

## 인삼모상근의 성장과 Ginsenosides 생산에 미치는 NaCl의 영향

김유진\* · 심주선\* · 정대영\* · 이정혜\* · 인준교\*\* · 이범수\*\* · 양덕춘\*†

\*경희대학교 생명공학원 인삼유전자원소재은행, \*\*(주)바이오피아

## The Effect of NaCl on the Growth and Ginsenoside Production from Ginseng Hairy Root

Yu Jin Kim\*, Ju Sun Shim\*, Dae Young Jung\*, Chung Hyae Lee\*,  
Jun Gyo In\*\*, Bum Soo Lee\*\*, and Deok Chun Yang\*†

\*Ginseng Genetic Resource Bank, Graduate School of biotechnology, Kyung Hee University, Suwon 449-701, Korea.

\*\*Biopia. CO., Ltd, Yongin 449-598, Korea.

**ABSTRACT :** Korean ginseng (*Panax ginseng* C.A. Meyer) is very difficult to obtain stable production of qualified ginseng roots because of variable stresses in soil environments. High salt concentrations in the ginseng nursery soil environment of Korea is one of important reducing factors for the stable production of quality ginseng. These studies were accomplished to identify the growth rate and production of ginsenoside from ginseng hairy root against NaCl. In the MS liquid culture, the highest contents and productivity of ginsenosides were appeared at 4 week after onset of the treatment of 0.1 M NaCl. And 0.24 M NaCl was more effective on the growth of ginseng hairy root under light condition than dark condition. Plants generally produce secondary metabolites in nature as a defense mechanism against pathogenic and insect attack. In this study, NaCl acts as a kind of stress as well as elicitor for production of ginsenosides.

**Key Words :** NaCl, Elicitor, *Panax ginseng* Hairy Root

### 서 언

고려인삼 (*Panax ginseng* C.A. Meyer)은 한방의약품으로 오랫동안 이용되어온 전통약용 식물로서 약리효능이 과학적으로 입증되어 그 수요가 세계적으로 증가하고 있는 추세이며, 고려인삼을 포함한 다양한 인삼 종들의 연간 판매량이 약 10 억불에 이르고 있다. 이들의 공급은 주로 민간 재배에 의해 대부분 공급되고 있으나 현재의 재배방법에 한계가 있다.

일반적으로 인삼은 반음지성 약용식물로서 직사광선의 차단을 위해 해가림 시설 하에서 재배가 가능하며, 재배기간이 길고 생산성이 낮아서 대량 생산하는데 많은 어려움이 있다 (Butenko *et al.*, 1968). 특히, 동일 토양에서 4~6년간 성장하게 되어 토양환경조건에 따라 뿌리의 생육과 품질에 많은 영향을 준다. 특히 무기물이 인삼생육에 큰 영향을 미치는데, 현재 우리나라의 인삼포장에는 무기질 함량이 너무 많아 염류집적에 의한 생육 장애와 품질 저하를 가져오고 있다 (송, 1985; 목 등, 1987; 남 등, 1991; 양 등, 2003). 인삼 재배 토양에서의 염류내성에 관한 연구는 이루어져 있으나 (이 등,

1995), 기내배양을 통하여 무기염류 과다에 의한 stress 내성기구 및 내염성 품종에 대해서는 연구가 미미한 실정이다.

특히, 고려인삼의 사포닌 (saponin)이라고 하는 주요 약리성분의 생리활성 작용이 밝혀지면서 특정 ginsenosides를 대량 생산하고자 하는 연구가 수행되고 있으며 (Arya *et al.*, 1991; Hong *et al.*, 1987; Joo *et al.*, 1983; 남, 1996), 이를 위하여 Yang 등 (1998)은, 인삼으로부터 *Agrobacterium rhizogenes* 균주를 이용하여 모상근을 유도하여 특정 ginsenosides를 기내 배양을 통해 대량으로 생산하는 연구를 수행한 바 있다. 이러한 모상근은 지속적으로 생장이 가능하여 대량배양이 가능하며, 생리활성물질의 대량생산을 가능하게 한다. 또한 특정 elicitor를 사용하면 유용한 2차 대사산물을 대량생산을 할 수 있다 (You & Byun, 2001; Jung *et al.*, 2003; In *et al.*, 2006; 인 등, 2006). 인삼포장에서의 염류 중 NaCl은 인삼의 생산량을 저하시키고 품질을 나쁘게 하고 있으나 오히려 열악한 환경에서 자란 인삼의 사포닌 함량이 증가되었다는 보고가 있어 (이 등, 1995; Jeong & Park, 2006), 이는 NaCl이 elicitor로서의 역할을 하는 것으로 사료되나 이에 관한 연구는

†Corresponding author: (Phone) +82-31-201-2688 (E-mail) dcyang@khu.ac.kr  
Received October 26, 2007 / Accepted April 3, 2008

아직 이루어져 있지 않다.

