

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구  
국제사무국

(43) 국제공개일  
2012년 9월 13일 (13.09.2012)



(10) 국제공개번호  
WO 2012/121527 A2

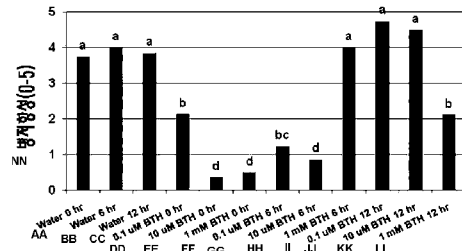
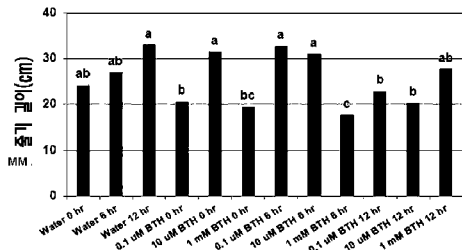
- (51) 국제특허분류: A01N 43/82 (2006.01) A01P 1/00 (2006.01)  
A01N 43/72 (2006.01) A01P 21/00 (2006.01)  
A01C 1/00 (2006.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2012/001616
- (22) 국제출원일: 2012년 3월 5일 (05.03.2012)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보: 10-2011-0019299 2011년 3월 4일 (04.03.2011) KR
- (71) 출원인 (US을(를) 제외한 모든 지정국에 대하여): 한국생명공학연구원 (KOREA RESEARCH INSTITUTE OF BIOSCIENCE AND BIOTECHNOLOGY) [KR/KR]; 대전광역시 유성구 어은동 52번지, 305-806 Daejeon (KR).
- (72) 발명자; 겸
- (75) 발명자/출원인 (US에 한하여): 류충민 (RYU, Choong Min) [KR/KR]; 대전광역시 유성구 어은동 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, QA, RO, RS, RU, RW, 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: SEED TREATMENT METHOD FOR INDUCING INDUCED SYSTEMIC RESISTANCE IN A PLANT WHILE MINIMISING EFFECTS ON PLANT GROWTH

(54) 발명의 명칭 : 식물 생장의 영향을 최소화하면서 식물 전신유도저항성을 유도하는 종자처리 방법

[Fig. 1]



AA ... Water 0 hr  
 BB ... Water 6 hr  
 CC ... Water 12 hr  
 DD ... 0.1 μM BTH 0 hr  
 EE ... 10 μM BTH 0 hr  
 FF ... 1 mM BTH 0 hr  
 GG ... 0.1 μM BTH 6 hr  
 HH ... 10 μM BTH 6 hr  
 II ... 1 mM BTH 6 hr  
 JJ ... 0.1 μM BTH 12 hr  
 KK ... 10 μM BTH 12 hr  
 LL ... 1 mM BTH 12 hr  
 MM ... Stalk length (cm)  
 NN ... Disease resistance (0-5)

(57) Abstract: The present invention clarifies the concentration and time for treatment with BTH (benzothiadiazole), which induces induced systemic resistance in plants, so as to minimise the plant growth suppressing effect that appears when BTH is used to achieve sustained disease resistance in three crops, namely pepper, soybean and cucumber.

(57) 요약서: 본 발명은 식물 전신유도저항성을 유도하는 BTH (benzothiadiazole)를 이용하여, 병에 대한 저항성이 지속될 때 나타나는 식물 생장 억제 영향을 최소화하는 BTH의 처리 농도 및 시간을 3가지 작물 즉, 고추, 대두, 오이를 대상으로 밝힌 것이다.

WO 2012/121527 A2



(84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, 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).

공개:

- 국제조사보고서 없이 공개하며 보고서 접수 후 이를 별도 공개함 (규칙 48.2(g))

## 명세서

### 발명의 명칭: 식물 생장의 영향을 최소화하면서 식물 전신유도저항성을 유도하는 종자처리 방법

#### 기술분야

- [1] 본 발명은 식물 전신유도저항성을 유도하는 물질인 BTH (benzothiadiazole)를 종자에 처리하여 식물의 유묘기에 다양한 식물병을 방제하기 위한 종자처리 방법에 관한 것이다.

