



- (51) 국제특허분류:
A01N 31/02 (2006.01) A01P 1/00 (2006.01)
A01N 63/02 (2006.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2011/002886
- (22) 국제출원일: 2011년 4월 21일 (21.04.2011)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보:
10-2010-0133116 2010년 12월 23일 (23.12.2010) KR
- (71) 출원인 (US 을(를) 제외한 모든 지정국에 대하여): 한국생명공학연구원 (KOREA RESEARCH INSTITUTE OF BIOSCIENCE AND BIOTECHNOLOGY) [KR/KR]; 대전광역시 유성구 여은동 52번지, 305-806 Daejeon (KR).
- (72) 발명자: 권
- (75) 발명자/출원인 (US 에 한하여): 류충민 (RYU, Choong Min) [KR/KR]; 대전광역시 유성구 여은동 52번지 한

국생명공학연구원, 305-806 Daejeon (KR). 이의수 (YI, Hwe Su) [KR/KR]; 대전광역시 유성구 여은동 52번지 한국생명공학연구원, 305-806 Daejeon (KR). 최혜경 (CHOI, Hye Kyung) [KR/KR]; 대전광역시 유성구 여은동 52번지 한국생명공학연구원, 305-806 Daejeon (KR).

(74) 대리인: 최규환 (CHOI, Kyu Whan); 대전광역시 서구 둔산동 949번지 12층 그린국제특허법률사무소, 302-120 Daejeon (KR).

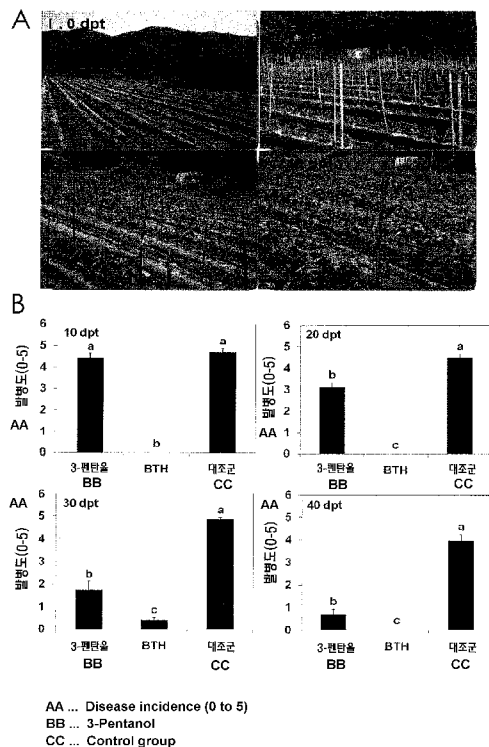
(81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

[다음 쪽 계속]

(54) Title: COMPOSITION FOR CONTROLLING PLANT DISEASES WHICH CONTAINS 3-PENTANOL AS AN ACTIVE INGREDIENT

(54) 발명의 명칭 : 3-펜탄올을 유효성분으로 포함하는 식물병 방제용 조성물

[Fig. 2]



(57) Abstract: The present invention relates to: a composition for controlling plant diseases which contains 3-pentanol as an active ingredient; a method for controlling plant diseases which comprises the step of inducing induced systemic resistance by processing a plant with 3-pentanol; an agent for controlling plant diseases which comprises the composition; a composition for controlling plant diseases which contains *Bacillus amyloliquefaciens* IN937a, which produces 3-pentanol as an active ingredient; and a method for controlling plant diseases which comprises the step of inducing induced systemic resistance by processing a plant with the composition.

(57) 요약서: 본 발명은 3-펜탄올(3-pentanol)을 유효성분으로 포함하는 식물병 방제용 조성물, 3-펜탄올(3-pentanol)을 식물체에 처리하여 유도전신저항성(induced systemic resistance)을 유도하는 단계를 포함하는 식물병 방제 방법, 상기 조성물을 포함하는 식물병 방제제, 3-펜탄올을 생산하는 바실러스 아밀로리퀴파시엔스 (*Bacillus amyloliquefaciens*) IN-937a 균주를 유효성분으로 포함하는 식물병 방제용 조성물 및 상기 조성물을 식물체에 처리하여 유도전신저항성을 유도하는 단계를 포함하는 식물병 방제 방법에 관한 것이다.



(84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 유럽 (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, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

규칙 4.17에 의한 선언서:

— 신규성을 해치지 아니하는 개시 또는 신규성 상실의 예외에 관한 선언 (규칙 4.17(v))

공개:

— 국제조사보고서와 함께 (조약 제 21 조(3))

— 명세서의 서열목록 부분과 함께 (규칙 5.2(a))

명세서

발명의 명칭: 3-펜탄올을 유효성분으로 포함하는 식물병 방제용 조성물

기술분야

- [1] 본 발명은 3-펜탄올을 유효성분으로 포함하는 식물병 방제용 조성물에 관한 것으로서, 더욱 상세하게는 3-펜탄올(3-pentanol)을 유효성분으로 포함하는 식물병 방제용 조성물, 3-펜탄올(3-pentanol)을 식물체에 처리하여 유도전신저항성(induced systemic resistance)을 유도하는 단계를 포함하는 식물병 방제 방법, 상기 조성물을 포함하는 식물병 방제제, 3-펜탄올을 생산하는 바실러스 아밀로리퀴파시엔스 (*Bacillus amyloliquefaciens*) IN937a 균주를 유효성분으로 포함하는 식물병 방제용 조성물 및 상기 조성물을 식물체에 처리하여 유도전신저항성을 유도하는 단계를 포함하는 식물병 방제 방법에 관한 것이다.

배경기술

- [2] 현재 식물 병원균의 발생 억제 및 방제를 위해 주로 이용하고 있는 방법은 화학적 합성 농약이다. 그러나 이러한 합성 농약은 생태계를 파괴하고, 잔류로 인한 인체 독성 문제를 야기하며, 말암, 기형 등의 각종 질환을 유발할 가능성이 매우 높아 그 사용이 제한되고 있다. 따라서, 합성 농약을 대체할 수 있는 환경친화성 생물농약의 개발에 대한 연구가 활발히 진행되고 있는 실정이다.
- [3] 식물은 외부로부터 병원체가 침입하였을 때 초과민성반응, oxidative burst, 세포벽구조의 강화, 길항성 파이토알렉신 축적, 방어관련 단백질 생성 등을 통해 병원체에 대한 저항성을 나타낸다. 이러한 저항성 기작이 식물의 전신에서 나타나면 식물은 곰팡이, 세균, 바이러스 등을 포함한 다양한 병원체에 효과적으로 대처할 수 있으며 이런 현상을 ISR (induced systemic resistance, 유도전신저항성)이라고 부른다. 식물의 뿌리에 존재하는 식물 생장-촉진 근권세균(plant growth-promoting rhizobacteria, PGPR)은 식물에서 ISR을 야기하는 것으로 알려져 있으며, 다양한 종의 식물 생장-촉진 근권세균이 친환경적 생물농약의 개발을 위한 연구에 이용되고 있다.
- [4] 본 발명자들은 ISR을 야기하는 것으로 알려진 바실러스 아밀로리퀴파시엔스(*Bacillus amyloliquefaciens*) IN937a 균주로부터 18가지 휘발성 유기화합물을 수집하였고, 상기 휘발성 유기화합물이 고추 세균점무늬병원균(*Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*)에 대해 저항성을 나타내는지 조사하였다.
- [5] 한국등록특허 제10-0423121호에는 바실러스 아밀로리퀴파시엔스 CHO104 균주를 포함하는 미생물제제가 개시되어 있다.

