



研究报告

Research Report

基于关键酶靶点基因研究内生青霉 P116-1a 提高刺五加皂苷含量的机制

邢朝斌[✉], 龙月红[✉], 杨果[✉], 李非非[✉]

河北联合大学生命科学学院, 唐山, 063000

[✉] 通讯作者: xzbheuu@126.com; [✉] 作者

植物药与药理学杂志, 2015 年, 第 4 卷, 第 2 篇

收稿日期: 2015 年 01 月 04 日

接受日期: 2015 年 01 月 14 日

发表日期: 2015 年 01 月 25 日

本文首次发表在《基因组学与应用生物学》(2015, Vol.34, No.1)上。现依据版权所有人授权的许可协议, 采用 Creative Commons Attribution License 对其进行授权, 再次发表与传播。只要对原作有恰当的引用, 版权所有人允许并同意第三方无条件的使用与传播。建议最佳引用格式:

引用格式(中文):

邢朝斌等, 2015, 基于关键酶靶点基因研究内生青霉 P116-1a 提高刺五加皂苷含量的机制, 基因组学与应用生物学, 34 (1): 155-159 (doi: [10.13417/j.gab.034.000155](https://doi.org/10.13417/j.gab.034.000155))

引用格式(英文):

Xing et al., 2015, The Mechanism that the Inoculated *Penicillium minioluteum* P116-1a may Enhance Saponins Content of the *Eleutherococcus senticosus* based on Studies of Target Genes of Key Enzymes, Genomics and Applied Biology, 34 (1): 155-159 (doi: [10.13417/j.gab.034.000155](https://doi.org/10.13417/j.gab.034.000155))

摘要 为了探明刺五加鲨烯合酶(squalene synthase, SS)、鲨烯环氧酶(squalene epoxidase, SE)和 β -香树酯醇合成酶(β -amyrin synthase, β -AS)基因家族各成员中靶点基因在内生青霉 P116-1a 提高皂苷含量的作用机制, 我们利用 Real time PCR 法检测了回接 P116-1a 对刺五加 SS、SE 和 β -AS 基因家族各成员表达的影响; 应用分光光度法测定总皂苷含量变化, 并以 SPSS17.0 软件进行相关性分析。结果表明, 回接菌株 P116-1a 后, SS1 的表达量显著降低($p < 0.05$), SS2 呈先高后低的变化趋势。SE1 的表达量显著提高($p < 0.05$)。回接的早期, P116-1a 显著抑制了 SE2 的表达($p < 0.05$), 之后回复正常。 β -AS1 呈现先高后低的变化趋势与 SS1 的变化趋势相似; β -AS2 基因的表达量显著提高($p < 0.05$)。菌株 P116-1a 显著提高了刺五加的皂苷含量($p < 0.05$)。SS2、SE1 和 β -AS2 的表达量变化与刺五加的皂苷含量变化呈显著的正相关关系。我们初步判断, SS2、SE1 和 β -AS2 是 P116-1a 提高刺五加皂苷含量的作用靶点基因。

关键词 刺五加, 内生青霉, 皂苷类, 靶点基因, 五加鲨烯合酶, 鲨烯环氧酶, β -香树酯醇合成酶

The Mechanism that the Inoculated *Penicillium minioluteum* P116-1a may Enhance Saponins Content of the *Eleutherococcus senticosus* based on Studies of Target Genes of Key Enzymes

Xing Zhaobin[✉], Long Yuehong[✉], Yang Guo[✉], Li Feifei[✉]

