

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(51) Int. Cl.⁶
C12N 1/20

(45) 공고일자 2000년01월 15일

(11) 등록번호 10-0239153

(24) 등록일자 1999년 10월 19일

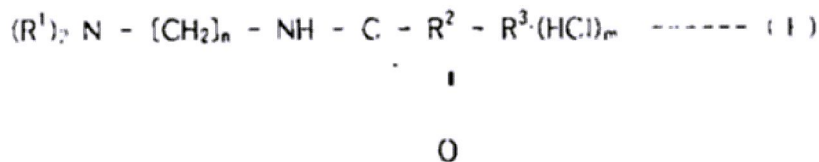
(21) 출원번호	10-1992-0023235	(65) 공개번호	특 1993-0013096
(22) 출원일자	1992년 12월 04일	(43) 공개일자	1993년 07월 21일
(30) 우선권주장	91-348617 1991년 12월 06일 일본(JP)		
(73) 특허권자	애그리컬처럴 제네틱스컴퍼니 리미티드	데이비드 제임스 해밀턴	
	영국 에스지 87알이 하트샤 로이스톤 쓰리플로우 처치스트리트		
(72) 발명자	잉그리드 아리아스드 윌리엄스		
	영국 에이엘 52제이큐 허스 하펜덴 로삼스테드 엑스페리멘탈스테이션		
	조나단 데이		
(74) 대리인	영국 에이엘 52제이큐 허츠하펜덴 로삼스테드 엑스페리멘탈스테이션		
	김종갑, 남계영		

심사관 : 김형준

(54) 브이에이균근균 접종 담체의 제조법

요약

본 발명은 VA 균근균 접종용 담체의 존재하여 VA 균근균으로 감염된 식물체를 재배하여 VA 균근균 접종물을 제조함에 있어서 일반식(1)



{식중 R¹은 수소원자 또는 메틸기, R²은 산소원자 또는 유황원자, R³은 탄소의 2-4의 알킬기, 1-메틸-2프로필기 또는 알릴기, n은 2-5, m은 0 또는 1을 각각 나타낸다} 로 표시되는 화합물을 VA 균근균접종용 담체에 첨가하는 VA 균근균 접종물의 제조법을 제공하는 것이다. 본 발명의 제조방법에 따르면 VA 균근균의 균사의 증식이 빠르고, 더구나 포자의 형성도 촉진된다.

또한 식(1)의 특정한 화합물을 재배종의 식물체에 적용함으로써 잡균의 오염도 방지된다.

그 때문에 VA 균근균의 포자밀도가 높고, 또한 활성이 우수한 VA 균근균제제를 싼값에 제조할 수가 있는 VA 균근균접종물의 제조방법이다.

명세서

[발명의 명칭]

브이에이균근균 접종 담체의 제조법

[발명의 상세한 설명]

본 발명은 농업이나 원예등의 분야에서 유용한 VA 균근균(vesicular arbuscular mycorrhizae)접종물의 제조법에 관한 것이며 상세하게는 담체의 존재하여 VA 균근균 감염식물을 재배해서 VA 균근균 접종물을 제조함에 있어서 특정한 화합물을 적용해서 피통병, 전염병, 노균병등의 병해에 걸리는 것을 방지하고, 더구나 VA 균근균의 증식과 포자형성을 촉진해서 포자밀도가 높고 활성이 우수한 VA 균근균 접종물을 제조하는 방법에 관한 것이다.

VA 균근균은 각종 식물에 감염되어 공생하므로써 그 식물의 생장촉진이나 내병성을 향상시키는 것이 알려져 있다. (「농업 및 원예」 제62권 제8호 930-937쪽 1987년, 식물방역 제42권 제5호 259-266쪽 1988)

그러나 지금까지 VA 균근균을 인공적으로 증식시켜 식물에 감염시키기 위해 사용할 수가 있는 VA 균근균 접종물로서 실용적인 것은 알려져 있지 않다.

종래에 VA 균근균 접종물로서 알려져 있는 것은 분리한 VA 균근균 포자를 담체에 점토분말과 함께 정착시킨 것이나 발포점토등의 다공질인 담체를 사용해서 접종물을 제조한 것이 있으나 활성이 충분하지 않을뿐더러 고가로 실용적인 것이라고는 할 수 없었다.

