

(19)日本国特許庁(JP)

## (12)特許公報(B2)

(11)特許番号

特許第7214866号

(P7214866)

(45)発行日 令和5年1月30日(2023.1.30)

(24)登録日 令和5年1月20日(2023.1.20)

(51)国際特許分類

F I

C 1 2 N 1/14 (2006.01)

C 1 2 N 1/14

A Z N A

A 0 1 N 63/30 (2020.01)

A 0 1 N 63/30

A 0 1 P 7/04 (2006.01)

A 0 1 P 7/04

請求項の数 7 (全12頁)

|                   |                                  |          |                                       |
|-------------------|----------------------------------|----------|---------------------------------------|
| (21)出願番号          | 特願2021-527814(P2021-527814)      | (73)特許権者 | 517181092                             |
| (86)(22)出願日       | 令和1年11月15日(2019.11.15)           |          | キュン ブク ナショナル ユニバーシティ                  |
| (65)公表番号          | 特表2022-513086(P2022-513086<br>A) |          | インダストリ - アカデミック コーポレ<br>ーション ファンデーション |
| (43)公表日           | 令和4年2月7日(2022.2.7)               |          | 大韓民国、4 1 5 5 6、デグ、ブク - グ              |
| (86)国際出願番号        | PCT/KR2019/015616                | (74)代理人  | 100108453                             |
| (87)国際公開番号        | WO2020/101415                    |          | 弁理士 村山 靖彦                             |
| (87)国際公開日         | 令和2年5月22日(2020.5.22)             | (74)代理人  | 100110364                             |
| 審査請求日             | 令和3年7月19日(2021.7.19)             |          | 弁理士 実広 信哉                             |
| (31)優先権主張番号       | 10-2018-0142137                  | (74)代理人  | 100133400                             |
| (32)優先日           | 平成30年11月16日(2018.11.16)          |          | 弁理士 阿部 達彦                             |
| (33)優先権主張国・地域又は機関 | 韓国(KR)                           | (72)発明者  | ジェ・ホ・シン                               |
| (31)優先権主張番号       | 10-2019-0145696                  |          | 大韓民国・デグ・4 1 5 8 4・ブク - グ              |
| (32)優先日           | 令和1年11月14日(2019.11.14)           |          | ・チムサン - ロ・2 2 - ギル・3 1・1              |
| 最終頁に続く            |                                  | 最終頁に続く   |                                       |

(54)【発明の名称】 優れた殺虫効果および孢子生成能を有する新規ビューベリアバシアナ K N U - 1 0 1 菌株  
およびその用途

## (57)【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

殺虫効果を有するビューベリアバシアナ ( *B e a u v e r i a b a s s i a n a* ) K  
N U - 1 0 1 菌株 ( 受託番号 K C T C 1 3 6 6 0 B P ) であって、  
前記菌株は、7 日間 2 8 ~ 3 0 で培養すると、 $1.0 \times 10^8$  s p o r e / g 個数の孢子を形  
成する、菌株。

## 【請求項 2】

前記菌株は、配列番号 1 で表される I T S ( I n t e r n a l T r a n s c r i b e d  
S p a c e r R e g i o n ) 塩基配列を含むものである、請求項 1 に記載の菌株。

## 【請求項 3】

請求項 1 に記載のビューベリアバシアナ ( *B e a u v e r i a b a s s i a n a* ) K  
N U - 1 0 1 菌株 ( 受託番号 K C T C 1 3 6 6 0 B P ) を培養する段階を含む菌株の大量生産方法。

## 【請求項 4】

前記培養は、2 8 ~ 3 0 で行われるものである、請求項 3 に記載の菌株の大量生産方法。

## 【請求項 5】

請求項 1 に記載のビューベリアバシアナ ( *B e a u v e r i a b a s s i a n a* ) K  
N U - 1 0 1 菌株 ( 受託番号 K C T C 1 3 6 6 0 B P )、前記菌株の培養物、前記培養物の濃縮物、および前記培養物の乾燥物からなる群より選択される 1 つ以上を有効成分と

10

20

して含む殺虫用微生物製剤。

【請求項 6】

前記微生物製剤は、アザミウマに対して殺虫活性を有するものである、請求項 5 に記載の殺虫用微生物製剤。

【請求項 7】

請求項 5 に記載の微生物製剤を土壌または植物に処理する段階を含む殺虫方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、優れた殺虫効果および孢子生成能を有する新規ビューベリアバシアナ (*Beauveria bassiana*) KNU-101 菌株 (受託番号 KCTC 13660 BP)、前記菌株の大量生産方法、前記菌株を用いた殺虫用微生物製剤、および前記微生物製剤を用いた殺虫方法などに関する。

