

제2부

# 미생물 살충제 개발현황과 전망



강석권(사진)  
유용만

서울대학교 농생물학과 교수

**미**생물 살충제의 개발은 자연생태계에 서식하는 100만종 이상의 곤충에 기생하는, 의미를 부여할 수 있는 1,500여종의 곤충병원성 미생물이 분리되어 해충방제에 유용하게 도입되고있다. 또한 최근 분자생물학과 유전공학의 급격한 발전으로 이들 곤충미생물을 유전자 조작 기술에 의하여 전혀 새로운 생물체로 변화시킬 수 있게 됨으로서 생물신소재 측면에서 미생물 살충제의 개발전망은 대단히 밝다.

미생물적 방제에 사용되는 미생물 살충제는 인축에 전혀 해가 없으며 숙주특이성이 뚜렷하여 목적해충만을 방제할 수 있어 생태계의 해충을 경제적 수준이하로 관리할 수 있다. 또한 개발비용이 합성농약보다 적게 들어 방제비용도 저렴하고 안전하다. 따라서 이러한 미생물 살충제는 미국을 비롯한 선진국에서는 이미 많은 종류가 개발되어 대량 사용하고 있다. 미생물 살충제의 대표적이라할 수 있는 *Bacillus thuringiensis* 세균제제와 바이러스 살충제인 Baculovirus가 수십종 상품화되어 사용되고 있다(표 1).

## 1. 미생물 살충제의 특성

### 가. 곤충병원 바이러스

곤충바이러스중 미생물적 방제에 주로 이용되는 것은 핵다각체병 바이러스(Nuclear Polyhedrosis Virus: NPV)와 과립병 바이러스(Granulosis Virus:GV)이다. 이들은 병

원력이 강하고 전파성이 좋으며 장기방제 및 단기방제에 사용될 수 있다. 한편 세포질 핵다각체병 바이러스(Cytoplasmic Polyhedrosis Virus:CPV)와 Iridescent Virus (IV)는 병원력은 그렇게 강하지 않으나 숙주범위가 넓어서 장기방제에 사용하고 있다(표 2).

NPV를 사용한 최초의 미생물적 방제 시험은 1913년 미국의 Lounsbury가 *Colias electo*와 *Heliothis obtectus*의 병사충을 물에 현탁하여 알파파 포장에 살포하였다. 그후 1940년대 후반부터 미국, 캐나다, 프랑스 및 동구권 국가들에서 본격적으로 연구개발되어 현재는 수십종의 바이러스 제제가 상품화 되었다.

### 나. 곤충병원성 세균

미생물 살충제로 사용되는 것은 대부분 포자를 형성하는데 이는 일반적으로 건조한 환경에 대하여 강하기 때문에 야외에서도 안정된 살충력을 발휘할 수 있다. 현재까지 곤충병원성 세균으로 약 100여 종류가 보전되고 있으나 이중에서 주로 미생물적 방제를 위해 사용되는 것으로 대표적인 것은 *Bacillus thuringiensis*, *B. popilliae*, *B. sphaericus*, *B. moritai* 등이 있다.

*B. thuringiensis* (B. t)는 보통의 토양등 자연상태중에 존재하는 세균으로서 포자와 내독소 결정체를 생성한다. B. t의 분류는 영양세포의 편모항원성에 의해 27종으로 분류되는데, 파지(phage)에 대한 감

표1. 상품화된 미생물 살충제

바이러스	박테리아	곰팡이
NPV Biotrol VHZ(gypsy moth) Vitrex(cotton bollworm) NPY(pine sawfly)	<i>B. thuringiensis</i> Thuricide(lepidopteran) Dipel(lepidopteran) Biospor(lepidopteran)	Royal 350 (root-knot nematodes) Mycar(mites) Vertalec(aphid)
GV Virin-Gkb(cabbage worm)	Teknar(dipteran) Trident(coleopteran)	Mycotal(greenhouse whitefly)
CPV Matzemin(pine caterpillar)	<i>B. popilliae</i> japidemic(Japanes beetle)	

표2. 곤충바이러스의 분류

과	아 속	핵산
Baculovirus	Nuclear polyhedrosis virus Granulosis virus Oryctes virus Barconid calyx virus	dsDNA
Entomopoxvirus	Entomopox virus	
Iridovirus	Iridescent virus	
Polydnavirus		
Densovirus	Densonucleosis virus	ssDNA
Reovirus	Cytoplasmic polyhedrosis virus	dsRNA
Enterovirus Calici virus Nodamura virus Retrovirus-like particle	Picorna virus	ssRNA

수성, 당분해, 플라스미드 패턴 등의 biotype의 차이까지 고려하면 37개 변종(variant)으로 구분할 수 있다. 표 3은 현재까지 보고된 B. t를 분류한 것이다.

