

공개(), 비공개(v)발간등록번호(11-1543000-002859-01)

농식품연구성과후속지원사업 최종 보고서

발간등록번호

11-1543000-002859-01

젤라틴 분해 및 살 선충 미생물을 이용한 식물기생선충 방제용 미생물제제 개발 최종보고서

2019. 05. 01.

주관연구기관 / (주)애드바이오텍
협동연구기관 / 한국생명공학연구원

농림축산식품부
(전문기관) 농림식품기술기획평가원

<제출문>

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “젤라틴 분해 및 살 선충 미생물을 이용한 식물기생선충 방제용 미생물
제제 개발”(개발기간 : 2018. 04. ~ 2019. 04.)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2019. 06. 13.

주관연구기관명 : (주)에드바이오텍 (대표자) 정 홍 결
참여기관명 : 한국생명공학연구원 (대표자) 김 장 성



주관연구책임자 : 이 남 형
참여기관책임자 : 이 승 재

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의
합니다.

<보고서 요약서>

보고서 요약서

과제고유번호	818022-1	해 당 단 계 연 구 기 간	12개월	단 계 구 분	1/1
연구사업명	단 위 사 업	농식품기술개발사업			
	사 업 명	농식품연구성과후속지원사업			
연구과제명	대 과 제 명	(해당 없음)			
	세부 과제명	젤라틴 분해 및 살 선충 미생물을 이용한 식물기생선충 방제용 미생물제제 개발			
연구책임자	이 남 형	해당단계 참여연구원 수	총: 13 명 내부: 13 명 외부: 0 명	해당단계 연구개발비	정부: 150,000 천원 민간: 50,000 천원 계: 200,000 천원
		총 연구기간 참여연구원 수	총: 13 명 내부: 13 명 외부: 0 명	총 연구개발비	정부: 150,000 천원 민간: 50,000 천원 계: 200,000 천원
연구기관명 및 소속부서명	(주)에드바이오틱 한국생명공학연구원			참여기업명	
국제공동연구 위탁연구	상대국명: 연구기관명:			상대국 연구기관명: 연구책임자:	

※ 국내외의 기술개발 현황은 연구개발계획서에 기재한 내용으로 같음

연구개발성과의 보안등급 및 사유	
-------------------------	--

9대 성과 등록·기탁번호

구분	논문	특허	보고서 원문	연구시설 ·장비	기술요약 정보	소프트 웨어	화합물	생명자원		신품종	
								생명 정보	생물 자원	정보	실물
등록·기탁 번호		10-20 18-01 30181, 10-20 18-01 29316									

국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비 현황

구입기관	연구시설· 장비명	규격 (모델명)	수량	구입연월일	구입가격 (천원)	구입처 (전화)	비고 (설치장소)	NTIS 등록번호

요약(연구개발성과를 중심으로 개조식으로 작성하되, 500자 이내로 작성합니다) | 보고서 59면수

<요약문>

연구의 목적 및 내용	<ul style="list-style-type: none"> ○ 젤라틴 분해 및 살 선충 미생물을 이용하여 뿌리혹선충 방제용 미생물제제를 개발하고 산업화하는 것으로, 현장적용 시험, 제형화 연구를 성공적으로 수행하고 제품 인증 및 <ul style="list-style-type: none"> - 제형화 및 안정성 확립 - 효능검증시험 (포트) - 농가현장시험 (소포장시험) - 제품의 인증 및 등록 				
연구개발성과	<ul style="list-style-type: none"> • 특허 - 출원 2건 • 기술이전 - 1건 • 교육/지도 - 1건 • 제품화 - 1건 • 인력양성 - 1명 • 제품 인증 및 등록 <ul style="list-style-type: none"> - 제형화된 시제품을 군주동정, 유효균수, 오염미생물, 중금속, 비해시험 완료 - 경구병원성 시험, 경피시험, 어류영향독성시험, 피부자극시험, 안점막자극성시험 등의 독성시험 완료 - 약해시험 및 약효시험 완료 				
연구개발성과의 활용계획 (기대효과)	<ul style="list-style-type: none"> ○ 학문적 기술적 측면 <ul style="list-style-type: none"> - 뿌리혹선충 피해경감을 위한 친환경 방제기술 보급 - 토양 병해 방제 기작 구명을 통한 효과적인 뿌리혹선충 방제법 개발 - 미생물 대량배양기술 및 제형화 기술 개발을 통한 유용 미생물 산업화 시스템 개발 - 젤라틴 분해 효소 활성을 나타내는 미생물의 항선충용 방제제로 개발 - 유용 미생물 분리 및 기능규명으로 국내자원 보존 및 우수자원 산업화 ○ 경제 산업적 측면 <ul style="list-style-type: none"> - 연간 국내에서 소비되는 살선충제 시장은 약 700억원으로, 수입대체 효과를 기대할 수 있음 - 뿌리혹선충 방제용 미생물의 산업화 공정 확립을 통한 미생물 산업화 기술 확보 및 친환경 농산물 수확 증대로 양질의 친환경 농산물 공급 확대 - 친환경 농가 소득 증대 및 친환경 농업 보급 확대가 기대 - 천연자원을 이용한 생물농약 개발로 친환경 농업 활성화, 고부가가치성 친환경농산물 생산에 기여하여 농가소득 증대 - 화학농약 사용량 저감을 통한 환경 개선 효과 및 국민 건강 증진 - 미생물제제 산업화를 통한 친환경적 생물산업 육성기반 구축에 이바지 - 합성농약 대체물질 사용으로 유기 농산물 생산의 친환경적 관리체계 구축으로 농업 생태계 보호 - 고품질 안전 유기농산물 생산으로 생산자와 소비자의 요구 충족 				
국문핵심어 (5개 이내)	뿌리혹선충	현장적용시험	제형화	친환경생물농약	미생물
영문핵심어 (5개 이내)	Meloidogyne incognita	field study	formulation	environment friendly biopesticide	microorganism

※ 국문으로 작성(영문 핵심어 제외)

< 목 차 >

1. 연구개발과제의 개요	5
1-1. 연구개발 목적	5
1-2. 연구개발 필요성	6
1-3. 연구개발 범위	13
2. 연구수행 내용 및 결과	15
2-1. 미생물 대량생산조건 확립	15
2-2. 생산 시제품 대한 유효 균수 측정	17
2-3. 생산 시제품에 대한 안정성 연구 결과	18
2-4. 생산 시제품의 유효성 확인(pot 실험)	19
2-5. 생산 시제품의 유효성 확인(약해 효과)	22
2-6. 선충바로킬의 참외 뿌리혹선충 약제방제 효과(지역 : 경북안동) ·	23
2-7. 선충바로킬의 참외 뿌리혹선충 약제방제 효과(지역 : 충북음성) ·	26
2-8. 독성평가	29
3. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도	42
3-1. 목표	42
3-1. 목표 달성여부	42
3-1. 목표 미달성 시 원인(사유) 및 차후대책(후속연구의 필요성 등) ·	43
4. 연구결과의 활용 계획 등	44
붙임. 참고 문헌	49
<별첨 1.> 연구개발보고서 초록	
<별첨 2.> 자체평가의견서	
<별첨 3.> 연구성과 활용계획서	

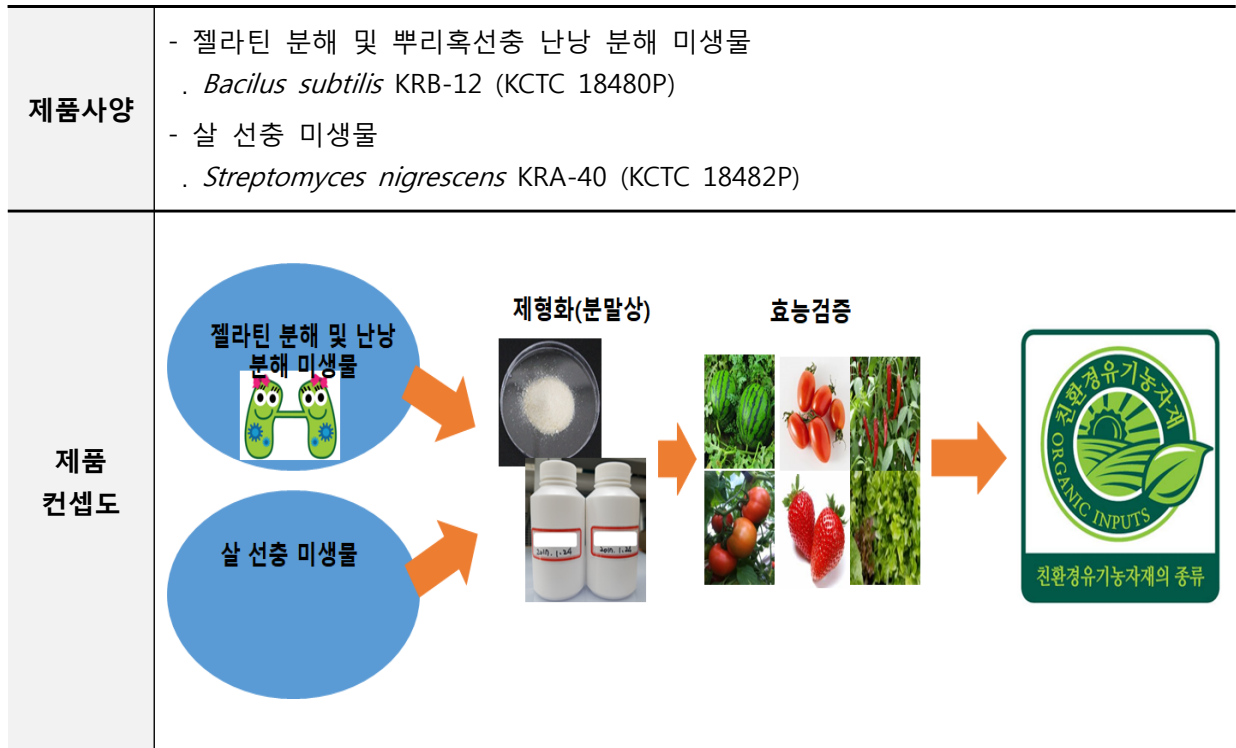
1. 연구개발과제의 개요

1-1. 연구개발 목적

□ 연구개발 목적

- 젤라틴 분해 및 살 선충 미생물을 이용하여 뿌리혹선충 방제용 미생물제제를 개발하고 산업화하는 것으로, 현장적용 시험, 제형화 연구를 성공적으로 수행하고 제품 인증 및 등록과정을 거쳐 친환경 미생물제제를 제품화하는 데 있음.

<표> 뿌리혹선충 방제용 친환경 미생물제제 개발 개념도



□ 핵심기술

- **(뿌리혹선충 방제용 미생물)** 선충알에 영향을 주어 부화율을 줄일 수 있는 젤라틴 및 난낭 분해활성을 가지는 미생물(*Bacillus subtilis* KRB-12) 보유, 뿌리혹 선충을 직접적으로 죽일 수 있는 살 선충 활성을 나타내는 미생물(*Streptomyces nigrescens* KRA-40) 보유
- **(현장적용 시험)** 두 종 미생물을 이용한 분말상 제형에 대한 농가현장 적용시험을 수행하여 토양 내 미생물상 변화양상, 재배 식물의 뿌리혹선충 감염여부 및 재배 식물의 수확량 분석
- **(항선충 활성 검증)** 개발한 미생물들에 대한 뿌리혹선충 난낭 분해활성 및 살 선충 활성을 측정할 수 있는 in vitro 시험 방법, 작물을 이용한 포트 및 공격접종시험 방법 보유
- **(상호 교차 저해활성)** 2종 미생물을 이용한 액상 제형의 경우 상호간의 생육저해 없이 토양 내에 존재하며 항선충 활성을 나타냄
- **(배양조건 확립)** 미생물 대량생산을 위한 온도, 배양시간, 배지, 포자형성 최적화 배양조건 확립

1-2. 연구개발의 필요성

▶ 연구개발의 과학기술 중요성

- 우리나라 시설재배지의 약 54%가 뿌리혹선충에 감염되어있으며, 감염으로 전체 원예작물 생산량의 15% 이상의 수량을 감소시키는 것으로 알려져 있음
- 뿌리혹선충은 직접적으로 작물에 피해를 줄 뿐만 아니라 간접적으로 토양병원균들의 식물체 침입을 증대시켜 2차적으로 다른 병해 유도하는 것으로 알려져 있음
- 화학적 방제는 농자재에 의한 재오염 발생, 높은 독성과 긴 잔류 기간으로 인한 토양 생태계 불균형, 화학농약에 대한 내성 증가 등 환경적인 문제를 야기함

<뿌리혹선충에 의한 농작물의 피해>

- 뿌리혹선충은 식물에 직접적인 피해를 미칠 뿐만 아니라 간접적으로 바이러스, 박테리아, 곰팡이 등의 병원체가 쉽게 침입할 수 있게 만들어 복합 병을 유발 농작물 생산에 영향을 줌
- 70종 이상의 식량작물, 원예작물, 목본류등에 경제적으로 큰 피해를 입히는 것은 *Meloidogyne* 속 선충은 고구마뿌리혹선충(*Meloidogyne incognita*), 땅콩뿌리혹선충(*M. arenaria*), 당근뿌리혹선충(*M. javanica*) 및 자바뿌리혹선충(*M. hapla*) 등 4종이 알려져 있음
- *Meloidogyne*속 뿌리혹선충의 감염은 식물뿌리에 아주 반응성이 심한 산소 라디칼의 출현을 가져오는데 이는 독성 중간체를 형성하여 식물에 산화 스트레스를 가져옴. 기생충 선충이 세포에 침입한 식물들은 광합성 과정과 호흡관계에 압박을 받는 경우도 있음
- 시설재배지에서 연작하는 과채류는 뿌리혹선충 피해가 심하여, 연중기온이 높아지는 우리나라는 앞으로 뿌리혹선충의 피해가 계속 늘어나 살선충제를 처리하지 않으면 재배가 거의 불가능할 것으로 예상함
- 뿌리혹선충의 방제는 화학적 방제(살선충 약제방제), 물리적 방제(태양열소독, 온탕 침지법), 경종적 방제(토양개량, 객토, 답전윤환, 저항성 품종의 육종, 저항성 윤작, 유인식물 재배), 생물적 방제(살선충 천적) 등의 다양한 방법들이 적용되고 있음
- 화학적 방제에 사용되는 살선충제인 훈증제, 액체살선충제는 토양, 물, 농기구 등에 의해 재오염이 발생하며, 높은 독성과 긴 잔류 기간으로 인해 토양 생태계 불균형과 같은 환경 문제를 발생시키므로 근본적인 방제는 아닌 것으로 인식되고 있음. 특히 유기합성농약들의 인체 및 자연환경에 미치는 악영향이 밝혀지면서 Aldicarb, Fenamiphos, Methyl bromide, DBCP, EDB 등 효과 좋은 살선충제들의 등록이 취소됨. 따라서 이런 농약을 대신할 수 있는 친환경 제제들이 절실히 요구되고 있음
- 선충의 유충을 공격하는 포식성곰팡이에 대한 연구대신에, 접종원이 되는 선충의 알이나 암컷을 직접 공격하는 기생성곰팡이(egg parasitic fungi)들이 주가 되고 있음
- 최근 친환경적인 측면에서 저항성 품종 재배, 천적을 이용한 생물적 방제, 살선충 물질을 함유한 식물추출물을 이용하여 방제하는 방법 등 친환경적이고 특이한 작용 기작을 가진 새로운 살선충 물질 탐색을 탐색하는 연구들이 진행되고 있음
- 살선충 효과가 있는 고삼추출물, wild sesame seed oil, aldehyde, ketones & linolenic acids 등의 상품과 선충의 천적으로 알려진 바이러스, 리케차, 무척추동물, 세균, 포식성곰팡이, 기생성곰팡이 등이 보고되고 있으나, 곰팡이나 세균을 이용한 선충방제의 가능성이 가장 클 것으로 예측됨
- 시중에서 판매되는 대부분의 미생물제제는 확실한 실험결과를 제시하지 못한 것이 태반으로 효과가 없는 작물에 살포하는 일이 많아 효과를 보지 못해 유기농자재에 대한 소비자의 불신으로 이어짐으로 이와 같은 문제를 해결하기 위해 맞춤형 유기농자재의 개발이 필요함

<선충천적>

종류	Species
바이러스	단지 2종 보고
리케차	단세포의 막대형, 이분법 번식
무척추동물	Mononchus spp. (포식성선충), Lesioseius kinikini (응애), Tardigrade (완보류) Theratromyxa weberi (아메바), Onychiurus armatus (톡토기)
세균	Pasteuria penetrans (순환물기생), PGPR
기생성곰팡이	Catenaria spp., Myzocytiium spp., Harposporium spp., Paecilomyces lilacinus Pochonia (=Verticillium) chlamydosporium Dactylella oviparasitica, Nematophthora gynophila, sterile mycelium (ARF18) Mycorrhiza (균근, 菌根)
포식성곰팡이	Arthrobotrys spp., Monacrosporium spp., Dactylella spp., Nematoctonus spp.

- 특히 딸기재배지의 40%가 선충에 감염되어 재배지의 70%에 살선충제가 처리되고 있으며, 땅콩 재배지 360,000 ha가 뿌리혹선충에 감염되어있으며 연간 8천만 달러의 피해가 발생하고 있음
- 경북 성주 시설참외재배지는 뿌리혹선충병의 피해로 40~50%의 수량 감소로 년 57억원의 손실을 주고 있음
- 농작물의 선충피해액은 전 세계적으로 연간 800~1,000억 달러로 추정되며, 미국에서 1년에 90억 달러, 개발도상국에서는 선충에 대한 피해가 더 크게 발생하고 있음.
- 따라서 선충 피해를 최소화 할 수 있는 친환경 방제제의 필요가 절실하게 요구되고 있는 실정임

▶ 연구개발의 경제 . 산업적 중요성

- 뿌리혹선충에 의한 작물 피해액은 전 세계적으로 1,200억불에 이르며, 국내 뿌리혹선충에 의한 과채류 생산 손실액은 2,500억 원으로 추정되고 있음. 국내에서 소비되는 살선충제의 시장이 약 700억 원에 이룸
- 기존에 사용하던 화학농약의 문제점으로 사용의 제한이 넓어짐에 따라 친환경유기농자재 시장은 성장세를 보일 것으로 전망됨. 따라서 확실한 효과와 지속가능한 천연소재의 유기농자재의 개발이 필요함
- 화학적 방제를 대체할 수 있는 미생물제제들이 시판되고 있으나, 살선충 효과를 나타내지 않는 경우가 많으므로 보다 효과적인 새로운 친환경 제제의 개발이 절실함

- 국내의 시설원에 재배지에는 뿌리혹선충의 감염으로(성주 약85% 재배농가 뿌리혹선충 감염) 매년 약 30-40%의 수량감소를 가져오고 있으며, 이 뿌리혹선충은 우리나라의 거의 모든 시설원에 작물(오이, 수박, 참외, 토마토 등)에 피해를 주고 있음
- 연간 국내에서 소비되는 살선충제 시장은 약 700억원으로, 향후 뿌리혹선충의 방제 및 관리기술에 대한 지속적인 투자와 연구가 없다면 작물의 피해는 물론이고 살선충제 시장도 국내는 물론 전 세계적으로 급격히 증가할 것으로 예상함
- 국내 친환경 유기농자재 시장은 약 8천억 원 수준으로, 친환경농자재 시장규모는 2000년 1천억 원에서 2012년 8천억 원에 491업체 정도로 추정함
- 현재 국내에는 1,237개의 친환경유기농자재가 공시되어 있지만, 효과와 작용특성을 고려한 기술개발은 부족한 상황에서 본 연구결과를 기반으로 체계적이고 과학적인 우수미생물 소재와 천연물질을 활용한 제품개발이 활성화될 것으로 기대됨
- 친환경유기농자재의 개발은 소재 및 미생물 이용 다양화와 수요창출, 농가소득 증대, 토양개선 효과를 통한 환경오염 방지가 가능하며, 보다 손쉬운 친환경농업이 가능하게 하며, 이를 통하여 농

