



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2012년09월20일
 (11) 등록번호 10-1183538
 (24) 등록일자 2012년09월11일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
 A01N 63/02 (2006.01) A01P 3/00 (2006.01)
 (21) 출원번호 10-2009-0125938
 (22) 출원일자 2009년12월17일
 심사청구일자 2009년12월17일
 (65) 공개번호 10-2011-0069272
 (43) 공개일자 2011년06월23일
 (56) 선행기술조사문헌
 KR1020050040285 A*
 KR1020090066412 A
 *는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
 경기도
 경기도 수원시 팔달구 효원로 1 (매산로3가)
 (72) 발명자
 이현주
 경기도 수원시 영통구 영통로 232, 벽적골 8단지
 우성A 822동 2006호 (영통동)
 홍순성
 경기도 수원시 권선구 매실로 70, LG삼익아파트
 113동 605호 (호매실동)
 (뒷면에 계속)
 (74) 대리인
 특허법인세아

전체 청구항 수 : 총 6 항

심사관 : 유준석

(54) 발명의 명칭 **신규한 패니바실러스 폴리믹사 및 이를 포함하는 식물의 역병 예방용 미생물 제제**

(57) 요약

본 발명은 신규한 패니바실러스 폴리믹사 및 이를 포함하는 식물의 역병 예방용 미생물 제제에 관한 것으로, 더욱 상세하게는 고추, 토마토, 오이, 수박 등 다양한 작물에 발생하는 토양병원균인 역병균에 대해 길항반응을 보이는 신규한 패니바실러스 폴리믹사, 이 미생물을 포함하는 미생물 제제 및 상기 미생물 제제를 이용한 식물의 역병 예방방법에 관한 것이다.

본 발명의 패니바실러스 폴리믹사 No.72는 고추, 토마토, 오이, 수박 등의 하우스 작물이나 화훼류 재배시 문제가 되고 있는 식물 역병균을 사전에 예방할 수 있는 우수한 미생물로 이용될 수 있다.

본 발명에 따른 패니바실러스 폴리믹사 No.72를 미생물로서 또는 미생물 제제로서 이용함으로써 하우스 농가나 화훼 농가에서 안정적으로 작물을 재배하므로써 농가의 소득을 증대시킬 뿐만 아니라 노동력도 월등히 절감시킬 것으로 기대된다.

대표도 - 도5



Paenibacillus polymyxa No.72 처리



무처리

(72) 발명자

김진영

경기도 수원시 장안구 수성로363번길 17, 901호 (조원동, 청우아파트)

이진구

경기도 수원시 팔달구 권광로 246, 110동 704호 (인계동, 래미안노블클래스)

박경열

경기도 화성시 석우동 동탄예당마을 롯데캐슬아파트 145동 1803호

김영호

경기도 수원시 영통구 청명북로 33, 삼성래미안 433동 1204호 (영통동)

특허청구의 범위

청구항 1

토양에서 분리한 페니바실러스 폴리믹사 (*Paenibacillus polymyxa*) No.72 (KACC 91502P).

청구항 2

제 1항에 있어서, 서열목록 1로 표시되는 염기서열을 가지는 것인 페니바실러스 폴리믹사 (*Paenibacillus polymyxa*) No.72 (KACC 91502P).

청구항 3

제 1항 또는 제 2항에 따른 페니바실러스 폴리믹사 (*Paenibacillus polymyxa*) No.72 (KACC 91502P)를 포함하는 미생물 제제.

청구항 4

제 3항에 있어서, 상기 미생물 제제는 식물의 역병균을 예방하는 것인 미생물 제제.

청구항 5

제 4항에 있어서, 상기 식물의 역병균이 *Phytophthora*속인 것인 미생물제제.

청구항 6

제 4항에 있어서, 상기 식물이 고추, 토마토, 오이, 수박 또는 상추인 것인 미생물제제.

명세서

발명의 상세한 설명

기술분야

[0001] 본 발명은 신규한 페니바실러스 폴리믹사 및 이를 포함하는 식물의 역병 예방용 미생물 제제에 관한 것으로, 더욱 상세하게는 고추, 토마토, 오이, 수박 등 다양한 작물에 발생하는 토양병원균인 역병균에 대해 길항반응을 보이는 신규한 페니바실러스 폴리믹사, 이 미생물을 포함하는 미생물 제제 및 상기 미생물 제제를 이용한 식물의 역병 예방방법에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 오늘날 농업은 품종 개량, 토양 비옥도 증진, 병해충 방제 및 잡초 제거 등의 방법으로 식량 증산에 몰두해 왔지만 지속적인 농약의 사용과 남용은 토양과 하천의 심각한 오염을 유발하고 있다. 또한 농작물에 이들 농약이 잔류하므로써 독성, 환경오염 및 사람과 가축에 대한 독성 등의 문제를 일으키기 때문에 농약 사용은 현재 세계적으로 그에 대한 제제 조치가 강화되고 있는 실정이다.

