



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2013년12월05일
(11) 등록번호 10-1336609
(24) 등록일자 2013년11월28일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12N 1/20 (2006.01) A01N 63/02 (2006.01)
C12R 1/07 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2011-0138408
(22) 출원일자 2011년12월20일
심사청구일자 2011년12월20일
(65) 공개번호 10-2013-0071086
(43) 공개일자 2013년06월28일
(56) 선행기술조사문헌
KR1020060104601 A*
EP0646649 B1
KR1020090119175 A
Plant Pathol. J., Vol.22, pp.278-282(2006.)
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
경기도
경기도 수원시 팔달구 효원로 1 (매산로3가)
(72) 발명자
이현주
경기도 수원시 영통구 영통2동 벽적골8단지 우성
아파트 822-2006
홍순성
경기도 수원시 권선구 호매실동 LG삼익아파트
113-605
(74) 대리인
(뒷면에 계속)
특허법인 동원

전체 청구항 수 : 총 2 항

심사관 : 김지연

(54) 발명의 명칭 잔디의 주요 병해에 길항반응을 갖는 신규한 균주인 바실러스 발리스모르티스 G G290, 상기 균주의 배양방법 및 이 균주를 포함하는 방제용 미생물제제 및 그 제조방법

(57) 요약

본 발명은 잔디의 주요 병해에 대해 길항반응을 갖는 신규한 균주인 *Bacillus vallismortis*에 관한 것으로, 더욱 상세하게는 잔디의 주요 병해 중 특히 갈색잎마름병(*Rhizoctonia solani*)와 동전마름병(*Sclerotinia homoeocarpa*)에 대해 길항반응을 보이는 균주인 *Bacillus vallismortis* GG290(기탁번호 : KCCM11211P) 및 상기 균주의 배양방법, 그리고 이들의 균주를 유효성분으로 하는 미생물제제에 관한 것이다.

본 발명의 신규한 균주는 잔디환경과 유사한 토양에서 분리하여 배양하였으며, 상기 균주의 배양과정에서 탄소원, 질소원 등의 배양원을 개량하여 잔디병해에 대하여 우수한 활성능과 지속적인 방제효능이 나타남을 확인하였다. 또한 본 발명의 신규한 균주는 잔디병해 중 가장 넓게 분포되는 갈색잎마름병(*Rhizoctonia solani*)과 동전마름병(*Sclerotinia homoeocarpa*)에 대해 현저한 길항능을 나타내었고, 특히 상기 잔디병원균에 대한 방제효과가 장기간 지속되는 것으로 확인되어 매우 경제적이고 환경 친화적인 미생물제제의 가능성을 나타내었다.

대표도 - 도8



<갈색잎마름병>



<동전마름병>



<봄마름병>

(72) 발명자

김성기

경기도 수원시 영통구 영통동 살구골 7단지 아파트
704-1601

소호섭

경기도 성남시 분당구 서현동 301 효자촌삼환아파
트 511-702

이지영

서울특별시 관악구 봉천6동 낙성대현대홈타운아파
트302-502

한영희

경기도 수원시 팔달구 지동 114-6

김희동

경기도 화성시 석우동 55 동탄 예당마을 롯데캐슬
아파트 147-1701

임재욱

경기도 수원시 권선구 권선동 신안풍림아파트 303
동 1002호

김영호

경기도 수원시 영통구 영통동 1046-1 삼성래미안아
파트 433동 1204호

특허청구의 범위

청구항 1

삭제

청구항 2

토양에서 분리한 후 배지에서 배양되고, 갈색잎마름병(*Rhizoctonia solani*)와 동전마름병(*Sclerotinia homoeocarpa*)의 잔디의 병해에 대해 길항반응을 가지는 것을 특징으로 하는 신규한 잔디병해 길항 균주 *Bacillus vallismortis* GG290(기탁번호 : KCCM11211P).

