



등록특허 10-2339765



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2021년12월15일

(11) 등록번호 10-2339765

(24) 등록일자 2021년12월10일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A01N 63/20 (2020.01) C12N 1/20 (2006.01)

C12R 1/20 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A01N 63/20 (2020.01)

C12N 1/20 (2021.05)

(21) 출원번호 10-2020-0031176

(22) 출원일자 2020년03월13일

심사청구일자 2020년03월13일

(65) 공개번호 10-2021-0115423

(43) 공개일자 2021년09월27일

(56) 선행기술조사문헌

KR1020110092617 A

(뒷면에 계속)

(73) 특허권자

동아대학교 산학협력단

부산광역시 사하구 낙동대로550번길 37, 동아대학교 내 (하단동)

연세대학교산학협력단

서울특별시 서대문구 연세로 50 (신촌동, 연세대학교)

(72) 발명자

이선우

부산광역시 북구 화명신도시로 100, 203동 906호 (화명동, 코오롱하늘채2차아파트)

김지현

서울특별시 서대문구 통일로25길 30, 106동 403호 (홍제동, 홍제한양아파트)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

최규환

전체 청구항 수 : 총 4 항

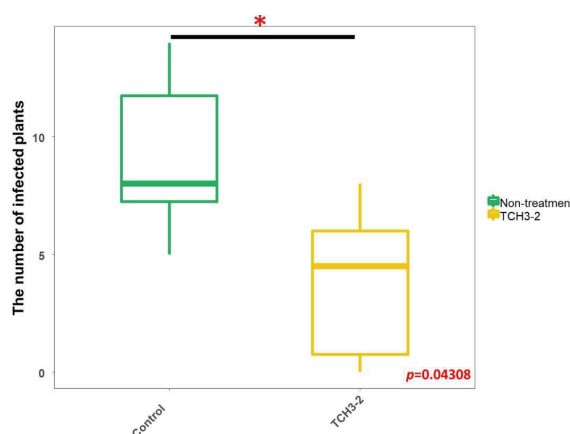
심사관 : 박범용

(54) 발명의 명칭 플라보박테리움 속 TCH3-2 균주를 유효성분으로 함유하는 식물병 방제용 조성물 및 이의 용도

(57) 요약

본 발명은 플라보박테리움 속 TCH3-2 균주를 유효성분으로 함유하는 식물병 방제용 조성물 및 이의 용도에 관한 것으로, 본 발명의 플라보박테리움 속(*Flavobacterium* sp.) TCH3-2 균주는 콩 갈색줄기썩음병 및 담배 모자이크 병에 대한 저항성을 현저하게 증가시킴으로써, 완두콩 및 담배 작물의 생산을 촉진시킬 수 있다.

대표도 - 도1



- (52) CPC특허분류
C12R 2001/20 (2021.05)
- (72) 발명자
최수연
전라북도 전주시 완산구 배학1길 13, 301호(호자동3가)
- 정은주**
부산광역시 북구 화명신도시로 255, 302동 1405호(금곡동, 율리마을주공아파트)
- 이평안**
대구광역시 북구 검단로 50, 107동 805호(북현동, 북현서한타운)
- 최기혁**
부산광역시 사하구 하신변영로 400, 110동 2302호(하단동, 하단동에스케이뷰아파트)
- 이형주**
부산광역시 부산진구 백양산로53번길 125, 101동 1004호(당감동, 주공아파트1단지)
- 송주연**
서울특별시 동작구 여의대방로44길 10, 110동 1606호(대방동, 대림아파트)
- (56) 선행기술조사문헌
KR1020090116241 A
KR1020050060624 A
KR100942228 B1
KR1020170129921 A
KR1020050060624 A
Nature Biotechnology, Volume 36, Number 11, pp.1100-1117 (2018.10.08.)*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1395063053 (세부과제번호: PJ013131012020)
부처명	농촌진흥청
과제관리(전문)기관명	농촌진흥청
연구사업명	차세대바이오그린21
연구과제명	친환경 미생물의 토마토 내생과 미생물 상호작용 메타게놈 분석
기 여 율	8/10
과제수행기관명	동아대학교 산학협력단
연구기간	2020.01.01 ~ 2020.12.31

