

Bacillus thuringiensis 분리균의 증식과 내독소 생산

이주연 · 박갑주 · 이형환*
건국대학교 이과대학 생물학과

Growth and Production of Endotoxin of *Bacillus thuringiensis* Isolates

Lee, Joo-Yeon, Gap-Ju Park and Hyung-Hoan Lee*
Department of Biology, Konkuk University, Seoul 133-701, Korea

Abstract — Effects of the five fermentation media on the growth and the production of endotoxin of twenty-five *Bacillus thuringiensis* isolates were investigated. Among the five different media, the growth and the production of endotoxin of *B. thuringiensis* were highest in the M4 and M5 media containing high amounts of nitrogen and carbohydrate. But the production of endotoxin was highest in the M1 and M3 media containing high amounts of nitrogen sources limiting carbohydrate. The average number of endotoxin and growth (O.D.) in the M1 and M3 media were 4.4×10^7 /ml and 2.42 in M1 medium and 1.3×10^7 /ml and 1.46, respectively. The M1 medium contains 2% tryptose, 0.02% dextrose, 0.05% NaCl, 0.02% yeast powder, 0.025% NaHPO_4 . The M3 medium consists of 0.2% NaCl, 0.4% casein hydrolysate, 0.3% glycine, 0.4% polypeptone. The compositions of the M1 and M3 media were limited in carbohydrate sources and were high amounts in protein sources. The growth of the strain HL-34 was highest in the all media compared with the other strains, and the its growth (average O.D.) and the number of endotoxin were 2.52 and 5×10^7 /ml.

*Bacillus thuringiensis*는 살충력이 있는 외독소(β -exotoxin)(1-4)와 내독소(δ -endotoxin)(4-6)를 생산하며, 혈청형에 따라서 곤충에 대한 독성효과가 약간 다른 것으로 보고되어 있다(2, 6, 8, 9). 또한 *B. thuringiensis*균의 내독소 생산은 배양배지의 구성에 따라서 다를 수 있다는 보고도 있다(9-13). 배지의 성분을 달리하여 내독소의 생산능을 증가시킴으로써 경제성이 큰 배지를 개발하는 것은 살충제 제조에 필수적인 연구이다(12, 13, 20).

내독소의 생산에 영향을 줄 수 있는 질소원과 탄소원 및 minerals의 구성을 달리하여 이 성분들의 양에 따른 성장과 내독소의 생산을 조사하고자, M1 배지에서는 질소원과 탄소원을 사용했고, M2배지에서는 질소원은 줄이고 minerals를 첨가했으며, M3에서는 최소의 질소원만을 사용했고, M4에서는 질소원과 minerals의 영향을 조사했으며, M5에서는 최소의

질소원과 탄소원 및 minerals를 구성으로 한 배지를 사용하였다.

Lee 등(14-16)은 토양 등에서 새로운 *B. thuringiensis*균을 분리하였는데 이 균주들의 증식양상과 내독소생산조건을 연구하는 것이 필요하므로 본 연구에서는 새로 분리한 *B. thuringiensis*균들의 증식양상과 내독소 생산에 미치는 영향을 배지조성을 달리하여 연구한 것을 보고하고자 한다.

재료 및 방법

균주

본 실험에는 건국대학교 미생물학 실험실에 보관 중인 토양에서 분리한 *B. thuringiensis*균 중에서 누에와 모기 유충에 대해 높은 치사율을 나타내는 25균주(HL-14, HL-16, HL-25, HL-33, HL-34, HL-38, HL-39, HL-40, HL-44, HL-45, HL-47, HL-51, HL-55, HL-63, HL-68, HL-70, HL-71, HL-75과 HL-76)를 사용

Key words: *Bacillus thuringiensis*, endotoxin

*Corresponding author

했고(14-16), 대조균주로는 미국 Ohio State University의 Dr. D.H. Dean과 프랑스 Pasteur연구소의 Dr. H. de Barjac으로부터 분양받은 *B. thuringiensis*를 사용하였다.