- 약의 소비를 줄고, 부가가치가 높은 작물의 생산으로 재배농가의 수익성을 높일 수 있음
- 유기농산물을 활용한 건강식품류는 수출이 의약품과 비교하면 비교적 쉬우므로, 연 1500억 달러에 이르는 건강기능 식품시장에 쉽게 진출할 수 있어 새로운 부가가치상품의 개발이 용이함
 - 화학비료와 화학약품의 남용으로 토양 상태악화와 내성병균의 등장으로 장기적으로 피해가 증가하는 추세로 친환경적인 지속가능한 소재의 개발로 환경오염의 방지와 투자비용의 감소로 자연스런 농가소득으로 이어짐

<선충농약>

품목명	상표	적용선충	300평당 사용량	제제, 계통
다조메(입제)	뱃사미드	토양 병해	20-30kg	혼증제
메탐소디움(액)	킬퍼	뿌리혹선충	40 liter	혼증제
디메칠빈포스(유제)	란가도	뿌리혹선충	6kg	유기인계
에토프(입제)	모캡, 에스캡	뿌리혹선충	9kg	유기인계
카두사포스(입제)	럭비, 아파치, 사리프	뿌리혹선충	3kg	유기인계
카보(입제)	후라단, 큐라텔, 카보단, 카보텔	뿌리혹선충 잎선충	3-5kg	비혼증제, 침투성
타보(입제)	카운타, 땅사, 톱타자, 유벌나, 말뚝, 멸땅충	뿌리혹선충	6kg	유기인계
펜치온유제	리바이짓드, 저녁놀	벼미삭선충	20ml/20ℓ	유기인계 침투성(동물)
포스치아제이드(입제)	선충탄	뿌리혹선충	4-6kg	유기인계 침투미형성

▶ 국내 기술 수준 및 시장 현황

○ 기술현황

- *Pasteuria* sp. 등의 세균을 이용한 생물적방제 가능성이 현재 다각적으로 연구되고 있음
- 정향, 콩, 프라이애쉬 등의 식물 추출물 및 식물 유래 정유성분등이 뿌리혹선충 방제용 제품 개발을 위해 연구되고 있음
- 뿌리혹선충 유전자의 RNA 간섭 억제에 의한 선충저항성 식물 개발 및 선충방제에 관한 연구가 진행되고 있음.
- 분자적인 면에서 식물기생충인 선충과 숙주 식물간의 상호작용 즉 선충의 분비 시스템과 선충에 감염된 식물의 신호 시스템, 식물의 방어반응 등의 연구가 최근 진행되고 있음
- 국내 논문을 대상으로 분석한 결과, 선충만을 타겟으로 한 미생물 개발이 아니라 복합적인 병원균 억제를 목표로 연구를 진행함
- 국내의 경우 주로 미생물이 아닌 자생식물을 이용하여 뿌리혹선충의 피해를 줄이는 실험을 진행하고 있음
- 미생물을 이용한 연구의 경우, 젤라틴 및 키틴 분해활성을 가지는 미생물 개발과 관련된 연구들이 진행되고 있음
- 특히 분석과 유사하게 논문의 경우도 선충 저항 유전자 또는 선충 유전자를 이용하여 저항성 재조합 도입을 통하여 뿌리혹선충에 저항성을 나타내는 식물 개발 또는 살선충제를 개발하는 연구를 진행하고 있음

○ 시장현황

- 현재 국내 친환경농자재 시장규모는 시장자체가 무분별한 영세업체의 난립과 복잡하고 과도한 유통구조와 마진이 정확한 통계산출을 어렵게 하고 있으며, 2011년 친환경농업에 대한 정부지

원이 중단되면서 성장이 둔화하고 있는 상황임

- 바이오 농약 및 비료의 국내 판매는 2010년 339억 2,900만원에서 2011년 207억 7,200만원으로 축소되었으나, 바이오 농약 및 비료시장 대한 매출 비중은 수출 급감으로 인해 2010년 94.25%에서 2011년 96.11%로 1.86%p 증가함. 수출은 2010년 11억원에서 2011년 1,200만원으로 전년 대비 98.91% 급감하며, 바이오 농약 및 비료시장 대한 매출 비중도 2010년 3.06%에서 2011년 0.06%로 3.00%p 감소함. 수입은 2010년 9억 6,900만원에서 2011년 8억 2,800만원으로 전년대비 14.55% 감소하였으나, 비중은 2010년 2.69%에서 2011년 3.83%로 증가함.
- 친환경유기농자재의 수입현황은 2007년 11종, 2010년 41종, 2012년 59종으로 해마다 증가하고 있는 실정임
- 국내 생물농약으로 등록된 것은 살균제 15종, 살충제 16종으로 총 31종이 있으며 친환경유기농자재로 약 100여종이 등록되었으나 대부분 외국의 원재를 수입하여 판매하거나 님오일, 제충국 등을 혼합하여 판매하고 있음
- 뿌리혹선충 방제 약제는 카두사포스(력비, 아파치), 카두사포스·카보설판(투아웃), 포스치아제이트(선충탄), 카보(후라단) 등이 있으며, 태양열을 이용하여 하우스 내부를 소독하는 방법을 함께 이용함
- 국내 바이오 농약 및 비료의 제품은 수없이 많지만, 선충에 관련된 제품은 아래와 같이 극소수임.

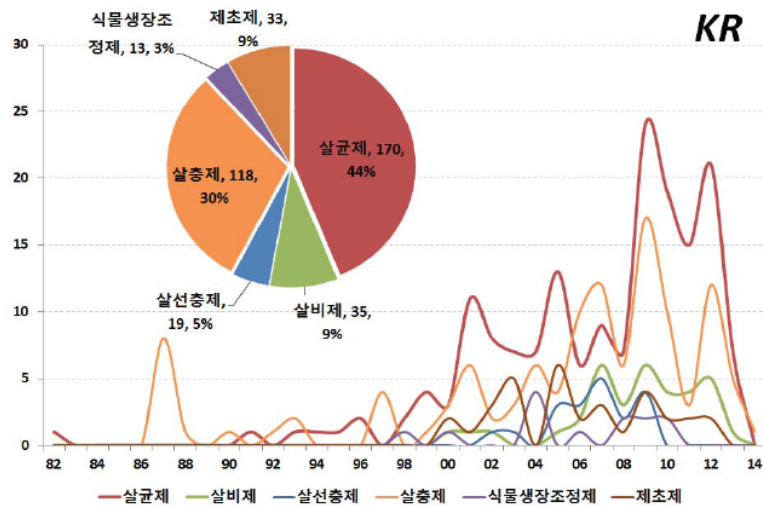
<선충관련생물농약>

상표명	자재종류	제조사명	상표명	자재종류	제조사명
네마토킬	총해관리용	(재)전남생물산업진흥원	참선충	총해관리용	㈜에코원
선그린	병해총관리용	KG케미칼(주)	네마스탑골드	토양개량및작물생육용	㈜에코원
해방뿌리	병해총관리용	우진비앤지(주)	네마큐	병해총관리용	㈜오더스
네마트롤	총해관리용	㈜닐바이오텍	참선충 입제	총해관리용	㈜이에스에프
박스타골드	병해총관리용	㈜대덕에이티	땅거미	총해관리용	㈜한국바이오케미칼
랜드세이버 유제	해충관리용	㈜대덕에이티	선충큐	병해총관리용	㈜한얼씨어런스
대유선충독	총해관리용	㈜대유	마이코젯	토양개량및작물생육용	진영기업(주)
대유쏘일닥터	토양개량및작물생육용	㈜대유	선충에액제	미생물제제	㈜한국바이오케미칼
대유플라즈마님	병해총관리용	㈜대유	네마다운	미생물제제	동운바이오
천궁	총해관리용	㈜비아이지	그린캡스	토양미생물제제	㈜비아이지
불취	총해관리용	㈜비아이지	선충사냥	병해총관리용	㈜씨엠씨코리아
네마스타	총해관리용	㈜비아이지	에코원-에스(S)	총해관리용	㈜에코원

○ 지식재산권현황

- 국내 특허를 대상으로 분석한 결과, 합성화합물을 이용하여 살선충제의 개발에 관한 특허 기술이 매우 활발한 것으로 파악되었음
- 국내의 경우 미생물을 이용한 특허는 9건이 등록되었으며, 미생물 배양액 및 균을 같이 이용한 미생물 개발에 관한 내용이 주를 이루고 있음. 미생물을 이용한 특허의 경우 상대적으로 높은 농도에서 활성을 나타내는 경우가 많음

- 식물인 정향, 플라야애쉬등의 추출물을 이용한 살선충제 개발과 관련된 특허와 식물의 정유 성분을 활용한 특허가 출원되고 있음
- 상기 살선충제를 포함한 생물학적 제제에 관련된 국내 주요 특허권자는 대한민국(21건), 전라남도(14건), 한국화학연구원(13건), 강원도(12건) 및 한국생명공학연구원(8건) 순으로 높은 비중을 차지하고 있으며, 공공기관 또는 기업 출원인이 상위 출원인으로 파악되고 있음
- 국내출원된 특허 중 살균제 및 살충제가 전체의 70%이상으로 높은 비중을 차지하고 있으나 살선충제는 5%내외 비중으로 특허출원이 다소 미진함



<국내 바이오농약기술 분야 특허 출원 점유율>

▶ 국외 기술 수준 및 시장 현황

○ 기술현황

- 미국 캘리포니아 대학 (UC Davis University) 과 노스 캐롤라이나 대학 (North Carolina State University) 의 공동 연구팀이 토양에 서식하는 벌레의 일종으로 전세계적으로 매우 광범위하게 작물에 피해를 주는 해충의 뿌리혹 선충 (Meloidogyne hapla) 의 유전체 지도를 완성하였음
- 미국의 경우 2001년에는 EDEN Bioscience사가 Harpin(생화학 살균제), 2003년에는 Agraquest사가 Serenade(미생물 살균제), 그리고 2004년에는 Jeneil사가 Rhamnolipid(생화학 살균제)의 개발함
- 유전자조작 선충 저항성(genetically modified nematode resistance: GMNR) 식물 개발: 선충사육과 식물에서 흡수하는 단백질 소화를 막는 시스테인 단백질분해효소 억제인자(cystatins)를 과발현시켜 선충에 효용
- 선충의 콜린 신경시스템 표적: 아세틸콜린에스테라아제 또는 니코틴 아세틸콜린 수용기[nAChRs]로의 결합으로 합성 펩티드
- RNAi-기초 이식 유전자를 통한 선충 저항성 품종 개발

○ 시장현황

- 미국의 중소기업체인 Certis-USA사 AgraQuest사 등은 각각 대표 살충·살균제제품들을 보유하여 글로벌 사업을 진행하고 있고, 미국 뿐만 아니라 전 세계의 distributors들을 이용하여 글로벌 사업을 진행하여 바이오농약 시장을 이끌고 있음.
- 유럽의 경우 바이오농약 개발에 많은 시간과 비용이 소요되어 독자적인 개발 기업들보다 바이오농약을 유통 판매하는 기업들이 많으며 최근에는 독성에 대한 자료제출의 요구기준이 높아지고 있는 추세임
- 일본에서는 가켄사, 아그로가네쇼사, SDS사 등이 바이오농약을 개발하는 주요 기업임. 가켄사의

경우 항생제 생산 시스템을 이용한 성공적인 바이오농약 개발 모델을 적용하여 가시적인 성과를 보여주고 있음. 일본 시장에서 바이오농약 규정에 따르는 기술개발이 점차 확대됨에 따라 천적곤충을 이용한 특허 등록수가 증가하고 있는 것으로 알려져 있음

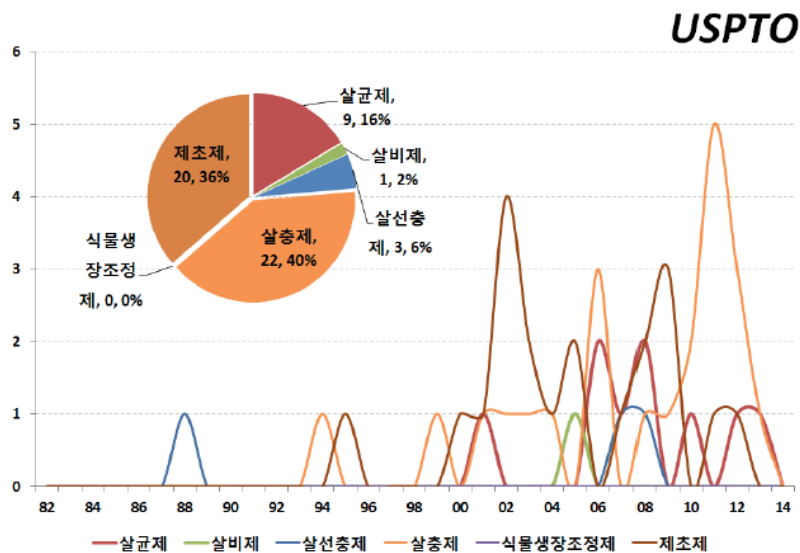
- 중국에서는 2001년부터 국가발전개혁위원회의 생물기술 산업화 프로젝트가 시작되었음. 이러한 생물농약 산업화 개발에는 8,760만 위안을 지원하여 진균제제 산업화가 진행되었으며 길림연변 춘뢰생물제품유한공사에서 담당하였음. 연간 생산 1,000만 위안 이상을 생산하는 생물농약산업 화제품은 2001년에 13개가 되었음.

<식물유래 생물농약>

물질명	유래	활성
Cinnamylaldehyde	<i>Cassia tora</i>	살균제/해충유인제
Fatty acids(Oleic acid)	식물	제초제/살균제/살충제
Jojoba oil	<i>Simmondsia californica</i>	살균제/살충제
<i>Macleaya extract</i>	<i>Macleaya cordata</i>	살균제
Milsana	<i>Reynoutria sachalinensis</i>	살균제

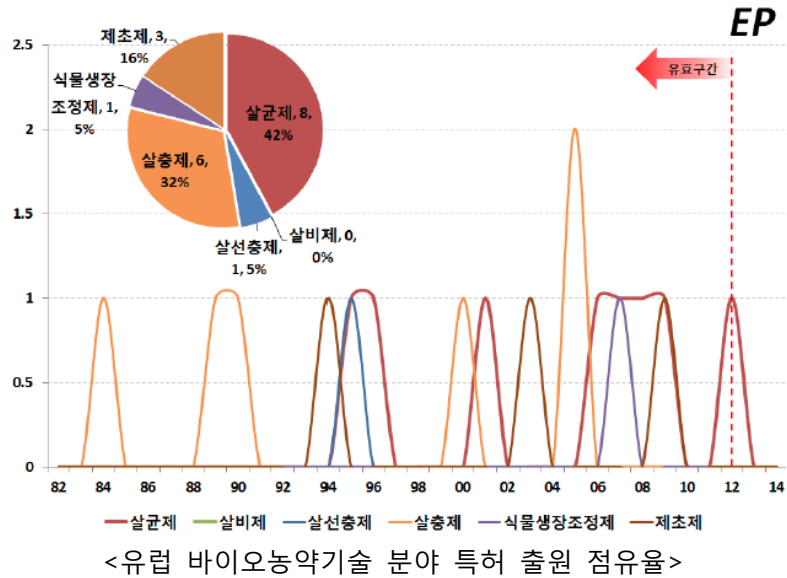
○ 지식재산권현황

- 국외의 경우 주로 선충 저항 유전자 또는 선충 유전자를 이용하여 저항성 재조합 도입을 통하여 뿌리혹선충에 저항성을 나타내는 식물 개발과 관련된 특허가 출원되고 있음
- 미국 특허출원에서 가장 활발한 출원인은 ULTRA BIOTECH LIMITED (7건)이며 Board of Trustees of Michigan State University, COPIER ADVIESBUREAU B.V., COUNCIL OF SCIENTIFIC & INDUSTRIAL RESEARCH, GRAEFE GERNOT, ISAMI FUMIYUKI, Microbes, Inc., National Taiwan University, SDS BIOTECH CORP이 각각 2건씩 출원한 것으로 나타났음. 내국인에 대한 출원이 58%(36건)으로 다소 우세하며 외국 출원인은 유럽(13%)과 한국(10%)의 출원인의 비중이 다소 높은 것으로 나타남.

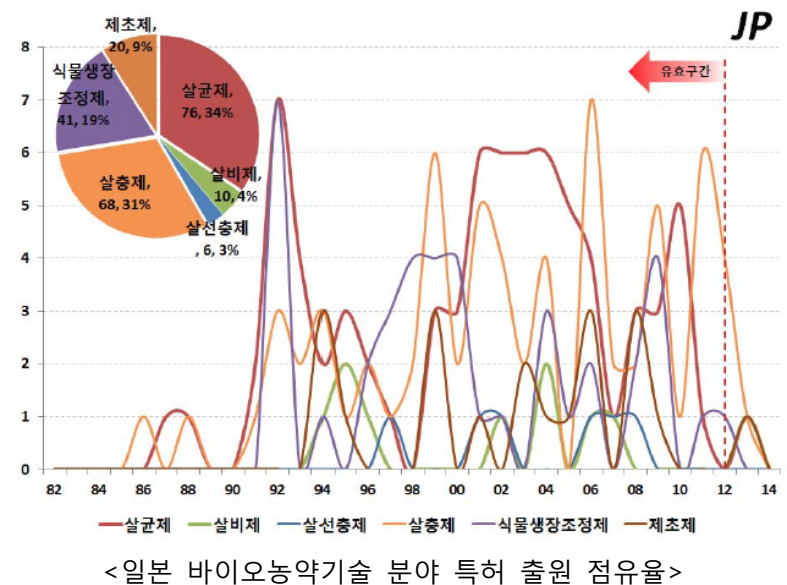


<미국 바이오농약기술 분야 특허 출원 점유율>

- 미국내 출원된 바이오 농약 기술분야에서는 제초제와 살충제가 70%이상의 높은 비중을 차지하고 있으나 살선충제는 6% 미만의 비중을 차지하는 것으로 나타남.



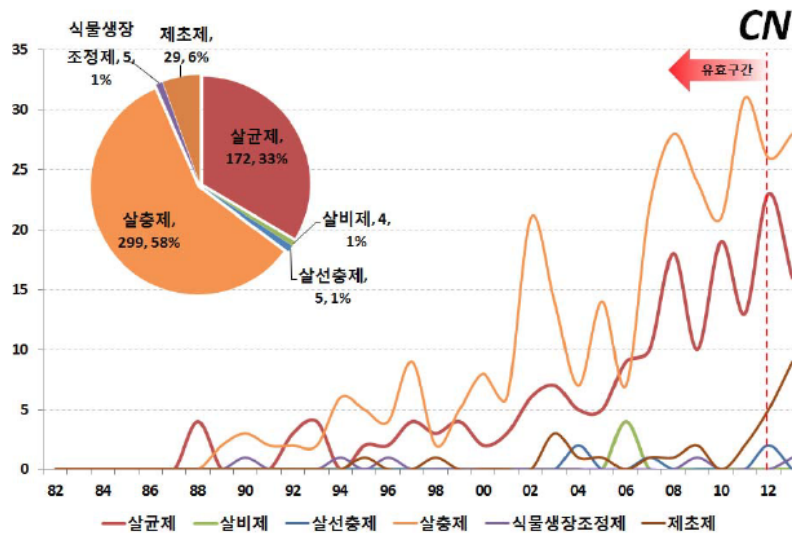
- 유럽 특허출원에서는 Nanjing Agricultural University(3건)이 가장 활발한 출원원이며 각 주요 출원인간의 출원 건수의 차이는 크지 않음. 유럽에서는 유럽인과 비유럽인의 출원인 각각 58%, 42%를 차지하고 있으며 유럽인의 출원이 다소 우세함. 비유럽인의 출원에 있어서 미국(16%)이 가장 높은 비중을 차지하고 있는 것으로 나타났으며 한국과 일본출원인에 의한 특허출원인 미비함.
- 유럽내 출원된 바이오 농약 기술분야에서는 살균제(42%)와 살충제(32%)가 가장 많은 비중을 차지하고 있으며 살선충제는 5%의 비중을 차지하는 것으로 나타남.



