韓資植誌 22(5) : 454~460(2009)
Korean J. Plant Res.

여우구슬(*Phyllanthus urinaria*)의 부정근 유도 및 기내증식조건

배기화[1,2], 윤필용[1], 최용의[2]*

[1]제주하이테크산업진흥원 제주생물종다양성연구소, [2]강원대학교 산림자원학부

Induction and *in vitro* Proliferation of Adventitious Roots in *Phyllanthus urinaria*

Kee Hwa Bae[1,2], Pil Yong Yun[1] and Yong Eui Choi[2]*

[1]Jeju Biodiversity Research Institute Jeju Hi-Tech Industry Development Institute, Seogwipo 697-943, Korea
[2]Division of forest resources, college of forest and environmental sciences, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea

Abstract - *Phyllanthus urinaria* was an important species in Korea and distributed in all around of Korea. The roots and stems of this plant have been used for natural medicine for the treatment of diabetes, the hepatitis B virus and disturbances of the kidney and urinary bladder. Production of adventitious roots in *P. urinaria* by *in vitro* cultures could be used as alternatives materials. Shoot and root segments from *P. urinaria* seedling were cultured on Murashige and Skoog (MS) medium supplemented with 3.0 mg/L IBA and 30 g/L sucrose. After 4 weeks of culture, the highest induction of adventitious roots was obtained from the shoot part. Frequency of adventitious root formation on medium with various kinds of auxins (IAA, NAA, 2,4-D, and IBA) and various concentrations of IBA (0, 0.1, 0.5, 1.0, 3.0, and 5.0 mg/L) was tested. The maximun induction of adventitious root was obtained on medium with 0.5 mg/L IBA. In liquid culture, growth of root was best on medium supplemented with 30 g/L sucrose. Adventitious roots were cultured in 5 L bioreactor containing 1/2 MS medium supplemented with 0.5 mg/L IBA and 30 g/L sucrose and mass-production of adventitious roots was successfully achieved. These results revealed the first attempt for the production of adventitious roots in *P. urinaria*.

Key words - bioreactor, IBA (indole-3-butyric acid), *P. urinaria*

서 언

B형 간염 바이러스(HBV)는 인체에 특이적으로 감염되는 Hepadnaviridae 계통의 바이러스로서, 잠복기는 60 내지 110일 정도이며 임상기를 거쳐 90~95%는 감염으로부터 완전히 회복된다. 감염에서 회복되지 않은 경우에는 HBV DNA가 사람 간세포의 게놈 DNA에 동화되어 만성 활동성간염, 간경변, 간암으로 발전하게 된다. HBV에 의한 만성간염은 만성 바이러스 감염증, 임파종 질환 및 만성신장장애를 일으켜 결국 사망에까지 이르게 하는 치사율이 매우 높은 질환이라 할 수 있다. B형 간염 치료제로서 몇 가지 약제가 개발되기는 하였으나 만족할만한 효능을 지닌 것은 거의 없으며, 아라-에이(Ara-A)라든가 아시클로버(Acyclovir) 등 현재 사용되고 있는 약제들도 독성이 강하다는 사실이 문제로 되고 있다(Kim *et al.*, 1998). 이에 최근에 이러한 부작용이 없으면서 효과적으로 병원균을 치료하는데 중점을 두어 연구를 진행하고 있으며 이러한 방법 중에 한가지인 천연물에서 추출, 정제하여 약제로 사용하려는 연구들이 다방면으로 진행되고 있다(Kim *et al.*, 1998). 우리나라에서는 수년전부터 여우구슬(*Phyllanthus urinaria*)을 주 원료로한 추출물형태의 간염치료제가 개발되어 시판되고 있다.

대극과(Euphorbiaceae)에 속하는 식물 중에서 목본으로 광대싸리(*Securinega suffruticosa*)가 있고 초본으로는 여우구슬(*P. urinaria*)과 여우주머니(*P. ussuriensis*) 두 종이 우리나라에 서식하는 것으로 알려져 있다. 여우구슬은 줄기가 곧게 자라며 줄기에는 여러 개의 가지가 착생한다. 여우구슬의 자연적 생육지는 황지(荒地)나 묵밭 또

*교신저자(E-mail) : yechoi@kangwon.ac.kr

는 들판의 잔디밭 사이에서 홀로 또는 군락을 이르고 자라는데 우리나라에서는 제주부터 평북지역에 이르기까지 광범위하게 분포하는 것으로 알려져 있다(Bae, 2000).