배지

균주 보관용 사면배지로는 한천영양배지(NA)(BBL)를 사용했고, 전배양배지로는 영양액체배지(NB)(BBL)를 사용했으며, 배지조성에 따른 균의 증식특성과 아포생산 조사에는 본 실험실에서 새로 제조한 M1, M2, M3, M4와 M5배지(Table 1)를 사용했다. 이상의 배지들은 각 실험방법에 따라 121°C, 15분간 고압멸균하였으며, 고온에 영향을 받는 성분들은 멸균 증류수에 용해시켜 여과멸균(Whatman, 0.2 µm)하여 사용하였다. 이들 배지의 조성은 Table 1과 같다.

증식도 측정

Dulmage(17), Salama(18)와 Lee(19, 20) 등의 방법을 기초로 하여 조성을 다르게한 5개의 발효 배지(Table 1)에서 25개 분리균주(14-16)의 증식과 내독소(아포)수를 비교한 후, 생산성이 가장 좋은 배지와 균주를 조사하였다. 흡광도를 이용한 증식을 조사하기 위해 멸균된 NB 10 ml에 각 분리균주를 28°C에서 진탕배양한 후(28°C, 180 rpm), M1, M2, M3, M4와 M5 멸균배지(50 ml)에 각각 2차 접종하여 배양하면서

(28°C, 180 rpm) 0, 12, 24, 72시간별로 5 ml씩 취하여 분광광도계(Spectrophotometer UV 120, Shimadzu 120)를 이용하여, 600 nm에서 흡광도를 측정하였다.

내독소 생산의 측정

*Bacillus thuringiensis*균은 한개의 세포내에 한개의 아포와 통상 한개 또는 두개의 내독소를 생산하기 때문에 아포의 수는 내독소의 수와 비례한다고 볼 수 있다. 이에 따라 내독소 수를 조사하기 위해서 NB 10 ml에 각 균주를 전배양한 다음 멸균된 M1, M2, M3, M4와 M5배지에 재접종한 후 72시간 동안 28°C에서 180 rpm으로 진탕배양시켜 각 배양액을 65°C에서 10분간 열처리한 후, NB로 연속적인 희석을 하여 NA 평판배지에 0.1 ml씩 도말한 다음, 28°C에서 12~15시간 배양한 후에 콜로니를 계산하여 내독소(아포)수를 측정하였다.

결 과

*B. thuringiensis*의 내독소(아포) 생산성이 높은 배지와 균주를 조사하기 위해 5개의 상이한 조성의 발효배지에서 25개 균주에 대한 72시간 배양시의 증식도(O.D.)와 아포수(내독소수)를 조사했다(Table 2). 한개의 세포는 한개씩의 아포를 형성하며, 또한 한개씩(간혹 2개)의 내독소를 생산하기 때문에 아포수

Table 1. Composition of the media for culture of *B. thuringiensis*

Ingredients	Amounts(g/l) of components in the media				
	M1	M2	M3	M4	M5
tryptose	20	—	—	—	—
dextrose	0.2	5	—	15	5
NaCl	0.5	—	2	—	—
yeast powder	0.2	0.2	—	2	—
Na ₂ HPO ₄	0.25	—	—	—	—
soluble starch	—	10	—	—	10
casein hydrolysate	—	15	4	10	15
MgSO ₄ ·7H ₂ O	—	0.3	—	0.3	0.3
FeSO ₄ ·7H ₂ O	—	0.02	—	0.03	0.03
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	—	0.02	—	0.02	0.02
CaCl ₂	—	1.0	—	—	—
K ₂ HPO ₄	—	1.0	—	—	—
glycine	—	—	3	—	—
polypeptone	—	—	4	—	—
bactopeptone	—	—	—	3	—

Table 2. Growth and number of endotoxin produced by *B. thuringiensis* isolates cultured in the various media at 72 hours

