

인삼(*Panax ginseng* C. A. Meyer)접합자 배의 형질전환을 위한 재분화 및 항생제 농도 조건

양덕춘* · 이은경 · 최원균 · 김무성

경희대학교 생명과학부

The Condition of Regeneration and Antibiotics Concentration for Gene Transformation of Zygotic Embryo in *Panax ginseng* C. A. Meyer

Deok-Chun Yang*, Eun-Kyung Lee, One-Kyun Choi, Moo-Sung Kim
College of Life Science, Kyung Hee University, Yongin 449-701, Korea

ABSTRACT

To obtain multi-shoot using zygotic embryos dissected from ginseng seed, the embryos were cultured on MS medium supplemented with CPA and BA. Effective multi-shoot induction was achieved on 0.5mg/l CPA and 1.0mg/l BA treatment. Among the various plant growth regulator treatment, MS basal medium with 1mg/l 2,4-D and 0.5mg/l kinetin was more competent and could be induced 4~6 shoots per one embryo. Also, the best condition for pre-embryoid induction from ginseng cotyledon so as to ginseng transformation appeared to 1mg/l 2,4-D and 0.5mg/l kinetin treatment. The kanamycin level to select transformants varied greatly by different explant types. The petiole explants with leaf and embryo could survived up to 100 μ g/ml kanamycin concentration where as petiole explants without leaf died all at the level. Conclusionally, our results suggest that optimum kanamycin concentration for ginseng transformation using somatic embryos is about 75~100 μ g/ml concentration.

Key words : cotyledon, embryo, ginseng, kanamycin, petiole, pre-embryoid

*교신저자 : E-mail; dcyang@khu.ac.kr

서언

인삼(*Panax ginseng* C.A. Meyer)은 수많은 약용식물 중에서도 그 효능이 으뜸가는 귀한 약초로서 주로 동양권에서 오랫동안 보혈강장제로 이용되어 왔으며 학명의 어원을 보면 'Pan'은 '모든 것', 'Axos'는 '의학'이라는 뜻으로 만병통치라는 의미를 가지고 있다. 그 동안 주로 경험적인 방법에 의해서 입증되어 온 인삼의 약리효능이 과학적으로 인정받아 그 수요가 점차 전세계적으로 증가하고 있는 실정이지만 재배 기간이 길고 해가림이라는 특수한 조건에서 재배를 하여야 함으로 생산성의 향상에 어려움을 안고 있다(Lee, 1988). 인삼은 다년생 음지성 작물로서 재배조건이 매우 까다롭고, 보통 4년생에서 1회 종자를 채취하는 것을 원칙으로 하고 있다. 또한 종자 1회 채취시에도 40~60립 정도밖에 채취할 수 없어 기내 배양을 통한 단기간의 식물체 재생기술은 우수 형질을 지닌 인삼식물체의 기내증식 또는 형질전환식물체의 대량생산에 있어서 큰 의미를 지닌다고 할 수 있다. 인삼의 재분화 연구는 뿌리 절편을 재료로 하여 Butenko 등(1968)이 최초로 배발생을 보고한 이래 여러 연구자들이 인삼 조직배양을 통한 식물체의 재생을 보고하였으나(Arya와 Chandra, 1991; Arya 등, 1991; Chang 등, 1980; Furuya 등, 1986; Shoyama 등, 1988), 인삼식물체의 기내증식은 매우 까다롭고, 재생된 식물체가 전혀 뿌리를 발생시키지 못하거나, 부실한 뿌리의 발생이 이루어져, 아직 토양에서 순화된 식물체를 보고한 예가 거의 없다. 한편 식물 형질전환기술의 발달로 wild-type *Agrobacterium*을 매개로 한 인삼의 형질전환체에서도 유효성분을 확인한 바 있어(Yang et al., 1991) 이에 대한 연구에 박차를 가하게 되었으나, 아직 유용 유전자를 이용한 형질전환체에 대한 연구는 재분화의 어려움 때문에 실용화가 되고 있지 못하다.

따라서 본 실험은 인삼 종자로부터 얻은 embryo와 인삼 자엽으로부터 형질전환시 짧은시간내에 multi-shoot를 유기하기 위하여 각각에 대한 식물호르몬 효과를 알아보고, 인삼의 형질전환을 위한 첫 단계로서 표지유전자로 사용할 항생제의 내성 정도

를 확인하기 위하여 인삼의 부위와 식물호르몬 처리에 의한 kanamycin 내성 정도를 조사하고자 본 실험을 실시하였다.

