

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2021년 9월 16일 (16.09.2021) WIPO PCT



(10) 국제공개번호
WO 2021/182885 A1

- (51) 국제특허분류:
A01N 63/20 (2020.01) C12R 1/20 (2006.01)
C12N 1/20 (2006.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2021/003018
- (22) 국제출원일: 2021년 3월 11일 (11.03.2021)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보:
10-2020-0031176 2020년 3월 13일 (13.03.2020) KR
- (71) 출원인: 동아대학교산학협력단 (DONG-A UNIVERSITY RESEARCH FOUNDATION FOR INDUSTRY-ACADEMY COOPERATION) [KR/KR]; 49315 부산시 사하구 낙동대로550번길 37, 동아대학교, Busan (KR). 연세대학교산학협력단 (INDUSTRY-ACADEMIC COOPERATION FOUNDATION, YONSEI UNIVERSITY) [KR/KR]; 03722 서울시 서대문구 연세로 50, Seoul (KR).
- (72) 발명자: 이선우 (LEE, Seon-Woo); 46526 부산시 북구 화명신도시로 100, 203동 906호, Busan (KR). 김지현 (KIM, Jihyun F.); 03730 서울시 서대문구 통일로25길

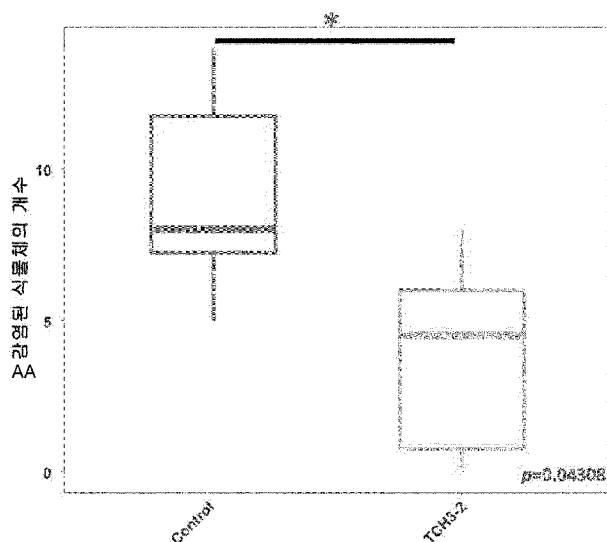
30, 106동 403호, Seoul (KR). 최수연 (CHOI, Soo Yeon); 54964 전라북도 전주시 완산구 배학1길 13, 301호, Jeollabuk-do (KR). 정은주 (JUNG, Eun Joo); 46521 부산시 북구 화명신도시로 255, 302동 1405호, Busan (KR). 이평안 (LEE, Pyeong An); 41523 대구시 북구 검단로 50, 107동 805호, Daegu (KR). 최기혁 (CHOI, Kihyuck); 49302 부산시 사하구 하신변영로 400, 110동 2302호, Busan (KR). 이형주 (LEE, Hyoung Ju); 47156 부산시 부산진구 백양산로53번길 125, 101동 1004호, Busan (KR). 송주연 (SONG, Ju Yeon); 06943 서울시 동작구 여의대방로44길 10, 110동 1606호, Seoul (KR).

(74) 대리인: 최규환 (CHOI, Kyu Whan); 35209 대전시 서구 한밭대로 745, 12층 그린국제특허법률사무소, Daejeon (KR).

(81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, IT, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD,

(54) Title: COMPOSITION COMPRISING FLAVOBACTERIUM SP. TCH3-2 STRAIN AS ACTIVE INGREDIENT FOR CONTROLLING PLANT DISEASE AND USE THEREOF

(54) 발명의 명칭: 플라보박테리움 속 TCH3-2 균주를 유효성분으로 함유하는 식물병 방제용 조성물 및 이의 용도



AA ... Number of infected plants

(57) Abstract: The present invention relates to a composition comprising a Flavobacterium sp. TCH3-2 strain as an active ingredient for controlling plant diseases and a use thereof. The Flavobacterium sp. TCH3-2 strain can promote the production of pea and tobacco crops by remarkably increasing resistance to bean brown stem rot and tobacco mosaic disease.

(57) 요약서: 본 발명은 플라보박테리움 속 TCH3-2 균주를 유효성분으로 함유하는 식물병 방제용 조성물 및 이의 용도에 관한 것으로, 본 발명의 플라보박테리움 속 (Flavobacterium sp.) TCH3-2 균주는 콩 갈색줄기썩음병 및 담배 모자이크병에 대한 저항성을 현저하게 증가시킴으로써, 완두콩 및 담배 작물의 생산을 촉진시킬 수 있다.

SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ,
UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

- (84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역
내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE,
LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM,
ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 유
럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI,
FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK,
MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI
(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML,
MR, NE, SN, TD, TG).

공개:

- 국제조사보고서와 함께 (조약 제21조(3))
- 명세서와 별도로 규칙 13의2에 의하여 제출한 기탁된
생물학적 물질에 관한 표시와 함께 (규칙 13의2.4(d)(i)
및 48.2(a)(viii))
- 명세서의 서열목록 부분과 함께 (규칙 5.2(a))

명세서

발명의 명칭: 플라보박테리움 속 TCH3-2 균주를 유효성분으로 함유하는 식물병 방제용 조성물 및 이의 용도

기술분야

- [1] 본 발명은 플라보박테리움 속 TCH3-2 균주를 유효성분으로 함유하는 식물병 방제용 조성물 및 이의 용도에 관한 것이다.

