

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구  
국제사무국

(43) 국제공개일  
2016년 6월 2일 (02.06.2016)



(10) 국제공개번호  
**WO 2016/085039 A1**

- (51) 국제특허분류:  
C12N 1/00 (2006.01) C12N 1/20 (2006.01)  
C12N 1/16 (2006.01) C12R 1/225 (2006.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2015/001201
- (22) 국제출원일: 2015년 2월 5일 (05.02.2015)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보:  
10-2014-0168369 2014년 11월 28일 (28.11.2014) KR
- (71) 출원인: (주) 농예가 (NONGYEGA CO., LTD.)  
[KR/KR]; 320-836 충청남도 논산시 연무읍 감바위로  
56, Chungcheongnam-do (KR). 충남대학교산학협력단  
(THE INDUSTRY AND ACADEMIC COOPERA-  
TION IN CHUNGNAM NATIONAL UNIVERSITY)  
[KR/KR]; 305-764 대전시 유성구 대학로 99, Daejeon  
(KR).
- (72) 발명자: 박기웅 (PARK, Kee-Woong); 305-761 대전시  
유성구 엑스포로 448 엑스포아파트 204 동 1202 호,  
Daejeon (KR). 염영호 (YEOM, Young-Ho); 305-761 대  
전시 유성구 엑스포로 448 엑스포아파트 102 동 306

호, Daejeon (KR). 조재철 (CHO, Jae-Chul); 305-308 대  
전시 유성구 장대로 71 번길 34 장대푸르지오아파트  
103 동 904 호, Daejeon (KR).

(74) 대리인: 최규환 (CHOI, Kyu Whan); 302-868 대전시 서  
구 한밭대로 745, 12 층 그린국제특허법률사무소, Dae-  
jeon (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, DK, DM, DO,  
DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN,  
HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, 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,

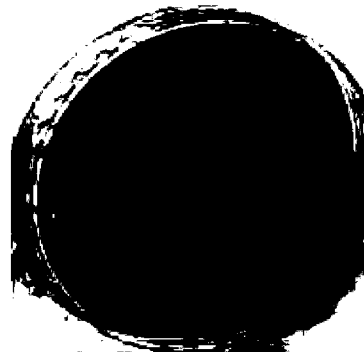
[다음 쪽 계속]

(54) Title: MIXED STRAINS FOR INHIBITING SEED GERMINATION OF PLANT, AND USE THEREOF AS HERBICIDE

(54) 발명의 명칭: 식물의 종자 발아 억제용 혼합 균주 및 제초제로서의 이의 용도



무처리  
AA



농도 25  
BB

AA ... Non-treatment  
BB ... Concentration 25

(57) Abstract: The present invention provides mixed strains for inhibiting seed germination of a weed plant consisting of *Lactoba-*  
*cillus* strains and yeast strains; a herbicide comprising the mixed strains, a culture of the strains or a concentrate of the culture fluid  
of the strains and agrochemically acceptable carriers; a preparation method of the herbicide comprising a step of culturing the mixed  
strains; and a method for removing weeds by treating soil with the mixed strains, the culture of the strains or the concentrate of the  
culture fluid of the strains.

(57) 요약서:

[다음 쪽 계속]



WO 2016/085039 A1



MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, 공개:  
TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW,  
KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

- 국제조사보고서와 함께 (조약 제 21 조(3))
- 명세서의 서열목록 부분과 함께 (규칙 5.2(a))

본 발명은 유산균 균주 및 효모 균주로 이루어진 잡초 식물의 종자 발아 억제용 혼합 균주, 상기 혼합 균주, 상기 균주의 배양물 또는 상기 균주의 배양액의 농축액과 농약학적으로 허용가능한 담체를 포함하는 것을 특징으로 하는 제조제, 상기 혼합 균주를 배양하는 단계를 포함하는 제조제의 제조 방법, 상기 혼합 균주, 상기 균주의 배양물 또는 상기 균주의 배양액의 농축액을 토양에 처리하여 잡초를 제거하는 방법을 제공한다.

## 명세서

# 발명의 명칭: 식물의 종자 발아 억제용 혼합 균주 및 제초제로서의 이의 용도

### 기술분야

- [1] 본 발명은 식물의 종자 발아 억제용 혼합 균주 및 제초제로서의 이의 용도에 관한 것으로, 더욱 상세하게는 유산균 균주 및 효모 균주로 이루어진 잡초 식물의 종자 발아 억제용 혼합 균주, 상기 혼합 균주, 상기 균주의 배양물 또는 상기 균주의 배양액의 농축액과 농약학적으로 허용가능한 담체를 포함하는 것을 특징으로 하는 제초제, 상기 혼합 균주를 배양하는 단계를 포함하는 제초제의 제조 방법, 상기 혼합 균주, 상기 균주의 배양물 또는 상기 균주의 배양액의 농축액을 토양에 처리하여 잡초를 제거하는 방법에 관한 것이다.

### 배경기술

- [2] 농업 생태계에서 잡초 종은 대단히 종류가 많고 그 피해는 막대하다. 잡초는 작물의 생장에 필수적인 수분, 영양분, 그리고 태양광선을 작물과 경쟁함으로써 작물의 질과 수량을 저하시켜 작물생산성을 떨어뜨리는 중요한 제한요인이 되고 있다. 현재 잡초방제를 위하여 여러 종류의 유기합성 제초제가 사용되고 있음에도 불구하고 잡초에 의한 작물의 생산 손실은 여전히 많은데, 이는 제초제의 지속적 사용에 따른 잡초군락의 생태학적 변화와 제초제에 대한 내성이 유발될 수 있기 때문이다. 지금까지 잡초방제를 위해 유기합성 제초제 즉 발아억제제 또는 경엽처리제의 다량 사용에 따른 환경오염 및 인축독성 문제가 매우 심각하므로 저독성이고 환경에 친화적인 새로운 미생물 제초제의 개발이 요구되어왔다.
- [3] 이러한 미생물 제초제는 기존의 합성제초제를 대체할 수 있는 자연친화적인 방제법으로 받아들여지고 있으며, 최근에는 잡초방제를 위해 미생물 유래의 식물독소(phytotoxins)를 응용한 연구가 많이 이루어지고 있다.
- [4] 한편, 한국공개특허 제2004-0034764호에서는 신균주 스트렙토마이세스 속 8 E 1 2 및 이를 이용한 제초제가 개시되어 있고, 한국공개특허 제2009-0005917호에서는 종자 발아 억제 조성물 및 그 생산방법이 개시되어 있으나, 본 발명에서와 같이, '식물의 종자 발아 억제용 혼합 균주 및 제초제로서의 이의 용도'에 대해서는 밝혀진 바가 전혀 없다.

