

(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)(11) 공개번호 10-2023-0109295  
(43) 공개일자 2023년07월20일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
C12N 1/20 (2006.01) A01N 63/28 (2020.01)  
C12R 1/465 (2006.01)  
(52) CPC특허분류  
C12N 1/205 (2021.05)  
A01N 63/28 (2022.01)  
(21) 출원번호 10-2022-0005084  
(22) 출원일자 2022년01월13일  
심사청구일자 2022년01월13일

(71) 출원인  
경상국립대학교산학협력단  
경상남도 진주시 진주대로 501 (가좌동)  
(72) 발명자  
곽연식  
경상남도 진주시 진주대로 1317, 110동 901호 (이현동, 이현하이클래스웰가아파트)  
전창욱  
경상남도 밀양시 삼문로 2-4, A동 702호(삼문동)  
(74) 대리인  
최규환

전체 청구항 수 : 총 14 항

(54) 발명의 명칭 항진균 활성을 가지며 식물에 환경 스트레스 내성을 부여하는 스트렙토마이세스 아난디이 J6 균주 및 이의 용도

## (57) 요약

본 발명은 항진균 활성을 가지며 식물에 환경 스트레스 내성을 부여하는 스트렙토마이세스 아난디이 J6 균주 및 이의 용도에 관한 것으로, 본 발명의 스트렙토마이세스 아난디이(*Streptomyces anandii*) J6 균주는 라지패치(Large Patch), 썸머패치(Summer Patch), 달러스팟(Dollar Spot) 및 봄마름병(Spring Dead Spot)의 원인균에 대해 항진균 활성을 나타내고, 잔디에 고온, 건조 및 저온 스트레스에 대한 내성을 부여하며, 근권 정착력이 우수하므로, 잔디병을 방제함과 동시에 고온, 건조 및 저온에 취약한 잔디의 성장을 도울 수 있어 산업적으로 매우 유용하게 사용될 수 있다.

## 대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

C12R 2001/465 (2021.05)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

|             |                                          |
|-------------|------------------------------------------|
| 과제고유번호      | 1711128843                               |
| 과제번호        | 2020R1A2C2004177                         |
| 부처명         | 과학기술정보통신부                                |
| 과제관리(전문)기관명 | 한국연구재단                                   |
| 연구사업명       | 개인기초연구(과기정통부)(R&D)                       |
| 연구과제명       | 기능형 소재를 이용한 식물마이크로바이옴 군집 구조의 설계 및 재건축 연구 |
| 기 여 율       | 1/1                                      |
| 과제수행기관명     | 경상대학교                                    |
| 연구기간        | 2021.03.01 ~ 2022.02.28                  |

---

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

항진균 활성을 가지고, 식물에 환경 스트레스 내성을 부여하며, 근권 정착력(root colonization ability)을 가지는 스트렙토마이세스 아난디이(*Streptomyces anandii*) J6 균주(KCTC18973P).

#### 청구항 2

제1항에 있어서, 상기 항진균 활성은 리족토니아 솔라니(*Rhizoctonia solani*), 마그나포르테 포애(*Magnaporthe poae*), 스클레로티니아 호모에오크아(*Sclerotinia homoeocarpa*) 및 리족토니아 세레알리스(*Rhizoctonia cerealis*)에 대한 항진균 활성인 것을 특징으로 하는 균주.

#### 청구항 3

제1항에 있어서, 상기 환경 스트레스는 건조, 고온 및 저온 스트레스인 것을 특징으로 하는 균주.

#### 청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 따른 스트렙토마이세스 아난디이(*Streptomyces anandii*) J6 균주 또는 이의 배양액을 유효성분으로 포함하는 식물병 방제용 조성물.

#### 청구항 5

제4항에 있어서, 상기 식물병은 갈색퍼짐병(large patch), 여름잎마름병(Summer Patch), 동전마름병(dollar spot) 및 봄마름병(Spring Dead Spot)으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상인 것을 특징으로 하는 식물병 방제용 조성물.

#### 청구항 6

제5항에 있어서, 상기 갈색퍼짐병 원인균은 리족토니아 솔라니(*Rhizoctonia solani*)이고, 여름잎마름병 원인균은 마그나포르테 포애(*Magnaporthe poae*)이며, 동전마름병 원인균은 스클레로티니아 호모에오크아(*Sclerotinia homoeocarpa*)이고, 봄마름병 원인균은 리족토니아 세레알리스(*Rhizoctonia cerealis*)인 것을 특징으로 하는 식물병 방제용 조성물.

#### 청구항 7

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 따른 스트렙토마이세스 아난디이(*Streptomyces anandii*) J6 균주를 배양하는 단계를 포함하는 식물병 방제용 조성물의 제조 방법.

#### 청구항 8

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 따른 스트렙토마이세스 아난디이(*Streptomyces anandii*) J6 균주 또는 이의 배양액의 유효량을 식물 또는 토양에 처리하는 단계를 포함하는 식물병을 방제하는 방법.

#### 청구항 9

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 따른 스트렙토마이세스 아난디이(*Streptomyces anandii*) J6 균주 또는 이의 배양액을 유효성분으로 포함하는 식물의 환경 스트레스 내성 증진용 미생물 제제.

#### 청구항 10

제9항에 있어서, 상기 환경 스트레스는 건조, 고온 또는 저온 스트레스인 것을 특징으로 하는 식물의 환경 스트레스 내성 증진용 미생물 제제.

#### 청구항 11

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 따른 스트렙토마이세스 아난디이(*Streptomyces anandii*) J6 균주 또는 이의 배양액의 유효량을 식물, 식물의 종자 또는 식물 식재 토양에 처리하는 단계를 포함하는 식물의 환경 스트레스 내성을 증진시키는 방법.

## 청구항 12

제11항에 있어서, 상기 환경 스트레스는 건조, 고온 또는 저온 스트레스인 것을 특징으로 하는 식물의 환경 스트레스 내성을 증진시키는 방법.

## 청구항 13

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 따른 스트렙토마이세스 아난디이(*Streptomyces anandii*) J6 균주를 배양하는 단계를 포함하는 식물의 환경 스트레스 내성 증진용 미생물 제제의 제조 방법.

## 청구항 14

제13항에 있어서, 상기 환경 스트레스는 건조, 고온 또는 저온 스트레스인 것을 특징으로 하는 식물의 환경 스트레스 내성 증진용 미생물 제제의 제조 방법.

## 발명의 설명

### 기술 분야

[0001] 항진균 활성을 가지며 식물에 환경 스트레스 내성을 부여하는 스트렙토마이세스 아난디이 J6 균주 및 이의 용도에 관한 것이다.

