



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2011-0119032
(43) 공개일자 2011년11월02일

(51) Int. Cl.

C12Q 1/24 (2006.01) *C12M 1/12* (2006.01)

C12N 1/00 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2010-0038498

(22) 출원일자 2010년04월26일

심사청구일자 2010년04월26일

(71) 출원인

충남대학교산학협력단

대전 유성구 궁동 220 충남대학교

(72) 발명자

김홍기

충청남도 공주시 교동 대우아파트 104-502호

최진수

충청남도 공주시 신관동 22-50

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

박창희, 김종관, 권오식

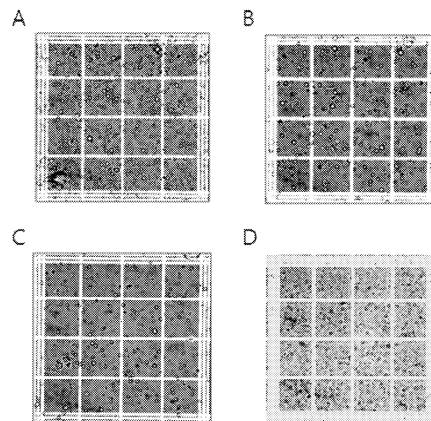
전체 청구항 수 : 총 7 항

(54) 뿌리혹 병균의 휴면포자 분리방법 및 이를 이용한 대량증식 방법

(57) 요약

본 발명은 뿌리혹 병균의 휴면포자 분리방법 및 이를 이용한 대량증식 방법에 관한 것으로, 상기 분리방법으로 분리된 휴면포자는 토양 잔여물 및 식물체 조직이 제거됨에 따라 접종 균주의 대량증식에 대한 근본적인 문제를 해결할 수 있어 뿌리혹 병에 대한 연구를 위한 분자생물학적 연구에 크게 기여할 것이다.

대표도 - 도2



(72) 발명자

송정영

대전광역시 중구 옥계동 35-6

임용표

대전광역시 유성구 지족동 894-5 SK허브아파트 914호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 607003053SB230

부처명 응용생물화학식품학부

연구관리전문기관

연구사업명 배추분자마커연구사업단

연구과제명 배추 뿌리혹병 저항성 마커 개발

기여율

주관기관 농림기술관리센터

연구기간 2007년 8월 1일~2012년 7월 31일

특허청구의 범위

청구항 1

- 1) 세척된 뿌리혹 병균에 감염된 식물체 또는 토양을 전처리하는 단계;
 - 2) 상기 전처리 된 식물체 또는 토양을 먼, 건, 레이온 또는 합성섬유로 짠 얇고 울이 생긴 식물로 불순물을 제거하여 현탁액을 수득하는 단계;
 - 3) 상기 수득된 현탁액을 6 내지 10 μm 의 셀룰로오스 필터로 1차 분리 후, 0.5 내지 2.0 μm 의 셀룰로오스 필터로 순차적으로 분리하는 2차 분리단계; 및
 - 4) 상기 2차 분리된 현탁액을 원심분리 후 펠릿을 수득하는 단계;
- 를 포함하는 뿌리혹 병균에 감염된 식물체 또는 토양으로부터 휴면포자의 분리방법.

청구항 2

제 1항에 있어서,

상기 3) 단계는 6 내지 10 μm 의 셀룰로오스 필터의 1차 분리시 진공펌프로 압력을 가하여 진행하는 것을 특징으로 하는 뿌리혹 병균에 감염된 식물체 또는 토양으로부터 휴면포자의 분리방법.

청구항 3

제 1항에 있어서,

상기 1) 단계는 감염된 식물체 또는 토양을 13,000 내지 15,000 rpm으로 균질화하는 것을 특징으로 하는 뿌리혹 병균에 감염된 식물체 또는 토양으로부터 휴면포자의 분리방법.

청구항 4

제 1항에 있어서,

상기 2) 단계는 거즈를 이용하여 불순물을 제거하는 것을 특징으로 하는 뿌리혹 병균에 감염된 식물체 또는 토양으로부터 휴면포자의 분리방법.

청구항 5

제 1항에 있어서,

상기 4) 단계는 3,000 내지 5,000 rpm으로 15 내지 30분간 원심분리하는 것을 특징으로 하는 뿌리혹 병균에 감염된 식물체 또는 토양으로부터 휴면포자의 분리방법.