청구항 3

삭제

청구항 4

삭제

청구항 5

삭제

청구항 6

잔디병해 길항 균주 *Bacillus vallismortis* GG290(기탁번호 : KCCM11211P)을 유효성분으로 포함하며, 갈색잎마름병(*Rhizoctonia solani*)과 동전마름병(*Sclerotinia homoeocarpa*)에 의한 잔디병해의 치료 및 예방효과를 갖는 것을 특징으로 하는 미생물제제.

명세서

기술 분야

[0001] 본 발명은 잔디의 주요 병해에 대해 길항반응을 갖는 신규한 균주인 *Bacillus vallismortis* GG290(기탁번호 : KCCM11211P)에 관한 것으로, 더욱 상세하게는 잔디의 주요 병해 중 특히 갈색잎마름병(*Rhizoctonia solani*)과 동전마름병(*Sclerotinia homoeocarpa*)에 대해 길항반응을 보이는 균주인 *Bacillus vallismortis* GG290(기탁번호 : KCCM11211P) 및 상기 균주의 배양방법, 그리고 이들의 균주를 유효성분으로 하는 미생물제제에 관한 것이다.

[0002] 본 발명의 신규한 균주는 잔디환경과 유사한 토양에서 분리하여 배양하였으며, 상기 균주의 배양과정에서 탄소원, 질소원 등의 배양원을 개량하여 잔디병해에 대하여 우수한 활성능과 지속적인 방제효능이 나타남을 확인하였다. 또한 본 발명의 신규한 균주는 잔디병해 중 가장 넓게 분포되는 갈색잎마름병(*Rhizoctonia solani*)과 동전마름병(*Sclerotinia homoeocarpa*)에 대해 현저한 길항능을 나타내었고, 특히 상기 갈색잎마름병(*Rhizoctonia solani*)과 동전마름병(*Sclerotinia homoeocarpa*)에 대한 방제효과가 장기간 지속되는 것으로 확인되어 매우 경제적이고 환경 친화적인 미생물제제의 가능성을 나타내었다.

배경 기술

[0003] 우리나라 국민의 소득수준 증가와 다양한 레저문화의 확산 보급으로 골프에 대한 관심이 증폭되었고 골프장 이용객도 매년 증가하고 있다. 반면, 골프가 국민들 상당수가 즐기는 운동이지만, 환경적 측면에서 골프장 조성시 산림을 훼손시키고, 잔디의 관리를 위해 과도하게 비료나 농약 등을 살포하여 환경에 악영향을 주는 등 사회적으로 부정적 문제가 여전히 발생되기도 한다.

[0004] 특히, 우리나라 골프장 잔디의 주요 병해인 갈색잎마름병(Large Patch), 동전마름병(Dollar Spot), 브라운패취(Brown Patch), 피시움병(Pythium) 등 주로 토양병으로 그 방제가 어렵고 한번 조성된 잔디는 수년간 그 식재상

태를 유지하기 위해 농약과 비료 사용이 크게 줄지 않고 있다. 지속적인 농약 사용에 대한 약제 내성균에 대한 해결과 친환경적인 잔디관리를 위해 항균 기능 미생물을 이용하여 주요 잔디 병해를 방제 및 관리하기 위한 방법이다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0005] 잔디의 주요 병해에 대해 길항반응을 갖는 신규한 균주인 *Bacillus vallismortis* GG290(기탁번호 : KCCM11211P)를 제공하고, 특히 갈색잎마름병(*Rhizoctonia solani*)와 동전마름병(*Sclerotinia homoeocarpa*)에 대해 길항반응을 보이는 균주인 *Bacillus vallismortis* GG290(기탁번호 : KCCM11211P) 및 상기 균주의 배양방법, 그리고 이들의 균주를 유효성분으로 하는 미생물제제를 제공함으로써, 지속적인 농약 사용에 대한 약제 내성균에 대한 해결과 친환경적인 잔디관리를 위해 항균 기능 미생물을 이용하여 주요 잔디 병해를 방제 및 관리하는 데에 기여하고자 한다.