- 일본에서는 SUMITOMO가 (9건)으로 특허출원이 가장 활발한 출원인이며 그 외 다 출원인 경우 크게 차이를 보이지 않음. 일본에서는 대다수 일본 출원인이 점유하고 있으며 대부분 기업출원

임.

- 일본내 출원된 바이오 농약 기술분야에서는 살균제(34%)와 살충제(31%)가 가장 높은 비중을 차지하고 있으며 항선충제는 3% 미만의 비중을 차지하는 것으로 나타남.
- 중국에서 특허출원이 가장 활발한 출원인은 Wu Jinfei(39건)이며, 그 다음으로 Qingdao Zhaxi Biotechnology Co., Ltd.이 18건, South China Agricultural University 13건, Beijing University of Agriculture 12건, FUNAN COUNTY JIANSHENGYUAN EDIBLE FUNGUS DEV CO LTD와 Wang Qinghu이 각각 10건인 것으로 나타났음. 중국에서는 내국인의 특허출원(99%)이 외국인의 특허출원에 비해 월등히 높은 점유율을 나타내고 있으며 외국인에 의한 특허출원은 미국과 일본이 3건, 유럽이 2건, 한국이 1건 등으로 미비함.



<중국 바이오농약기술 분야 특허 출원 점유율>

- 중국내 출원된 바이오 농약 기술분야에서는 살충제(58%)와 살균제(33%)가 특허가 대부분이며 살선충제는 1% 미만의 비중을 차지하는 것으로 나타남.
- 국내외 출원된 바이오 농약기술 특허 중, 살충제, 살균제, 제조제 등이 대부분을 차지하며, 살선충제 분야에서의 특허 비중이 대체로 낮음.

1-3. 연구개발 범위

- 미생물 대량생산 공정 개발
 - 온도, 배양시간, 배지, 포자형성 최적화 배양 조건 확립
 - 유효 균수 량과 활성의 상관관계 연구
 - 대량생산 공정별 최적화 연구
- 제형화 및 안정성 확립
 - 액상 및 분말 제품의 안정성 확립
 - 동결보호제, 부형제, 보조제, 기능성 강화 부형제의 선별
 - 동결건조공정의 최적화
 - 제형화 안정성 확립
- 농가현장시험 (소포장시험)
 - 현장시험설계 : 적용작물, 살포시기, 살포횟수, 사용량
 - 효능검증설정 : 작물생육효과, 식물기생선충 방제효능

- 토양 내 미생물상 변화양상 분석
- 재배 식물의 뿌리혹선충 감염여부 분석
- 재배 식물의 수확량 분석
- 기존 유기농약과의 효능차이 분석
- 제품의 인증 및 등록
 - 유효성분에 대한 이화학 시험
 - 작물에 대한 약해 시험
 - 독성시험 (경구, 경피, 피부, 안막, 어독성, 꿀벌)
 - 유효성분 검사
 - 비료 등록 및 유기농자재 인증

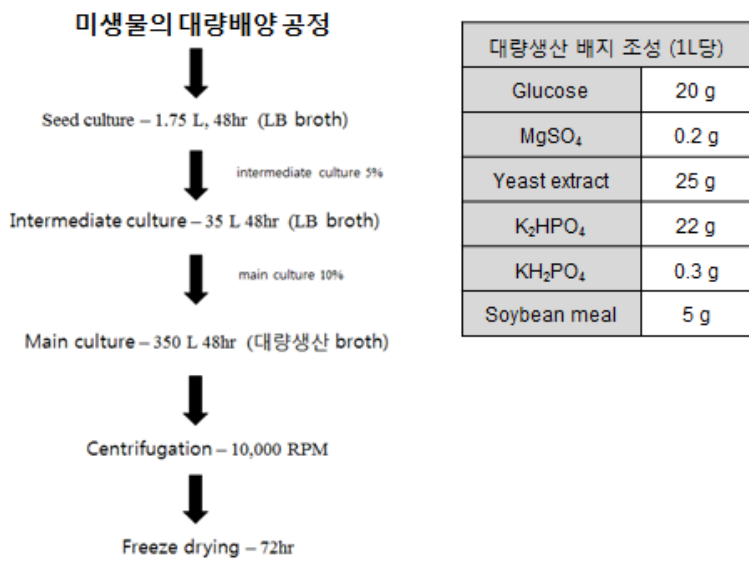
2. 연구수행 내용 및 결과

2-1. 미생물 대량생산조건 확립

- 본 연구개발 진행을 통하여 살선충 미생물에 대한 대량생산 공정을 확립 함
- 미생물 대량배양(350 L)

: 바실러스 KRB-12 와 방선균 KRA-403 균주의 대량배양은 seed culture, intermediate culture, main culture 로 진행하였음.

: LB broth 2.5L에 활성 균주를 접종하여 48시간 seed culture를 진행하였고, intermediate culture 단계에 seed culture 배양액과 LB broth를 혼합하여 50L를 만든 후 48시간 배양하였고, 35L 배양액과 315L LB broth를 혼합하여 48시간 증식 배양하여 350L의 배양액을 제조하였음. Intermediate culture는 seed culture 5%를 접종하고 배양하였고, Main culture는 intermediate culture 10%를 접종하여 배양하였음.




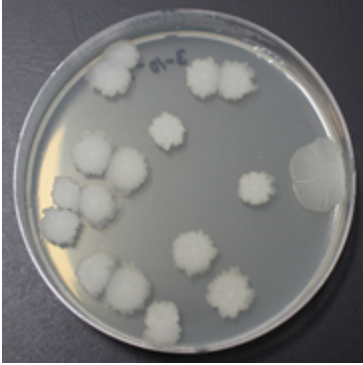
- 두 개의 미생물에 대량 배양 후 배양 시제품은 동결 건조하여 분말 화하였고, 시제품 생산을 위하여 부형제와 혼합하여 효능평가 및 여러 시험과 사업화를 위한 시제품을 대량생산 하였다.



[생산시제품, 가제품명 : 선충바로킬]

2-2. 생산 시제품에 대한 유효 균수 측정

- 연구개발 물질의 경우 유기농업자재 등록을 위한 메인 미생물로서 *Bacillus subtilis* KRB-12를 등록 물질로 선정하였고, 선충제재 시제품 내 메인균수에 대한 균수 측정을 진행하였음.
- 연구실에서 시제품에 함유된 미생물의 균수를 측정한 결과, 1.6×10^{10} cfu/ml로 측정되었음.

시제품(선충바로킬)	유효균 사진	균수
		1.6×10^{10} cfu/ml

- 생산 시제품에 대해서 실험실적 시험을 통하여 균수 측정을 먼저 진행하여 자체 확인을 먼저 진행한 후 강원대학교 친환경인증센터에 의뢰하여 균수 측정에 대한 공인시험성적서를 확보하였음.
- 미생물 시험결과 1.1×10^8 cfu/ml 농도로 측정되었으며 시제품 배양으로 얻어진 콜로니에서 16S rRNA 유전자염기서열 분석 결과 *Bacillus subtilis*로 밝혀졌음.

Sequences producing significant alignments						
Accession	Description	Max score	Total score	Query cover	E value	ident
NR_027552.1	<i>Bacillus subtilis</i> strain DSM10 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2732	2732	100%	0.0	100%
NR_112116.2	<i>Bacillus subtilis</i> strain IAM 12118 16S ribosomal RNA, complete sequence	2726	2726	100%	0.0	99%

③ '썬에드바이오텍 선충바로킬' 내 대표 유효미생물과 동일 형태의 미생물의 유전자 상동성 비교


> Strain EFAP-18-0667-M(1479bp)

Bacillus subtilis strain DSM 10 16S ribosomal RNA gene, partial sequence
Sequence ID: [NR_027552.1](#) Length: 1517 Number of Matches: 1

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
2732 bits(1479)	0.0	1479/1479(100%)	0/1479(0%)	Plus/Plus

Query	Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
1	60	0.0	1479/1479(100%)	0/1479(0%)	Plus/Plus
61	120	0.0	1479/1479(100%)	0/1479(0%)	Plus/Plus
121	180	0.0	1479/1479(100%)	0/1479(0%)	Plus/Plus
181	240	0.0	1479/1479(100%)	0/1479(0%)	Plus/Plus
241	300	0.0	1479/1479(100%)	0/1479(0%)	Plus/Plus
301	360	0.0	1479/1479(100%)	0/1479(0%)	Plus/Plus
361	420	0.0	1479/1479(100%)	0/1479(0%)	Plus/Plus
421	480	0.0	1479/1479(100%)	0/1479(0%)	Plus/Plus

[16S rRNS 염기서열분석결과]

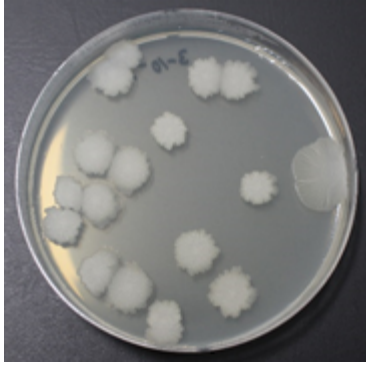
제 EFAP-18-0667-M-1호			
미생물제제 분석성적서			
위탁자	① 성명 (법인명)	㈜에드바이오텍	② 주민등록번호 (법인등록번호)
	③ 주소	강원도 춘천시 동내면 거두단지 1길 39	
공시품	④ 성상	분상	
	⑤ 상표명 (유효미생물)	선충바로킬 (<i>Bacillus subtilis</i>)	
⑥ 제조회사		㈜에드바이오텍	
⑦ 검사방법		1. 유전자 염기서열 상동성 검색을 통한 균주 확인	
⑧ 용도		등록/인증용(신규)	
⑨ 분석항목	유효미생물	분석치 [cfu/mL(g)]	
	<i>Bacillus subtilis</i>	1.1 × 10 ⁸	
1) 본 성적서는 시료를 3반복 분석한 후의 평균값임. 2) 본 성적서는 고객이 제공한 시료를 시험한 결과로써 전체제품에 대한 품질을 보증하지는 않음. 3) 본 성적서의 결과는 광고, 전단, 홍보 및 소송 등의 수단으로 사용하실 수 없음.			
시험책임자		2018년 11월 1일	최은화
(주)친환경농산물안전성센터 			

[미생물 유효균수 측정 시험성적서]

- 미생물동정 시험결과 연구개발 계획대로 유효 미생물이 선행연구와 동일한 결과를 확보 할 수 있었으며, 대량생산 체계를 확립 할 수 있었음.

2-3. 생산 시제품에 대한 안정성 연구 결과

- 선충바로킬 시제품을 대량생산 뒤 장기 보존을 진행하면서 보존 기간 증가에 따른 균수 변화를 측정하였음.
- 시험은 생산시제품을 희석평판법에 의거하여 3반복으로 시험을 진행한 뒤 유효 미생물 콜로니와 동일한 형태의 콜로니를 유효 미생물로 판정하고 계수한 후 평균값을 산출하여 1g당 CFU로 측정하였음.

시제품		균수(CFU/g)
Initial		1.2×10 ⁸
1개월		1.1×10 ⁸
2개월		1.2×10 ⁸
3개월		1.0×10 ⁸
6개월		1.1×10 ⁸
9개월		1.0×10 ⁸



- 시험은 시제품 생산 완료 후 입고된 시험을 Initial 값으로 설정하고, 처음 3개월동안은 매월 측정하였으며, 이후 3개월 간격으로 측정하였음.
- 시험결과 생산 후 9개월까지 생산 시제품에서의 균수의 변화는 없는 것으로 나타났고, 육안적인 변화에도 이상이 없는 것으로 나타났으며, 현재 12개월 시험 진행 예정임.

2-4. 생산 시제품의 유효성 확인(pot 실험)

- 포트에는 멸균된 상토(60 g)를 넣고 미리 2개월간 키운 고추()를 정식 후 뿌리 활착을 위해 2주간 생육시킨 후, 포트묘의 뿌리 부분에 뿌리혹선충의 난낭을 증류수를 이용해 부화시킨 뿌리혹선충(약 1000마리)를 접종하였음.
- 접종 후 7일 후, 바실러스 KRB-12와 방선균 KRA-40 균주가 첨가된 시제품 A와 시중에 판매되고 있는 제품 B를 각각 50, 100, 1000, 2000 배 희석하여 50 mL씩 3주 1회 (총 3회) 단독 처리한 후 방제 효과를 확인하였음.
- 3~4일에 한번 씩 배양액 없이 물만 분주하였으며, 대조군은 배양액을 넣지 않고 물만 넣어주었음.
- 60일 과 90일 후 포트에서 고추모종을 꺼내 뿌리에 붙은 선충의 난낭 개수를 측정하여 선충의 활성을 측정하였음. 시제품 A와 제품 B는 지상부의 생육 및 지하부의 생육에서 큰 차이를 보이지 않았음. 제품 B 2,000배 처리군의 경우, 지하부의 생육 저하에 의해 지상부의 생육도 적게 보였음.



- 60일과 90일 후, 뿌리혹선충 처리군(+)과 무처리군(-)의 뿌리를 살펴보면, 처리군에서 각각 125, 164 개의 뿌리혹선충 난낭 개수를 확인하였음.

	뿌리혹선충 처리군(+)	뿌리혹선충 무처리군(-)
60일		
90일		

- 시제품 A와 제품 B를 비교실험결과(60일 후), 시제품 A처리 군에서는 24개(50배), 31개(100배), 60개(1,000배), 70개(2,000배)의 뿌리혹선충 난당을 확인할 수 있었으며, 제품 B처리 군에서는 49개(50배), 97개(1,000배), 108개(1,000배)의 뿌리혹선충 난당을 확인할 수 있었음. 제품 B와 비교하여 시제품 A는 2~3배의 항선충 활성을 나타내는 것을 확인할 수 있으며, 1,000~2,000배 희석 시에도 유효한 효과를 나타냄을 확인할 수 있음.



- 90일 후, 시제품 A처리 군에서는 36개(100배), 68개(1,000배), 78개(2,000배)의 뿌리혹선충 난당을 확인할 수 있었으며, 제품 B처리 군에서는 109개(100배), 112개(1,000배), 112개(2,000배)의 뿌리혹선충 난당을 확인할 수 있었음. 시제품 A는 100배, 1,000배, 2000배 희석하여 사용 시 각각 약 78%, 58% 및 52%의 항선충 방제 효과를 나타낼 수 있을 것으로 예상됨.



[표] 미생물 처리 전후 뿌리혹선충 난양 변화(pot 실험)

구분	시제품 A		제품 B	
	60일	90일	60일	90일
Negative control	-	-	-	-
Control	125	164	125	164
50배 희석	24	-	49	-
100배 희석	31	36	97	109
1,000배 희석	60	68	108	112
2,000배 희석	70	78	-	112

- 90일 후, 토양 내 미생물의 균수를 측정된 결과, 제품 B와 비교하여 시제품A에서는 미생물의 균수가 10배 이상 차이가 나는 것을 확인하였음. 미생물 동정 결과 시제품 A에서는 바실러스 서브틸러스를 확인하였음.

Treatments	미생물 균수 (1g)	
	시제품 A	제품 B
Negative control	4.1±1.2×10 ⁴	
Control	2.3±1.2×10 ⁵	
50 배 희석	5.5±1.2×10 ⁷	2.0±1.2×10 ⁶
100배 희석	2.8±1.2×10 ⁷	1.2±1.2×10 ⁶
1,000배 희석	1.4±1.2×10 ⁶	3.7±1.2×10 ⁵
2,000배 희석	3.4±1.2×10 ⁶	7.5±1.2×10 ⁵

2-5. 생산 시제품의 유효성 확인(약해 효과)

- 시험방법

가. 시험약제 : 선충바로킬

나. 시험작물(품종) : 수박(백마강), 복수박(아롱복)

다. 처리내용

시 험 약 제	주원료 투입량(%)	약 해 시 험		
		기준량	배량	처리시기 및 방법
선충바로킬	미생물 100	1,000배 (2,000ℓ/660m ²)	500배 (2,000ℓ/660m ²)	정식 14일후 토양관주처리 (3/15, 5/17)
무 처 리	-	-	-	-

라. 경종개요:

○ 수박: 시설재배. 조숙재배. 3월 1일 200×50cm 간격으로 정식함.

○ 복수박: 4월 5일 파종하였으며, 파종 28일 후 pot(1/5,000a)에 정식하였음(5/3).

마. 시험구배치 및 면적 : 수박_난괴법 3반복

구분		처리수	반복수	총구수	구당면적(pot)	소요면적(pot)
약 해	수박	3	3	9	5m ²	45m ²
	복수박	3	3	9	5pot	45pot

바. 약제살포 전후 기상상황: 약해에 영향을 미칠만한 기상변화는 없었음(시설하우스).

- 조사 방법

구 분	조사항목	조사횟수	조사일자	조사방법
약 해	약해유무	3회	수박: 3/18, 3/22, 3/29 복수박: 5/20, 5/24, 5/31	약제처리 3, 7, 14일 후 외관상 나타나는 약해유무 달관조사

- 시험성적(약제처리 3, 7, 14일 후)

시험약제	시험작물 (품종)	약해정도(0~5)		비고
		기준량	배량	
선충바로킬	수박 (백마강, 아롱복)	0	0	약해없음

- 결과요약

: 시험약제는 수박(백마강), 복수박(아롱복)에 대한 약해시험 결과 기준량, 배량에서 외관상 나타난 약해 증상은 없었음.

: 시험약제는 수박(백마강), 복수박(아롱복)에 대하여 기준량, 배량에서 약해가 없어 유기농업자재로 실용성이 있을 것으로 판단됨.



2-6. 선충바로킬의 참외 뿌리혹선충 약제방제 효과(지역: 경북 안동)

2-6-1. 참외 뿌리혹선충 약제방제 효과

- 시험방법

가. 농촌진흥청 고시'농약의 등록기준 약효 및 약해 시험기준과 방법'에 준함.

나. 대상해충: 뿌리혹선충류(*Meloidogyne* spp.)

다. 시험작물(품종): 참외(부자꿀)

라. 대상해충 발생상황: 참외 뿌리혹선충은 약제처리 전 무처리 평균 생충수는 105.3마리로 약효를 검정하기에 충분하였음.

마. 처리내용

시 험 약 제	주원료 투입량(%)	약 해 시 험		
		기준량	배량	처리시기 및 방법
선충바로킬	미생물 100	1,000배 (2,000ℓ/660m ²)	500배 (2,000ℓ/660m ²)	정식 14일후 토양관주처리 (3/15, 5/17)
무 처 리	-	-	-	-

바. 경종개요: 시설재배. 반촉성재배. 2019년 3월 1일 200×50cm 간격으로 정식함. 시험기간 동안에 타 살충제는 살포하지 않았음.

사. 시험구배치 및 면적: 난괴법 3반복

구 분	처리수	반복수	총구수	구당면적	소요면적
약 효	2	3	6	10m ²	60m ²

아. 약제살포 전후 기상상황: 약효에 영향을 미칠만한 기상변화는 없었음(시설하우스).

- 조사방법

구 분	조사항목	조사횟수	조사일자	조사방법
약 효	생충률	2회	3/15, 5/24	약제처리 전 및 최종약제처리 60일 후 구당 토양 100cm ³ 내 선충수 조사
	뿌리혹지수	1회	5/24	최종약제처리 60일 후 채취한 뿌리를 경시적으로 관찰하여 형성 등급기준에 따라 뿌리혹지수 조사

- 시험성적

가. 약효시험

○ 참외 뿌리혹선충에 대한 약제방제 효과(최종약제처리 후 60일차)

시험약제	약제처리전 밀도(마리)	생충률(%)				유의차 (DMRT)	방제가 (%)
		I 반복	II 반복	III 반복	평 균		
선충바로킬	117.7	207.5	267.5	293.3	256.1	b	51.1
무 처 리	105.3	511.9	566.2	491.5	523.2	a	-

C.V.(%)

(10.8)

○ 무처리 뿌리혹지수(최종약제처리 후 60일차)

시험약제	뿌리혹지수(0~10)			
	I 반복	II 반복	III 반복	평균
무처리	5.2	5.6	5.6	5.5

- 결과요약

○ 시험약제는 방제가 51.1%의 방제효과를 보였음.