### 발명의 상세한 설명

#### 기술적 과제

- [5] 본 발명은 상기와 같은 요구에 의해 도출된 것으로서, 본 발명자는 식물에 처리하는 미생물 영양제를 식물 종자에 처리한 결과, 발아가 억제되는 것을 확인한 후, 상기 미생물 영양제로부터 4종의 락토바실러스 속 균주와 4종의 효모를 순수분리하였다. 이 균주들 중, 락토바실러스 브레비스 LBV-61 균주,

락토바실러스 플란타륨 아종 플란타륨 LPT30 균주 및 토룰라스포라 델브루에키 TDB-34 균주로 이루어진 혼합 균주의 배양액인 DAG-A 배양액과 락토바실러스 파라카제이 아종 톨러란스 LPC63 균주, 락토바실러스 부크네리 LBN62 균주, 피치아 쿠드리아브제비 PKD-51 균주 및 지고사카로마이세스 바일리 ZBA-22 균주로 이루어진 혼합 균주의 배양액인 DAG-B 배양액을 잡초 식물인 피, 바랭이, 털비름, 개망초 및 어저귀 식물의 종자에 각각 처리한 결과, 다른 락토바실러스 속 균주와 효모 균주를 혼합하여 배양한 배양액을 처리한 경우보다 각 잡초 식물 종자의 발아가 현저히 억제되는 것을 확인하였다. 이를 통해, 본 발명의 2세트의 혼합 균주 각각은 잡초 식물 종자의 발아를 억제하여 제초제로 매우 효과적으로 사용될 수 있는 점을 확인함으로써, 본 발명을 완성하였다.

### 과제 해결 수단

- [6] 상기 과제를 해결하기 위해, 본 발명은 유산균 균주 및 효모 균주로 이루어진 잡초 식물의 종자 발아 억제를 혼합 균주를 제공한다.
- [7] 또한, 본 발명은 상기 혼합 균주, 상기 균주의 배양물 또는 상기 균주의 배양액의 농축액과 농약학적으로 허용가능한 담체를 포함하는 것을 특징으로 하는 제초제를 제공한다.
- [8] 또한, 본 발명은 상기 혼합 균주를 배양하는 단계를 포함하는 제초제의 제조 방법을 제공한다.
- [9] 또한, 본 발명은 상기 혼합 균주, 상기 균주의 배양물 또는 상기 균주의 배양액의 농축액을 토양에 처리하여 잡초를 제거하는 방법을 제공한다.

### 발명의 효과

- [10] 본 발명에서는 유산균 균주 및 효모 균주로 이루어진 2세트의 혼합 균주 배양액 각각이 잡초 식물 종자의 발아를 억제함으로써 잡초 식물의 제초 효과가 우수한 점을 확인하였다. 따라서, 본 발명의 혼합 균주를 유효성분으로 함유하는 제초제는 친환경형 생물농약제로 널리 유용하게 사용될 수 있을 것이다.

### 도면의 간단한 설명

- [11] 도 1은 DAG-A 처리 1주일 후 피 잡초 식물 종자의 발아모습을 나타낸다(왼쪽의 무처리는 DAG-A 무처리, 오른쪽의 25는 DAG-A 배양액을 1/4 희석하여 처리).
- [12] 도 2는 DAG-B 처리 1주일 후 바랭이 잡초 식물 종자의 발아모습을 나타낸다(왼쪽의 무처리는 DAG-B 무처리, 오른쪽의 12.5는 DAG-B 배양액을 1/8 희석하여 처리).
- [13] 도 3은 DAG-A 처리 1주일 후 털비름 잡초 식물 종자의 발아모습을 나타낸다(왼쪽의 무처리는 DAG-A 무처리, 오른쪽의 12.5는 DAG-A 배양액을 1/8 희석하여 처리).
- [14] 도 4는 DAG-A 처리 1주일 후 개망초 잡초 식물 종자의 발아모습을

나타낸다(왼쪽의 무처리구는 DAG-A 무처리, 오른쪽의 12.5는 DAG-A 배양액을 1/8 희석하여 처리).

- [15] 도 5는 DAG-A 처리 1주일 후 어저귀 잡초 식물 종자의 발아모습을 나타낸다(왼쪽의 무처리구는 DAG-A 무처리, 오른쪽의 3.13은 DAG-A 배양액을 1/32 희석하여 처리).

- [16] 도 6은 모내기 2주 후 혼합 균주 배양액 무처리구 좌측논과 처리구 우측논의 모습을 나타낸다(B와 C는 혼합 균주 배양액 무처리구 좌측논(B)과 처리구 우측논(C)를 확대한 것임).

### 발명의 실시를 위한 최선의 형태

- [17] 본 발명의 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 유산균 균주 및 효모 균주로 이루어진 잡초 식물의 종자 발아 억제용 혼합 균주를 제공한다.

- [18] 본 발명의 일 구현 예에 따른 혼합 균주에서, 상기 유산균 균주는 락토바실러스 속(*Lactobacillus* sp.) 균주일 수 있고, 바람직하게는 락토바실러스 플란타룸 아종 플란타룸 LPT30(*Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum* LPT30) 균주(KCTC 12710BP), 락토바실러스 브레비스 LBV-61(*Lactobacillus brevis* LBV-61) 균주(KCTC 12711BP), 락토바실러스 부크네리 LBN62(*Lactobacillus buchneri* LBN62) 균주(KCTC 12712BP) 및 락토바실러스 파라카제이 아종 톨러란스 LPC63(*Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans* LPC63) 균주(KCTC 12713BP)로 이루어진 균으로부터 선택되는 하나 이상의 균주일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

- [19] 본 발명의 일 구현 예에 따른 혼합 균주에서, 상기 효모 균주는 피치아 쿠드리아브제비 PKD-51(*Pichia kudriavzevii* PKD-51) 균주(KCTC 12714BP), 토룰라스포라 델브루에키 TDB-34(*Torulaspora delbrueckii* TDB-34) 균주(KCTC 12715BP), 지고사카로마이세스 바일리 ZBA-22(*Zygosaccharomyces bailii* ZBA-22) 균주(KCTC 12716BP) 및 지고사카로마이세스 비스포러스 ZBP-52(*Zygosaccharomyces bisporus* ZBP-52) 균주(KCTC 12717BP)로 이루어진 균으로부터 선택되는 하나 이상의 균주일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

- [20] 상기 4종의 락토바실러스 속 균주와 4종의 효모 균주는 2014년 11월 13일자로 한국생명공학연구원에 각각 기탁하였다. 기탁 번호는 각 균주명 뒤에 괄호 안에 표기한 바와 같다.