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [6] 본 발명은 상기와 같은 요구에 의해 도출된 것으로서, 본 발명자들은 바실러스 아밀로리퀴파시엔스(*Bacillus amyloliquefaciens*) IN937a 균주 유래 18가지 휘발성 유기화합물을 스크리닝하였고, 그 중 3-펜탄올을 식물체에 처리했을 때 고추 세균성 점무늬병 및 오이 모자이크 바이러스병이 억제된 것을 확인함으로써 본 발명을 완성하게 되었다.

과제 해결 수단

- [7] 상기 과제를 해결하기 위해, 본 발명은 3-펜탄올(3-pentanol)을 유효성분으로 포함하는 식물병 방제용 조성물을 제공한다.
- [8] 또한, 본 발명은 3-펜탄올(3-pentanol)을 식물체에 처리하여 유도전신저항성(induced systemic resistance)을 유도하는 단계를 포함하는 식물병 방제 방법을 제공한다.
- [9] 또한, 본 발명은 상기 조성물을 포함하는 식물병 방제제를 제공한다.
- [10] 또한, 본 발명은 3-펜탄올을 생산하는 바실러스 아밀로리퀴파시엔스 (*Bacillus amyloliquefaciens*) IN937a 균주를 유효성분으로 포함하는 식물병 방제용 조성물을 제공한다.
- [11] 또한, 본 발명은 상기 조성물을 식물체에 처리하여 유도전신저항성을 유도하는 단계를 포함하는 식물병 방제 방법을 제공한다.

발명의 효과

- [12] 본 발명에 따르면, 본 발명의 3-펜탄올(3-pentanol)을 유효성분으로 포함하는 식물병 방제용 조성물은 고추 세균성 점무늬병 및 오이 모자이크 바이러스병을 방제하는데 효과적이므로, 고추의 생산력 향상에 유용할 것으로 사료된다. 또한, 본 발명의 조성물은 친환경적이며, 인체 독성이 없으므로 안전성이 높다.

도면의 간단한 설명

- [13] 도 1은 온실 조건에서 바실러스 아밀로리퀴파시엔스(*Bacillus amyloliquefaciens*) IN937a 균주 유래 18가지 휘발성 유기화합물이 고추 세균점무늬병원균(*Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*)에 대한 식물의 ISR에 미치는 효과를 나타낸 것이다. (A) 2개 농도(10 μ M 및 100 nM)의 18가지 휘발성 유기화합물 및 (B) 가장 높은 ISR 효과를 가지는 4가지 선택된 휘발성 유기화합물. 양성 대조군 식물은 0.5 mM BTH로 처리되었다. ISR의 표지자인 발병도(0 ~ 5)는 병원균 접종 후 7일째에 측정되었다(0: 증상 없음, 5: 심한 괴사 증상). 데이터는 평균의 표준오차를 나타낸다.
- [14] 도 2는 다른 시점에서 필드 조건하에 3-펜탄올이 고추 세균점무늬병원균에 대한 식물의 ISR에 미치는 효과를 나타낸 것이다. 3-펜탄올의 ISR 효과는 정식 후 10, 20, 30 및 40일째에 측정되었다. 양성 대조군 식물은 0.5 mM BTH로 처리되었다. ISR의 표지자인 발병도(0 ~ 5)는 병원균 접종 후 10일째에 측정되었다. (A) 사진은 이식 후 0 내지 40일째에 촬영되었다. (B) 10 dpt, 20 dpt, 30 dpt 및 40 dpt에서 발병도를 비교한 결과(0: 증상 없음, 5: 심한 괴사 증상). 다른

문자는 통계적으로 유의적인 차이($P = 0.05$)를 나타낸다. 데이터는 평균의 표준오차를 나타낸다.

- [15] 도 3은 고추에서 병원균 접종 후 3-펜탄올에 의한 방어-관련 유전자의 발현을 나타낸 것이다. A) 10 dpt, B) 20 dpt, C) 30 dpt 및 D) 40 dpt에서 방어 신호전달 관련-유전자 PR1 및 PR4의 발현은 정량적 RT-PCR에 의해 조사되었다. *CaActin* 발현을 100%로 표준화한 상대적 발현 양이 계산되었다. 샘플은 병원균 접종 후 6시간째에 수집되었다. 양성 대조군 식물은 BTH로 처리되었다.
- [16] 도 4는 필드 조건하에 3-펜탄올이 고추의 성장 및 수확량에 미치는 영향을 나타낸 것이다. 양성 대조군 식물은 0.5 mM BTH로 처리되었다. (A) 및 (B) 사진은 이식 후 3개월째에 촬영되었다. (C) 신초 길이 및 (D) 고추 수확량은 3-펜탄올 처리 후 3개월째에 측정되었다. a, b 및 c는 물-처리 대조군 식물과 비교했을 때 통계적으로 유의적인 차이를 나타낸다($P = 0.05$). 데이터는 평균의 표준오차를 나타낸다.
- [17] 도 5는 필드 조건하에 3-펜탄올이 자연적으로 발생한 식물병에 대한 ISR에 미치는 영향을 나타낸 것이다. (A) 처리 후 3개월째에 바이러스 질병(CMV, 오이 모자이크 바이러스)에 대한 3-펜탄올의 영향, (B) 바이러스 질병 증상(사진은 자연 질병 발생 후 3개월째에 촬영되었다), (C) 처리 후 3개월째에 세균 점무늬병에 대한 3-펜탄올의 영향. 양성 대조군 식물은 0.5 mM BTH로 처리되었다. ISR의 표지자인 발병도(0 ~ 5)는 이식 후 3개월째에 측정되었다(0: 증상 없음, 5: 심한 괴사 증상). 다른 문자는 통계적으로 유의적인 차이를 나타낸다($P = 0.05$). 데이터는 평균의 표준오차를 나타낸다.
- [18] 도 6은 온실 조건에서 바실러스 아밀로리퀴파시엔스 IN937a 균주가 고추 세균점무늬병원균에 대한 식물의 ISR에 미치는 영향을 나타낸다. 양성 대조군 식물은 0.5 mM BTH로 처리되었다. ISR의 표지자인 발병도(0 ~ 5)는 병원균 접종 후 7일째에 측정되었다(0: 증상 없음, 5: 심한 괴사 증상). 데이터는 평균의 표준오차를 나타낸다. 다른 문자는 통계적으로 유의적인 차이($P = 0.05$)를 나타낸다.