Isolates	No. of endotoxin/ml(ET) and growth(OD) in the various media						
	M1	M2	M3	M4	M5	Average	
14	E T	9.7×10^7	3.2×10^5	7.0×10^7	1.0×10^4	1.0×10^6	3.4×10^7
	OD	2.22	2.81	1.48	2.50	3.10	2.42
16	E T	8.5×10^5	3.1×10^5	5.9×10^7	3.4×10^5	6.0×10^4	1.2×10^7
	OD	2.79	2.78	1.10	2.63	2.80	2.42
18	E T	2.5×10^8	2.0×10^6	1.7×10^5	1.3×10^5	1.1×10^5	5.0×10^7
	OD	2.62	2.06	1.52	2.93	2.00	2.23
25	E T	5.2×10^6	6.2×10^5	3.3×10^5	9.5×10^4	1.1×10^6	1.5×10^6
	OD	2.54	2.05	1.36	2.95	1.99	2.18
33	E T	5.0×10^4	6.5×10^6	3.8×10^6	6.0×10^4	5.0×10^4	2.1×10^6
	OD	2.56	2.10	1.37	2.92	2.00	2.19
34	E T	1.8×10^8	3.0×10^7	3.8×10^7	1.6×10^5	4.0×10^5	5.0×10^7
	OD	2.57	3.20	1.59	2.43	2.82	2.52
35	E T	9.6×10^7	6.0×10^4	2.1×10^5	6.4×10^4	3.3×10^5	1.9×10^7
	OD	2.50	1.80	1.14	2.32	3.50	2.25
38	E T	4.1×10^5	2.7×10^5	3.5×10^6	3.0×10^4	4.0×10^4	8.5×10^5
	OD	2.38	2.67	2.01	2.36	2.72	2.43
39	E T	8.1×10^5	1.6×10^6	1.6×10^5	1.0×10^4	8.0×10^5	6.7×10^5
	OD	2.50	2.70	1.33	2.36	3.01	2.38
40	E T	1.9×10^5	6.2×10^4	1.4×10^5	2.4×10^5	1.8×10^4	1.3×10^5
	OD	2.38	2.90	1.50	2.58	3.33	2.54
44	E T	1.3×10^5	5.6×10^6	2.6×10^7	1.4×10^5	2.3×10^6	6.8×10^6
	OD	2.40	3.00	2.24	2.60	2.80	2.61
45	E T	1.2×10^5	3.7×10^6	1.8×10^6	3.4×10^5	2.3×10^5	1.2×10^6
	OD	2.41	2.71	2.07	2.52	2.63	2.47
47	E T	2.0×10^5	2.1×10^4	5.7×10^5	1.2×10^5	1.1×10^6	4.0×10^6
	OD	2.39	2.23	1.42	2.26	2.32	2.12
51	E T	3.3×10^6	7.0×10^4	1.1×10^7	3.7×10^5	3.2×10^5	3.0×10^6
	OD	2.35	2.71	1.56	2.46	2.73	2.36
55	E T	1.8×10^8	2.3×10^4	6.0×10^4	3.0×10^4	3.0×10^4	4.0×10^7
	OD	2.41	2.71	1.38	2.44	2.86	2.36
63	E T	1.0×10^4	6.0×10^6	1.4×10^7	2.2×10^6	2.9×10^4	4.5×10^6
	OD	2.17	2.55	1.34	2.80	2.70	2.31
64	E T	6.2×10^7	8.0×10^5	1.1×10^5	4.9×10^5	1.2×10^5	1.3×10^7
	OD	2.49	2.52	1.30	2.46	2.67	2.29
66	E T	1.8×10^6	1.2×10^6	5.4×10^6	3.0×10^4	3.0×10^5	1.7×10^6
	OD	2.29	2.34	1.22	2.24	2.54	2.13
67	E T	2.1×10^8	7.9×10^5	2.0×10^7	2.0×10^4	1.1×10^6	4.6×10^7
	OD	2.47	2.22	1.41	2.20	2.41	2.14
68	E T	2.1×10^7	8.4×10^6	8.6×10^6	4.8×10^4	1.8×10^5	5.6×10^6
	OD	2.69	2.63	1.37	2.42	2.90	2.40
70	E T	1.6×10^6	5.1×10^5	1.1×10^7	3.9×10^5	1.0×10^5	2.7×10^6
	OD	2.23	2.59	0.95	2.20	2.96	2.19
71	E T	8.4×10^4	3.0×10^6	1.9×10^7	9.3×10^5	1.5×10^5	4.6×10^6
	OD	2.25	2.59	1.29	2.77	2.71	2.32
74	E T	1.1×10^5	2.1×10^5	2.3×10^5	2.0×10^5	1.5×10^5	1.8×10^5
	OD	2.40	2.60	1.47	2.42	2.60	2.30
75	E T	4.6×10^6	1.5×10^5	2.1×10^7	1.0×10^5	1.5×10^5	5.2×10^6
	OD	2.21	2.61	1.71	2.50	2.92	2.39
76	E T	1.2×10^5	1.2×10^6	1.4×10^5	7.0×10^4	2.2×10^4	3.0×10^5
	OD	2.28	2.53	1.37	2.39	2.70	2.25
Average	ET	4.4×10^7	2.9×10^6	1.3×10^7	2.6×10^5	4.1×10^5	
	OD	2.42	2.54	1.46	2.50	2.71	

