(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2015-0079322
(43) 공개일자 2015년07월08일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12N 1/20 (2006.01) *A01N 63/02* (2006.01)
A01P 1/00 (2006.01) *A01P 21/00* (2006.01)
(21) 출원번호 10-2013-0169486
(22) 출원일자 2013년12월31일
심사청구일자 2013년12월31일

(71) 출원인
고려대학교 산학협력단
서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)
(72) 발명자
김기덕
경기 남양주시 순화궁로 384, 2401동 1001호 (별내동, 별내신도시대원칸타빌)
상미경
서울 관악구 보라매로3길 29, 1607호 (봉천동, 해태보라매타워)
김두연
서울 동대문구 무학로 193, 102 (용두동, 삼영오피스텔)
(74) 대리인
특허법인다나

전체 청구항 수 : 총 5 항

(54) 발명의 명칭 **토양근권세균 슈도모나스 푸티다 균주 YJR92을 포함하는 식물병 방제 및 식물 생장촉진용 조성물**

(57) 요 약

본 발명은 식물 병원균 방제 효과 및 식물 생장촉진 효과를 가지는 슈도모나스 푸티다 균주 YJR92(*Pseudomonas putida* strain YJR92; 기탁번호 KACC 91910P)을 포함하는 식물병 방제용 조성물 및 생장촉진용 조성물에 관한 것이다. 상기한 본 발명에 의하면, 포장에서도 역병 및 탄저병 등 식물병을 친환경적으로 효과적으로 방제할 수 있고, 농용 살균제의 문제점을 해결할 수 있으며 동시에 식물 생장을 촉진시킬 수 있는 이점이 있다.

대 표 도 - 도1

YJR92

CTACACATGCAAGTCGAGCGGATGACGGGAGCTTGCTCCTTGATTCAGCGGCGGACGGGTGAGTAATGCCTAGGAATCTG
CCTGGTAGTGGGGGACAACGTTTCGAAAGGAACGCTAATACCGCATACGTCCTACGGGAGAAAGCAGGGGACCTTCGGG
CCTTGCGCTATCAGATGAGCCTAGGTCGGATTAGCTAGTTGGTGAGGTAATGGCTCACCAAGGCGACGATCCGTAACTGGT
CTGAGAGGATGATCAGTCACACTGGAACTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACA
ATGGGCGAAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGTCTTCGGATTGTAAAGCACTTTAAGTTGGGAGGAAG
GGCAGTAAGTTAATACCTTGCTGTTTTGACGTTACCGACAGAATAAGCACCGGCTAACTCTGTGCCAGCAGCCGCGGTAAT
ACAGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCGCGTAGGTGGTTCGTTAAGTTGGATGTGAAAGCCCC
GGGCTCAACCTGGGAACTGCATCCAAAACTGGCGAGCTAGAGTACGGTAGAGGGTGGTGGAATTTCCTGTGTAGCGGTGA
AATGCGTAGATATAGGAAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACCACCTGGACTGATACTGACACTGAGGTGCGAAAGCGTG
GGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTCAACTAGCCGTTGGAATCCTTGAGATTTTAGT
GGCGCAGCTAACGCATTAAGTTGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAAACTCAAATGAATTGACGGGGGCCCG
CACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGCCTTGACATGCAGAGAACTTTCCAG
AGATGGATTGGTGCCTTCGGGAACTCTGACACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAG
TCCCGTAACGAGCGCAACCCTTGTCCTTAGTTACCAGCACGTTATGGTGGGCACTCTAAGGAGACTGCCGGTGACAAACCG
GAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGGCCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGTCGGTACAGAGG
GTTGCCAAGCCGCGAGGTGGAGCTAATCTCACAAAACCGATCGTAGTCCGGATCGCAGTCTG

명 세 서

청구범위

청구항 1

식물 병원균 방제 효과 및 식물 생장촉진 효과를 가지는 슈도모나스 푸티다 균주 YJR92(*Pseudomonas putida* strain YJR92; 기탁번호 KACC 91910P).

청구항 2

슈도모나스 푸티다 균주 YJR92(*Pseudomonas putida* strain YJR92; 기탁번호 KACC 91910P) 또는 이 균주로부터 생산되는 대사산물을 함유하는 식물병 방제용 조성물.

청구항 3

제2항에 있어서, 상기 식물병은 식물 역병 또는 식물 탄저병인 것을 특징으로 하는 식물병 방제용 조성물.

청구항 4

슈도모나스 푸티다 균주 YJR92 또는 이 균주로부터 생산되는 대사산물을 함유하는 조성물을 식물에 처리하는 단계를 포함하는 식물병 방제방법.

청구항 5

슈도모나스 푸티다 균주 YJR92(*Pseudomonas putida* strain YJR92; 기탁번호 KACC 91910P) 또는 이 균주로부터 생산되는 대사산물을 함유하는 식물 생장촉진용 조성물.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 토양근권세균 슈도모나스 푸티다 균주 YJR92(*Pseudomonas putida strain YJR92*)을 포함하는 식물병 방제 및 식물 생장촉진용 조성물에 관한 것이다. 더욱 상세하게 본 발명은 작물 재배시 포장과 재배시설에서 심각한 피해를 야기하는 식물의 역병(Phytophthroa blight)과 탄저병(Anthracnose)에 대해 뛰어난 생물적 방제 효과뿐만 아니라 식물 생장촉진 효과가 있는 친환경적 생물적 방제균인 슈도모나스 푸티다 균주 YJR92을 포함하는 식물병 방제 및 식물 생장촉진용 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 현대 농업에서는 작물을 병으로부터 보호하기 위해 농용 살균제 사용에 의존하고 있는데, 이러한 농용 살균제들은 인간 및 환경에 대한 부정적인 영향에도 불구하고 안정적인 농업생산을 위해서 계속적인 사용이 불가피한 상황이다.

[0003] 이러한 이유로 국내외 많은 연구자들이 새롭고 인간과 환경에 안전한 미생물 농약을 개발하고자 노력하고 있지만, 국내외적으로 식물병에 대하여 길항 효과를 갖는 미생물의 확보는 아직 부족한 실정이다.

[0004] 실험실의 제한된 조건에서 선발된 길항 능력이 있는 미생물은 실제 포장의 다양한 환경조건에서 생존하지 못하거나 길항 효과를 발휘하지 못하는 경우가 있으며, 이러한 이유로 외국에서 우수한 길항 미생물이 실제로 우리나라의 환경에서 효과를 발휘하지 못하는 경우가 많다.

[0005] 또한, 고추와 같이 고부가가치를 생산하는 작물을 재배할 때 수확량 증가를 위하여 과도한 양의 비료를 사용하며 실제 농가에서는 생장 촉진제와 같은 화학약품을 사용하기도 하므로, 환경오염과 독성의 문제를 야기하여 지속적이고 안전한 고추의 생산에 심각한 문제가 발생할 수 있다.

[0006] 국내 연구기관들이 선진 외국처럼 세균, 진균 등을 사용하여 식물병 방제를 위한 길항미생물 탐색 및 실용화 연

구를 하고 있으나 여전히 기초단계의 연구를 수행하고 있으며, 작물재배에서 길항미생물을 이용한 식물병 방제에 대한 연구는 대학교, 농업관련 국가연구소, 정부출연연구소 등을 중심으로 추진되고 있으나, 아직 국내 연구인력 및 기술 축적이 외국만큼 충분하지 않고 국내 재배여건에 적용되어 작물생산에 효과 있는 농용 생물농약과 비료의 사용 및 실용화는 미미한 실정이다.

[0007] 한편 식물의 역병은 파이토프토라(genus *Phytophthora*) 등의 난균류에 의해 일어나며, 탄저병은 콜레토트리쿰(genus *Colletotrichum*) 등의 곰팡이에 의해 발생한다. 우리 밥상에 올라오는 대부분의 식물이 이들 병원균에 의해 피해를 입는다. 식물 탄저병균은 잎, 줄기, 과일, 꽃 등 부위를 가리지 않고 파괴한다. 우리나라 음식에 빼놓을 수 없는 양념 채소인 고추, 여름철 과일인 수박 등 가지과와 박과 작물에서 특히 심하다.

[0008] 고추는 우리나라에서 2005년도 기준으로 전체 채소 재배 면적의 약 24%를 차지하며, 조미채소류 재배 면적에서는 약 49%를 차지하고, 농가 소득기여도가 연간 8,500억 원 이상으로 농가 경제 주요작물 중 하나이다. 특히 우리나라의 식생활의 특성으로 인하여 붉은 고추의 소비가 현저하게 높으며, 이를 이용한 가공품에 대한 시장 규모도 증가하고 있다.