재료 및 방법

식물호르몬에 의한 인삼 embryo의 multi-shoot 유기 양상

한국인삼연초연구원에서 분양받은 인삼(*Panax ginseng* C. A. Meyer) 종자를 70% 알콜에 수초간 표면소독한 후 멸균수로 2회 세척하고, 2% sodium hypochlorite 용액에 20분간 침지한 후 멸균수로 다시 3회 세척하였다. 멸균된 인삼 종자는 해부현미경 하에서 embryo를 적출하여 각각의 호르몬 처리에 의한 multi-shoot 유기 양상을 조사하였다. 멸균된 종자의 embryo로부터 multi-shoot를 유기하기 위하여 MS 기본 배지에 식물호르몬 CPA와 BA를 사용하였으며, 처리 농도로는 CPA 0, 0.1, 0.5 1.0, 그리고 3.0mg/l이며, BA는 0, 1.0, 3.0 그리고 5.0mg/l로 단독 및 복합 처리하여 shoot의 성장율과 그 조직에서의 형태적 특성을 조사하였다. 또한 cytokinin과 auxin의 종류를 달리하여 각각의 처리에 의한 embryo 성장과 multi-shoot의 유기 양상을 비교하기 위하여 cytokinin으로는 kinetin을, 그리고 auxin으로는 2,4-D를 사용하여 각각의 성장양상을 비교하였으며, 사용한 농도로는 kinetin 0.1과 0.5mg/l, 그리고 2,4-D로는 0.5, 1.0mg/l으로 각각 복합처리하여 사용하였다.

식물호르몬 처리에 의한 자엽 유래 petiole로부터 multi-shoot의 유기

배배양으로부터 얻어진 자엽의 엽병에서 multi-shoot를 유기하기 위하여 잎의 포함 여부를 달리하여 CPA 0.5mg/l 와 BA 1.0mg/l, 2,4-D 1.0mg/l 와 kinetin 0.1mg/l 그리고 GA₃ 50mg/l를 각각 처리하여 잎의 포함 여부 및 사용한 식물호르몬의 종류와 농도에 따른 multi-shoot의 양상을 조사하였다.

인삼 자엽절편으로부터 pre-embryoid 유기 양상

Table 1. The effects of CPA and BA on the growth and morphological traits of *Panax ginseng* embryo cultured *in vitro*.

CPA(mg/ l)	BA(mg/ l)	Ratio of growth(No.)	Phenotype
0	0	1/35	round type callus
0	1.0	1/35	"
0	3.0	1/35	"
0	5.0	1/35	"
0.1	0	11/35	"
0.1	1.0	5/35	growth of single shoot
0.1	3.0	5/35	"
0.1	5.0	5/35	"
0.5	0	31/35	round type callus
0.5	1.0	25/35	growth of some shoots
0.5	3.0	24/35	growth of some shoots
0.5	5.0	15/35	growth of single shoots
1.5	0	5/35	round type callus
1.0	1.0	8/35	growth of single shoot
1.0	3.0	9/35	"
1.0	5.0	10/35	"
3.0	0	4/35	round type callus
3.0	1.0	21/35	"
3.0	3.0	15/35	"
3.0	5.0	12/35	"

인삼 뿌리로부터 형성된 callus로부터 전배(pre-embryoid)를 형성시키기 위해서는 오랜 기간이 요구될 뿐만 아니라 낮은 형성 수율로 인해 많은 문제점을 안고 있기 때문에, 인삼 자엽으로부터 직접 shoot를 유기시키기 위하여 kinetin 0.1, 0.5mg/ l 과 2,4-D 0.5, 1.0mg/ l 을 복합처리하여 shoot 유기 양상을 조사하였다.

인삼의 형질전환을 위한 항생제의 내성정도

인삼의 효율적인 형질전환과 재분화를 위해서 인삼자엽을 사용하기 위한 우선 표지유전자로 사용할 항생제를 농도별, 호르몬 종류별 그리고 인삼 자엽의 부위별로 각각 항생제의 내성정도를 비교하였다. 표지유전자로 사용할 항생제는 kanamycin으로, 사용 농도는 0, 25, 50, 75, 100 그리고 150µg/ml으로 하였으며, 사용한 식물호르몬은 GA₃와 2,4-D 그리고 인삼 부위로는 자엽에서 유도된 잎을 포함한 petiole 과 잎을 포함하지 않은 petiole 그리고 embryo로 나누어 각각의 내성정도를 조사하였다.

