

섬오갈피나무 不定根 培養에서 不定根의 生長과 Eleutheroside 類의 生産에 미치는 Jasmonic acid 處理의 영향

安珍權* · 朴昭映 · 李胃煥 · 朴永起

국립산림과학원

Effects of Jasmonic Acid on Root Growth and Eleutheroside Accumulation in Adventitious Root Culture of *Eleutherococcus koreanum*

Jin-Kwon Ahn*, So-Young Park, Wi-Young Lee and Youngki Park

Korea Forest Research Institute, Suwon 441-350, Korea

요약: 생물반응기를 이용한 섬오갈피 부정근 배양시에 jasmonic acid를 농도별 (0, 0.01, 0.05, 0.1, 0.2, 0.4 mg/L)로 처리하여 부정근의 성장과 eleutheroside류 생산과의 관계를 조사하였다. Jasmonic acid 처리농도별 부정근의 생장은 무처리구에서 2.9 g Dry Weight/L로 가장 높았으며 jasmonic acid 농도가 증가할수록 부정근 생장은 감소하였다. 그러나 eleutheroside B와 E의 함량은 jasmonic acid 농도가 높을수록 증가하여 eleutheroside B는 0.4 mg/L처리구에서 49.0 µg/g DW, eleutheroside E는 0.2 mg/L처리구에서 64.7 µg/g DW로 가장 생산량이 많았다. 반면에 eleutheroside E₁은 무처리구에 19.0 µg/g DW로 가장 생산량이 많았다. 배지 1L당 eleutheroside류의 총생산량은 0.01 mg/L처리구에서 259.9 µg/L를 생산하여 가장 우수하였다. 0.01 mg/L의 jasmonic acid 처리 후 12일간 eleutheroside류의 함량을 조사한 결과 eleutheroside B는 jasmonic acid처리 후 감소하였으나, eleutheroside E는 처리 후 10일째, eleutheroside E₁은 처리 후 4일째 가장 많은 생산량을 보여 주었다.

Abstract: The influence of different doses of jasmonic acid on both biomass of adventitious roots and accumulation of secondary metabolite in bioreactor cultures of *Eleutherococcus koreanum* was studied. The maximum growth (2.9 g Dry Weight/L) of adventitious roots was observed in the absence of jasmonic acid. The biomass of adventitious roots decreased with the increase in jasmonic acid dosage. High level of jasmonic acid efficiently stimulated the production of both eleutheroside B and E. The highest eleutheroside B (49.0 µg/g DW) was observed at 0.4 mg/L jasmonic acid. Jasmonic acid at 0.2 mg/L led to the maximum accumulation of eleutheroside E (64.7 µg/g DW). Whereas eleutheroside E₁ was maximally 19.0 µg/g DW accumulated in the absence of jasmonic acid, the total eleutheroside (259.9 µg/L) was the highest when 0.01 mg/L jasmonic acid was treated. In this study, the level of eleutheroside B decreased whereas the maximum levels of eleutheroside E and eleutheroside E₁ were observed at 10th and 4th day after jasmonic acid treatment.

Key words : *Eleutherococcus koreanum*, eleutheroside B, eleutheroside E, eleutheroside E₁

서 론

섬오갈피나무 (*Eleutherococcus koreanum*)는 제주도 한라산 해발 500m이상의 계곡부위나 숲 등에 자생하는 두릅나무과 (Araliaceae)에 속하는 낙엽활엽관목으로서 오래전부터 민간에서 약용으로 사용되어 온 중요한 목본식물이다. 신경통, 류머티즘, 당뇨, 중풍, 고혈압 등에서 특히 뛰어난 약효가 있는 것으로 보고되고 있다(동의보감, 1959;

이시진, 1974; Choi *et al.*, 1997; Perry, 1980; Yook *et al.*, 1976, 1998).