배경기술

- [2] 화학합성농약은 토양, 작물, 또는 수중에 잔류하여 환경오염 및 생태계교란 등의 여러 가지 문제를 야기한다. 또한 화학합성농약은 사용 시 병원균에 내성이 생길 수 있으며, 사용자 중독 사고의 위험도 있다. 이러한 부작용에 대한 사회적 관심이 높아지면서 화학적 농약을 이용한 방제가 어려운 각종 병해를 대상으로 미생물을 이용한 생물학적 방제 방법에 관한 연구가 많이 시도되고 있다.
- [3] 보통 생물학적 방제에는 병원균에 대해 항균 효과를 갖는 미생물을 이용할 수 있으며, 또한 병에 대한 저항성을 작물체에 유도할 목적으로 미생물을 미리 작물체에 선점종합으로써 작물체 내에 유도되는 전신저항성(Induced Systemic Resistance, "ISR")을 이용할 수 있다. 후자와 같은 방법은 환경오염, 약해, 또는 잔류독성 등의 문제를 야기시키지 않는다는 장점과 이의 방제 효과가 오래 지속된다는 면에서 효과적인 방제 방법으로 평가된다.
- [4] 갈색줄기썩음병(Brown Stem Rot, BSR)은 피알로포라 그레가타(*Phialophora gregata*)에 의해 발병하는 것으로, 북미대륙 및 일본 특히 홋카이도 지역에서 갈색줄기썩음병이 심각하게 발생하고 있으며, 콩 수량의 감소로 인해 심각한 피해를 주고 있다. 현재 국내에서 갈색줄기썩음병이 미미하게 발생하고 있으나, 급속적인 확산을 막기 위하여 확실한 방제 방법을 강구해야 한다.
- [5] 담배 모자이크 바이러스(Tobacco Mosaic Virus, TMV)는 감염으로 증상이 나타나기까지 일정한 시일이 소요되며, 감염 초기에는 바이러스의 감염 여부를 확인할 수 없기 때문에 담배 모자이크 바이러스에 한번 감염이 되면 조기에 방제할 수 없어서 연초의 품질이 저하되고 수확량이 감소되어 막대한 손해가 발생하고 있으나 아직까지 뚜렷한 방제 대책이 없는 실정이다.
- [6] 한편, 한국등록특허 제0942228호에는 '플라보박테리움 헤르시니움 이피비-씨313 균주를 이용한 식물병 방제제'에 대해 개시하고 있으며, 한국공개특허 제2009-0116241호에는 '고추 역병에 대한 길항 효과를 나타내는 토양 근권세균 플라보박테리움 균주 GSE09'에 대해 개시하고 있다. 하지만, 본 발명의 '플라보박테리움 속 TCH3-2 균주를 유효성분으로 함유하는 식물병 방제용 조성물 및 이의 용도'에 대해서는 아직까지 개시된 바가 없다.

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [7] 본 발명은 상기와 같은 요구에 의해 도출된 것으로서, 본 발명자들은 플라보박테리움 속(*Flavobacterium* sp.) TCH3-2 균주를 완두콩(*Pisum sativum*) 및 담배(*Nicotiana tabacum*)에 각각 처리하였을 때, 상기 균주를 처리하지 않은 군에 비해 완두콩에서 갈색줄기썩음병(brown stem rot) 발병이 감소되고, 담배에서 담배 모자이크병(Tobacco mosaic disease) 발병이 감소되는 것을 확인함으로써, 본 발명을 완성하였다.

기술적 해결방법

- [8] 상기 과제를 해결하기 위하여, 본 발명은 플라보박테리움 속(*Flavobacterium* sp.) TCH3-2 균주 또는 이의 배양액을 유효성분으로 함유하는 식물병 방제용 조성물을 제공한다.
- [9] 또한, 본 발명은 플라보박테리움 속(*Flavobacterium* sp.) TCH3-2 균주 또는 이의 배양액의 유효량을 식물, 식물의 종자 또는 식물 식재 토양에 처리하는 단계를 포함하는 식물병의 방제 방법을 제공한다.
- [10] 또한, 본 발명은 플라보박테리움 속(*Flavobacterium* sp.) TCH3-2 균주를 배양하는 단계를 포함하는 식물병 방제용 조성물의 제조 방법을 제공한다.

발명의 효과

- [11] 본 발명에 따르면, 플라보박테리움 속(*Flavobacterium* sp.) TCH3-2 균주는 콩 갈색줄기썩음병 및 담배 모자이크병에 대한 저항성을 현저하게 증가시킴으로써, 콩 및 담배 작물의 생산을 촉진시킬 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [12] 도 1은 본 발명의 플라보박테리움 속(*Flavobacterium* sp.) TCH3-2 균주를 처리하였을 때, 담배 모자이크병(Tobacco mosaic disease)에 대한 식물체의 저항성 증진 효과를 확인한 결과이다. Control: TCH3-2 균주를 처리하지 않고 멸균수를 처리한 대조군.
- [13] 도 2는 담배 식물체에 감염된 바이러스 종류를 확인하기 위해 이병 담배 식물체 시료를 대상으로 6종의 바이러스 특이적 프라이머 세트를 이용하여 PCR 반응을 수행한 결과이다.
- [14] 도 3은 본 발명의 플라보박테리움 속(*Flavobacterium* sp.) TCH3-2 균주를 처리하였을 때, 갈색줄기썩음병(brown stem rot)에 대한 식물체의 저항성 증진 효과를 확인한 결과이다. Control: TCH3-2 균주를 처리하지 않고 멸균수를 처리한 대조군.

발명의 실시를 위한 최선의 형태

- [15] 본 발명의 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 플라보박테리움 속(*Flavobacterium* sp.) TCH3-2 균주 또는 이의 배양액을 유효성분으로 함유하는 식물병 방제용 조성물을 제공한다.
- [16] 본 발명의 플라보박테리움 속 TCH3-2 균주는 작물의 근권토양으로부터 분리하였으며, 국립농업과학원에 2015년 11월 20일자로 기탁된

균주이며(기탁번호: KACC92107P), 2021년 2월 22일자로 국제기탁번호를 부여받았다(기탁번호: KACC81154BP).

