

(19)대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(51) 。 Int. Cl. (11) 공개번호 10-2006-0110644
C12N 1/20 (2006.01) (43) 공개일자 2006년10월25일

(21) 출원번호 10-2005-0033107

(22) 출원일자 2005년04월21일

(71) 출원인 계명대학교 산학협력단
대구 달서구 신당동 1000번지

(72) 발명자 김상달
대구 수성구 신매동 천마아파트 233동 205호
임중희
대구 달서구 이곡동 청남아파트 101동 1602호
김진락
대구 수성구 수성동1가 579-9 태영빌라 201호
정희경
대구 남구 대명1동 629-34

(74) 대리인 이덕록

심사청구 : 있음

(54) 토착길항미생물인 바실러스 쉐린지엔시스 B K 4 및이로부터 생산된 항진균성 항생물질을 포함하는 생물방제제

요약

본 발명은 시드름병균인 푸사리움 옥시스포룸(*Fusarium oxysporum*)에 대한 생물방제력을 갖고, 항진균성 항생물질을 생산하는 토착길항미생물인 바실러스 쉐린지엔시스 BK4(*Bacillus thuringiensis* BK4; 기탁번호 KACC 91160P), 이로부터 생산된 항진균성 항생물질을 포함하는 생물방제용 제제 및 이를 이용한 생물방제방법을 제공하는 것으로서, 본 발명의 균주는 국내토양환경에 대한 우수한 적응력 및 안전한 생존능력을 지녀 해당지역의 기후풍토와 토양조건에 탁월하게 토착화하여 안정성이 탁월한 항진균성 항생물질을 생산하기에 국내토양에 사용할 경우 외국에서 수입된 생물방제용 길항미생물 또는 그 제제를 사용하는 경우보다 탁월한 활성을 나타내어 우리 고유 작물에 대한 우수한 생물방제제로서 이용이 가능하다.

대표도

도 1

색인어

토착길항미생물, 바실러스 쉐린지엔시스(*Bacillus thuringiensis*) BK4 KACC 91160P

명세서

도면의 간단한 설명

- 도 1은 다양한 pH에 대하여 항생물질 생성능을 지닌 길항미생물들의 생육정도를 나타낸 도이고,
 도 2는 CAS 배지에서 길항미생물의 시테로포어 생성능을 나타낸 도이며,
 도 3은 패어링 컬처를 시킨 PDA에서 길항 미생물에 의한 피토프토라 캡시씨의 저해를 나타낸 도이며,
 도 4는 바실러스 쉐린지엔시스 BK4의 생육정도와 항진균 활성에 대해 온도가 미치는 영향을 나타낸 도이며,
 도 5는 바실러스 쉐린지엔시스 BK4의 생육정도와 항진균 활성에 대해 pH가 미치는 영향을 나타낸 도이며,
 도 6은 바실러스 쉐린지엔시스 BK4가 생산한 항생물질의 푸사리움 옥시스포룸의 포자생성에 대한 저해를 나타낸 도이며,
 도 7은 바실러스 쉐린지엔시스 BK4가 생산한 항진균성 항생물질의 HPLC 패턴을 나타낸 도이며,
 도 8은 바실러스 쉐린지엔시스 BK4가 생산한 항진균성 항생물질의 온도에 대한 안전성을 나타낸 도이며,
 도 9는 바실러스 쉐린지엔시스 BK4가 생산한 항진균성 항생물질의 pH에 대한 안전성을 나타낸 도이며,
 도 10은 토마토 성장에 대한 바실러스 쉐린지엔시스 BK4의 *in vivo* 항진균 활성을 나타낸 도이다.

발명의 상세한 설명

발명의 목적

발명이 속하는 기술 및 그 분야의 종래기술

본 발명은 시드름병균인 푸사리움 옥시스포룸(*Fusarium oxysporum*)에 대한 생물방제력을 갖고, 항진균성 항생물질을 생산하는 토착길항미생물인 바실러스 쉐린지엔시스 BK4(*Bacillus thuringiensis* BK4; 기탁번호 KACC 91160P), 이로부터 생산된 항진균성 항생물질을 포함하는 생물방제제 및 이들을 이용한 생물방제방법을 제공하는 것이다.