[0009] 그러나 고추 재배에 있어서 고추탄저병, 역병, 세균성 점무늬병, 바이러스병 등이 심각한 피해를 야기하는데, 특히 고추 열매의 생산과 관련하여 고추 재배시 발생하는 역병과, 고추 열매에 발생하는 탄저병에 의한 피해가 매우 심각하며, 이들을 방제하기 위해 권장 사용량 이상의 과도한 유기 합성 농약 살포에 의존하고 있다. 이러한 유기 합성 농약의 오남용으로 인하여 저항성 균주의 출현, 오존층의 파괴, 토양과 작물 내의 잔류, 환경 오염 등의 문제가 야기되고 있으며 이를 대체하기 위하여 길항 미생물을 이용한 생물적 방제 등의 많은 연구들이 진행되어 오고 있지만, 아직까지 효과적인 길항 미생물을 이용한 생물적 방제가 미미하다. 특히 최근에 환경 보전적 지속 농업과 무농약 고부가가치 산업과 관련하여 역병 및 탄저병의 생물적 방제 연구가 집중적으로 수행되어야 할 필요가 있지만, 토양과 공기 전염성 병에 대한 이해의 부족과 식물의 지하 및 지상부에 발생하는 병에 대하여 아직까지 포장 조건 아래에서도 기존의 농용 살균제와 비교하여 효과적인 길항 미생물을 확보하는데 미비한 실정이다.

[0010] 본 발명의 배경이 되는 기술로는, 토양근권세균 슈도모나스 코루가타 균주 CCR80을 포함하는 식물 탄저병 방제용 조성물 및 이를 이용한 탄저병 방제방법(대한민국 등록특허 10-1107373(2012.01.19)), 신규 식물 외생 길항미생물인 슈도모나스 퓨티다 CB11 균주 및 이를 함유하는 항진균성 미생물 살균제(대한민국 등록특허 10-0566265(2006.03.29)), 및 항균활성을 갖는 신균주 슈도모나스 CP236 및 이를 포함하는 식물병 방제용 조성물(대한민국 등록특허 10-1260170(2013.05.06)) 등이 있다. 또한, 슈도모나스 푸티다에 의한 밀의 근부병 방제에 대해 알려져 있다(Mavrodi, O. V., Walter, N., Elateek, S., Taylor, C. G. and Okubara, P. A. 2012. Suppression of Rhizoctonia and Pythium root rot of wheat by new strains of Pseudomonas. Biol. Control 62:93.102.)

[0011] 그러나 슈도모나스 푸티다 균주 YJR92을 이용한 식물병 방제 및 식물 생장촉진용 조성물에 대해 알려진 바는 없다.

선행기술문헌

특허문헌

[0012] (특허문헌 0001) 대한민국 등록특허 10-1107373(2012.01.19)

(특허문헌 0002) 대한민국 등록특허 10-0566265(2006.03.29)

(특허문헌 0003) 대한민국 등록특허 10-1260170(2013.05.06)

비특허문헌

[0013] (비특허문헌 0001) Mavrodi, O. V., Walter, N., Elateek, S., Taylor, C. G. and Okubara, P. A. 2012. Suppression of Rhizoctonia and Pythium root rot of wheat by new strains of Pseudomonas. Biol. Control 62:93.102.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0014] 따라서 본 발명은 고추를 포함한 식물 재배 시 심각한 문제를 야기하는 토양전염성 병인 역병과, 공기전염성 병인 탄저병을 친환경적이며 효과적으로 방제할 수 있는 우리나라의 근권 토양에서 분리한 내생 근권 세균 슈도모나스 푸티다 균주 YJR92을 포함하는 식물 역병 및 탄저병 등 식물병 방제용 조성물 및 이를 이용한 방제방법을 제공하는 것을 목적으로 한다.

[0015] 본 발명의 다른 목적은 슈도모나스 푸티다 균주 YJR92을 포함하는 식물 생장촉진용 조성물을 제공하는 것이다.

[0016] 본 발명의 다른 목적 및 이점은 하기의 발명의 상세한 설명, 청구범위 및 도면에 의해 더욱 명확하게 된다.

과제의 해결 수단

[0017] 본 발명의 일 측면에 의하면, 본 발명은 식물 병원균 방제 효과 및 식물 생장촉진 효과를 가지는 슈도모나스 푸티다 균주 YJR92(*Pseudomonas putida* strain YJR92; 기탁번호 KACC 91910P)을 제공한다.

[0018] 본 발명의 다른 측면에 의하면, 본 발명은 슈도모나스 푸티다 균주 YJR92(*Pseudomonas putida* strain YJR92; 기탁번호 KACC 91910P) 또는 이 균주로부터 생산되는 대사산물을 함유하는 식물병 방제용 조성물을 제공한다.

[0019] 본 발명의 구체적인 측면에 의하면, 본 발명의 상기 식물병은 식물 역병 또는 식물 탄저병인 것을 특징으로 한다.

[0020] 본 발명의 또 다른 측면에 의하면, 본 발명은 슈도모나스 푸티다 균주 YJR92 또는 이 균주로부터 생산되는 대사산물을 함유하는 조성물을 식물에 처리하는 단계를 포함하는 식물병 방제방법을 제공한다.

[0021] 본 발명의 또 다른 측면에 의하면, 본 발명은 슈도모나스 푸티다 균주 YJR92(*Pseudomonas putida* strain YJR92; 기탁번호 KACC 91910P) 또는 이 균주로부터 생산되는 대사산물을 함유하는 식물 생장촉진용 조성물을 제공한다.

[0022] 이하, 첨부된 도면을 참조하면서 본 발명에 대해 상세하게 설명하면 다음과 같다.

[0023] 본 발명자들은 역병과 탄저병에 대한 길항 효과를 가지는 토양 근권세균을 선발하여 확보하기 위하여 전국의 다양한 작물의 근권 토양을 수집하였으며, 그 중 고추의 뿌리 표면 토양에서 분리한 YJR92 균주를 확보하였고, 이 균주는 슈도모나스 푸티다 균주 YJR92로 동정되었다. YJR92 균주를 경기도 남양주시 덕소에 위치한 고려대학교 부속농장에서 2007년에서 2009년까지 3년 동안 포장과 시설에서 고추를 재배하여 발생하는 고추 역병과 탄저병에 대한 방제효과를 평가한 결과 상기 YJR92 균주가 식물의 역병과 탄저병에 대한 생물적 방제효과가 뛰어난 것을 확인하고 본 발명을 완성하였다.

[0024] 따라서 본 발명은 식물 병원균 방제 효과 및 식물 생장촉진 효과를 가지는 슈도모나스 푸티다 균주 YJR92(*Pseudomonas putida* strain YJR92; 기탁번호 KACC 91910P)을 제공한다.

[0025] 본 발명에 의한 YJR92 균주는 16S rRNA 서열 분석, 및 지방산 분석 등을 통해 슈도모나스 푸티다에 속하는 것으로 동정되었고, 슈도모나스 푸티다 균주 YJR92라 명명되고 기탁되었다(기탁번호 KACC 91910P).

[0026] 보다 구체적으로 본 발명에 의한 슈도모나스 푸티다 균주 YJR92는 16S rRNA 염기서열(서열번호 1)을 분석한 결과 슈도모나스 푸티다 균주와 99%의 상동성을 보이고, 지방산 분석 결과 슈도모나스 푸티다 균주에 속하는 것으로 확인되었다.

[0027] 그러므로 16S rRNA 분석 및 세균의 지방산 분석 등을 통하여 본 발명에 의한 YJR92 균주는 슈도모나스 푸티다에 속하는 균주인 것으로 확인되었다(도 1 및 도 2).

[0028] 또한, 본 발명은 슈도모나스 푸티다 균주 YJR92 또는 이 균주로부터 생산되는 대사산물을 함유하는 식물 역병 및 탄저병을 포함한 식물병 방제에 사용될 수 있는 무독성이고 친환경적인 살균제 조성물을 제공한다.

[0029] 또한, 본 발명은 슈도모나스 푸티다 균주 YJR92 또는 이 균주로부터 생산되는 대사산물을 함유하는 조성물을 식물에 처리하는 단계를 포함하는 식물 역병 및 탄저병을 포함하는 식물병 방제방법도 제공한다.