College of Life Science, Hebei United University, Tangshan, 063000

[✉] Corresponding author, xzbheuu@126.com; [✉] Authors

Abstract In order to ascertain the mechanism that the inoculated *Penicillium minioluteum* P116-1a might enhance saponins content of *Acanthopanax* (*Eleutherococcus senticosus*), which possible regulated with the target genes in each gene family members of squalene synthase (SS), squalene epoxidase (SE) and β -amyrin synthase (β -AS). We analyzed the genes' expression of the SS, SE and (β -AS) in the acanthopanax (*E. senticosus*) that was inoculated with *Penicillium minioluteum* P116-1a by quantitative real time PCR; β -AS while we measured saponins content of *E. senticosus* by using spectrophotometry method and did the correlation analysis based on SPSS software (ver. 17.0). The results showed that after inoculated with *Penicillium minioluteum* P116-1a the expression of SS1 was significantly depressed ($p < 0.05$), while the expression of SS2 was increased at the beginning and then fell down; whereas SE1 expression was significant improved ($p < 0.05$); the expression of SE2 was significantly inhibited in the early stage of inoculated with P116-1a ($p < 0.05$), but then was recovered soon. The expression trend of β -AS1 was as similar as that of SS2 that was increased at the beginning and then was fell down soon. But β -AS2 expression was significant improved ($p < 0.05$). The further results exhibited that inoculated *Penicillium minioluteum* P116-1a significantly enhanced the saponins content of *E. senticosus* ($p < 0.05$). The relationship between the saponins content of *E. senticosus* and the expression levels of SS2, SE1 and β -AS2 presented obvious positive. We preliminary judged that the genes of SS2, SE1 and β -AS2 might be the target gene that involved in enhancing the saponins content *E. senticosus* while *Penicillium minioluteum* P116-1a applied to inoculate on the acanthopanax (*Eleutherococcus senticosus*).

Keywords *Acanthopanax Eleutherococcus senticosus*, *Penicillium minioluteum* P116-1a, Saponins, Squalene synthase (SS), Squalene epoxidase (SE), β -amyrin synthase (β -AS)

刺五加[*Eleutherococcus senticosus* (Rupr. et Maxim) Maxim]是五加科的珍贵药用植物, 化学成分分析的结果表明, 三萜皂苷类化合物是其主要药用成分之一(涂正伟等, 2011)。在植物体内, 三萜皂苷类化合物的生成过



程中, 鲨烯合酶(squalene synthase, SS)负责异戊二烯途径的第一步酶促反应, 催化 2 分子的法呢酰基二磷酸缩合成为 1 分子鲨烯(Kim et al., 2011)。鲨烯环氧酶(squalene epoxidase, SE)负责随后的氧化反应, 催化鲨烯氧化生成 2,3-氧化鲨烯(Han et al., 2010)。β-香树酯醇合成酶(β- amyrin synthase, β-AS)负责催化 2,3-氧化鲨烯环化形成 β-香树酯醇, 从而使 2,3-氧化鲨烯进入三萜皂苷合成代谢支流(Wu et al., 2012; Jin et al., 2014)。三者同为三萜皂苷生物合成的关键酶。

内生菌广泛分布于药用植物体内, 并可对宿主植物的药用成分含量产生重要的影响(马广强等, 2014)。菌株 P116-a 为分离自刺五加的内生青霉(*Penicillium minioluteum*), 回接该菌株后在显著提高刺五加皂苷含量的同时对宿主的正常生长发育也无不良影响(邢朝斌等, 2009)。Real-time PCR 分析的结果表明, P116-1a 菌株可显著改变刺五加 SS、SE 和 β-AS 基因的表达量, 进而影响刺五加的皂苷含量(邢朝斌等, 2012)。但随后的研究发现, 和其他物种相似, 刺五加的 SS、SE 和 β-AS 基因均存在基因家族现象(邢朝斌等, 2014)。对拟南芥(Rasbery et al., 2007), 人参(Han et al., 2010)等物种关键酶基因家族的研究结果表明, 基因家族的各成员虽然结构相似, 但各自的时、空表达特点和催化效率等却各有不同。这说明基因家族的不同成员对药用植物的药用成分合成具有不同的贡献和不同的作用机理。

因此, 本研究从基因家族全部成员的角度, 分别分析 SS、SE 和 β-AS 基因家族的各成员在回接 P116-1a 后的表达情况, 进而明确各成员对刺五加皂苷合成的影响, 试图揭示内生菌提高药用植物药用成分含量的基因机制。

