

인삼모상근의 성장과 Ginsenoside 생합성에 미치는 KH₂PO₄의 영향

인준교*¹ · 박동식****¹ · 이범수* · 이태후** · 김세영** · 노영덕** · 조동하*** · 김성무*** · 양덕춘**[†]

*(주)바이오피아 생명공학연구소, **경희대학교 생명과학부,
강원대학교 생명공학부, *강원대학교 농업과학연구소

Effect of Potassium Phosphate on Growth and Ginsenosides Biosynthesis from Ginseng Hairy Root

Jun Gyo In*¹, Dong Sik Park****¹, Bum Soo Lee*, Tae Hoo Lee**, Se Young Kim**, Yeong Deok Rho**, Dong Ha Cho***, Cheng Wu Jin***, and Deok Chun Yang**[†]

*Institute of Biotechnology, BioPia Co., Ltd., Yongin 449-598, Korea.

**Department of Oriental Medicinal Materials and Processing, Kyung Hee University, Yongin 449-701, Korea.

***Kangwon National University, School of Bioscience & Biotechnology, Chunchon 200-701, Korea.

****Kangwon National University, Research Institute of Agricultural Sciences, Chunchon 200-701, Korea.

ABSTRACT : To investigate effects on the growth and ginsenosides accumulation in ginseng hairy root, potassium phosphate was supplemented with 1.25, 2.5, and 5.0 mM concentration in 1/2 MS medium, respectively. Potassium phosphate supplement was increased the biomass and ginsenosides accumulation when it was dose at the concentration of 1.25 mM. And the growth rate of hairy root in the light condition was higher than in dark condition. The highest contents and productivity of ginsenosides were observed at the supplement of 1.25 mM potassium phosphate at the 7th day after the culture onset. Ginseng hairy root cultured in 20 L bioreactor supplemented with 1.25 mM KH₂PO₄ was increased the growth with 1,609 g (F · W) and ginsenosides content with 11.09 mg than those in control.

Key Words : Ginsenosides, ginseng, hairy root, potassium phosphate, bioreactor

서 언

인삼은 오래 전부터 한방소재로 사용되어온 전통약용식물로서 특정 성분에 대한 약리효능을 과학적으로 인정받아 점차 전 세계적으로 수요가 증가하고 있다. 인삼은 보혈강장 및 불로장생의 영약으로 한방에서 널리 애용되어 왔으며, 단백질과 핵산의 생합성 촉진, 간기능 회복, 항암 및 항산화 효과 등이 탁월한 것으로 밝혀지고 있으며, 사포닌을 비롯한 몇 가지 특정 생리활성 성분에 대해서는 생체내에서의 작용기전도 보고되었다 (Aoki *et al.*, 1992; Choi *et al.*, 1982; 남, 1996). 특히 고려인삼의 사포닌류는 genin 부분인 dammarane계의 protopanaxadiol (PPD)과 protopanaxatriol (PPT)이 당과 결합하고 있는 배당체로서 ginsenoside라고 불리우며, 생합성 과정은 acetate를 전구체로하는 sterol의 생합성 과정과 유사할 것으로 예측되고 있다. 최근에는 이러한 인삼의 ginsenosides의 약리작용이 밝혀지면서 ginsenosides의 대량 생산이 요구되고

있는 실정이다 (Arya *et al.*, 1991).

인삼은 반음지성 식물로서 재배기간이 길고 해가림이라는 특수한 조건하에서 재배해야 하므로 생산성이 낮아서 약리효과를 지닌 특정성분을 대량으로 생산하는데 많은 어려움이 있다 (Butenko *et al.*, 1968; Harn *et al.*, 1983; Lee *et al.*, 2006). 이러한 문제점을 해결하기 위하여 토양미생물인 *Agrobacterium rhizogenes* 균주를 이용하여 모상근을 유도하여 특정 ginsenosides를 대량으로 기내배양을 통하여 생산하는 연구가 시도된바 있다 (Yang *et al.*, 1998; Yoshikawa & Furuya, 1987).