현재까지 섬오갈피나무의 근피, 수피 및 잎에서 분리된 주요성분으로서 coumarin류 화합물인 eleutheroside B₁, polyacetylene류로는 falcarinol, falcarindiol, phenylpropanoid류는 coniferin, eleutheroside B, 및 lignan류로 eleutheroside E, E₁, saponin류로는 eleutheroside A, I, K, L, M, ciwujianoside A, B, C, D, E(Shin and Lee 2002; Tang, 1992)와 진통소염작용이 입증된 acanthoic acid가 분리되었다(Kang *et al.*, 1996; Lee *et al.*, 2001). 이 중

*Corresponding author
E-mail: AHNJK@foa.go.kr

eleutheroside B와 E는 흥분완화, 스트레스 억제 및 면역활성을 증진시키는 중요한 생리활성물질로서 항균 등에 강한 생리활성과 방사선에 대한 내성 및 탐구활동 등 두뇌활동을 향상시킨다(Slacanin *et al.*, 1991; Tang 1992). 그러나 섬오갈피나무의 종자는 미숙종자로 생산되기 때문에 발아에 2년 이상이 소요되어 국내외로 식물체 재생(Choi *et al.*, 1997)과 약용성분(Choi and Kim, 2002; Yook *et al.*, 1998; Lee *et al.*, 2001)에 관한 연구만 일부 보고되어 있을 뿐 아직 기내배양을 통한 이차대사산물 생산에 대한 연구는 미흡하다.

유용 약용식물로부터 모상근이나 부정근을 유도하여 생물반응기 배양을 통한 biomass 대량생산이 인삼(Yu *et al.*, 2002), *Hypericum perforatum*(Zobayed and Saxena, 2003), *Beta vulgaris*(Suresh *et al.*, 2004), 섬오갈피(안진권 등, 2005) 등에서 실시되었다. 부정근 배양은 생산비 절감, 연속적인 증식과 안정적인 공급이 가능한 배양체료로서 현탁배양 세포보다 유전적, 생화학적으로 안정적이므로 이차대사산물 생산에 적합한 재료(Bourgaud *et al.*, 2001; Yu *et al.*, 2002; Lazaridou *et al.*, 2002; Paek and Chakravarthy, 2003)로 인식되었고, 대용량 생물반응기의 대량배양에 의한 산업화 가능성이 제시되었다(Seon *et al.*, 1999).

또한 배양체로부터 목적하는 이차대사산물의 생산량을 높이기 위하여 배지내 elicitor처리(Kang *et al.*, 2004; Suresh *et al.*, 2004; Yu *et al.*, 2002), 무기염류(Liu and Zhong 1997; 1998), 배양방법(Zhong *et al.*, 1999), 성장조절물질(안진권 등, 2005) 및 당 농도(Akalezi *et al.*, 1999) 등을 조절, 처리하는 연구가 진행되었다.

식물에 함유된 대부분의 이차대사산물은 세포가 영양의 고갈이나 환경의 변화 및 다른 미생물에 의한 오염과 같은 스트레스를 받을 때 축적되기 시작하는 것이 보통이다(Bourgaud *et al.* 2001). 식물체배양에 있어서 이차대사산물의 수율을 향상시키기 위한 방안으로 외부인자를 배양액에 첨가함으로써 식물배양체의 대사과정을 변화시키는 것이 있다. Elicitor는 식물배양체에 첨가함으로써 다양한 스트레스를 주어 이차대사산물의 축적을 변화시키는 외부 자극 물질(pathogen) 유래의 화합물이다. 외부 자극 물질에 의한 외부 신호가 gene expression, cell division, cell suicide 등과 같은 세포내 반응으로 전환되는 과정에 관여하는 물질을 signal transducer라 한다. 이러한 물질 중에서 jasmonic acid, methyl jasmonate 및 salicylic acid는 식물체 또는 식물배양체에서 이차대사산물의 생합성을 유도하는 신호물질로 알려져 있다(Chen and Chen, 1999; Creelman and Mullet, 1997; Gundlach *et al.*, 1992). 특히 Yu 등(2002)은 인삼부정근 배양시 배지내에 jasmonic acid를 처리한 결과 무처리에 비하여 ginsenoside 류 전체 함량이 최대 5.2 배로 증가함을 보고하였다.

현재까지 섬오갈피나무에 있어 기내 배양 부정근 생육과 이차대사산물 생산과의 관계에 관한 연구는 보고된 바가 거의 없다. 이에 본 연구에서는 생물반응기를 이용한 섬오갈피의 부정근 배양시 elicitor인 jasmonic acid처리 농도가 부정근의 생육 및 유용 이차대사산물인 eleutheroside B, E 및 E₁의 함량에 미치는 영향을 구명하여 섬오갈피 부정근 배양체의 대량생산과 이차대사산물 생산을 위한 기초 자료로 삼고자 실험을 실시하였다.