1 结果与分析

1.1 接种 P116-1a 对刺五加 SS1、SS2 表达的影响

对回接内生青霉菌株 P116-1a 后, 刺五加 SS1 和 SS2 基因的表达量均发生显著改变(图 1)。其中, SS1 基因在回接 P116-1a 后显著降低($p<0.05$), 最低表达量出现在回接 60 d 时, 仅为对照组 SS1 表达量的 19.7%。SS2 基因在回接 P116-1a 菌株 30 d 时, 显著提升至对照组的 1.55 倍($p<0.05$), 之后开始下降, 回接 60 d 时与对照组持平, 之后降至显著低于对照组的表达水平($p<0.05$)。

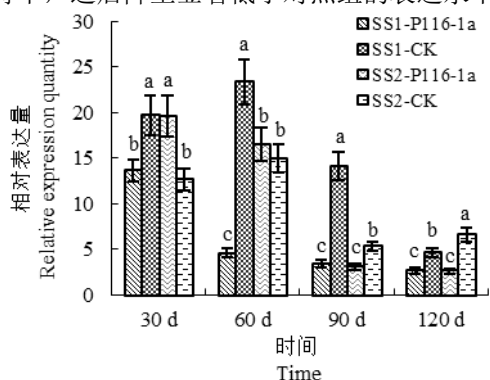


图 1 接种 P116-1a 对刺五加 SS 基因家族表达的影响

注: 不同小写字母代表差异显著($p<0.05$)

Figure 1 The effect of inoculated with P116-1a on the expression of SS gene family in *E. senticosus*

Note: The different small letters mean significant difference ($p<0.05$)

1.2 接种 P116-1a 对刺五加 SE1、SE2 表达的影响

回接内生青霉 P116-1a 菌株后, 刺五加 SE 基因家族的表达变化如图 2 所示。在回接菌株 P116-1a 的整个生长期间, SE1 基因的表达水平被显著提高($p<0.05$), 其中, 回接 30 d 时的提升水平最大, 达对照组的 2.61 倍, 回接 90 d 时的提升水平最低, 为对照的 1.35 倍, 但回接 60~120 d 时, P116-1a 对 SE1 的表达量提升水平差异不显著。与此不同, 在回接 P116-1a 菌株 60 d 以内, SE2 的表达被显著抑制($p<0.05$), 其中, 回接 60 d 时的表达量最低, 仅为对照组的 22.3%, 之后回升至对照组 SE2 的表达水平。

1.3 接种 P116-1a 对刺五加 β-AS1、β-AS2 表达的影响

回接内生青霉 P116-1a 菌株后, 刺五加 β-AS 基因家族的表达变化如图 3 所示。回接 60 d 以内, 宿主刺五加 β-AS1 基因的表达量显著升高, 其中, 最大值出现在回接 60 d 时, 达对照的 4.77 倍。回接 90 d 时急速降低至对照的 25.5%, 回接 120 d 时回升至略高于对照组的表达水平, 但两者差异不显著。在回接后的整个生长期



内, P116-1a 菌株显著提升了 β -AS2 基因的表达水平, 与对照组相比, 平均提升 2.84 倍。其中, 回接 90 d 时的提升量最大, 达对照的 4.17 倍, 回接 120 d 时的提升量最小, 为对照组 β -AS2 表达量的 1.89 倍。

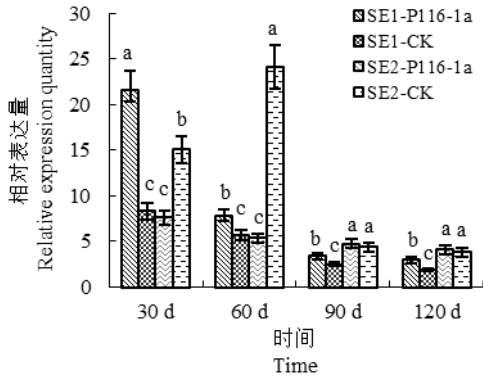


图 2 接种 P116-1a 对刺五加 SE 基因家族表达的影响

注: 不同小写字母代表差异显著($p < 0.05$)

Figure 2 The effect of inoculated with P116-1a on the expression of SE gene family in *E. senticosus*

Note: The different small letters mean significant difference ($p < 0.05$)