또한 배배양에 의해 형성된 embryo에서 유기된 자엽 절편을 2,4-D 1mg/ l 과 kinetin 0.5mg/ l 복합처리구에서 kanamycin 내성 정도를 조사하였으며, 호르몬이 첨가되지 않은 배지에서 자란 자엽 절편으로부터 somatic embryo 형성에 미치는 kanamycin 영향을 조사하였다.

결과 및 고찰

인삼 embryo로부터 multi-shoot유기 양상

인삼의 형질전환을 시도하기 위하여 callus 형성 과정을 거치지 않고 직접 형질전환된 재분화 개체를 얻기 위하여 기내에서 embryo를 배양하여 많은 shoot를 유기하기 위한 식물호르몬의 영향을 조사하였다.

멸균된 종자에서 embryo를 적출하여 식물호르몬인 CPA와 BA 단독 및 복합처리구에서 유기된 multi-shoot 양상을 조사한 결과 CPA가 전혀 첨가되지 않

은 처리구와 0.1mg/l 저농도 처리구에서는 BA의 농도 차이에 관계없이 embryo의 생존율이 극히 미미한 것으로 나타났으며, 대부분의 embryo는 배양 과정 중에 고사하였다. 이때 생존하여 형성된 callus의 형태를 보면 CPA 무처리구에서는 주로 둥근 타입의 것들이 많았다. 반면 CPA 0.1mg/l 와 BA 1.0mg/l 복합 처리구에서는 single shoot의 모습이 관찰되기도 하였다(Table 1).

CPA가 0.5mg/l 가 첨가된 처리구에서는 BA 농도에 큰 차이없이 embryo의 생존율이 우수하였는데 특히 CPA 0.5mg/l 단독 처리구에서는 embryo의 생존율이 94.3%로 아주 높게 나타나, embryo 생존에 가장 효과적인 처리구인 것으로 판단되었으나. 오히려 BA 복합처리구에서는 생존율이 감소하는 경향을 보였다(Table 1). 그러나 조직의 형태적 특성을 보면 CPA를 단독처리하였을 때는 주로 round 타입으로 multi-shoot를 유기시키는데에는 어려움이 있는 것으로 생각되었으며, 또한 CPA 1.0mg/l 와 3.0mg/l 처리구에서도 BA의 농도에 큰 차이없이 embryo 생존율과 그 형태적 특성으로 미루어 볼 때 적당치 않은 것으로 나타났다.

따라서 embryo 생존율과 약간의 shoot를 유기시키기 위해서는 CPA 0.5mg/l 에 BA 1.0 mg/l 복합처리가 가장 효과적인 것으로 나타났으나, 형성된 shoot에서의 뿌리 발생은 전혀 이루어지지 않았다(Table 1).

2,4-D와 kinetin 처리에 의한 embryo의 shoot 성장과 형태적 특성

상기 실험에서 auxin(CPA 0.5mg/l)과 cytokinin (BA 1mg/l)의 복합처리가 embryo의 생존과 multi-



Fig. 1. Multi-shoots on the medium with 2,4-D 1mg/l and kinetin 0.5mg/l through ginseng embryo culture.

shoot를 유기시키는데 효과가 있는 것으로 판단되었기 때문에 auxin과 cytokinin의 종류를 달리하여 2,4-D와 kinetin을 대상으로 embryo 성장과 multi-shoot 유기 양상을 조사하였다. 2,4-D 0.5와 0.1mg/l, 그리고 kinetin 0.1 및 0.5mg/l 를 각각 복합 처리한 결과 embryo로부터 유기된 multi-shoot는 모든 처리구에서 동일하게 나타났는데, 특히 2,4-D 1mg/l 와 kinetin 0.5mg/l 처리구에서는 한 개의 embryo 당 4~6개의 shoot도 관찰할 수 있었다(Fig. 1). 그러나 embryo 생존에는 2,4-D 농도에 큰 차이없이 kinetin 0.1mg/l 보다 0.5mg/l 처리구가 더 효과적인 것으로 나타났으나, CPA 및 BA 처리구와 마찬가지로 역시 뿌리 형성이 전혀 이루어지지 않는 것으로 나타났다 (Table 2).

Table 2. The effects of 2,4-D and kinetin on the growth and morphological traits of *Panax ginseng* embryo cultured *in vitro*.