10

【0002】

本発明は、韓国農村進興庁の課題番号 1395058780、「高麗人参耕作地の微生物群集の分析と能動的再耕技術の開発による連作被害の低減」による韓国政府の支援を受けて行われた。

【0003】

また、本発明は、韓国農村進興庁の課題番号 1545018506、「濃食品有用細菌の参照遺伝体の解読および比較遺伝体の分析による細菌遺伝体情報の高度化および資源化」による韓国政府の支援を受けて行われた。

20

【背景技術】

【0004】

昆虫は現在地球上の知られた生物の中で最も多い種を占めており、環境への適応力に優れていることが知られている。このような昆虫の一部は商業的に重要な多様な農耕作物に多くの損失をきたしているため、このような害虫を防除するために、以前から化学殺虫剤が多く使用されてきている。しかし、化学殺虫剤は、殺虫能力の非特異的なスペクトルによって、役に立つ益虫および害虫に寄生する寄生虫のような非目的微生物も撲滅し、化学殺虫剤の頻繁な使用により化学殺虫剤に繰り返し露出した目的害虫の耐性獲得を促進し、同時に化学殺虫剤成分は人体に有害であるという欠点があった。

30

【0005】

化学殺虫剤の使用を低減すべく、環境にやさしい害虫防除剤として昆虫病原性真菌 (*entomopathogenic fungi*) を用いる方法が使用されている。このような昆虫病原性真菌は、植物を含む人畜には全く無害でありながらも寄主昆虫にのみ特異的な殺虫力を有しているため、対象害虫を効果的に防除できるという利点がある。

【0006】

一方、ビューベリアバシアナ (*Beauveria bassiana*) は、代表的な昆虫病原性真菌として知られており、孢子が昆虫のワックス層を分解しながら昆虫を脱水させて死滅に至らせ、それらの死体を滋養分にして次の世代を引き継いでいくことが知られている。このような理由から、昆虫に対する経口および接触毒性がすべて有効であり、多様な昆虫の宿主に感染可能であることが知られている。このような害虫防除用真菌の孢子の大量培養には、主に分生孢子を生産する固体培養が使用されている。

40

【0007】

ただし、細菌とは異なり、カビは最小 7 日以上の上長期的培養期間にもかかわらず孢子の生産量が十分でなくて害虫防除用真菌の製品化が遅れているのが現状であり、現在まで報告されたビューベリアバシアナ菌株も孢子生成が商業的に利用するには低い水準であると知られている。したがって、産業化のためには優れた殺虫力を示すと同時に、大量の孢子を生産できる 2 つの要件を兼ね備える真菌を選び出すことが優先的な課題となる。

【0008】

一方、アザミウマ (*Thrips*) は代表的な土壌害虫であって、若い葉や茎、花卉な

50

どの柔らかい組織に卵を産み、気温の上昇とともに出現し始めて、茎と葉の表面に害を与え、開花期にはつぼみを加害して作物の品質を深刻に低下させる。被害作物は葉がまっすぐに広がらず奇形に変形したり、葉脈が収縮する病変を示す。アザミウマは、キュウリ、レタス、トマト、ナス、チコリなど、寄主範囲が広く、温度条件によって世代期間が最短12日から最長26日程度と非常に短く、繁殖力が強いいため、防除に困難を覚えている。

【0009】

上記のような、害虫駆除のために多様な物質に関する研究が進められているが、今のところ、化学殺虫剤に比べてバイオ殺虫剤に関する研究は不十分であるのが現状である。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

10

【0010】

上記の本発明の目的を達成するために、本発明の一態様は、殺虫効果を有するビューベリアバシアナ (*Beauveria bassiana*) KNU-101 菌株 (受託番号 KCTC 13660BP) を提供する。

【0011】

本発明の一具体例によれば、前記菌株は、配列番号1で表されるITS (Internal Transcribed Spacer Region) 塩基配列を含むことができる。

【0012】

本発明の他の態様は、ビューベリアバシアナ (*Beauveria bassiana*) KNU-101 菌株 (受託番号 KCTC 13660BP) を培養する段階を含む菌株の大量生産方法を提供する。

