

穿心莲等级与叶茎比、浸出物及内酯类成分之间的相关性

黄嘉玲^{1,2}, 曾令杰^{1,2*}, 崔丹丹^{1,3}, 陈远霞^{1,2}, 张晓元³, 张浚淞^{1,2}
(1. 广东药科大学中药学院, 广东 广州 510006; 2. 国家中医药管理局岭南药材生产与开发重点研究室, 广东 广州 510006; 3. 韶关市华工高新技术产业研究院, 广东 韶关 512026)

摘要: **目的** 研究穿心莲等级与叶茎比、浸出物及内酯类成分之间的相关性。**方法** 测定穿心莲叶茎比、醇溶性浸出物含有量, HPLC 法测定穿心莲内酯、新穿心莲内酯、去氧穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯含有量及其总和, simca-p 软件进行主成分分析及相关性分析。**结果** 36 批穿心莲分为 3 个等级, 其中一等 10 批, 二等 11 批, 三等 15 批; 穿心莲等级与叶茎比, 醇溶性浸出物、穿心莲内酯、新穿心莲内酯、去氧穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯含有量及其总和之间的相关系数分别为-0.246、-0.629、-0.694、-0.804、-0.606、-0.444、-0.886; 穿心莲叶茎比与醇溶性浸出物含有量之间呈正相关性 ($P<0.01$), 与 4 种内酯含有量及其总和之间的相关系数分别为 0.030、0.048、0.005、0.109、0.067; 同一批穿心莲中 4 种内酯含有量随着叶茎比的增大而增加; 不同批穿心莲中, 叶茎比高者所含 4 种内酯含有量并不一定高。**结论** 穿心莲等级与叶茎比相关性不大, 与醇溶性浸出物、穿心莲内酯类含有量之间呈极显著正相关。

关键词: 穿心莲; 等级; 叶茎比; 浸出物; 内酯; 相关性

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2020)10-2675-05

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2020.10.026

Correlations between grade of *Andrographis paniculata* and leaf-stem ratio, extract, diterpene lactones

HUANG Jia-ling^{1,2}, ZENG Ling-jie^{1,2*}, CUI Dan-dan^{1,3}, CHEN Yuan-xia^{1,2}, ZHANG Xiao-yuan³, ZHANG Jun-song^{1,2}
(1. School of Chinese Medicine, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China; 2. Key Laboratory of SATCM for Production & Development of Cantonese Medicinal Materials, Guangzhou 510006, China; 3. Research Institute of Shaoguan Huagong High-tech Industry, Shaoguan 512026, China)

KEY WORDS: *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Nees; grade; leaf-stem ratio; extract; diterpene lactones; correlations

穿心莲为爵床科植物穿心莲 *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Nees 的干燥地上部分, 具有抗炎^[1]、抗菌^[2]、抗病毒^[3]、抗癌^[4]、抗氧化^[5]、降血糖^[6]等活性, 其主要活性成分为二萜内酯类。2015 年版《中国药典》规定, 穿心莲中穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯含有量之和不得少于 0.8%。文献研究表明, 除穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯外, 穿心莲中还有含有量较高的新穿心莲内酯、去氧穿心莲内酯, 两者含有量变化范围因产地而

异^[7-8]。因此, 本实验选取穿心莲内酯、新穿心莲内酯、去氧穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯作为穿心莲等级标准研究时的主要考察指标。

穿心莲内酯主要集中于叶部位, 能有效地被乙醇浸提^[9-11], 因此叶茎比及醇溶性浸出物含有量常作为其质量评价的重要依据。2015 年版《中国药典》规定, 穿心莲叶不得少于 30%、醇溶性浸出物含有量不得少于 8.0%, 故本实验将叶茎比及醇溶性浸出物含有量作为其等级标准的主要考察指标。

收稿日期: 2019-09-16

基金项目: 国家新兴产业重大工程包中药标准化项目 (ZYBZH-Y-GD-13); 广东省科技计划项目 (2017A020108006)

