(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2018년01월09일
(11) 등록번호 10-1816442
(24) 등록일자 2018년01월02일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A01N 31/04 (2006.01) *A01G 7/06* (2006.01)
A01N 63/02 (2017.01)
(52) CPC특허분류
A01N 31/04 (2013.01)
A01G 7/06 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2016-0124554
(22) 출원일자 2016년09월28일
심사청구일자 2016년09월28일
(56) 선행기술조사문헌
Journal of Biological Chemistry, 2011, vol 286(32),pp.27980-27987
Mediterranean Journal of Chemistry, 2012, vol 2(2), pp.459-470

(73) 특허권자
경상대학교산학협력단
경상남도 진주시 진주대로 501 (가좌동)
(72) 발명자
곽연식
경상남도 진주시 진주대로 1317, 110동 901호(웰가)
박정규
경상남도 진주시 가좌안골길21번길 5, 102동 501호(가좌동, 풍경채)
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
위병갑

기술이전 희망 : **기술양도**

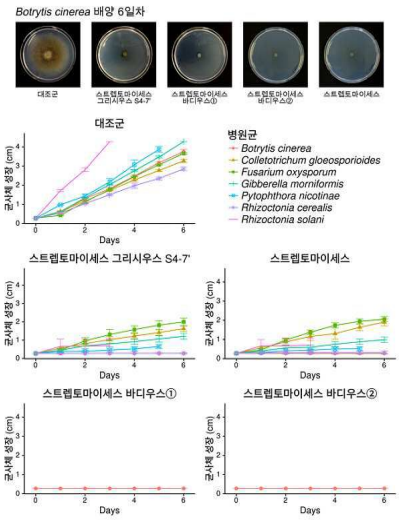
전체 청구항 수 : 총 5 항 심사관 : 김민수

(54) 발명의 명칭 **캐리오란-1-올을 포함하는 항균용 조성물**

(57) 요 약

본 발명은 캐리오란-1-올(caryolan-1-ol)을 포함하는 항균용 조성물 또는 식물병 방제용 조성물에 관한 것이다. 본 발명에 따른 캐리오란-1-올(caryolan-1-ol)은 스트렙토마이세스 속 균주로부터 분리된 휘발성 물질로서 보트리티스 시네레아, 푸사리움 옥시스포럼, 파이토프토라 니코타이나, 콜레토트리쿰 글로에오스포리오이데스, 라이족토니아 세레알리스, 라이족토니아 솔라니 및 지베렐라 모닐리포르미스 등을 포함하는 다양한 식물 병원균에 대해 우수한 항균 효과를 가지고 있으며, 저장병의 억제 및 제초 활성을 가지고 있는바, 항균용 조성물 및 식물병 방제용 조성물 등으로 유용하게 사용될 수 있다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
A01N 63/02 (2013.01)
(72) 발명자
조경준
경상남도 진주시 대밭골로39번길 8-5
김준헌
경기도 동두천시 강변로296번길 19, 101동 401호(건영)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 2016-0017
부처명 농촌진흥청
연구관리전문기관 경상대학교
연구사업명 차세대바이오그린21_농생물게놈활용연구사업
연구과제명 딸기 꽃 미생물상 분석 및 잿빛곰팡이 방제 유용미생물 기능 연구
기 여 율 1/2
주관기관 농촌진흥청
연구기간 2016.01.04 ~ 2017.12.31
이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 PJ011800
부처명 농촌진흥청
연구관리전문기관 농촌진흥청
연구사업명 차세대바이오그린21_농생물게놈활용연구사업
연구과제명 딸기 꽃 미생물상 분석 및 잿빛곰팡이 방제 유용미생물 기능 연구
기 여 율 1/2
주관기관 경상대학교
연구기간 2016.01.04 ~ 2017.12.31
공지예외적용 : 있음

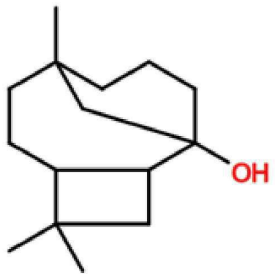
명 세 서

청구범위

청구항 1

하기 화학식 1로 표시되는 캐리오란-1-올(caryolan-1-ol)을 포함하며, 보트리티스 시네레아(Botrytis cinerea), 푸사리움 옥시스포럼(Fusarium oxysporum), 파이토프토라 니코타이나(Phytophthora nicotinae), 콜레토트리쿰 글로에오스포리오이데스(Colletotrichum gloeosporioides), 라이족토니아 세레알리스(Rhizoctonia cerealis), 라이족토니아 솔라니(Rhizoctonia solani) 및 지베렐라 모닐리포르미스(Gibberella moniliformis)로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상의 식물 병원균에 대한 항균 활성을 갖는 것을 특징으로 하는 항균용 조성물.

[화학식 1]



청구항 2

제 1항에 있어서,

상기 캐리오란 1-올은 스트렙토마이세스 속 균주로부터 분리된 것을 특징으로 하는, 항균용 조성물.

청구항 3

삭제

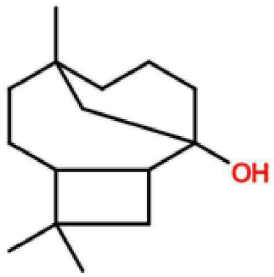
청구항 4

삭제

청구항 5

하기 화학식 1로 표시되는 캐리오란-1-올(caryolan-1-ol)을 포함하며, 보트리티스 시네레아(Botrytis cinerea), 푸사리움 옥시스포럼(Fusarium oxysporum), 파이토프토라 니코타이나(Phytophthora nicotinae), 콜레토트리쿰 글로에오스포리오이데스(Colletotrichum gloeosporioides), 라이족토니아 세레알리스(Rhizoctonia cerealis), 라이족토니아 솔라니(Rhizoctonia solani) 및 지베렐라 모닐리포르미스(Gibberella moniliformis)로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상의 식물 병원균에 의해 발병하는 식물병 방제용 조성물.

[화학식 1]



청구항 6

제 5항에 있어서,

상기 식물병은 저장병, 잿빛곰팡이병, 시들음병, 역병, 탄저병, 갈색잎마름병, 누른잎마른병, 잔디뿌리병, 잘록병 및 이삭썩음병으로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상인 것을 특징으로 하는, 식물병 방제용 조성물.

