

토양에서 분리한 곤충병원성세균 *Bacillus thuringiensis*의 흑명나방과 벼애나방에 대한 실내살충효과검정 및 생물학적 특성에 미치는 영향

서미자 · 백채훈 · 강미형 · 이건휘* · 이두구 · 이규성 · 윤영남¹ · 유용만¹

국립식량과학원 벼백류부 간척지농업과, ¹충남대학교 농업생명과학대학 응용생물학과

Pesticidal Activities and Effect on Its Biological Characteristics of *Bacillus thuringiensis* Strains from Soil against Rice Pests, *Cnaphalocrosis medinalis* and *Maranga aenescens*

Mi Ja Seo, Chae Hoon Paik, Mi Hyung Kang, Geon Hwi Lee*, Du Ku Lee, Kyu Seong Lee, Young Nam Youn¹ and Yong Man Yu¹

Reclaimed Land Agriculture Research Division, Dept. Rice and Winter Cereal Crop, Iksan, Korea

¹Dept. Applied biology, College of agriculture and life sciences, Chungnam National University, Daejeon, 305-764, Korea

ABSTRACT : For biological control of larva of *Cnaphalocrosis medinalis* and *Naranga aenescens* do considerable damage to crops by folding and scraping the leaf tissue of rice, a large number of *Bacillus thuringiensis* isolates have been obtained from soil samples in Korea and the pesticidal activity was assayed against two insect pest species described above. Among 53 *Bt* isolates tested in bioassay, 18 and 13 isolates showed over 90% mortality against *C. medinalis* and *N. aenescens*, respectively. Some isolates (11 isolates including CAB141) presented dual activity against *C. medinalis* and *N. aenescens*. These isolates showed over 96% control effect in pest control in laboratory against larvae of *C. medinalis*. Also, it was investigated that pupation, pupal length, and adult emergence of larvae exposed to *Bt* suspension decreased. Especially, the pupal length of *C. medinalis* after being fed corn seedling leaves treated *Bt* suspension for 10 days, were much smaller than that of control.

KEY WORDS : *Bacillus thuringiensis*, *Cnaphalocrosis medinalis*, *Naranga aenescens*, Pesticidal activity, Pupal length

초 록 : 벼에 발생하여 잎을 가해하여 피해를 주는 흑명나방(*Cnaphalocrosis medinalis*)과 벼애나방(*Naranga aenescens*)의 곤충병원성미생물을 이용한 친환경적 방제를 위해, 국내토양에서 분리된 *Bacillus thuringiensis* 균주들을 대상으로 생물검정을 수행하였다. 실험에 이용한 *Bt* 53균주 중, 약 18개 균주가 흑명나방에 90% 이상의 살충률을 나타내었고, 13개 균주가 벼애나방에 살충활성을 보였는데, 두 종 모두에 90% 이상의 살충률을 보이는 균주도 CAB141균주를 비롯해 11균주나 확인되었다. 이러한 균주들은 흑명나방에 대한 실내방제실험결과, 96%이상의 방제효과를 나타내기도 하였다. 또한 *Bt* 포자현탁액에 노출된 유충의 용화율, 용길이, 우화율이 감소되는 경향이 나타났는데, 흑명나방의 경우, 번데기 길이에서도 정상개체와 처리 후 생존개체가 현저한 차이를 나타내었다.

검색어 : *Bacillus thuringiensis*, 흑명나방, 벼애나방, 살충활성, 용길이

*Corresponding author. E-mail: leejhwi@rda.go.kr

흑명나방과 벼애나방은 벼, 옥수수과 같은 벼과작물의 잎을 식해하는 주요 나비목 해충으로 흑명나방의 경우, 1960년대 중반까지 아시아의 벼 재배지에서 가끔씩 우발적으로 발생해서 피해를 주는 중요하지 않은 해충으로 여겨졌으나, 다수확을 위한 통일계 품종의 대면적 재배로 인해 최근 한국을 비롯한 중국, 인도, 일본, 말레이시아, 스리랑카, 베트남과 같은 많은 아시아 국가에서 흑명나방의 심각한 피해가 보고되고 있다(Heong, 1993; Ye *et al.*, 2003). 우리나라에서는 2003년에 흑명나방이 전국적으로 발생하여 큰 피해를 주었던 것이 보고된 바 있다(Uhm *et al.*, 1991; Park *et al.*, 2006). 벼애나방은 5월 중순부터 월동 번데기가 우화하여 발생하기 시작해서 부화 유충이 벼잎의 엽육만을 식해하다가 4-5령 노숙유충이 되면 잎 전체를 폭식하여 벼 전체가 빗자루 모양으로 벗그루만 남게 되는 심각한 피해증상을 나타내게 되고, 흑명나방은 6월 중하순부터 비래하기 시작하여 보통 20일 정도의 유충기간을 보내는데, 그 기간 동안 잎을 세로로 말고, 그 속에서 엽육을 식해함으로써 광합성을 저해하고 수량과 품질에 영향을 주기 때문에 이 두 나방류는 지속적인 예찰을 통한 적기방제가 요구되는 해충이다(Miyashita, 1985; Park *et al.*, 2006). 지금까지 흑명나방 방제에 있어서는 벤조일하이드라진계통의 methoxyfenozide나 tebufenozide와 같은 곤충의 탈피를 촉진시켜 정상적인 생육을 불가능하게 함으로써 살충효과를 유도하는 곤충생장조절제나 유기인계 계통의 monocrotophos같은 접촉독, 소화중독제, 신경독을 유발하는 카바메이트계통의 bensultap 같은 살충제를 적기에 살포하여 방제하는 화학적 방제에 의존하였으나, 최근 고품질 안전농산물에 대한 소비자들의 요구 증가로 인해, 유기농이나 친환경재배단지가 증가하게 되고 재배자들의 해충방제에 대한 애로사항이 점점 대두되면서, 친환경 안전농산물 생산을 위한 기술개발이 시급한 사항이 되었다.