- [21] 본 발명의 일 구현 예에 따른 혼합 균주에서, 상기 혼합 균주는 바람직하게는 락토바실러스 브레비스 LBV-61(*Lactobacillus brevis* LBV-61) 균주(KCTC 12711BP), 락토바실러스 플란타룸 아종 플란타룸 LPT30(*Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum* LPT30) 균주(KCTC 12710BP) 및 토룰라스포라 델브루에키 TDB-34(*Torulaspora delbrueckii* TDB-34) 균주(KCTC 12715BP)로 이루어질 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

- [22] 본 발명의 일 구현 예에 따른 혼합 균주에서, 상기 혼합 균주는 바람직하게는

락토바실러스 파라카제이 아종 톨러란스 LPC63(*Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans* LPC63) 균주(KCTC 12713BP), 락토바실러스 부크네리 LBN62(*Lactobacillus buchneri* LBN62) 균주(KCTC 12712BP), 피치아 쿠드리야브제비 PKD-51(*Pichia kudriavzevii* PKD-51) 균주(KCTC 12714BP) 및 지고사카로마이세스 바일리 ZBA-22(*Zygosaccharomyces bailii* ZBA-22) 균주(KCTC 12716BP)로 이루어질 수 있고, 또는 락토바실러스 파라카제이 아종 톨러란스 LPC63(*Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans* LPC63) 균주(KCTC 12713BP), 락토바실러스 부크네리 LBN62(*Lactobacillus buchneri* LBN62) 균주(KCTC 12712BP), 피치아 쿠드리야브제비 PKD-51(*Pichia kudriavzevii* PKD-51) 균주(KCTC 12714BP) 및 지고사카로마이세스 비스포러스 ZBP-52(*Zygosaccharomyces bisporus* ZBP-52) 균주(KCTC 12717BP)로 이루어질 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

- [23] 본 발명의 일 구현 예에 따른 혼합 균주에서, 상기 잡초 식물은 일년생의 잡초 식물로, 화본과 잡초 또는 광엽 잡초일 수 있으며, 바람직하게는 피, 바랭이, 털비름, 개망초 및 어저귀로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 잡초 식물일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [24] 특히, 경작예정지의 토양을 경운할 때 미리 시용하므로 시기적으로 재배하고자 하는 특정 작물의 종자의 발아에는 영향을 주지 않으며, 일반적으로 종자회사에서 공급하는 코팅종자를 사용하는 경우에는 더욱 그러하다.
- [25] 본 발명의 혼합 균주는 상기한 피, 바랭이, 털비름, 개망초 및 어저귀 이외에도 일년생의 잡초 식물 종자면 어느 것이나 발아 억제 활성을 나타낼 수 있다. 특히, 재배하고자 하는 특정 작물 종자의 경우, 일반적으로 종자 회사에서 이미 종자 코팅 등의 작업을 통해, 병해충 방제 처리를 수행하였으므로, 본 발명의 혼합 균주를 처리하더라도 잡초 식물 종자 특이적으로 발아 억제 활성을 나타낼 수 있는 것이다.
- [26] 또한, 본 발명은 상기 혼합 균주, 상기 균주의 배양물 또는 상기 균주의 배양액의 농축액과 농약학적으로 허용가능한 담체를 포함하는 것을 특징으로 하는 제초제를 제공한다. 이러한 담체는 특별히 제한되지 않으며, 약제학적으로 또는 영양학적으로 허용되는 담체 및 희석제 중에서 선택된다.
- [27] 본 발명의 균주를 배양하는 단계에서 얻어지는 상기 균주 또는 상기 균주의 배양물 또는 상기 균주의 배양액의 농축액을 첨가물로 사용할 경우, 상기 균주 또는 상기 균주의 배양물 또는 상기 균주의 배양액의 농축액을 그대로 첨가하거나 다른 첨가제를 함께 사용할 수 있으며, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 유효 성분의 혼합량은 그의 사용 목적에 따라 적합하게 결정될 수 있다. 바람직하게는 첨가제는 당밀 및 토마토 과즙으로 이루어진 상기 균주의 영양제일 수 있는데, 가장 바람직하게는 당밀(Brix 79.8°) 500g, 토마토 과즙 50g을 물 1리터에 용해하여 제조한 미생물 영양제일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

- [28] 또한, 본 발명은 상기 혼합 균주를 배양하는 단계를 포함하는 제조제의 제조 방법을 제공한다.
- [29] 본 발명의 균주를 배양하는 방법은 당업계에 통상적으로 이용되는 방법에 따라 배양할 수 있다.
- [30] 또한, 본 발명은 상기 혼합 균주, 상기 균주의 배양물 또는 상기 균주의 배양액의 농축액을 토양에 처리하여 잡초를 제거하는 방법을 제공한다.
- [31]
- [32] 이하 본 발명을 하기 실시예에 의하여 더욱 상세하게 설명하고자 한다. 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하기 위한 것일 뿐, 본 발명의 범위가 이들만으로 한정되는 것은 아니다.
- [33]
- [34] 재료 및 방법
- [35] 균주의 분리 및 동정
- [36] 원예작물 경작지에 시용했던 미생물 영양제를 생리식염수로 희석한 다음, 그 현탁액 0.1ml를 비씨피 배지(BCP, Eiken사의 BCP Plate Count Agar Plate)와 피디에이 배지(PDA, Difco사의 Bacto Potato Dextrose Agar Plate) 상에 각각 도말하고, BCP는 37°C, PDA는 30°C에서 배양하면서 생육하는 콜로니를 관찰하였다. BCP에서 콜로니주변을 노란색으로 변색시키는 콜로니를 채취하여 다시 BCP에서 계대 배양함으로써 유산균을 분리하였으며, 한편 PDA에서 생육한 콜로니를 계대 배양하여 효모를 분리하였다.
- [37] 유산균은 16S rDNA 서열에 따라 계통학적으로 분류하였다. 엠알에스 배지(MRS, Difco사의 Bacto Lactobacilli MRS Agar Plate)에서 37°C, 72시간 배양한 균체로부터 DNA를 추출하였으며, 이를 PCR (프라이머: 27F, 5'-AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG-3'(서열번호 9) 및 1492R, 5'-GGT TAC CTT GTT ACG ACT T-3'(서열번호 10)/ 30 cycles: 95°C 15 min, 95°C 20 sec, 55°C 40 sec, 72°C 1 min 30 sec, 72°C 5 min, 그 후 10°C 무한)로 증폭시켜 정제하고 DNA분석기 ABI 3730XL(Applied Biosystems)을 사용하여 염기서열을 분석한 다음, CLUSTAL X (Thomson *et al.*, 1994) 및 MEGA 프로그램으로 계통학적 위치를 확인하였다.
- [38] 한편 효모는 18S rDNA 서열에 따라 분류하였다. 즉 PDA에서 30°C, 48시간 배양한 균체로부터 DNA를 추출하였으며, 이를 PCR (프라이머: ITS1, 5'-TCC GTA GGT GAA CCT GCG G-3'(서열번호 11) 및 ITS4, 5'-TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC-3'(서열번호 12)/ 30 cycles: 95°C 15 min, 95°C 20 sec, 55°C 40 sec, 72°C 1 min 30 sec, 72°C 5 min, 그 후 10°C 무한)로 증폭시켜 정제하고 위와 같은 방법으로 염기서열을 분석한 다음, 계통학적 위치를 확인하였다.
- [39]
- [40] 미생물의 배양방법
- [41] 유산균류는 각각 엠알에스(MRS, Difco사의 Bacto Lactobacilli MRS Broth) 배지에 접종하여 32°C에서 96~120 시간 정치 배양하여 생균수  $10^8$  c.f.u. ml<sup>-1</sup>

수준의 전배양액을 얻었다. 효모류는 각각 피디비(PDB, Difco사의 Bacto Potato Dextrose Broth) 배지에 접종하여 30°C에서 48~72 시간 진탕배양하여 생균수  $10^8$  c.f.u. ml<sup>-1</sup> 수준의 전배양액을 얻었다. 앞에서 얻은 각 균주의 전배양액을 당밀 배지(Molasses Broth)에 각각 0.5%씩 접종하고, 24±2°C에서 4~6주간 정치배양하여 본 배양을 수행하였다. 본배양을 위한 당밀 배지는 효모추출물 5g, 당밀(Brix 79.8°) 50g, 토마토 과즙 10g을 물 1리터에 용해하여 제조하였다(pH 6.5±0.2, 25°C).

