

염류내성관련 *SAL1* 유전자에 의한 인삼 형질전환

인준교* · 양덕춘**†

*(주)바이오피아, **경희대학교 한방재료가공학과

Transformation of Korean Ginseng (*Panax ginseng* C.A. Meyer) with Salt Toleranc *SAL1* Gene

Jun Gyo In* and Deok Chun Yang**†

*Phytopia Research Institute, Biopia Co., Ltd., Yeongi 339-813, Korea.

**Oriental Medicine Material & Processing Center, Kyung Hee Univ., Yongin 449-701, Korea.

ABSTRACT : Salt-tolerant transgenic *Panax ginseng* plants were produced by introducing the *SAL1* gene (3'(2'), 5'-bis-phosphate nucleotidase) that confers tolerance to the salts through *Agrobacterium tumefaciens* co-cultivation. Cotyledon explants of immature ginseng zygotic embryos cultured on Murashige and Skoog medium lacking growth regulators formed somatic embryos directly with below 10%, but the 74% tranformation rate were observed at the treatment of phytohormone with 1.0 mg/ℓ 2,4-D and 0.5 mg/ℓ kinetin. Somatic embryos were initially cultured on MS medium supplemented with 250 mg/ℓ cefotaxime for 3 weeks and subsequently subcultured five times to a medium containing 100 mg/ℓ kanamycin and 250 mg/ℓ cefotaxime. Upon development into the cotyledonary stage, these somatic embryos were transferred to on the medium containing 50 mg/ℓ kanamycin and 10 mg/ℓ gibberellic acid to induce germination and strong selection. Integration of the transgene into the plants was confirmed by polymerase chain reaction with specific primers. The ginseng transformants with well-developed shoots and roots were successfully acclimatized in a greenhouse when they were planted in soil.

Key words : *Agrobacterium*, *Panax ginseng*, *SAL1*, salt tolerance, somatic embryo

서 언

식물은 한발, 염류 그리고 고온 또는 저온과 같은 여러 가지 불리한 환경스트레스들에 자주 노출된다. 이중 염류는 식물의 지리적인 분포를 제한하는 중요한 환경인자중의 하나이고 많은 주요작물들의 생산성과 품질을 저하시킨다 (Boyer, 1982). 식물들은 세포의 구성성분들을 환경스트레스의 피해로부터 보호하고 정상적인 세포의 신진대사를 유지하기 위해 많은 보호기작을 이용한다 (Wood *et al.*, 1996)

고려인삼 (*Panax ginseng* C.A. Meyer)은 직사광선의 차단을 위해 해가림 시설을 설치해야만 재배가 가능하기 때문에 노동력이 많이 들고 생육이 늦어 35년간 재배하여야 수확할 수 있는 전형적인 반음지성 약용식물이다 (Lee *et al.*, 1982; 목 등, 1996). 해가림시설에 의한 직사광선의 차단과 한 장소에서 장기간 생육으로 인하여 뿌리썩음병과 같은 지하부 병해의 다발생과 한발 및 생육에 부적합한 토양환경 stress 때문에 품질 좋은 우량 인삼의 안정된 수량 확보가 대단히 어려운 약

용작물이다 (Nam *et al.*, 1980; Yu & Ohh, 1993). 고려인삼의 재배기간 동안에 필요한 영양분은 외부로부터 공급하는데 주로 유기질 비료나 무기질 비료를 사용하고 있다. 사용한 비료는 작물이 이용하고 잔량은 유실되거나 토양에 집적되어 염류로서 잔류하게 된다 (Nam *et al.*, 1980). 집적된 염류는 또 다시 다음 작물 재배시에 이용될 수 있기 때문에 비료 사용량을 절감할 수가 있는데, 인삼은 비료 요구량이 그리 많지 않은 작물임에도 불구하고 인삼 재배시 토양의 염류잔류농도와는 별개로 관행적으로 시비함으로서 토양에 과량의 염류가 축적되게 된다. 이로 인하여 염류농도가 적정치 이상인 포지에 인삼을 재배할 시에 결주와 적변삼 생산율의 증가, 근중 및 수량이 감소하게 된다 (Chung *et al.*, 1985). 이러한 인삼포장의 염류 환경조건에서 염류장해방제를 위한 재배법을 연구 보급하고 있으나 용이하지 않다 (목 등, 1996). 인삼의 환경 stress 중에는 인삼의 뿌리생장에 관여하는 토양환경이 가장 중요한 것으로서 생장에 필요한 영양분, 특히 N, P, K, Ca, Mg, Fe 등의 무기물이 인삼생육에 큰 영향을 미치고 있다. 그