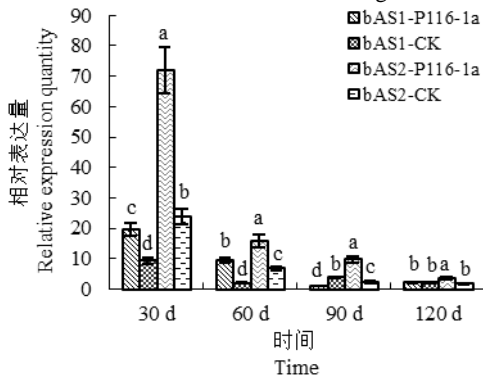


图 3 接种 P116-1a 对刺五加 β -AS 基因家族表达的影响

注: 不同小写字母代表差异显著($p < 0.05$)

Figure 3 The effect of inoculated with P116-1a on the expression of β -AS gene family in *E. senticosus*

Note: The different small letters mean significant difference ($p < 0.05$)

1.4 接种 P116-1a 对刺五加皂苷含量的影响

回接内生青霉 P116-1a 菌株后, 刺五加皂苷的积累规律与对照组基本相符, 但宿主刺五加的总皂苷含量均显著高于对照组的含量($p < 0.05$), 整个生长期平均提高了 3.31 倍。其中, 回接 30 d 时的提升水平最大, 达对照组皂苷含量的 4.38 倍, 回接 120 d 时的提升量最小, 为对照组含量的 1.65 倍。

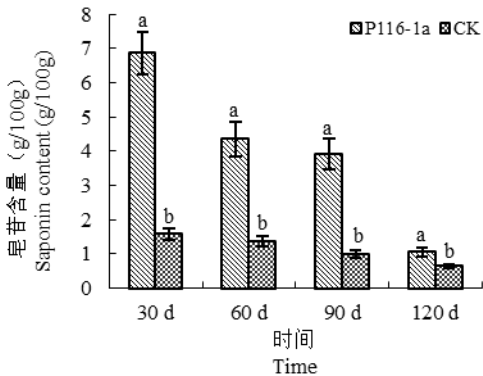


图 4 接种 P116-1a 对刺五加皂苷含量的影响

注: 不同小写字母代表差异显著($p < 0.05$)



Figure 4 The effect of inoculated with P116-1a on the saponins content of *E. senticosus*

Note: The different small letters mean significant difference ($p < 0.05$)

1.5 关键酶基因家族表达和皂苷含量的相关性

相关性分析结果表明, 回接菌株 P116-1a 后, 刺五加的 SS2、SE1 和 β -AS2 的表达量显著提高, 其提升量与皂苷含量的变化同升同降, 相关系数分别为: 0.917、0.814 和 0.878, 存在显著的正相关关系($p < 0.05$)。而 SS1、SE2 和 β -AS1 的表达量与皂苷含量变化间的相关系数较低, 分别为: -0.264、-0.371 和 0.671, 未达显著水平。

2 讨论

对药用植物内生真菌的研究表明, 内生菌进入宿主体内后, 将首先引起宿主抗逆和信号转导相关基因的表达变化, 之后这些变化作用于宿主植物次生代谢有关的基因, 改变其表达量后, 才能最终引起药用植物有效成分含量的大量生产和积累(邢朝斌等, 2012; 马广强等, 2014)。

目前, 刺五加的皂苷合成关键酶基因已陆续被克隆, 并分析了 P116-1a 对刺五加关键酶基因表达的影响(邢朝斌等, 2012)。但随后的研究表明, 包括刺五加在内的生物体中, 催化三萜皂苷生物合成的 SS、SE 和 β -AS 均以 2 个或 2 个以上成员构成的基因家族的形式存在(Manfield et al., 2007; Uchida et al., 2009; 邢朝斌等, 2014), 但不同物种中其成员数量不同, 且各成员的表达特性也存在差异(Han et al., 2010; 邢朝斌等, 2014)。

目前, 此类研究主要集中于哺乳类动物, 而对药用植物的相关研究较少(Manfield et al., 2007)。对人参 SS 基因家族的研究显示, 人参具有 PgSS1、PgSS2 和 PgSS3 共 3 个成员, 三者均具有相同的生物学功能, 但 PgSS1 与管家基因类似, 在所有组织中均稳定表达, 而 PgSS2 主要在叶和根中高表达, PgSS3 则在叶中高表达;