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1545021191 (세부과제번호: 918011043HD030)
부처명	농림축산식품부
과제관리(전문)기관명	농림식품기술기획평가원
연구사업명	포스트게놈 신산업육성을 위한 다부처유전체사업
연구과제명	농작물 및 발효식품 환경의 메타유전체 정보 및 시스템 분석
기 여 율	2/10
과제수행기관명	연세대학교 산학협력단
연구기간	2020.01.01 ~ 2020.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

플라보박테리움 속(*Flavobacterium* sp.) TCH3-2 균주 또는 이의 배양액을 유효성분으로 함유하는 갈색줄기썩음병(brown stem rot) 또는 담배 모자이크병(Tobacco mosaic disease) 방제용 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 균주는 기탁번호가 KACC92107P인 것을 특징으로 하는 갈색줄기썩음병(brown stem rot) 또는 담배 모자이크병(Tobacco mosaic disease) 방제용 조성물.

청구항 3

삭제

청구항 4

삭제

청구항 5

플라보박테리움 속(*Flavobacterium* sp.) TCH3-2 균주 또는 이의 배양액의 유효량을 식물, 식물의 종자 또는 식물 식재 토양에 처리하는 단계를 포함하는 갈색줄기썩음병(brown stem rot) 또는 담배 모자이크병(Tobacco mosaic disease)의 방제 방법.

청구항 6

삭제

청구항 7

삭제

청구항 8

플라보박테리움 속(*Flavobacterium* sp.) TCH3-2 균주를 배양하는 단계를 포함하는 갈색줄기썩음병(brown stem rot) 또는 담배 모자이크병(Tobacco mosaic disease) 방제용 조성물의 제조 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 플라보박테리움 속 TCH3-2 균주를 유효성분으로 함유하는 식물병 방제용 조성물 및 이의 용도에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 화학합성농약은 토양, 작물, 또는 수중에 잔류하여 환경오염 및 생태계교란 등의 여러 가지 문제를 야기한다. 또한 화학합성농약은 사용 시 병원균에 내성이 생길 수 있으며, 사용자 중독 사고의 위험도 있다. 이러한 부작용에 대한 사회적 관심이 높아지면서 화학적 농약을 이용한 방제가 어려운 각종 병해를 대상으로 미생물을 이용한 생물학적 방제 방법에 관한 연구가 많이 시도되고 있다.

[0003] 보통 생물학적 방제에는 병원균에 대해 항균 효과를 갖는 미생물을 이용할 수 있으며, 또한 병에 대한 저항성을 작물체에 유도할 목적으로 미생물을 미리 작물체에 선접종함으로써 작물체 내에 유도되는 전신저항성(Induced Systemic Resistance, "ISR")을 이용할 수 있다. 후자와 같은 방법은 환경오염, 약해, 또는 잔류독성 등의 문제

를 야기시키지 않는다는 장점과 이의 방제 효과가 오래 지속된다는 면에서 효과적인 방제 방법으로 평가된다.

[0004] 갈색줄기썩음병(Brown Stem Rot, BSR)은 피알로포라 그레가타(*Phialophora gregata*)에 의해 발병하는 것으로, 북미대륙 및 일본 특히 홋카이도 지역에서 갈색줄기썩음병이 심각하게 발생하고 있으며, 콩 수량의 감소로 인해 심각한 피해를 주고 있다. 현재 국내에서 갈색줄기썩음병이 미미하게 발생하고 있으나, 급속적인 확산을 막기 위하여 확실한 방제 방법을 강구해야 한다.

[0005] 담배 모자이크 바이러스(Tobacco Mosaic Virus, TMV)는 감염으로 증상이 나타나기까지 일정한 시일이 소요되며, 감염 초기에는 바이러스의 감염 여부를 확인할 수 없기 때문에 담배 모자이크 바이러스에 한번 감염이 되면 조기에 방제할 수 없어서 연초의 품질이 저하되고 수확량이 감소되어 막심한 손해가 발생하고 있으나 아직까지 뚜렷한 방제 대책이 없는 실정이다.