2,4-D(mg/l)	Kinetin(mg/l)	Ratio of growth(%)	Phenotype
1.0	0.1	26/38(68)	multi-shoots
1.0	0.5	21/29(72)	"
0.5	0.1	21/33(64)	"
0.5	0.5	26/36(72)	"

Table 3. The effects of phytohormone on the multi-shoot and pre-embryoid formation in basic of *Panax ginseng* petiole with/without leaf.

Petiole	Phytohormone (mg/l)	Multi-shoot (No)	Pre-embryoid (No)
Petiole with leaf	CPA 0.5 + BA 1.0	0/35	1/35
	2,4-D 1.0 + Kinetin 0.1	0/35	3/35
	GA3 50	0/35	0/35
Petiole without leaf	CPA 0.5 +BA 1.0	0/35	0/35
	2,4-D 1.0 +Kinetin 0.1	0/35	0/35
	GA3 50	0/35	0/35

Table 4. The effect of 2,4-D and kinetin on the formation of pre-embryoid from *Panax ginseng* cotyledon explant.

2,4-D(mg/l)	Kinetin(mg/l)	Formation of pre-embryoid(%)
1.0	0.1	17/35(49)
1.0	0.5	18/35(51)
0.5	0.1	14/35(40)
0.5	0.5	15/35(43)

식물호르몬 처리에 의한 자엽 유래 petiole로부터 multi-shoot의 유기

배배양으로부터 얻어진 자엽의 엽병에서 multi-shoot를 유기하기 위하여 잎의 포함 여부를 달리하여 CPA 0.5mg/l 와 BA 1.0mg/l, 2,4-D 1.0mg/l 와 Kinetin 0.1mg/l 그리고 GA₃ 50mg/l 를 각각 처리하여 실험한 결과 잎의 포함 여부 및 사용한 식물호르몬의 종류와 농도에 관계없이 모든 처리구에서 multi-shoot의 유기이 이루어지지 않았으며, 또한 pre-embryoid 유기도 용이하지 않았으나, 단지 잎을 포함하고 있는 엽병의 경우에서만 2,4-D 1.0mg/l +Kinetin 0.1mg/l 처리구에서 약 11.7%의 전배가 형성됨을 알 수 있었다(Table 3). 따라서 자엽 유래 petiole로부터 multi-shoot와 전배를 유기하기 위한 식물호르몬의 처리는 효과가 없는 것으로 판단되었다.

식물호르몬 처리에 의한 인삼자엽의 절편으로부터 pre-embryoid 유기

인삼 종자의 배배양에 의해서 형성된 embryo와 petiole로부터 직접 형성된 shoot는 뿌리 형성이 용이

하지 않았으므로 십자화과 작물에서 효과적인 자엽의 절편을 이용하여 multi-embryo를 유기하기 위하여 2,4-D와 kinetin이 복합처리된 배지에 치상하여 호르몬 처리에 의한 전배 형성을 조사하였다.

식물호르몬을 사용하지 않고 자엽을 배양한 경우는 자엽의 기부쪽에서만 많은 전배가 유기된 반면 2,4-D와 kinetin 복합처리구에서는 인삼 자엽 절편으로부터 직접 shoot는 형성되지 않았으나 자엽 절편



Fig. 2. Pre-embryo of *Panax ginseng* on the medium with 2,4-D 1 mg/l and kinetin 0.5 mg/l.

Table 5. The effects of kanamycin and phytohormone on the growth of ginseng petiole with/without leaf and embryo.

Conc. of kanamycin($\mu\text{g/ml}$)	Petiole with leaf		Petiole without leaf		Embryo	
	GA ₃	2,4-D	GA ₃	2,4-D	GA ₃	2,4-D
0	35/35	35/35	35/35	35/35	35/35	35/35
25	29/35	26/35	21/35	23/35	35/35	28/35
50	20/35	24/35	4/35	6/35	35/35	8/35
75	4/35	16/35	1/35	4/35	28/35	4/35
100	2/35	8/35	0/35	0/35	2/35	0/35
150	0/35	1/35	0/35	0/35	0/35	0/35

모든 부위에서 많은 전배가 형성되었다. 또한 효과적인 식물호르몬으로는 Kinetin 0.1mg/l 과 0.5mg/l 처리구 모두 2,4-D 0.5mg/l 처리구 보다는 1.0mg/l 처리구에서 약 10% 정도 높은 전배 형성율을 보이는 것으로 보아 kinetin 보다는 2,4-D 처리 농도에 따라 전배의 형성율에 차이가 있는 것으로 판단되었다 (Table 4).