따라서, 본 연구는, 인삼 ginsenosides는 2차대사산물로서 배양 조건 및 환경에 따라서 생합성이 다양하게 변할 수 있는데, NaCl 처리가 인삼 모상근의 생장과 ginsenosides 합성에 어떠한 영향을 미치는지를 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험재료

본 실험에서 사용한 인삼 모상근은, *Agrobacterium rhizogenes* A<sub>4</sub>T (Jung & Tepfer, 1987) 균주를 공동배양하여 유도된 KGHR-8 세포주를 사용하였다. 모상근이 7-8 cm 자라면 근단으로부터 2-3 cm 길이로 잘라내어 5-6개의 절편 조각을 1/2 MS (Murashige & Skoog, 1962) 배지에 치상하여 진탕배양기 (100 rpm, 23°C)에서 암배양하였다. 배지는 1/2 MS 배지 (Duchefa, Nerherland)와 3% sucrose를 첨가하고, 항생제 및 호르몬은 전혀 첨가되지 않았으며, pH 5.8로 조절하였다. 100 ml 삼각플라스크에 배지 40 ml 씩 분주하였으며, 121°C에서 20분간 고압멸균 한 후, 모상근을 치상하고 암상태에서 진탕배양 하며 3주 간격으로 계대배양 하였다.

### 2. NaCl의 처리

인삼모상근의 생장에 미치는 NaCl 처리시기에 따른 영향을 조사하기 위하여 각 실험 처리구별로 1 g의 모상근을 접종하여 1개월간 광 및 암상태에서 배양한 후, 수확하여 생체중을 플라스크당 측정하고, 건조하여 다시 건물중을 측정하였다. NaCl의 농도는 0.1 M를 사용하였으며, 멸균된 NaCl을 처리시기별로 추가하여 배양하였다. 처리시기는 처음부터 NaCl을 넣은 0일 에서부터 5일 간격으로 5, 10, 15, 20, 25, 30일 배양 후에 첨가하여 35일간 배양하였다. NaCl 농도별로 생장량과 사포닌함량을 조사하기 위하여 0.08, 0.15, 0.24, 0.32 M의 NaCl를 첨가하여 30일간 배양하여 수확하였으며, 모상근의 생장과 ginsenosides 함량을 HPLC를 이용하여 조사하였다. 선발된 모상근 (KGHR-8)로부터 ginsenosides 함량을 증대시키기 위해서 two step culture 방법을 사용하였다. 모상근의 대량배양을 위해서 20 L bioreactor에 1/2 MS 배지 15 L를 넣고 50 g의 모상근을 접종하여 배양하였다.

### 3. 인삼 모상근의 Ginsenosides 함량 측정

Ginsenosides 함량은 수포화 1-부탄올 추출법인 Ando 등 (1971)의 방법에 따라 추출하여 80°C 온수 욕조에서 80% 메탄올 30 ml로 3회 추출하여 건조시킨 후 메탄올 추출물을 얻었다. 그 후 에테르로 재추출하여 탈지시킨 다음에 수포화 1-부탄올로 3회 추출하여 1-부탄올층만을 모두 합하여 증류수로 1회 세척한 후 수층은 버리고 1-부탄올층만 감압하면서 농축

하였다. 농축물을 High performance liquid chromatography (HPLC)용 메탄올 500 µl에 녹여 0.45 µm millipore syringe filter로 여과한 후 10 µl를 HPLC (Waters)기에 주입하여 ginsenosides를 panaxatriol (PT)과 panaxadiol (PD)로 분리하고 정량하였다.