### 배경 기술

[0002] 환경부는 수질 및 수생태계 보전에 관한 법률 제61조 및 동법 시행규칙 제89조에 따라 골프장 농약 사용실태조사 및 잔류량 검사를 통해 맹·고독성 농약의 사용을 방지하고 골프장 및 주변지역의 토양·지하수 오염과 하천 하류에 미치는 환경피해를 사전에 예방·감시하고 있다. 또한, 그 결과를 매년 SGIS(Soil Groundwater Information System, 토양지하수정보시스템)에 공개하고 있는데 2014년 전국 503개 골프장을 대상으로 농약사용 실태를 조사한 결과 전국 대부분의 골프장에서는 화학 농약을 사용하고 있으며, 농약 사용량은 전년 대비 7.6%로 증가한 총 159.3톤('13년 148톤)으로 농약과다 사용에 따른 지하수 오염 등 환경피해가 예상된다.

[0003] 전 세계적으로 잔디에 발생하는 병의 종류는 리족토니아 잎마름병 등 약 64종이며, 국내 골프장에 발생하는 중요한 병은 10여종이 보고되어 있다. 국내 발생하는 잔디병해 가운데 갈색퍼짐병(Large patch, 병원균 *Rhizoctonia solani*), 동전마름병(Dollar spot, 병원균 *Sclerotinia homoeocarpa*), 여름잎마름병(Summer Patch, 병원균 *Magnaporthe poae*) 및 봄마름병(Spring dead spot, 병원균 *Rhizoctonia cerealis*)은 현재 만연되어 발생하는 심각한 잔디병으로 전국 골프장에 널리 발생하고 있다. 동전마름병의 경우 병반의 크기가 5cm 이하로 병이 진전되면서 대형의 불규칙한 병반이 형성되기도 하며, 습하고 이슬이 많이 맺히는 서늘한 기온에서 병 발생이 용이하다. 리족토니아 잎마름병(라지패치)의 병원균은 리족토니아 솔라니(*Rhizoctonia solani*)이며 균사생육 최적온도는 25~30℃이고, 병징은 잔디가 휴면에 들어가는 늦은 가을과 휴면이 깨어나는 이른 봄에 주로 발생하는 것으로 알려져 있다.

[0004] 최근 골프인구 증가 및 환경문제에 대한 관심도가 증가되면서 환경 친화적인 골프장 관리에 대한 요구도 더불어 증가되고 있다. 또한, 농약사용에 대한 규제가 강화되고 이용 가능한 농약에 대한 저항성을 가진 병원균이 출현함에 따라 친환경 방제방법 개발이 대안으로 요구된다. 미생물 제제의 특징은 화학 농약에 비해 병원균의 저항성 발생이 낮으며 환경오염 문제를 발생시키지 않는 장점이 있다. 다양한 미생물을 토양으로부터 분리하여 토양을 매개로 하는 식물병원균의 발생을 억제하는 연구가 이루어지고 있는데, 동전마름병의 생물농약으로 바실러스 리케니포미스(*Bacillus licheniformis*, Novozymes Biologicals, USA) 및 바실러스 서틸리스(*Bacillus subtilis*, AgraQuest INC., USA)가 해외에서 개발되어 사용되고 있다. 국내에서도 항균활성물질들을 함유한 방선균 등을 활용하여 골프장에서 발생하는 병원균의 생물학적 방제제로서의 가능성에 대한 연구를 부분적으로 수행하고 있다.

[0005] 한편, 한국공개특허 제2017-0009708호에는 '잔디 뿌리의 근권토양으로부터 분리한 잔디병원균에 대해 항균 활성을 가지는 스트렙토마이세스 속 S-8 균주 및 이의 용도'에 대해 개시하고 있으며, 한국등록특허 제1336609호에

는 '잔디의 주요 병해에 길항반응을 갖는 신규한 균주인 바실러스 발리스모르티스 GG290, 상기 균주의 배양방법 및 이 균주를 포함하는 방제용 미생물제제 및 그 제조방법'에 대해 개시하고 있다. 하지만, 본 발명의 '항진균 활성을 가지며 식물에 환경 스트레스 내성을 부여하는 스트렙토마이세스 아난디이 J6 균주 및 이의 용도'에 대해서는 아직까지 개시된 바가 없다.

## 발명의 내용

### 해결하려는 과제

[0006] 본 발명은 상기와 같은 요구에 의해 도출된 것으로서, 본 발명은 잔디의 근권 토양으로부터 분리한 스트렙토마이세스 아난디이(*Streptomyces anandii*) J6 균주가 라지패치(Large Patch), 썸머패치(Summer Patch), 달러스팟(Dollar Spot) 및 봄마름병(Spring Dead Spot)의 원인균에 대해 항진균 활성을 나타내고, 잔디에 고온, 건조 및 저온 스트레스에 대한 내성을 부여하며, 근권 정착력이 우수하다는 것을 확인함으로써, 본 발명을 완성하였다.

### 과제의 해결 수단

[0007] 상기 과제를 해결하기 위하여, 본 발명은 항진균 활성을 가지고, 식물에 환경 스트레스 내성을 부여하며, 근권 정착력(root colonization ability)을 가지는 스트렙토마이세스 아난디이(*Streptomyces anandii*) J6 균주(KCTC18973P)를 제공한다.

[0008] 또한, 본 발명은 상기 스트렙토마이세스 아난디이(*Streptomyces anandii*) J6 균주 또는 이의 배양액을 유효성분으로 포함하는 식물병 방제용 조성물을 제공한다.

[0009] 또한, 본 발명은 상기 스트렙토마이세스 아난디이(*Streptomyces anandii*) J6 균주를 배양하는 단계를 포함하는 식물병 방제용 조성물의 제조 방법을 제공한다.

[0010] 또한, 본 발명은 상기 스트렙토마이세스 아난디이(*Streptomyces anandii*) J6 균주 또는 이의 배양액의 유효량을 식물 또는 토양에 처리하는 단계를 포함하는 식물병을 방제하는 방법을 제공한다.

[0011] 또한, 본 발명은 상기 스트렙토마이세스 아난디이(*Streptomyces anandii*) J6 균주 또는 이의 배양액을 유효성분으로 포함하는 식물의 환경 스트레스 내성 증진용 미생물 제제를 제공한다.

[0012] 또한, 본 발명은 상기 스트렙토마이세스 아난디이(*Streptomyces anandii*) J6 균주 또는 이의 배양액의 유효량을 식물, 식물의 종자 또는 식물 식재 토양에 처리하는 단계를 포함하는 식물의 환경 스트레스 내성을 증진시키는 방법을 제공한다.

[0013] 또한, 본 발명은 상기 스트렙토마이세스 아난디이(*Streptomyces anandii*) J6 균주를 배양하는 단계를 포함하는 식물의 환경 스트레스 내성 증진용 미생물 제제의 제조 방법을 제공한다.

### 발명의 효과

[0014] 본 발명의 잔디의 근권 토양으로부터 분리한 스트렙토마이세스 아난디이(*Streptomyces anandii*) J6 균주는 라지패치(Large Patch), 썸머패치(Summer Patch), 달러스팟(Dollar Spot) 및 봄마름병(Spring Dead Spot)의 원인균에 대해 항진균 활성을 나타내고, 잔디에 고온, 건조 및 저온 스트레스에 대한 내성을 부여하며, 근권 정착력이 우수하므로, 잔디병을 방제함과 동시에 고온, 건조 및 저온에 취약한 잔디의 생장을 도울 수 있어 산업적으로 매우 유용하게 사용될 수 있다.

