Elicitor 처리가 더덕사포닌 함량에 미치는 영향

김지아 · 배기화 · 최용의

Effect of elicited by methyl jasmonate on the saponin contents of *Codonopsis lanceolata*

Ji-Ah Kim · Kee-Hwa Bae · Yong-Eui Choi

Received: 1 September 2015 / Revised: 22 September 2015 / Accepted: 22 September 2015
© Korean Society for Plant Biotechnology

Abstract The roots of *Codonopsis lanceolata* (Campanulaceae) contain several kinds of triterpenoid saponin with high medicinal values, which have been used in traditional medicines. This study investigates the impacts of methyl jasmonate (MeJA) - adding time on the saponin synthesis and the hairy root growth of *C. lanceolata*. A significant decrease in major saponin (lancemaside of three kinds) content of hairy roots was observed with MeJA treatments. Contents of lancemaside A, B and E decreased about 15% more than non-treated hairy roots. In contrast, minor saponin (foetidissimoside A and aster saponin Hb) accumulation was about 15% higher than the non-treated hairy roots. These results suggest that MeJA treatment could be used in the production of teriterpene saponins.

Keywords Aster saponin Hb, Foetidissimoside A, Hairy root, Methyl jasmonate, Terpenoid saponin

서론

더덕(*Codonopsis lanceolata* Trautv.)은 전통적으로 진해제, 거담제, 해독제로 사용되어왔으며 (Ichikawa et al. 2009), 최근에는 더덕의 추출물을 이용한 임상실험결과들이 보고되면서 더덕 뿌리의 약리학적 효능이 새롭게 조명되고 있다(Joh et al. 2010; Jung et al. 2012; Weon et al. 2014). 또한 더덕뿌리 유래 사포닌과 페닐프로파노이드 배당체(phenylpropanoid glycosides)가 남성 갱년기 증후군(PADAM-like symptoms)을 개선하고(Sekita et al. 2005; Ushijima et al. 2007), 이 중 더덕 사포닌의 lancemaside A가 혈액 내 testosterone 감소를 억제하여 남성호르몬 개선에 효과가 있다고 알려져 있다(Ushijima et al. 2008). 뿐만 아니라 급성대장염(Joh et al. 2010)과 항염증을 완화시키며(Xu et al. 2008), 기억력과 학습결핍장애의 개선(Jung et al. 2012) 및 증숙더덕의 추출물이 인지능력 개선에 효과가 있다고 알려져 있다(Weon et al. 2014).

식물의 2차대사물질은 영양의 고갈이나 환경의 변화 또는 미생물에 의한 오염과 같은 스트레스를 받을 때 축적되기 시작하는 경향이 있다. 식물세포 및 조직을 배양함에 있어 배양체에 다양한 유인제(elicitor)를 이용한 스트레스를 가하여 이차대사산물의 생성을 촉진시키는 것을 광범위한 의미에서 elicitation이라 한다(Pitta-Alvarez et al. 2000). 세포배양 혹은 부정근과 같은 기관 배양 시 재료는 호르몬과 상처스트레스 등에 의한 높은 스트레스 상태에서 배양이 이루어짐으로 노지에서 재배되는 식물체와 비교하여 항산화 활성이 높은 것으로 나타났다(Kwak et al. 1995). 또한 이러한 배양체 - 세포, 부정근, 모상근 등 - 는 다양한 유인제 처리를 통해 이차대사물질의 축적 및 생산의 조절이 가능하다는 장점이 있다. 유인제 중 사포닌 생합성 연구에 주로 사용되는 물질은 MeJA로 식

J. A. Kim
국립산림과학원 산림생명공학과
(Division of Forest Biotechnology, Korea Forest Research Institute, Suwon 16631, Korea)

K. H. Bae
국립낙동강 생물자원관
(Nakdonggang National Institute of Biological Resources, Gyeongsangbuk-do 37242, Korea)

Y. E. Choi (✉)
국립강원대학교 산림자원학과
(Department of Forest Resources, Kangwon National University, Chuncheon 24341, Korea)
e-mail: yechoi@kangwon.ac.kr