2-6-2. 참외 약해시험

- 시험방법

가. 시험약제 : 선충바로킬

나. 시험작물(품종) : 참외(부자꿀)

다. 처리내용

시 험 약 제	주원료 투입량(%)	약 해 시 험		
		기준량	배량	처리시기 및 방법
선충바로킬	미생물 100	1,000배 (2,000ℓ/660m ²)	500배 (2,000ℓ/660m ²)	정식 14일후 토양관주처리(3/15)
무 처 리	-	-	-	-

라. 경증개요:

○ 참외: 시설재배. 반촉성재배. 2019년 3월 1일 200×50cm 간격으로 정식함.

마. 시험구배치 및 면적 : 난괴법 3반복

구분	처리수	반복수	총구수	구당면적	소요면적
약 해	3	3	9	5m ²	45m ²

바. 약제살포 전후 기상상황: 약해에 영향을 미칠만한 기상변화는 없었음(시설하우스).

- 조사 방법

구 분	조사항목	조사횟수	조사일자	조사방법
약 해	약해유무	3회	3/18, 3/22, 3/29	약제처리 3, 7, 14일 후 외관상 나타나는 약해유무 달관조사

- 시험성적(약제처리 3, 7, 14일 후)

시험약제	시험작물 (품종)	약해정도(0~5)		비고
		기준량	배량	
선충바로킬	참외 (부자꿀)	0	0	약해없음

- 결과 요약

○ 시험약제는 참외(부자꿀)에 대한 약해시험 결과 기준량, 배량에서 외관상 나타난 약해증상은 없었음.



2-7. 선충바로킬의 참외 뿌리혹선충 억제방제 효과(지역: 충북 음성)

2-7-1. 참외 뿌리혹선충 억제방제 효과

- 시험방법

- 가. 농촌진흥청 고시'농약의 등록기준 약효 및 약해 시험기준과 방법'에 준함.
- 나. 대상해충: 뿌리혹선충류(*Meloidogyne* spp.)
- 다. 시험작물(품종): 참외(참사랑)
- 라. 대상해충 발생상황: 참외 뿌리혹선충은 약제처리 전 무처리 평균 생충수는 97.3마리로 약효를 검정하기에 충분하였음.
- 마. 처리내용

시험약제	주원료 투입량(%)	약효시험	
		희석배수 및 사용량	처리시기 및 방법
선충바로킬	미생물 100	1,000배 (2,000ℓ/660m ²)	정식 14일후 10일간격 2회 토양관주처리(3/15, 3/25)
무 처리	-	-	-

바. 경종개요: 시설재배. 반축성재배. 2019년 3월 1일 200×50cm 간격으로 정식함. 시험기간 동안에 타 살충제는 살포하지 않았음.

사. 시험구배치 및 면적: 난괴법 3반복

구 분	처리수	반복수	총구수	구당면적	소요면적
약 효	2	3	6	10m ²	60m ²

아. 약제살포 전후 기상상황: 약효에 영향을 미칠만한 기상변화는 없었음(시설하우스).

- 조사방법

구 분	조사항목	조사횟수	조사일자	조사방법
약 효	생충률	2회	3/15, 5/24	약제처리 전 및 최종약제처리 60일 후 구당 토양 100cm ³ 내 선충수 조사
	뿌리혹지수	1회	5/24	최종약제처리 60일 후 채취한 뿌리를 경시적으로 관찰하여 형성 등급기준에 따라 뿌리혹지수 조사

- 시험성적

가. 약효시험

○ 참외 뿌리혹선충에 대한 약제방제 효과(최종약제처리 후 60일차)

시험약제	약제처리전 밀도(마리)	생충률(%)				유의차 (DMRT)	방제가 (%)
		I 반복	II 반복	III 반복	평 균		
선충바로킬	86.3	157.7	153.4	112.2	141.1	b	53.1
무 처 리	97.3	339.4	288.5	275.0	301.0	a	-

C.V.(%)

(7.5)

○ 무처리 뿌리혹지수(최종약제처리 후 60일차)

시험약제	뿌리혹지수(0~10)			
	I 반복	II 반복	III 반복	평균
무처리	4.4	4.0	4.6	4.3

- 결과요약

○ 시험약제는 방제가 53.1%의 방제효과를 보였음.

2-7-2. 참외 약해시험

- 시험방법

가. 시험약제 : 선충바로킬

나. 시험작물(품종) : 참외(참사랑)

다. 처리내용

시 험 약 제	주원료 투입량(%)	약 해 시 험		
		기준량	배량	처리시기 및 방법
선충바로킬	미생물 100	1,000배 (2,000 ℓ /660 m^2)	500배 (2,000 ℓ /660 m^2)	정식 14일후 양관주처리 (3/15)
무 처 리	-	-	-	-

라. 경증개요:

○ 참외: 시설재배. 반측성재배. 2019년 3월 1일 200×50cm 간격으로 정식함.

마. 시험구배치 및 면적 : 난괴법 3반복

구분	처리수	반복수	총구수	구당면적	소요면적
약 해	3	3	9	5m ²	45m ²

바. 약제살포 전후 기상상황: 약해에 영향을 미칠만한 기상변화는 없었음(시설하우스).

- 조사 방법

구 분	조사항목	조사횟수	조사일자	조사방법
약 해	약해유무	3회	3/18, 3/22, 3/29	약제처리 3, 7, 14일 후 외관상 나타나는 약해유무 달관조사

- 시험성적(약제처리 3, 7, 14일 후)

시험약제	시험작물 (품종)	약해정도(0~5)		비고
		기준량	배량	
선충바로킬	참외 (참사랑)	0	0	약해없음

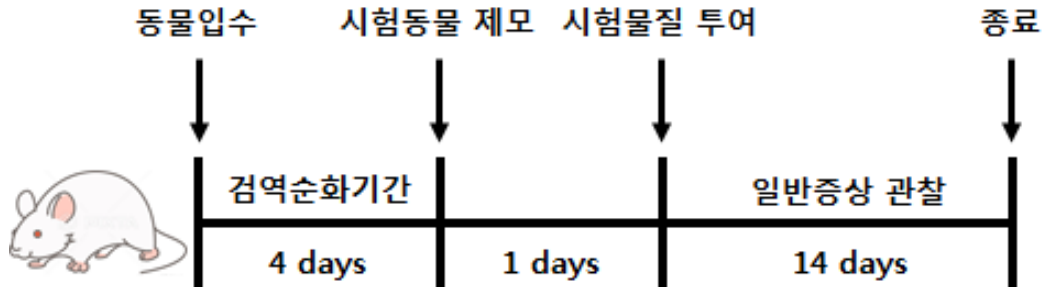
- 결과요약

○ 시험약제는 참외(참사랑)에 대한 약해시험 결과 기준량, 배량에서 외관상 나타난 약해증상은 없었음.



2-8. 독성평가

- 랫드에 대한 선충바로킬의 급성경피독성시험을 통하여 유기농업자재 공시에 관한 기초자료로 활용하고자 하며 “농약 및 원제의 등록기준” [별표 12] 인축독성시험 기준과 방법 (농촌진흥청고시 제 2018-20호)에 준하여 실시함



2-8-1. 랫드에 대한 선충바로킬의 급성경피독성시험(ETP-18042)

- 일반중독증상 및 치사동물

: 선충바로킬을 개체당 처리약량 1.0×10^8 cfu로 경피 노출한 결과, 생존한 모든 개체에서 특이한 일반중독증상은 관찰되지 않았으며 치사개체도 관찰되지 않음.

Table 1. Mortality and clinical signs

Group	Dose (cfu/mL)	Sex	Number of animals	Clinical signs	Mortality (dead / total)	LD ₅₀
1	1.0×10^8	Male	5	No abnormality detected	0% (0 / 5) ^a	> 1.0×10^8 cfu
2	1.0×10^8	Female	5	No abnormality detected	0% (0 / 5)	

a : Number of Death animals / Number of tested animals

- 체중변화

: 모든 시험동물의 체중은 약제투여 후 경과 일에 따라 증가추세를 보임.

Table 2. Mean body weights

Group	Dose (cfu/mL)	Sex	Number of animals	Days after administration (g)		
				0	7	14
1	1.0×10^8	Male	5	257.8 ± 3.3 ^a	299.6 ± 7.2	349.6 ± 13.0
2	1.0×10^8	Female	5	215.6 ± 8.8	240.4 ± 4.2	252.6 ± 9.7

a : Mean ± standard deviation

- 반수치사약량(LD₅₀)

: 랫드에 대한 선충바로킬의 급성경피독성시험 시험 결과, 랫드에 선충바로킬을 개체당 1.0×10^8 cfu 씩 단회 경피 투여 시 영향이 없는 것으로 판단됨.

2-8-2. New Zealand White계 토끼에 대한 선충바로킬의 안점막자극성시험(ETE-18046)

- 일반중독증상 및 치사동물 수

: 모든 시험동물에 있어서 어떠한 일반증상도 관찰되지 않았으며, 치사동물 또한 발견되지 않음.

Table 1. Mortality and clinical signs

Group	No. of treatment	Days after application					Mortality
		1 hr	24 hr	48 hr	72 hr	7 Day	
No eye washed	1	NOR ^a	NOR	NOR	NOR	NOR	0/3 ^b
	2	NOR	NOR	NOR	NOR	NOR	
	3	NOR	NOR	NOR	NOR	NOR	

a : Normal

b : Number of dead animals/Number of tested animals

- 체중변화

: 초기시험 후 어떠한 자극성도 관찰되지 않아 이후 동일한 방법으로 확인시험을 진행하였고 초기시험 및 확인시험의 안반응 평가 결과는 다음 표와 같음.

Table 2. Body weight changes

Group	Animal. No.	Days after application (g)				
		0 hr	48 hr	72 hr	7 Day	Gain
No eye washed	1	2041	2147	2212	2254	213.0
	2	2300	2381	2446	2475	175.0
	3	2174	2205	2252	2275	101.0
Mean		2171.7	2244.3	2303.3	2334.7	163.0
S.D. ^a		129.5	121.9	125.2	122.0	-

a : Standard Deviation

- 안반응의 평가

1. 무처리 대조군인 우안에서는 어떠한 자극성도 관찰되지 않았고 1 시간부터 7 일째 관찰 시까지, 시험물질 처리군에서 결막의 발적 및 부종에 대한 자극증상과 배출물이 관찰되지 않음(비세척군 -1 (초기시험)).
2. 무처리 대조군인 우안에서는 어떠한 자극성도 관찰되지 않았고 1 시간부터 7 일째 관찰 시까지, 시험물질 처리군에서 결막의 발적 및 부종에 대한 자극증상과 배출물이 관찰되지 않음(비세척군 -2 (확인시험 1)).
3. 무처리 대조군인 우안에서는 어떠한 자극성도 관찰되지 않았고 1 시간부터 7 일째 관찰 시까지, 시험물질 처리군에서 결막의 발적 및 부종에 대한 자극증상과 배출물이 관찰되지 않음(비세척군 -3 (확인시험 2)).

Table 3. No eyes washed evaluation of eye irritation (Non-treatment)

Time	Animal No.	Cornea		Iris (C)	Conjunctiva			I.O.I. ^{a)}	M.O.I. ^{b)}	A.O.I. ^{c)}
		Degree of opacity (A)	Diffuse-areas of Opacity (B)		Redness (D)	Edema (E)	Lacrime (F)			
1 hr	1	0	0	0	0	0	0	0.0	0.0	
	2	0	0	0	0	0	0			
	3	0	0	0	0	0	0			
24 hr	1	0	0	0	0	0	0	0.0		
	2	0	0	0	0	0	0			
	3	0	0	0	0	0	0			
48 hr	1	0	0	0	0	0	0	0.0		
	2	0	0	0	0	0	0			
	3	0	0	0	0	0	0			
72 hr	1	0	0	0	0	0	0	0.0		
	2	0	0	0	0	0	0			
	3	0	0	0	0	0	0			
7 day	1	0	0	0	0	0	0	0.0		
	2	0	0	0	0	0	0			
	3	0	0	0	0	0	0			

a : I.O.I. (Individual Ocular Irritation) = (A × B × 5) + (C × 5) + (D + E + F) × 2
 b : M.O.I. (Mean Ocular Irritation)
 c : A.O.I. (Acute Ocular Irritation) = the maximum value of M.O.I.

Table 4. No eyes washed evaluation of eye irritation (Treatment)

Time	Animal No.	Cornea		Iris (C)	Conjunctiva			I.O.I. ^{a)}	M.O.I. ^{b)}	A.O.I. ^{c)}
		Degree of opacity (A)	Diffuse-areas of Opacity (B)		Redness (D)	Edema (E)	Lacrime (F)			
1 hr	1	0	0	0	0	0	0	0.0	0.0	
	2	0	0	0	0	0	0			
	3	0	0	0	0	0	0			
24 hr	1	0	0	0	0	0	0	0.0		
	2	0	0	0	0	0	0			
	3	0	0	0	0	0	0			
48 hr	1	0	0	0	0	0	0	0.0		
	2	0	0	0	0	0	0			
	3	0	0	0	0	0	0			
72 hr	1	0	0	0	0	0	0	0.0		
	2	0	0	0	0	0	0			
	3	0	0	0	0	0	0			
7 day	1	0	0	0	0	0	0	0.0		
	2	0	0	0	0	0	0			
	3	0	0	0	0	0	0			

a : I.O.I. (Individual Ocular Irritation) = (A × B × 5) + (C × 5) + (D + E + F) × 2
 b : M.O.I. (Mean Ocular Irritation)
 c : A.O.I. (Acute Ocular Irritation) = the maximum value of M.O.I.

- 자극성의 판정

: 초기시험과 확인시험을 안반응 평가표에 의해 안점막자극정도를 평가하여 급성안자극지수 (A.O.I.)를 산출한 결과, A.O.I.는 "0.0"이었다. 이상의 시험결과, New Zealand White계 토끼에 대한 선충 바로킬의 안점막자극성시험에서 자극성은 [안점막자극표]에 의거 "없음"로 구분

2-8-3. New Zealand White계 토끼에 대한 선충바로킬의 피부자극성시험(ETD-18047)

- 일반중독증상 및 치사동물 수

: 모든 시험동물에 있어서 어떠한 일반증상도 관찰되지 않았으며, 치사동물 또한 발견되지 않음.

Table 1. Mortality and clinical signs

Number of animals	Days after treatment				Mortality
	0	1	2	3	
1	NOR ^{a)}	NOR	NOR	NOR	0/3 ^{b)}
2	NOR	NOR	NOR	NOR	
3	NOR	NOR	NOR	NOR	

a : Normal
 b : Number of dead animals/Number of tested animals

- 체중변화 (Table 2.)

: 시험물질 처리직전, 처리 후 48시간, 72시간에 개체별 체중을 측정하여 결과, 시간이 경과함에 따라 증가추세를 보임.

Table 2. Body weight changes

Number of animals	Days after treatment (g)			
	0	2	3	Gain
1	2263	2280	2286	23.0
2	1970	2013	2020	50.0
3	1984	2011	2032	48.0
Mean	2072.3	2101.3	2112.7	40.3
S.D. ^a	165.3	154.7	150.2	-

a : Standard Deviation

- 피부반응의 평가

: 초기시험 시 동물에 각각 3분, 1시간, 4시간 후 첩포를 제거한 뒤 피부 반응 관찰 시 증상이 관찰되지 않았다. 따라서 4시간 첩포를 기준으로 시험물질 노출 종료 후 1, 24, 48 및 72시간에 피부반응평가표를 이용하여 피부반응을 관찰한 결과, 시험물질 처리 후 홍반 및 부종 등의 어떠한 피부반응도 관찰되지 않았고 이후 동일한 방법으로 확인시험을 진행하였으며 확인시험에서 1시간 관찰 시 2, 3번 개체에서 가벼운 홍반이 관찰되었으며, 24시간 관찰 시 모든 증상이 소실됨.

Table 3. Evaluation of skin irritation

Phases ^a	Number of animals	Sites	Days after treatment			
			0	1	2	3
Erythema & Eschar	1	Control sites	0	0	0	0
		Test sites	0	0	0	0
	2	Control sites	0	0	0	0
		Test sites	1	0	0	0
	3	Control sites	0	0	0	0
		Test sites	1	0	0	0
Edema	1	Control sites	0	0	0	0
		Test sites	0	0	0	0
	2	Control sites	0	0	0	0
		Test sites	0	0	0	0
	3	Control sites	0	0	0	0
		Test sites	0	0	0	0

a : Time after topical treatment

- 자극성의 판정 (Table 4.)

: 초기시험과 확인시험을 피부반응평가표에 의해 1차 피부자극지수 (Primary Irritation Index, P.I.I.)를 산출한 결과, P.I.I.는 "0.3" 이었고 피부 1차 자극표에 의해 자극성을 구분하면 "없음" 으로, 이상의 결과로부터 선충바로킬은 New Zealand White계 토끼의 피부에 처리 시 자극성이 없는 물질로 구분됨.

Table 4. Calculation of P.I.I. value

Sites	Control sites				Test sites			
	Erythema & Eschar		Edema		Erythema & Eschar		Edema	
Phases ^a	24 hr	72 hr	24 hr	72 hr	24 hr	72 hr	24 hr	72 hr
1	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	1	0	0	0
3	0	0	0	0	1	0	0	0
Total	0	0	0	0	2	0	0	0
Mean	0.0	0.0	0.0	0.0	0.7	0.0	0.0	0.0
Sum ^b	0.0				0.7			
P.I.I. ^c	0.0				0.3			

a : Time after topical treatment

b : Sum of means at 24 and 72hr

c : P.I.I. (Primary Irritation Index) = Total/2

2-8-4. 선충바로킬의 랫드에 대한 급성경구독성/병원성시험(ETO-18058)

- 일반중독증상 및 치사동물

: 본 시험에서 경구 투여 후 일반중독증상은 관찰되지 않았으며, 치사동물은 없었음.

Appendix 1. 시험기간중 시험생물 치사 및 중독증상

구분	성별	시험생물수	치사수	중독증상
시험군 (1.0×10^8 cfu/개체 투여군)	수컷	12	0	N.D. ^a
	암컷	12	0	N.D.
대조군 (비투여군)	수컷	8	0	N.D.
	암컷	8	0	N.D.

a : Not Detected

- 체중변화

: 체중은 암·수 모두에서 시험기간 동안 증가함.

Appendix 2. 시험생물체중변화

(단위 : g)

구분	성별	투여 후 경과일수				
		투여전	3일	7일	14일	21일
시험군 (1.0×10^8 cfu/개체 투여군)	수컷	243.0 ± 6.2 ^a	267.3 ± 8.2	313.3 ± 13.7	341.7 ± 19.0	390.0 ± 19.0
	마리수	12	12	9	6	3
	암컷	202.7 ± 5.1	214.0 ± 8.2	223.3 ± 10.6	236.7 ± 4.8	249.7 ± 13.5
	마리수	12	12	9	6	3
대조군 (비투여군)	수컷	243.8 ± 6.5	277.1 ± 7.6	311.0 ± 11.9	350.5 ± 5.6	390.5 ± 0.7
	마리수	8	8	8	8	8
	암컷	205.5 ± 5.9	215.1 ± 9.1	224.7 ± 7.2	233.8 ± 10.9	245.5 ± 10.6
	마리수	8	8	6	4	2

a : Mean ± standard deviation

- 부검소견

: 각 부검군별 3일, 7일, 14일 및 21일째에 CO2로 마취시켜 각 주요 장기에 대한 육안적 관찰을 실시한 결과 약제투여에 의한 특이한 이상증상은 관찰되지 않음.