모상근을 이용하면 미생물처럼 생물반응기를 이용하여 대량 배양하면서 2차 대사과정에서 생성되는 유용물질을 대량으로 생산할 수 있는 장점이 있다 (Chang *et al.*, 1978). 또한 세포의 성장도 빠르며 세포의 회수도 쉽게 할 수 있을 뿐 아니라 유효성분도 다량 함유하고 있어서 특정 생리활성성분을 대량으로 생산하는데 효과적이다 (Park *et al.*, 2000). 기내배양

¹ These two authors contributed equally to this work

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

Received November 8, 2006 / Accepted November 28, 2006

중인 식물 세포주에 특정 elicitor를 처리하면 유용물질을 대량 생산할 수 있다 (Kuribayashi *et al.*, 1971; Jung *et al.*, 2003). Elicitor는 일반적으로 UV, 열 등의 비생물적 elicitor와 미생물에서 유래된 생물적 elicitor로 구분할 수 있는데, 생물적 elicitor는 그 유래에 따라 외생적 elicitor와 내생적 elicitor로 구분할 수 있다 (Vasil *et al.*, 1981). 현재까지 연구된 elicitor에는 β -glucan, glycoprotein, chitin, chitosan, jasmonic acid, methyl-jasmonate 등이 있으며, 이들을 처리하여 2차대사산물의 생합성을 성공적으로 증진시켰다 (Mizukami *et al.*, 1993; Park *et al.*, 2000; Staswick, 1992; Yoo *et al.*, 2001; 오 등, 2000b).

본 연구에서는 인삼에 *A. rhizogenes* 감염에 의하여 유도된 모상근 배양을 통한 생리활성물질의 대량생산을 목적으로 배지성분인 인산염 (KH_2PO_4)의 추가처리가 ginsenosides의 함량 증가에 어떠한 영향을 미치는지를 조사하였다.

재료 및 방법

1. 인삼 모상근의 유도 및 배양

인삼 뿌리절편과 *Agrobacterium rhizogenes* A₄T (Jung & Tepfer, 1987)를 공동배양하여 유도된 모상근을 사용하였다. 모상근은 적당한 길이로 성장하면 근단으로부터 2-3 cm 길이로 잘라내어 항생제 및 호르몬 무첨가 1/2 MS (Murashige & Skoog, 1962) 배지로 옮겨 진탕배양기 (100 rpm, 23°C)에서 암배양하였다. MS 배지 (Duchefa, Netherlands) 는 추천량의 1/2을 첨가한 후 3% sucrose를 넣어 용해한 후 후에 0.5 N NaOH용액을 사용하여 pH 5.8로 조절하고 100 ml 삼각플라스크에 40 ml 씩 분주하였으며, 121°C에서 20분간 고압멸균 하였다. 모상근은 4주 간격으로 새로운 배지에 접종하여 암실에서 배양하면서 실험재료로 사용하였다.

2. KH_2PO_4 의 처리

인삼 모상근의 성장과 사포닌 생합성 및 사포닌 조성에 미치는 KH_2PO_4 의 영향을 조사하고자, 1/2 MS 배지를 대조구로 하고 KH_2PO_4 를 1.25, 2.50, 5.00 mM을 첨가하여 배양하였고, 또한 2단계 배양을 위해 1.25 mM KH_2PO_4 를 접종 후 처리시기에 따라 첨가하여 배양한 후 모상근의 성장 및 ginsenosides 함량을 측정하였다.

3. 모상근 배양시의 광처리 및 생장율 분석

근단 부분을 1 cm 정도 절단하고 1/2 MS 40 ml 이 들어 있는 100 ml 삼각플라스크에 1 g씩 접종하여 암실과 1일 16시간 동안 백색 형광등조명 (20W FI, 3.5 Wm⁻²sec⁻¹, Korea)으로 광처리 하였다. 진탕배양 (100 rpm)으로 30일간 배양하였고 생장량 분석을 위해서 모상근을 증류수로 1회 세척하고 여과지

로 수분을 제거한 후 측정하였으며, 건조중량은 80°C 건조기에서 12시간 건조한 후 무게를 측정하였다.