### 도면의 간단한 설명

[0015] 도 1은 잔디의 근권 토양으로부터 분리한 스트렙토마이세스 아난디이(*Streptomyces anandii*) J6 균주의 갈색패치병(large patch) 원인균, 여름잎마름병(Summer Patch) 원인균, 동전마름병(dollar spot) 원인균 및 봄마름병(Spring Dead Spot) 원인균에 대한 항진균 활성을 나타낸 것이다. J6은 스트렙토마이세스 아난디이 J6 균주이다.

도 2는 잔디의 근권 토양으로부터 분리한 스트렙토마이세스 아난디이(*Streptomyces anandii*) J6 균주의 16S rRNA 유전자의 염기서열 분석을 통해 계통도를 나타낸 것이다.

도 3은 잔디의 근권 토양으로부터 분리한 스트렙토마이세스 아난디이(*Streptomyces anandii*) J6 균주 처리에 따른 잔디의 근권 정착력을 나타낸 것이다. Untreated는 무처리 대조군이며, J6은 스트렙토마이세스 아난디이 J6

균주 처리균이다.

도 4는 잔디의 근권 토양으로부터 분리한 스트렙토마이세스 아난디이(*Streptomyces anandii*) J6 균주 처리에 따른 갈색퍼짐병의 발병도(A) 및 방제 효과를 나타낸 포트 사진(B)이다. Untreated 및 Control은 무처리 대조균이며, *R. solani*는 갈색퍼짐병 원인균 처리균이고, J6은 갈색퍼짐병 원인균 및 스트렙토마이세스 아난디이 J6 균주 처리균이다.

도 5는 잔디의 근권 토양으로부터 분리한 스트렙토마이세스 아난디이(*Streptomyces anandii*) J6 균주 처리에 따른 잔디의 고온 스트레스 내성 증진 효과를 나타낸 포트 사진(A)과 근권에서의 군집 밀도(B), 총 클로로필(total chlorophyll) 함량(C), MDA(malondialdehyde) 함량(D) 및 프롤린(proline) 함량(E)을 나타낸 그래프이다. Untreated는 무처리 대조균이며, J6은 스트렙토마이세스 아난디이 J6 균주 처리균이다.

도 6은 잔디의 근권 토양으로부터 분리한 스트렙토마이세스 아난디이(*Streptomyces anandii*) J6 균주 처리에 따른 잔디의 건조 스트레스 내성 증진 효과를 나타낸 포트 사진(A)과 근권에서의 군집 밀도(B), 총 클로로필(total chlorophyll) 함량(C), MDA(malondialdehyde) 함량(D) 및 프롤린(proline) 함량(E)을 나타낸 그래프이다. Untreated는 무처리 대조균이며, J6은 스트렙토마이세스 아난디이 J6 균주 처리균이다.

도 7은 잔디의 근권 토양으로부터 분리한 스트렙토마이세스 아난디이(*Streptomyces anandii*) J6 균주 처리에 따른 잔디의 저온 스트레스 내성 증진 효과를 나타낸 포트 사진(A)과 근권에서의 군집 밀도(B), 총 클로로필(total chlorophyll) 함량(C), MDA(malondialdehyde) 함량(D) 및 프롤린(proline) 함량(E)을 나타낸 그래프이다. Untreated는 무처리 대조균이며, J6은 스트렙토마이세스 아난디이 J6 균주 처리균이다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0016] 본 발명의 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 항진균 활성을 가지고, 식물에 환경 스트레스 내성을 부여하며, 근권 정착력(root colonization ability)을 가지는 스트렙토마이세스 아난디이(*Streptomyces anandii*) J6 균주(KCTC18973P)를 제공한다.
- [0017] 본 발명의 균주는 잔디 재배지의 근권 토양으로부터 분리되었으며, 잔디병 원인균에 대해 항진균 활성을 가지고, 식물에 환경 스트레스 내성을 부여하며, 근권 정착력이 우수한 균주로, 상기 스트렙토마이세스 아난디이 J6 균주는 한국생명공학연구원 생물자원센터에 2022년 01월 04일자로 기탁되었다(기탁번호: KCTC18973P).
- [0018] 본 발명의 일 구현 예에 따른 균주에서, 상기 식물은 잔디일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0019] 본 발명의 일 구현 예에 따른 균주에서, 상기 항진균 활성은 리족토니아 솔라니(*Rhizoctonia solani*), 마그나포르테 포에(*Magnaporthe poae*), 스크레로티니아 호모에오카르파(*Sclerotinia homoeocarpa*) 및 리족토니아 세레알리스(*Rhizoctonia cerealis*)에 대한 항진균 활성일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0020] 본 발명의 일 구현 예에 따른 균주에서, 상기 환경 스트레스는 건조, 고온 및 저온 스트레스일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0021] 또한, 상기 고온은 30~40℃일 수 있으며, 바람직하게는 35℃일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0022] 또한, 상기 저온은 0~15℃일 수 있으며, 바람직하게는 0~10℃일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0023] 본 발명은 또한, 상기 스트렙토마이세스 아난디이(*Streptomyces anandii*) J6 균주 또는 이의 배양액을 유효성분으로 포함하는 식물병 방제용 조성물을 제공한다.
- [0024] 본 발명의 식물병 방제용 조성물에서, 상기 식물병은 갈색퍼짐병(large patch), 여름잎마름병(Summer Patch), 동전마름병(dollar spot) 및 봄마름병(Spring Dead Spot)으로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나의 잔디병일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 상기 갈색퍼짐병 원인균은 리족토니아 솔라니(*Rhizoctonia solani*)이고, 여름잎마름병 원인균은 마그나포르테 포에(*Magnaporthe poae*)이며, 동전마름병 원인균은 스크레로티니아 호모에오카르파(*Sclerotinia homoeocarpa*)이고, 봄마름병 원인균은 리족토니아 세레알리스(*Rhizoctonia cerealis*)일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0025] 본 발명의 식물병 방제용 조성물은 직접 분사가 가능한 용액, 분말 및 현탁액의 형태 또는 고농축 수성, 유성 또는 다른 현탁액, 분산액, 에멀전, 유성 분산액, 페이스트, 분진, 흙뿌림 물질 또는 과립제로 제조할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 또한, 상기 식물병 방제용 조성물은 분사, 분무, 살포, 흙뿌림 또는 붓기에 의해 사용될 수 있다. 사용 형태는 의도한 목적에 의존하는데, 모든 경우에 본 발명에 따른 조성물의 분포가 가능한 미세하

고 균일하도록 해야 한다.