20

【0013】

本発明の一具体例によれば、前記培養は、28 ~ 30 で行われる。

【0014】

本発明のさらに他の態様は、ビューベリアバシアナ (*Beauveria bassiana*) KNU-101 菌株 (受託番号 KCTC 13660BP)、前記菌株の培養物、前記培養物の濃縮物、および前記培養物の乾燥物からなる群より選択される1つ以上を有効成分として含む殺虫用微生物製剤を提供する。

【0015】

本発明の一具体例によれば、前記微生物製剤は、アザミウマに対して殺虫活性を有するものであってもよい。

30

【0016】

本発明のさらに他の態様は、前記微生物製剤を土壌または植物に処理する段階を含む殺虫方法を提供する。

【課題を解決するための手段】

【0017】

本発明の一態様は、殺虫効果を有するビューベリアバシアナ (*Beauveria bassiana*) KNU-101 菌株 (受託番号 KCTC 13660BP) を提供する。

【0018】

40

本発明の一具体例によれば、前記菌株は、配列番号1で表されるITS (Internal Transcribed Spacer Region) 塩基配列を含むことができる。

【0019】

本発明の他の態様は、ビューベリアバシアナ (*Beauveria bassiana*) KNU-101 菌株 (受託番号 KCTC 13660BP) を培養する段階を含む菌株の大量生産方法を提供する。

【0020】

本発明の一具体例によれば、前記培養は、28 ~ 30 で行われる。

【0021】

50

本発明のさらに他の態様は、ビューベリアバシアナ (*Beauveria bassiana*) KNU - 101 菌株 (受託番号 KCTC 13660BP)、前記菌株の培養物、前記培養物の濃縮物、および前記培養物の乾燥物からなる群より選択される 1 つ以上を有効成分として含む殺虫用微生物製剤を提供する。

【0022】

本発明の一具体例によれば、前記微生物製剤は、アザミウマに対して殺虫活性を有するものであってもよい。

【0023】

本発明のさらに他の態様は、前記微生物製剤を土壌または植物に処理する段階を含む殺虫方法を提供する。

【発明の効果】

【0024】

本発明のビューベリアバシアナ (*Beauveria bassiana*) KNU - 101 菌株は、昆虫病原性を有し、農作物に害を及ぼす土壌害虫であるアザミウマの防除に卓越した殺虫効果を示し、孢子生産力にも優れているので、環境にやさしい害虫防除手段として有用に活用できる。

【図面の簡単な説明】

【0025】

【図1】本発明のビューベリアバシアナ (*Beauveria bassiana*) KNU - 101 菌株を純粋分離後に形態学的な特徴 (A) および顕微鏡で観察した写真 (B) を示す図である。

【図2】本発明のビューベリアバシアナ (*Beauveria bassiana*) KNU - 101 菌株に対する Internal transcribed spacer (ITS) 領域を暗号化している遺伝子を用いて系統分類学的模式図を示す図である。

【図3】本発明のビューベリアバシアナ (*Beauveria bassiana*) KNU - 101 菌株によって死滅したアザミウマを示す図であり、矢印はビューベリアバシアナ KNU - 101 菌株によって死滅したアザミウマを示す。

【図4】本発明のビューベリアバシアナ (*Beauveria bassiana*) KNU - 101 菌株のアザミウマに対する昆虫病原性を他の菌株と比較したグラフである。

【図5】本発明のビューベリアバシアナ (*Beauveria bassiana*) KNU - 101 真菌の培養 7 日後の孢子生産量を示すグラフである。

【図6】本発明のビューベリアバシアナ (*Beauveria bassiana*) KNU - 101 真菌のトウガラシを用いた圃場実験におけるアザミウマに対する防除価を示すグラフである。

【発明を実施するための形態】

【0026】

本発明者らは、商業的に重要で多様な農耕作物に害を及ぼす害虫防除のための昆虫病原性微生物を探索している間、ビューベリアバシアナ (*Beauveria bassiana*) KNU - 101 菌株のアザミウマの致死効果および優れた孢子生成能を確認して、前記菌株を含む害虫防除用微生物製剤を製造することにより、本発明を完成した。

【0027】

本発明の一実施例では、ビューベリアバシアナ KNU - 101 菌株を土壌害虫のアザミウマに処理した結果、100%の致死率を示し、アザミウマに対する昆虫病原性に優れていることを確認した (実施例2参照)。