여우주머니과 계통의 식물로 *P. urinaria*를 포함하여 *P. cochinchinesis*, *P. embtica*, *P. matsumurae* 등이 현재 약용되고 있으며(Venkateswaran et al., 1987), 주요성분으로는 탄닌계(Singh *et al.*, 1989) 성분들과 triterpene (Tanaka *et al.*, 1993)가 함유되어 있으며, *P. discoides*에서는 새로운 알칼로이드로서 phyllantine, phyllantidine, phyllanthine이 분리되어 있다(Blumberg *et al.*, 1989; Shead *et al.*, 1990; Yanagi *et al.*, 1989).

한편 인도, 태국 등지에서 생산되며 80년대 후반서부터 각광을 받고 있는 여우주머니속계통의 식물인 *P. niruri*는 nirurine, 4-methoxynorsecurinine 등의 alkaloid와 lignan 화합물로서 nirtetralin, hypophyllanthin, phyltetralin, phyllanthin, lintetralin 등과 신규 phthalic acid 유도체인 phthalic acid bis-ester 등이 분리되어 있다(Unander *et al.*, 1991). 이러한 연구들 중에 특히 주목해야 할 것은 phyllanthoside의 분리인데 이 물질은 항암효과를 지니는 물질로 보고되어 있다. 이 물질의 화학적인 특성으로 보아 항암의 효과에 대해서 긍정 적인 평가가 내려져 있고 간암 환자에 대한 이 물질의 투여에 의해서 간 조직 내의 병적(neoplastic)핵산유도체의 실질적인 감소가 임상적으로 증명이 되었다(Unander, 1991).

하지만 이러한 천연물을 생산하기 위해서는 자연상태의 산물들을 채집하거나 인위적으로 재배하여 공급을 해야 한다. 그러기 위해서는 이들 서식지의 확보와 서식환경의 확보 등이 우선적으로 연구가 되어 져야 하지만 국외에서 몇몇 논문이 보고되었을 뿐(Catapen *et al.*, 2000; 2002) 아직까지 국내에서 이들 서식지에 관한 연구뿐만 아니라 기내 조직배양에 관한 연구들도 전무한 상태이다. 또한 재배를 통한 생산 역시 목적물질의 감소와 농약 등이 문제시될 수 있고 노동집약적이기 때문에 생산에 따른 경제적 효율은 그리 높지 않을 것으로 예상된다.

따라서 본 연구에서는 약리작용이 뛰어난 여우구슬의 유식물체로부터 부정근의 유도에 미치는 배양재료, 배지조건, 옥신의 종류등의 배양조건을 확립하고 부정근의 액체배양 체계 확립과 생물반응기를 이용한 기내 대량생산 및 증식을 하기 위한 기초 실험체계를 확립하였다.

재료 및 방법

식물재료 및 배양조건

실험에 사용된 여우구슬*(Phyllanthus urinaria* L.)의 종자는 강원도 방태산 인근에서 채집하였다. 종자는 3개월간 저온처리한 후 포화수분 상태에서 24시간 침지한 후 종피를 완전히 제거 하였다. 종자의 소독은 70% 에탄올에 1분, 1% 차아염소산 나트륨용액에 15분간 침지한 후 멸균수로 5회 세척하였다. 멸균된 종자는 식물생장조절물질이 첨가되지 않은 1/3MS(Murashige and Skoog, 1962) 배지에 치상하여 무균발아를 하였다. 실험에 사용한 모든 배지와 기구는 121℃, 1.5기압으로 20분간 고온·고압 멸균하여 petri dish에 각각 30 mℓ씩 분주하여 실험에 사용하였다.

줄기와 뿌리 부위에 따른 부정근유도

무균발아 후 3주 경과된 유식물체의 하배축을 제거한 줄기부위는 0.5 cm 정도로 절단하였다. Root는 근단을 포함하여 1 cm로 절단하여 실험에 사용하였다. MS배지에 3.0 mg/L의 IBA가 첨가된 배지위에 치상하여 4주 후 부정근의 개수, 길이를 조사하였다. 절편은 petri dish당 10개씩, 총 30개씩 각각 치상하였고 22 ± 1℃에서 암배양 하였다.

Auxin 종류에 따른 2차 부정근유도

줄기로 부터 유도된 부정근 절편의 근단을 1 cm로 절단하여 sucrose가 30 g/L 포함된 MS배지에 2,4-D, IAA, IBA, NAA를 1 mg/L씩 첨가하여 10개씩 각각 30개의 절편을 치상하였다. 배양 4주후에 부정근의 유도율을 조사하였다. 절편은 식물생장조절제의 처리에 따라 petri dish당 10개씩, 총 30개씩 각각 치상하였고 22 ± 1℃에서 암배양 하였다.