Appendix 3. 부검 후 육안적 관찰소견

구분	성별	시험생물수	부검소견
시험군 (1.0×10^8 cfu/개체 투여군)	수컷	12	N ^a
	암컷	12	N
대조군 (비투여군)	수컷	8	N
	암컷	8	N

a : Normal

- 미생물 체외 배출상황

: 시험물질 투여 후 1일, 3일, 7일 및 14일째에 대변을 채취하여 체외 배출 미생물수를 측정하고, 7일째까지 대변에서 미생물이 검출되었으나 이후 미생물이 검출되지 않음.

- 미생물 체내 잔존상황

: 시험물질 투여 후 3일, 7일, 14일 및 21일째에 부검하여 신장, 뇌, 간장, 폐, 비장, 위, 혈액, 임파절에서의 미생물 수를 측정하고, 위에서 미생물이 검출되지 않음.

Appendix 4. 미생물 관찰

장기	투여 후 경과일									
	시험군 (1.0×10 ⁸ cfu/개체 투여군)					대조군 (비투여군)				
	1	3	7	14	21	1	3	7	14	21
대변	D. ^a	D.	D.	N.D.	-	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	-
신장	-	N.D. ^b	N.D.	N.D.	N.D.	-	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
뇌	-	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	-	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
간장	-	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	-	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
폐	-	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	-	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
비장	-	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	-	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
위	-	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	-	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
혈액	-	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	-	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
임파절	-	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	-	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

a : Detected
b : Not Detected

Appendix 13. 대변중의 미생물수

(단위 : cfu/ml)

성별	No. ^a	투여 후 경과일									
		시험군 (1.0×10 ⁸ cfu/개체 투여군)					대조군 (비투여군)				
		1 (10 ⁸) ^b	3 (10 ⁸)	7 (10 ⁸)	14 (10 ⁸)	21 (10 ⁸)	No.	1 (10 ⁸)	3 (10 ⁸)	7 (10 ⁸)	14 (10 ⁸)
수컷	1101	67	-	-	-	-	3101	N.D.	-	-	-
	1102	71	-	-	-	-	3102	N.D.	-	-	-
	1103	62	-	-	-	-	3203	-	N.D.	-	-
	1204	-	3	-	-	-	3204	-	N.D.	-	-
	1205	-	N.D.	-	-	-	3305	-	-	N.D.	-
	1206	-	N.D.	-	-	-	3306	-	-	N.D.	-
	1307	-	-	-	N.D.	-	3407	-	-	-	N.D.
	1308	-	-	-	N.D.	-	3408	-	-	-	N.D.
	1309	-	-	-	N.D.	-	-	-	-	-	-
	1410	-	-	-	-	N.D.	-	-	-	-	-
	1411	-	-	-	-	N.D.	-	-	-	-	-
	1412	-	-	-	-	N.D.	-	-	-	-	-
암컷	2101	37	-	-	-	-	4101	N.D.	-	-	-
	2102	87	-	-	-	-	4102	N.D.	-	-	-
	2103	86	-	-	-	-	4203	-	N.D.	-	-
	2204	-	N.D.	-	-	-	4204	-	N.D.	-	-
	2205	-	1	-	-	-	4305	-	-	N.D.	-
	2206	-	N.D.	-	-	-	4306	-	-	N.D.	-
	2307	-	-	-	N.D.	-	4407	-	-	-	N.D.
	2308	-	-	-	224	-	4408	-	-	-	N.D.
	2309	-	-	-	23	-	-	-	-	-	-
	2410	-	-	-	-	N.D.	-	-	-	-	-
	2411	-	-	-	-	N.D.	-	-	-	-	-
	2412	-	-	-	-	N.D.	-	-	-	-	-

a : 동물번호
b : 희석수
c : Not Detected

- 이상의 시험결과, 선충바로킬의 랫드에 대한 단회 경구 투여 시 장기(위)에서 미생물이 검출되지 않았으며 대변에서는 7일째까지 미생물이 검출되었고 이후 미생물이 검출되지 않았음
- 따라서 선충바로킬의 1.0×10⁸ cfu 단위에 해당하는 미생물을 랫드에 단회 경구 투여 시 주요 장기(위)에서 잔존 하지 않았으며 시험 종료 시까지 증독증상 및 치사가 없는 것으로 보아 급성독성으로 인한 영향은 없는 것으로 판단됨.

2-8-5. 선충바로킬의 담수어류 (잉어, *Cyprinus carpio*)에 대한 영향시험(ETF-18070)

- 치사개체 및 이상증상
 - : 노출기간 30일 동안 반치사식으로 실시한 결과 7.3×10⁵ cfu/mL 농도군에서 2일차에 30마리의 치사개체가 관찰되었고, 7.3×10⁴ cfu/mL 농도군에서 2일차에 15마리, 3일차에 21마리의 누적치사가 관찰되었다. 7.3×10³ cfu/mL 농도군에서는 시험 종료시까지 치사개체가 관찰되지 않았다. 각 농도군의 생존한 개체에서는 시험기간 중 어떤 증독증상도 관찰되지 않았음.
- 병리검사
 - : 시험기간 중 치사나 병원성을 보인 개체는 치사가 발견된 당일 시험생물 조직을 Homogenizer 로 분쇄한 후 멸균 증류수로 희석하여 미리 준비한 Nutrient Agar plate에 도말한 후 30°C에서 24시간 배양하여 미생물 수를 육안으로 측정한 결과, 아가미, 간, 부레 등의 조직에서 해당 미생물이 관찰되지 않았음. 시험 종료 후 생존한 전 개체에 대해 부검하여 육안으로 미생물 감염여부를 실시한 결과 아가미, 장기 및 근육에 대해 대조군과 비교 하였을 때 육안상 차이를 발견할 수 없었음.
- 영향시험결과
 - : 선충바로킬의 담수어류(잉어, *Cyprinus carpio*)에 대한 30일 동안 최대무작용량(NOEC)은 7.3×10⁴ cfu/mL이었고, 반수치사농도(LC50)는 7.3×10³~7.3×10⁴ cfu/mL 사이로 확인되었음.

2-9. 유기농업자재등록을 위한 안전성, 약해시험, 이화적 시험 진행

- 국립농산물품질관리원 유기농업자재정보시스템에 따르면, 유기농업자재인증을 위하여 아래표와 같이 시험성적서 및 자료를 구비하여 신청을 진행하여야 함.
- 병충해 관리에는 공시제품과 품질인증제품으로 나뉘며 공시의 경우 표기사항체 유기농업자재 표시는 가능하나, 약효에 대한 표기는 할 수 없기 때문에, 약효 시험을 진행하여 품질인증 제품을 신청하고자 하였음.
- 가이드 라인에 따라 미생물제재의 동정, 유해물질시험 약해 시험 독성시험을 각각 진행하였음.
- 미생물 동정, 유해물질시험, 약해 시험은 강원대학교 친환경농산물안전성센터에서 진행하였고, 독성 시험의 경우 한국생물안전성연구소에서 진행하였음.

[표] 유기농업자재 인증관련 신청서류 목록 표

제출서류	토양개량·작물생육		병해충 관리	
	공시	품질인증	공시	품질인증
1. 원료의 특성 등에 관한 자료	○	○	○	○
2. 이화학(미생물검정) 검사성적서				
가. 유효성분				
① 유효성분 검사성적서 및 분석방법	○	○	○	○
② 미생물동정 검사성적서	○	○	○	○
③ 천적 검사성적서	○	○	○	○
④ 유효성분에 대한 보증 성분량		○		○
나. 유해성분				
① 유해중금속 검사성적서	○	○		
② 병원성미생물 검사성적서	○	○	○	○
③ 항생물질 검사성적서	○	○		
3. 식물에 대한 시험성적서 -진행중				
가. 유식물 비해(肥害) 시험성적서	○	○		
나. 비효·비해 시험성적서		○		
다. 유식물 약해(藥害) 시험성적서 -접수완료			○	○
라. 약효·약해 시험성적서				○
4. 독성에 대한 시험성적서 - 접수완료 진행중, 진행중				
가. 인축독성시험서	△	△	○	○
나. 환경독성시험성적서	△	△	○	○
5. 제조공정, 품질관리 등에 대한 자료(원료 및 제품)				
가. 제조공정	○	○	○	○
나. 품질관리	○	○	○	○
6. 포장지 표기사항에 관한 자료	○	○	○	○
7. 시료 500g(mℓ). 다만 병해충관리 시료는 100g(mℓ)	○	○	○	○
8. 그 밖에 농촌진흥청장이 정하여 고시하는 서류 및 시험성적서	○	○	○	○

1) 이화학 검사성적서 시험 결과

가) 유효성분 검사 성적서, 미생물동정 성적서

생산시제품에 대해서 유효성분에 대한 검사와 미생물동정에 대한 시험은 앞선 내용에서 유효균수와 균주동정은 완료하였음

나) 안전성 시험

유기농업자재의 신청을 위하여 생산 시제품의 안전성 시험을 진행하였다. 시험은 아래와 같이 시험을 진행하였다. 시험은 “농약 및 원제의 등록기준” [별표12]인축독성시험 기준과 방법(농촌진흥청 고

시 제2018-20호)에 준하여 시험을 진행하였고, 한국생물안전성연구소에 의뢰하여 진행하였음. 5가지의 시험결과 개발 시제품에서의 독성은 없으며, 제품등록에 이상이 없는 것으로 나타났음

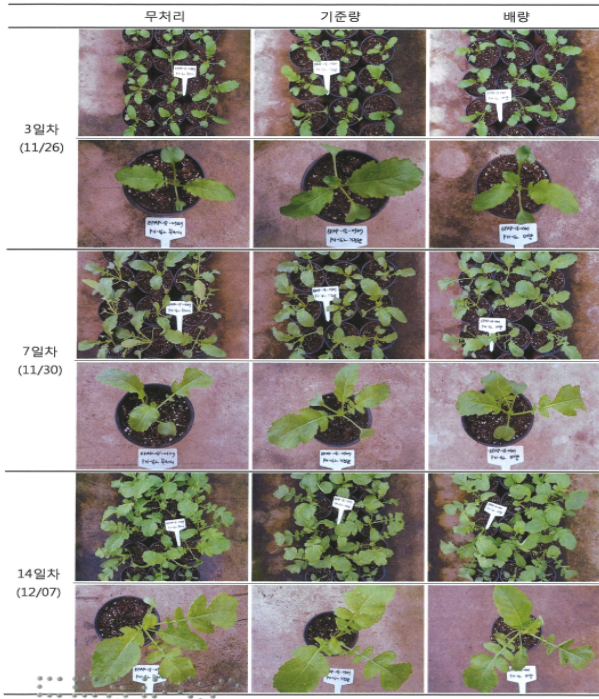
시험의 종류	시험결과 요약
랫드에 대한 급성경구독성/병원성시험	- 일반중독증상 및 치사동물 없음 - 체중변화 없음(시험기간동안 증가됨) - 부검소견결과 이상증상 없음 - 미생물 체외배출상황 : 7일째까지 대변에서 미생물 검출되고 이후 미생물 검출되지 않음 - 미생물 체내잔존상황 : 부검을 진행한 각 장기 내 잔존 미생물 없음 - 시험종료까지 중독증상 및 치사없어 급성독성에 의한 영향 없음
랫드에 대한 급성경피독성	- 일반중독증상 및 치사동물 없음 - 체중변화 없음 - 반수치사약량 개체당 1.0×10^8 cfu씩 단회 경피 투여시 영향없음
토끼에 대한 안점막자극성시험	- 안점막자극성시험에서 자극성은 안점막자극표에 의거 "없음"로 구분됨- 안점막자극 없음
토끼에 대한 피부자극성시험	- 피부자극성시험 결과 자극성 "없음"으로 결과가 나타났음- 피부 자극성 없음
담수어류(잉어, cyprinus carpio)에 대한 영향시험	- 치사개체 및 이상증상 : 생존 개체중에서 시험기간중 어떤 중독증상 관찰되지 않음 - 담수어류에 대한 30일동안 최대무작용량(NOEC)은 7.3×10^4 cfu/ml 반수치사농도는(LC50)는 $7.3 \times 10^3 \sim 7.3 \times 10^4$ cfu/ml 사이로 확인되었음

다) 약해 시험

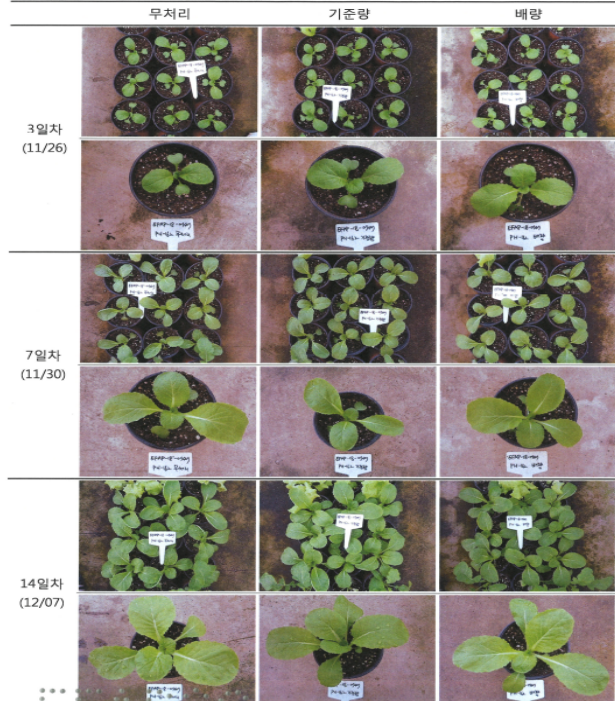
- 생산 시제품의 작물에 대한 약해가 있는지 여부를 확인하기 위하여 기본 5작물인 고추, 무, 배추, 상추, 토마토에 대한 약해시험과 더불어 사업화 대상 작물인 수박, 참외에 대한 약해 시험을 진행하였음.
- 시험결과 생산시제품의 처리에 인한 기준량 및 배량에서 유식물에 대한 뚜렷한 약해증상이 없어 유기농업자재 공시 기준에 적합 하다는 시험성적을 얻을 수 있었음

EFAP-18-0747-PH-162(1)	라. 고추의 처리 후 일자별 작물 사진																
선충바로킬의 5작물(고추, 무, 배추, 상추, 토마토)에 대한 약해 시험	<table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>무처리</th> <th>기준량</th> <th>배량</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>3일자 (11/26)</td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>7일자 (11/30)</td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>14일자 (12/07)</td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table>		무처리	기준량	배량	3일자 (11/26)				7일자 (11/30)				14일자 (12/07)			
	무처리	기준량	배량														
3일자 (11/26)																	
7일자 (11/30)																	
14일자 (12/07)																	
시험기간 : 2018. 11. 23. ~ 2018. 12. 07. 시험의뢰회사명 : (주)에드바이오텍 시험기관명 : (주)친환경농산물안전성센터																	
EFAPSC	5/10																

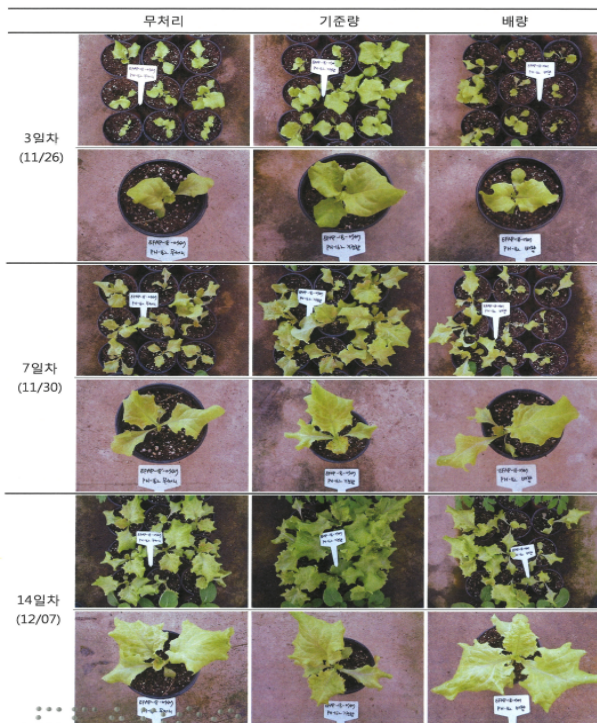
마. 무의 처리 후 일자별 작물 사진



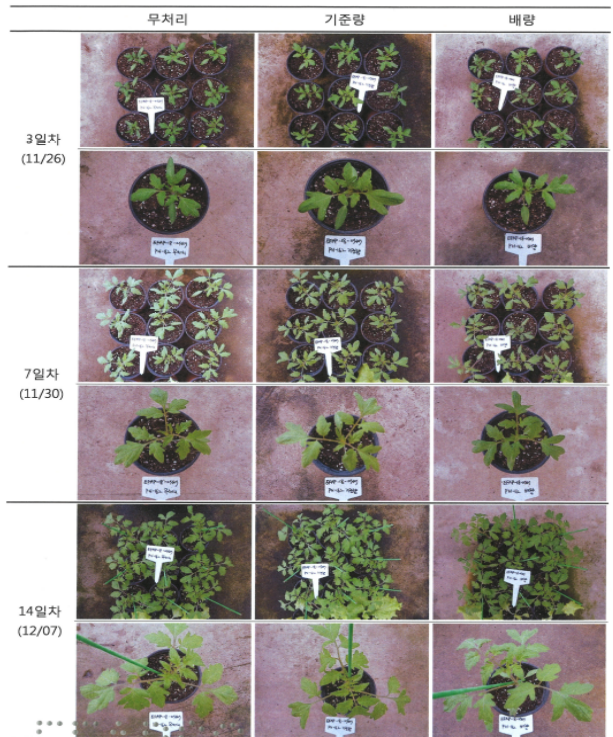
바. 배추의 처리 후 일자별 작물 사진



사. 상추의 처리 후 일자별 작물 사진



아. 토마토의 처리 후 일자별 작물 사진



3-1. KRB-12 및 KBA-40 배양액으로부터 유효활성 성분의 분리정제

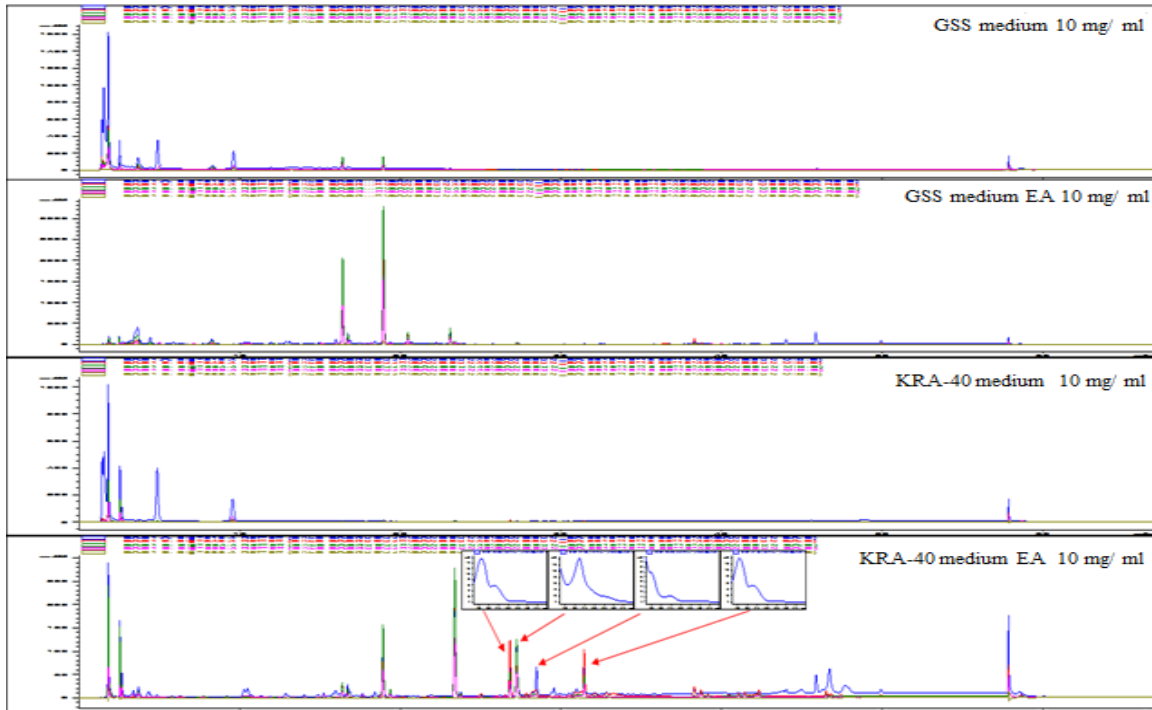
- 살선충 활성이 우수한 KRA-40 번 균주의 미생물 배양액으로 활성을 나타내는 유효활성 성분을 분리하기 위하여 액체크로마토그래피법으로 배양액을 분석하였음
- step gradient 용매 조건을 이용하여 컬럼, 이동상 및 분석 시간을 설정하여 최적의 분석 조건을 확립함.
- 방선균 배양용 배지성분으로 20분대에 확인되며, 방선균 KRA-40 균주 배양액은 20~40분대에 메인 peak들이 관찰됨
- 하지만 메인 성분으로 분석된 peak들이 GSS 배지에 함유된 공성분인 isoflavonoid계 화합물로 확인되었음.