현재까지 나비목 해충의 생물학적 방제를 위한 친환경 농업의 주요 농자재 중 하나가 곤충병원성세균으로 잘 알려진 *Bacillus thuringiensis*이다. *B. thuringiensis* 균주는 그람양성의 간균으로 영양세포에 내생포자를 형성하는 시기에 살충성 단백질 결정체를 형성하여 나비목이나 파리목 딱정벌레목의 곤충에 대해 강력한 살충활성을 나타내게 된다(Tamez-Guerra *et al.*, 2004, Kim *et al.*, 2006). 살충활성을 나타내는 이 내독소단백질은 그 종류에 따라 대상 해충에 대한 독성이 달라지는 기주특이성을 보이는데(Schnepf, 1995), 이러한 특성 때문에 기주범위가 제한적이라는 단점을 가지고 있기는 하나(Leong *et al.*, 1980),

최근에는 *B. thuringiensis* 균주의 기주범위를 확대시키고 독성을 증진시키기 위한 분자 유전학적인 연구가 이루어지고 있는 동시에(Gill *et al.*, 1995; Zheng *et al.*, 2005; Kim *et al.*, 2006), 다범성이며 속효성을 지니고 방제 대상 해충에 고독성을 나타낼 수 있는 곤충병원성세균으로서 우수한 새로운 *B. thuringiensis* 균주의 분리를 위해 국외뿐만 아니라 국내에서도 활발한 연구를 현재도 수행하고 있다. 최근 국내에서는 100여종 이상의 농작물을 가해하는 광식성이며 난방제 해충인 담배거세미나방 유충의 방제 목적으로, 국내 농작물 경작토양에서 새로운 *B. thuringiensis* 균주를 분리하여 살충활성검정 및 균주의 특성조사를 수행하여 우수한 균주를 선발하고 생물농약으로서의 가능성을 검토하고 있다(Kim *et al.*, 2006; Choi *et al.*, 2008).

본 연구에서는 고품질 쌀 생산을 위한 벼과작물의 주요 나비목 해충인 벼애나방과흑명나방의 친환경적 방제를 위해 Kim *et al.* (2006)과 Choi *et al.* (2008)이 국내 토양에서 분리하여 확보한 *B. thuringiensis* 53개의 균주에 대한 생물검정을 통해 살충활성이 우수한 균주를 선발하고, 실내에서 해충방제실험을 실시하여 선발된 균주들간의 방제효과를 비교하여 벼애나방과 흑명나방의 친환경적 방제를 위한 생물농약 개발 가능성을 검토하고자 하였다.

재료 및 방법

곤충병원성세균 *Bacillus thuringiensis* 균주와 살충활성검정

국내 농작물 경작지와 산림, 밭 주변의 토양을 채집하여 분리한 53개의 *B. thuringiensis* 균주를 충남대학교 농업생명과학대학 응용생물학과에서 분양받아 실험하였다. 53개의 *B. thuringiensis* 균주를 NA배지에 접종하고 30°C에서 5일 이상 배양한 후, 완전히 autolysis가 일어난 것을 확인한 후 배지위의 균체만을 루프나 스크래퍼를 이용해 긁어모아 멸균수에 희석하여 10⁶ cfu/ml 농도로 포자 및 내독소단백질 현탁액을 만들어 생물검정에 이용하였다. 생물검정은 야외개체균을 채집하여 옥수수 유묘와 벼 유묘로 실내에서 사육중인 흑명나방과 벼애나방 3, 4령 유충을 대상으로 수행하였으며, 포자 및 크리스탈 현탁액이 생물검정에 이용할 옥수수와 벼 유묘에 잘 흡착되게 하기 위해 1% polyoxyethylene sorbitan monooleate (Tween80) 2.5 ml을 첨가하여 100 ml의 현탁액을 조제한 후 엽침적

법으로 유묘에 처리하였다. 처리 후 2시간 동안 음건한 후 생물검정 대상 유충을 접종하고 72시간 이상 관찰하면서 치사여부를 확인하였다.