## 2. 미생물 살충제의 개발현황

### 가. 핵다각체형 바이러스

주로 나비목 곤충에 병원성을 보이는 NPV는 바이러스 입자가 다각체 단백질에 매립되어 있는 특이한 바이러스 형태로서 야외에서의 안전성이 비교적 높고 해충에 대한 저항성이나 인축 및 환경에 대해 전혀 해가 없으므로 미생물 살충제로서 크

게 주목받고 있다. NPV에 대한 연구는 해충방제를 목적으로 그들의 물리적, 생화학적 특성을 규명하는 것에서 처음 연구가 시작되어 유전자 조작 기술의 발전과 함께 최근에는 미생물 살충제로서의 개발을 위하여 유전자 조작에 의한 병원성 증대 및 숙주범위 확대에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있으며 유용물질 생산을 위한 벡터의 개발도 활발하게 추진되고 있다.

#### 1) 병원성

NPV는 그들의 복제과정에 따른 특성상 바이러스의 침입에서부터 해충의 치사에 이르기까지는 일정시간이 요구된다. 이러한 NPV의 특

성은 바이러스 제제의 산포 이후 일정시간 동안 계속해서 해충의 식물 기해를 방지하게 된다. 이것은 살충제로서 NPV의 큰 단점으로 지적되어 바이러스 제제의 개발을 어렵게 하고 있다.

따라서 이러한 문제점을 극복하기 위하여 최근에는 NPV의 다각체 단백질 유전자로 만들어진 baculovirus expression vector system (BEVS)을 사용하여 곤충에 강한 독성을 갖는 B. t독소 유전자나 곤충신경 독소유전자, 유약호르몬-esterase 등을 발현시키므로써 강한 병원성을 갖는 재조합 바이러스를 제작하여 살충효과의 속효성을 증대시키려는 연구가 이루어지고 있다. 또한 유전자조작에 의하여 바이러스입자의 방출을 촉진함으로써 감염을 촉진시키는 연구도 이루어지고 있다.

현재 필자들의 연구실에서도 미생물 살충제로서 NPV의 병원성을 증대시키기 위하여 새로운 BEVS의 국내개발과 함께 여러가지 독소 유전자를 발현시키기 위한 연구를 수행중에 있다. 앞으로 이러한 일련의 연구가 진전되면 미생물 살충제로서 NPV의 병원성을 높일 수 있는 독소 유전자의 탐색이 가능하게 될 것이며, 또한 그 안전성에 대한 연구가 확립되어 유기합성농약을 대체할 수 있는 바이러스 제제의 개발이 확

표3. H항원에 의한 *B. thuringiensis*의 분류

H항원	형질형	특성	H항원	형질형	특성
1	<i>thuringiensis</i>	나비목	11a, 11c	<i>kyushuensis</i>	파리목
2	<i>finitimus</i>	-	12	<i>thompsoni</i>	나비목
3a	<i>alesti</i>	나비목	13	<i>pakistani</i>	-
3a, 3b	<i>kurstaki</i>	나비목/파리목	14	<i>israelensis</i>	파리목
4a, 4b	<i>sotto</i>	나비목	15	<i>dakota</i>	-
	<i>dendrolimus</i>	나비목	16	<i>indiana</i>	-
4a, 4c	<i>kenyae</i>	나비목	17	<i>tohokuensis</i>	-
5a, 5b	<i>galleriae</i>	나비목	18	<i>kumamotoensis</i>	-
5a, 5c	<i>canadensis</i>	나비목	19	<i>tohokuensis</i>	-
6	<i>entomocidus</i>	나비목	20a, 20b	<i>yunnanensis</i>	-
	<i>subtoxicus</i>	나비목	20a, 20c	<i>pondicheriensis</i>	-
7	<i>aizawai</i>	나비목	21	<i>colmeri</i>	-
8a, 8b	<i>morrisoni</i>	나비목	22	<i>shandongiensis</i>	-
	<i>tenebrionis</i>	딱정벌레목	23	<i>japonensis</i>	딱정벌레목
8a, 8c	<i>ostrinae</i>	나비목	24	<i>neoleonensis</i>	-
8b, 8d	<i>nigeriensis</i>	-	25	<i>coreanensis</i>	-
9	<i>tolworthi</i>	나비목	26	<i>siloensis</i>	-
10	<i>darmstadiensis</i>	파리목	27	<i>mexicanensis</i>	-
11a, 11b	<i>toumanoffi</i>	나비목			

Note: Anonmotile type is *wuhanensis* (Hubel Inst. Microbiology 1976), WUH.

