

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2019년 5월 9일 (09.05.2019)



(10) 국제공개번호
WO 2019/088319 A1

- (51) 국제특허분류:
A01N 49/00 (2006.01) A01N 65/28 (2009.01)
A01N 65/26 (2009.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2017/012312
- (22) 국제출원일: 2017년 11월 2일 (02.11.2017)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (71) 출원인: 주식회사 에코윈 (ECOWIN CO., LTD.) [KR/KR]; 42601 대구시 달서구 달구벌대로 1053, 대구테크노파크 첨단산업지원센터 208호 (호산동), Daegu (KR).
- (72) 발명자; 겸
- (71) 출원인: 구경본 (KOO, Kyung Bon) [KR/KR]; 42266 대구시 수성구 고산로 162, 한일유엔아이아파트 108동 702호 (매호동), Daegu (KR).
- (72) 발명자: 이형철 (LEE, Hyung Chul); 42927 대구시 달성군 다사읍 서제로 120, 107동 1203호 (화진금봉타운), Daegu (KR).
- (74) 대리인: 특허법인 해담 (HEADAM IP GROUP); 06132 서울시 강남구 논현로 503, 송촌빌딩 1601호, Seoul (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, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU,

ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, 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.

(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, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, 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, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

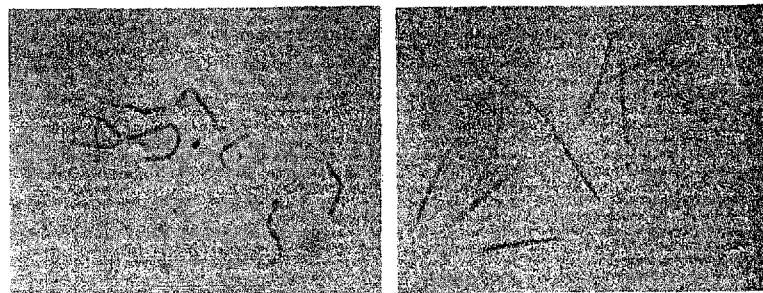
공개:

— 국제조사보고서와 함께 (조약 제21조(3))

(54) Title: COMPOSITION CONTAINING GERANIOL FOR CONTROL OF PLANT-PARASITIC NEMATODES

(54) 발명의 명칭: 제라니올을 함유하는 식물기생선충 방제용 조성물

[Fig. 1]

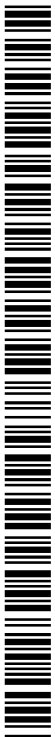


before geraniol treatment

after geraniol treatment

(57) Abstract: The present invention relates to a composition containing a plant essential oil for control of nematodes and, more specifically, to a composition containing geraniol for control of plant-parasitic nematodes. The composition for control of plant-parasitic nematodes according to the present invention, which is derived from natural substances, is environmentally friendly, causes no damage by chemicals, and has an excellent nematocidal effect, and thus can be helpfully used as a nematocide.

(57) 요약서: 본 발명은 식물정유를 함유하는 선충 방제용 조성물에 관한 것으로, 더욱 상세하게는 제라니올을 함유하는 식물기생선충 방제용 조성물에 관한 것이다. 본 발명에 따른 식물기생선충 방제용 조성물은 천연물 유래로서 친환경적이고, 약해를 일으키지 않으면서 살선충 효과가 우수하므로 선충 방제제로 유용하게 사용될 수 있다.



WO 2019/088319 A1

명세서

발명의 명칭: 제라니올을 함유하는 식물기생선충 방제용 조성물 기술분야

- [1] 본 발명은 식물정유를 함유하는 선충 방제용 조성물에 관한 것으로, 더욱 상세하게는 제라니올을 함유하는 식물기생선충 방제용 조성물에 관한 것이다.

배경기술

- [2] 전 세계적으로 식물기생성 선충이 처음 발견된 것은 1743년 소맥을 가해하는 선충이었다. 우리나라에서 1919년 최초로 밀알선충의 발견 이래 1977년부터 각종 화훼류 및 과채류에 큰 피해를 주는 뿌리혹선충이 발견되기 시작했으며, 현재 이러한 뿌리혹 선충을 방제하고자 하는 많은 연구가 진행되고 있다.
- [3] 선충은 모든 흙 속에 존재하며 육안으로 볼 수 있는 것도 있지만, 식물 기생 선충의 경우 대부분 현미경으로 관찰이 가능하다. 선충의 경우 그 모양이 실같이 가늘고, 마디가 없으며, 물이 없는 곳에서 뱀처럼 움직이며 살아간다. 식물 기생선충의 경우 식물의 꽃눈, 잎, 줄기, 뿌리 등 모든 부위에 기생하며, 특히 뿌리 부위에 발생하는 선충의 경우 작물의 생육에 매우 밀접한 영향을 미치는 것으로 보고되고 있다.
- [4] 뿌리혹선충의 경우 알-제1유충-제2유충-제3유충-제4유충-성충-산란으로 그 생활사가 경과하는데 약 5~7주 정도 소요된다. 따라서 농가에서 성충의 뿌리혹선충을 발견하였을 때 실제적으로 그 피해가 급속히 진행되는 경우가 많아 그 피해정도가 극심하다고 할 수 있다.
- [5] 현재 한국에서 발생하는 선충은 주로 연작 재배되는 참외, 딸기, 오이, 토마토, 고추, 배추 등에 큰 피해를 주고 있다.
- [6] 선충의 경우 다른 식물 병원체(바이러스, 역병)와도 그 상관관계가 매우 높다. 선충의 경우 입에 해당하는 구침이 뿌리점막을 손상시키고, 이러한 뿌리점막의 손상은 2차적으로 식물 바이러스병, 세균병 등의 2차 감염을 파생시키는 경우가 많기 때문이다. 선충이 바이러스를 매개한다는 사실은 창선충이 포도나무에 바이러스 병을 전염시킨다는 것이 밝혀지면서부터이며, 실제적으로 뿌리혹선충의 경우 후라지움, 라이족토니아, 피시움, 파이토프쓰라 등 각종 진균에 의한 피해를 조장하기도 한다. 따라서 실제적인 선충 피해에 의한 경작 피해는 미국에서 약 15~40%에 이르며, 실제로 경작중 2차적인 진균류에 의한 피해가 복합적으로 파생되어, 선충에 의한 농작물 피해는 60~70%로 나타나는 경우가 많다.
- [7] 이러한 선충의 방제법으로는 휴경법, 침수법, 윤작법, 유기질비료 증시법, 대항식물 재배법, 생물학적 방제법, 물리적 방제법, 화학적 방제법 등이 있는 것으로 알려졌으나, 대부분 농가에서 현실적으로 적용하기 힘든 방법이거나, 화학적 방제법의 경우 비선택적인 독성으로 인해 잔류 독성에 의한 토양

오염으로 생태계 파괴를 일으키는 문제점이 있다.

