이 서식할 수 있는 곳이면 세계의 다양한 지역의 장소에서 널리 분포하고 있다는 것을 알 수 있다(Ohba & Alzawa,

1986; Martin & Travers, 1989; Karamanlidou et al. 1991).

*Bt*는 그람양성세균으로 나비목, 딱정벌레목 및 파리목 곤충 등에 생물적 효과를 나타내는 특이성이 있다(Ohba et al., 1988; DeLucca et al. 1982; Kim et al., 1995; Tamez-Guerra et al., 2004). *Bt*가 생산하는 살충성 독소 단백질은 bipyramidal, spherical-amorphous, flat squares, cubic 그리고 bar-shaped로 총 5개의 morphological type으로 분류되어진다. Bipyramidal과 cubical crystal은 나비목에, spherical과 bar-shaped crystal은 모기에, flat squares crystal은 딱정벌레목에 일반적으로 활성을 나타낸다. 다양한 살충적 단백질들이 보고되었음에도 불구하고, 여전히 새로운 살충성을 갖는 새로운 크리스탈 단백질들이 보고되어지고

* 연락처자 : Tel: +82-42-821-5763, Fax: +82-42-823-8679
Email: ymyu@cnu.ac.kr

있다(Graciela B *et al.*, 2000). 살충적 단백질의 활성범위는 일반적으로 한 종의 곤충에 대하여 독성을 나타내는 것이 많이 보고되고 있지만 어떤 것들은 나비목과 파리목의 양쪽에 효과를 나타내는 *Bt* 균주도 보고되어 있다(Lee *et al.*, 2001). 이러한 다양한 곤충 목에 대한 살충적 활성은 *Bt*가 생물적 방제에 있어서 믿을 수 있는 미생물약제라 것을 보여준다. (Mizuki *et al.*, 1998)

세계적으로 *Bt*를 이용하여 출시된 제품들에는 Gomelin, Bactospeine(*Bt thuringiensis*), Dendrobacillin(*Bt dendroliomus*), Thuricide, Dipel, Bathurin82'S' (*Bt kurstaki*), Thuricide90TS(*Bt galleriae*)등이 있다 (Travis *et al.*, *Bacillus thuringiensis: Biology, Ecology and Safety*). 이들 *Bt*로 만들어진 제품들은 유럽 옥수수 나 무좀벌레인 *Ostrinia nubilalis*와 같은 다양한 나비목을 방제하기 위해 1920년대부터 사용되어져 왔다(Raum *et al.*, 1963; McWhorter *et al.*, 1972; Fangneng *et al.*, 2001).

우리나라 제품에는 솔빛채, 토박이, 그물망, 슈리사이드, 솔빛8호가 있으며, 이것들은 나비목해충인, 배추좀나방, 잎말이명나방, 솔나방, 파좀나방, 사과굴나방, 작은각시들명나방 등을 방제하기 위해 만들어졌다. 특히, 이들 해충 중에서도, 세계적으로 배추, 양배추, 유채, 케일 등 십자화과 작물에 피해를 주는 해충의 하나인 배추좀나방이 가장 많이 등록되어 있다 (Talekar *et al.*, 1993; Idris *et al.*, 2004).

*Bt*의 살충성 독소 단백질은 감수성 곤충 중장의 alkaline에 의해서 분해가 되어 살충력을 보이기 때문에 (Gary *et al.*, 1993) pH는 살충적 독소 단백질에 영향을 주는 중요한 요소 중의 하나이다.

따라서 우리는 국내에서 시판되고 있는 *Bt*를 이용한 미생물 농약으로서의 특성을 조사하여서 더 효율적인 제품을 만드는데 정보를 제공하고자 실험을 실시하였다.

재료 및 방법

제품의 활성포자수 및 pH의 측정

시장에서 판매되고 있는 5종류의 제품 (A제품: *Bacillus thuringiensis* subsp *aizawai*, B제품: *B. thuringiensis*, C제품: *B. thuringiensis* Berline Variety *kurstaki*, D제품: *B. thuringiensis* var *kurstaki*, E제품: *B. thuringiensis* subsp *aizawai*)을 구입하여 본 실험에 사용하였다. 멸균수 1.8 mL에 미생물 농약 0.2 mL는 2

g)을 넣고 3분 정도 초음파 처리한 후 희석하여 nutrient agar(NA)배지에 희석액에 따라 0.3 mL점종 후 도말하고, 27°C에서 24시간 배양하여 콜로니 수를 확인하였다. 시판되고 있는 미생물농약의 pH를 측정하기 위하여, 수화제는 증류수와 1:1의 비율로 섞은 후 조사하였다.