사포닌 화합물의 확인 및 정량 분석에 사용된 ginsenoside 표준품은 경희대 인삼유전자원소재은행에서 분양받은 것을 사용하였다. 실험재료의 ginsenosides 검정은 Waters R401 refractive index (RI) 검출기로 검출 정량하였고, column은 Lichrosorb-NH<sub>2</sub> column (Merck Co., 10 µm, 4 mm ID × 250 mm)에 acetonitrile/H<sub>2</sub>O/n-butanol (80:20:10) 용매를 사용하여 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. 추출 및 용매 분획 분리용매로 사용한 메탄올, 에테르, 부탄올, 메탄올 등은 Merck 사 HPLC 용을 사용하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. 인삼모상근의 생장과 사포닌 생산에 미치는 NaCl의 영향

선발된 모상근 (KGHR-8)으로부터 인삼 모상근의 생장과 ginsenosides의 함량에 미치는 NaCl의 최적 농도를 조사하기 위하여 초기 접종량 1 g 생체중을 처리구별 40 ml 배지에서 30일간 100 rpm 진탕배양기에서 배양한 후 모상근의 생장량과 사포닌 함량을 조사하였다. 그 결과 NaCl의 농도가 증가함에 따라 모상근의 생장은 감소하였지만, total ginsenosides의 함량은 0.24 M NaCl 처리구에서 높은 증가를 가져왔으며 특히 광상태 하에서 배양시 양호하였다. 0.24 M NaCl 농도로 광상태 하에서 배양시 panaxatriol의 함량은 대조구보다 36.5%, panaxadiol의 함량은 61.7% 증가하는 양상을 나타내었다 (Table 1). 그러나 0.24 M NaCl 처리구에서 모상근의 생장은 대조구보다 낮기 때문에, NaCl 처리구에 의한 ginsenosides의 함량을 증대하기 위해서는 먼저 모상근의 생장이 좋은 배지에서 배양한 다음 NaCl을 처리하는 two step culture 방법을 조사하였다. 금후 NaCl의 어떤 기작에 의하여 panaxadiol계와 panaxatriol계의 사포닌의 생합성이 촉진되는지에 대한 연구가 요망된다.

### 2. 인삼모상근의 생장에 미치는 NaCl 처리시기의 영향

자연상태에서 상당수의 식물들은 화학적, 미생물적 공격에 반응하여 phytoalexin을 합성하거나 축적한다 (Hans *et al.*, 1994). 이러한 경우의 유도원을 elicitor라고 하는데, elicitor는 곰팡이, 박테리아와 같은 biotic elicitor가 있고, 염, 자외선, RNase, 중금속 등과 같은 abiotic elicitor가 있다 (Vasil &

**Table 1.** The effects of NaCl concentration on the growth of ginseng hairy root and saponin production.

NaCl (M)		Fresh wt. g / flask	Dry wt. g / flask	Total ginsenoside (mg/g dry wt)	Panaxatriol (mg/g dry wt)	Panaxadiol (mg/g dry wt.)
0	Dark	11.55 ± 0.43	0.81	10.38	6.84	3.53
	Light	10.20 ± 0.30	0.71	11.73	6.89	4.84
0.08	Dark	10.10 ± 0.60	0.71	10.15	6.58	3.56
	Light	9.50 ± 0.15	0.67	11.27	6.49	4.77
0.15	Dark	8.95 ± 0.85	0.63	10.63	6.58	4.05
	Light	8.80 ± 0.40	0.62	12.18	6.67	5.52
0.24	Dark	8.45 ± 0.55	0.59	12.15	6.99	5.16
	Light	7.73 ± 0.33	0.54	15.05	9.34	5.71
0.32	Dark	7.95 ± 0.65	0.56	10.56	5.96	4.60
	Light	6.95 ± 0.05	0.49	12.48	7.35	5.13

Vasil, 1981; Dicosmo & Misawa, 1985). 이러한 elicitor는 유용한 대사산물의 생합성과 분비를 촉진한다고 알려져 있기 때문에 식물세포배양에서 유용한 2차대사산물의 생산을 위해 사용되고 있다 (Sim *et al.*, 1994). Elicitor의 신호전달기작은 복잡하고, 식물에 있어서 대부분의 이차대사산물 생합성 경로에 대해서 알려진 바가 적기 때문에, 식물조직배양에 있어서 elicitation의 효과는 쉽게 예측할 수 없고, 여러 수행착오에 의한 접근이 요구된다 (Jeong & Park, 2005). Elicitor의 효과는 elicitor의 농도, 처리시기, 처리시간에 따른 식물조직의 성장 단계 등의 다양한 요인에 의해 달라질 수 있다 (Bhagwath & Hjorts, 2000). 일일초 세포배양에서 NaCl을 처리한 경우 indole alkaloid 함량이 증가하였으며 (Smith *et al.*, 1987), *Coffea arabica* (Frischnecht & Baumann, 1985) 및 *Datura innoxia* (Brache & Cosson, 1986)의 NaCl 처리 또한, alkaloid의 함량을 증가시켰다는 보고가 있다. Jeong과 Park (2006)에 따르면 NaCl을 포함한 여러 elicitor 처리에 의해 인삼 사포닌 함량이 증가했다고 한다. NaCl 농도 0.3%까지의 처리는, 큰 유의한 차이를 보이지 않았지만, 우리는 그보다 높은 농도 0.24 M (약 1%)에서 유의한 차이를 보였고, 더 나아가 two step culture을 도입하였다.