청구항 7

삭제

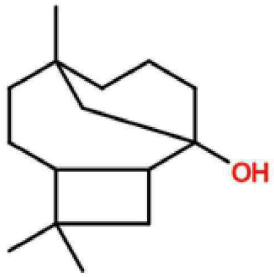
청구항 8

삭제

청구항 9

하기 화학식 1로 표시되는 캐리오란-1-올(caryolan-1-ol)을 식물 또는 재배 토양에 처리하는 단계를 포함하는, 보트리티스 시네레아(Botrytis cinerea), 푸사리움 옥시스포럼(Fusarium oxysporum), 파이토프토라 니코타이나(Phytophthora nicotinae), 콜레토트리쿰 글로에오스포리오이데스(Colletotrichum gloeosporioides), 라이족토니아 세레알리스(Rhizoctonia cerealis), 라이족토니아 솔라니(Rhizoctonia solani) 및 지베렐라 모닐리포르미스(Gibberella moniliformis)로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상의 식물 병원균에 의해 발병하는 식물병 방제 방법.

[화학식 1]



발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 캐리오란-1-올(caryolan-1-ol)을 포함하는 항균용 조성물 또는 식물병 방제용 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 농작물은 재배 중에 풍수해 등을 포함한 수많은 환경 스트레스에 직면하는데 기상이변에 따른 물리적 요인뿐 아니라 생물적 요인인 병, 해충, 잡초를 얼마나 잘 방제하느냐에 따라 식량생산이 크게 좌우된다.

[0003] 지금까지 농작물의 병해충 방제방법으로는 유기합성 농약을 기초로 한 화학방제 시스템이 주로 사용되어왔으나 농약의 오남용, 독성, 환경오염 및 자연생태계에 미치는 악영향과 약제내성의 출현 등에 의한 약효 감소 등의 부작용이 증가하고 있다. 따라서, 합성 농약을 대신할 수 있는 식물병 방제효과가 우수한 생물농약의 개발이 요구되고 있다.

[0004] 생물농약(Biopesticides)은 농작물에 발생하는 병, 해충 및 잡초를 제거하기 위하여 자연환경으로부터 유래한 천연물, 천적 및 유익한 미생물을 골라서 농업용으로 이용할 수 있도록 제품화한 것을 말한다. 생물농약에는 미생물 농약(Miocrobial biopesticide)과 생화학 농약(Biochemical biopesticide) 등이 있으며, 미생물 농약은 세균, 곰팡이, 바이러스, 선충 등의 미생물 자체를 이용하여 개발된 것을 말하고, 생화학 농약은 식물 혹은 미생물에서 기원하는 천연물을 이용하여 개발된 것을 말한다.

[0005] 본 발명자들은 식물 병원균에 대해 강력한 항균 활성을 가지는 물질을 찾기 위해 연구를 계속 한 결과, 스트렙토마이세스 속 균주 유래 휘발성 물질이 항균 활성을 나타내며, 상기 휘발성 물질이 캐리오란-1-올이라는 것을 동정함으로써 본 발명을 완성하였다.

선행기술문헌

특허문헌

[0006] (특허문헌 0001) 대한민국 공개특허 제2006-0017101호

(특허문헌 0002) 대한민국 공개특허 제2011-0055458호

(특허문헌 0003) 대한민국 공개특허 제2005-0004719호

(특허문헌 0004) 대한민국 공개특허 제2005-0018766호

(특허문헌 0005) 대한민국 공개특허 제2005-0018767호

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 본 발명의 목적은 캐리오란-1-올(caryolan-1-ol)을 포함하는 항균용 조성물을 제공하는 것이다.

[0008] 본 발명의 다른 목적은 캐리오란-1-올을 포함하는 식물병 방제용 조성물 및 상기 조성물을 이용한 식물병 방제 방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0009] 상기와 같은 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 캐리오란-1-올(caryolan-1-ol)을 포함하는 항균용 조성물을 제공한다.

[0010] 또한, 본 발명은 캐리오란-1-올을 포함하는 식물병 방제용 조성물을 제공한다.

[0011] 또한, 본 발명은 캐리오란-1-올을 식물 또는 재배 토양에 처리하는 단계를 포함하는, 식물병 방제 방법을 제공한다.

발명의 효과

[0012] 본 발명에 따른 캐리오란-1-올(caryolan-1-ol)은 스트렙토마이세스 속 균주로부터 분리된 휘발성 물질로서 보트리티스 시네레아, 푸사리움 옥시스포럼, 파이토프토라 니코타이나, 콜레토트리쿰 글로에오스포리오이데스, 라이족토니아 세레알리스, 라이족토니아 솔라니 및 지베렐라 모닐리포르미스 등을 포함하는 다양한 식물 병원균에 대해 우수한 항균 효과를 가지고 있으며, 저장병의 억제 및 제초 활성을 가지고 있는바, 항균용 조성물 및 식물병 방제용 조성물 등으로 유용하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0013] 도 1은 스트렙토마이세스 속 균주가 분비하는 휘발성 물질의 식물 병원균에 대한 항균 활성을 나타낸 도이다.

도 2는 스트렙토마이세스 속 균주가 분비하는 휘발성 물질의 딸기 저장병 억제 활성을 나타낸 도이다.

도 3은 가스크로마토그래피 질량 분석을 통해 방선균 4종이 분비하는 휘발성 물질의 성분을 분석한 결과를 나타낸 도이다.

도 4는 방선균 4종에서 분리한 휘발성 물질을 포함하고 있는 혼합물A(Geosmin 포함) 및 혼합물B(Caryolan-1-ol 포함)의 항균 활성을 나타낸 도이다.

도 5는 고상미량추출한 스트렙토마이세스 그리시우스 유래 휘발성 물질과 합성한 캐리오란-1-올을 가스크로마토그래피 질량 분석을 통해 비교한 결과를 나타낸 도이다.

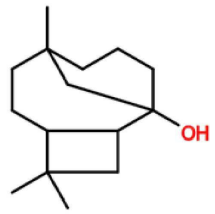
도 6은 합성한 캐리오란-1-올의 보트리티스 시네레아(Botrytis cinerea)에 대한 항균 활성을 나타낸 도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0014] 이하 본 발명을 상세히 설명한다.

[0015] 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 캐리오란-1-올(caryolan-1-ol)을 포함하는 항균용 조성물을 제공한다.

화학식 1

[0016] 

[0017] 본 발명의 캐리오란-1-올(caryolan-1-ol)은 $C_{15}H_{26}O$의 화학식을 갖는 휘발성 물질로, 약 222 Da의 평균 분자량을 가지고 있으며, 시판되는 것, 합성한 것 또는 천연물로부터 분리한 것 등을 제한 없이 이용할 수 있다.

[0018] 본 발명의 캐리오란-1-올(caryolan-1-ol)은 바람직하게는 스트렙토마이세스 속 균주로부터 분리될 수 있으며, 예를 들어, 스트렙토마이세스 그리시우스 또는 스트렙토마이세스 바디우스에서 분리될 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0019] 본 발명에서 "항균"은 균에 저항하는 능력을 의미하며, 세균이나 곰팡이와 같은 미생물의 작용으로부터 방어하기 위해 이루어지는 모든 기작을 의미한다.