- [8] 생물학적 방제법으로서 한국공개특허 제2007-0065938호에서는 정향으로부터 분리, 정제한 유제놀을 함유하는 뿌리혹선충방제 조성물을 개시하였고, 한국공개특허 제2009-02058889호에서는 유제놀(eugenol), 티몰(thymol), 카르바크롤(carvacrol) 또는 아네톨(t-anithole)을 유효성분으로 함유하는 식물 병원성 뿌리혹선충 방제용 조성물을 개시한 바 있으나, 더욱 우수한 살선충 효과를 갖는 살선충제의 개발이 필요한 실정이다.
- [9] 한편, 제라니올(geraniol)은 식물정유에 널리 분포하고 있는 대표적인 모노테르펜 알코올로서, 감귤향, 꽃향기를 지니고 있어, 합성 향료로 주로 이용되고 있으며, 한국공개특허 제1995-0013512호에 개시된 바와 같이 질병치료용 약제 용도로 사용이 가능한 것으로 알려졌다.
- [10] 또한, 한국공개특허 제2009-0011029호에서는 심보포곤 마르티니(*Cymbopogon martini*, 팔메로사) 오일을 함유하는 살선충 조성물을 개시하면서, 심보포곤 마르티니(*Cymbopogon martini*, 팔메로사) 오일의 성분들에는 제라니올이 포함된다고 개시한 바 있다.
- [11] 그러나, 한국공개특허 제2009-0011029호에서는 캐놀라 오일 93%, 팔메로사 오일 2%, 폴리솔베이트20 5%를 사용한 시너지 효과에 관한 실험결과만을 제시하고 있어서, 실질적으로 제라니올이 살선충 활성이 있는지, 만일 살선충 효과가 있다면 약해 부작용은 발생하는 것은 아닌지 알 수가 없었다.
- [12] 이에 본 발명자들은 천연물 유래의 살선충제를 개발하고자 노력한 결과, 제라니올(geraniol)이 단독 또는 다른 식물 추출물과 함께 사용시 식물 병원성 선충에 대해 살선충 활성을 갖는다는 것을 확인하였고, 더 나아가, 100~3000ppm 농도에서 약해 유발없이 최적의 살선충 활성을 갖는 것을 확인함으로써 본 발명을 완성하였다.

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [13] 본 발명의 목적은 잔류 독성에 의한 토양오염 및 식물에 대한 약해를 야기시키지 않으면서 우수한 살선충 활성을 가지는 천연물 유래의 선충 방제용 조성물, 이를 포함하는 선충 방제용 제제 및 선충 방제방법을 제공하는데 있다.

과제 해결 수단

- [14] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 제라니올을 100~3,000ppm 농도로 함유하는 식물기생선충 방제용 조성물을 제공한다.
- [15] 본 발명에 있어서, 상기 식물기생선충 방제용 조성물은 님(nem) 추출물, 강활 추출물 및 정향 추출물로 구성된 군에서 선택되는 식물 추출물을 추가로 포함하는 것을 특징으로 한다.
- [16] 본 발명에 있어서, 상기 추가되는 식물 추출물과 제라니올의 부피비는 동일 농도 기준으로 3:1~5:1인 것을 특징으로 한다.

- [17] 본 발명에 있어서, 상기 선충은 뿌리혹선충, 뿌리썩이선충, 나선선충 및 씨스터선충으로 구성된 군에서 선택되는 1 이상인 것을 특징으로 한다.
- [18] 본 발명은 또한, 상기 식물기생선충 방제용 조성물을 유효성분으로 포함하는 식물기생선충 방제용 제제를 제공한다.
- [19] 본 발명은 또한, 상기 식물기생선충 방제용 조성물을 처리하여 선충을 방제하는 것을 특징으로 하는 식물기생선충 방제방법을 제공한다.

발명의 효과

- [20] 본 발명에 따른 제라니올을 100~3,000ppm 농도로 함유하는 식물기생선충 방제용 조성물은 천연물 유래로서 친환경적이고, 약해를 일으키지 않으면서 살선충 효과가 우수하다.

도면의 간단한 설명

- [21] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 뿌리혹선충에 대한 제라니올의 처리전 모습과 처리후 모습을 광학현미경을 이용하여 40배율로 관찰한 사진이다.
- [22] 도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른 살선충 조성물의 희석배율에 따른 토마토 묘종의 약해실험결과 사진이다.
- [23] 도 3은 본 발명의 일 실시예에 따른 제라니올 및 식물 추출물 혼합액의 포트실험결과 사진이다.
- [24] 도 4는 제라니올 및 동량의 제라니올을 포함하는 팔메로사 오일의 뿌리혹선충에 대한 살선충 효과를 확인한 현미경 사진이다.

발명의 실시를 위한 최선의 형태

- [25] 본 발명에서는 천연물 유래의 살선충 활성을 갖는 물질을 탐색하고자 하였다.
- [26] 본 발명에서는, 6종의 식물 유래 물질 및 8종의 식물 추출물을 대상으로 살선충 활성능을 평가하였다.
- [27] 즉, 본 발명의 일 실시예에서는 제라니올, 아자라크틴, 크로바 오일, 오레가노 오일, 피레스린, 옥시메트린, 님(neem) 추출물, 강활 추출물, 정향 추출물, 육두구 추출물, 석창포 추출물, 삼내자 추출물 및 백두근 추출물을 대상으로 뿌리혹선충류(*Meloidogyne spp*)에 대한 살선충 활성을 확인하였다. 그 결과, 제라니올을 단독으로 사용하거나 제라니올에 님 추출물, 정향 추출물 또는 강활 추출물을 혼합하여 사용할 경우 살선충 활성이 우수하다는 것을 확인하였으며, 특히 제라니올을 100~3,000ppm으로 처리시에는 약해없이 살선충 효과도 우수하지만 4,000ppm 이상으로 처리시에는 약해가 발생된다는 것을 확인할 수 있었다.
- [28] 따라서, 본 발명은 일 관점에서, 제라니올을 100~3,000ppm 농도로 함유하는 식물기생선충 방제용 조성물에 관한 것이다.
- [29] 상기 제라니올(geraniol)은 식물 정유에 포함되어 있는 모노테르펜 알코올로서, 유래가 되는 식물의 종류에 제한없이 이용할 수 있다.
- [30] 본 발명에 있어서, 식물기생선충 방제용 조성물에 함유된 제라니올의 함량이

100ppm 미만일 경우 살선충 활성이 미미하고, 3,000ppm을 초과할 경우, 작물에 약해를 유발할 수 있는 문제점이 있다.