- [17] 본 발명의 식물병 방제용 조성물에서, 상기 식물병은 진균성 식물병 또는 바이러스성 식물병일 수 있으며, 바람직하게는 상기 진균성 식물병은 갈색줄기썩음병(brown stem rot)이고, 바이러스성 식물병은 담배 모자이크병(Tobacco mosaic disease)일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 상기 갈색줄기썩음병은 피알로포라 그레가타(*Phialophora gregata*)에 의해 발병하고, 담배 모자이크병은 담배 모자이크 바이러스(Tobacco mosaic virus, TMV)에 의해 발병한다.
- [18] 본 발명에 따른 식물병 방제용 조성물은 예를 들어 직접 분사가 가능한 용액, 분말 및 현탁액의 형태 또는 고농축 수성, 유성 또는 다른 현탁액, 분산액, 에멀전, 유성 분산액, 페이스트, 분진, 흠뿌림 물질 또는 과립제로 제조할 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다. 또한, 상기 식물병 방제용 조성물은 분사, 분무, 살포, 흠뿌림 또는 붓기에 의해 사용될 수 있다. 사용 형태는 의도한 목적에 의존하는데, 모든 경우에 본 발명에 따른 조성물의 분포가 가능한 한 미세하고 균일하도록 해야 한다.
- [19] 또한, 본 발명의 식물병 방제용 조성물은 다양한 형태로 제제화할 수 있다. 상기 제제는 예를 들어 용매 및/또는 담체를 첨가함으로써 제조될 수 있다. 종종, 비활성 첨가제 및 표면-활성 물질, 예를 들어 유화제 또는 분산제를 제제에 혼합한다. 적합한 표면-활성 물질은 방향족 술폰산(예를 들어 리그노술폰산, 페놀-술폰산, 나프탈렌- 및 디부틸나프탈렌술폰산), 지방산, 알킬- 및 알킬아릴술포네이트, 알킬 라우릴 에테르, 지방 알코올 술페이트의 알칼리 금속, 알카라인 토금속, 암모늄염, 술페이트화 헥사-, 헵타- 및 옥타데칸올, 지방 알코올 글리콜에테르의 염, 술포네이트 나프탈렌 및 이의 유도체, 포름알데히드의 축합물, 나프탈렌 또는 나프탈렌술폰산, 페놀 및 포름알데히드의 축합물, 폴리옥시에틸렌옥틸 페놀 에테르, 에톡실화 이소옥틸-, 옥틸- 또는 노닐페놀, 알킬페닐 또는 트리부틸페닐 폴리글리콜 에테르, 알킬아릴폴리에테르 알코올, 이소트리데실 알코올, 지방 알코올/에틸렌 옥사이드 축합물, 에톡실화 피마자유, 폴리옥시에틸렌 알킬에테르 또는 폴리옥시프로필렌, 라우릴 알코올 폴리글리콜 에테르 아세테이트, 소르비톨 에스테르, 리그닌-술파이트 페액 또는 메틸셀룰로오스일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [20] 적합한 고형 담체 물질은 원칙적으로, 모두 다공성이고, 농업적으로 허용가능한 담체, 예를 들어 광물토류(예컨대 실리카, 실리카 겔, 실리케이트, 활석, 고령토, 석회암, 석회, 초크, 보울, 황토, 점토류, 백운석, 규조 토류, 황산칼슘, 황산 마그네슘, 산화마그네슘, 분쇄 합성물질), 비료(예컨대 황산암모늄, 인산암모늄, 질산암모늄, 우레아), 식물성 제품(예컨대 곡물 가루, 나무 껍질 가루, 목분(wood meal) 및 견과 껍질 가루) 또는 셀룰로오스 분말일 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다. 또한, 상기 고형 담체는 1종류 또는 2종류

이상을 혼합하여 사용할 수도 있다.

- [21] 본 발명의 식물병 방제용 조성물은 유효성분으로서 플라보박테리움 속(*Flavobacterium* sp.) TCH3-2 균주를 단독으로, 또는 2종 이상의 다른 항균 또는 항바이러스성 물질 등과 혼합하여 사용할 수 있다.
- [22] 본 발명의 식물병 방제용 조성물은 작물체 흡수 및 효과를 증진시키기 위하여 확산제 및 침투제, 또는 계면활성제와도 혼용이 가능하다.
- [23] 본 발명은 또한, 플라보박테리움 속(*Flavobacterium* sp.) TCH3-2 균주 또는 이의 배양액의 유효량을 식물, 식물의 종자 또는 식물 식재 토양에 처리하는 단계를 포함하는 식물병의 방제 방법을 제공한다.
- [24] 상기 식물병을 방제하는 방법으로는 상기 플라보박테리움 속 TCH3-2 균주 또는 이의 배양액의 유효량을 식물에 침지하거나 관주, 즉, 분무하여 수행할 수 있다. 침지하는 방법의 경우, 상기 플라보박테리움 속 TCH3-2 균주 또는 이의 배양액의 유효량을 식물체 주변의 토양에 붓거나 또는 종자를 플라보박테리움 속 TCH3-2 균주 또는 이의 배양액의 유효량에 담가둘 수 있다.
- [25] 본 발명의 '유효량'은 유익한 또는 원하는 결과를 일으키기에 충분한 양으로, 식물병을 방제하기 위해 상기 플라보박테리움 속 TCH3-2 균주 또는 이의 배양액을 물로 균일하게 희석한 후 동력살포기와 같은 적절한 살포장치를 이용하여 식물체 및 경작지에 살포할 수 있다.
- [26] 본 발명의 식물병의 방제 방법에서, 상기 식물은 피알로포라 그레가타 또는 TMV가 감염될 수 있는 식물로, 이에 제한되지 않으나, 완두콩(*Pisum sativum*) 또는 담배(*Nicotiana tabacum*)일 수 있다. 상기 식물병은 전술한 바와 같다.
- [27] 본 발명은 또한, 플라보박테리움 속(*Flavobacterium* sp.) TCH3-2 균주를 배양하는 단계를 포함하는 식물병 방제용 조성물의 제조 방법을 제공한다. 상기 플라보박테리움 속(*Flavobacterium* sp.) TCH3-2 균주의 배양 방법 및 식물병 방제용 조성물의 제조 방법은 당업계에 공지된 임의의 방법을 이용할 수 있으며, 특정 방법에 특별히 제한되는 것은 아니다.
- [28]
- [29] 이하, 본 발명의 실시예에 의해 상세히 설명한다. 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다.
- [30]
- [31] 실시예 1. 담배 모자이크병에 대한 저항성 검정
- [32] 담배(*Nicotiana tabacum*)를 대상으로 플라보박테리움 속(*Flavobacterium* sp.) TCH3-2 균주(KACC81154BP)를 처리하였을 때, 담배 모자이크 바이러스(TMV, Tobacco mosaic virus)에 의해 발병하는 담배 모자이크병(Tobacco mosaic disease)에 대한 식물체의 저항성 검정을 실시하였다. 담배 종자를 10^9 CFU/ml로 조정된 TCH3-2 균주 현탁액에 침지하였고(1차 처리), 11일 뒤 발아한 종자는 부농 원예용 상토가 담긴 45×45 mm² 포트에 이식하였다. 이식 3일 후 10^9 CFU/ml로 조정된 TCH3-2 현탁액을 토양 g당 6×10^7 CFU가 되도록

관주하였다(2차 처리). TCH3-2 균주 처리구에 대한 대조구(control)로는 멸균수만 2회 처리한 식물을 사용하였다. 2차 미생물 처리 3주 후, 포장에 이식하였으며, TCH3-2 균주 처리구와 대조구를 각각 30주씩 총 60주를 사용하였고, 동일한 시기에 3반복씩 2회 실시하였다(한 시기에 미생물 처리구 90주와 대조구 90주 등 180주를 사용. 한 반복수당 각 30주 사용. 이 세트를 2회 반복 실시). 포장에 정식 후 4개월간 식물을 생육하며 자연 발생적인 모자이크 병징이 관찰되는 담배 개체수를 계수하였다.