그런데 VA 균접종물의 기지의 조제법은 다음의 2가지로 나누어진다.

① 포자 분리후 회수하여 그 포자를 질석 애터펄자이트(attapulgate), 규조토등의 담체에 카르복시메틸 셀룰로오스 등의 접착물과 함께 혼합해서 입자상화시키는 방법(일본국 특개평 1-165369호 공보)이나 담체로서 탄을 사용하는 방법(일본국 특개 평 3-1030124호 공보).

② 담체로서 토양(일본국 특개평 3-58715호 공보 동 3-76572호 공보)이나 발포시킨 점토경석등의 다공성 구조를 갖는 것(일본국 특개소 60-237987호 동 55-118390호 공보), 이온교환체(일본국 특개소 63-87973호 공보)를 사용해서 식물뿌리와 VA 균근균을 공생시켜서 VA 균근균을 증식시키고, 이들 담체에 부착한 균근균을 그대로 접종물로서 사용하는 방법.

그러나 상기한 ①의 방법에서는 포자를 분리하는 과정 입자상화 과정에서 포자에 손상이 주어지거나 입자상화과정에서 강제 건조시키기 때문에 포자가 고반도로 사멸하기 때문에 양질의 접종물을 제조하는 것은 곤란하다. 한편, 전기한 ②의 방법에서는 천연의 토양을 사용할 경우 병원균에 의한 오염이 문제가 된다.

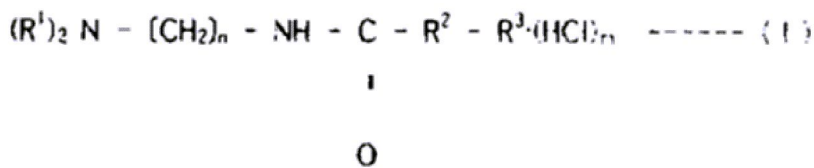
또 미세입자토양을 VA 균근균의 담체로 하고 거친입자 토양과 깊이 방향의 계면에 충전해서 식물을 재배하는 방법(일본국 특개소 3-76572호 공보)에서는 0.1mm-1mm의 미세입자토양에 증식한 VA 균근균을 회수하여 이것을 사용하면 제조과정(2-4개월)에서 미세입자토양이 분쇄되어 막힘이 발생한다.

그 때문에 이 상태에서는 산소의 공급이 충분히 행해지지 않고 VA 균근균의 증식에 바람직하다고는 할 수 없다.

또 병원균등의 잡균의 오염의 위험성도 높다.

다시 또 전기한바와 같이 다공성 양성이온교환체를 담체로 하고 감자류를 숙주식물로해서 VA 균근균을 증식하는 방법이 있으나 이 방법은 숙주식물이 감자에 한정되어 있는 것 담체자체가 고가이기 때문에 실용적이지 않다.

이와같은 과제를 해결하기 위해 본 발명자들은 예의 연구를 진행시킨결과 VA 균근균을 접종한 식물의 재배중에 특정의 화합물을 살포함으로써 피토타(phythim)병이나 노균병의 식물의 질병의 발생을 방지할 수 있는 것 외에 VA 균근균의 균사의 증식이 촉진되고, 또한 포자형성도 촉진되기 때문에 싸고 실용적인 VA 균근균 접종담체가 얻어지는 것을 발견하여 이 발견에 기초해서 본 발명을 완성했다. 즉 본 발명은 VA 균근균 접종용 담체의 존재하에서 VA 균근균으로 감염된 식물체를 재배하여 VA 균근균 접종물을 제조함에 있어서, 일반식(1)



[식중 R¹은 수소원자 또는 메틸기, R²는 산소원자 또는 유황원자, R³는 탄소수 2-4의 알킬기, 1-메틸 -2 프로필기 또는 알릴기, n은 2-5, m은 0 또는 1을 각각 나타낸다.]로 표시되는 화합물을 VA 균근균 접종용 담체에 첨가하는 것을 특징으로 하는 VA 균근균 접종물의 제조법을 제공하는 것이다.

VA 균근균 토양중에 존재하는 접합균의 1종이며, 그 균사가 각종식물의 뿌리에 붙어서 균근을 형성하고, 양자가 공생하는 것이 알려져 있다.