과제의 해결 수단

- [0006] 상기와 같은 기술적 과제를 달성하기 위한 본 발명은 토양에서 분리한 잔디병해 길항 균주인 *Bacillus vallismortis* GG290(기탁번호 : KCCM11211P)을 제공하고, 상기 균주의 방제 효과를 최대로 할 수 있는 배양방법 및 미생물제제를 제공함으로써, 농약을 사용하지 않고 미생물제제를 이용하여 잔디 병해를 방제하는 데에 기여하고자 한다.
- [0007] 이하 본 발명의 구성을 구체적으로 설명하고자 한다.
- [0008] 첫째, 토양에서 분리 및 배양되고, 잔디의 병해에 대해 길항반응을 갖고, 특히 갈색잎마름병(*Rhizoctonia solani*)과 동전마름병(*Sclerotinia homoeocarpa*)의 잔디의 병해에 대해 길항반응을 가지는 것을 특징으로 하는 신규한 잔디병해 길항 균주 *Bacillus vallismortis* GG290(기탁번호 : KCCM11211P)을 제공한다.
- [0009] 둘째, *Bacillus vallismortis* GG290(기탁번호 : KCCM11211P)의 균주를 배양하는 방법에 있어서, 잔디의 병해에 대한 길항반응의 항균활성능이 우수하게 배양하는 것을 특징으로 하는 배양방법을 제공한다.
- [0010] 잔디의 병해에 대한 길항반응의 항균활성능이 우수하게 하는 배양배지는,
- [0011] 탄소원은 sorbitol으로, 질소원은 yeast와 bactotryptone으로, 무기염류는 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, K_2HPO_4 , KH_2PO_4 로 이루어진 배양원을 이용하여 잔디의 병해에 대한 길항반응의 항균활성능이 우수하게 배양하는 것을 특징으로 하는 배양방법을 제공한다.
- [0012] 셋째, 잔디병해 길항 균주 *Bacillus vallismortis* GG290(기탁번호 : KCCM11211P)을 유효성분으로 포함하며, 갈색잎마름병(*Rhizoctonia solani*)와 동전마름병(*Sclerotinia homoeocarpa*)에 의한 잔디병해의 치료 및 예방효과를 갖는 것을 특징으로 하는 미생물제제 및 그 제조방법을 제공한다.

발명의 효과

- [0013] 상기에서 설명한 바와 같이, 본 발명은 잔디 병해, 특히 갈색잎마름병과 동전마름병에 대한 길항작용을 갖는 균주인 *Bacillus vallismortis* GG290(기탁번호 : KCCM11211P)을 제공하고, 상기 균주의 배양방법 및 높은 방제효과를 나타낼 수 있는 배양조건을 제공하고, 상기 균주의 미생물제제 및 그 제조방법을 제공함으로써 농약 없이 잔디 병해를 효과적으로 방제할 수 있는 데에 크게 기여할 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0014] 도 1은 *Bacillus vallismortis* GG290의 사진이다.

도 2는 *Bacillus vallismortis* GG290의 적정배양온도를 나타내는 그래프로, x축은 온도(℃)를 나타낸다.

도 3은 *Bacillus vallismortis* GG290의 배양에 적절한 산도(pH)를 나타내는 그래프이다.

도 4는 *Bacillus vallismortis* GG290의 셀룰라제 분해효과를 확인한 사진이다.

도 5는 *Bacillus vallismortis* GG290의 달라스팟 병원균의 방제효과를 확인한 사진이다.

도 6은 *Bacillus vallismortis* GG290의 잔디 갈색잎마름병의 방제효과를 확인한 사진이다.

도 7은 *Bacillus vallismortis* GG290의 동전마름병의 방제효과를 확인한 사진이다.

도 8은 *Bacillus vallismortis* GG290의 갈색잎마름병의 항균효과, 동전마름병의 항균효과, 그리고 봄마름병의 항균효과를 확인한 사진이다.

도 9는 *Bacillus vallismortis* GG290의 16s rRNA 염기서열이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0015] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다.

[0016] 본원 발명의 실시는 실시예 1내지 3으로 나누어 구체적으로 설명하면 이하와 같다.

[0017] 먼저, 실시예 1은, *Bacillus vallismortis* GG290균주의 분리, 동정, 배양에 적절한 온도 및 산도에 대한 것이다.

