

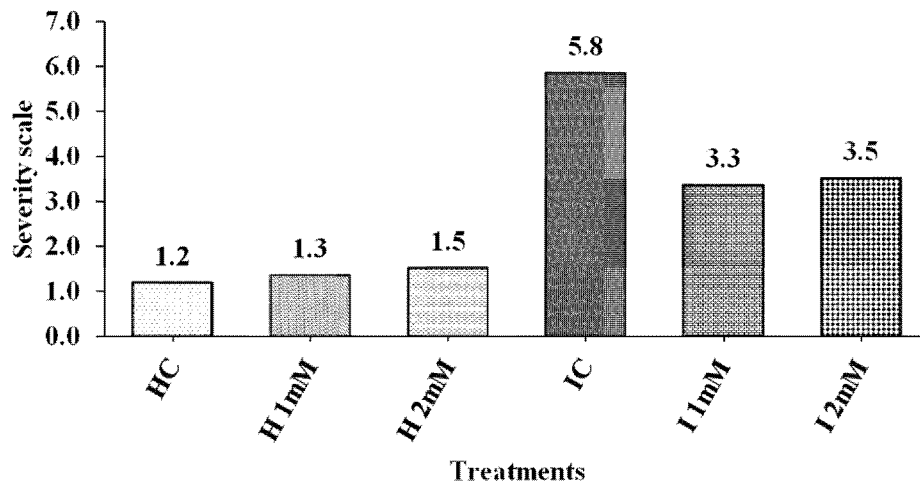


- (51) 국제특허분류:
A01N 59/00 (2006.01) A01G 7/06 (2006.01)
C05G 3/00 (2006.01) A01G 22/00 (2018.01)
A01N 25/12 (2006.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2018/000565
- (22) 국제출원일: 2018 년 1 월 11 일 (11.01.2018)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보:
10-2017-0004405 2017 년 1 월 11 일 (11.01.2017) KR
- (71) 출원인: 경희대학교 산학협력단 (UNIVERSITY-INDUSTRY COOPERATION GROUP OF KYUNG HEE UNIVERSITY) [KR/KR]; 17104 경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732, Gyeonggi-do (KR). 한방바이오 주식회사 (HANBANG BIO) [KR/KR]; 16954 경기도 용인시 기흥구 흥덕1로 13, 피동 138, 139, 140호, Gyeonggi-do (KR).
- (72) 발명자: 양덕춘 (YANG, Deok Chun); 17080 경기도 용인시 기흥구 용구대로 1842, Gyeonggi-do (KR). 김연주 (KIM, Yeon-Ju); 17104 경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 애지원 인삼소재은행, Gyeonggi-do (KR). 라거브압바이 (RAGAVENDRAN, Abbai); 17104 경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 애지원 인삼소재은행, Gyeonggi-do (KR). 양동욱 (YANG, Dong Uk); 17080 경기도 용인시 기흥구 용구대로 1842, 111동 301호, Gyeonggi-do (KR).
- (74) 대리인: 손민 (SON, Min); 05836 서울시 송파구 법원로 135 6층 한얼국제특허사무소, Seoul (KR).
- (81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC,

(54) Title: PREPARATION FOR PREVENTING OR TREATING GINSENG ROOT-ROT DISEASE

(54) 발명의 명칭: 인삼근부병 예방 또는 치료용 제제

Disease Severity Index



(57) Abstract: The present invention relates to: a preparation containing nanosilica for preventing or treating a ginseng root-rot disease, the preparation being capable of ameliorating or improving a symptom by an infection with *Ilyonectria mors-panacis*; a fertilizer containing the preparation for preventing or treating a ginseng root-rot disease; a method for preventing or treating a ginseng root-rot disease, the method comprising a step for applying the preparation on a soil in which ginseng is cultivated; and a use of nanosilica for preventing or treating a ginseng root-rot disease. The preparation for preventing or treating a ginseng root-rot disease, provided in the present invention, exhibits an effect of preventing or treating a ginseng root-rot disease even when being applied to a soil in which ginseng is cultivated, and thus the preparation can be widely utilized in the effective cultivation of ginseng through the control of a ginseng root-rot disease.

(57) 요약서: 본 발명은 나노실리카를 포함하고, 인삼근부병 유발균(*Ilyonectria mors-panacis*)의 감염에 의한 증상을 완화 또는 호전시킬 수 있는 인삼근부병 예방 또는 치료용 제제, 상기 제제를 포함하는 인삼근부병 예방 또는 치료용 비료, 상기 제제를 인삼을 재배하는 토양에 처리하는 단계를 포함하는 인삼근부병의 예방 또는 치료방법 및 인삼근부병을 예방 또는 치료하기 위한 나노실리카의 용도에 관한 것이다. 본 발명에서 제공하는 인삼근부병 예방 또는 치료용 제제는 인삼을 재배하는 토양에 처리하여도, 인삼근부병을 예방 또는 치료하는 효과를 나타내므로, 인삼근부병의 방제를 통한 효과적인 인삼의 재배에 널리 활용될 수 있을 것이다.

EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

- (84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

공개:

- 국제조사보고서와 함께 (조약 제21조(3))
- 청구범위 보정 기한 만료 전의 공개이며, 보정서를 접수하는 경우 그에 관하여 별도 공개함 (규칙 48.2(h))

명세서

발명의 명칭: 인삼근부병 예방 또는 치료용 제제

기술분야

- [1] 본 발명은 인삼근부병 예방 또는 치료용 제제에 관한 것으로, 보다 구체적으로 본 발명은 나노실리카를 포함하고, 인삼근부병 유발균(*Ilyonectria mors-panacis*)의 감염에 의한 증상을 완화 또는 호전시킬 수 있는 인삼근부병 예방 또는 치료용 제제, 상기 제제를 포함하는 인삼근부병 예방 또는 치료용 비료, 상기 제제를 인삼을 재배하는 토양에 처리하는 단계를 포함하는 인삼근부병의 예방 또는 치료방법 및 인삼근부병을 예방 또는 치료하기 위한 나노실리카의 용도에 관한 것이다.

배경기술

- [2] 인삼은 땅 밑에 뿌리와 뇌두, 땅 위에는 줄기, 잎, 꽃(열매)으로 이루어져 있으며, 다년생이므로 매년 봄이 되면 땅속의 뿌리에서 새싹이 나오고 줄기는 매년 가을이 되면 고사되며, 그때 뇌두(腦頭)에 1년마다 착생한 흔적을 남긴다. 뿌리의 발육과 형태는 년생에 따라 차이가 있고 수확은 4~6년생 때 이루어진다. 인삼은 4~6년 동안 동일 포장에서 장기간 재배를 하여야 하고, 인삼을 수확한 후 다른 작물을 재배하지 않고 1-2년 간 경작 예정지 관리 후 다시 인삼을 경작하는 연작방식 때문에 각종 병해에 의한 피해가 매우 크고 연작장해의 발생가능성이 높다.
- [3] 연작장해는 인삼의 뿌리를 부패시키는 것으로 알려진 다양한 진균류에 의해 나타나는 것으로 알려져 있는데, 이처럼 인삼의 뿌리를 부패시키는 진균류를 통칭하여 인삼근부병원균 또는 인삼뿌리썩음병원균이라고 호칭한다. 최근 농업기술원 연구결과에 따르면 4년근 이상 인삼의 결주 원인은 근부병(뿌리썩음병) 35%, 잿빛곰팡이병 32%, 줄기반점병 등이 15%를 차지하고 있으며, 그 중에서도 근부병은 병에 의한 결주율 피해가 초작지 4년근 21.8%, 6년근 50%으로서 인삼생산에 있어 최대의 적으로 평가되고 있다. 또한, 근부병은 병진전이 더디게 나타나 초기 병진단이 어렵고, 토양에서 월동함에 따라 뿌리에 직접 병을 일으키기 때문에 식물체가 시드는 증상이 나타나도 이미 병이 뿌리에 만연되어 방제하기에는 늦은 경우가 대부분이다.
- [4] 인삼근부병의 방제를 위하여 토양 훈증제를 사용하는 방법 및 화학농약을 이용한 방제가 알려져 있으나, 이상의 방제법으로는 뚜렷한 효과를 거두기 어렵고 인삼 근부병 등과 같은 토양 전염성 병원균들은 토양 중에 후막포자를 형성하여 열악한 조건에서도 장기간 생존할 수 있어 완벽한 방제가 매우 어렵다. 또한, 훈증방법은 인삼경작 중에 뿌리썩음증이 발생하여 뿌리가 부패하는 경우에는 적용이 불가능하고, 유해 미생물 및 유용 미생물까지 원천적으로 제거하여 토양생태계의 파괴에 대한 위험성이 있으며, 일부경작지에서는

무분별하게 화학농약을 남용하여 재배 인삼은 물론 주변 수질과 토양까지 심각하게 오염시킬 가능성도 있기 때문에 인삼의 근부병을 해결하기는 쉽지 않다.

- [5] 최근에는 저독성, 친환경적인 생물농약의 개발이 시도되고 있는데, 예를 들어, 한국등록특허 제10-1531322호에는 바실러스 속 AM-1058(KCTC-12420BP) 균주 및 포자를 포함하는 조성물을 이용하여 인삼뿌리썩음병을 발병시키는 병원균을 방제하는 기술이 개시되어 있고, 한국등록특허 제10-0566265호에는 슈도모나스 푸티다(*Pseudomonas putida*) CB11 균주 및 이를 함유하는 미생물 살균제를 이용하여 인삼뿌리썩음병의 발병을 억제하는 기술이 개시되어 있다. 그러나, 이러한 생물농약은 기본적으로 미생물을 포함하기 때문에, 상기 미생물을 배양하여 증식시키는데 많은 비용과 시간이 소요되고, 제조된 생물농약을 유통하거나 보존하는데에도 많은 비용과 시간이 소요되기 때문에, 경제성이 낮다는 단점이 있었다.

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [6] 본 발명자들은 인삼근부병을 보다 경제적으로 예방 또는 치료할 수 있는 방법을 개발하기 위하여, 예의 연구노력한 결과, 나노실리카를 사용할 경우 인삼근부병원균의 감염에 의하여 발병되는 인삼근부병의 증상을 완화 또는 경감시킬 수 있음을 확인하고, 본 발명을 완성하였다.

과제 해결 수단

- [7] 본 발명의 하나의 목적은 나노실리카를 포함하는 인삼근부병 예방 또는 치료용 제제를 제공하는 것이다.
- [8] 본 발명의 다른 목적은 상기 제제를 포함하는 인삼근부병 예방 또는 치료용 비료를 제공하는 것이다.
- [9] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 제제를 이용하여 인삼근부병을 예방 또는 치료하는 방법을 제공하는 것이다.
- [10] 본 발명의 또 다른 목적은 인삼근부병을 예방 또는 치료하기 위한 나노실리카의 용도를 제공하는 것이다.

발명의 효과

- [11] 본 발명에서 제공하는 인삼근부병 예방 또는 치료용 제제는 인삼을 재배하는 토양에 처리하여도, 인삼근부병을 예방 또는 치료하는 효과를 나타내므로, 인삼근부병의 방제를 통한 효과적인 인삼의 재배에 널리 활용될 수 있을 것이다.

도면의 간단한 설명

- [12] 도 1a는 인삼근부병원균의 접종일로부터 4일이 경과된 후, 인삼근부병원균이 접종되지 않은 인조토양(Healthy)과 인삼근부병원균이 접종된 인조토양(Infected)에서 재배된 인삼의 나노실리카의 처리양에 따른 변화를 비교한 결과를 나타내는 사진이다.