[0020] 본 발명에서 "항균용 조성물"이란 항미생물제를 총칭하는 의미인 항생제와 같은 의미일 수 있고, 항균제, 살균제, 방부제, 보존제 또는 제균제와 같은 의미일 수 있으며, 바람직하게는 세균의 발육과 생활 기능을 저지 또는 억제할 수 있는 물질을 의미한다.

[0021] 본 발명의 캐리오란 1-올은 보트리티스(*Botrytis*) 속, 푸사리움(*Fusarium*) 속, 파이토프토라(*Phytophthora*) 속, 콜레토트리쿰(*Colletotrichum*) 속, 라이족토니아(*Rhizoctonia*) 속 또는 지베렐라(*Gibberella*) 속의 균주에 대한 항균 활성을 가지며, 바람직하게는 보트리티스 시네레아(*Botrytis cinerea*), 푸사리움 옥시스포럼(*Fusarium oxysporum*), 파이토프토라 니코타이나(*Phytophthora nicotinae*), 콜레토트리쿰 글로에오스포리오이데스(*Colletotrichum gloeosporioides*), 라이족토니아 세레알리스(*Rhizoctonia cerealis*), 라이족토니아 솔라니(*Rhizoctonia solani*) 또는 지베렐라 모닐리포르미스(*Gibberella moniliformis*)에 대한 항균 활성을 가진다.

[0022] 본 발명의 일 실시예에서는 캐리오란-1-올(caryolan-1-ol)이 보트리티스 시네레아, 푸사리움 옥시스포럼, 파이토프토라 니코타이나, 콜레토트리쿰 글로에오스포리오이데스, 라이족토니아 세레알리스, 라이족토니아 솔라니 및 지베렐라 모닐리포르미스에 대한 항균 효과가 우수하며, 저장병의 억제 및 제초 활성이 우수하여 식물병 방제 및 식물 생장의 촉진에 이용될 수 있음을 확인하였다.

[0024] 이에 다른 양태로서 본 발명은 캐리오란-1-올을 포함하는 식물병 방제용 조성물을 제공한다.

[0025] 본 발명에서 식물병은 저장병, 잿빛곰팡이병, 시들음병, 역병, 탄저병, 갈색잎마름병, 누른잎마른병, 잔디뿌리

병, 잘록병 또는 이삭썩음병을 포함하며, 이에 제한되지 않는다.

[0026] 본 발명에서 저장병이란 곡물, 과실, 구근, 채소류 등을 저장 및 유통할 때 병원균의 번식에 의해 발생하는 것을 의미한다.

[0027] 본 발명에서 잿빛곰팡이병(Gray mold)은 잎가장자리부터 갈색으로 변하고, 병반 주변에는 물결 모양의 주름이 생기는 식물병으로 병반에는 작고 검은 점이 나타나고, 다습하면 솜털 같은 회색 곰팡이(분생자병 또는 분생포자)가 생기는 식물병을 의미한다. 상기 잿빛곰팡이병은 어린 잎과 도장지에서 자란 잎, 어린 열매에 주로 발생하며, 수관 아랫부분과 안쪽의 잎과 같이 그늘진 잎에서 발병이 많고, 대표적인 병원균은 보트리티스 시네레아(*Botrytis cinerea*)이다.

[0028] 본 발명에서 시들음병(wilt disease)은 생육이 억제되고 아랫잎이 약간 누렇게 변하면서 떨어지고 시들다가 서서히 말라죽는 식물병이다. 상기 시들음병은 대표적인 연작장해의 원인으로 대표적인 병원균은 푸사리움 옥시스포럼(*Fusarium oxysporum*)이다.

[0029] 본 발명에서 역병이란 편모균류에 속하는 파이토프토라 속 균에 의해 일어나는 것으로, 대부분 식물의 잎, 줄기, 과실, 뿌리 등에서 발생하지만 그 발생부위와 병징은 식물과 병원균의 종류에 따라 다르게 나타난다. 상기 역병의 증상으로는 뿌리나 줄기가 감염되면 풋마름 증상이나 잘록(시들음)을 일으키고, 경엽이나 과실이 감염되면 무름과 부패 증상을 보이거나 경엽에 침윤상의 대형 반점을 형성한다. 대표적인 병원균으로는 파이토프토라 니코타이나(*Phytophthora nicotinae*), 파이토프토라 인페스탄스(*Phytophthora infestans*), 파이토프토라 캡사이시(*Phytophthora capsici*), 파이토프토라 캑토럼(*Phytophthora cactorum*), 파이토프토라 드레크슬레리(*Phytophthora drechsleri*) 등이 있다.

[0030] 본 발명에서 탄저병(anthracnose)이란 탄저병균의 감염에 의하여 생기는 식물병으로 동물의 탄저병과 구분된다. 대표적인 병원균으로는 콜레토트리쿰 글로에오스포리오이데스(*Colletotrichum gloeosporioides*), *C. acutatum, C. cocodes, C. dematium* 등이 있다.

[0031] 본 발명에서 갈색잎마름병이란 잿빛잎마름병이라고도 하며 주로 잎가장자리부터 갈색으로 변하고 건전부와 병반의 경계는 진한 갈색으로 명확하게 구분되는 식물병이다. 잎 양면 병반 위에 작고 검은 점(분생포자층)이 나타나고 다습하면 검은색 뿔 모양 분생포자덩이가 솟아오른다. 대표적인 병원균으로는 라이족토니아 솔라니(*Rhizoctonia solani*)가 있다.

[0032] 본 발명에서 잔디뿌리병이란 잔디의 뿌리가 썩는 병으로 대표적인 병원균으로는 라이족토니아 솔라니(*Rhizoctonia solani*)가 있다.

[0033] 본 발명에서 이삭썩음병이란 지베렐라 모닐리포르미스(*Gibberella moniliformis*), 푸사리움 모닐리포르메(*Fusarium moniliforme*), 지벨리아 푸지크로이(*Gibberella fujikuroi*) 등에 의해 발생하는 것으로, 주로 옥수수에서 발생한다.

[0034] 본 발명에서 식물병은 보트리티스(*Botrytis*) 속, 푸사리움(*Fusarium*) 속, 파이토프토라(*Phytophthora*) 속, 콜레토트리쿰(*Colletotrichum*) 속, 라이족토니아(*Rhizoctonia*) 속 또는 지베렐라(*Gibberella*) 속 균주에 의해 발병되는 것일 수 있으며, 바람직하게는 보트리티스 시네레아(*Botrytis cinerea*), 푸사리움 옥시스포럼(*Fusarium oxysporum*), 파이토프토라 니코타이나(*Phytophthora nicotinae*), 콜레토트리쿰 글로에오스포리오이데스(*Colletotrichum gloeosporioides*), 라이족토니아 세레알리스(*Rhizoctonia cerealis*), 라이족토니아 솔라니(*Rhizoctonia solani*) 또는 지베렐라 모닐리포르미스(*Gibberella moniliformis*)에 의해 발병되는 것일 수 있다.