농작물에 발생하는 각종 병충해는 직접적으로 수확량을 감소시키고, 그 품질에도 영향을 미친다. 따라서 병충해를 방제하는 농약개발 및 이의 사용에 관한 연구가 계속되어 유독성 유기합성 농약을 대체할 수 있는 생물학적 제제(생물농약 또는 미생물농약)가 개발되었다. 유독성 유기합성 농약은 작물의 보호수단으로서 매우 유효하나 근래들어 선진국을 중심으로 안전지향, 건강지향이라는 사회적 요구가 높아지고 있고, 유기합성 농약이 환경을 파괴하고 인체에 유해하다는 등의 문제점이 있다. 또한 최근 농산물 시장 개방에 따라 계속적으로 증가하는 수출입 농산물의 안전성을 보장하고 환경생태계와 인류건강의 보호를 위해 화학농약의 사용규제가 강력히 요구되고 있는 실정이어서 농작물의 병충해 방제에 생물농약이나 생물학적 방제법의 비중이 점차 높아져 가고 있다.

생물농약이란 미생물 자체를 직접이용하거나 미생물이 함유된 제제를 이용하여 농작물에 해를 주는 곤충, 응애, 선충 등과 각종 식물병 원균 또는 잡초를 방제하는데 사용되는 농약이다. 이러한 미생물 농약은 유기합성 농약과 비교하였을 때 생태계에 영향이 적으며 약제 내성이나 저항성 유발을 보이지 않는 특성이 있으나 반면 약효발현이나 물질의 안정성 및 생산방법상의 난점이 있다.

안전하고 지속적인 생물학적 방제방법의 모색을 위해 길항 미생물을 이용하여 식물의 병충해를 방제하려는 환경보전형 생태학적 생물방제법의 연구가 활발히 진행되고 있다. 그러나 요즘 선진국 뿐만 아니라 우리나라에서도 일부 시도되고 있는 무화학농약, 무화학비료의 자연, 유기농법은 보편화에 비해 그 학문적 해명과 이론적 토대가 미흡한 실정이고, 반면 선진국에서 연구된 일부 생물방제기작의 연구는 너무 학문적 기초연구에만 편중되어 있어 이들의 양극화된 두 방향을 실용성 있게 조화하는 첨단의 환경보전형의 생물학적 방제방법 개발이 시급하다.

또한 외국에서 수입된 생물방제용 길항미생물 또는 그 제제는 외국에서 개발되어 국내 토양 환경에서는 자연환경의 차이로 인해 그 활성을 보장받을 수 없을 뿐 아니라 실제 우리 고유의 작물을 대상으로 하는 적응시험에서 좋은 결과를 얻지 못하고 있다.

이에 따라 본 발명자들은 우리나라 토양환경에서 우수한 적응력 및 안전한 생존능을 지녀 해당지역의 기후풍토와 토양조건에 토착화하여 우리나라 토양에 알맞는 길항물질을 생산하는 토착길항미생물을 분리, 선발하고 이로부터 생산되는 항생물질을 동정함으로써 본 발명을 완성하였다.

발명이 이루고자 하는 기술적 과제

본 발명은 시드름병균인 푸사리움 옥시스포룸(*Fusarium oxysporum*)에 대하여 생물방제력을 갖고, 항진균성 항생물질을 생산하는 토착길항미생물인 바실러스 쉐린지엔시스 BK4(*Bacillus thuringiensis* BK4; 기탁번호 KACC 91160P), 이로부터 생산된 항진균성 항생물질을 포함하는 생물방제제 및 이를 이용한 생물방제방법을 제공하는 것이다.

발명의 구성 및 작용

상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 국내 토양 조건에 안전성을 갖고 시드름병균 푸사리움 옥시스포룸에 대한 방제력을 갖는 항진균성 항생물질을 생산하는 토착 길항미생물인 바실러스 쉐린지엔시스 BK4(*Bacillus thuringiensis* BK4; 기탁번호 KACC 91160P, 기탁년월일: 2005년 4월 14일)을 제공한다.

또한 국내 토양 조건에 대한 안전성을 갖는 상기 미생물로부터 생산된 항진균성 항생물질을 포함하는 생물방제제를 제공한다.

상기 항생물질은 온도 40 내지 121°C, pH 8 - 12에서도 활성을 갖는 것임을 특징으로 한다.