발명의 실시를 위한 최선의 형태

- [19] 본 발명의 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 3-펜탄올(3-pentanol)을 유효성분으로 포함하는 식물병 방제용 조성물을 제공한다. 바람직하게는, 상기 3-펜탄올은 바실러스 아밀로리퀴파시엔스 (*Bacillus amyloliquefaciens*) IN937a 균주 유래일 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다.
- [20] 본 발명의 조성물에서, 상기 식물병은 세균성 병 또는 바이러스성 병일 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다. 상기 세균성 병은 바람직하게는 고추 세균성 점무늬병일 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다. 상기 바이러스 병은 바람직하게는 오이 모자이크 바이러스병일 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다.
- [21] 본 발명에 따른 바실러스 아밀로리퀴파시엔스 (*Bacillus amyloliquefaciens*)

IN937a 균주는 ISR (induced systemic resistance, 유도전신저항성)을 유도할 수 있는 것으로 알려져 있다(Ryu et al., *J Microbiol Biotechnol* 17(2), 280-286, 2007).

[22] 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.

[23] 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 글리콜 에테르의 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 제한되지는 않는다.

[24] 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.

[25] 본 발명의 식물병 방제용 조성물은 관주용, 침지용, 엽면 살포용, 종자 소독용 또는 농기구 소독용으로 사용될 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다.

[26] 본 발명의 식물병 방제용 조성물은 유효성분으로서 3-펜탄올을 단독으로, 또는 2종 이상의 다른 항균 또는 항바이러스성 물질 등과 혼합하여 사용할 수 있다.

[27] 본 발명의 식물병 방제용 조성물은 작물체 흡수 및 효과를 증진시키기 위하여 확산제 및 침투제, 또는 계면활성제와도 혼용이 가능하다.

- [28] 또한, 본 발명은 3-펜탄올(3-pentanol)을 식물체에 처리하여 유도전신저항성(induced systemic resistance)을 유도하는 단계를 포함하는 식물병 방제 방법을 제공한다. 바람직하게는, 상기 3-펜탄올은 바실러스 아밀로리퀴파시엔스 (*Bacillus amyloliquefaciens*) IN937a 균주 유래일 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다. 상기 식물병은 세균성 병 또는 바이러스성 병일 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다. 바람직하게는, 상기 세균성 병은 고추 세균성 점무늬병일 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다. 바람직하게는, 상기 바이러스 병은 오이 모자이크 바이러스병일 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다.
- [29] 또한, 본 발명은 상기 조성물을 포함하는 식물병 방제제를 제공한다.
- [30] 또한, 본 발명은 3-펜탄올을 생산하는 바실러스 아밀로리퀴파시엔스 (*Bacillus amyloliquefaciens*) IN937a 균주를 유효성분으로 포함하는 식물병 방제용 조성물을 제공한다. 상기 식물병은 세균성 병 또는 바이러스성 병일 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다. 바람직하게는, 상기 세균성 병은 고추 세균성 점무늬병일 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다. 바람직하게는, 상기 바이러스 병은 오이 모자이크 바이러스병일 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다. 상기 조성물의 제제화에 일반적으로 사용되는 용매, 담체 또는 보조제 등은 전술한 바와 같다.
- [31] 또한, 본 발명은 상기 조성물을 식물체에 처리하여 유도전신저항성(induced systemic resistance)을 유도하는 단계를 포함하는 식물병 방제 방법을 제공한다. 상기 식물병은 세균성 병 또는 바이러스성 병일 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다. 바람직하게는, 상기 세균성 병은 고추 세균성 점무늬병일 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다. 바람직하게는, 상기 바이러스 병은 오이 모자이크 바이러스병일 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다.
- [32]
- [33] 이하, 본 발명을 실시예에 의해 상세히 설명한다. 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다.
- [34]
- [35] 재료 및 방법
- [36] 온실 조건하에서 ISR 능력 검정
- [37] 기 선발된 세균(*Bacillus amyloliquefaciens* strain IN937a) 유래 18개의 휘발성 물질로부터 ISR 능력을 검정하기 위하여, 파종 후 3-4주 자란 고추 유묘에 각 10 μ M 및 100 nM 농도의 부피 50 ml로 관주처리 하였다. 관주처리 1주일 후, 고추 세균점무늬병원균(*Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*)을 10^7 CFU/ml 농도로 잎에 주입하였다. 5 ~ 7일 후에 병징을 관찰하면서 병 정도를 1 ~ 5로 측정하였다. 2차 스크리닝의 경우 1차 스크리닝에서 선발된 4개의 휘발성 물질을 대상으로 1 mM, 10 μ M, 0.1 μ M 및 1 nM의 농도로 상기와 같은 방법으로 관주처리 후, 병원균을 접종한 다음 병징을 관찰하였다.
- [38]

[39] 필드상에서 ISR 능력 검증

[40] ISR 능력을 보이는 3-펜탄올(3-pentanol)을 농가에 직접 처리하여 실질적으로 실용가능한지 확인하였다. 고추 종자는 부강 품종으로 홍농 종묘에서 구입하여 사용하였다. 종자는 1% 차아염소산나트륨에 5분간 표면 살균하였고, 모든 성분이 제거될 때까지 5분간 살균수로 헹궈내었다. 표면 살균된 종자는 적당한 수분이 포함된 MS 배지에서 발아되었다. 오염되지 않고 잘 발아한 종자는 시판되는 원예용 상토(Punong Co., Ltd, Korea)를 채운 50공 포트(28 × 54 × 6 cm)로 옮겨 심어, 6주간 온실 내에서 20 ~ 30°C로 유지하며 재배하였다. 식물체는 파종 후 6주가 지난 후 본 잎이 7 ~ 8장 나왔을 때, 1 mM 3-펜탄올을 멸균수에 현탁하여 3L 정도 만들어서 50공 포트 받침(28 × 54 × 6 cm)에 부어주었다. 포트 받침의 침지 용액이 포트 식물체의 뿌리에 완전히 스며들 수 있도록 24시간 정도 침지하였다. 24시간 침지 후, 고추 유묘를 실제 밭에 정식을 하였다. 밭은 충청북도 청원군 가덕면 청용리(36° 32' 27.28" 북, 127° 33' 07.81" 동)에 소재한 밭으로 골과 골 사이가 1.2 m이고, 12.5m 정도로 처리구획이 서로 고르게 섞이도록 했다. 정식 20일 후에 2차로 한번 더 1 mM 3-펜탄올을 멸균수에 현탁하여 100 ml씩 관주 처리하였다. 정식 후, 10일 간격으로 40일까지 10⁷ CFU/ml 농도의 고추세균점무늬병원균(*Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*)을 고추 잎 뒷면에 1 ml 주사기를 이용하여 침투시켜 7 ~ 10일 후 나타나는 반응을 조사하는 방법을 이용하였다. 세균 접종원은 LB (Luria-Bertani) 고체 배지에 리팜피신(Rifampicin) 100 µg/ml 항생제를 첨가하여 48시간 동안 30°C에서 배양하였다. 모든 처리군은 네 번의 반복수와 처리되지 않은 대조군이 포함되었다. 발병도는 10일 간격으로 40일까지 비교, 관찰하여 하기와 같이 조사되었다. 0 = 증상 없음, 1 = 약한 백화 증상, 2 = 백화 증상, 3 = 백화 증상과 약한 괴사, 4 = 괴사, 및 5 = 심한 괴사 증상 (Yang et al. 2009, Plant Pathol. J. 25(4): 389-399).