IBA 농도에 따른 부정근유도

부정근의 근단을 1 cm로 절단하여 sucrose는 30 g/L로 동일하게 첨가하고 IBA가 0, 0.1, 0.5, 1.0, 3.0 그리고 5.0 mg/L가 첨가된 MS배지 위에 10개씩 각각 30개의 절편을 치상한 다음 배양 4주후에 부정근의 유도개수와 길이를 각각 조사하였다. 절편은 식물생장조절제의 처리에 따라 petri dish당 10개씩, 총 30개씩 각각 치상하였고 22 ± 1℃에서 암배양 하였다.

Sucrose농도에 따른 액체배양

고체배지조건에서 확립한 IBA의 0.5 mg/L를 기본으로 하여 sucrose가 0, 10, 30, 및 50 g/L첨가된 액체배지를 조성하였다. 여우구슬 부정근 1 g을 취해서 위에 제조된 배지에 접종하여 22 ± 1℃에서 암배양 하였다. 배양용기는 250 mL의 삼각플라스크(Horex, Germany)를 사용하였고, 배지는 100 mL를 첨가하였다. 배양은 4주간 110 rpm으로 액체배양 하였으며, 4주후 생중량과 건중량을 조사하였다.

MS salt 농도에 따른 생물반응기 배양

여우구슬의 부정근 10 g을 취해 5L 용적의 풍선형 생물반응기에 4L의 액체배지를 넣고 접종하여 22 ± 1℃에서 암배양 하였다. 배지의 제조는 MS, 1/2MS, 및 1/3MS를 각각 제조하였다. IBA의 농도는 0.5 mg/L, sucrose는 30 g/L를 첨가하였다. 암조건에서 4주간 배양 후 부정근의 생중량과 건중량을 비교하였다.

통계적인 분석

모든 데이터는 means ± standard diviation으로 표시하였다. 변인들의 집단간 차이를 알아보기 위해서 ANOVA를 실시하였고, 유의성이 있는 경우 Duncan's multiple range test로 사후검증을 하였다. 통계적 유의성은 $P < 0.05$로 설정하여 분석하였다.

결과 및 고찰

줄기와 뿌리 부위에 따른 부정근유도

기내배양 체계가 확립되어 있지 않은 식물의 경우 이들을 이용한 부정근의 유도는 초기 배양재료나 부위의 선택이 중요하다. 종자로부터 발아하여 2주된 여우구슬의 유식물체를 줄기와 뿌리부위로 구분한 다음 IBA 3.0 mg/L이 첨가된 MS 배지에 치상하여 4주간 배양한 후 절편에 따라 유도된 부정근의 갯수와 길이를 조사하였다. 초본류인 여우구슬은 shoot와 root 부위에서 대체적으로 양호한 부정근의 유도를 보였다. 하지만 유식물체의 뿌리부위를 배양하여 부정근을 유도한 경우 줄기부위보다 배양체가 캘러스화가 되는 경향을 보였다(데이터 미제시). 줄기부위를 이용하여 부정근을 유도 하였을 때 절편당 유도개수, 길이가 뿌리부위보다 각각 28.4개와 48.1 mm로 높았다(Table 1). 여우구슬의 경우 IBA를 기본으로 포함하는 MS배지에서 부정근의 유도는 줄기부위를 이용하는 것이 가장 효과적인 것으로 사료된다.

Auxin의 종류 및 IBA 농도에 따른 2차 부정근 유도

옥신의 종류에 따라서 부정근의 유도를 비교하기 위해 2,4-D, IAA, NAA, 및 IBA 1.0 mg/L씩 첨가된 MS배지에 근단을 포함하는 부정근을 치상하여 4주간 배양한 후 유도율을 조사하였다. 옥신을 첨가하지 않은 처리구에서는 부정근의 한쪽 절단면의 길이신장만 이루어졌기 때문에 유도율이 12%로 저조하였다. IBA(98%)와 NAA(94%)는 IAA(84%)와 2,4-D(65%)보다 높은 부정근의 유도율을 보였다(Fig. 1). IBA 및 NAA를 포함하는 배지에서 생장한 부정근은 전체적인 형태와 근정단 부분(root tip)이 정상적이고 측근형성이 양호함을 보였다(Fig. 2A, B). 다만 NAA가 첨가된 배지에서는 측근이 유도되면서 모절편이 캘러스화 되는 경향을 보였다(Fig. 2B). 그러나 IAA와 2,4-D가 첨가된 배지에서는 조직이 캘러스화 되는 현상이 보였다(Fig. 2C, D). 이상의 결과로 볼 때 초기 부정근의 유도는 옥신류

Table 1. Effect of explants (stem and root) on adventitious root induction of *P. urinaria* on MS solid medium supplemented with 3.0 mg/L IBA and 30 g/L sucrose after 4 weeks of culture

Explants	No. of adventitious root/segment	Length of adventitious root /segment (mm)
Stem	28.4±3.5*a	48.1±7.5a
Root	14.3±3.8b	33.4±5.6b

*Data are the means ± SD, of three experiments. Different alphabetical letters are significantly different according to Duncun's multiple range test at $P < 0.05$.