해충방제 실내실험

살충활성검정을 통해 두 종 모두에 90%이상의 살충활성을 나타낸 균주를 일차적으로 선발하여 전체 약 285엽의 유묘가 심겨진 옥수수와 벼 유묘판에 포자 및 내독소현탁액을 10^6 (cfu/ml) 정도의 농도로 만들어 흘려내릴 정도로 충분히 분무하고 2시간 동안 음건한 후, 처리구당 25마리의 3, 4령유충을 접종하고 처리 후 1, 3, 5, 7, 10일 5회 피해엽수를 조사하고, 조사 마지막 날인 10일째, 총 피해엽수와 처리충의 사망률, 용화율을 측정하고 번데기를 수거한 후 우화할 때까지 보관하였다가 우화율을 측정하여, 무처리와의 피해 정도를 비교함으로써 방제효과를 확인하였다.

*B. thuringiensis*가 생존유충의 생물학적, 생태학적 특성에 미치는 영향

살충효과가 우수하지 않았지만, 생물검정 시 섭식행동에 저해를 나타낸 균주에 대해 처리 후 생존개체를 우화할 때까지 계속적으로 사육하여 이들의 용화율과 우화율, 용길이를 측정하였으며(AxioVision pro. Discovery, V12, Carl Zeiss), 이들을 정상개체와 비교함으로써 처리된 *B. thuringiensis* 균주가 실질적인 살충효과를 나타내지 못했다 하더라도, 이들의 생물학적, 생태학적 특성에 영향을 미치는지의 여부를 확인하였다.

결과 및 고찰

흑명나방, 벼애나방에 대한 생물검정

전세계적으로 미생물농약을 제제화하여 등록화 한 것이 66종 정도이고 이 중 살충제로 등록된 제제가 약 40여 종인데, 국내에서 현재까지 흑명나방 방제에 등록된 *Bt* 생물농약은 2종으로 벼애나방 방제용으로 등록된 생물농약은 현재까지 없는 실정이다. 따라서 본 연구에서는 두 종의 나비목 해충 방제를 위한 효과적인 곤충병원성세균인 *B. thuringiensis*를 분리하여 생물농약으로서의 가능성을 검토하고자 하였다. 우선 국내 농작물 경작지와 산림, 밭 주변의 토양을 채집하여 분리한 53개의 *B. thuringiensis* 균주의 흑명나방과 벼애나방에 대한 살충활성을 확인한 결과, 흑명나방에 90%이상의 살충률을 보인 균주는 CAB104을 비롯해 모두 18개 균주, 벼애나방의 경우, CAB106을 포함해 13개 균주, 두 종 모두에 높은 독성을 보인 균주는 CAB106균주를 비롯해 총 11개 균주가 있었다(Table 1). 이들 모두는 이중피라미드형 크리스탈을 가진 균주로 일반적으로 나비목 해충에 탁월한 살충효과를 보이며 분리한 *B. thuringiensis* 균주 중 가장 많이 얻어지는 내독소단백질 형태의 균으로 위상차현미경 관찰 결과 확인되었다. 토양으로부터 분리한 총 115개 토양샘플에서 46개의 *B. thuringiensis* 균주를 분리하여 위상차현미경으로 관찰한 결과, 나비목해충에 주로 활성을 나타내는 이중피라미드형 균주가 32개 균주로 전체 분리균주의 70%정도로 높은 비율을 차지했으며, 그 다음으로 13개 균주가 모기를 비롯한 파리목 해충에 높은 살충효과를 나타내는 원형 균주가 분리되었고, 곤충에 독성을 나타내지 못하는 균주도 1균주 확인되었다고 보고했다 Choi et al. (2008). 본 실험에서 생물검정한 이중피라미드형 내독

Table 1. Pesticidal activities (Toxicity) of *B. thuringiensis* isolates against *Cnaphalocrosis medinalis* and *Naranga aenescens*

Insect pests	<i>Bacillus thuringiensis</i> strains (>90% mortality)	Total
<i>C. medinalis</i>	CAB104, CAB106, CAB108, CAB114, CAB115, CAB116, CAB118, CAB119, CAB120, CAB121, CAB124, CAB132, CAB141, CAB164, CAB174, CAB187, CAB180, CAB381	18
<i>N. aenescens</i>	CAB106, CAB108, CAB114, CAB115, CAB118, CAB120, CAB121, CAB133, CAB141, CAB164, CAB187, CAB380, CAB381	13
<i>C. medinalis</i> & <i>N. aenescens</i>	CAB106, CAB108, CAB114, CAB115, CAB118, CAB120, CAB121, CAB141, CAB164, CAB187, CAB381	11
Non-toxic	CAB102, CAB105, CAB107, CAB110, CAB119, CAB125, CAB126, CAB134, CAB169, CAB173, CAB174, CAB175, CAB176, CAB178, CAB180, CAB182, CAB368, CAB369, CAB370, CAB371, CAB372, CAB374, CAB375, CAB376, CAB377, CAB378, CAB379, CAB382, CAB383, CAB384, CAB385	33