실패할 것이다.

**2) 숙주 범위 확대**

NPV의 생물학적인 특성에 따른 높은 숙주특이성은 한종의 NPV에 의하여 기해할 수 있는 곤충종을 극히 제한한다. 따라서 바이러스 제제를 개발하여 사용할 때 해충종에 따라 각각의 바이러스 제제를 처리해야 하는 등 비경제적인 문제가 생긴다. 따라서 이러한 비경제성을 해결하기 위하여 NPV의 복제과정을 비롯하여 숙주범위를 확장하기 위한 연구도 최근 활발히 이루어지고 있다. NPV의 숙주범위 결정인자에 대해서는 아직 그 명확한 기작이 밝혀지지 않았다. 그러나 바이러스의 envelope 단백질인 gp64가 바이러스의 숙주세포에 부착할 때 관여하는 것이 밝혀지고 또한 숙주 범위가 다른 두 바이러스의 유전자 재조합에 의하여 숙주범위가 확대된 재조

합체가 제작됨으로써 숙주범위 결정 인자가 바이러스 유전자에 있음이 밝혀졌다. 필자들의 연구실에서도 현재, 유전자 재조합에 의하여 숙주 범위가 확대된 재조합 바이러스를 다수 제작하고 여러가지 분자유전학적인 차원에서 숙주범위 결정인자를 규명하기 위한 연구를 수행중에 있다(그림 1). NPV의 숙주범위에 관여하는 요인이 앞으로 완전히 규명되면 숙주범위를 임의로 조절할 수 있게 됨으로써 목적으로 하는 대상 해충만을 선택적으로 방제할 수 있는 유용한 새로운 미생물 살충제의 개발이 가능하게 될 것이다.

**나. *Bacillus thuringiensis***

BT제는 생산비가 저렴하고 전착제나 증량제 등의 첨가는 물론 다른 농약이나 미생물 살충제 등과 혼합하여 사용할 수 있다. BT제는 나비

목 파리목 딱정벌레목 등 숙주범위가 비교적 넓어서 흰불나방, 배추좀나방, 거세미류 등을 방제할 수 있으며 특히 산림해충 방제에 적절하다. 또한, 최근 날로먹는 채소류의 소비가 급증하고 있으므로 절대적으로 무공해 미생물 살충제가 필요하게 되었다.

*B. t*균의 내독소 단백질 결정체를 생산하는 유전자는 플라스미드나 염색체에 각각 존재하거나 또는 양쪽에 존재하는데 최근에는 이 유전자를 클로닝하여 대장균이나 고초균에 재조합하여 넣거나, 또는 본래의 *B. t*균주에 발현시킴으로써 기존의 *B. t*균에 의하여 생산되는 내독소 단백질의 독성보다 강한 균주를 개발할 수 있다. 필자들의 연구실에서는 경기도 화성군에서 분리된 *B. thuringiensis* NT0423 균주(이 균주의 특성은 이중 피라미드 형태의 내독

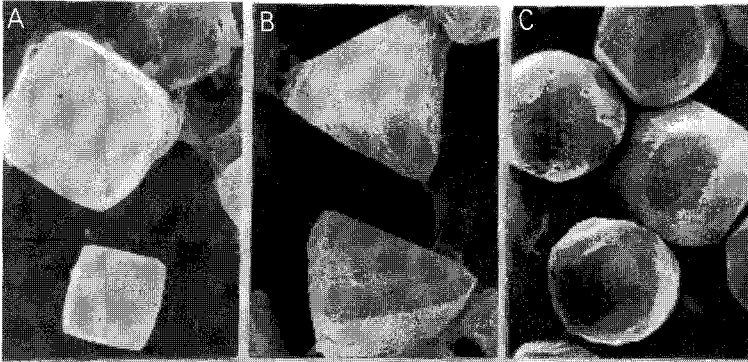


그림1. 유전자 재조합에 의하여 숙주범위가 확장된 재조합 바이러스 다각체의 주사 전자현미경 사진 (A) *Autographa californica* NPV 다각체 (B) 재조합 NPV 다각체 (C) 누에 NPV 다각체