선발된 모상근 (KGHR-8)의 NaCl 처리시기에 따른 성장량을 조사하기 위하여, 100 ml 삼각플라스크에 40 ml의 배지를 넣고 멸균 후 모상근의 생체를 초기 접종량으로 1g 씩 접종하였다. Elicitor로 0.1 M NaCl의 첨가는 5일 간격으로 배양하면서 추가로 접종하여 총 35일간을 암 및 광상태로 배양한 결과, 처음부터 (접종 0일) NaCl를 첨가한 처리구에서는 20일째 되는 시기에 가장 높은 성장율을 보였다. 또한 암처리구에서는 25일, 광처리구에선 29일 후에 더욱 높은 성장량을 나타내었다 (Table 2). 또한, NaCl 처리시기에 따른 인삼 모상근의 사포닌 함량을 조사한 결과, 모상근 접종 후 25일째의 elicitor 처리는 대조구보다 높은 사포닌 함량을 보여주었다 (Table 3).

**Table 2.** The effects of 0.1 M NaCl on the growth of ginseng hairy root according to the culture period.

Treatment time (day)		Fresh wt. (g / flask)	Dry wt. (g / flask)
0	Dark	2.61 ± 0.16 (32%)	0.24
	Light	2.50 ± 0.17 (33%)	0.23
5	Dark	2.87 ± 0.20 (35%)	0.26
	Light	2.66 ± 0.15 (35%)	0.24
10	Dark	2.98 ± 0.13 (36%)	0.27
	Light	2.79 ± 0.19 (37%)	0.25
20	Dark	5.18 ± 0.23 (63%)	0.47
	Light	5.09 ± 0.17 (67%)	0.46
25	Dark	7.83 ± 0.55 (96%)	0.71
	Light	7.16 ± 0.70 (93%)	0.64
30	Dark	8.01 ± 0.37 (98%)	0.72
	Light	7.18 ± 0.83 (94%)	0.65
Control <sup>§</sup>	Dark	8.17 ± 0.58 (100%)	0.74
	Light	7.62 ± 0.35 (100%)	0.69

<sup>§</sup>Control was cultured without any NaCl and harvested after 35 culture days.

Re와 Rg1은 대조구에 비해 감소하였지만, 그 외 ginsenoside와 total saponin 함량은 NaCl 처리에 의해 증가하였다. 이는 적변삼에서 total ginsenoside가 증가하였다는, 이 등 (1995)의 보고와 상통하는 결과라고 할 수 있겠다.

### 3. NaCl 처리에 의한 2단 대량배양

Elicitor를 처리하여 2차 대사산물을 대량으로 얻으려는 경우, 초기에 처리할 경우 세포의 성장을 오히려 억제한다는 보고가 있다 (Park *et al.*, 2000; 오 등, 2000). 선발된 모상근 (KGHR-8)로부터 ginsenosides 함량을 증대시키기 위해서 two step culture 방법을 사용하였다. 기내배양을 통하여 유용물질

**Table 3.** Effects of NaCl on ginsenoside content on hairy roots cultures of *Panax ginseng* C. A. Meyer. Hairy roots were cultured in hormone-free MS medium (3% sucrose, 40 ml/100 ml flask) for 6 weeks in dark conditions. Data shown are means  $\pm$  standard errors of five replicates hairy roots lines. <sup>s</sup>; Time after hairy roots inoculation to medium.

