



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2014-0118354
(43) 공개일자 2014년10월08일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

C12N 1/20 (2006.01) *C12R 1/01* (2006.01)

(21) 출원번호 10-2013-0034085

(22) 출원일자 2013년03월29일

심사청구일자 2013년03월29일

(71) 출원인

계명대학교 산학협력단

대구광역시 달서구 달구벌대로 1095 (신당동)

(주) 예코원

대구광역시 달서구 달구벌대로 1053, 대구테크노
파크 첨단산업지원센터 208호 (호산동)

(72) 발명자

구경본

대구광역시 수성구 고산로 162, 한일유엔아이 10
8동 702호 (매호동)

이영진

대구광역시 달성군 다사읍 서재로 12길 41-16 건
영캐스빌 101동 1202호

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

공민호, 박우근, 경진영

전체 청구항 수 : 총 6 항

(54) 발명의 명칭 포토랍두스 속 균주 배양용 배지 조성물

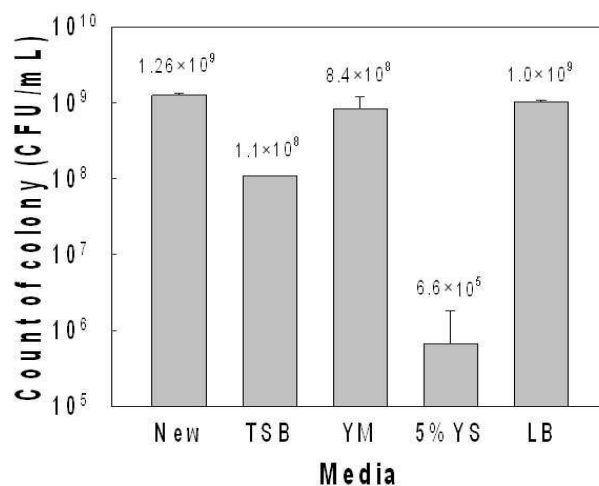
(57) 요약

본 발명은 포토랍두스 속 균주 배양용 배지 조성물에 관한 것으로, 더욱 상세하게는 선충 공생세균인 포토랍두스 속 균주의 최적 생장을 위한 배지 조성물에 관한 것이다.

본 발명에 따른 포토랍두스 속(*Photorhabdus spp.*) 균주 배양용 배지 조성물은 탈지 분유, 효모 추출물, 펩톤, 난황분, 콜레스테롤, 암모늄다이하이드로겐포스페이트($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$), 디포타슘포스페이트(K_2HPO_4), 마그네슘설페이트($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), 소듐클로라이드(NaCl) 및 레시틴을 포함한다.

본 발명에 따른 배지를 이용할 경우, 식물병원균에 대한 항균물질을 생산하는 선충 공생세균인 포토랍두스 속 균주의 증식을 최대화시킬 수 있으므로, 기존에 사용되어지는 화학 살충제 및 BTI 수입제제를 대체하면서, 식물병원균을 보다 효과적으로 방제할 수 있다.

대 표 도 - 도1



(72) 발명자

이형철

경남 진주시 초전북로52번길 31-10, 202호 (초전동)

김현수

대구 달성군 다사읍 죽곡1길 42, 102동 2007호 (대실역e편한세상아파트)

윤재우

대구 남구 현충로3길 55, (대명동)

강동희

대구 달서구 선원로 122, 104동 1401호 (이곡동, 성서2차서한타운)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 00045419