또한 상기 토양에 항진균성 항생물질만을 처리 또는 상기 항진균성 항생물질 및 상기 토착미생물을 병행처리하는 생물방제방법을 제공한다.

본 발명은 토착 길항미생물인 경북지역의 저병해 경작지 토양으로부터 토착 길항 미생물을 선별하는 단계; 국내토양조건에 대한 안전성을 갖는 길항미생물을 선별하는 단계; 상기 선별된 길항 미생물을 동정하여 바실러스 쉐린지엔시스 BK4로 명명하는 단계; 상기 토착 길항미생물의 항진균성 항생물질의 최적 생산 조건 및 이의 정제 단계; 상기 토착 길항미생물의 시드름병균 푸사리움 옥시스포룸에 대한 방제력을 실험하는 단계로 구성되어 진다.

이하, 본 발명을 하기의 실시예 및 실험예에 의하여 상세히 설명한다. 다만, 하기의 실시예 및 실험예는 본 발명의 예시로서 본 발명의 권리범위를 한정하지는 않는다.

실시예 1. 토착길항미생물의 분리

경북 지역의 저병해 경작지에서 분리된 균주 중 푸사리움 옥시스포룸(*Fusarium oxysporum*), 푸사리움 솔라니(*Fusarium solani*), 파이토프토라 캡시씨(*Phytophthora capsici*)에 대하여 대치 배양시 길항능을 가지는 균주 19종을 분리하여 이들 중 BK18을 제외한 암피실린(Ampicillin, 50μg/ml), 테트라사이클린(Tetracycline, 10μg/ml), 클로람페니콜(Chloramphenicol, 50μg/ml), 카나마이신(Kanamycin, 10μg/ml)의 항생물질 중 적어도 한개 이상의 저항성을 가지고 있는 균주를 선별하였다(하기 표 1 참조). 상기 선별된 균주를 대상으로 pH4.0, pH5.0, pH6.0, pH9.0, pH10.0에서 균주 생육 정도를 조사하였다(도 1 참조). 그 결과를 바탕으로 pH4.0과 pH10.0에서도 전혀 생육 감소를 보이지 않는 길항세균 BK3-2-1을, pH4.0에서 다소 생육이 부진하나 비교적 pH생육 범위가 넓은 길항세균 BK4, BK5를 선발하였다.

[표 1] 토착 길항 미생물의 선별

strain	저해율(%)			항생제에 대한 저항			
	푸사리움 옥시스포룸	푸사리움 솔라니	파이토프포라 캄시씨	암피실린	테트라사이클린	카나마이신	클로람페니콜
BK5	29	20	11	+	+	-	+
BK18	33	32	26	-	-	-	-
BKE	6	13	10	+	+	+	+
BK1	42	35	39	-	+	-	-
BK9	35	13	46	+	+	-	+
BK11	20	27	26	-	+	-	+
BK3A	42	32	26	-	+	-	+
BK6	10	17	25	-	+	-	+
BK27	23	37	42	-	+	+	+
BK3B	31	43	28	-	+	-	+
BK4	21	0	36	+	+	-	+
BK3-2-2	15	25	33	+	-	-	-
BK3-2-1	45	37	25	+	+	+	-
BK22A	24	14	41	+	+	+	-
BK22B	36	35	39	+	-	+	+
BK1.8B	33	47	32	+	+	+	+
BK1.8A	36	43	28	+	+	+	+
BK22B	36	35	39	+	-	+	+
BKK11	37	43	42	-	+	-	-

(주 : + 저항성, - 민감성)

실험예 1. 선별 미생물의 식물병원성 진균에 대한 방제력 시험

상기 실시예 1에서 선별한 토착길항미생물 BK3-2-1, BK4, BK5에 대하여 시드름병의 원인균인 푸사리움 옥시스포룸(*Fusarium oxysporum*)에 대한 방제력 여부에 대한 시험을 실시하였다. 키틴나아제는 진균성 식물병원균의 세포벽 구성 성분인 키틴(chitin)을 가수분해할 수 있는 효소이며, 셀룰라아제는 셀룰로오스 분해효소이며, 시데로포어는 토양환경내에서 식물병원균의 생육에 필요한 금속염(Fe^{2+})을 경쟁적으로 흡수결합함으로써 병원성 진균의 생육을 저해하며, 길항미생물이 생산하는 항생물질의 경우에는 식물성 병원균의 생육을 직접적으로 억제하는 작용을 한다. 따라서 상기 실시예 1에서 선별된 균주들의 키틴나아제, 셀룰라아제, 시데로포어, 항생물질의 생성능 및 항진균활성능력을 하기의 실험방법을 수행하여 최종 균주를 선별하였다.