- [33] 그 결과, 1회차 결과 TCH3-2 처리구에서 90개체 중 6개체(반복구 당 0, 6, 0개체)에서 바이러스 병이 확인된 반면, 대조구에서는 90개체 중 26개에(반복구 당 7, 14, 5개체)에서 발병이 확인되었다. 2회차 검정에서는 1회차에 비하여 두 처리구 모두 발병율이 증가하였는데, TCH3-2 처리구에서는 90개체 중 17개체(반복구 당 3, 6, 8개체)로 증가폭이 높았으며, 대조구 또한 90개체 중 29개체(반복구 당 8, 13, 8개체)로 소폭 증가하였다(표 1). 1 및 2회차 검정 결과를 합하여 평가하였을 때, 도 1에 개시한 바와 같이 TCH3-2 처리구는 총 180개체 중 23개체에서 바이러스병이 발생하였고, 대조구는 180개체 중 55개체에서 발병이 확인되었으며, 통계적으로 유의미한 차이를 보였다.

- [34] [표1]
담배 모자이크병 발병 담배 개체 측정

시료	회차	반복수	TMV 발병 개체수
대조구	1	1	7
		2	14
		3	5
	2	1	8
		2	13
		3	8
	총		55
TCH3-2 처리구	1	1	0
		2	6
		3	0
	2	1	3
		2	6
		3	8
	총		23

- [35] 또한, 담배 식물체에 발병한 식물 병원성 바이러스를 확인하기 위하여 이병

식물체 시료를 채취하여 액체 질소에 급속 냉각 후 마쇄하였고, 트리졸을 사용하여 총 RNA를 분리하였다. 분리된 RNA는 HelixCRIPT™ Easy cDNA Synthesis kit (NanoHelix)로 cDNA를 합성하였고, Inclone™ Gel & PCR Purification kit (Inclone Biotech)로 순화한 후 사용하였다. 담배에 감염된 병원체를 확인하기 위하여 주요 바이러스 병원 담배 모자이크바이러스(Tobacco mosaic virus, TMV; TMVF, 5'-CGACATCAGCCGATGCAGC-3'(서열번호 1); TMVR, 5'-ACCGTTTTTCGAACCGAGACT-3'(서열번호 2)), 토마토 모자이크바이러스(Tomato mosaic virus, ToMV, ToMVF, 5'-CGAGAGGGGCAACAAACAT-3'(서열번호 3); ToMVR, 5'-ACCTGTCTCCATCTCTTTGG-3'(서열번호 4)), Tobacco bushy top virus(TBTV; TBTVF, 5'-CCACCCAGAAGTCAAGGAAG-3'(서열번호 5); TBTVR, 5'-GCAGTTGTTGCATACCGATT-3'(서열번호 6)), 담배 괴사바이러스(Tobacco necrosis virus, TNV; TNVF, 5'-ACAATAGTCTCCAACCTCGGAG-3'(서열번호 7); TNVR, 5'-ATCATAACCTGCGTAAGG-3'(서열번호 8)), 담배 줄무늬바이러스(Tobacco streak virus, TSV; TSVF, 5'-ATGAATAATTTGATCCAA RGTCCA-3'(서열번호 9 R, A 또는 G); TSVR, 5'-GCATCTGGTATAAAGGAGGCAT-3'(서열번호 10)) 및 담배 둥근무늬바이러스(Tobacco ringspot virus, TRSV; TRSVF, 5'-GCCTCTAAGGACGCAACTGTGACG-3'(서열번호 11); TRSVR, 5'-CACAAGCAGCTGACAGACAGACATTC-3'(서열번호 12)) 프라이머를 사용하여 중합효소연쇄반응(polymerase chain reaction, PCR)을 실시하였다. PCR은 AccuPower Pfu PCR PreMix(BIONEER)에 주형 cDNA 2 μ l, 10 pmol 정방향 및 역방향 프라이머 각 1 μ l, 멸균수 16 μ l 등 20 μ l 반응물로 실시하였으며, 예상되는 PCR 산물의 크기는 TMV-880 bp, ToMV-318 bp, TBTV-518 bp, TNV-280 bp, TSV-1,000 bp 및 TRSV-650 bp이었다. PCR 조건은 다음과 같다: 초기 변성 94°C, 5분; 변성 94°C, 30초, 어닐링 58°C, 45초, 신장 72°C, 45초인 반응을 30회 반복; 마지막 신장 72°C 5분. 전기영동을 통해 확인한 결과, 1회차 시료를 2회 반복 실시에서 모두 담배 모자이크바이러스(TMV; A-1 및 B-1)만 검출되었고, 2회차 시료는 담배 모자이크바이러스(TMV; C-1 및 D-1)와 토마토 모자이크바이러스(ToMV; C-2 및 D-2)가 검출되었다(도 2). 이를 통해, 실험에 자연발생한 바이러스병은 담배 모자이크 바이러스병인 것을 확인할 수 있었으며, TCH3-2 균주가 포장에서 담배 식물체에 자연발생할 수 있는 담배 모자이크병에 대한 저항성을 부여할 수 있다는 것을 확인하였다.