[42]

[43] 배양액의 회수

[44] 배양기간 중 미생물의 생균수는 소장하여 배양 초기에 상승하고 중기 이후에 감소하였으며, 유산균류의 생균수에 비하여 효모류의 생균수는 항상 낮았다. 배양후기의 생균수는 유산균류  $10^6$  cfu/ml 수준, 효모류  $10^4$  cfu/ml 수준이었다. 배양기간 중 배양액의 pH는 pH 6.5로부터 점차적으로 감소하여 말기에 이르러 pH 3.2~4.2 범위에 도달하였다.

[45]

[46] 혼합배양액 DAG-A 및 DAG-B의 제조

[47] 먼저 전술한 미생물의 배양방법에 따라 락토바실러스 브레비스 LBV-61(*Lactobacillus brevis* LBV-61) 균주(KCTC 12711BP) 및 락토바실러스 플란타룸 아종 플란타룸 LPT30(*Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum* LPT30) 균주(KCTC 12710BP)를 각각 엠알에스 배지에서 120 시간 정치 배양하고, 토룰라스포라 델브루에키 TDB-34(*Torulaspora delbrueckii* TDB-34) 균주(KCTC 12715BP)를 피디비 배지에서 60 시간 진탕 배양하였다. 여기서 얻은 배양액을 당밀 배지에 각각 0.5%씩 접종하고 다시 6주간 정치 배양하였으며, 이로부터 혼합배양액 DAG-A를 회수하였다.

[48] 락토바실러스 파라카제이 아종 톨러란스 LPC63(*Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans* LPC63) 균주(KCTC 12713BP) 및 락토바실러스 부크네리 LBN62(*Lactobacillus buchneri* LBN62) 균주(KCTC 12712BP)를 각각 엠알에스 배지에서 120 시간 정치 배양하고, 피치아 쿠드리야브제비 PKD-51(*Pichia kudriavzevii* PKD-51) 균주(KCTC 12714BP), 지고사카로마이세스 바일리 ZBA-22(*Zygosaccharomyces bailii* ZBA-22) 균주(KCTC 12716BP) 또는 지고사카로마이세스 비스포러스 ZBP-52(*Zygosaccharomyces bisporus* ZBP-52) 균주(KCTC 12717BP)를 피디비 배지에서 60 시간 진탕 배양하였다. 여기서 얻은 배양액을 당밀 배지에 각각 0.5%씩 접종하고 다시 6주간 정치 배양하였으며, 이로부터 혼합배양액 DAG-B를 회수하였다.

[49]

[50] 발아 억제 활성의 측정

[51] 대상 잡초 식물 종자로 화본과 잡초로서 피, 바랭이, 광엽 잡초로서는 털비름, 개망초, 어저귀의 종자를 대상으로 하였다. 처리농도는 시험 약제 즉 배양액

원액을 100으로 기준하고, 이를 1/2배씩 희석하여 사용하였다. 즉 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.13, 1.56, 0.78, 0.39, 0.20, 0.10, 0.05 등으로 순차희석하여 시험하였다. 60×15mm 패트리디쉬에 55mm 여지 2장을 깔고 잡초종자를 10-20개 치상 후 혼합배양액을 농도별로 5ml씩 처리하였으며, 배양액 대신에 증류수 5ml를 처리하여 대조시험(무처리구) 하였다. 패트리디쉬는 파라필름으로 밀봉한 다음 성장상에 넣고 보관하면서 관찰하였으며, 이때 성장상은 광조건 12시간(30°C)/암조건 12시간(25°C)으로 조정하였다. 처리 1주일 후 발아된 개체수 즉 유근이 발생한 숫자를 관찰 계수하였으며 무처리구에서의 발아율에 대한 처리구의 발아율을 백분율로 표시하였다.

[52]

[53] 미생물 영양제를 포함하는 혼합균주 배양액의 제조

[54] 혼합배양액을 사용하기 위해서는 논 면적 1 단보(10a)에 대하여 300ℓ의 물을 준비하고 여기에 DAG-B 500ml와 영양제 1,000ml를 넣고 혼합한 다음, 표면 살포하였다. 이때 영양제는 당밀(Brix 79.8°) 500g, 토마토 과즙 50g을 물 1리터에 용해하여 제조하였다(pH 6.5±0.2, 25°C). 영양제의 첨가는 혼합배양액의 희석과정과 살포 후 혼합균주의 토양정착에 있어서 안정성 향상을 위한 것이다.

[55]

[56] 혼합균주의 배양액을 이용한 포장시험

[57] 답작에 대한 제초효과를 확인하기 위하여 충남 논산시 연무읍 양지리에 위치한 논에서 2014년 봄에 수행하였다. 논의 관리는 상법에 준하였다. 즉 4월 중순 논토양을 경운한 다음 5월10일경 물대기와 씨레질을 하고 모내기(삼광벼)하였다. 남북으로 낸 논둑을 중심으로 좌측은 무처리구, 우측은 처리구로 구분하였으며(도 6 참고), 처리구에 대하여는 4월 중순 논토양을 경운한 다음 즉시 혼합배양액 DAG-B와 영양액을 사용하였다. 단보(10a) 당 DAG-B 500ml와 영양제 1,000ml를 물 300ℓ에 희석하여 토양표면에 고르게 분무 살포하였다. 모내기 후 무처리구와 처리구에 있어서의 잡초발생 상태를 비교관찰하였다.

[58]

[59] 실시예 1. 균주의 분리 및 동정 결과

[60] 앞에서 기술한 방법에 따라 유산균 4종, 효모 4종을 분리하고, 이들의 rDNA 염기서열 분석하여(서열번호 1 내지 8 참고) 계통학적으로 분류하였다. 그 결과 유산균 LBV-61 균주는 락토바실러스 브레비스 (*Lactobacillus brevis*)로, LPT30는 락토바실러스 플란타룸 아종 플란타룸 (*Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum*)으로, LPC63은 락토바실러스 파라카제이 아종 톨러란스 (*Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans*)로, LBN62는 락토바실러스 부크네리 (*Lactobacillus buchneri*)로 각각 동정되었다. 효모 TDB-34 균주는 토룰라스포라 델브루에키 (*Torulaspora delbrueckii*)로, PKD-51는 피치아 쿠드리야브제비 (*Pichia kudriavzevii*)로, ZBA-22는 지고사카로마이세스 바일리 (*Zygosaccharomyces bailii*)로, ZBP-52는

지고사카로마이세스 비스포러스 (*Zygosaccharomyces bisporus*)로 동정되었다.