[41]

[42] 저항성 유전자의 발현 분석

[43] 고추의 병 저항성과 관련이 있는 PR1 및 PR4 유전자의 발현을 qRT-PCR (quantitative real time-polymerase chain reaction)을 통해 조사하였다. 사용된 프라이머 서열은 하기와 같다.

[44] PR1F : 5'-ACTTGCAATTATGATCCACC-3'(서열번호 1)

[45] PR1R : 5'-ACTCCAGTTACTGCACCATT-3'(서열번호 2)

[46] PR4F : 5'-AACTGGGATTGAGAACTGCCAGC-3'(서열번호 3)

[47] PR4R : 5'-ATCCAAGGTACATATAGAGCTTCC-3'(서열번호 4)

[48]

[49] 고추 잎 뒷면에 세균 접종원을 침투시킨 후 0 시간 및 6 시간째에 고추 잎을 가위로 잘라서 액체 질소에 넣어 식물을 보관하였고, 이것을 RNA 분리를 위해서 사용하였다. 고추 잎을 막자사발과 액체 질소를 이용해서 분쇄 후, TRIzol 시약

(Invitrogen Life Technologies)를 이용하여 고추 잎에서 RNA를 추출하였다. 상기 추출된 RNA는 M-MLV RT 효소(Enzymomics)를 이용하여 RT 반응을 하였다. RT 반응된 cDNA를 이용하여 qRT-PCR을 실시하였다. 상기 qRT-PCR의 조건은 95°C에서 10분의 초기 변성, 40 주기의 DNA 합성 검출(95°C에서 30초, 55°C에서 60초 및 72°C에서 30초), 그리고 최종 72°C에서 1분의 확장 반응을 포함하였다.

[50]

[51] 실시예 1: 온실 및 필드 조건하에서 ISR 능력 검정 결과

[52] 온실 내에서 세균(*Bacillus amyloliquefaciens* strain IN937a) 유래의 18 종류의 휘발성 물질을 이용한 2차에 걸친 스크리닝을 통하여, 고추 세균점무늬병에 대해 병 저항성을 나타내는 물질을 선발하였고, 최종적으로 1 mM 3-펜탄올이 선발되었다(도 1).

[53] 필드 조건하에 3-펜탄올의 고추 세균점무늬병에 대한 ISR 능력을 검정하였다. 정식 10일 후, 3-펜탄올 처리군의 경우 대조군과 차이가 없었다. 정식 20일 후에는 양성대조군인 BTH에 비해 효과는 낮지만 대조군에 비해서 병 정도가 심하지 않았다. 20일 후 2차로 한번 더 3-펜탄올을 처리하였고, 정식 30일 및 40일 이후에 병 정도를 측정한 결과, 대조군에 비해서 병 저항성이 증가된 것을 보였다(도 2).

[54]

[55] 실시예 2: 저항성 유전자의 발현 분석

[56] 병원균 접종 후 6시간째에 PR1과 PR4 유전자의 발현을 정식 후 10 ~ 40일까지 비교하였다. 정식 10일 후에 PR 유전자의 발현은 대조군에 비해서 3-펜탄올 처리군이 낮았지만, 정식 20일 이후부터 PR 유전자의 발현은 대조군에 비해 3-펜탄올 처리군이 더 높거나 비슷하게 발현되는 것을 확인할 수 있었다(도 3).

[57]

[58] 실시예 3: 고추의 생장 및 수확량에 대한 3-펜탄올의 영향

[59] 정식 후, 수확기에 각 처리별 식물의 생장과 수확량을 비교해 보았다. 식물의 생장에서는 대조군 및 3-펜탄올 처리군 사이에 차이가 없었다. 수확량에서는 대조군에 비해 3-펜탄올 처리군에서 수확량이 줄었으나, BTH에 비해서는 수확량이 증가한 것을 확인할 수 있었다(도 4).

[60]

[61] 실시예 4: 자연적으로 발생한 병에 대한 3-펜탄올의 영향

[62] 3-펜탄올의 식물병에 대한 유도저항성을 확인한 다음, 정식 3개월 후에 자연적으로 발생한 병에 대한 저항성 정도를 확인하였다. 정식 초기에 오이 모자이크 바이러스가 자연적으로 많이 발생하였다. 오이 모자이크 바이러스에 대한 병 저항성은 대조군에 비해 3-펜탄올 처리군에서 상당히 증가하였고, BTH와 비슷하게 저항성이 증가된 것을 확인할 수 있었다. 하지만, 세균 점무늬병에 대한 저항성은 3가지 처리군에서 차이가 없음을 확인하였다(도 5).

[63]