로써 내독소의 생산량을 측정했다.

B. thuringiensis 분리균주를 5개 발효배지에서 각각 배양시킨 후 ml당 생산된 내독소 수를 균주별로 비교해보면 다음과 같다(Table 2). M1배지에서 가장 많은 내독소가 생산된 균주는 25개의 균주중에서 10개 균주로서 대부분의 균주가 다른 배지보다 이 배지에서 높은 내독소 생산성을 나타냈다. 즉 ml당 9.7×10^7 의 내독소를 생산한 HL-14균주를 비롯하여 HL-18(2.5×10^8 내독소/ml), HL-25(5.2×10^6), HL-34(1.8×10^8), HL-35(9.6×10^7), HL-55(1.8×10^8), HL-64(6.2×10^7), HL-67(2.1×10^8), HL-68(2.1×10^7)과 HL-70(1.6×10^6) 균주가 M1배지에서 내독소의 생산이 제일 높았다.

M2배지에서 높은 내독소 생산성을 보인 균주는 25개 균주중에서 5개였다. ml당 내독소의 생산량을 보면 HL-33균주는 6.5×10^6 내독소/ml, HL-39는 1.6×10^6 , HL-44균주는 5.6×10^6 , HL-45균주는 3.7×10^6 , HL-76균주는 1.2×10^6 이었다.

M3배지에서 HL-16균주의 ml당 내독소의 생산량은 5.9×10^7 였고, HL-38균주는 3.5×10^6 , HL-51은 1.1×10^7 , HL-63은 1.4×10^7 , HL-66은 5.4×10^6 , HL-71은 1.9×10^7 , HL-74는 2.3×10^5 , HL-75는 2.1×10^7 로서 25개 균주중에서 8개 균주가 M3배지에서 가장 높은 내독소 생산을 보였다.

M4배지에서는 HL-40균주만이 ml당 2.4×10^5 개로 높은 생산량을 보였고, M5배지에서는 HL-47균주가 1.1×10^6 개로 높은 내독소 생산량이 나타나 다른 배지와 비교시 내독소 생산성이 낮은 것으로 나타났다.

5개 배지에서의 증식도(O.D.)를 각 균주별로 비교하여 보면 다음과 같다(Table 2). M1배지에서는 HL-47과 HL-67균주만 증식도(O.D.)가 각각 2.39와 2.47로서 가장 높았다.

M2배지에서는 HL-34균주가 3.20으로 증식도가 제일 높았으며 이밖에 HL-44(3.00)를 포함한 HL-45(2.71), HL-74(2.60)도 M2배지에서 증식도가 가장 높았다.