위상차현미경과 전자현미경하의 독소단백질의 형태 및 제품의 균일도 관찰

제품에 포함되어 있는 독소단백질의 형태를 관찰하기 위해서 위상차 현미경과 전자현미경을 이용하여 제품의 특성을 조사하였다. 각 제품의 독소단백질의 특징적인 부분을 현미경 상에서 사진으로 찍고, 표준 *Bt. kurstaki*의 독소단백질과 비교하였다. 시판제품의 제형상의 균일도를 확인하기 위하여 클린벤치 안에서 분무기로부터 50 cm 떨어진 지점에 NA배지를 놓고 그 배지를 중심으로 앞, 뒤에 NA배지를 놓은 후, 총 3개의 NA배지에 분무기로 3번 분무한 후 27°C에서 24시간 배양 후 배지 상에 형성된 콜로니의 확산 결과를 관찰하였다.

생물검정

실험실에서 배추 잎으로 누대 사육하고 있는 배추좀나방(*Plutella xylostella*) 유충은 시판되고 있는 미생물 농약의 독성을 검정하기 위해서 사용되었다. 먹이로 사용한 유기농 배추를 깨끗하게 씻어서 물기를 말린 후 Petridish(90 mm)의 1/2크기로 자른 잎들은 각각 농약들에 기재된 농도로 희석한 것에 10~15초 동안 담근 후, 실험실 온도에서 3~4시간 정도 건조를 시켰다. 건조시킨 잎들은 물을 묻힌 필터페이퍼가 깔린 Petridish에 놓고, 배추좀나방 2~3령을 한번에 10마리 넣고 3반복으로 실시하였다. 생물농약에 의한 효과 검정은 24시간, 48시간, 72시간 후에 사충율을 기록하였다. (Tabashink *et al.*, 1994; Mohan *et al.*, 2002; Kumar *et al.*, 2004)

결과 및 고찰

최근에 생활이 윤택해지면서 소비자의 농산물에 대한 안전성 요구가 증가 하는 실정이다. 이에 따라서 친환경 농업이 육성되어 친환경 농자재가 급격히 증가하고 다양하게 사용되고 있으나 효과적 측면에서 다소 미흡한 결과를 나타내고 있다. 특히 생물농약에 의한 해충방제의 효과를 증진시키기 위해서는 살포방

Table 1. List of products contained *Bacillus thuringiensis* used in this study

Products	<i>Bacillus thuringiensis</i> strain	Formulation	Target insect	
			Scientific name	Korean Name
A	<i>B. thuringiensis</i> subsp <i>aizawai</i> GB ₄₁₃	SC	<i>Plutella xylostella</i> , <i>Pyrausta napanoealis</i>	배추좀나방 들깨잎말이명나방
B	<i>B. thuringiensis</i>	SC	<i>Lepidopteran larva</i> <i>on Chinese cabbage and lettuce</i>	배추, 상추 등의 청벌레 유충
C	<i>B. thuringiensis</i> Berline Variety <i>kurstaki</i> (serotype IIIa, IIIb)	WP	<i>Dendrolimus spectabilis</i> , <i>Hyphantria cunea</i> , <i>Plutella xylostella</i> , <i>Pseudaletia separata</i> , <i>Stathmopoda masinissa</i> , <i>Phyllonorycter ringoniella</i> , <i>Acrolepiopsis sapporensis</i> , <i>Palpita indica</i>	솔나방, 미국흰불나방, 배추좀나방, 멸강나방, , 감꼭지나방, 사과굴나방, 파좀나방, 목화바둑명나방
D	<i>B. thuringiensis</i> var <i>kurstaki</i> (serotype IIIa, IIIb)	WP	<i>Dendrolimus spectabilis</i> , <i>Hyphantria cunea</i> , <i>Plutella xylostella</i> , <i>Pseudaletia separata</i> , <i>Stathmopoda masinissa</i> , <i>Phyllonorycter ringoniella</i> , <i>Acrolepiopsis sapporensis</i> , <i>Palpita indica</i>	솔나방, 미국흰불나방, 배추좀나방, 멸강나방, , 감꼭지나방, 사과굴나방, 파좀나방, 목화바둑명나방
E	<i>B. thuringiensis</i> subsp <i>aizawai</i> NT0423	WP	<i>Plutella xylostella</i>	배추좀나방

Table 2. Compared the number of active spores in each product

Products	No. of activity spores of products	No. of activity spores by experiment
A	1.0×10^7 cfu ^{a)} mL ⁻¹	0.48×10^5 cfu mL ⁻¹
B	1.0×10^7 cfu mL ⁻¹	0.39×10^5 cfu mL ⁻¹
C	30×10^6 active spores mg ⁻¹	1.2×10^6 active spores mg ⁻¹
D	30×10^6 active spores mg ⁻¹	2.8×10^5 active spores mg ⁻¹
E	1.0×10^9 cfu g ⁻¹	0.18×10^7 cfu g ⁻¹

^{a)}crystal formation unit.