[36]

[37] 실시예 2. 콩 갈색줄기썩음병에 대한 저항성 검정

[38] 완두 품종인 A63(*Pisum sativum*)을 사용하여 피알로포라 그레가타(*Phialophora gregata*)에 의해 콩과 작물에 발생하는 갈색줄기썩음병(brown stem rot)에 대한 플라보박테리움 속(*Flavobacterium* sp.) TCH3-2 균주의 병 저항성

증진 효과를 확인하였다. 완두콩 종자는 10^9 CFU/ml로 조정된 TCH3-2 균주 현탁액에 침지하였고(1차 처리), 5일 뒤 발아한 종자는 부농 원예용 상토가 담긴 45×45 mm 포트에 이식하였다. 이식 2주 후 10^9 CFU/ml로 조정된 TCH3-2 균주 현탁액을 토양 g당 6×10^7 CFU가 되도록 관주하였다(2차 처리).

대조구(control)로는 멸균수만 2회 처리한 식물을 사용하였다. 2차 TCH3-2 균주 처리 2주 후, 식물은 난괴법 3반복으로 무작위로 포장에 정식하였다. TCH3-2 균주 처리구와 대조구는 각각 40주씩 사용하였으며, 정식 4개월 후 식물을 생육하며 갈색썩음병이 자연발생하도록 유지하였고, 지상부 줄기가 갈변한 식물과 이로 인하여 고사한 식물 개체를 계수하였다. 그 결과, 도 3에 개시한 바와 같이 TCH3-2 균주를 처리하지 않은 대조구(control)는 16개체(반복당 4, 8, 4개체)에서 병징이 관찰된 반면, TCH3-2 균주 처리구에서는 총 40개체 중 7개체(반복당 2, 3, 2개체)만이 발병하였다. 이를 통해, TCH3-2 균주가 포장에서 콩과 식물체에 자연발생할 수 있는 갈색줄기썩음병에 대한 저항성을 부여할 수 있다는 것을 확인하였다.

- [39] [수탁번호]
- [40] 기탁기관명 : 농업생명공학연구원
- [41] 수탁번호 : KACC81154BP
- [42] 수탁일자 : 20210222
- [43]

특허 출원을 위한 미생물 기탁의
국제적 승인에 대한 부다페스트 조약

국제적 양식

To. 이선우

대한민국 부산시 사하구 낙동대로
550-37, 동아대학교 응용생물공학
과

하기 국제 기탁 기관에 의해 규칙
7.1에 의거 발행된 수탁증 원본

I. 미생물의 표시	
기탁자에 의해 주어진 참조 표시: <i>Flavobacterium</i> sp. TCH3-2	국제 기탁 기관에 의해 주어진 수탁번호: KACC 81154BP
II. 과학적 설명 및/또는 제안된 분류학적 명명	
상기 I에 표시된 미생물은 다음이 첨부된다: ☐ 과학적 설명 ☐ 제안된 분류학적 명명 (해당란에 x 표시함)	
III. 수탁 및 수령	
본 국제 기탁 기관은 상기 I 에 표시된 미생물을 수령하며, 그것은 2021.02.22. (최초 수탁일자) ¹ 에 수탁되었다.	
IV. 전환 요청의 접수	
상기 I 에 표시된 미생물이 본 국제 기탁 기관에 의해 수탁되었으며, 원 기탁의 부다페스트 조약에 의한 기탁으로의 전환 요청서를 에 접수하였다.	
V. 국제 기탁 기관	
명칭: 농촌진흥청 국립농업과학원 미생물은 행(KACC) 주소: 55365, 대한민국 전라북도 완주군 이 서면 농생명로 166	국제 기탁 기관을 대표할 권한을 가진 자 또는 권한 있는 자의 서명 일자: 2021.03.02.