셀룰라아제 생산능은 영양배지에 1% CMC(carboxyl methyl cellulose)를 함유한 CMC 영양배지에 각 선발 균주를 멸균된 이쑤시개를 이용하여 접종 한 후, 2일간 30℃에서 배양 후 콩코레드(congo red) 지시약을 이용하여 진균세포벽 셀룰로오스 분해능을 확인하였다.

키틴나아제 생산능은 CMM(chitin minimal medium) 배지에 각 선발 길항 균주를 이쑤시개를 이용하여 접종하고, 2일간 30℃에서 배양 후 키틴 분해 투명한 생성을 조사하여 진균세포벽 키틴 분해능 확인하였다.

시데로포어 생산균주의 분리배지인 CAS(chlome azurol S) 푸른 아가 배지에 1차 선별된 선별한 토착길항미생물을 접종하여 28℃에 배양시키면서 오렌지환(orange halo zone)의 생성에 의한 시데로포어 생산균을 일차적으로 분리하고 CAS 액체 분석에 의해 시데로포어 활성에 따른 CAS의 탈색율을 이용하여 식물병원균 길항물질로 널리 알려져 있는 시데로포어의 생산능이 우수한 최종 균주 선별하였다.

그 결과, 하기 표 2 및 표 3에서 보는 바와 같이 BK4는 키틴나아제(chitinase), 셀룰라아제(cellulase) 생산성이 없었으며 시테로포어(siderophore)생산도 없었다. 그러나 배양 상등액을 80℃에서 30분간 열처리 후에도 활성의 변화가 거의 없었으며, MW 10,000 저분자를 수확하여 부탄올 전이시에도 그 활성이 유지 되는 것으로 보아 본 균주 BK4의 푸사리움 옥시스포름 길항기작은 저분자 항진균성 항생물질에 의한 것임을 알 수 있었다.

또한, 하기 표 2 및 도 2에서 보는 바와 같이 BK3-2-1 균주는 병원성 진균의 세포 외벽 가수분해 효소로 키틴나아제, 셀룰라아제 모두를 생산하였으나 그 생산성이 미약하였고 시테로포어는 CAS 배지에서 선명한 오렌지환을 생성하는 것으로 보아 강한 생성능을 나타내는 것으로 생각되어진다. 따라서 선발된 길항균주 BK3-2-1의 항진균성 길항기작은 철이온 결합물질 시테로포어에 의한 것임이 확인되었다. 또한, BK5균주도 시테로포어만을 생산하였다.

선발된 3개의 길항세균 중 길항세균에 대한 상기 실험 결과를 종합적으로 검토하여 환경에 적응력이 우수하며 물질의 안정성이 강한 항생물질 생산성만을 보이는 BK4를 최종 선발하였다(도 3 참조).

【표 2】
선발 균주들의 항진균 메카니즘

strains	키틴나아제	셀룰라아제	시테로포어	항생물질	항진균활성
BK4	-	-	-	+	+++
BK3-2-1	+	+	+	-	++
BK5	-	-	+	-	+

(주) - : 클리어 존 없음, + : 직경 0.1-0.5cm의 저해 클리어 존, ++ : 직경 0.6-1.0cm의 저해 클리어 존, +++ : 직경 1.0-1.5cm의 저해 클리어 존

【표 3】
BK4와 BK5의 푸사리움 옥시스포름에 대한 항진균 항생물질의 생산능

strains	테스트	저해율(%)
BK4	열 처리	42
	무처리	51
BK5	열처리	5
	무처리	18

(주: 열처리는 80℃에서 30분간 처리)

실험예 2. 토착 길항미생물 BK4의 동정

상기 실험예 1에서 최종적으로 선별한 토착 길항미생물 BK4를 동정하기 위하여 BK4의 genomic DNA로부터 약 1.5kb 16S rDNA PCR 증폭 산물을 pGEMT Easy(Proemega 사)에 라이게이션한 후 *E.coli* DH 5α에 형질전환시키고 이 플라스미드를 정제하여 SP6 프로모터 프라이머와 T7 프로모터 프라이머를 이용하여 각각 시퀀싱한 후 Blast search를 수행하였다(16S rDNA primer: forward : 5'AGT TGA TCC TGG CTC AG, reverse : ACC TTG TTA CGA CTT).