본 발명에서 사용되는 균근균으로서는 각종의 것이 있고, 예를 들면 기가스포라(gigaspora)속, 아카울로스포라(acaulespora)속, 엔트로포스포라(entrophospora)속, 스크레로시스티스(sclerocystics)속, 스커텔로스포라(scutellospora)속, 글로무스(glomus)속등에 속하는 미생물을 들 수가 있다.

보다 구체적으로는 예를들면 기가스포라마르가리타(gigaspora margarita), 아카울로스포라라에비스(acaulespora laevis), 엔트로 포스포라 인프레켄스(entrophospora inzrequens), 스크레로시스티스 다씨(sclerocystics dussi), 스카펠로스포라 그레가리아(scutellospora gregaria), 글로무스 모세아에(glomus mosseae), 글로무스 인트라라디세스(glomus intraradicea), 글로무스 칼리도늄(glomus caledonium), 글로무스 패시쿨레이텀(glomus fasciculatum)등을 들 수 있다.

이들 VA 균근균을 수집하는 방법으로서의 자연계로부터 채를 사용하여 수집하는 방법(스즈끼저 VA 균근에 관한 제문제5, 농업 원예 제62권 제3호, 28-33쪽, 1987)이나 원심분리에 의한 방법(일본국 특개소 63-309178호 공보)이 알려져 있다.

또 영양 박막 배양법(일본국 특개소 55-118390호 공보)이나 기관배양한 뿌리를 사용하는 방법(일본국 특개소 62-49037호 공보)등에 의해 무균적으로 VA 균근균을 증식시켜 포자를 형성하는 방법도 있다.

또한 이와같이 해서 얻은 포자를 균사로부터 분리하여 단독으로 취급하는 경우 건조시키면 활성이 저하하기 쉽게 되기 때문에 습한 상태에서 보존하는 것이 바람직하다.

또 포자의 발아억제, 활성유지 및 잡균오염방지를 위해 저온에서 보존하는 것이 바람직하다.

본 발명에서 VA 균근균과 공생시키는 숙주식물로서는 생장이 빠르고 뿌리가 잘 뻗는 식물로서 또한 VA 균근균이 감염되기 쉬운 식물이면 특히 한정되지 않지만 예를들면 옥수수, 개불, 수수, 보리, 잔디, 수단 그래스(sudan grass)등의 벼과식물, 가지, 토마토, 피망, 고추등의 가지과식물, 콩, 완두콩, 녹두, 땅콩, 알팔파(alfalfa)클로버등의 콩과식물, 마리골드(marigold), 해바라기, 시네라리아, 국화등의 국화

과식물, 딸기등의 장미과식물, 마늘, 양파등의 백합과식물이 바람직하다.

이들 식물은 파종이나 실생묘로서 사용하는 외에 파종해서 육묘후 이식해서 재배하거나 영양번식시키거나 삼목한 싹 삼목, 접목, 구근등에 의해 증식재배하거나해서 사용된다.

본 발명에서 사용하는 식물의 VA 균근균 접종용담체(기자재라고도 한다)로서는 무기질이며 또한 물을 함유하므로써 붕괴되기 어려운 것이라면 특히 제한은 없고, 사용할 수 있으나 토착의 잡균의 혼입방지라는 관점에서 감균처리(소성처리도 포함)한 기자재가 바람직하다.

구체적으로는 소성 애터펄자이트 소성 몬모릴로나이트(mont-morillonite), 소성규조토, 제올라이트, 소성호박점토, 경석등이 특히 바람직하다.

또 다른 기자재를 복수 사용해도 된다.

여기서 소성애터펄자이트나 소성 몬모릴로나이트로서는 입자 직경 0.5-5mm, 바람직하게는 1-3mm의 것을 소성온도 200-1300℃로 처리한 것이 사용되지만, 필요에 따라 알루미나등의 결합제를 사용해서 입자상화한 것도 사용된다.

또 소성규조토는 입자직경 0.5-5mm, 바람직하게는 1-3mm의 것을 소성온도 200-1300℃, 바람직하게는 300-1000℃로 처리한 것이 사용되지만 몬모릴로나이트, 애터펄자이트의 점토를 결합제로써 사용할 수가 있다.

또 알루미나등도 결합제로써 사용할 수 있으나 그 경우 PH를 5.5-7.5로 조정하는 것이 바람직하다.