- [13] 도 1b는 인삼근부병원균의 접종일로부터 8일이 경과된 후, 인삼근부병원균이 접종되지 않은 인조토양(Healthy)과 인삼근부병원균이 접종된 인조토양(Infected)에서 재배된 인삼의 나노실리카의 처리양에 따른 변화를 비교한 결과를 나타내는 사진이다.
- [14] 도 1c는 인삼근부병원균의 접종일로부터 16일이 경과된 후, 인삼근부병원균이 접종되지 않은 인조토양(Healthy)과 인삼근부병원균이 접종된 인조토양(Infected)에서 재배된 인삼의 나노실리카의 처리양에 따른 변화를 비교한 결과를 나타내는 사진이다.
- [15] 도 2a는 인삼근부병원균의 감염에 따른 뿌리의 손상정도를 나타내는 사진으로서, 1단계는 정상인 인삼뿌리를 나타내고, 2단계는 인삼뿌리의 말단이 변형되기 시작한 상태를 나타내며, 3단계는 인삼뿌리의 말단이 완전히 변형된 상태를 나타내고, 4단계는
- [16] 인삼뿌리의 중간부위까지 변형된 상태를 나타내며, 5단계는 인삼뿌리 전체가 변형된 상태를 나타내고, 6단계는 인삼의 줄기까지 완전히 시든 상태를 나타낸다.
- [17] 도 2b는 인삼근부병원균의 감염에 따른 뿌리의 손상정도를 평가한 기준에 맞추어, 도 1의 결과를 정량분석한 결과를 나타낸 그래프이다.
- [18] 도 3a는 인삼근부병원균의 감염에 따른 뿌리의 실중량의 변화를 비교한 결과를 나타내는 그래프이다.
- [19] 도 3b는 인삼근부병원균의 감염에 따른 뿌리의 건조중량의 변화를 비교한 결과를 나타내는 그래프이다.
- [20] 도 4는 인삼근부병원균의 감염에 따른 뿌리의 단위 중량당 진세노사이드의 함량변화를 비교한 결과를 나타내는 그래프이다.
- [21] 도 5a는 인삼근부병원균 또는 나노실리카가 각각 또는 함께 처리된 인삼뿌리에서, 발현되는 PgMYB3 유전자의 발현수준변화를 시간의 경과에 따라 비교한 결과를 나타내는 그래프이다.
- [22] 도 5b는 인삼근부병원균 또는 나노실리카가 각각 또는 함께 처리된 인삼뿌리에서, 발현되는 PgWRKY22 유전자의 발현수준변화를 시간의 경과에 따라 비교한 결과를 나타내는 그래프이다.
- [23] 도 6a는 인삼근부병원균 또는 나노실리카가 각각 또는 함께 처리된 인삼뿌리에서, 발현되는 PgSS1 유전자의 발현수준변화를 시간의 경과에 따라 비교한 결과를 나타내는 그래프이다.
- [24] 도 6b는 인삼근부병원균 또는 나노실리카가 각각 또는 함께 처리된 인삼뿌리에서, 발현되는 PgSE1 유전자의 발현수준변화를 시간의 경과에 따라 비교한 결과를 나타내는 그래프이다.
- [25] 도 6c는 인삼근부병원균 또는 나노실리카가 각각 또는 함께 처리된 인삼뿌리에서, 발현되는 PgSE2 유전자의 발현수준변화를 시간의 경과에 따라 비교한 결과를 나타내는 그래프이다.

[26] 도 7a는 인삼근부병원균 또는 나노실리카가 각각 또는 함께 처리된 인삼뿌리에서, 발현되는 PgCAS 유전자의 발현수준변화를 시간의 경과에 따라 비교한 결과를 나타내는 그래프이다.

[27] 도 7b는 인삼근부병원균 또는 나노실리카가 각각 또는 함께 처리된 인삼뿌리에서, 발현되는 PgLAS 유전자의 발현수준변화를 시간의 경과에 따라 비교한 결과를 나타내는 그래프이다.

발명의 실시를 위한 최선의 형태

[28] 상기 목적을 달성하기 위한 일 실시양태로서, 본 발명은 나노실리카를 포함하는 인삼근부병 예방 또는 치료용 제제를 제공한다.

[29] 본 발명의 용어 "나노실리카(nano sized silica)"란, 이산화규소 화합물인 실리카 중에서도, 입자크기가 10 내지 100nm인 실리카를 의미한다.

[30] 본 발명에 있어서, 상기 나노실리카는 인삼근부병원균으로 오염된 토양에서 재배된 인삼에서 나타나는 인삼근부병의 증상을 완화 또는 경감시키는 효과를 나타내는데, 상기 나노실리카의 형태는 특별히 이에 제한되지 않으나, 결정(crystal) 상, 분말(powder) 상, 페이스트(paste) 상, 겔(gel) 상 등의 당해 기술 분야에서 통상적으로 사용되는, 존재 가능한 모든 형태가 될 수 있다.

[31] 본 발명의 용어 "인삼근부병(root rot of panax ginseng)"이란, "인삼뿌리썩음병"이라고도 호칭되고, 토양에 존재하는 병원성 진균류인 일료넥트리아(*Ilyonectria*) 속 균주의 감염에 의하여 인삼의 뿌리가 썩는 증상을 나타내는 질환을 의미한다. 상기 일료넥트리아 속 균주는 강한 병원성을 나타내는 *Ilyonectria mors-panacis* 균주와 약한 병원성을 나타내는 *Ilyonectria panacis*, *Ilyonectria robusta* 및 *Ilyonectria crassa* 균주로 구별되는데, 대부분의 인삼근부병은 *Ilyonectria mors-panacis* 균주의 감염에 의하여 발병된다고 알려져 있다.

[32] 본 발명의 용어 "일료넥트리아 모르스파나시스(*Ilyonectria mors-panacis*) 균주"란, 인삼근부병의 주된 발병원인균의 하나를 의미하는데, 강한 병원성을 나타낸다고 알려져 있다.

[33] 본 발명의 인삼근부병 예방 또는 치료용 제제에 포함되는 상기 나노실리카의 함량은 인삼근부병을 예방 또는 치료할 수 있는 한, 특별히 이에 제한되지 않으나, 일 예로서, 제제의 전체 중량을 기준으로 10 내지 90중량%가 될 수 있고, 다른 예로서, 제제의 전체 중량을 기준으로 30 내지 60중량%가 될 수 있다.

[34] 본 발명의 인삼근부병 예방 또는 치료용 제제는 상기 나노실리카 이외에, 기타 보조제, 첨가제 등을 추가로 포함할 수 있다. 상기 기타 보조제 또는 첨가제의 종류, 형태 및 함량 등은 특별히 제한되지 아니하며, 본 발명의 상기 나노실리카의 인삼근부병을 예방 또는 치료하는 효과를 저해하는 성질의 것이 아닌 한 당해 기술 분야 또는 유사 분야에서 통상적으로 알려진 기타 보조제, 첨가제를 사용할 수 있다.

- [35] 예를 들어, 본 발명의 제제는 통상적으로 이용되는 항진균제 등을 추가로 포함할 수 있고, 식물용 제제에 사용될 수 있는 부형제, 희석제 등을 추가로 포함할 수 있다. 상기 부형제 또는 희석제로는 식물용 제제에 사용할 수 있는 고체 담체, 액체 담체, 액체 희석제, 액화된 기체 희석제, 고체 희석제 또는 기타 보조제 예를 들어 유화제, 분산제 또는 기포제 등의 계면활성제를 추가로 포함할 수 있다.
- [36] 본 발명의 제제는 활성성분인 나노실리카와 상기 부형제를 혼합한 형태의 조성물로 제제화시켜 사용할 수 있고, 상기 조성물로 제제화하는 방법으로는 당분야에서 통상적으로 사용되는 방법은 모두 적용할 수 있다.
- [37] 본 발명의 인삼근부병 예방 또는 치료용 제제는 이를 사용하여 달성하고자 하는 반응의 종류나 정도, 상기 조성물의 처리 방식, 처리 기간, 처리 경로 등에 따라 다양해 질 수 있으며, 상기 조성물의 처리 대상이 되는 인삼의 재배지, 인삼근부병의 원인균, 상기 원인균의 오염정도 등을 비롯한 여러 인자 및 당해 기술 분야에서 통상적으로 고려되어야 할 모든 인자에 따라 다양한 양으로 다양한 제형으로 제제화될 수 있다. 예를 들어, 수화제, 입제, 분제, 유제, 스프레이상, 연막제, 캡셀형, 젤상 등의 제형으로 제제화 될 수 있다.
- [38] 또한, 본 발명의 상기 제제를 이용하여 다양한 형태의 제품으로 제조되어 사용될 수 있는데, 일 예로서, 인삼의 재배토양에 처리할 수 있는 비료의 형태로 제조될 수도 있고, 인삼에 시비할 수 있는 농약의 형태로 제조될 수도 있다. 이러한 제품에 포함된 나노실리카의 유효량이나 제형 등은 당해 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에 의해 용이하게 결정되고 적용될 수 있다.
- [39] 다른 양태로서, 본 발명은 상기 제제를 포함하는 인삼근부병 예방 또는 치료용 비료를 제공한다.
- [40] 본 발명에서 제공하는 인삼근부병 예방 또는 치료용 제제는 인삼을 재배한 토양에 처리하여 인삼근부병을 예방 또는 치료할 수 있으므로, 상기 제제는 인삼재배지의 토양에 처리하는 비료의 형태로 제조되어 사용될 수 있다.
- [41] 본 발명의 용어 "비료"란 거름이라고도 불리며, 토지를 기름지게 하고 초목의 생육을 촉진시키는 영양물질을 의미한다.
- [42] 본 발명에 있어서, 상기 제제를 포함하는 비료는 인삼의 재배이전 또는 재배이후에 토양에 처리하여 간편하게 사용할 수 있으며, 농약 등의 살포시 함께 시비할 수도 있다.
- [43] 특히 본 발명의 제제에 포함된 나노실리카는 그 자체로서 토양 뿐만 아니라, 사람이나 가축에 무해하므로 종래의 생물농약 보다도 안전하게 사용될 수 있다.
- [44] 또 다른 양태로서, 본 발명은 상기 제제를 인삼을 재배하는 토양에 처리하는 단계를 포함하는 인삼근부병의 예방 또는 치료방법을 제공한다.
- [45] 본 발명의 일 실시예에 의하면, 인삼근부병원균이 접종된 토양에 인삼을 재배하면서 나노실리카를 1 또는 2mM의 농도로 처리하고, 그의 효과를 검증한 결과, 나노실리카가 처리되지 않은 토양에서 재배된 인삼은 인삼근부병의

발병으로 인하여, 인삼뿌리의 일부가 썩고, 인삼에서 싹이 증식되지 않는 반면, 나노실리카를 처리한 토양에서 재배된 인삼은 인삼의 뿌리에서 썩은 부분이 발생되지 않고, 인삼에서 일정 수준의 싹이 증식됨을 확인하였다(도 1a 내지 1c).

[46] 따라서, 나노실리카를 사용하면 인삼근부병의 발병을 예방 또는 치료할 수 있음을 알 수 있었다.

[47] 또 다른 양태로서, 본 발명은 인삼근부병을 예방 또는 치료하기 위한 나노실리카의 용도를 제공한다.

발명의 실시를 위한 형태

[48] 이하 본 발명을 실시예를 통하여 보다 상세하게 설명한다. 그러나 이들 실시예는 본 발명을 예시적으로 설명하기 위한 것으로 본 발명의 범위가 이들 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[49] 실시예 1: 인삼근부병에 미치는 나노실리카의 효과분석

[50] 25°C에서 15일 동안 배양된 인삼근부병원균(*Ilyonectria mors-panacis*)을 인조토양(Vermiculite : Perlite : Peat Moss = 3:1:1, v/v/v)에 접종한 후, 상기 병원균이 접종된 인조토양에 1.5년근 인삼을 심고 재배하였다. 이때, 대조군으로는 인삼근부병원균이 접종되지 않은 인조토양에서 재배된 1.5년근 인삼을 사용하였다.