- [31] 본 발명에 따른 식물기생선충 방제용 조성물은 제라니올을 단독으로 포함한 경우에도 우수한 살선충 활성을 나타내지만, 보다 높고, 안정적인 살선충율을 나타내기 위하여 님(neem) 추출물, 강활 추출물 및 정향 추출물로 구성된 균에서 선택되는 식물 추출물을 추가로 포함할 수 있다. 이때 추가되는 식물 추출물과 제라니올의 부피비는 동일 농도 기준으로 3:1~5:1인 것이 바람직하다. 만일 식물 추출물과 제라니올의 부피비가 상기 범위를 벗어날 경우 약해가 발생할 우려가 있다.
- [32] 상기 식물 추출물은 통상적으로 알려진 추출방법, 즉 알코올 추출, 헥산 추출, 열수 추출, 및 냉수 추출, 냉각압축(착)법, 수증기증류법으로 이루어진 균으로부터 선택되는 방법으로 추출된 것일 수 있다.
- [33] 본 발명에 있어서, 상기 식물기생선충은 뿌리혹선충, 뿌리썩이선충, 나선선충, 씨스터선충 등을 예시할 수 있고, 뿌리혹선충으로서, 당근뿌리혹선충, 고구마뿌리혹선충, 자바뿌리혹선충, 땅콩뿌리혹선충 등을 예시할 수 있으나, 이에 한정되지 않는다.
- [34]
- [35] 본 발명에 있어서, 상기 식물기생선충 방제용 조성물은 단독으로 사용할 수 있으나, 특별히 이에 한정되는 것은 아니며, 상기 조성물의 제형 및/또는 사용목적에 따라 적절한 희석제 또는 부형제를 추가적으로 포함할 수 있다. 상기 부형제는 제형에 따라 통상의 물질을 사용할 수 있으며, 제제화할 경우 충전제, 증량제, 습윤제, 붕해제 또는 계면활성제 등을 사용할 수 있다. 대표적으로 사용되는 희석제 또는 부형제로는 물, 덱스트린, 갈습카보네이트, 락토스, 프로필렌글리콜, 리퀴드 파라핀 및 생리식염수 등을 포함할 수 있으며, 보다 바람직하게는 리터(L)당 0.1ml의 Triton X-100을 첨가한 2차 증류수를 사용할 수 있다.
- [36] 따라서, 본 발명은 다른 관점에서 상기 식물기생선충 방제용 조성물을 유효성분으로 포함하는 식물기생선충 방제용 제제 및 상기 식물기생선충 방제용 조성물을 처리하여 선충을 방제하는 것을 특징으로 하는 식물기생선충 방제방법에 관한 것이다.
- [37] 이때, 처리 대상 작물로는 특별히 한정되어 있는 것은 아니며, 선충이 피해를 주거나 혹은 이러한 선충이 기생하는 모든 작물, 예를 들면 토마토, 오이, 딸기, 참외, 고추, 및 수박으로 이루어진 균으로부터 선택된 1종 이상의 과채류를 포함할 수 있다.

발명의 실시를 위한 형태

- [38] 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.

[39]

[40] 실시예 1: 천연물 유래 물질의 살선충 활성 확인

[41] 실험에 사용된 공시선충은 *Meloidogyne* spp. (경상북도 성주군 참외농가의 감염된 뿌리로부터 난 부화)로써 (주)에코윈에서 토마토를 이용하여 증식시켜 실험에 사용하였다.

[42] 뿌리혹선충에 감염된 토마토 뿌리를 흐르는 물에 세척한 후, 1cm 정도의 크기로 절단한 후, 절단된 뿌리 50g을 0.5% sodium hypochloride(NaOCl) 200ml가 들어있는 500ml 둥근 플라스크에 넣고, 고무마개로 막아 3분간 심하게 흔들어서 뿌리를 살균시킴과 동시에 난낭을 터트렸다. 그 후 500mesh에 200mesh를 중첩시킨 망에 액을 통과시키고, 증류수로 세척하여 NaOCl 용액이 제거된 뿌리혹선충의 알을 회수 하였다.

[43] 다음으로 회수한 뿌리혹선충의 알을 0.5% NaOCl로 10분간 표면 살균 처리하고, 멸균 증류수로 충분히 수세한 다음, 멸균된 생리식염수가 함유된 인산 완충액(1%)에 넣고, 25°C 항온기에서 부화시켰다.

[44]

[45] 제라니올(Katyani Exports 社), 아자라크틴(UNITED AGRO INDUSTRIES 社), 크로바 오일(Xi'Taima 社), 오레가노 오일(Xi'Taima 社), 피레스린(Xi'Taima 社) 및 옥시메트린(킹보社, 중국)을 유화제(PLE9)와 1:1로 혼합하였다. 그 후 혼합액을 각각 2000ppm이 되게 희석하고 각각 2~3ml을 페트리디쉬에 주입하고, 부화된 뿌리혹선충 15마리를 페트리디쉬에 넣은 다음 살선충 활성을 확인하고 그 결과를 표 1에 나타내었다.

[46] [Table 1]

구분	제라니올	아자라크틴	크로바오일	오레가노오일	피레스린	옥시메트린
1일	15 ^a	7	2	1	5	7
2일	-	8	5	1	6	9
3일	-	10	7	3	11	10
살선충율(%)	100	66.7	46.7	20.0	73.3	66.7

a: 치사된 뿌리혹선충의 수

[47] 표 1에 나타난 바와 같이, 제라니올 2,000ppm 희석액은 처리 1일 만에 뿌리혹선충에 대하여 100%의 살선충율을 나타낸 반면, 오레가노 오일은 처리 3일 만에 3마리의 뿌리혹선충을 치사시켜 20.0%의 살선충율을 나타내어 가장 낮은 살선충 활성을 나타내었다.