[0003] 이와 같은 농약에 대한 우려와 삶의 질에 대한 관심이 커지면서 최근에는 새로운 대안으로서 농작물 병해충 방제에 미생물이나 식물추출물을 이용하는 생물학적 방제가 관심의 대상이 되고 있다.

[0004] 생물학적 방제는 소비자의 안전한 농산물 요구증대에 부응하여 환경에 유해한 화학적 농약을 사용하는 대신에 미생물 또는 식물추출물을 이용하여 환경, 다른 식물 및 인축에는 영향을 미치지 아니하면서 대상 병을 선택적으로 방제하는 방법이다.

[0005] 역병균은 병원성이 강하고 기주 특이성이 높지만, *Phytophthora nicotianae*와 *Phytophthora cinnamomi* 등은 1,000 여종의 기주를 침해하는 것으로 알려져 있다. 1996년부터 5년간 수행된 국내발생 역병균의 분류 체계 확립 연구 결과에 따르면, 각 도별로 발생하는 역병균의 종류는 8종에서 14종정도인 것으로 조사되었다. 이들 중 *P. cactorum*, *P. capsici*, *P. drechsleri*, *P. infestans*, *P. nicotianae*는 해마다 전국적으로 발생되고 있으며 기주별 피해도와 경제적 피해수준 등을 감안할 때 이들은 국내발생 5대 주요 역병균이라 할 수 있다.

[0006] 역병 피해가 가장 큰 작물은 가지과와 박과 채소인 것으로 나타났으나, 각 종 과수와 분화류에도 역병이 많이 발생되고 있다. 노지재배 작물에서는 여름철인 6월과 9월 사이에 역병발생이 많지만, 하우스 작물이나 화훼류에는 연중 발생되고 있으며, 특히, 최근에 재배면적이 증가하고 있는 양액재배에서는 역병이 발생되면 거의 전 포장이 감염되어 큰 피해를 입는 경우가 종종 있다.

발명의 내용

해결 하고자하는 과제

- [0007] 본 발명의 목적은 신규한 패니바실러스 폴리믹사를 이용한 식물의 역병 예방용 미생물 제제를 제공하는 것이다.
- [0008] 본 발명의 다른 목적은 토양에서 분리한 패니바실러스 폴리믹사(*Paenibacillus polymyxa*) No.72 (KACC 91502P)를 제공하는 것이다.
- [0009] 또한, 본 발명의 목적은 서열목록 1로 표시되는 염기서열을 가지는 것인 패니바실러스 폴리믹사 No.72 (KACC 91502P)를 제공하는 것이다.
- [0010] 본 발명의 또다른 목적은 패니바실러스 폴리믹사 No.72 (KACC 91502P)를 포함하는 미생물 제제를 제공하는 것이다.

과제 해결수단

- [0011] 이하, 본 발명을 상세히 설명하면 다음과 같다.
- [0012] 본 발명은 토양에서 분리한 패니바실러스 폴리믹사 (*Paenibacillus polymyxa*) No.72 (KACC 91502P)인 것이다.
- [0013] 이하, 본 발명을 더욱 상세히 설명하면 다음과 같다.
- [0014] 본 발명에서는 먼저 다양한 환경에서 채취한 토양으로부터 항진균 반응을 나타내는 미생물을 탐색, 확보하였다.
- [0015] 그 결과, 본 발명에서는 경기도 고양시 덕양구의 시설하우스에서 재배중인 상추포장의 근권 토양을 채취하여 얻어진 시료로부터 생물검정에 의해 식물의 역병균에 대해 길항반응을 보이는 균주를 선별하였다. 선별된 균주에 대하여 형태적, 생화학적 특성 및 NCBI blast 검색을 실시한 결과, 새로운 패니바실러스 폴리믹사 (*Paenibacillus polymyxa*) 균주를 동정하였다.
- [0016] 선별된 균주를 패니바실러스 폴리믹사 No.72로 명명하고, 2009년 11월 10일자로 국립농업과학원 농업유전자원센터에 기탁하였다(기탁번호 KACC 91502P).
- [0017] 본 발명에 따라 선별된 균주는 패니바실러스 폴리믹사와 89%의 상동성을 나타냈으며, β -자일로시다제, β -만노시다제 및 카나마이신에서 다른 생화학적 반응을 보여 새로운 균주로 명명되었다.
- [0018] 본 발명에 따르면, 상기 패니바실러스 폴리믹사 No.72는 배양 배지로서 TSB(Tryptic Soy Broth)배지 상에서 잘 자라며, 15 내지 30 °C 범위에서 생육이 가능하고, 20 내지 25 °C에서 가장 잘 자란다.
- [0019] 본 발명의 패니바실러스 폴리믹사 No.72의 생육 pH 범위는 6 내지 9로 pH 7.0 내지 8.0에서 가장 잘 자란다.
- [0020] 상기한 본 발명에 따른 패니바실러스 폴리믹사 No.72는 식물의 역병의 예방에 유용하다.
- [0021] 본 발명에 따른 패니바실러스 폴리믹사 No.72에 의해 역병균을 예방하는 식물에는 특별히 제한이 없으나, 상기 식물로는 가지과와 박과의 채소, 바람직하게는 고추, 토마토, 오이, 상추 또는 수박 등이 있다.
- [0022] 본 발명의 패니바실러스 폴리믹사 No.72의 식물병원균에 대한 항균력을 알아보기 위하여 *Phytophthora capsici* 뿐만 아니라 *Phytophthora infestans*, *Phytophthora dreschleri*와 *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia homoeocarpa*, *Sclerotinia sclerotinia*, *Botrytis cinerea* 등에 대해 paper disc법으로 대치배양한 결과, 고추 역병균 뿐만 아니라 잣빛곰팡이병, 시들음병, 탄저병 등 주요 작물 병원균에 대해서도 높은 항균력을 나타내었다.
- [0023] 본 발명에 의해 단리된 패니바실러스 폴리믹사 No.72는 항균력 포트 검정에서 고추 역병균에 대한 예방효과가