[51] 상기 재배된 인삼 8뿌리를 하나의 그룹으로 설정하고, 상기 그룹에 0, 1 또는 2mM 나노실리카를 처리한 3개 그룹을 설정하였다. 상기 설정된 3개 그룹을 1개월 동안 재배하면서, 상기 인삼근부병원균의 접종일로부터 4일, 8일 및 16일이 경과된 시점에서 재배된 인삼의 뿌리의 상태와 상기 인삼에서 증식된 싹의 상태를 비교하였다(도 1a 내지 1c).

[52] 도 1a는 인삼근부병원균의 접종일로부터 4일이 경과된 후, 인삼근부병원균이 접종되지 않은 인조토양(Healthy)과 인삼근부병원균이 접종된 인조토양(Infected)에서 재배된 인삼의 나노실리카의 처리양에 따른 변화를 비교한 결과를 나타내는 사진이다.

[53] 도 1a에서 보듯이, 인삼근부병원균의 접종일로부터 4일이 경과된 후, 나노실리카가 처리되지 않은 토양에서 재배된 인삼은 뿌리의 말단에 강한 과민성 반응으로 인해, 변색되는 증상이 나타나고, 상기 재배된 인삼에서 증식된 싹의 크기가 매우 작음을 확인한 반면, 동일하게 4일이 경과된 후, 나노실리카가 처리된 토양에서 재배된 인삼은 뿌리의 말단에 과민성 반응이 약하게 나타나고, 변색되지 않았으며, 상기 재배된 인삼에서 증식된 싹의 크기가 대조군과 별다른 차이를 나타내지 않음을 확인하였다.

[54] 도 1b는 인삼근부병원균의 접종일로부터 8일이 경과된 후, 인삼근부병원균이 접종되지 않은 인조토양(Healthy)과 인삼근부병원균이 접종된 인조토양(Infected)에서 재배된 인삼의 나노실리카의 처리양에 따른 변화를 비교한 결과를 나타내는 사진이다.

- [55] 도 1b에서 보듯이, 인삼근부병원균의 접종일로부터 8일이 경과된 후, 나노실리카가 처리되지 않은 토양에서 재배된 인삼은 뿌리의 말단의 일부가 썩는 증상이 나타나고, 상기 재배된 인삼에서 싹이 증식되지 않음을 확인한 반면, 동일하게 8일이 경과된 후, 나노실리카가 처리된 토양에서 재배된 인삼은 뿌리의 말단에서 썩는 부위가 관찰되지 않았고, 상기 재배된 인삼에서 증식된 싹의 크기가 대조군과 별다른 차이를 나타내지 않음을 확인하였다.
- [56] 도 1c는 인삼근부병원균의 접종일로부터 16일이 경과된 후, 인삼근부병원균이 접종되지 않은 인조토양(Healthy)과 인삼근부병원균이 접종된 인조토양(Infected)에서 재배된 인삼의 나노실리카의 처리량에 따른 변화를 비교한 결과를 나타내는 사진이다.
- [57] 도 1c에서 보듯이, 인삼근부병원균의 접종일로부터 16일이 경과된 후, 나노실리카가 처리되지 않은 토양에서 재배된 인삼은 뿌리의 말단에서 발생한 썩은 부위로 인하여, 인삼의 뿌리조직이 연화되는 증상을 나타내었고, 상기 재배된 인삼에서 싹이 증식되지 않음을 확인한 반면, 동일하게 16일이 경과된 후, 나노실리카가 처리된 토양에서 재배된 인삼은 뿌리의 말단에서 썩은 부위가 관찰되지 않았고, 상기 재배된 인삼에서 증식된 싹의 크기는 대조군의 것보다는 작았으나, 싹이 증식됨을 확인하였다.
- [58] 상기 도 1a 내지 1c의 결과로부터, 나노실리카는 인삼근부병원균에 의하여 발병되는 인삼근부병의 증상을 완화시킬 수 있음을 알 수 있었다.
- [59] 실시예 2: 인삼근부병에 미치는 나노실리카 효과의 정량분석
- [60] 실시예 2-1: 인삼뿌리 외관의 정량분석
- [61] 상기 실시예 1에서 설정한 인삼근부병원균을 접종하고, 뿌리가 손상된 수준에 따라, 1 내지 6단계로 분류하였다(도 2a).
- [62] 도 2a는 인삼근부병원균의 감염에 따른 뿌리의 손상정도를 나타내는 사진으로서, 1단계는 정상인 인삼뿌리를 나타내고, 2단계는 인삼뿌리의 말단이 변형되기 시작한 상태를 나타내며, 3단계는 인삼뿌리의 말단이 완전히 변형된 상태를 나타내고, 4단계는
- [63] 인삼뿌리의 중간부위까지 변형된 상태를 나타내며, 5단계는 인삼뿌리 전체가 변형된 상태를 나타내고, 6단계는 인삼의 줄기까지 완전히 시든 상태를 나타낸다.
- [64] 상기 분류기준에 근거하여, 상기 실시예 1에서 얻어진 결과를 평가하였다(도 2b).
- [65] 도 2b는 인삼근부병원균의 감염에 따른 뿌리의 손상정도를 평가한 기준에 맞추어, 도 1의 결과를 정량분석한 결과를 나타낸 그래프이다. 도 2b에서 보듯이, 인삼근부병원균에 감염되지 않은 인삼에는 나노실리카를 처리하여도, 인삼뿌리의 외관에 별다른 변화가 없었으나, 인삼근부병원균에 감염된 인삼에는 나노실리카를 처리할 경우, 분류기준의 수치가 크게 감소함을 확인하였다.

[66] 실시예 2-2: 인삼뿌리 중량의 정량분석

[67] 상기 실시예 1에서 얻어진 각 인삼뿌리의 실중량과 건조중량을 비교하였다(도 3a 및 3b).

[68] 도 3a는 인삼근부병원균의 감염에 따른 뿌리의 실중량의 변화를 비교한 결과를 나타내는 그래프이고, 도 3b는 인삼근부병원균의 감염에 따른 뿌리의 건조중량의 변화를 비교한 결과를 나타내는 그래프이다.

[69] 도 3a 및 3b에서 보듯이, 인삼근부병원균에 감염될 경우에는 인삼의 중량이 급격히 감소되었으나, 나노실리카를 처리하면, 감소된 인삼뿌리의 중량이 나노실리카 처리량 의존적으로 회복됨을 확인하였다.

[70] 실시예 2-3: 인삼뿌리에 포함된 진세노사이드의 정량분석

[71] 상기 실시예 1에서 얻어진 각 인삼뿌리에 포함된 진세노사이드의 함량을 뿌리의 단위중량당 함량으로 정량분석하였다(도 4).

[72] 도 4는 인삼근부병원균의 감염에 따른 뿌리의 단위 중량당 진세노사이드의 함량변화를 비교한 결과를 나타내는 그래프이다.

[73] 도 4에서 보듯이, 인삼근부병원균에 감염될 경우에는 인삼뿌리에 포함된 단위중량당 진세노사이드의 함량이 급격히 감소되었으나, 나노실리카를 처리하면, 감소된 인삼뿌리에 포함된 단위중량당 진세노사이드의 함량이 나노실리카 처리량 의존적으로 회복됨을 확인하였다.

[74] 실시예 3: 인삼의 유전자 발현에 미치는 나노실리카의 효과

[75] 실시예 3-1: 자스민산(JA)의 신호전달에 영향을 미치는 유전자의 발현수준의 정량분석

[76] 인삼뿌리에, 인삼근부병원균과 나노실리카를 각각 또는 함께 처리하고, 4일, 8일 및 16일 동안 재배한 후, 상기 재배된 인삼뿌리에서 발현되는 자스민산(JA)의 신호전달에 영향을 미치는 PgMYB3 유전자와 PgWRKY22 유전자의 발현수준의 변화를 정량분석하였다(도 5a 및 5b).

[77] 도 5a는 인삼근부병원균 또는 나노실리카가 각각 또는 함께 처리된 인삼뿌리에서, 발현되는 PgMYB3 유전자의 발현수준변화를 시간의 경과에 따라 비교한 결과를 나타내는 그래프이고, 도 5b는 인삼근부병원균 또는 나노실리카가 각각 또는 함께 처리된 인삼뿌리에서, 발현되는 PgWRKY22 유전자의 발현수준변화를 시간의 경과에 따라 비교한 결과를 나타내는 그래프이다.

[78] 도 5a 및 5b에서 보듯이, 인삼뿌리에 인삼근부병원균 또는 나노실리카를 각각 개별적으로 처리할 경우에는 상기 PgMYB3 유전자와 PgWRKY22 유전자의 발현수준이 특별히 변화되지 않았으나, 인삼뿌리에 인삼근부병원균과 나노실리카를 함께 처리할 경우에는 PgMYB3 유전자와 PgWRKY22 유전자의 발현수준이 처리후 8일이 경과된 시점에서 급격히 증가됨을 확인하였다.

[79] 실시예 3-2: 진세노사이드 합성 유전자의 상류 유전자의 발현수준의 정량분석

[80] 진세노사이드의 생합성 과정 중에서 직접적으로 진세노사이드를 합성하는

과정보다 먼저 수행되는 테르페노이드 합성과정에 작용하는 유전자의 발현수준에 상기 인삼근부병원균과 나노실리카가 미치는 효과를 분석하였다.

[81] 대략적으로, 상기 실시예 3-1의 방법으로 재배한 인삼뿌리에서, 테르페노이드 합성과정에 작용하는 유전자인 PgSS1, PgSE1 또는 PgSE2 유전자의 발현수준의 변화를 정량분석하였다(도 6a 내지 6c).

[82] 도 6a는 인삼근부병원균 또는 나노실리카가 각각 또는 함께 처리된 인삼뿌리에서, 발현되는 PgSS1 유전자의 발현수준변화를 시간의 경과에 따라 비교한 결과를 나타내는 그래프이고, 도 6b는 인삼근부병원균 또는 나노실리카가 각각 또는 함께 처리된 인삼뿌리에서, 발현되는 PgSE1 유전자의 발현수준변화를 시간의 경과에 따라 비교한 결과를 나타내는 그래프이며, 도 6c는 인삼근부병원균 또는 나노실리카가 각각 또는 함께 처리된 인삼뿌리에서, 발현되는 PgSE2 유전자의 발현수준변화를 시간의 경과에 따라 비교한 결과를 나타내는 그래프이다.

[83] 도 6a 내지 6c에서 보듯이, 테르페노이드 합성과정에 작용하는 3가지 유전자 중에서, PgSS1과 PgSE2 유전자는 인삼뿌리에 인삼근부병원균과 나노실리카를 함께 처리할 경우에 발현수준이 급격히 증가하였으나, PgSE1 유전자는 인삼뿌리에 인삼근부병원균과 나노실리카를 함께 처리하여도 발현수준에 별다른 변화를 나타내지 않았다.

[84] 한편, 인삼뿌리에 인삼근부병원균과 나노실리카를 함께 처리할 경우에도, PgSS1 유전자는 4일 또는 16일이 경과된 시점에서 발현수준이 급격히 증가된 반면, PgSE2 유전자는 8일이 경과된 시점에서 발현수준이 급격히 증가된다는 점에서 차이를 나타냄을 확인하였다.

