



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2018년02월19일
(11) 등록번호 10-1829737
(24) 등록일자 2018년02월09일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A01N 31/08 (2006.01) A01C 1/06 (2006.01)
A01G 7/06 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A01N 31/08 (2013.01)
A01C 1/06 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2016-0137728
(22) 출원일자 2016년10월21일
심사청구일자 2016년10월21일
(56) 선행기술조사문헌
African Journal of Biotechnology, 2010, vol.
9(36), pp. 5845-5851.*
(뒷면에 계속)

- (73) 특허권자
경상대학교산학협력단
경상남도 진주시 진주대로 501 (가좌동)
(72) 발명자
전종록
대전광역시 유성구 송강로42번길 61, 512동 1109
호 (송강동, 송강청솔아파트)
차준영
경상남도 창원시 의창구 반계로 104-9, 201동
1002호
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
최규환

전체 청구항 수 : 총 6 항

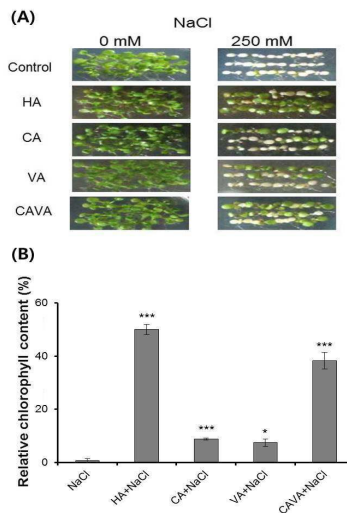
심사관 : 김민수

(54) 발명의 명칭 **페놀계 중합체를 유효성분으로 함유하는 식물의 염 스트레스 내성 증진용 조성물 및 이의 용도**

(57) 요약

본 발명은 페놀계 중합체를 유효성분으로 함유하는 식물의 염 스트레스 내성 증진용 조성물 및 이의 용도에 관한 것으로, 본 발명의 식물의 염 스트레스 내성 증진용 조성물은 식물의 염 스트레스 내성을 증진시키는 효과가 우수하여 토양에서 발아 또는 재배되는 식물에 염 저항성을 부여할 수 있으므로, 고염 지역 및 해안 지역의 식물에 유용하게 활용될 수 있다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A01G 7/06 (2013.01)

(72) 발명자

김희연

경상남도 진주시 내동면 순환로 425-61, 110동
1402호 (남강휴먼빌아파트)

김태완

경상남도 통영시 도천4길 4-11

(56) 선행기술조사문헌

Wissenschaftlich-Technische Berichte FZR-399,
2004, ISSN 1437-322X, pp.1-80.*

Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2007,
vol 60, pp.201-206*

American Journal of Plant Sciences, 2014, vol
5, pp.726-735*

Zille, Andrea, et al. "Laccase polymerization
of amino-phenol compounds." 229th ACS National
Meeting. 2005*

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 115085-2

부처명 농림축산식품부

연구관리전문기관 농림수산식품기술기획평가원

연구사업명 농생명산업기술개발사업

연구과제명 리그닌 전구체를 이용한 인공 휴믹산 합성 및 식물생장조절제 개발

기 여 율 1/1

주관기관 경상대학교 산학협력단

연구기간 2015.12.18 ~ 2016.12.17

명세서

청구범위

청구항 1

카테콜과 바닐릭산의 공중합체(copolymer)를 유효성분으로 함유하는 식물의 염 스트레스 내성 증진용 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 카테콜과 바닐릭산의 공중합체는 산화제로 중합하는 것을 특징으로 하는 식물의 염 스트레스 내성 증진용 조성물.

청구항 3

제2항에 있어서, 상기 산화제는 염화구리(I), 과산화황산암모늄, 과요오드산나트륨, 염화칼륨 및 산화효소로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나인 것을 특징으로 하는 식물의 염 스트레스 내성 증진용 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 카테콜과 바닐릭산의 공중합체는 카테콜 단량체와 바닐릭산 단량체를 1~10:10~1 중량비로 혼합한 것을 특징으로 하는 식물의 염 스트레스 내성 증진용 조성물.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 따른 식물의 염 스트레스 내성 증진용 조성물을 식물, 식물의 종자 또는 식물 식재 토양에 처리하는 단계를 포함하는 식물의 염 스트레스에 대한 내성을 증진시키는 방법.