【0028】

本発明の他の実施例では、ビューベリアバシアナ KNU - 101 が他の害虫病原性真菌に比べて最小100倍から最大10,000倍まで孢子生産能力に優れていることを確認した (実施例3参照)。

【0029】

本発明の一実施例では、ビューベリアバシアナ KNU - 101 が他の害虫病原性真菌に

10

20

30

40

50

比べて防除価が約 30 % 程度さらに優れていることを確認した（実施例 4 参照）。

【0030】

以下、本発明を詳しく説明する。

【0031】

本発明の一態様は、殺虫効果を有するビューベリアバシアナ (*Beauveria bassiana*) KNU-101 菌株（受託番号 KCTC 13660BP）を提供する。

【0032】

本発明の一具体例によれば、前記菌株は、配列番号 1 で表される ITS (Internal Transcribed Spacer Region) 塩基配列を含むことができる。

10

【0033】

本発明では、昆虫病原性真菌 (*Entomopathogenic fungi*) に感染して死滅したアザミウマ、アザミウマが生息する作物および土壌からアザミウマに対する殺虫効果を有する菌株を選び出し、昆虫病原性真菌に感染して死んだ昆虫、および周辺の土壌を採集してアザミウマに対する殺虫効果を有する菌株を分離して、アザミウマにおいて優れた殺虫効果を示す菌株を選別し（図 1 参照）、前記菌株を「ビューベリアバシアナ (*Beauveria bassiana*) KNU-101」と同定し（図 2 参照）、これを 2018 年 10 月 16 日付で韓国生命工学研究院微生物資源センター（KCTC）に寄託した（受託番号：KCTC 13660BP）。

【0034】

20

本発明のビューベリアバシアナ (*Beauveria bassiana*) KNU-101 菌株は、30 °C および pH 7.0 で最適な生育条件を有することができ、好気性菌として、凍結乾燥して保存することができ、0.02 % ポリソルベート 80 を含有した 40 % グリセロール水溶液と前記真菌培養液とを 1 対 1 で混合した後、-80 °C で冷凍するなどの通常の方法で保管することができる。

【0035】

本発明の他の態様は、ビューベリアバシアナ (*Beauveria bassiana*) KNU-101 菌株（受託番号 KCTC 13660BP）を培養する段階を含む菌株の大量生産方法を提供する。

【0036】

30

本発明のビューベリアバシアナ KNU-101 菌株を経済的な方法で大量生産するための水と麦粕などを混合した基本的な培地は、グリセリン、ブドウ糖、酵母抽出物、リン酸塩などから構成された群より選択される 1 つまたは 2 つ以上を追加的に添加することができるが、これに限定されるものではない。固体培地で培養する場合、真菌の生育に最も大きな影響を与えるものは、通気性と温度、水分含有量で、温度が 30 °C の時、酸素との接触が円滑であるほど、生産された生菌数の量が改善され、菌体の生産量も向上する。前記培地に添加された酵母抽出物は、微量元素、窒素源の提供および活性化された菌株の殺虫力を維持するために使用し、グリセリンは培地の物性および水分含有度を改善するための補助剤として使用され、リン酸塩は pH 緩衝剤として使用される。

【0037】

40

本発明の一具体例によれば、前記培養は、28 °C ~ 30 °C で行われる。

【0038】

本発明のさらに他の態様は、ビューベリアバシアナ (*Beauveria bassiana*) KNU-101 菌株（受託番号 KCTC 13660BP）、前記菌株の培養物、前記培養物の濃縮物、および前記培養物の乾燥物からなる群より選択される 1 つ以上を有効成分として含む殺虫用微生物製剤を提供する。

【0039】

前記微生物製剤は、ビューベリアバシアナ (*Beauveria bassiana*) KNU-101 菌株（受託番号 KCTC 13660BP）、前記菌株の培養物、前記培養物の濃縮物、または前記培養物の乾燥物に、界面活性剤、増量剤、栄養剤などの付加剤