물세포 발달과정에 있어 종자의 발아, 뿌리생장, 과일의 숙성과 노화(senescence)를 조절하며, 환경적으로는 병원균, 곤충, 상처와 비생물적 스트레스 등과 같은 자극에 의한 방어기작을 유도하는 신호전달 물질로 잘 알려져 있다(Cheong and Choi 2003). 또한 세포배양에서 이차대사물질의 합성을 유도하는 성장조절물질로 알려져 있다(Yukimune et al. 1996; Ketchum et al. 1999). 또한 주목의 세포로부터 paclitaxel 합성을 촉진하며(Yukimune et al. 1996; Ketchum et al. 1999), 인삼 부정근에서는 ginsenoside의 합성조절과 축적 및 생산량이 증가하였다(Kim et al. 2004; Choi et al. 2005; Kim et al. 2007; Kim et al. 2009). 최근에는 사포닌 외에도 MeJA를 유인제로 이용하여 다양한 이차대사물질의 합성 및 생산과 관련한 연구들이 보고되고 있다(Lee et al. 2015; Chodiseti et al. 2015).

본 연구에서는 이전 연구에서 보고되었던 방법(Kim et al. 2011)을 이용하여 생산한 더덕의 모상근을 재료로 사용하였다. *Agrobacterium-rhizogenes*를 이용한 모상근 배양은 세포배양에 비하여 생장이 빠르고 안정적이다. 또한 모상근은 안정적으로 이차대사산물을 생산하는 것으로 알려져 있으며, 다양한 생물반응기를 이용하여 대량 생산이 가능하다는 장점을 가지고 있다(Giri and Narasu 2000). 따라서 본 연구에서는 천연 약리성분으로 주목 받을 수 있는 더덕의 모상근을 유도한 후, 생육이 가장 좋은 라인을 선정하여 MeJA처리 후 사포닌 종류별 그 함량을 비교·분석하였다.

재료 및 방법

식물재료

식물재료는 강원대학교 연습림에서 채취한 자연산더덕을 기내로 들여와 배양실에서 생육하고 있는 더덕식물체를 사용하였다. 재료로 사용하기 4주전 계대배양을 실시하여 1일 16시간 조명($40 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 백색 형광등, $25\pm 2^\circ\text{C}$)으로 조절되는 배양실에서 생육시키며 재료의 상태가 신선한 것을 실험에 사용하였다.

사포닌 분석을 위한 더덕 모상근 유도

모상근 유도를 위한 재료로 절간 절편을 재료로 사용하였고 *Agrobacterium rhizogenes*은 R1000을 사용하였다. 절간절편은 0.5cm의 길이로 조제하고, *A. rhizogenes*은 Luria-Bertani (LB) broth 배지(10 g/L bacto-tryptone, 5 g/L bacto-yeast extract, 10 g/L NaCl)에 접종하였고, 28°C 진탕 배양기에서 48시간 동안 220rpm으로 배양 하여 절간 절편에 접종하였다. 접종 배지는 2% sucrose와 0.3% gelrite가 첨

가된 호르몬 무처리 MS (Murashige and Skoog, 1962)배지를 사용하였고, 1일 16시간 조명($40 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 백색 형광등), $25\pm 2^\circ\text{C}$ 로 조절되는 암조건 배양실에서 모상근을 유도하였다. 유도된 모상근 중 증식율이 가장 좋은 한 개의 라인(line 1)을 실험용 재료로 선발하였다. 대조구로는 더덕의 잎 절편 유래 부정근을 한 개 라인을 사용하였다.

모상근의 Methyl jasmonate (MeJA) 처리

1/2MS 고체배지에서 4주간 생육시킨 모상근 2 g을 취하여 1/2MS배지에 $100 \mu\text{M}$ 의 MeJA (Sigma, USA)가 포함된 250 ml 삼각플라스크에 접종하여 1, 5, 10일 간 $25\pm 1^\circ\text{C}$ 암조건에서 120 rpm으로 배양하였다. 배양일 별로 수확한 모상근은 1시간 동안 자연바람으로 물기를 제거하고 생체중을 측정하였으며, 60°C 고온건조기에서 건조하여 건물중을 측정하였다. 건조시킨 모상근 시료는 사포닌 분석을 위한 시료로 사용하였다.