재료 및 방법

1. 식물재료

섬오갈피 종자는 국립산림과학원 유전자원림에서 채취하여 2년 정도 습윤저온저장한 것을 이용하였다. 종자는 2% NaOCl로 15분간 표면살균하고 멸균수로 3회 세척 후 미숙배를 적출하여 1.0 mg/L 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D)가 첨가된 MS (Murashige and Skoog, 1962) 배지에서 2개월간 암배양하여 배발생 캘러스를 얻었다. 배발생 캘러스는 다시 성장조절제가 제거된 1/2 MS 배지에 옮겨 체세포 배를 유도하였고, 동일한 배지에 계대배양하여 식물체로 발달시켰다. 2개월 후 체세포 배 유래 식물체로부터 뿌리를 절단하여 2.0 cm 길이로 자른 후 3.0 mg/L indolebutyric acid (IBA), 0.01 mg/L thidiazuron (TDZ: N-phenyl-N'-(1,2,3-thiadiazol-yl)urea)과 30 g/L sucrose가 첨가된 1/2 MS 액체배지에 접종하고 110 rpm 속도로 암배양하였다. 부정근은 4주 간격으로 동종의 신선한 배지로 계대배양하여 생물반응기 배양을 위한 재료로 사용하였다.

2. 생물반응기 배양과 Jasmonic acid처리

생물반응기 배양은 5 L 풍선형 공기부양식 생물반응기(Son *et al.*, 2000)를 이용하여 1/2 MS 배지에 IBA 5.0 mg/L와 TDZ 0.1 mg/L의 농도로 조합 처리한 2 L의 액체 배지를 첨가하고 1 cm 길이로 절단한 부정근 12.5 g FW을 각각 접종하였다. 이때 생물반응기내 공기공급량은 flowmeter (Dwyer Inc., IN, USA)로 0.1 vvm 되게 조절하였고, 배양은 23°C가 유지되는 배양실에서 암배양하였다. 배지는 절편체에서 부정근 원기가 형성되어 왕성하게 성장하는 5주 후에 Jasmonic acid(Sigma사, C₁₂H₁₈O₃, M.W.=210.3) 250 g을 100%의 알콜 250 ml에 희석하여 stock solution을 만든 후 처리농도(0, 0.01, 0.05, 0.1, 0.2, 0.4 mg/L)에 따른 부정근 증식과 eleutheroside류의 생산 특성을 구명하기 위해 동종의 신선한 배지를 각각 2 L씩 더 첨가하여 총 배지량이 4 L되게 하여 4주 동안 더 배양하여 수확하였다. 즉 시료 접종시 elicitor인 Jasmonic acid를 처리할 경우에 부정근의 성장을 저해(Yu *et al.*, 2002)하기 때문에 Jasmonic acid가 첨가되지 않은 성장배지 2

L에서 5주 동안 부정근을 왕성하게 성장시킨 후에, eleutheroside류의 증진 생산을 위하여 전체배지 4L가 Jasmonic acid의 처리농도가 0, 0.01, 0.05, 0.1, 0.2, 0.4 mg/L가 되도록 조제한 배지 2 L를 더 첨가하여 4주 배양하였다.

배양 9주 후에 수확하여 흐르는 수돗물에 3회에 걸쳐 깨끗이 세척한 후 물기를 제거하기 위하여 1시간 정도 음건 후 생중량을 측정함 다음 동결건조, 분쇄하여 eleutheroside B, E 및 E₁ 분석을 위한 시료로 사용하였다. 시험은 3회 반복 실시하여 Jasmonic acid의 처리농도간 eleutheroside류의 생산 특성을 구명하기 위하여 Duncan의 다중검정(5% 수준)을 실시하였다. 그리고 성장율(growth ratio)은 수확된 생중량 무게에 접종시료의 무게 12.5 g FW로 나누어 산출하였다.

또한 1 L 생물반응기에 배지 0.3 L, 시료 3.75 g을 접종하여 5주 배양 후 배지 0.3 L에 jasmonic acid를 0.01 mg/L 농도로 첨가하여 배양시기별로 수확 (jasmonic acid 처리 후 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12일)하여 분석하였다. 배지, 배양조건 및 분석방법은 상기와 동일하게 실시하였으며 Jasmonic acid 처리 후 eleutheroside류의 생산량이 가장 많은 시기를 구명코자 하였다.