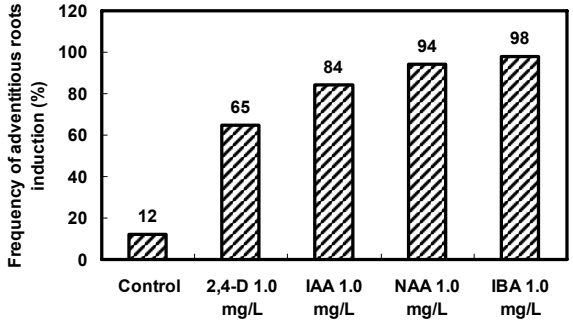

Fig. 1. Effect of auxins on formation and growth of adventitious roots on MS solid medium supplemented with 30 g/L sucrose after 4 weeks of culture.

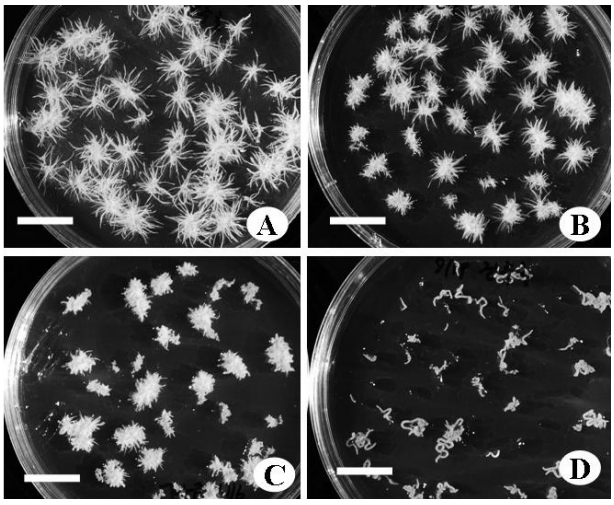

Fig. 2. Induction of adventitious roots on medium with various kinds of auxins. A: Adventitious root on MS medium supplemented with 1.0 mg/L IBA and 30 g/L sucrose. B: NAA 1.0 mg/L, C: IAA 1.0 mg/L, D: 2,4-D 1.0 mg/L. Scale bar=4 cm.

Table 2. Effect of IBA concentrations on adventitious root growth of *P. urinaria* after 4 weeks of culture

IBA concentration (mg/L)	No. of adventitious roots/segment	Length of adventitious roots (mm)
0	32.7±6.7* e	55.0±12.3d
0.1	158.0±6.6b	103.7±22.3b
0.5	228.7±18.1a	225.0±12.6a
1.0	134.7±8.5bc	85.7±11.3bc
3.0	48.3±4.0d	19.0±3.7e
5.0	33.7±3.8de	12.3±4.7f

*Data are the means ± SD, of three experiments. Different alphabetical letters are significantly different according to Duncun's multiple range test at $P < 0.05$.

홀몬 중에 IBA를 선택하는 것이 좀 더 효율적일 것으로 사료된다. 2차 부정근의 유도 시 가장 효과적인 옥신으로 조사된 IBA를 바탕으로 농도에 따라서 부정근의 유도를 알아보기 위해 0, 0.1, 0.5, 1.0, 3.0, 및 5.0 mg/L의 IBA가 첨가된 MS배지에 부정근을 치상하여 4주간 배양한 후 개수, 길이를 조사하였다. IBA의 농도는 0.5 mg/L가 첨가된 배지에서 절편 당 228.7개, 225 mm로 가장 높았다(Table 2). 또한 IBA 0.5 mg/L를 첨가한 배지를 기준으로 점차 증가하다가 감소하는 경향을 볼 수 있었다(Table 2). IBA

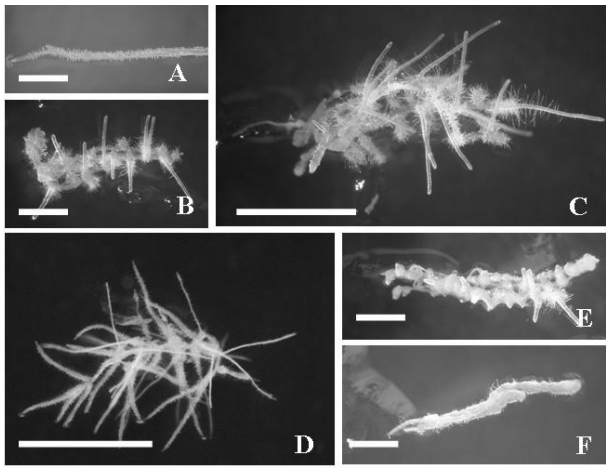

Fig. 3. Induction of adventitious roots on medium with various concentrations of IBA after 4 weeks of culture. A: control, B: 0.1 mg/L, C: 0.5 mg/L, D: 1.0 mg/L, E: 3.0 mg/L, F: 5.0 mg/L. Scale bar=1.2 cm.