[0018] 실시예 1

[0019] (1) 균주의 분리

[0020] 2008년 1월 경기도 수원시 권선구 입북동의 논토양을 채취하여, 채취한 토양 1 g을 정량하여 10 ml의 멸균수에 넣어 현탁한 후 현탁액 1 ml을 멸균수 9 ml가 담긴 시험관에 차례대로 10 배씩 희석하였다. 현탁액에 희석된 멸균수를 200 μ l 씩 취하여 NA(Nutrient Agar) 고체 평판배지의 중앙에 넣고 멸균된 스프레드로 골고루 밀어준 후 25℃ 항온기에서 3일간 배양하였다. 각각의 모양으로 형성된 콜로니를 취하여 균주번호를 붙여주고 항진균 반응에 이용하여 효과가 있는 균주를 선발하였다.

[0021] (2) 균주의 동정

[0022] 잔디의 주요 병해인 갈색잎마름병(*Rhizoctonia solani*)와 동전마름병(*Sclerotinia homoeocarpa*)에 대해 길항반응을 보이는 균주를 동정하기 위해 주사 전자 현미경(Scanning Electronic microscope, HITACHI S-3000)으로 형태적 특징을 관찰하였고(도 1), 세균검정기 VITEK compact II의 BCH 카드를 이용하여 생화학적 반응검정을 확인하고 균의 종류를 확인하였으며(표 1), 16s rRNA의 염기서열을 분석(도 9)한 후, NCBI blast를 검색하여 균주 동정을 하였다. 동정결과 형태적으로 단간균형의 균주로, VITEK compact BCH카드 동정 결과와, 염기서열 분석결과 *Bacillus vallismortis*로 동정되었다. 이에 분리된 동정균을 *Bacillus vallismortis* GG290으로 명명하였다. 이 균은 출원시 첨부한 미생물기탁증에서 제시한 바와 같이, 한국미생물보존센터에 기탁번호 KCCM11211P로 기탁하였다.

[0023] [표 1] 생화학적 특성

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-글루코사민 다제	-
15	알라페프로아릴 아미다제	+	18	사이클로덱스트린	-	19	D-갈락토스	-	21	글라이코진	-	22	미오-이노시톨	+	24	메틸-A-D-글루코피라노사이드	+
25	엘만	-	26	메틸-D-자일로사이드	-	27	α-만노시다제	-	29	말토트리오즈	-	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-트리탈로즈	+
50	이눌린	-	53	D-글루코스	+	54	D-리보즈	+	56	푸트레신	-	58	NH ₄ 65%	+	59	카나마이신	-
60	올린도마이신	-	61	에스콜린하이드로라제	+	62	테트라폴리움레드	-	63	폴로마이신	-						

[0024]

[0025] (3) 적정 배양 온도

[0026] 분리한 균주의 적정배양온도를 확인하기 위해 TSB(Tryptic Soy Broth)배지 200 ml에 전배양액 2 ml를 접종하여 온도별로 15, 20, 25, 30, 35, 40℃에서 24시간 동안 180 rpm으로 배양한 후 배양액을 UV 스펙트로포토메타 (BECKMAM DU730) 600 nm 파장에서 흡광도를 조사하여 균의 생육정도를 확인하였다. 그 결과 도 2에서 나타낸 바와 같이 30℃에서 24시간 배양하였을 때 가장 생육이 잘 되었다.

[0027] (4) 적정 pH

[0028] 이 균주의 생육에 적절한 산도를 확인하기 위해 TSB 배지 200 ml를 NaOH와 HCl로 산도를 3, 4, 5, 6, 7, 8로 조절하여 24시간, 48시간 동안 180 rpm 으로 진탕배양한 후 배양액을 UV 스펙트로포토메타 600nm파장에서 흡광도를 조사하여 균의 생육정도를 비교하였다. 결과 도 3에서 나타낸 바와 같이 pH7에서 균주의 생육이 대체로 잘 되었다.

[0029] 다음으로, 실시예 2는, *Bacillus vallismortis* GG290균주의 잔디 병해에 대한 길항반응의 항균활성능이 우수하게 배양하는 것을 특징으로 하는 배양방법 및 잔디 병해에 대한 방제 효과에 대한 것이다.