> GSS medium 및 KRA-40

GSS medium	150 ml
KRA-40	150 ml
↓	
EA 150 ml × 4 extraction	
GSS	19.6 mg
KRA-40	398.45mg
Sample : 10 mg / ml	

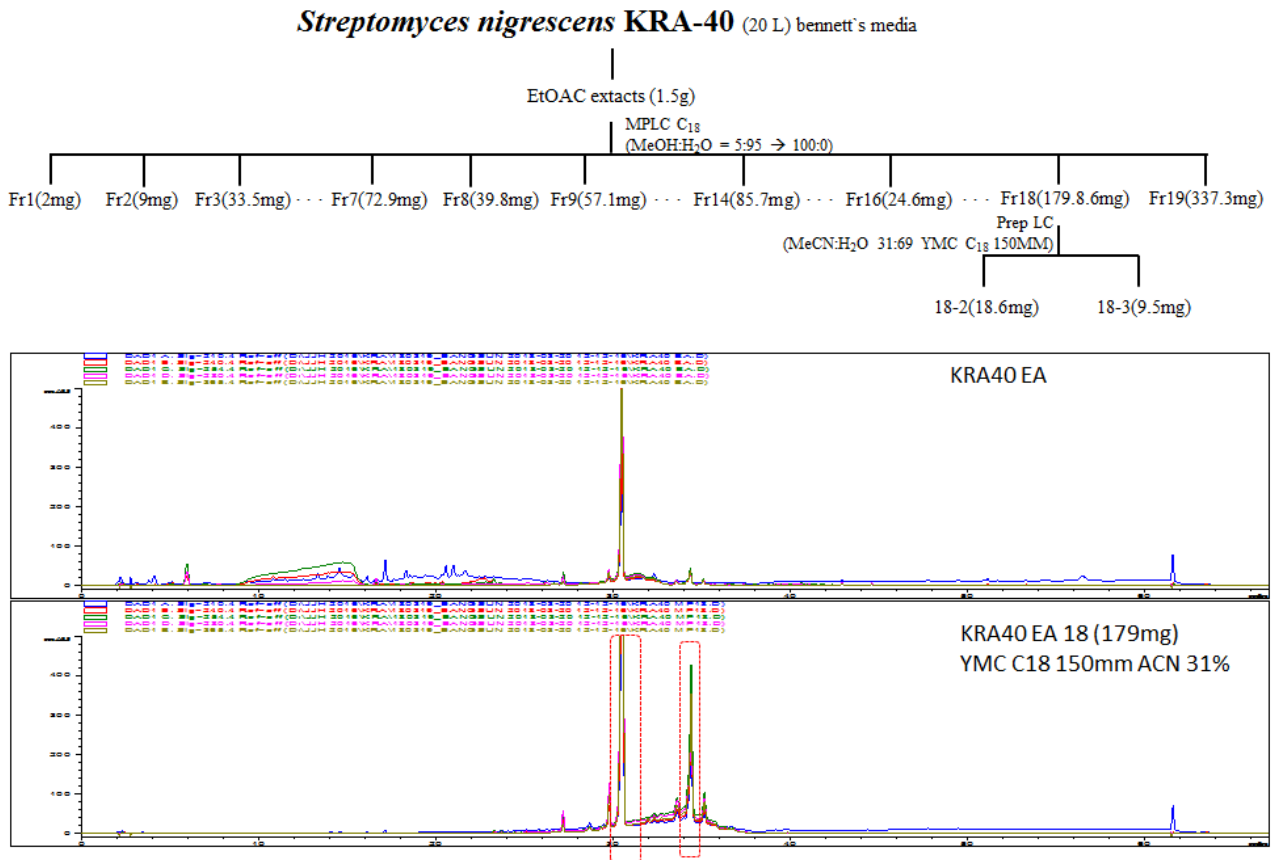
HPLC condition			
HPLC	Agilent 1200 series		
Column	YMC Hydrosphere C ₁₈ (4.6 μm × 150 mm)		
Flow rate	1.0 ml/min		
UV length	DAD		
Injection volume	10 μL		
Column Temp.	25°C		
	TIME(min)	H ₂ O	MeCN
	00:00	95	5
	05:00	95	5
	25:00	60	40
Mobile phase	45:00	0	100
	55:00	0	100
	57:00	95	5
	67:00	95	5

[HPLC 분석조건]



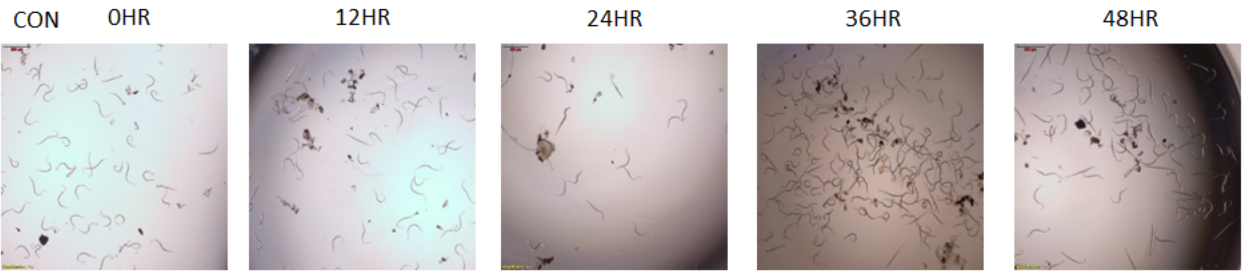
[방선균 KRA-40 배양액 및 방선균 배지(GSS 배지)의 크로마토그램]

- 따라서 배지성분이 이외에 방선균의 대사산물을 분석하기 위하여 Benntt's 배지를 이용하여 방선균 40을 배양한 후 HPLC 분석을 실시하였음.
- 분석결과 미생물이 함유되지 않은 배지의 성분들은 20분대에서 확인이 되었으며, 방선균 40번을 배양한 배양액에서는 30분대에 main peak를 확인되었음.
- 에틸아세테이트 가용추출물 1.5g을 메탄올 및 물 (5:95 ~ 100:0)을 이동상으로 하여 MPLC 역상크로마토그래피를 수행하여 19개의 분획물(1 ~ 19)로 분리하였음.
- 이중 18번 분획물(179.8 mg)을 31% 아세토나이트릴 용매를 이동상으로 preparative HPLC (Shimadzu, YMC, Hydrosphere, 150 mm × 20 mm, 6 mL/min)를 실시, 30분 및 35분에서 분취하여 화합물 1 (18.6 mg) 및 화합물 2 (9.5 mg) 을 수득하였음.
- 화합물 1 내지 2의 다이에노하이드록사아믹 엑시드(dienohydroxamic acid) 유도체 화합물의 분자량 및 분자식을 분자식 고분해능 HR/MS 분광기 (JMS-700(JEOL), Fast Atom Bombardment(FAB) MS)를 사용하여 분석하였으며, 비선광도 측정은 P2000 Digital Polarimeter (Jasco Inc.)를 사용하였으며, 또한 핵자기공명 (NMR) 분석 (JEOL Ltd., JNM-EX400, JNM-ECA600)을 통하여 ¹H-NMR, ¹³C-NMR 분광학 자료를 이용하여 분자구조를 결정하였으며, 상기 기기분석결과를 기존의 문헌과 비교 분석한 결과 화합물 1, 2는 다이에노하이드록사아믹 엑시드 화합물로 확인하였음.

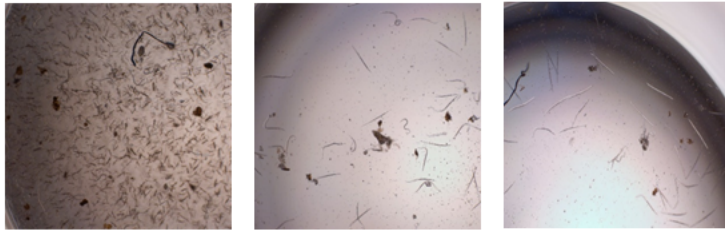


- 방선균 KRA-40으로부터 분리정제된 화합물 1과 2는 구조동정 결과, trichostatin C (**1**) 와 dehydroxytrichostatin A (**2**) 로 구조 동정되었음.

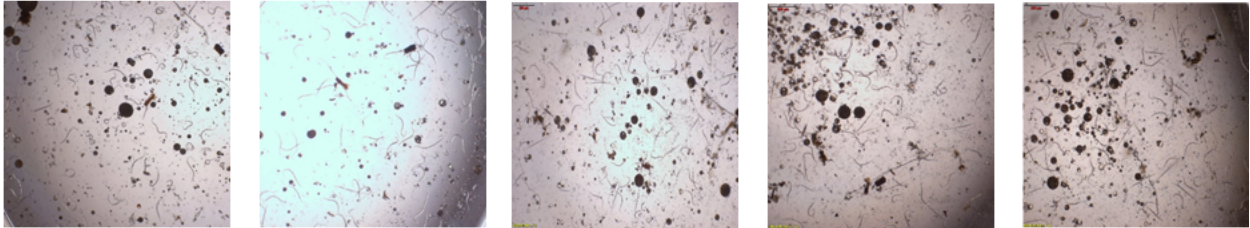
은 48시간 후에 59-62 마리의 선충이 죽었음.



화합물 1



화합물 2



	죽은 선충 수				
	0	12시간	24시간	36시간	48시간
H ₂ O	0	1	3	7	10
	0	2	4	6	7
	0	1	2	7	9
화합물 1	0	16	80	-	-
	0	13	75	-	-
	0	14	77	-	-
화합물 2	0	8	25	31	62
	0	7	27	32	61
	0	5	25	29	59

3. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도

3-1. 목표

구분	내용
최종목표	<ul style="list-style-type: none"> ○ 젤라틴 분해 및 살 선충 미생물을 이용한 뿌리혹선충 방제용 미생물제제 개발 - 항선충 미생물 제제의 사업화를 위한 최적의 제형 설정 및 안정성 확립 - 생산된 항선충 미생물 제제 시제품의 시험포 및 현장적용 시험을 통한 효능 검증 - 항선충 미생물 제제의 제품 인증 및 등록

3-2. 목표 달성여부

연구개발의 목표	달성내용	달성도(%)
산업화를 위한 제형화 안정성 확립	<ul style="list-style-type: none"> - 바실러스 KRB-12 와 방선균 KRA-403 균주의 대량배양은 seed culture, intermediate culture, main culture 로 진행하였으며, 두 개의 미생물에 대량 배양 후 배양 시제품은 동결 건조하여 분말 화하였음. - 제형화를 위한 부형제로는 함수포도당(99.483%)를 사용하여 분말상 제형을 만들었음. 함수포도당은 현재 대다수의 농업용 유기농자재의 부형제로 사용되고 있으며, 시제품은 전문생산업체에서 생산해 실험에 사용하였음. - 생산된 시제품은 연구실에서 시제품에 함유된 미생물의 균수를 측정한 결과, 1.6×10^{10}cfu/ml로 측정되었으며, 공인인증기관에서 측정한 결과 1.1×10^8cfu/ml 농도로 측정되었으며 시제품 배양으로 얻어진 콜로니에서 16S rRNA 유전자염기서열 분석 결과 <i>Bacillus subtilis</i>임을 확인하였음. - 시험은 생산시제품을 희석평판법에 의거하여 3반복으로 시험을 진행한 뒤 유효 미생물 콜로니와 동일한 형태의 콜로니를 유효 미생물로 판정하고 계수한 후 평균값을 산출하여 1g당 CFU로 측정하였으며, 생산 후 9개월까지 생산 시제품에서의 균수의 변화는 없는 것으로 나타났고, 육안적인 변화에도 이상이 없는 것으로 확인하였음 	
개발 시제품 효능 검증	<ul style="list-style-type: none"> - 시제품 A(바실러스 KRB-12와 방선균 KRA-40 균주)와 제품 B(시중에 시판되고 있는 제품)를 각각 50, 100, 1000, 2000 배 희석하여 50 mL씩 3주 1회 (총 3회) 단독 처리한 후, 60일 과 90일 후 포트에서 고추모종을 꺼내 뿌리에 붙은 선충의 난낭 개수를 측정하여 선충의 활성을 측정하였음. - 시제품 A와 제품 B는 지상부의 생육 및 지하부의 생육에서 큰 차이를 보이지 않았음. - 시제품 A와 제품 B를 비교실험결과(60일 후), 제품 B와 비교하여 시제품 A는 2~3배의 항선충 활성을 나타내는 것을 확인할 수 있으며, 1,000~2,000 배 희석 시에도 유효한 효과를 나타낼 수 있음. - 90일 후, 시제품 A처리 군은 100배, 1,000배, 2000배 희석하여 사용 시 각각 약 78%, 58% 및 52%의 항선충 방제 효과를 나타낼 수 있을 것으로 예상됨. - 90일 후, 토양 내 미생물의 균수를 측정한 결과, 제품 B와 비교하여 시제품 A에서는 미생물의 균수가 10배 이상 차이가 나는 것을 확인하였음. 미생물 동정 결과 시제품 A에서는 바실러스 서브틸러스를 확인하였음. 	100
제형화 시제품의 인증시험	<ul style="list-style-type: none"> • 참외 뿌리혹선충 억제방제 효과 - 실험은 안동과 음성에서 약효 및 약해실험을 동시에 실시하였음. - 시제품은 정식 14일후 10일 간격 2회 토양관주 처리하였으며, 약제처리 전 및 최종약제처리 60일 후 구당 토양 100cm³ 내 선충수를 조사하여 방제 가를 측정하였고, 뿌리혹지수는 최종약제처리 60일 후 채취한 뿌리를 경시적으로 관찰하여 형성 등급기준에 따라 조사하였음. - 안동의 약효실험결과 : 약제 처리전 뿌리혹선충의 밀도는 처리군 117.7마리, 무처리군 105.3 마리이었음. 60일 후, 뿌리혹선충의 수는 처리군 256.1 마리, 무처리군 523.2 마리로 방제가 51.1%로 측정되었음. 무처리군의 뿌리혹 지수는 5.5로 측정되었음 	

	<p>: 또한, 시험약제는 참외(부자꽃)에 대한 약해시험 결과 기준량, 배량에서 외관상 나타난 약해증상은 없었음.</p> <p>- 음성의 약효실험결과</p> <p>: 약제 처리전 뿌리혹선충의 밀도는 처리군 86.3마리, 무처리군 97.3 마리이었음. 60일 후, 뿌리혹선충의 수는 처리군 141.1 마리, 무처리군 301.0 마리로 방제가 53.1%로 측정되었음. 무처리군의 뿌리혹 지수는 4.3로 측정되었음</p> <p>: 또한, 시험약제는 참외(참사랑)에 대한 약해시험 결과 기준량, 배량에서 외관상 나타난 약해증상은 없었음.</p>	
개발 시제품 안전성 시험	<ul style="list-style-type: none"> • 급성경피독성시험(랫드) <ul style="list-style-type: none"> - 일반중독증상 및 치사동물 없음 - 체중변화 없음 - 반수치사약량 개체당 1.0×10^8 cfu씩 단회 경피 투여시 영향없음 • 안점막자극성시험(토끼) <ul style="list-style-type: none"> - 안점막자극성시험에서 자극성은 안점막자극표에 의거 "없음"로 구분됨-안점막자극 없음 • 피부자극성시험(토끼) <ul style="list-style-type: none"> - 피부자극성시험 결과 자극성 "없음"으로 결과가 나타났음- 피부 자극성 없음 • 급성경구독성/병원성시험(랫드) <ul style="list-style-type: none"> - 일반중독증상 및 치사동물 없음 - 체중변화 없음(시험기간동안 증가됨) - 부검소견결과 이상증상 없음 - 미생물 체외배출상황 : 7일째까지 대변에서 미생물 검출되고 이후 미생물 검출되지 않음 - 미생물 체내잔존상황 : 부검을 진행한 각 장기 내 잔존 미생물 없음 - 시험종료까지 중독증상 및 치사없어 급성독성에 의한 영향 없음 • 담수어류에 대한 영향시험(잉어) <ul style="list-style-type: none"> - 치사개체 및 이상증상 : 생존 개체중에서 시험기간중 어떤 중독증상 관찰되지 않음 - 담수어류에 대한 30일동안 최대무작용량(NOEC)은 7.3×10^4 cfu/ml 반수치사농도는(LC50)는 $7.3 \times 10^3 \sim 7.3 \times 10^4$ cfu/ml 사이로 확인되었음 • 약해 시험 <ul style="list-style-type: none"> - 기본 5작물인 고추, 무, 배추, 상추, 토마토에 대한 약해시험과 더불어 사업화 대상 작물인 수박, 참외에 대한 약해 시험을 진행 하였음. - 시험결과 생산시제품의 처리에 인한 기준량 및 배량에서 유식물에 대한 뚜렷한 약해증상이 없어 유기농업자재 공시 기준에 적합 하다는 시험성적을 얻을 수 있었음 • 참외 뿌리혹선충 약제방제 효과 <p>- 실험은 안동과 음성에서 약효 및 약해실험을 동시에 실시하였음.</p>	
제품인증 및 등록	<ul style="list-style-type: none"> • 유기농업자재 관련규정 및 자재의 사용 허용성 검토 • 생균수 측정, 독성시험 등 항목점검 • 유기농업자재 시험기관 및 비료시험기관 선정 및 준비서류 점검 • 제형화된 시제품을 균주동정, 유효균수, 오염미생물, 중금속, 비해시험 완료 • 경구병원성 시험, 경피시험, 어류영향독성시험, 피부자극시험, 안점막자극성시험 등의 독성시험 완료 • 약해시험 완료 • 친환경농자재 및 비료 등록을 위한 준비 중 	

3-3. 목표 미달성 시 원인(사유) 및 차후대책(후속연구의 필요성 등)

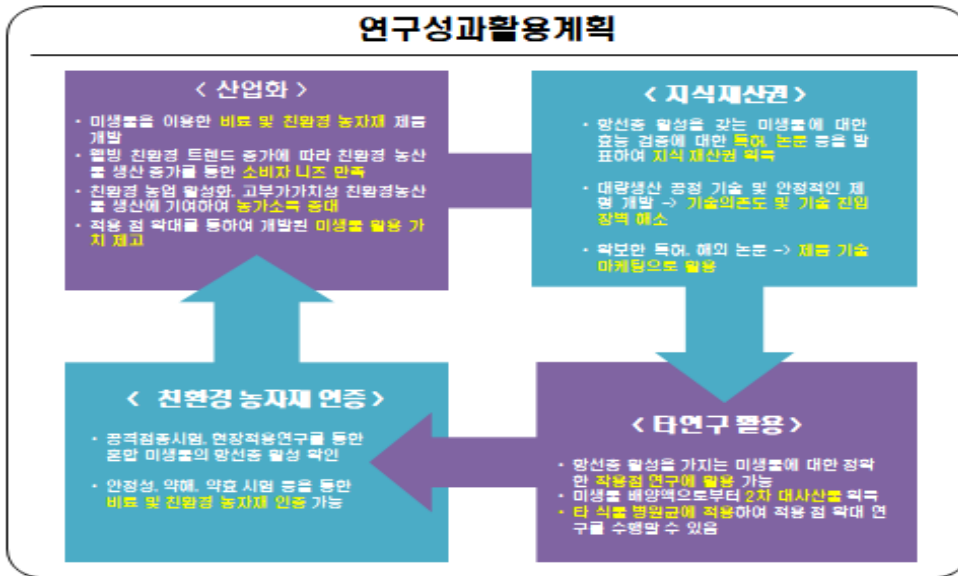
- 목표 미달성 원인
 - 성과목표인 기술이전 1건 및 제품화 1건을 달성하지 못했음.
 - 약제 방제 효과에 대한 공인인증기관의 최종 시험성적서 받으면 성과 목표를 달성할 수 있을 것으로 생각됨.