†Corresponding author: (Phone) +82-31-201-2688 (E-mail) dcyang@khu.ac.kr

Received January 7, 2005 / Accepted February 19, 2005

러나, 현재 재배하고 있는 인삼포장은 이들 무기질의 함량이 너무 많아 생육장애현상이 뚜렷하고 인삼의 품질마저도 저하되는 결과를 초래하므로 이런 열악한 환경에 견디는 염류내성 인삼유전자의 선발과 분자유육종을 통한 염류내성을 지닌 신품종의 개발이 절실히 필요한 실정이다. 이러한 연구로서는 토마토 (Asins *et al.*, 1993), 벼 (Chae *et al.*, 1988), 밀 (Diaz *et al.*, 1995), 사탕무 (Kent *et al.*, 1992) 등의 식물체로부터 기내배양계를 이용하여 염류내성 식물체를 선발하거나 염류내성 유전자의 클로닝이 이루어져 왔다. 인삼의 경우에 생육기간이 길어 포장에서 염류내성 인삼계통을 선발하기 위해서는 장시간이 요구되기 때문에 염류내성을 나타내는 유용유전자를 인위적으로 도입하는 방법으로 염류내성을 나타내는 신품종의 육성법은 효율적으로 단기간에 대량으로 유묘를 생산할 수 있는 이점도 있다. 본 연구에서는 애기장대풀 (*Arabidopsis*)에서 Li⁺의 독성을 완화 (Quintero *et al.*, 1996)시키는 역할을 하여 염류내성유전자로 분리된 *SAL1* (U40433, 3'(2'),5'-bisphosphate nucleotidase) 유전자를 인삼에 도입하여 염류내성을 나타내는 인삼의 분자유육종을 할 목적으로 수행되었으며, 그 결과를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

1. *SAL1* gene의 식물 형질전환용 운반체에 재조합

*Arabidopsis*에서 cloning한 *SAL1* (3'(2'),5'-bisphosphate nucleotidase) 유전자를 인삼에 도입하고자 형질전환용 vector에 재조합하였다. 인삼 발현용 promoter는 35S-35S-AMV promoter를 사용하고 terminator는 Tnos를 사용하였다 (Fig. 2). *SAL1* gene의 식물형질전환용 binary vector는 상기 cassette vector가 조립이 매우 양호하며 border sequence를 가지고 있는 pRD400 binary vector를 사용하였다. 최종적으로 재조합된 binary vector는 선발마커인 kanamycin내성유전자 (*NPT II*)와 염류내성을 나타내는 *SAL1* gene를 함유하고 있는 유전자로 구성되었다. 인삼에 유전자를 도입하기 위해서 disarmed Ti-vector를 가지고 있는 *Agrobacterium tumefaciens* MP 90을 사용하였으며, tri-parental mating 방법에 의하여 형질전환벡터를 도입하고 AB배지 및 kanamycin함유 배지에서 conjugant인 *Agrobacterium tumefaciens* MP90/Sal1을 선발하여 인삼의 형질전환에 이용하였다.

2. *SAL1* gene에 의한 인삼의 형질전환

*Arabidopsis*에서 분리한 *SAL1* gene에 의하여 인삼을 형질전환시키기 위해서 수확직후 인삼 종자를 모래에 약 3개월간 층적처리하여 개갑시킨 후 다시 4°C의 냉장고에 옮겨 저온처리하여 휴면을 타파시켰다. 인삼접합자배의 장축이 약 6 mm이상으로 충분히 성숙하였을 때 형질전환을 위한 배양재료로 사용하였다. 인삼종자를 약 70% 에탄올에 약 1분간 침지시킨 다