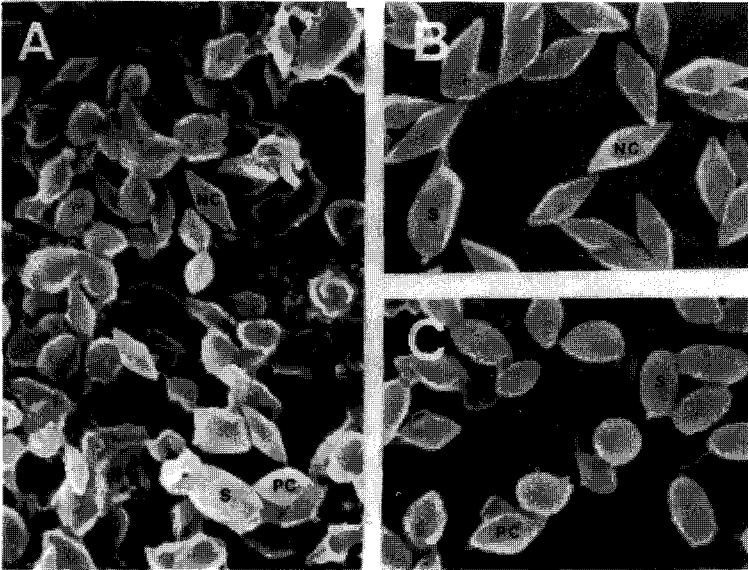


그림2. 주사전자현미경으로 관찰된 *B. thuringiensis*의 내독소 결정체의 모양(NC 및 PC: 내독소 결정체, S:포자) (A) 형질전환체 (B) 새로 분리된 *B. thuringiensis* NT0423 (C) *B. thuringiensis* pCG5

소 단백질을 생산하며 나비목인 배추좀나방, 거세미나방 등과 파리목인 모기유충에 동시에 유사한 독성을 나타냄)에 모기 유충에 대하여 독성이 강한 PG-14균주의 내독소 단백질 유전자를 형질전환 하였다(그림 2). 형질전환체는 하나의 세포에서 두가지 형태의 내독소 단백질을 생산함으로써 모기유충에 대하여 독성이 강해졌으며 흰불나방에 대해서

는 독성의 변화를 나타내지 않았다. 이러한 결과는 한종의 *B. t*균주보다 강한 독성과 숙주범위가 넓혀진 새로운 *B. t*균주의 개발 가능성을 보였다.

BT제는 토양중에서 장시간 안정할 수 없으므로 토양해충 방제에는 사용하기 불리한 점 및 작물의 줄기속에서 서식하는 해충방제에 난점이 있다. 따라서 BT제의 결정성 독소

단백질 유전자를 뿌리에 붙어사는 세균이나 잎에 사는 비병원성, 예를 들면 *Pseudomonas fluorescens*의 염색체에 재조합하여 새 균주를 제작하고 야외에 산포하면 이 세균이 번식되어 내독소단백질 결정체를 안정적으로 생산하게 되고 장기방제에 효과가 있을 것으로 기대하고 있다.

또한 물에 부유성인 Cyanobacteria에 모기 유충에 강한 독성을 보이는 subsp. *israelensis*의 내독소 단백질 유전자를 클로닝하여 형질전환을 하였다. 이는 BT제를 살포하였을 때 물에 가라앉기 때문에 모기 유충의 섭식율이 낮아짐을 방지하기 위한 것이다. 필자들의 실험실에서는 PG-14균주의 내독소단백질 유전자를 Cyanobacteria에 형질전환하기 위한 연구를 수행하고 있다.

한편 미국의 몬산토 회사의 David 등은 *B. t. kurstaki* HD-1의 결정성 독소 단백질 유전자를 클로닝하고 *Agrobacterium*을 매개로 하여 토마토에 도입하여 선택적이고 효과적인 내충성 작물(transgenic plants)을 만드는데 성공하였으며 현재 야외시험중이다. 필자들의 연구실에서도 농촌진흥청 유전공학연구소와 공동연구로 *B. t. kurstaki* HD-1의 결정성 독소 단백질을 생산하는 P2 유전자를 담배 및 배추에 발현시킨 해충저항성 작물을 만들었다(그림 3). 이러한 작물은 진딧물과 같은 흡충성 해충방제에 가능하며 지속적인 농약 살포를 하지 않아도 되는 경제성이 있다. BT제는 수화제, 액제, 반고체 등으로 생산시판되고 있으며 *B. t*의 종류 및 BT제 생산라인까지도 특허화되어 있는 실정이다. 필자들의 연구실에서는 국내에서 쉽게 저렴한 가격으로 구할 수 있는 물질로 BT제제를 만들었다(그림4). 이러한 일련의 연구들은 미생