다시 또 제올라이트로서는 입자직경이 0.5-5mm, 바람직하게는 1-3mm이며 표면이 구상으로 매끄럽지 않고, 입자평면구조를 갖는 것이 바람직하다.

또 소성 호박점토로서는 입자직경이 0.5-5mm, 바람직하게는 1-3mm의 것을 소성온도 20-1300℃, 바람직하게는 200-1000℃로 처리한 것이 사용된다.

또한 상기한 기자재 1-10부에 대해 경석을 1부의 비율로 혼합한 것을 아주 적당하게 사용할 수 있다.

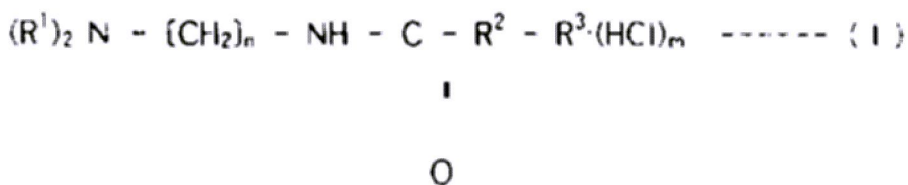
이 경우의 경석의 입자직경은 0.5-5mm의 것이 바람직하다. VA 균근균의 숙주식물체의 감염방법에 대해 기술하면 VA 균근균의 적용시기로서는 숙주식물의 발근전후의 어느 때라도 좋지만 특히 파종이나 삼목한 싹의 전처리시, 파종기나 삼목한 싹과 동시 혹은 묘의 이식시기등이 바람직하다.

또, 적용방법으로서 기자재와 혼합하거나 종자나 싹의 하층에 층상으로 적용하거나 혹은 정식식목시의 식목구멍에 적용시키는 것이 바람직하다. 다시 또 VA 균근균의 사용량은 제한은 없으나 통상 1식물체당 1-100,000개 정도이다.

VA 균근균의 숙주식물체의 감염이나 숙주식물의 재배는 기지의 방법에 의해 행하면 되고, 예를들면 온도는 5-60℃, 바람직하게는 10-45℃ 토양의 PH는 3-9.5, 바람직하게는 4-7.5의 조건으로 행해진다.

이와 같이 해서 숙주식물을 재배하면 그 식물의 생육에 수반하여 VA 균근균의 감염이 성립되고 VA 균근균은 증식된다.

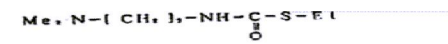
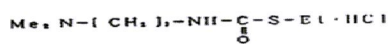
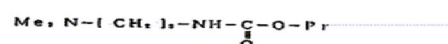
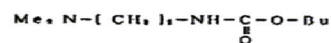
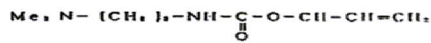
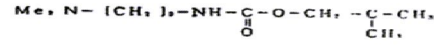
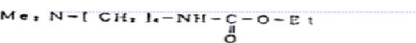
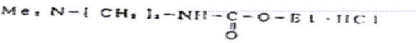
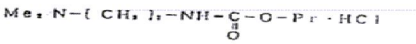
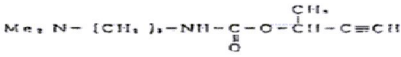
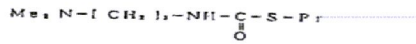
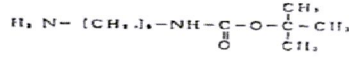
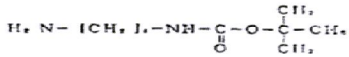
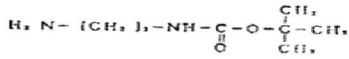
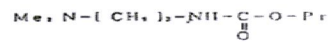
본 발명에서는 VA 균근균이 감염된 식물을 전기한 담체(기자재)의 존재하에 재배함에 있어서 이하에 나타내는 일반식(1)로 표시되는 화합물을 VA 균근균 접종용 담체에 살포한다.



[식중 R¹은 수소원자 또는 메틸기, R²는 산소원자 또는 유황원자, R³는 탄소수 2-4의 알킬기, 1-메틸-2프로필기 또는 알릴기, n은 2-5, m은 0 또는 1을 각각 나타낸다.] 여기서 탄소수 2-4의 알킬기로서는 에틸기, 프로필기, 부틸기, t-부틸기, 이소-부틸기등을 들 수 있다.

