

微量元素对金银花中绿原酸形成与积累的影响

蒋向辉*, 戴贵东, 王翔

凯里学院化学与材料工程学院, 贵州凯里556011

摘要: 绿原酸是金银花(*Lonicera japonica*)入药的主要化学成分, 稳定和提高金银花中绿原酸含量的研究成为近年的一个研究热点。本研究通过对金银花分别施加Fe、Mn、B、Zn、Mo等微量元素, 研究微量元素水平对金银花中微量元素积累和绿原酸含量的影响, 结果表明: 土壤根施Fe、Mn、B、Zn和Mo对金银花中绿原酸的积累具有明显的促进作用, 其中施加Fe、B、Zn和Mo的效果极显著。土壤根施高浓度的B、Mo和中等浓度的Fe对金银花中微量元素的积累具有明显的促进作用。本研究为人工定向调控金银花中绿原酸含量, 开发人工栽培金银花专用微量元素肥料提供依据。

关键词: 金银花; 绿原酸; 微量元素; 施肥; 栽培

金银花又名忍冬, 是忍冬科忍冬属药用植物(Lu等2015), 以花入药, 是我国中医和民族民间医生常用的药材, 其药用价值较高, 具有广谱抗菌和散风消肿的功效, 常用于治疗清热解毒、痈肿疔疮、丹毒、血痢等病症(Wu等2016)。当前, 国内外主要针对其化学成分和药用价值作了大量的研究(Lieurance和Cipollini 2013; Liu等2016; 姜南辉2015)。国内外有关金银花的研究大多集中在金银花的栽培育种、药效成分、药理作用等方面, 而有关金银花施肥的研究也主要是有关N、P、K、有机肥的不同种类不同用量的大田试验, 有关微量元素对金银花药效成分合成与积累的影响研究很少。中药材的质量除受遗传因素的影响外, 环境因子直接影响中药材药用成分的含量(吴洋等2013)。金银花主要生长于山坡灌木丛、山脚路旁、疏林或乱石堆中, 这些地方Ca、Cu、Al等元素含量较高, 而B、Mn和Zn含量相对较低, 土壤中微量元素的超量与缺乏直接影响植物的生长和发育(沈惠国2010), 微量元素在药材的药理药效中起着至关重要的作用, 是衡量道地药材的特征性指标之一(李爱红等2001)。本研究通过施加Fe、Mn、B、Zn、Mo等植物重要微量元素处理金银花, 试图筛选出与金银花中绿原酸合成与积累紧密相关的微量元素, 找到适合金银花种植的微量元素肥料的元素种类和作用浓度, 并探讨外部施加微量元素对金银花中微量元素与绿原酸形成、积累的影响机制, 为采用合理的栽培措施有效调控金银花品质打下基础, 并为研制开发金银花专用微量元素肥料提供参考。

材料与方法

1 材料

实验材料为金银花(*Lonicera japonica* Thunb.) (经怀化学院生命科学学院刘光华教授鉴定), 于2009年引自山东省平邑县, 种植于凯里学院学生实践基地。实验地土壤为黄壤土, pH为7.65, 有机质含量为90.2 g·kg⁻¹, 全氮0.25 g·kg⁻¹, 全磷1.82 g·kg⁻¹, 全钾10.64 g·kg⁻¹, 全钙0.64 g·kg⁻¹, 全钠6.53 g·kg⁻¹, 全镁3.97 g·kg⁻¹, 有效磷0.032 g·kg⁻¹, 有效锰0.086 g·kg⁻¹, 有效锌3.22 mg·kg⁻¹, 有效硼0.87 mg·kg⁻¹, 有效铁11.41 mg·kg⁻¹, 有效钼0.051 mg·kg⁻¹。根据郑鹤龄等(2010)有关土壤微量元素的丰缺指标及参数, 实验地土壤中全钠、全磷、有效锰和有效锌含量偏高, 全钾和有效磷含量处于平均水平, 有效铁、有效硼、有效钼、全钙、全镁相对缺乏。

2 方法

2.1 田间试验设计与微量元素的施加

2014年4月2日选取人工种植3年生长势基本一致的金银花植株, 按照随机区组设计, 每小区(12 m²) 3株, 3次重复, 于金银花根部附近开一直径为1 m的浅沟, 按照微量元素施用浓度(表1)与每株1 m²的面积计算用量, 进行穴播, 分别于4月2日、5月2日、6月2日、7月2日和8月2日共施肥5次, 其他田间管理与常规人工管理一致。