M3배지에서는 다른 배지와 비교시 높은 증식도가 나타난 균주가 없었다.

M4배지에서는 HL-18균주의 증식도가 2.93, HL-25는 2.95, HL-33는 2.92, HL-63는 2.80, HL-71은 2.77으로서 25개 균주중에서 5개 균주가 이 배지에서 가장 증식도가 높았다.

M5배지에서는 HL-14균주가 3.10으로 증식도가 가

장 높았으며, HL-16균주는 증식도가 2.80, HL-35는 3.50, HL-38은 2.72, HL-39는 3.01, HL-40은 3.33, HL-51은 2.73, HL-55는 2.86, HL-64는 2.67, HL-66은 2.54, HL-68은 2.90, HL-70은 2.96, HL-74는 2.60, HL-75는 2.92, 그리고 HL-76은 2.70으로 25개 균주중에서 가장 많은 수의 균주가 이 배지에서 높은 증식도를 나타냈다.

위의 결과(Table 2)를 내독소 생산량과 증식도 두개 측정치가 모두 높게 나타난 배지를 중심으로 균주별로 비교해보면 다음과 같다. M1배지에서 가장 많은 내독소가 생산된 균주중에서 HL-14, HL-35, HL-55, HL-64, HL-68균주의 경우 증식도는 M5배지에서 가장 높았는데 25개의 균주중에서 비교적 많은 수의 균주가 여기에 속했으며, HL-18, HL-25균주는 M4배지에서, 이 밖에 HL-34, HL-67은 각각 M2, M1 배지에서 증식도가 가장 높았다.

M2배지에서 가장 많은 내독소를 생산한 균주중에서 HL-39, HL-76은 증식도는 M5배지에서 제일 높았으며 HL-33과 HL-45는 각각 M4와 M2배지에서 증식도가 제일 높았다.

M3배지에서 가장 많은 내독소를 생산한 균주중에서 HL-16, HL-38, HL-51, HL-66, HL-70, HL-75의 경우 증식도는 M5배지에서 제일 높게 나타나 25개의 균주중에서 가장 많은 수의 균주가 여기에 속한 것으로 나타났으며 HL-63, HL-71, HL-74는 M4배지에서, HL-44는 M2배지에서 증식도가 제일 높았다.

내독소는 M4배지에서 증식도는 M5배지에서 제일 높게 나타난 균주는 HL-40이었으며, HL-47균주는 M5와 M1배지에서 내독소와 증식도가 가장 높았다.

위와 같이 균주마다 약간씩의 차이는 있지만 내독소 생산량은 M1과 M3배지에서 제일 많았고 다음으로 M2, M5, M4배지 순으로 생산량이 감소했다. 그러나 증식도는 이와 반대로 M5배지에서 가장 높게 나타났으며 그 다음은 M2, M4, M1, M3배지순으로 적어졌다.

내독소 생산량이 많은 배지의 조성을 보면 M1배지에는 2% tryptose, 0.02% dextrose, 0.05% NaCl, 0.02% yeast powder, 0.025% Na_2HPO_4 이 포함되어 있으며, M3배지에는 0.2% NaCl, 0.4% casein hydrolysate, 0.3% glycine, 0.4% polypeptone이 포함되어 있었다. 한편 증식도가 가장 높은 M5배지에는 0.5% dextrose, 1.0% soluble starch, 1.5% casein hydrolysate, 0.03% MgSO_4 , 0.003% FeSO_4 , 0.002% ZnSO_4 가 들어 있었다. 이처럼 M1과 M3배지에는 dextrose나

soluble starch 같은 탄수화물원이 제한되고 tryptose와 casein hydrolysate, peptone 같은 단백질(아미노산)원이 주로 들어있어 증식도는 낮았지만 내독소 생산량은 많았다. 그러나 M5배지를 비롯하여 M2, M4배지에는 M1과 M3배지와 비교시 탄수화물원 및 미네랄 성분은 풍부하나 아미노산원이 적게 들어있어 증식도는 높았지만 내독소 생산량은 적은 것으로 나타났다.