#### 배경기술

- [2] 기존 식물 병원균의 발생 억제 및 방제를 위한 방법은 주로 유묘기에서 연구가 되었으며, 화학적 합성 농약을 주로 사용하였다. 그러나 이러한 합성 농약으로 인한 여러 문제점이 야기되어 그 사용이 제한되고 있고, 최근 종자에서부터의 방제에 관심이 집중되어 튼튼한 종자 개발에 관한 연구가 활발히 진행되고 있는 실정이다.
- [3] 식물은 한번 정착하면 움직일 수가 없기 때문에 외부 환경의 변화에 효과적으로 대응하기 위하여 내부와의 신호전달체계를 발전시켜왔다. 특히 병원균의 다양한 공격에 대항하는 면역시스템을 가지고 있는데, 이러한 저항성 반응 중 병원균이 침입된 잎뿐만 아니라 침입되지 않은 식물체 전신에서 저항성 반응이 일어나게 되어, 뒤이어 침입하는 다양한 병원균에 대한 저항성을 나타내게 되는 전신 획득 저항성 (systemic acquired resistance: SAR)이 있다. 여러 SAR 유도체 중에서 BTH (benzo(1,2,3)-thiadiazole-7-carbothioic acid S-methyl ester)라는 물질이 가장 강력한 효과를 보이고 있다. 하지만 화학농약의 문제점을 극복할 것 같았던 이러한 SAR 유도물질에도 심각한 문제점이 발견되었는데, 실제 포장상태에서 농작물에 처리 시 식물체의 생육이 억제되거나 처리하지 않은 대조구에 비해 수확량이 현저히 줄어드는 현상이 관찰되었다. 이러한 현상을 생태학적 측면으로 보면, 병원균이 없는데도 많은 병원성 유전자를 발현시킴으로써 식물의 에너지를 과다하게 소비하여 생장에 사용하여야 할 부분을 병 저항성에 사용하기에 이런 일이 일어난다고 보고, 이런 현상을 "allocation fitness cost"라 한다.
- [4] 본 발명자들은 식물에 유도저항성을 유도하면서 이러한 allocation fitness cost를 극복할 수 있는 처리방법을 종자학에서 말하는 "프라이밍(priming)"이라는 개념으로 극복하고자 했다. "프라이밍"은 종자 발아를 촉진시키기 위해 종자에 수분을 처리하고 뿌리가 발육되기 직전에 다시 건조시킴으로써 다시 종자가 수분에 접하게 되었을 때 그렇지 않은 종자에 비해 종자의 발아를 더욱 촉진시키기 위한 기술로서, SAR 유도물질을 종자에 직접 처리하여 식물 생장 억제에 미치는 영향을 최소화하면서 식물 전신유도저항성을 유도할 수 있는지를 조사하였다.

## 발명의 상세한 설명

### 기술적 과제

- [5] 본 발명은 상기와 같은 요구에 의해 안출된 것으로서, 본 발명자들은 유도저항성 물질인 BTH (benzothiadiazole)를 이용하여 식물 생장억제에 미치는 영향을 최소화하는 BTH의 침지 시간 및 농도를 알기 위해, 3가지 작물을 이용하여 종자처리제로서 가장 효과적인 조건을 알아보고자 한다.

### 과제 해결 수단

- [6] 상기 과제를 해결하기 위해, 본 발명은 식물체의 종자에 BTH (benzothiadiazole)를 처리하여 식물의 생장 장애 없이 또는 식물의 생장의 영향을 최소화하면서 식물병을 방제하는 방법을 제공한다.
- [7] 본 발명은 또한, 고추, 대두 및 오이의 생장 장애 없이 또는 생장의 영향을 최소화하면서 고추, 대두 및 오이 유묘에 발병하는 식물병을 방제하기 위한 종자처리 조성물을 제공한다.
- [8] 본 발명은 또한, 특정 농도의 BTH 용액에 침지한 후, 건조시켜 제조한 BTH가 도포된 고추 종자, 대두 종자 및 오이 종자를 제공한다.
- [9] 본 발명은 또한, 고추, 대두 및 오이의 생장 장애 없이 또는 생장의 영향을 최소화하면서 고추, 대두 및 오이의 유묘기에 발병하는 식물병을 방제하기 위한 종자 처리 방법을 제공한다.

### 발명의 효과

- [10] BTH를 유효성분으로 함유하는 조성물을 종자에 처리하여 병에 대한 저항성을 유도하는 본 발명의 방법으로 유묘기부터 식물병을 방제할 수 있으며, 각 종자별 최적 처리조건의 도출을 통해 식물병 방제용 종자처리제 개발에 활용할 수 있다.

### 도면의 간단한 설명

- [11] 도 1은 온실 조건에서 고추 종자를 SAR 유도 물질인 BTH를 농도별로 각각 0.1  $\mu\text{M}$ , 10  $\mu\text{M}$ , 및 1 mM로 나누고, 이 처리구를 다시 침지 시간별로 0, 6 및 12시간으로 처리하였을 때, 고추 세균점무늬병원균(*Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*)에 대한 식물의 유도저항성과 그에 따른 생장의 효과를 나타낸 것이다. 각 처리구에 대한 줄기의 길이 (위) 및 병에 대한 저항성 (아래)을 측정하였다. 대조군 식물에는 물을 처리하였고, 발병도 (0 ~ 5)를 병원균 접종 후 7일째에 측정하였다 (0: 증상 없음, 5: 심한 괴사 증상). 데이터는 평균을 나타낸다. 모든 데이터는 JMP 소프트웨어 ver. 4.0을 이용하여 통계분석을 하였다 (SAS institute Inc., Cary, NC, USA). 처리구간 통계적 차이는 피셔(Fisher)의 최소유의차 검정법(LSD)에 의해 유의수준  $P = 0.05$ 에서  $F$ -값의 등급으로 결정했고, 통계적 차이가 있는 처리구를 각각 a, b, c, d로 나타내었다.
- [12] 도 2는 다른 종자인 대두를 이용하여 도 1과 같은 처리구를 가지고 대두 세균점무늬병원균(*Pseudomonas syringae* pv. *syringae*)에 대한 식물의 유도저항성과 그에 따른 생장의 효과를 나타낸 것이다. 각 처리구에 대한 줄기의