收稿 2016-09-08 修定 2017-03-21

资助 贵州省科技厅联合基金(黔科合LH字[2014]7219和黔科合LH字[2015]7740)、贵州省科学技术基金(黔科合J字[2015]2131)和贵州省教育厅重点项目(黔教合KY字[2014]281和黔教合KY字[2014]228)。

* 通讯作者(E-mail: jxfei789@163.com)。

表1 五种微量元素施用浓度

元素	高浓度/kg·hm ⁻²	中浓度/kg·hm ⁻²	低浓度/kg·hm ⁻²
Fe	8.00	4.00	2.00
Mn	7.50	5.00	2.50
B	4.50	3.00	1.50
Zn	6.00	4.50	2.00
Mo	0.30	0.20	0.10

微量元素的施加采用硫酸亚铁、十水合四硼酸钠、硫酸锰、硫酸锌和钼酸钠五种盐参照莫尔维德特等(1984)有关农业中的微量营养元素的相关标准按表1所对应的相应克数施肥。

2.2 样品采集与处理

分别于6、7、8和9月中旬收集各处理金银花的白花,于实验室105°C杀青30 min,然后在60°C下烘干至恒重,粉碎后过80目筛,保存备用。在2014年3月27日(施肥前)采集金银花植株根部土样于实验室风干,过40目筛后保存,用于测定土壤中各营养元素含量。

2.3 营养元素含量的测定

B与Mo元素含量的测定参照劳家桎等(1988)的方法,Fe、Mn和Zn元素含量的测定参照蒋向辉等(2015)的原子吸收分光光度法,有机质含量测定采用重铬酸钾容量法,N、P、K、Ca、Mg、Na等元素的测定参照谭和平等(2010)的电感耦合等离子体原子发射光谱法。

2.4 绿原酸含量的测定

绿原酸含量测定参照蒋向辉等(2013)的高效液相色谱法,色谱条件如下:反相C₁₈柱(5 μm, 250 mm×4.6 mm),流动相:甲醇-0.5%冰醋酸溶液(30:70, V/V),流速1.0 mL·min⁻¹,进样量20 μL,柱温30°C。

2.5 数据统计分析方法

借助SPSS 16.0软件对试验数据进行统计分析。在方差分析过程中先对实验数据进行单因素分析,若有显著差异,再用最小显著差异法(least-significant difference, LSD)作多重比较, $P < 0.05$ 表示两者之间差异显著, $P < 0.01$ 表示两者之间差异极显著。

实验结果

1 施加微量元素对金银花中绿原酸含量的影响

1.1 施加Fe元素对金银花中绿原酸含量的影响

土壤施加中、低浓度的Fe元素后,金银花植株叶片浓绿、生长旺盛,而施加高浓度的Fe元素到8月份后金银花植株出现了中毒现象,金银花花苞不打开或打开后花丝凋谢枯萎,叶尖出现褐斑,叶色暗绿。据图1所示结果,10月份前施加高浓度Fe元素后的金银花中绿原酸含量明显低于没有施加微量元素的对照, F 值为12.51,大于 $F_{0.05}$ (8.71),表明差异达显著水平;10月份前施加中、低浓度Fe元素的金银花中绿原酸含量明显高于没有施加微量元素的对照,表现为8月份极显著地高于对照,至9月份绿原酸含量达最高,10月份开始绿原酸含量下降。

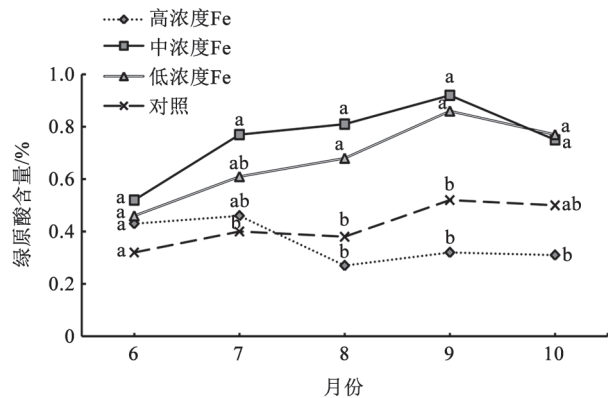


图1 Fe元素处理下金银花中绿原酸含量的变化

Fig. 1 The variation of chlorogenic acid content in *L. japonica* under Fe treatments