作者简介: 黄嘉玲 (1995—), 女, 硕士生, 从事生药质量控制研究。E-mail: 627663808@qq.com

* 通信作者: 曾令杰 (1970—), 男, 教授, 研究方向为药用植物品质评价。Tel: (020) 39352176, E-mail: lingjiezeng@gdpu.edu.cn

目前，有关穿心莲质量等级评价的研究较少，并且尚无等级标准。为了科学全面地评价穿心莲，本研究收集了不同产地样品，参照 2015 年版《中国药典》相关方法及借鉴 Fu 等^[12]采用的高效液相色谱法，测定叶茎比、醇溶性浸出物含有量及穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯、新穿心莲内酯、去氧穿心莲内酯含有量，simca-p 14.1 软件进行聚类分析，探讨药材等级与上述指标之间的相关性，以期为其等级标准的制订提供参考。

1 材料

1.1 仪器 尼康 801 显微成像系统（上海天欣仪器有限公司）；DK-98 电热恒温水浴锅（天津市泰斯特仪器有限公司）；电热恒温干燥箱（广州市康恒仪器有限公司）；BP211D 电子天平（德国 Sartorius 公司）；KQ5200DE 数控超声波清洗仪（昆山舒美仪器有限公司）；LC-20AT 高效液相色谱仪（日本岛津公司）。

1.2 试剂与药物 穿心莲内酯（批号 L23S6Y3682）、新穿心莲内酯（批号 Y27J8S40807）、去氧穿心莲内酯

（批号 Y26D6S7349）对照品均购自上海源叶生物科技有限公司；脱水穿心莲内酯（批号 J1020AS）对照品购自大连美伦生物技术有限公司。乙腈为色谱纯（广州化学试剂厂）；其他试剂均为分析纯；水为屈臣氏纯净水。

1.3 药材 穿心莲采自广东韶关（编号 AP1~AP20）、广西贵港（编号 AP21~AP30）、福建漳州（编号 AP31~AP36），共 36 批，经广东药科大学中药学院曾令杰教授鉴定为爵床科穿心莲属穿心莲 *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Nees，样品存放于广东药科大学中药学院。