그 결과, 하기 표 4에서 보는 바와 같이 BK4 균주는 *Bacillus sp.* 의 16S rDNA와 상동성을 보였으며 *Bacillus sp.* BK4로 명명하였고, 생화학적 검사와 생물 동정시스템(MicrologTM 4.0)을 이용하여 최종적으로 바실러스 쉐린지엔시스 BK4 (*Bacillus thuringiensis* BK 4)로 동정하였고, 농업생명공학연구원에 2005년 4월 14일에 이를 기탁하였고, 기탁번호는 KACC 91160P이다.

[표 4]
BK4의 동정

생리적 테스트	Bacillus thuringiensis
Microlog™ 4.0 시스템	
16S rDNA 시퀀스 동정	

실험예 3. 토착 길항미생물 바실러스 쉼린지엔시스 BK 4의 항생물질 생산의 조건

상기 실험예 2에서 동정한 바실러스 쉼린지엔시스 BK 4의 항생물질을 생산하는 최적의 배양온도와 pH를 확인하기 위한 실험을 실시하였다.

바실러스 쉼린지엔시스 BK4를 King's B 배지(Proteose pepton NO.3 2%, K₂HPO₄ 0.15%, MgSO₄·7H₂O 0.15%, Glycerol 1.5%, pH 7.2)에 접종하고 10℃, 20℃, 30℃, 40℃, 50℃에서 각각 3일 배양한 후 온도변화에 따른 항생물질 생산능을 조사하였으며, pH에 따른 바실러스 쉼린지엔시스 BK 4의 항생물질생산능은 pH4.0 - pH 11.0까지로 적정 한 King's B 배지에 본 발명의 균주를 접종하고 3일 배양 후 조사하였다.

그 결과, 도 4 및 도 5에서 보는 바와 같이 바실러스 쉼린지엔시스 BK4 는 20℃에서 가장 잘 생육하였으나 항생물질은 오히려 30℃에서 그 생산능이 우수함을 확인할 수 있었다(도 4 참조). 40℃이상에서 본 발명의 길항세균은 생육이 급격히 감소하였다. 한편, pH에 따른 길항균주의 항생물질 생산은 pH9.0에서 가장 우수하였으며 산성쪽보다는 알칼리쪽으로 갈수록 그 활성이 증가하였다(도 5 참조).

실험예 4. 바실러스 쉼린지엔시스 BK 4가 생산한 항진균성 항생물질의 정제

바실러스 쉼린지엔시스 BK4의 배양액 1ℓ에 동량의 n-부탄올을 첨가하여 15분간 교반기를 이용하여 천천히 교반하고 n-부탄올층은 회수하여 거름종이로 거른 후 추출물을 50℃에서 감압농축하여 증류수, 50% 메탄올, 100% 메탄올 각 3ml에 용해하여 각각 푸사리움 옥시스פור의 포자를 Potato dextrose agar배지에 도말하여 여지 디스크법으로 잔존 활성을 측정하였다.

그 결과, 바실러스 쉼린지엔시스 BK4가 생산하는 항생물질은 100% 메탄올에 용해되어 그 활성을 나타냈으며 이를 조정제로 하였다(도 6 참조).

상기에서 수득한 바실러스 쉼린지엔시스 BK4의 조정제물을 LH-20 컬럼 크로마토그래피를 한 후 항생물질 활성을 가지는 분획을 회수하여 HPLC를 이용하여 분석하였다.

그 결과, 도 7에서 보는 바와 같이 Rf치 98분인 크로마토그램을 나타내었다.