¹ 규칙 6.4(d)를 적용할 때, 상기 날짜는 국제기탁기관이 받은 날짜임

양식 BP/4

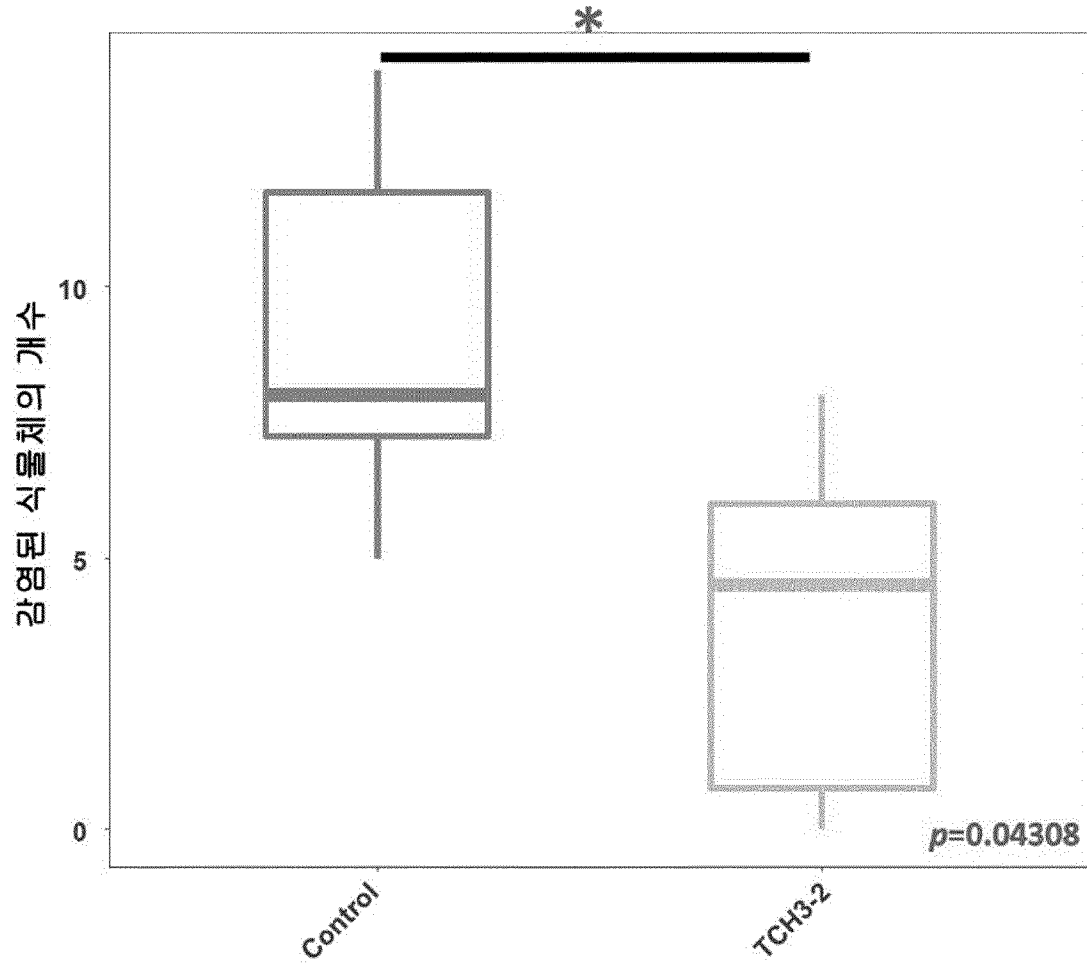
상기 번역문은 원문의 내용과 동일합니다



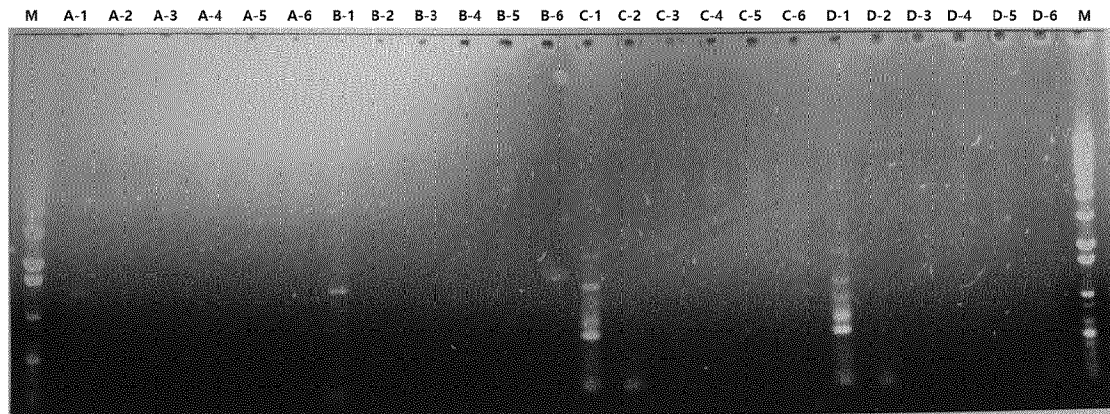
청구범위

- [청구항 1] 플라보박테리움 속(*Flavobacterium* sp.) TCH3-2 균주 또는 이의 배양액을 유효성분으로 함유하는 식물병 방제용 조성물.
- [청구항 2] 제1항에 있어서, 상기 균주는 기탁번호가 KACC81154BP인 것을 특징으로 하는 식물병 방제용 조성물.
- [청구항 3] 제1항에 있어서, 상기 식물병은 진균성 식물병 또는 바이러스성 식물병인 것을 특징으로 하는 식물병 방제용 조성물.
- [청구항 4] 제3항에 있어서, 상기 진균성 식물병은 갈색줄기썩음병(brown stem rot)이고, 바이러스성 식물병은 담배 모자이크병(Tobacco mosaic disease)인 것을 특징으로 하는 식물병 방제용 조성물.
- [청구항 5] 플라보박테리움 속(*Flavobacterium* sp.) TCH3-2 균주 또는 이의 배양액의 유효량을 식물, 식물의 종자 또는 식물 식재 토양에 처리하는 단계를 포함하는 식물병의 방제 방법.
- [청구항 6] 제5항에 있어서, 상기 식물병은 진균성 식물병 또는 바이러스성 식물병인 것을 특징으로 하는 식물병의 방제 방법.
- [청구항 7] 제6항에 있어서, 상기 진균성 식물병은 갈색줄기썩음병(brown stem rot)이고, 바이러스성 식물병은 담배 모자이크병(Tobacco mosaic disease)인 것을 특징으로 하는 식물병의 방제 방법.
- [청구항 8] 플라보박테리움 속(*Flavobacterium* sp.) TCH3-2 균주를 배양하는 단계를 포함하는 식물병 방제용 조성물의 제조 방법.

[도1]