- [0026] 본 발명의 식물병 방제용 조성물은 당업계에 공지된 방식의 미생물 농약제제화 방식에 따라, 예컨대 배양된 균체의 배양액, 동결건조 균체와 전분, 조단백질 및 암석분 등을 포함하도록 분말, 펠렛 또는 과립, 마이크로캡슐 등으로 제형화하여 그대로 사용할 수 있다. 상기 조성물은 표면 활성화제, 비활성 담체, 보존제, 습윤제, 공급 촉진제, 유인제, 캡슐화제, 결합제, 유화제, 염료, U.V 보호제, 완충제 등 목적 선충 및 작물에 따라 적용하기 용이한 다른 성분을 부가함으로써 수득할 수 있다. 본 발명의 조성물은 적용하기전에 적당한 양의 물 또는 다른 희석제로 희석을 하여 직접 적용하기에 적합한 형태 또는 농축액 또는 1차 조성물일 수 있다. 살선충성 농도는 특히 농축 또는 직접 사용하거나 하는 것은 특정 제제의 성질, 적용 식물의 종류, 재배지역의 토양 및 기후 등에 따라 다양할 수 있음은 당업계에 명백히 이해될 것이다.
- [0027] 또한, 본 발명의 식물병 방제용 조성물은 농업적으로 허용가능한 담체를 추가로 포함할 수 있다. 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.
- [0028] 본 발명의 식물병 방제용 조성물은 유효성분으로서 스트렙토마이세스 아난디이 J6 균주를 단독으로, 또는 2종 이상의 다른 항균 또는 항바이러스성 물질 등과 혼합하여 사용할 수 있다.
- [0029] 본 발명의 식물병 방제용 조성물은 작물체 흡수 및 효과를 증진시키기 위하여 확산제 및 침투제, 또는 계면활성제와도 혼용이 가능하다.
- [0030] 본 발명은 또한, 상기 스트렙토마이세스 아난디이(*Streptomyces anandii*) J6 균주를 배양하는 단계를 포함하는 식물병 방제용 조성물의 제조 방법을 제공한다.
- [0031] 본 발명의 식물병 방제용 조성물의 제조 방법에서, 상기 식물병은 전술한 바와 같다.
- [0032] 본 발명의 기탁번호가 KCTC18973P인 스트렙토마이세스 아난디이 J6 균주는 갈색퍼짐병(large patch), 여름잎마름병(Summer Patch), 동전마름병(dollar spot) 및 봄마름병(Spring Dead Spot)의 원인균에 대해 우수한 항진균 활성을 보이므로, 본 발명의 균주를 배양하면 갈색퍼짐병(large patch), 여름잎마름병(Summer Patch), 동전마름병(dollar spot) 및 봄마름병(Spring Dead Spot) 방제용 조성물을 제조할 수 있다.
- [0033] 본 발명의 균주를 배양하는 방법은 당업계에 통상적으로 이용되는 방법에 따라 배양할 수 있다.
- [0034] 본 발명은 또한, 상기 스트렙토마이세스 아난디이(*Streptomyces anandii*) J6 균주 또는 이의 배양액의 유효량을 식물 또는 토양에 처리하는 단계를 포함하는 식물병을 방제하는 방법을 제공한다.
- [0035] 상기 식물병을 방제하는 방법으로는 상기 스트렙토마이세스 아난디이(*Streptomyces anandii*) J6 균주, 이의 배양액, 상기 배양액의 농축액 또는 그의 건조물의 유효량을 이용한 조성물을 식물이나 식물의 종자에 침지하거나 관주, 즉, 분무하여 수행할 수 있다. 침지하는 방법의 경우, 상기 J6 균주, 이의 배양액, 상기 배양액의 농축액 또는 그의 건조물의 유효량을 식물 주변의 토양에 붓거나 또는 종자를 배양액 및 조성물에 담가둘 수 있다. 본 발명의 방법에 적용될 수 있는 식물은 잔디가 바람직할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0036] 본 발명의 식물병을 방제하는 방법에서, 상기 식물병은 전술한 바와 같다.
- [0037] 본 발명은 또한, 상기 스트렙토마이세스 아난디이(*Streptomyces anandii*) J6 균주 또는 이의 배양액을 유효성분으로 포함하는 식물의 환경 스트레스 내성 증진용 미생물 제제를 제공한다.
- [0038] 본 발명의 식물의 환경 스트레스 내성 증진용 미생물 제제에서, 상기 환경 스트레스는 건조, 고온 또는 저온 스트레스일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0039] 또한, 상기 고온 및 저온은 전술한 바와 같다.
- [0040] 본 발명의 식물의 환경 스트레스 내성 증진용 미생물 제제는 직접 분사가 가능한 용액, 분말 및 현탁액의 형태 또는 고농축 수성, 유성 또는 다른 현탁액, 분산액, 에멀전, 유성 분산액, 페이스트, 분진, 흩뿌림 물질 또는 과립제로 제조할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