2 方法与结果

2.1 性状、显微、TLC 鉴别 按 2015 年版《中国药典》一部规定，对穿心莲进行相关鉴别，发现均符合相关标准。

2.2 叶茎比测定 随机抽取各批穿心莲，每批 20 株，分离出其叶、茎、杂质，称定质量，计算叶茎比（叶质量与茎质量的比值），结果见表 1。

表 1 穿心莲各指标测定及等级划分

Tab. 1 Determination of various indices and grade division of *A. paniculata*

编号	等级	叶茎比/%	醇溶性浸出物/%	穿心莲内酯/%	新穿心莲内酯/%	去氧穿心莲内酯/%	脱水穿心莲内酯/%	含有量总和/%	编号	等级	叶茎比/%	醇溶性浸出物/%	穿心莲内酯/%	新穿心莲内酯/%	去氧穿心莲内酯/%	脱水穿心莲内酯/%	含有量总和/%
AP1	一	43.75	11.00	0.98	0.31	0.43	0.57	2.29	AP19	三	33.27	9.83	0.63	0.30	0.25	0.34	1.52
AP2	三	39.13	10.40	0.41	0.25	0.38	0.44	1.48	AP20	一	36.17	12.33	0.85	0.43	0.35	0.61	2.24
AP3	三	37.93	10.35	0.46	0.17	0.33	0.40	1.36	AP21	二	32.57	8.53	0.50	0.31	0.52	0.76	2.09
AP4	二	42.86	11.04	0.99	0.29	0.21	0.53	2.02	AP22	三	34.57	9.36	0.52	0.26	0.35	0.47	1.60
AP5	二	36.84	12.06	0.95	0.23	0.19	0.40	1.77	AP23	一	35.78	9.71	0.81	0.36	0.56	0.64	2.37
AP6	一	35.61	12.89	1.16	0.38	0.40	0.42	2.36	AP24	二	34.16	9.49	0.98	0.32	0.41	0.34	2.05
AP7	一	35.98	11.91	1.12	0.42	0.47	0.28	2.29	AP25	三	34.00	9.33	0.86	0.15	0.19	0.10	1.30
AP8	一	40.33	10.07	0.73	0.41	0.44	0.73	2.31	AP26	一	37.78	10.90	0.88	0.34	0.70	0.58	2.50
AP9	二	33.43	8.53	0.78	0.37	0.35	0.50	2.00	AP27	二	35.71	10.02	0.63	0.39	0.33	0.57	1.92
AP10	二	39.33	10.97	0.75	0.30	0.17	0.45	1.67	AP28	二	34.62	8.54	1.26	0.28	0.33	0.45	2.32
AP11	三	33.33	8.68	0.55	0.14	0.14	0.09	0.92	AP29	三	34.78	9.20	0.59	0.29	0.29	0.46	1.63
AP12	三	40.00	10.02	0.43	0.20	0.24	0.31	1.18	AP30	二	33.00	8.60	0.67	0.35	0.39	0.84	2.25
AP13	三	33.33	9.92	0.46	0.28	0.28	0.36	1.38	AP31	三	32.00	8.53	0.56	0.28	0.42	0.48	1.74
AP14	一	39.33	12.27	1.16	0.33	0.48	0.37	2.34	AP32	三	33.00	8.75	0.53	0.23	0.26	0.36	1.38
AP15	三	42.50	9.55	0.41	0.23	0.25	0.35	1.24	AP33	三	34.08	9.06	0.35	0.19	0.40	0.42	1.36
AP16	二	31.03	10.26	1.34	0.32	0.39	0.32	2.37	AP34	一	34.13	11.15	1.51	0.34	0.45	0.43	2.73
AP17	一	33.41	10.96	0.87	0.43	0.36	0.57	2.23	AP35	二	35.08	9.82	0.60	0.33	0.36	0.83	2.12
AP18	三	32.27	9.54	0.31	0.16	0.18	0.34	0.99	AP36	三	33.81	8.45	0.78	0.19	0.32	0.38	1.67

注：含有量总和为穿心莲内酯、新穿心莲内酯、去氧穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯含有量之和。

2.3 醇溶性浸出物含有量测定 参照 2015 年版《中国药典》四部通则项下的热浸法，以乙醇为溶剂进行测定，结果见表 1。

2.4 穿心莲内酯、新穿心莲内酯、去氧穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯含有量测定 参考 Fu 等^[12]报道的方法，测定穿心莲中 4 种内酯含有量，色谱图见图 1，结果见表 1。

2.5 穿心莲等级划分 应用 simca-p 14.1 软件对

叶茎比，醇溶性浸出物含有量，穿心莲内酯、新穿心莲内酯、去氧穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯含有量及其总和进行主成分分析，结果见表 2。由此可知，第一、二、三个成分的特征值>1，累积贡献率为 84.80%，表明前 3 种成分的提取能很好的反映所有样品的大部分信息，分别为 4 种内酯含有量总和，新穿心莲内酯、去氧穿心莲内酯含有量，可表征不同来源样品质量的差异。根据主成分分析结