[61]

[62] 실시예 2. 발아 억제 활성을 가지는 혼합 균주의 선발

[63] 본 발명에서 분리한 4종의 락토바실러스 속 균주와 4종의 효모를 혼합하여 배양하였을 경우 발아 억제 활성이 있음을 확인하였고, 이를 통해 하기 표 1과 같이 12개의 경우로 조합하여 혼합균주를 제조하여 혼합 배양액을 얻었다.

[64] 이들 혼합배양액의 화본과 잡초(피), 광엽 잡초(털비름) 종자에 대한 발아 억제 활성을 비교하였으며 그 결과를 표 1에 나타내었다. 여기서 종자발아 억제농도는 발아율 0%를 나타내는 혼합배양액의 희석배율로 표시한 것이다. 즉 100은 배양액을 그대로, 50은 배양액을 1/2 희석하여 시험한 것을 의미한다. 표 1에서 보는 바와 같이 균주의 조합에 따라 발아 억제 활성에 차이가 있었으며, 3번 조합 (락토바실러스 브레비스 LBV-61(*Lactobacillus brevis* LBV-61) + 락토바실러스 플란타룸 아종 플란타룸 LPT30(*Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum* LPT30) + 토룰라스포라 델브루에키 TDB-34(*Torulaspora delbrueckii* TDB-34)) 균주와 10번 조합 (락토바실러스 파라카제이 아종 톨러란스 LPC63(*Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans* LPC63) + 락토바실러스 부크네리 LBN62(*Lactobacillus buchneri* LBN62) + 피치아 쿠드리야브제비 PKD-51(*Pichia kudriavzevii* PKD-51) + 지고사카로마이세스 바일리 ZBA-22(*Zygosaccharomyces bailii* ZBA-22)) 균주에서 비교적 활성이 높았다. 또한 10번 조합의 경우, 지고사카로마이세스 바일리 ZBA-22를 지고사카로마이세스 비스포러스 ZBP-52(*Zygosaccharomyces bisporus* ZBP-52) 균주로 대체하여도 같은 결과를 나타내었다.

[65] 결론적으로, 본 발명에서 분리한 4종의 락토바실러스 속 균주와 4종의 효모를 혼합한 혼합 균주는 종자 발아 억제 활성에 있어서 정도의 차이는 있으나 모든 조합에서 종자 발아 억제 활성이 있었다.

[66]

[67] 표 1

[Table 1]

혼합배양 균주의 조합과 종자발아 억제 농도(희석배율)

| 번호 | 혼 합 배 양 균 주   |                            | 종자발아 억제농도* |      | 비고              |
|----|---------------|----------------------------|------------|------|-----------------|
|    | 유 산 균         | 효 모                        | 피          | 털비름  |                 |
| 1  | LBV-61        | TDB-34                     | 100        | 50   |                 |
| 2  | LPT-30        | TDB-34                     | 100        | 50   |                 |
| 3  | LBV-61/LPT-30 | TDB-34                     | 25         | 12.5 | 혼합배양1균<br>DAG-A |
| 4  | LPC-63        | PKD-51                     | 100        | 50   |                 |
| 5  | LPC-63        | ZBA-22                     | 100        | 100  |                 |
| 6  | LBN-62        | PKD-51                     | 100        | 50   |                 |
| 7  | LBN-62        | ZBA-22                     | 100        | 100  |                 |
| 8  | LPC-63/LBN-62 | PKD-51                     | 50         | 12.5 |                 |
| 9  | LPC-63/LBN-62 | ZBA-22                     | 50         | 25   |                 |
| 10 | LPC-63/LBN-62 | PKD-51/ZBA-22<br>또는 ZBP-52 | 12.5       | 1.56 | 혼합배양2균<br>DAG-B |
| 11 | LPC-63        | PKD-51/ZBA-22              | 100        | 100  |                 |
| 12 | LBN-62        | PKD-51/ZBA-22              | 100        | 100  |                 |

[68] \*종자발아 억제 농도는 발아율 0%를 나타내는 혼합배양액의 희석배율로 표시하였음. 즉 100: 배양액을 그대로; 50: 배양액을 1/2 희석하여 사용한 것임.

[69]

[70] 실시예 3. 선발된 혼합균주 배양액의 발아 억제 활성

[71] 실시예 2에 따라 비교적 높은 활성을 나타낸 3번 및 10번 조합에 대하여 추가시험을 수행하였다. 3번 조합에 의한 배양액을 DAG-A, 10번 조합의 배양액을 DAG-B로 명명하고 대상 잡초 식물을 확대하여 즉 피, 바랭이(화본과 잡초) 및 털비름, 개망초, 어저귀(광엽 잡초)의 종자에 대하여 발아 억제 활성을 시험하였다.

[72] DAG-A 및 DAG-B의 농도에 따른 잡초 종자의 발아율을 표 2 내지 표 6에 나타내었으며, 처리 1주일 후의 발아모습을 도 1 내지 도 5에 사진으로 제시하였다. DAG-A 및 DAG-B 혼합 균주는 농도에 따른 종자 발아 억제 활성에 있어서 차이는 있으나 모든 화본과 잡초 및 광엽 잡초에 대해 종자 발아 억제 활성이 우수하였다.

[73]

[74] 표 2

[Table 2]

DAG-A 및 DAG-B의 농도에 따른 피의 발아율

| DAG농도 | DAG-A | DAG-B |
|-------|-------|-------|
| 50.00 | 0.0*  | 0.0   |
| 25.00 | 0.0   | 0.0   |
| 12.50 | 82.6  | 0.0   |
| 6.25  | 87.0  | 77.8  |
| 3.13  | 95.7  | 105.6 |
| 1.56  | 100.0 | 111.1 |
| 0.78  | 104.3 | 100.0 |
| 0.39  | 104.3 | 94.4  |
| 0.20  | 95.7  | 105.6 |
| 0.10  | 95.7  | 111.1 |
| 0.05  | 91.3  | 100.0 |

[75] \* 무처리구에서의 발아율에 대한 처리구의 발아율

[76]

[77] 표 3

[Table 3]

DAG-A 및 DAG-B의 농도에 따른 바랭이의 발아율

| DAG농도 | DAG-A | DAG-B |
|-------|-------|-------|
| 50.00 | 0.0*  | 0.0   |
| 25.00 | 0.0   | 0.0   |
| 12.50 | 0.0   | 0.0   |
| 6.25  | 87.5  | 0.0   |
| 3.13  | 81.3  | 75.0  |
| 1.56  | 81.3  | 100.0 |
| 0.78  | 93.8  | 80.1  |
| 0.39  | 106.3 | 90.0  |
| 0.20  | 81.3  | 85.3  |
| 0.10  | 93.8  | 100.0 |
| 0.05  | 100.0 | 95.0  |