- [0041] 본 발명의 식물의 환경 스트레스 내성 증진용 미생물 제제는 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 알킬아릴술폰네이트, 알킬 라우릴에테르, 지방 알코올 술페이트의 알칼리 금속, 알카라인 토금속, 암모늄염, 술페이트화 헥사-, 헵타- 및 옥타데칸올, 지방 알코올 글리콜 에테르의 염, 술폰네이트 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-술폰이트 페액 또는 메틸셀룰로오스일 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다.
- [0042] 적합한 고형 담체 물질은 원칙적으로, 모두 다공성이고, 농업적으로 허용가능한 담체, 예를 들어 광물토류(예컨대 실리카, 실리카 겔, 실리카이트, 활석, 고령토, 석회암, 석회, 초크, 보울, 황토, 점토류, 백운석, 규조토류, 황산칼슘, 황산 마그네슘, 산화마그네슘, 분쇄 합성물질), 비료(예컨대 황산암모늄, 인산암모늄, 질산암모늄, 우레아), 식물성 제품(예컨대 곡물 가루, 나무 껍질 가루, 목분(wood meal) 및 건과 껍질 가루) 또는 셀룰로오스 분말일 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다. 또한, 상기 고형 담체는 1종류 또는 2종류 이상을 혼합하여 사용할 수도 있다.
- [0043] 본 발명의 식물의 환경 스트레스 내성 증진용 미생물 제제는 작물체 흡수 및 효과를 증가시키기 위하여 확산제 및 침투제, 또는 계면활성제와도 혼용이 가능하다
- [0044] 본 발명은 또한, 상기 스트렙토마이세스 아난디이(*Streptomyces anandii*) J6 균주 또는 이의 배양액의 유효량을 식물, 식물의 종자 또는 식물 식재 토양에 처리하는 단계를 포함하는 식물의 환경 스트레스 내성을 증진시키는 방법을 제공한다.
- [0045] 상기 식물의 환경 스트레스 내성을 증진시키는 방법으로는 상기 스트렙토마이세스 아난디이 J6 균주 또는 이의 배양액의 유효량을 식물에 침지하거나 관주, 즉, 분무하여 수행할 수 있다. 침지하는 방법의 경우, 상기 스트렙토마이세스 아난디이 J6 균주 또는 이의 배양액의 유효량을 식물체 주변의 토양에 붓거나 또는 종자를 스트렙토마이세스 아난디이 J6 균주 또는 이의 배양액의 유효량에 담가둘 수 있다.
- [0046] 본 발명의 '유효량'은 유익한 또는 원하는 결과를 일으키기에 충분한 양으로, 식물의 환경 스트레스 내성을 증가시키기 위해 상기 스트렙토마이세스 아난디이 J6 균주 또는 이의 배양액을 물로 균일하게 희석한 후 동력살포기와 같은 적절한 살포장치를 이용하여 식물체 및 경작지에 살포할 수 있다.
- [0047] 본 발명의 식물의 환경 스트레스 내성을 증진시키는 방법에서, 상기 환경 스트레스는 건조, 고온 또는 저온 스트레스일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0048] 또한, 상기 고온 및 저온은 전술한 바와 같다.
- [0049] 본 발명은 또한, 상기 스트렙토마이세스 아난디이(*Streptomyces anandii*) J6 균주를 배양하는 단계를 포함하는 식물의 환경 스트레스 내성 증진용 미생물 제제의 제조 방법을 제공한다.
- [0050] 본 발명의 식물의 환경 스트레스 내성 증진용 미생물 제제의 제조 방법에서, 상기 환경 스트레스는 건조, 고온 또는 저온 스트레스일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0051] 또한, 상기 고온 및 저온은 전술한 바와 같다.
- [0052] 또한, 상기 본 발명의 균주를 배양하는 방법은 전술한 바와 같다.
- [0053] 이하, 본 발명의 실시예에 의해 상세히 설명한다. 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다.
- [0054] **실시예 1. 잔디 재배지 토양 근원으로부터 스트렙토마이세스 아난디이(*Streptomyces anandii*) J6 균주의 분리 및 잔디병 원인균에 대한 항진균활성 확인**
- [0055] 잔디병 원인균에 대해 항진균 활성을 가지는 균주를 분리 및 선택하기 위해, 전남 장성에 위치한 잔디 재배지 토양으로부터 근권 토양을 채집하여 각 시료를  $10^{-1}$ 에서  $10^{-5}$  까지 멸균 증류수에 희석하였다. 잔디병 원인균은

실험실에서 보유중인 리족토니아 솔라니(*Rhizoctonia solani*) AG2-2, 마그나포르테 포에(*Magnaporthe poae*), 스클레로티니아 호모에오크아(*Sclerotinia homoeocarpa*) 및 리족토니아 세레알리스(*Rhizoctonia cerealis*)를 사용하였다. 희석된 시료는 TSA(6g of tryptic soy broth, 20g of agar per 1L) 배지에 도말하였고, 27℃에서 5일간 배양하였다. 배양후 단일 콜로니를 살균된 이쑤시개로 96-웰 플레이트(1/5 TSB 배지)에 하나씩 옮겨 27℃에서 3일간 배양하였으며, 배양된 96-웰 플레이트에 잔디의 라지패치 원인균인 리족토니아 솔라니(*Rhizoctonia solani*) AG2-2를 대치배양하였다(표 1). 대치배양은 총 3차에 걸쳐 수행되었으며 최종적으로 라지패치 원인균에 대해 우수한 항진균 활성을 나타내는 균주를 최종 선발하였다. 또한, 최종 선발된 균주와 여름잎마름병, 동전마름병 및 봄마름병 원인균을 대치배양하여 우수한 항진균 활성을 확인하였다(도 1).

# 표 1

[0056]

잔디병 원인균

| 잔디병                        | 원인균                                              |
|----------------------------|--------------------------------------------------|
| 라지패치<br>(large patch)      | 리족토니아 솔라니( <i>Rhizoctonia solani</i> ) AG2-2     |
| 여름잎마름병<br>(summer patch)   | 마그나포르테 포에( <i>Magnaporthe poae</i> )             |
| 동전마름병<br>(dollar spot)     | 스클레로티니아 호모에오크아( <i>Sclerotinia homoeocarpa</i> ) |
| 봄마름병<br>(spring dead spot) | 리족토니아 세레알리스( <i>Rhizoctonia cerealis</i> )       |

[0057]

## 실시예 2. 스트렙토마이세스 아난디이 J6 균주의 동정

[0058]

실시예 1에서 선발된 균주의 분자 생물학적 동정을 실시하고자 게놈 DNA를 분리하여 16S rRNA 유전자의 염기서열(서열번호 1)을 분석하였다. 16S rRNA 프라이머는 27F(5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3', 서열번호 2)와 1492R(5'-GGTTACCTGTGACGACTT-3', 서열번호 3)을 사용하였다. 확보된 16S rRNA 염기서열은 NCBI의 BLAST 검색을 통하여 스트렙토마이세스 아난디이(*Streptomyces anandii*)로 동정되었으며(도 2), 상기 균주를 스트렙토마이세스 아난디이 J6 균주로 명명하였다.

[0059]

## 실시예 3. 스트렙토마이세스 아난디이 J6 균주의 잔디 근권 정착력 및 라지패치 방제효과 확인

[0060]

본 발명의 스트렙토마이세스 아난디이 J6 균주를 PDK(potato dextrose peptone) 고체배지에서 배양한 후, 단일 콜로니를 살균된 루프를 이용하여 PDK 액체배지에 접종하여 28℃에서 150 rpm으로 5일간 진탕배양한 후 하기 실험에 사용하였다. 본 발명의 스트렙토마이세스 아난디이 J6 균주의 근권 정착력 및 잔디병 라지패치에 대한 방제 효과를 확인하였다. 근권 정착력 검증은 난지형 잔디(31일 생육된 잔디, 품종: 조이시아그래스)를 수도용 상토가 들어 있는 포트에 심고, 본 발명의 스트렙토마이세스 아난디이 J6 균주 배양액( $1 \times 10^7$  CFU/mL, 0.1% carboxyl methyl cellulose 함유)을 뿌리 부위에 3일 간격으로 3회 분주 처리하고 생육상에서 4주간 정착력을 관찰하였다. 그 결과, 도 3에 개시한 바와 같이, 본 발명의 스트렙토마이세스 아난디이 J6 균주는 잔디 근권에서 토양 g당  $1.0 \times 10^7$  CFU의 농도로 존재하였으며, 4주까지 우수한 근권 정착력을 유지하였다.