50

を添加して製造することができる。この時、界面活性剤としては、ポリカルボキシレート、ソジウムリグノスルホネート、カルシウムリグノスルホネート、ソジウムジアルキルスルホスクシネート、ソジウムアルキルアリアルスルホネート、ポリオキシエチレンアルキルフェニルエーテル、ソジウムトリポリホスフェート、ポリオキシエチレンアルキルアリアルホスホリックエステル、ポリオキシエチレンアルキルアリアルエーテル、ポリオキシエチレンアルキルアリアルポリマー、ポリオキシアルキルオンアルキルフェニルエーテル、ポリオキシエチレンノニルフェニルエーテル、ソジウムスルホネートナフタレンホルムアルデヒド、トリトン１００、およびトウイン８０からなる群より選択される１つ以上を使用し、増量剤および栄養剤としては、豆粉、米、小麦、黄土、珪藻土、デキストリン、ブドウ糖、およびデンプンからなる群より選択される１つ以上を使用し、崩壊剤としては、ベントナイト(bentonite)、タルク(talc)、ダイアライト(diallite)、カオリン(kaolin)、およびカルシウムカーボネート(calcium carbonate)からなる群より選択される１つ以上を使用することができる。

10

#### 【００４０】

前記殺虫用微生物製剤は、前記菌株の安定的な製剤化を目的として、粒剤、水和剤、またはカプセル化剤形の形態に製造できるが、これに限定されるものではなく、前記粒剤の場合、表面活性剤、不活性担体、保存剤、湿潤剤、供給促進剤、誘引剤、カプセル化剤、結合剤、乳化剤、染料、UV保護剤、緩衝剤、およびフロー剤、低飛散粉剤、微粉剤、水面展開剤からなる剤形の群より選択される１つ以上のものを追加的に選択して製造されてもよい。

20

#### 【００４１】

本発明の一具体例によれば、前記微生物製剤は、アザミウマに対して殺虫活性を有するものであってもよい。

#### 【００４２】

本発明のビューベリアバシアナ(Beauveria bassiana) KNU-101菌株(受託番号KCTC 13660BP)は、同族種属のビューベリアバシアナ菌株対比約３０％以上優れたアザミウマ防除率を示すので、アザミウマの防除のために有用に活用できる。

#### 【００４３】

本発明のさらに他の態様は、前記微生物製剤を土壌または植物に処理する段階を含む殺虫方法を提供する。

30

#### 【００４４】

本発明の殺虫方法は、ビューベリアバシアナ(Beauveria bassiana) KNU-101菌株(受託番号KCTC 13660BP)、前記菌株の培養物、前記培養物の濃縮物、および前記培養物の乾燥物からなる群より選択される１つ以上を有効成分として含む殺虫用微生物製剤を、当業界における土壌または植物に微生物製剤を処理する通常の方法によって行われてもよい。

#### 【実施例】

#### 【００４５】

以下、本発明の理解のために好ましい実施例を提示する。しかし、下記の実施例は本発明をより容易に理解するために提供されるものに過ぎず、下記の実施例によって本発明の内容が限定されるものではない。

40

#### 【００４６】

##### [ 実施例 ]

#### 実施例１．ビューベリアバシアナKNU-101菌株の分離および同定

本発明において、土壌害虫に対して殺虫力を有する真菌を分離するために、野外で病原性真菌によって感染して死んだ昆虫を採集する方法と、土壌害虫が生息する作物および土壌試料から分離する方法とを並行した。

#### 【００４７】

具体的には、感染して死んだアザミウマはその重量を秤量した後、０．８５％塩類溶液

50

(saline solution) に 10 倍順次希釈して懸濁液中の 0.1 ml を取り、下記表 1 のようなサブローデキストロス寒天培地 (SDA 培地; Sabouraud Dextrose Agar media) に塗抹した。下記の例に表記された培地の成分は本発明のビューベリアバシアナを分離するためのものであり、下記に提示された成分の加減には限定がない。

【0048】

【表 1】

| 成分                                   | 量(%) |
|--------------------------------------|------|
| ブドウ糖 (Glucose)                       | 4.0  |
| 酵母抽出物 (Yeast extract)                | 1.0  |
| ペプトン (Peptone)                       | 1.0  |
| ポリソルベート80 (Polysorbate 80, tween 80) | 0.01 |
| アンピシリン (Ampicillin (100 mg/mL))      | 0.01 |
| カナマイシン (Kanamycin (100 mg/mL))       | 0.01 |
| 寒天粉末 (Agar powder)                   | 1.5  |
| pH 6.9 ± 0.2                         |      |

10

20

【0049】

また、土壌、作物、糞便、および飼料の試料から真菌を分離するために採取された試料 1.0 g を 9 ml 0.85 % 塩類溶液に順次希釈して各希釈倍数ごとに 0.1 ml を取り、表 1 の組成を有する培地に塗抹し、30℃ で 5 日間培養させた後、一般的に知られたビューベリアバシアナと形態学的に類似する真菌のみを選別分離して新しい SDA 培地に接種して、同一の条件で培養した。