4. Ginsenosides 함량의 측정

Ginsenosides 함량은 수포화 1-부탄올 추출법인 Ando (1971) 등의 방법에 따라 추출하여 80°C 온수 욕조에서 80% 메탄올 30 ml로 3회 추출하여 건조시킨 후 메탄올 추출물을 얻었다. 그 후 에테르로 재추출하여 탈지시킨 다음 수포화 1-부탄올로 3회 추출하여 1-부탄올층만을 모아 증류수로 1회 세척 한 후 수층은 버리고 1-부탄올층만을 감압하면서 농축하였다. HPLC용 메탄올 500 μ l에 농축물을 녹인 후 0.45 μ m millipore syringe filter로 여과하고 10 μ l를 HPLC (Waters)에 주입하여 ginsenosides 함량을 측정하였다. 사포닌 화합물의 확인 및 정량 분석에 사용된 ginsenosides 표준품은 KT&G에서 분양받은 것을 사용하였다. 인삼 모상근의 ginsenosides 검출은 Refractive index (RI, Waters R401) 검출기를 사용하였고, Lichrosorb-NH₂ column에 acetonitrile/H₂O/n-butanol (80:20:10) buffer와 flow rate는 0.5 ml/min로 하여 분석하였다. Chromatogram의 각 peak는 사포닌 표준품과 retention time을 비교하여 동정하였고, 각 ginsenosides 함량은 표준품과 비교하여 peak height로 계산하였다.

결과 및 고찰

1. KH_2PO_4 의 농도에 따른 모상근의 성장과 ginsenoside 생합성 증진

인삼 모상근은 생육이 매우 빠르고, 식물생장조절제의 첨가 없이 생육이 잘되며 캘러스에 비하여 이차대사산물인 ginsenosides의 생산성이 높다. 인삼 3년근 뿌리 절편에 *A. rhizogenes* A₄T 균주를 공동배양하여 모상근을 유도하였고 (Yang *et al.*, 1998), 유도된 모상근의 근단 배양을 이용하여 우수한 세포주를 선발하였다. 인삼 모상근은 외부에서 유전자가 무작위로 삽입되었기 때문에 도입된 유전자의 수와 삽입된 위치에 따라 유전자의 발현양상이 달라져 모상근 세포주에 따라서 변이가 매우 심하다 (Chilton *et al.*, 1978). 따라서 우수한 세포주를 선발하고 이를 고정화시키는 것이 매우 중요한데 본 연구에서는 생장이 다른 세포주에 비해 약 1.5배 이상 높은 KGHR-8 line을 사용하여 ginsenosides의 생산성 증진을 위한 실험에 이용하였다.

인삼모상근의 성장과 ginsenosides의 함량에 미치는 KH_2PO_4 의 영향을 조사하고자 1/2 MS 기본배지 (0.625 mM KH_2PO_4)를 대조구로 하고, 여기에 1.25, 2.5, 5.0 mM의 KH_2PO_4 를 각각 추가로 첨가하여 30일간 100 rpm 진탕배양기에서 배양하여 성장량과 사포닌 함량을 조사하였다. 그 결과 모상근의 생장은 2.5 mM KH_2PO_4 를 추가로 첨가한 처리구 (총 3.125

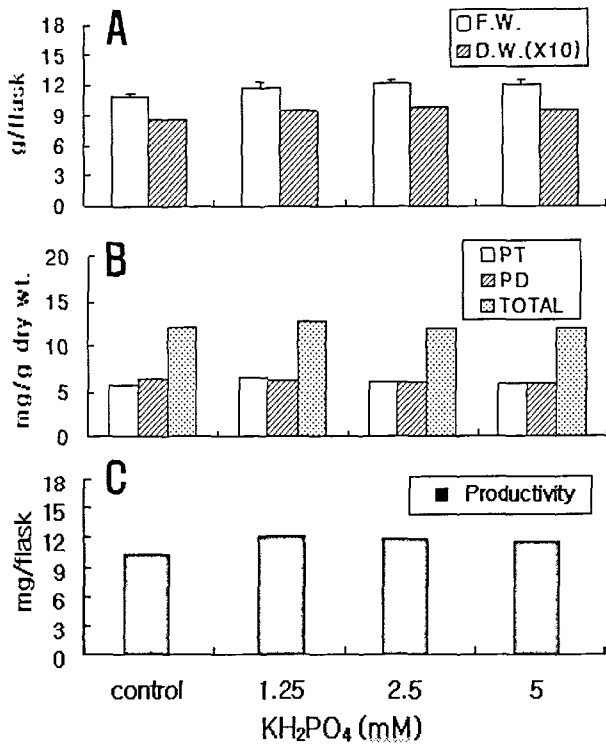


Fig. 1. The effect of KH_2PO_4 supplement on the growth (A), synthesis of ginsenosides (B) and productivity (C) in ginseng hairy root. Ginseng hairy roots was cultured during 30 days in the 100 ml flask.