소를 가진 *B. thuringiensis* 균주의 21%가 두 종 나비목 해충에 90%이상의 높은 살충률을 나타내었으며, 포자현탁액을 처리한 식물체는 유충이 섭식한 후 사망하여 조사 기간 동안 정상적인 섭식이 이루어지지 않아 유묘의 피해 정도가 적은데 비해, 무처리구는 정상적인 섭식으로 유묘가 생존유충에 의해 상당히 피해 받은 것을 육안으로도 확인할 정도의 차이를 보여주었는데, 흑명나방의 경우 무처리구는 생존유충에 의해 옥수수유묘잎이 세로로 말리고 엽육이 식해를 입어 갈색으로 변하였으며(Fig. 1), 벼애나방은 벼유묘 전체를 식해하여 무처리구의 유묘잎이 남아있지 않은 것을 확인할 수 있었다(Fig. 2). 따라서 살충효과가 우수했던 균주 중 일부 균주를 선발하여 실내에서의 흑명나방에 대한 방제효과를 확인하였다.

해충방제 실내실험

흑명나방에 대한 1차 생물검정에서 살충률 100%를 나

타내었던 CAB108, 118, 141, 381 4개 균주를 선발하여 10^6 cfu/ml 농도로 처리한 후, 3, 4령 유충 25마리를 접종하고 10일 동안의 피해엽수를 조사함으로 4개 균주의 방제효과를 실내에서 실시한 결과, 처리 후 3일째부터 피해엽의 차이를 보이며 방제효과에 있어 차이를 보이기 시작했다. 4개 *B. thuringiensis* 균주 모두 *B. thuringiensis* 포자내독소 현탁액 처리 후 접종한 흑명나방 3, 4령 유충 25마리가 조사기간 10일 동안 모두 사망하고 결국 번데기가 되지 못해, 처리 후 생존유충의 용화율, 우화율이 모두 0%로 나타났다. 처리 후 10일째 피해엽 비율을 조사하여 무처리구와 비교를 통해 방제효과를 산출해 균주별 방제능력을 비교한 결과, CAB141균주가 방제효과 96.1%로 실험한 4개 균주중 가장 높게 나타났으며, 그 다음으로 CAB118균주는 90%이상, CAB108과 CAB381 2개 균주 모두 약 80%정도의 실내 방제효과를 보여주었다(Fig. 3 and Table 2).

또한 흑명나방에 대한 1차 생물검정에서 살충률은 낮았지

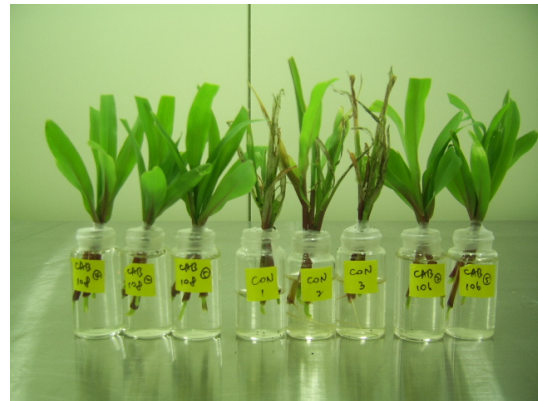
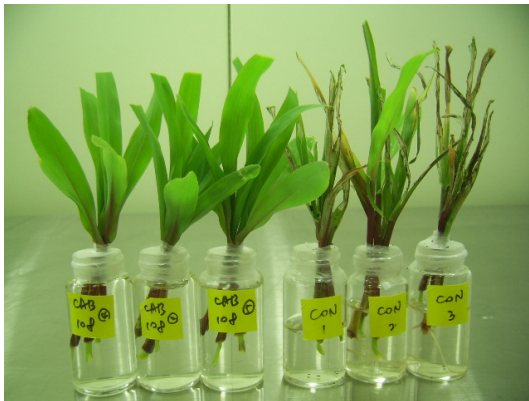


Fig. 1. Comparison of damage level caused by *C. medinalis* larva in the bioassay after treatment of each *Bt* spore and crystal suspension (L: CAB108/Control) : (R: CAB108/Control/CAB106).