同一月份数据点用不同小写字母标识表示差异显著($P < 0.05$),图2~5同此。

1.2 施加Mn元素对金银花中绿原酸含量的影响

土壤施加中、高浓度的Mn元素后,金银花植株新生叶卷曲,叶片表面出现褐色斑点,出现了中毒现象。土壤施加低浓度的Mn元素4个月后,9月份开始,金银花植株也出现了中毒现象,这可能与土壤中原有Mn元素含量较高,在施加较高浓度的Mn元素或多次施加低浓度的Mn元素后,造成土壤中Mn元素含量超标,导致金银花植株出现中毒现象。据图2可知,在施加低浓度Mn元素的前3个月,金银花中绿原酸含量急剧增加,与未施用微量元

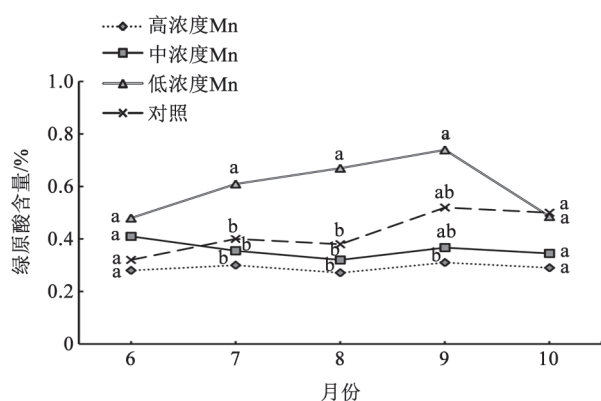


图2 Mn元素处理下金银花中绿原酸含量的变化

Fig.2 The variation of chlorogenic acid content in *L. japonica* under Mn treatments

素的对照相比, F 值为15.61 ($F_{0.05}=8.71$), 表明差异达到显著水平, 6、7、8月份分别比对照增加了50%、52.5%和76.32%。

1.3 施加B元素对金银花中绿原酸含量的影响

土壤施加不同浓度的B元素后, 金银花中绿原酸含量明显增加, 8月份前绿原酸含量与对照相比, F 值为15.17 ($F_{0.05}=8.71$), 表明差异达到显著性水平。据图3所示结果, 中、高浓度B元素处理后金银花中绿原酸含量在不同月份间的变化趋势基本一致, 从6月到8月, 绿原酸含量逐渐增加, 8月份是绿原酸积累量较高的时节, 9月份开始绿原酸含量减少, 至10月份时绿原酸含量比对照还要低, 可能与土壤中B元素含量较高引起金银花中毒有关。低浓度的B元素处理后, 绿原酸含量一直增加, 直至9月份达到最高, 与对照之间的差异达到极显著水平。

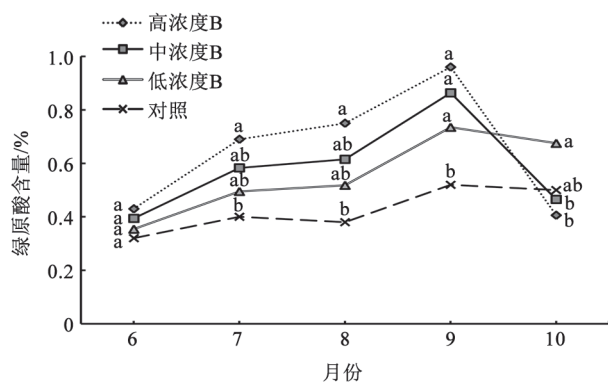


图3 B元素处理下金银花中绿原酸含量的变化

Fig.3 The variation of chlorogenic acid content in *L. japonica* under B treatments