시료준비

사포닌 분석을 위한 모상근시료는 60°C 건조기에서 48시간 건조하고 유발에 넣어 유봉으로 분쇄 후, 0.1 g씩 정량하여 $300 \mu\text{m}$ sieve를 통과한 시료를 사포닌 분석에 이용하였다. 사포닌 추출을 위하여 각 분석 시료에 100% MeOH 10 ml을 넣은 후, 80°C 수조에서 40분간 초음파분해를 실시하였다. 전처리 방법은 Sep-Pak C_{18} (Waters, USA) cartridge에 10 ml의 80% MeOH를 천천히 용출시켜 전처리 후, 추출 시료액 5 ml을 로딩한 후 100% MeOH 10 ml을 처리하여 천천히 사포닌을 용출하였다. 추출된 시료는 rotary evaporator (Eyela N1000-S, Japan)로 농축하였고, 농축된 시료는 20% acetonitrile을 이용하여 회수하였다. 회수된 시료는 $0.45 \mu\text{m}$ membrane filter (Waters, USA)로 여과하여 LC-MSMS 분석을 실시하였다.

LC-MSMS분석

Triterpenoid 사포닌은 lancemaside A, lancemaside B, lancemaside E, foetidissimoside A, aster saponin Hb로 가장 함량이 많은 순서의 5가지 사포닌을 분석하였다(Ichikawa et al. 2009). 분석을 위한 5가지 더덕사포닌 스탠다드의 분리는 TLC를 사용하여 분리하였다. TLC분석은 Merck 60F₂₅₄ silica plate (Darmsadt, Germany)에 1000 ppm 더덕 뿌리추출액 10 μl 을 점적하여 n-butanol:ethyl acetate:water (6:3:1, v:v:v)의 혼합용액으로 전개하였다. 전개된 사포닌은 10% sulfuric acid용액을 분사하여 110°C 핫플레이트에 10분간 놓아 둔 후, 육안 및 254 nm UV하에서 전개를 확인하였다. 각각의 사포닌이 전개된 silica plate의 silica powder를 회수하

여 100% chloroform에 용출시킨 후, 상온의 rotary evaporator로 농축하여 농축된 시료는 80% MeOH로 회수하여 이전 보고된 조건(Ichikawa et al. 2009)으로 확인 후 분석을 위한 standard로 사용하였다. 사포닌 분석을 위한 Liquid chromatography-mass spectrometry 분석은 LC/MSMS (TSQ Quantum Ultra, Thermo Scientific, USA)로 수행하였다. LC분석을 위한 column은 YMC-Pack Pro C18 RS (150×2.0 mm I.D., 5 μ m)를 사용하였다. 이동상은 H₂O (0.1% formic acid) : acetonitrile (73 : 27, v/v)을 사용하였고, 유속은 0.2 ml/min으로 설정하여 사용하였다. Column의 온도는 40°C를 유지하며, 시료는 각 20 μ l씩 주입하였다. Mass-spectrometer는 negative ion과 SIM (selected-ion monitoring)하에서 작동하였다. ESI (electrospray ionization) 방식은 4.5 kV의 spray voltage로 수행하였다. Capillary 전압과 tube lens offset은 각각 -40V과 -208V로 각각 고정하였다. Capillary 온도는 350°C로 고정하였다. 보조가스로 사용된 nitrogen은 30psi로 유지하였다. 분석 시간은 두 부분으로 나누었으며, lancemaside B와 lancemaside E는 RT 0~3.3min에 m/z 1,351, foetidissimoside A, aster saponin Hb와 lancemaside A는 RT 3.3~5min에 m/z 1,189, 1,057그리고 925로 분석하였다. Isolation width는 1.5 m/z 로 맞추었다.