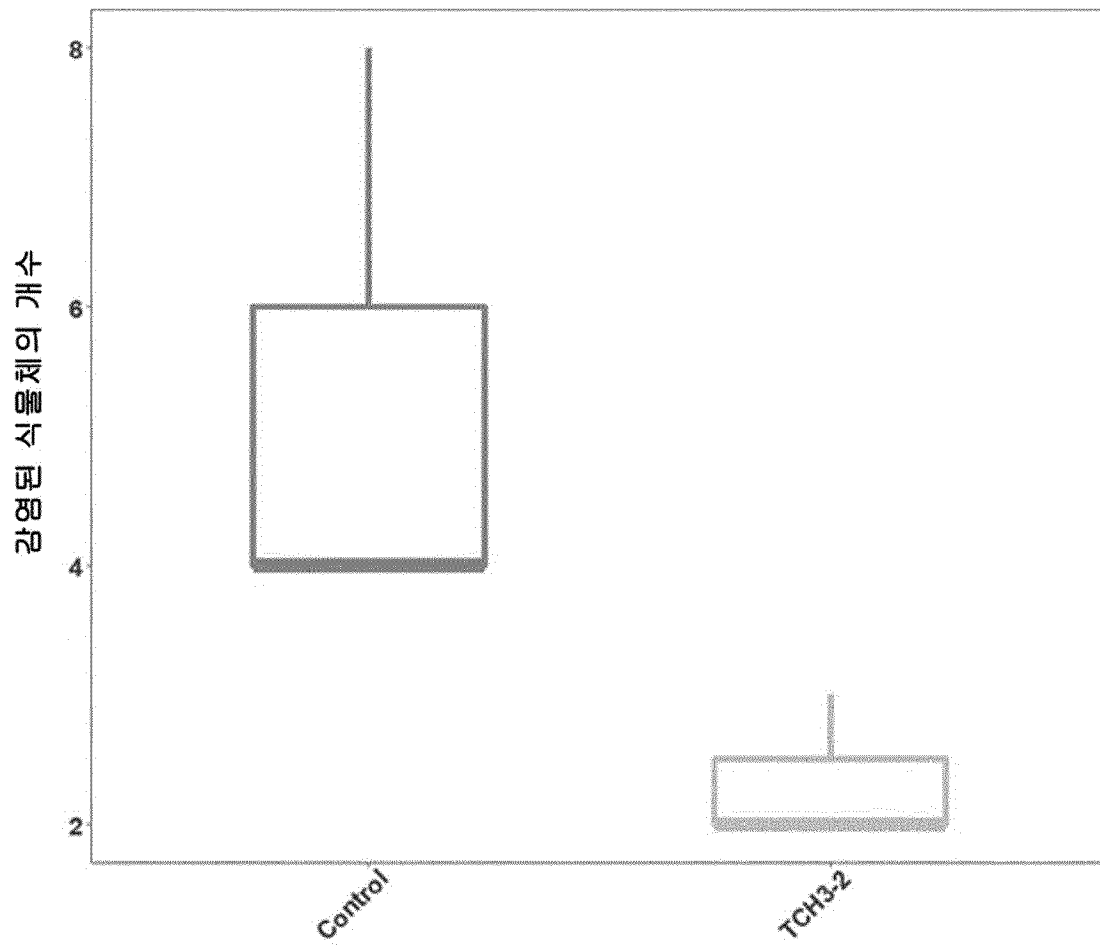


[도2]



M, 1kb ladder marker; A, 1회차 반복구 1; B, 1회차 반복구2; C, 2회차 반복구1; D, 2회차 반복구2; 1, TMV; 2, ToMV; 3, TBTV; 4, TNV; 5, TSV; 6, TRSV

[도3]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2021/003018

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER A01N 63/20(2020.01)i; C12N 1/20(2006.01)i; C12R 1/20(2006.01)n According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A01N 63/20(2020.01); A01N 27/00(2006.01); A01N 31/08(2006.01); A01N 63/02(2006.01); A01P 3/00(2006.01); C12N 1/00(2006.01); C12N 1/20(2006.01); C12Q 1/02(2006.01) Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Korean utility models and applications for utility models: IPC as above Japanese utility models and applications for utility models: IPC as above Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) eKOMPASS (KIPO internal) & keywords: 플라보박테리움 TCH3-2(Flavobacterium sp. TCH3-2), 식물병(plant disease), 갈색줄기 썩음병(brown stem rot), 담배모자이크병(tobacco mosaic disease)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X A	KWAK, Min-Jung et al. Rhizosphere microbiome structure alters to enable wilt resistance in tomato. Nature Biotechnology. 2018, vol. 36, pp. 1100-1109. See page 1102.	1,2,5,8 3,4,6,7
A	KR 10-2011-0092617 A (KOREA UNIVERSITY RESEARCH AND BUSINESS FOUNDATION) 18 August 2011 (2011-08-18) See paragraphs [0036]-[0037] and claims 1 and 4.	1-8
A	KR 10-2009-0116241 A (KOREA UNIVERSITY RESEARCH AND BUSINESS FOUNDATION) 11 November 2009 (2009-11-11) See paragraphs [0027]-[0028] and claims 1 and 3.	1-8
A	KR 10-0942228 B1 (CHUNGCHONGNAMDO(PROVINCE)) 16 February 2010 (2010-02-16) See paragraphs [0017]-[0019] and claim 1.	1-8
☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "D" document cited by the applicant in the international application "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 23 June 2021		Date of mailing of the international search report 23 June 2021
Name and mailing address of the ISA/KR Korean Intellectual Property Office Government Complex-Daejeon Building 4, 189 Cheongsaro, Seo-gu, Daejeon 35208 Facsimile No. +82-42-481-8578		Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2021/003018

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	KR 10-2012-0101253 A (KOREA UNIVERSITY RESEARCH AND BUSINESS FOUNDATION) 13 September 2012 (2012-09-13) See paragraphs [0046]-[0047] and claims 1, 4 and 5.	1-8
A	백광열. Flavobacterium속의 신종 미생물에 의한 식물생육촉진과 유전자 발현 비교. 동아대학교 대학원 석사학위논문. December 2017, pp. 36-38 (BAEK, Gwangyeol. Comparison of Plant Growth Promotion and Gene Expression by New Microorganisms of the Genus Flavobacterium. Thesis, Donga University Graduate School.).	1-8
A	최종보고서. 식물관련 친환경 미생물의 유전체 및 식물근권 비교메타게놈 정보 분석. 농촌진흥청. 2015 (Final Report. Genome Analysis of Plant Associated Bacteria and Comparative Metagenome Analysis of Hizeosphere Microbial Community. Rural Development Administration.). See pages 72 and 88.	1-8
A	KR 10-2005-0060624 A (KT & G CORPORATION) 22 June 2005 (2005-06-22) See paragraphs [0136]-[0138] and claims 1-4.	1-8
A	KR 10-2017-0129921 A (BAYER CROPSCIENCE LP) 27 November 2017 (2017-11-27) See paragraph [0141].	1-8

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2021/003018

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
 - a. ☒ forming part of the international application as filed:
 - ☒ in the form of an Annex C/ST.25 text file.
 - ☐ on paper or in the form of an image file.
 - b. ☐ furnished together with the international application under PCT Rule 13*ter*.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.
 - c. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:
 - ☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13*ter*.1(a)).
 - ☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13*ter*.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).
2. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2021/003018

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
KR	10-2011-0092617	A	18 August 2011	KR	10-1182103	B1	19 September 2012
KR	10-2009-0116241	A	11 November 2009	None			
KR	10-0942228	B1	16 February 2010	None			
KR	10-2012-0101253	A	13 September 2012	KR	10-1317578	B1	15 October 2013
KR	10-2005-0060624	A	22 June 2005	AU	2004-299757	A1	30 June 2005
				AU	2004-299757	B2	20 December 2007
				DE	112004002508	B4	30 October 2008
				DE	112004002508	B8	19 February 2009
				DE	112004002508	T5	22 February 2007
				KR	10-0535912	B1	09 December 2005
				US	2008-0102062	A1	01 May 2008
				US	7615366	B2	10 November 2009
				WO	2005-059112	A1	30 June 2005
KR	10-2017-0129921	A	27 November 2017	AR	104951	A1	30 August 2017
				AU	2016-235208	A1	19 October 2017
				AU	2016-235208	A1	29 September 2016
				BR	112017020604	A2	17 July 2018
				CA	2980723	A1	29 September 2016
				CL	2017002425	A1	11 May 2018
				CL	2018002899	A1	01 February 2019
				CL	2019001810	A1	29 November 2019
				CN	107995925	A	04 May 2018
				EP	3274443	A1	31 January 2018
				EP	3274443	B1	22 April 2020
				EP	3594225	A1	15 January 2020
				ES	2804732	T3	09 February 2021
				HU	E049475	T2	28 September 2020
				JP	2018-517396	A	05 July 2018
				MX	2017012305	A	18 January 2018
				PE	13602018	A1	22 August 2018
				PE	20181360	A1	22 August 2018
				PH	12017501757	A1	23 April 2018
				PL	3274443	T3	21 September 2020
				PT	3274443	T	08 July 2020
				RU	2017135499	A	26 April 2019
				RU	2017135499	A3	27 January 2020
				UA	120642	C2	10 January 2020
				US	10159257	B2	25 December 2018
				US	10499656	B2	10 December 2019
				US	2016-0278388	A1	29 September 2016
				US	2018-146682	A1	31 May 2018
				US	2019-069557	A1	07 March 2019
				US	2020-054023	A1	20 February 2020
				US	9883676	B2	06 February 2018
				WO	2016-154297	A1	29 September 2016