청구항 6

제 1항 내지 제 5항에서 선택되는 어느 한 항에 있어서,

상기 뿌리혹 병균은 플라스모디오포라 브라시케(*Plasmodiophora brassicae*)인 것을 특징으로 하는 뿌리혹 병균에 감염된 식물체 또는 토양으로부터 휴면포자의 분리방법.

청구항 7

제 1항 내지 제 5항에서 선택되는 어느 한 항의 휴면포자의 분리방법으로 분리된 뿌리혹 병균의 휴면포자에 옥신을 처리하여 증식시키는 뿌리혹 병균의 휴면포자 대량증식 방법.

명세서

기술분야

본 발명은 뿌리혹 병균의 휴면포자 분리방법 및 이를 이용한 대량증식 방법에 관한 것이다.

[0001]

배경 기술

- [0002] 배추는 경제적 측면에서 우리나라 4대 채소작물 중의 하나로 국내 재배면적은 약 3만 5천 ha에 달하며, 이는 전체 채소 재배면적 중 약 11.3 %를 차지하고 있으며, 생산량은 약 230만 톤으로 시장 규모 또한 약 1조원에 달하는 것으로 추정되고 있다.
- [0003] 이와 같이 소비량이 매우 많고 중요한 작물인 배추에 1990년대 이후 뿌리혹 병(무사마귀병) 발생이 급격히 증가하여 전국적으로 큰 피해를 주고 있으며, 그 대상 기주도 배추는 물론 무, 양배추, 순무, 케일, 갓, 브로콜리, 애기장대, 냉이, 비트, 한련화 및 파파야 등으로 다양하며, 상기 뿌리혹 병의 원인균 역시 토양전염성 병원균으로서 토양 내에서 최고 15년까지도 생존이 가능한 것으로 알려져 있어 초기 진단 및 예방이 어려운 것이 현실이다.
- [0004] 또한, 상기 뿌리혹 병균은 순환물 기생체로서 인공 배양이 불가능하며, 포자의 크기가 매우 작고($3.8\mu\text{m}$), 토양 및 식물체 내에서 존재하기 때문에 다른 균들과 달리 이 균의 순수분리는 매우 어려운 균으로서, 순수분리 시 얻어지는 포자의 양이 적기 때문에 이로부터 얻어지는 DNA량 또한 매우 적어 분자생물학적 연구에 어려움이 있어 뿌리혹 병균에 대한 연구가 미흡한 실정이다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0005] 이에 본 발명자는 뿌리혹 병에 대한 근본적인 문제를 해결하기 위하여 순수한 뿌리혹 병균의 휴면포자 분리 및 상기 휴면포자의 대량 배양방법을 발견하고, 본 발명을 완성했다.
- [0006] 본 발명의 목적은 뿌리혹 병균에 감염된 식물체 또는 토양으로부터 순수한 휴면포자를 수득할 수 있는 휴면포자의 분리방법을 제공하고자 한다.
- [0007] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 분리방법으로 분리된 휴면포자를 이용한 뿌리혹 병균의 휴면포자 대량증식 방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