표준시료는 lancemaside A, lancemaside B, lancemaside E, foetidissimoside A, aster saponin Hb를 각각 MeOH에 녹여 1000ppm을 준비 후, 최종농도를 100, 500, 1000 ppm농도로 희석하여 준비하였다. 샘플 및 표준용액은 3반복하여 각 20 μ l를 주입하여 분석을 실시하였고, 회수율은 93~107%로 관찰되었다. 정량곡선 및 방법은 Ichikawa 등 (2009)의 방법을 따랐으며, 통계처리를 위하여 각각의 시료는 3반복하여 정량하였다.

통계처리

모든 측정값은 3반복하여 측정한 평균값과 표준편차 (mean $\pm$ SD)로 하였다.

결과 및 고찰

모상근의 생육에 있어 Methyl jasmonate (MeJA) 효과

더덕의 모상근을 유도하여 100 μ M MeJA가 첨가된 액체 배지에서 1, 5, 10일간 배양한 후, 더덕의 주요 사포닌 lancemaside A, lancemaside B, lancemaside E, foetidissimoside A, aster saponin Hb의 함량을 비교·분석하였다.

모상근에 MeJA를 처리한 결과 배양 기간이 증가 할수록 모상근의 생체중과 건물중이 감소하는 것으로 나타났다(Fig. 1). MeJA 무처리구에서의 생체중은 접종 시 생체

Fig. 1 Effects of methyl jasmonate on growth of *Codonopsis lanceolata* hairy roots 1 line for 1 to 10-day elicitation period. A: fresh weight of 1 line hairy roots, B: dry weight of 1 line hairy roots. The data are expressed as the means of five replications along with their standard deviation

중 보다 20%증가하였으나, MeJA처리한 모상근에서는 25%의 생체중이 감소하였다. 건물중 또한 무처리구에서는 20% 증가하였으나, MeJA 처리구에서는 15% 감소하였다(Fig. 1). 이와 같은 결과는 이전 보고된 연구에서도 인삼 부정근에 100 μ M MeJA를 처리하였을 때 부정근의 생장 및 생체중과 건물중이 감소한 반면, 사포닌의 함량은 증가하였다는 보고와 유사하였다(Kim et al. 2004; Lim et al. 2005).

더덕 사포닌에 있어 Methyl jasmonate (MeJA) 효과

5가지 더덕의 사포닌 함량을 배양 시기별로 분석한 결과 주 사포닌인 lancemaside A, lancemaside B, lancemaside E의 축적량은 오히려 비처리구와 비교하여 MeJA처리 시 감소되는 것이 관찰되었다(Fig. 2). 무처리 모상근에서 lancemaside A는 배양 5일에서 함량이 증가하여 2.5 mg의 축적량이 나타났으며, 10일 배양한 것에서는 축적량이 감소하는 경향이 나타났다(Fig. 2). MeJA를 5일과 10일간 배양한 처리구에서는 평균 1.5 mg의 lancemaside A가 축적된 것이 관찰되었으며, 1일 처리한 것에 비교하면 함량이 증가하였으나, 무처리구와 비교한 결과 40%의 감소량을 보였다

Fig. 2 Triterpenoid saponin accumulation according to the day after treatment with methyl jasmonate in line 1 hairy roots of *C. lanceolata*. (A) Total contents of lancemaside A in line 1 hairy root, (B) Total contents of lancemaside B in line 1 hairy root, (C) Total contents of lancemaside E in line 1 hairy root, (D) Total contents of Foetidissimoside A in line 1 hairy root, (E) Total contents of aster saponin Hb in line 1 hairy root, (F) Total contents of terpenoid saponin in each treatment and periods in line 1. Con (control) is adventitious roots. The data are expressed as the means of three replications along with their standard deviation

(Fig. 2A). Lancemaside B 또한 lancemaside A와 유사한 경향을 보였으며 MeJA처리한 것이 무처리구와 비교해 40% 정도 사포닌 함량이 감소하는 것이 관찰되었다(Fig. 2B). Lancemaside E에서는 MeJA처리 시 처리 기간이 증가할수록 함량이 감소하는 경향을 보였으나, 무처리구와 비교 시 17% 정도의 감소량을 보였다(Fig. 2C). 위의 결과와 같이 Lancemaside A, B, E는 MeJA처리 시 함량이 감소하는 것으로 나타났으나, 마이너(minor)사포닌인 foetidissimoside A, aster saponin Hb의 경우에는 MeJA처리 시 함량이 증가하는 것으로 나타났다. Foetidissimoside A는 무처리구에서는 배양 기간이 길어질수록 함량이 증가하였고, 배양 10일에서 0.55 mg의 함량을 얻을 수 있었으며, MeJA