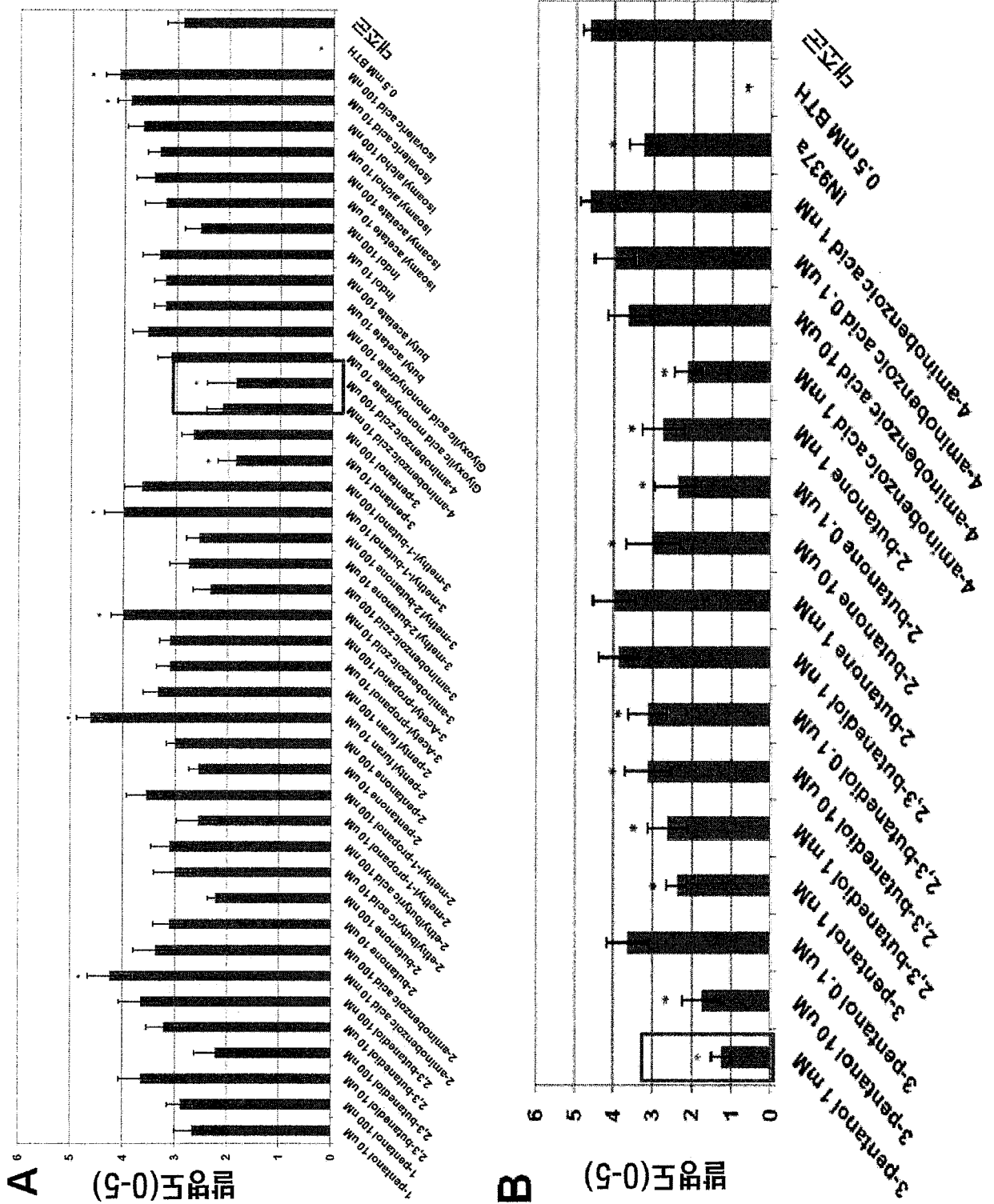
- [64] 실시예 5: 온실 조건에서 바실러스 아밀로리퀴파시엔스 (*Bacillus amyloliquefaciens*) IN937a 균주의 고추 세균점무늬병원균에 대한 ISR 효과
- [65] 10^7 CFU/ml 농도의 *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* 병원세균을 고추 잎 뒷면에 1 ml 주사기를 이용하여 침투시켜 7~10일 후 나타나는 반응을 조사하는 방법을 이용하였다. 세균 접종원은 Luria-Bertani (LB) 고체 배지에 Rifampicin 100 $\mu\text{g/ml}$ 항생제를 첨가하여 48시간, 30°C에서 배양되었다.
- [66] 병원균 접종 후 7일째에 바실러스 아밀로리퀴파시엔스 IN937a 균주의 ISR 효과를 조사하였다. 그 결과, 상기 균주 처리군에서 병 저항성이 BTH보다는 낮았지만, 대조군 보다는 높게 나타났다(도 6).

청구범위

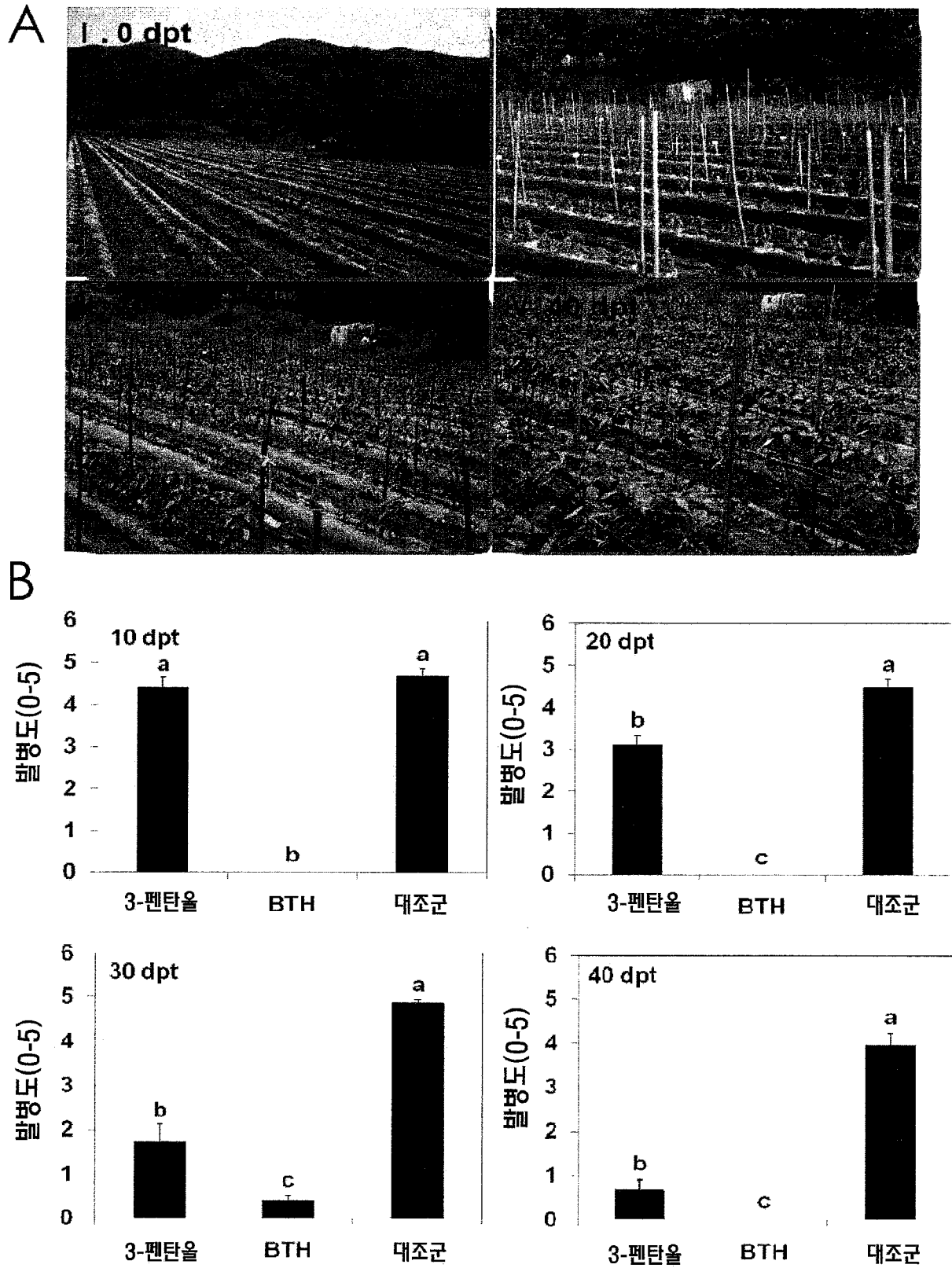
- [청구항 1] 3-펜탄올(3-pentanol)을 유효성분으로 포함하는 식물병 방제용 조성물.
- [청구항 2] 제1항에 있어서, 상기 3-펜탄올은 바실러스 아밀로리퀴파시엔스 (*Bacillus amyloliquefaciens*) IN937a 균주 유래인 것을 특징으로 하는 식물병 방제용 조성물.
- [청구항 3] 제1항에 있어서, 상기 식물병은 세균성 병 또는 바이러스성 병인 것을 특징으로 하는 식물병 방제용 조성물.
- [청구항 4] 제3항에 있어서, 상기 세균성 병은 고추 세균성 점무늬병인 것을 특징으로 하는 식물병 방제용 조성물.
- [청구항 5] 제3항에 있어서, 상기 바이러스 병은 오이 모자이크 바이러스병인 것을 특징으로 하는 식물병 방제용 조성물.
- [청구항 6] 3-펜탄올(3-pentanol)을 식물체에 처리하여 유도전신저항성(induced systemic resistance)을 유도하는 단계를 포함하는 식물병 방제 방법.
- [청구항 7] 제6항에 있어서, 상기 3-펜탄올은 바실러스 아밀로리퀴파시엔스 (*Bacillus amyloliquefaciens*) IN937a 균주 유래인 것을 특징으로 하는 식물병 방제 방법.
- [청구항 8] 제6항에 있어서, 상기 식물병은 세균성 병 또는 바이러스성 병인 것을 특징으로 하는 식물병 방제 방법.
- [청구항 9] 제8항에 있어서, 상기 세균성 병은 고추 세균성 점무늬병인 것을 특징으로 하는 식물병 방제 방법.
- [청구항 10] 제8항에 있어서, 상기 바이러스성 병은 오이 모자이크 바이러스병인 것을 특징으로 하는 식물병 방제 방법.
- [청구항 11] 제1항의 조성물을 포함하는 식물병 방제제.
- [청구항 12] 3-펜탄올을 생산하는 바실러스 아밀로리퀴파시엔스 (*Bacillus amyloliquefaciens*) IN937a 균주를 유효성분으로 포함하는 식물병 방제용 조성물.
- [청구항 13] 제12항에 있어서, 상기 식물병은 세균성 병 또는 바이러스성 병인 것을 특징으로 하는 식물병 방제용 조성물.
- [청구항 14] 제13항에 있어서, 상기 세균성 병은 고추 세균성 점무늬병인 것을 특징으로 하는 식물병 방제용 조성물.
- [청구항 15] 제13항에 있어서, 상기 바이러스성 병은 오이 모자이크 바이러스병인 것을 특징으로 하는 식물병 방제용 조성물.
- [청구항 16] 제12항의 조성물을 식물체에 처리하여 유도전신저항성(induced systemic resistance)을 유도하는 단계를 포함하는 식물병 방제 방법.