mM KH_2PO_4)에서 12.16 g으로 가장 많은 생체량 증가를 보였다 (Fig. 1A). 각각의 처리구별 모상근을 수거하여 건조한 후 환류추출을 통하여 사포닌 분석을 실시한 결과, 1.25 mM KH_2PO_4 를 첨가한 처리구에서 12.73 mg으로 2.5 mM 처리구의 11.97 mg과 5 mM의 11.94 mg 보다 높았다 (Fig. 1B). 총 사포닌 (total ginsenosides)을 기준으로 생산성 (productivity)은 1.25 mM (총 1.875 mM KH_2PO_4) 처리구에서 다른 처리구에 비하여 6-10% 이상 높은 생산성을 보였다 (Fig. 1C).

식물세포 배양용 배지성분 중 칼륨이온은 세포내의 원형질 구조의 유지나 pH, 삼투압 조절 등에 관여하며, 인의 경우 DNA합성, 에너지 대사 중간체, 보효소, 지질 등 다양한 대사에 관여하고 있는데 식물조직배양 배지에서는 KH_2PO_4 같은 염의 형태로 공급하고 있다. 배지 성분 중 phosphate의 농도에 따라 식물의 생장과 이차 대사산물의 생합성에 미치는 영향은 각각 다르게 나타난다고 하였으며 (Choi *et al.*, 1990), 최근에는 인삼 천공의 부정근 배양에서도 KH_2PO_4 처리에 의해 ginsenosides 생산성이 증가된 보고가 있다 (In *et al.*, 2004).

2. 광조사 처리가 인삼 모상근의 생장과 ginsenoside 생합성에 미치는 효과

인삼 모상근에 생산성이 가장 우수한 1.25 mM KH_2PO_4 의

Table 1. The effect of light irradiation on the growth of ginseng hairy root in 1/2 MS medium supplemented with 1.25 mM KH_2PO_4 .

Culture condition	Fresh wt. g/flask	Dry wt. g/flask
Dark	6.960 ± 0.361 ^a	0.414 ± 0.039
Light	7.720 ± 0.577	0.475 ± 0.036
Control ^b	6.920 ± 0.367	0.388 ± 0.031

^a: Each values represented mean ± SE.

^b: No added 1.25 mM KH_2PO_4 and cultured in dark.

추가처리 (총 1.875 mM KH_2PO_4)와 병행하여 배양시 광조사 처리에 의한 변화를 조사하기 위해서 모상근 1g을 1/2 MS 40 ml 배지에서 접종하고 암실과 광조사 처리구로 나누어 30 일간 배양하였다. 그 결과 암실에서 배양한 처리구는 1.25 mM KH_2PO_4 를 첨가하지 않은 대조구와 생체량에 있어서는 큰 차이를 보이지 않았으나, 건조중량은 대조구와 비교하여 phosphate 첨가구에서 6% 이상 높게 나타났다. 광조사 처리구에서는 7.72 g으로 암실에서 배양한 처리구에 비하여 약 10% 이상 높은 생체량을 보였다 (Table 1).

3. 배양기간 중 KH_2PO_4 의 첨가시기에 따른 효과

식물세포배양을 통한 2차 대사산물의 대량생산은 초기 seed 배양단계와 생산단계로 나눌 수 있다. 이차대사산물의 생합성을 증진시키는 elicitor 들은 초기에 처리할 경우 세포의 성장을 억제하는 경향이 있다는 것이 보고된바 있다 (Park *et al.*, 2000; 오 등, 2000a, 2000b). 따라서 초기 배양단계를 지나 생산단계에서 elicitor 같은 유도물질을 처리하는 것이 효과적일 수 있다. 본 연구에서도 생산성이 높았던 1.25 mM KH_2PO_4 첨가의 최적 처리시점을 찾아내고자 배양시기별로 달리하여 첨가한 후 모상근의 생체량과 ginsenosides의 함량을 조사하였다. 그 결과 모상근의 생장은 접종과 동시에 1.25 mM KH_2PO_4 를 첨가한 처리구에서는 생장율이 대조군에 비해 생체량은 28%, 건조중량은 26% 각각 증가하였다. 그러나 ginsenosides 함량은 모상근 접종 후 7일에 처리한 구에서 대조군에 비하여 17% 이상 높게 검출되었다. 특이한 점은 ginsenosides 중 panaxatriol 계열은 17% 증가한 반면, panaxadiol은 3% 이상 감소하였다 (Table 2). 이러한 결과로 볼 때 인삼 모상근 배양에서 ginsenosides 생산성을 향상시키기 위해서는 어느 정도 생장을 시킨 후 KH_2PO_4 처리를 통한 2 단계 배양으로 ginsenosides 생산성을 향상시킬 수 있다고 사료되며, 금후 phosphate의 어떤 기작에 의하여 panaxatriol계 사포닌의 생합성이 촉진되는 지에 대한 연구가 요망된다.