另外, 虽然三者都能在茉莉酸甲酯处理后提升表达量, 但 PgSS2 和 PgSS3 的提升量较小, 未达显著水平, 而 PgSS1 的提升量显著高于对照(Kim et al., 2011)。拟南芥的测序结果显示, 其 SE 基因家族由 6 个成员构成, 其中成员 1~3 编码有功能的鲨烯环氧酶, 4~6 无活性(Uchida et al., 2009)。而人参的 SE 有 2 个具有生物学功能的成员, 茉莉酸甲酯仅提高了 PgSE1 的表达, 而 PgSE2 的表达却受到了抑制(Han et al., 2010)。

在不考虑基因家族各成员的情况下, 对各关键酶基因家族进行统一分析的结果表明, 回接内生青霉 P116-1a 后, SS 基因家族的整体表达量仅在回接早期显著提高。而随着回接时间的延长, SE 基因家族的表达量逐渐上升, 至回接 120 d 时显著高于对照, β -AS 基因家族的整体表达量除回接的早期(30 d)外, 均显著高于对照(邢朝斌等, 2012)。

本研究中, 菌株 P116-1a 显著提升了刺五加 SS2、SE1 和 β -AS2 的表达量且与刺五加的皂苷含量呈显著的正相关关系。说明, 上述 3 个基因是内生真菌 P116-1a 提高刺五加皂苷含量的主要作用靶点基因, 这一结果与刺五加 SS、SE 和 β -AS 基因家族各成员对刺五加皂苷生物合成作用强度的分析结果相一致(邢朝斌等, 2014)。但与 P116-1a 对 SS 基因家族总体表达量改变较小的结果(邢朝斌等, 2012)显著不同。这主要是因为 P116-1a 在显著提高刺五加 SS 基因家族中 SS2 表达的同时, 也显著抑制 SS1 的表达, 即此消彼长的原因造成的。

3 材料与方法

3.1 试验材料

刺五加(*Eleutherococcus senticosus*)采自吉林省梅河口市。内生青霉菌株 P116-1a 由本实验室分离、鉴定和保藏。为了便于对结果进行比较, 参照文献的方法(邢朝斌等, 2012), 分别在回接 P116-1a 菌株 30 d、60 d、90 d 和 120 d 后, 取叶片作为提取 RNA 和测定皂苷含量的试材。

3.2 P116-1a 的回接与鉴定

将冻存的内生青霉 P116-1a 菌种(*Penicillium minioluteum*)接种在马铃薯葡萄糖培养基上, 28℃培养 7 d 后, 收集活化的孢子与菌丝配成水悬液。参照文献(邢朝斌等, 2012)的方法进行培养, 并进行回接与鉴定。

3.3 RNA 的提取、反转录与引物

利用植物总 RNA 提取试剂盒(天根生物有限公司)和 RevertAid™ First strand cDNA synthesis Kit (日本 TaKaRa 公司)分别提取对照及回接 P116-1a 菌株 30 d、60 d、90 d 和 120 d 后各样本的总 RNA, 并取 1 μ L 总 RNA 反转录为 cDNA。

根据刺五加 SS 基因家族的 SS1 成员(HQ456918)、SS2 成员(JN714465)、SE 基因家族的 SE1 成员(JF818129)、SE2 成员(JN228206)、 β -AS 基因家族的 β -AS1 成员(JF818130)、 β -AS2 成员(JF818131)和内参照基因 actin (KC469585)的 cDNA 全长序列, 利用 real-time PCR 扩增引物设计的基本原则, 分别设计各基因的扩增