음 2% 차이염소산 나트륨으로 약 30분간 멸균시킨 후 멸균된 증류수로 3회 수세하였다. 형질전환할 배양 재료는 인삼접합자배의 자엽을 사용하였고 체세포배의 유도를 위해서 식물호르몬을 첨가하지 않은 MS (Murashige & Skoog, 1962) 배지에 5% sucrose를 첨가한 고체 배지를 사용하였다. 형질전환을 위해서는 *SAL1* 유전자를 함유하고 있는 아그로박테리움 (*Agrobacterium tumefaciens* MP90/Sal1)을 인삼 자엽과 MS 액체배지에서 24시간 공동 배양한 다음 인삼 자엽을 멸균된 필터 페이퍼에 올려놓아 잔여 배지를 제거한 후 생장조절제가 첨가되지 않고 5% 설탕이 첨가된 MS기본배지에 3일간 전 배양하였다. 전배양 후 선발 배지로서 MS기본 배지에 250 mg/l cefotaxime과 100 mg/l kanamycin을 첨가한 고체배지에 인삼자엽을 옮겼다. 약 14일 간격으로 계대배양한 후에 인삼자엽으로부터 형질전환된 체세포배의 발생률을 조사하였다. 형질전환되었다고 추정되는 체세포배의 자엽일부 또는 초기생장시 정상적인 식물체로 전환되지 않을 것 같은 체세포배는 다시 이로부터 이차배를 유도하였다. 효과적인 이차배의 유도를 위해서는 배양 재료를 원형질 분리 전 처리하는 방법이 있는데, 즉 1 M농도의 고농도 설탕 용액에 약 24시간 동안 담가 둔 다음 1/2 희석 설탕액으로 서서히 희석시킨 다음 체세포배유도시와 같은 MS기본배지에 배양하였다. 이로부터 얻어진 다수의 체세포배를 발아시키기 위해서 지베렐린 1 mg/l, 또는 -24°C에서 저온처리하여 발아시켰다. 발아된 체세포배로부터 식물체의 생장을 촉진시키기 위해서 1/2, 또는 1/3 MS 배지에 옮겼다.

3. 형질전환 인삼 식물체의 선발

유전자 도입여부를 확인하기 위해서 재분화된 인삼 유식물체로부터 DNA를 추출한 후에 일차적으로 *NPT II* 유전자의 존재여부를 확인하기 위해서 PCR을 수행하였다. PCR을 위한 DNA추출방법은 Dellaporta 등 (1993)의 방법에 준하여 수행하였으며 PCR조건은 96°C에서 2분간 pre-denaturation 한 후, 94°C에서 30초, 60°C에서 30초, 72°C에서 2분으로 하여 36 cycle을 반응시켰으며, 이어서 72°C에서 15분간 post-extension 시킨 후 0.7% agarose gel로 전기영동하여 확인하였다. 이때 사용한 primer는 5'-GTGGAGAGGCTATTCGGCTA-3'와 5'-CCACCA TGATATTCGGCAAG-3'을 사용하였다. 또한 이차적으로 *SAL1* gene이 도입된 인삼 형질전환체의 선발은 PCR에 의한 *SAL1* gene과 *Vir-G* 유전자의 PCR 증폭을 통하여 확인하였다.

결과 및 고찰

1. *Arabidopsis SAL1* gene의 식물발현용 운반체에 재조합
염류내성 유전자로 알려진 *Arabidopsis*에서 분리한 *SAL1* (3'(2'),5'-bis-phosphate nucleotidase) 유전자를 인삼에 도입하

기 위해서 식물형질전환용 binary vector에 재조합하였다. 우선 식물발현용 promoter (35S-35S-AMV promoter)가 함유된 카세트 백타 524Xba에 도입하기 위해서 제한효소 site NcoI 위치를 primer제작에 의해서 mutation시켰다. Primer는 sense로 당초 5'-GATTTACAATGGACGTTTCGC-3'인 것을 5'-GATTTACCATGGACGTT-CGC-3'으로 변이시켜 사용하였다. 합성된 primer로 증폭된 SAL1 gene의 ORF영역은 식물발현용 백타 (524Xba1)에서 재조합되어 확인되었으며, E. coli에 도입하여 증식하였다. Primer mutation에 의해서 유도된 SAL1 gene을 PCR로 추출하여 가장 적게 나온 PCR product를 다시 template로 사용하여 PCR한 후 절단하여 ligation시켰다 (Fig. 1).