[0061]

또한, 잔디병 라지패치에 대한 방제 효과를 검증하기 위해, 본 발명의 스트렙토마이세스 아난디이 J6 균주를 처리하고 7일 후에 라지패치 원인균(*Rhizoctonia solani* AG2-2)을  $1.0 \times 10^7$  CFU/mL의 농도로 뿌리 부위에 분주하거나 잎에 살포하였다. 라지패치의 발생정도는 병 발생도[Disease index (DI), 0=no symptoms; 1=~20%; 2=21-40%; 3=41-60%; 4=61-80%; 5=more than 81%] 값을 산출하여 통계처리하였다. 그 결과, 본 발명의 균주를 처리하지 않고 라지패치 원인균만을 처리하였을 때, 평균 4의 병 발생도로 심각한 병징이 발생하였으나, 본 발명의 스트렙토마이세스 아난디이 J6 균주를 전처리하고 라지패치 원인균을 처리하였을 때에는 라지패치의 발생이 평균 발생도 0.5 이하로 나타나, 스트렙토마이세스 아난디이 J6 균주가 라지패치에 대해 우수한 방제 효과를 나타내는 것을 알 수 있었다(도 4).

[0062]

## 실시예 4. 스트렙토마이세스 아난디이 J6 균주 처리에 따른 잔디의 환경 스트레스 내성 증진 효과

[0063]

본 발명의 스트렙토마이세스 아난디이 J6 균주가 잔디에 환경 스트레스 내성을 증진시키는지 확인하기 위해, 저

온 스트레스는 들잔디(*Zoysia japonica*), 건조 및 고온 스트레스는 크리핑 벤토그라스(*Agrostis stolonifera*)를 대상으로 실험을 진행하였다. 들잔디 및 크리핑 벤토그라스에 본 발명의 스트렙토마이세스 아난다이 J6 균주를 접종하고( $1.0 \times 10^7$  CFU/mL, 0.1% carboxyl methyl cellulose 함유), 환경 스트레스를 처리하기 전에 7일 동안 식물의 생장 및 발달이 이루어지도록 적응기간을 두었다. 들잔디의 경우, 광주기 12시간 낮(32℃)/밤(25℃), 광도  $228 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  및 상대습도 70~80%의 조건으로 생육시켰으며, 크리핑 벤토그라스는 광주기 12시간 낮(22℃)/밤(15℃), 광도  $450 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  및 상대습도 70~80%의 조건으로 생육시켰다. 고온 스트레스 조건은 12시간 낮(35℃)/밤(25℃)의 광주기로 10일 동안 2일에 1회 100mL씩 물을 공급하였고, 건조 스트레스 조건은 12시간 낮(22℃)/밤(13℃)의 광주기로 10일 동안 물을 공급하지 않았으며, 저온 스트레스 조건은 12시간 낮(10℃)/밤(0℃)의 광주기로 10일 동안 2일에 1회 100mL씩 물을 공급하였다. 각 식물에 10일 동안 고온, 건조 및 저온 스트레스를 각각 처리한 후 12일간의 회복기간을 거쳤으며, 이후 모든 식물 시료들을 수집하여 식물의 생장 상태와 식물 내에 함유된 총 클로로필(total chlorophyll), MDA(malondialdehyde) 및 프롤린(proline)의 함량을 측정하였다.

[0064]

그 결과, 도 5에 개시한 바와 같이, 들잔디에 고온 스트레스를 처리한 경우, 시들음 현상이 나타났으며 회복기간 후에도 식물이 모두 고사한 반면, 본 발명의 스트렙토마이세스 아난다이 J6 균주를 처리하고 고온 스트레스를 처리한 후 회복기간을 거쳤을 때에는 식물의 생장이 모두 회복된 것을 확인할 수 있었다. 또한, 본 발명의 스트렙토마이세스 아난다이 J6 균주는 고온 스트레스를 처리하거나 회복기간 동안에  $1.0 \times 10^6$  CFU/g의 농도로 토양에서 높게 밀집되어 있었으며, 아무것도 처리하지 않은 대조군에서 고온 스트레스 처리로 인해 총 클로로필 및 프롤린 함량이 감소된 반면, 본 발명의 스트렙토마이세스 아난다이 J6 균주를 처리한 군에서는 총 클로로필 및 프롤린 함량이 증가되었다. MDA의 경우에도, 본 발명의 스트렙토마이세스 아난다이 J6 균주를 처리함으로써 아무것도 처리하지 않은 대조군에 비해 MDA 함량이 감소된 것을 확인할 수 있었다. 뿐만 아니라, 본 발명의 스트렙토마이세스 아난다이 J6 균주를 처리하고 건조 및 저온 스트레스를 각각 처리하였을 때에도 아무것도 처리하지 않은 대조군에 비해 식물의 생장이 회복되며, 식물 내 총 클로로필 및 프롤린 함량이 증가되고, MDA 함량이 감소되는 것을 확인할 수 있었다(도 6 및 도 7).

## 수탁번호

[0065]

기탁기관명 : 한국생명공학연구원

수탁번호 : KCTC18973P

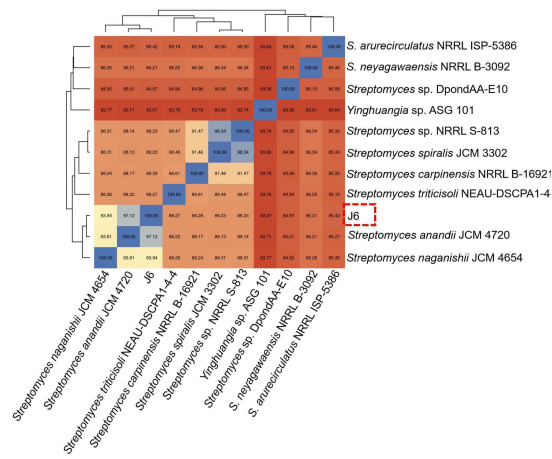
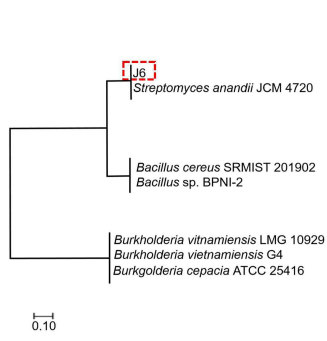
수탁일자 : 20220104