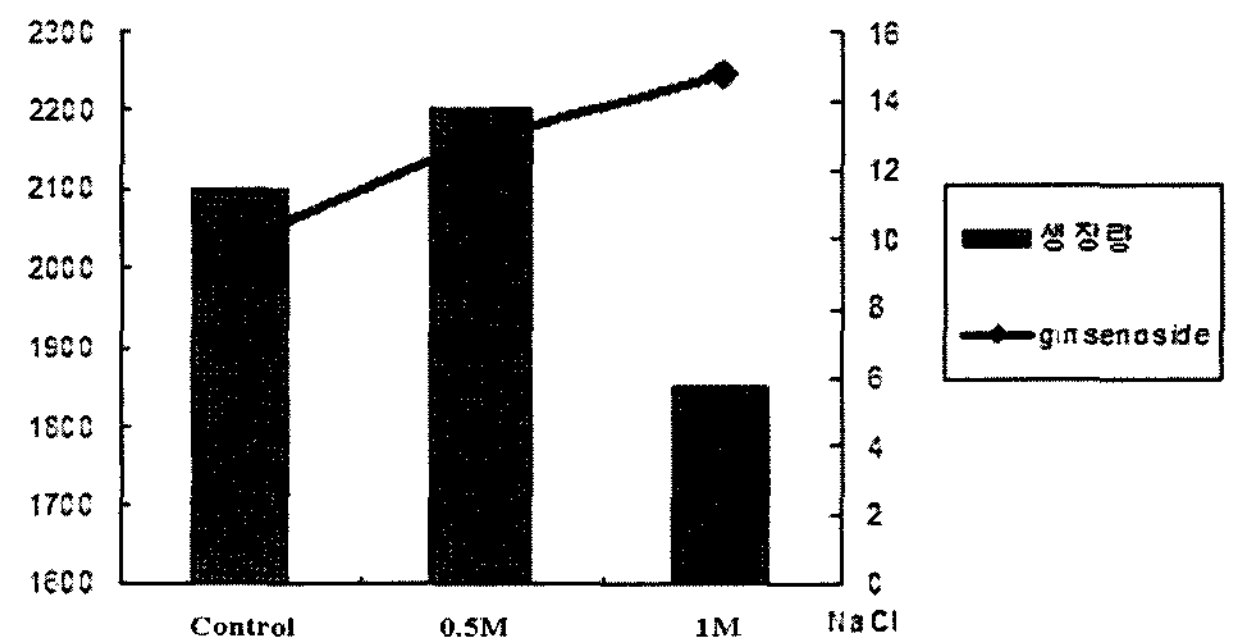
Treatment time (day) <sup>s</sup>		Ginsenoside content (mg/g dry wt)								Productivity (mg/flask)
		Rb1	Rb2	Rc	Rd	Re	Rf	Rg1	Total	
Control	Dark	1.24	0.56	0.72	2.24	2.50	0.52	1.42	9.22	6.78
	Light	1.30	0.72	0.39	2.07	3.10	0.77	1.51	9.88	6.78
0	Dark	1.29	0.66	0.39	3.61	3.28	0.81	1.02	11.08	2.60
	Light	1.32	0.71	0.38	4.27	3.75	0.38	0.80	11.62	2.62
5	Dark	1.34	0.62	0.39	2.80	2.89	0.78	0.89	9.72	2.51
	Light	1.84	0.93	1.01	4.75	5.23	1.40	1.16	16.33	3.92
10	Dark	1.42	1.12	0.26	2.88	3.28	1.00	0.98	10.95	2.94
	Light	1.90	1.42	0.13	4.19	5.46	1.48	1.07	16.67	4.19
20	Dark	1.865	0.55	1.32	3.03	1.79	1.21	0.71	10.49	4.90
	Light	1.97	1.63	1.26	3.26	4.06	1.69	0.89	14.78	6.77
25	Dark	0.77	0.88	1.05	2.46	2.73	0.78	1.02	9.71	6.85
	Light	1.67	1.02	1.32	4.11	4.06	0.93	1.65	14.78	9.52

**Table 4.** The effect of NaCl treatment on growth and ginsenoside of ginseng hairy root in 20 L bioreactor.

Concentration	Fresh wt. g/reactor	Ginsenoside mg/g dw	Dry wt. g/reactor
Control 0 M	3,100 $\pm$ 300	9.92	161 $\pm$ 11.0
NaCl	0.05 M	1,200 $\pm$ 200	12.94
	0.1 M	750 $\pm$ 500	14.78

을 대량생산하기 위해서는 bioreactor를 이용한 배양이 필수적이므로 20 L 배양기에서 배양을 실시하였다. 모상근의 대량배양을 위해서 20 L bioreactor에 1/2 MS 배지 15 L를 넣고 멸균처리한 후 50 g의 모상근을 배양기에 접종하여 membrane filter를 이용하여 무균 공기를 주입하면서 배양하였다. 1개월 배양 후 0.05, 0.1 M 농도의 NaCl를 첨가하여 2개월간 배양을 실시한 결과, 0.05 M NaCl 처리시 모상근의 생장율은 약 62% 감소하였고, 0.1 M NaCl 처리시 생장율은 76% 감소한 반면, ginsenoside의 함량은 각각 29%, 48% 증가하였다 (Table 4, Fig. 1).