처리구에서는 배양 1일에서 0.62 mg의 함량이 축적되어 무처리구와 비교하여 함량이 15%정도 증가한 것으로 나타났다(Fig. 2D). Aster saponin Hb는 MeJA처리에 의해 18%의 함량이 증가한 것으로 나타났으며 배양 10일에서 가장 높은 함량을 보여 주었다(Fig. 2E). MeJA의 처리와 무처리 모상근의 전체 사포닌 함량은 무처리 구에서 30% 정도 높게 축적된 것이 관찰되었다(Fig. 2F). 이에 따른 스탠다드 컨트롤과 foetidissimoside A, aster saponin Hb의 대표적인 ion chromatographs는 Figure 3에 나타나 있다.

모상근은 이차대사물질 함량 증대와 대량생산을 위해 형질전환 방법으로 생산된 뿌리로 본 연구에서는 모상근을 재료로 이차대사물질의 유인제 중 하나인 MeJA를 처

Fig. 3 Total ion and mass chromatograms obtained from a methanol extract of the line 1 hairy root according to the day after treatment with methyl jasmonate peak (1), non-treatment peak (2) and the standard control (adventitious roots) peak (3). A: aster saponin Hb B: foetidissimoside A

리하여 처리 기간에 따른 더덕사포닌의 함량 축적을 비교·분석하였다. 이러한 elicitor처리를 통한 이차대사물질의 축적함량 비교는 주로 인삼(ginseng) 사포닌함량 증가 연구를 위해 주로 수행 되었으며, 현재도 연구가 활발하게 이루어지고 있다. 최근에는 다양한 수종에서 이차대사물질의 합성 및 함량 증가를 위해 MeJA처리를 통한 연구보고가 계속 이루어지고 있다. Kim et al. (2007)은 병풀(*Centella asiatica* (L.))의 모상근에 MeJA처리를 통해 경제성이 높은 물질인 asiaticoside와 madecassoside의 축적함량을 증가시켰다고 보고하였으며, Yang et al. (2015)은 땅콩의 모상근을 유도 후 MeJA를 처리하여 Resveratrol, Piceatannol, Arachidin-1, and Arachidin-3의 생산량이 증가 하였다는 연구결과를 발표하였다. 사포닌의 연구가 가장 많이 수행된 작물은 인삼이다. 인삼 또한 Rb1, Rb2, Rc, Rd, Re, Rf, Rg1 ginsenoside과 같은 주(major)사포닌과 Rg3, Rh2, Rk ginsenoside 등의 마이너(minor)사포닌이 존재하며, 마이너사포닌의 경우 미량이 존재하지만 약리활성은 메이저사포닌보다 매우 뛰어나다고 알려져 있다. 최근에는 Rg3와 같이 약리활성이 매우 뛰어나지만 홍삼에만 있고 인삼에는 존재하지 않는 이러한 마이너사포닌의 함량을 높일 수 있는 연구가 계속 이루어지고 있으며, Kim et al. (2013)은 인삼의 모상근에 MeJA를 7일간 처리하여 마이너사포닌 Rg3 ginsenoside가 합성되었다는 것을 보고하였다. 이전 연구(Kim et al. 2011)에서 *Agrobacterium rhizogenes*을 이용한 모상근을 생산하여 triterpenoid 사포닌 함량을 분석한 결과 일반식물체의 뿌리사포닌 함량과 비교해 전체 사포닌 함량이 1.6배 높은 모상근 라인을 선발할 수 있었