[0035] 본 발명의 조성물은 캐리오란-1-올 외에 농약제제로 사용가능한 담체를 함께 사용하여 제조될 수 있다.

[0036] 상기 담체로는 통상적으로 사용되는 농약 제형으로 허용 가능한 담체이면 모두 사용할 수 있으나, 특히 동결보존제 스킴밀크(skim milk), 효모 추출물(yeast extract), PG와 전착제 SOF70, 계면활성제 TD20A, AS65D 등을 사용하는 것이 바람직하며, 이에 제한되지 않는다.

[0037] 본 발명의 조성물은 상기 담체 외에도, 부형제, 희석제를 더 포함하여 다양한 제형으로 제조되어 사용될 수 있으며, 유효성분을 식물 잎에 잘 부착되거나 토양에서 잘 분해되게 하는 코팅 응집물질을 포함할 수도 있다. 본 발명의 조성물은 액제나 유제로 제형화될 수 있으며, 통상적으로 물과 희석하여 분제로 산포되거나 미리 물과 함께 제형화되거나 수용성 수화제, 과립, 오일 현탁액으로 제형화될 수 있다. 또는 독성 완화제나 성장 조절제

등의 다른 농약 활성 화합물과의 배합물 레디 믹스(ready mix) 또는 탱크 믹스의 형태로 제조할 수도 있다.

[0038] 본 발명에 따른 유효성분은 전체 식물병 방제용 조성물에 대하여 0.001 ~ 90 중량%로 포함될 수 있고, 바람직하게는 0.01 ~ 50 중량%로 포함될 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0039] 본 발명의 식물병 방제용 조성물은 식물의 종자에 도포하는 처리, 식물의 종자를 침지시키는 처리, 식물의 재배 토양에 관주하는 처리, 식물의 재배 토양 표면에 분무하는 처리, 식물의 경엽에 살포하는 처리, 및 식물의 부상부에 접촉시키는 처리로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 방법으로 처리하는 것이 바람직하나 이에 제한되지 않는다.

[0040] 또한, 본 발명의 캐리오란-1-올은 휘발성 물질이라는 특징이 있으므로 본 발명의 식물병 방제용 조성물은 훈증제 또는 훈연제의 형태로 제조될 수 있다. 상기 훈증제 또는 훈연제는 효력증강제, 증산향상제, 분해방지제, 안정제, 물성개량제, 점착제, 증점제, 훈증완화제 등과 같은 보조제를 포함할 수 있다.

[0041] 본 발명의 식물병 방제용 조성물은 식물병 방제제, 종자 코팅제, 미생물 영양제, 토양 개량제 등의 전반적인 농약제로 사용될 수 있다.

[0043] 또한, 본 발명은 캐리오란-1-올을 식물 또는 재배 토양에 처리하는 단계를 포함하는, 식물병 방제 방법을 제공한다.

[0044] 상기 방법은 캐리오란-1-올의 유효한 비식물독성 양을 종자 처리, 잎 적용, 줄기 적용, 또는 종자, 식물 및/또는 식물의 과실 또는 식물이 생장하고 있거나 이를 생장시키고자 하는 토양 및/또는 불활성 기재(예: 유기 기재(예: 모래, 암면, 유리울, 팽창성 광물(예: 펄라이트, 질석, 제올라이트, 팽창성 점토)), 속돌, 화쇄암 물질/응회암, 합성 유기 기재(예: 폴리우레탄), 유기 기재(예: 이탄, 퇴비, 임목 폐기물(예: 코이어, 목재 섬유/칩, 나무 껍질)) 또는 액체 기재(예: 부유 수경 시스템, Nutrient Film Technique, Aeroponics)에 관주/점적(drench/drip) 적용(관개)을 통해 적용하는 것을 특징으로 한다.

[0045] 또한, 상기 식물병 방제 방법은 훈증방제방법, 즉 훈증효과가 있는 본 발명의 캐리오란-1-올을 가스나 증기상태로 밀폐된 온실 내에서 훈증시켜 병해충을 방제하는 방법일 수 있다. 상기 훈증방제방법은 밀폐도가 비교적 높은 곳에서 사용하여 농약의 손실을 줄이는 것이 바람직하다. 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 훈증방제방법에는 실리카겔과 같은 흡착성 물질이 이용될 수 있다.

[0046] 상기 "유효한 비식물독성 양"이란 표현은 작물에 존재하거나 그에 출현하기 쉬운 해충 및/또는 질병을 구제하거나 박멸하기에 충분하면서, 상기 작물에 어떤 상당한 식물 독성 증상도 수반하지 않는 양을 의미한다. 이러한 양은 퇴치 또는 구제할 해충 및 질병, 작물의 종류, 기후 조건 및 본 발명에 따른 조성물에 포함되는 화합물에 따라 광범위하게 변할 수 있다. 상기 양은 당업자들이 정할 수 있는 것으로, 조직적인 현장 실험으로 결정할 수 있다.

[0047] 상기와 같이 본 발명의 캐리오란-1-올은 식물 병원균에 대한 항균 활성이 우수한바, 방제가 필요한 식물체 또는 지역에 처리함으로써 식물병, 예를 들어 저장병, 잿빛곰팡이병, 시들음병, 역병, 탄저병, 갈색잎마름병, 누른잎마른병, 잔디뿌리병, 잘록병 또는 이삭썩음병을 방제하는데 이용될 수 있다.

[0049] 이하 본 발명의 내용을 실시예를 통하여 구체적으로 설명한다. 그러나 이들은 본 발명을 보다 상세하게 설명하기 위한 것으로 본 발명의 권리범위가 이들에 의해 한정되는 것은 아니다.

[0051] **실시예 1. 휘발성 물질의 항균 활성 검증**

[0052] 스트렙토마이세스 그리시우스 S4-7'이 분비하는 휘발성 물질의 항균 활성을 검증하기 위하여, 공지된 방법에 따라 하기와 같은 실험을 수행하였다. 본 실험에 이용된 병원균은 다음과 같다: 보트리티스 시네레아(*Botrytis cinerea*), 푸사리움 옥시스포럼(*Fusarium oxysporum*), 파이토프토라 니코타이나(*Phytophthora nicotinae*), 콜레토트리쿰 글로에오스포리오이데스(*Colletotrichum gloeosporioides*), 라이족토니아 세레알리스(*Rhizoctonia cerealis*), 라이족토니아 솔라니(*Rhizoctonia solani*), 지베렐라 모닐리포르미스(*Gibberella moniliformis*).