실험예 5. 항진균성 항생물질의 열, pH에 대한 안전성 시험

상기 실험예 4에서 정제된 본 발명의 토착 길항 미생물인 바실러스 쉼린지엔시스 BK4의 항진균성 항생물질의 열 및 pH에 대한 안전성 시험을 실시하였다. 바실러스 쉼린지엔시스 BK4가 생산하는 항생물질을 40℃-100℃까지 30분간, 121℃에서는 15분간 열처리 후 항생물질의 잔존 활성을 관찰하였다. 또한 상기 항생물질을 pH 3.0-12.0의 범위에 노출시킨 후 항생물질의 잔존 활성을 관찰하였다.

상기 실험 수행의 결과, 도 8 및 도 9에서 보는 바와 같이, 본 발명의 토착 길항미생물 바실러스 쉼린지엔시스 BK4가 생산한 항생물질은 상기 121℃에서 열처리하여도 40℃에서 항생물질 활성의 80%가 잔존하고 있어 열에 대하여 탁월한 안정성을 확인할 수 있었다(도 8). 또한 pH에 대한 안전성의 경우, pH8에서 가장 안정적이었으며 산성보다는 알칼리성에서 좀더 안정적임을 확인할 수 있었으며, pH3.0에서는 pH8.0과 비교하여 50%이상의 잔존 활성을 가지고 있었으며 pH12에서는 활성의 소실이 거의 없음을 확인할 수 있었다(도 9 참조).

실험예 6. 바실러스 쉼린지엔시스 BK4의 시드름병 방제력 실험

상기 실험예 3에서 선별된 바실러스 쉼린지엔시스 BK 4의 실제 토양내의 식물병 방제력을 효과적으로 발휘하는지 여부를 확인하기 위하여 토마토를 대상 기주식물로 식물방제실험을 수행하였다. 온도 28℃, 습도 70%를 유지하는 항온항습실에서 기주식물 토마토가 이식되어 있는 pot에 토마토 시들음병 원인 균주인 푸사리움 옥시스포룸을 관주접종 후 1일간 습실(28℃, 습도 70%)하고, 여기에 본 발명의 토착 길항방제균 바실러스 쉼린지엔시스 BK4을 처리하여 시들음병의 발병억제 효과를 관찰하였다.

상기 실험 수행의 결과, 도 10에서 보는 바와 같이 토마토 시들음병인 푸사리움 옥시스포룸에 대한 방제력이 탁월함을 확인할 수 있었다.

발명의 효과

상술한 바와 같이, 본 발명은 시드름병균 푸사리움 옥시스포룸에 대한 생물방제력을 갖고, 항진균성 항생물질을 생산하는 토착길항미생물인 바실러스 쉼린지엔시스 BK4(*Bacillus thuringiensis* BK4; 기탁번호 KACC 91160P) 및 이로부터 생산된 항진균성 항생물질을 포함하는 생물방제용 제제를 제공하는 것으로서, 본 발명의 균주는 국내토양환경에 대한 우수한 적응력 및 안전한 생존능력을 지녀 해당지역의 기후풍토와 토양조건에 탁월하게 토착화하여 안정성이 탁월한 항진균성 항생물질을 생산하기에 국내토양에 사용할 경우 외국에서 수입된 생물방제용 길항미생물 또는 그 제제를 사용하는 경우보다 탁월한 활성을 나타내어 우리 고유 작물에 대한 우수한 생물방제제로서 유용하게 이용할 수 있다.

(57) 청구의 범위

청구항 1.

국내 토양 조건에 안전성을 갖고 시드름병균 푸사리움 옥시스포룸(*Fusarium oxysporum*)에 대한 항진균성 항생물질을 생산하는 토착 길항미생물인 바실러스 쉼린지엔시스 BK4 KACC 91160P.

청구항 2.

제 1항 기재의 바실러스 쉼린지엔시스 BK4 KACC 91160P로부터 생산된 국내 토양조건에 대해 안전성을 갖는 항진균성 항생물질을 포함하는 생물방제제.

청구항 3.