[48] 따라서, 대상 시료중 제라니올이 뿌리혹선충에 대하여 가장 우수한 살선충 효과를 갖는다고 판단하여 제라니올의 희석 배율에 따른 살선충 활성능을 확인하고, 그 결과를 표 2에 나타내었고 제라니올 처리 전후의 뿌리혹선충의 모습을 도 1에 나타내었다.

[49] [Table 2]

경과시간	제라니올 (ppm)							
	10,000	3,000	2,000	1,000	500	333	200	100
1일	15 ^a	15	15	10	5	5	5	5
2일	-	-	-	15	10	6	7	7
3일	-	-	-	-	15	15	13	7
살선충율(%)	100	100	100	100	100	100	86.7	46.7
a: 치사된 뿌리혹선충의 수실험에 사용된 뿌리혹선충 수는 각 배수별 15마리임								

[50] 표 2에 나타난 바와 같이, 제라니올 10,000ppm, 3,000ppm 및 2,000ppm은 처리 1일 만에 뿌리혹선충에 대하여 100%의 살선충율 나타내었고, 1,000ppm은 처리 2일만에 100%의 살선충율을 나타내었다. 그리고 500ppm 및 333ppm은 처리 3일 만에 100%의 살선충율을 나타내었으며, 200ppm은 처리 3일 만에 86.7%의 높은 살선충율을 나타내어 뿌리혹선충의 방제제로서 가능성을 확인하였다.

[51]

[52] **실시예 2: 제라니올의 작물에 대한 약해 실험**

[53] 멸균된 흙을 골고루 섞어 준 후, 흙 300g씩 Pot에 담은 후, 뿌리혹선충에 감염되지 않은 토마토 묘종을 이식하였다. 실시예 1에서 제조된 제라니올 희석액(100, 200, 330, 500, 1,000, 2,000, 3,000, 10,000ppm)을 50mL 관주 처리하였다. 그리고 추가로 제라니올을 4,000ppm, 5,000ppm, 20,000ppm으로 희석한 희석액을 만들어 토마토 묘종을 이식한 Pot에 각각 50mL씩 관주 처리하였다. 이때 무처리구는 동량의 증류수만을 처리하였고, 처리 1주일 후 약해 유무를 육안 관찰 하였으며, 그 결과를 표 3과 도 2에 나타내었다.

[54] [Table 3]

제라니올농도(ppm)	시험작물	약해정도(0~5)	약해증상
100	토마토	0	없음
200		0	없음
330		0	없음
500		0	없음
1,000		0	없음
2,000		0	없음
3,000		0	없음
4,000		5	시들어 죽음
5,000		5	시들어 죽음
10,000		5	시들어 죽음
20,000		5	시들어 죽음

[55] 표 3과 도 2로부터, 제라니올을 농도별로 처리하였을 경우 100ppm~3,000ppm까지는 처리 전 과 처리 후를 비교하였을 때 별다른 약해 증상은 찾아 볼 수 없었다. 하지만 4000ppm 이상에서는 줄기 밑부분이 마르면서 토마토 묘종이 모두 쓰러져 말라 죽는 모습을 관찰할 수 있었다. 그러므로 제라니올의 경우 3,000ppm 이하의 농도에서는 토마토 묘종에 아무런 영향을 끼치지 않지만 4,000ppm 이상의 농도는 토마토 묘종에 약해를 발생시켜 사용이 불가능하다는 것을 확인하였다.

[56]

[57] 실시예 3: 식물 추출물의 살선충 활성 확인

[58] 천연물 유래 물질 대신에 강활, 정향, 육두구, 석창포, 삼내자 및 백두근 추출물을 이용한 것을 제외하고는 실시예 1과 동일한 방법으로 뿌리혹선충에 대한 살선충 활성을 확인(처리농도 2,000ppm)하고, 그 결과를 표 4에 나타내었다. 이때, 강활, 정향, 육두구, 석창포, 삼내자 및 백두근은 대구에 위치한 약재상에서 구입한 다음 통상의 방법에 따라 에탄올을 이용하여 추출하였다. 즉, 추출은 각각의 약재를 잘게 부수고 에탄올과 1:5의 비율로 혼합하고 실온에서 180rpm으로 48시간 추출한 후 농축기를 이용하여 에탄올을 전부 농축하였다.

[59] [Table 4]

경과시간	식물 추출물 종류					
	강활	정향	육두구	석창포	삼내자	백두근
1일	5	4	4	1	2	2
2일	14	11	6	5	2	5
3일	15	15	6	6	2	8
살선충율(%)	100	100	40	40	13.3	53.3

a: 치사된 뿌리혹선충의 수실험에 사용된 뿌리혹선충 접종수는 15마리임

[60] 표 4에 나타난 바와 같이, 강활 및 정향 추출물은 처리 2일 후 뿌리혹선충을 절반 이상 치사시켰고, 3일째 100% 치사시켰지만, 육두구, 석창포, 삼내자 및 백두근은 처리 3일째 되는 날에도 약 50% 또는 그 미만의 치사율을 나타내었다.

[61]

[62] 실시예 4: 님 추출물의 살선충 활성 확인

[63] 천연물 유래 물질 대신에 님 추출물을 이용한 것을 제외하고는 실시예 1과 동일한 방법으로 뿌리혹선충에 대한 살선충 활성을 확인하고, 그 결과를 표 5에 나타내었다.

[64] [Table 5]

경과시간	님 추출물 (ppm)				
	20,000	8,000	4,000	2,000	1,000
1일	10 ^a	7	5	2	1
2일	13	9	10	4	2
3일	15	15	15	9	5
살선충율(%)	100	100	100	60	33.3

a: 치사된 뿌리혹선충의 수

[65] 표 5에 나타난 바와 같이, 님 추출물의 희석배율이 20,000ppm, 8,000ppm, 4,000ppm인 경우, 처리 3일 만에 15마리의 뿌리혹선충을 치사시켜 100%의 살선충율을 나타내었고, 2,000ppm에서는 60%의 살선충율을 나타내었다. 따라서 님 추출물 20,000 ~ 4,000ppm은 뿌리혹선충의 방제제로서의 가능성을 확인할 수 있었다.

[66]

[67] 실시예 5: 제라니올 및 식물 추출물 혼합액의 살선충 활성 확인

[68] 우수한 살선충 활성이 확인된 제라니올과 님 추출물, 정향 추출물 및 강활 추출물을 각각 혼합하여 시너지 효과를 확인하였다.