가 0.5~1.0 mg/L 첨가된 배지(Fig. 3C, D)를 기준으로 농도가 낮을수록 측근의 발달이 적었고(Fig. 3A, B), 반면에 IBA의 농도가 1.0 mg/L 이상으로 높아지면 부정근이 표면이 노란색을 띠며 갈라지는 현상을 보이며 측근의 발달이 불량함을 확인할 수 있었고(Fig. 3E) IBA가 5.0 mg/L 첨가된 배지에서는 부정근의 유도를 확인할 수 없었다(Fig. 3F). 산삼, 인삼 그리고 시호의 경우 부정근의 유도는 2,4-D를 처리한 다음 캘러스를 유도한 후 증식된 캘러스로부터 부정근을 유도하는 단계로 진행이 된다(Paek and Chakravarthy, 2003; Yu *et al.*, 2000; Kim *et al.*, 1995). 하지만 본 연구에서는 여우구슬 식물체의 줄기와 뿌리 부위에서 캘러스의 유도나 증식 없이 IBA가 0.5~1.0 mg/L첨가된 MS 배지에서 짧은 기간안에 부정근을 유도할 수 있었다. 이러한 결과는 Ahn 등(2008)이 보고한 더덕의 부정근유도시 0.5 mg/L의 IBA가 첨가된 배지에서 직접 부정근을 유도하여 증식한 결과와 유사한 결과를 나타내었다.

Sucrose 농도에 따른 부정근 증식

IBA가 0.5 mg/L 첨가된 배지에서의 여우구슬 부정근 유도 및 증식은 다른 옥신에 비해 효과적이기 때문에 MS 배지를 기본으로 IBA의 농도는 0.5 mg/L로 고정하고 sucrose의 농도를 0, 10, 30, 및 50 g/L로 달리하여 액체배양에 따른 생산량의 증가를 조사하였다. Sucrose의 농도는 30 g/L

가 첨가된 배지의 생중량은 64 g으로 10 g/L가 첨가된 배지의 생중량 18 g보다는 5배 높은 수치이고 건중량 역시 30 g/L의 sucrose가 첨가된 배지가 12.4 g으로 가장 높은 건중량을 보였다(Fig. 4). 이상의 결과로 볼 때 sucrose의 적정 농도는 30 g/L로 판단되어 지고 이보다 낮거나 높으면 생장이 감소됨을 관찰하였다. *Glycyrrhiza glabra* 부정근 배양 시 sucrose가 50 g/ℓ이상을 첨가를 하면 증식량이 1.5배 감소한다는 결과를 보고한 바 있다(Toivonen and Rosenqvist, 1995). 소리쟁이(*Rumex crispus*) 부정근의 배양 시 탄소원의 증가는 생중량을 증가시키지만 생리활성물질은 감소되는 것을 보고한 바 있다(Chang *et al.*, 1999). 하지만 여우구슬의 경우 sucrose가 30 g/L 첨가되었을 때 가장 높은 생중량과 건중량을 보였다. Sucrose가 첨가되지 않은 배지에서는 부정근의 생장이 일어나지 않았고 50 g/L 정도의 고농도로 처리가 되면 생장량이 낮아지는 것으로 보아 적절한 sucrose(탄소원)의 농도는 여우구슬 부정근의 증식에 있어서 중요한 요소인 것으로 보여 진다. 이는 Toivonen 과 Rosenqvist(1995)가 보고한 *Glycyrrhiza glabra*의 부정근 및 모상근의 증식에 30 g/L의 sucrose가 적절하다는 결과와 비슷한 양상을 보이는 것이다.

MS salt 농도에 따른 생물반응기 배양

생물반응기는 대량생산과 생산비 절감에 초점을 맞추어 인삼, 가시오갈피, 더덕 등의 약용식물의 biomass 생산연구에 이용되어 왔다. 부정근은 생물반응기 배양을 통한 biomass생산 시 연속적인 증식과 안정적인 공급이 가능한 배양재료이다. 하지만 30일 이상 물에 잠겨서 배양하기 때문에 적절한 염의 농도를 고려해야 한다. 이에 따라 고체배지(Fig. 6A)와 액체배지(Fig. 6B)를 통해 부정근의 증식에 효과적인 배지조성을 확립하여 생물반응기 배양에 기본적