식물에서 phosphate는 다양한 대사에 관여하고 있는데 식물 조직배양 배지에서는 KH_2PO_4 같은 염의 형태로 공급하고 있다. 포도세포의 캘러스 배양에서 phosphate 농도가 증가할수록

Table 2. Supplement effect of KH_2PO_4 on growth and saponin production in ginseng hairy root.

KH_2PO_4^a (1.25 mM) supplement	Growth		Ginsenoside content (mg/g · DW)		
	Fresh wt. g/flask	Dry wt. g/flask	Total ginsenosides	Panaxatriol	Panaxadiol
Control	9.92 ± 0.79 ^b	0.74 ± 0.05	11.48 ± 0.80	5.45 ± 0.32	6.03 ± 0.48
0 day	12.78 ± 1.08	0.94 ± 0.07	11.54 ± 0.57	5.52 ± 0.26	6.02 ± 0.31
7th day	11.15 ± 0.89	0.83 ± 0.08	12.27 ± 1.10	6.41 ± 0.61	5.86 ± 0.49
14th day	10.09 ± 0.70	0.75 ± 0.06	10.94 ± 0.76	5.00 ± 0.31	5.93 ± 0.45
21th day	9.98 ± 0.85	0.74 ± 0.06	10.97 ± 1.07	5.21 ± 0.55	5.75 ± 0.52

^a: 1.25 mM KH_2PO_4 supplemented at each treatment timing.

^b: Each values represneted mean ± SE.

생장은 증가하나 anthocyanin 생합성은 감소된다고 하였다 (Yamakawa *et al.*, 1983). 그러나 인삼 모상근의 경우 phosphate를 첨가할 경우 생장과 ginsenoside 생합성을 모두 증진시키는 결과를 나타내었다. 이러한 결과는 anthocyanin과 ginsenoside의 생합성 기작이 다르기 때문인 것으로 사료된다. 포도 현탁배양세포의 경우 anthocyanin의 축적은 대수증식기를 거쳐 정지기에 들어가면서 급격하게 액포에 축적이 되는데 반하여 (최 등, 1994), phosphate를 첨가하면 생장이 왕성하게 일어나면서 이차대사산물인 anthocyanin의 축적이 지연된다. 그러나 인삼 모상근의 경우 사포닌이 뿌리의 진피에 축적됨으로 생장량이 증가하면서 사포닌의 생합성도 동시에 증가할 가능성이 높은 것으로 사료된다.

3. 20 L bioreactor를 이용한 인삼 모상근의 배양

식물세포배양을 통하여 유용물질을 대량생산하기 위해서는 bioreactor를 이용한 배양법의 확립이 필수적이다. 모상근의 대량배양을 위해서 20 L bioreactor에 1.25 mM의 KH_2PO_4 를 첨가 (총 1.875 mM)한 1/2 MS 배지 15 L를 넣고 멸균처리한 후 50 g의 seed 모상근을 접종한 후 membrane filter를 이용하여 무균 공기를 주입하면서 5주간 배양을 실시하였다. 그 결과 phosphate 처리구가 생중량은 1,609 g으로 대조구에 비해 6% 이상 많은 생중량의 증가를 나타내었으며, 사포닌 함량도 11.09 mg으로 대조구에 비해서 11% 이상 높았다 (Table 3).