법, 해충의 발생장소에 의한 살포시기, 기상조건 및 사용농자재의 종류가 약효의 효과를 나타내는데 중요하다. 이에 본 연구에서는 제품의 약효 측면에서 영향을 미칠 수 있는 몇 가지를 시험하였다. 따라서 국내에서 시판되고 있는 *Bacillus thuringiensis* (Bt)를 주원료 한 생물농약 5개를 선정(Table 1)하여 몇 가지 특성을 조사하였다. 제품에 포함되어 있는 활성포자수, 제품의 pH, 위상차현미경과 전자현미경을 이용한 독소 단백질의 형태, 살포에 의한 제형의 균일도 및 등록되어 있는 배추좀나방에 대한 생물활성을 조사하였다.

각 제품에 포함되어 있는 활성포자의 수 및 생태가 생물효과를 좌우하기 때문에 표기 되어있는 숫자는 상당히 중요한 의미를 가지고 있다. 이 숫자는 유효

기간동안 변함없이 유지하여야만 제품으로서 역할을 다할 수가 있다. 따라서 활성포자가 포장의 숫자대로 포함 되어 있는지 확인하기 위해서 활성포자수를 조사한 것이 Table 2에서 볼 수 있다. 5개의 제품 중 A 제품에 표시되어 있는 1.0×10^7 cfu mL⁻¹ 균수가 활성포자실험에 의하여 나타난 균수는 0.48×10^4 cfu mL⁻¹로서 약 100배로 감소되었음을 알 수가 있었다. 이러한 결과는 포장에서 해충의 수를 억제하는 데 상당한 문제를 초래할 수가 있다. 또한 B제품의 경우에도 표기에는 1.0×10^7 cfu mL⁻¹ 균수이었으나 실제 들어 있는 균수는 0.39×10^4 cfu mL⁻¹로 나타나 이것도 A의 경우와 유사한 결과를 초래하였다. 한편 제형이 다른 수화제의 경우인 D 제품은 약 10배의 균수가 감소되었음을 알 수가 있었다. 이번 실험에서 정상적인 결

Table 3. Measured the pH of each product

Product	pH of product
A	3.74
B	3.65
C	5.78
D	5.78
E	5.08

과를 나타낸 C제품은 포장에 기록된 균수와 유사한 경향으로 확인하였다. 이러한 균수의 감소로 인한 차이가 제품의 활성에 영향을 줄 수 있기 때문에 철저한 제형의 개발이 요구된다.

제품을 살포했을 때 농약의 표면에 균일하게 부착하는 것은 생물효과에 좋은 효과를 나타낸다. 제품에서 제형에 의한 내용물이 균일하지 못하면 옆면에 살포 되었을 때 해충에 골고루 섭취되지 못하기 때문에 약효가 일정하고 정확하지 못하게 나타날 경우가 있다. 따라서 시판제품의 균일도는 중요하다. 옆면에 직접 살포하면 정확하게 골고루 퍼지는 현상을 관찰할 수가 없었기 때문에 옆면으로 가상의 NA배지 상에 살포하고 균의 증식상태를 관찰 하였다. 그 결과, 제품에 표기된 활성포자수와 실제로 조사에 의하여 포함하고 있는 활성포자수의 차이가 가장 적은 C제품이 NA배지에서 가장 균일하게 균이 자란 것을 볼 수가 있었고, 차이가 가장 많았던 A·B제품에서 균들

이 배지 상에서 이곳저곳으로 편중되고 불균일할 뿐만 아니라 몇 개씩의 균주가 뭉쳐서 자라나는 것을 확인 할 수가 있다. 이는 제품의 균일도가 떨어지는 것을 나타낸다. 따라서 확산성이 불량하므로 양질의 계면활성제의 선발 등으로 품질을 개선 할 필요가 있다. 그리고 D·E제품도 배지에서 균일하게 자란 것을 확인 할 수 있었지만, 먼 거리에 있던 배지를 C제품의 배지와 비교해 보면, 미미하지만, C제품이 더 뽀뽀하고 정밀하게 균이 자란 것을 확인 할 수 있었다 (Fig. 1).

*Bt*가 만들어 내는 살충성 독소단백질은 중성(pH 5.5-8.5)에서 안정적인 조건으로 알려져 있다(Bernhard & Utz, 1993). 이러한 독소단백질은 강한 알칼리성이나 산성에서 불안정하여 변성되기 쉽다. 그러므로 pH는 *Bt*에서 생산되는 독소 단백질의 활성을 유지시키는데 매우 중요한 요소 중의 하나이다(Rowe & Margaritis, 1994; Rodriguez & De La Torre, 1996). 따라서 각 제품의 pH를 측정하여서 안정성을 조사한 결과, A, B 제품의 pH가 각각 pH 3.67, pH 3.73으로 나타났고, 나머지 3개 제품은 약 pH 5.0로 나타났다 (Table 3).