1.4 施加Zn元素对金银花中绿原酸含量的影响

土壤施加不同浓度的Zn元素后, 金银花中绿原酸含量明显增加, 与没有施加Zn元素的对照相比, F 值为16.53 ($F_{0.05}=8.71$), 表明差异均达到显著性水平。据图4所示结果, 中、低浓度Zn元素处理后金银花中绿原酸含量在不同月份间的变化趋势与对照基本一致, 从6月到9月, 绿原酸含量逐渐增加, 9月份是绿原酸积累量较高的时节, 10月份绿原酸含量略有减少。高浓度的Zn元素处理金银花后, 绿原酸含量在8月份达到最高, 与对照之间的差异达到极显著水平, 但9月份绿原酸含量不见有明显的增加, 10月份绿原酸含量略有减少, 9月份与10月份金银花叶片变白, 叶柄处出现褐色斑点, 出现了中毒现象。

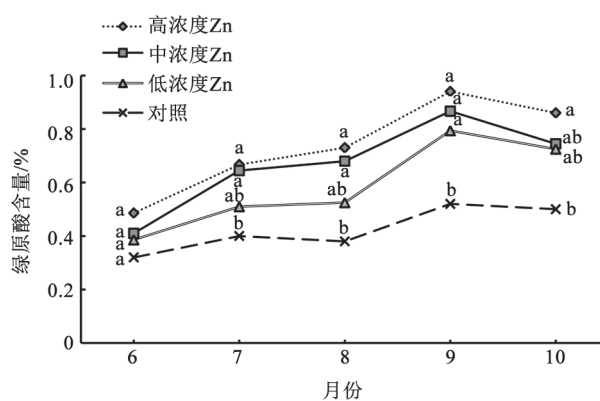


图4 Zn元素处理下金银花中绿原酸含量的变化

Fig.4 The variation of chlorogenic acid content in *L. japonica* under Zn treatments

1.5 施加Mo元素对金银花中绿原酸含量的影响

据图5可知, 高浓度的Mo元素处理金银花后, 绿原酸含量从6月到9月逐月增加, 直至10月略有减少, F 值为15.33 ($F_{0.05}=8.71$), 每月与对照相比差异均达到显著水平。中浓度的Mo元素处理金银花后, 从6月到8月绿原酸含量增加不明显, 9月和10月绿原酸含量明显增加, 分别比对照增加了47.5%和49.0%, 差异达显著水平。低浓度的Mo元素处理金银花后, 绿原酸含量与对照相比增加不明显。

2 施加微量元素对金银花中微量元素的影响

2.1 施加微量元素对金银花中Fe元素含量的影响

不同浓度的Fe元素处理金银花后, 金银花中Fe元素含量明显增多(图6), 与没有施加Fe元素的对照

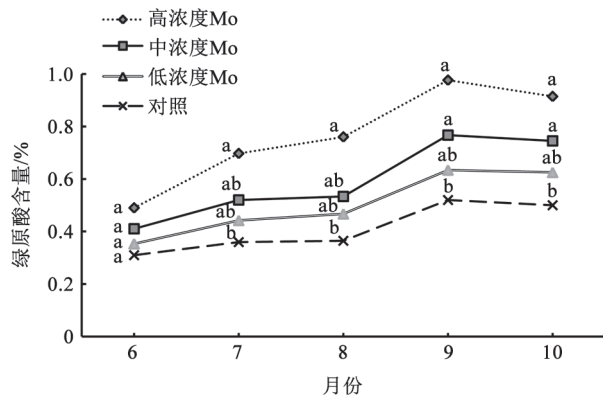


图5 Mo元素处理下金银花中绿原酸含量的变化

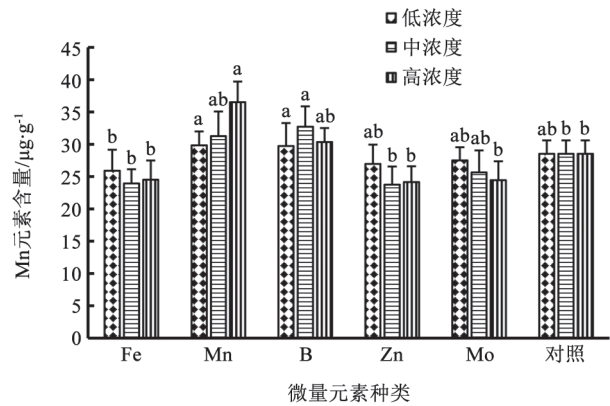
Fig.5 The variation of chlorogenic acid content in *L. japonica* under Mo treatments