- [청구항 17] 제16항에 있어서, 상기 식물병은 세균성 병 또는 바이러스성 병인 것을 특징으로 하는 식물병 방제 방법.
- [청구항 18] 제17항에 있어서, 상기 세균성 병은 고추 세균성 점무늬병인 것을 특징으로 하는 식물병 방제 방법.
- [청구항 19] 제17항에 있어서, 상기 바이러스성 병은 오이 모자이크 바이러스병인 것을 특징으로 하는 식물병 방제 방법.

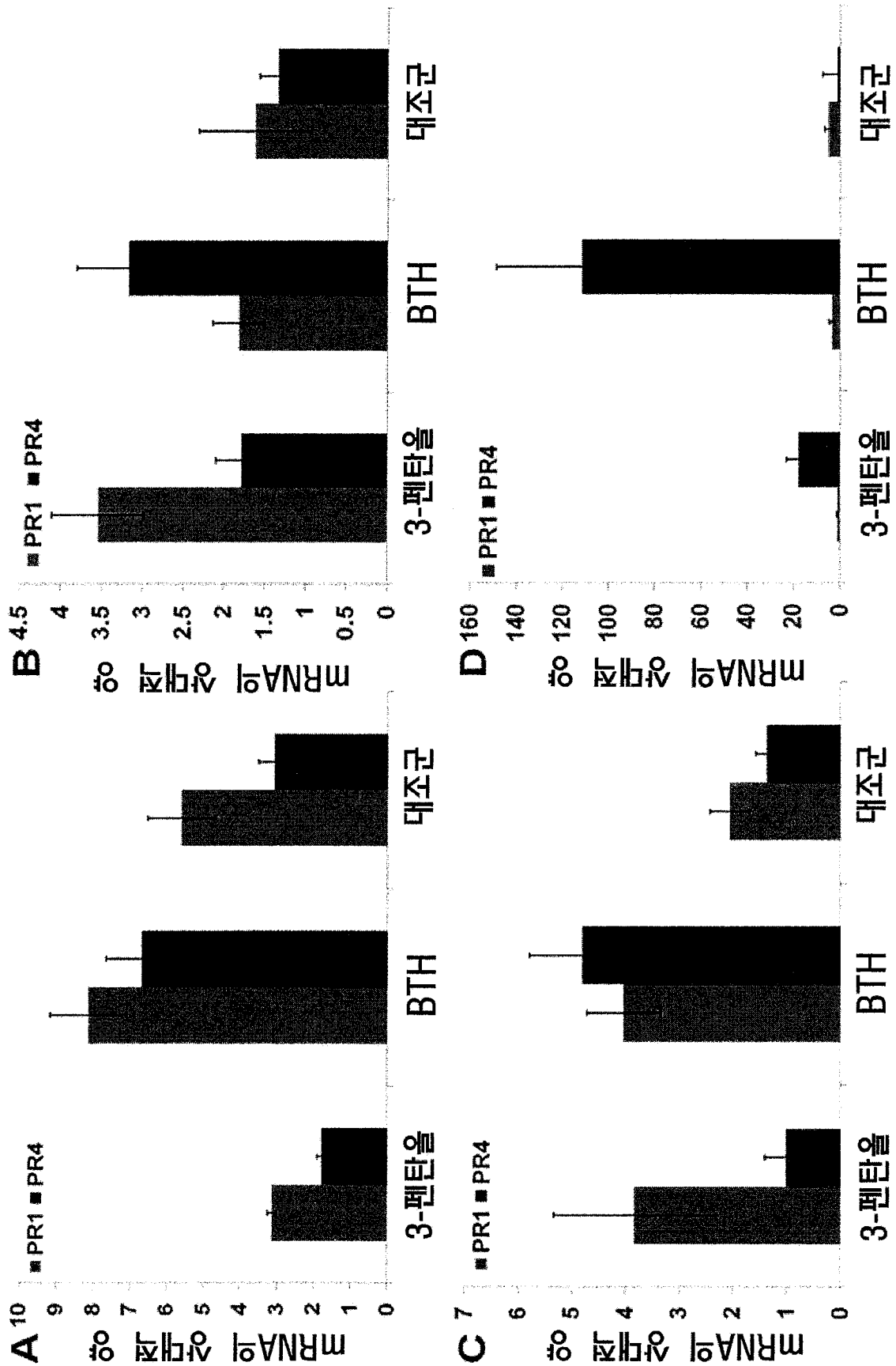
[Fig. 1]