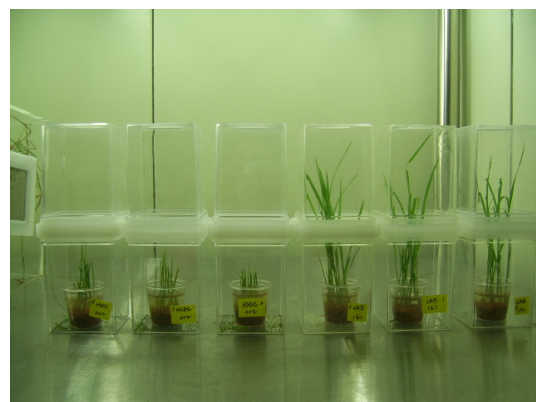
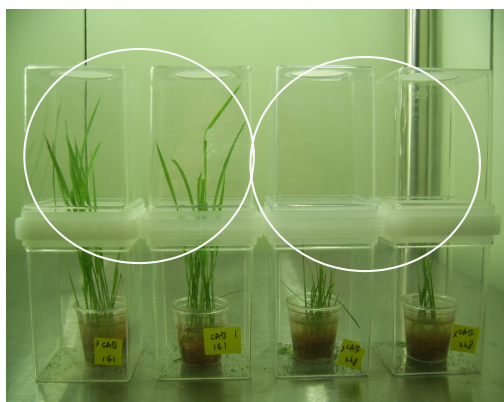


Fig. 2. Comparison of damage level caused by *N. aenescens* larva in the bioassay after treatment of each *Bt* spore and crystal suspension (L: CAB141/CAB368) : (R: HAR1002/CAB141).

Table 2. Damage level, control effect, pupation rate, and emergence rate of 3rd instar of *C. medinalis* after treatment of high insecticidal bt isolates' spore and crystal suspension

Isolates	Damage level (%)	Control effect (%)	Pupation rate (%)	Emergence rate (%)
CAB141	2.11	96.09	4.00	0.00
CAB118	4.21	92.21	0.00	0.00
CAB108	10.53	80.51	0.00	0.00
CAB381	11.23	79.22	0.00	0.00
Control	54.03	-	77.33	90.52

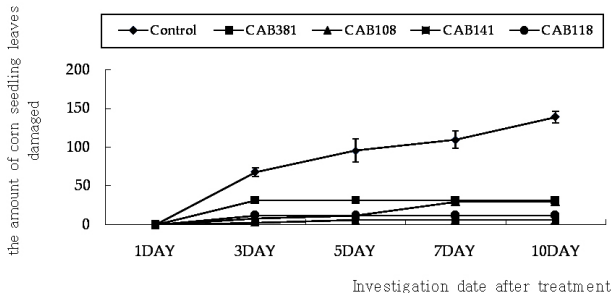


Fig. 3. The amount of corn seedling leaves damaged by larva of *C. medinalis* after treatment of high insecticidal bt isolates' spore and crystal suspension during 10 days.

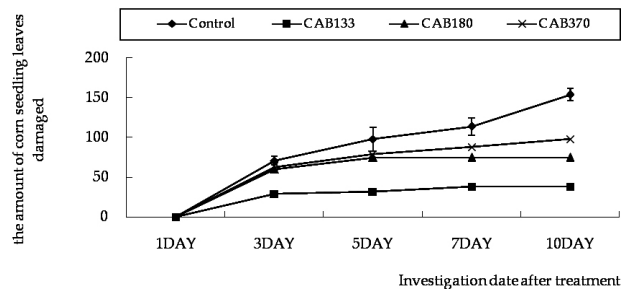


Fig. 4. The amount of corn seedling leaves damaged by larva of *C. medinalis* after treatment of low insecticidal bt isolates' spore and crystal suspension during 10 days.

만, 섭식행동에 저해를 나타낸 CAB133을 비롯한 CAB180, 370 균주를 살충률별로 임의적으로 선발하여 이들 균주의 흑명나방에 대한 실내 방제효과를 확인하였다. 조사 3일째부터 균주별 피해엽의 차이를 나타내었지만(Fig. 5), 무처리구에 비해 정상적인 섭식이 이루어지지 못하고 조사 7일째부터는 3개 균주 모두 무처리구에 비해 피해엽수의 증가가 거의 나타나지 않았으며, 무처리구의 경우, 3, 4령 유충이 성장하여 노숙유충에 의한 폭식현상이 나타나 7일째부터 피해엽수의 급격한 증가를 확인할 수 있었다. 3개 균주 중 생물검정에서 살충률이 66.33%로 높았던 CAB133균주는 방제효과에 있어서도 75.33%를 나타내며 가장 높게 나타났고, CAB133균주 처리 후 생존유충은 모두 번데기가 되지 못하고 결국 처리 후 10일 이내 모두 사망한 것으로 나타났다. 반면에, 살충률이 각각 20.0%,