[78] \* 무처리구에서의 발아율에 대한 처리구의 발아율

[79]

[80] 표 4

[Table 4]

DAG-A 및 DAG-B의 농도에 따른 털비름의 발아율

| DAG농도 | DAG-A | DAG-B |
|-------|-------|-------|
| 50.00 | 0.0*  | 0.0   |
| 25.00 | 0.0   | 0.0   |
| 12.50 | 0.0   | 0.0   |
| 6.25  | 76.0  | 0.0   |
| 3.13  | 95.5  | 0.0   |
| 1.56  | 90.5  | 0.0   |
| 0.78  | 104.8 | 14.5  |
| 0.39  | 100.0 | 28.5  |
| 0.20  | 104.5 | 102.0 |
| 0.10  | 95.5  | 85.5  |
| 0.05  | 81.0  | 102.0 |

[81] \* 무처리구에서의 발아율에 대한 처리구의 발아율

[82]

[83] 표 5

[Table 5]

DAG-A 및 DAG-B의 농도에 따른 개망초의 발아율

| DAG농도 | DAG-A | DAG-B |
|-------|-------|-------|
| 50.00 | 0.0*  | 0.0   |
| 25.00 | 0.0   | 0.0   |
| 12.50 | 40.0  | 0.0   |
| 6.25  | 87.5  | 62.5  |
| 3.13  | 95.2  | 62.5  |
| 1.56  | 100.0 | 105.0 |
| 0.78  | 81.0  | 100.0 |
| 0.39  | 100.0 | 87.5  |
| 0.20  | 104.8 | 97.5  |
| 0.10  | 95.2  | 105.0 |
| 0.05  | 104.8 | 110.0 |

[84] \* 무처리구에서의 발아율에 대한 처리구의 발아율

[85]

[86] 표 6

[Table 6]

DAG-A 및 DAG-B의 농도에 따른 어저귀의 발아율

| DAG농도 | DAG-A | DAG-B |
|-------|-------|-------|
| 50.00 | 0.0*  | 0.0   |
| 25.00 | 0.0   | 0.0   |
| 12.50 | 0.0   | 0.0   |
| 6.25  | 83.4  | 0.0   |
| 3.13  | 110.0 | 52.1  |
| 1.56  | 104.0 | 106.0 |
| 0.78  | 96.0  | 94.0  |
| 0.39  | 98.2  | 102.6 |
| 0.20  | 104.0 | 100.0 |
| 0.10  | 94.4  | 98.0  |
| 0.05  | 100.0 | 100.0 |

[87] \* 무처리구에서의 발아율에 대한 처리구의 발아율

[88]

[89] 실시예 4. 혼합균주의 배양액을 이용한 포장시험 결과

[90] 4월 중순 시험약제의 처리 후 모내기까지 4월17일에는 20mm, 27-29일에는 60mm수준의 강우가 있어서 토양의 습윤상태를 유지하였으며, 물대기를 한 다음 5월11일 10mm이상의 강우가 있어서 모내기는 13일에 하였다. 모내기 이후 처리구와 무처리구에 있어서의 잡초 발생상태를 비교관찰하였다. 모내기 15일 이후의 모습을 촬영하여 도 6에 제시하였다. 도 6에서 보는 바와 같이 좌측 무처리구에서는 잡초가 움터 올라와 논전체가 녹색을 띠는데 반하여, 우측 처리구에서는 잡초발생이 현저히 감소하였고 논바닥도 비교적 깨끗하게 보였다. 처리구에서는 더이상 김매기를 하지 않아도 지장 없었으며 출수기까지 그대로 지속되었다.

[91]

[92] [수탁번호]

[93] 기탁기관명 : 한국생명공학연구원

[94] 수탁번호 : KCTC12710BP

[95] 수탁일자 : 20141113

[96]

[97] 기탁기관명 : 한국생명공학연구원

[98] 수탁번호 : KCTC12711BP

[99] 수탁일자 : 20141113

[100]

[101] 기탁기관명 : 한국생명공학연구원

[102] 수탁번호 : KCTC12712BP

[103] 수탁일자 : 20141113

[104]

[105] 기탁기관명 : 한국생명공학연구원

[106] 수탁번호 : KCTC12713BP

[107] 수탁일자 : 20141113

[108]

[109] 기탁기관명 : 한국생명공학연구원

[110] 수탁번호 : KCTC12714BP

[111] 수탁일자 : 20141113

[112]

[113] 기탁기관명 : 한국생명공학연구원

[114] 수탁번호 : KCTC12715BP

[115] 수탁일자 : 20141113

[116]

- [117] 기탁기관명 : 한국생명공학연구원
- [118] 수탁번호 : KCTC12716BP
- [119] 수탁일자 : 20141113
- [120]
- [121] 기탁기관명 : 한국생명공학연구원
- [122] 수탁번호 : KCTC12717BP
- [123] 수탁일자 : 20141113

## 청구범위

- [청구항 1] 유산균 균주 및 효모 균주로 이루어진 잡초 식물의 종자 발아 억제용 혼합 균주.
- [청구항 2] 제1항에 있어서, 상기 유산균은 락토바실러스 속(*Lactobacillus* sp.) 균주인 것을 특징으로 하는 잡초 식물의 종자 발아 억제용 혼합 균주.
- [청구항 3] 제2항에 있어서, 상기 락토바실러스 속 균주는 락토바실러스 플란타룸 아종 플란타룸 LPT30(*Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum* LPT30) 균주(KCTC 12710BP), 락토바실러스 브레비스 LBV-61(*Lactobacillus brevis* LBV-61) 균주(KCTC 12711BP), 락토바실러스 부크네리 LBN62(*Lactobacillus buchneri* LBN62) 균주(KCTC 12712BP) 및 락토바실러스 파라카제이 아종 톨러란스 LPC63(*Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans* LPC63) 균주(KCTC 12713BP)로 이루어진 균으로부터 선택되는 하나 이상의 균주인 것을 특징으로 하는 잡초 식물의 종자 발아 억제용 혼합 균주.
- [청구항 4] 제3항에 있어서, 상기 효모 균주는 피치아 쿠드리아브제비 PKD-51(*Pichia kudriavzevii* PKD-51) 균주(KCTC 12714BP), 토룰라스포라 델브루에키 TDB-34(*Torulaspora delbrueckii* TDB-34) 균주(KCTC 12715BP), 지고사카로마이세스 바일리 ZBA-22(*Zygosaccharomyces bailii* ZBA-22) 균주(KCTC 12716BP) 및 지고사카로마이세스 비스포러스 ZBP-52(*Zygosaccharomyces bisporus* ZBP-52) 균주(KCTC 12717BP)로 이루어진 균으로부터 선택되는 하나 이상의 균주인 것을 특징으로 하는 잡초 식물의 종자 발아 억제용 혼합 균주.
- [청구항 5] 제1항에 있어서, 상기 혼합 균주는 락토바실러스 브레비스 LBV-61(*Lactobacillus brevis* LBV-61) 균주(KCTC 12711BP), 락토바실러스 플란타룸 아종 플란타룸 LPT30(*Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum* LPT30) 균주(KCTC 12710BP) 및 토룰라스포라 델브루에키 TDB-34(*Torulaspora delbrueckii* TDB-34) 균주(KCTC 12715BP)로 이루어진 것을 특징으로 하는 잡초 식물의 종자 발아 억제용 혼합 균주.
- [청구항 6] 제1항에 있어서, 상기 혼합 균주는 락토바실러스 파라카제이 아종 톨러란스 LPC63(*Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans* LPC63) 균주(KCTC 12713BP), 락토바실러스 부크네리 LBN62(*Lactobacillus buchneri* LBN62) 균주(KCTC 12712BP), 피치아 쿠드리아브제비 PKD-51(*Pichia kudriavzevii* PKD-51) 균주(KCTC 12714BP) 및 지고사카로마이세스 바일리 ZBA-22(