고 찰

Dulmage 등(13, 19)은 아포형성과 내독소 생산에 있어 단백질원과 탄소원의 중요성을 인식하고 콩과 식물, 옥수수액(corn steep liquor) 등으로 생물적 제어 작용이 있는 아포- δ -내독소복합체 생산을 증가시킬 수 있는 배지개발을 시도했으며 이 밖에도 값싸고 보편화되어 있는 농·산업적 부산물을 이용한 생산배지에 관한 연구가 많이 진행되고 있다. 본 연구에서는 배지 성분을 다양하게 달리한 배지(Table 1)를 만들어서 *B. thuringiensis* 분리 균주의 증식과 아포생산 즉 내독소생산을 조사했다.

내독소의 생산은 25개의 균주중 10개의 균주가 M1 배지에서 제일 높은 생산성을 보였으며, 다음은 M3 배지로서 8개의 균주에서 높게 나타났으며, 그 다음은 M2배지로서 5개의 균주가 높은 내독소 생산량을 보였으며, M4와 M5배지에서는 각각 한개씩의 균주만이 높은 생산량을 나타냈다(Table 2).

M1배지에서 내독소의 생산성이 제일 높았던 것은 배지조성에서 단백질인 tryptose와 탄소원인 dextrose는 모두 들어있지만 적은 양(0.2 g/l)의 탄소원이 제한영양소(limiting nutrient)로서의 기능을 가지고 있어서 정지기과 아포(내독소) 형성이 시작이 일찍 일어났고, 또한 아미노산 원인 tryptose가 풍부하게 함유되어 있었기 때문인 것으로 생각된다.

M3배지에서 내독소의 생산량이 다음으로 높았던 것은 배지의 성분에 아미노산성 영양소가 많이 들어있었고, 탄수화물성 영양소는 전혀 없었는데 이 조성으로 인하여 균의 증식은 낮았지만 아포(내독소)의 생산시기가 일찍 유도되는 현상이 나타났고, 또한 내독소의 생산에 필수적인 아미노산 영양소가 많았기 때문에 내독소의 생산이 증가된 것으로 생각된다.

M2배지에서는 25개 균주중에서 5개 균주만이 높은 내독소 생산을 보였는데 이 배지에는 풍부한 양의 탄소원인 dextrose 및 soluble starch와 아미노산 성분의 casein hydrolysate와 mineral salts가 들어 있

었으나, 탄수화물원이 M1과 M3배지보다 많았기 때문에 정지기 및 내독소 생산이 늦게 시작되어 동일 시간 배양시 M1과 M3배지보다 균의 증식은 높았지만 내독소 생산량은 적었던것 같다.

M4배지에는 dextrose가 M1배지에 비해 가 약 70배 정도 많이 들어 있어서 내독소 생산량이 적었으며, M5배지도 M1배지보다 탄소원인 dextrose와 soluble starch의 농도가 약 70배 정도 많이 들어 있어 M1이나 M3배지보다 증식도는 높지만 내독소 생산량은 낮았으며 특히 M4, M5배지는 M2배지와 비교시 탄수화물농도는 비슷하지만 M2배지에는 CaCl_2 가 들어 있고 내독소 생산도 더 많은 것으로 보아 이 성분도 내독소형성에 영향이 있다는 것을 알 수 있었다.

이와같이 증식도가 높은 배지는 M5와 M4이며 내독소생산량이 많은 배지는 M1과 M3로서 상반된 결과를 보이고 있는데 이를 배지성분을 통해 비교해보면 다음과 같다. 먼저 증식도가 높은 M4와 M5배지에는 탄수화물 및 아미노산원으로 soluble starch, dextrose, casein hydrolysate와 무기염류가 공통적으로 포함되었으나 내독소생산이 높은 M1과 M3배지에는 탄수화물원이 제한되고 주로 yeast extract, casein hydrolysate, peptone의 아미노산(질소원)이 사용되었다.