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC)) A01N 63/20(2020.01)i; C12N 1/20(2006.01)i; C12R 1/20(2006.01)n		
B. 조사된 분야 조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재) A01N 63/20(2020.01); A01N 27/00(2006.01); A01N 31/08(2006.01); A01N 63/02(2006.01); A01P 3/00(2006.01); C12N 1/00(2006.01); C12N 1/20(2006.01); C12Q 1/02(2006.01) 조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌 한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC 일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC 국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우)) eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템) & 키워드: 플라보박테리움 TCH3-2(Flavobacterium sp. TCH3-2), 식물병(plant disease), 갈색줄기 썩음병(brown stem rot), 담배모자이크병(tobacco mosaic disease)		
C. 관련 문헌		
카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
X A	KWAK, MIN-JUNG 등, Rhizosphere microbiome structure alters to enable wilt resistance in tomato, Nature Biotechnology, 2018년, 36권, 페이지 1100-1109 페이지 1102 참조	1,2,5,8 3,4,6,7
A	KR 10-2011-0092617 A (고려대학교 산학협력단) 2011.08.18 단락 [0036]-[0037] 및 청구항 1, 4	1-8
A	KR 10-2009-0116241 A (고려대학교 산학협력단) 2009.11.11 청구항 [0027]-[0028] 및 청구항 1, 3	1-8
A	KR 10-0942228 B1 (충청남도) 2010.02.16 단락 [0017]-[0019] 및 청구항 1	1-8
A	KR 10-2012-0101253 A (고려대학교 산학협력단) 2012.09.13 단락 [0046]-[0047] 및 청구항 1, 4, 5	1-8
☒ 추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다. ☒ 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.		
* 인용된 문헌의 특별 카테고리: “A” 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌 “D” 본 국제출원에서 출원인이 인용한 문헌 “E” 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌 “L” 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌 “O” 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌 “P” 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌 “T” 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌 “X” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다. “Y” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다. “&” 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌		
국제조사의 실제 완료일 2021년06월23일(23.06.2021)		국제조사보고서 발송일 2021년06월23일(23.06.2021)
ISA/KR의 명칭 및 우편주소 대한민국 특허청 (35208) 대전광역시 서구 청사로 189, 4동 (둔산동, 정부대전청사) 팩스 번호 +82-42-481-8578		심사관 정다원 전화번호 +82-42-481-5373

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
A	백광열, Flavobacterium속의 신종 미생물에 의한 식물생육촉진과 유전자 발현 비교, 동아대학교 대학원 석사학위논문, 2017.12 페이지 36-38	1-8
A	최종보고서, 식물관련 친환경 미생물의 유전체 및 식물근권 비교메타게놈 정보 분석, 농촌진흥청, 2015 페이지 72, 88	1-8
A	KR 10-2005-0060624 A (주식회사 케이티엔지) 2005.06.22 단락 [0136]-[0138] 및 청구항 1-4	1-8
A	KR 10-2017-0129921 A (바이엘 크롭사이언스 엘피) 2017.11.27 단락 [0141]	1-8

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
KR 10-2011-0092617 A	2011/08/18	KR 10-1182103 B1	2012/09/19
KR 10-2009-0116241 A	2009/11/11	없음	
KR 10-0942228 B1	2010/02/16	없음	
KR 10-2012-0101253 A	2012/09/13	KR 10-1317578 B1	2013/10/15
KR 10-2005-0060624 A	2005/06/22	AU 2004-299757 A1	2005/06/30
		AU 2004-299757 B2	2007/12/20
		DE 112004002508 B4	2008/10/30
		DE 112004002508 B8	2009/02/19
		DE 112004002508 T5	2007/02/22
		KR 10-0535912 B1	2005/12/09
		US 2008-0102062 A1	2008/05/01
		US 7615366 B2	2009/11/10
		WO 2005-059112 A1	2005/06/30
KR 10-2017-0129921 A	2017/11/27	AR 104951 A1	2017/08/30
		AU 2016-235208 A1	2017/10/19
		AU 2016-235208 A1	2016/09/29
		BR 112017020604 A2	2018/07/17
		CA 2980723 A1	2016/09/29
		CL 2017002425 A1	2018/05/11
		CL 2018002899 A1	2019/02/01
		CL 2019001810 A1	2019/11/29
		CN 107995925 A	2018/05/04
		EP 3274443 A1	2018/01/31
		EP 3274443 B1	2020/04/22
		EP 3594225 A1	2020/01/15
		ES 2804732 T3	2021/02/09
		HU E049475 T2	2020/09/28
		JP 2018-517396 A	2018/07/05
		MX 2017012305 A	2018/01/18
		PE 13602018 A1	2018/08/22
		PE 20181360 A1	2018/08/22
		PH 12017501757 A1	2018/04/23
		PL 3274443 T3	2020/09/21
		PT 3274443 T	2020/07/08
		RU 2017135499 A	2019/04/26
		RU 2017135499 A3	2020/01/27
		UA 120642 C2	2020/01/10
		US 10159257 B2	2018/12/25
		US 10499656 B2	2019/12/10
		US 2016-0278388 A1	2016/09/29
		US 2018-146682 A1	2018/05/31
		US 2019-069557 A1	2019/03/07
		US 2020-054023 A1	2020/02/20
		US 9883676 B2	2018/02/06
		WO 2016-154297 A1	2016/09/29