【0050】

その結果、アザミウマに対して殺虫力を有する昆虫病原性 13 種の真菌を選別し、前記真菌をビューベリアバシアナ (*Beauveria bassiana*) で同定した。本発明者らは、前記分離した昆虫病原性分離菌のうち、殺虫力に最も優れていることが分かった真菌を「ビューベリアバシアナ KNU-101」と名付け、これを 2018 年 10 月 16 日付で韓国生命工学研究院微生物資源センターに寄託した (受託番号; KCTC 13660BP)。

30

【0051】

前記ビューベリアバシアナ KNU-101 を純粋分離後に形態学的な特徴を図 1 の A に、顕微鏡下で観察した写真を図 1 の B に示し、図 2 に Internal transcribed spacer (ITS) 領域の配列分析の結果から作成した系統分類学的模式図を示した。前記菌株の系統分類学的模式図は、Molecular Evolutionary Genetics Analysis 7.0 version を用いて maximum likelihood 方法で確認された。

40

【0052】

実施例 2. ビューベリアバシアナ KNU-101 菌株の土壌害虫に対する病原性の検証

キュウリ、トマトおよびレタスなどの栽培地で問題になっている害虫であるアザミウマ類のうち、キュウリのアザミウマ (*Palm thrips*, *Parthenothrips dracaenae*) を供試虫 (test insect) として用い、成虫の寄主作物としてはインゲンマメを用い、累代飼育をしながら 2 - 4 世代内に実験を実施した。

【0053】

本発明において、分離した真菌であるビューベリアバシアナ (*Beauveria bassiana*) のアザミウマに対する殺虫力を検証すべく、前記真菌をサブローデキス

50

トロー ス液体培地に約  $10^4$  個の胞子を接種して点培養し、約  $10^5$  個の胞子数を麦粕からなる固体培地で5日間培養した。培養後、血球計数器 (hemocytometer) で観測した結果、1gあたり約  $3.1 \times 10^7$  個の胞子を確保した。確保した胞子を農家で獲得したアザミウマに約  $10^5$  個の胞子数で処理し、7日間観察した。無処理群と各処理群のアザミウマは約30匹に設定し、陰性対照群としてアスペルギルスフラバス (*Aspergillus flavus*) ATCC9643、陽性対照群としてビューベリアバシアナ (*Beauveria bassiana*) ATCC74040を用いた。

【0054】

その結果、図3および図4に示されるように、ビューベリアバシアナ KNU-101 菌株がアザミウマに対して100%の致死率を示し、他の分離真菌および陽性対照群に比べてアザミウマに対する昆虫病原性に優れていることが確認された。

10

【0055】

#### 実施例3. ビューベリアバシアナ KNU-101 の胞子生産量の比較検証

本発明のビューベリアバシアナ KNU-101 真菌を経済的な方法で大量生産するために、水と麦粕とを混合した基本的な培地を作製した。

【0056】

前記培地は、グリセリン、ビャッキョウサン、酵母抽出物、リン酸塩などから構成された群より選択される1つまたは2つ以上を追加的に添加することができる。前記培地の添加剤のうち、酵母抽出物は微量元素および窒素源を提供し、グリセリンは培地の物性および水分含有度を改善するための補助剤として用いられ、ビャッキョウサンは活性化された菌株の殺虫力を維持するために用いられ、リン酸塩はpH緩衝剤として用いられる。

20

【0057】

供試菌株としてアスペルギルスフラバス (*Aspergillus flavus*) ATCC9643およびビューベリアバシアナ (*Beauveria bassiana*) ATCC74040を用いた。本発明において、分離したビューベリアバシアナ (*Beauveria bassiana*) KNU-101 および前記菌株を固相培地に1gあたり約  $10^4$  spore/ml の胞子濃度で接種し、7日間培養した後、胞子の個数を確認した。各菌株の実験群は3個に設定した。

【0058】

その結果、図5に示されるように、血球計数器で7日間28~30 で培養して観測した結果、本発明のビューベリアバシアナ (*Beauveria bassiana*) KNU-101 を培養した培地1gあたり約  $1.8 \times 10^{11}$  spore/g 個の胞子が観測され、供試菌株のビューベリアバシアナ ATCC74040と比較した時、最小100倍から最大10,000倍以上胞子生産能に優れていることが確認された。

