

참돌꽃 (*Rhodiola sachalinensis* A. Bor) 캘러스에서 elicitor와 전구체에 의한 Salidroside 생산성의 변화

이재승* · 김민영** · 김재현*** · 남종현**** · 이현용***** · 황 백*****†

*순천대학교 교육대학원 생물교육학과, **전남농업기술원, ***국립산림과학원, ****(주)그래미, *****강원대학교 BT특성화학부대학, *****전남대학교 생물학과

Production of Salidroside in *Rhodiola sachalinensis* A. Bor Callus by the Elicitation and Precursor

Jae Seung Lee*, Min Young Kim**, Jae Heun Kim***, Jong Hyun Nam****, Hyeon Young Lee*****, and Baik Hwang*****†

*Department Education of Biology, Suncheon University Graduate School Of Education, Suncheon 540-742, Korea.

**Jeollanamdo Agricultural Research and Extension Services, Naju 520-715, Korea.

***Korea Forest Research Institute, Seoul 130-712, Korea.

****Glami Co., LTD, Cheorwon 269-800, Korea.

*****College of Bioscience & Biotechnology, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea.

*****Department of Biology, Chonnam National University, Gwangju 500-757, Korea.

ABSTRACT : The effect of elicitor and precursor on salidroside production from *Rhodiola sachalinensis* A. Bor callus cultures was investigated. Callus cultures were treated with yeast extract, soft-ferrite ceramics powder, methyl jasmonate, ascorbic acid, jasmonic acid and CuCl₂/CdCl₂ as an elicitor. When callus cultures were treated with 0.2 g/l of yeast extract, salidroside production from callus treated with yeast extract is 3.45 times higher than that of the controlled group. Among of them, callus cultures treated with yeast extract produced the highest salidroside. Callus cultures were treated with L-phenylalanine and L-tyrosine as a precursor for 4 days. The result of salidroside content analysis showed that all feeding of precursors not affected salidroside production from callus cultures. In case of L-tyrosine fed into callus cultures, both callus growth and salidroside production decreased at all concentrations.

Key Words : Salidroside, Callus Culture, Precursor, Elicitor, *Rhodiola sachalinensis*

서 언

들나무과의 들꽃속에 속하는 참돌꽃 (*Rhodiola sachalinensis* A. Bor)은 고산지대에서 자라는 다년생 초본 식물로서 홍경천 이라 불리우고 있으며 주야간 온도차가 크고, 저온, 건조, 광풍, 강자외선과 같은 고산지대의 혹독한 환경에서 석회암이나 화강암 등의 암석 사이에서 서식하는 것으로 알려져 있다 (Jiang *et al.*, 1994). 주요 약리 성분으로 salidroside와 p-tyrosol 등을 함유하고 있으며 (Fig. 1), salidroside는 무산소증, 극초단파방사성 및 피로환자의 치료효과와 (Ming, 1986; Furmanova *et al.*, 1998) 중추 신경의 억제작용, 강심작용, 아드레날린 분비 촉진으로 인한 혈당조절 작용을 하는 것으로 알려져 있다 (Lee *et al.*, 2000; Zong *et al.*, 1991).

일반적으로 재배한 뿌리의 참돌꽃의 salidroside 함량은 자연산 (5-10 mg/g)에 비교하여 낮으며 근부병 등의 생리적 장애로 매우 재배생산이 어려운 것으로 보고되어 있다 (Meng *et al.*, 1994). 이의 대안으로 세포배양을 통한 salidroside의 생산과 유기합성을 통한 시도가 있었으며, 유기합성과 세포배양을 통한 생산 가능성이 확인된 바 있다 (Xu *et al.*, 1998a, 1998b). 식물에서 2차대사산물은 영양의 고갈이나 환경의 변화 또는 미생물의 의한 오염과 같은 stress를 받을 때 축적되기 시작하는 경향이 있는데 식물세포 및 조직배양에서 배양체에 다양한 elicitor에 의해서 stress를 가하여 이차대사산물의 생성을 촉진시키는 것을 광범위한 의미에서 elicitation이라 한다. Elicitor는 크게 abiotic elicitor와 biotic elicitor로 분류된다. Abiotic elicitor에는 중금속, 고농도염, UV광, ethylene등