식물형질전환용 binary vector인 pRD400에 다시 재조합하기 위해서 상기 식물발현용 vector에 재조합된 SAL1 gene을 Xba I으로 절단하여 pRD400 (Fig. 2A)에 ligation하여 E. coli에 형질전환시킨 후 X-gal 및 IPTG가 함유된 선택배지에서 white colony를 선발하였다. 형성된 colony를 다시 50 µg/l kanamycin이 함유된 배지에서 배양후 다시 plasmid를 추출하여 Xba I으로 절단하여 SAL1 gene을 확인하였다 (Fig. 2B).

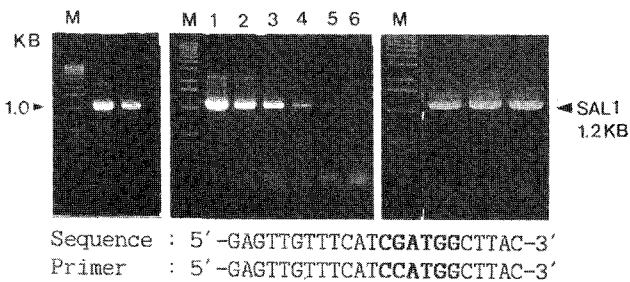


Fig. 1. Agarose gel electrophoresis patterns by PCR of the SAL1 gene induced from primer mutation and insertion of the SAL1 gene into Agrobacterium. Primer was modified used to make Nco I site from 5'-GATTTACAATGGACGTTTCGC-3' to 5'-GATTTACCATGGACGTTTCGC-3'.

약 11 kb의 pRD400 binary vector와 SAL1 gene과 promoter 및 terminator가 도입된 약 2 kb 밴드를 확인할 수 있었다 (Fig. 2B). Ligation이 확인된 binary vector를 disarmed Ti-plasmid를 함유한 Agrobacterium tumefaciens MP90에 도입하기 위해서 tri-parental mating 방법에 의해서 Agrobacterium tumefaciens MP90에 SAL1 gene을 함유한 binary vector를 도입하여 인삼 형질전환에 이용하였다.

2. Arabidopsis SAL1 gene에 의한 인삼의 형질전환

SAL1 gene을 함유하고 있는 Agrobacterium tumefaciens MP90/Sal1을 이용하여 인삼자엽으로부터 형질전환을 유도하였다. 인삼자엽을 식물호르몬을 첨가하지 않은 배지에서 체세포배를 발생시킨 대조구에서는 약 90% 배양 재료에서 체세포배가 발생되었으며 주로 자엽의 기부에서 형성되었으나(Fig. 3A), Agrobacterium과 공동배양 후 식물호르몬 무첨가 선발배지 (kanamycin 100 mg/l)에서는 형성빈도가 매우 감소되어 다만 10% 미만의 자엽에서 형질전환 인삼체세포배가 발생되었다 (Fig. 3B). 그러나 Agrobacterium과 공동배양 후 1.0 mg/l 2,4-D와 0.5 mg/l kinetin을 첨가한 배지에 옮겨줄 경우 74%의 형질전환율을 보였다 (Fig. 3C). 그러나 대조구의 자엽에서는 자엽 한 개당 체세포배의 수가 약 10~20개정도 발생되었으며 단일배 상태로 형성되었으나 (Fig. 3A), 식물호르몬을 첨가하지 않은 배지에서 선발한 형질전환 처리구에서는 자엽당 1.9개의 체세포배가 발생되었다 (Table 1, Fig. 3B). 반면 식물호르몬 첨가 배지에서 형질전환된 처리구에서는 30~50개정도의 embryo가 형성되었으나 단일배상태가 아니고 pre-embryo상태로 형성되었다 (Fig. 3C).