[0030] 본 발명에 따른 조성물 및 방제방법에 있어서, 상기 균주 또는 대사산물은 상기 균주의 균체, 상기 균주의 현탁액, 상기 균주의 배양물, 상기 배양물의 농축물, 상기 배양물의 휘발성 물질의 농축물 및 상기 배양물의 건조물 등의 상태로 이용될 수 있다. 상기 균주의 균체는 균 자체를 모두 포함하는 의미이며, 상기 현탁액은 상기 균체가 증류수, 생리식염수, 완충액 등에 현탁된 상태를 의미하고, 상기 배양물은 균체 포함 및 균체 비포함 배양물을 모두 포함하며, 상기 농축물 및 건조물은 이 발명이 속하는 기술 분야에서 통상적으로 사용되는 방법에 따라서 농축 또는 건조된 것을 의미한다.

[0031] 본 발명에 따른 조성물 및 방제방법에 있어서, 상기 역병은 파이토프토라 캡시시(*Phytophthora capsici*)과 같은 파이토프토라 (*Phytophthora sp.*)에 의해 발생하는 역병인 것을 특징으로 한다. 또한, 상기 탄저병은 콜레토트리쿰(*Colletotrichum sp.*)에 의해 발생되는 탄저병인 것을 특징으로 한다. 예컨대, 상기 식물 탄저병은 콜레토트리쿰 아쿠타툼(*Colletotrichum acutatum*), 콜레토트리쿰 코코데스(*Colletotrichum coccodes*), 콜레토트리쿰 글로이오스포리오이데스(*Colletotrichum gloeosporioides*), 콜레토트리쿰 데마티움(*Colletotrichum dematium*), 글로메렐라 싱굴라타(*Glomerella cingulata*) 및 콜레토트리쿰 라제나리움(*Colletotrichum lagenarium*)으로 이루어진 군에서 선택되는 1종 이상의 병원균에 의해 발생되는 탄저병일 수 있지만, 이에 제한되지는 않는다.

[0032] 또한, 본 발명은 상기 슈도모나스 푸티다 균주 YJR92 또는 이 균주로부터 생산되는 대사산물을 함유하는 식물 생장촉진용 조성물을 제공한다.

[0033] 본 발명은 슈도모나스 푸티다 균주 YJR92 또는 이 균주로부터 생산되는 대사산물을 함유하는 조성물을 식물에 처리하는 단계를 포함하는 식물 생장촉진 방법도 제공한다.

[0034] 따라서 본 발명에 의한 슈도모나스 푸티다 균주 YJR92는 식물의 생장을 촉진시킴으로써 작물의 수량을 증진할 수 있어, 고추 등 식물체의 수량 증대를 위한 무공해, 친환경적 미생물 비료로도 이용할 수 있다.

[0035] 본 발명에 따른 조성물 및 방제방법에 있어서, 적용 가능한 식물은 특별한 제한은 없으며, 예를 들어 고추, 파프리카, 딸기, 토마토, 수박, 오이 및 사과로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 식물에 적용할 수 있지만, 이에 제한되지는 않는다.

[0036] 본 발명에 따른 조성물 및 방법에 있어서, 식물병 방제용 또는 생장촉진용 조성물을 식물에 처리하는 방법에는 특별한 제한은 없으며, 예를 들어 정식 전 식물에 딥핑처리(root-dipping)하거나 관주 처리하여 이용할 수 있다. 침지하는 방법의 경우, 식물체 주변에 조성물을 붓거나 또는 종자를 담가둘 수 있다.

[0037] 본 발명에 의한 분리된 슈도모나스 푸티다 균주 YJR92 및 이 균주의 대사산물은 모두 천연 유래의 물질로서, 자연 환경에서 미생물에 의해 쉽게 분해될 수 있는 물질이다. 따라서 본 발명에 의한 균주 및 배양여액은 단독 또는 본 발명에 속하는 기술 분야에서 통상적으로 사용되는 충전제 등을 혼합하여 무공해, 친환경 식물병 방제용 살균제 조성물로 제조될 수 있어, 고추를 포함한 식물체의 역병과 탄저병 등의 식물병 방제 및 생장 촉진에 매우 유용하게 이용될 수 있다.

[0038] 따라서 본 발명에 의한 토양 근권 세균 YJR92 균주는 고추 등 식물 역병과 탄저병 등에 대한 길항효과와 식물생장촉진에 의한 수량증가 효과를 동시에 가지는 생물적 방제 및 식물생장촉진 세균으로써 활용할 수 있을 것이다.

발명의 효과

[0039] 상술한 바와 같이, 본 발명에 의한 슈도모나스 푸티다 균주 YJR92은 토양 근권세균으로서 포장에서도 식물 역병과 탄저병 등 식물병에 대하여 뛰어난 병억제 효과를 나타내기 때문에 친환경적으로 식물 역병과 탄저병 등 식물병을 방제할 수 있는 효과를 도모할 수 있을 것이다. 또한, 기존에 사용하였던 농용살균제의 사용량을 감소시킬 수 있어 환경오염과 저항성 균주의 출현 등의 문제를 해결할 수 있다.

[0040] 또한, 본 발명에 의한 슈도모나스 푸티다 균주 YJR92는 이 균주의 토양 처리에 의하여 토양 미생물의 수에 영향을 주지 않기 때문에 친환경적 생물적 방제제로써 생물 농약 분야에서 유용하게 이용될 수 있다.

[0041] 나아가, 본 발명에 의한 슈도모나스 푸티다 균주 YJR92는 식물 생장 촉진 효과가 있으므로 고추 등 작물의 수량을 증대시킬 수 있는 효과를 도모할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0042] 도 1은 본 발명에 의한 슈도모나스 푸티다 균주 YJR92의 분자적 동정을 위한 16S rDNA 염기 서열을 나타내는 도면이다.

도 2는 본 발명에 의한 슈도모나스 푸티다 균주 YJR92의 계통도를 나타내는 도면이다.

도 3a 및 도 3b는 본 발명에 의한 슈도모나스 푸티다 균주 YJR92의 세균동정을 위한 세균의 지방산(fatty acid methyl ester, FAME) 분석 결과를 나타내는 도면이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0043] 이하, 첨부된 도면을 참조하여 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세하게 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 요지에 따라 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되지 않는다는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에 있어서 자명할 것이다.

[0044] **[실시예 1] 역병과 탄저병에 대한 길항 근권세균 YJR92 균주의 분리**

[0045] 역병과 탄저병에 대한 길항 근권세균을 선발하기 위하여, 본 발명은 표 1에서 표기한 것과 같이 2004년에 우리나라 영종도 지역의 고추의 뿌리표면 근권토양을 샘플링한 후, 고추의 뿌리표면 토양으로부터 세균을 분리하기 위하여 샘플링한 뿌리 표면 토양 10g을 100ml 살균수에 넣고, 28℃ 160rpm에서 30분 동안 진탕하여 토양 현탁액을 만들었다. 이 현탁액을 사이클로헥사마이드(cyclohexamide)가 50mg/L의 농도로 혼합되어 있는 TSA(tryptic soy agar, Difco, Detroit, USA) 배지에 도말하여 48시간 동안 배양 한 후, 형태적으로 다른 세균을 분리하였으며, 그 중 연한 갈색의 YJR92 균주를 분리하였다. 분리한 YJR92 균주는 20% 글라이세롤이 혼합된 NB(Nutrient broth, Difco, Detroit, USA) 배지에 배양되어 -70℃에서 보관되었다. 표 1은 역병과 탄저병에 대한 근권 길항세균 YJR92 균주의 분리 지역, 작물, 시기 등의 정보를 나타낸다.

표 1

[0046]

지역	수집 년도	분리원	기주
영종도	2004년	뿌리 표면(근권)	고추

[0047] **[실시예 2] 역병과 탄저병에 대해 병억제 효과가 있는 근권 길항세균 YJR92 균주의 분자적, 생리적 특성을 이용한 균 동정**

[0048] 역병과 탄저병에 대하여 병억제 효과가 있는 근권 길항세균 YJR92 균주를 분자적, 생리적 특성을 이용하여 방법을 사용하여 동정하였다. 세균 동정을 위하여 일반적으로 사용하는 세균의 16S rRNA 염기서열(sequence)을 증폭

하기 위하여 YJR92 균주의 DNA를 분리하였다. YJR92 균주를 배양한 후 3000rpm에서 10분 동안 원심분리하여 세균을 수확하여, 300㎕의 SET 버퍼(buffer)로 섞어 주었다. 라이소자임(lysozyme)을 50mg/ml의 농도로 만들어 6㎕를 섞어준 후 37℃에서 1시간 동안 배양하였다. 배양한 후 1/10 부피의 SDS를 첨가한 후 프로테이나제 K(proteinase K)를 0.5mg/ml의 농도로 혼합하여 55℃에서 2시간 동안 배양한 후, 75℃에서 20분 동안 처리함으로써 프로테이나제 K(proteinase K)를 불활성화시켰다. 이 후 RNase를 첨가하여 37℃에서 30분 동안 배양한 후 1/3 부피의 5M NaCl과 1 부피의 클로로포름(chloroform)을 혼합하여 상온에서 30분 동안 배양하였다. 배양 후 10000rpm에서 10분 동안 원심분리하여 얻은 상등액만 수거하여 같은 양의 이소프로판올(isopropanol)을 혼합한 후 DNA를 수확하였다. 수확한 DNA는 70% 에탄올로 2회 세척하여 사용하였다.