영양분이 고갈되어야만 아포 및 내독소가 생성된다는 사실을 고려할 때 M4와 M5배지에는 탄수화물원과 아미노산원이 풍부하므로 72시간 배양시에도 약간씩의 증식상태를 보일 뿐만 아니라 아포 및 내독소 생산시기가 늦어짐에 따라 생산량도 적었다. 그러나 M1과 M3배지는 탄수화물원은 제한되고 아미노산(질소원)만이 포함되어 영양조건이 충분치 않으므로 영양분 고갈이 빨리 되고 아포 및 내독소형성도 일찍 시작되어 동일 시간 배양시 다른 배지보다 아포와 내독소 생산량이 많아졌다고 생각된다.

탄소원보다는 질소원이 내독소형성에 중요하다는 것은 이미 보고된 바 있는데(16) 본 실험에서도 탄수화물원이 많이 포함된 M4와 M5배지보다는 아미노산원 위주로 조성된 M1과 M3배지에서 가장 많은 내독소가 생성되어 이와 일치되는 결과를 얻었다.

B.t.를 이용한 살충제 제조시에는 생산 비용이 문제되어 소량의 배지성분과 단시간 배양으로 많은 내독소를 생산할 수 있는 배지가 유리하므로 5종류의 배지중에서 이 조건에 가장 적합한 M1과 M3배지가 경제성 및 이용가치가 크다고 생각된다. 그러나 이 결과는 소규모 배양으로 실시된 것이므로 다량 배양

시에는 이 성분들의 함량 및 기타 배양조건의 조정이 필요하다고 생각된다.

요 약

한국에서 분리한 25개의 모기치사성 *B. thuringiensis* 균주를 대상으로 내독소 생산성이 우수한 배지조성을 알아보고자 증식특성과 내독소 생산수를 조사했다.

5개의 상이한 조성을 갖는 배지중에서 증식도가 가장 높은 것은 탄수화물원과 아미노산(질소)원이 많이 포함된 M4와 M5배지였고, 내독소의 생산성이 가장 좋은배지는 탄수화물원은 제한시키고 아미노산(질소)원 위주로 조성된 M1과 M3배지였다. 동일 시간 배양시 내독소 생산이 좋은 M1과 M3배지에서의 25 균주에 대한 증식도 평균치는 각각 2.42, 1.46으로 다른 배지보다 낮았지만 평균 내독소 생산수는 M1 배지에서 $4.4 \times 10^7/\text{ml}$, M3배지에서 1.3×10^7 로서 나머지 배지보다 많은 내독소가 생산되었다. M1배지의 조성은 2% tryptose, 0.02% dextrose, 0.05% NaCl, 0.02% yeast powder 그리고 0.025% NaHPO_4 이며 M3 배지의 조성은 0.2% NaCl, 0.4% casein hydrolysate, 0.3% glycine 그리고 0.4% polypeptone으로 M1, M3 배지 모두 탄수화물원은 제한되고 아미노산(질소)원이 주로 포함되어 있었다. 한편 25개의 분리균주중에 HL-34균주가 5개의 상이한 배지에서의 증식과 내독소생산이 제일 높았는데 평균 증식도는 2.52였고, 평균 내독소수는 $5.0 \times 10^7/\text{ml}$ 으로 증식도와 내독소 생산이 제일 높았다.

감사의 말

본 연구는 과학재단의 지원으로 이루어졌음(87-0511).