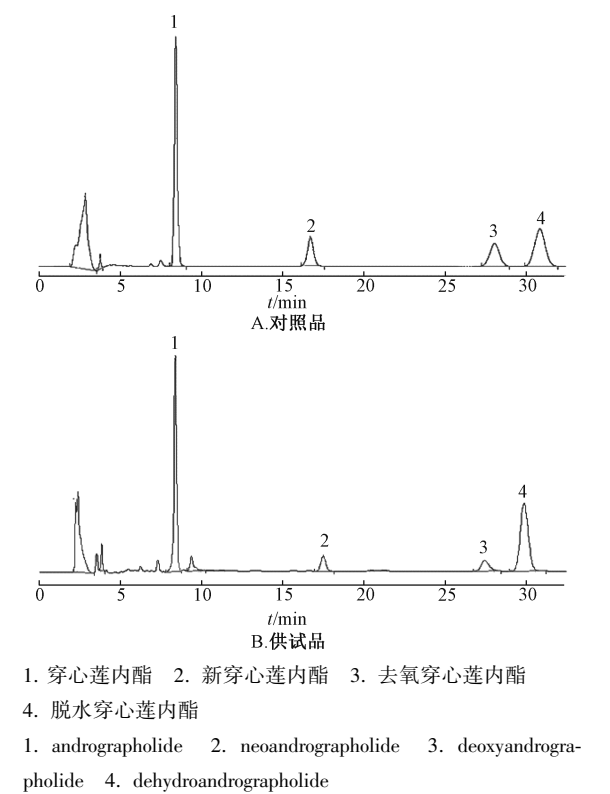


图 1 各成分 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of various constituents

果，计算得分值，绘制其分组图，结果见图 2，可知各组可以明显区分开，不同来源样品可以划分为 3 类（即 3 个等级），组一为一等药材，10 批；组二为二等药材，11 批；组三为三等药材，15 批，具体见表 1。

表 2 主成分初始特征值及方差贡献率

Tab. 2 Initial eigenvalues and variance contribution rates of principal components

指标	特征值	信息贡献率/%	累计贡献率/%
含有量总和/%	3.391	48.443	48.443
新穿心莲内酯/%	1.448	20.687	69.130
去氧穿心莲内酯/%	1.097	15.665	84.795
穿心莲内酯/%	0.495	7.079	91.873
脱水穿心莲内酯/%	0.383	5.468	97.341
醇溶性浸出物/%	0.186	2.659	100
叶茎比/%	7.441×10^{-9}	1.063×10^{-7}	100

注：含有量总和为穿心莲内酯、新穿心莲内酯、去氧穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯含有量之和。

表 3 不同等级穿心莲中各质量指标取值范围

Tab. 3 Ranges of values for each quality indicator from different grades for *A. paniculata*

等级	叶茎比/%	醇溶性浸出物/%	穿心莲内酯/%	新穿心莲内酯/%	去氧穿心莲内酯/%	脱水穿心莲内酯/%	含有量总和/%
一等	33.41~43.75	10.90~12.33	0.81~1.16	0.34~0.43	0.43~0.56	0.42~0.73	2.29~2.50
二等	31.03~42.86	8.53~10.26	0.60~0.78	0.28~0.33	0.33~0.41	0.32~0.57	1.77~2.25
三等	32.00~42.50	8.45~9.92	0.31~0.59	0.14~0.28	0.14~0.32	0.31~0.48	0.92~1.74

注：含有量总和为穿心莲内酯、新穿心莲内酯、去氧穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯含有量之和。

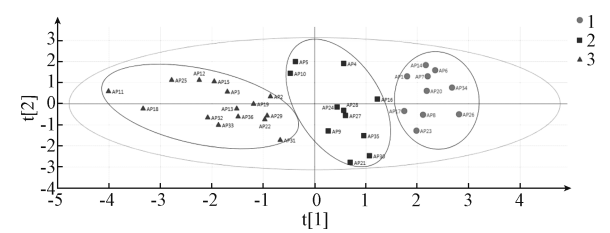


图 2 36 批样品主成分分析得分及分组图

Fig. 2 Principal component analysis score scatter and group division plot of thirty-six batches of samples

根据等级划分结果，进一步分析 3 个等级穿心莲的叶茎比，醇溶性浸出物、穿心莲内酯、新穿心莲内酯、去氧穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯含有量及 4 种内酯含有量总和的变化范围，结果见表 3。由此可知，一、二、三等穿心莲的新穿心莲内酯、去氧穿心莲内酯、穿心莲内酯含有量及 4 种内酯含有量总和和区分界限明显，没有重叠现象；醇溶性浸出物、脱水穿心莲内酯含有量在 3 个等级药材之间有部分重叠，特别是叶茎比在 3 个等级药材之间的变化范围没有明显区分界限。