[0049] 이와 같이 분리한 YJR92의 DNA를 유니버설 프라이머(universial primer)인 fd1 (AGAGT TTVAT CCTGGG; 서열번호 2)와 rp2 (ACGGC TACCT TGTTA CGACTT; 서열번호 3) 프라이머를 사용하여, PCR을 수행하였다. 16S rDNA를 PCR을 통해 증폭하기 위한 조건으로, 초기 95℃에서 4분을 한 후 95℃에서 4분, 58℃에서 1분, 72℃에서 2분을 반복하여 35회 시행하였으며, 마지막 신장반응(extension step)으로 72℃에서 10분 동안 PCR하였다. PCR 산물을 0.8% 아가로스 젤에 전기 영동한 후 순화하였다. PCR 산물의 순화를 위하여 전기 영동하여 UV에서 확인된 PCR 증폭된 밴드를 분리하여 -20℃에서 15분 동안 놓은 후, 파라필름(parafilm)으로 PCR 증폭된 밴드가 있는 액체 부분 50㎕를 수확하여 1.5ml의 멸균된 튜브에 담은 후 400㎕의 TE 버퍼(buffer)와 혼합하였다. 이 후 450㎕의 페놀:클로로포름 (24:1) 용액을 첨가하여 3분 동안 섞은 후 13,000rpm에서 7분 동안 원심분리하였다. 원심분리한 상등액 400㎕를 새로운 튜브에 넣은 후 44㎕의 3M 소디움아세테이트(Sodium acetate, pH 5.2)를 첨가하고 섞어주었으며, 1ml의 99% 에탄올을 첨가한 후 -20℃에서 15분간 두었다. 이 후 13,000rpm에서 15분 동안 원심분리한 후 액체 부분을 제거하고, 다시 70% 에탄올 500㎕를 혼합하여 13,000rpm에서 5분간 원심분리하여 순수한 PCR 산물을 얻었다.

[0050] 이와 같은 방법으로 순화된 PCR 산물의 염기서열결정(sequencing)을 하였으며 약 1,400개의 염기서열을 분석하여 NCBI에서 블라스트(blast)하여 분석하였다. 16S rDNA 염기서열(서열번호 1, Accession number = JX154556)을 분석한 결과 YJR92 균주는 슈도모나스 푸티다 균주 YJR92와 99%의 상동성을 보이는 것으로 나타났다(도 1 및 도 2).

[0051] 세균의 지방산 함량에 따른 세균 분류 및 동정을 하기 위하여, YJR92 세균의 지방산 (fatty acid methyl ester, FAME) 부분을 추출하여, MIDI 시스템(Microbial Identification System, Newark, DE, USA)을 이용한 가스크로마토그래피에 의해 동정하였다(도 3a 및 도 3b). YJR92의 지방산 (fatty acid methyl ester, FAME) 부분을 분석한 결과, C16:0 (30.6%), feature 3 (C16:1 ω7c and/or C16:1 ω6c) (20.2%), 및 feature 8 (C18:1 ω7c) (18.5%)로 나타나 슈도모나스 속 (genus Pseudomonas)에 속하는 것으로 확인되었다.

[0052] 그러므로 16S rRNA 분석, 및 세균의 지방산 분석 등을 통하여, 본 발명에 의한 YJR92 균주는 슈도모나스 푸티다 균주로 동정할 수 있다(도 1 ~ 도 3b).

[0053] **[실시예 3] YJR92 균주의 고추 역병에 대한 길항 효과 유근(radicle), 유묘(seedling), 및 성체(plant) 식물 검증**

[0054] 근권세균 YJR92 균주가 고추 유근(radicle)에서 고추 역병에 의한 감염율을 감소시키는 효과가 있는지를 평가하였다. 고추의 유근에서 고추 역병의 감염률 감소 효과를 평가하기 위하여, 고추 종자를 1% NaOCl에서 1분 30초 동안 표면 살균한 후, 살균 증류수로 5회 세척하였다. 이와 같이 표면 살균된 고추 종자를 살균된 필터페이퍼 위에 침종하여 28℃에서 3일 동안 배양하여 고추의 유근 형성을 유도하여 사용하였다. 이 유근 검증을 위하여 10개 종자를 3 반복하여 실험하였다.

[0055] 고추 역병균 파이토프토라 캡시시(*Phytophthora capsici*)는 V-8 juice agar 배지에서 3일 동안 배양하였으며, 3일 배양된 고추 역병균의 균사 가장자리를 코르크보러(corkborer)로 지름 0.5cm의 일정한 크기로 만든 후, 글루코오스가 0.02% 첨가된 WA(water agar)배지의 중앙에 접종하여 5일 동안 28℃에서 배양하였다.

[0056] YJR92 균주는 NA에서 48시간 동안 배양한 후 10mM $MgSO_4$ 버퍼(buffer)로 수확한 후 세균 현탁액을 만들었으며, 이 YJR92 균주의 세균현탁액에 표면 살균한 종자를 3시간 동안 침지하였다. 상기와 같이 세균 현탁액에 침지한 고추 종자를 WA에서 5일 동안 배양한 역병균의 균사 가장자리에 고추 종자의 유근의 끝 부분이 닿게 올려놓아 28℃에서 2~3일 동안 배양하였다.

[0057] 고추의 유근(radicle)에서 고추 역병에 대한 효과적인 감염률 감소를 보인 YJR92 균주가 순차적으로 고추 유묘(seedling)에서 고추역병 방제 효과가 있는지 검증하였다.

[0058] 이러한 고추 유묘 검증(seedling assay)을 위하여, YJR92 균주는 NA(Nutrient broth, Difco, USA) 배지에서 48시간 동안 28℃에서 배양하였고, 단일 균총을 NB(Nutrient broth, Difco, USA) 5ml에 전배양 한 후, 전배양한 YJR92 균주를 500ml의 NB에 접종하여 48시간 동안 28℃에서 160rpm으로 배양하였다. 배양된 YJR92 균주를 5000rpm에서 15분 동안 원심 분리하여, YJR92 균주의 세포를 수확한 후 10mM $MgSO_4$ 버퍼로 세균현탁액을 만들었다. 세균현탁액은 분광광도계로 흡광도를 측정하여 10mM $MgSO_4$ 버퍼로 A600에서 O.D=0.5 (약 10^8 cell/ml)의 농도로 맞추었다.

[0059] 고추 종자는 8립씩 3반복으로 TKS2:peat moss가 1.5:1 (v/v)로 혼합된 상토가 담긴 128구 트레이에 파종하였으며, YJR92 세균 현탁액을 상토 1g에 1ml의 농도로 처리하였다. 이때 대조구로는 10mM $MgSO_4$ 버퍼에 침지한 종자를 사용하였다. 파종한 고추는 16시간 광조건의 배양실에서 2주 동안 생육하였으며, 파종 2주 후 고추 역병균을 인위접종하였다.

[0060] 고추 역병균은 오트밀(oatmeal) 배지에서 7일 동안 28℃에서 배양되었으며, 이후 살균증류수 15ml을 관주한 후 24시간 동안 빛이 있는 조건에서 7일 동안 배양하였다. 그 후 고추 역병균의 주요 접종원인 유주포자를 형성하기 위하여 4℃에서 30분, 상온에서 30분 동안 처리한 후 거즈로 걸러서 유주포자만 수확하였다. 수확된 유주포자는 헤모사이토미터를 사용하여 12,000 유주포자/ml의 농도로 맞추었다.

[0061] 고추 역병균의 접종원인 유주포자를 2주 동안 생육한 고추 종자에 1cm 깊이로 접종하였으며, 균일한 병발생을 위하여 병접종 이후 병징이 발생할 때 동안 지속적인 토양 수분을 유지하였다.

[0062] 병접종후 4일 후 고추 유묘에서 발생하는 모잘록 증상을 기준으로 건전 식물에 대한 병발생율(%)을 평가하였다.