본 연구에서는 인삼 모상근의 세포배양을 통하여 유용 이차대사산물인 사포닌의 생산성 증진을 목적으로 배지성분 중 phosphate 공급원인 KH_2PO_4 를 추가로 첨가하여 모상근의 생장과 사포닌 생합성에 미치는 효과를 조사하였다. 그 결과 phosphate를 추가로 첨가하여 배양을 하면 인삼 모상근의 생장량 증가는 물론 ginsenosides의 생합성도 증가하는 결과를 얻었다. 식물에 elicitor를 처리하면 이차대사산물의 생합성이 증가하는데, 인삼 모상근 배양에서도 KH_2PO_4 를 추가로 첨가하여 배양할 경우에 이차대사 산물인 인삼 사포닌의 생산성을 증가시키는 유도인자로서 작용하고 있음을 알 수 있었다. 이

Table 3. The treatment effect of KH_2PO_4 supplement on growth and saponin production of ginseng hairy root in 20 L bioreactor.

Concentration of KH_2PO_4 (mM)	Fresh wt. (g/bioreactor)	Dry wt. (g/bioreactor)	Total ginsenosides (mg/g·DW)
Control	1,517 ± 125 ^a	126 ± 6.30	9.94 ± 0.91
1.25	1,609 ± 136	151 ± 9.06	11.05 ± 0.73

^a: Each values represneted mean ± SE.

러한 연구결과는 인삼 모상근을 이용하여 특정 유용 생리활성 성분의 대량생산을 위한 기초자료로서 유용할 것으로 사료된다.

적 요

인삼 모상근의 생장과 ginsenosides의 생합성에 미치는 KH_2PO_4 의 영향을 조사하고자 1/2 MS 기본배지를 대조구로 하고 1.25, 2.5, 5.0 mM의 KH_2PO_4 를 처리하였다. 그 결과 생산성은 1.25 mM의 KH_2PO_4 를 첨가한 처리구에서 가장 높았다. 광조사 효과를 조사하기 위해 암실과 광조사 처리구로 나누어 30일간 배양한 결과 광조사 처리는 7.72 g으로 대조구인 암배양 처리구에 비하여 10% 이상 높은 생장을 보였다. KH_2PO_4 의 최적 처리 시점을 찾아내고자 첨가시점을 달리하여 인삼 모상근의 생장과 ginsenosides 함량을 조사하였다. 그 결과 모상근의 생장은 모상근 접종과 동시에 처리한 구에서 생장율이 대조군에 비해 생중량은 28%, 건중량은 26% 증가하였다. 그러나 ginsenoside 함량은 모상근 접종 후 7일에 처리한 구에서 ginsenoside의 함량이 대조군에 비하여 17% 이상 높게 검출되었다. 20 L bioreactor를 이용하여 인삼 모상근을 배양한 결과 1.25 mM의 KH_2PO_4 를 첨가한 phosphate 처리구가 생중량은 1,609 g으로 대조구에 비해 6% 이상 많이 생장하였으며, ginsenoside 함량은 11.09 mg으로 대조구에 비해서 11% 이상 향상되었다.

사 사

본 연구는 한국과학재단 특정기초연구 (2006-124호) 지원으로 수행된 연구결과로 연구비 지원에 감사드립니다.