- [0008] 상기의 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 뿌리혹 병균에 감염된 식물체 또는 토양으로부터 순수한 휴면포자를 수득할 수 있는 휴면포자의 분리방법을 제공한다.
- [0009] 본 발명은 상기의 분리방법으로 분리된 휴면포자를 이용한 뿌리혹 병균의 휴면포자 대량증식 방법을 제공한다.
- [0010] 이하 첨부한 도면들을 참조하여 본 발명의 제조방법을 상세히 설명한다. 다음에 소개되는 도면들은 당업자에게 본 발명의 사상이 충분히 전달될 수 있도록 하기 위해 예로서 제공되는 것이며 과장되어 도시될 수 있다.
- [0011] 이때, 사용되는 기술 용어 및 과학 용어에 있어서 다른 정의가 없다면, 이 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자가 통상적으로 이해하고 있는 의미를 가지며, 하기의 설명 및 첨부 도면에서 본 발명의 요지를 불필요하게 흐릴 수 있는 공지 기능 및 구성에 대한 설명은 생략한다.
- [0012] 이하 본 발명을 상세히 설명한다.
- [0013] 본 발명은
- [0014] 1) 세척된 뿌리혹 병균에 감염된 식물체 또는 토양을 전처리하는 단계;
- [0015] 2) 상기 전처리 된 식물체 또는 토양을 면, 건, 레이온 또는 합성섬유로 짠 얇고 울이 성긴 직물로 불순물을 제거하여 현탁액을 수득하는 단계;
- [0016] 3) 상기 수득된 현탁액을 6 내지 $10\mu\text{m}$ 의 셀룰로오스 필터로 1차 분리 후, 0.5 내지 $2.0\mu\text{m}$ 의 셀룰로오스 필터로 순차적으로 분리하는 2차 분리단계; 및
- [0017] 4) 상기 2차 분리된 현탁액을 원심분리 후 펠릿을 수득하는 단계;
- [0018] 를 포함하는 뿌리혹 병균에 감염된 식물체 또는 토양으로부터 휴면포자의 분리방법을 제공한다.
- [0019] 본 발명의 휴면포자의 분리방법은 면, 건, 레이온 또는 합성섬유로 짠 얇고 울이 성긴 직물로 불순물을 제거하

여 현탁액을 수득하는 단계; 및 상기 수득된 현탁액을 6 내지 10 μm 의 셀룰로오스 필터로 1차 분리 후, 0.5 내지 2.0 μm 의 셀룰로오스 필터로 순차적으로 분리하는 2차 분리단계 모두를 순차적으로 진행하는 것을 특징으로 한다.

- [0020] 또한 상기 6 내지 10 μm 의 셀룰로오스 필터의 1차 분리시 진공펌프로 압력을 가하여 진행하는 것을 특징으로 한다.
- [0021] 본 발명의 휴면포자의 분리방법은 플라스모디오포라 브라시케(*Plasmodiophora brassicae*)으로부터 감염된 뿌리혹 병인 것을 특징으로 한다.
- [0022] 본 발명에 있어서, 상기 1) 단계는 감염된 식물체 또는 토양을 13,000 내지 15,000 rpm으로 균질화하는 것으로, 상기 균질화는 뿌리조직 내 플라스모디오포라 브라시케(*Plasmodiophora brassicae*) 균주의 휴면포자를 나출시키기 위한 것이다.
- [0023] 본 발명에 있어서, 상기 2) 단계의 불순물 제거는 먼, 견, 레이온 또는 합성섬유로 짠 얇고 울이 성긴 직물을 이용하는 것을 특징으로 한다. 상기 이 바람직하며, 보다 바람직하게는 거즈를 이용하여 불순물을 제거하는 것이 효과적이다.
- [0024] 또한 상기 거즈는 8겹의 거즈를 이용하는 것이 바람직하며, 이는 불순물을 제거한 후 순수한 휴면포자를 수득하기 위하여 가장 효과적인 입자경을 가지는 것을 확인하였다.
- [0025] 본 발명에 있어서 상기 3) 단계는 6 내지 10 μm 의 셀룰로오스 필터로 1차 분리 후, 0.5 내지 2.0 μm 의 셀룰로오스 필터로 순차적으로 분리하는 2차 분리단계를 진행하는 것으로, 상기 6 내지 10 μm 의 셀룰로오스 필터의 1차 분리시 진공펌프로 압력을 가하여 진행하는 것을 특징으로 한다.
- [0026] 상기 불순물을 제거 후 수득되는 현탁액을 분리하는 6 내지 10 μm 의 셀룰로오스 필터로 1차 분리한 다음, 0.5 내지 2.0 μm 의 셀룰로오스 필터로 2차 분리하는 단계는 순차적으로 진행하는 것은 본 발명에서 중요한 의미를 가진다.
- [0027] 상기 단계를 통해 토양의 잔여물 및 식물체 조직이 대부분이 제거된 순수한 휴면포자를 수득할 수 있으며, 이는 기존의 휴면포자의 순수분리방법에 비하여 보다 단순하고 작업시간 역시 짧은 장점이 있다. 도 1 및 2를 참조한다.
- [0028] 본 발명에 있어서, 상기 4) 단계는 3,000 내지 5,000 rpm으로 15 내지 30분간 원심분리하여 상층액을 제거하고 펠릿을 수득한다. 상기 수득된 펠릿은 이물질이 제거된 순수한 휴면포자인 것으로, 상기 펠릿에 증류수를 첨가하여 동일한 rpm으로 세척하는 단계를 더 포함하여 최종적으로 순수한 휴면포자를 수득한다.
- [0029] 본 발명에 있어서, 상기 뿌리혹 병균은 플라스모디오포라 브라시케(*Plasmodiophora brassicae*)인 것을 특징으로 한다.
- [0030] 본 발명은 상기 휴면포자의 분리방법으로 분리된 뿌리혹 병균의 휴면포자에 옥신을 처리하여 증식시키는 뿌리혹 병균의 휴면포자 대량증식 방법을 제공한다.
- [0031] 상기 휴면포자의 대량증식 방법은 옥신을 처리하는 것을 특징으로 하며, 보다 상세하게는 식물 성장조절물질인 옥신 또는 에틸렌을 처리하여 본 발명에 따른 휴면포자의 분리방법으로 분리된 뿌리혹 병균의 휴면포자의 증식을 확인하였다.
- [0032] 그 결과 에틸렌 처리구간에서는 포자수가 1×10^6 내지 1×10^7 spores/ml 정도로 무처리에 비해 큰 차이를 보이지 않았으나, 옥신 처리 구간에서는 10^{-7} , 10^{-8} 희석 처리구에서 포자수가 7×10^7 spores/ml로 크게 증가되어 휴면포자의 대량증식에 효과적인 것을 확인할 수 있었다.