2.6 穿心莲等级与叶茎比、醇溶性浸出物及内酯类成分间的相关性 表 3 显示，3 个等级的各质量指标之间的取值范围有部分重叠，应用 SPSS 23.0 软件进行 Pearson 相关系数分析，结果见表 4。由此可知，穿心莲等级与醇溶性浸出物、穿心莲内酯、新穿心莲内酯、去氧穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯含有量及 4 种内酯含有量总和之间呈正相关性 ($P<0.01$)，但与其叶茎比之间相关性极弱；叶茎比与醇溶性浸出物含有量之间呈正相关 ($P<0.01$)，但与 4 种内酯含有量及其总和之间无显著相关性。

2.7 穿心莲中叶茎比变化与内酯类成分含有量变化之间的关系 本研究随机抽取 3 批药材（编号 CXL-1、CXL-2、CXL-3），将其茎叶分离，以叶茎比 20%、30%、40% 将茎叶混合，打粉备用，按“2.4”项下方法测定内酯含有量，结果见图 3。由此可知，随着叶茎比升高，穿心莲内酯、新穿心莲内酯、去氧穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯含有量均

表 4 穿心莲等级与叶茎比、浸出物及内酯类成分间的相关性分析

Tab. 4 Correlation analysis between the grade and leaf-stem ratio, extract, diterpene lactones of *A. paniculata*

指标	等级	叶茎比/%	醇溶性浸出物/%	穿心莲内酯/%	新穿心莲内酯/%	去氧穿心莲内酯/%	脱水穿心莲内酯/%	含有量总和/%
等级	1.000	-0.246	-0.629 **	-0.694 **	-0.804 **	-0.606 **	-0.444 **	-0.886 **
叶茎比/%	-0.246	1.000	0.448 **	0.030	0.048	0.005	0.109	0.067
醇溶性浸出物/%	-0.629 **	0.448 **	1.000	0.491 **	0.431 **	0.152	-0.012	0.416 *
穿心莲内酯/%	-0.694 **	0.030	0.491 **	1.000	0.468 **	0.306	-0.046	0.769 **
新穿心莲内酯/%	-0.804 **	0.048	0.431 **	0.468 **	1.000	0.555 **	0.581 **	0.813 **
去氧穿心莲内酯/%	-0.606 **	0.005	0.152	0.306	0.555 **	1.000	0.491 **	0.714 **
脱水穿心莲内酯/%	-0.444 **	0.109	-0.012	-0.046	0.581 **	0.491 **	1.000	0.551 **
含有量总和/%	-0.886 **	0.067	0.416 *	0.769 **	0.813 **	0.714 **	0.551 **	1.000

注：#含有量总和为穿心莲内酯、新穿心莲内酯、去氧穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯含有量之和。* $P<0.05$ ，** $P<0.01$ 。

升高，表明该类成分主要集中于叶；但即使是叶茎比高者，内酯含有量也可能低于叶茎比低者。

含有量总和之间相关性极弱。因此，不能简单地用叶茎比的高低来判断穿心莲质量优劣。

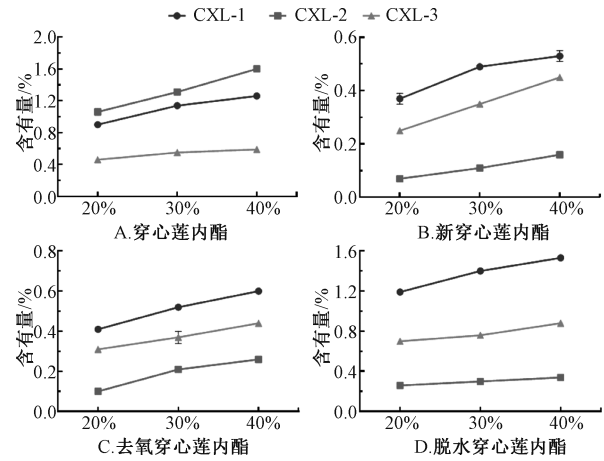


图 3 穿心莲不同叶茎比中 4 种内酯含有量比较

Fig. 3 Content comparison of four diterpene lactones in different leaf-stem ratio of *A. paniculata*