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 처리는 침지 또는 분무인 것을 특징으로 하는 식물의 염 스트레스에 대한 내성을 증진시키는 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 페놀계 중합체를 유효성분으로 함유하는 식물의 염 스트레스 내성 증진용 조성물 및 이의 용도에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 환경 스트레스는 식물의 성장을 저해하고 농업 분야에서 수확물의 생산성을 제한하는 요소로서 수분(건조) 스트레스, 저온 스트레스, 염 스트레스 등이 있다. 고염에 노출된 식물은 세포 내 Na^+ 이온의 축적으로 인한 세포 내 이온농도의 불균형(ionic imbalance)과 삼투압의 불균형(osmotic imbalance)이 일어나게 되며, 이와 함께 영양 장애, 대사장애, 광합성 장애 등이 일어나게 된다.

[0003] 환경 스트레스에 대한 식물의 적응능력은 농업생산성과 직결되기 때문에, 이에 대한 연구는 인간이 농경생활을 시작하면서부터 꾸준히 관심을 가져온 중요한 연구주제이다. 식물이 생산할 수 있는 총 생산량을 100%로 보았을 때, 실제 생산량은 21%에 불과하며, 그 중 대부분은 가뭄, 냉해, 염해 등을 비롯한 환경 스트레스에 의하여 손실되게 되며 이는 작물총생산량의 약 69%에 달한다. 이 중 고염 스트레스에 영향을 받는 지역은 전 세계 농경지 면적 중 20%에 달하며, 물을 필요로 하는 관계농업면적의 약 40% 이상이 염류에 영향을 받고 있다. 따라서 식물 환경 스트레스 저항성 및 염류저항성 관련 핵심물질 확보를 통하여 이러한 손실을 단 1%만 줄일 수 있다고 하더라도 미래 인류가 당면할 식량문제를 획기적으로 개선할 수 있을 것으로 기대된다.

[0004] 한편, 한국등록특허 제1050251호에는 락카아제와 천연 저분자 페놀 물질의 친환경 고분자화를 통한 중합체성 염료의 합성 방법에 대해 개시하고 있으며, 한국등록특허 제1648558호에는 식물체의 염 또는 건조 스트레스 저항

성 관련 유전자 및 형질전환 식물체에 대해 개시하고 있다. 하지만, 본 발명의 페놀계 중합체를 유효성분으로 함유하는 식물의 염 스트레스 내성 증진용 조성물 및 이의 용도에 대해 아직까지 개시된 바가 없다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0005] 본 발명은 상기와 같은 요구에 의해 도출된 것으로서, 본 발명에서는 카테콜(catechol) 동중중합체(homopolymer), 바닐릭산(vanillic acid) 동중중합체 및 카테콜과 바닐릭산의 공중합체를 제조하여 NaCl(sodium chloride)과 함께 식물에 처리하였을 때, NaCl 처리를 통해 현저하게 감소된 식물체의 생장을 증진시키고, 식물의 클로로필 함량을 증가시킬 뿐만 아니라 카테콜과 바닐릭산의 공중합체를 처리한 경우, 양성대조군인 휴믹산과 유사한 효과를 나타내는 것을 확인함으로써 본 발명을 완성하였다.

과제의 해결 수단

[0006] 상기 과제를 해결하기 위하여, 본 발명은 카테콜(catechol) 동중중합체(homopolymer), 바닐릭산(vanillic acid) 동중중합체 및 카테콜과 바닐릭산의 공중합체(copolymer)로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 중합체를 유효성분으로 함유하는 식물의 염 스트레스 내성 증진용 조성물을 제공한다.

[0007] 또한, 본 발명은 상기 식물의 염 스트레스 내성 증진용 조성물을 식물, 식물의 종자 또는 식물 식재 토양에 처리하는 단계를 포함하는 식물의 염 스트레스에 대한 내성을 증진시키는 방법을 제공한다.