*Zygosaccharomyces bailii* ZBA-22) 균주(KCTC 12716BP)로 이루어진 것을 특징으로 하는 잡초 식물의 종자 발아 억제용 혼합 균주.

[청구항 7] 제1항에 있어서, 상기 혼합 균주는 락토바실러스 파라카제이 아종 톨러란스 LPC63(*Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans* LPC63) 균주(KCTC 12713BP), 락토바실러스 부크네리 LBN62(*Lactobacillus buchneri* LBN62) 균주(KCTC 12712BP), 피치아 쿠드리야브제비 PKD-51(*Pichia kudriavzevii* PKD-51) 균주(KCTC 12714BP) 및 지고사카로마이세스 비스포러스 ZBP-52(*Zygosaccharomyces bisporus* ZBP-52) 균주(KCTC 12717BP)로 이루어진 것을 특징으로 하는 잡초 식물의 종자 발아 억제용 혼합 균주.

[청구항 8] 제1항에 있어서, 상기 잡초 식물은 화본과 잡초 또는 광엽 잡초인 것을 특징으로 하는 잡초 식물의 종자 발아 억제용 혼합 균주.

[청구항 9] 제1항 내지 제8항 중 어느 한 항의 혼합 균주, 상기 균주의 배양물 또는 상기 균주의 배양액의 농축액과 농약학적으로 허용가능한 담체를 포함하는 것을 특징으로 하는 제초제.

[청구항 10] 제9항에 있어서, 상기 제초제는 당밀 및 토마토 과즙으로 이루어진 미생물 영양제를 추가로 포함하는 것을 특징으로 하는 제초제.

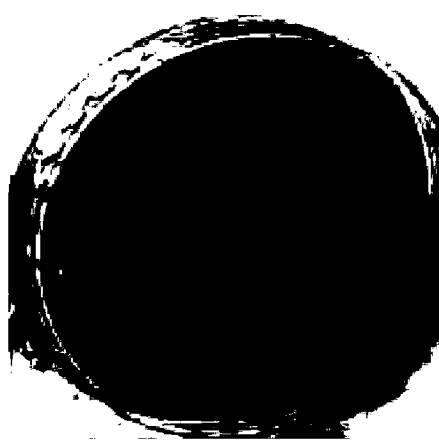
[청구항 11] 제1항 내지 제8항 중 어느 한 항의 혼합 균주를 배양하는 단계를 포함하는 제초제의 제조 방법.

[청구항 12] 제1항 내지 제8항 중 어느 한 항의 혼합 균주, 상기 균주의 배양물 또는 상기 균주의 배양액의 농축액을 토양에 처리하는 단계를 포함하는 잡초를 제거하는 방법.

[Fig. 1]



무처리

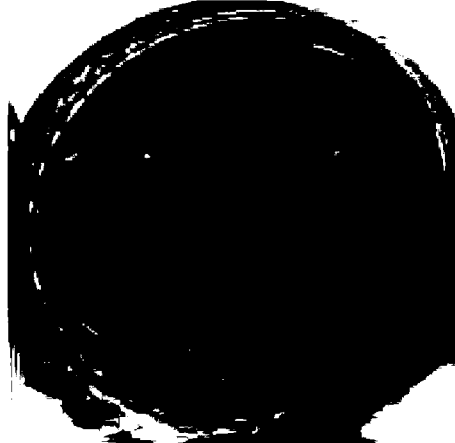


농도 25

[Fig. 2]

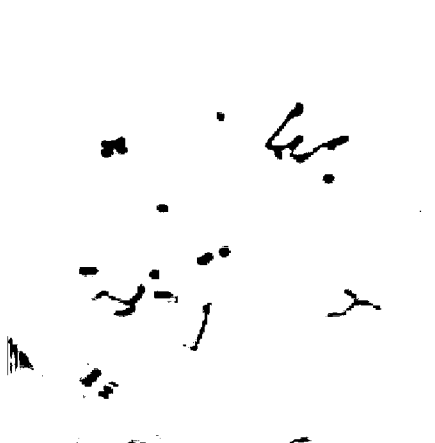


무처리



농도 12.5

[Fig. 3]