- 차후대책 및 후속연구의 필요성
 - 사업화 및 실용화를 위해 추가적 기초연구 및 현장시험이 필요하며, 경제적 타당성을 분석하여 후속연구를 진행하고자 함.

4. 연구결과의 활용 계획 등

○ 활용방안

- ▶ 본 연구를 통해 개발된 유효 생리활성 소재 및 물질의 활용방안
 - 뿌리혹선충 저해제 Library의 구축을 통하여 뿌리혹선충 감염성 질병 저해물질군의 개발을 위한 새로운 타깃 개발
 - 발굴된 소재 및 물질군을 활용하여 뿌리혹 선충에 대한 선택적이며 보다 강력한 저해물질의 개발로 농작물의 질병을 예방 및 치료하는 고부가가치 농업용 미생물 제형 개발
- ▶ 본 연구를 통하여 개발된 항선충 효능 및 안전성 평가기술의 활용 방안
 - 본 연구를 통해 개발 및 도출된 항선충 효능 기법은 다양한 생리활성 물질 및 화합물의 뿌리혹선충 감염 제어 효과 검증을 위한 기초 기술로 활용하도록 할 것임
- ▶ 본 연구 과제를 통해 개발된 뿌리혹선충 방제용 미생물제제 개발의 노하우 활용
 - 유용미생물의 효율적 분리 방법, 대량배양공정 및 제형화
 - 최적 제형개발: 대량 배양을 위한 산업용 배지 개발, 미생물의 대량생산에 적합한 최적 배양조건 확립, scale-up 및 배양수율의 최적화, 제형에 적합한 계면활성제, 분산제, 안정제, 증량제 등을 선발
 - 주요 경제작물과, 시설원예, 과수, 채소류 등 각각의 시험 농가를 선정하여 포장시험을 실시: 안전성 평가 시험 실시(인축 독성 및 환경독성 시험), 대상 작물 병해 약효/약해 시험, 타작물 병해 약효/약해 시험
 - 친환경농업에서 진딧물 외에 다른 해충 방제용 제제로서 활용
 - 젤라틴 분해미생물들의 뿌리혹선충 억제 기작, 처리시기 및 횟수에 따른 미생물제의 뿌리혹선충 방제 효과, 항선충 시스템과 제품의 기술이전 및 농가 보급
- ▶ 천연 물질을 이용해 신기능성 물질의 대량생산을 위한 인프라를 구축하여 유전공학 기술과도 접목이 가능할 것임.
 - 개발제품 1 : 분말형 토양항선충제 (수용성분말) : 항선충능을 지닌 우수 토양미생물을 동결보호제 및 안정제 등의 제형화를 통해 분말형 수화제개발
 - 개발제품 2 : 액상형 토양항선충제 (액상) : 항선충능을 지닌 우수 토양미생물의 유효성분이 첨가된 배양액을 및 효력증진제, 부형제와 혼합한 제형화를 통해 살포형 수화제개발



○ 사업화

1) 세계시장 현황

▶ 미 국

- 미국의 생물농약 시장의 주요 생산 판매는 중소 업체들이 이끌어 가고 있으며, 대표적인 기업으로는 Certis-USA사, AgraQuest사 등이 있음.
- 미국내 글로벌 화학농약 회사인 FMC와 BASF 등은 생물농약 시장의 주요 벤처기업 등을 합병 인수를 통하여 세계시장에 대한 마케팅을 강화하고 있음.
- 인수합병을 통한 글로벌 화학회사의 생물농약에 시장 진입은 주요 벤처기업의 살충, 살균제 제품들을 이용하여 글로벌 사업을 진행하고 있으며, 특히 미국뿐만 아니라 전 세계에 형성된 유통망을 통하여 글로벌 사업을 진행하고 있음.

▶ 중 국

- 1996년부터 기존의 각성과 농민중심의 생물농약 사용이 2001년부터 시작된 국가발전개혁위원회의 생물기술 산업화프로젝트 가운데 생물농약 산업화가 포함되어 있음.
- 중국내 분류상 제1생물농약의 산업화 세부항목으로 진균제제를 이용한 농약 개발 및 산업화가 채택되었으며 정부로부터 지원을 받아 생물농약산업화제품은 2001년에 13개가 되었음.

▶ 세계시장 종합

- 전 세계 생물농약 시장은 2001년 농약 시장의 약 2%인 5.8억불이었으나, 2005년 전체 농약 시장의 2.5% 점유율을 보이고 있으며, 2010년에는 4.3%의 시장 점유율로 10억 7,500만 달러의 시장이 형성되며, 2022년에는 88억 달러의 시장이 형성될 것으로 추정되는데, 생물농약 시장은 Bt제와 기타 미생물제제가 4:6의 비율로 형성될 것으로 예상함.(Markets and Markets, 2016)
- 특히, 최근에는 OECD국가를 중심으로 한 친환경농업 정책으로 인하여 그 시장규모가 2013년에는 세계 농약시장의 약 15%인 45억불에 달할 것으로 추정되고 있다 (Santander Investment, 1998).

2) 사업화 방향

- ▶ 화학농약의 약 2%에 불과하던 생물농약은 국내외적으로 "천연식물보호제"로 전환되고 있으며 OECD 국가를 중심으로한 유기농육성정책에 힘입어 2015년 45억\$ (국내 2천억원)에 이를 것으로 추정되고 있으므로 이에 맞춘 제품을 개발하고자함.
- ▶ 선충의 완벽한 방제법은 존재하지 않기에 지속적인 방제활동이 필요하며, 이에 농가에서 사용되는 화학농약을 대체할 수 있는 토양 유래의 미생물을 이용한 친환경 선충 방제법의 농가 적용을 목표로함.

- ▶ GRAS(Generally Recognized As Safe)로 알려진 바실러스 균주를 사용한 선충 방제효능을 갖는 친환경 경유기능자재 및 비료를 사용하여 화학농약에 대한 소비자의 불안감을 해소하고자 함.
- ▶ 친환경경유기능자재의 등록여건의 강화에 따른 인축독성시험, 환경독성시험, 약효시험, 약해시험 등의 기준에 적합한 자재와 부자재, 부형제의 선별 및 제조공정을 확립하여, 유기농자재산업의 활성화를 이루고자 함.
- ▶ 2015년에 실시된 바실러스에 대한 미생물제품을 제형화 및 생산공정시스템을 기초로 하여 본 과제에서 결과를 도출함과 동시에 제품의 상용화를 진행하여 판매시기를 내년 상반기로 앞당길 예정임.
- ▶ 한국생명공학연구원의 선충방제제 시험생산(350L) 선충 방제용 미생물의 생산비용은 5,143원/2L(=1bottle) 이며, 배양된 미생물을 이용한 입제용 고상 제품의 생산비용은 본 과제의 최적의 균주 배양 조건 및 대량배양 조건연구를 통하여 더 낮아질 것으로 예상됨.
- ▶ 제품개발 완료시기 및 상용화 시기
 - 제품개발 완료시기 : 2018년 하반기
 - 제품화 및 판매일정 : 2019년 상반기
- ▶ 병해충관리용 미생물 유기농자재의 시장가격은 10,000~50,000원/L 이며, 본 과제로 제품화될 항선충 방제 액상제는 농작지 300평당 2L의 제품이 사용되며 희망소비자가는 16,000~24,000원으로 책정하였음.
- ▶ 액상제와 동일한 효능과 균수를 갖는 고상제의 예상단가는 20,000원/100g(=1bottle)으로 동일하게 책정하여 기존의 미생물 유기농자재에 비하여 저렴한 가격으로 판매할 예정임.
- ▶ 해외시장의 경우, 2019년 하반기에 중국과 일본 현지에 법인을 설립하여 판매할 계획을 수립하고 있음.

<선충관련 생물농약>

상표명	제조사명	가격	자재명칭
선그린	KG케미칼(주)	25,000원/3kg	식물성오일
해방뿌리	우진비앤지(주)	40,000원/1L	식물성오일
네마트룰	㈜넬바이오텍	100,000원/L	식물성오일
박스타골드	㈜대덕에이티	35,000원/1L	식물성오일+파라핀오일
랜드세이버 유제	㈜대덕에이티	35,000원/1L	식물성오일+파라핀오일
대유선충독	㈜대유	50,000원/2L	식물추출물
대유쏘일닥터	㈜대유	24,000원/3kg	자연암석분말+제당부산물
대유플라즈마닝	㈜대유	22,000원/500ml	нім추출물
불취	㈜비아이지	50,000원/1L	нім추출물+식물추출물
네마스타	㈜비아이지	50,000원/1L	식물추출물+미생물추출물
네마큐	㈜오더스	35,000원/500ml	식물추출물
참선충 입제	㈜이에스에프	30,000원/5kg	식물성오일
네마스타	㈜비아이지	50,000원/1L	식물추출물+미생물추출물
천궁	㈜비아이지	35,000원/2kg	식물추출물+нім추출물+미생물추출물
마이크젯	진영기업(주)	100,000원/500g	미생물+점토광물
참선충	㈜에코원	65,000원/2L	미생물
선충에액제	㈜한국바이오케미칼	25,000원/L	미생물

○ 기대성과 및 파급효과

[기술적 측면]

- 뿌리혹선충 피해경감을 위한 친환경 방제기술 보급
- 토양 병해 방제 기작 구멍을 통한 효과적인 뿌리혹선충 방제법 개발
- 미생물 대량배양기술 및 제형화 기술 개발을 통한 유용 미생물 산업화 시스템 개발

- 젤라틴 분해 효소 활성을 나타내는 미생물의 항선충용 방제제로 개발
- 유용 미생물 분리 및 기능규명으로 국내자원 보존 및 우수자원 산업화

[경제적·산업적 측면]

- 친환경농업의 증가에 따른 재배농가의 수익창출에 큰 기여를 할 수 있고, 복합 기능성 제품의 개발로 유기농자재 이용 다양화와 이 분야의 연구 활성화에 기여할 수 있음
- 친환경유기농산물을 활용한 건강기능식품 개발 성공 시 매출을 통한 막대한 직접적 경제효과 발생 (2018년 200~280억 매출 예상)
- 농진청시정 유기농자재시험기관의 비료성분, 유효성분, 유해성분, 비해효과 등의 시험성적서를 국문 및 영문으로 발급받아 국외 바이어에게 전달할 예정임
- 유기농자재의 중국 시장이 커지면서 새로운 부가가치상품의 개발로 경제발전에 기여할 수 있음
- 현재 본사제품이 활용되고 있는 해외농장에서 미생물 소재의 요구가 있음
- 병해 예방 및 치료를 위한 친환경유기농자재 개발에 요구되는 효능평가기술, 안정성평가기술 및 노하우를 확보함으로써 향후 다양한 유기농자재 개발을 위한 기반기술 확보
- 건강식품류는 해외 수출이 의약품에 비해 비교적 용이하기 때문에, 연 1500억 달러에 이르는 건강기능식품시장에 쉽게 진출할 수 있어 새로운 부가가치상품의 개발이 용이함
- 원예특작과학원 원예특작환경과 발표에 따르면 2015년 연간 뿌리혹선충 방제를 위한 살선충제 시장규모가 약 700억원에 육박한다고 하며, 항선충 미생물 방제제의 제품화 후 시장 진출시 5년에 걸쳐 시장규모의 4.2%인 30억원 규모의 매출이 발생할 것으로 예상됨.
- Markets and Markets 생물농약시장 보고서 발표에 따르면 2016년 시장규모가 33억 6000만 달러로, 개발된 항선충 미생물 방제제의 수출시 세계 시장 점유율의 0.2%에 해당하는 한화 60억원에 해당하는 수출액이 향후 5년간 발생할 것으로 예상됨.

<산업화를 통한 경제적 기대효과>

(단위 : 백만원)

항 목 \ 산업화 기준	1차년도	2차년도	3차년도	4차년도	5차년도	계
국내 매출액	50	200	500	1,500	3,000	5,250
경제적 파급효과	100	200	300	500	1,000	2,300
해외 수출액	-	100	500	2,000	6,000	8,600
합 계	150	500	1,300	4,000	10,000	16,150

- 1) 직접 경제효과 : 본 연구과제 개발기술의 산업화를 통해 기대되는 제품의 매출액 추정치
- 2) 경제적 파급효과 : 본 연구과제 개발기술의 산업화를 통한 농가소득효과, 비용절감효과 등 추정치
- 3) 부가가치 창출액 : 본 연구과제 개발기술의 산업화를 통해 기대되는 수출효과, 브랜드가치 등 추정치

[사회적 측면 등]

- 연간 국내에서 소비되는 살선충제 시장은 약 700억원으로, 수입대체 효과를 기대할 수 있음
- 뿌리혹선충 방제용 미생물의 산업화 공정 확립을 통한 미생물 산업화 기술 확보 및 친환경 농산물 수확 증대로 양질의 친환경 농산물 공급 확대
- 친환경 농가 소득 증대 및 친환경 농업 보급 확대가 기대
- 천연자원을 이용한 생물농약 개발로 친환경 농업 활성화, 고부가가치성 친환경농산물 생산에 기여하여 농가소득 증대
- 화학농약 사용량 저감을 통한 환경 개선 효과 및 국민 건강 증진

- 미생물제제 산업화를 통한 친환경적 생물산업 육성기반 구축에 이바지
- 합성농약 대체물질 사용으로 유기농산물 생산의 친환경적 관리체계 구축으로 농업 생태계 보호
- 고품질 안전 유기농산물 생산으로 생산자와 소비자의 요구 충족

붙임. 참고문헌

- Abdal, S.A., Algam, S.A.A., Lbrahim, E.A., Naim, A.M.E. 2014. In vitro screening of *Bacillus* isolates for biological control of early blight disease of tomato in shambat soil. *World J. Agric. Res.* 2, 47-50.
- Bridge, J. 1996. Nematode management in sustainable and subsistence agriculture. *Annu. Rev. Phytopathol.* 34, 201-205.
- Casey, J.T., Walsh, P.K., O' Shea, D.G., 2007. Characterisation of adsorbent resins for the recovery of geldanamycin from fermentation broth. *Sep Purify Technol.* 53, 282-288.
- Chitwood, D.J. 2002. Phytochemical based strategies for nematode control. *Annu. Rev. Phytopathol.* 40, 221-249.
- de Lima Procópio, R.E., da Silva, I.R., Martins, M.K., de Azevedo, J.L., de Araújo, J.M., 2012. Antibiotics produced by *Streptomyces*. *Braz J Infect Dis.* 16, 466-471.
- Elbadri, G.A., Lee, D.W., Park, J.C., Yu, H.B., Choo, H.Y. 2008. Evaluation of various plant extracts for their nematocidal efficacies against juveniles of *Meloidogyne incognita*. *J. Asia Pacific Entomol.* 11, 99-102.
- Flury, M., Papritz, A. 1993. Bromide in the natural environment: Occurrence and toxicity. *J. Environ. Qual.* 22, 747-758.
- Gu, Y. Q., Mo, M.H., Zhou, J.P., Zou, C.S., Zhang, K.Q. 2007. Evaluation and identification of potential organic nematocidal volatiles from soil bacteria. *Soil Biol. Biochem.* 39, 2567-2575.
- Ha, W.J., Kim, Y.C., Jung, H.C., Park, S.K. 2014. Control of the root-knot nematode (*Meloidogyne* spp.) on Cucumber by a liquid bio-formulation containing chitinolytic bacteria, chitin and their products. *Res. Plant dis.* 20, 112-118.
- Igonoffo, C.M., Dropkin, V.H., 1977. Deleterious effect of the thermostable toxin of *Bacillus thuringiensis* on species of soil-inhabiting, myceliophagus, and plant-parasitic nematodes. *J. Kans. Entomol. Sac.* 50, 394-398.
- Khan, Z., Kim, S. G., Jeon, Y. H., Khan, H. U., Son, S. H., Kim, Y. H., 2008. A plant growth promoting rhizobacterium, *Paenibacillus polymyxa* strain GBR-1, suppresses root-knot nematode. *Bioresour. Technol.* 99, 3016-3023.
- Kim, D.G., Choi, S.K. 2001. Effects of incorporation method of nematicides on reproduction of *Meloidogyne arenaria*. *Korean J. Appl. Entomol.* 40, 89-95.
- Kim, S.S., Kang, S.I., Kim, J.S., Lee, Y.S., Hong, S.H., Naing, K.W., Kim, K.Y. 2011. Biological control of root-knot nematode by *Streptomyces sampsonii* KK1024. *Korean J. Soil Sci. Fert.* 44, 1150-1157.
- Lee, Y.S., Anees, M., Nam, H. 2013. Biocontrol potential of *Lysobacter antibioticus* HS124 against the root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*, causing disease in tomato. *Nematology.* 5, 545-555.
- Liang, L.M., Meng, Z.H., Ye, F.P., Yang, J.K., Liu, S.Q., Sun, Y.N., Guo, Y., Mi, Q.L., Huang, X.W., Zou, C.G., Rao, Z.H., Lou, Z.Y., Zhang, K.Q. 2016. The crystal structures of two cuticle-degrading proteases from nematophagous fungi and their contribution to infection against nematodes. *FASEB J.* 24, 1391-1400.
- Moon, H.S., Khan, Z., Kim, S.G., Son, S.H., Kim, Y.H., 2010. Biological and structural mechanisms of disease development and resistance in chili pepper infected with the root-knot nematode. *Plant pathol. J.* 26, 149-153.
- Oka, Y., Ben-Daniel, B., Cohen, Y. 2012. Nematicidal activity of the leaf powder and extracts of *Myrtus communis* against the root-knot nematode *Meloidogyne javanica*. *Plant Pathol.* 61, 1012-1020.
- Pavaraj, M., Bakavathiappan, G., Baskaran, S. 2012. Evaluation of some plant extracts for their nematocidal properties against root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*. *J. Biopest.* 5, 106-110.
- Ruanpanum, P., Laatsch, H., Tangchitsomkid, N., Lumyong, S., 2011. Nematicidal activity of fervenulin isolated from a nematocidal actinomycete, *Streptomyces* sp. CMU-MH021, on *Meloidogyne incognita*. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 27, 1373-1380.
- Singh, A.K., Rautela, R., Cameotra, S.S. 2014. Substrate dependent *in vitro* antifungal activity of *Bacillus* sp strain AR2. *Microb. Cell Fact.* 13, 67.
- Thomas, S. H. 1978. Population densities of nematodes under seven tillage regimes. *J Nematol.* 10, 24-27.
- Yang, J., Zhu, X., Cao, M., Wang, C., Zhang, C., Lu, Z., Lu, F. 2016. Genomics-Inspired discovery of three antibacterial active metabolites, Aurantinins B, C, and D from compost-associated *Bacillus subtilis* fm60. *J. agric. Food Chem.* 64, 8811-8820.
- Zhang, Y., Qiao, M., Weber, E., Baral, H.O., Hagedorn, G., Zhang, K., Yu, Z. 2010. *Arthrobotrys scaphoides* from China and Europe with a phylogenetic analysis including the type strain. *Mycotaxon* 111, 291-300.
- Zhu, Y.Z., Park, D.S., Cho, M.R., Hur, J.H., Lim, C.K. 2005. Suppression of *Meloidogyne arenaria* by different treatments of *Pasteuria penetrans*. *J. Pestic. Sci.* 9, 437-441.