13.3%인 CAB180, 370균주의 경우, 방제효과는 각각 51.3%, 36.4%를 나타내었는데, CAB133균주와는 다르게, 생존한 유충의 72% 이상이 정상적으로 번데기가 되고 85% 이상이 우화하여 성충으로 다시 발생하는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 4 and Table 3). 최근 우리나라를 비롯한 중국이나 인도에서의 흑명나방 대발생은 methylparathion, monocrotophos나 endosulfan과 같은 화학살충제의 남용에 의해 농생태계내의 자연적인 개체군 조절능력이 상실되고 살충제에 대한 저항성이 대두되면서 야기되었다고 보고되고 있다(Dale, 1994). 이에 따라 이러한 해충을 효과적으로 방제할 수 있는 방제제의 개발이 시급한 상황이라 할 수 있는데, 생물검정을 통해 두 종 나비목 해충에 높은 살충활성을 나타내는 균주를 선발한 것은 이러한 문제를 해결할 수 있는 생물적 방제제의 발굴이라는 큰

Table 3. Mortality, Damage level, control effect, pupation rate, and emergence rate of 3rd instar of *C. medinalis* after treatment of low insecticidal bt isolates' spore and crystal suspension

Isolates	Mortality (%) in Bioassay	Damage level (%)	Control effect (%)	Pupation rate (%)	Emergence rate (%)
CAB133	66.33	13.33	75.33	0.00	0.00
CAB180	20.00	26.32	51.29	72.00	88.89
CAB370	13.33	34.39	36.35	80.00	85.00
Control	0.00	54.03	-	77.33	90.52

의미를 가질 수 있다.

***B. thuringiensis*가 생존유충의 생물학적, 생태학적 특성에 미치는 영향**

혹명나방이나 벼애나방에 대한 살충활성은 좋지 않았지만, 생물검정과정에서 섭식에 저해를 보인 균주들을 대상으로 처리 후 생존유충의 계속적인 사육을 통해 얻은 용화율과 용길이, 성충으로의 우화율을 조사하여 *B. thuringiensis* 내 독소단백질이 대상유충의 생물학적 특성에 있어 영향을 미치는지의 여부를 조사하였다(Table 2). CAB133균주의

경우, 살충률은 66.33%로 나타났지만, 혹명나방의 번데기 길이는 평균 7.9 mm로, 대조구 유충이나 살충률이 저조한 CAB173균주를 비롯한 4개 균주를 처리한 후의 생존유충의 용길이보다 1.1 mm 적게 나타나며 섭식저해에 의한 생장감소를 보였다(F=4.355; P=0.005). *B. thuringiensis* 섭식후 생존유충의 용화율이나 우화율은 대조구와 비교했을 때 용화율, 우화율이 모두 낮게 나타났으며, 살충률이 높은 균주가 용화율도 작았고, 살충율에 따른 용길이에 있어서도 차이를 보여 살충율이 높은 균주 처리후 조사한 용길이가 통계적으로도 차이를 보이며 작아지는 것을 확인할 수 있었다. 우화율에 있어서는 살충율과의 상관관계

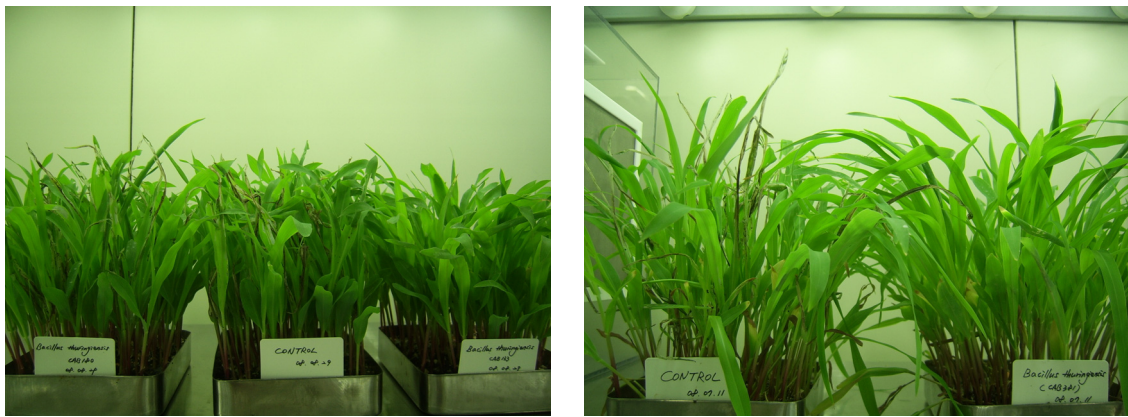


Fig. 5. Comparison of damage level caused by *C. medinalis* larva in the laboratory pest control experiment after treatment of each *Bt* spore and crystal suspension (L: CAB180/Control/CAB133) : (R: Control/CAB381).

Table 4. Effects of *Bacillus thuringiensis* isolates tested on length of pupa, pupation rate, and emergence rate of *Cnaphalocrocis medinalis*.