이와 같은 화합물로서는 하기의 식으로 표시되는 것등을 들 수 가 있다. 또한 식중 Me는 메틸기, Et는

에틸기, Pr은 프로필기, Bu는 부틸기를 나타낸다.



상기한 화합물의 살포방법에 대해서는 특히 제한이 없고, 통상의 행하여지는 형태로 되고, 예를들면 그 화합물을 0.13-3.0mg/ℓ, 바람직하게는 0.3-1.5mg/ℓ 의 농도의 수용액으로 해서 식물 묘1개당 100-500 ml 정도 묘근방에 살포하면 된다.

또 식물의 재배에 있어서는 필요에 따라 물을 주거나 영양분을 공급할 수 있다.

상기한 화합물을 살포하고 나서 통상 2-5개월 경과해서 숙주식물이 충분히 생육한 시점에서 물 영양분 등의 공급을 중지해서 잠시 방치하면 VA 균근균은 포자를 형성한다.

여기서 형성된 VA 균근균포자가 부착된 기자재를 회수 하므로써 VA 균근균접종물(제제)이 얻어진다.

이와 같이 해서 얻어진 VA 균근균접종물은 VA 균근균이 감염될 수 있는 식물에 적용되어 각종 식물의 재배에 이용된다.

[실시에]

다음에 본 발명의 실시예에 의해 보다 상세히 설명한다.

[실시에 1-3 및 비교예 1,2]

화분 6호(직경 187mm×높이 146mm)15개에 3mm 메시의 체를 통과하고, 1mm의 체에 남은 소성몬모릴로나이트를 채웠다.

각 화분 중에 VA 균근균(글로무스 패시 쿨레이텀)의 포자 190개를 깊이 3mm의 곳에 포자가 물과 함께 아래로 흘러나가지 않게 화장지위에다 놓았다.

그 위 1cm의 곳에 옥수수(가네코 종묘사의 골덴텐트 DK649)의 종자를 2알 놓았다.

화분중의 몬모릴로나이트, VA 균근균 및 옥수수의 종자를 충분히 적시게 한후 비닐 시이트를 덮었다.

이것을 유리온실내를 20-25℃로 유지해 나가면서 1주일간 물이 마르지 않도록 해서 재배했다.

생육된 묘중 건전한 묘를 남기고 다른 묘를 제거해서 그후 같은 모양으로 유리온실내에서 매일 물을 주면서 재배했다.

파종한 날로부터 1개월후 15개의 화분중 5개의 화분에 프로필-3-(디메틸 아미노)프로필 카르바메이트 염산염 700mg/ℓ로 조제한 수용액(이하 약제라 약칭한다)을 300ml 살포했다. (실시에 1), 기타의 10개의 화분은 물만을 주었다.

그후 주 1회 피터스(peters)액체비료(20-10-20)의 1000배액을 살포해서 1개월간 재배했다.

이 시점에서 구멍 뚫이에 의해 식물의 밑뿌리로부터 5cm 떨어진 곳의 소성몬모릴로나이트를 시료로서 빼내어 VA 군사가 부착되어 있는 소성 몬모릴로나이트의 수를 계측했다.

총 소성몬모릴로나이트 수당 VA 균근균이 부착되어 있는 수를 군사부착율로 해서 5개화분당 평균치를 제1표에 나타낸다. 또 대조 예로서 상기 약제를 살포하지 않은 10개의 화분중 5개 화분을 무작위로 추출하여 같은 모양으로 시료를 빼내어 5개 화분당의 군사 부착 율을 구했다.(비교예 1) 다시 또 상기한 액체비료를 주 1회 주면서 1개월간 재배를 계속하고 그후 물액체비료의 살포를 중지했다.

그때 앞서 약제를 살포한 화분 5개에 같은 농도의 약제를 300ml 살포하고(실시에 2), 또 별개의 새로운 화분(재배 1개월에서는 약제를 살포하지 않은 것) 5개 화분에 같은 농도의 약제를 300ml 씩 살포했다(실시에 3). 또 대조 예로서 나머지 5개 화분에는 약제를 살포하지 않았다.(비교예 2)

그후 물 액체비료의 공급을 중지하고 20일간 방치하고 나서 화분을 뒤집어서 옥수수 뿌리와 VA 균근균을 포함하는 소성몬모릴로 나이트를 비닐시이트위에 펼쳤다.