30

【0059】

#### 実施例4. ビューベリアバシアナ KNU-101 の防除効果の実証

本発明において、分離したビューベリアバシアナ KNU-101 の実際の作物における土壌害虫に対する防除価を検証すべく、実証実験を実施した。

【0060】

試験作物はトウガラシを、供試虫としてはミカンキイロアザミウマ (*Frankliniella occidentalis*) を用いて計27日間実施し、計  $45\text{m}^2$  の面積で完全ランダム配置法による3繰り返し試験を行った。

40

【0061】

本発明のビューベリアバシアナ KNU-101 は下記の表2のように処理し、陽性対照群としてビューベリアバシアナ (*Beauveria bassiana*) ATCC74040を用いた。圃場実験は、外部と遮断された試験区内にトウガラシの畝を定式した植木鉢を入れて、室内で飼育したミカンキイロアザミウマを区あたり300匹ずつ投与して接種した。防除価は試験開始27日後に圃場内のミカンキイロアザミウマの密度率を調べて確認した。

【0062】

50

【表 2】

| 試験薬剤          | 主成分の含有量<br>(%) | 薬効試験       |           |
|---------------|----------------|------------|-----------|
|               |                | 希釈倍数および使用料 | 処理時期および方法 |
| ATCC74040顆粒剤形 | 50%            | 300g/10a   | 定式後土壌管注処理 |
| KNU-101顆粒剤形   | 50%            | 300g/10a   | 定式後土壌管注処理 |
| 無処理           | —              | —          | —         |

10

## 【0063】

その結果、図6に示されるように、本発明のKNU-101製剤が約80%の防除価を示し、実際の圃場においても供試菌株に比べてより高い殺虫能力を有することが確認された。

## 【0064】

上述した本発明の説明は例示のためのものであり、本発明の属する技術分野における通常の知識を有する者は、本発明の技術的思想や必須の特徴を変更することなく他の具体的な形態に容易に変形可能であることを理解するであろう。そのため、以上に述べた実施例はあらゆる面で例示的なものであり、限定的ではないと理解しなければならない。