LITERATURE CITED

- Ando T, Tanaka O, Shibata S** (1971) Chemical studies on the oriental plant drugs. Comparative studies on the saponins and sapogenins of ginseng and related crude drugs. *Soyyakugaku Zasshi* 25:28-32.
- Aoki M, Horiguchi I, Itho C, Yang G, Harada T, Yakuwa T** (1992) Development of an aseptic plant tissue culture vessel system enabling ventilation air composition control and addition of nutrient solutions. *J. Agri. Met.* 48:29-37.
- Arya S, Liu JR, Eriksson T** (1991) Plant regeneration from protoplasts of *Panax ginseng* (C. A. Meyer) through somatic embryogenesis. *Plant Cell Rep.* 10:277-281.
- Butenko RG, Grushvitsky RV, Stepyan LI** (1968) Organogenesis and embryogenesis in a tissue culture (*Panax ginseng*) and other *Panax* Species. *Bot. Zh.* 53:906-911.
- Chang WC, Hsing TI** (1978) Callus induction, growth and rhizogenesis from root of *Panax ginseng* on a defined medium. *Nat. Sci. Coun.* 6:770-772.
- Chilton MD, Drummond MH, Merlo DJ, Nester EW** (1978) Highly conserved DNA of Ti-plasmids overlaps T-DNA maintained in plant tumors. *Nature* 275:147-149.
- Choi KT, Park JC, Ahn IO** (1990) Saponin production in tissue culture of ginseng. *Kor. J. Ginseng Sci.* 14:107-111.
- Harn WJ, Vasil IK** (1983) Somatic embryogenesis in sugar cane (*Saccharum officinarum*): Growth and plant regeneration from embryogenic cell suspension culture. *Ann. Bot.* 51:719-726.
- In JG, Lee BS, Song WS, Yang DC** (2004) Ginsenosides production through *in vitro* culture of adventitious roots induced from *Panax ginseng* "Chungpoong". *Kor. J. Plant Res.* 17:7-13.
- Jung G, Tepfer D** (1987) Use of genetic transformation by the Ri T-DNA of *Agrobacterium rhizogenes* to stimulate bio-mass and tropane alkaloid production in *Atropa belladonna* and *Calystegia Sepium* roots grown *in vitro*. *Plant Sci.* 50:145-151.
- Jung HY, Kang SM, Kang YM, Kim YD, Yang JK, Chung YG, Choi MS** (2003) Selection of optimal biotic elicitor on tropane alkaloid production of hairy root in *Scopolia parviflora* Nakai. *Kor. J. Med. Crop Sci.* 11(5):358-363.
- Kuribayashi T, Okura M, Ohashi H** (1971) Effects of light intensity and soil pH on growth (in Japanese). *Soyyakugaku Zasshi.* 25:110-116.
- Lee SW, Cha SW, Hyun DY, Kim YC, Kang SW, Seong NS** (2006) Effect of furrow directions on growth and yield in *Panax ginseng* C. A. Meyer. *Kor. J. Med. Crop Sci.* 14:221-224.
- Mizukami H, Tabira Y, Ellis BE** (1993) Methyl jasmonate-induced rosmarinic acid biosynthesis in *Lithospermum erythrorhizon* cell suspension cultures. *Plant Cell Rep.* 12:706-709.
- Murashige T, Skoog F** (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue. *Physiol. Plant.* 15:473-497.
- Park HJ, Oh SY, Choi KH, Meang SJ, Yoon ES, Yang DC** (2000) Effect of jasmonic and methyl jasmonate on the production of ginsenosides in the hairy roots of Korean ginseng (*Panax ginseng* C.A. Meyer). *J. Ginseng Res.* 24:74-78.
- Staswick PE** (1992) Jasmonate, genes, and fragrant signals. *Plant Physiol.* 99:804-807.
- Vasil V, Vasil IK** (1981) Somatic embryogenesis and plant regeneration from suspended cultures of Pearl millet. *Ann. Bot.* 47:669-678.
- Yang DC, Kim YH, Yang DC, Min BH, Shin SL, Choi KT** (1998) Selection of active grow hairy root lines in ginseng. *Kor. Soc. of Plant Tiss. Cult.* 25:525-530.
- Yoo BS., Byun SY** (2001) Characterization of batch culture and effect of various elicitors on ginsenoside production in suspension cultures of *Panax ginseng* C.A. Meyer. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* 16:620-625.
- Yamakawa T, Onomichi K, Kodama T, Minoda Y** (1983) Production of anthocyanins by *Vitis* cells in suspension culture. *Agric. Biol. Chem.* 47:2185-2191.
- Yoshikawa T, Furuya T** (1987) Saponin production by cultures of *Panax ginseng* transformed with *Agrobacterium rhizogenes*. *Plant Cell Rep.* 6:449-453.
- 남기열** (1996) 최신고려인삼-성분 및 효능편. 한국인삼연초연구원, 천일인쇄사, 대전. p. 13-43.
- 오승용, 박효진, 민병훈, 양계진, 양덕춘** (2000a) 인삼 모상근의 생장에 미치는 auxin과 casein hydrolysate의 영향. *고려인삼학회지* 24:123-127.
- 오승용, 박효진, 최경화, 양계진, 양덕춘** (2000b) Chitin과 chitosan 처리에 의한 인삼 모상근으로부터 ginsenoside 생산. *고려인삼학회지* 24:68-73.
- 최관삼, 인준교, 이영복** (1994) 포도와 미국자리공 세포현탁배양계 안토시아닌과 베타시아닌에 미치는 광의 효과. *식물조직배양학회지* 21:47-53.