입증되었으며, 포장 시험에서의 생물검정 결과 무처리군과 대비하여 78%의 방제가를 나타내었다. 또한 고추 역병균 3종류에 대해서도 모두 예방 효과를 나타내었다.

[0024] 따라서, 본 발명의 방법으로 분리, 동정된 패니바실러스 폴리믹사 No.72는 미생물 자체로 식물의 역병균 예방에 사용될 수 있으며, 이를 포함하는 식물의 역병균 예방용 미생물 제제로 제조될 수 있다. 또한, 본 발명에 따른 패니바실러스 폴리믹사 No.72와 이를 포함하는 미생물 제제를 이용한 식물의 역병균 예방방법에도 사용될 수 있다.

효과

[0025] 본 발명에 따른 패니바실러스 폴리믹사 No.72는 식물 역병균을 예방할 수 있는 미생물, 또는 이를 포함하는 미생물 제제로 농가에서 사용될 수 있다.

[0026] 또한, 본 발명의 패니바실러스 폴리믹사 No.72는 고추, 토마토, 오이, 수박 등의 하우스 작물이나 화훼류 재배 시 문제가 되고 있는 식물 역병균을 사전에 예방할 수 있는 우수한 미생물로 이용될 수 있다.

[0027] 본 발명에 따른 패니바실러스 폴리믹사 No.72를 미생물로써 또는 미생물 제제로써 이용함으로써 하우스 농가나 화훼 농가에서 안정적으로 작물을 재배하므로써 농가의 소득을 증대시킬 뿐만 아니라 노동력도 월등히 절감시킬 것으로 기대된다.

발명의 실시를 위한 구체적인 내용

[0028] 이하, 본 발명을 실시예에 의하여 더욱 상세히 설명하면 다음과 같다. 하기 실시예는 단지 본 발명을 구체적으로 설명하는 것으로, 본 발명의 권리범위가 하기 실시예에 의해 한정되는 것은 아니다.

[0029] 실시예 1 균주의 분리

[0030] 2007년 3월 경기도 고양시 덕양구의 시설하우스에서 재배중인 상추 포장에서 근권 부위의 토양을 채취하였다.

[0031] 채취된 토양을 바람이 잘 통하는 실내에서 건조시킨 후 토양 1 g을 정량하여 10 ml의 멸균수에 넣어 잘 현탁한 후 현탁액 1 ml를 채취하여 9 ml의 멸균수가 담긴 시험관에 차례대로 10배씩 희석하였다. 현탁액이 희석된 멸균수를 200 ul 씩 취하여 NA(Nutrient Agar) 고체 평판배지의 중앙에 넣고 멸균된 스프레드로 골고루 밀어준 후 25 °C 항온기에서 3일간 배양하였다.

[0032] 각각의 모양으로 형성된 콜로니를 취하여 균주번호를 붙여주고 항진균 반응에 이용하였다.

[0033] 실시예 2 균주의 동정

[0034] 토양병해인 고추 역병균, *Phytophthora capsici*에 대해 길항반응을 보이는 균주를 동정하기 위해 16s rDNA 의 염기서열 분석하여 NCBI blast를 검색하여 *Paenibacillus polymyxa*와 99% 일치하였다.