또한 이러한 pH에 의한 *Bt*에서 생산되는 독소 단백질의 외형상의 손실을 관찰하기 위하여 제품에 포함된 독소 단백질의 모습을 위상차 현미경으로 관찰에서 pH가 높은 A와B 제품의 이중 크리스탈 독소 단백

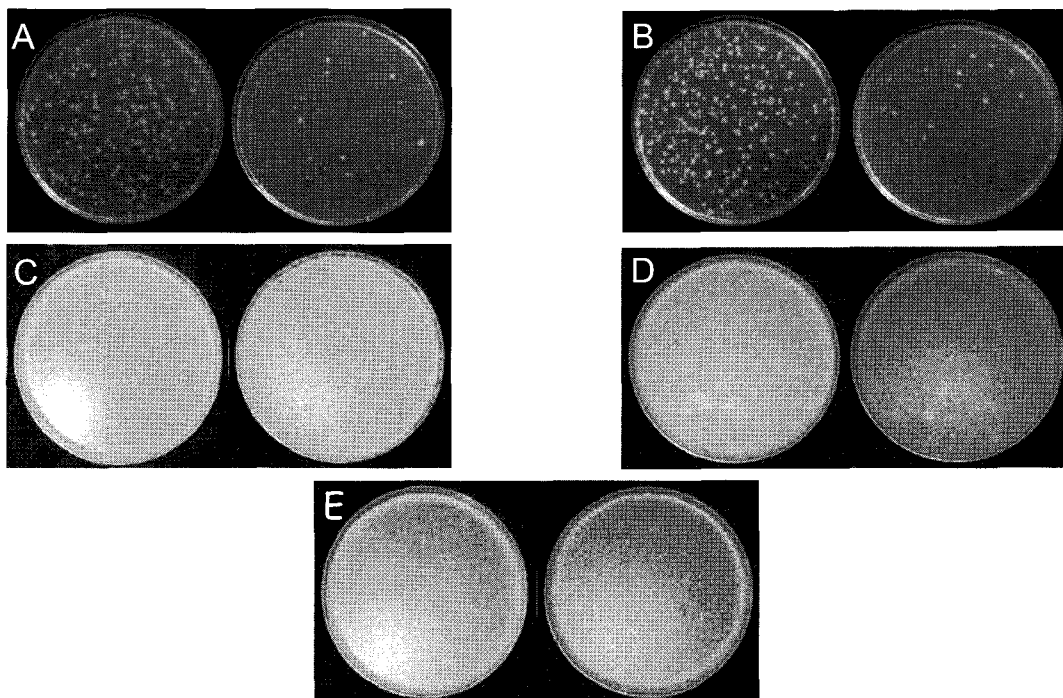


Fig. 1. Photos show colonies of products on the nutrient agar medium. A-E means the name of each product

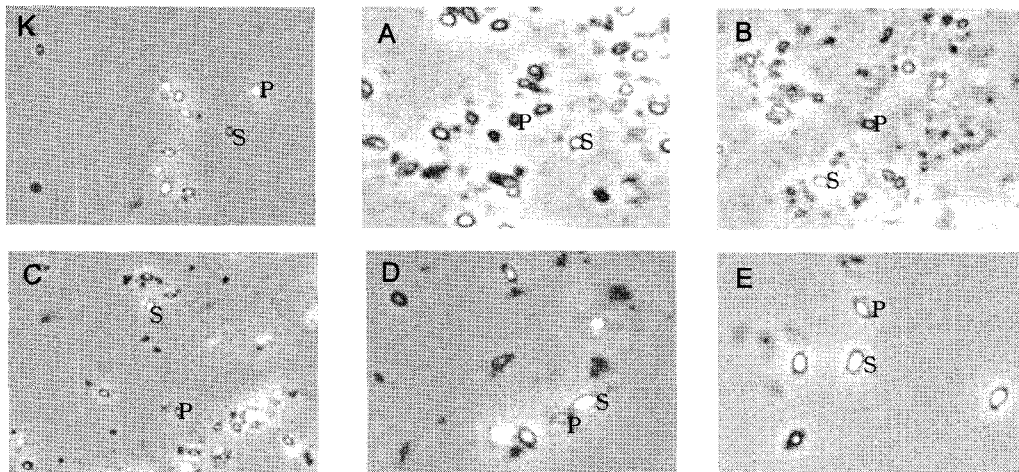


Fig. 2. Phase-contrast photographs show spores (S) and parasporal inclusions (P) on the nutrient agar medium with sporulated cultures. K is the typical forms of spore and parasporal inclusion from *B. thuringiensis* subsp *kurstaki*. A-E means the name of each product.

질의 모서리가 심하게 마모되어 둥근 형태로 관찰할 수 있었고, 반면, C제품에서는 *Bt*의 전형적인 결정체 독소 단백질을 확인할 수 있었다(Fig. 2).

보다 확실한 모양을 관찰하기 위해서 A제품의 독소 크리스탈 단백질을 전자현미경으로 확인하였다.