[69] 식물 추출물과 제라니올을 4:1의 부피비로 혼합한 것(제라니올과 천연물 혼합액 2500ppm)을 시료로 이용한 것을 제외하고는 실시예 1과 동일한 방법으로 뿌리혹선충에 대한 살선충 활성을 확인하고, 그 결과를 표 6에 나타내었다.

[70] [Table 6]

경과시간	님 추출물 +제라니올(4:1)	정향 추출물 +제라니올(4:1)	강활 추출물 +제라니올(4:1)
1일	9 ^a	5	8
2일	13	11	13
3일	15	15	15
살선충율(%)	100	100	100

a: 치사된 뿌리혹선충의 수실험에 사용된 뿌리혹선충 접종수는 15마리임

[71] 표 6에 나타난 바와 같이, 님 추출물과 제라니올 혼합액, 정향 추출물과 제라니올 혼합액, 강활 추출물과 제라니올 혼합액 모두 처리 3일만에 뿌리혹선충 15마리를 치사시켜 100%의 살선충율을 나타내었다.

[72] 이로서 3종 모두 뿌리혹선충에 대한 살선충 효과가 있는 것으로 판단되어, 포트실험과 약해 실험을 진행하였다.

[73]

[74] 실시예 6: 제라니올 및 식물 추출물 혼합액의 약해 실험

[75] 멸균된 흙을 골고루 섞어 준 후, 흙 300g씩 Pot에 담은 후, 뿌리혹선충에 감염되지 않은 토마토 묘종을 이식하였다. 실시예 4에서 제조된 시료는 처리구별 정량 혹은 배량으로 희석된 액을 50mL 관주 처리 하였다. 이때 무처리구는 동량의 증류수만을 처리하였고, 처리 1주일 후 약해 유무를 육안관찰 하였으며, 그 결과를 표 7과 도 3에 나타내었다.

[76] [Table 7]

시험약제	시험작물	약해정도(0~5)		약해증상
		기준량	배량	
님 추출물 + 제라니올	토마토	0	0	없음
정향 추출물 + 제라니올	토마토	0	0	없음
강활 추출물 + 제라니올	토마토	0	0	없음

[77]

[78] 표 7과 도 3으로부터, 제라니올 및 식물 추출물 혼합액의 처리 전과 처리 후를

비교하였을 때 별다른 약해 증상은 찾아 볼 수 없었다. 따라서, 제라니올 및 식물 추출물 혼합액은 토마토 묘종이 자라는데 어떠한 해도 끼치지 않는다고 판단된다.

[79]

[80] 실시예 7: 제라니올 및 식물 추출물 혼합액의 포트실험

[81] 뿌리혹선충에 감염된 흙을 골고루 섞어 준 후, 초기 뿌리혹선충의 밀도를 조사한 다음(마리/300g), 뿌리혹선충에 감염된 흙 300g씩 Pot에 담고, 실시예 4에서 제조된 시료 50ml씩을 처리하였다. 수분증발을 방지하기 위하여 비닐로 pot을 덮은 후, 1주 단위로 시료를 2회 처리하고, 2주후 뿌리혹선충의 밀도를 조사하고, 그 결과를 표 8에 나타내었다. 이때 무처리구는 증류수 50ml만을 처리하였으며, 실험은 3반복으로 수행하였다.

[82] [Table 8]

	초기 밀도	Control	넙 추출물+제라니올 (4:1)	정향 추출물 +제라니올 (4:1)	강활 추출물 +제라니올 (4:1)
밀도(마리/300g)	3,367	2,127	550	967	750
방제율(%)	-	36.83	83.66	71.28	77.72

[83] 표 8에 나타난 바와 같이, 뿌리혹선충에 감염된 토양의 초기 밀도는 3,367마리/300g으로 나타났다. 뿌리혹선충에 감염된 토양에 각각의 시료를 처리한 결과 control이 2,127마리/300g이었고, 넙 추출물 + 제라니올(4:1), 정향 추출물 + 제라니올(4:1), 강활 추출물 + 제라니올(4:1)은 각각 550/300g, 967/300g 및 750/300g 으로 나타났다.

[84] 뿌리혹선충에 대한 각각의 약제들의 방제율은 초기밀도에 비해 넙 추출물 + 제라니올(4:1) 이 83.66% 가장 높은 방제효과를 나타내었으며, 다음으로 강활 추출물 + 제라니올(4:1), 정향 추출물 + 제라니올(4:1)이 각각 77.72%, 71.28%의 방제효과를 나타낸 반면 control은 36.83%였다.

[85]

[86] 실시예 8: 제라니올을 이용한 기타 식물기생선충에 대한 살선충 효과

[87] 제라니올(Katyani Exports 社) 2,000ppm 희석액을 2~3ml을 페트리디쉬에 주입하고, 식물기생선충의 일종인 뿌리썩이선충, 나선선충, 씨스터선충 15마리를 각 페트리디쉬에 넣은 다음 살선충 활성을 확인하였고, 그 결과를 표 9에 나타내었다.

[88] [Table 9]

구분	뿌리썩이선충	나선선충	씨스터선충
1일	14 ^a	7	8
2일	15	9	11
3일	-	13	12
살선충율	100	86.7	80
a : 치사된 뿌리혹선충의 수실험에 사용된 선충수는 각 선충별 15마리 임.			

[89] 표 9에 나타난 바와 같이, 뿌리썩이선충과 나선선충, 씨스터선충에 대하여 모두 80% 이상의 살선충율을 나타내었다.

[90]

[91] **비교예 1: 팔메로사 오일의 뿌리혹선충에 대한 살선충 효과**

[92] 팔메로사 오일 및 제라니올의 살선충 효과를 비교하기 위하여 한국공개특허 2009-0011029에 기재된 바와 같이 캐놀라 93%, 팔메로사 오일(제조사: AOS Products Private Limited, 제라니올 함량 : 약 68.5%) 2% 및 폴리솔리베이트 20 5%가 혼합된 조성물을 제조하였다.

[93] 제조된 조성물을 5%(v/v) 농도가 되도록 수돗물로 희석하고 고속 자기 교반기를 이용하여 희석액(제라니올 농도= 685ppm)을 1시간 동안 격렬히 교반한 후 30분 동안 층이 분리되도록 한 다음, 표면 위에 안정하게 형성된 층을 피하여 아래쪽 물층의 용액(A)만을 취하여 뿌리혹선충에 대한 살선충 활성을 평가하고 그 결과를 하기 표 10에 나타내었다. 이때, 실시예 1과 같이 제라니올과 유화제(PLE9)를 1:1로 혼합하고, 제라니올의 농도가 685ppm이 되도록 희석시킨 용액을 대조구로 하였다.