3. Eleutheroside류 분석

Eleutheroside류의 추출과 분석은 안진권 등 (2000)의 방법에 따라 실시하였다. Eleutheroside류 분석은 Spherisorb ODS column(4.6 mm×250 mm, Jasco, GroB-Umstadt, Germany)에 UV 검출기(UV 3000 HR, TSP, USA)가 장착된 Thermo Separation Products HPLC system(TSP, CA, USA)을 이용하여 분석하였다. 이동상은 물과 acetonitrile을 초기 10, 30, 40, 45, 46, 50분에 각각 95:5, 90:10, 60:40, 50:50, 45:55과 95:5의 비율로, 0.6 ml/min의 속도로 흘려보냈다. 표준 물질로 사용한 eleutheroside B(syringin), eleutheroside E(lilriodendrin)와 eleutheroside E₁{(+)-syringaresinol-O-β-D-glucoside}는 Nakarai Inc. (Japan)와 Sigma(USA)로부터 구입하여 부정근에서 추출한 이차대사산물과 비교하였고, 220 nm에서 검출하였다.

결과 및 고찰

우선 부정근의 성장을 왕성하게 유지하기 위하여 섬오갈피 부정근 배양에 적합한 TDZ 0.1 mg/L에 IBA 5.0 mg/L가 첨가된 1/2 MS 배지 2 L에 1.0 cm 길이로 절단한 부정근 12.5 g을 5 L 공기부양식 생물반응기에 접종하여 5주 동안 암배양하였다. 배양 2주 후 뿌리표면에 형성된 부정근 원기를 관찰할 수 있었고, 3주가 지나면서 부정근은 길이와 부피 성장을 하였다(Figure 1). 부정근의 길이

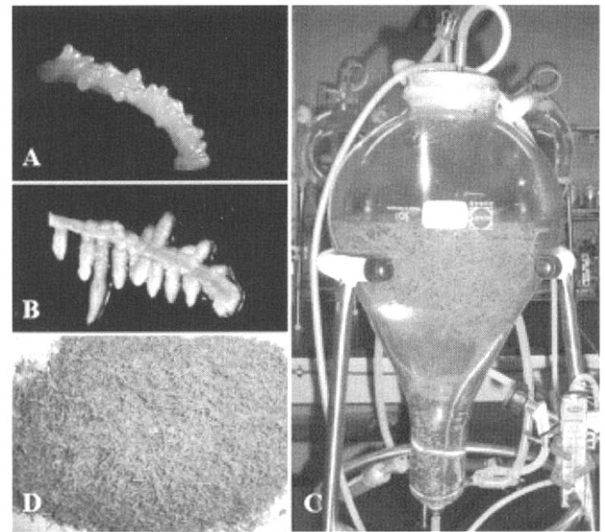


Figure 1. Adventitious root production of *E. koreanum* in a 5 L air-lift bioreactor. A. Protuberances of root primordia on a root explant surface on 1/2 MS containing 0.01 mg/L TDZ and 5.0 mg/L IBA after 2 weeks of culture; B. Adventitious root growth in the same medium after 4 weeks of culture; C. Adventitious roots in a 5 L air-lift bioreactor after 9 weeks of culture; D. Harvested, then freeze dried adventitious roots.

Table 1. Effect of jasmonic acid on *Eleutherococcus koreanum* adventitious root growth after 9 weeks of 5 L bioreactor culture.

Jasmonic acid (mg/L)	Biomass ^a		Growth ratio ^b
	Fresh weight (g)	Dry weight (g)	
0.00	86.9±10.9	11.5±1.4	7.0
0.01	74.3±11.6	9.9±1.5	5.9
0.05	67.0±10.7	9.3±1.7	5.4
0.10	56.9±5.8	7.3±0.4	4.6
0.20	46.9±8.8	6.4±0.7	3.8
0.40	46.6±2.9	6.2±0.3	3.7

^aEach value represents mean ± S.E. of three replicate

^bRatio of the harvested root fresh weight to the inoculated root fresh weight (12.5 g)

가 3.0-5.0 cm 정도로 성장한 배양 6주째 2 L의 배지에 jasmonic acid를 농도별(0, 0.01, 0.05, 0.1, 0.2, 0.4 mg/L)로 처리하였다. Jasmonic acid를 첨가한 후 4주동안 배양, 수확하여 jasmonic acid 농도 처리별로 부정근의 성장과 eleutheroside류의 생산량을 조사하였다. 부정근의 생장은 jasmonic acid가 첨가되지 않은 무처리에서 생중량 86.9 g으로 접종량에 비하여 7.0 배의 가장 좋은 성장을 보인 반면, jasmonic acid의 처리농도가 가장 높은 0.4 mg/L 처리구에서는 생중량 46.6 g으로 접종량의 3.7배로 가장 저조한 성장을 보여주었다. 건중량의 생산도 jasmonic acid가 처리되지 않은 배양에서 11.5 g을 보여 처리농도가 가장 높은 0.4 mg/L 처리구의 6.2 g에 비하여 1.9 배의 생산 증대가 있었다(Table 1). 즉 jasmonic acid의 처리농도가

Table 2. Effect of jasmonic acid on the biosynthesis of eleutherosides after 9 weeks of 5 L bioreactor culture.