图7 根施不同微量元素后金银花中Mn元素含量变化

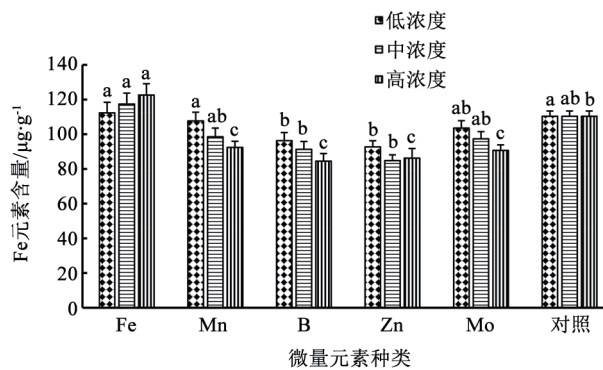
Fig.7 The variation of Mn content in *L. japonica* under trace element treatments

图6 根施不同微量元素后金银花中Fe元素含量变化

Fig.6 The variation of Fe content in *L. japonica* under trace element treatments

同一浓度水平的各微量元素柱形上用不同小写字母标识表示差异显著($P < 0.05$), 图7~10同此。

相比, 差异均达到显著水平。不同浓度的Mn、B、Zn和Mo元素处理金银花后, 金银花中Fe元素均减少, 高浓度B、中浓度的Zn和高浓度Mo处理效果较显著, 分别比对照中Fe元素含量减少24.46%、23.28%和17.93%, 而Mn元素各浓度处理后对金银花中Fe元素含量的影响没有达到显著水平。

2.2 施加微量元素对金银花中Mn元素含量的影响

土壤中施加B、Mn元素可以有效促进金银花中Mn元素的积累, 其中以高浓度Mn、中浓度B的处理效果较为明显(图7), 与没有施加微量元素的对照相比差异达到显著水平, 分别比对照中Mn元素含量增加28.07%和14.74%。土壤中施加不同浓度的Zn、Mo和Fe元素后, 金银花中Mn元素均减

少, 中浓度Fe、中浓度Zn和高浓度Mo处理效果较明显, 分别比对照中Mn元素含量减少16.14%、16.84%和14.39%。结果表明, 施加Mn、Mo和Fe元素对金银花中Mn元素的积累有同步的拮抗作用。

2.3 施加微量元素对金银花中B元素含量的影响

土壤中施加B、Mo和Mn元素可以有效地促进金银花中B元素的积累, 其中以高浓度B、中浓度Mn和高浓度Mo处理效果较好(图8), 差异达到显著水平, 分别比对照中B元素含量增加27.56%、15.35%和13.39%。土壤中施加不同浓度的Zn和Fe元素后, 金银花中B元素均减少, 中浓度Zn和高浓度Fe处理效果较明显, 分别比对照中B元素含量减少14.96%和13.78%。结果表明, 施加B、Mo和Mn元素对金银花中B元素的积累有同步的促进作用。

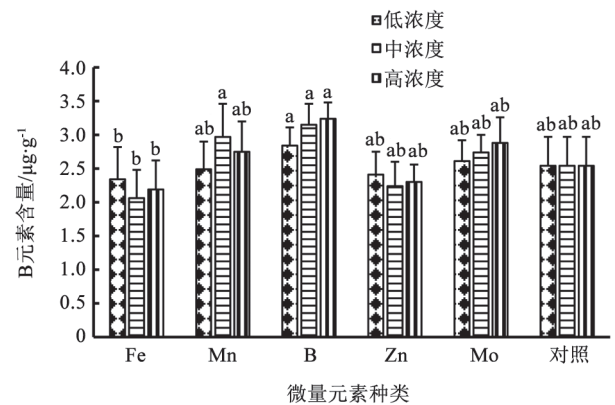


图8 根施不同微量元素后金银花中B元素含量变化

Fig.8 The variation of B content in *L. japonica* under trace element treatments

2.4 施加微量元素对金银花中Zn元素含量的影响

土壤中施加Zn元素后, 金银花中Zn元素略有增加(图9), 但与对照相比没有达到显著水平, 可能与土壤中原有Zn元素含量较高有关。土壤中施加不同浓度的Fe、Mn、B和Mo元素后, 金银花中Zn元素含量均减少, 中浓度Fe、中浓度Mn处理效果较明显, 与没有施用微量元素的对照相比差异均达到显著水平, 分别比对照中Zn元素含量减少18.91%和16.75%。高浓度B和高浓度Mo处理后, 金银花中Zn元素含量分别比对照减少9.12%和7.79%, 但差异没有达到显著水平。结果表明, 施加Mn和Fe元素对金银花中Zn元素的积累有同步的拮抗作用, B和Mo元素在金银花中与Zn元素的积累呈拮抗关系。