발명의 효과

- [0033] 본 발명에 따른 휴면포자의 분리방법은 토양 및 식물체 내에서 존재하기 때문에 순수분리가 어려웠던 플라스모디오포라 브라시케(*Plasmodiophora brassicae*) 균의 휴면포자를 보다 효율적인 공정으로 순수하게 분리할 수 있는 장점이 있다.
- [0034] 또한, 본 발명에 따른 휴면포자의 분리방법으로 분리된 휴면포자는 토양 잔여물 및 식물체 조직이 제거됨에 따라 접종 균주의 대량증식에 대한 근본적인 문제를 해결할 수 있어 뿌리혹 병에 대한 연구를 위한 분자생물학적

연구에 크게 기여할 것이다.

도면의 간단한 설명

- [0035] 도 1은 본 발명에 따른 휴면포자의 분리방법에 있어서, 셀룰로오스 필터의 사용 여부에 따른 휴면포자의 순수도를 형광현미경으로 비교한 결과이고,
- (A: 사용 전, B: 사용 후)
- 도 2는 다양한 분리방법으로 분리된 휴면포자의 순수도를 형광현미경으로 비교한 결과며,
- (A: 거즈, B: 수크로오스, C: 거즈+수크로오스, D: 거즈+셀룰로오스 필터)
- 도 3은 다양한 분리방법으로 분리된 휴면포자에 대한 PCR을 이용한 ITS 유전자의 증폭결과를 보여주는 것이다.
- (1: 수크로오스, 2: 거즈+셀룰로오스 필터, 3: 거즈+수크로오스, D: 거즈)