Jasmonic acid (mg/L)	Eleutherosides content (µg/g DW)		
	B	E	E ₁
0.00	29.3 ± 2.1c ^a	38.7 ± 2.2c	19.0 ± 2.7a
0.01	38.7 ± 3.5b	51.3 ± 4.2b	15.0 ± 2.0b
0.05	35.7 ± 2.2bc	57.0 ± 4.4ab	5.7 ± 1.5d
0.10	47.3 ± 6.0a	56.3 ± 5.7ab	6.7 ± 1.5cd
0.20	46.3 ± 2.5a	64.7 ± 6.0a	9.7 ± 0.6c
0.40	49.0 ± 4.0a	57.7 ± 4.0ab	7.0 ± 1.7cd

^aDuncan's multiple range test (p=0.05)

높을수록 부정근의 생장은 저조하였는데, 이러한 현상은 인삼 부정근 배양과 동일한 결과 (Yu *et al.*, 2002)로 jasmonic acid를 섬오갈피 부정근 배양에 처리하였을 경우 생장을 지연시키는 것으로 나타났다.

Jasmonic acid 처리농도에 따른 이차대사산물 생산을 보면 eleutheroside B와 E의 함량은 jasmonic acid 농도가 높아짐에 따라 점차적으로 높아져 무처리에 비하여 최고 1.7 배의 함유량을 보여주었다(Table 2). 즉 eleutheroside B와 E의 경우 jasmonic acid를 0.40 mg/L처리하였을 경우 각각 49.0 µg/g DW, 57.7 µg/g DW을 생산하였으나 처리하지 않을 경우는 각각 29.3 µg/g DW, 38.7 µg/g DW을 생산하여 큰 차이를 보여주었다.

그러나 eleutheroside E₁는 무처리에서 가장 함유량이 높았으며, jasmonic acid농도가 높아질수록 함유량이 낮아지는 반대현상을 보여주었다. 즉 jasmonic acid농도가 가장 높은 0.4 mg/L처리에서 함유량이 7.0 µg/g DW인데 비하여 무처리에서는 19.0 µg/g DW가 생산되었다.

이와 같은 결과로 보아 eleutheroside E₁의 함량을 증진시키기 위한 다른 elicitor의 처리가 필요한 것으로 나타났다. 이러한 현상은 jasmonic acid 처리가 이차대사산물의 종류에 따라 물질집적에 다르게 영향을 미치는 것으로 추정할 수 있다. 인삼부정근 배양에서 ginsenoside 함량을 증가시킨 것은 jasmonic acid가 protopanaxadiol ginsenoside의 생합성에 관여하는 효소의 활성을 촉진시킨 것으로 보고(Yu *et al.*, 2002)하였다. 그리고 이차대사산물 집적은 기내에서 종종 식물의 생장과 상반된 결과를 보여주는데 이는 식물의 일차대사산물이 세포증식과 이차대사 생합성에 동시에 이용되어 경합에 의해 이차대사산물의 식물생장이 증가하면 물질생산량이 감소하는 결과를 초래하기도 한다(Bourgaud *et al.*, 2001).

섬오갈피 부정근에 jasmonic acid를 처리했을 때 농도가 높을수록 일차근의 생장이 느리고 이차 부정근의 발생율이 보다 낮아지는 성장저해 현상을 발견할 수 있었다. 목적으로 하는 유용이차대사산물의 전체 생산량을 최대로 하기 위해서는 부정근의 생장과 함께 부정근에 함유된 이

Table 3. Effect of jasmonic acid on the biosynthesis of eleutherosides per 1 L medium after 9 weeks of 5 L bioreactor culture.