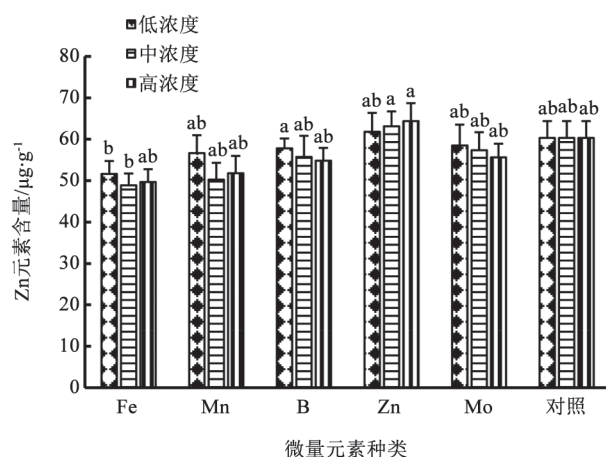


图9 根施不同微量元素后金银花中Zn元素含量变化
Fig.9 The variation of Zn content in *L. japonica* under trace element treatments

2.5 施加微量元素对金银花中Mo元素含量的影响

土壤施加Mo和B元素处理后金银花中Mo元素明显增加, 其中高浓度的Mo、高浓度的B和中浓度的Zn作用较强(图10), 与对照相比差异都达到显著水平, 分别比对照增加25.94%、19.58%和13.68%, 但B和Zn元素之间的处理效果没有显著性差异。土壤中施加不同浓度的Fe和Mn元素后, 其中中浓度Fe、中浓度Mn处理效果较明显, 差异达到显著水平, 分别比对照中Mo元素含量减少17.69%和14.39%。结果表明, 土壤施加Fe、Mn、Mo、B和Zn元素, 只要浓度适宜均可以有效促进金银花对土壤中Mo元素的吸收和积累。

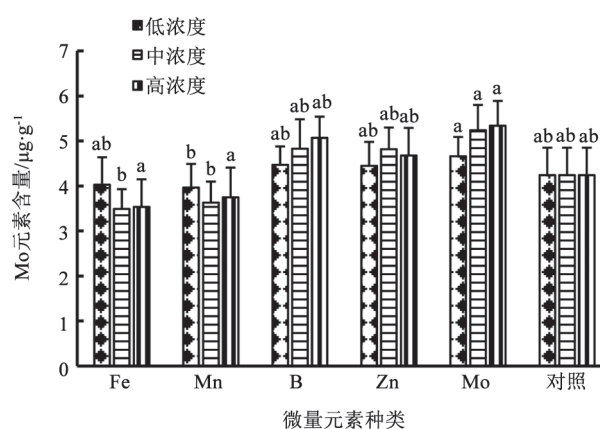


图10 根施不同微量元素后金银花中Mo元素含量变化
Fig.10 The variation of Mo content in *L. japonica* under trace element treatments

3 不同月份金银花中绿原酸含量比较

对未经微量元素处理的金银花中绿原酸含量变化趋势分析后发现(图1~5), 9月份含量达最高, 因为9月植株逐渐成熟, 积累了大量代谢产物, 9月绿原酸含量与6、7和8月之间差异达到显著水平。8月份金银花中绿原酸含量与7月份相比, 略有减少, 这可能与金银花植株从8月份开始形成越冬芽消耗大量养分有关。不同微量元素处理后不同月份间绿原酸含量变化趋势大多也是从6月份开始逐月增加, 9月份达最高, 10月份略有减少, 这与金银花植株开始枯萎有关。高浓度Fe和高浓度Mn处理后, 金银花中绿原酸含量8月份达最高, 以后逐渐减少, 这可能与外施Fe和Mn元素导致金银花中毒有关, 而中浓度的Mn处理后, 金银花中绿原酸含量也于8月份达最高, 以后逐渐减少, 这是因为金银花施加一定量的Mn元素后, 金银花中绿原酸积累极限提前造成。综合分析表明贵州凯里地区金银花中绿原酸积累的最高时期是9月底。