다. 이렇게 선발된 모상근을 재료로 MeJA를 처리한 결과 더덕의 주(major)사포닌의 함량은 감소하였고, 마이너(minor)사포닌의 함량이 증가하는 경향이 나타났다. 이러한 결과는 인삼 등의 수종에서 MeJA처리 시 주사포닌의 함량이 증가하였다는 결과와 다른 결과로 대표적인 elicitor인 MeJA의 처리가 모든 terpenoid계 사포닌의 함량을 증가시키지 않을 수 있다는 것을 보여주고 있는 결과이다. 또한 마이너사포닌의 함량이 증가한 것에 대해서는 더 많은 연구가 이루어져야 할 것으로 생각된다. 이러한 결과는 향후 triterpenoid 사포닌인 lancemaside A 등과 같이 약리학적 기능이 밝혀진 사포닌 혹은 foetidissimoside A, aster saponin Hb와 같은 마이너(minor)사포닌 등의 함량을 임의로 높이거나 낮추는 등의 조절을 통해 산업적으로 활용이 가능할 것으로 사료되며, 향후 이와 관련된 연구가 더 이루어져 생화학적 경로 등이 밝혀지고 연구가 이루어진다면 더덕의 경제적 가치는 더욱더 향상될 수 있을 것이다.

적 요

더덕은 예로부터 약용으로 사용 되어 왔으며, 더덕의 뿌리에는 약용으로 가치가 높은 여러 종류의 triterpenoid 사포닌이 포함되어 있다. 본 연구에서는 더덕의 모상근 생육과 methyl jasmonate (MeJA)처리에 의한 사포닌 합성의 효과를 연구하였다. 더덕 모상근에 MeJA를 처리한 결과 주사포닌인 lancemaside A, B, E의 축적은 MeJA 무처리 모상근 보다 약 15% 정도 감소하였다. 반면 마이너사포닌(foetidissimoside A와 aster saponin Hb)의 함량은 무처리 모상근 보다 약 15% 정도로 증가하였다. 이 결과를 통해 MeJA처리가 triterpene 사포닌의 생산조절을 위해 사용될 수 있는 것으로 판단된다.

References

- Cheong JJ, Choi YD (2003) Methyl jasmonate as a vital substance in plants. *Trends Genet* 19:409–413
- Chodisetti B, Rao K, Gandhi S, Giri A (2015) Gymnemic acid enhancement in the suspension cultures of *Gymnema sylvestre* by using the signaling molecules—methyl jasmonate and salicylic acid. *In Vitro Cell Dev Biol Plant* 51:88–92
- Choi DW, JD Jung, Y Im Ha, HW Park, DS In, HJ Chung (2005) Analysis of transcripts in methyl jasmonate-treated ginseng hairy roots to identify genes involved in the biosynthesis of ginsenosides and other secondary metabolites. *Plant Cell Rep* 23:557–566
- Gaidi G, Marouf A, Hanquet B, Bauer R, Correia M, Chauffert B and Lacaille-Dubois MA (2000) A new major triterpene saponin from the roots of *Cucurbita foetidissima*. *J Nat Prod*