[0063] 고추 유근(radicle)과 유묘(seedling)에서 고추 역병에 대하여 현저한 병억제 효과를 가진 YJR92 균주가 5주된 고추 성체 식물에서 고추 역병에 대한 길항 효과가 있는지 평가하기 위하여 고추 성체 식물 검증(plant test)을 수행하였다. 고추 성체 식물 실험을 하기 위하여 고추 종자를 상토가 담긴 128구에 파종 한 후 3주 동안 16시간 광조건에서 배양하였으며, 3주된 고추 유묘를 지름 9cm의 포트에 파스퇴르 살균된 밭토양으로 이식하였다. 이식한 1주일 후에 상기에 명시된 방법대로 YJR92 균주의 세균 현탁액을 준비하여 25ml/포트의 농도로 관주처리하였으며, 대조구로는 10mM $MgSO_4$ 버퍼(buffer)를 사용하였다. 세균 현탁액을 처리한 1주일 이후에 위의 상기에 명시한 것과 같이 고추 역병균의 유주포자를 형성하였으며, 25유주포자/g 토양의 농도로 병접종하였다.

[0064] 병 접종한 이후 균일한 병발생을 위하여 토양 수분을 유지시켜주었으며, 약 4~5일 이후 병징이 발생하는 시점부터 병피해도(disease severity)로써 병을 평가하였다. 병피해도(disease severity)로 병평가하기 위하여 0 (건전한 식물)~5(죽은 식물)의 기준으로 병징이 발생한 시점으로부터 병피해도를 매일 평가하였으며, 15개의 식물을 2회 반복 실험하였다.

[0065] 고추 역병균이 자라면서 유근이 형성된 고추 종자에 침입하여 갈색의 병징을 야기한 것을 감염된 것으로 하여, 10개 종자에 대한 고추 역병에 감염된 종자의 비율로 감염율을 평가하였다. 그 결과 YJR92 균주는 고추 역병에 의한 유근 감염을 무처리 대조구가 96.67% 감염되었을 때 53.33%로 감염율이 감소하였으며, 유묘에서는 무처리 대조구가 87.50% 감염되었을 때, 53.87%로 감염율을 감소시켰다. 또한 성체식물 검정에서는 대조구가 3.20의 정도로 병이 발생하였을 때, 1.00 정도로 병 피해도를 감소시켰다 (표 2). 표 2는 길항세균 YJR92 균주에 의한 고추의 유근(radicle), 유묘(seedling), 성체식물(plant)에서 고추 역병균인 파이토프토라 캡시시(*Phytophthora capsici*)에 의한 감염 억제 효과 평가 결과를 나타낸 것이다.

표 2

[0066]

처리	유근 검정 (감염율, %)	유묘 검정 (병 발생율%)	성체식물 실험 (병 피해도, 0~5)
무처리	96.67 ± 2.11	87.50 ± 4.56	3.20 ± 0.20
YJR92	53.33 ± 4.22	53.87 ± 5.44	1.00 ± 0.15

[0067] **[실시예 3] YJR92 균주의 고추 역병과 탄저병에 대한 병억제 효과 포장재배 검증**

[0068] 길항세균 YJR92 균주가 고추 탄저병에 의한 병발생을 감소시키는 효과가 있는지 2007년에서 2009년 동안에 경기도 남양주시 덕소에 위치한 고려대학교 부속 농장의 비닐하우스 시설 재배 시설에서 병억제 효과를 검정하였다.

[0069] 시설재배 검정을 하기 위하여 YJR92 균주를 NA (nutrient agar, Difco, USA) 배지에서 48시간 동안 28℃에서 배양하였고, 단일 균총을 NB (nutrient broth, Difco, USA) 5ml에 24시간 동안 전배양 한 후, 전배양한 YJR92 균주를 500ml의 NB에 접종하여 48시간 동안 28℃에서 160rpm으로 배양하였다. 배양된 YJR92 균주를 5000rpm에서 15분 동안 원심 분리하여, YJR92 균주의 세포를 수확한 후 10mM $MgSO_4$ 버퍼로 세균현탁액을 만들었다. 세균현탁액은 분광광도계로 흡광도를 측정하여 10mM $MgSO_4$ 버퍼로 A600에서 O.D=0.5 (약 10^8 cell/ml)의 농도로 맞추었다. 2007년~2009년에 인위적으로 고추 역병을 발생시킨 포장에서 고추 정식시 YJR92 균주의 세균 현탁액에 고추 유묘를 담근 후 정식하여 재배 방법에 효과적으로 적용하여 실험하였다.

[0070] 이렇게 만들어진 세균 현탁액을 2007년 6월 1일, 2008년 6월 16일, 2009년 5월 14일에 고추 유묘를 세균 현탁액에 담군 후 포장에 정식하였다. 고추 역병균은 2007년 8월 13일, 2008년 8월 11일, 2009년 7월 22일에 인위접종하였다. 병 발생율(%)과 피해도는 접종한 식물에서 병징이 관찰된 후로 평가하였다.

[0071] 2007년~2009년에 인위접종한 덕소 포장에 전체적으로 병이 발생하였으며, 2007년, 2008년과 2009년도에서 무처리 대조구가 78.57%, 33.13%와 73.75%의 병이 발생하였을 때 YJR92 균주를 처리한 고추는 30.95%, 23.75%와 40.00%로 병이 대조구에 비하여 현저하게 감소하였다 (표 3). 표 3은 2007~2009년 YJR92 균주의 세균 현탁액 처리에 의한 고추 역병 병발생 포장 검증 결과를 나타낸다. 병 피해도는 2007년, 2008년과 2009년도에서 무처리 대조구가 1.62, 0.98와 2.76의 병이 발생하였을 때 YJR92 균주를 처리한 고추는 0.46, 0.68과 1.27로 병이 대조구에 비하여 감소하였다 (표 4). 표 4는 YJR92 균주에 의한 고추 역병 포장 검증에서 병피해도 감소효과를 나타낸다.

표 3

[0072]

처리구	병발생율(%)		
	2007년	2008년	2009년
무처리	78.57	33.13	73.75
메타락실(살균제)	33.33	20.00	45.00
YJR92	30.95	23.75	40.00

표 4

[0073]

처리구	병피해도(0~5)		
	2007년	2008년	2009년
무처리	1.62	0.98	2.76
메타락실(살균제)	0.48	0.71	1.46
YJR92	0.46	0.68	1.27

[0074] 고추 역병균에 대한 고추 침입율을 평가하기 위하여 2007년 9월 17일, 2008년 9월 10일, 2009년 9월 2일에 고추 뿌리를 샘플링하여 뿌리에 붙어있는 흙을 제거한 후 뿌리를 1cm 길이로 잘라 고추 역병균 선택배지인 pimaricin-ampicillin-rifampicin-pentachloronitrobenzene-hymexazol (PARPH) 배지에 올려놓고 배양하여 3~4일 후에 고추 역병균에 의한 뿌리 감염율을 평가하였다. 샘플당 감염된 고추 뿌리 조각/각 샘플당 고추 뿌리조각 x 100 으로 평가하였으며, 한 식물체에서 100개의 뿌리를 3반복(2007년), 혹은 4반복(2008~2009년)하여 실험하였다. 그 결과 길항세균 YJR92은 2007년~2009년에 무처리 대조구가 78.17%, 47.33%와 68.31% 뿌리 감염율을 나타낼 때, 각각 34.07%, 36.17%와 27.10%로 뿌리 감염율을 감소시켰다(표 5). 표 5는 2007~2009년 YJR92 균주의 세균 현탁액 관주처리에 의한 고추 역병의 고추 뿌리 감염율 조사 결과를 나타낸다.

표 5

[0075]

처리구	뿌리감염율 (%)		
	2007년	2008년	2009년

무처리	78.17	47.33	68.31
메타락실(살균제)	33.13	27.50	-
YJR92	34.07	36.17	27.10

[0076] 길항세균 YJR92 균주를 포장에 인위적으로 처리함으로써 토착 미생물에 영향을 주는지를 알아보기 위하여 근권 포장에 존재하는 총 세균과 곰팡이 수를 양적으로 평가하였다. 샘플링한 토양 10g을 100ml의 살균수에 현탁한 후 토양 현탁액을 만들어, 사이크로헥사마이드(cyclohexamide)가 50mg/L의 농도로 혼합된 TSA (Tryptic soy agar)배지에 도말하여 토양내 존재하고 있는 총 세균의 수를 평가하였으며, OAES 배지 (agar 20g, sucrose 5g, yeast extract 2g, $NaNO_3$ 1g, $MgSO_4$ $7H_2O$ 0.5g, KH_2PO_4 1g, Na propionate 1g, Oxgall 1g, streptomycin sulfate 50mg, chloramphenicol 50mg/L)에 도말하여 토양내 존재하고 있는 총 곰팡이의 수를 평가하였다. 그 결과 길항 세균 YJR92 균주는 무처리 대조구와 메타락실 처리와 비교하여 토착적으로 존재하고 있는 총 세균과 곰팡이의 수에 영향을 주지 않는 것을 확인하였다(표 6). 표 6은 2007~2009년 YJR92 균주의 세균 현탁액 관주처리에 의한 인위 병발생 포장에서의 토양 총 세균과 곰팡이 수를 나타낸다.