길이 (위) 및 병에 대한 저항성 (아래)을 측정하였다. 대조군 식물은 물을 사용하였고, 발병정도는 병징을 나타내는 부분의 수를 측정하였고, 병원균 접종 후 7일째에 측정되었다. 데이터는 평균을 나타낸다.

- [13] 도 3은 오이 종자를 이용하여 도 1 및 2와 같은 처리구를 가지고 오이 세균점무늬병원균 (*Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*)에 대한 식물의 유도저항성과 그에 따른 생장의 효과를 나타낸 것이다. 각 처리구에 대한 줄기의 길이 (위) 및 병에 대한 저항성 (아래)을 측정하였다. 대조군 식물은 물을 사용하였고, 발병정도는 병징을 나타내는 부분의 수를 측정하였고, 병원균 접종 후 7일째에 측정되었다. 데이터는 평균을 나타낸다.

#### 발명의 실시를 위한 최선의 형태

- [14] 본 발명의 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 식물의 성장 장애 없이 또는 식물의 생장의 영향을 최소화하면서 식물병을 방지하는 방법을 제공한다. 구체적으로는, 상기 방법은 식물체의 종자에 BTH (benzothiadiazole)를 처리하는 단계, 및 처리된 식물체의 전신유도저항성(induced systemic resistance)을 유도하는 단계를 포함할 수 있다.
- [15] 본 발명에 따른 식물병은 식물의 유묘기에 발병하는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 상기 식물병은 바람직하게는, 세균성 병일 수 있으며, 더욱 바람직하게는, 고추 세균성 점무늬병, 대두 세균성 점무늬병 또는 오이 세균성 점무늬병일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [16] 식물체의 종자에 처리하는 BTH의 농도 및 처리 시간은 식물체의 종자에 따라 상이할 수 있는데, 고추 종자의 경우에는, 바람직하게는 2~50  $\mu\text{M}$  BTH 용액을 1초 내지 1시간 동안, 또는 0.02~50  $\mu\text{M}$  BTH 용액을 4~8시간 동안 처리할 수 있으며, 더욱 바람직하게는, 10  $\mu\text{M}$  BTH 용액을 1~10초 동안, 0.1  $\mu\text{M}$  또는 10  $\mu\text{M}$  BTH 용액을 6시간 동안 처리할 수 있다.
- [17] 대두 종자의 경우에는, 바람직하게는 0.02~50  $\mu\text{M}$  BTH 용액을 4~8시간 동안 처리할 수 있으며, 더욱 바람직하게는 0.1  $\mu\text{M}$  또는 10  $\mu\text{M}$  BTH 용액을 6시간 동안 처리할 수 있다.
- [18] 오이 종자의 경우에는, 바람직하게는 2~50  $\mu\text{M}$  BTH 용액을 1초 내지 1시간 동안 처리할 수 있으며, 더욱 바람직하게는 10  $\mu\text{M}$  BTH 용액을 1~10초 동안 처리할 수 있다.
- [19] 본 발명의 또 다른 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 식물의 성장 장애 없이 또는 식물의 생장의 영향을 최소화하면서 식물 유묘에 발병하는 식물병을 방지하기 위한 종자처리 조성물을 제공한다. 본 발명의 일 구현예에 따른 고추 또는 오이 종자 처리용 조성물은 바람직하게는 2~50  $\mu\text{M}$  BTH를 유효성분으로 함유할 수 있으며, 더욱 바람직하게는 10  $\mu\text{M}$  BTH를 유효성분으로 함유할 수 있다. 대두 종자 처리용 조성물은 바람직하게는 0.02~50  $\mu\text{M}$  BTH를 유효성분으로 함유할 수 있으며, 더욱 바람직하게는 0.1  $\mu\text{M}$  또는 10  $\mu\text{M}$  BTH를