Jasmonic acid (mg/L)	Eleutherosides content (µg/L)			
	B	E	E ₁	Total
0.00	84.2	111.3	54.6	250.1 ± 28.3a
0.01	95.8	127.0	37.1	259.9 ± 45.7a
0.05	83.0	132.5	13.3	228.8 ± 60.0a
0.10	86.3	102.7	12.2	201.2 ± 48.3a
0.20	74.1	103.5	15.5	193.1 ± 44.8a
0.40	76.0	89.4	10.9	176.3 ± 42.0a

차대사산물의 양을 고려해야한다. Table 3은 jasmonic acid 처리 농도별로 수확된 부정근에 대하여 배지 1 L당 함유된 eleutheroside류의 생산량을 알아보기 위하여 수확된 biomass 건중량 (Table 1)에 eleutheroside류의 생산량 (Table 2)을 곱하여 계산한 결과이다.

Eleutheroside B의 함량은 jasmonic acid 0.01 mg/L가 첨가된 배지에서 가장 높은 1 L당 95.8 µg을 생산하여 5 L 생물반응기(4 L working volume)의 경우 총 383.2 µg의 eleutheroside B 생산이 가능하였다. 그리고 Eleutheroside E 함량은 jasmonic acid 0.05 mg/L가 첨가된 처리구에서 1 L당 각각 132.5 µg으로 5 L 생물반응기(4 L working volume)에서 총 530.0 µg의 eleutheroside E 생산이 가능하였다. 그러나 eleutheroside E₁ 함량은 jasmonic acid의 무처리구에서 가장 높은 54.6 µg/L을 생산하여 부정근의 생장이 왕성한 경우에 최대의 생산증대가 가능한 것으로 나타났다. 또한 eleutheroside B, E 및 E₁의 전체생산량은 jasmonic acid 0.01 mg/L 처리구에서 L당 259.9 µg을 생산하여 가장 우수하였으나, 처리농도가 가장 높은 0.40 mg/L처리구는 L당 176.3 µg생산하여 가장 저조하였다(Table 3). 이러한 현상은 이차대사산물의 생산증진을 위하여 elicitor를 처리할 경우 처리농도에 따라 부정근의 생장과 이차대사산물의 생산량을 동시에 고려해야만 최대의 생산을 기대할 수 있을 것이다. Figure 2는 섬오갈피 부정근 배양시에 Jasmonic acid를 0.01 mg/L농도로 처리하여 배양기간별 eleutheroside류의 생산량을 나타낸 것이다. Eleutheroside E와 E₁은 Jasmonic acid처리 후 점진적으로 생산량이 증가하여 각각 10일과 4일째에 최대의 생산량을 보여주었다. 즉 eleutheroside E는 jasmonic acid처리 후 10일 째에 159.7 µg/g DW, eleutheroside E₁은 4일 째에 170.4 µg/g DW의 생산량을 나타내어, jasmonic acid처리전의 각각 135.43 µg/g DW, 80.0 µg/g DW에 비하여 약 1.2-2.1 배의 생산량 증대로 jasmonic acid처리 효과가 우수하였다. 그러나 eleutheroside B는 jasmonic acid처리 후 배양기간이 경과할수록 생산량이 감소하였다.

Yu 등 (2002)도 인삼 부정근 배양시의 jasmonic acid처

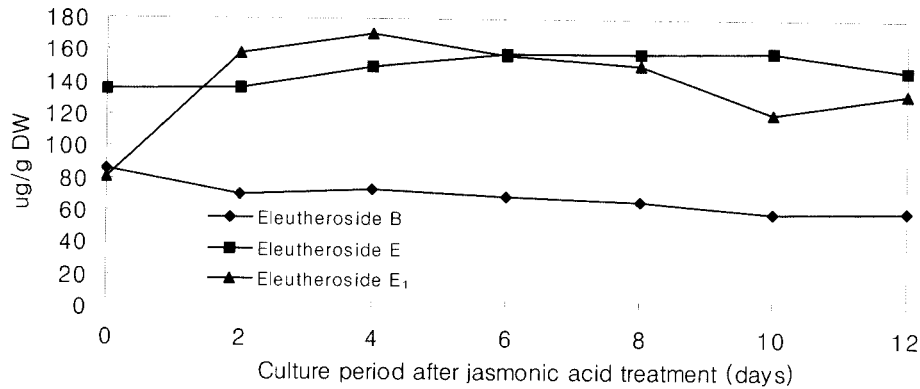


Figure 2. Accumulations of eleutherosides for 12 days after jasmonic acid treatment (0.01 mg/L) in a 1 L air-lift bioreactor system. Adventitious roots were grown for 5 weeks before jasmonic acid treatment. Cultures were maintained at 23°C in the dark.