Fig. 3에서 볼 수 있는 걸같이 *Bt kurstaki*에서는 뚜렷한 biopyramidal 모습(a)을 볼 수 있었지만, A 제품은 독소 단백질들이 용해되어서 서로 엉켜있거나(c), 각 모서리 부분이 마모되어있는 것(d)으로 관찰 되었다. 그러나 드물게 정상적인 크리스탈 단백질(b)의 모양

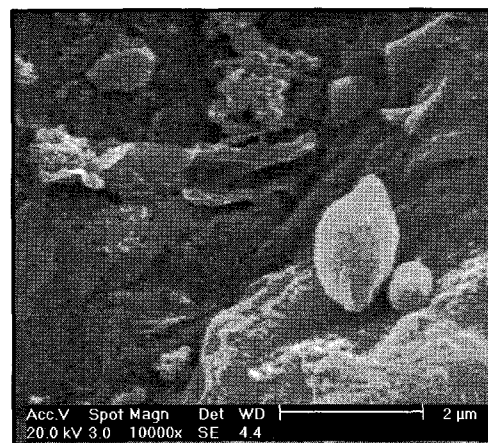
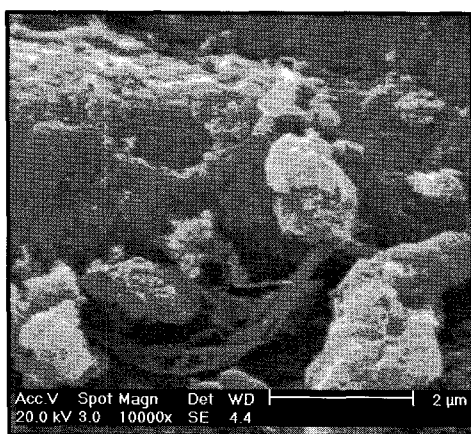
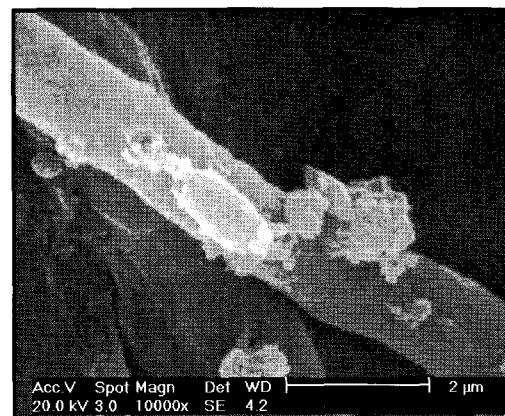
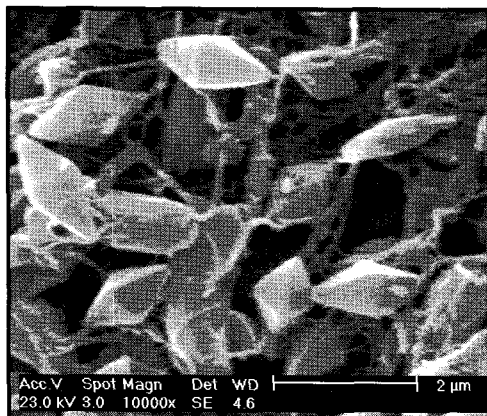


Fig.3. Electron micrographs show parasporal inclusions of *Bacillus kurstaki* HD-14 (a) and *Bacillus thuringiensis* subsp *aizawai* (A product) (b),(c),(d).