- 유효성분으로 함유할 수 있다.
- [20] 본 발명의 일 구현예에 따른 조성물은 농약학적으로 허용되는 완충제, 담체, 보조제 또는 부형제를 포함할 수 있으며, 이는 당업계에 주지되어 있다. 본 발명의 조성물은 동결건조, 분무건조 또는 분무냉각을 통해 동결건조시킬 수 있다.
- [21] 용어 "완충제"는 pH를 안정화시킬 목적의 산-염기 혼합물을 함유하는 수용액을 의미하는 것으로 의도된다. 완충제는 트리스, 포스페이트, 카보네이트, 아세테이트, 시트레이트, 글리콜레이트, 락테이트, 보레이트, 타르트레이트, 카코딜레이트, 에탄올아민, 글리신, 이미다졸, 이미다졸락트산 등을 이용할 수 있다.
- [22] 용어 "희석제(또는 담체)"는 BTH를 희석시킬 목적의 수성 또는 비-수성 용액을 의미하는 것으로 의도된다. 희석제는 하나 이상의 염수, 물, 폴리에틸렌 글리콜, 프로필렌 글리콜, 에탄올 또는 오일(예: 옥수수 오일, 땅콩 오일, 면화씨 오일 또는 참깨 오일)일 수 있다.
- [23] 용어 "보조제"는 BTH의 생물학적 효과를 증가시키기 위해 제형에 가해진 특정 화합물을 의미하는 것으로 의도된다.
- [24] 부형제는 하나 이상의 탄수화물, 중합체, 지질 및 무기물일 수 있다. 탄수화물의 예는 예를 들면, 동결건조를 용이하게 하기 위해 조성물에 첨가되는 락토즈, 슈크로즈, 만니톨 및 사이클로덱스트린을 포함한다.
- [25] 중합체의 예로는 전분, 셀룰로즈 에테르, 셀룰로즈 카복실메틸셀룰로즈, 알기네이트, 카라기난, 하이알루론산, 폴리아크릴산, 폴리설포네이트, 폴리에틸렌글리콜/폴리에틸렌 옥사이드, 가수분해도가 상이한 폴리비닐알콜/폴리비닐아세테이트, 및 폴리비닐피롤리돈 (분자량이 상이한 것 모두)이 있다.
- [26] 본 발명의 조성물은 유제(乳劑), 유제(油劑), 수화제(水和劑), 분제(粉劑), 입제, 정제, 에어로졸제, 연고제 등과 같은 제형을 만들 수 있다. 필요하다면, 유화제, 현탁제, 전착제(展着劑), 침투제, 습윤제, 농후제(muscilage 등), 안정제 등을 배합시킬 수 있다. 이들 제형은 당업계에 공지된 제조 방법에 의하여 제조할 수 있다.
- [27] 본 발명의 또 다른 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 식물 종자를 BTH 용액에 침지한 후, 건조시켜 제조한 BTH가 도포된 식물 종자를 제공한다. 본 발명의 일 구현예에 따른 BTH가 도포된 고추 종자는 고추 종자를 바람직하게는, 1초 내지 1시간 동안 2~50  $\mu\text{M}$  BTH 용액에, 또는 4~8시간 동안 0.02~50  $\mu\text{M}$  BTH 용액에 침지한 후, 건조시켜 제조할 수 있으며, 더욱 바람직하게는, 1~10초 동안 10  $\mu\text{M}$  BTH 용액에, 또는 6시간 동안 0.1  $\mu\text{M}$  또는 10  $\mu\text{M}$  BTH 용액에 침지한 후, 건조시켜 제조할 수 있다.
- [28] 본 발명의 일 구현예에 따른 BTH가 도포된 대두 종자는 대두 종자를 바람직하게는, 4~8시간 동안 0.02~50  $\mu\text{M}$  BTH 용액에 침지한 후, 건조시켜

제조할 수 있으며, 더욱 바람직하게는, 대두 종자를 6시간 동안 0.1  $\mu\text{M}$  또는 10  $\mu\text{M}$  BTH 용액에 침지한 후, 건조시켜 제조할 수 있다.

- [29] 본 발명의 일 구현예에 따른 BTH가 도포된 오이 종자는 오이 종자를 바람직하게는, 1초 내지 1시간 동안 2~50  $\mu\text{M}$  BTH 용액에 침지한 후, 건조시켜 제조할 수 있으며, 더욱 바람직하게는, 오이 종자를 1~10초 동안 10  $\mu\text{M}$  BTH 용액에 침지한 후, 건조시켜 제조할 수 있다.
- [30] 본 발명의 또 다른 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 식물 종자에 BTH 용액을 처리하는 단계를 포함하는 식물의 생장 장애 없이 또는 식물의 생장의 영향을 최소화하면서 식물의 유묘기에 발병하는 식물병을 방제하기 위한 종자 처리 방법을 제공한다.
- [31] 상기 식물 종자에 BTH 용액 처리는 고추 종자에 바람직하게는, 2~50  $\mu\text{M}$  BTH 용액을 1초 내지 1시간 동안, 또는 0.02~50  $\mu\text{M}$  BTH 용액을 4~8시간 동안 처리할 수 있으며, 더욱 바람직하게는, 10  $\mu\text{M}$  BTH 용액을 1~10초 동안, 또는 0.1  $\mu\text{M}$  또는 10  $\mu\text{M}$  BTH 용액을 6시간 동안 처리할 수 있다. 대두 종자에 바람직하게는, 0.02~50  $\mu\text{M}$  BTH 용액을 4~8시간 동안 처리할 수 있으며, 더욱 바람직하게는, 0.1  $\mu\text{M}$  또는 10  $\mu\text{M}$  BTH 용액을 6시간 동안 처리할 수 있다. 오이 종자에 바람직하게는, 2~50  $\mu\text{M}$  BTH 용액을 1초 내지 1시간 동안 처리할 수 있으며, 더욱 바람직하게는, 10  $\mu\text{M}$  BTH 용액을 1~10초 동안 처리할 수 있다.