이상의 결과로 보아 인삼 뿌리로부터 형성된 callus에서 전배를 형성시키기 위해서는 오랜 시간과 낮은 수율로 인해 어려움을 겪지만 자엽을 직접 이용할 경우 전배 형성율을 높일 수 있을 것으로 생각되었다. 따라서 인삼의 형질전환을 위해서는 인삼 자엽의 절편을 이용하여 2,4-D 1mg/l 과 kinetin 0.5mg/l 복합처리가 가장 효과적인 전배를 형성한 것으로 나타났다(Table 4, Fig. 2).

인삼의 형질전환을 위한 항생제의 내성정도 조사

인삼 자엽의 절편을 이용할 경우 2,4-D 1mg/l 와 kinetin 0.5mg/l 복합처리가 전배 형성에 가장 효과적이었으므로 인삼의 형질전환을 위하여 표지유전자로 사용할 항생제에 대한 인삼의 내성정도를 조사하였다.

기내배양에 의해 형성된 shoot로부터 잎을 포함한 petiole과 잎을 포함하지 않은 petiole 그리고 embryo를 대상으로 kanamycin 농도와 호르몬 종류에 따른 내성정도를 조사한 결과 kanamycin 25 $\mu\text{g/ml}$ 처리구에서는 부위별, 호르몬 종류에 따라 성장율에 큰 차

이를 보이지 않았으나, kanamycin 50 $\mu\text{g/ml}$ 처리구에서는 특히 호르몬 종류에 관계없이 잎을 포함하지 않은 petiole의 경우와 2,4-D를 사용한 embryo의 생장이 극히 저조한 것으로 나타나(Table 5) 인삼의 부위에 따라, 또한 같은 부위라 하더라도 사용한 호르몬의 종류에 따라 kanamycin 내성정도에 큰 차이가 있는 것으로 판단되었다. 그러나 embryo의 경우에는 2,4-D와 GA₃의 처리에 따라 kanamycin 내성 정도에 큰 차이가 있는 것으로 나타났는데 GA₃의 경우, kanamycin 75 $\mu\text{g/ml}$ 농도에서도 약 80% 정도 생존하는 것으로 보아 kanamycin 내성 정도에는 사용한 호르몬의 종류도 큰 영향을 미치는 것으로 나타났다. 그러나 잎의 유무에 관계없이 petiole 경우에는 embryo와는 달리 호르몬의 종류에 따라 kanamycin 내성 차이를 보이지 않는 것으로 나타났으며, 단지 잎의 포함 여부에 따라 petiole의 경우에는 잎을 포함하지 않은 petiole이 잎을 포함한 petiole보다 kanamycin 내성이 다소 약한 것으로 나타났다(Table 5). 따라서 잎을 포함한 petiole과 GA₃를 사용한 embryo의 경우에는 kanamycin 100 $\mu\text{g/ml}$ 에서도 다소간 생존하는 것으로 나타나 매우 높은 농도의 항생제를 사용해야 하는 것으로 나타났으며, 잎을 포함하지 않은 petiole은 kanamycin 100 $\mu\text{g/ml}$ 에서 모두 고사하여 추후 선발을 위한 kanamycin 적정 농도는 100 $\mu\text{g/ml}$ 인 것으로 판단되었다. 배배양에 의하여 형성된 자엽 절편의 경우 2,4-D 1mg/l 과 kinetin 0.5mg/l 복합 처리구에 kanamycin 0, 25, 50, 75 그리고 100 $\mu\text{g/ml}$ 각각 처리한 배지에서 생존율을 조사한 결과, kanamycin 75 $\mu\text{g/ml}$ 에서도 다른 조직에 비해 더 낮은

Table 6. The effect of kanamycin on growth of ginseng cotyledon explants.

Conc. of kanamycin($\mu\text{g/ml}$)	Survival ratio(%)	Frequency of pre-embryoid formation(%)
0	35/35(100)	54
25	21/35(60.0)	42
50	2/35(5.7)	0
75	0/35(0)	0
100	0/35(0)	0

Table 7. The effect of kanamycin of somatic embryo induced from cotyledon explants on MS medium without plant growth regulators.