[0053] 10일 배양된 스트렙토마이세스 그리시우스 S4-7'의 9개의 페트리디시와 상기 병원균을 접종한 1개의 페트리디시를 밀폐용기에 같이 넣고 27℃에서 배양하였다. 이때 파이토프토라 니코타이나(*Phytophthora nicotinae*)는 V8 (V8 juice 100ml, $CaCO_3$ 1 g, Agar 17 g :1 리터 기준) 배지에서, 스트렙토마이세스 그리시우스 S4-7'과 나머지 병원균은 모두 PDK (Potato dextrose 10 g, Peptone 10 g, Agar 20 g :1 리터 기준) 배지에서 배양하였다. 다른 방선균에서도 검정하기 위해 스트렙토마이세스 바디우스 2종과 스트렙토마이세스로만 분류된 1종을 이용하여

동일한 실험을 수행하였다. 그 결과를 도 1에 나타내었다.

[0054] 도 1에 나타낸 바와 같이, 스트렙토마이세스 속 균주가 분비하는 휘발성 물질은 상기 7 종의 병원균에 대해 강력한 항균 활성을 나타냄을 확인하였다.

[0056] **실시예 2. 휘발성 물질의 저장병에 대한 항균 활성 검증**

[0057] 스트렙토마이세스 그리시우스 S4-7'이 분비하는 휘발성 물질의 저장병에 대한 항균력을 검증하기 위하여, 10일 배양된 스트렙토마이세스 그리시우스 S4-7'의 6개의 페트리디시, 습도 조절을 위한 $MgCl_2$ 이수화물 3 g 및 딸기를 밀폐용기에 넣고 관찰하였다. 저장은 실온에서 실시하였다. 그 결과를 도 2에 나타내었다.

[0058] 도 2에 나타낸 바와 같이, 스트렙토마이세스 그리시우스 S4-7'이 분비하는 휘발성 물질에 의하여 딸기 저장병이 억제됨을 확인하였다.

[0060] **실시예 3. 휘발성 물질의 수집 및 동정**

[0061] CAR/DVB/PDMS 섬유를 250℃로 30분간 가열하여 이물질을 제거하였다. 이 후 10일간 PDK에서 배양한 방선균 4종(스트렙토마이세스 그리시우스 S4-7', 스트렙토마이세스 바디우스 2종, 및 스트렙토마이세스로만 분류된 1종)을 80℃로 예열한 600 ml 플라스크에 각각 넣고, 80℃에서 30분간 가열하여 CAR/PDMS, DVB/PDMS 섬유로 30분간 휘발성 물질을 흡착시켜 추출하였다. 시마즈 GC-TQ8030을 이용하여 휘발성 물질의 성분을 분석하였다. 고정상은 DB-5ms를 사용하였으며, 이동상은 헬륨을 이용하였고, 전자충격이온화를 통하여 질량분석을 시도하였다. 그 결과를 도 3에 나타내었다.

[0062] 도 3에 나타낸 바와 같이, 방선균 4종으로부터 공통적으로 나타나는 화합물인 Geosmin 및 Caryolan-1-ol을 동정하였다.

[0064] **실시예 4. 항균 활성을 보이는 휘발성 물질의 검증**

[0065] 상기 실시예 3에서 수득한 화합물 중 항균 활성을 보이는 물질이 무엇인지를 확인하기 위하여 다음과 같은 실험을 수행하였다. 600ml 챔버 안에 10일 이상 PDK에서 배양한 스트렙토마이세스 그리시우스 20 페트리디쉬를 넣고 활성탄으로 거른 공기를 60ml/min으로 불어넣었다. 6 L 플라스크의 파이프를 통해 나오는 휘발성 물질을 합성섬유인 'super Q 100' 200 mg에 흡착시켜 7일간 모았다. 이 과정을 3회 반복하여 모은 휘발성 물질을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피를 통하여 주성분이 Geosmin인 혼합물A 0.3 mg과 주성분이 Caryolan-1-ol인 혼합물B 1 mg을 얻었다. 보트리티스 시네레아(Botrytis cinerea)의 균사체를 반지름 2 mm로 잘라 PDA 배지에 접종하고, 페트리디시의 뚜껑에 페이퍼디스크를 올려둔 뒤 혼합물 A와 B를 아세톤 100 μl에 전부 녹여 양을 달리하여 처리하였다. 아세톤 처리구에 대한 비율을 다음과 같은 식으로 구하였으며, 그 결과를 도 4에 나타내었다.

[0066] $$\frac{\text{균사체길이} - 2mm}{\text{아세톤처리구길이} - 2mm}$$

[0067] 도 4에 나타낸 바와 같이, Geosmin이 포함된 혼합물A 보다 Caryolan-1-ol이 포함된 혼합물B가 강한 항균 활성을 보임을 확인하였다. 이를 통해, 방선균이 분비하는 휘발성 물질 중에서 캐리오란-1-올(caryolan-1-ol)이 항균 활성을 나타내는 활성 성분임을 확인하였다.

[0069] **실시예 5. 캐리오란-1-올(caryolan-1-ol)의 항균력 검정**

[0070] 상기 실시예 4의 결과를 재검증하기 위한 실험을 다음과 같이 수행하였다.

[0072] **5-1. 캐리오란-1-올(caryolan-1-ol)의 합성**

[0073] 먼저, 캐리오란-1-올(caryolan-1-ol)을 합성하기 위해 하기와 같은 실험을 수행하였다. 100 ml의 아세트산에 β-카리오필렌 3 g과 뷰틸레이트하이드록시톨루엔을 함께 용존시켜 용액을 만들었다. 이 용액을 강산성 양이온 교환수지인 Amberlyst-15에 2-3 mL/min의 속도로 2번 통과시킨 뒤 에테르로 희석시켰다. 상기 용액을 2N 수산화소듐 용액으로 5번 씻어내고 용매를 실리카겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하였다 (수율 45%, 순도 53%). 이를 프랙션콜랙터를 이용하여 순도 94%의 캐리오란-1-올(caryolan-1-ol) 100 mg을 수득하였다. Bruker DRX-500를 이용하여 ^{1}H, ^{13}C 핵자기공명 분석을 통해 합성된 화합물이 캐리오란-1-올(caryolan-1-ol)임을 확인하였다.

[0074] 추가적으로, 고상미량추출한 스트렙토마이세스 그리시우스 유래 휘발성 물질과 상기 과정을 통해 합성한 캐리오란-1-올(caryolan-1-ol)의 동일성을 가스크로마토그래피로 분석하였다. Shimazu 사의 가스크로마토그래피 모델인 GC2010과 질량분석기 QP2010plus를 이용하였다. 고정상은 HP-Innowax, 온도는 250℃, 이동상은 헬륨을 이용

하였다. 그 결과를 도 5에 나타내었다.

[0075] 도 5에 나타낸 바와 같이, 고상미량추출한 스트렙토마이세스 그리시우스 유래 휘발성 물질과 합성한 물질의 머무름 시간이 같고, 질량 분석 스펙트럼도 동일하여 양 물질이 같은 화합물인 캐리오란-1-올(caryolan-1-ol)임을 확인하였다.