[0006] 한편, 한국등록특허 제0942228호에는 '플라보박테리움 헤르시니움 이피비-씨313 균주를 이용한 식물병 방제제'에 대해 개시하고 있으며, 한국공개특허 제2009-0116241호에는 '고추 역병에 대한 길항 효과를 나타내는 토양 근권세균 플라보박테리움 균주 GSE09'에 대해 개시하고 있다. 하지만, 본 발명의 '플라보박테리움 속 TCH3-2 균주를 유효성분으로 함유하는 식물병 방제용 조성물 및 이의 용도'에 대해서는 아직까지 개시된 바가 없다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 본 발명은 상기와 같은 요구에 의해 도출된 것으로서, 본 발명자들은 플라보박테리움 속(*Flavobacterium* sp.) TCH3-2 균주를 완두콩(*Pisum sativum*) 및 담배(*Nicotiana tabacum*)에 각각 처리하였을 때, 상기 균주를 처리하지 않은 군에 비해 완두콩에서 갈색줄기썩음병(brown stem rot) 발병이 감소되고, 담배에서 담배 모자이크병(Tobacco mosaic disease) 발병이 감소되는 것을 확인함으로써, 본 발명을 완성하였다.

과제의 해결 수단

[0008] 상기 과제를 해결하기 위하여, 본 발명은 플라보박테리움 속(*Flavobacterium* sp.) TCH3-2 균주 또는 이의 배양액을 유효성분으로 함유하는 식물병 방제용 조성물을 제공한다.

[0009] 또한, 본 발명은 플라보박테리움 속(*Flavobacterium* sp.) TCH3-2 균주 또는 이의 배양액의 유효량을 식물, 식물의 종자 또는 식물 식재 토양에 처리하는 단계를 포함하는 식물병의 방제 방법을 제공한다.

[0010] 또한, 본 발명은 플라보박테리움 속(*Flavobacterium* sp.) TCH3-2 균주를 배양하는 단계를 포함하는 식물병 방제용 조성물의 제조 방법을 제공한다.

발명의 효과

[0011] 본 발명에 따르면, 플라보박테리움 속(*Flavobacterium* sp.) TCH3-2 균주는 콩 갈색줄기썩음병 및 담배 모자이크병에 대한 저항성을 현저하게 증가시킴으로써, 콩 및 담배 작물의 생산을 촉진시킬 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0012] 도 1은 본 발명의 플라보박테리움 속(*Flavobacterium* sp.) TCH3-2 균주를 처리하였을 때, 담배 모자이크병(Tobacco mosaic disease)에 대한 식물체의 저항성 증진 효과를 확인한 결과이다. Control: TCH3-2 균주를 처리하지 않고 멸균수를 처리한 대조군.

도 2는 담배 식물체에 감염된 바이러스 종류를 확인하기 위해 이병 담배 식물체 시료를 대상으로 6종의 바이러스 특이적 프라이머 세트를 이용하여 PCR 반응을 수행한 결과이다.

도 3은 본 발명의 플라보박테리움 속(*Flavobacterium* sp.) TCH3-2 균주를 처리하였을 때, 갈색줄기썩음병(brown stem rot)에 대한 식물체의 저항성 증진 효과를 확인한 결과이다. Control: TCH3-2 균주를 처리하지 않고 멸균수를 처리한 대조군.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0013] 본 발명의 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 플라보박테리움 속(*Flavobacterium* sp.) TCH3-2 균주 또는 이의 배양액을 유효성분으로 함유하는 식물병 방제용 조성물을 제공한다.