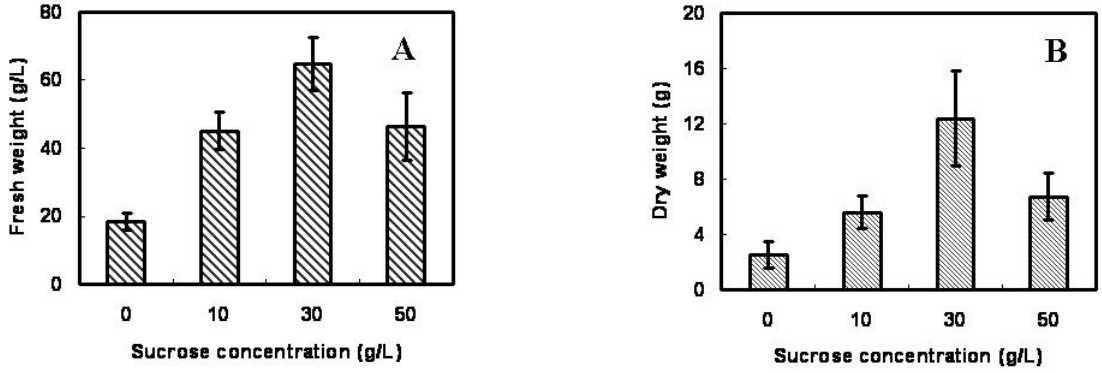

Fig. 4. Effect of sucrose concentration on adventitious root growth of *P. urinaria* in MS liquid medium after 4 weeks of culture. Adventitious roots (200 mg) were initially inoculated in 250 mL flask containing 100 mL medium with 0.5 mg/L IBA. A: Fresh weight, B: Dry weight.

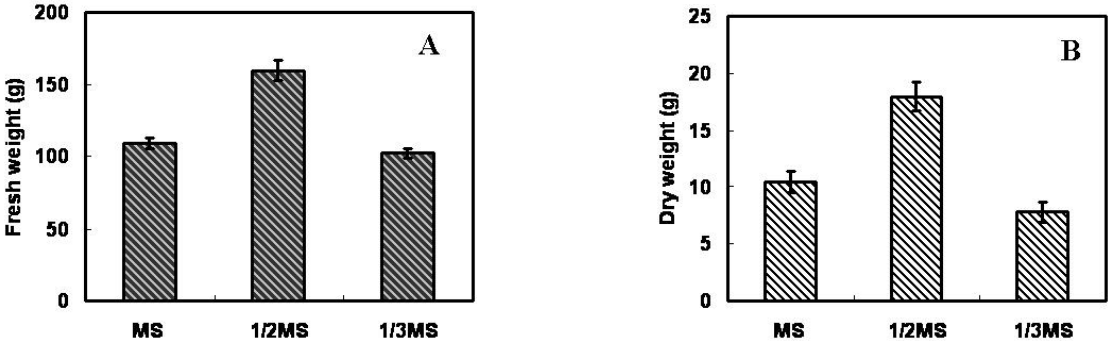

Fig. 5. Effect of MS salt concentration on adventitious root growth of *P. urinaria* in MS liquid medium after 4 weeks of culture. Adventitious roots (20 g) were initially inoculated in 5 L air lift bioreactor containing 4 L medium with 0.5 mg/L IBA. A: Fresh weight, B: Dry weight.

인 배지로 선정하였다. 배지는 IBA의 농도를 0.5 mg/L로 고정하고 sucrose가 30 g/L첨가된 배지에 MS, 1/2MS 그리고 1/3MS로 줄인 다양한 배지를 제조하여 4주후 생중량과 건중량을 조사하였다. 그 결과 MS 염의 농도를 1/2로 줄인 배지에서 가장 높은 생중량과 건중량을 나타냈다(Fig. 5A, B). 하지만 부정근의 생장상태는 그리 좋지는 않았다(Fig. 6C). 인삼(Yu *et al.*, 2002)과 가시오갈피(Seo *et al.*, 2003)등의 부정근 대량생산은 이미 수년 전에 보고가 되었고 인삼의 경우 톤 단위의 생산을 하고 있는 시점에서 부정근의 대량생산은 하나의 산업화되고 있다. 특히 뿌리를 식용으로 하는 경우 생물반응기 배양을 통해 현탁세포배양 배양 방법보다 유전적, 생화학적으로 안정적이라는 것이 지배적이다(Bourgaud *et al.*, 2001). 따라서 장기적으로 뿌리저장기관이 함유하고 있는 유용한 물질의 생산이라는 측면에서 적합한 재료인 것으로 보고되고 있다(Lanzaridou *et al.*, 2002; Yu *et al.*, 2002; Paek and Chakravarthy, 2003; Kim *et al.*, 1995).