발명의 효과

[0008] 본 발명의 식물의 염 스트레스 내성 증진용 조성물은 식물의 염 스트레스 내성을 증진시키는 효과가 우수하여 토양에서 밭아 또는 재배되는 식물에 염 저항성을 부여할 수 있으므로, 고염 지역 및 해안 지역의 식물에 유용하게 활용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0009] 도 1은 애기장대를 모델 식물로 하여 본 발명의 카테콜(catechol) 동중중합체(homopolymer), 바닐릭산(vanillic acid) 동중중합체 및 카테콜과 바닐릭산의 공중합체(copolymer)를 각각 처리하였을 때, 애기장대 식물체의 생장(A) 및 클로로필 함량(B)을 확인한 결과를 나타낸 것이다. Control은 아무것도 처리하지 않은 음성대조군이며, HA는 휴믹산(humic acid)으로 양성대조군이며, CA는 카테콜(catechol) 동중중합체이며, VA는 바닐릭산(vanillic acid) 동중중합체이며, CAVA는 카테콜과 바닐릭산을 중량 대비 50:50으로 희석한 후 산화 고분자화 반응을 유도한 카테콜과 바닐릭산의 공중합체를 의미한다. (B)에서 ***은 NaCl만을 처리한 대조군에 대비하여 NaCl과 휴믹산, 카테콜 동중중합체 및 카테콜과 바닐릭산의 공중합체를 함께 처리하였을 때, 클로로필 함량 증가 효과가 통계적으로 차이가 있다는 것을 의미하며, p값이 0.001 미만인 것을 의미한다. *은 NaCl만을 처리한 대조군에 대비하여 NaCl과 바닐릭산 동중중합체를 함께 처리하였을 때, 클로로필 함량 증가 효과가 통계적으로 차이가 있다는 것을 의미하며, p값이 0.05 미만인 것을 의미한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0010] 본 발명의 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 카테콜(catechol) 동중중합체(homopolymer), 바닐릭산(vanillic acid) 동중중합체 및 카테콜과 바닐릭산의 공중합체(copolymer)로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 중합체를 유효성분으로 함유하는 식물의 염 스트레스 내성 증진용 조성물을 제공한다.

[0011] 본 발명에서, 상기 동중중합체 또는 공중합체는 중량평균분자량이 5,000 이하인 것을 특징으로 한다. 용어 「중량평균분자량」은 성분 분자종의 분자량을 중량 비율로 평균하여 얻어지는 평균 분자량으로, GPC(Gel Permeation Chromatograph)로 측정된 표준 폴리스티렌에 대한 환산 수치를 의미할 수 있다. 본 명세서에서는, 특별히 달리 규정하지 않는 한, 용어 「분자량」은 「중량평균분자량」을 의미한다.

[0012] 본 발명에서, 상기 동중중합체 또는 공중합체는 당업계에 알려진 통상의 페놀계 화합물의 산화 중합체 제조 방법에 의해 제조가 가능하며, 이에 제한되지 않는다.

[0013] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 상기 카테콜 동중중합체는 카테콜 단량체를 산화제로 중합하여 제조될 수 있으며, 바닐릭산 동중중합체는 바닐릭산 단량체를 산화제로 중합하여 제조될 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