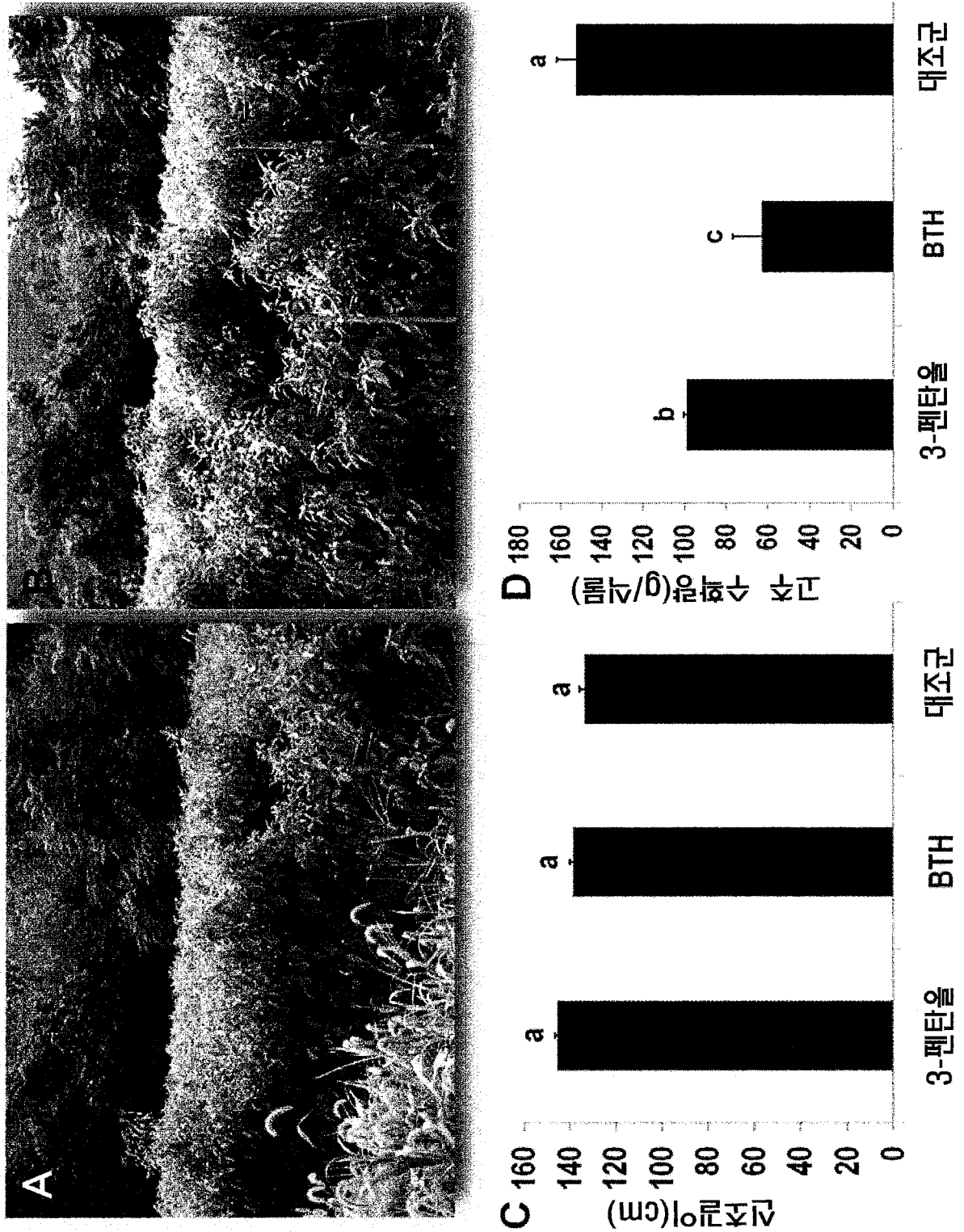
[Fig. 2]



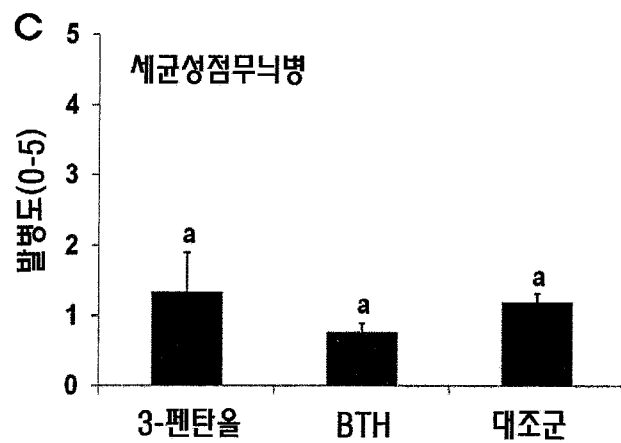
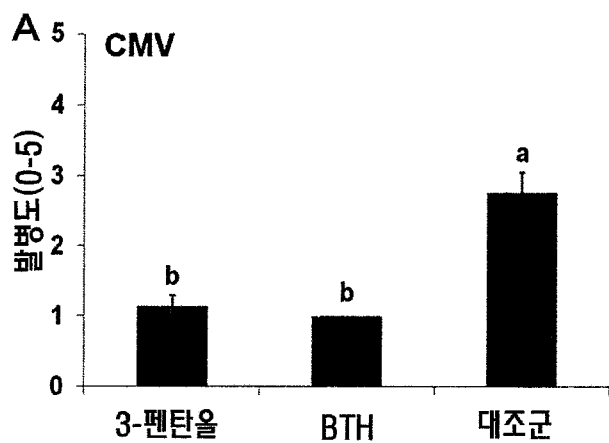
[Fig. 3]