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0036] 이하, 하기 실시예에 의하여 본 발명을 더욱 상세하게 설명하고자 한다. 하지만, 본 발명은 하기 실시예에 의해 한정되는 것은 아니며, 본 발명의 사상과 범위 내에서 여러 가지 변형 또는 수정할 수 있음은 이 분야에서 당업자에게는 명백한 것이다.
- [0037] **[실시예 1] 순수한 휴면포자의 분리**
- [0038] 공시균주로 사용된 배추뿌리혹병균(*Plasmodiophora brassicae*)은 제주도를 제외한 전국 8개도에서 약 100여 곳의 배추 재배 포장으로부터 500여개의 뿌리혹을 채집하였으며, 상기 채집한 뿌리혹을 흐르는 물로 수차례 씻어내어 표면에 남아 있는 토양입자와 불순물을 최대한 제거하였다.
- [0039] 상기 불순물이 제거된 뿌리 혹을 멸균된 메스와 가위를 이용하여 잘게 잘라낸 다음, 굵은 시험관에 넣고 멸균수를 첨가하면서 Homogenizer(IKA, 25 μ m)로 잘게 마쇄하여 균질화하였다.
- [0040] 상기 균질화를 통해 마쇄된 뿌리조직 내 플라스모디오포라 브라시케(*Plasmodiophora brassicae*) 균주의 휴면포자는 나출된 포자를 함께 마쇄된 식물조직 및 토양 잔재물로부터 휴면포자현탁액을 분리하기 위해 8겹의 거즈를 통해 걸러낸 다음, 미세한 식물유래 불순물을 제거하기 위해 셀룰로오스 필터(cellulose nitrate filter)와 실린지 필터(Syringe filter)를 이용한 필터법을 사용하였다.
- [0041] 상기 분리된 휴면포자현탁액을 8 μ m의 셀룰로오스 필터를 연결한 실린지 필터에 넣고 진공펌프를 통해 압력을 가하여 걸러낸 다음, 걸러진 현탁액을 1 μ m의 셀룰로오스 필터를 연결한 실린지 필터에 넣어 휴면포자보다 작은 미세식물체 조직과 세균 등을 분리하였다.
- [0042] 상기 분리된 현탁액을 3,500 rpm에서 15분간 원심분리하여 상층액을 제거한 후, 수득된 펠릿에 멸균수를 첨가하고 원심분리기에서 15분간 씻어내는 과정을 2차례 반복하여 펠릿형태의 순수한 휴면포자를 수득하였고, -20℃에 보관하였다.
- [0043] **[비교예 1]**
- [0044] 플라스모디오포라 브라시케(*Plasmodiophora brassicae*) 균주에 감염된 배추뿌리혹을 채집하여 흐르는 물로 수차례 씻어내고 표면에 남아 있는 토양입자와 불순물을 최대한 제거하였다.
- [0045] 상기 불순물이 제거된 뿌리 혹을 멸균된 메스와 가위를 이용하여 잘게 잘라낸 다음, 굵은 시험관에 넣고 멸균수를 첨가하면서 Homogenizer(IKA, 25 μ m)로 잘게 마쇄하여 균질화하였다.
- [0046] 상기 균질화를 통해 나출된 뿌리조직 내 플라스모디오포라 브라시케(*Plasmodiophora brassicae*) 균주의 휴면포자와 식물체 혼합액을 8겹의 거즈를 이용하여 식물체 조직을 걸러낸 다음, 50% 수크로오스 용액을 첨가하고 원심분리기를 이용하여 13,500 rpm에서 20분간 분리하였다. 분리된 것을 상등액을 제거 한 후, 남아있는 수크로오스를 제거하기 위하여 멸균수를 첨가하고 13,500 rpm에서 20분간 원심분리하는 과정을 3회 반복하여 세척하였다.
- [0047] 상기 세척된 펠릿을 수득하여 -20℃에 보관하였다.
- [0048] **[실험예 1] 형광현미경을 이용한 휴면포자의 관찰**

[0049] 상기 실시예 및 비교예에서 각각 분리한 휴면포자에 대한 순수도를 형광현미경을 이용하여 관찰하였다.

[0050] 그 결과 도 1 및 2에서도 확인할 수 있듯이, 상기 실시예 1의 휴면포자의 분리방법이 토양 잔여물 및 식물체 조직이 대부분 제거된 순수한 포자가 수득된 것을 확인할 수 있으며, 비교예의 수크로오스를 이용한 방법보다 수크로오스의 제거과정이 없어 보다 단순하고, 짧은 시간에 효과적으로 휴면포자를 수득할 수 있음을 확인하였다.

[0051] **[실험예 2] PCR을 통한 분자생물학적 분석**

[0052] 상기 실시예 및 비교예의 분리방법에 따른 휴면포자의 포자수를 측정하였다.

[0053] 대조구로는 상기 비교예의 분리방법에서 거즈만을 이용하거나 수크로오스만을 이용하는 분리방법을 사용하였다.

[표 1]

		휴면포자의 양(spore / ml)
실시예 1		1×10^7
비교예 1		2×10^7
대조구	거즈	5×10^7
	수크로오스	3×10^7

[0054]

[0055] 또한 상기 수득된 휴면 포자의 민감도를 알아보기 위해 포자를 10^5 spore/ml 부터 10배씩 연속적으로 희석한 후 하기의 방법으로 DNA를 추출하여 PCR 증폭을 실시하였다. PCR 반응 조건은 initial denaturation을 94℃에서 5분 간 실시한 후 denaturation 94℃/30초, annealing 65℃/20초, extension 72℃/20초로 35 cycles을 실시하고 final extension을 72℃/5분 실시하였다.