Conc. of kanamycin($\mu\text{g/ml}$)	Survival ratio(%)	Frequency of pre-embryoid formation(%)
0	35/35(100)	97
25	11/35(31.4)	54
50	0/35(0)	0
75	0/35(0)	0
100	0/35(0)	0

농도에서 생존이 불량한 것으로 나타나 선발에 안정성을 고려할 때 75~100 $\mu\text{g/ml}$ 의 kanamycin을 사용하는 것이 적당할 것으로 판단되었다(Table 6). 식물호르몬이 첨가되지 않고 kanamycin 각각의 농도에 따라 자엽 절편으로부터 전배 형성율을 조사한 결과 kanamycin이 전혀 첨가되지 않은 처리구에서는 전배의 형성율이 97%였으나, kanamycin 25 $\mu\text{g/ml}$ 에서는 54%, 50 $\mu\text{g/ml}$ 농도 이상에서는 전배의 형성율이 전혀 이루어지지 않는 것으로 보아 인삼 자엽으로부터 직접 somatic embryo를 유기하여 인삼의 형질 전환을 유도하기 위해서는 kanamycin 75~100 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도로 선발하는 것으로 가장 효과적일 것으로 나타났다(Table 7).

적요

인삼 종자로부터 적출한 embryo로부터 multi-shoot를 얻기 위하여 CPA와 BA를 단독 및 복합처리하여 각각의 유기 양상을 알아본 결과 CPA 0.5mg/l

에 BA 1.0 mg/l 복합처리가 multi-shoot를 얻는데 가장 효과적인 것으로 나타났으며, 식물호르몬 종류를 달리한 처리구에서는 특히, 2,4-D 1mg/l 와 kinetin 0.5mg/l 처리구에서 한 개의 embryo 당 4~6개의 shoot를 유기시킬 수 있었다. 또한 인삼의 형질전환을 위해 인삼 자엽으로부터 pre-embryoid를 유기하기 위한 가장 최적의 조건은 2,4-D 1mg/l 과 kinetin 0.5mg/l 복합처리구에서 가장 효과적이었다.

기내배양에 의해 형성된 shoot로부터 잎의 포함 여부에 따른 petiole, 그리고 embryo에서 kanamycin 내성정도를 조사한 결과 잎을 포함한 petiole과 embryo는 kanamycin 100 $\mu\text{g/ml}$ 농도에서도 다소간 생존하는 것으로 나타나 매우 높은 농도의 항생제를 사용해야 할 것으로 판단되었으며, 잎을 포함하지 않은 petiole의 적정 농도는 100 $\mu\text{g/ml}$ 정도인 것으로 판단되었다. 또한 배배양에 의한 embryo로부터 유기된 자엽을 2,4-D 1mg/l 과 kinetin 0.5mg/l 복합 처리구에서 선발할 경우와 인삼 자엽으로부터 직접 somatic embryo를 유기하여 인삼의 형질전환을 유도하기 위해서 가장 적합한 kanamycin 농도로는

75~100 $\mu\text{g/ml}$ 이 가장 효과적인 것으로 나타났다.

사사

본 연구는 21세기 프론티어 사업인 자생식물 사업단의 연구비 지원(PF003101-01)에 의해 수행되었습니다.

인용문헌

- Arya, I.D. and Chandra, N. 1991. An attempt for clonal propagation through somatic embryogenesis in immature embryos of sunnhemp(*Crotalaria juncea* L.). *Phytomorphology* 40:159-162.
- Arya, S., Liu, J.R. and Eriksson, T. 1991. Plant regeneration from protoplasts of *Panax ginseng* C. A. Meyer through somatic embryogenesis. *Plant Cell Report* 10:277-281.
- Butenco, R.G., I.V. Brushwitzky and L. Slepian. 1968. Organogenesis and somatic embryogenesis in the tissue culture of *Panax ginseng* C.A. Meyer. *Bot Zh* 7: 906-911.
- Chang, W.C. and Y.I. Hsing. 1980. In vitro flowering of embryoids derived from mature root callus of ginseng (*Panax ginseng*). *Nature* 284: 341-342.
- Furuya, T., T. Yoshikawa, K. Ushiyama and H. Oda. 1986. Formation of plantlets from callus cultures of ginseng(*Panax ginseng*). *Experientia*. 42:193-194.
- Lee, C.H. 1988. Effect of the light intensity and temperature on the photosynthesis and respiration of *Panax* spp. *Korean J. Ginseng Sci.* 12:11-29.
- Shoyama, Y., K. Kamura and I. Nishioka. 1988. Somatic embryogenesis and clonal multiplication of *Panax ginseng*. *Planta Med.* 54:155-156.

(접수일 2002. 12. 10)

(수락일 2003. 1. 30)