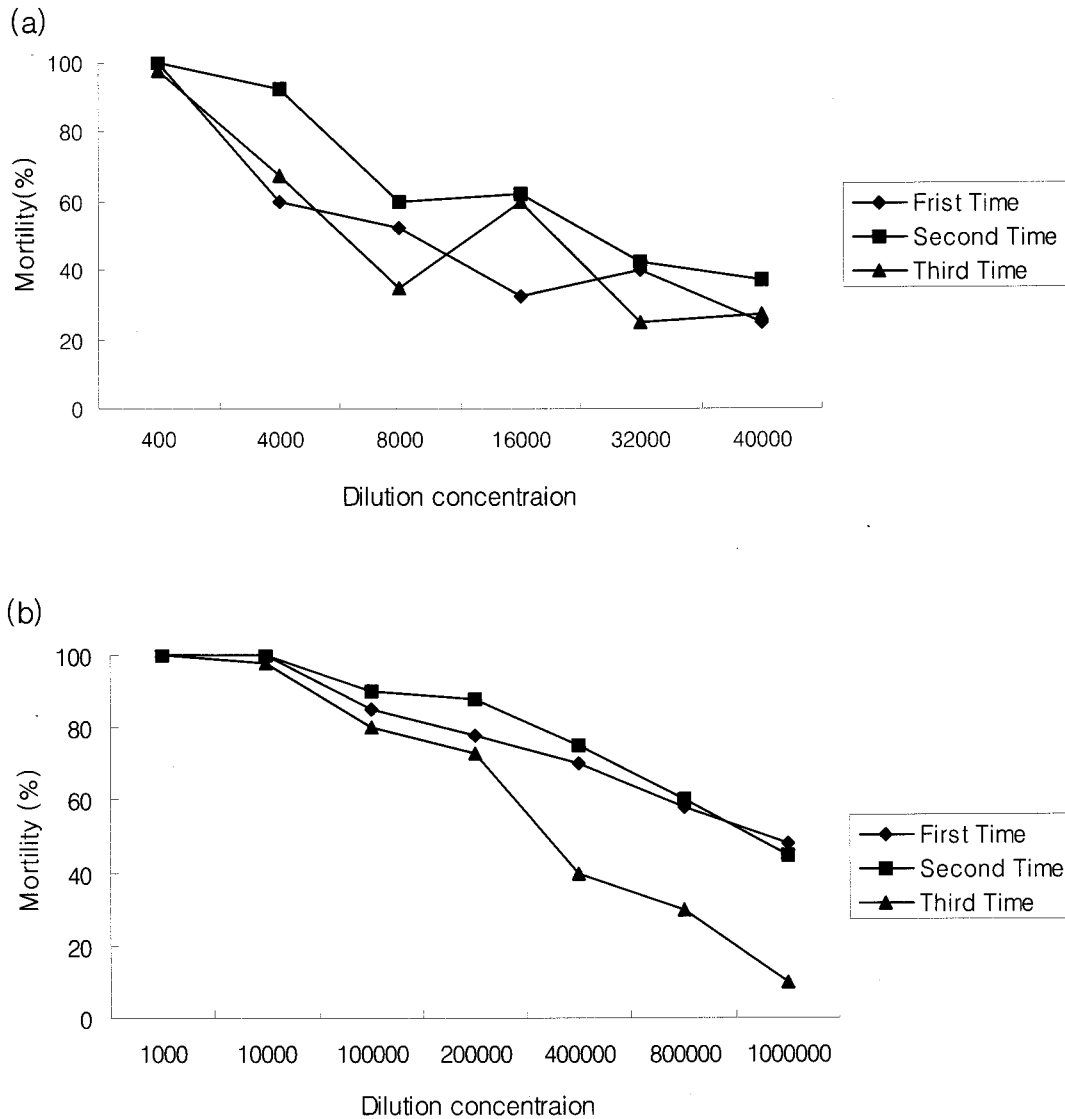


Fig.4. Mortalities of biopesticide A (a) and C (b) against larva of diamondback moth. Bioassayes were carried out 3 replicates.

도 볼 수 있었다. 이것은 산성의 작용이 독소 단백질의 모서리를 마모시키고 녹인 것이 주된 원인으로 사료된다. 이러한 4가지의 실험을 통하여 *Bt* 제품은 감수성인 배추좀나방 유충의 사충률에 대하여 어떠한 영향을 미치는지를 확인하였다. 생물효과에 영향을 미칠 수 있는 제품의 특성에서 큰 차이를 보인 'A'와 'C' 제품으로 이들의 적용대상 해충인 배추좀나방 유충으로 생물검정을 실시하였다(Fig. 4).

그 결과, 두 제품 모두 48시간 이후 무처리구에서 사충율은 5% 미만이었으며, 추천 농도에서 모두 100% 사충율을 보였다. 그러나 'C' 제품의 경우에는 일반적인 *Bt* 제품에서 같이 24시간 후 검정에서 90% 이상

의 사충율을 보였으며 추천 사용농도의 100배의 희석액에서도 80%이상의 사충율을 보였으며 1000배 까지도 약 40%의 사망률로 나타났다. 그러나 "A" 제품에서는 추천농도 보다 10배 희석시 방제효는 70%정도이며 200배에서는 거의 사용할 수 없는 정도로 되었다. 따라서 이러한 결과는 야외의 다양한 조건하의 포장에서 사용할 때에 일정한 방제효를 얻기가 쉽지 않을 것으로 사료된다.

그리고 3반복의 실험결과에서 높은 농도 보다 낮은 곳에서 더 많은 개체군이 죽는 부분을 확인 할 수 있었는데, 이러한 결과는 균의 수가 부족하고 균일도가 일정하지 못하였기 때문에 나타날 수 있다고 생각되

어진다. 또한, 본 실험에서 사용된 배추좀나방의 경우 야외 채집하여 실내에서 계대 사육한 결과로 A 제품의 특성이 불합리함에도 불구하고, 추천농도에서 높은 사충성을 보인 것으로 사료된다. 따라서 더 확실한 Bt 제품의 품질을 확인하기 위해서는 야외 포장의 조건에서 다양한 실험을 하는 것이 필요하다. 생물농약의 경우 포장에서의 기후조건, 작물 및 대상해충의 발생소장 등에 따라서 방제효과가 민감하게 나타나는데 특히 제품의 품질에 따라서도 많은 영향을 미치게 되므로 유통과정의 제품의 안정성에 많은 주의가 요구된다.