[0035] 균주의 형태적 동정을 위해 전처리 과정을 거친후 주사 전자 현미경(Sanning Electronic microscope,HITACHI S-3000)으로 관찰하였고, 세균검정기 VITEK PRO의 BCH 카드를 이용하여 생화학적 반응검정을 확인하여 균의 종류를 확인하였다. 동정결과 β-자일로시다제, β-만노시다제, 카나마이신에서 다른 생화학적 반응을 보였으며 패니바실러스 폴리믹사(*Paenibacillus polymyxa*)와 89%의 상동성을 보였다.

[0036] 전자현미경 검정결과, 도 2에서 보이는 바와 같이 단간균형의 균주로 형태가 확인되었다.

[0037] 이에 분리된 동정균을 패니바실러스 폴리믹사(*Paenibacillus polymyxa*) No.72로 명명하였다. 이 균을 2009년 11월 10일자로 국립농업과학원 농업유전자원센터에 기탁번호 KACC 91502P로 기탁하였다.

[0038] [표 1]

[0039] 패니바실러스 폴리믹사 No.72의 생화학적 특성

[0040]	1	β-자일로시다제	-	3	라이신	-	4	아스파테이트	-	5	루이신	+	7	페닐알라닌	+	8	L-프롤린	-
	9	β-갈락토시다제	+	10	L-피롤리도닐	-	11	α-갈락토시다제	+	12	알라닌	-	13	티로신	+	14	β-N-아세틸-글루코사민다제	-
	15	알라페프 로아틸아미다제	-	18	사이클로텍스트린	-	19	D-갈락토스	+	21	글라이코진	+	22	미오-이노시톨	-	24	메틸-A-D-글루코피라노사이드	+
	25	엘만	-	26	메틸-D-자일로사이드	-	27	α-만노시다제	-	29	말토트리오스	+	30	글라이신	-	31	D-만니톨	+
	32	D-만노즈	+	34	D-엘레디토즈	-	36	N-아세틸-D-글루코사민	-	37	팔라티노즈	+	39	L-람노즈	-	41	β-글루코시다제	+
	43	β-만노시다제	-	44	포스포릴코린	-	45	피루베이트	-	46	α-글루코시다제	-	47	D-타가토즈	-	48	D-트리할로즈	+
	50	이눌린	-	53	D-글루코스	+	54	D-리보즈	+	56	푸트레신	-	58	NaCl 6.5%	-	59	카나마이신	-
	60	올린도마이신	-	61	에스콜린하이드로라제	+	62	테트라졸리움레드	(-)	63	플로마이신	+						

[0041] 실시예 3 패니바실러스 폴리믹사 No.72의 생육조건 시험

[0042] 1) 온도

[0043] 이 균의 적정배양온도를 확인하기 위해 TSB(Tryptic Soy Broth)배지 200 ml에 전배양액 2 ml를 접종하여 온도별로 10, 15, 20, 25, 30, 35 °C에서 24시간동안 180 rpm으로 배양한 후 배양액을 UV 스펙트로포토메타(BECKMAM DU730) 600 nm 파장에서 흡광도를 조사하여 균의 생육정도를 비교하여 적정 생육온도를 확인하였다.

[0044] 그 결과 도 3에서 보이는 바와 같이 20 °C에서 48시간 배양과 25 °C에서 24시간 배양하였을 때 가장 생육이 잘 되었다.

[0045] 2) pH

[0046] 이 균의 생육에 적정한 산도를 확인하기 위해 TSB 배지 200 ml를 NaOH와 HCl로 산도를 3,4,5,6,7,8로 조절하여 24시간 동안 180 rpm으로 배양한 후 배양액을 UV 스펙트로포토메타 600 nm 파장에서 흡광도를 조사하여 균의 생육정도를 비교하였다.

[0047] 그 결과, 도 4에서 보이는 같이 pH 7 이상에서 균의 생육이 대체로 잘 되었다.

[0048] 실시예 4 패니바실러스 폴리믹사 No.72의 항균활성 검증

[0049] 1) 최적 탄소원에 대한 항균활성 검증

[0050] 균주의 생육에 필요한 탄소원을 결정하기 위해 최소배지(K₂HPO₄ 0.7%, KH₂PO₄ 0.2%, 글루코스 0.5%, (NH₄)₂SO₄ 0.1%, MgSO₄·7H₂O 0.01%)를 조제하여 탄소원에서는 글루코스를 제외시키고 각각의 탄소원을 전체 용액에 대하여

1%의 농도로 첨가하여 25 ℃에서 180 rpm으로 24시간 배양한 후 배양정도를 측정하였다.

[0051] 항균활성을 검정하기 위해 PDA 배지에 각각의 탄소원으로 배양된 배양액을 종이디스크에 100 ul씩 접종하여 역병균(*Phytophthora capsici*)에 대치배양하여 항균활성을 측정하였다.