[0030] 실시예 2

[0031] (1) 최적 배지 영양원과 항균활성 검정

[0032] 균주의 생육에 필요한 영양원을 결정하기 위해 최소배지(K₂HPO₄ 0.7%, KH₂PO₄ 0.2%, Glucose 0.5%, (NH₄)₂SO₄ 0.1%, MgSO₄ 7H₂O 0.01%)를 조제하여 탄소원에서는 Glucose를 제외시키고 각각의 탄소원을 1%첨가하여 25℃에서 180 rpm으로 24시간 배양한 후 배양정도를 측정하였다. 질소원을 결정하기 위해 최소배지에서 (NH₄)₂SO₄ 0.1% 대신 각각의 질소원을 0.5%씩 첨가하였으며, 적정 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 탄소원, 질소원, 무기염류로 배양된 배양액을 종이드스크 위에 100 μl 씩 접종하고 주요 잔디병원균과 25℃, 7일간 대치배양 후 저지대를 조사하여 항균활성을 측정하였다. 그 결과 표 2에서 나타난 바와 같이, sorbitol을 탄소원으로 이용하였을 경우, 배양이 잘 되었고, 주요 잔디병원균에 대해서도 항균력이 가장 좋았다. 질소원은 표 3에서와 같이, yeast extract에서 배양이 잘 되었으며 yeast와 bactotryptone을 이용하였을 때 항균활성이 가장 좋았다. 무기염류는 MgSO₄7H₂O, K₂HPO₄,

KH₂PO₄를 배지원으로 사용하였을 경우 균주의 항균활성이 좋았다(표 4).

[표 2] 최적 탄소원과 항균활성 검정

처리내용		arabinose	fructose	glucose	glycerol	lactose	mannitol	starch	sorbitol	sucrose
세포성장 (600nm 흡광도)		0.03	0.03	0.15	0.04	0.06	0.10	0.07	0.16	0.07
항균 활성 억제 대 (mm)	S.h	4.0	6.8	8.2	7.8	8.1	8.3	8.8	9.1	8.9
	R.s	7.4	8.0	9.1	9.2	9.6	9.3	8.8	9.6	9.3
	R.c	6.3	9.9	11.0	9.4	10.2	10.7	10.7	11.0	11.6

* S.h: *Sclerotinia homoeocarpa*, R.s: *Rhizoctonia solani*, R.c: *Rhizoctonia cerealis*

[표 3] 최적 질소원과 항균활성 검정

처리내용		Ammonium chloride	beef extract	ammonium phosphate	bacto peptone	ammonium sulfate	bacto tryptone	malt extract	yeast extract	poly peptone
세포성장 (600nm 흡광도)		0.00	0.07	0.04	0.06	0.14	0.43	0.08	0.74	0.13
항균 활성 억제 대 (mm)	S.h	6.9	7.9	7.4	7.9	8.0	8.6	7.2	7.8	8.7
	R.s	7.6	8.4	7.7	8.9	9.2	9.4	7.6	9.3	9.3
	R.c	10.2	10.3	9.7	10.2	10.2	11.0	9.3	10.6	10.4

* S.h: *Sclerotinia homoeocarpa*, R.s: *Rhizoctonia solani*, R.c: *Rhizoctonia cerealis*

[표 4] 최적 무기염류원과 항균활성 검정

무기염류	세포성장 (600nm흡광도)	항균활성 억제대(mm)			
		S. h	R. sp.	R. s	R.c
MgSO ₄ ·7H ₂ O	1.05	8.3	9.2	8.4	9.2
NH ₄ Cl	1.12	1.3	2.3	1.7	9.8
NaCl	0.35	1.7	3.0	1.7	9.7
K ₂ HPO ₄	0.23	7.9	9.0	7.8	9.7
KH ₂ PO ₄	0.52	7.9	8.9	8.4	8.9
CaCl ₂	1.03	2.7	5.9	4.8	8.7
LiCl	1.32	1.6	2.3	1.9	9.7
KCl	1.37	1.7	1.9	1.0	10.9
FeSO ₄	0.29	5.7	6.9	5.8	7.2
ZnSO ₄	0.14	2.4	5.3	3.2	3.5
NaHPO ₄	0.30	8.0	7.9	8.0	8.8
BaCl ₂	0.26	6.3	7.4	7.2	7.0
FeCl ₂	0.19	6.2	7.3	6.3	7.4