부처명 중소기업청

연구관리전문기관 (사)한국산학연합회

연구사업명 산학연 공동기술개발사업

연구과제명 선충 공생균(Photorhabdus spp.)의 활성물질을 이용한 식물병원균의 방제

기 여 율 1/1

주관기관 계명대학교 산학협력단

연구기간 2011.06.01 ~ 2012.05.30

특허청구의 범위

청구항 1

탈지 분유, 효모 추출물, 펩톤, 난황분, 콜레스테롤, 암모늄디하이드로겐포스페이트($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$), 디포타슘포스페이트(K_2HPO_4), 마그네슘설페이트($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), 소듐클로라이드(NaCl) 및 레시틴 포함하는, 포토랍두스 속(*Photorhabdus* spp.) 균주 배양용 배지.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 배양용 배지는 증류수 1L를 기준으로 탈지 분유 1~20g, 효모 추출물 1~50g, 펩톤 1~50g, 난황분 1~5g, 콜레스테롤 0.01~0.1g, 암모늄디하이드로겐포스페이트($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$) 1~3g, 디포타슘포스페이트(K_2HPO_4) 0.5~3g, 마그네슘설페이트($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) 0.5~2g, 소듐클로라이드(NaCl) 1~10g 및 레시틴 0.1~1g을 포함하는 것을 특징으로 하는 포토랍두스 속(*Photorhabdus* spp.) 균주 배양용 배지.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 배양용 배지는 증류수 1L를 기준으로 탈지 분유 10g, 효모 추출물 3g, 펩톤 5g, 난황분 2.5g, 콜레스테롤 0.05g, 암모늄디하이드로겐포스페이트($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$) 1g, 디포타슘포스페이트(K_2HPO_4) 2g, 마그네슘설페이트($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) 1g, 소듐클로라이드(NaCl) 5g 및 레시틴 0.5g을 포함하는 것을 특징으로 하는 포토랍두스 속(*Photorhabdus* spp.) 균주 배양용 배지.

청구항 4

제1항 내지 제3항중 어느 한 항에 있어서, 상기 포토랍두스 속(*Photorhabdus* spp.) 균주는 포토랍두스 템페라타(*Photorhabdus temperata*), 포토랍두스 루미네센스(*Photorhabdus luminescens*) 및 포토랍두스 어심바이오티카(*Photorhabdus asymbiotica*)로 구성된 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 포토랍두스 속(*Photorhabdus* spp.) 균주 배양용 배지.

청구항 5

제1항 내지 제3항중 어느 한 항에 있어서, 상기 포토랍두스 속(*Photorhabdus* spp.) 균주는 포토랍두스 템페라타 EWIN_104(*Photorhabdus temperata* subsp. *temperata* EWIN_104)(수탁번호: KACC 91741P)인 것을 특징으로 하는 포토랍두스 속(*Photorhabdus* spp.) 균주 배양용 배지.

청구항 6

탈지 분유, 효모 추출물, 펩톤, 난황분, 콜레스테롤, 암모늄디하이드로겐포스페이트($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$), 디포타슘포스페이트(K_2HPO_4), 마그네슘설페이트($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), 소듐클로라이드(NaCl) 및 레시틴 포함하는 배지에 포토랍두스 속(*Photorhabdus* spp.) 균주($0.1 \sim 2.0 \times 10^{10}$ CFU/ml)를 0.05~5.0% 농도로 접종하고, 0.1~1.0vvm의 공기(Air)를 주입하면서, 18~31°C에서 50~500RPM의 회전속도로 24~72시간 배양하는 것을 특징으로 하는 포토랍두스 속(*Photorhabdus* spp.) 균주의 배양방법.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 포토랍두스 속 균주 배양용 배지 조성물에 관한 것으로, 더욱 상세하게는 선충 공생세균인 포토랍두스 속 균주의 최적 성장을 위한 배지 조성물에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 화학 농약의 과다 사용은 환경오염과 생태계 불균형 문제 등을 야기 시키고, 특히 토양과 수질의 심각한 오염원이 되며, 인체나 가축에도 심각한 부작용을 나타내어 사회 문제가 되고 있다. 이에 따라 각 국가별로 화학농약 및 비료의 사용을 점차 줄이는 추세이다.

[0003] 식물병원균 방제를 위해 길항미생물을 이용한 방제 연구가 많이 이루어지고 있으며, 현재 이를 이용한 제품 또한 많이 나오고 있기는 하지만 만족스러운 결과를 얻지 못하고 있다. 이는 미생물을 이용한 병해 방제효과가 농약에 비해 뚜렷하지 못하고, 한정된 병해에만 효과를 나타내기 때문에 그 이외의 병해가 발생할 경우 화학농약에 의존할 수밖에 없는 등 아직 많은 문제점을 안고 있기 때문이다.

[0004] 한편, 곤충병원성 선충 내 공생세균은 항생물질을 생산하는 것으로 보고되고 있다. 선충에서 분리한 공생세균이 생산하는 항생물질은 아직 밝혀진 것이 극히 일부이기 때문에 항균 스펙트럼을 확인하고, 생산성 증대를 위해 생산조건을 최적화하는 연구가 필요하다.

[0005] 그러나, 곤충병원성 선충 내 공생세균은 그 균주의 특성에 따라서 최적의 배지의 조성 및 배양 조건이 상이하며, 이들 조건이 맞지 않으면 증식이 이루어지지 않을 뿐만 아니라, 증식이 되어도 유용한 활성물질의 분비가 제대로 이루어지지 않는 것으로 알려졌다.