<별첨작성 양식>

[별첨 1]

연구개발보고서 초록

과 제 명	(국문) 젤라틴 분해 및 선충 미생물을 이용한 식물기생선충 방제용 미생물제제 개발				
	(영문) Development of preventional microorganism to phytonematode using effects of gelatine degradation and insecticide				
주관연구기관	(주)에드바이오텍		주 관 연 구 책 임 자	(소속) (주)에드바이오텍	
참 여 기 업				(성명) 이 남 형	
총연구개발비 (200,000 천원)	계	200,000	총 연구 기간	2018. 04. 30~2019. 04. 29 (1년)	
	정부출연 연구개발비	150,000	총 참 연 구 원 수	총 인 원	13
	기업부담금	50,000		내부인원	13
	연구기관부담금			외부인원	
<p>○ 연구개발 목표 및 성과</p> <ul style="list-style-type: none"> - (뿌리혹선충 방제용 미생물) 선충알에 영향을 주어 부화율을 줄일 수 있는 젤라틴 및 난낭 분해활성을 가지는 미생물(<i>Bacillus subtilis</i> KRB-12) 보유, 뿌리혹 선충을 직접적으로 죽일 수 있는 살 선충 활성을 나타내는 미생물(<i>Streptomyces nigrescens</i> KRA-40) 보유 - (현장적용 시험) 두 종 미생물을 이용한 분말상 제형에 대한 농가현장 적용시험을 수행하여 토양 내 미생물상 변화양상, 재배 식물의 뿌리혹선충 감염여부 및 재배 식물의 수확량 분석 - (항선충 활성 검증) 개발한 미생물들에 대한 뿌리혹선충 난낭 분해활성 및 살 선충 활성을 측정할 수 있는 in vitro 시험 방법, 작물을 이용한 포트 및 공격접종시험 방법 보유 - (상호 교차 저해활성) 2종 미생물을 이용한 액상 제형의 경우 상호간의 생육저해 없이 토양 내에 존재하며 항선충 활성을 나타냄 - (배양조건 확립) 미생물 대량생산을 위한 온도, 배양시간, 배지, 포자형성 최적화 배양조건 확립 <p>○ 연구내용 및 결과</p> <ul style="list-style-type: none"> - 뿌리혹선충 방제용 미생물을 이용한 유기농업자재 시제품 대량 생산 및 생산조건 확립 - 생산 시제품의 유효성분 확인 및 균주 동정 완료 - 유기농업자재 신청을 위한 생산 시제품의 안전성 확보 - 생산 시제품의 기본 5작물-오이, 고추, 배추, 무, 토마토에 대한 약해 시험 및 수박, 참외에 대한 약효 시험 성적 확보 - 생산시제품에 대한 랫드에 대한 급성경구독성/병원성시험, 랫드에 대한 급성경피독성시험, 토끼에 대한 안점막자극성시험, 토끼에 대한 피부자극성시험,담수어류(잉어, <i>cyprinus carpio</i>)에 대한 영향시험 결과 독성 없음 및 시험 보고서 확보 					

- 유기농업자재 신청을 위한 구비서류 1부 및 관련 첨부 자료 확보 완료
고용창출 1명, 인력양성 1명, 특허출원 2건

○ 연구성과 활용실적 및 계획

* 학문적 기술적 측면

- 뿌리혹선충 피해경감을 위한 친환경 방제기술 보급
- 토양 병해 방제 기작 구명을 통한 효과적인 뿌리혹선충 방제법 개발
- 미생물 대량배양기술 및 제형화 기술 개발을 통한 유용 미생물 산업화 시스템 개발
- 젤라틴 분해 효소 활성을 나타내는 미생물의 항선충용 방제제로 개발
- 유용 미생물 분리 및 기능규명으로 국내자원 보존 및 우수자원 산업화

* 경제 산업적 측면

- 연간 국내에서 소비되는 살선충제 시장은 약 700억원으로, 수입대체 효과를 기대할 수 있음
- 뿌리혹선충 방제용 미생물의 산업화 공정 확립을 통한 미생물 산업화 기술 확보 및 친환경 농산물 수확 증대로 양질의 친환경 농산물 공급 확대
- 친환경 농가 소득 증대 및 친환경 농업 보급 확대가 기대
- 천연자원을 이용한 생물농약 개발로 친환경 농업 활성화, 고부가가치성 친환경농산물 생산에 기여하여 농가소득 증대
- 화학농약 사용량 저감을 통한 환경 개선 효과 및 국민 건강 증진
- 미생물제제 산업화를 통한 친환경적 생물산업 육성기반 구축에 이바지
- 합성농약 대체물질 사용으로 유기 농산물 생산의 친환경적 관리체계 구축으로 농업 생태계 보호
- 고품질 안전 유기농산물 생산으로 생산자와 소비자의 요구 충족

자체평가의견서

1. 과제현황

		과제번호	818002-1		
사업구분	농식품연구성과후속지원사업				
연구분야	LB0304, RA0303		과제구분	단위	
사업명	농식품연구성과후속지원사업			주관	
총괄과제	기재하지 않음		총괄책임자	기재하지 않음	
과제명	젤라틴 분해 및 살선충 미생물을 이용한 식물 기생선충 방제용 미생물 제재 개발		과제유형	(개발)	
연구기관	(주)에드바이오텍(주관) 한국생명공학연구원(참여)		연구책임자	이남형	
연구기간 연구비 (천원)	연차	기간	정부	민간	계
	1차연도	2018.04.30.~2019. 04.29	150,000	50,000	200,000
	2차연도				
	3차연도				
	4차연도				
	5차연도				
	계		150,000	50,000	200,000
참여기업					
상대국	상대국연구기관				

※ 총 연구기간이 5차연도 이상인 경우 셀을 추가하여 작성 요망

2. 평가일 : 2019.05.01

3. 평가자(연구책임자) :

소속	직위	성명
(주)에드바이오텍	이사	이남형

4. 평가자(연구책임자) 확인 :

본인은 평가대상 과제에 대한 연구결과에 대하여 객관적으로 기술하였으며, 공정하게 평가하였음을 확약하며, 본 자료가 전문가 및 전문기관 평가 시에 기초자료로 활용되기를 바랍니다.

확약	
-----------	--

I. 연구개발실적

1. 연구개발결과의 우수성/창의성

■ 등급 : (보통)

○ 특허분석 측면

- 기존 특허는 주로 합성화합물분야에 치중되어 있으므로, 본 연구과제에서는 미생물의 배양액을 이용하여 살선충제를 개발하는 방향으로 연구를 추진하여 뿌리혹선충 방제용 미생물제 개발과 관련된 특허를 국내 및 국외에 출원할 계획임

○ 논문분석 측면

- 기존 논문은 선충만을 타깃으로한 연구가 아닌 복합적인 미생물 개발분야에 치중되어 있으므로, 본 연구과제에서는 뿌리혹선충만을 방제하기 위한 미생물제 개발과 관련된 방향으로 연구를 추진하여 뿌리혹선충 방제용 미생물제 관련논문 등을 학술지 등에 게재할 계획임

○ 제품 및 시장분석 측면

- 국내에 24종의 선충관련 제품들이 판매되고 있으나 그 효과가 확실하지 않으며, 복합적인 병원균 억제를 타깃으로 개발된 제품들임
- 산 ((주)에드바이오텍) 연 (한국생명공학연구원)의 유기적인 협력을 통한 연구, 생산, 판매가 원활하게 이루어질 것으로 기대함.
- 한국생명공학연구원의 선충방제제 시험생산(350L) 선충 방제용 미생물의 생산비용은 5,143원/2L이며, 배양된 미생물을 이용한 입제용 고상 제품의 생산비용은 본 과제의 최적의 균주배양 조건 및 대량배양 조건연구를 통하여 더 낮아질 것으로 기대되며, 낮아진 원가를 바탕으로 설정된 판매예상 가격은 8,000~12,000원/L로 시장의 제품들과 가격적 측면에서 경쟁력이 있을 것으로 예상함.
- 국내시장 분석결과 살선충용 미생물제품 등의 생산 및 판매가 이루어지고 있으나, 현장에서 효능이 약하게 나타내므로, 본 연구과제에서는 뿌리혹선충을 타깃으로 현장에서도 효능을 나타내는 미생물제를 개발하는 방향으로 연구를 추진하여 뿌리혹선충 방제용 미생물제품 등을 생산하여 국내 및 국외에 판매할 계획임

2. 연구개발결과의 파급효과

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

- 연구개발 결과 천연물 제재를 이용한 살선충 미생물 제재 유기농자재 신청, 등록을 위한 자료 확보
- 시제품 대량생산 공정 확립 및 시제품 확보를 통한 제품개발 가능성 확인

3. 연구개발결과에 대한 활용가능성

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

▶ 본 연구를 통해 개발된 유효 생리활성 소재 및 물질의 활용방안

- 뿌리혹선충 저해제 Library의 구축을 통하여 뿌리혹선충 감염성 질병 저해물질군의 개발을 위한

새로운 타깃 개발

- 발굴된 소재 및 물질군을 활용하여 뿌리혹 선충에 대한 선택적이며 보다 강력한 저해물질의 개발로 농작물의 질병을 예방 및 치료하는 고부가가치 농업용 미생물 제형 개발
- ▶ 본 연구를 통하여 개발된 항선충 효능 및 안전성 평가기술의 활용 방안
- 본 연구를 통해 개발 및 도출된 항선충 효능 기법은 다양한 생리활성 물질 및 화합물의 뿌리혹선충 감염 제어 효과 검증을 위한 기초 기술로 활용하도록 할 것임
- ▶ 본 연구 과제를 통해 개발된 뿌리혹선충 방제용 미생물제제 개발의 노하우 활용
- 유용미생물의 효율적 분리 방법, 대량배양공정 및 제형화
- 최적 제형개발: 대량 배양을 위한 산업용 배지 개발, 미생물의 대량생산에 적합한 최적 배양조건 확립, scale-up 및 배양수율의 최적화, 제형에 적합한 계면활성제, 분산제, 안정제, 증량제 등을 선발
- 주요 경제작물과, 시설원예, 과수, 채소류 등 각각의 시험 농가를 선정하여 포장시험을 실시: 안전성 평가 시험 실시(인축 독성 및 환경독성 시험), 대상 작물 병해 약효/약해 시험, 타작물 병해 약효/약해 시험
- 친환경농업에서 진딧물 외에 다른 해충 방제용 제제로서 활용
- 젤라틴 분해미생물들의 뿌리혹선충 억제 기작, 처리시기 및 횟수에 따른 미생물제의 뿌리혹선충 방제효과, 항선충 시스템과 제품의 기술이전 및 농가 보급
- ▶ 천연 물질을 이용해 신기능성 물질의 대량생산을 위한 인프라를 구축하여 유전공학 기술과도 접목이 가능할 것임.
- 개발제품 1 : 분말형 토양항선충제 (수용성분말) : 항선충능을 지닌 우수 토양미생물을 동결보호제 및 안정제 등의 제형화를 통해 분말형 수화제개발
- 개발제품 2 : 액상형 토양항선충제 (액상) : 항선충능을 지닌 우수 토양미생물의 유효성분이 첨가된 배양액을 및 효력증진제, 부형제와 혼합한 제형화를 통해 살포형 수화제개발

4. 연구개발 수행노력의 성실도

■ 등급 : (우수)

- 본 과제를 수행하는 주관기관인 애드바이오텍과 참여기관인 한국생명공학연구원은 우수한 협력 체계를 구축함
- 주관기관인 애드바이오텍에서는 사업화를 위한 연구개발을 진행하여, 결과를 확보함
- 참여기관에서는 개발 시제품의 효능 및 기전에 대한 확보 및 유효성 결과 확보를 통한 사업화를 위한 기본 근거를 설정함

5. 공개발표된 연구개발성과(논문, 지적소유권, 발표회 개최 등)

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

- 특허 출원 2건

II. 연구목표 달성도

세부연구목표 (연구계획서상의 목표)	비중 (%)	달성도 (%)	자체평가
산업화를 위한 제형화 안정성 확립	20	100	산업화를 위한 대량생산 확립 및 시제품 대량생산완료
개발 시제품 효능 검증	30	100	개발 시제품의 시험포 및 현장적용시험을 통한 유효성 확보
개발 시제품 안전성 시험	20	100	유기농업자재 등록기준에 따른 독성시험을 진행 안전성 확보
제형화 시제품의 인증시험	20	100	기본 5작물(오이, 배추, 상추, 무, 토마토) 및 대상 작물 참외에 대한 약효 시험성적서 확보
제품인증 및 등록	10	80	유기농업자재 신청을 위한 자료 확보
합계	100점		

III. 종합의견

1. 연구개발결과에 대한 종합의견

- 유기농업자재로 등록하기 위한 기초자료 확보 완료로 유기농업자재 신청

2. 평가시 고려할 사항 또는 요구사항

- 본 연구개발의 경우 유기농업자재신청을 위한 업무 진행에 있어 작물의 재배 시기가 연구개발 수행 기관과 약간의 시간적 차이가 있어 유효성 평가의 진행 시기가 늦어졌음

3. 연구결과의 활용방안 및 향후조치에 대한 의견

--

IV. 보안성 검토

o 연구책임자의 보안성 검토의견, 연구기관 자체의 보안성 검토결과를 기재함

※ 보안성이 필요하다고 판단되는 경우 작성함.

1. 연구책임자의 의견

보안성 필요 없음

2. 연구기관 자체의 검토결과

[별첨 3]

연구성과 활용계획서

1. 연구과제 개요

사업추진형태	<input checked="" type="checkbox"/> 자유응모과제 <input type="checkbox"/> 지정공모과제		분 야	농식품연구성과후속지원사업
연구과제명	젤라틴 분해 및 살 선충 미생물을 이용한 식물기생선충 방제용 미생물제제 개발			
주관연구기관	(주)에드바이오텍		주관연구책임자	이남형
연구개발비	정부출연 연구개발비	기업부담금	연구기관부담금	총연구개발비
	150,000	50,000		200,000
연구개발기간	2018.04.30. - 2019.04.29			
주요활용유형	<input type="checkbox"/> 산업체이전 <input type="checkbox"/> 교육 및 지도 <input type="checkbox"/> 정책자료 <input checked="" type="checkbox"/> 기타(사업화) <input type="checkbox"/> 미활용 (사유: _____)			

2. 연구목표 대비 결과

당초목표	당초연구목표 대비 연구결과
산업화를 위한 제형화 안정성 확립	생산된 시제품에 대한 안정성 실험결과, 9개월 까지 균수의 변화가 없음을 확인하였음
개발 시제품 효능 검증	포트 실험결과, 시제품의 경우 100배, 1,000배, 2000배 희석하여 사용 시 각각 약 78%, 58% 및 52%의 뿌리혹 감소 효과를 나타냈음.
제형화 시제품의 인증시험	안동과 음성에서 참외를 대상으로 현장적용연구(공인인증기관을 통해)를 실시하였음. 방제가 약50%로 측정됨.
개발 시제품 안전성 시험	급성경피독성시험(랫드), 안점막자극성시험(토끼), 피부자극성시험(토끼), 급성경구독성/병원성시험(랫드), 담수어류에 대한 영향시험(잉어), 약해 시험(기본 5작물인 고추, 무, 배추, 상추, 토마토)을 실시하여 독성이 없음을 확인하였음.
제품인증 및 등록	<ul style="list-style-type: none"> • 유기농업자재 관련규정 및 자재의 사용 허용성 검토 • 생균수 측정, 독성시험 등 항목점검 • 유기농업자재 시험기관 및 비료시험기관 선정 및 준비서류 점검 • 제형화된 시제품을 균주동정, 유효균수, 오염미생물, 중금속, 비례시험 완료 • 경구병원성 시험, 경피시험, 어류영향독성시험, 피부자극성시험, 안점막자극성 시험 등의 독성시험 완료 • 약해시험 완료 • 친환경농자재 및 비료 등록을 위한 준비 중

* 결과에 대한 의견 첨부 가능

3. 연구목표 대비 성과

성과 목표	사업화지표				연구기반지표				
	지식 재산권	기술 실시	사업화	기술	학술성과	교육	인력	정책 활용-홍보	기타

				(이전)							인 증	논문		논 문 평 균 IF	학 술 발 표	지 도	양 성	정 책 활 용	홍 보 전 시	(타 연구 활용 등)
	특 허 출 원	특 허 등 록	품 종 등 록	건 수	기 술 료	제 품 화	매 출 액	수 출 액	고 용 창 출	투 자 유 치		SC I	비 SC I							
단 위	건	건	건	건	백 만 원	백 만 원	백 만 원	백 만 원	명	백 만 원	건	건	건	건		명	건	건		
가 중 치	20			20	20			20							10	10				
최 종 목 표	1			1	1			1							1	1				
연 기 간 내 달 성 실 적	2			1	1			1							1	1				
달 성 율 (%)	200			100	100			100							100	100				

4. 핵심기술

구분	핵심기술명
①	미생물 산업화 배지조성 확립 기술
②	안정성 확인 기술
③	대량생산공정 기술
④	효능 평가 기술

5. 연구결과별 기술적 수준

구분	핵심기술 수준					기술의 활용유형(복수표기 가능)					
	세계 최초	국내 최초	외국기술 복	외국기술 제	외국기술 소화·흡수	외국기술 개선·개량	특허 출원	산업체이전 (상품화)	현장에로 해 결	정책 자료	기타
①의 기술						v			v		
②의 기술						v			v		
③의 기술						v			v		
④의 기술						v			v		

* 각 해당란에 v 표시

6. 각 연구결과별 구체적 활용계획

핵심기술명	핵심기술별 연구결과활용계획 및 기대효과
①의 기술	미생물 대량생산 공정 개발에 활용 가능
②의 기술	제품이 안정성 평가에 활용 가능
③의 기술	미생물 대량생산 공정 개발에 활용 가능
④의 기술	현장 적용 시험 전에 미생물 및 소재의 효능 검증에 활용 가능

7. 연구종료 후 성과창출 계획

성과목표	사업화지표										연구기반지표									
	지식 재산권			기술실시 (이전)		사업화					기술인증	학술성과			교육지도	인력양성	정책 활용-홍보		기타 (타연구활용등)	
	특허출원	특허등록	품종등록	건수	기술료	제품화	매출액	수출액	고용창출	투자유치		논문		논문평균IF			학술발표	정책활용		홍보전시
												SCI	비SCI							
단위	건	건	건	건	백만원	건	백만원	백만원	명	백만원	건	건	건	건	명					
가중치	20			20		20			20						10	10				
최종목표	1			1		1			1						1	1				
연구기간내 달성실적	2			1		1			1						1	1				
연구종료후 성과창출 계획				<u>1</u>		<u>1</u>			<u>1</u>											

8. 연구결과의 기술이전조건(산업체이전 및 상품화연구결과에 한함)

핵심기술명 ¹⁾			
이전형태	<input type="checkbox"/> 무상 <input checked="" type="checkbox"/> 유상	기술료 예정액	50,000천원
이전방식 ²⁾	<input type="checkbox"/> 소유권이전 <input checked="" type="checkbox"/> 전용실시권 <input type="checkbox"/> 통상실시권 <input type="checkbox"/> 협의결정 <input type="checkbox"/> 기타()		
이전소요기간	2020년 이후	실용화예상시기 ³⁾	2020년 이후
기술이전시 선행조건 ⁴⁾	판매 계획 수립, 제품 등록 경험 유		

- 1) 핵심기술이 2개 이상일 경우에는 각 핵심기술별로 위의 표를 별도로 작성
- 2) 전용실시 : 특허권자가 그 발명에 대해 기간·장소 및 내용을 제한하여 다른 1인에게 독점적으로 허락한 권리
통상실시 : 특허권자가 그 발명에 대해 기간·장소 및 내용을 제한하여 제3자에게 중복적으로 허락한 권리
- 3) 실용화예상시기 : 상품화인 경우 상품의 최초 출시 시기, 공정개선인 경우 공정개선 완료시기 등
- 4) 기술 이전 시 선행요건 : 기술실시계약을 체결하기 위한 제반 사전협의사항(기술지도, 설비 및 장비 등 기술이전 전에 실시기업에서 갖추어야 할 조건을 기재)