식물호르몬 무첨가배지에서 유도된 형질전환 체세포배중 80%가 정상적인 자엽단계로 발생되지만 같은 배지에서는 더 이상 생장이 진행되지 않았기 때문에 발아 및 식물체로의 생장을 위해 GA₃가 10 mg/l 가 첨가된 MS 배지에 옮겨 주었

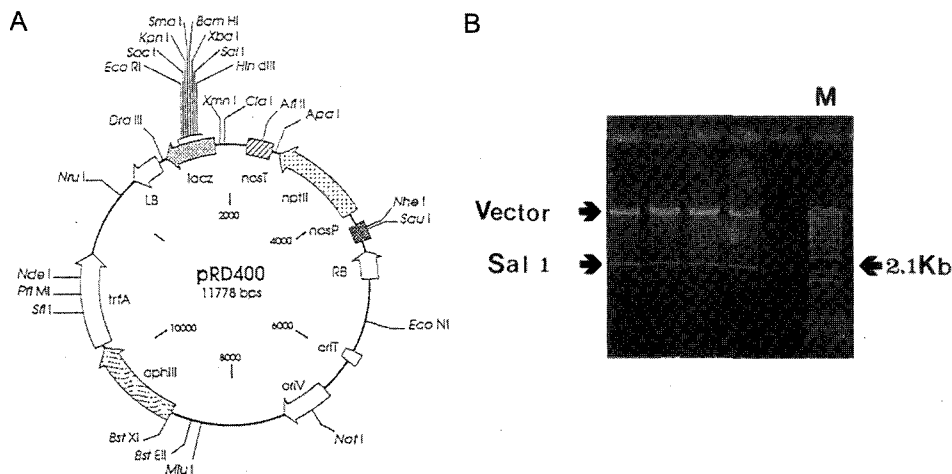


Fig. 2. Vector construction of the SAL1 gene for transformation of ginseng. (A) Insertion of the SAL1 gene into binary vector pRD400. (B) Confirmation of the SAL1 gene digested by Xba 1.

Table 1. Developmental aspect of the somatic embryo according to the phytohormone addition to the selection medium.

	Somatic embryo formation (%)	No. of somatic embryos/cotyledon	Somatic embryo	
			Normal	Abnormal
Phytohormone free	90	10.0	+++	+
Phytohormone free (kanamycin 100 mg/ℓ + cefatoxime 250 mg/ℓ)	1	1.9	++++	+
2,4-D 1 mg/ℓ + kinetin 0.5 mg/ℓ (kanamycin 100 mg/ℓ + cefatoxime 250 mg/ℓ)	74	14.5	+	++++

† + : small, +++, +++++: excellent.

다. 그 결과 체세포배가 대부분 녹화된 후 유식물체로 발달하였다 (Fig. 4A). 그러나 유식물체 중 50%가 상배축이 정상적으로 성장하지 못하였다. 한편 식물호르몬이 첨가된 선발배지