[0052] 검정시험 결과, 하기 표 2에 나타낸 바와 같이 전분(starch)을 탄소원으로 사용하였을 때 균주의 배양이 가장 잘 되었으나 소르비톨(sorbitol)을 탄소원으로 이용하였을 때 고추 역병균에 대한 항균력은 가장 크게 나타났다.

[0053] [표 2]

탄소원	arabinose	fructose	glucose	glycerol	lactose	maltose	mannitol	starch	sobitol
세포 성장 (600nm 흡광도)	0.14	0.14	0.30	0.13	0.11	0.12	0.18	0.92	0.10
역병 억제대 (mm)	9.3	10.4	11.3	9.0	9.3	11.2	10.0	10.2	13.5

[0054]

[0055] 2) 최적 질소원에 대한 항균활성 검정

[0056] 균주의 생육에 필요한 질소원을 결정하기 위해 최소배지에서 (NH₄)₂SO₄ 0.1% 대신 각각의 질소원을 0.5%씩 첨가하여 25 ℃에서 180 rpm 으로 24시간 배양한 후 배양정도를 측정하였다. 항균활성은 PDA배지에서 각각의 질소원으로 배양된 배양액을 종이디스크 위에 100 ul씩 접종하고 고추 역병균에 대치배양 함으로 항균활성을 측정하였다.

[0057] 검정결과 효모추출물(yeast extracts)을 질소원으로 이용하였을 때 균주의 배양이 가장 잘 되었고 항균물질 생성도 가장 양호하였다.

[0058] [표 3]

최적 질소원에 대한 항균활성 검정

질소원	Yeast extract	Urea	beef extract	malt extract	ammonium phosphate	bacto peptone	ammonium sulfate	bacto tryptone
세포 성장 (600nm 흡광도)	0.76	0.60	0.48	0.25	0.56	0.32	0.69	0.34
역병 억제대 (mm)	15.0	11.8	9.3	10.3	10.0	10.2	12.5	14.2

[0059]

[0060] 실시예 5 최적 무기염류와 항균활성 검정

[0061] 균주의 생육에 영향을 미치는 무기염류를 확인하기 위해 최소배지에서 무기염류인 K₂HPO₄ 0.7%, KH₂PO₄ 0.2%, MgSO₄·7H₂O 0.01% 대신 각각의 무기염류를 5 mM씩 첨가하여 25 ℃에서 180 rpm으로 24시간 배양한 후 배양정도를 측정하였다. 항균활성은 PDA배지에서 각각의 무기염류를 첨가하여 배양된 배양액을 종이디스크 위에 20 ul

씩 집중하고 역병균에 대치 배양함으로 항균활성을 측정하였다.

[0062] 검정결과를 하기 표 4에 기재하였으며, 표에서 보이는 바와 같이 MgCl₂를 무기염류로 이용하였을 때 균주의 배양과 항균력이 크게 나타났다.

[0063] [표 4]

무기염류	NH ₄ Cl	NaCl	K ₂ HPO ₄	CaCl ₂	LiCl	KCl	MgCl ₂	CaCO ₃	BaCl ₂	FeCl ₂
세포성장 (600nm 흡광도)	0.60	0.73	0.57	0.44	0.72	0.79	0.81	0.83	0.05	0.06
역병 억제대 (mm)	8.6	11.0	14.7	11.4	15.7	15.0	16.0	10.3	8.7	2.0

[0064]

[0065] 실시예 6 길항미생물의 식물병원균에 대한 항진균 검정

[0066] 분리한 길항 미생물의 식물병원균에 대한 항균력을 알아보기 위하여 1주일 정도 배양된 활력이 우수한 병원균을 코르크보아로 8 mm 떼어낸 후 PDA 한천배지의 가장자리에 치상하고, 반대편에 25 °C에서 24시간 배양된 미생물 배양액을 페이퍼 디스크에 20 ul 접종하여 25 °C 항온기에서 7일 이상 배양하여 균사가 더 이상 자라지 못하는 억제대를 조사하였다.

[0067] 병원균으로 *Phytophthora capsici* 뿐만 아니라 *Phytophthora infestans*, *Phytophthora dreschleri*와 *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia homoeocarpa*, *Sclerotinia sclerotinia*, *Botrytis cinerea* 등에 대해 paper disc법으로 대치배양하고, 그 배양 결과를 도 6에 나타내었다.

[0068] 도 6에서 보이는 바와 같이, 상기 실시예에 따른 페니바실러스 폴리믹사 No.72는 고추, 토마토 및 상추의 역병균에 대해 항균반응을 나타내었으며, 고추 역병균 뿐만 아니라 잣빛곰팡이병, 시들음병, 탄저병 등 주요 작물 병원균에 대해서도 높은 항균력을 나타내는 것을 확인하였다.