	CAB133	CAB173	CAB180	CAB182	CAB370	Con
Mortality (%)	66.33	6.67	20.00	0.00	13.33	0.00
Pupa length (mm)*	7.9±0.2a	8.8±0.4ab	8.0±0.6ab	8.7±0.6ab	8.6±0.6ab	9.0±0.3b
Pupation rate (%)	32.00	35.71	53.33	100.00	66.67	100.00
Emergence rate (%)	100.00	100.00	57.14	100.00	75.00	100.00

*Values represent mean±SD. Different letters at values in rows show significant different (one-way ANOVA, post hoc test by Turkey) in SPSS. F=4.355; P=0.005

Table 5. Effects of *Bacillus thuringiensis* isolates tested on length of pupa, pupation rate, and emergence rate of *Naranga aenescens*

	CAB107	CAB368	CAB369	CAB125	CON
Mortality (%)	53.27	0.00	6.67	27.32	0.00
Pupa length (mm)*	7.0±0.3a	7.4±0.4ab	7.3±0.4ab	7.3±0.7ab	8.1±0.2b
Pupation rate (%)	75.00	33.33	57.14	78.24	85.71
Emergence rate (%)	55.56	40.00	62.50	66.67	78.00

*Values represent mean±SD. Different letters at values in rows show significant different(one-way ANOVA, post hoc test by Scheffe) in SPSS. F=1.689; P=0.200

는 없는 것으로 보여지는데, 일단 번데기단계로 들어서면 정상적으로 우화하는 경우가 대부분이었고, 섭식저해에 의해 많은 영향을 받은 종령유충의 경우는 정상적으로 번데기가 되지 못하는 경향을 나타내었다.

벼애나방도 CAB107균주를 비롯한 3개 균주 처리 후, 생존유충을 계속적으로 사육하여 용화율과 용길이, 우화율을 조사한 결과를 살펴본 결과, 흑명나방과 마찬가지로 *Bt* 포자현탁액이 처리된 기주식물을 섭식한 후 생존한 유충의 번데기길이가 무처리구의 번데기에 비해 감소한 것을 확인할 수 있었다(Table 3). 생물검정 시 살충율이 높았던 균주일수록 처리 후 생존유충의 번데기길이에 있어 정상개체보다 다소 짧은 경향을 나타내었다. 특히 살충률 53.3%를 나타낸 CAB107균주의 경우는 무처리구의 번데기와 용길이를 비교했을 때, 평균 7.0 mm로 무처리구의 번데기길이보다 평균 1.1 mm 정도 짧은 것으로 나타났다. 하지만 일원배치분산분석에 의해 유의성을 검정한 결과 이들 차이는 통계적으로는 유의성이 없는 것으로 나타났다($F=1.689$; $P=0.200$). 용화율이나 우화율 또한 무처리구에 비해 낮게 나타났지만, 살충율과 용화율, 우화율과의 상관관계는 없는 것으로 보이며, 벼애나방의 경우는 정상개체도 용화율이나 우화율이 저조하게 나타나 처리된 균주들간의 비교와 무처리구와의 비교가 어려웠다. Ma et al. (2008)에 의하면 *B. thuringiensis* 독소에 노출된 조명나방의 경우, 유충기간이 길어지고 유충의 무게가 감소함으로써 *Bt*가 대상해충의 성장에 부정적인 영향을 줄 뿐만 아니라, 용화율이나 용기간, 우화율, 심지어 성충의 생존기간이 정상개체에 비해 짧아지거나 줄어들어 인해, 실질적인 살충활성만을 기대했던 곤충병원성세균 독소가 대상해충의 생물학적, 생태학적 특성에 영향을 줄 수 있다고 설명했다. 본 실험결과도 용길이에 있어서는 정상개체보다 차이를 보이며 성장에 저해를 받았던 것을 확인할 수 있었는데, 이는 궁극적으로 살충률이 낮은 균주라 하더라도 용화율이나 우화율, 성장에 영향을 미쳐 다음 세대의 개체군 크기를 감소시킬 수 있는 해충방제능력을 기대해 볼 수 있을 것으로 생각된다. 나비목 유충을 죽일 수 있는 새로운 *B. thuringiensis* 균의 발견은 잠재적 생물농약의 개발가능성을 의미하기도 한다. 지금까지 많은 *B. thuringiensis* 균들이 발견되어 이용되어 오고 있고, 지금 현재도 다양하고 새로운 균주들이 계속적으로 확인되고 있다, 이러한 새로운 *B. thuringiensis* 균주의 활성을 확인하기 위해서는 적용대상 해충의 생물학적 특성에 맞는 효과적인 생물검정방법을 통해 살충활성과 관련된 많은 정보를 획득해야 한다. 본 실험에서는 대상해충에 *B.*

thuringiensis 균이 처리된 식물체를 섭식하게 한 후 불건전한 개체의 정도나, 성장감소, 용화율, 우화율, 용길이에 *B. thuringiensis* 균이 어떠한 영향을 미치는지를 조사하여 균주 선발과정에서 그 동안 사망률에만 치중하였던 생물검정항목의 확대를 꾀하고자 노력하였으며, 앞으로 선발된 균주에 대한 기타 다른 해충에 대한 생물검정을 통한 적용확대와 활용가능성을 확인할 계획이다.