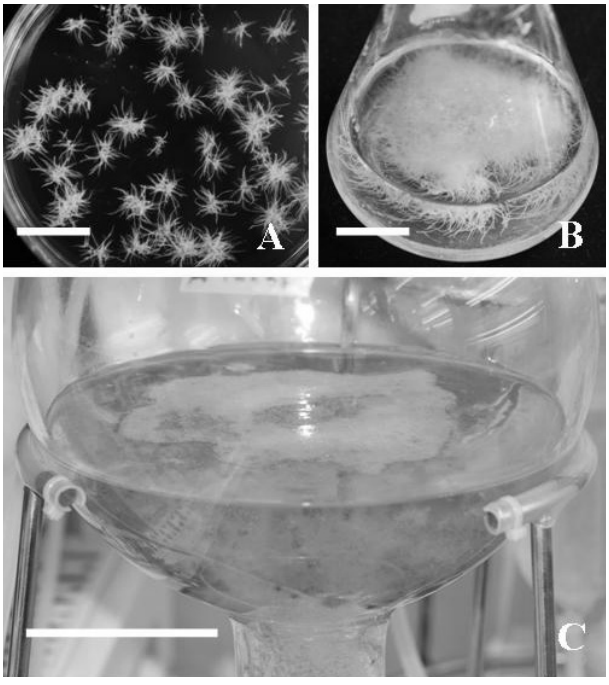

Fig. 6. Mass production of adventitious roots of *P. urinaria*. A: Culture on petri dish after 4 weeks. Scale bar=4 cm; B: Culture in 250 mL flask after 4 weeks. Scale bar=5 cm; C: Cultured in 5 L bioreactor containing 1/2MS medium supplemented with 30 g/L sucrose and 0.5 mg/L IBA after 4 weeks. Scale bar=12 cm.

본 결과에서 여우구슬의 유식물체를 이용하여 각각의 부위에 따른 최적의 부정근 유도조건을 조사하였고 유도된 부정근을 이용하여 옥신의 종류와 IBA의 농도에 따른 부정근의 유도양상을 확인하였다. 또한 삼각플라스크와 생물반응기를 통한 액체배양의 증식조건도 확립하였다. 이러한 결과는 처음으로 여우구슬의 기내 부정근의 생산 체계를 확립하였다고 생각되어지고 향후 여우구슬을 이용한 생리활성물질의 생산 등, 다양한 식물소재 개발연구에 중요한 기초자료를 제공 할 것으로 보여진다.

사 사

본 논문은 2009년도 산림과학기초연구지원사업의 지원에 의해 수행된 것으로 이에 감사드립니다.

적 요

본 실험은 여우구슬의 기내 부정근 유도 및 증식조건의 확립을 목적으로 수행되었다. 우선 여우구슬의 기내 발아체로부터 부위를 달리하여 부정근을 유도한 결과 줄기부위는 뿌리보다 양호한 부정근의 유도를 보였다. 또한 유도된 부정근을 이용하여 옥신의 종류(IAA, IBA, NAA와 2,4-D)에 따른 부정근 유도율을 조사한 결과 IBA와 NAA는 IAA와 2,4-D보다 높은 유도율을 보였다. IBA의 농도에 따른 유도율과 증식효율은 IBA가 0.5 mg/L첨가되었을 때 가장 높은 유도 및 증식효율을 보였다. 최적의 액체배지조건을 확인하고자 IBA의 농도는 0.5 mg/L로 첨가하고 sucrose의 농도를 달리하여 실험한 결과 sucrose는 30 g/L 첨가되었을 때 가장 높은 생중량과 건중량을 나타냈다. 액체배양된 여우구슬의 부정근을 각각 MS, 1/2MS, 1/3MS배지에 30 g/L sucrose, 0.5 mg/L IBA가 첨가된 5 L 용량의 생물반응기에 4주간 배양한 결과 1/2MS 배지에서 양호한 생장을 보였다. 본 실험에서는 여우구슬의 종자발아체를 이용하여 부정근의 유도 및 증식조건에 필요한 기내배양조건과 2차적으로 유도된 부정근을 이용하여 플라스크와 생물반응기 배양을 통한 효율적인 증식조건을 확립하였다.

인용문헌

Ahn, C.H., K.H. Bae, J.S. Yi, and Y.E. Choi. 2008. Induction and growth of adventitious roots and bioreactor culture in

Codonopsis lanceolata. Kor. J. Plant. Tiss. Cult. 35:155-161. (In Korean).

Bae, K.H. 2000. The Medicinal Plants of Korea. Kyo-Hak Pubilishing Co., Ltd., Seoul, Korea pp. 364. (In Korean).