[0069] [표 5]

병원균	항진균 활성 J
<i>Phytophthora capsici</i>	+++
<i>Phytophthora infestans</i>	++
<i>Phytophthora drechleri</i>	++
<i>Botrytis cinerea</i>	+++
<i>Fusarium oxysporum</i>	+++
<i>Sclerotinia sclerotinia</i>	++
<i>Colletotrichum</i> sp.	+++
<i>Sclerotinia homoeocarpa</i>	+++
<i>Rhizoctonia</i> sp.	+
<i>Rhizoctonia cerealis</i>	+++

+++ : 저지대 10mm이상, ++ : 저지대 5-10mm, + : 저지대 5mm이하

[0070]

[0071] 실시예 7 길항미생물의 항균력 포트 검정

[0072] 온실의 포트에 재식된 고추의 지체부에 25 °C, 180 rpm으로 24시간 배양된 길항균을 10 ml 씩 처리하고, 3일 후 병원성이 다른 역병원균들의 유주자 5 x 10³ 개/ml를 5 ml씩 고추에 접종하고, 3주후 역병원균의 발병 유무를 확인한 결과, 3종류의 고추 역병원균에 대해 No. 72 미생물 배양액을 처리 한 후 역병원균을 접종한 경우는 발병이 되지 않아 무처리와 비교하여 수집한 고추 역병원균 3종류에 대해 모두 예방효과가 있었다.

[0073] [표 6]

처리방법	고추 역병원균주별 발병정도 J		
	race 1	race 2	race 3
무처리	+++	++++	+++
No. 72처리	-	-	-

J: +++++: 전체 발병, ++++: 일부발병, -: 발병없음

[0074]

[0075] 실시예 8 길항미생물의 포장 검정

[0076] 180rpm으로 TSB 배지에서 24시간 배양한 길항미생물을 1 x 10⁸ cfu/ml 농도로 조절한 후 육묘상에서 재배된 고추 유묘를 30분간 침지한 후 직경 30 cm 의 대형 화분에 정식하였다. 고추 역병원균을 페트리디쉬에 5일간 배양한 후 기중 균사를 유리봉으로 제거하고 실온에서 50 cm 높이에서 형광등 빛을 3일간 조사한 후 유주자낭 형성을 유도하였다. 멸균수 30ml를 페트리디쉬에 넣어 붓으로 유주자낭을 수거한 후 유주자 5 x 10³ 개/ml를 5 ml씩 정식된 고추에 접종하였다. 3주일 이후부터 역병의 발병정도를 조사하였다. 결과 미생물을 처리한 고추에서는 무처리구와 비교하여 78%의 예방효과가 있었다.

[0077] 3주일 이후 역병의 발병정도를 조사하여, 그 결과를 하기 표 7에 기재하였다.

[0078] [표 7]

처리내용	정식후 발병률(%)					방제가 (%)
	3주후	5주후	7주후	9주후	합계	
미생물 침지	10	0	10	0	20	78
농약처리 (포름씨)	15	0	0	0	15	83
무처리	30	30	20	10	90	-

[0079]

[0080]

상술한 실시예, 시험예 및 도면은 발명의 내용을 상세히 설명하기 위한 목적일 뿐, 발명의 기술적 사상의 범위를 한정하고자 하는 목적이 아니며, 이상에서 설명한 본 발명은 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에 있어 본 발명의 기술적 사상을 벗어나지 않는 범위 내에서 여러 가지 치환, 변형 및 변경이 가능하므로 상기 실시예 및 첨부된 도면에 한정되는 것이 아님은 물론이며, 후술하는 청구범위 뿐만이 아니라 청구범위와 함께 균등범위를 포함하여 판단되어야 한다.

도면의 간단한 설명

[0081]

도 1은 본 발명에서 단리된 패니바실러스 폴리믹사 No.72의 염기서열을 나타낸 것이다.

[0082]

도 2는 본 발명에서 단리된 패니바실러스 폴리믹사 No.72의 주사 전자현미경 사진이다.

[0083]

도 3은 본 발명에서 단리된 패니바실러스 폴리믹사 No.72의 최적 생육온도 검정 그래프이다.

[0084]

도 4는 본 발명에서 단리된 패니바실러스 폴리믹사 No.72의 최적 생육pH 검정 그래프이다.

[0085]

도 5는 본 발명에서 단리된 패니바실러스 폴리믹사 No.72로 처리된 길항미생물 처리군과 처리되지 않은 대조군의 생육 결과를 나타낸 사진이다.

[0086]

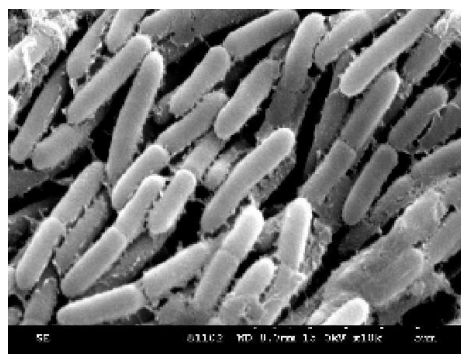
도 6은 본 발명에서 단리된 패니바실러스 폴리믹사 No.72가 식물의 역병에 대해 항균반응을 나타낸 결과를 보여주는 사진이다.