참고문헌

- de Barjac, H. and R. Dedonder. 1968. Purification de la toxine thermostable de *Bacillus thuringiensis* et analyses complementaires. *Bull. Soc. Chem. Biol.* **50**: 941-944.
- Lecadet, M. and H.de Barjac. 1981. Pathogenesis of Invertebrate Microbial Diseases, Chapter 11. (Davidson ed.) Allanheld, Osmum, N.J.
- Lee, H.H. 1982. Effects of exotoxin on mice produced by *Bacillus thuringiensis*. *Academic Research Journal of Konkuk University, Seoul.* **26**: 53-59.
- Shim, C.B., H.H. Lee and H.M. Lee. 1985. Purification and partial characterization of *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* exotoxin. *Kor. J. Microbiol.* **23**: 271-281.
- Heimpel, A.M. 1967. A critical review of *Bacillus thuringiensis* Berliner and other crystalliferous bacteria. *Ann. Rev. Entomol.* **12**: 287-322.
- Oh, S.S. and H.H. Lee. 1985. Studies on isolation and characterization of the entomocidal toxin and plasmid in *Bacillus thuringiensis*. *Kor. J. Appl. Microbiol. Bioeng.* **13**: 51-57.
- Lee, H.H., T.S. Kang and C.K. Oh. 1986. Studies on the development of the *Bacillus thuringiensis* pesticide. 1. Purification of *B. thuringiensis* subsp. endotoxin crystals. *Kor. J. Appl. Microbiol. Bioeng.* **14**: 91-95.
- Mohd-Salleh, M.B. and L.C. Lewis. 1982. Feeding deterrent response of corn insects to β -exotoxin of *Bacillus thuringiensis*. *J. Invertebr. Pathol.* **39**: 290-297.
- Samasanti, W., S. Pantuwatana and A. Bhumirattana. 1982. Role of the parasporal body in causing toxicity of *Bacillus thuringiensis* toward *Aedes aegypti* larvae. *J. Invertebr. Pathol.* **39**: 41-48.
- Nickerson, K.W. and L.A. Bulla, Jr. 1974. Physiology of sporeforming bacteria associated with insects: Minimal nutritional requirements for growth sporulation and parasporal crystal formation of *Bacillus thuringiensis*. *Appl. Microbiol.* **28**: 124-128.
- Smith, R.A. 1982. Effect of strain and medium variation on mosquito toxin production by *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*. *Can. J. Microbiol.* **28**: 1089-1092.
- Dulmage, H.T. 1970. Production of the spore δ -endotoxin complex by variants of *Bacillus thuringiensis* in two fermentation media. *J. Invertebr. Pathol.* **16**: 385-389.
- Dulmage, H.T. 1971. Production of δ -endotoxin by eighteen isolates of *Bacillus thuringiensis*, serotype 3, in 3 fermentation media. *J. Invertebr. Pathol.* **18**: 385-358.
- Lee, H.H., D.G. Joo., S.C. Kang and H.G. Lim. 1992. Characterization of *Bacillus thuringiensis* seven isolates from soil. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **20**(4): 377-383.
- Lee, H.H., B. Yoo, Y.J. Kim, N.H. Won and H.C. Kim. 1993. Characterization of microbial pathogene *Bacillus thuringiensis* isolates from soil against mosquito and silkworm larvae (II). *Kor. J.*

- Microbiol.* **31**: 17-21.
16. Lee, H.H., K.Y. Lee, T.J. Kim, S.B. Sim, J.G. Cho and S.I. Kwon. 1992. Insecticidal characterization of thirteen *Bacillus thuringiensis* isolates from soil (III). *Kor. J. Microbiol.* **30**: 438-443.
17. Dulmage, H.T. and de Barjac, H. 1973. HD-187, A new isolate of *Bacillus thuringiensis* that produces high yields of δ -endotoxin. *J. Invertebr. Pathol.* **22**: 273-277.
18. Salama, H.S., M.S. Foda and H.T. Dulmage. 1983. Novel fermentation media for production of δ -endotoxins from *Bacillus thuringiensis*. *J. Invertebr. Pathol.* **41**: 8-19.
19. Lee, H.H. and B.Y. Hyun. 1986. Conditions of δ -endotoxin production by *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*. *Kor. J. Appl. Microbial Bioeng.* **14**: 259-264.
20. Lee, H.H. and J.J. Lee. 1986. Media compositions for the δ -endotoxin production by *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*. *Kor. J. Appl. Microbial Bioeng.* **14**: 329-334.

(Received February 16, 1993)