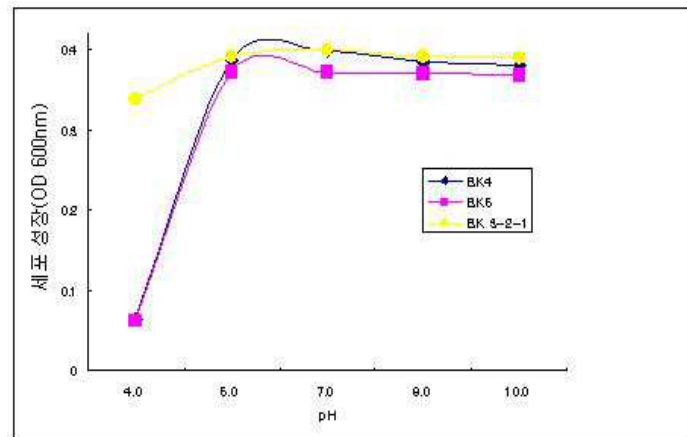
제 2항에 있어서, 상기 항생물질은 온도 40 내지 121℃, pH 8 - 12에서도 활성을 갖는 것임을 특징으로 하는 생물방제제.

청구항 4.

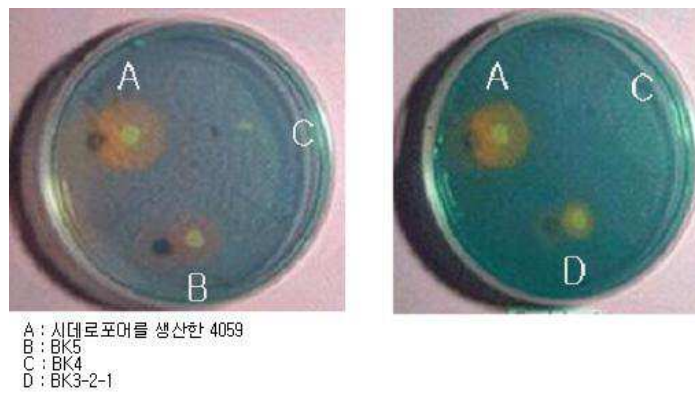
토양에 제 2항의 생물방제제를 처리 또는 제 2항의 생물방제제 및 제 1항의 바실러스 쉼린지엔시스 BK4 KACC 91160P를 병행처리하여 시드름병균 푸사리움 옥시스포룸에 대한 생물학적 방제방법.