[85] 실시예 3-3: 스테롤 합성 유전자의 발현수준의 정량분석

[86] 진세노사이드의 생합성 과정 중에서 스테로이드 구조를 합성하는 과정에 작용하는 유전자의 발현수준에 상기 인삼근부병원균과 나노실리카가 미치는 효과를 분석하였다.

[87] 대략적으로, 상기 실시예 3-1의 방법으로 재배한 인삼뿌리에서, 스테로이드 구조의 합성과정에 작용하는 유전자인 PgCAS 또는 PgLAS 유전자의 발현수준의 변화를 정량분석하였다(도 7a 및 7b).

[88] 도 7a는 인삼근부병원균 또는 나노실리카가 각각 또는 함께 처리된 인삼뿌리에서, 발현되는 PgCAS 유전자의 발현수준변화를 시간의 경과에 따라 비교한 결과를 나타내는 그래프이고, 도 7b는 인삼근부병원균 또는 나노실리카가 각각 또는 함께 처리된 인삼뿌리에서, 발현되는 PgLAS 유전자의 발현수준변화를 시간의 경과에 따라 비교한 결과를 나타내는 그래프이다.

[89] 도 7a 및 7b에서 보듯이, 스테로이드 구조의 합성과정에 작용하는 2가지 유전자 모두 인삼뿌리에 인삼근부병원균과 나노실리카를 함께 처리할 경우에 발현수준이 급격히 증가하고, 이들 유전자는 공통적으로 8일이 경과된 시점에서 발현수준이 급격히 증가함을 확인하였다.

[90] 이상의 설명으로부터, 본 발명이 속하는 기술분야의 당업자는 본 발명이 그 기술적 사상이나 필수적 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 실시될 수 있다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 이와 관련하여, 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적인 것이 아닌 것으로서 이해해야만 한다. 본 발명의 범위는 상기 상세한 설명보다는 후술하는 특허 청구범위의 의미 및 범위 그리고 그 등가 개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본 발명의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.

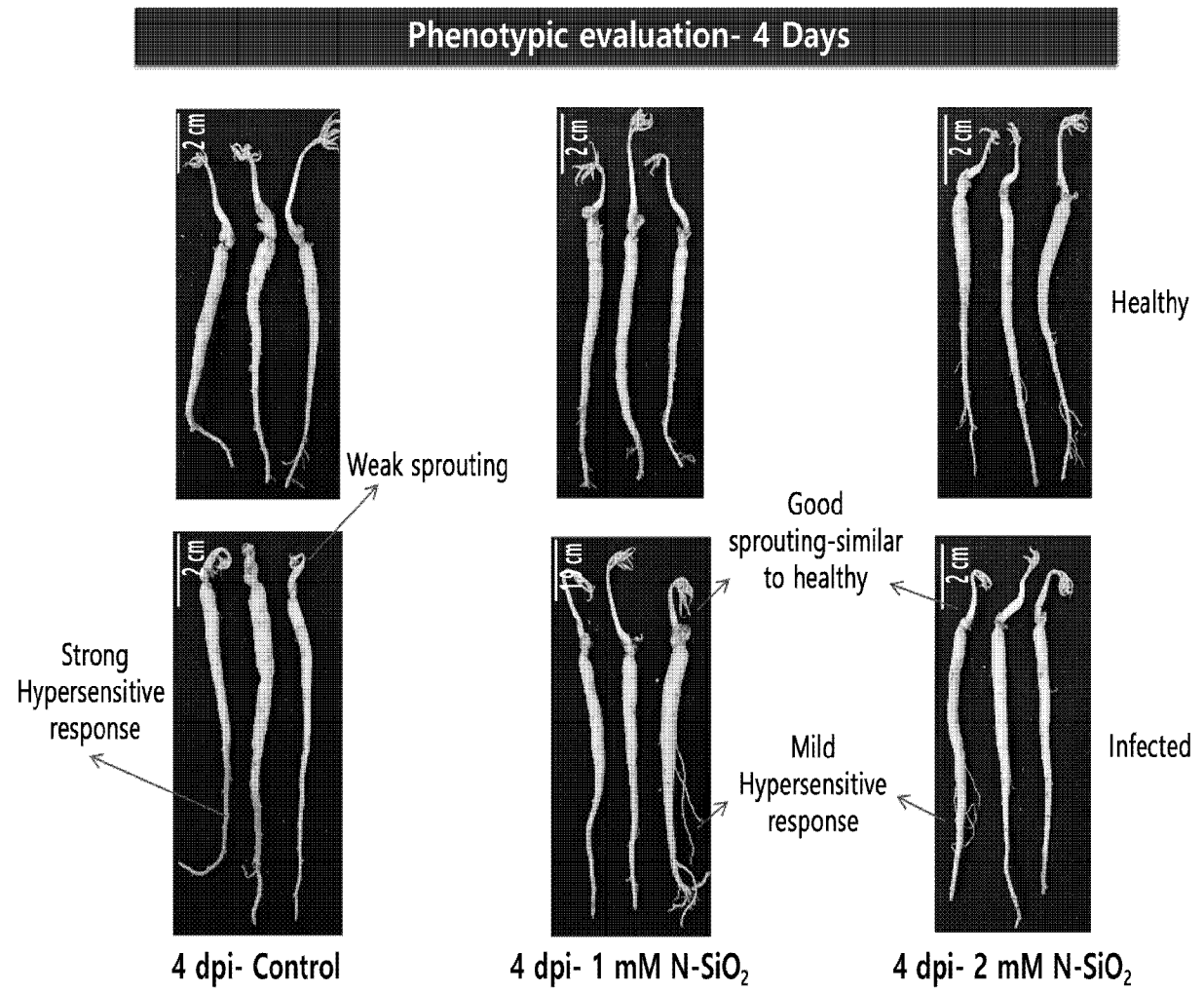
[91]

[92]

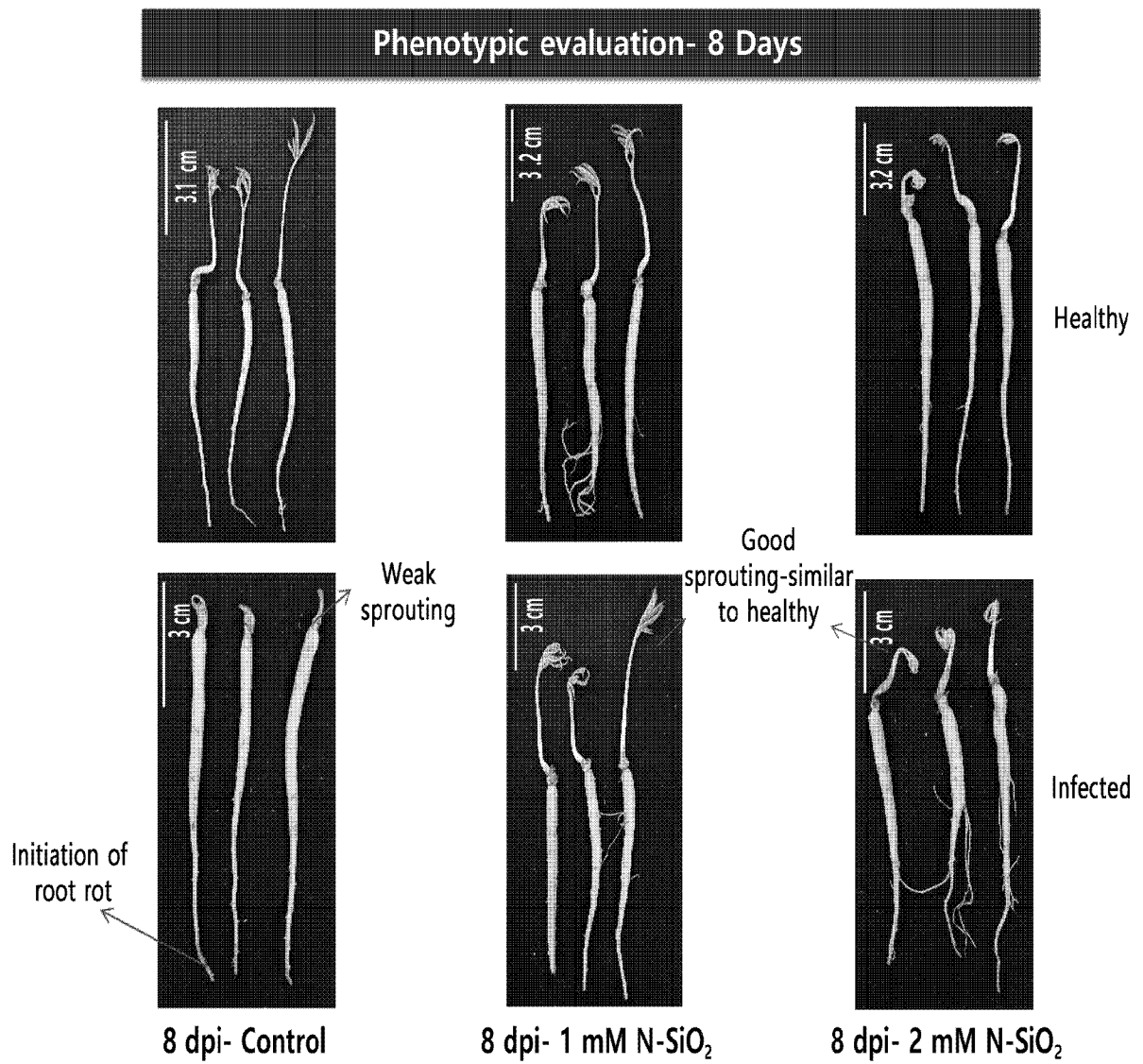
청구범위

- [청구항 1] 나노실리카를 포함하는 인삼근부병 예방 또는 치료용 제제.
- [청구항 2] 제1항에 있어서,
상기 나노실리카는 10 내지 100nm의 입자크기를 갖는 실리카인 것인, 제제.
- [청구항 3] 제1항에 있어서,
상기 인삼근부병은 일료넥트리아 모르스파나시스(*Ilyonectria morspanacis*) 균주의 감염에 의해 발병되는 것인, 제제.
- [청구항 4] 제1항에 있어서,
상기 나노실리카는 인삼근부병에 의해 감소된 인삼뿌리의 중량을 회복시키는 효과를 나타내는 것인, 제제.
- [청구항 5] 제1항에 있어서,
상기 나노실리카는 인삼근부병에 의해 감소된 인삼뿌리의 단위중량당 진세노사이드의 함량을 회복시키는 효과를 나타내는 것인, 제제.
- [청구항 6] 제1항에 있어서,
상기 나노실리카는 인삼뿌리에서 의 중량을 회복시키는 효과를 나타내는 것인, 제제.
- [청구항 7] 제1항 내지 제6항 중 어느 한 항의 제제를 포함하는, 인삼근부병 예방 또는 치료용 비료.
- [청구항 8] 제1항 내지 제6항 중 어느 한 항의 제제를 인삼을 재배하는 토양에 처리하는 단계를 포함하는 인삼근부병의 예방 또는 치료방법.