- [0014] 또한, 상기 카테콜과 바닐릭산의 공중합체는 카테콜 단량체와 바닐릭산 단량체를 산화제로 중합하여 제조될 수 있으며, 바람직하게는 카테콜 단량체와 바닐릭산 단량체를 1:10 내지 10:1 중량비로 혼합하여 제조될 수 있으며, 더 바람직하게는 카테콜 단량체와 바닐릭산 단량체를 1:1 중량비로 혼합하여 제조될 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0015] 상기 카테콜 또는 바닐릭산은 상업적으로 합성/분리되어 파는 물질에 국한되는 것이 아니며, 상기 물질을 다량 함유한 식물류에서 추출한 천연 추출물을 사용할 수 있다. 이러한 천연 추출물의 예로, 포도씨, 살구씨, 복숭아씨, 포도 껍질, 사과 껍질 등 과일류의 씨앗 및 껍질을 활용할 수 있다. 이러한 과일 껍질 및 씨를 바탕으로 한 천연 추출물을 사용할 경우, 좀 더 값싸게 전구물질을 확보할 수 있으며 보다 친환경적으로 식물의 염 스트레스 내성을 증진시킬 수 있다.
- [0016] 상기 산화제로는 염화구리(I), 과산화황산암모늄, 과요오드산나트륨, 염화칼륨 및 산화효소를 포함할 수 있다. 또한, 상기 산화효소는 퍼옥시데이즈 및 락카아제일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0017] 상기 동중중합체 또는 공중합체의 제조방법은 바람직하게는
- [0018] a) 카테콜, 바닐릭산 또는 이들의 혼합물을 알코올이 함유된 아세트산 나트륨 완충액(sodium acetate buffer)에 용해시키는 단계; 및
- [0019] b) 락카아제를 상기 완충액에 배합하여 반응시키는 단계;를 포함하는 제조방법에 의해 제조할 수 있다.
- [0020] 상기 a) 단계에서 알코올이 함유된 아세트산 나트륨 완충액은 바람직하게는 에탄올이 함유된 아세트산 나트륨 완충액일 수 있으며, 더 바람직하게는 25%(v/v) 에탄올이 함유된 100mM 아세트산 나트륨(pH 5.0) 완충액일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0021] 또한, 상기 b) 단계는 락카아제를 첨가하여 반응시키는 과정으로서, 상업화된 락카아제 또는 고체 상태에서 균류 배양을 통해 얻을 수 있는 락카아제를 포함한다. 반응은 실온에서 교반기를 통해 이루어질 수 있으며, 산소의 원활한 공급을 위해 산소 가스 주입이 병행될 수 있다. 이러한 산소의 공급은 락카아제의 촉매 작용을 극대화시킬 수 있다.
- [0022] 상기 b)단계에서 사용한 락카아제는 트라메테스 베르시콜로르(*Trametes versicolor*), 포메스 포멘타리우스(*Fomes fomentarius*), 카에토미움 써모필레(*Chaetomium thermophile*), 뉴로스포라 크라사(*Neurospora crassa*), 콜로리우스 베르시콜(*Colorius versicol*), 보트리티스 시네레아(*Botrytis cinerea*), 리기도포러스 리그노수스(*Rigidoporus lignosus*), 가노데르마 루시둠(*Ganoderma lucidum*), 코리올루스 히르수투스(*Coriolus hirsutus*), 루술라 델리카(*Russula delica*), 플루로토스 오스트레아투스(*Pleurotos ostreatus*), 아스퍼질러스 니둘란스(*Aspergillus nidulans*) 등의 미생물에서 유래된 것일 수 있으며, 바람직하게는 트라메테스 베르시콜로르(*Trametes versicolor*)에서 유래된 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0023] 본 발명은 또한, 상기 식물의 염 스트레스 내성 증진용 조성물을 식물, 식물의 종자 또는 식물 식재 토양에 처리하는 단계를 포함하는 식물의 염 스트레스에 대한 내성을 증진시키는 방법을 제공한다.
- [0024] 상기 식물의 염 스트레스에 대한 내성을 증진시키는 방법으로는 상기 조성물을 식물에 침지하거나 관주, 즉, 분무하여 수행할 수 있다. 침지하는 방법의 경우, 조성물을 식물체 주변의 토양에 붓거나 또는 종자를 조성물에 담가둘 수 있다.
- [0025] 이하, 실시예를 이용하여 본 발명을 더욱 상세하게 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로 본 발명의 범위가 이들에 의해 제한되지 않는다는 것은 당해 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어 자명한 것이다.
- [0026] **제조예 1. 페놀계 중합체의 제조**
- [0027] 본 발명에서는 5mg/ml의 카테콜(CA, catechol)과 5mg/ml의 바닐릭산(VA, vanillic acid)을 각각 25%(v/v)의 무수에탄올이 포함된 100mM의 아세트산 나트륨 완충액(sodium acetate buffer, pH 5.0)에 완전히 용해시켰으며, 카테콜 및 바닐릭산 혼합물(CAVA, catechol/vanillic acid)은 2.5mg/ml의 카테콜과 2.5mg/ml의 바닐릭산을 혼합하여 상기 완충액에 용해시켰다. 상기 완충액에 완전히 용해시킨 CA, VA 및 CAVA 각각에 트라메테스 베르시콜

로르(*Trametes versicolor*) 유래의 락카아제를 첨가한 후, 고분자화를 유도하여 본 발명의 페놀계 중합체를 제조하여 하기 실시예 1에 사용하였다. 휴믹산(humic acid)은 양성대조군으로 증류수에 용해시켜 사용하였다.

[0028] 실시예 1. 페놀계 중합체의 식물의 염 스트레스 내성 증진 효과 확인

[0029] 멸균된 야생형 애기장대(Col-0) 종자를 MS 배지에 5일 동안 배양한 후, 250mM의 NaCl의 처리유무에 따라 카테콜 동중중합체(CA), 바닐릭산 동중중합체(VA) 및 카테콜/바닐릭산 공중중합체(CAVA)가 포함된 MS 배지에 옮겼으며, 배양 5일 후, 애기장대 식물체의 생장을 확인하였다. 또한, 식물의 클로로필 함량을 측정하기 위해, 애기장대 식물체를 80%(v/v) 아세톤에 밤새동안 침지시킨 후, 분광광도계를 이용하여 식물의 클로로필 함량을 측정하였다. 그 결과, 도 1에 개시한 바와 같이 NaCl만을 처리한 대조군(Control)에 비해 NaCl과 페놀계 중합체인 CA, VA 및 CAVA를 함께 처리하였을 때, NaCl 처리를 통해 현저하게 감소된 식물체의 생장을 증진시키고, 클로로필 함량이 증가되었으며, 특히 카테콜/바닐릭산 공중중합체를 처리하였을 경우, 양성대조군인 휴믹산을 처리하였을 때와 유사하게 식물체의 생장 정도 및 클로로필 함량이 증가되는 것을 확인할 수 있었다.

도면

도면1