[0006] 이에, 본 발명자들은 상기 문제점을 해결하기 위하여 예의 노력한 결과, 별도의 탄소원 및 콩기름(soybean oil)을 첨가하지 않고, 특정 질소원 및 영양원의 조성을 가지는 배지에서 포토랍두스 속 균주를 배양시킬 경우, 균주의 증식이 최대로 이루어지는 것을 확인하고, 본 발명을 완성하게 되었다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 본 발명의 목적은 식물병원균에 대한 항균물질을 대사산물로 분비하는 포토랍두스 속 균주 배양용 배지 및 이를 이용한 배양방법을 제공하는데 있다.

과제의 해결 수단

[0008] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 탈지 분유, 효모 추출물, 펩톤, 난황분, 콜레스테롤, 암모늄디하이드로젠포스페이트($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$), 디포타슘포스페이트(K_2HPO_4), 마그네슘설페이트($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), 소듐클로라이드(NaCl) 및 레시틴 포함하는, 포토랍두스 속(*Photorhabdus spp.*) 균주 배양용 배지를 제공한다.

[0009] 본 발명에 있어서, 상기 배양용 배지는 증류수 1L를 기준으로 탈지 분유 1~20g, 효모 추출물 1~50g, 펩톤 1~50g, 난황분 1~5g, 콜레스테롤 0.01~0.1g, 암모늄디하이드로젠포스페이트($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$) 1~3g, 디포타슘포스페이트(K_2HPO_4) 0.5~3g, 마그네슘설페이트($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) 0.5~2g, 소듐클로라이드(NaCl) 1~10g 및 레시틴 0.1~1g을 포함하는 것을 특징으로 한다.

[0010] 본 발명에 있어서, 상기 배양용 배지는 증류수 1L를 기준으로 탈지 분유 10g, 효모 추출물 3g, 펩톤 5g, 난황분 2.5g, 콜레스테롤 0.05g, 암모늄디하이드로젠포스페이트($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$) 1g, 디포타슘포스페이트(K_2HPO_4) 2g, 마그네슘설페이트($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) 1g, 소듐클로라이드(NaCl) 5g 및 레시틴 0.5g을 포함하는 것을 특징으로 한다.

- [0011] 본 발명에 있어서, 상기 포토랍두스 속(*Photorhabdus* spp.) 균주는 포토랍두스 템페라타(*Photorhabdus temperata*), 포토랍두스 루미네센스(*Photorhabdus luminescens*) 및 포토랍두스 어심바이오티카(*Photorhabdus asymbiotica*)로 구성된 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 한다.
- [0012] 본 발명에 있어서, 상기 포토랍두스 속(*Photorhabdus* spp.) 균주는 포토랍두스 템페라타 템프라타 ECOWIN_104(*Photorhabdus temperata* subsp. *temperata* ECOWIN_104)(수탁번호: KACC 91741P)인 것을 특징으로 한다.
- [0013] 본 발명은 또한, 탈지 분유, 효모 추출물, 펩톤, 난황분, 콜레스테롤, 암모늄디하이드로겐포스페이트($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$), 디포타슘포스페이트(K_2HPO_4), 마그네슘설페이트($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), 소듐클로라이드(NaCl) 및 레시틴 포함하는 배지에 포토랍두스 속(*Photorhabdus* spp.) 균주($0.1 \sim 2.0 \times 10^{10}$ CFU/ml)를 0.05~5.0% 농도로 접종하고, 0.1~1.0vvm의 공기(Air)를 주입하면서, 18~31℃에서 50~500RPM의 회전속도로 24~72시간 배양하는 것을 특징으로 하는 포토랍두스 속(*Photorhabdus* spp.) 균주의 배양방법을 제공한다.