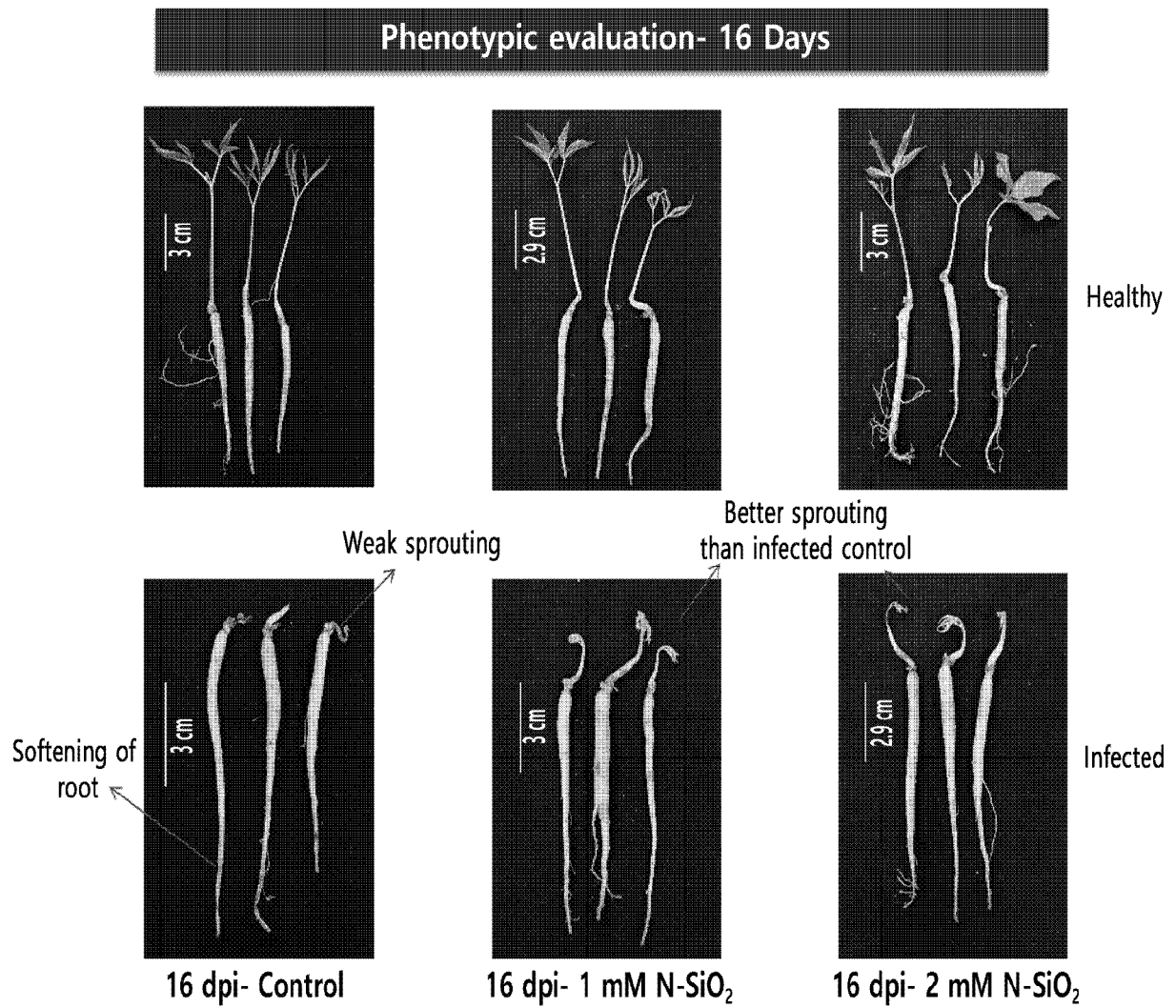
[도 1a]



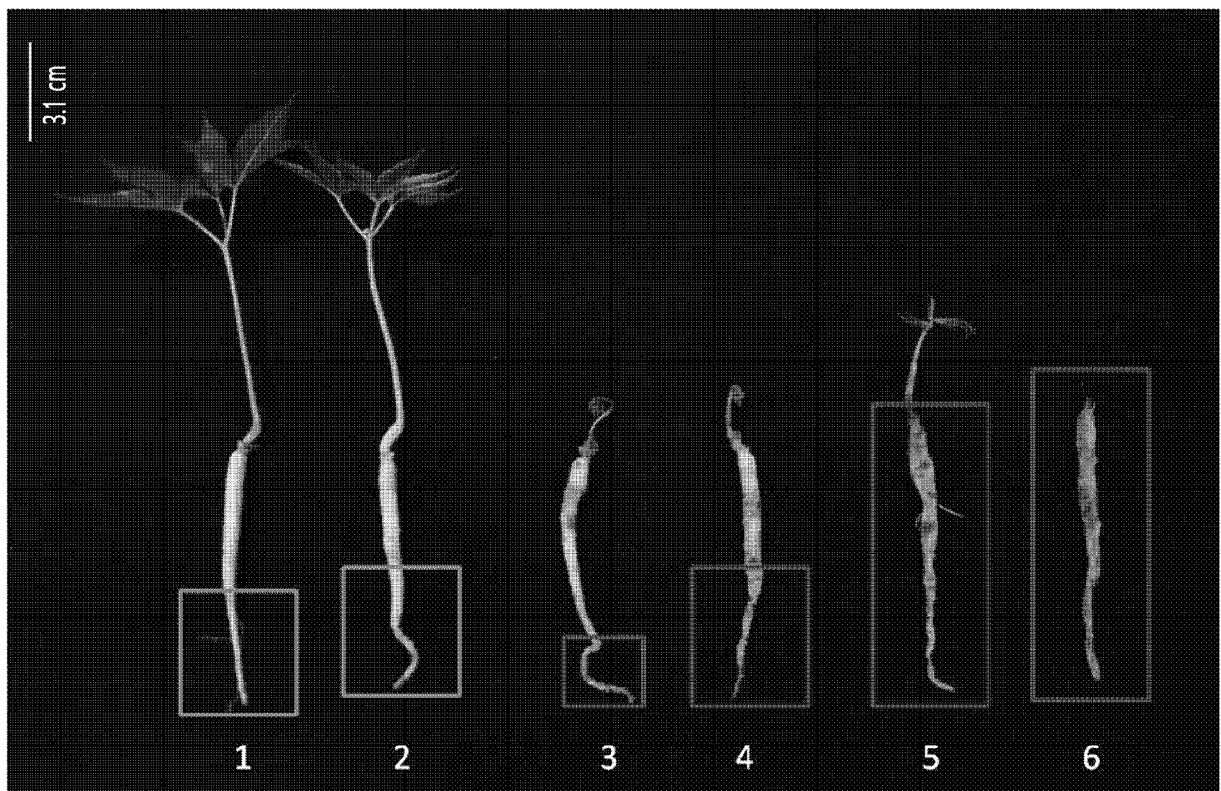
[도 1b]



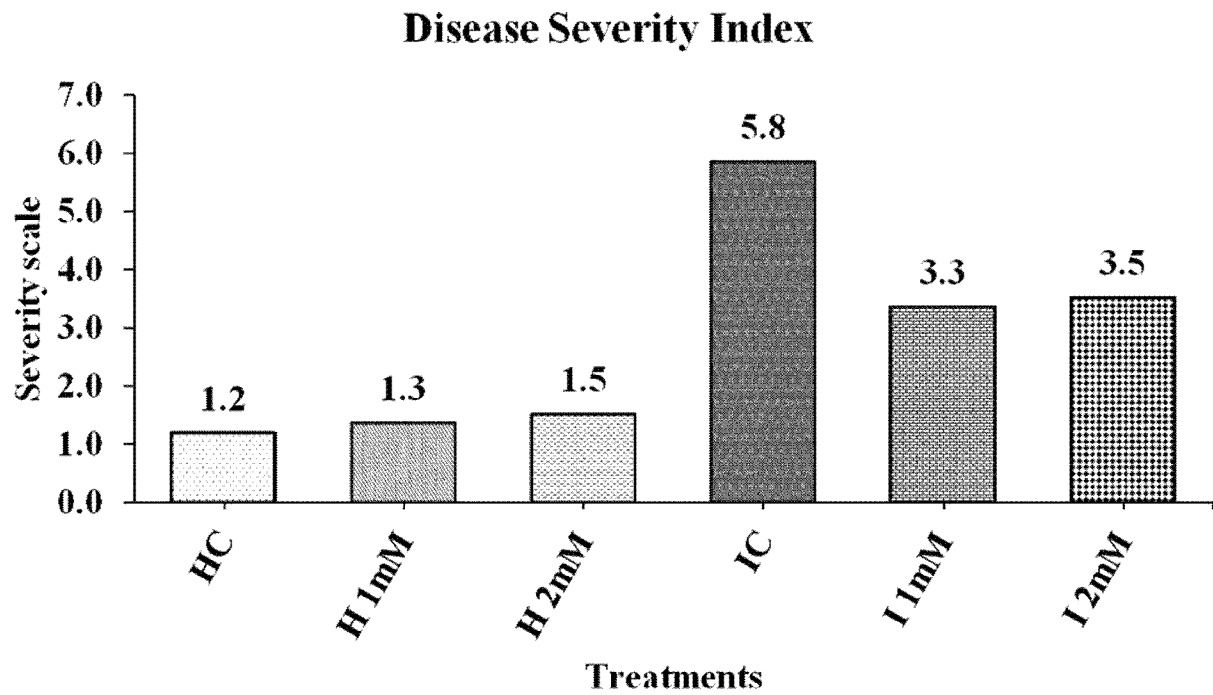
[도1c]



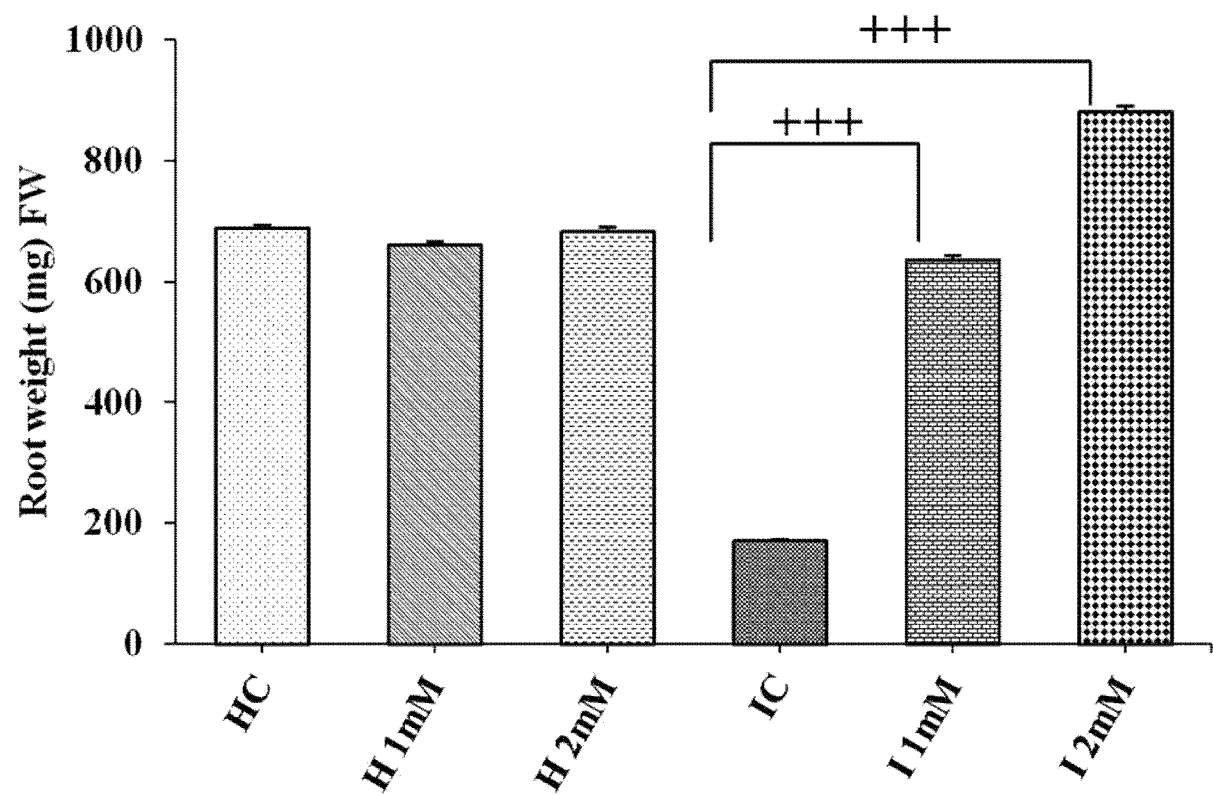
[도2a]