표 6

[0077]

처리	총 세균수 (Log_{10} CFU/g 토양 건물중)			총 곰팡이수 (Log_{10} CFU/g 토양 건물중)		
	2007년	2008년	2009년	2007년	2008년	2009년
무처리	6.39±0.02	7.70±0.11	7.99±0.16	3.11±0.04	4.15±0.04	4.64±0.06
메타락실(살균제)	6.38±0.04	7.72±0.16	7.77±0.12	3.18±0.04	4.18±0.08	4.71±0.17
YJR92	6.37±0.10	7.80±0.01	7.98±0.19	3.24±0.03	4.22±0.03	4.42±0.15

[0078] **[실시예 4] YJR92 균주의 고추 탄저병에 대한 병억제 효과 시설재배 검증**

[0079] 길항 세균 YJR92은 시설재배 검증에서와 같이 준비하였으며, 2008년에 5반복, 2009년에 4반복으로 각각 실험하였다. 고추 식물은 2008년 10주, 2009년에 11주된 유묘를 정식하였으며, 세균 현탁액을 2008년 4월 19일, 2009년 4월 18일에 식물당 100ml씩 관주처리하여 하우스로 정식되었다. 고추 열매에 자연적으로 발생한 탄저병에 대한 길항세균 YJR92 균주의 병억제 효과를 평가하였다. 즉 표 7은 길항세균 YJR92 균주에 의한 고추 탄저병에 대한 병억제 효과를 시설재배에서 검정한 결과를 나타낸다(2008~2009년, 경기도 남양주시 덕소 고려대학교 부속농장).

표 7

[0080]

연도와 처리	병발생율 (%)			
	푸른 고추		붉은 고추	
	1차	2차	1차	2차
2008				
무처리	0.48 ± 0.05	1.97 ± 1.33	6.90 ± 1.78	27.56 ± 4.90
YJR92	0.81 ± 0.42	2.68 ± 1.63	5.81 ± 1.41	19.80 ± 2.50
2009				
무처리	2.72 ± 0.28	5.28 ± 1.32	3.92 ± 0.78	14.59 ± 2.37
YJR92	2.37 ± 1.11	10.45 ± 1.48	2.66 ± 1.00	6.75 ± 1.66

[0081] 표 7에 나타난 바와 같이, YJR92을 처리한 경우 시설재배 고추에서는 2008년에 붉은고추 2차 평가에서 무처리 대조구에 비하여 탄저병의 발생이 감소하였다. 2008년에 붉은 고추 2차 평가에서 무처리 대조구가 14.59% 병이 발생하였을 때, YJR92은 6.75%로 방제율 53.7%로 탄저병을 감소시켰다 (표 7).

[0082] **[실시예 5] 길항 근권세균 YJR92의 식물생장촉진에 의한 고추 수량증가**

[0083] 길항세균 YJR92에 의하여 식물 생장이 촉진됨으로써 고추 수량이 증가하는지를 2007년 포장 실험과 시설재배 실험을 통하여 확인하였다. 포장실험에서는 2007년 8월 6일과 13일, 9월 8일과 22일에 평가하였으며, 두 번째 수확 후에 역병균을 접종하였다. YJR92 균주는 2007년 포장 검정 시 접종 후 1,2차 고추 수확시 고추수를 증가시

켰으며, 접종 후 2차 수확시 고추 열매 생체중을 무처리 대조구에 비하여 증가시켰다(표 8). 무처리 대조구가 접종 후 2차 수확 시 고추 수 75개를 생산할 때 YJR92을 처리할 경우에는 137개를 생산하였고, 무처리 대조구가 0.53kg 수확될 때, YJR92 균주를 처리함으로써 수확량이 0.98kg으로 증가하였다(표 8). 표 8은 2007년 포장 검정 시 고추 수량 평가를 나타낸다.

표 8

[0084]

처리	고추 수				고추 열매 생체중 (kg)			
	접종 전		접종 후		접종 전		접종 후	
	1차 수확	2차 수확	1차 수확	2차 수확	1차 수확	2차 수확	1차 수확	2차 수확
무처리	144 ± 21	56 ± 6	57 ±13	75 ± 8	1.91 ±0.25	0.41±0.04	0.93±0.27	0.53±0.06
메타락실 (살균제)	104 ± 12	86 ± 17	149 ±9	169 ± 28	1.40 ±0.19	0.69±0.15	1.28±0.06	1.14±0.17
YJR92	84 ± 16	36 ± 12	98 ± 6	137 ± 20	1.07 ±0.24	0.23±0.07	0.75±0.37	0.98±0.07

[0085] 고추 시설재배시 수량평가는 2008년 8월 2일, 25일에 2009년 7월 29일, 8월 19일에 각각 2회 수확 2~5일 전 푸른 고추와 붉은 고추 수를 평가하였으며, 고추 수량은 붉은 고추만 2008년 8월 4일, 27일, 2009년 8월 3일과 21일에 수확하여 측정하였다. 2008년에는 각 15개 식물로 5반복을 하였으며, 2009년에는 20개 식물로 4반복하여 평균으로 평가하였다.

[0086] 무처리 대조구에 비하여 YJR92 균주를 처리함으로써 붉은 고추 1차 수확량이 증가하였으며, 2008년 무처리 대조구가 1차 수확시 붉은 고추 4.08kg 생산할 때, YJR92 균주를 처리함으로써 5.24kg으로 수확량이 증가하였으며, 2009년에는 무처리 대조구가 1차 수확시 붉은 고추 2.70kg 생산할 때, YJR92 균주 처리에 의해 4.03kg을 생산하였다(표 9). 그러므로, YJR92 균주는 고추 고추의 생육을 촉진함으로써 고추 수량을 증진시키는 효과도 있다. 표 9는 시설재배시 2008~2009년 길항 세균 YJR92 균주에 의한 고추 수량 증가 결과를 나타낸다.

표 9

[0087]

연도와 처리	고추 수				고추 열매 생체중 (g)	
	푸른고추		붉은고추			
	1차 수확	2차 수확	1차 수확	2차 수확	1차 수확	2차 수확
2008년						
무처리	195±19	245±10	243±15	201±16	4.08±0.20	3.96±0.20
YJR92	213±20	274±17	237±26	226±18	5.24±0.27	3.70±0.34
2009년						
무처리	204±21	86±10	260±20	160±19	2.70±0.06	2.10±0.42
YJR92	243±63	125±23	250±15	264±61	4.03±0.53	3.48±0.66

수탁번호

[0088]