발명의 효과

- [0014] 본 발명에 따른 배지를 이용할 경우, 식물병원균에 대한 항균물질을 생산하는 선충 공생세균인 포토랍두스 속 균주의 증식을 최대화시킬 수 있으므로, 기존에 사용되어지는 화학 살충제 및 BTI 수입제제를 대체하면서, 식물 병원균을 보다 효과적으로 방제할 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0015] 도 1은 배지의 조성에 따른 포토랍두스 속 균주의 증식능을 비교한 그래프이다.
- 도 2는 탄소원에 따른 포토랍두스 속 균주의 증식능을 비교한 그래프이다.
- 도 3은 콩기름 첨가 유무에 따른 포토랍두스 속 균주의 증식능을 비교한 그래프이다.
- 도 4 및 5는 질소원에 따른 포토랍두스 속 균주의 증식능을 비교한 그래프이다.
- 도 6~8은 K, Mg 및 Na에 따른 포토랍두스 속 균주의 증식능을 비교한 그래프이다.
- 도 9~11은 공기 주입량, 배양온도 및 회전속도에 따른 포토랍두스 속 균주의 증식능을 비교한 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0016] 본 발명에서는 최적의 배지 조성 및 배양 조건에서 포토랍두스 속 균주를 배양할 경우, 균주의 증식능을 향상시킬 수 있다는 것을 확인하고자 하였다.
- [0017] 본 발명에서는, 포토랍두스 속 균주 배양을 위한 최적의 배지 조성을 확인하기 위하여, 탄소원, 질소원 및 다른 영양원들의 조성을 달리하여 배양시켰다. 그 결과, 별도의 탄소원 및 콩기름(soybean oil)을 첨가하지 않고, 특정 질소원 및 영양원의 조성을 가지는 배지에서 포토랍두스 속 균주의 증식이 최대로 이루어지는 것을 확인할 수 있었다.
- [0018] 따라서, 본 발명은 일 관점에서, 탈지 분유, 효모 추출물, 펩톤, 난황분, 콜레스테롤, 암모늄디하이드로겐포스페이트($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$), 디포타슘포스페이트(K_2HPO_4), 마그네슘설페이트($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), 소듐클로라이드(NaCl) 및 레시틴 포함하는, 포토랍두스 속(*Photorhabdus* spp.) 균주 배양용 배지에 관한 것이다.
- [0019] 본 발명에 있어서, 상기 배양용 배지는 증류수 1L를 기준으로 탈지 분유 1~20g, 효모 추출물 1~50g, 펩톤 1~50g, 난황분 1~5g, 콜레스테롤 0.01~0.1g, 암모늄디하이드로겐포스페이트($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$) 1~3g, 디포타슘포스페이트(K_2HPO_4) 0.5~3g, 마그네슘설페이트($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) 0.5~2g, 소듐클로라이드(NaCl) 1~10g 및 레시틴 0.1~1g을 포함하는 것을 특징으로 한다.
- [0020] 상기 배양용 배지는 증류수 1L를 기준으로 탈지 분유 10g, 효모 추출물 3g, 펩톤 5g, 난황분 2.5g, 콜레스테롤 0.05g, 암모늄디하이드로겐포스페이트($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$) 1g, 디포타슘포스페이트(K_2HPO_4) 2g, 마그네슘설페이트($\text{MgSO}_4 \cdot$

7H₂O) 1g, 소듐클로라이드(NaCl) 5g 및 레시틴 0.5g을 포함하는 것이 가장 바람직하다.