[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] **1. 재료 및 방법**

- [35] 식물 생장에 미치는 영향을 최소화하면서 식물 전신유도저항성을 유도하는 종자처리 방법을 알아보기 위해 고추 (쭈홍농종묘, 부강고추), 오이 (쭈농우바이오, 백봉다다기), 및 대두를 사용하였다.

[36]

[37] **2.BTH 침지 시간 및 농도**

- [38] 각 종자에 대한 최적의 BTH 침지 시간 및 농도를 알아보기 위해 고추, 오이 및 대두 종자를 사용하였다. 각 종자를 0.1  $\mu\text{M}$ , 10 $\mu\text{M}$  및 1mM 농도의 BTH 용액에 침지하고, 침지 시간을 다시 0, 6 및 12시간으로 나누었다. 0 시간 침지는 각 농도의 BTH에 잠깐(1~10초) 침지한 것이다. 침지 후 종자를 건조시키기 위해 멸균 여과지 (Whatman)를 깔 페트리디쉬(petri dish)에 3일간 상온에 두었다가, 원예용 상토 (Punong Co., Ltd, Korea)를 채운 36공 포트 (28 × 54 × 6 cm)로 옮겨 심어, 고추 종자는 6주간, 오이 종자는 3주간, 그리고 대두 종자는 4주간 온실에서 20 ~ 30°C로 유지하며 재배하였다.

[39]

[40] **3. 병원균 접종**

- [41] 고추작물은 세균점무늬병원균(*Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*)을 10<sup>7</sup>

CFU/ml 농도로 앞에 주입하였다. 7일 후에 병징을 관찰하면서 병 정도를 1 ~ 5로 측정하였고, 동시에 줄기의 길이도 측정하였다. 세균 접종원은 LB (Luria-Bertani) 고체 배지에 항생제 리팜피신(Rifampicin) 100 µg/ml를 첨가하여 48시간 동안 30°C에서 배양하였다.

[42] 대두작물은 세균점무늬병원균(*Psuedomonas syringae* pv. *syringae*)을 10<sup>7</sup> CFU/ml 농도로 앞에 분무하였다. 7일 후에 병징을 관찰하면서 병 정도를 1 ~ 5로 측정하였고, 동시에 줄기의 길이도 측정하였다. 세균 접종원은 King's B 고체 배지에서 항생제 리팜피신(Rifampicin) 100 µg/ml를 첨가하여 48시간 동안 30°C에서 배양하였다.

[43] 오이작물은 세균점무늬병원균(*Psuedomonas syringae* pv. *lachrymans*)을 10<sup>7</sup> CFU/ml 농도로 앞에 분무하였다. 7일 후에 병징을 관찰하면서 병 정도를 1 ~ 5로 측정하였고, 동시에 줄기의 길이도 측정하였다. 세균 접종원은 King's B 고체 배지에서 항생제 리팜피신(Rifampicin) 100 µg/ml를 첨가하여 48시간 동안 30°C에서 배양하였다.

[44] 병징의 병 정도:

[45] 0 = 증상 없음, 1 = 약한 백화 증상, 2 = 백화 증상, 3 = 백화 증상과 약한 괴사, 4 = 괴사, 5 = 심한 괴사 증상

[46]

[47] 실시예 1: 고추에서의 유도저항성 검정 및 식물 성장 측정

[48] 고추종자의 각 처리구를 대조군 0시간 침지 물 처리구와 비교해 보면 0시간 침지 했을 경우 0.1 µM, 10 µM, 그리고 1 mM BTH 모든 처리구에서 병의 정도가 통계적으로 차이가 나게 감소하는 것을 확인하였고, 6시간 침지 처리구에서는 1 mM BTH를 제외하고 두 가지 BTH 농도에서 병의 정도가 통계적으로 차이가 나게 감소하는 것을 확인하였다. 6시간 침지 처리구의 결과와는 반대로 12시간 침지 처리구에서는 1 mM BTH 침지 처리구에서만 병에 대한 저항성이 나타났다. 0.1 µM BTH 처리구는 0시간과 6시간에서 병에 대한 저항성이 나타났고, 12시간 침지 했을 때는 대조군과 비교했을 때 차이를 확인할 수 없었다. 10 µM BTH 처리구는 0.1 µM BTH 처리구와 같은 결과를 보였고, 모든 처리구들 중 0시간 및 6시간 침지에서 최고의 병저항성을 보였다. 1 mM BTH 처리구에서는 0시간 침지 시 가장 뛰어난 병저항성을 보였으나 6시간 침지 시에는 병저항성이 나타나지 않았고, 다시 12시간 침지 시 병저항성이 관찰되었다. 1 mM BTH 처리구에서는 상기 설명한 두 가지 농도가 12시간 침지했을 때 병저항성이 사라지는 경향과 다른 양상을 보였다.