감사의 글

이 논문은 2005년 산업자원부의 정밀화학 기반기술 개발사업 연구비 지원에 의하여 수행되었습니다.

인용문헌

- Bernhard, K. and R. Utz (1993) Production of *Bacillus thuringiensis* insecticide for experimental and commercial uses. in: *Bacillus thuringiensis*, An Environment Biopesticide, Theory and Practice, eds. Entwistle, P.F., Cory, J.S., Bailey, M.J. & Higgs, S. pp.255~267. Chichester: John Wiley and Sons Ltd. ISBN 0471933066.
- Berliner, E (1915) Uber die schlaffsucht der Mehlmottenraupe (*Ephestia euhnella* Zell) und ihre Erreger *Bacillus thuringiensis* n.sp. zeitschrift fur Angewandte Entomology 2:29~139.
- Bruce, E., T. N. Finson, M. W. Johnson and D. G. Hecke (1994) Cross-Resistance to *Bacillus thuringiensis* Toxin Cry I F in the Diamondback Moth (*Plutella xylostella*). Appl. Environ. Microbiol. 46:27~4629.
- DeLuca, A J., H. J. G. Simonson and A. D., Larson (1981) *Bacillus thuringiensis* distribution in soils of the United States. Can. J. Microbiol. 27:865~870.
- DeLuca, A. J., M. S. Palmgren and A. Ciegler (1982) *Bacillus thuringiensis* in grain elevator dusts. Can. J. Microbiol. 28:452~456.
- Fangneng H., L. L. Buschman and R. A. Higgins (2001) Larval feeding behavior of Dipel-resistant and susceptible *Ostrinia nubilalis* on diet containing *Bacillus thuringiensis* (Dipel ESTM). Entomol. Experi. Applic. 98:141~148
- Gary R. W. and T. G. Benoit (1993) Alkaline pH Activate *Bacillus thuringiensis* Spores. J. Invertebr. Pathol. 62:87~89.
- Golcberg, L. J. and J. Margalit (1977) A bacterial spore demonstration rapid larvicidal against *Anopheles serengotii*, *Uranotaenia unguiculata*, *Culex univittatus*, *Aedes aegypti* and *Culex pipiens*. Mosq. News. 37:355~358.
- Graciela B., B. J. E. Lozbez-Meza, G. Cozzi, C. F. Piccinetti, and J. E. Ibarra. (2000) Characterization of INTA 51-3, a New Atypical Strain of *Bacillus thuringiensis* from Argentina. Microbiol. 41:369~401.
- Idris, A. B., Husaan. A. K. and M. T. Siti Hajar (2004) Responses of Three Strain of Diamondback Moth, *Plutella xylostella*(L.) on *Bacillus thuringiensis* var. *aizawai* and Fipronil. J. Asia-pacific Entomol. 7(1): 113~117
- Ishiwata, S. (1901) On a kind of sever flacherie (sotto disease) Dainihon Sanshi Kaiho, 9:1~5.
- Karamanlidou, G., A. F. Lambropoulos, S. I. Koliais, D. Ellar and C. Kastritis (1991) Toxicity of *Bacillus thuringiensis* to laboratory populations of the Olive fruit fly(*Dacus oleae*). Appl. Environ. Microbiol. 57:2277~2282.
- Kim H. S., H. W. Park, D. W. Lee, Y. M. Yu, J. I. Kim and S. K. Kang (1995) Distribution and Characterization of *Bacillus thuringiensis* isolated from soils of sericulture in Korea. Korea J. Seric. Sci. 37(1):57~61.
- Lee, I. H., Y. H. Je, J. E. Chang, J. Y. Roh, H. W. Oh, S. G. Lee, S. C. Shin and K. S. Boo (2001) Isolation and characterization of a *Bacillus thuringiensis* ssp. *kurstaki* strain toxic to *Spodoptera exigua* and *Culex pipiens*. Microbiol. 43:284~287.
- Martin, P. A. W. and R. S. Travers (1989) Worldwide abundance and distribution of *Bacillus thuringiensis* in an Animal Feed Mill. Appl. Environ. Microbiol. 55:2437~2442.
- McWhorter, G. M., E. C. Berry and L. C. Lewis (1972) Control of the European corn Borer with two varieties of *Bacillus thuringiensis*. J. Economic Entomology 65:1414~1417.
- Mizuki, E., M. Ohba, T. Akao, S. Yamashita, H. Saitoh