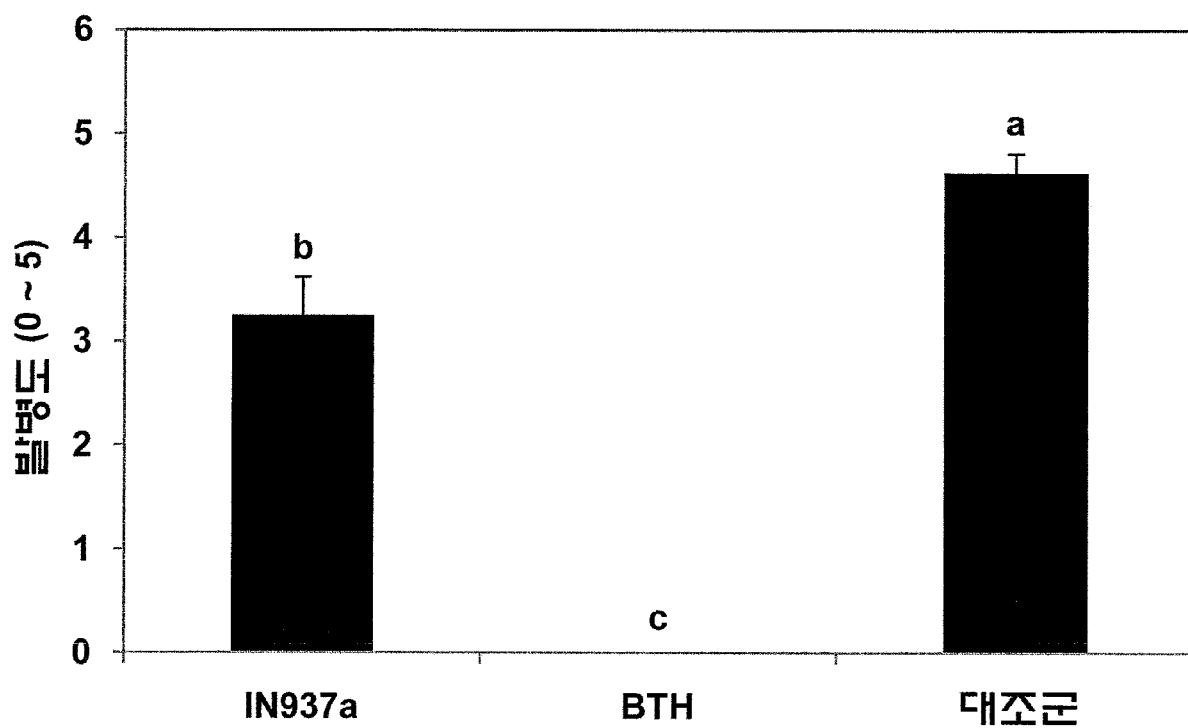
[Fig. 4]



[Fig. 5]



[Fig. 6]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2011/002886**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER*****A01N 31/02(2006.01)i, A01N 63/02(2006.01)i, A01P 1/00(2006.01)i***

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 31/02; A01N 63/00; A01N 37/06; A01N 43/78; A01N 65/00; A01H 1/00

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: 3-pentanol, bacillus amyloliquefaciens

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	RYU, CHOONG-MIN et al., "A two-strain mixture of rhizobacteria elicits induction of systemic resistance against <i>Pseudomonas syringae</i> and Cucumber Mosaic Virus coupled to promotion of plant growth on <i>Arabidopsis thaliana</i> ". J. Microbiol. Biotechnol. 2007, Vol. 17, No. 2, pages 280-286.	12-19
A	See page 280.	1-11
A	US 2010-0255124 A1 (GREEN WAYNE A. et al.) 07 October 2010 See abstract.	1-19
A	US 2009-0048312 A1 (GREENBERG JEAN T. et al.) 19 February 2009 See abstract.	1-19
A	US 2005-0050587 A1 (F. PAUL SILVERMAN et al.) 03 March 2005 See abstract.	1-19



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

"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

27 FEBRUARY 2012 (27.02.2012)

Date of mailing of the international search report

27 FEBRUARY 2012 (27.02.2012)

Name and mailing address of the ISA/KR



Korean Intellectual Property Office
Government Complex-Daejeon, 139 Seonsa-ro, Daejeon 302-701,
Republic of Korea

Facsimile No. 82-42-472-7140

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2011/002886

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
US 2010-0255124 A1	07.10.2010	WO 2010-115162 A2 WO 2010-115162 A3 WO 2010-115162 A3	07.10.2010 29.12.2010 07.10.2010
US 2009-0048312 A1	19.02.2009	AU 2008-317218 A1 CA 2696438 A1 EP 2187736 A2 JP 2010-536785 A JP 2010-536785 T MX 2010001656 A WO 2009-055126 A2 WO 2009-055126 A3 ZA 201001088 A	30.04.2009 30.04.2009 26.05.2010 02.12.2010 02.12.2010 21.05.2010 30.04.2009 24.09.2009 27.10.2010
US 2005-0050587 A1	03.03.2005	NONE	

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC)) <i>A01N 31/02(2006.01)i, A01N 63/02(2006.01)i, A01P 1/00(2006.01)i</i>		
B. 조사된 분야 조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재) A01N 31/02; A01N 63/00; A01N 37/06; A01N 43/78; A01N 65/00; A01H 1/00 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: 3-pentanol, bacillus amyloliquefaciens		
C. 관련 문헌		
카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
X	RYU, CHOONG-MIN et al. `A two-strain mixture of rhizobacteria elicits induction of systemic resistance against Pseudomonas syringae and Cucumber Mosaic Virus coupled to promotion of plant growth on Arabidopsis thaliana`. J. Microbiol. Biotechnol. 2007, Vol. 17, No. 2, pages 280-286. 페이지 280 참조.	12-19
A		1-11
A	US 2010-0255124 A1 (GREEN WAYNE A. 외 1명) 2010.10.07 요약 참조.	1-19
A	US 2009-0048312 A1 (GREENBERG JEAN T. 외 2명) 2009.02.19 요약 참조.	1-19
A	US 2005-0050587 A1 (F. PAUL SILVERMAN 외 4명) 2005.03.03 요약 참조.	1-19
☐ 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 “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 신구성 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 2012년 02월 27일 (27.02.2012)		국제조사보고서 발송일 2012년 02월 27일 (27.02.2012)
ISA/KR의 명칭 및 우편주소  대한민국 특허청 (302-701) 대전광역시 서구 청사로 189, 정부대전청사 팩스 번호 82-42-472-7140		심사관 유준석 전화번호 82-42-481-5627 

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
US 2010-0255124 A1	2010. 10. 07	WO 2010-115162 A2 WO 2010-115162 A3 WO 2010-115162 A3	2010. 10. 07 2010. 12. 29 2010. 10. 07
US 2009-0048312 A1	2009. 02. 19	AU 2008-317218 A1 CA 2696438 A1 EP 2187736 A2 JP 2010-536785 A JP 2010-536785 T MX 2010001656 A WO 2009-055126 A2 WO 2009-055126 A3 ZA 201001088 A	2009. 04. 30 2009. 04. 30 2010. 05. 26 2010. 12. 02 2010. 12. 02 2010. 05. 21 2009. 04. 30 2009. 09. 24 2010. 10. 27
US 2005-0050587 A1	2005. 03. 03	없음	