옥수수의 굵은 뿌리를 제거하고 그대로 15℃의 암소에서 건조시켰다.

이와같이 해서 얻어진 시료를 1개화분당 1g 씩 무작위로 3개소로부터 채취하여 부착되어 있는 포자수의 평균치를 측정했다.

각 예의 5개화분에서 얻어진 값의 평균치를 VA 균근균포자수로서 제1표에 나타낸다.

[표 1]

	VA균근균 군사 부착율(%)	VA균근균 포자수(개/g)
실시예1	47	-
비교예1	31	-
실시예2	-	93
실시예3	-	85
비교예2	-	67

[실시에 4,5 비교예 3,4]

접종용담체로서 소성몬모릴로나이트 대신에 소성애퍼털자이트를 사용하고 글로무스 패시쿨레이텀 대신에 글로무스 칼리도눔(실시에 4), 또는 글로무스 모세아에(실시에 5)를 사용하는 것이 되는 실시예 2와 같은 조작을 반복했다.

실시에 2와 같은 방법으로 부착된 포자의 수를 계측했다. 그 평균수를 제2표에 나타낸다.

약제를 살포하지 않는 것을 제외하고는 실시예 4와 같은 조작을 반복했다(비교예 3).

또한 약제를 살포하지 않는 것을 제외하고는 실시예 5와 같은 조작을 반복했다(비교예 4).

실시에 2와 같은 방법으로 부착된 포자의 수를 계측했다.

그 평균수를 제2표에 나타낸다.

출원인은 어떤 관계당사자의 시료의 제공요청에 따라 글로무스 칼리도눔이나 글로무스 모세아에의 시료를 제공할 용의가 있다.

[표 2]

	VA균균균 포자수(개/g)	
	글로우스 칼리도늄	글로우스 모세이에
실시례4	124	-
비교례3	64	-
실시례5	-	132
비교례4	-	79

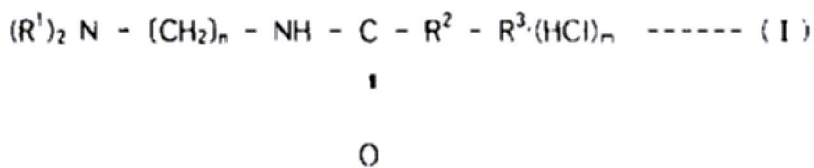
본 발명의 방법에 따르면 VA 균균균의 균사의 증식이 빠르고 더구나 포자의 형성도 촉진된다. 또 약제의 살포에 의해 잡균오염도 방지된다. 그 때문에 VA 균균균의 포자밀도가 높고, 또한 활성이 우수한 VA 균균균제제를 싼값에 제조할 수가 있다.

따라서 본 발명에 의해 얻어지는 VA 균균균제제는 실질적인 자재로서 유효하게 이용된다.

(57) 청구의 범위

청구항 1

VA 균균균 접종용 담체의 존재하에서 VA 균균균으로 감염된 식물체를 재배하여 VA 균균균 접종물을 제조함에 있어서, 일반식(1)



[식중 R¹은 수소원자 또는 메틸기, R²는 산소원자 또는 유황원자, R³는 탄소수 2-4의 알킬기, 1-메틸-2프로필기 또는 알릴기, n은 2-5, m은 0 또는 1을 각각 나타낸다.] 로 표시되는 화합물을 VA 균균균 접종용 담체에 첨가하는 것을 특징으로 하는 VA 균균균 접종물의 제조법.

청구항 2

제1항에 있어서, VA 균균균이 적어도 기가스포라, 아카울로스포라, 엔트로포스포라, 스크레로시스티스, 스카텔로스포라, 및 글로우스속으로 구성된 군중에서 선택된 1종인 것을 특징으로 하는 VA 균균균 접종물의 제조법.

청구항 3

제1항에 있어서, VA 균균균 접종용 담체가 적어도 소성 애터펄자이트, 소성 몬모릴로나이트, 소성 규조토, 제올라이트, 소성 호박점토 및 경석으로 구성된 군에서 선택된 1종인 것을 특징으로 하는 VA 균균균 접종물의 제조법.

청구항 4

제1항에 있어서, 일반식 (1)의 화합물이 프로필 -3-(디메틸아미노)프로필 카르바메이트 염산염인 것을 특징으로 하는 VA 균균균 접종물의 제조법.