리(2.0 mg/L)에서 수확된 부정근의 ginsenoside류 분석에서 Rb그룹은 배양기간이 경과할수록 생산량이 증가하였으나 Rg그룹은 감소한 것으로 나타나 이차대사산물의 종류에 따라 다른 반응을 보였다. 또한 섬오갈피 부정근 배양에서 식물생장조절물질인 zeatin은 부정근 생육과 eleutheroside E 함량에는 크게 영향을 미치지 않으나 eleutheroside B와 chlorogenic acid 생산을 크게 억제하였다고 보고하였다(안진권 등, 2005). 이는 이차대사산물 생산을 목적으로 하는 부정근 배양시 생장에 가장 적합한 최적배지를 선발한 다음 elicitor를 이용한 물질함량 증진과 목적으로 하는 이차대사산물이 가장 많이 생산되는 배양기간에 수확이 이루어져야만 최종적으로 더 많은 양의 이차대사산물을 생산할 수 있을 것으로 사료된다.

본 결과는 생물반응기 배양에서 유용이차대사산물인 eleutheroside류의 생산성을 높이기 위하여 elicitor로서 jasmonic acid를 농도별로 처리하여 부정근의 성장과 수확한 부정근내 함유된 eleutheroside류를 분석함으로써 최대 생산에 적합한 jasmonic acid 처리농도의 수준과 목적으로 하는 이차대사산물의 최대 수확시기를 구명하였다는데 의미가 있다고 하겠다.

인용문헌

- 李時珍. 本草綱目. 1974. 高文社. pp. 1204.
- 東醫寶鑑. 1959. 東方書店. pp. 740.
- 안진권 · 이위영 · 오성진 · 박유현 · 허성두 · 최명석. 2000. 가시오갈피나무의 eleutheroside E 및 chlorogenic acid 성분함량. 한국임학회지 89(2): 216-222.
- 안진권 · 박소영 · 이위영 · 이정주. 2005. 생물반응기 배양에서 성장조절제에 따른 섬오갈피 부정근 증식 및 eleutheroside와 chlorogenic acid 생산. 식물생명공학회지 32(1): 57-61.
- Akalezi, C.O., Liu, S., Li, Q.S., Yu, J.T., and Zhong, J.J. 1999. Combined effects of initial sucrose concentration and inoculum size on cell growth and ginseng saponin production by suspension cultures of *Panax ginseng*. Process Biochemistry 34: 639-642.
- Bourgaud, F., Gravot, A., Milesi, S., and Gontier, E. 2001. Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. Plant Science 161: 839-851.
- Chen, H. and Chen, H. 1999. Effects of methyl jasmonate and salicylic acid on cell growth and cryptotanshinone formation in Ti transformed *Salvia miltiorrhiza* cell suspension cultures. Biotechnology Letter 21: 803-807.
- Choi, Y.E., Kim, J.W., and Soh, W.Y. 1997. Somatic embryogenesis and plant regeneration from suspension cultures of *Acanthopanax koreanum* Nakai. Plant Cell Reports 17: 84-88.
- Choi, Y.H and Kim, J.W. 2002. Quantitative analysis of eleutheroside B and E using HPLC-ESI/MS. Korean Journal of Pharmacognosy 33: 88-91.
- Creelman, R.A and Mullet, J.E. 1997. Biosynthesis and action of jasmonates in plants. Annual Review. Plant Physiology and Plant Molecular Biology 48: 355-381.
- Gundlach, H., Muller, M., Kutchan, T., and Zenk, M. 1992. Jasmonic acid is a signal transducer in elicitor-induced plant cell cultures. Proceeding of National Academy of Science U.S.A. 89: 2389-2393.
- Kang, H.S., Kim, Y.H., Lee, C.S., Choi, I., and Pyun, K.H. 1996. Suppression of interleukin-1 and tumor necrosis factor- α production by acanthoic acid, (-) pimar-9(11), 15-dien-19-oic acid, and its antifibrotic effects *in vivo*. Cellular Immunology 170: 212-221
- Kang, S.M., Jung, H.Y., Kang, Y.M., Yun, D.J., Bahk, J.D., Yang, J.K., and Choi, M.S. 2004. Effects of methyl jasmonate and salicylic acid on the production of tropane alkaloids and the expression of PMT and H6H in adventitious root cultures of *Scopolia parviflora*. Plant Science 166: 745-751.
- Lazaridou, A., Roukas, T., Biliaderis, C.G., and Vaikousi, H. 2002. Characterization of pullulan produced from beet molasses by *Aureobasidium pullulans* in a stirred tank