†Corresponding author: (Phone) +82-62-530-3392 (E-mail) bhwang@chonnam.ac.kr
Received May 22, 2008 / Revised July 7, 2008 / Accepted July 16, 2008

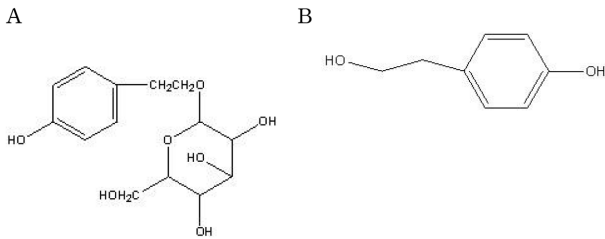


Fig. 1. Molecular structure of salidroside (A) and tyrosol (B).

이 있으며, biotic elicitor로는 미생물 추출물, 식물 및 미생물 유래 효소 및 내생 신호유도물질 등이 있다 (Pitta-Alvarez *et al.*, 2000). 식물에 미생물이 침입 (감염)하게 되면, 정상적인 식물은 이를 방어하기 위해 2차 대사산물을 급격히 증가시키거나, lignification 등 여러 가지 방어기작을 일으킨다. 식물이 상처를 받으면 상처를 받은 부위는 물론 그 주변 부위에서도 단백질 분해효소 저해제 등과 같은 여러 방어물질의 생합성이 이루어진다. 이러한 일련의 반응들이 통도조직을 통해 신호체가 다른 부위로 전달되어야 하는데 이와 같은 신호전달자극물질로는 methyl jasmonate (MeJA)와 jasmonic acid (JA)가 있다 (Park *et al.*, 2000). Elicitor와 전구체를 이용하여 식물 조직 및 세포 배양에서 유용성분을 증가시키는 연구가 활발하게 진행되고 있다. 최근에는 병풀 (*Centella asiatica*), 인삼 (*Panax ginseng*) 및 시호 (*Bupleurum falcatum*) 등으로부터 elicitor와 전구체를 이용하여 목표 유용물질 생산하는데 매우 유용한 도구로 이용되어 왔다 (Kim *et al.*, 2004a; Lu *et al.*, 2001; Aoyagi *et al.*, 2001).

따라서 본 연구에서 참돌꽃의 주요 생리활성 물질인 salidroside를 생물 공학적인 방법으로 생산성 증대를 위해 elicitor와 전구체를 처리하여 참돌꽃의 캘러스 배양을 통해 salidroside 함량 및 생산성의 변화를 규명하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험 재료

참돌꽃 (*R. sachalinensis*) callus는 Kim 등 (2004b)이 보고한 세포주를 사용하였고, Choi 등 (2005)이 외재호르몬으로 1 mg/l NAA와 5 mg/l BA가 첨가된 2 × B5액체배지 (Gamborg *et al.*, 1968)에서 배양온도를 25°C하여 암상태에서 100 rpm의 회전식 진탕배양 조건하에서 배양하였다.

2. Elicitor와 precursor의 제조 및 처리

Salidroside 생산에 대한 식물 성장 조절제 1 mg/l NAA와 5 mg/l BA의 호르몬 조성을 갖는 새로운 2 × B5배지에 이식하여 2주간 전배양한 다음 callus를 20 μm pore size의 sieve에 수확하고 무균 증류수에 3회 세척 후 충분히 수분을 제거한

다. 수분을 제거한 callus는 무균대 내에서 0.5 g (F.W)씩 정량하고 이식하여 24일간 배양하였다. Elicitor로서 yeast extract (YE)는 0, 0.1, 0.2, 0.4 및 0.8 g/l 농도로, methyl jasmonate (MeJA)는 0.01, 0.1, 1 및 3 mM 농도로, jasmonic acid (JA)는 0.01, 0.1, 0.5 및 1 mM 농도로 24일의 배양 기간 중 수확 4일전에 처리하였다. 연자성 세라믹 분말 (SCP, Soft-ferrite Ceramic Powder) 0.01, 0.02, 0.04 및 0.08 g/l 농도로, ascorbic acid는 0.01, 0.1, 0.5 및 1 mM 농도로, 중금속인 CuCl₂와 CdCl₂은 각각 0.2, 1, 5 및 10 mM 농도로 처리하였다. 전구체로 L-phenylalanine과 L-tyrosine을 0.05, 0.1, 0.5 및 1 mM 농도로 처리하였으며 24일 배양 기간 중 수확 4일전에 처리하였다.