- [0014] 본 발명의 플라보박테리움 속 TCH3-2 균주는 작물의 근권토양으로부터 분리하였으며, 국립농업과학원에 2015년 11월 20일자로 기탁된 균주이다(기탁번호: KACC92107P).
- [0015] 본 발명의 식물병 방제용 조성물에서, 상기 식물병은 진균성 식물병 또는 바이러스성 식물병일 수 있으며, 바람직하게는 상기 진균성 식물병은 갈색줄기썩음병(brown stem rot)이고, 바이러스성 식물병은 담배 모자이크병(Tobacco mosaic disease)일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 상기 갈색줄기썩음병은 피알로포라 그레가타(*Phialophora gregata*)에 의해 발병하고, 담배 모자이크병은 담배 모자이크 바이러스(Tobacco mosaic virus, TMV)에 의해 발병한다.
- [0016] 본 발명에 따른 식물병 방제용 조성물은 예를 들어 직접 분사가 가능한 용액, 분말 및 현탁액의 형태 또는 고농축수성, 유성 또는 다른 현탁액, 분산액, 에멀전, 유성 분산액, 페이스트, 분진, 흠뿌림 물질 또는 과립체로 제조할 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다. 또한, 상기 식물병 방제용 조성물은 분사, 분무, 살포, 흠뿌림 또는 붓기에 의해 사용될 수 있다. 사용 형태는 의도한 목적에 의존하는데, 모든 경우에 본 발명에 따른 조성물의 분포가 가능한 한 미세하고 균일하도록 해야 한다.
- [0017] 또한, 본 발명의 식물병 방제용 조성물은 다양한 형태로 제제화할 수 있다. 상기 제제는 예를 들어 용매 및/또는 담체를 첨가함으로써 제조될 수 있다. 종종, 비활성 첨가제 및 표면-활성 물질, 예를 들어 유화제 또는 분산제를 제제에 혼합한다. 적합한 표면-활성 물질은 방향족 술폰산(예를 들어 리그노술폰산, 페놀-술폰산, 나프탈렌- 및 디부틸나프탈렌술폰산), 지방산, 알킬- 및 알킬아릴술폰네이트, 알킬 라우릴 에테르, 지방 알코올 술페이트의 알칼리 금속, 알카라인 토금속, 암모늄염, 술페이트화 헥사-, 헵타- 및 옥타데칸올, 지방 알코올 글리콜 에테르의 염, 술폰네이트 나프탈렌 및 이의 유도체, 포름알데히드의 축합물, 나프탈렌 또는 나프탈렌술폰산, 페놀 및 포름알데히드의 축합물, 폴리옥시에틸렌옥틸 페놀 에테르, 에톡실화 이소옥틸-, 옥틸- 또는 노닐페놀, 알킬페닐 또는 트리부틸페닐 폴리글리콜 에테르, 알킬아릴폴리에테르 알코올, 이소트리데실 알코올, 지방 알코올/에틸렌 옥사이드 축합물, 에톡실화 피마자유, 폴리옥시에틸렌 알킬에테르 또는 폴리옥시프로필렌, 라우릴 알코올 폴리글리콜 에테르 아세테이트, 소르비톨 에스테르, 리그닌-술폰이트 페액 또는 메틸셀룰로오스일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0018] 적합한 고형 담체 물질은 원칙적으로, 모두 다공성이고, 농업적으로 허용가능한 담체, 예를 들어 광물토류(예컨대 실리카, 실리카 겔, 실리케이트, 활석, 고령토, 석회암, 석회, 초크, 보울, 황토, 점토류, 백운석, 규조 토류, 황산칼슘, 황산 마그네슘, 산화마그네슘, 분쇄 합성물질), 비료(예컨대 황산암모늄, 인산암모늄, 질산암모늄, 우레아), 식물성 제품(예컨대 곡물 가루, 나무 껍질 가루, 목분(wood meal) 및 견과 껍질 가루) 또는 셀룰로오스 분말일 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다. 또한, 상기 고형 담체는 1종류 또는 2종류 이상을 혼합하여 사용할 수도 있다.
- [0019] 본 발명의 식물병 방제용 조성물은 유효성분으로서 플라보박테리움 속(*Flavobacterium* sp.) TCH3-2 균주를 단독으로, 또는 2종 이상의 다른 항균 또는 항바이러스성 물질 등과 혼합하여 사용할 수 있다.
- [0020] 본 발명의 식물병 방제용 조성물은 작물체 흡수 및 효과를 증진시키기 위하여 확산제 및 침투제, 또는 계면활성제와도 혼용이 가능하다.
- [0021] 본 발명은 또한, 플라보박테리움 속(*Flavobacterium* sp.) TCH3-2 균주 또는 이의 배양액의 유효량을 식물, 식물의 종자 또는 식물 식재 토양에 처리하는 단계를 포함하는 식물병의 방제 방법을 제공한다.
- [0022] 상기 식물병을 방제하는 방법으로는 상기 플라보박테리움 속 TCH3-2 균주 또는 이의 배양액의 유효량을 식물에 침지하거나 관주, 즉, 분무하여 수행할 수 있다. 침지하는 방법의 경우, 상기 플라보박테리움 속 TCH3-2 균주 또는 이의 배양액의 유효량을 식물체 주변의 토양에 붓거나 또는 종자를 플라보박테리움 속 TCH3-2 균주 또는 이의 배양액의 유효량에 담가둘 수 있다.
- [0023] 본 발명의 '유효량'은 유익한 또는 원하는 결과를 일으키기에 충분한 양으로, 식물병을 방제하기 위해 상기 플라보박테리움 속 TCH3-2 균주 또는 이의 배양액을 물로 균일하게 희석한 후 동력살포기와 같은 적절한 살포장치를 이용하여 식물체 및 경작지에 살포할 수 있다.
- [0024] 본 발명의 식물병의 방제 방법에서, 상기 식물은 피알로포라 그레가타 또는 TMV가 감염될 수 있는 식물로, 이에 제한되지 않으나, 완두콩(*Pisum sativum*) 또는 담배(*Nicotiana tabacum*)일 수 있다. 상기 식물병은 전술한 바와 같다.
- [0025] 본 발명은 또한, 플라보박테리움 속(*Flavobacterium* sp.) TCH3-2 균주를 배양하는 단계를 포함하는 식물병 방제