[49] 각 처리구를 식물의 성장과 비교해 보았을 때, 1 mM BTH 처리구를 6시간 침지 시 식물생장이 저해되는 것을 제외하고는, 고추종자에서 침지 방법에 의해 병에 대한 저항성 유발로 인한 생장의 저해 현상은 나타나지 않는다는 것을 확인하였다. 상기 사실을 바탕으로 저농도 및 최소의 침지시간을 이용한 종자처리제를 개발하기 위해서는 고추종자에 10 µM BTH를 0시간 침지하는



것이 최적의 처리방법인 것으로 사료된다.

[50]

[51] 실시예 2: 대두의 유도저항성 검정 및 식물 성장 측정

[52] 대두 종자의 각 처리구를 대조군 0시간 침지 물 처리구와 비교해 보면, 특이하게 BTH의 농도에 연관되어 저항성을 보이는 것이 아니라 침지 시간에 연관되어 저항성이 나타나는 것을 확인하였다.

[53] 6시간 침지 시에는 0.1  $\mu\text{M}$ , 10  $\mu\text{M}$ , 그리고 1 mM BTH 농도 각각 병에 대한 저항성이 통계적으로 차이가 나게 나타났고, 0시간 및 12시간 침지 시에는 병에 대한 저항성이 나타나지 않았다. 6시간 침지 시 0시간 물 침지 처리구와 비교해 보면 식물 성장억제 영향도 나타나지 않았다. 다만 BTH 농도 간 비교를 해보면 0.1  $\mu\text{M}$ 과 10  $\mu\text{M}$  BTH 처리구가 1 mM BTH 처리구보다 생장이 더 잘 되는 것을 확인할 수 있었다. 상기 사실을 바탕으로 저농도, 최소의 침지시간을 이용한 종자처리제를 개발하기 위해서는 대두종자에 경우 0.1  $\mu\text{M}$  BTH를 6시간 침지하는 것이 최적의 처리방법인 것으로 사료된다.

[54]

[55] 실시예 3: 오이의 유도저항성 검정 및 식물 성장 측정

[56] 오이종자의 각 처리구를 대조군 0시간 침지 물 처리구와 비교해 보면 0시간 침지 시 10  $\mu\text{M}$ 와 1 mM BTH 처리구에서 병에 대한 저항성이 나타나는 것을 확인할 수 있었고, 0.1  $\mu\text{M}$  BTH 처리구에서는 저항성이 나타나지 않았다. 6시간 침지 시에는 모든 농도에서 대조군보다 더 많은 병증상이 나타났다. 12시간 침지 시 10  $\mu\text{M}$  BTH 처리구는 병증상을 대조군과 비교했을 때 더 심하게 나타났고, 다른 처리구는 통계적으로 차이가 나타나지 않았다. 0.1  $\mu\text{M}$  BTH 처리구는 침지 시간에 따른 병에 대한 저항성이 나타나지 않았고, 10  $\mu\text{M}$  BTH 처리구의 경우는 0시간 침지 시 병 저항성이 나타났으나 6시간과 12시간 침지 시에는 오히려 대조군보다 높은 병저항성이 나타났고, 1 mM BTH 처리구는 0시간 침지 시에 나타나는 병 저항성이 6시간 및 12시간 침지 시에는 사라지는 현상을 관찰할 수 있었다.

[57]

오이종자의 경우, 대조군인 물 처리구를 처리 시간에 따라 비교해 보면 침지 시간이 길수록 병에 대한 저항성이 낮아지는 현상을 관찰할 수 있었는데 이러한 현상이 10  $\mu\text{M}$ 와 1 mM BTH 처리구에서도 나타나는 것을 발견할 수 있었다. 각 처리구를 식물의 성장과 비교해 보았을 때, 6시간 침지 시와 같이 병에 대한 저항성이 나타나지 않았을 때 생장이 더 잘 된다는 것을 확인할 수 있었다. 병에 대한 저항성이 나타났던 10  $\mu\text{M}$ 와 1 mM BTH 처리구에서는 1 mM BTH 처리구에서 생장의 저해가 일어나는 것을 관찰할 수 있었지만, 10  $\mu\text{M}$  BTH 0시간 처리구에서는 병에 대한 저항성이 나타날 뿐만 아니라 생장의 억제현상도 나타나지 않는 것으로 보아 오이에서 종자처리제로서 최적의 처리구인 것으로 확인되었다.