[94] [Table 10]

	뿌리혹 선충 살선충율(%)		
	1일차	2일차	3일차
무처리	-	-	-
팔메로사 오일 조성물 희석액(A)	17.6	17.6	23.5
제라니올 685ppm	72.5	93.6	100.0

[95] 표 10으로부터, 제라니올 함량이 동일할지라도 제라니올을 함유하는 팔메로사 오일 조성물 희석액은 1~2일차에 17.6%, 3일차에 23.5%의 살선충율을 나타낸 반면 제라니올을 사용할 경우 1일차에 72.5%, 2일차에 93.6%, 3일차에 100%의 살선충율을 나타내어 팔메로사 오일 보다 월등히 높은 살선충 효과가 있다는 것을 확인할 수 있었다. 이는 팔메로사 오일을 구성하는 물질들의 길항작용에 의한 것으로 추측된다.

[96] 즉, 한국공개특허 2009-0011029에서는 복합물인 팔메로사 오일의 살선충 활성을 확인하였기 때문에 팔메로사 오일을 구성하는 디하이드로타게톤, 티오펜, 오시멘, 리날로올, 티몰, 에스트라골, 제라니올 등의 화합물중 실질적인 살선충 활성을 나타내는 화합물이 무엇인지에 대한 기재가 없었으나, 본 발명은 팔메로사 오일을 구성하는 화합물중 실질적인 살선충 활성을 나타내는 물질이 제라니올이라는 것을 확인하였고, 제라니올을 단독으로 사용하는 것이 동량의 제라니올을 포함하는 팔메로사 오일을 사용하는 것보다 약 4.2배의 월등한 살선충 효과가 있으며, 더 나아가 제라니올이 약해를 유발하지 않으면서 살선충 효과를 최대로 낼 수 있는 농도가 100~3,000ppm이라는 것을 확인하였다는 점에서 발명의 의의가 있다.

[97]

[98] 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.

[99]

산업상 이용가능성

[100] 본 발명에 따른 제라니올을 100~3,000ppm 농도로 함유하는 식물기생선충 방제용 조성물은 천연물 유래로서 친환경적이고, 약해를 일으키지 않으면서 살선충 효과가 우수하므로 선충 방제제로 유용하게 사용될 수 있다.

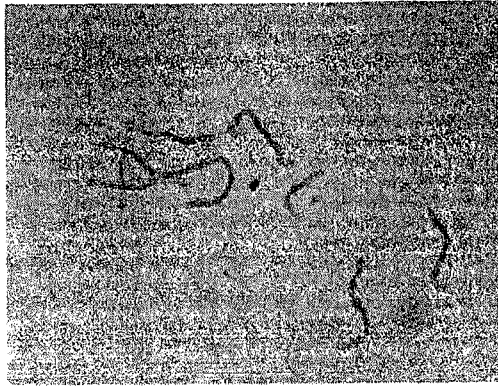
[101]

[102]

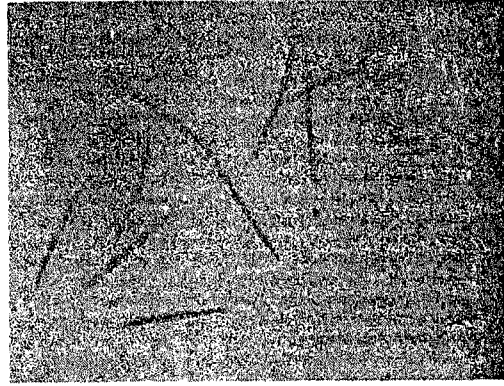
청구범위

- [청구항 1] 제라니올을 100~3,000ppm 농도로 함유하는 식물기생선충 방제용 조성물.
- [청구항 2] 제1항에 있어서, 상기 식물기생선충 방제용 조성물은 님(neem) 추출물, 강활 추출물 및 정향 추출물로 구성된 군에서 선택되는 식물 추출물을 추가로 포함하는 것을 특징으로 하는 식물기생선충 방제용 조성물.
- [청구항 3] 제2항에 있어서, 상기 추가되는 식물 추출물과 제라니올의 부피비는 동일 농도 기준으로 3:1~5:1인 것을 특징으로 하는 식물기생선충 방제용 조성물.
- [청구항 4] 제1항에 있어서, 상기 선충은 뿌리혹선충, 뿌리썩이선충, 나선선충 및 씨스터선충으로 구성된 군에서 선택되는 1 이상인 것을 특징으로 하는 식물기생선충 방제용 조성물.
- [청구항 5] 제1항 내지 제4항중 어느 한 항의 조성물을 유효성분으로 포함하는 식물기생선충 방제용 제제.
- [청구항 6] 제1항 내지 제4항중 어느 한 항의 조성물을 처리하여 선충을 방제하는 것을 특징으로 하는 식물기생선충 방제방법.

[Fig. 1]