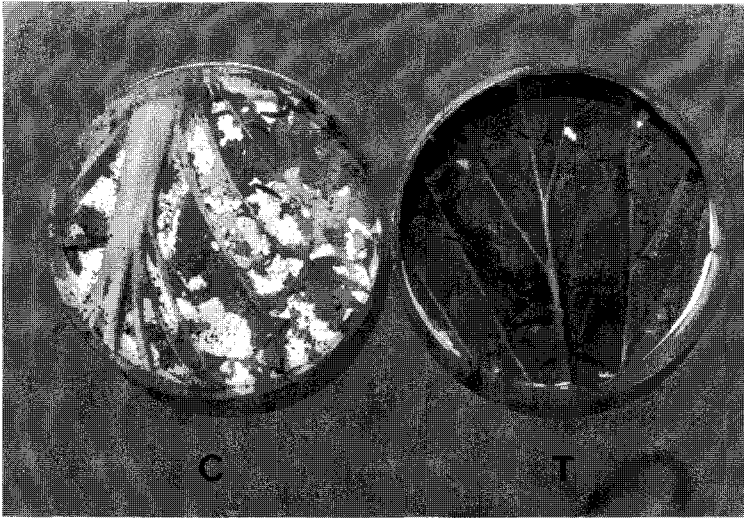


그림3. *B. t. kurstaki* HD-1의 내독소 단백질 유전자에 의하여 형질전환된 배추. (C) 대조 배추 (T) 형질전환된 배추



그림4. *Bacillus thuringiensis* NT0423균주로 만든 BT시제품

물 살충제의 전망을 밝게하고 있다.

### 3. 미생물 살충제의 개발전망

미생물적 방제는 최근 심각하게 대두되고 있는 환경오염, 생태계 파괴 등의 문제점으로 인해 관심이 집중되고 있다. 특히, 농약저항성 해충의 출현, 출하전 발생하는 해충에 대하여 농약 사용이 불가능한 채소,

과일 등 그리고 산림해충, 저곡해충, 목초, 골프장 해충 및 모기, 파리 등의 위생해충 등 미생물 살충제의 개발은 다양하고 현실적으로 시급히 요구되고 있다. 특히 자연환경이 우리나라와 비슷한 일본의 경우 BT제 사용량은 현재 50억 규모이나 1994년부터 BT제의 규제완화로 매년 50~60% 증가할 것으로 예측되어 있는데 우리나라에서도 배추좀나

방 등에 사용되어 점점 수요가 확대되고 있으며 앞으로 그 수요가 더욱 높아지리라 예상되고 있다.

따라서 이러한 미생물 살충제의 국내 개발이 시급한데 그중 NPV제제의 개발은

첫째, 국내에서의 여러가지 해충에 대한 다양한 바이러스의 분리·동정을 수행함으로써 여러가지 바이러스제제의 소재를 마련하며

둘째, NPV제제의 큰 단점으로 지적되는 병원성의 속효성을 위하여 국내 분리주의 NPV를 이용하여 BEVS를 개발하고 독성이 강한 유전자를 탐색하며

셋째, NPV제제의 경제성을 위하여 숙주범위를 유전공학적인 방법으로 조절함으로써 병원성 및 숙주범위 등 NPV제제의 단점을 극복한 새로운 살충제의 개발과 이용이 활성화되리라 믿는다.

한편 BT제의 개발은

첫째, 새로운 *B. t* 균주를 분리하는 것이다. 미국의 Mycogen과 같은 회사는 1992년 20개의 BT제를 특허·출원했다. 앞으로도 계속적으로 새로운 균주의 개발가능성은 높다.

둘째, 유전공학 기법에 의하여 해충 저항성 식물을 개발하여 진딧물 등 흡충성 해충을 목표로 할 수 있으며 농약 사용을 감소시키는 등 경제적이다.

셋째 야외 또는 자연환경에서 BT제의 약점인 살충력의 지속성을 개선할 수 있도록 다른 미생물에 형질 전환할 수 있으며 저항성 유발인자에 대하여 교란시킴으로써 저항성을 지연시킬 수 있다. 이러한 미생물 살충제는 인간의 안전을 위하여 계속 개발하여야 할 것이다. **농약정보**