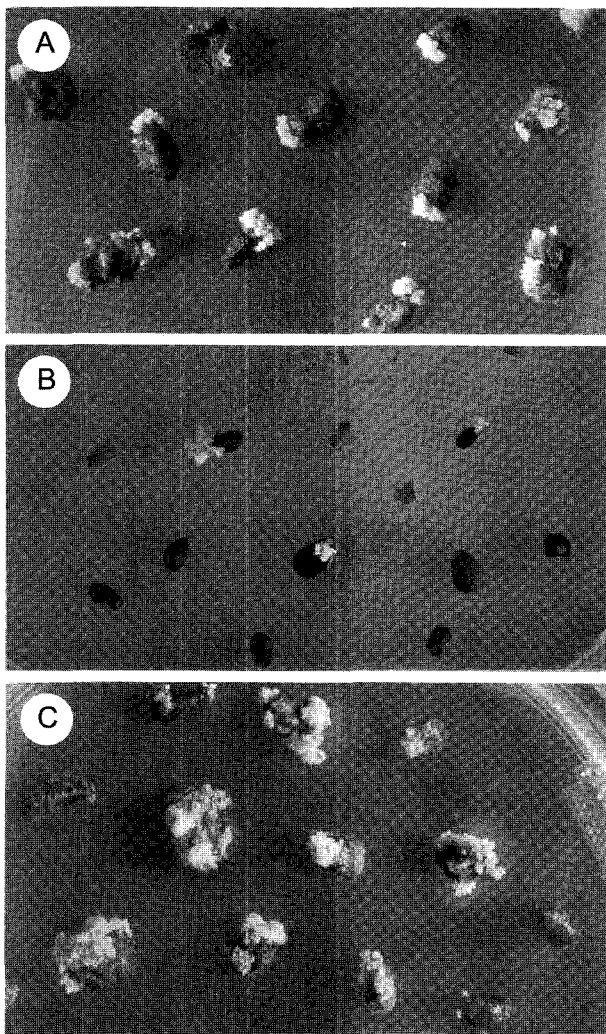


Fig. 3. Transformation of ginseng using *Agrobacterium tumefaciens* MP90 imbedding *SAL1* gene. Transgenic single embryo on the phytohormone free medium without any antibiotics (A) and with 100 mg/ℓ kanamycin (B), and transgenic embryo on the medium with phytohormone and 100 mg/ℓ kanamycin (C).

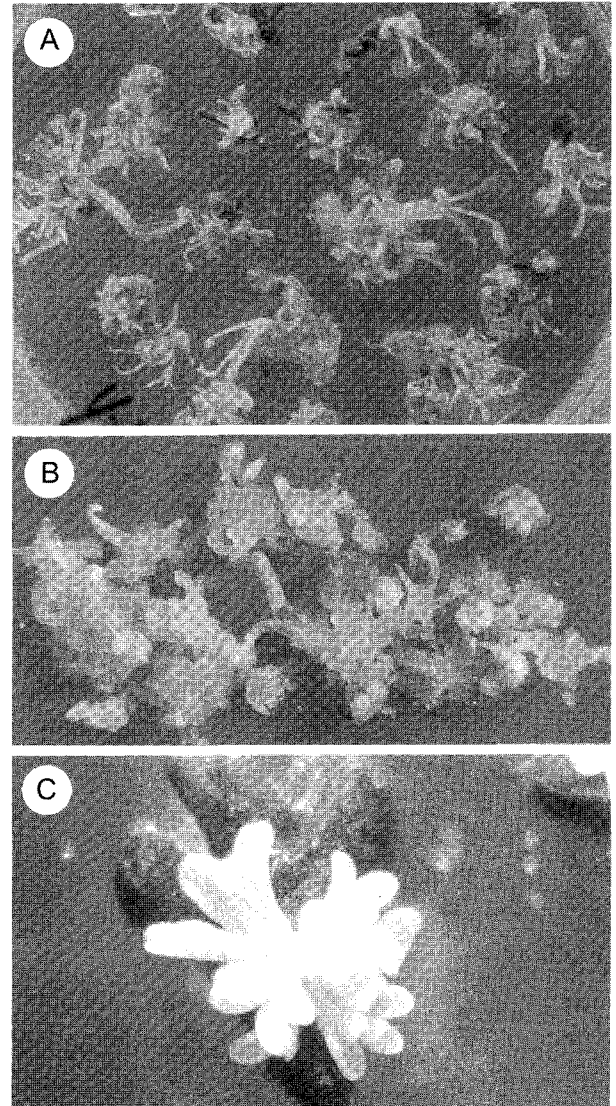


Fig. 4. Transformation of ginseng using the *SAL1* gene. (A) Shoot formation by addition of GA_3 from somatic embryo induced from the ginseng cotyledon on the hormone free medium. (B) Shoot formation from somatic embryo induced from a ginseng cotyledon in the hormone containing selection medium using *A. tumefaciens* LBA4404 imbedding *SAL1* gene. (C) Shoot formation from the transformants of embryo by cocultivating with *A. tumefaciens* in hormone free medium.

에서 유도된 형질전환 체세포배의 경우에는 거의 정상적인 유 식물체로 성장하지 못하고 callus화 되는 경향을 보였다 (Fig. 4B). 그러나 식물호르몬 무첨가 선발배지에서 유도된 체세포 배는 비록 형질전환 빈도는 낮았지만 정상적인 shoot를 형성 하였으며 (Fig. 4C), 형성된 일부 형질전환 식물체의 일부분을 취하여 SAL1 유전자의 존재 유무를 확인 한 결과 SAL1 유전 자가 들어 있음을 확인할 수 있었다 (Fig. 5 lane 8~9).