Blumberg, B.S., I. Millman, P.S. Venkateswaran, and S.P. Thyagarajan. 1989. Hepatitis B virus and hepatocellular carcinoma-treatment of HBV carriers with *Phyllanthus amarus*. Cancer Detect. Prevent. 1:195-201.

Bourgaud, F., A. Gravot, S. Milesi, and E. Gontier. 2001. Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. Plant Sci. 161:839-851.

Catapan, E., M.F. Otuki, and A.M. Viana 2000. *In vitro* culture of *Phyllanthus caroliniensis* (Euphorbiaceae). Plant Cell Tiss. Org. Cult. 62:195-202.

Catapan, E., M. Luis, B. Silva, F.N. Moreno, and A.M. Viana 2002. Micropropagation, callus and root culture of *Phyllanthus urinaria* (Euphorbiaceae). Plant Cell Tiss. Org. Cult. 70:301-309.

Chang, S.W., I.H. Kim, and T.J. Han. 1999. Anthraquinone productivity by the cultures of adventitious roots and hairy roots from Cureled dock (*Rumex crispus*). Kor. J. Plant. Tiss. Cult. 26:7-14. (In Korean).

Kim, C.Y., J.M. Kim, T.G. Kim, S.H. Kim, and H. Huh. 1998. Inhibition of HBV replication by the extract of *Phyllanthus ussuriensis*. J. Appl. Pharm. 6:139-144. (In Korean).

Kim, S.G., D.Y. Cho, and W.Y. Soh. 1995. Saikosaponin content in adventitious root formed from callus of *Bupleurum falcatum* L. Kor. J. Plant Tiss. Cult. 22:29-33. (In Korean).

Lazaridou, A., T. Roukas, C.G. Biliaderis and H. Vaikousi. 2002. Characterization of pullulan produced from beet molasses by *Aureobasidium pullulans* in a stirred tank reactor under varying agitation. Enz. Microbial. Tech. 31:122-132.

Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Plant Physiol. 15:473-479.

Paek, K.Y. and D. Chakravarthy. 2003. Micropropagation of woody plants using bioreactor. In: Jain, S.M., and Ishii. K. (eds), Micropropagation of Woody Trees and Fruits. Kluwer Academic Publisher, Dordresht, pp. 735-755

Seo, J.W., C.K. Shin, and Y.E. Choi. 2003. Mass production of adventitious roots of *Eleutherococcus sessiliflorus* through the bioreactor culture. J. Plant Biotech. 5:187-191. (In Korean).

Shead, A., K. Vickery, R. Medhurst, J. Freiman, and Y. Cossart. 1990. Neutralisation but not care of duck hepatitis B by Australian *Phyllanthus* extract. Abstract 602 In: Scientific program and abstract volume, the 1990 International Symposium on viral hepatitis and liver diseases, April 4-8, 1990, Houston, Texas.

Singh, B., P.K. Agrawal, and R.S. Thakur. 1989. A new lignan and a new neolignan from *Phyllanthus niruri*. J. Natl. Prod. 52:48-51.

Tanaka, R., K. Masuda, and S. Matsuaga. 1993. Lup-20(29)-en-3b, 15a-diol and ocotillol from the stem bark of *Phyllanthus flexuosus*. Phytochemistry 32:472-474.

Toivonen, L. and H. Rosenqvist. 1995. Establishment and growth characteristics of *Glycyrrhiza glabra* hairy root culture. Plant Cell Tiss. Org. Cult. 41:249-258

Unander, D.W. 1991. Callus induction in *Phyllanthus* species and inhibition of viral DNA polymerase and reverse transcriptase by callus extract. Plant Cell Rep. 10:461-466.

Vengaterwaran, P.S. and B.S. Blumberg. 1987. Effect of an extract from *Phyllanthus nuruni* on hepatitis B and woodchuk hepatitis viruses: *In vitro* and *in vivo* studies. Proc. Natl. Acad. Sci. 84:274-278.

Yanagi, M., M. Unoura, K. Kobayashi, N. Hattori, and S. Murakami. 1989. Inhibitory effect of an extract from *Phyllanthus niruri* on reaction of endogenous HBV-DNA polymerase and other DNA synthetase. Cold Sp. p.77.

Yu, K.W., W. Gao, E.J. Hahn, and K.Y. Paek. 2002. Jasmonic acid improves ginsenoside accumulation in adventitious root culture of *Panax ginseng* C.A. Meyer. Biochem. Eng. J. 11:211-215.

Yu, K.W., E.J. Hahn, and K.Y. Paek. 2000. Production of adventitious ginseng roots using bioreactor. Kor. J. Plant Tiss. Cult. 27:309-315. (In Korean).

(접수일 2009.6.17; 수락일 2009.10.9)