引物,并由生工生物(上海)公司进行合成。扩增 SS1 基因的引物对为 5'-GAGATCCTGCTATCTTCCGGTTT-3' 和 5'-AGACCACGCCTCAGTTTCACTAC-3', 扩增长 118 bp 的片段; 扩增 SS2 基因的引物对为 5'-TCACGACTAGATGGACAAGCAA-3'和 5'-GCCAATAACAAGAGCAGGAATG-3', 扩增长 143 bp 的片段; 扩增 SE1 基因的引物对为 5'-TAAAGTCGGAAGGAGTTCG-3'和 5'-CTTAGTGAATGAATGGGAGG-3', 扩增长 82 bp 的片段; 扩增 SE2 基因的引物对为 5'-TGACAAAGCAAGGCAAGAAATG-3'和 5'-AGCGACAGCAAAGAAGTGGAG-3', 扩增长 142 bp 的片段; 扩增 β -AS1 基因的引物对为 5'-GCTCTGAAGACTACCATGAAACACA-3'和 5'-ACCCAACAAGCAAGCATACAGA-3', 扩增长 104 bp 的片段; 扩增 β -AS2 基因的引物对为 5'-TTCCCGAATGCCAACAGAA-3'和 5'-TCCCAAATAGCAAACCACCA-3', 扩增长 117 bp 的片段; 扩增 actin 基因的引物对为 5'-GCAAGAGCTTGAACAGCAAAG-3'和 5'-TCAAAGATGGCTGGAAAAGGA-3', 扩增长 128 bp 的片段。

3.4 Real time PCR 反应与皂苷含量分析

以 3.3 中各样本的 cDNA 为 real time PCR 反应的模板, 分别利用 SS1、SS2、SE1、SE2、 β -AS1、 β -AS2 和 actin 基因的 real time PCR 扩增引物进行 PCR 扩增, 产物经 1.5% 琼脂糖凝胶电泳, 检测产物特异性后, 利用琼脂糖凝胶 DNA 回收试剂盒(天根生物有限公司)回收, 获得各基因家族成员的高浓度产物。以此高浓度产物为标准品, 进行级联的 5 次 10 倍稀释, 制作标准曲线。按照 SYBR® Premix Ex Taq™ II 的说明, 利用 ABI 7900 HT real-time PCR system 进行 real time PCR 反应。总反应体系中, 各基因家族成员后内参基因的扩增引物各 0.3 μ L, 50 \times ROX reverse 0.2 μ L, 各样本的 cDNA 原液或从琼脂糖凝胶中回收的 DNA 0.3 μ L, dd H₂O 3.9 μ L, SYBR® Premix Ex Taq™ II 5 μ L, 共 10 μ L。反应条件为: 95°C 1 m, 95°C 5 s, 60°C 30 s, 共进行 40 个 Real-time PCR 循环。Real-time PCR 反应结束后, 分析各基因扩增产物的溶解曲线, 确定其产物的特异性。每个反应重复 3 次。根据各基因的标准曲线及其对应的 Ct 值, 参照文献(邢朝斌等, 2012)的方法分别计算各基因家族成员的表达量。

参照文献(邢朝斌等, 2012)的方法测定各样本的总皂苷含量, 并结合表达量分析的结果进行相关性分析。

作者贡献

龙月红负责 Real-time PCR、引物的设计及皂苷含量的测定、实验数据分析与论文撰写; 杨果和李非非参与了 RNA 提取、逆转录、回接菌株的实验并提出建议; 邢朝斌负责论文的修改、实验的设计、指导; 全体作者均已阅读并同意提交发表。

致谢

本研究由河北省自然科学基金-石药集团医药联合研究基金(H2012401006)、河北省教育厅资助科研项目(QN2014102)和河北联合大学培育基金(GP201306)共同资助。衷心感谢河北联合大学药学院的劳风云教授、河北联合大学生命科学学院的吴鹏实验师及 2011 级生物技术专业修乐山同学在实验过程中给予的无私帮助。