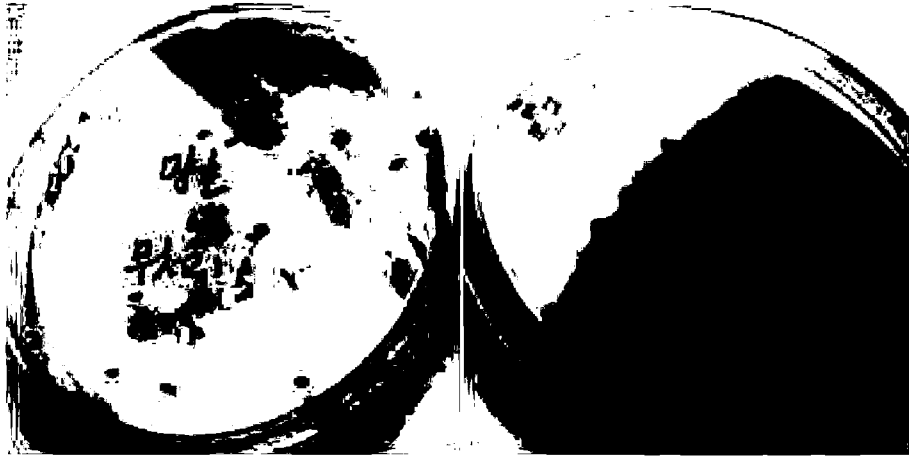


무처리



농도 12.5

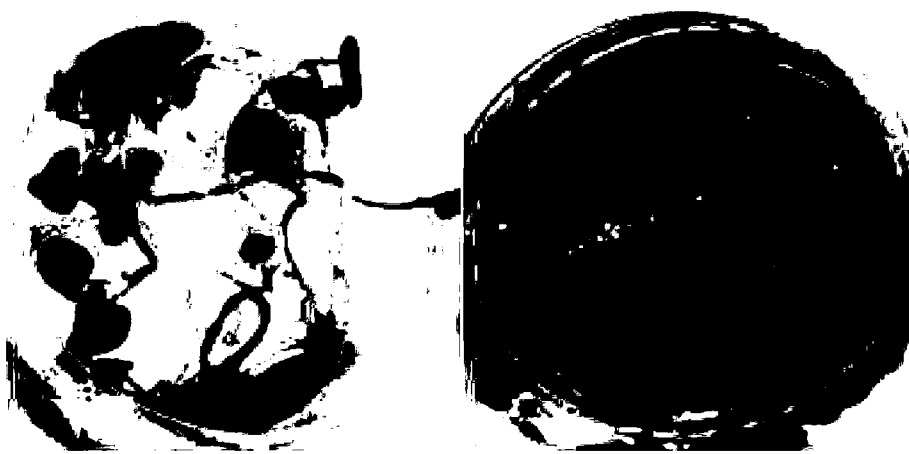
[Fig. 4]



무처리

농도 12.5

[Fig. 5]



무처리

농도 3.13

[Fig. 6]



## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2015/001201

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

*C12N 1/00(2006.01)i, C12N 1/16(2006.01)i, C12N 1/20(2006.01)i, C12R 1/225(2006.01)n*

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)

C12N 1/00; A01N 63/02; A01N 65/06; C12N 1/20; C12N 1/16; C12R 1/225

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) &amp; Keywords: lactic acid, yeast, inhibited seed germination of weed plant

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages                                                | Relevant to claim No. |
|-----------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| X         | JP 2003-231605 A (MIROKU HADO:KK.) 19 August 2003<br>See abstract; claim 1; paragraphs [0003]-[0006], [0010]-[0012]; and table 1. | 1,8-12                |
| A         |                                                                                                                                   | 2-7                   |
| A         | KR 10-2002-0072813 A (NIN CO., LTD.) 18 September 2002<br>See abstract; and claims 1-6.                                           | 1-12                  |
| A         | KR 10-2010-0013999 A (JGREEN INC. et al.) 10 February 2010<br>See the entire document.                                            | 1-12                  |
| A         | KR 10-2013-0050698 A (CHOI, Jong Kyoung) 16 May 2013<br>See the entire document.                                                  | 1-12                  |
| A         | KR 10-2014-0022586 A (KOREA RESEARCH INSTITUTE OF CHEMICAL TECHNOLOGY et al.) 25 February 2014<br>See the entire document.        | 1-12                  |
| A         | KR 10-2010-0116023 A (KOREA RESEARCH INSTITUTE OF CHEMICAL TECHNOLOGY) 29 October 2010<br>See the entire document.                | 1-12                  |



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

“&amp;” document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

30 JULY 2015 (30.07.2015)

Date of mailing of the international search report

30 JULY 2015 (30.07.2015)

Name and mailing address of the ISA/KR

Korean Intellectual Property Office  
Government Complex-Daejeon, 189 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/KR2015/001201**

| Patent document<br>cited in search report | Publication<br>date | Patent family<br>member                   | Publication<br>date      |
|-------------------------------------------|---------------------|-------------------------------------------|--------------------------|
| JP 2003-231605 A                          | 19/08/2003          | NONE                                      |                          |
| KR 10-2002-0072813 A                      | 18/09/2002          | KR 10-0533874 B1                          | 06/12/2005               |
| KR 10-2010-0013999 A                      | 10/02/2010          | KR 10-0991298 B1                          | 01/11/2010               |
| KR 10-2013-0050698 A                      | 16/05/2013          | NONE                                      |                          |
| KR 10-2014-0022586 A                      | 25/02/2014          | KR 10-2015-0015310 A<br>WO 2014-027821 A1 | 10/02/2015<br>20/02/2014 |
| KR 10-2010-0116023 A                      | 29/10/2010          | KR 10-0997677 B1                          | 02/12/2010               |

**A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))**

C12N 1/00(2006.01)i, C12N 1/16(2006.01)i, C12N 1/20(2006.01)i, C12R 1/225(2006.01)n

**B. 조사된 분야**

조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)

C12N 1/00; A01N 63/02; A01N 65/06; C12N 1/20; C12N 1/16; C12R 1/225

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: 유산균, 효모균, 잡초 식물 종자 발아 억제

**C. 관련 문헌**

| 카테고리* | 인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재                                                                            | 관련 청구항 |
|-------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| X     | JP 2003-231605 A (MIROKU HADO:KK) 2003.08.19<br>요약; 청구항 1; 문단 [0003]-[0006], [0010]-[0012]; 및 표 1 참조. | 1,8-12 |
| A     |                                                                                                       | 2-7    |
| A     | KR 10-2002-0072813 A ((주)엔아이엔) 2002.09.18<br>요약; 및 청구항 1-6 참조.                                        | 1-12   |
| A     | KR 10-2010-0013999 A ((주) 제일그린산업 등) 2010.02.10<br>전체 문헌 참조.                                           | 1-12   |
| A     | KR 10-2013-0050698 A (최종경) 2013.05.16<br>전체 문헌 참조.                                                    | 1-12   |
| A     | KR 10-2014-0022586 A (한국화학연구원 등) 2014.02.25<br>전체 문헌 참조.                                              | 1-12   |
| A     | KR 10-2010-0116023 A (한국화학연구원) 2010.10.29<br>전체 문헌 참조.                                                | 1-12   |

☐ 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

2015년 07월 30일 (30.07.2015)

국제조사보고서 발송일

2015년 07월 30일 (30.07.2015)

ISA/KR의 명칭 및 우편주소



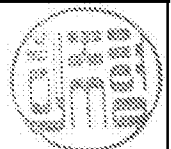
대한민국 특허청  
(302-701) 대전광역시 서구 청사로 189,  
4동 (둔산동, 정부대전청사)

팩스 번호 +82-42-472-7140

심사관

허주형

전화번호 +82-42-481-8150



| 국제조사보고서에서<br>인용된 특허문헌 | 공개일        | 대응특허문헌                                    | 공개일                      |
|-----------------------|------------|-------------------------------------------|--------------------------|
| JP 2003-231605 A      | 2003/08/19 | 없음                                        |                          |
| KR 10-2002-0072813 A  | 2002/09/18 | KR 10-0533874 B1                          | 2005/12/06               |
| KR 10-2010-0013999 A  | 2010/02/10 | KR 10-0991298 B1                          | 2010/11/01               |
| KR 10-2013-0050698 A  | 2013/05/16 | 없음                                        |                          |
| KR 10-2014-0022586 A  | 2014/02/25 | KR 10-2015-0015310 A<br>WO 2014-027821 A1 | 2015/02/10<br>2014/02/20 |
| KR 10-2010-0116023 A  | 2010/10/29 | KR 10-0997677 B1                          | 2010/12/02               |