- 63:122-124
- Giri A, Narasu ML (2000) Transgenic hairy roots: recent trends and applications. *Biotechnol Adv* 18:1-22
- Ichikawa M, Ohta S, Komoto N, Ushijima M, Kodera Y, Hayama M, Shiota O, Sekita S and Kuroyanagi M (2009) Simultaneous determination of seven saponins in the roots of *Codonopsis lanceolata* by liquid chromatography-mass spectrometry. *J Nat Med* 63:52-57
- Joh EH, Lee IA, Han SJ, Chae SJ and Kim DH (2010) Lancemaside A ameliorates colitis by inhibiting NF- κ B activation in TNBS-induced colitis mice. *Int J Colorectal Dis* 25:545-551
- Jung IH, Jang SE, Joh EH, Chung J, Han MJ and Kim DH (2012) Lancemaside A isolated from *Codonopsis lanceolata* and its metabolite echinocystic acid ameliorate scopolamine-induced memory and learning deficits in mice. *Phytomedicine* 20:84-88
- Kim JA, Kim YS, Choi YE. (2011) Triterpenoid production and phenotypic changes in hairy roots of *Codonopsis lanceolata* and the plants regenerated from them. *Plant Biotechnol Rep* 5:255-263
- Kim OT, Bang KH, Kim YC, Hyu DY, Kim MY (2009) Upregulation of ginsenoside and gene expression related to triterpene biosynthesis in ginseng hairy root cultures elicited by methyl jasmonate. *Plant Cell Tissue Organ Cult* 98:25-33
- Kim OT, Bang KH, Shin YS, Lee MJ, Jung SJ, Hyun DY, Kim YC, Seong NS, Cha SW (2007) Enhanced production of asiaticoside from hairy root cultures of *Centella asiatica* (L.) Urban elicited by methyl jasmonate. *Plant Cell Rep* 26:1941-1949
- Kim OT, Yoo NH, Kim YC, Bang KH, Hyun DY, Kim SH, Kim MY (2013) Stimulation of Rg3 ginsenoside biosynthesis in ginseng hairy roots elicited by methyl jasmonate. *Plant Cell Tissue Organ Cult* 112:87-93
- Kim YS, Hahn EJ, Murthy HN, Paek KY (2004) Adventitious root growth and ginsenoside accumulation in *Panax ginseng* cultures as affected by methyl jasmonate. *Biotechnol Lett* 26:1619-1622
- Kim YS, Yeung EC, Hahn EJ, Paek KY (2007) Combined effects of phytohormone, indole-3-butyric acid, and methyl jasmonate on root growth and ginsenoside production in adventitious root cultures of *Panax ginseng* C.A. Meyer. *Biotechnol Lett* 29:1789-1792
- Kim YS, Hahn EJ, Murthy HN, Paek KY (2004) Adventitious root growth and ginsenoside accumulation in *Panax ginseng* cultures as affected by methyl jasmonate. *Biotechnol Lett* 26:1619-1622
- Kwak SS, Kim SK, Lee MS, Jung KH, Park IH, Liu JR (1995) Acidic peroxidases from suspension-cultures of sweet potato. *Phytochemistry* 39:981-984
- Lee EJ, Park SY, Paek KY (2015) Enhancement strategies of bioactive compound production in adventitious root cultures of *Eleutherococcus koreanum* Nakai subjected to methyl jasmonate and salicylic acid elicitation through airlift bioreactors. *Plant Cell Tissue Organ Cult* 120:1-10
- Lim S, Bae KH, Shin CG, Kim YY, Kim YS (2005) Increase of secondary metabolites and antioxidative activity in *Panax ginseng* adventitious root by methyl jasmonate. *Korea J plant biotechnol* 32:225-231
- Murashige T and Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant* 15:473-497
- Pitta-Alvarez SI, Spollansky TC and 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 Microb Technol* 26:252-258
- Sekita S, Kuroyanagi M, Yasuda K, Mizuno I, Ushijima M, Hayama M, Ichikawa M and Sumihiro M (2005). Drug for ameliorating male climacteric disorder. U.S. Patent 2008 0274213 A1
- Ushijima M, Mizuno I, Suzuki E, Amayasu R, Ishii S, Nishihama, T, Morihara N, Kashimoto N, Mouri Y and Sumioka I (2007) Improvement of PADAM-like symptoms in middle-aged men by a designer food containing *Codonopsis lanceolata*. *Pharmacometrics* 72:23-30
- Weon JB, Yun BR, Lee JW, Eom MR, Ko HJ, Lee HY, Park DS, Chung HC, Chung JY, Ma CJ (2014) Neuroprotective Effect of Steamed and Fermented *Codonopsis lanceolata*. *Biomol Ther (Seoul)* 22:246-253
- Xu L, Wang H, Yuan Z (2008) Triterpenoid saponins with anti-inflammatory activity from *Codonopsis lanceolata*. *Planta Med* 74:1412-1415
- Yan T, Fang L, Nopo-Olazabal C, Condori J, Nopo-Olazabal L, Balmaceda C, and Medina-Bolivar F (2015) Enhanced Production of Resveratrol, Piceatannol, Arachidin-1, and Arachidin-3 in Hairy Root Cultures of Peanut Co-treated with Methyl Jasmonate and Cyclodextrin. *J Agric Food Chem* 63:3942-3950