## 도면

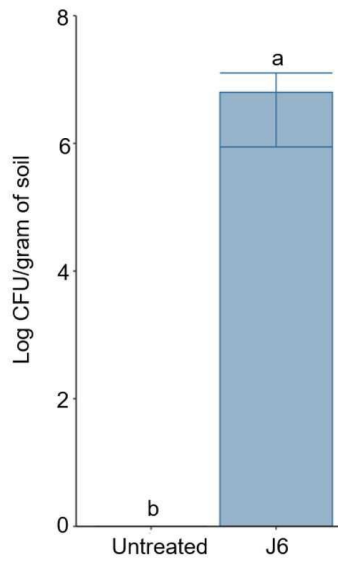
### 도면1



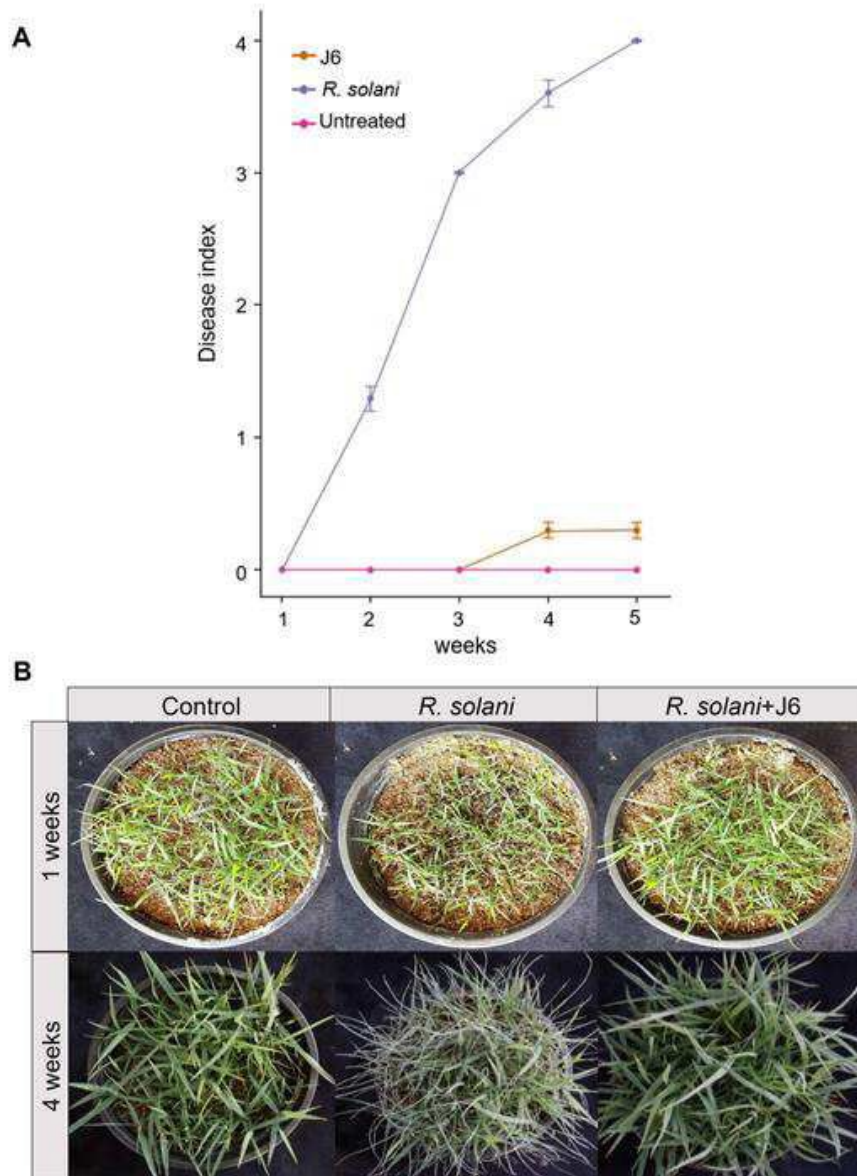
도면2



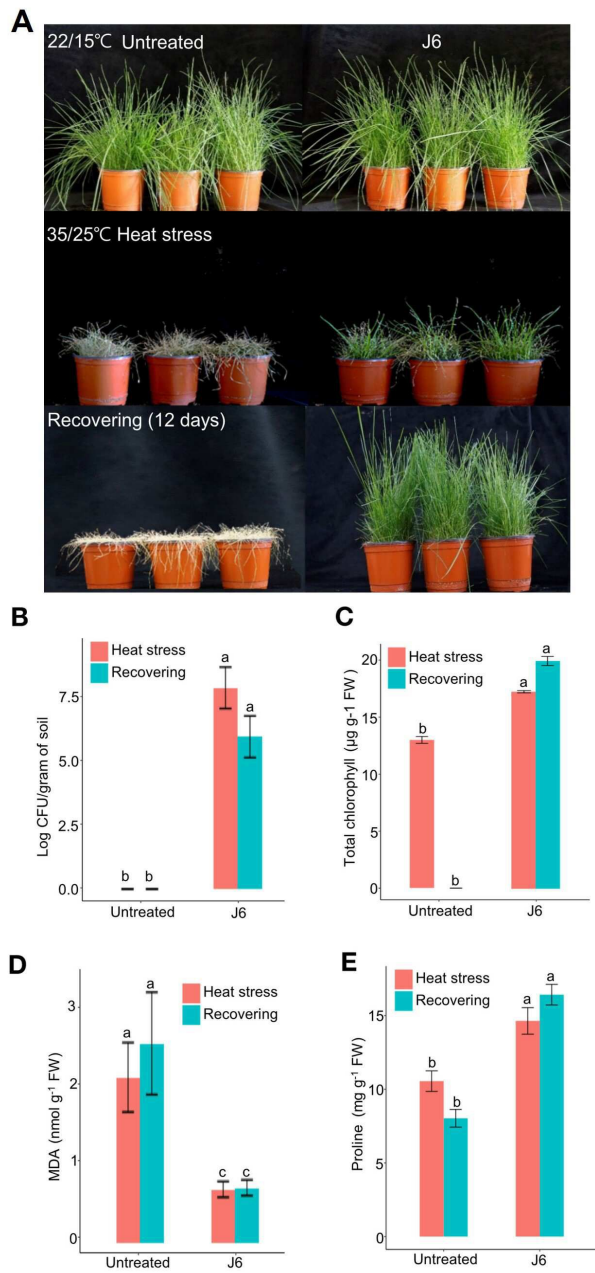
도면3



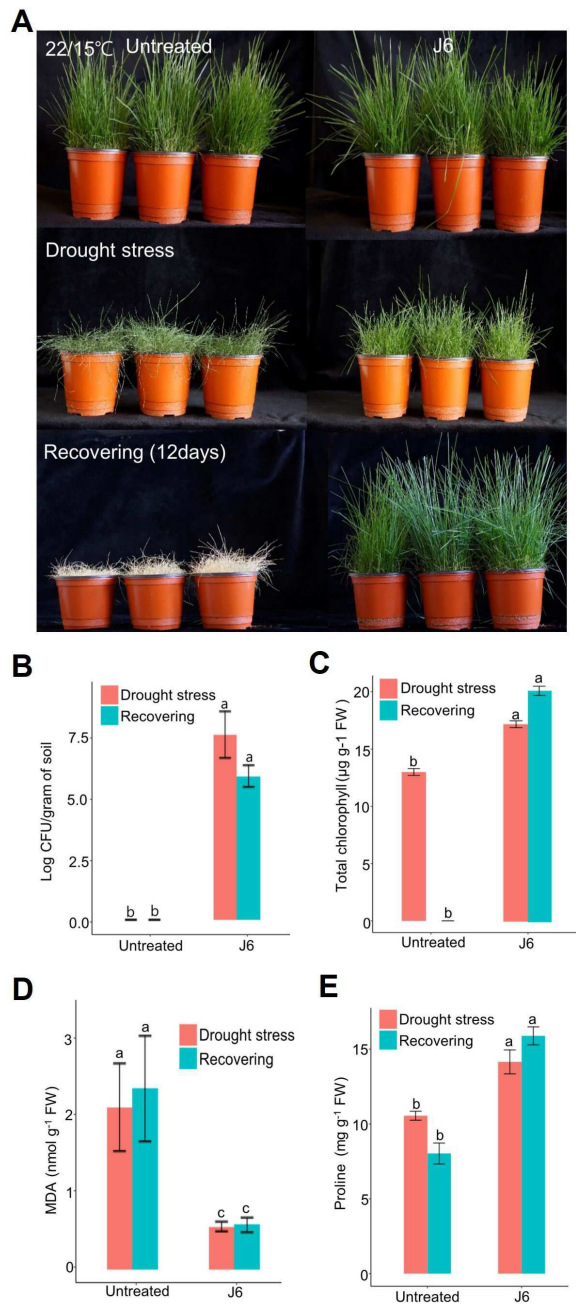
도면4



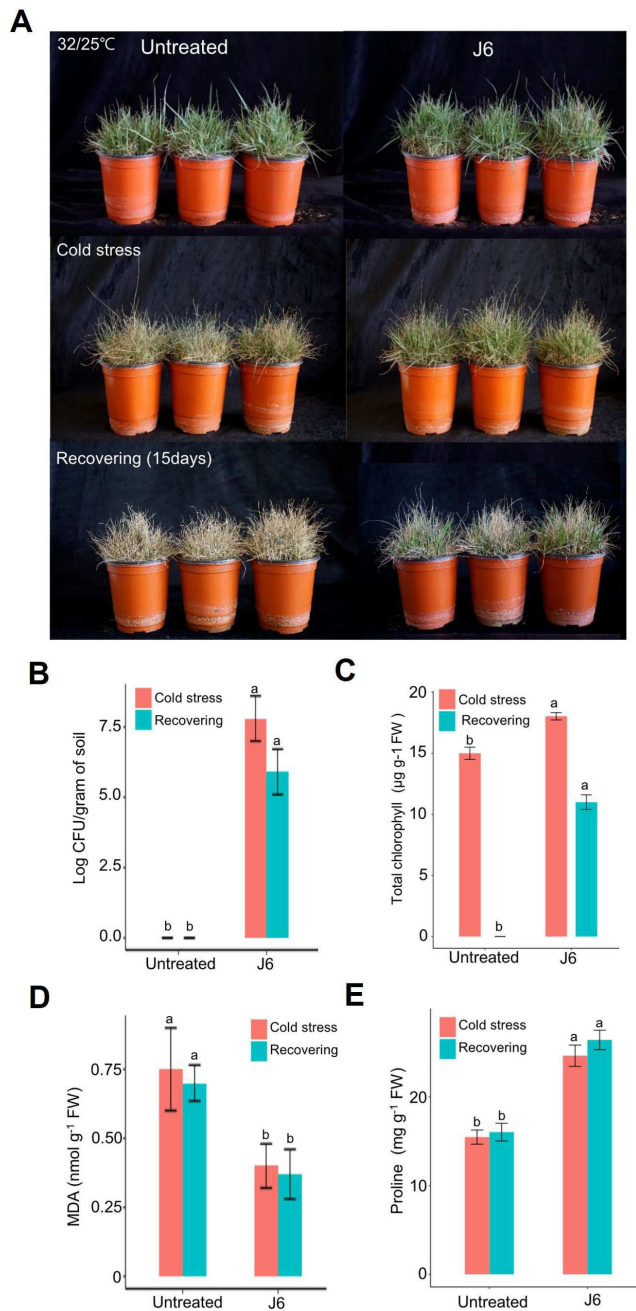
도면5



도면6



## 도면7



## 서열 목록

- <110> INDUSTRY-ACADEMIC COOPERATION FOUNDATION GYEONGSANG NATIONAL UNIVERSITY
- <120> Streptomyces anandii J6 strain having antifungal activity and conferring environmental stress resistance to plant and uses thereof
- <130> PN21520
- <160> 3
- <170> KoPatent In 3.0
- <210> 1

<211> 1419

<212> DNA

<213> Streptomyces anandii

<400> 1

gtgagcgaca ccgaccgtcg gccccgcacg gccggcaagc cctaccgccg tccccagaag 60

gaccccgtec gcatcctcgc cttcgacgcg ctgcgcgccg tggacgagcg ggacgcgtac 120

gccaacctcg tgctgcccc gctgtctgcg aaggcgcgcg agaaggcgcg cttcgacggc 180

cgggacgcgc cgctggcgac cgagctggtc tacggcacgc tgcggcgcca ggggacgtac 240

gacgcgatcc tcgccgcctg cgtcgaccgg ccgctccggg aggtcgacc gcccgctctc 300

gacgtactga cctcggcgcc ccaccagtgc ctggggacgc gcatcccgag ccacgccgcc 360

gtctctccca ccgtcgagct cgcccgctc gtctctggcg acggcgggcg caagtctgtc 420

aacgccgtgc tgcgcaaggt ggcgaggac gacctcgacg gctggctgga gaagatcgcc 480

ccgccctacg acgaggaccc cgaggaccac ctgccgctcg tccactccca cccacgtgg 540