3. Salidroside 분석

Salidroside의 함량은 배양된 참돌꽃 callus를 건조한 시료 0.2 g을 실온에서 MeOH 10 ml 씩 3회 반복 추출한 다음 여과지 (Whatman No. 2)로 여과하여 여과액을 합하고 Rotary vacuum evaporator (EYELA, Tokyo, Japan)로 농축시켰다. 농축된 시료는 MeOH 3 ml로 재용해시켜 HPLC 분석에 사용하였다. HPLC (Water Co., U.S.A)의 분석에 있어서 컬럼은 μ-Bondapak C₁₈ (300 × 3.9 mm I.D., 10 μm)을, 이동상으로는 20% MeOH (v/v)을 사용하였다. 시료 10 μl는 주입하였으며, 용매의 전개 속도는 1 ml/min로 하고 흡광도는 214 nm UV하에서 측정하였다.

결과 및 고찰

참돌꽃 callus 배양에서 salidroside 생산에 MeJA와 JA가 미치는 영향을 조사하였다. 참돌꽃 callus를 1 mg/l NAA와 5 mg/l BA의 식물 성장 조절제가 첨가된 2B5 액체배지에 20일간 배양을 하고 다양한 농도의 MeJA를 4일간 처리한 결과 MeJA를 0.01, 0.1, 1 및 3 mM 농도로 4일간 처리하였을 때 MeJA의 농도가 증가할수록 생장이 억제되었으나 salidroside의 생산은 점점 증가시키는 것으로 나타났다. 이 결과는 담배 잎에 MeJA 처리시 노화의 증거로 엽록소 함량 감소를 유도하는 결과를 보였고 (Weidhase *et al.*, 1987), 또한 식물스테롤 함량이 감소하는 결과를 보고한바 있어 (Kim *et al.*, 2005) 참돌꽃의 callus 배양시 성장에도 MeJA가 저해하는 것으로 판단된다. MeJA 0.1 mM 농도에서 건중량은 16.76 ± 0.52 g/l, salidroside의 생산량은 616.95 ± 120.81 mg/l 대조구에 비해 두배의 증가를 보였다 (Fig. 2). MeJA가 이차대사산물을 증가시키는 이와 유사한 결과는 조개나물 모상근과 백화사실초의 현탁세포배양에 있어서도 확인한 바 있다 (Lee, 2004). JA는 또한 식물의 성장과 뿌리의 발달에 있어 일종의 성장조절제로서의 기능을 가지며 방어 유전자를 자극하는 것

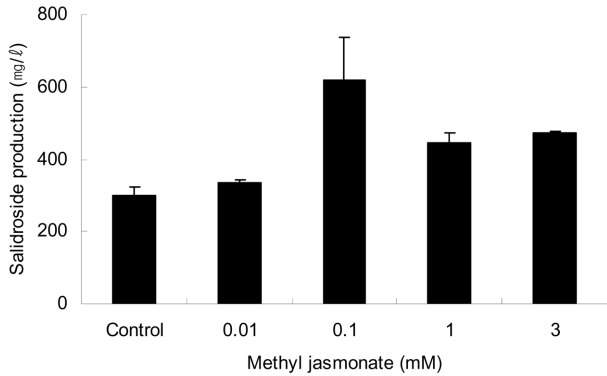


Fig. 2. Effect of methyl jasmonate on salidroside production from *R. sachalinensis* callus after 4 days of elicitation.

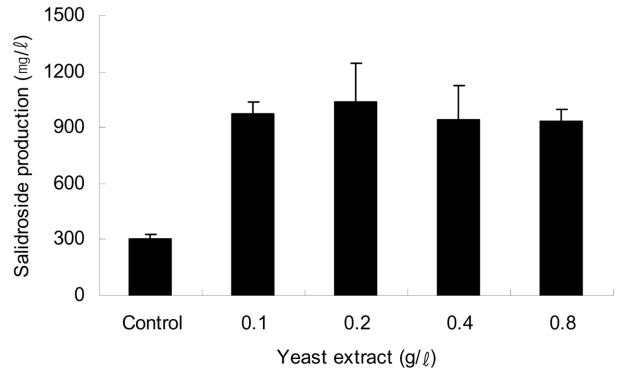


Fig. 4. Effect of yeast extract on salidroside production from *R. sachalinensis* callus after 4 days of elicitation.