## 청구범위

- [청구항 1] 식물체의 종자에 BTH (benzothiadiazole)를 처리하는 단계; 및 처리된 식물체의 전신유도저항성(induced systemic resistance)을 유도하는 단계를 포함하는 식물의 생장 장애 없이 또는 식물의 생장의 영향을 최소화하면서 식물병을 방제하는 방법.
- [청구항 2] 제1항에 있어서, 상기 식물병은 식물의 유묘기에 발병하는 것을 특징으로 하는 방법.
- [청구항 3] 제1항에 있어서, 상기 식물병은 세균성 병인 것을 특징으로 하는 방법.
- [청구항 4] 제3항에 있어서, 상기 세균성 병은 고추 세균성 점무늬병, 대두 세균성 점무늬병 또는 오이 세균성 점무늬병인 것을 특징으로 하는 방법.
- [청구항 5] 제1항에 있어서, 고추 종자에 2~50  $\mu\text{M}$  BTH 용액을 1초 내지 1시간 동안, 또는 0.02~50  $\mu\text{M}$  BTH 용액을 4~8시간 동안 처리하는 것을 특징으로 하는 방법.
- [청구항 6] 제1항에 있어서, 대두 종자에 0.02~50  $\mu\text{M}$  BTH 용액을 4~8시간 동안 처리하는 것을 특징으로 하는 방법.
- [청구항 7] 제1항에 있어서, 오이 종자에 2~50  $\mu\text{M}$  BTH 용액을 1초 내지 1시간 동안 처리하는 것을 특징으로 하는 방법.
- [청구항 8] 2~50  $\mu\text{M}$  BTH를 유효성분으로 함유하는, 고추의 생장 장애 없이 또는 고추의 생장의 영향을 최소화하면서 고추 유묘에 발병하는 식물병을 방제하기 위한 종자처리 조성물.
- [청구항 9] 0.02~50  $\mu\text{M}$  BTH를 유효성분으로 함유하는, 대두의 생장 장애 없이 또는 대두의 생장의 영향을 최소화하면서 대두 유묘에 발병하는 식물병을 방제하기 위한 종자처리 조성물.
- [청구항 10] 2~50  $\mu\text{M}$  BTH를 유효성분으로 함유하는, 오이의 생장 장애 없이 또는 오이의 생장의 영향을 최소화하면서 오이 유묘에 발병하는 식물병을 방제하기 위한 종자처리 조성물.
- [청구항 11] 고추 종자를 1초 내지 1시간 동안 2~50  $\mu\text{M}$  BTH 용액에, 또는 4~8시간 동안 0.02~50  $\mu\text{M}$  BTH 용액에 침지한 후, 건조시켜 제조한 BTH가 도포된 고추 종자.
- [청구항 12] 대두 종자를 4~8시간 동안 0.02~50  $\mu\text{M}$  BTH 용액에 침지한 후, 건조시켜 제조한 BTH가 도포된 대두 종자.
- [청구항 13] 오이 종자를 1초 내지 1시간 동안 2~50  $\mu\text{M}$  BTH 용액에 침지한 후, 건조시켜 제조한 BTH가 도포된 오이 종자.
- [청구항 14] 고추 종자에 2~50  $\mu\text{M}$  BTH 용액을 1초 내지 1시간 동안, 또는 0.02~50  $\mu\text{M}$  BTH 용액을 4~8시간 동안 처리하는 것을 특징으로

하는 고추의 생장 장애 없이 또는 고추의 생장의 영향을 최소화하면서 고추의 유묘기에 발병하는 식물병을 방제하기 위한 종자 처리 방법.