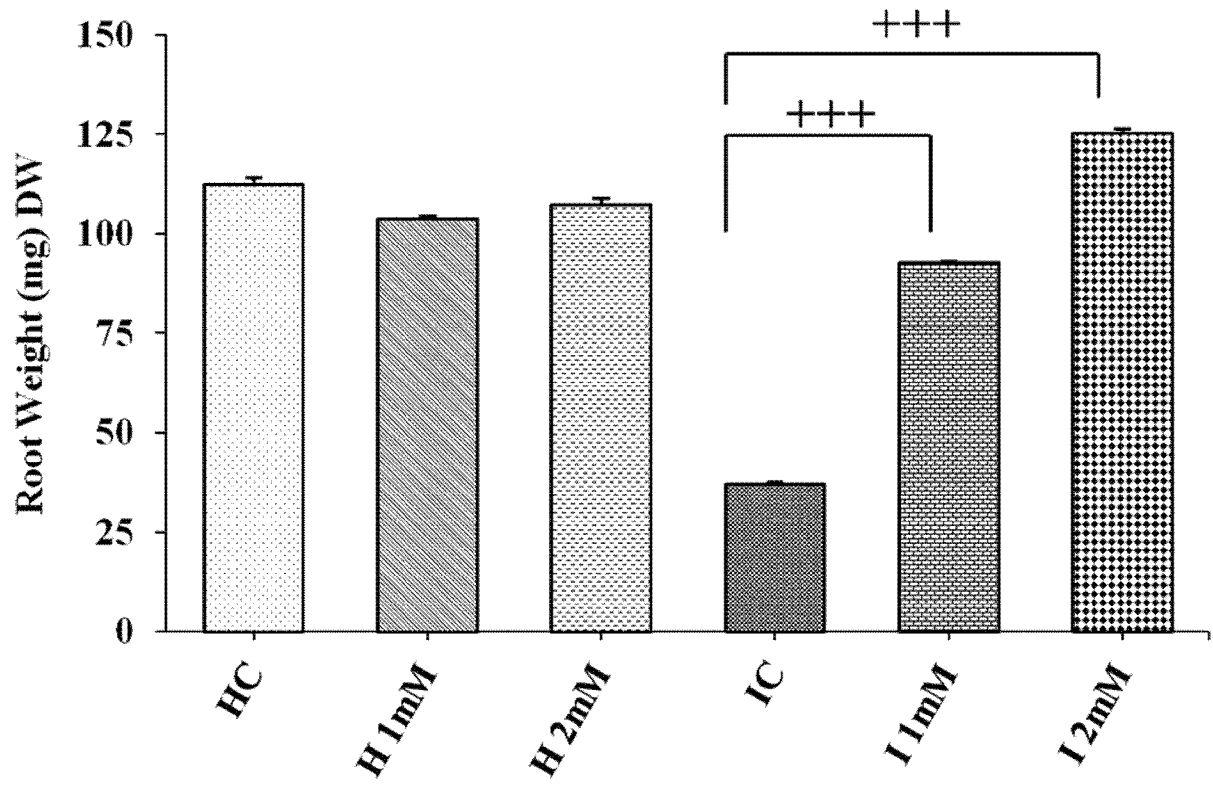
[도2b]



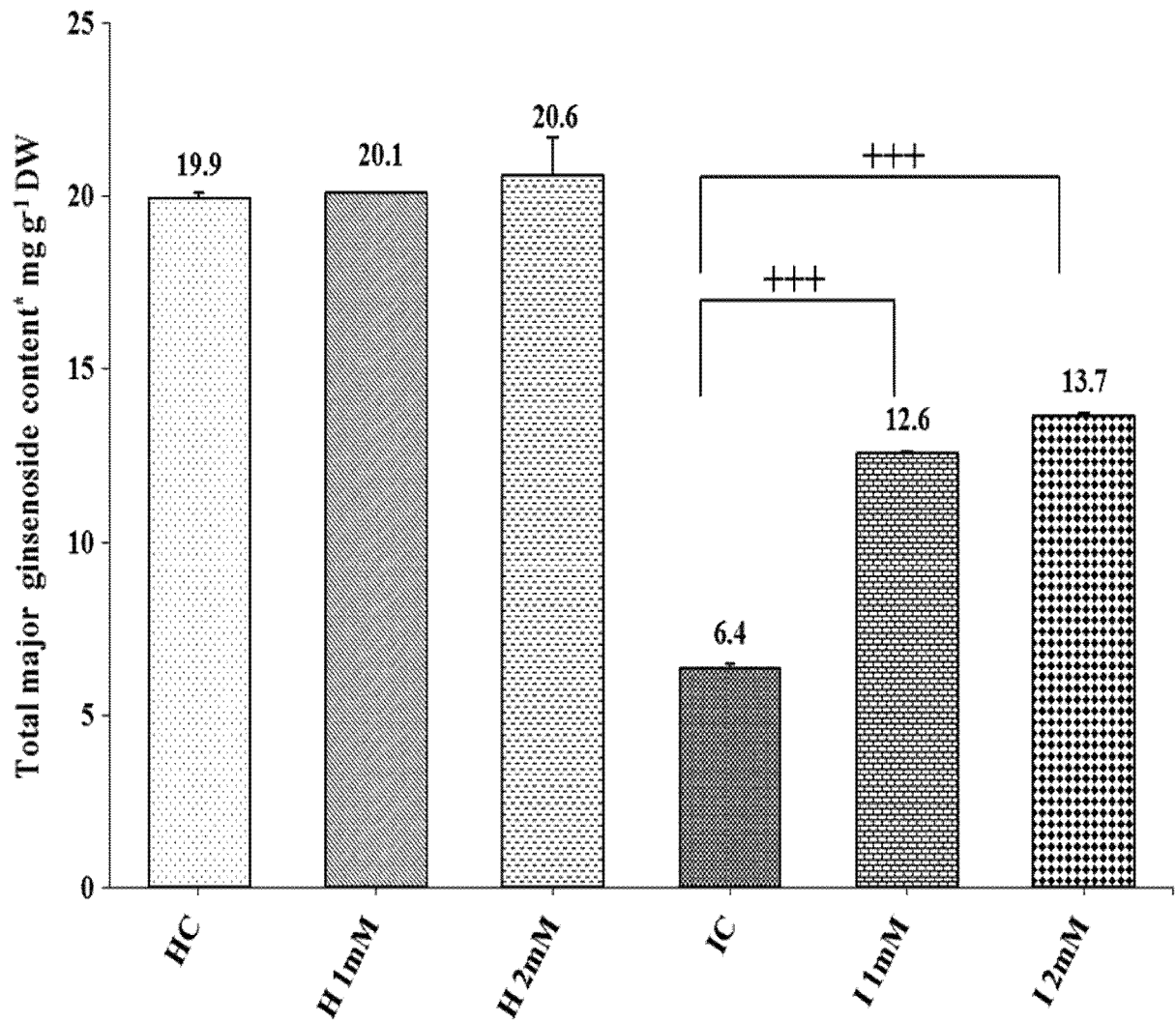
[도3a]



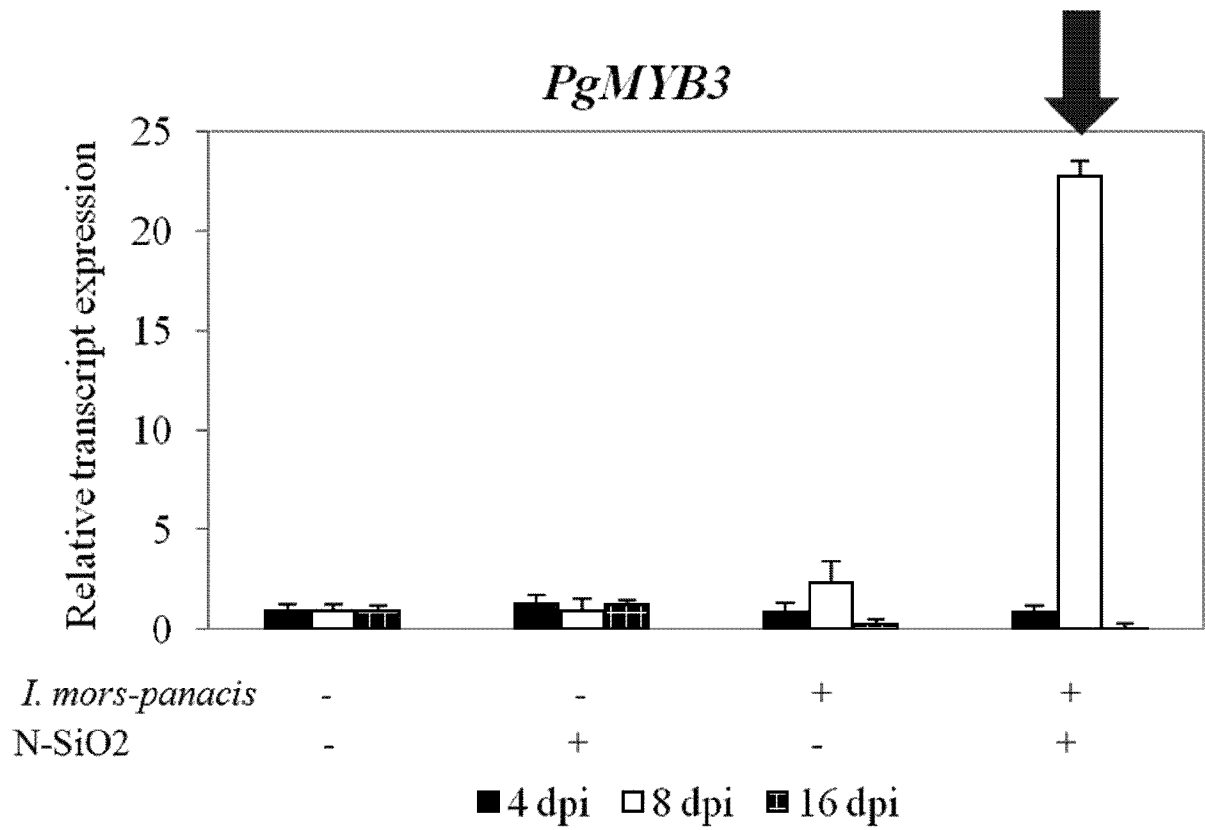
[도3b]