* S.h: *Sclerotinia homoeocarpa*, R.s: *Rhizoctonia solani*, R.c: *Rhizoctonia cerealis*

(2) 길항미생물의 식물병원균에 대한 항진균 검정

분리한 길항 미생물의 잔디병원균 뿐만 아니라, 주요 식물병원균에 대한 항균력을 알아보기 위하여 *Sclerotinia sclerotiorum*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporum*, *Alternaria panax*, *Colletotrichum* sp. *Rhizoctonia*

sp., *Phytophthora capsici* 등에 대해 paper disc법으로 대치배양 하였다. 잔디 병원균인 갈색잎마름병 *Rhizoctonia solani* AG2-2, *R. solani* AG1, 동전마름병 *Sclerotinia homoeocarpa* 뿐만 아니라 작물의 주요 병해인 잣빛곰팡이병, 시들음병, 탄저병 등에 대해서도 높은 항균력을 보였다(표 5).

[0041] [표 5] GG290의 잔디 주요 병해에 대한 항균력

병원균	항진균 활성 ¹⁾
<i>Alternaria panax</i>	+++
<i>Botrytis cinerea</i>	+++
<i>Colletotrichum</i> sp.	+++
<i>Fusarium oxysporum</i>	++
<i>Phytophthora capsici</i>	++
<i>Rhizoctonia solani</i>	+++
<i>Rhizoctonia cerealis</i>	+++
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	+++

[0042] ¹⁾ +++: 저지대 20mm이상, ++: 저지대 10-20mm, +: 저지대 10mm이하

[0043] (3) 길항미생물의 셀룰라제 분해효과

[0044] 분리한 길항 미생물의 항균효과 뿐만 아니라, 골프장의 깎여진 잔디가 쌓여 생긴 대취충을 분해할 수 있는 셀룰라제 분해효과를 확인하였다. 식물세포벽의 주요 성분인 셀룰로스 분해 기능을 확인하기 위해 DCAB 배지를 만들어 분리한 미생물을 30℃ 3일간 배양후 0.1% congo red 30분 처리 후 NaCl 1 M을 15분간 처리하여 셀룰로스가 분해된 것을 확인하였다(도 4). 골프장은 한번 조성이 되면 수년간 그 재식형태가 유지되며, 빈번한 예초로 인한 상처와 답압에 의한 스트레스, 과다한 대취충 형성 등으로 발병이 조장되어 다른 식물보다 많은 병해가 발생하고 방제가 어려워 농약 사용량이 증가하기 쉽다. 이러한 이유로 항균기능과 함께 잔디의 주성분인 셀룰로스 분해기능이 함께 있는 미생물을 골프장에 처리하여 예초된 잔디가 쌓인 과다한 대취충 생성을 줄임과 동시에 병원균의 서식처를 없애므로 미생물의 항균기능을 더 높일 수 있다.

[0045] (4) 길항미생물의 항균력 포트 검정

[0046] 플라스틱 상자에 과중하여 재배한 크리핑벤트그라스에 GG290미생물을 30℃, 180 rpm으로 24시간 배양한 후 1×10^7 cfu/ml 농도의 배양액을 1 L/m² 씩 일주일간격으로 3회 처리하였다. 1회 처리 후 3일 뒤 상자 내 네 지점에 오토밀 샌드 배지에 20일간 배양된 달라스팟 병원균을 1 g씩 접종하여 발병유무를 확인하였으며, 무처리 발병면적 25%에 비해 미생물처리구에서는 발병이 되지 않아 예방효과가 있었다(표 6, 도 5).