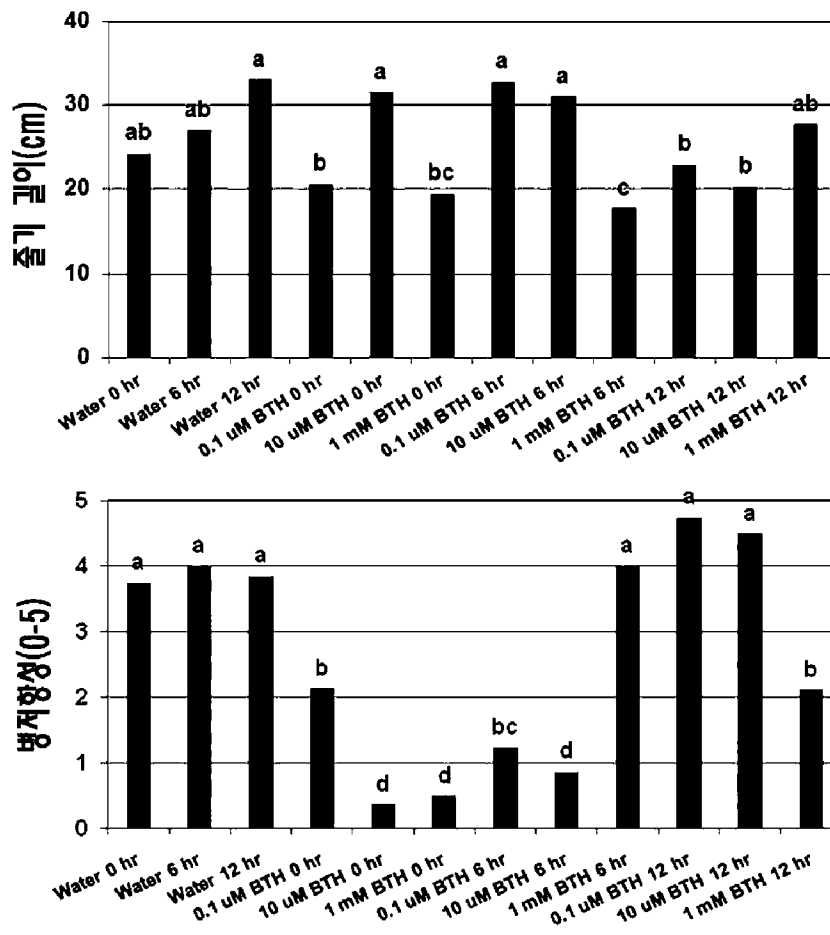
[청구항 15]

대두 종자에 0.02~50  $\mu\text{M}$  BTH 용액을 4~8시간 동안 처리하는 것을 특징으로 하는 대두의 생장 장애 없이 또는 대두의 생장의 영향을 최소화하면서 대두의 유묘기에 발병하는 식물병을 방제하기 위한 종자 처리 방법.

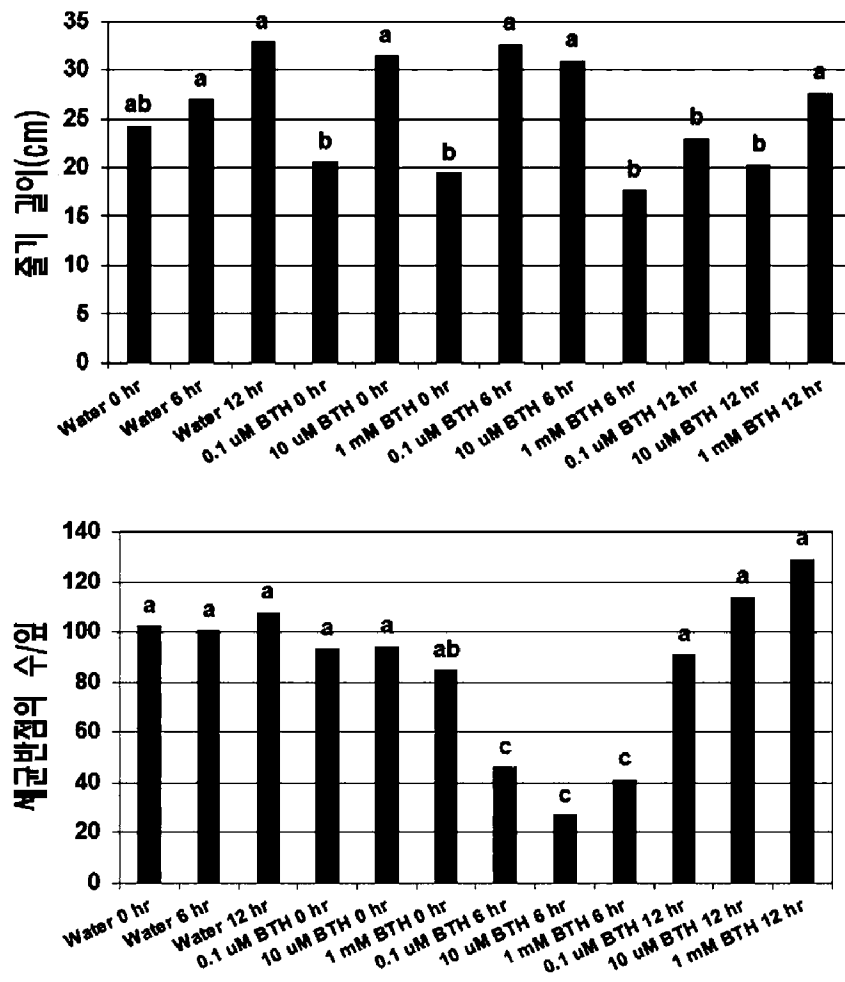
[청구항 16]

오이 종자에 2~50  $\mu\text{M}$  BTH 용액을 1초 내지 1시간 동안 처리하는 것을 특징으로 하는 오이의 생장 장애 없이 또는 오이의 생장의 영향을 최소화하면서 오이의 유묘기에 발병하는 식물병을 방제하기 위한 종자 처리 방법.

[Fig. 1]



[Fig. 2]



[Fig. 3]