- [0021] 상기 배지를 구성하는 각각의 조성들의 함량이 상기 범위를 벗어날 경우 포토랍두스 속 균주의 증식이 최대로 이루어지지 않는다.
- [0022] 본 발명에 있어서, 상기 포토랍두스 속(*Photorhabdus spp.*) 균주는 포토랍두스 템페라타(*Photorhabdus temperata*), 포토랍두스 루미네센스(*Photorhabdus luminescens*) 및 포토랍두스 어심바이오티카(*Photorhabdus asymbiotica*)로 구성된 군으로부터 선택될 수 있으며, 포토랍두스 템페라타 템프라타 ECOWIN_104(*Photorhabdus temperata subsp. temperata* ECOWIN_104)(수탁번호: KACC 91741P)를 예시할 수 있다.
- [0023] 참고로, 포토랍두스 템페라타 템프라타 ECOWIN_104(*Photorhabdus temperata subsp. temperata* ECOWIN_104)(수탁번호: KACC 91741P)는 보트리티스 시네레아(*Botrytis cinerea*), 파이토프토라 캡사이시(*Phytophthora capsici*), 콜레토티리쿰 애쿠타툼(*Colletotrichum orbiculare*), 푸사리움 옥시스포럼(*Fusarium oxysporum*), 라이족토니아 솔라니(*Rhizoctonia solani*), 라이족토니아 세레알리스(*Rhizoctonia cerealis*) 등의 식물 병원균에 대하여 항균활성을 갖는 것으로 알려졌다.
- [0024] 상기 보트리티스 시네레아(*Botrytis cinerea*)는 잣빛곰팡이병, 상기 파이토프토라 캡사이시(*Phytophthora capsici*)는 고추역병, 상기 콜레토티리쿰 애쿠타툼(*Colletotrichum orbiculare*)은 참외탄저병, 상기 푸사리움 옥시스포럼(*Fusarium oxysporum*)은 시들음병, 상기 라이족토니아 솔라니(*Rhizoctonia solani*)는 벼 잎집무늬마름병 및 라이족토니아 세레알리스(*Rhizoctonia cerealis*)는 벼 잎집눈무늬병을 유발한다.
- [0025] 본 발명은 다른 관점에서, 탈지 분유, 효모 추출물, 펩톤, 난황분, 콜레스테롤, 암모늄디하이드로젠포스페이트(NH₄H₂PO₄), 디포타슘포스페이트(K₂HPO₄), 마그네슘설페이트(MgSO₄ · 7H₂O), 소듐클로라이드(NaCl) 및 레시틴 포함하는 배지에 포토랍두스 속(*Photorhabdus spp.*) 균주(0.1~2.0×10¹⁰ CFU/ml)를 0.05~5.0% 농도로 접종하고, 0.1~1.0vvm의 공기(Air)를 주입하면서, 18~31℃에서 50~500RPM의 회전속도로 24~72시간 배양하는 것을 특징으로 하는 포토랍두스 속(*Photorhabdus spp.*) 균주의 배양방법에 관한 것이다.
- [0026] 상기 배지의 구성 및 함량은 앞서 기재한 바와 동일하며, 배양시 공기 주입량, 배양온도 및 회전속도가 상기 범위를 벗어날 경우 포토랍두스 속(*Photorhabdus spp.*) 균주의 증식이 제대로 이루어지지 않는 문제가 있다.
- [0027] [실시예]
- [0028] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 예시하기 위한 것으로, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되는 것으로 해석되지 않는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 자명할 것이다.
- [0029] **실시예 1: 최적의 배지 조성 확인**
- [0030] 포토랍두스 템페라타 템프라타 ECOWIN_104(*Photorhabdus temperata subsp. temperata* ECOWIN_104)(수탁번호: KACC 91741P)를 표 1의 TSB, YM, 5% YS, LB 및 신규조성 배지 각각에 접종(1×10⁹ CFU/ml의 0.5%)하고, 28℃에서 200RPM의 회전속도, 0.5vvm의 공기주입 조건에서 2일간 배양시킨 다음, 콜로니를 확인하고 그 결과를 도 1에 나타내었다.

표 1

Media	Composition	Content(g/L)
-------	-------------	--------------

신규조성 배지	Skim milk	10
	Yeast extract	3
	Peptone	5
	Egg yolk	2.5
	Cholesterol	0.05
	NH ₄ H ₂ PO ₄	1
	K ₂ HPO ₄	2
	MgSO ₄ 7H ₂ O	1
	NaCl	5
	Lecithin	0.5
Tryptic Soy Broth(TSB)	pancreatic digest of casein	17
	papaic digest of soybean	3
	dextrose	2.5
	NaCl	5
	K ₂ HPO ₄	2.5
YM	Yeast extract	3.0
	Malt extract	3.0
	Peptone	5.0
	dextrose	10.0
5%YS Bacto-yeast extract	NH ₄ H ₂ PO ₄	0.5
	K ₂ HPO ₄	0.5
	MgSO ₄ 7H ₂ O	0.2
	NaCl	5
	Bacto-Yeast extract	50
Luria-Bertani(LB)	Bacto-tryptone	10
	Bacto-yeast extract	5
	Sodium chloride	10

[0032] 도 1에 도시된 바와 같이, 통상의 다른 배지에서보다 신규조성 배지에서 포토랍두스 템페라타 템프라타 ECOWIN_104(*Photorhabdus temperata subsp. temperata* ECOWIN_104)(수탁번호: KACC 91741P)의 증식이 활발하게 이루어졌음을 확인할 수 있었다.

[0033] 포토랍두스 속(*Photorhabdus spp.*) 균주의 증식을 위한 최적의 배지 조성은 하기와 같이 탄소원, 질소원 및 다른 영양원의 조성 및 함량을 달리하여 배양시킴으로써 확립하였다.

[0034] 실시예 1-1: 탄소원의 영향

[0035] 탄소원의 영향은 상기 표 1의 신규조성 배지에 탄소원으로 glucose, fructose, lactose, saccharose 및 sorbitol을 각각 10g씩 첨가하고, 콩기름(soybean oil)을 농도별(0~50g)로 첨가한 다음, 실시예 1과 동일한 조건으로 배양하고, 그 결과를 도 2 및 도 3에 나타내었다.