[0056] 상기 DNA는 휴면포자에 50 unit/ml 농도의 DNase I (Sigma, D-4263) 50 μ l를 처리한 다음 스트렙토마이신 300 ppm과 리팜피신 100 ppm을 적용하여 37° C에서 1시간 동안 반응시켰다. DNase I의 불활성화는 5 μ l 프로테이나아제 K(25 μ g/ μ l)를 37℃에서 1 시간 동안 처리한 후, 5 mM EDTA 300 μ l 처리와, 최종적으로 80℃ hot block에서 5분간 고열처리 함으로써 마쳤다. DNase I이 불활성화된 포자현탁액은 다시 4,000 rpm에서 15분간 원심 분리하여 상등액을 제거한 후 동결 건조하여 DNA 추출에 사용하였다.

[0057] 상기 전처리 후 동결건조된 펠릿은 미세한 휴면포자의 세포벽을 효과적으로 파쇄하기 위해 유리 비드(0.09~0.15 mm)를 첨가하여 Pellet Pestle(Sigma)로 마쇄한 다음, 400 μ l의 추출버퍼[200 mM Tris-Cl(pH 8.0), 200mM EDTA, 1.4 M NaCl, 1% PVP]를 첨가하고 600 μ l의 클로로포름으로 추출하였다. 추출된 DNA는 정제 컬럼(Intron Biotechnology, Korea) 과정을 통해 정제하고 100 μ l의 멸균수에 녹여 사용하였다.

[0058] 그 결과, 16S rDNA universal primer와 ITS1(F:CTA GCG CTG CAT CCC ATA TC, R: TGT TTC GGC TAG GAT GGT TC) 프라이머 세트를 이용한 PCR 검정에서 세균과 식물체, 뿌리혹병균의 DNA를 증폭한 결과에서도 확인할 수 있듯이, 세균 및 식물체의 순수한 DNA량이 실시예의 방법으로 분리된 휴면포자에서 훨씬 높은 것을 확인할 수 있으며, 이는 분리되는 포자수는 적으나 DNA 분리에 충분한 많은 양의 포자를 수거할 수 있다는 것을 확인한 결과이기도 하다.

[0059] 또한, 본 발명에 따른 실시예의 분리방법은 기존의 휴면포자의 분리방법의 문제점을 근본적으로 개선함으로써 추후 뿌리혹병균의 분자생물학 연구에 매우 유용할 수 있음을 보여주는 결과인 것이다.

[0060] **[실험예 3] 휴면포자의 대량증식방법**

[0061] 옥신 처리는 Indole Acetic Acid(IAA, SIGMA-ALDRICH)를 처리하였고, 식물생장에 저해를 끼치지 않는 10^{-7} 희석 배수부터 10^{-8} , 10^{-9} , 10^{-10} 으로 희석하여 처리하였으며, 접종 균주는 병원성이 강한 포장균주를 혈구측정기를 이용하여 포자수를 10개로 조정한 후 우리종묘로부터 분양받은 감수성 배추품종인 춘정에 커버그라스법을 이용하여 접종하였다. 접종 10일 후부터 5일 간격으로 3회 처리하였다.

[0062] 이에 따른 비교예로서 에틸렌 처리는 정밀 [에세폰 액제(ethephon 39%, 부동제 및 용제 61%), 동부정밀화학]를

사용하였고 위와 동일한 방법으로 접종하였으며, 100배, 500배, 1000배, 2000배 희석하여 각 5주씩 처리하였다. 에틸렌 구간은 접종 4주 후부터 3일 간격으로 3회 처리하였다. 에틸렌은 가스 형태로 다른 구간에 영향을 끼칠 수 있기 때문에 옥신 구간과 분리하여 재배하였으며, 각 구간 별로 8주간 재배 후, 뿌리를 뽑아서 관찰하고 homogenizer로 갈아서 휴면포자를 나출시켜 혈구측정기를 통해 현미경 상에서 포자수를 비교하였다.