기탁기관명 : 농업생명공학연구원

수탁번호 : KACC91910P

수탁일자 : 20131129

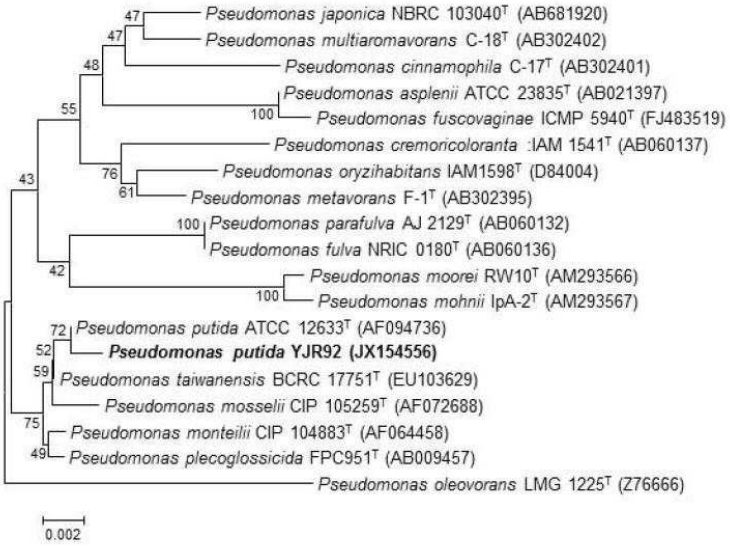
도면

도면1

YJR92

CTACACATGCAAGTCGAGCGGATGACGGGAGCTTGCTCCTTGATTCAGCGGCGGACGGGTGAGTAATGCCTAGGAATCTG
CCTGGTAGTGGGGGACAACGTTTCGAAAGGAACGCTAATACCGCATACGTCCTACGGGAGAAAGCAGGGGACCTTCGGG
CCTTGCGCTATCAGATGAGCCTAGGTCGGATTAGCTAGTTGGTGAGGTAATGGCTCACCAAGGCGACGATCCGTAACTGGT
CTGAGAGGATGATCAGTCACACTGGAACTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACA
ATGGGCGAAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGTCTTCGGATTGTAAAGCACTTTAAGTTGGGAGGAAG
GGCAGTAAGTTAATACCTTGCTGTTTTGACGTTACCGACAGAATAAGCACCGGCTAACTCTGTGCCAGCAGCCGCGGTAAT
ACAGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCGCGTAGGTGGTTCGTTAAGTTGGATGTGAAAGCCCC
GGGCTCAACCTGGGAACTGCATCCAAAACTGGCGAGCTAGAGTACGGTAGAGGGTGGTGGAATTTCCTGTGTAGCGGTGA
AATGCGTAGATATAGGAAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACCACCTGGACTGATACTGACACTGAGGTGCGAAAGCGTG
GGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTCAACTAGCCGTTGGAATCCTTGAGATTTTAGT
GGCGCAGCTAACGCATTAAGTTGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAAACTCAAATGAATTGACGGGGGCCCG
CACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTTGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGCCTTGACATGCAGAGAACTTTCCAG
AGATGGATTGGTGCCTTCGGGAACTCTGACACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAG
TCCCGTAACGAGCGCAACCCTTGTCCTTAGTTACCAGCACGTTATGGTGGGCACTCTAAGGAGACTGCCGGTGACAAACCG
GAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGGCCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGTCGGTACAGAGG
GTTGCCAAGCCGCGAGGTGGAGCTAATCTCACAAAACCGATCGTAGTCCGGATCGCAGTCTG

도면2



도면3a

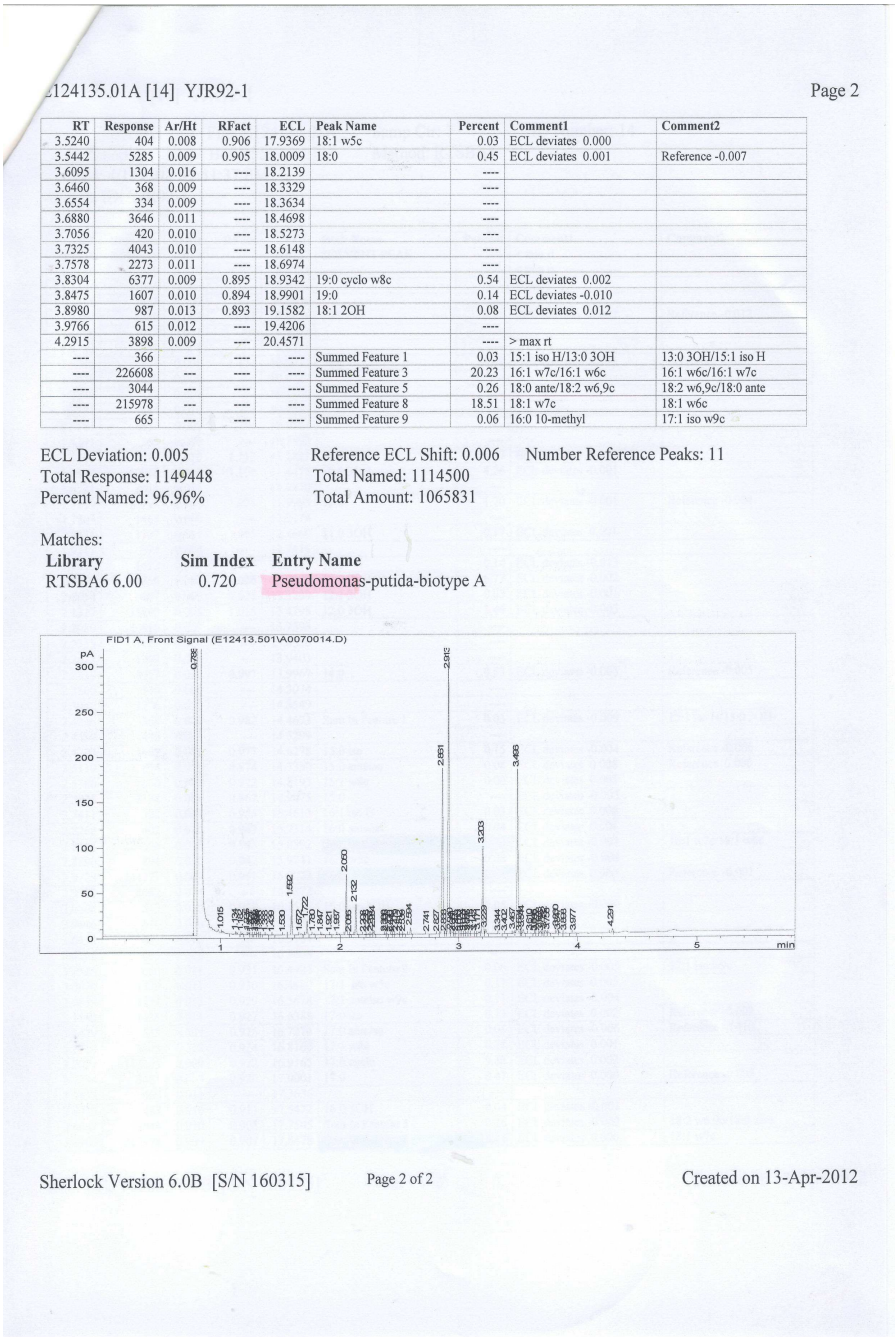
E124135.01A [14] YJR92-1 Page 1

Volume: DATA1 File: E124135.01A Samp Ctr: 7 ID Number: 14
Type: Samp Bottle: 5 Method: RTSBA6
Created: 4/13/2012 12:51:37 PM
Sample ID: YJR92-1