gtcgtctccg cctgtggga ctccctcgcc ggcgccggcg ccggcatcga ggacctgctg 600

gaggcggaaca acgagcgccc cgaggtcacc ctggctgccc gccccggcg gccaccgcc 660

gaggagctgc tgcgcgagga ggccgcccgt ccggcgccgt ggtccccgta cgcgggtcgg 720

ctcaccgagg ggcgcgagcc gggcgccgtg gacgccgtgc gggaggcgcc cgcgggctg 780

caggacgagg gcagccagct cgtcgccctg gccctggcga acgcgccct ggacgttccc 840

gacggcaagt ggctcgacgc ctgcgcggcg cccggcgcca aggcggccct gctcgccgcg 900

ctcgccgccg aacgcgggtg cgcgtgtct gcctccgaga agcagcccca ccgcgcggcg 960

ctggtggcca aggcgctcgc cggaaccgc ggcccctacc aggtgatcgc cgccgacggc 1020

acccgtccgc cgtggcgccc cggaagcttc gaccgcgtcc tcgtcgacgt gccctgcacc 1080

ggcctggcg ccctgcgcgc ccgcccggag gcacgtggc gccgcccgc ggaggacctg 1140

gacggcttcg ccccgtccca gcgcgggctg ctgcgcacgg ccctggagtc ggtgcggccc 1200

ggcgtgtctg tcggctacgc cacctgtctg cccacctcg ccgagacgc cgccgtctg 1260

gccgacgtgc tcaagcaatt ccccgcgcc gaactgatcg acgcccgc cctctgccc 1320

ggcgtccccg cctcggcgga gggcccgga gtacaactgt ggccccacct gcacggcacc 1380

gacgcgatgt acctcgccct tattcggcgg accgcctga 1419

<210> 2

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> primer

<400> 2

agagtttgat cctggctcag

20

<210> 3

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> primer

<400> 3

ggttaccttg ttacgactt

19