[0036] 도 2에 나타난 바와 같이, 다른 탄소원을 첨가하는 것보다 신규배지 자체에 접종하여 배양하였을 때 포토랍두스 템페라타 템프라타 ECOWIN_104(*Photorhabdus temperata subsp. temperata* ECOWIN_104)(수탁번호: KACC 91741P)의 증식이 가장 활발하게 이루어졌음을 확인할 수 있었다.

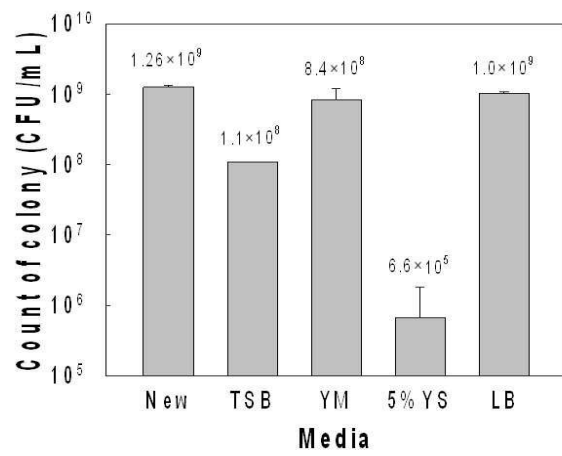
[0037] 또한, 도 3에 나타난 바와 같이, 콩기름(soybean oil)은 첨가된 농도가 증가할수록 포토랍두스 템페라타 템프라타 ECOWIN_104(*Photorhabdus temperata subsp. temperata* ECOWIN_104)(수탁번호: KACC 91741P)의 증식이 감소한다는 것을 확인할 수 있었다.

[0038] 실시예 1-2: 질소원의 영향

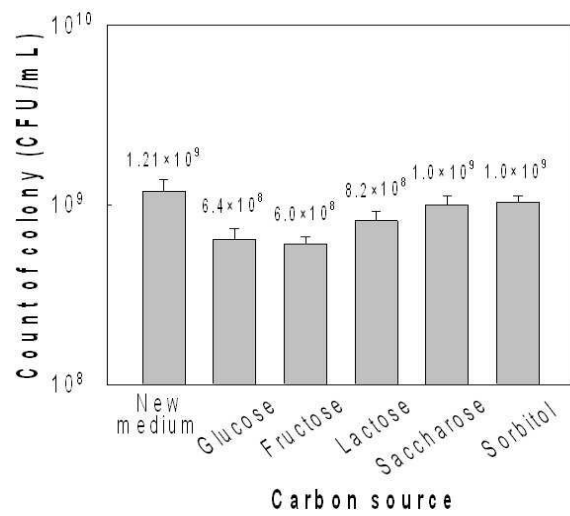
- [0039] 질소원의 영향은 상기 표 1의 신규조성 배지의 질소원중 하나인 효모 추출물(YEASTEX LSP, LeiberGmbH)를 농도별(1, 3, 5, 10 및 50g/L)로 첨가하고, 암모늄디하이드로겐포스페이트($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$)를 농도별(0.5, 1, 2, 3 및 5g/L)로 각각 첨가한 다음, 실시예 1과 동일한 조건으로 배양하고, 그 결과를 도 4 및 도 5에 나타내었다.
- [0040] 도 4 및 도 5에 나타난 바와 같이, 효모 추출물(yeast extract)은 3~10g/L 첨가하였을 때, 암모늄디하이드로겐포스페이트($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$)는 1~3g/L 첨가하였을 때 포토랍두스 템페라타 템프라타 ECOWIN_104(*Photorhabdus temperata* subsp. *temperata* ECOWIN_104)(수탁번호: KACC 91741P)의 증식이 가장 활발하게 이루어졌음을 확인할 수 있었다.
- [0041] **실시예 1-3: K, Mg 및 Na의 영향**
- [0042] K, Mg 및 Na의 영향은 상기 표 1의 신규조성 배지의 조성중 하나인 디포타슘포스페이트(K_2HPO_4)를 농도별(0.5, 1, 2, 3 및 5g/L)로, 마그네슘설페이트($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)를 농도별(0.1, 0.2, 0.5, 1 및 2g/L)로, 소듐클로라이드(NaCl)를 농도별(1, 5, 10, 20 및 30g/L)로 각각 첨가한 다음, 실시예 1과 동일한 조건으로 배양하고, 그 결과를 도 6~8에 나타내었다.
- [0043] 도 6~8에 나타난 바와 같이, 디포타슘포스페이트(K_2HPO_4)는 0.5~3g/L 첨가하였을 때, 마그네슘설페이트($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)는 0.5~2g/L 첨가하였을 때, 소듐클로라이드(NaCl)는 1~10g/L 첨가하였을 때 포토랍두스 템페라타 템프라타 ECOWIN_104(*Photorhabdus temperata* subsp. *temperata* ECOWIN_104)(수탁번호: KACC 91741P)의 증식이 가장 활발하게 이루어졌음을 확인할 수 있었다.
- [0044] **실시예 2: 포토랍두스 속(*Photorhabdus* spp.) 균주의 대량 증식 조건 확인**
- [0045] 포토랍두스 템페라타 템프라타 ECOWIN_104(*Photorhabdus temperata* subsp. *temperata* ECOWIN_104)(수탁번호: KACC 91741P)의 대량 증식조건을 확인하기 위하여, 표 1의 신규조성 배지를 사용하여 7L jar fermenter에서 공기 주입량(0~1vvm), 배양온도(18~31℃) 및 회전속도(50~500)를 각각 다르게 하여 배양하고, 그 결과를 도 9~11에 나타내었다. 이때 기본적인 배양조건은 실시예 1과 동일하게 수행하였다.
- [0046] 도 9~11에 나타난 바와 같이, 공기 주입량은 0.1~1.0vvm, 배양온도는 18~31℃, 회전속도는 50~500RPM에서 균주의 증식이 원활하게 이루어졌고, 공기 주입량이 0.5vvm일때, 배양온도가 28℃일 때, 회전속도가 200 rpm일 때 포토랍두스 템페라타 템프라타 ECOWIN_104(*Photorhabdus temperata* subsp. *temperata* ECOWIN_104)(수탁번호: KACC 91741P)의 증식이 가장 활발하게 이루어졌음을 확인할 수 있었다.
- [0047] 이상으로 본 발명 내용의 특정한 부분을 상세히 기술하였는 바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 이러한 구체적 기술은 단지 바람직한 실시 양태일 뿐이며, 이에 의해 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백할 것이다. 따라서, 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항들과 그것들의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