[표 2]

처리		휴면 포자의 수(spore / ml)
무처리		3×10^6
옥신	희석 10^{-7}	8×10^7
	희석 10^{-8}	7×10^7
	희석 10^{-9}	8×10^6
	희석 10^{-10}	3×10^6
에틸렌	희석 10^{-2}	4×10^6
	희석 5×10^{-2}	3×10^6
	희석 10^{-3}	4×10^6
	희석 2×10^{-3}	3×10^6

[0063]

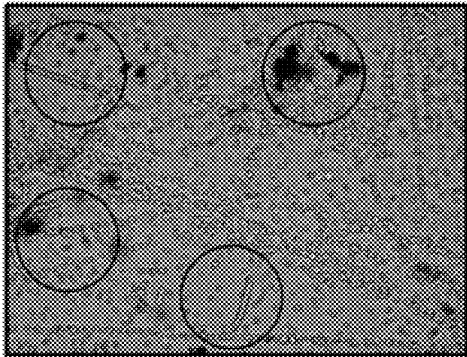
[0064]

상기 표 2에서도 확인할 수 있듯이, 에틸렌 처리구간에서는 포자수가 1×10^6 내지 1×10^7 spores/ml 정도로 무처리에 비해 큰 차이를 보이지 않았으나, 옥신 처리구간에서는 10^{-7} , 10^{-8} 희석 처리구에서 포자수가 7×10^7 spores/ml로 크게 증가되어 휴면포자의 대량증식에 효과적인 것을 확인할 수 있었다.

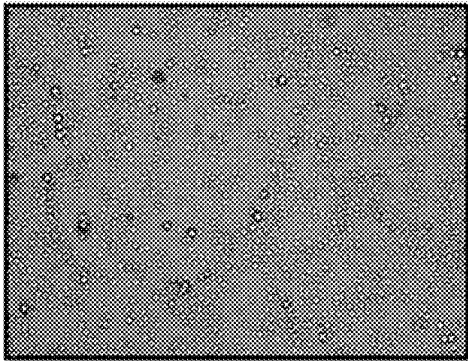
도면

도면1

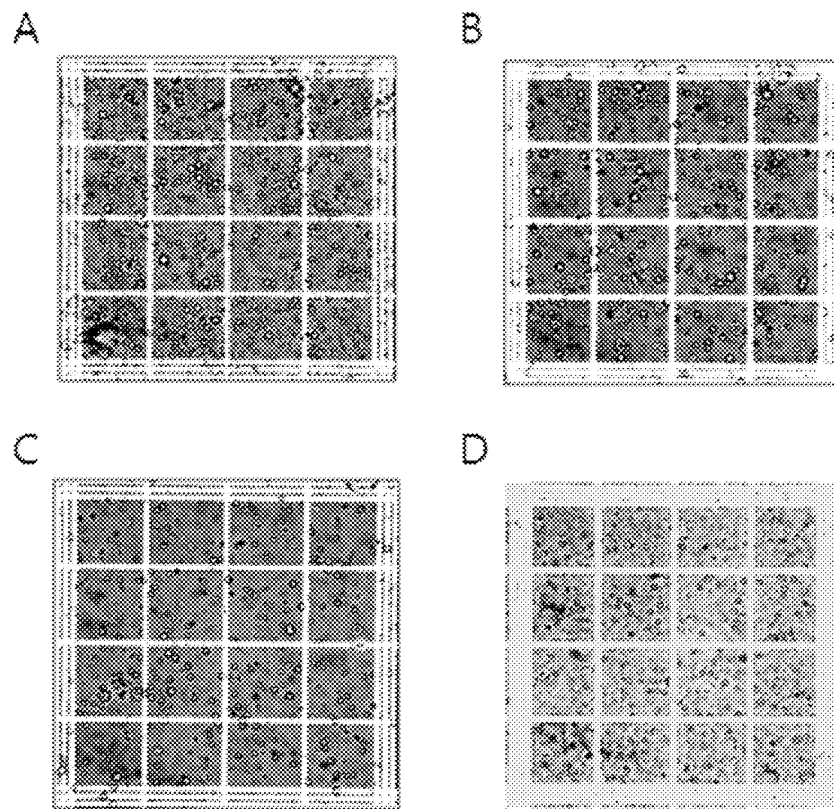
A



B



도면2



도면3