염류는 식물이 자주 노출되는 환경스트레스 중에 하나이고 많은 주요작물들의 생산성과 품질을 저하시킨다 (Boyer, 1982). 토양에 집적된 염류로 인해 인삼의 생장량이 감소되는 문제에 대한 대책 측면에서, 인삼의 염류에 대한 반응연구와 기내배양을 통한 염류내성 인삼의 선발은 필수적이다. 이미 오래전부터 염류 내성 농작물의 육종에 많은 관심을 가지고 심도 있는 연구가 수행되어 왔다. 담배 (Nabors *et al.*, 1975; Croughan *et al.*, 1978), 벼 (정 등, 1982; Chae *et al.*, 1988), 알팔파 (Rye *et al.*, 1991), 사탕무우 (Kent *et al.*,



**Fig. 1.** The treatment effect of NaCl on growth and ginsenosides synthesis in ginseng hairy root in 20 L bioreactor.

1992), 토마토 (Asins *et al.*, 1993), 밀 (Leon *et al.*, 1995) 등의 식물체로부터 염류내성 식물체 개발에 대한 보고가 있다. 그리고 본 연구팀에서 인삼 종자를 통해서 내염성을 가진 우수계통을 선발할 수 있음을 보고한 바 있다 (Yoon *et al.*, 2004). 그러나 기존의 육종방법을 이용하면 장기간이 소요되기 때문에 기내배양을 통해서 단시간 내에 염류내성 인삼의 신품종을 선발할 수 있는 기술개발이 필요하다. 최근 식물유전공학기법의 발달로 많은 유전자들이 cloning되었는데 염류 관련 유전자를 활용하여 형질전환하면 단시간에 염류내성 식물을 육성할 수 있으므로 이에 관한 기술개발은 중요하다. 관련 유전자로는 methicillin resistant gene (Huraki *et al.*, 1993), dihydrolipoamide dehydrogenase (Jolly *et al.*, 1996), angiotensin I-converting enzyme gene (Hiraga *et al.*, 1996) 등의 개발이 보고된 바 있다. 인삼에 있어서 염류내성을 증진시키기 위해서 염류관련 유전자인 SAL1 (In & Yang, 2005),

betaine aldehyde dehydrogenase gene (윤 등, 2005) 등을 인삼자엽으로부터 형질전환 시키는 실험을 수행한 적 있다. 식물의 염류스트레스에 대한 반응은 많은 요인들이 작용하나 인삼의 염류내성 기작은 아직 밝혀져 있지 않으며, 인삼의 내염성 품종육성을 위한 유전자인자 확보를 위한 연구와 재분화된 형질전환식물체의 후대 검정 및 대량증식, 선발계통의 안정성 검토가 요구되어진다. 또한 염류 내성기작의 신호전달체계 등에 대한 연구가 계속적으로 수행되어야 할 것이다.

본 연구에서는 인삼의 생육 환경에 염류집적 문제와 생장에 관한 연구를 수행하는 과정에서 NaCl이 이차대사산물의 생산을 증가시키는 elicitor로 작용함을 알 수 있었다. 인삼의 특정 유효성분을 대량생산하기 위한 elicitor의 적절한 처리농도와 처리 시기는, 추후 다른 약용식물의 특정성분 함량 증가를 위한 실험에 기초 자료로 이용될 수 있으리라 기대된다.