도면

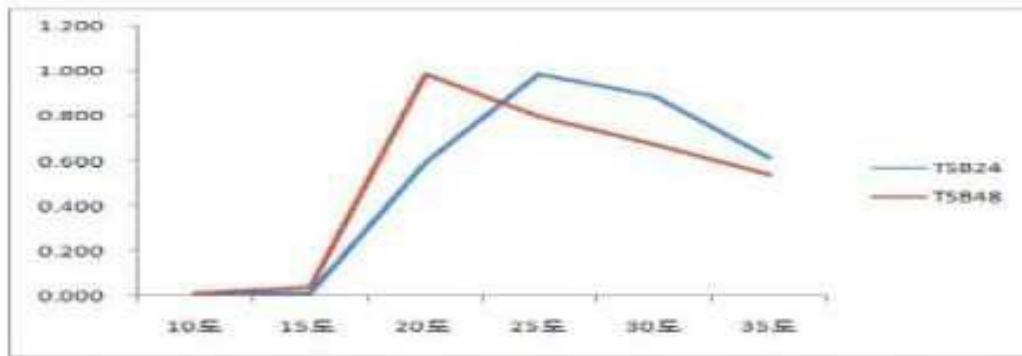
도면1

TAATACATGCAAGTCGAGCGGGGTTAGTTAGAAGCTTGCTTCTAACTAACCTAGCGGGCGGACGGGTGAGT
AACACGTAGGCAACCTGCCACAAGACAGGGATAACTACCGAAACGGTAGCTAATACCCGATACATCCT
TTTCCTGCATGGGAGAAGGAGGAAAAGGCGGAGCAATCTGTCACTTGTGGATGGGCTGCGGGCGCATTAGC
TAGTTGGTGGGGTAAAGGCCCTACCAAGGCGACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTG
GGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCGGCAATGGGCGAAAAGCCTG
ACGGAGCAACGCCCGGTGAGTGATGAAGGTTTTTCGGATCGTAAAGCTCTGTTGCCAGGGAAGAACYTK
GTAGAGTAACTGCTCTTGAAGTGACGGTACCTGAGAAGAAAGCCCCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGC
GGTAATACGTAGGGGGCAAGCGTTGTCGGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGCGGCTCTTTAAGT
CTGGTGTTTAATCCCGAGGCTCAACTTCGGGTGCGACTGAAACTGGGGAGCTTGAGTGAGAGAGGAG
AGTGGAATCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACAACAGTGGCGAAGGCGACTCTC
TGGGCTGTAAGTACCGCTGAGGGCGGAAAGCGTGGGGAGCAAAACAGGATTAGATACCCCTGGTAGTCCACG
CCGTAAACGATGAATGCTAGGTGTTAGGGTTTTGATACCCCTGGTGCCGAAGTTAACACATTAAGCATT
CCGCTGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGACCCGCACAAGCAGTGGAGT
ATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCCTTACCAGGTCTTGACATCCCTTTGACCGGTCTAGAGAT
AGACCTTTCCCTTCGGGACAGAGGAGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGAGATGTTGG
GTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATGCTTAGTTGCCAGCAGGTCAAGCTGGGCACTCTAAGCAGA
CTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGGGCTACA
CACGTACTACAATGGCCGGTACAACGGGAAGCGAAGSMGCGATGTGGAGCCAATCCTAGAAAAGCCGGTC
TCAGTTCCGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGTCGGAATTGCTAGTAATCCGGGATCAGCATGC
CGCGGTGAATACGTTCCCGGTCTTGTACACACCGCCGTCACACCACGAGAGTTTACAACACCCGAAAGT
CGGTGAGGTAACCGCAAGGRGCCAGC