3 讨论与结论

不同产地来源的 36 批穿心莲分为 3 个等级，一等穿心莲叶茎比，醇溶性浸出物、穿心莲内酯、新穿心莲内酯、去氧穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯含有量及 4 种内酯含有量总和范围分别为 33.41% ~ 43.75%、10.90% ~ 12.33%、0.81% ~ 1.16%、0.34% ~ 0.43%、0.43% ~ 0.56%、0.42% ~ 0.73%、2.29% ~ 2.50%；二等、三等相应结果分别为 31.03% ~ 42.86%、8.53% ~ 10.26%、0.60% ~ 0.78%、0.28% ~ 0.33%、0.33% ~ 0.41%、0.32% ~ 0.57%、1.77% ~ 2.25%；32.00% ~ 42.50%、8.45% ~ 9.92%、0.31% ~ 0.59%、0.14% ~ 0.28%、0.14% ~ 0.32%、0.31% ~ 0.48%、0.92% ~ 1.74%。

文献研究皆认为“穿心莲叶多者则质量佳”^[10]，但本研究通过相关性分析发现，叶茎比的高低与药材等级，穿心莲内酯、新穿心莲内酯、去氧穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯含有量及 4 种内酯

在同一批穿心莲中，由于栽培环境、采收期、加工方式、储藏时间等条件均完全相同，故其内酯类成分的积累仅与它在各器官中分配有关。研究发现，叶是穿心莲内酯类成分的主要积累器官，所以叶茎比越大，4 种内酯含有量及其总和越高，此时叶茎比高低可直接反映出药材质量优劣。在不同来源或批次样品中，穿心莲物候期^[13]及其采收期有一定的差别，造成其叶茎比变化，如增施氮肥可促进叶的生长^[14]，但却不利于穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯等成分的积累^[15]。同时，穿心莲内酯类含有量的高低除了与其在各器官中分配不同有关外，还与产地生态环境、栽培管理等因素密切相关，如光照强度^[16]、水分^[17]、土壤^[18-19]、播种期^[20]、采收期、产地初加工方式^[21]等，故有些样品尽管叶茎比不高，但所含内酯类成分的含有量却显著高于某些叶茎比较高者。进一步表明，叶茎比高低难于反映穿心莲的质量状况。

因此，为了更全面科学地判定穿心莲质量优劣及等级高低，应重点考虑药材所含醇溶性浸出物、内酯类成分含有量。

参考文献：

[1] Zhu Q, Zheng P F, Chen X Y, et al. Andrographolide presents therapeutic effect on ulcerative colitis through the inhibition of IL-23/IL-17 axis [J]. *Am J Transl Res*, 2018, 10 (2) : 465-473.

[2] Dedhia J, Mukharjee E, Luke A M, et al. Efficacy of *Andrographis paniculata* compared to *Azadirachta indica*, *Curcuma longa*, and sodium hypochlorite when used as root canal irrigants against *Candida albicans* and *Staphylococcus aureus*: An *in vitro* antimicrobial study [J]. *J Conserv Dent*, 2018, 21(6) : 642-645.

[3] Ramalingam S, Karupannan S, Padmanaban P, et al. Anti-

dengue activity of *Andrographis paniculata* extracts and quantification of dengue viral inhibition by SYBR green reverse transcription polymerase chain reaction [J]. *Ayu*, 2018, 39 (2): 87-91.

[4] Forestier-Roman I S, Lopez-Rivas A, Sanchez-Vazquez M M, et al. Andrographolide induces DNA damage in prostate cancer cells[J]. *Oncotarget*, 2019, 10(10): 1085-1101.

[5] Maity G N, Maity P, Dasgupta A, et al. Structural and antioxidant studies of a new arabinoxylan from green stem *Andrographis paniculata* (Kalmegh) [J]. *Carbohydr Polym*, 2019, 212: 297-303.