용 조성물의 제조 방법을 제공한다. 상기 플라보박테리움 속(*Flavobacterium* sp.) TCH3-2 균주의 배양 방법 및 식물병 방제용 조성물의 제조 방법은 당업계에 공지된 임의의 방법을 이용할 수 있으며, 특정 방법에 특별히 제한되는 것은 아니다.

[0027] 이하, 본 발명의 실시예에 의해 상세히 설명한다. 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0029] **실시예 1. 담배 모자이크병에 대한 저항성 검정**

[0030] 담배(*Nicotiana tabacum*)를 대상으로 플라보박테리움 속(*Flavobacterium* sp.) TCH3-2 균주(KACC92107P)를 처리하였을 때, 담배 모자이크 바이러스(TMV, Tobacco mosaic virus)에 의해 발병하는 담배 모자이크병(Tobacco mosaic disease)에 대한 식물체의 저항성 검정을 실시하였다. 담배 종자를 10^9 CFU/mL로 조정된 TCH3-2 균주 현탁액에 침지하였고(1차 처리), 11일 뒤 발아한 종자는 부농 원예용 상토가 담긴 45×45 mm 포트에 이식하였다. 이식 3일 후 10^9 CFU/mL로 조정된 TCH3-2 현탁액을 토양 g당 6×10^7 CFU가 되도록 관주하였다(2차 처리). TCH3-2 균주 처리구에 대한 대조구(control)로는 멸균수만 2회 처리한 식물체를 사용하였다. 2차 미생물 처리 3주 후, 포장에 이식하였으며, TCH3-2 균주 처리구와 대조구를 각각 30주씩 총 60주를 사용하였고, 동일한 시기에 3반복씩 2회 실시하였다(한 시기에 미생물 처리구 90주와 대조구 90주 등 180주를 사용. 한 반복수당 각 30주 사용. 이 세트를 2회 반복 실시). 포장에 정식 후 4개월간 식물체를 생육하며 자연 발생적인 모자이크 병징이 관찰되는 담배 개체수를 계수하였다.

[0031] 그 결과, 1회차 결과 TCH3-2 처리구에서 90개체 중 6개체(반복구 당 0, 6, 0개체)에서 바이러스 병이 확인된 반면, 대조구에서는 90개체 중 26개체(반복구 당 7, 14, 5개체)에서 발병이 확인되었다. 2회차 검정에서는 1회차에 비하여 두 처리구 모두 발병율이 증가하였는데, TCH3-2 처리구에서는 90개체 중 17개체(반복구 당 3, 6, 8개체)로 증가폭이 높았으며, 대조구 또한 90개체 중 29개체(반복구 당 8, 13, 8개체)로 소폭 증가하였다(표 1). 1 및 2회차 검정 결과를 합하여 평가하였을 때, 도 1에 개시한 바와 같이 TCH3-2 처리구는 총 180개체 중 23개체에서 바이러스병이 발생하였고, 대조구는 180개체 중 55개체에서 발병이 확인되었으며, 통계적으로 유의미한 차이를 보였다.