식물의 염류스트레스에 대한 반응은 많은 요인들에 의존하 고 있지만, 그중 식물호르몬이 다양한 식물체들에서 내성기작 이나 감수성 기작에 관련되어 있을 것으로 보이는데, 지베렐 린과 카이네틴과 같은 생장조절제 등은 종자의 발아에 미치는 염류의 억제효과를 경감시키는 것으로 알려져 있다 (Khan & Ungar, 1997). 그러나 염류스트레스에 의하여 유발되는 종자발 아와 휴면에서 식물생장조절제들의 역할은 아직 명확히 밝혀 진바 없다. 식물생장에 미치는 염류의 억제효과는 삼투압, 특 이 이온특성, 또는 영양이온결핍 등의 감소가 원인인 것으로 알려져 있는데, 염류집적에 의한 식물의 피해정도는 염류의 조 성 및 농도, 염류에 노출되었을 때 식물의 생리적인 상태나 식물의 종류에 따라서 다양하게 나타난다 (Katembe et al., 1998; Munns et al., 1995). 이처럼 식물의 염류피해는 다양 하게 나타나는데 인삼의 경우에는 수확량의 감소와 인삼의 품 질저하의 주된 원인이 되고 있다. 본 연구에서는 인삼의 염류 내성을 증진시킬 목적으로 *Arabidopsis* 유래의 염류내성 유전 자인 SAL1을 인삼에 성공적으로 도입하였으며 현재 선발된 형 질전환 인삼 유식물체의 토양적응실험을 하고 진행하고 있다. 성공적으로 이들 유식물체로 부터 뿌리가 정상적으로 생장이 되어 인삼형태의 주근으로 발달할 것인지, 또한 지상부가 없 어지고 이듬해에 다시 새로운 잠아가 형성되어 지상부의 생장

여부와 3~4년 생장 후 정상적인 종자의 결실여부와 F1에서의 SAL1 gene에 의한 염류내성 형질의 획득 가능여부는 급후 지 속적으로 검토를 하여야 할 것으로 생각된다.

적 요

인삼에 염류내성을 증진시키기 위해서 *Arabidopsis*에서 분 리한 SAL1 (3'(2'),5'-bis-phosphate nucleotidase) 유전자를 *Agrobacterium tumefaciens*을 이용하여 인삼자엽으로부터 형질 전환체를 유도하였다. *Agrobacterium*과 공동배양 후 식물호르 몬 무첨가 선발배지 (kanamycin 100 mg/l)에 치상한 결과 10% 미만의 자엽에서 형질전환 인삼체세포배가 발생되었으나, *Agrobacterium*과 공동배양 후 1.0 mg/l 2,4-D와 0.5 mg/l kinetin의 식물호르몬을 첨가한 배지에 옮겨준 경우에는 74% 의 형질전환율을 보였다. 발생한 체세포배는 초기에 250 mg/l 의 cefotaxime이 첨가된 MS배지에서 3주간 배양한 후 100 mg/l kanamycin과 250 mg/l cefotaxime이 첨가된 MS 배지에 계대배양하여 선발하였다. 자엽단계로 발달한 체세포 배들은 발아시키기 위해서 50 mg/l kanamycin과 10 mg/l 지베렐린이 첨가된 MS 배지로 옮겨 선발하였다. Kanamycin 첨가배지에서 선발된 체세포배들은 특이 프라이머로 PCR 증 폭을 통하여 최종적으로 형질전환체를 확인하였으며, 줄기와 뿌리가 잘 발달된 형질전환체들은 성공적으로 토양에 순화시 켰다.

사 사

본 연구는 농진청 Biogreen 21사업의 특용작물사업단의 일 부 연구지원금에 의해서 수행되었으며 이에 대해 심심한 감사 를 표하는 바이다.