도면

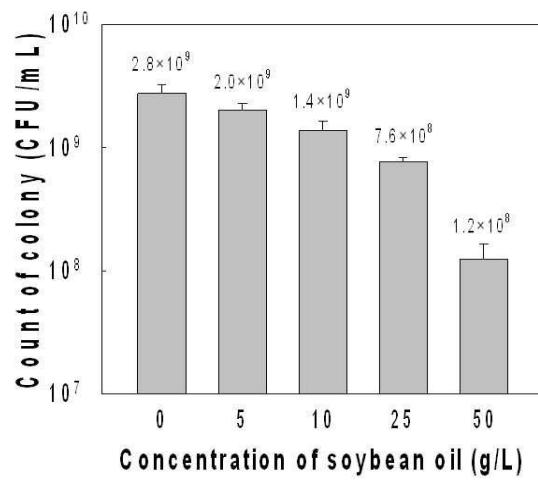
도면1



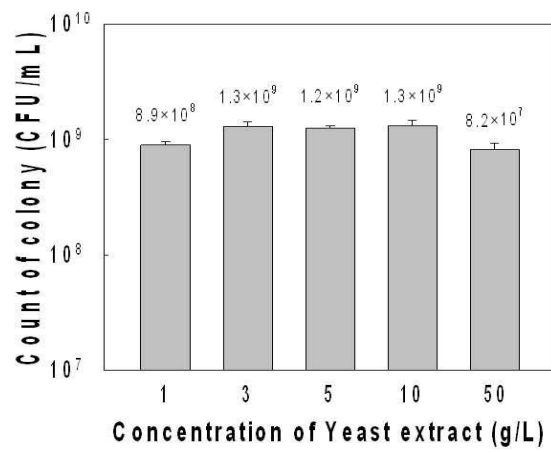
도면2



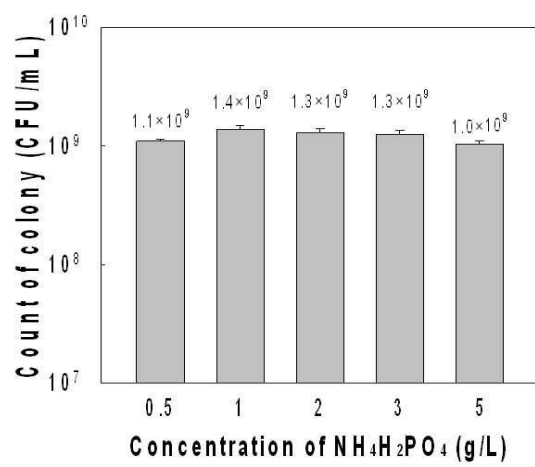
도면3



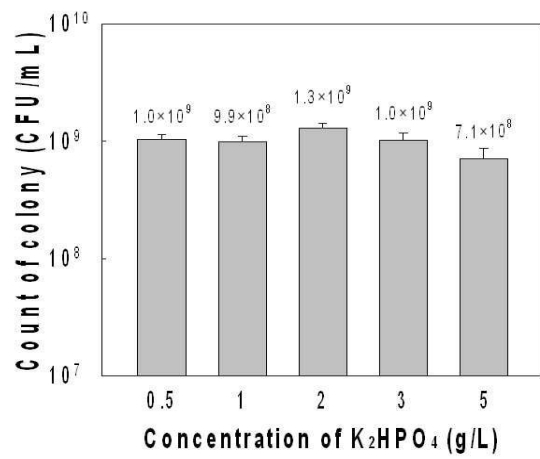
도면4