표 1

[0032] 담배 모자이크병 발병 담배 개체 측정

시료	회차	반복수	TMV 발병 개체수
대조구	1	1	7
		2	14
		3	5
	2	1	8
		2	13
		3	8
	총		55
TCH3-2 처리구	1	1	0
		2	6
		3	0
	2	1	3
		2	6
		3	8
	총		23

[0033] 또한, 담배 식물체에 발병한 식물 병원성 바이러스를 확인하기 위하여 이병 식물체 시료를 채취하여 액체 질소에 급속 냉각 후 마쇄하였고, 트리졸을 사용하여 총 RNA를 분리하였다. 분리된 RNA는 HelixCript™ Easy cDNA Synthesis kit (NanoHelix)로 cDNA를 합성하였고, Inclone™ Gel & PCR Purification kit (Inclone Biotech)로 순화한 후 사용하였다. 담배에 감염된 병원체를 확인하기 위하여 주요 바이러스 병원 담배 모자이크바이러스(Tobacco mosaic virus, TMV; TMVF, 5'-CGACATCAGCCGATGCAGC-3'(서열번호 1); TMVR, 5'-ACCGTTTTCGAACCGAGACT-3'(서열번호 2)), 토마토 모자이크바이러스(Tomato mosaic virus, ToMV, ToMVF, 5'-CGAGAGGGGCAACAAACAT-3'(서열번호 3); ToMVR, 5'-ACCTGTCTCCATCTCTTTGG-3'(서열번호 4)), Tobacco bushy top

virus(TBTV; TBTVF, 5'-CCACCCAGAAGTCAAGGAAG-3'(서열번호 5); TBTVR, 5'-GCAGTTGTTGCATACCGATT-3'(서열번호 6)), 담배 괴사바이러스(Tobacco necrosis virus, TNV; TNVF, 5'-ACAATAGTCTCCAACTCGGAG-3'(서열번호 7); TNVR, 5'-ATCATAACCTGCGTAAGG-3'(서열번호 8)), 담배 줄무늬바이러스(Tobacco streak virus, TSV; TSVF, 5'-ATGAATAATTTGATCCAAAGTCCA-3'(서열번호 9 R, A 또는 G); TSVR, 5'-GCATCTGGTATAAAGGAGGCAT-3'(서열번호 10)) 및 담배 둥근무늬바이러스(Tobacco ringspot virus, TRSV; TRSVF, 5'-GCCTCTAAGGACGCAACTGTGACG-3'(서열번호 11); TRSVR, 5'-CACAAAGCAGCTGACAGACAGACATTC-3'(서열번호 12)) 프라이머를 사용하여 중합효소연쇄반응(polymerase chain reaction, PCR)을 실시하였다. PCR은 AccuPower Pfu PCR PreMix(BIONEER)에 주형 cDNA 2 μ l, 10 pmol 정방향 및 역방향 프라이머 각 1 μ l, 멸균수 16 μ l 등 20 μ l 반응물로 실시하였으며, 예상 되는 PCR 산물의 크기는 TMV-880 bp, ToMV-318 bp, TBTV-518 bp, TNV-280 bp, TSV-1,000 bp 및 TRSV-650 bp이었다. PCR 조건은 다음과 같다: 초기 변성 94 $^{\circ}$ C, 5분; 변성 94 $^{\circ}$ C, 30초, 어닐링 58 $^{\circ}$ C, 45초, 신장 72 $^{\circ}$ C, 45초인 반응을 30회 반복; 마지막 신장 72 $^{\circ}$ C 5분.

[0034] 전기영동을 통해 확인한 결과, 1회차 시료를 2회 반복 실시에서 모두 담배 모자이크바이러스(TMV; A-1 및 B-1)만 검출되었고, 2회차 시료는 담배 모자이크바이러스(TMV; C-1 및 D-1)와 토마토 모자이크바이러스(ToMV; C-2 및 D-2)가 검출되었다(도 2). 이를 통해, 실험에 자연발생한 바이러스병은 담배 모자이크 바이러스병인 것을 확인할 수 있었으며, TCH3-2 균주가 포장에서 담배 식물체에 자연발생할 수 있는 담배 모자이크병에 대한 저항성을 부여할 수 있다는 것을 확인하였다.