- and Y. S. Park. (1999) Unique activity associated with non-insecticidal *Bacillus thuringiensis* parasporal inclusions: in vitro cell-killing action on human cancer cells. *J. Appl. Microbiol.* 86:477~486.
- Mohan, M. and G. T. Gujar (2002) Characterization and comparison of midgut proteases of *Bacillus thuringiensis* susceptible and resistant diamondback moth (Plutellidae: Lepidoptera). *J. Invertebr. Pathol.* 82:1~11.
- Ohba M., K. Aizawa and S. Sudo (1984) Distribution of *Bacillus thuringiensis* in sericultural farms of fukuoka prefecture, Japan. *Proc. Assoc. Plant Prot. Kyushu* 30:152~155
- Ohba, M and K. Aizawa. (1986) Distribution of *Bacillus thuringiensis* in soil of Japan. *J. Invertebr. pathol.* 42:12~20.
- Ohba, M., Y. M. Yu and K. Aizawa. (1988) Occurrence of non-insecticidal *Bacillus thuringiensis* flagellar serotype 14 in the soil in Japan. *J. Invertebr. Pathol.* 47:12~20.
- Phani K. K. and G. T. Gujar (2004) Baseline susceptibility of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (Linnaeus) to *Bacillus thuringiensis* Cry1A toxins in India. *Crop Prote.* 24:207~212.
- Smith, R. A., and G. A. Couche (1991) The phylloplane as a source of *Bacillus thuringiensis*. *Appl. Environ. Microbiol.* 57:311~315.
- Talekar, N. S. and A. M. Shelton (1993) Biology, ecology, and management of the diamondback moth. *Annu. Rev. Entomol.* 38:275~301.
- Tamez-Guerra, P., Iracheta, M. M., Pereyra-Alferez, B., Galan-Wong, L. J., Gomez-Flores, R., Tamez-Guerra and R. S. C. Rodriguez-Padilla (2004) Characterization of Mexican *Bacillus thuringiensis* strains toxic for lepidopteran and coleopteran larvae. *J. invertebr. pathol.* 86:7~18.
- Travis R. G. and M. O'Callaghan. *Bacillus thuringiensis: Biology, Ecology and Safety.* John Wiley and Sons, LTD
- Raun, E. S. (1963) Corn borer control with *Bacillus thuringiensis* Berliner. *Iowa State Journal of Science.* 38:141~150.
- Rodriguez, M. M. and De La M. Torre (1996) Effect of the dilution rate on the biomass yield of *Bacillus thuringiensis* and determination of its rate coefficients under steady-state conditions. *Appl. Microbiol. and Biotechnol.* 45:546~550.
- Rowe, G. E. and A. Margaritis (1994) Endocellular fatty acid composition during batch growth and sporulation of *Bacillus thuringiensis kurstaki*. *J. fermentation and Bioengineering.* 77:503~507.

국내에서 생산된 *Bacillus thuringiensis* 살충제의 특성
길미라 · 김다아 · 최수연 · 백승경 · 김진수 · 김대용 · 황인천¹ · 유용만*

 충남대학교 농업생명과학대학 응용생물과, ¹(주)경농 중앙연구소

요약 : 국내에서 시판되고 있는 5개의 미생물농약(A제품 : *Bacillus thuringiensis* subsp *aizawai*, B제품 : *B. thuringiensis*, C제품 : *B. thuringiensis* Berline Variety *kurstaki*, D제품 : *B. thuringiensis* var *kurstaki*, E제품 : *B. thuringiensis* subsp *aizawai*)에 대한 특성을 조사하였다. 제품의 생물활성에 영향을 미칠 수 있는 활성포자수의 조사 결과, 각 각 제품에 표시되어 있는 숫자 보다 A·B제품은 약 100배, D·E 제품은 약 10배로 감소되어 나타났고, C 제품은 유사하게 나타나는 경향을 보였다. 5개 제품의 pH를 측정된 결과 A, B 제품은 각각 pH 3.67, pH 3.73으로 나타났고, 나머지 3개 제품은 약 pH 5로 나타났다. 위상차현미경으로 관찰된 독소단백질의 형태에서는 C제품이 *B. thuringiensis* 고유의 뚜렷한 이중피라미드모양의 독소단백질 모습을 갖고 있었다. 또한 전자현미경으로 관찰된 A제품에서는 이중피라미드모양이 심하게 마모되어있는 것을 확인하였다. 한편, *B. thuringiensis* 제품을 작물에 사용하였을 때 균일하게 도포되는지 여부를 확인하기 위하여 제형의 균일도를 조사하였다. 그 결과 C·D·E 제품은 NA배지에 균일하게 균이 배양되었고, A·B 제품은 NA배지 상에 균일성을 보이지 않았다. 제품상의 특성에서 가장 큰 차이를 보인 'A'와 'C'제품으로 배추좀나방 유충을 이용하여 생물검정을 한 결과, 두 제품 모두 추천 농도에서 48시간 이후 100% 사충율을 보였으나 'A'제품의 경우에는 희석 배수에 따라 사망률이 일정하지 않게 나타났다.

 색인어 : 미생물농약, *Bacillus thuringiensis*, 독소단백질, 생물활성