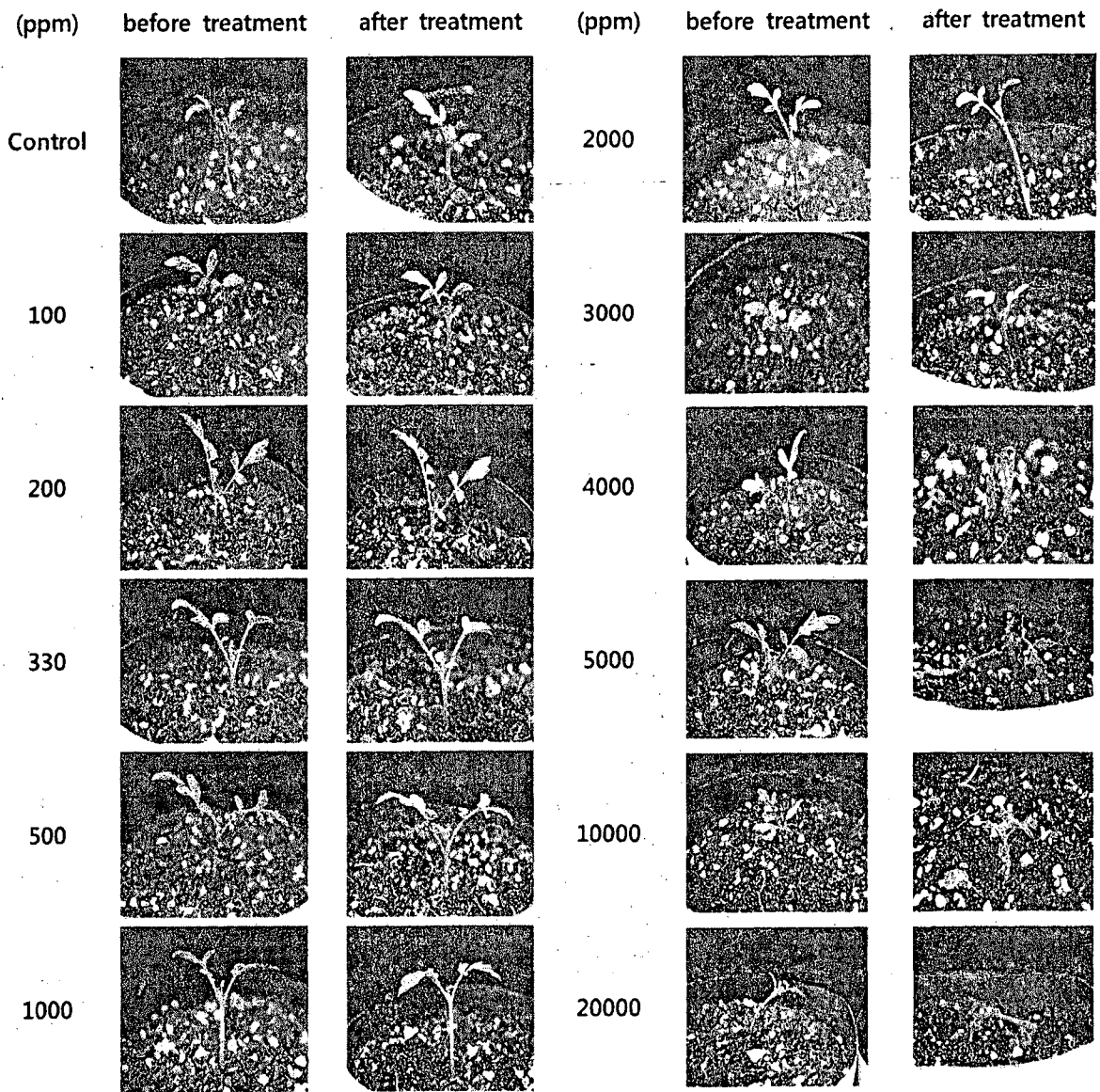


before geraniol treatment

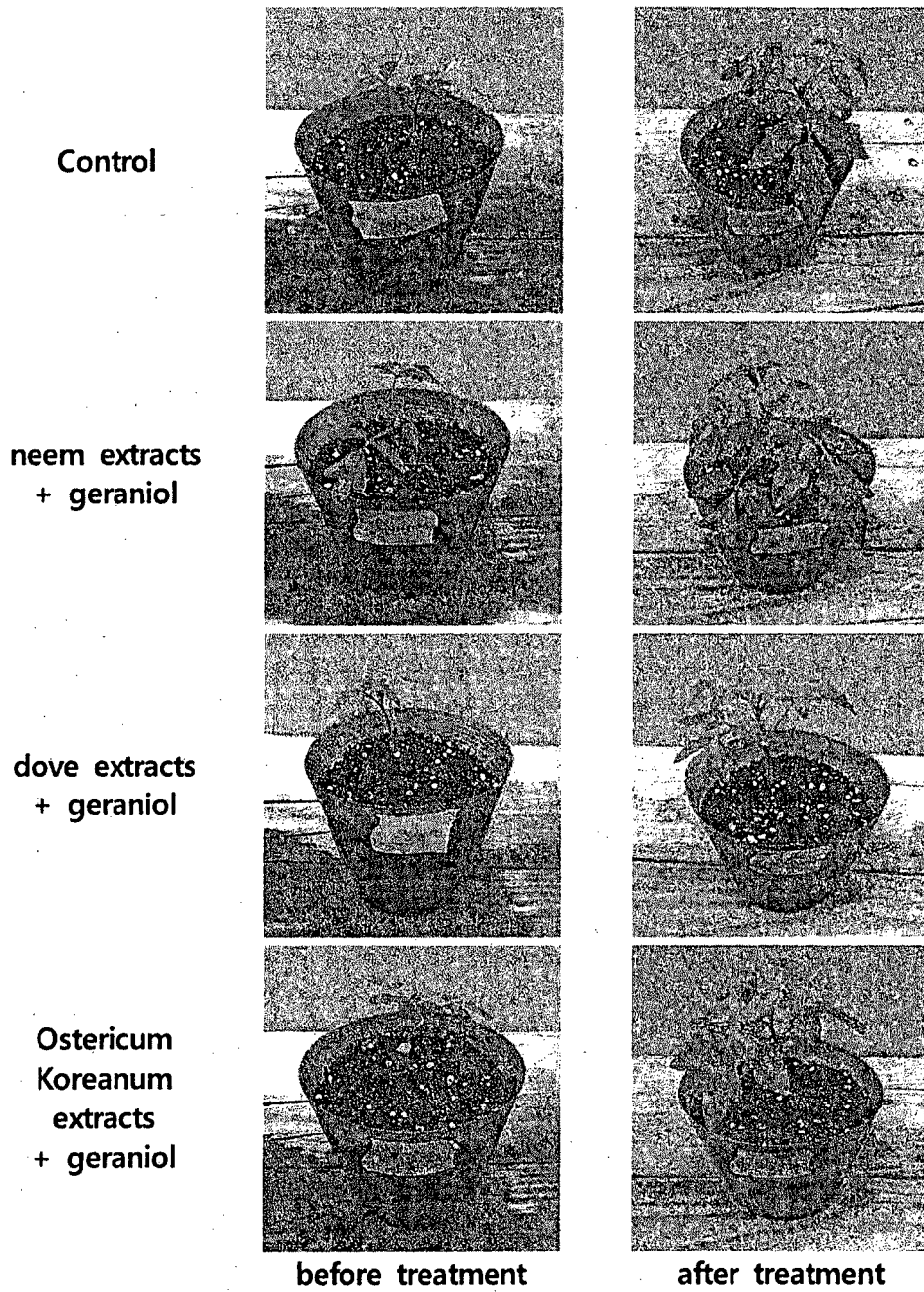


after geraniol treatment

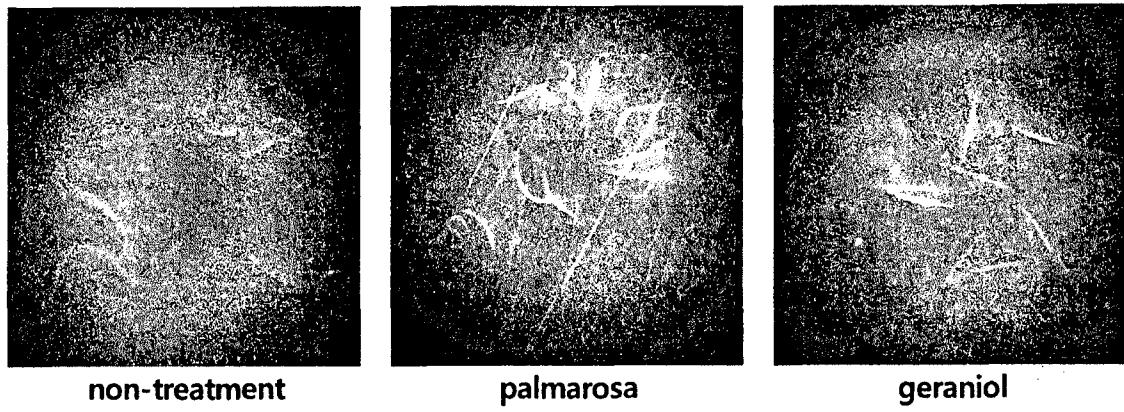
[Fig. 2]



[Fig. 3]



[Fig. 4]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2017/012312

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A01N 49/00(2006.01)i, A01N 65/26(2009.01)i, A01N 65/28(2009.01)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 49/00; A01N 25/08; A01N 65/20; A01N 65/00; A01N 65/08; A01N 65/26; A01N 65/28; A01N 65/18

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: geraniol, plant-parasitic nematode, nematode prevention

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 2003-171217 A (JUKANKYO KOJO JUMOKU SEIBUN RIYO GIJUTSU KENKYU KUMIAI) 17 June 2003 See claim 3; paragraphs [0030], [0047], [0050], [0052]; and table 7.	1,4-6
Y		2,3
Y	KR 10-2007-0065938 A (DBIO) 27 June 2007 See claim 1.	2,3
Y	KR 10-2016-0000659 A (GENOBIO CO., LTD.) 05 January 2016 See claim 1.	2,3
Y	JP 2009-235049 A (YANAGI, T.) 15 October 2009 See claim 1; and paragraph [0022].	2,3
X	ECHEVERRIGARAY, S. et al., "Nematicidal Activity of Monoterpenoids against the Root-knot Nematode <i>Meloidogyne Incognita</i> ", <i>Phytopathology</i> , 2010, vol. 100, no. 2, pages 199-203 See abstract; table 1; and page 202, right column, lines 12-22.	1,4-6
Y		2,3
E	KR 10-2017-0124329 A (ECOWIN CO., LTD. et al.) 10 November 2017 See claims 1-6.	1-6



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 JULY 2018 (27.07.2018)

Date of mailing of the international search report

30 JULY 2018 (30.07.2018)

Name and mailing address of the ISA/KR

Korean Intellectual Property Office
Government Complex Daejeon Building 4, 189, Cheongsa-ro, Seo-gu,
Daejeon, 35208, Republic of Korea

Facsimile No. +82-42-481-8578

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2017/012312

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
JP 2003-171217 A	17/06/2003	NONE	
KR 10-2007-0065938 A	27/06/2007	NONE	
KR 10-2016-0000659 A	05/01/2016	NONE	
JP 2009-235049 A	15/10/2009	NONE	
KR 10-2017-0124329 A	10/11/2017	NONE	