20

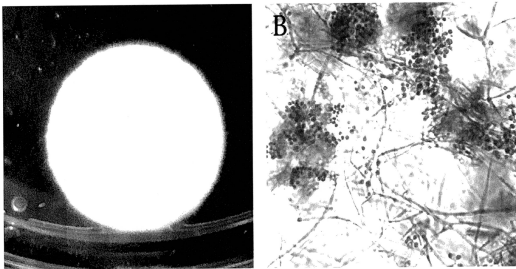
30

40

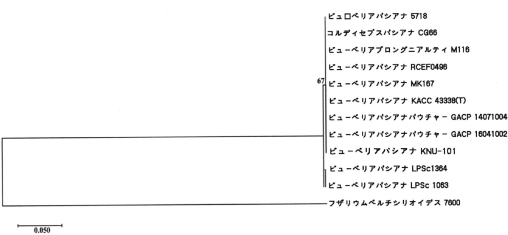
50

【図面】

【図 1】

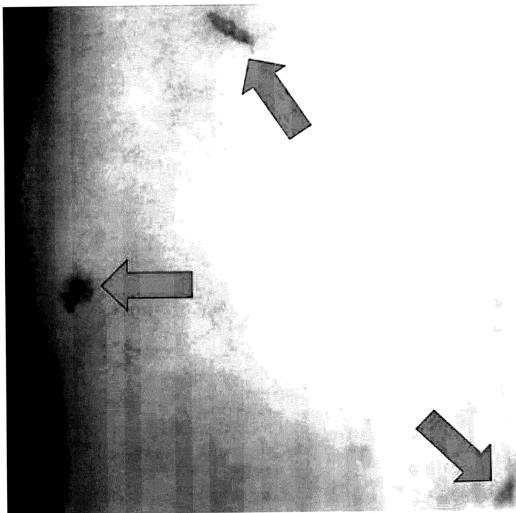


【図 2】

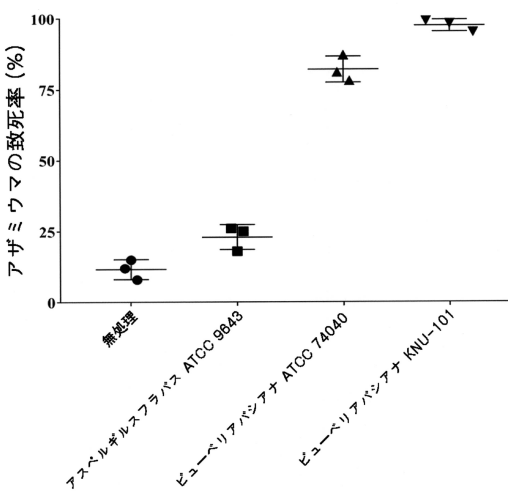


10

【図 3】



【図 4】



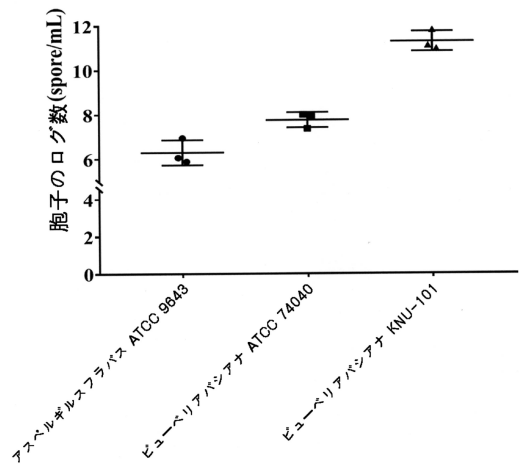
20

30

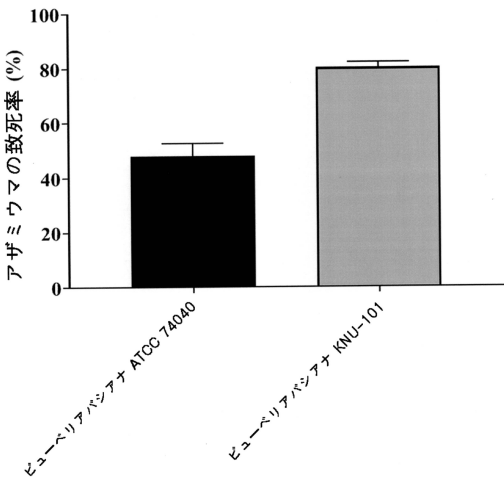
40

50

【図 5】



【図 6】



10

【配列表】

0007214866000001.app

20

30

40

50

## フロントページの続き

(33)優先権主張国・地域又は機関

韓国(KR)

微生物の受託番号 KCTC KCTC 13660BP

03 - 103

(72)発明者 チャン・オン・パク

大韓民国・デグ・42228・スソン - グ・パドン - ロ・37 - ギル・7 - 7

(72)発明者 ヨン・ギユン・ジュン

大韓民国・デグ・41563・プク - グ・ギョンジン - ロ・8 - ギル・6・501ホ

(72)発明者 スン・デ・チェ

大韓民国・ガンウォン - ド・25443・カンヌン - シ・ソンサン - ミョン・サムバム - ギル・33 - 3

(72)発明者 ヨン・ジュン・パク

大韓民国・デグ・42669・タルソ - グ・ソングン - ロ・33 - ギル・16・1016ホ

(72)発明者 ヒュン・ウ・ジョ

大韓民国・キョング - ド・13119・ソンナム - シ・スジョン - グ・ボクジョン - ロ・32ボン - ギル・40・302ホ

(72)発明者 ミン・ジ・キム

大韓民国・デグ・42510・ナム - グ・ヒョソン - ロ・70 - 4

(72)発明者 ミン・キュ・パク

大韓民国・インチョン・22678・ソ - グ・チョンマ - ロ・134ボン - ギル・10 - 25・205ホ

(72)発明者 ミン・チュル・キム

大韓民国・デグ・41544・プク - グ・デホク - ロ・59 - 2・305ホ

審査官 福澤 洋光

(56)参考文献 韓国公開特許第10 - 2018 - 0118266 (KR, A)

特開2016 - 135101 (JP, A)

Definition: Beauveria bassiana isolate Qin21 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence, Database GenBank [online], 2018年10月31日, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/MG345086.1/>, Accession No. MG345086

Definition: Beauveria bassiana strain KACC40218 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 26S ribosomal RNA gene, partial sequence, Database GenBank [online], 2007年10月04日, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/AF291871.1/>, Accession No. AF291871

(58)調査した分野 (Int.Cl., DB名)

C12N 1/14

A01N 63/30

A01P 7/04

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII)

Caplus/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS(STN)

GenBank/EMBL/DDBJ/GenSeq

UniProt/GenSeq

PubMed