사 사

본 연구는 2008년도 농촌진흥청(국립식량과학원 벼맥류부) 박사후연수과정 지원사업에 의해 이루어진 것입니다.

Literature Cited

- Choi, S.Y., M.S. Cho, T.H. Kim, J.S. Kim, S.K. Pack, Y.N. Youn, S.S. Hong and Y.M. Yu. 2008. Bioactive characterization of *Bacillus thuringiensis* subsp. *Krustaki* CAB133 isolated from domestic soil. *Kor. J. Appl. Entomol.* 47(2): 175-184.
- Dale, D. 1994. Insect pests of rice plant-their biology and ecology. In: Heinrichs, E.A. (Ed.), *Biology and Management of rice insects*. Wiley Eastern Limited, New Delhi, India, pp.363-485.
- Gill, S.S., E.A. Cowles and V. Francis. 1995. Identification, isolation, and cloning of a *Bacillus thuringiensis* CryIAC toxin-binding protein from midgut of the lepidopteran insect *Heliothis virescens*. *J. Biol. Chem.* 270: 27277-27282.
- Heong, K.L., 1993. Rice leaffolder: are they serious pests? In: Hu, G.W., Guo, Y.J., Li, S.W. (Eds.), *Research on rice leaffolder management in china*, Proceeding of the international workshop on economic threshold level for rice leaffolder in china, March 4-6, 1992, Beijing. China Agricultural Science and technology publisher, Beijing, China, pp. 8-11.
- Kim, D.A., J.S. Kim, M.R. Kil, Y.N. Youn, D.S. Park and Y.M. Yu. 2006. Isolation and activity of insect pathogens *Bacillus thuringiensis* strain from soil. *Kor. J. Appl. Entomol.* 45(3): 357-362.
- Leong, K.L., R.J. Cano, and A.M. Kubinski. 1980. Factors affecting *Bacillus thuringiensis* total field persistence, *Environ. Entomol.* 9: 593-599.
- Ma, X.M., X.X. Liu, X. Ning, B. Zhang, F. Han, X.M. Guan, Y.F. Tan and Q.W. Zhang. 2008. Effects of *Bacillus thuringiensis* toxin CryIAC and *Beauveria bassiana* on Asiatic corn borer (Lepidoptera: Crambidae). *J. Invert. Pathol.* 99(2): 123-128.
- Miyashita, T. 1985. Estimation of the economic injury level in the rice leaf roller, *Cnaphalocrocis medinalis* Guenee (Lepidoptera: Pyralidae). 1. Relation between yield loss and injury of rice leaves at heading or in the grain filling period. *Appl. Ent. Zool.* 29: 7-16.
- Park, H.H., C.G. Park, H.M. Park and K.B. Uhm. 2006. Rearing system for rice leaffolder, *Cnaphalocrocis medinalis* (Lepidoptera:

- Cramdidae) using corn seedlings. Korean J. Appl. Entomol. 45(1): 91-95.
- Schnepf, H.E. 1995. *Bacillus thuringiensis* toxins; regulation, activities and structural diversity. Curr. Opin. Biotech. 6: 305-312.
- Tamez-Guerra, P., A.A. Iracheta, B. Pereyra-Alferez, L.J. Galanwong, R. Gomez-Flores, R.S. Ramez-guerra and C. Rodriguez-padilla. 2004. Characterization of Mexican *Bacillus thuringiensis* strain toxic for lepidopteran and coleopteran larvae. J. invertebr. Pathol. 8: 7-18.
- Uhm, K.B., K.M. Choi and J.S. Hyun. 1991. Integrated control of rice pests. pp. 16-65. In Applied entomology collection of treatises in celebration of Professor Hyun, J.S., eds. J.S. Hyun, M.H. Lee and K.S. Boo. 558pp. Agricultural Biology Slummi Association, Seoul National University, Korea.
- Ye, G.Y., H.W. Yao, Q.Y. Shu, X. Cheng, C. Hu, Y.W. Xia, M.W. Gao and I. Altosaar. 2003. High levels of stable resistance in transgenic rice with a cry1Ab gene from *Bacillus thuringiensis* Berliner to rice leaffolder, *Cnaphalocrocis medinalis* (Guenee) under field conditions. Crop Protection. 22: 171-178.
- Zheng, S.J., B. Henken, R.A. de Maagd, A. Purwito, F.A. Krens and C. Kik. 2005. Two different *Bacillus thuringiensis* toxin genes confer resistance to beet armyworm (*Spodoptera exigua* Hubner) in transgenic *Bt*-shallots (*Allium cepa* L.). Transgenic Res. 14: 261-272.

(Received for publication February 6 2009;
revised March 2 2009; accepted March 4 2009)