도면

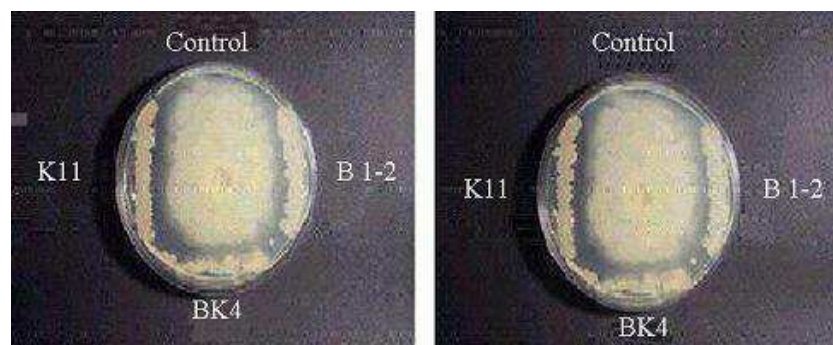
도면1



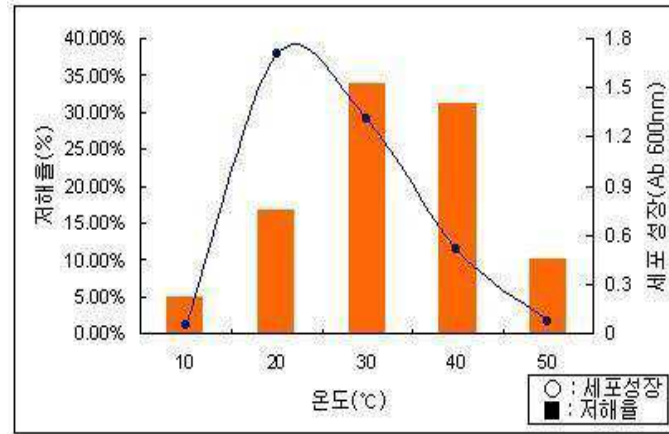
도면2



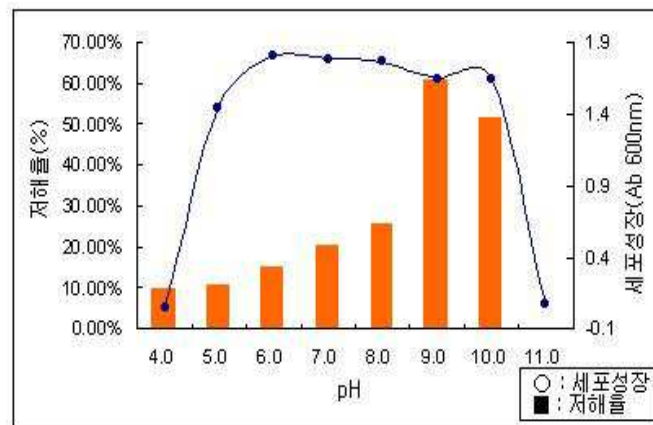
도면3



도면4



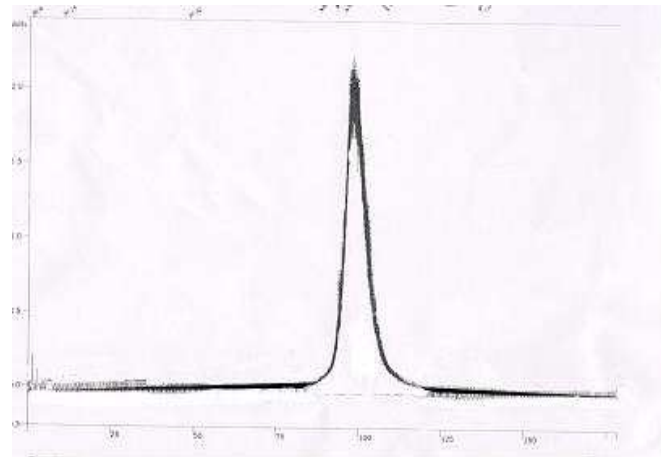
도면5



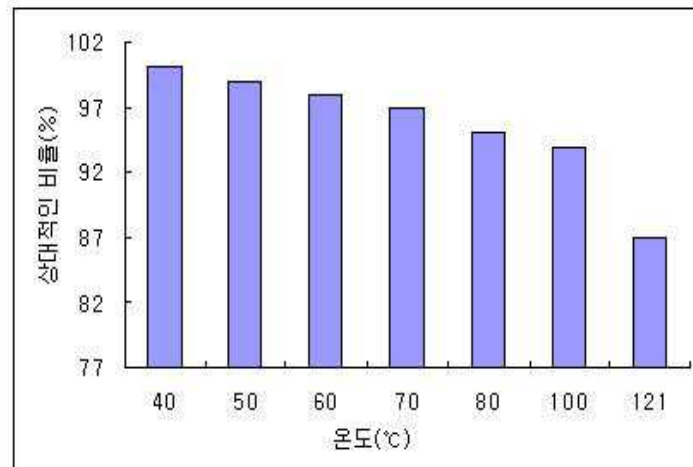
도면6



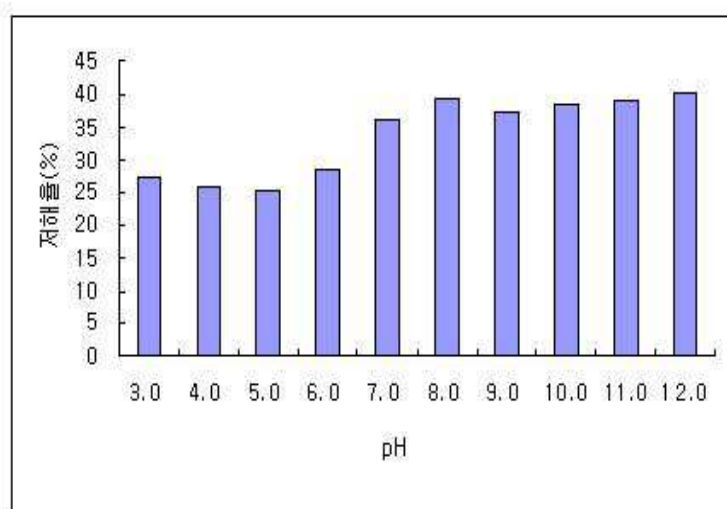
도면7



도면8



도면9



도면10



푸사리움 옥시스포룸 처리



푸사리움 옥시스포룸 처리 후
바실러스 싸린자엔시스 BK4 처리