## 적 요

인삼의 생장에서 염류의 집적은 우량 인삼의 생산에 많은 장애요인이 되고 있다. 본 연구에서는 순계 분리된 인삼의 우수 계통으로부터 NaCl 처리에 따른 생장을 조사와 ginsenoside의 생산에 미치는 영향을 조사하였다. 선발된 모상근(KGHR-8)으로부터 ginsenosides의 함량에 미치는 NaCl의 최적 농도를 조사하기 위하여 30일간 배양한 결과 NaCl의 농도가 증가함에 따라 모상근의 생장은 감소하였지만, total ginsenosides의 함량은 0.24 M NaCl 처리구에서 높은 증가를 가져왔으며 특히 광을 조사하여 배양한 결과 높게 검출되었다. 0.24 M NaCl 농도로 광상태하에서 배양시 panaxatriol의 함량은 대조구보다 36.5%, panaxadiol의 함량은 61.7% 증가하는 양상을 나타내었다 (Table 1). 또한 모상근의 생장을 최적 상태로 설정하기 위해 two step culture 방법을 조사한 결과, 0.05 M, 0.1 M NaCl 처리시 모상근의 생장은 각각 약 62%, 76% 감소한 반면, ginsenoside의 함량은 29%, 48% 각각 향상되었다. 모상근은 방어기작의 일환으로 NaCl을 elicitor로 인지하고 2차대사산물인 사포닌의 생산에 영향을 미치는 것으로 확인되었다.

## 사 사

본 연구는 과기부 자생식물이용기술개발사업단 (code PF06222-00)과 경희대 생명공학원 BK21사업의 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 sapoginins of ginseng and related crude drugs. Syoyakugaku Zasshi. 25:28-32.

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.

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.

Bhagwath SG, Hjorts MA (2000) Statigical analysis of elicitation strategies for thiarubrine: A production in hairy root cultures of *Ambrosia artemisiifolia*. J. Biotechnol. 80: 159-167.

Boyer JS (1982) Plant productivity and environment. Science 218:443-448.

Brachet J, Cosson L (1986) Changes in the total alkaloids content of *Datura innoxia* Mill subjected to salt stress. J. Exp. Bot. 37:650-656.

Butenko RG, Grushvilsky RV, Stepyan LI (1968) Organogenesis and embryogenesis in a tissue culture(*Panax ginseng*) and other *Panax* L. Species. Bot. Zh. 53(7):906-911.

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. Korea J. Breeding. 21:46-50.

Croughan SF, Stavarek SJ, Rains DW (1978) Selection of a NaCl tolerant line of cultured alfalfa cell. Crop Sci. 18:959-963.

Dicosmo F, Misawa M (1985) Eliciting secondary metabolism in plant cell cultures. Trends Biotechnol. 3:318-322.

Frischnecht PM, Baumann TW (1985) Stress-induced formation of purine alkaloids in plant tissue cultures of *Coffea arabica*. Phytochem. 24:2255-2257.

Hans DV, Masfield JW, Banley JA, Farmer EF (1994) Two classes of plant antibiotics: phytoalexins versus phytoantipicins. The Plant Cell. 6:1191-1192.

Hiraga H, Oshima T, Ishida M, Kajiyama G (1996) Angiotensin I-converting enzyme gene polymorphism and salt sensitivity in essential hypertension. Hypertension. 27:69-572.

Hong SJ, Lee YW, Joo CN (1987) Biosynthesis of saponins in *Panax ginseng*. Kor. J. Ginseng Sci. 11:136-144.

Huraki C, Taishi K, Yamashita K, Kagawa S (1993) Detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* using PCR and non-radioactive DNA probes. Rinsho Byori. 41:1159-1166.

In JG, Yang DC (2005) Transformation of Korean ginseng (*Panax ginseng* C.A. Meyer) with salt tolerance *SAL1* gene. Kor. J. Med. Crop Sci. 13:57-62.

In JG, Park DS, Lee BS, Lee TH, Kim SY, Rho YD, Cho DH, Jin CW, Yang DC (2006) Effect of potassium phosphate on growth and ginsenosides biosynthesis from ginseng hairy root. Kor. J. Med. Crop Sci. 14(6):371-375.

Jeong GT, Park DH (2005) Enhancement of growth and secondary metabolite biosynthesis: effect of elicitors derived from plants and insects. Biotech. Bioprocess Eng. 10:73-77.

Jeong GT, Park DH (2006) Enhanced secondary metabolite biosynthesis by elicitation in transformed plant root system: effect of abiotic elicitors. Appl. Biochem. Biotechnol. 129-132:436-446.