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))
A01N 49/00(2006.01)i, A01N 65/26(2009.01)i, A01N 65/28(2009.01)i

B. 조사된 분야

조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)
A01N 49/00; A01N 25/08; A01N 65/20; A01N 65/00; A01N 65/08; A01N 65/26; A01N 65/28; A01N 65/18

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: 제라니올, 식물기생선충, 방제

C. 관련 문헌

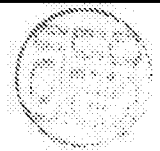
카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
X	JP 2003-171217 A (JUKANKYO KOJO JUMOKU SEIBUN RIYO GIJUTSU KENKYU KUMIAI) 2003.06.17 청구항 3; 단락 [0030], [0047], [0050], [0052]; 및 표 7 참조.	1,4-6
Y		2,3
Y	KR 10-2007-0065938 A ((주)대덕바이오) 2007.06.27 청구항 1 참조.	2,3
Y	KR 10-2016-0000659 A (제노바이오 주식회사) 2016.01.05 청구항 1 참조.	2,3
Y	JP 2009-235049 A (YANAGI, T.) 2009.10.15 청구항 1; 및 단락 [0022] 참조.	2,3
X	Echeverrigaray, S. 등, "Nematicidal activity of monoterpenoids against the root-knot nematode Meloidogyne incognita", Phytopathology, 2010, 100권, 제2호, 페이지 199-203 초록; 표 1; 및 페이지 202, 우컬럼, 라인 12-22 참조.	1,4-6
Y		2,3
E	KR 10-2017-0124329 A ((주) 에코원 등) 2017.11.10 청구항 1-6 참조.	1-6

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 "T" 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌
 "E" 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌 "X" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다.
 "L" 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌 "Y" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다.
 "O" 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌 "&" 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌
 "P" 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌

국제조사의 실제 완료일 2018년 07월 27일 (27.07.2018)	국제조사보고서 발송일 2018년 07월 30일 (30.07.2018)
--	---

ISA/KR의 명칭 및 우편주소 대한민국 특허청 (35208) 대전광역시 서구 청사로 189, 4동 (둔산동, 정부대전청사) 팩스 번호 +82-42-481-8578	심사관 이동욱 전화번호 +82-42-481-8163
---	------------------------------------



국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
JP 2003-171217 A	2003/06/17	없음	
KR 10-2007-0065938 A	2007/06/27	없음	
KR 10-2016-0000659 A	2016/01/05	없음	
JP 2009-235049 A	2009/10/15	없음	
KR 10-2017-0124329 A	2017/11/10	없음	