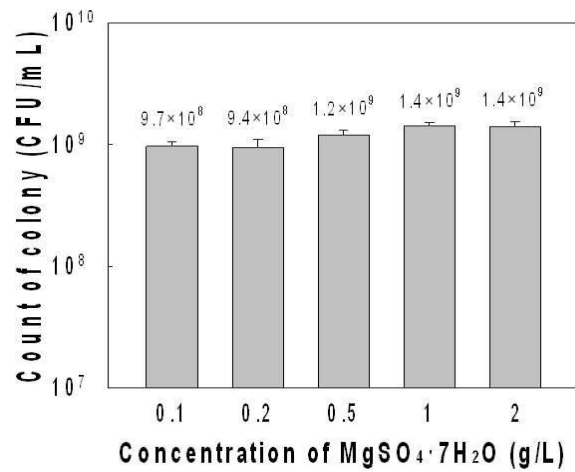
도면5



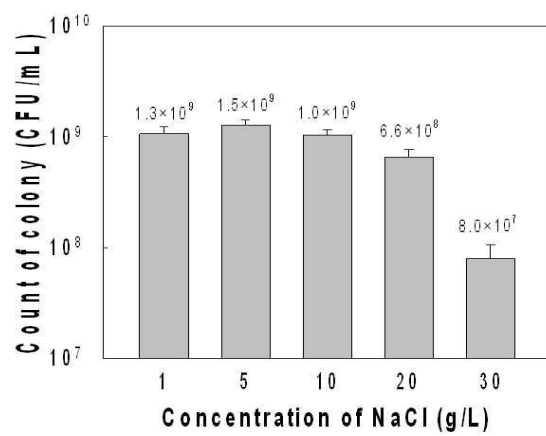
도면6



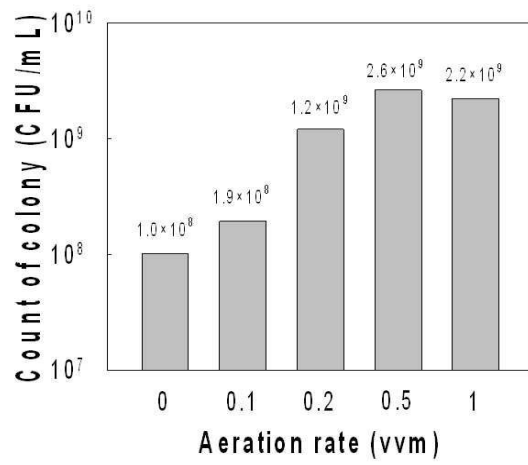
도면7



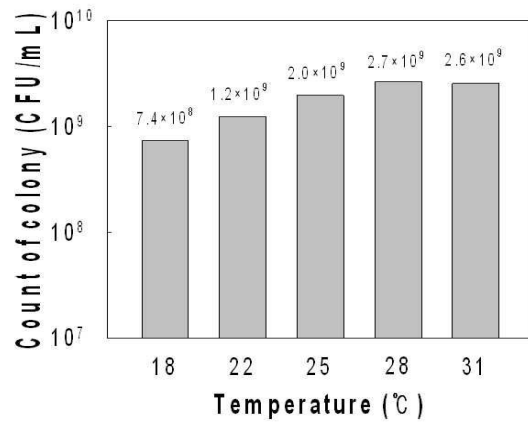
도면8



도면9



도면10



도면11