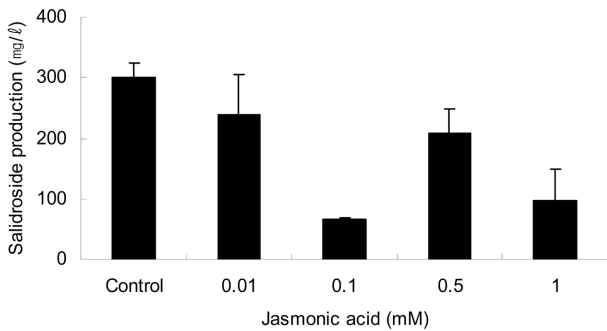


Fig. 3. Effect of jasmonic acid on salidroside production from *R. sachalinensis* callus after 4 days of elicitation.

으로 알려져 있다 (Farmer, 1994). 따라서, JA를 처리하여 인삼 부정근에서 ginsenoside의 함량을 높이는 연구가 이루어진 바 있으며, 회수나무의 현탁세포배양등 에서도 이차대사물질의 합성증가 효과를 얻은 바 있다 (Chio & Byun, 2000; Park *et al.*, 2000). 그러나 JA는 0.01, 0.1, 0.5 및 1 mM 농도로 처리한 결과 대체적으로 salidroside 생산 및 건조량은 대조구에 비해 낮게 나타나 참돌꽃 켈러스로부터 salidroside를 생산하기 위해서는 적절한 elicitor가 아닌 것으로 판단 되었다 (Fig. 3).

YE 농도가 참돌꽃 callus의 성장 및 salidroside의 함량에 어떤 영향을 주는지 조사하고자 0, 0.1, 0.2, 0.4 및 0.8 g/l 농도로 처리하였다. 그 결과 대조구에 비해 YE 농도가 0.2 g/l

으로 처리시 salidroside의 함량이 $1039.41 \pm 208.17 \text{ mg/l}$ 으로 무첨가구에 비해 3.45배 증가함을 알 수 있었다 (Fig. 4).

Ascorbic acid는 과산화 물질을 제거해 주며, 지질의 산화, 색소의 분해 그리고, 효소의 비활성화를 억제화한다 (Shigeoka *et al.*, 2002). 따라서, 참돌꽃 callus 액체배지에서 저조하게 나타나는 salidroside 함량에 어떤 변화를 일으키는지 ascorbic acid의 농도를 0.01, 0.1, 0.5 및 1 mM 농도로 처리한 결과, ascorbic acid의 농도가 0.5 mM일때 salidroside 생산량이 $975.80 \pm 44.13 \text{ mg/l}$ 으로 대조구에 비해 약 3.24배 이상 증가를 가져왔다 (Table 1). 또한, 0.05 g/l SCP 처리시 무첨가구에 비해 salidroside 함량이 $610.96 \pm 47.10 \text{ mg/l}$ 으로 대조구에 비해 2.02배로 증가함이 나타났다 (Table 2). 한편, Ahn 등 (1998)은 SCP가 고체배지에서 병풀의 세포 성장 그리고 유식물체 성장에 어떤 영향을 주지 않는다고 보고 한 바 있다.

Shimomura 등 (1998)은 Belladonna를 형질전환 시킨 모상근에 세포내 침투효과 있는 중금속 $\text{Cu}^{2+}/\text{Cd}^{2+}$ 을 배지에 첨가하여 배지로 hysocyanine의 배출을 유도한 바 있다. 따라서, 중금속이 salidroside 생산에 영향을 미치는가를 조사하기 위해 CuCl_2 와 CdCl_2 를 각각 0.2, 1, 5 및 10 mM 농도로 처리한 결과 대체적으로 농도가 높아질수록 건조량 및 salidroside의 함량이 감소하는 경향을 보였다. 하지만 0.2 mM CuCl_2 및 CdCl_2 처리시 대조구에 비교하여 각각 1.07, 2.15배로 참돌꽃 callus의 salidroside 함량이 증가하는 것으로 나타났다 (Table 3). CdCl_2

Table 1. Effect of ascorbic acid on the growth and salidroside production from *R. sachalinensis* callus after 4 days of elicitation.