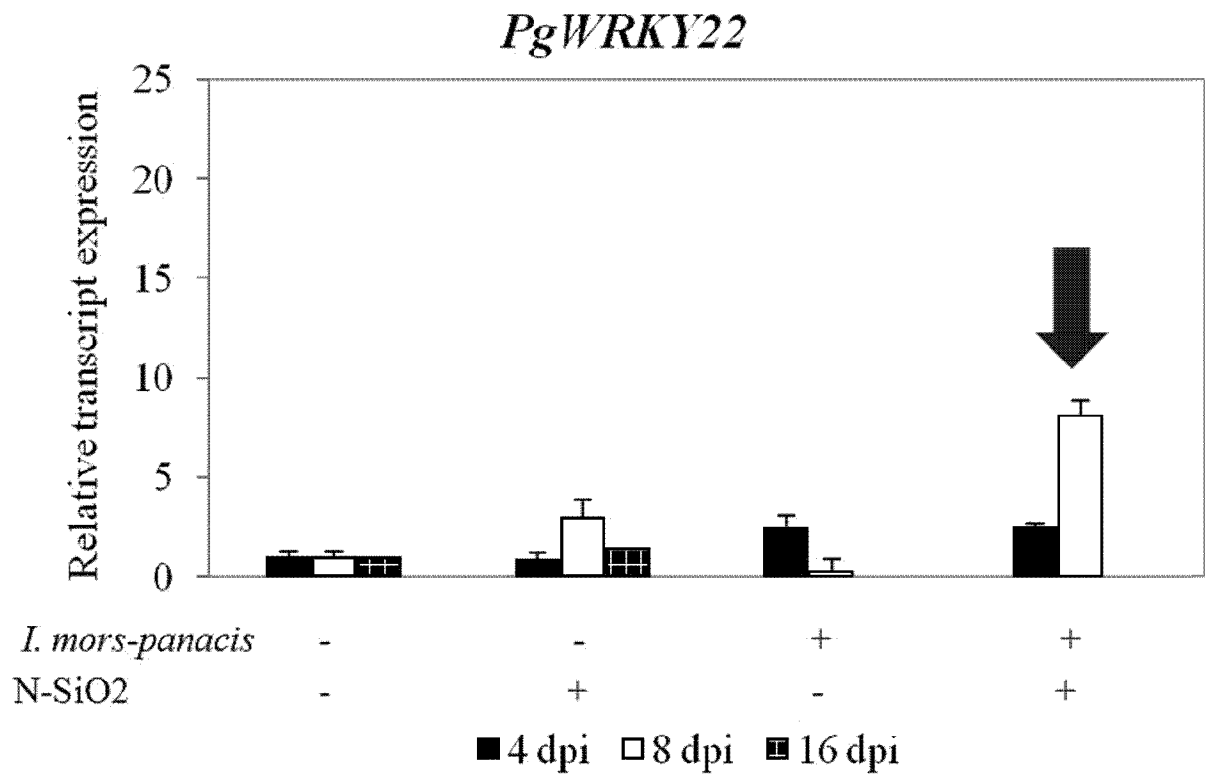
[도4]



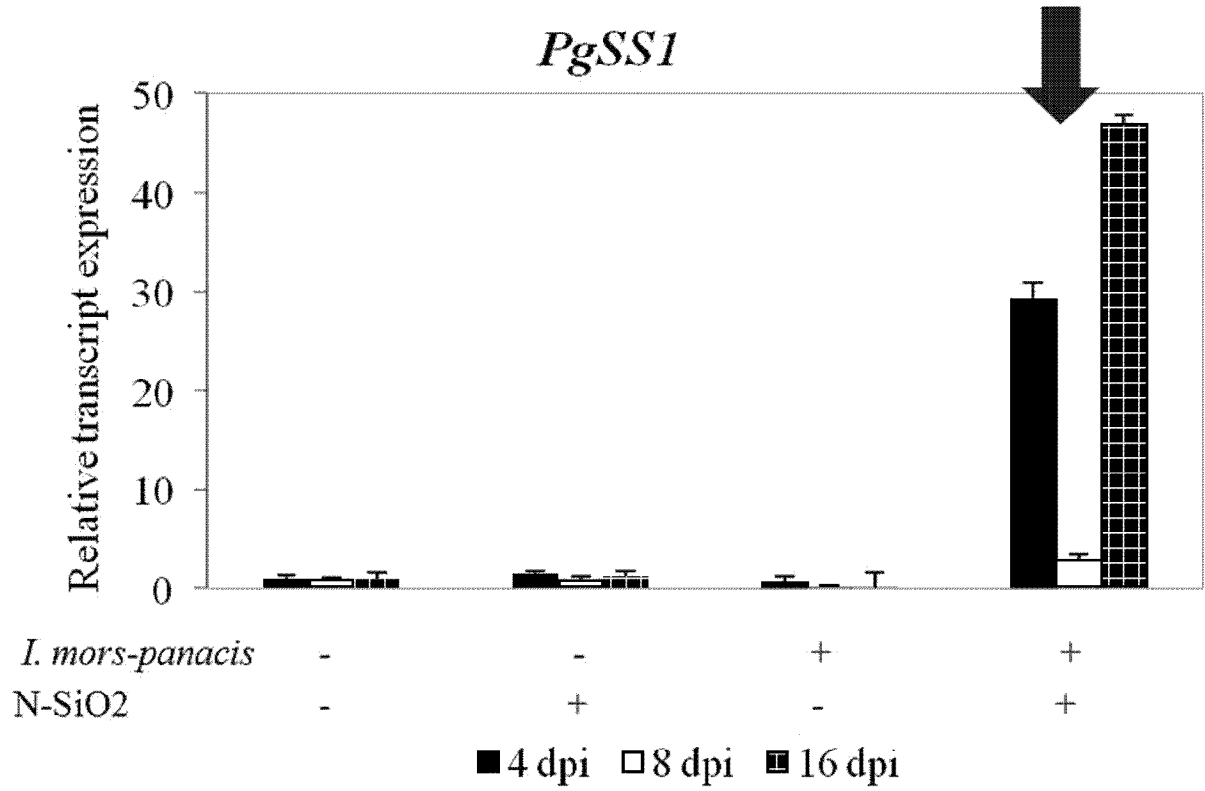
[도5a]



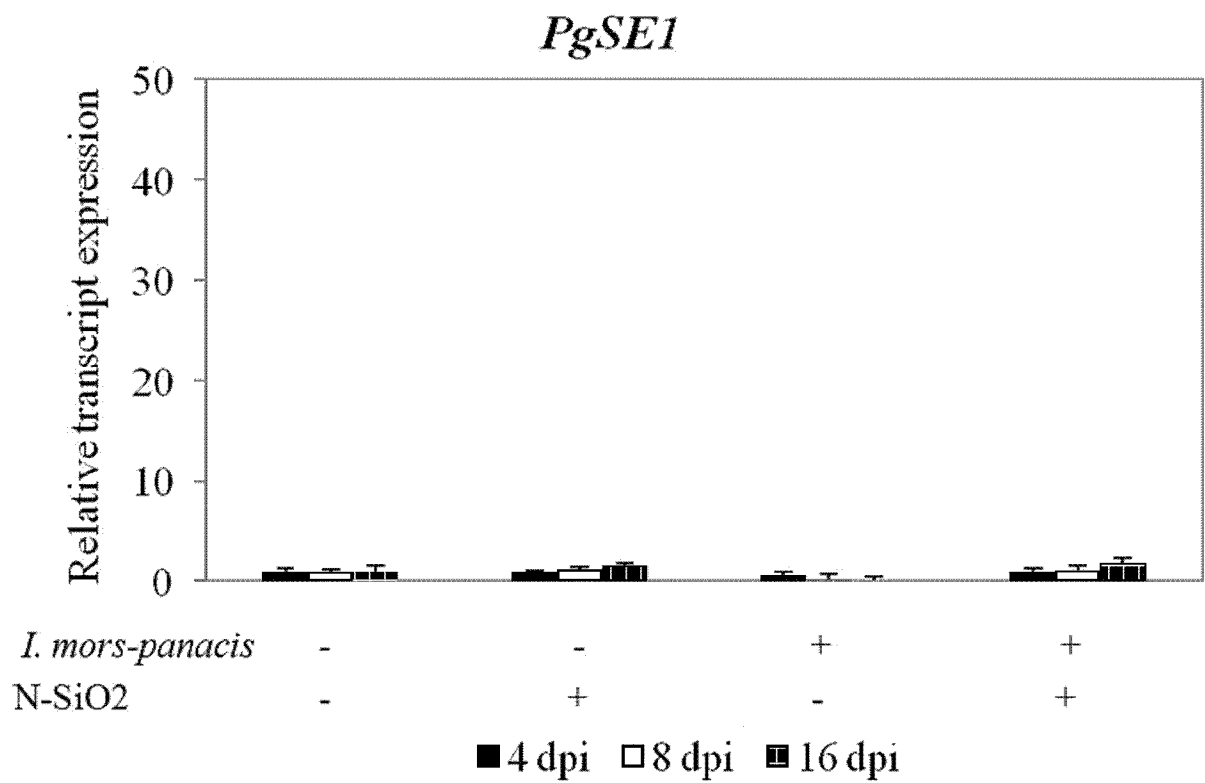
[도5b]



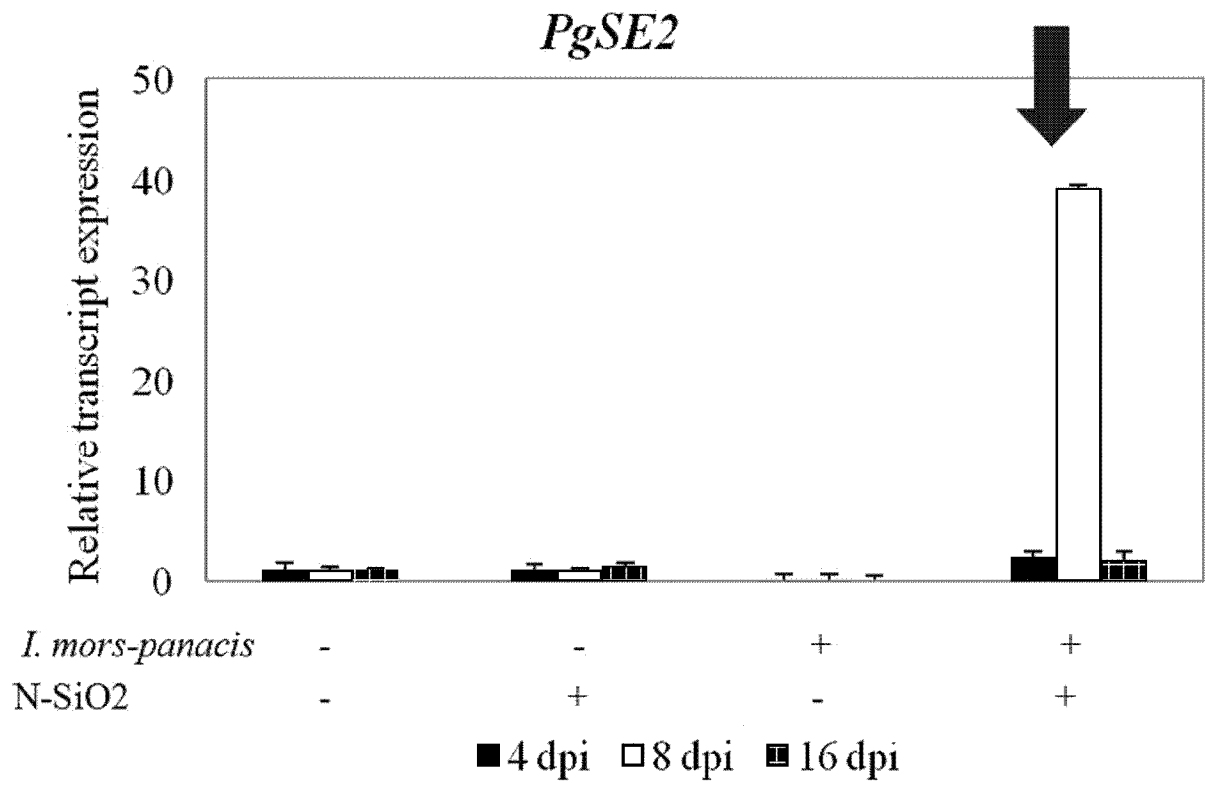
[도6a]