[0047] [표 6] GG290의 달라스팟 병원균 방제 효과

처 리 내 용	병반면적율(%)
GG290	0.0
무처리	25.0

[0048]

[0049] (5) 길항미생물의 포장 검정

[0050] 라지패취병에 대한 GG290의 항균효과를 확인하기 위해 홍천 비발디골프장내 한국잔디에서 매년 라지패취병이 발병되고 있는 지점에 TSB 배지에서 180 rpm으로 24시간 배양한 GG290 미생물을 1×10^7 cfu/ml 농도로 조절한 후 1 L/m^2 씩 8월말부터 매주 1회씩 5회 살포하였으며 라지패취 병반의 진행정도를 조사하였으며, 동전마름병에 대한 GG290의 항균효과는 스카이72골프장내 조성된 크리핑벤트그라스 포장에서 위와 동일한 방법으로 배양 및 살포하여 포장내 발생된 병반을 조사하였다. 결과 라지패취병은 GG290을 처리한 경우 무처리와 비교하여 82%의 방제효과가 있었고, 동전마름병은 GG290을 처리하였을 때 73%의 방제효과가 있었다(표 7, 표 8).

[0051] 이상의 결과로 *Bacillus vallismortis* GG290 미생물은 잔디에서 문제되는 갈색잎마름병과 동전마름병을 비롯하여 다른 작물에서 발생하는 주요 병해를 예방할 수 있는 우수한 미생물로 이용할 수 있다(도 6, 도 7, 도8).

[0052] [표 7] GG290의 잔디 갈색잎마름병 방제 효과

처리내용	병반진행거리(cm)	방제가(%)
GG290	6.7	82.2
화학농약(헥사코나졸 EC)	4.7	87.5
무 처리	37.7	-

[0053]

[0054] [표 8] GG290의 동전마름병 방제 효과

처리내용	병반수(개)/ m^2	방제가(%)
GG290	4.0	73.3
화학농약(터부코나졸 EC)	0.7	95.6
무 처리	15.0	-

[0055]

[0056] 다음으로, 실시예 3은, *Bacillus vallismortis* GG290균주를 포함하는 방제용 미생물제제의 제조방법에 대한 것이다.

[0057] 실시예 3

[0058] 미생물을 이용한 제제는 병원균에 대한 길항력과 기주의 근권에 잘 정착하고, 다른 미생물과의 경쟁에서 이겨야 하며 다양한 환경조건에 잘 적응하여야 한다. 미생물을 안정화된 상태로 이용하기 위해 TSB 배지에서 180 rpm으로 24시간 배양한 GG290 미생물 배양액에 식물성 오일 에틸렌옥사이드 부과물 5%, 구연산 1%를 첨가한 후 100배 희석하여 매주 1회씩 5회 크리핑 벤트그라스포장에 처리하였을 때 동전마름병의 발생이 무처리 대비 약 78%의 방제효과를 보였다(표 9, 도 7).

[0059] [표 9] GG290의 동전마름병 방제 효과

처리내용	병반수(개)/m ²	방제가(%)
GG290 시제품	3.3	77.8
무 처리	15.0	-

[0060]

수탁번호

[0061]