Ascorbic acid (mM)	Biomass		Salidroside production (mg/l)
	Fresh weight (g/l)	Dry weight (g/l)	
0.00	443.66 ± 16.18	16.87 ± 0.65	301.06 ± 23.04
0.01	425.35 ± 9.02	16.98 ± 0.19	876.75 ± 81.94
0.1	375.40 ± 8.96	15.31 ± 0.29	721.49 ± 73.97
0.5	400.71 ± 8.05	16.89 ± 0.29	975.80 ± 44.13
1	455.54 ± 10.36	17.14 ± 0.54	883.62 ± 81.58

Elicitor 처리에 의한 참돌꽃 캘러스로부터 salidroside 생산

Table 2. Effect of soft-ferrite ceramic powders on the growth and salidroside production from *R. sachalinensis* callus after 4 days of elicitation.

Soft-ferrite ceramic powders (g/l)	Biomass		Salidroside production (mg/l)
	Fresh weight (g/l)	Dry weight (g/l)	
0.00	443.66±16.18	16.87±0.65	301.06±23.04
0.01	416.13±13.38	16.53±0.63	473.33±39.27
0.1	338.61± 8.56	14.76±0.27	460.12±57.92
0.5	411.69± 3.86	15.76±0.35	610.96±47.10
1	501.49± 8.28	18.31±0.40	420.46±34.46

Table 3. Effect of heavy metals on the growth and salidroside production from *R. sachalinensis* callus after 4 days of elicitation.

Heavy metals	Concentration (mM)	Biomass		Salidroside production (mg/l)
		Fresh weight (g/l)	Dry weight (g/l)	
CuCl ₂	0.00	443.66±16.18	16.87±0.65	301.06±23.04
	0.02	348.31± 5.51	15.42±0.25	323.08±57.21
	1	191.58± 8.64	10.32±0.50	264.10±55.85
	5	188.36±14.22	9.54±0.63	39.12±22.58
	10	159.17±10.71	10.43±0.50	0.01± 0.00
CdCl ₂	0.02	467.86± 8.38	18.09±0.23	647.07±29.62
	1	224.10± 9.30	10.76±0.06	490.77±99.29
	5	205.23± 3.73	10.98±0.29	274.31±81.39
	10	178.26± 4.00	9.43±0.46	142.83±47.52

Table 4. Effect of precursors on the growth and salidroside production from *R. sachalinensis* callus after 4 days of elicitation.

Precursors	Concentration (mM)	Biomass		Salidroside production (mg/l)
		Fresh weight (g/l)	Dry weight (g/l)	
L-phenylalanine	0.00	443.66±16.18	16.87±0.65	301.06±23.04
	0.01	506.16±23.37	18.64±0.72	22.29± 3.70
	0.1	435.45± 8.11	16.65±0.11	171.52± 5.53
	0.5	497.94± 6.12	19.09±0.64	43.01± 5.28
	1	478.41±12.75	19.31±0.04	309.13± 5.54
L-tyrosine	0.05	543.56± 5.89	21.20±0.06	174.30± 4.81
	0.1	506.82± 6.76	20.20±0.23	110.35±29.26
	0.5	531.91± 6.58	20.53±0.33	205.48±12.55
	1	464.97±13.02	17.53±0.23	270.47±10.97

의 경우 1 mM 이상에서 salidroside의 함량이 감소하는 경향을 보여 고농도의 CdCl₂는 합성을 저해하는 것으로 나타났다.