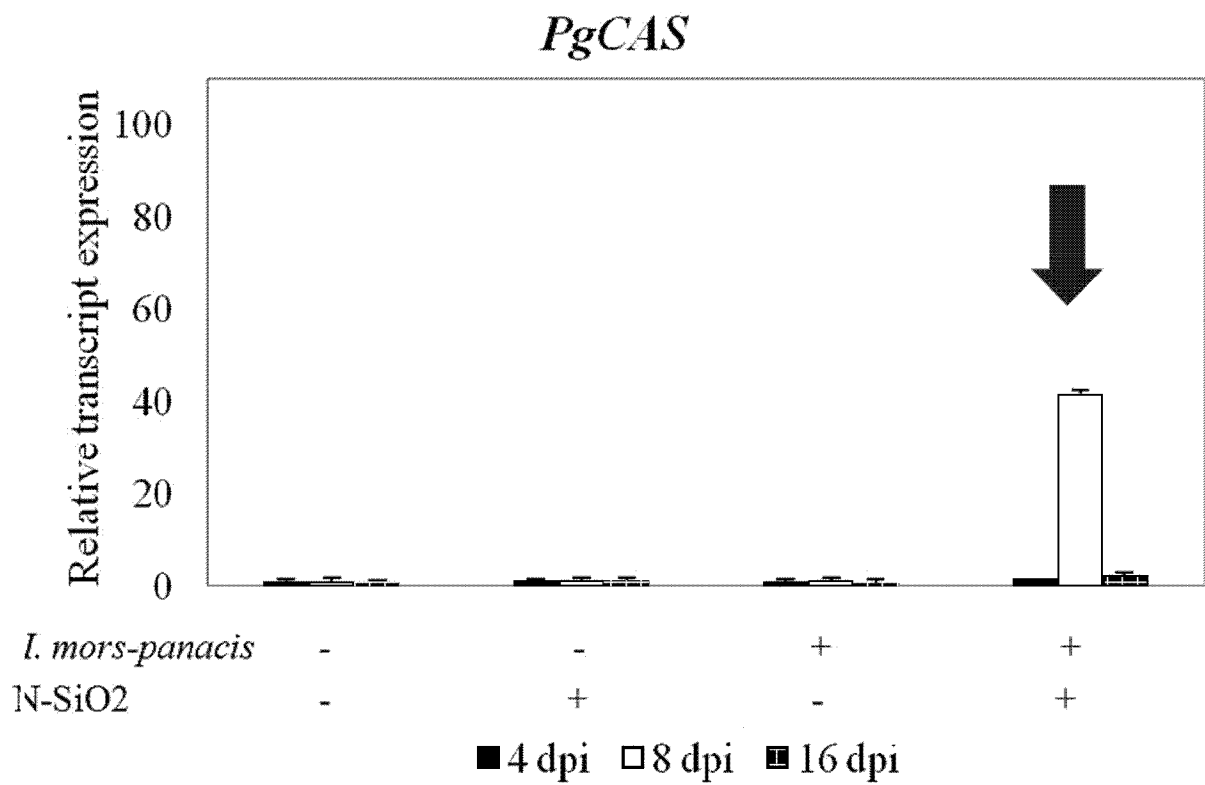
[도6b]



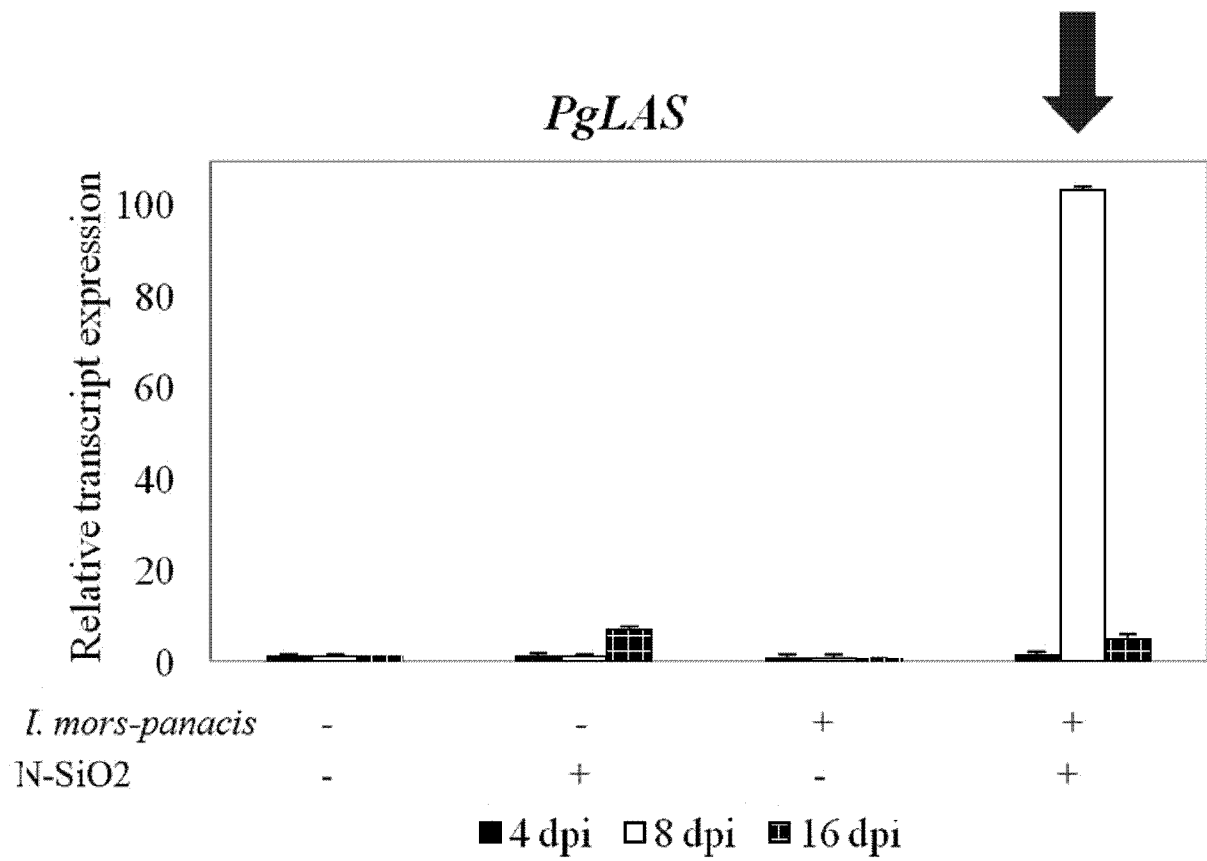
[도6c]



[도7a]



[도7b]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2018/000565

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A01N 59/00(2006.01)i, C05G 3/00(2006.01)i, A01N 25/12(2006.01)i, A01G 7/06(2006.01)i, A01G 22/00(2018.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A01N 59/00; A01N 59/02; C05D 1/00; A01N 63/02; C12N 1/20; C05G 3/00; A01N 25/12; A01G 7/06; A01G 22/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Korean Utility models and applications for Utility models: IPC as above

Japanese Utility models and applications for Utility models: IPC as above

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

eKOMPASS (KIPO internal) & Keywords: nano silica, root rot of panax ginseng, ilyonectria mors-panacis, fertilizer

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	KR 10-2007-0077961 A (KIM, Hyeon Sang) 30 July 2007	1,2,4-8
Y	See abstract; claims 1, 2; and paragraphs [0013], [0049], [0051], [0055].	3
Y	SEO, M. W. et al., "Reclassification of Cythindrocarpon Destructans Showed Weak Virulence Isolates Belong to Ginseng Root Rot Pathogens in Korea", KSM Newsletter, 2016, vol. 28, no. 2, page 71 See abstract.	3
X	JP 08-081317 A (CATALYSTS & CHEM. IND. CO., LTD. et al.) 26 March 1996	1,2,4-8
Y	See abstract; claims 1, 2; and paragraphs [0008], [0020], [0021].	3
X	CN 1939879 A (LV, Z.) 04 April 2007	1,2,4-8
Y	See abstract; claim 1.	3
A	KR 10-2016-0056689 A (REPUBLIC OF KOREA(MANAGEMENT : RURAL DEVELOPMENT ADMINISTRATION)) 20 May 2016 See the entire document.	1-8
A	KR 10-2012-0049835 A (KOREA RESEARCH INSTITUTE OF BIOSCIENCE AND BIOTECHNOLOGY) 17 May 2012 See the entire document.	1-8



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

14 MAY 2018 (14.05.2018)

Date of mailing of the international search report

14 MAY 2018 (14.05.2018)

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. +82-42-481-8578

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2018/000565

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
KR 10-2007-0077961 A	30/07/2007	NONE	
JP 08-081317 A	26/03/1996	NONE	
CN 1939879 A	04/04/2007	CN 100408523 C	06/08/2008
KR 10-2016-0056689 A	20/05/2016	KR 10-1677513 B1	18/11/2016
KR 10-2012-0049835 A	17/05/2012	CN 103703121 A	02/04/2014
		KR 10-1334742 B1	02/12/2013
		WO 2012-064096 A2	18/05/2012
		WO 2012-064096 A3	26/07/2012

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))

A01N 59/00(2006.01)i, C05G 3/00(2006.01)i, A01N 25/12(2006.01)i, A01G 7/06(2006.01)i, A01G 22/00(2018.01)i

B. 조사된 분야

조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)

A01N 59/00; A01N 59/02; C05D 1/00; A01N 63/02; C12N 1/20; C05G 3/00; A01N 25/12; A01G 7/06; A01G 22/00

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: 나노실리카, 인삼근부병, 일료넥트리아 모르스파나시스, 비료

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
X	KR 10-2007-0077961 A (김형상) 2007.07.30 요약; 청구항 1, 2; 및 단락 [0013], [0049], [0051], [0055] 참조.	1,2,4-8
Y		3
Y	SEO, M. W. 등, "Reclassification of Cylindrocarron destructans Showed Weak Virulence Isolates belong to Ginseng Root Rot Pathogens in Korea", 균학회 소식, 2016, 28권, 2호, 페이지 71 초록 참조.	3
X	JP 08-081317 A (CATALYSTS & CHEM. IND. CO., LTD. 등) 1996.03.26 요약; 청구항 1, 2; 및 단락 [0008], [0020], [0021] 참조.	1,2,4-8
Y		3
X	CN 1939879 A (LV, Z.) 2007.04.04 요약; 청구항 1 참조.	1,2,4-8
Y		3
A	KR 10-2016-0056689 A (대한민국(농촌진흥청장)) 2016.05.20 전문 참조.	1-8
A	KR 10-2012-0049835 A (한국생명공학연구원) 2012.05.17 전문 참조.	1-8

☐ 추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다.

☒ 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.

* 인용된 문헌의 특별 카테고리:

"A" 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌

"T" 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌

"E" 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌

"X" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다.

"L" 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌

"Y" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다.

"O" 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌

"&" 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌

"P" 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌

국제조사의 실제 완료일

2018년 05월 14일 (14.05.2018)

국제조사보고서 발송일

2018년 05월 14일 (14.05.2018)

ISA/KR의 명칭 및 우편주소



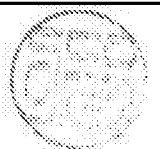
대한민국 특허청
(35208) 대전광역시 서구 청사로 189,
4동 (둔산동, 정부대전청사)

팩스 번호 +82-42-481-8578

심사관

이동욱

전화번호 +82-42-481-8163



국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
KR 10-2007-0077961 A	2007/07/30	없음	
JP 08-081317 A	1996/03/26	없음	
CN 1939879 A	2007/04/04	CN 100408523 C	2008/08/06
KR 10-2016-0056689 A	2016/05/20	KR 10-1677513 B1	2016/11/18
KR 10-2012-0049835 A	2012/05/17	CN 103703121 A	2014/04/02
		KR 10-1334742 B1	2013/12/02
		WO 2012-064096 A2	2012/05/18
		WO 2012-064096 A3	2012/07/26