LITERATURE CITED

- Asins MJ, Breto MP, Cambra M, Carbonell EA (1993) Salt tolerance in *Lycopersicon* species. I. Character definition and changes in gene expression. *Theor. Appl. Genet.* 86:737-743.
- Boyer JS (1982) Plant productivity and environment. *Science* 218:443-448.
- Chae YA, Heu JG, Lee JW (1988) *In vitro* breeding for salt-tolerance rice: Callus growth in stepwise increase of saline stress and the nature of salt tolerance. *Korean J. Breeding* 21:46-50.
- Chung YR, Ohh SH, Lee IH, Park CS (1985) Studies on the biological and chemical properties of musty ginseng root and its causal mechanism. *J. Ginseng Research* 9(1):24-35.
- Dellaporta SL, Wood J, Hicks JB (1983) A plant DNA miniprep: Version II. *Plant Mol. Biol. Rep.* 1:19-22.
- Diaz DL, Martha JL, Sanjaya R, Abdul MK (1995) Rapid *in vitro* screening of some salt tolerant bread wheats. *Cereal*

M 1 2 3 4 5 6 7 8 9

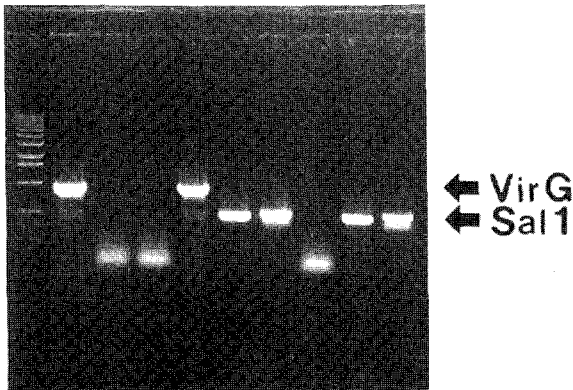


Fig. 5. Confirmation of the SAL1 gene in ginseng transformants (lane 7~9). M: marker, Lane 1~3: *Agrobacterium* containing Ti-plasmid, Lane 4~6: *Agrobacterium* containing binary vector inserted Ti-plasmid and SAL1 gene. Lane 6~9: Ginseng transformants. Vir-G (1, 4, 7) gene was investigated to confirm insertion of SAL1 gene and *Agrobacterium*.

- Research Communications 23(4):383-389.
- Katembe WJ, Ungar IA, Mitchell JP** (1998) Effects of salinity on germination and seedling growth of two *Atriplex* species. *Annals of Botany* 82:162-175.
- Kent FM, Hanson AD** (1992) Salt-inducible betaine aldehyde dehydrogenase from sugar beet: cDNA cloning and expression. *Plant Mol. Biol.* 18:1-11.
- Khan MA, Ungar DJ** (1997) Alleviation of seed dormancy in the desert forb *Zygophyllum simplex* L. from Pakistan. *Annals of Botany* 80:395-400.
- Lee CH, Lee JC, Cheon SK, Kim YT, Ahn SB** (1982) Studies on the optimum light intensity for growth of *Panax ginseng* (L) Effects of light intensity on growth of shoots and roots of ginseng plants. *J. Ginseng Research* 6(1):38-45.
- Munns R, Schachtman DP, Condon AG** (1995) The significance of a two-phase growth response to salinity in wheat and barley. *Aust. J. Plant Physiol.* 22:561-569.
- Murashige T, Skoog F** (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol. Plant.* 15:473-479.
- Nam KY, Park H, Lee IH** (1980) Effect of soil moisture on growth of *Panax ginseng*. *J. Korean Soc. Soil Sci. Fert.* 13(2):71-76.
- Quintero FJ, Garcidebiis B, Rodaiguez-Nawrro A** (1996) The *SAL1* gene of Arabidopsis, encoding an enzyme with 3'(2'),5'-bisphosphate nucleotidase and inositol polyphosphate 1-phosphatase activities, increases salt tolerance in yeast. *Plant Cell* 8:529-537.
- Wood AJ, Saneola H, Rhides D, Joly RJ, Goldbrough PB** (1996) Betaine aldehyde dehydrogenase of *Sorghum*. *Plant Physiol.* 110:1301-1308.
- Yu YH, Ohh SH** (1993) Research on ginseng diseases in Korea. *J. Ginseng Research* 17(1):61-68.
- 목성균, 이일호, 천성기** (1996) 최신고려인삼(재배편). 천일인쇄사. 서울. p. 130-195.