[0036] 실시예 2. 콩 갈색줄기썩음병에 대한 저항성 검정

[0037] 완두 품종인 A63(*Pisum sativum*)을 사용하여 피알로포라 그레가타(*Phialophora gregata*)에 의해 콩과 작물에 발생하는 갈색줄기썩음병(brown stem rot)에 대한 플라보박테리움 속(*Flavobacterium* sp.) TCH3-2 균주의 병 저항성 증진 효과를 확인하였다. 완두콩 종자는 10⁹ CFU/ml로 조정된 TCH3-2 균주 현탁액에 침지하였고(1차 처리), 5일 뒤 발아한 종자는 부농 원예용 상토가 담긴 45×45 mm 포트에 이식하였다. 이식 2주 후 10⁹ CFU/ml로 조정된 TCH3-2 균주 현탁액을 토양 g당 6×10⁷ CFU가 되도록 관주하였다(2차 처리). 대조구(control)로는 멸균수만 2회 처리한 식물을 사용하였다. 2차 TCH3-2 균주 처리 2주 후, 식물은 난괴법 3반복으로 무작위로 포장에 정식하였다. TCH3-2 균주 처리구와 대조구는 각각 40주씩 사용하였으며, 정식 4개월 후 식물을 생육하며 갈색썩음병이 자연발생하도록 유지하였고, 지상부 줄기가 갈변한 식물과 이로 인하여 고사한 식물 개체를 계수하였다. 그 결과, 도 3에 개시한 바와 같이 TCH3-2 균주를 처리하지 않은 대조구(control)는 16개체(반복당 4, 8, 4개체)에서 병징이 관찰된 반면, TCH3-2 균주 처리구에서는 총 40개체 중 7개체(반복당 2, 3, 2개체)만이 발병하였다. 이를 통해, TCH3-2 균주가 포장에서 콩과 식물체에 자연발생할 수 있는 갈색줄기썩음병에 대한 저항성을 부여할 수 있다는 것을 확인하였다.

수탁번호

[0038]