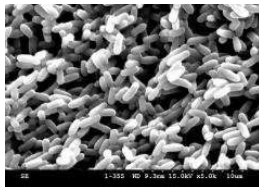
기탁기관명 : 한국미생물보존센터

수탁번호 : KCCM11211P

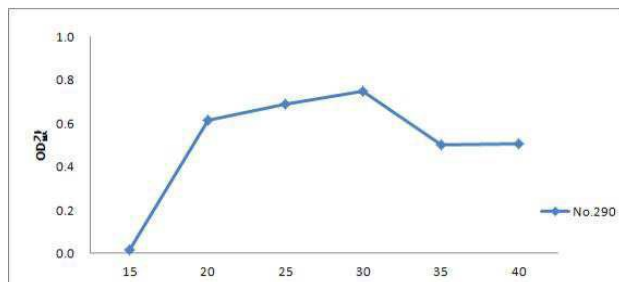
수탁일자 : 20111010

도면

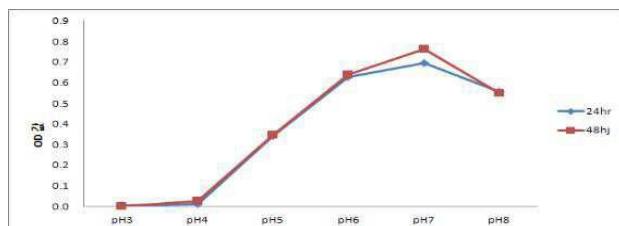
도면1



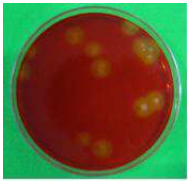
도면2



도면3



도면4



도면5



<GG290처리>

<무처리>

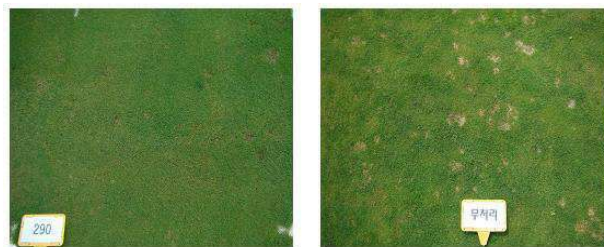
도면6



<처리>

<무처리>

도면7



<GG290처리>

<무처리>

도면8



<갈색잎마름병>

<동전마름병>

<봄마름병>

도면9

GTACAGCTATACATGAGTCGAGCGGACAGATGGGAGCTTGCTCCCTGATGTTAGCGGCGGACG
GGTGAGTAACACGCTGGGTAACCTGCTGTAAAGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGGGCTAATA
CCGGATGGTGTGTAACCGCATGGTTGAGACATAAAAGGTGGCTCCGGCTACCACTTACAGA
GGACCCCGGGCGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAAACGGCTCACCAGGCGACGATGCCGTAGCCGA
CCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCGAGCTCCTACGGGAGGCGAGCG
TAGGGATCTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCTGAGTGATGAAGSTTT
CGGATCGTAAAGCTCTGTGTAGGGAAGAACAGTCCCGTTCAATAGGGCGGCACCTTGACG
GTACCTAACCGAGAAAGCCACGGCTAACTACGTCCACGACGCCCGCTAATACGTAGCTGCAAG
CCTTGTCCCGAATATTCGCCCTAAAGGCTTCGCCAGCCCTTCTAACTCTGATCTGAAAGCC
CCCGCTCAACCCCGAGCCCTCACTGCAAACTCCCGAACCTGACTCCAGAGAGGACACTCCAA
TTCCAGCTCTAGCCCTCAAACTCCGTACAGATCTGCACGAACACCACTCCCGAAGGCCACTCTCT
GGTCTGTAACTGACCCCTGAGGAGCGAAAGCGTGCGGAGCGAACAGCATAGATACCCCTCTAGT
CCACGCCCTAAACGATCAGTCTAAGTGTTAGGGGGTTCCGCCCTTAGTGCTGCAGCTAACG
CATTAAGCACTCCGCCCTGGGGAGTACGGTCCGACACTGAAACTCAGAGGAATTGACGGGGCC
CGCACAGCGGTGGAGCATGTGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGACCTTACCAGGTCTTGAC
ATCCTCTGACAACTCCTAGAGATAGGACGTCCCGTTCCGGGGCAGAGTGACAGGTGGTGCATGGT
TGTCGTGAGTCCTGTCTGTAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTTGATCTTA
GTTGCCAGCATCAGTTGGGCACCTTAAGGTGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGSTGGGA
TGACGTCAAACTATCATGCCCTTATGACCTGEGCTACACACGCTGCTACAATGGACAGAAACAA
GGGACGCGAAACCGCGAGGTTAAGCCAACTCCACAAATCTGTCTCAGTTCCGATCCGAGTCTG
CAACTCAGCTCCGTGAAGCTGGAATCCTAGTAATCCCGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGT
TCCCGGCTCTGACACACCCCGCTCACACCACGAGTTGTAAACCCCGAGTCTGTCAGG
TAACCTTTATGGAGCCAGCCCGCAT