Table 4에서 보여주듯이 전구체 물질인 L-phenylalanine과 L-tyrosine의 처리에 의해 salidroside의 생산성은 감소하였으나 L-phenylalanine 1 mM 농도에서 건중량이 대조구에 비해 처리구에서는 1.13배 증가하였다. 또한, salidroside의 생산량은 대조구에 비해 1 mM 처리구에서 1.02배로 증가를 나타내었고 L-tyrosine 0.05 mM 농도에서 건중량이 대조구에 비해 처리구(20.535 ± 0.33 g/l)에서는 1.21배로 증가하였고, salidroside의 생산량은 모든 처리구에서 감소하는 것으로 나타났다. Ju 등 (1993)은 캘리포니아 양귀비 현탁세포배양에서 dopamine과 tyramine의 전구체 처리가 alkaloid의 생성을 증가시킴을 확인

한 바 있다. 이와 같이 식물세포배양 시 전구체 feeding에 의해 대사산물의 합성량을 증가시키기도 하지만, 이와 반대로 몇몇 다른 연구에서는 오히려 감소하거나 표적물질의 생산성 증가에 별다른 영향을 미치지 않은 것으로 나타났다.

참돌꽃 callus로부터 salidroside 생산을 위한 elicitor 및 전구체의 영향을 조사한 결과 MeJA, YE, ascorbic acid, SCP 및 CdCl₂는 효과적으로 salidroside의 생합성을 증가하는 것으로 나타났으며 특히 YE를 처리했을 때 가장 높은 생산을 나타내 가장 적합한 elicitor로 조사되었다. 반면, salidroside 전구체 feeding 실험에서는 salidroside 생합성의 뚜렷한 상승 효과를 보이지 않았지만, 전구체 처리기간을 조절과 적절한 처리 시점 등의 다각적인 실험이 더 요구되어진다.

적 요

참돌꽃 켈러스로부터 elicitor와 전구체가 salidroside 생산에 미치는 영향을 조사하였다. Elicitor로서 효모추출물, 연자성 세라믹, methyl jasmonate, jasmonic acid, ascorbic acid, 및 중금속 (CuCl₂/CdCl₂)을 켈러스 배양에 처리하였다. 효모추출물 0.2 g/l 농도로 처리한 결과 처리하지 않은 대조구에 보다 3.45배 증가시켰다. 사용된 elicitor 중 효모추출물이 가장 높은 salidroside 생산을 보여 가장 적합한 elicitor로 사료된다. 전구체로서 L-phenylalanine과 L-tyrosine을 배지에 첨가하여 4일간 배양 처리하였다. Salidroside 함량분석 결과 켈러스로부터 전구체들은 유용물질 생합성에 영향을 주지는 않았다. 켈러스 배양에 첨가 처리된 L-tyrosine의 모든 농도의 경우에는 켈러스 생장뿐만 아니라 salidroside 생산을 감소시켰다.

사 사

본 연구는 농촌진흥청 농업특정연구과제 연구비 지원에 의하여 이루어졌으며 이에 감사를 포함합니다.