[0077] **5-2. 캐리오란-1-올(caryolan-1-ol)의 항균 활성 확인**

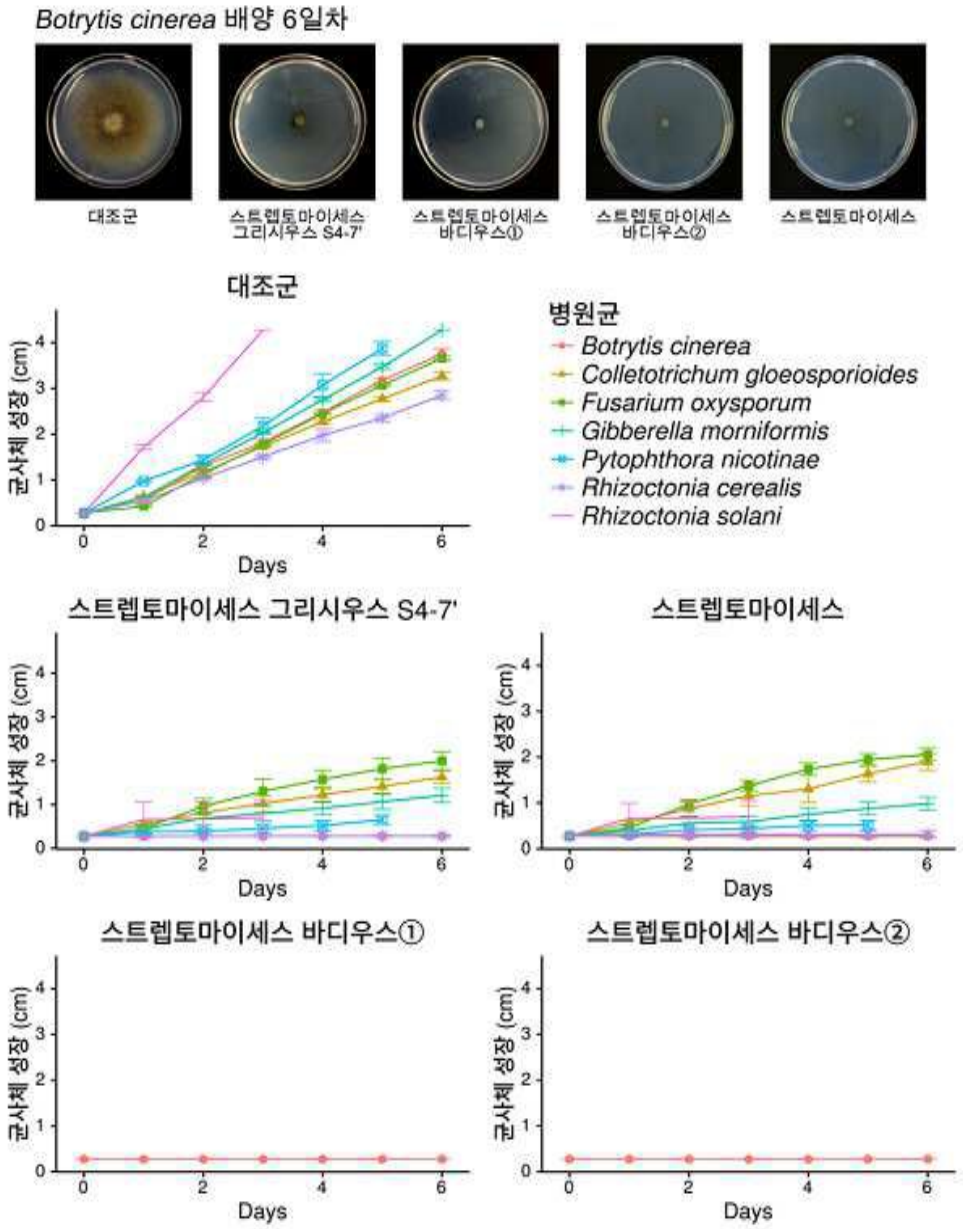
[0078] 다음으로, 합성한 캐리오란-1-올(caryolan-1-ol)의 항균 활성을 검증하기 위하여, 60 ㎜ 페트리디쉬에 12ml의 공간이 남도록 PDA(Potato starch 4 g, dextrose 20 g, Agar 20 g :1 리터 기준)배지를 만들고 보트리티스 시네레아(*Botrytis cinerea*)를 반지름 2 ㎜로 접종하였다. 캐리오란-1-올(caryolan-1-ol)이 완전히 기체상태가 되었을 때의 농도를 기준으로, 캐리오란-1-올(caryolan-1-ol)을 아세톤에 녹인 뒤 뚜껑에 올려놓은 페이퍼디스크에 10 ㎕씩 처리하였다. 밀봉한 뒤 27℃에서 배양하며 4일 동안 균사의 성장속도를 측정하였고, 아세톤 처리구에 대한 성장비율을 구하였다. 그 결과를 도 6에 나타내었다.

[0079] 도 6에 나타낸 바와 같이, 캐리오란-1-올(caryolan-1-ol)은 농도에 비례하여 식물 병원균인 보트리티스 시네레아(*Botrytis cinerea*)의 성장을 현저하게 억제함을 확인하였다.