Jolley KA, Rapaport E, Hough DW, Danson MJ (1996)

- Dihydrolipoamide dehydrogenase from the halophilic archaeon *Haloflex volcanii* : homology over expression of the cloned gene. J. Bacteriol. 178:3044-3048.
- Joo CN, Kwak HS, Lee HB, Hwang B** (2000) Biosynthesis of saponins in *Panax ginseng* C. A. Meyer. I. Probable sites of the biosynthesis of ginseng saponin from acetate. Kor. J. Ginseng Sci. 7:108-114.
- 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.
- Kent FM, Hanson AD** (1992) Salt-inducible betaine aldehyde dehydrogenase from sugar beet: cDNA cloning and expression. Plant Mol. Biol. 18:1-11.
- Leon DD, Martha JL, Sanjaya R, Abdul MK** (1995) Rapid *in vitro* screening of some salt tolerant bread wheats. Cereal Research Communications. 23(4):383-389.
- Murashige T, Skoog F** (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Plant Physiol. 15:473-497.
- Nabors MW, Daniels A, Nadolny L, Brown C** (1975) Sodium chloride tolerant lines of tobacco cells. Plant Sci. Lett. 4:155-159.
- Park HJ, Oh SY, Choi KH, Meang SJ, Yoon ES, Yand DA** (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.
- Ryu JH, Kwon TH, Choi SY** (1991) Tissue culture for the selection salt tolerant lines in Alfalfa (*Medicago sativa* L.) Kor. J. Plant Tiss. Cult. 4:239-246.
- Sim SJ, Chang HN, Liu JR, Jung KH** (1994) Production and secretion of indole alkaloids in hairy root cultures of *Catharanthus roseus*: effects of in situ adsorption, fungal elicitation and permeabilization. J. Ferment. Bioeng. 78:229-234.
- Smith JI, Smat NJ, Kurz WGW, Misawa M** (1987) The use of organic compounds to increase the accumulation of indole alkaloids in *Catharanthus roseus* (L.) G. Cell suspension cultures. J. Exp. Bot. 38:1501-1506.
- 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. J. Plant Tiss. Cult. 25(6):525-530.
- Yoon YS, Kim MS, Yang DC** (2004) Selection of ginseng superior lines tolerant to salt stress through zygotic embryo culture. Kor. J. Plant Res. 17(3):257-264.
- You BS, Byun SJ** (2001) Characterization of batch culture and effect of various elicitors on ginsenoside production in suspension cultures of *Panax ginseng* C.A. Meyer. Kor. J. Biotechnol. Bioeng. 16:620-625.
- 남기열** (1991) 토양염류 농도가 고려인삼의 생육 및 수량에 미치는 영향. 박사학위논문, 충남대학교 대학원.
- 남기열** (1996) 최신고려인삼-성분 및 효능편. 한국인삼연초연구원. 천일인쇄사. p. 13-44.
- 목성균, 김명수, 홍순근, 이태수** (1987) 인삼의 생리장애에 관한 연구. 한국인삼연초연구소. 인삼연구보고서. p. 353-493.
- 배효원** (1979) 고려인삼연구소. 고려인삼. 238.
- 송기준, 이일호, 이명구** (1985) 인삼토양의 이화학성개량연구. 인삼연초연구소. 인삼연구보고서(재배분야). p. 681-783.
- 양덕춘, 이은경, 권우생** (2003) 인삼 염류내성 계통의 선발을 위한 배배양 배지조건. 한국약용작물학회지. 11:161-166.
- 오승용, 박효진, 최경화, 맹성주, 양계진, 양덕춘** (2000) Chitin과 Chitosan 처리에 의한 인삼모상근으로부터 Ginsenosides 생산. 고려인삼학회지. 24(2):68-73.
- 윤영상, 배창휴, 송원섭, 윤재호, 양덕춘** (2005) 염류내성관련 유전자 Betaine Aldehyde Dehydrogenase Gene의 인삼 체세포 배발생을 통한 형질전환. Kor. J. Plant Res. 18(1):15-21.
- 이태수, 목성균, 천성기, 최정** (1995) 적변인삼의 화학적 성분에 관한 연구. 고려인삼학회지. 19:77-83.
- 인준교, 박동식, 이범수, 이태후, 김세영, 노영덕, 조동하, 김성무, 양덕춘** (2006) 광 및 UV 조사가 인삼 모상근의 생장 및 사포닌 생합성에 미치는 영향. 한국약용작물학회지. 14(6):360-366.
- 정현숙, 황백, 유석** (1982) 벼 callus의 유도과 성장에 미치는 염의 영향. Kor. J. Plant Tiss. Cult. 9(1):35-42.