- reactor under varying agitation. *Enzyme and Microbial Technology* 31: 122-132.
15. Lee, Y.S., Lee, E.B., and Kim, Y.H. 2001. Some pharmacological activities of acanthoic acid isolated from *Acanthopanax koreanum* root bark. *The Journal of Applied Pharmacology* 9: 176-182.
 16. Liu, S. and Zhong, J.J. 1997. Simultaneous production of ginseng saponin and polysaccharide by suspension cultures of *Panax ginseng* Nitrogen effects. *Enzyme and Microbial Technology* 21: 518-524.
 17. Liu, S. and Zhong, J.J. 1998. Phosphate effect on production of ginseng saponin and polysaccharide by cell suspension cultures of *Panax ginseng* and *Panax quinquefolium*. *Process Biochemistry* 33: 69-74.
 18. Murashige, T. and Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum* 15: 473-497.
 19. Paek, K.Y. and Chakravarthy, D. 2003. Micropropagation of woody plants using bioreactor, in: Jain, S. M and K. Ishii (Eds). *Micropropagation of woody trees and fruits*. Kluwer Academic Publishers, Dordresht, pp. 735-755.
 20. Perry, L.M. 1980. *Medicinal Plants of Far East and Southeast Asia*. The MIT Press, Cambridge. pp. 41.
 21. Seon, J.H., Yu, K.W., Cui, Y.Y., Kim, M.H., Lee, S.J., Son, S.H., and Paek, K.Y. 1999. Application of bioreactor for the production of saponin by adventitious roots cultures in *Panax ginseng*, in: Altman A (Ed), *Plant Biotechnology and In Vitro Biology in the 21st Century*, Kluwer Academic Publishers, Netherlands, pp. 329-332.
 22. Shin, K.H. and Lee, S.H. 2002. The chemistry of products from *Acanthopanax* species and their pharmacological activities. *Natural Product Sciences* 8(4): 111-126.
 23. Slacanin, I., Marston, A., and Hostettmann, K. 1991. The isolation of *Eleutherococcus senticosus* constituents by centrifugal partition chromatography and their quantitative determination by high performance liquid chromatography. *Phytochemistry Analysis* 2: 137-142.
 24. Son, S.H., Choi, S.M., Lee, Y.H., Choi, K.B., Yun, S.R., Kim, J.K., Park, H.J., Kwon, O.W., Noh, E.W. Seon, J.H., and Paek, K.Y. 2000. Large-scale growth and taxane production in cell cultures of *Taxus cuspidata* (Japanese yew) using a novel bioreactor. *Plant Cell Reports* 19: 628-633.
 25. Suresh, B., Thimmaraju, R., Bhagyalakshmi, N., and Ravishankar, G.A. 2004. Polyamine and methyl jasmonate-influenced enhancement of betalaine production in hairy root cultures of *Beta vulgaris* grown in a bubble column reactor and studies on efflux of pigments. *Process Biochemistry* 39: 2091-2096.
 26. Tang, W. 1992. *Chinese drugs of plant origin*, Springer-Verlag, Heidelberg, pp. 1-12.
 27. Yook, C.S., Kim, J.H., Hahn, D.R., Nohara, T., and Chang, S.Y. 1998. A lupane-triterpene glycoside from leaves of two *Acanthopanax*. *Phytochemistry* 49: 839-843.
 28. Yook, C.S., Risley, E.A., and Seo, Y.K. 1976. A new form of *Acanthopanax* species(1). *Korean Journal of Pharmacognosy* 7: 179-190.
 29. Yu, K.W., Gao, W., Hahn, E.J., and Paek, K.Y. 2002. Jasmonic acid improves ginsenoside accumulation in adventitious root culture of *Panax ginseng* C.A. Meyer. *Biochemical Engineering Journal* 11: 211-215.
 30. Zhong, J.J., Chen, F., and Hu, W.W. 1999. High density cultivation of *Panax notoginseng* cells in stirred bioreactors for the production of ginseng biomass and ginseng saponin. *Process Biochemistry* 35: 491-496.
 31. Zobayed, S.M.A. and Saxena, P.K. 2003. *In vitro* grown roots a superior explant for prolific shoot regeneration of St. John's wort (*Hypericum perforatum* L. cv 'New Stem') in a temporary immersion bioreactor. *Plant Science* 165: 463-470.

(2005년 9월 20일 접수; 2006년 1월 5일 채택)