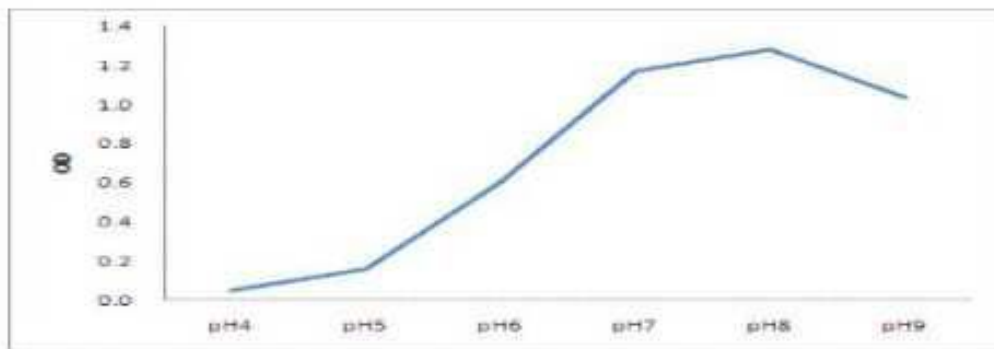
도면2



도면3



도면4



도면5

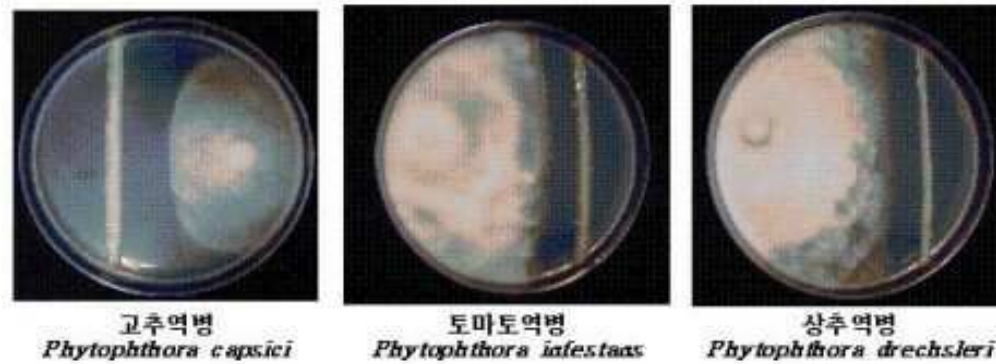


Paenibacillus polymyxa No.72 처리



무처리

도면6



서열 목록

<110> GyeongGi-Do
 <120> NOVEL PAENIBACILLUS POLYMYXA AND MICROORGANISM AGENT COMPRISING THE STRAINS FOR PREVENTING PHYTOPHTORA CAPSICI OF PLANTS

<160> 1

<170> Kopatent In 1.71

<210> 1

<211> 1426

<212> DNA

<213> Paenibacillus polymyxa

<400> 1

taatacatgc aagtcgagcg gggttagtta gaagcttgct tctaactaac ctagcggcgg 60

acgggtgagt aacacgtagg caacctgccc acaagacagg gataactacc ggaaacgta 120

gctaataccc gatacatcct tttcctgcat ggagagaagga ggaaaggcgg agcaatctgt 180

cacttggtga tgggcctgcg ggcgattagc tagttggtgg ggtaaaggcc taccaaggcg 240

acgatgcgta gccgacctga gagggatgac ggccacactg ggactgagac acggcccaga 300

ctcctacggg aggcagcagt agggaatcct ccgaatggg cgaaagcctg acggagcaac 360

gccgcgtgag tgatgaaggt tttcgatcgc taaagctctg ttgccagga agaacyytk 420

gtagagtaac tgctcttgaa gtgacggtag ctgagaagaa agccccggct aactacgtgc 480
 cagcagccgc ggtaatacgt agggggcaag cgttgtccgg aattattggg cgtaaagcgc 540
 gcgcaggcgg ctctttaagt ctggigttaa atccccaggc tcaacttcgg gtcgactgg 600
 aaactgggga gcttgagtgc agaagaggag agtgggaattc cacgtgtagc ggtgaaatgc 660
 gtagagatgt ggaggaacac cagtggcgaag ggcgactctc tgggctgtaa ctgacgctga 720
 ggcgcgaaag cgtggggagc aacaggatt agatacctg gtagtccacg ccgtaaacga 780
 tgaatgctag gtgttagggg tttcgatacc cttgggtccg aagttaacac attaagcatt 840
 ccgcctgggg agtacggctg caagactgaa actcaaagga attgacgggg acccgcaaa 900
 gcagtggagt atgtggttaa attcgaagca acgcaagaa ccttaccagg tcttgacatc 960
 cctttgaccg gtctagagat agacctttcc ttcgggacag aggagacagg tgggtgatgg 1020
 ttgtcgtcag ctctgtctgt gagatgttgg gttaagtccc gcaacgagcg caaccctat 1080
 gcttagttgc cagcaggta agctgggcac tctaagcaga ctgccggtga caaacggag 1140
 gaagtgggg atgacgtcaa atcatcatgc cccttatgac ctgggctaca cacgtactac 1200
 aatggccggt acaacgggaa gcgaagsmgc gatgtggagc caatcctaga aaagccggtc 1260
 tcagttcgga ttgtaggctg caactgcct acatgaagtc ggaattgcta gtaatcgcg 1320
 atcagcatgc cgcggtgaat acgttcccgg gtcttgtaca caccgccgt cacaccacga 1380
 gagtttacia cacccgaagt cggtaggta accgcaaggr gccagc 1426