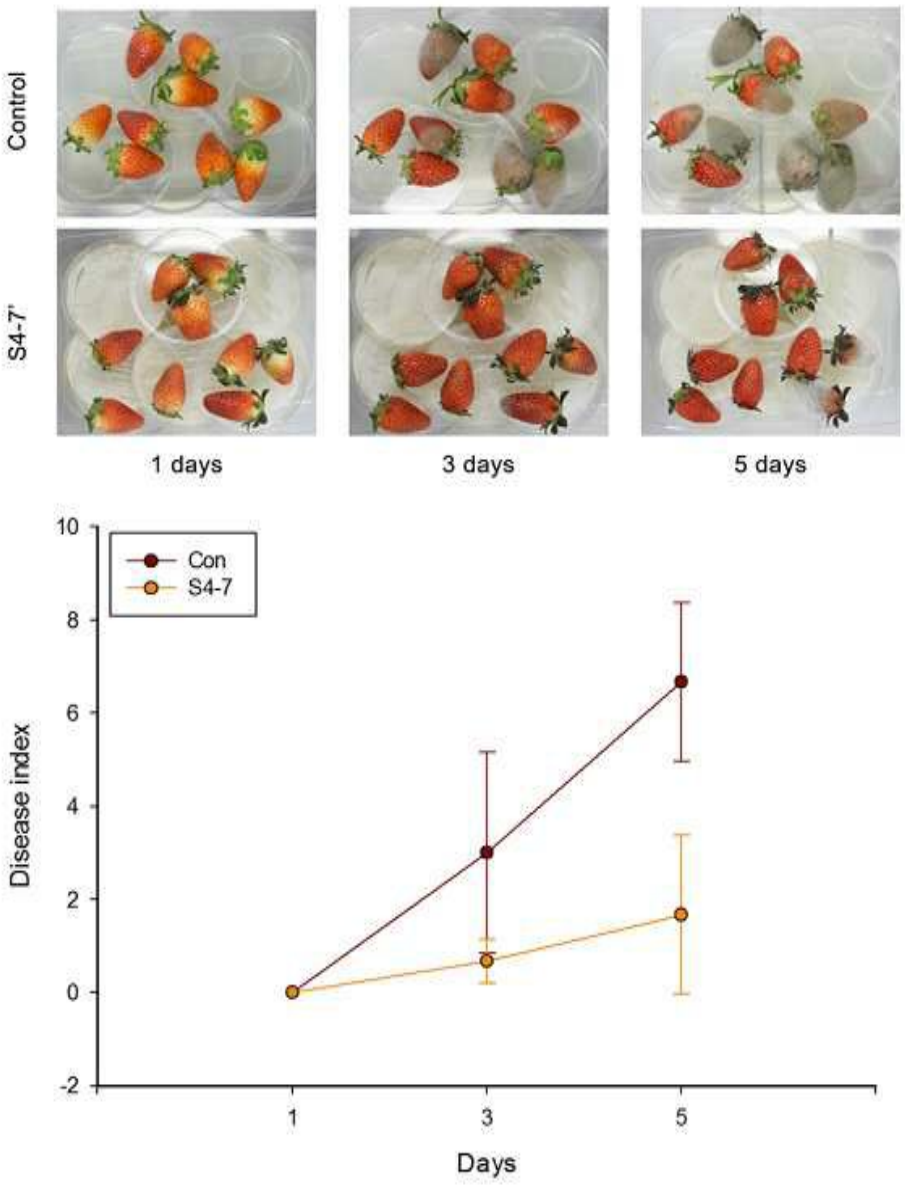
[0081] 상기한 바와 같이, 본 발명에 따른 스트렙토마이세스 속 균주로부터 분리된 휘발성 물질인 캐리오란-1-올(caryolan-1-ol)은 보트리티스 시네레아, 푸사리움 옥시스포럼, 파이토프토라 니코타이나, 콜레토트리쿰 글로에오스포리오이데스, 라이족토니아 세레알리스, 라이족토니아 솔라니 및 지베렐라 모닐리포르미스 등을 포함하는 다양한 식물 병원균에 대해 우수한 항균 효과를 가지고 있으며, 저장병의 억제 및 제초 활성을 가지고 있는바, 항균용 조성물 및 식물병 방제용 조성물 등으로 유용하게 사용될 수 있다.

도면

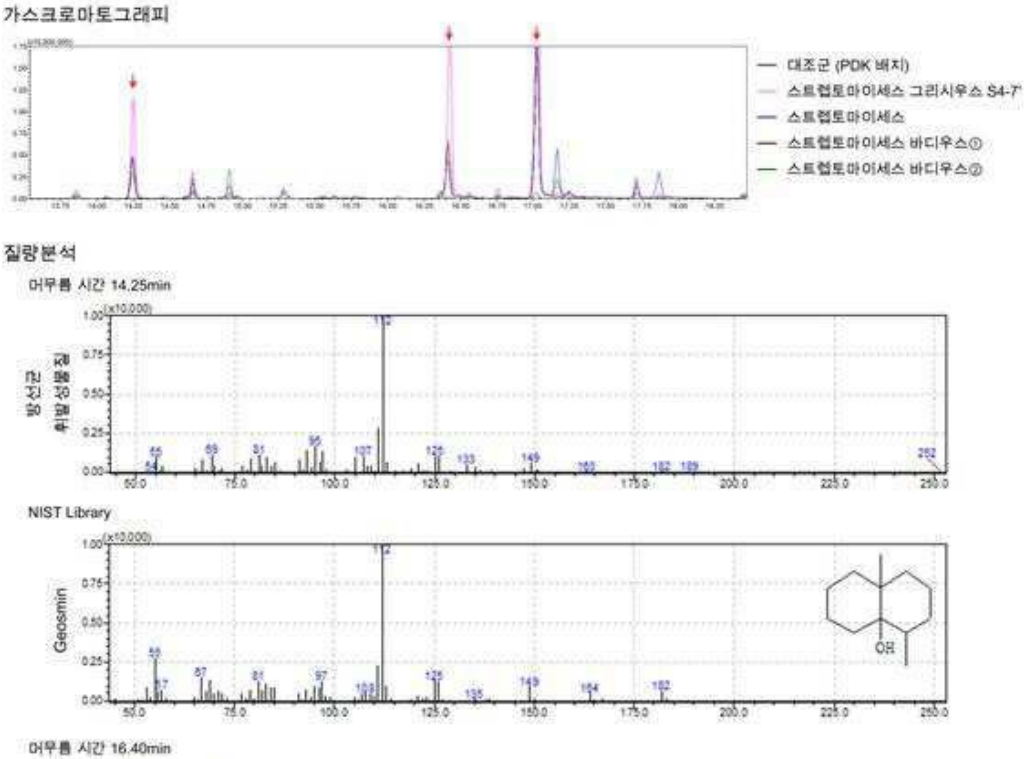
도면1


Botrytis cinerea 배양 6일차
대조군
스트렙토마이세스 그리시우스 S4-7'
스트렙토마이세스 바디우스①
스트렙토마이세스 바디우스②
스트렙토마이세스
대조군
병원균
Botrytis cinerea
Colletotrichum gloeosporioides
Fusarium oxysporum
Gibberella morniformis
Pytophthora nicotinae
Rhizoctonia cerealis
Rhizoctonia solani
스트렙토마이세스 그리시우스 S4-7'
스트렙토마이세스
스트렙토마이세스 바디우스①
스트렙토마이세스 바디우스②
균사체 성장 (cm)
Days

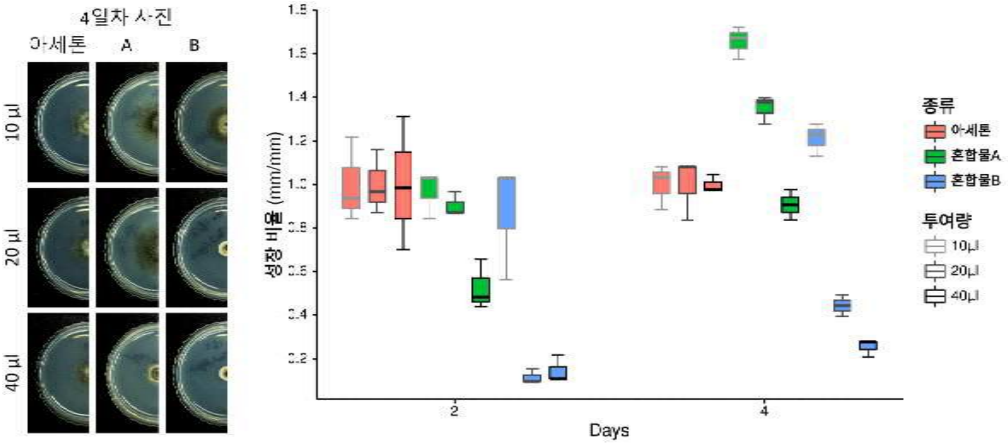
도면2


Control
S4-7'
1 days
3 days
5 days
Con
S4-7
Disease index
10
8
6
4
2
0
-2
1
3
5
Days