LITERATURE CITED

- Ahn JC, Kim CY, Park CY, Hwang B (1998) Stimulation effect of a soft ferrite ceramic powder on growth in plant cell and tissue culture. Korean J. Biotechnol. 13:530-534.
- Aoyagi H, Kobayashi Y, Yamada K, Yokoyama K, Kusakari K, Tanaka H (2001) Efficient production of saikosaponins in *Bupleurum falcatum* root fragments combined with signal transducers. Appl. Microbiol. Biotechnol. 57:482-488.
- Choi H, Byun SY (2000) Enhanced production of anticancer agent camptothecin by double elicitors in suspension culture of *Camptotheca acuminata*. Korean J. Bioeng. 15:428-433.
- Choi HJ, Kim SJ, Hwang B, Ahn JC (2005) Optimization of treatment concentration and screening of exogenous plant growth regulators for improvement of salidroside yield in *Rhodiola sachalinensis* A. Bor cell suspension cultures. Korean J. Plant Biotechnol. 32:105-109.
- Farmer EE (1994) Fatty acid signalling in plants and their associated microorganisms. Plant Mol. Biol. 26:1423-37
- Furmanova M, Skopinska-Rozewska E, Rogala E, Hartwich M (1998) *Rhodiola rosea* in vitro culture-phytochemical analysis and antioxidant action. Acta Soc. Bot. Poloniae 67:69-73.
- Gamborg OL, Miller RA, Ojima K (1968) Nutrient requirement of suspension culture of soybean root cells. Exp. Cell Res. 50:195-202.
- Jiang M, Zhong W, Han H (1994) Studies on producing effective medicinal ingredients of *Rhodiola sachalinensis* by tissue culture. Chin. J. Shen. Univ. 25:355-359.
- Ju YW, Kim C, Byun SY (1993) Precursor feeding effects of alkaloid production in suspension cultures of *Eschscholzia californica*. Korean J. of Biotechnol. Bioeng. 8:488-494.
- Kim OT, Kim MY, Hong MH, Ahn JC, Hwang B (2004a) Stimulation of asiaticoside production from *Centella asiatica* whole plant cultures by elicitors. Plant Cell Rep. 23:339-344.
- Kim OT, Kim MY, Hwang SJ, Ahn JC, Hwang B (2005) Cloning and molecular analysis of cDNA encoding cycloartenol synthase from *Centella asiatica* (L.) Urban. Biotechnol. Biopro. Eng. 10:16-22.
- Kim SJ, Kim KS, Hwang SJ, Chon Su, Kim YH, Ahn JC, Hwang B (2004b) Identification of salidroside from *Rhodiola sachalinensis* A. Bor and its production through cell suspension culture. Korean J. Medicinal Crop Sci. 12:203-208.
- Lee MW, Lee YH, Park HM, Tosh SH, Lee EJ, Jang HD, Kim YH (2000) Antioxidant phenolic compounds from the roots of *Rhodiola sachalinensis* A. Bor. Arch. Pharm. Res. 23:455-458.
- Lee YI, Kim DI (2004) Enhanced production of oleanolic acid by the elicitation in *Oldenlandia diffusa* suspension cell cultures. Korean J. Biotechnol, Bioeng. 19:471-477.
- Lu MB, Wong HL, Teng WL (2001) Effects of elicitation on the production of saponin in cell culture of *Panax ginseng*. Plant Cell Rep. 20:674-677.
- Meng Q, Jian M, Zhong W (1994) Controlling the root-rot disease of *Rhodiola sachalinensis* A. Bor with peptides. Chin. J. Shen. Univ. 25:264-267.
- Ming HQ (1986) The synthesis of salidroside and its pharmacological properties. Chin. J. Pharm. Bull. 21:373-375.
- Park HJ, Oh SY, Choi KH, Meang SJ, Yoon ES, Yang DC (2000) Effects of jasmonic acid and methyl jasmonate on the production of ginsenoside in the hairy roots Korean ginseng (*Panax ginseng* C.A meyer). J. Ginseng Res. 24:74-78.
- Pitta-Alvarez SI, Spollansky TC, Giulietti AM (2000) The influence of different biotic and abiotic elicitors on the production and profile of tropane alkaloids in hairy root cultures of *Brugmansia candida*. Enzyme Microbial Technol. 26:252-258.
- Shigeoka S, Ishikawa T, Tamoi M, Miyagawa Y, Takeda T, Yabuta Y, Yoshimura K (2002) Regulation and function of ascorbate peroxidase isoenzymes. J. Exp. Bot. 53:1305-1319.
- Shimomura K, Sauerwein M, Toshimatsu K (1992) Further approaches in the production of secondary metabolites by plant tissue cultures. Plant Tissue Cult. Lett. 9:1-9.
- Weidhase RA, Lehmann J, Kramell H, Sembder G, Parthier B (1987) Degradation of ribulose-1,5-biphosphate carboxylase and chlorophyll in senescing barley leaf segments triggered by jasmonic acid methyl ester and counteraction by cytokinin. Physiol. Plant 69:161-166.
- Xu J, Su ZG, Feng PS (1998a) Activity of tyrosol glucosyltransferase and improved salidroside production through biotransformation of tyrosol in *Rhodiola sachalinensis* cell cultures. J. Biotechnol. 61:69-73.
- Xu JF, Liu CB, Han AM, Feng PS, Su ZG (1998b) Strategies for the improvement of salideroside production in cell suspension cultures of *Rhodila sachalinensis*. Plant Cell Rep. 17:288-293.
- Zong Y, Lowell K, Ping JA, Che CT, Pezzuto JM, Fong HH (1991) Phenolic constituents of *Rhodiola coccinea*, a Tibetan Folk Medicine. Plant Med. 57:589.