RT	Response	Ar/Ht	RFact	ECL	Peak Name	Percent	Comment1	Comment2
0.7875	8.046E+8	0.012	----	6.6757	SOLVENT PEAK	----	< min rt	
1.0149	2269	0.010	----	8.1755		----	< min rt	
1.1344	1945	0.008	----	8.9562		----	< min rt	
1.1818	1455	0.009	----	9.2659		----		
1.2350	2240	0.008	1.195	9.6136	10:0 iso	0.25	ECL deviates -0.002	Reference -0.012
1.2566	912	0.011	----	9.7551		----		
1.2710	389	0.008	----	9.8495		----		
1.2946	834	0.008	1.174	10.0033	10:0	0.09	ECL deviates 0.003	Reference -0.005
1.3078	1630	0.009	----	10.0727		----		
1.3240	482	0.009	----	10.1560		----		
1.3381	684	0.010	----	10.2285		----		
1.3881	677	0.009	----	10.4861		----		
1.4391	563	0.009	----	10.7493		----		
1.5302	659	0.010	1.113	11.1821	10:0 2OH	0.07	ECL deviates 0.005	
1.5924	40948	0.008	1.100	11.4471	10:0 3OH	4.26	ECL deviates -0.001	
1.6721	2011	0.011	----	11.7870		----		
1.7219	16728	0.008	1.075	11.9993	12:0	1.70	ECL deviates -0.001	Reference -0.004
1.7804	1464	0.010	----	12.2174		----		
1.8471	1707	0.011	1.055	12.4660	11:0 3OH	0.17	ECL deviates 0.001	
1.9211	394	0.008	----	12.7416		----		
1.9869	1422	0.010	1.034	12.9868	13:0	0.14	ECL deviates -0.013	
2.0499	69850	0.008	1.026	13.2022	12:0 2OH	6.77	ECL deviates -0.002	
2.0858	497	0.009	1.021	13.3239	12:1 3OH	0.05	ECL deviates -0.001	
2.1317	35840	0.008	1.015	13.4798	12:0 3OH	3.44	ECL deviates -0.003	
2.2080	415	0.009	----	13.7393		----		
2.2355	1127	0.010	----	13.8326		----		
2.2672	1242	0.009	----	13.9403		----		
2.2838	5617	0.009	0.997	13.9967	14:0	0.53	ECL deviates -0.003	Reference -0.005
2.3800	540	0.009	----	14.3074		----		
2.3947	1276	0.010	----	14.3549		----		
2.4296	366	0.009	0.982	14.4673	Sum In Feature 1	0.03	ECL deviates -0.009	15:1 iso H/13:0 3OH
2.4489	440	0.011	----	14.5299		----		
2.4793	1602	0.011	0.977	14.6278	15:0 iso	0.15	ECL deviates -0.004	Reference -0.006
2.5119	874	0.010	0.974	14.7330	15:0 anteiso	0.08	ECL deviates 0.008	Reference 0.006
2.5386	680	0.011	0.972	14.8193	15:1 w8c	0.06	ECL deviates 0.005	
2.5938	8134	0.009	0.967	14.9975	15:0	----	ECL deviates -0.003	
2.7411	322	0.009	0.954	15.4613	16:1 iso G	0.03	ECL deviates 0.006	
2.8268	402	0.010	0.947	15.7314	16:0 anteiso	0.04	ECL deviates 0.004	
2.8611	226608	0.010	0.945	15.8392	Sum In Feature 3	20.23	ECL deviates -0.001	16:1 w7c/16:1 w6c
2.8880	894	0.010	0.942	15.9241	16:1 w5c	0.08	ECL deviates -0.004	
2.9128	344271	0.009	0.941	16.0022	16:0	30.61	ECL deviates 0.002	Reference -0.001
2.9398	4082	0.014	----	16.0872		----		
2.9608	513	0.010	0.937	16.1534	15:0 iso 3OH	0.05	ECL deviates -0.009	
2.9846	616	0.016	----	16.2283		----		
3.0132	451	0.010	----	16.3184		----		
3.0266	635	0.013	----	16.3608		----		
3.0525	665	0.011	0.931	16.4424	Sum In Feature 9	0.06	ECL deviates -0.005	17:1 iso w9c
3.0670	1479	0.011	0.930	16.4880	17:1 iso w5c	0.13	ECL deviates 0.005	
3.0859	1254	0.012	0.929	16.5478	17:1 anteiso w9c	0.11	ECL deviates -0.004	
3.1148	1436	0.014	0.927	16.6388	17:0 iso	0.13	ECL deviates 0.002	Reference -0.002
3.1429	549	0.009	0.925	16.7274	17:0 anteiso	0.05	ECL deviates -0.006	Reference -0.010
3.1710	3245	0.012	0.924	16.8160	17:1 w8c	0.28	ECL deviates 0.001	
3.2029	113365	0.009	0.922	16.9165	17:0 cyclo	9.88	ECL deviates 0.002	
3.2294	5461	0.009	0.920	17.0001	17:0	0.47	ECL deviates 0.000	Reference -0.005
3.3438	460	0.011	----	17.3636		----		
3.4015	488	0.010	0.911	17.5472	16:0 3OH	0.04	ECL deviates -0.001	
3.4667	3044	0.010	0.908	17.7545	Sum In Feature 5	0.26	ECL deviates -0.002	18:2 w6,9c/18:0 ante
3.4960	215978	0.009	0.907	17.8478	Sum In Feature 8	18.51	ECL deviates 0.000	18:1 w7c

Sherlock Version 6.0B [S/N 160315] Page 1 of 2 Created on 13-Apr-2012

도면3b



E124135.01A [14] YJR92-1 Page 2

RT	Response	Ar/Ht	RFact	ECL	Peak Name	Percent	Comment1	Comment2
3.5240	404	0.008	0.906	17.9369	18:1 w5c	0.03	ECL deviates 0.000	
3.5442	5285	0.009	0.905	18.0009	18:0	0.45	ECL deviates 0.001	Reference -0.007
3.6095	1304	0.016	----	18.2139		----		
3.6460	368	0.009	----	18.3329		----		
3.6554	334	0.009	----	18.3634		----		
3.6880	3646	0.011	----	18.4698		----		
3.7056	420	0.010	----	18.5273		----		
3.7325	4043	0.010	----	18.6148		----		
3.7578	2273	0.011	----	18.6974		----		
3.8304	6377	0.009	0.895	18.9342	19:0 cyclo w8c	0.54	ECL deviates 0.002	
3.8475	1607	0.010	0.894	18.9901	19:0	0.14	ECL deviates -0.010	
3.8980	987	0.013	0.893	19.1582	18:1 2OH	0.08	ECL deviates 0.012	
3.9766	615	0.012	----	19.4206		----		
4.2915	3898	0.009	----	20.4571		----	> max rt	
----	366	---	----	----	Summed Feature 1	0.03	15:1 iso H/13:0 3OH	13:0 3OH/15:1 iso H
----	226608	---	----	----	Summed Feature 3	20.23	16:1 w7c/16:1 w6c	16:1 w6c/16:1 w7c
----	3044	---	----	----	Summed Feature 5	0.26	18:0 ante/18:2 w6,9c	18:2 w6,9c/18:0 ante
----	215978	---	----	----	Summed Feature 8	18.51	18:1 w7c	18:1 w6c
----	665	---	----	----	Summed Feature 9	0.06	16:0 10-methyl	17:1 iso w9c

ECL Deviation: 0.005 Reference ECL Shift: 0.006 Number Reference Peaks: 11
Total Response: 1149448 Total Named: 1114500
Percent Named: 96.96% Total Amount: 1065831

Matches:

Library	Sim Index	Entry Name
RTSBA6 6.00	0.720	Pseudomonas-putida-biotype A

Sherlock Version 6.0B [S/N 160315] Page 2 of 2 Created on 13-Apr-2012

서 열 목 록

<110> KOREA UNIVERSITY RESEARCH AND BUSINESS FOUNDATION

<120> Composition comprising Pseudomonas putida strain YJR92 for controlling plant diseases and plant-growth promiting effect

<130> P11-131125-02

<160> 3

<170> KopatentIn 2.0

<210> 1

<211> 1263

<212> DNA

<213> Pseudomonas putida strain YJR92

<400> 1

ctacacatgc aagtcgagcg gatgacggga gcttgctcct tgattcagcg gcggacgggt 60

gagtaatgcc taggaatctg cctggtagtg ggggacaacg tttcgaaagg aacgctaata 120

ccgcatacgt cctacgggag aaagcagggg accttcgggc cttgcgctat cagatgagcc 180

taggtcggat tagctagttg gtgaggtaat ggctcaccaa ggcgacgatc cgtaactggt 240

ctgagaggat gatcagtcac actggaactg agacacggtc cagactccta cgggaggcag 300

cagtggggaa tattggacaa tgggcgaaag cctgatccag ccatgccgcg tgtgtgaaga 360

aggtcttcgg attgtaaagc actttaagtt gggaggaagg gcagtaagtt aataccttgc 420

tgttttgacg ttaccgacag aataagcacc ggctaactct gtgccagcag ccgcggtaat 480

acagagggtg caagcgttaa tcggaattac tgggcgtaaa gcgcgcgtag gtggttcgtt 540

aagttggatg tgaaagcccc gggctcaacc tgggaactgc atccaaaact ggcgagctag 600

agtacggtag agggtggtgg aatttcctgt gtagcggtga aatgcgtaga tataggaagg 660

aacaccagtg gcgaaggcga ccacctggac tgatactgac actgaggtgc gaaagcgtgg 720

ggagcaaaca ggattagata ccctggtagt ccacgccgta aacgatgtca actagccgtt 780

ggaatccttg agattttagt ggcgcagcta acgcattaag ttgaccgcct ggggagtacg 840

gccgcaaggt taaaactcaa atgaattgac gggggcccgc acaagcggtg gagcatgtgg 900

tttaatttga agcaacgcga agaaccttac caggccttga catgcagaga actttccaga 960

gatggattgg tgccttcggg aactctgaca caggtgctgc atggctgtcg tcagctcgtg 1020

tcgtgagatg ttgggttaag tcccgtaacg agcgcaaccc ttgtccttag ttaccagcac 1080

gttatggtgg gcactctaag gagactgccg gtgacaaacc ggaggaaggt ggggatgacg 1140

tcaagtcatc atggcccttа cggcctgggc tacacacgtg ctacaatggt cggtacagag 1200

ggttgccaag ccgcgaggtg gagctaatct cacaaaaccg atcgtagtcc ggatcgcagt 1260

ctg 1263

<210> 2

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> PCR PRIMER

<400> 2

agagtttvat cctggg 16

<210> 3

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> PCR PRIMER

<400> 3

acggctacct tgttacgact t 21