도면3

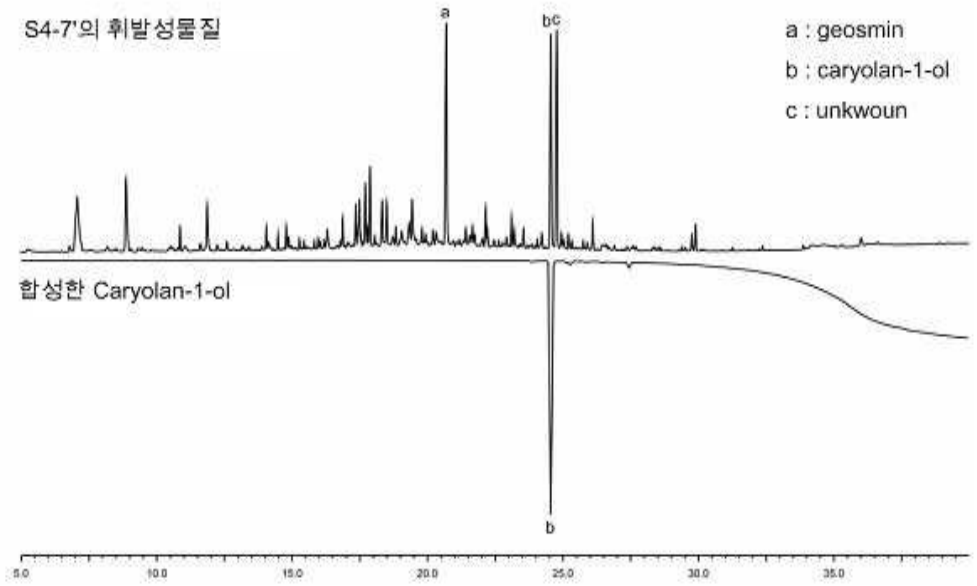

가스크로마토그래피
대조군 (PDK 배지)
스트렙토마이세스 그리시우스 S4-7
스트렙토마이세스
스트렙토마이세스 바디우스①
스트렙토마이세스 바디우스②
질량분석
머무름 시간 14.25min
방선균 휘발성물질
NIST Library
Geosmin
OH
머무름 시간 16.40min
방선균 휘발성물질
Nakano C at al, Characterization of a novel sesquiterpene cyclase involved in (+)-caryolan-1-ol biosynthesis in Streptomyces griseus., J. Biol Chem. 2011
Caryolan-1-ol
authentic
(+)-caryolan-1-ol
Relative abundance [%]
OH

도면4

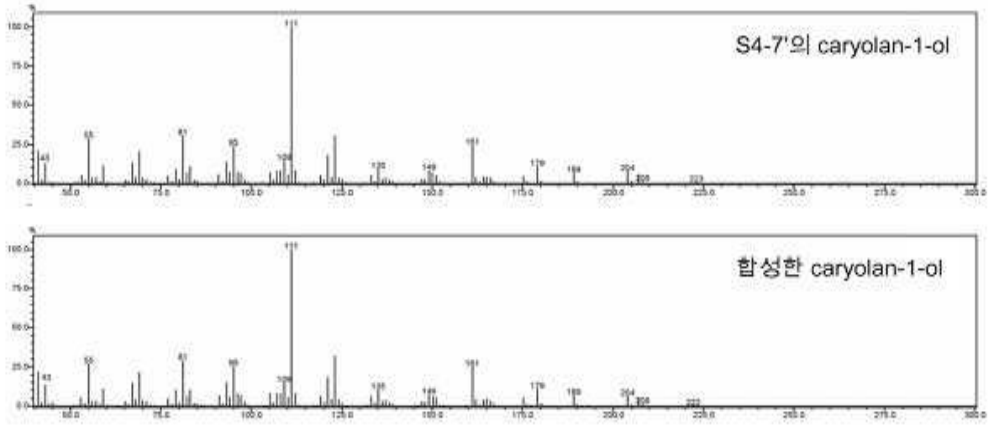

4일차 사진
아세톤
A
B
10 μl
20 μl
40 μl
생장 비율 (mm/mm)
Days
종류
아세톤
혼합물A
혼합물B
투여량
10μl
20μl
40μl

도면5

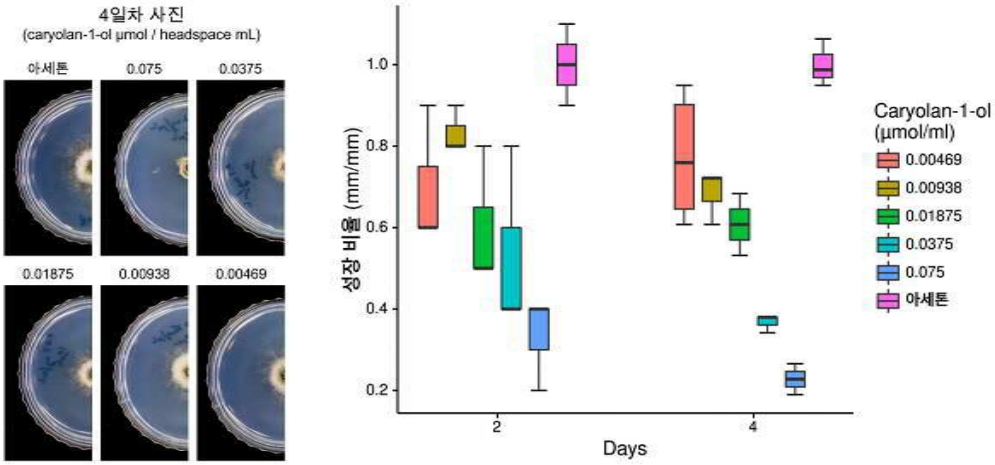
가스크로마토 그래피



질량분석 (머무름 시간 24min)



도면6


4일차 사진
(caryolan-1-ol μmol / headspace mL)
아세톤
0.075
0.0375
0.01875
0.00938
0.00469
성장 비율 (mm/mm)
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
2
4
Days
Caryolan-1-ol
(μmol/ml)
0.00469
0.00938
0.01875
0.0375
0.075
아세톤