参考文献

- Han J.Y., In J.G., Kwon Y.S., and Choi Y.E., 2010, Regulation of ginsenoside and phytosterol biosynthesis by RNA interferences of squalene epoxidase gene in *Panax ginseng*, *Phytochemistry*, 71(1): 36-46
- Jin M.L., Lee D.Y., Um Y., Lee J.H., Park C.G., Jetter R., and Kim O.T., 2014, Isolation and characterization of an oxidosqualene cyclase gene encoding a beta-amyrin synthase involved in *Polygala tenuifolia* Willd. saponin biosynthesis, *Plant Cell Reports*, 33(3): 511-519
- Kim T.D., Han J.Y., Huh G.H., and Choi Y.E., 2011, Expression and functional characterization of three squalene synthase genes associated with saponin biosynthesis in *Panax ginseng*, *Plant Cell Physiol.*, 52(1): 125-137
- Ma G.Q., Xu H.B., Zhu J.H., and Wan H.J., 2014, Influences of plant endophyte on genuine medicinal materials, *Jiangxi Zhongyiyao Daxue Xuebao (Journal of Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine)*, 26(1): 56-58 (马广强, 徐红波, 朱金华, 万红娇, 2014, 植物内生菌对道地药材道地性的影响, *江西中医药大学学报*, 26(1): 56-58)
- Manfield I.W., Devlin P.F., Jen C.H., Westhead D.R., and Gilmartin P.M., 2007, Conservation, convergence, and divergence of light-responsive, circadian-regulated, and tissue-specific expression patterns during evolution of the Arabidopsis GATA gene family, *Plant Physiol.*, 143(2): 941-958
- Rasbery J.M., Shan H., Leclair R.J., Norman M., Matsuda S.P., and Bartel B., 2007, Arabidopsis thaliana squalene epoxidase 1 is essential for root and seed development, *The Journal of Biological Chemistry*, 282(23): 17002-17013
- Tu Z.W., Zhou W.W., Shan Q., Xin N., and Hou W.B., 2011, Advances in studies on chemical constituents of *Acanthopanax senticosus* and their pharmacological effects, *Yaowu Pingjia Yanjiu (Drug Evaluation Research)*, 34(3): 213-216 (涂正伟, 周渭渭, 单洪, 辛宁, 侯文彬, 2011, 刺五加的研究进展, *药物评价研究*, 34(3): 213-216)
- Uchida H., Yamashita H., Kajikawa M., Ohyama K., Nakayachi O., Sugiyama R., Yamato K.T., Muranaka T. Fukuzawa H., Takemura M., and Ohyama K., 2009, Cloning and characterization of a squalene synthase gene from a petroleum plant, *Euphorbia tirucalli* L., *Planta*, 229(6): 1243-1252
- Wu Y., Zou H.D., Cheng H., Zhao C.Y., Sun L.F., Su S.Z., Li S.P., and Yuan Y.P., 2012, Cloning and characterization of a beta-amyrin synthase gene from the medicinal tree *Aralia elata* (Araliaceae), *Genetics and Molecular Research*, 11(3): 2301-2314



- Xing Z.B., Xiong Y.N., Lao F.Y., Wang J.S., and Tian C.Y., 2009, Effects of endophytic fungi on the content of eleutherosides B and e in *Eleutherococcus senticosus*, *Anhui Nongye Kexue (Journal of Anhui Agricultural Sciences)*, 37(25): 12010-12011 (邢朝斌, 熊亚南, 劳风云, 王建石, 田春迎, 2009, 刺五加内生真菌对刺五加苷 B 和 E 含量的影响, *安徽农业科学*, 37(25): 12010-12011)
- Xing Z.B., Long Y.H., Lao F.Y., He S., Liang N.S., and Li B.C., 2012, Effect of endophytic fungi on expression amount of key enzyme genes in saponins biosynthesis and *Eleutherococcus senticosus* saponins content, *Zhongguo Zhongyao Zazhi (China Journal of Chinese Materia Medica)*, 37(14): 2041-2045 (邢朝斌, 龙月红, 劳风云, 何闪, 梁能松, 李宝财, 2012, 内生真菌对刺五加皂苷合成关键酶基因表达及皂苷含量的影响, *中国中药杂志*, 37(14): 2041-2045)
- Xing Z.B., Long Y.H., Li F.F., Zhou M., Xiu L.S., and Lao F.Y., 2014, Relationship between expression of two member of squalene synthase gene family from *Eleutherococcus senticosus* and saponins content, *Xinan Nongye Xuebao (Southwest China Journal of Agricultural Sciences)*, 27(3): 1252-1255 (邢朝斌, 龙月红, 李非非, 周秘, 修乐山, 劳风云, 2014, 刺五加鲨烯合酶基因家族两成员的表达及其与皂苷含量的关系, *西南农业学报*, 27(3): 1252-1255)