[6] Widjajakusuma E C, Jonosewojo A, Hendriati L, et al. Phytochemical screening and preliminary clinical trials of the aqueous extract mixture of *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Wall. ex Nees and *Syzygium polyanthum* (Wight.) Walp leaves in metformin treated patients with type 2 diabetes [J]. *Phytomedicine*, 2019, 55: 137-147.

[7] 邓贵华, 林朝展, 祝晨蓀, 等. 穿心莲药材及其制剂中 6 个内酯类成分的含量分析[J]. *药物分析杂志*, 2011, 31 (2): 231-235.

[8] 肖传学, 孙玉侠, 耿晓梅, 等. 不同药用部位及产地穿心莲药材中 4 个二萜内酯类成分的研究[J]. *中国现代中药*, 2017, 19(5): 675-678.

[9] Liu F F, Fan C L, Huang X J, et al. HPLC specific fingerprint of alcohol extract of *Andrographis paniculata* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2015, 38(7): 1505-1508.

[10] Pholphana N, Rangkadilok N, Saehun J, et al. Changes in the contents of four active diterpenoids at different growth stages in *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Nees (Chuanxinlian) [J]. *Chin Med*, 2013, 8(1): 2-8.

[11] Chua L S, Yap K C, Jaganath I B. Comparison of total phenolic content, scavenging activity and HPLC-ESI-MS/MS profiles of both young and mature leaves and stems of *Andrographis paniculata*[J]. *Nat Prod Commun*, 2013, 8(12): 1725-1729.

[12] Fu S J, Du L M, Yuan Y, et al. Quality evaluation of *Andrographis paniculata* capsules based on rapid and accurate LC-ESI-MS/MS assay of three diterpenoids [J]. *J Chromatogr Sci*, 2019, 57(8): 708-714.

[13] 曾令杰, 梁 晖, 林蔚兰. 穿心莲各生育期的药材质量和干物质积累动态研究 [J]. *中成药*, 2007, 29 (6): 870-872.

[14] Li Y B, Li Y L, Zhang H W, et al. Diazotrophic paenibacillus beijingensis BJ-18 provides nitrogen for plant and promotes plant growth, nitrogen uptake and metabolism [J]. *Front Microbiol*, 2019, 10: 1119.

[15] 张从宇, 谭志静, 陶成林, 等. 密度、磷、氮对穿心莲产量和质量的影响[J]. *中草药*, 2007, 38(7): 1067-1070.

[16] Talei D, Valdiani A, Maziah M, et al. Salt stress-induced protein pattern associated with photosynthetic parameters and andrographolide content in *Andrographis paniculata* Nees [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2015, 79(1): 51-58.

[17] Jiang Y, Xu Z W, Wang R Z, et al. Effects of long-term fertilization and water addition on soil properties and plant community characteristics in a semiarid grassland [J]. *J Appl Ecol*, 2019, 30(7): 2470-2480.

[18] Chandra P, Kannujia R, Pandey R, et al. Rapid quantitative analysis of multi-components in *Andrographis paniculata* using UPLC-QqQ (LIT) -MS/MS: Application to soil sodicity and organic farming [J]. *Ind Crop Prod*, 2016, 83: 423-430.

[19] Verma R K, Verma S K, Pankaj U, et al. Improvement in the yield and quality of kalmegh (*Andrographis paniculata* Nees) under the sustainable production system [J]. *Nat Prod Res*, 2015, 29(3): 297-300.

[20] Luan X S, Chen F D, Fang W M, et al. Changes of growth and yield characters of five varieties (lines) of tea-applied chrysanthemum under different planting dates and pinching patterns [J]. *J Appl Ecol*, 2019, 30(1): 259-265.

[21] 陈 娟, 谷 巍, 段金廛, 等. 不同生长期穿心莲活性成分及关键酶基因差异表达研究 [J]. *中草药*, 2014, 45 (21): 3149-3152.