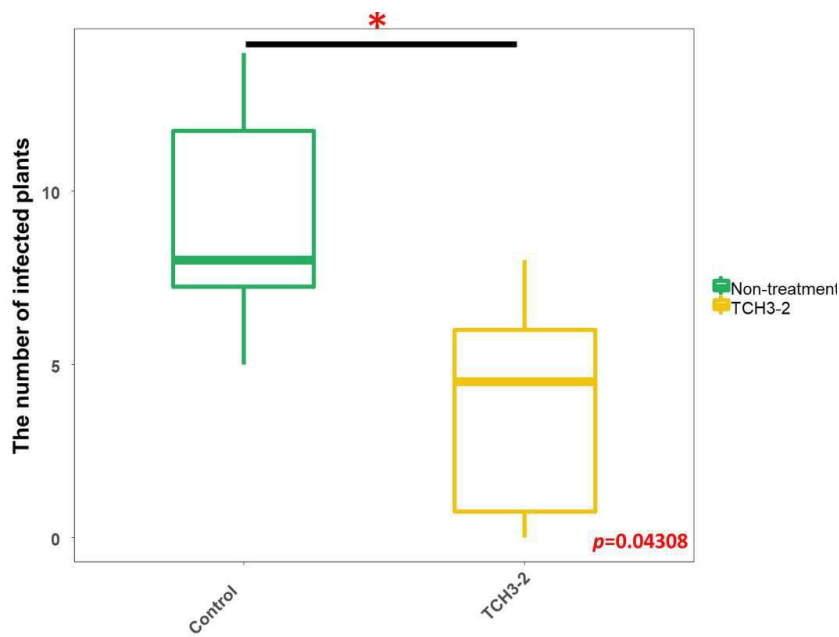
기탁기관명 : 농업생명공학연구원

수탁번호 : KACC92107P

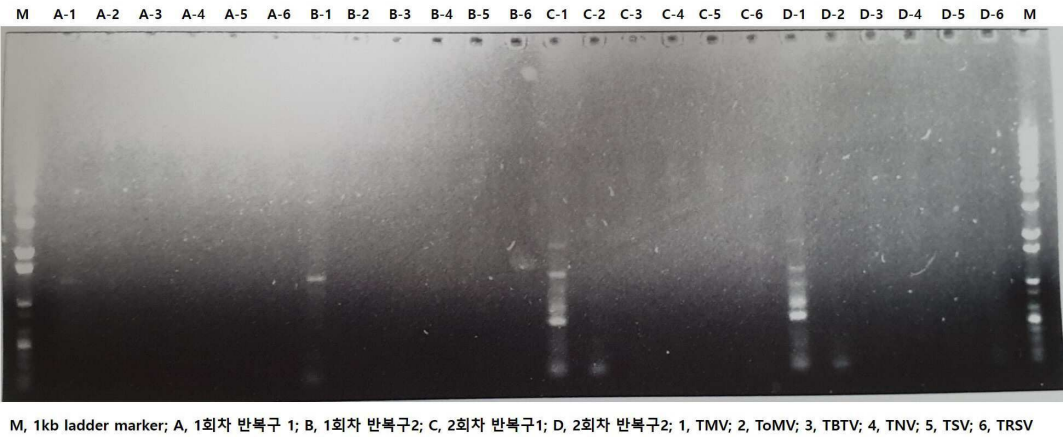
수탁일자 : 20151120

도면

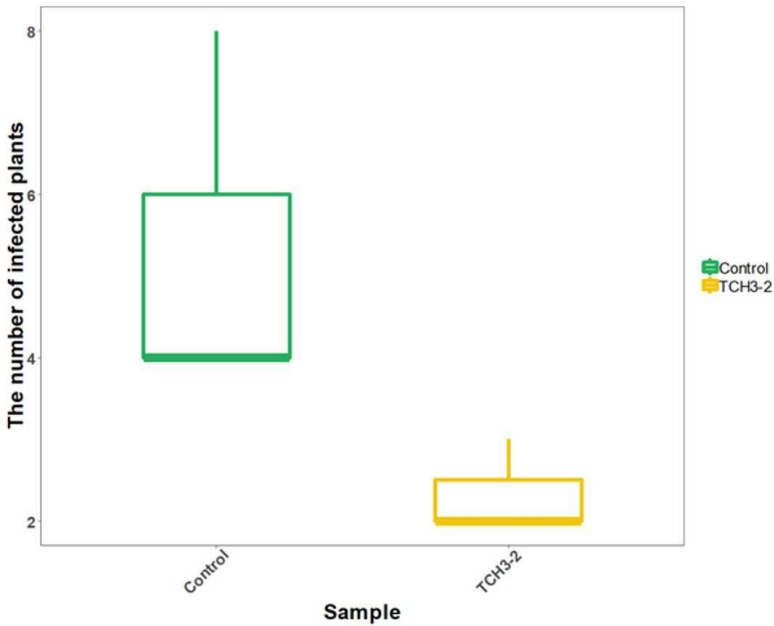
도면1



도면2



도면3



서 열 목 록

- <110> Dong-A University Research Foundation For Industry-Academy Cooperation
Industry-Academic Cooperation Foundation, Yonsei University
- <120> Composition for controlling plant disease comprising
Flavobacterium sp. TCH3-2 as effective component and uses thereof
- <130> PN20012
- <160> 12
- <170> KoPatentIn 3.0
- <210> 1
- <211> 19
- <212> DNA
- <213> Artificial Sequence
- <220><223> primer
- <400> 1
cgacatcagc cgatgcagc

19

- <210> 2
- <211> 20
- <212> DNA
- <213> Artificial Sequence
- <220><223> primer
- <400> 2

accgttttcg aaccgagact	20
<210> 3	
<211> 19	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> primer	
<400> 3	
cgagaggggc aacaacat	19
<210> 4	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> primer	
<400> 4	
acctgtctcc atctctttgg	20
<210> 5	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> primer	
<400> 5	
ccaccagaa gtcaaggaag	20
<210> 6	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> primer	
<400> 6	
gcagttgttg cataccgatt	20
<210> 7	
<211> 21	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> primer	

<400>	7	
acaatagtct ccaactcgga g		21
<210>	8	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	primer	
<400>	8	
atcataacct gcgtaagg		18
<210>	9	
<211>	24	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	primer	
<400>	9	
atgaataatt tgatccaarg tcca		24
<210>	10	
<211>	22	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	primer	
<400>	10	
gcatctggta taaaggaggc at		22
<210>	11	
<211>	24	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	primer	
<400>	11	
gcctctaagg acgcaactgt gacg		24
<210>	12	
<211>	26	
<212>	DNA	

<213> Artificial Sequence

<220><223> primer

<400> 12

cacaagcagc tgacagacag acattc

26