讨 论

1 微量元素在金银花体内的生理作用

微量元素在植物体内含量较低, 但所起的作用至关重要。本研究中施加的Fe元素是植物体内过氧化氢酶与细胞色素氧化酶等多种重要酶的辅基(黄台明等2007), Mn元素是植物体内多种酶的组成成分和活化剂(张萍等2013), Mo元素对植物细胞伸长、组织分化、花粉萌发和花粉管生长有

重要的促进作用(李科和朱进忠2009), Zn元素在调节酶的活性中有着重要的作用(曾文琴等2016), B在增强植物的长势和充实籽粒饱满度方面有重要生理机能(陈超等2013)。这5种微量元素与酶活性的调控紧密相关, 直接影响植物花和种子的形成与生长, 本研究结果也同样显示土壤根施Fe、Mn、B、Zn和Mo元素对金银花中绿原酸的积累具有明显的促进作用, 这与Fe、Mn、B、Zn和Mo元素对绿原酸合成相关酶活性的促进作用紧密相关。此外, 研究结果显示, 不同种类的微量元素对金银花中绿原酸含量的影响差异达到显著水平, 且同种微量元素的浓度处理效果也不相同, 其中中、低浓度的Fe元素, 低浓度的Mn元素, 各浓度的B和Zn元素, 以及高浓度的Mo元素可以有效地促进金银花中绿原酸的积累。通过金银花中Fe、Mn、B、Zn和Mo五种微量元素含量分析认为, 在金银花中Fe和Mn、B、Zn、Mo的吸收和积累有拮抗作用; Zn和Fe、Mn、B、Mo的吸收和积累有拮抗作用; Mn和B、Mo的吸收和积累有协同作用; Mo和B的吸收和积累有协同作用。结果表明, 微量元素在金银花中绿原酸生物合成与积累中起着十分重要的作用。

2 金银花中绿原酸的合成与体内微量元素积累关系

绿原酸是金银花的主要抗菌、抗病毒药理成分。植物绿原酸代谢途径方面仅在咖啡(*Coffea arabica*)中研究得较为深入, Campa等(2013)对咖啡中绿原酸代谢途径进行相关的总结, 认为绿原酸合成主要有两条途径, 第一条是莽草酸途径, 第二条途径是咖啡酸途径。在绿原酸的合成中涉及到的酶有苯丙氨酸解氨酶(phenylalanine ammonia-lyase, PAL)、肉桂酸-4-羟化酶、4-羟基桂皮酰辅酶A连接酶、羟基化肉桂酰辅酶A/奎宁酸羟化肉桂酰基转移酶、香豆酸羟基化酶和羟基肉桂酰辅酶A莽草酸/奎宁酸羟基肉桂酰转移酶, 绿原酸合成量的多少与这些酶的活性与功能紧密相关。Camacho-Cristobal等(2004)研究发现, 烟草(*Nicotiana tabacum*)缺B是通过调节植株体内PAL活性从而影响其植株体内绿原酸的含量的。何柳和陈士林(2013)认为绿原酸是由苯丙氨酸在PAL的作用下, 经莽草酸途径合成。Zucker和Levy (1959)在土豆(*Solanum tuberosum*)绿原酸合成机制的研究中

发现, 土豆绿原酸的合成除了需要葡萄糖与奎宁酸外, 还必须要有无机盐的参与。苏建荣等(2005)对元宝槭(*Acer truncatum*)施肥的研究中发现, 可通过调节叶内营养元素的含量对黄酮类化合物和绿原酸的含量进行调控。刘丽娟等(2010)对返魂草(*Seheciocannabifolius less*)营养元素与绿原酸含量变化规律研究发现绿原酸的合成以营养物质的合成为基础。综合前人相关研究及本研究结果认为, 微量元素与金银花中绿原酸的合成与积累有着直接或间接的关系, 可能与微量元素对绿原酸合成相关酶活性的调控有关, 其具体机制还有待进一步从绿原酸合成相关酶的活性检测及分子生物学鉴定进行分析。

随着药品生产质量管理规范(Good Manufacturing Practice, GMP)认证工作的不断推进, 施肥和土壤肥力对药材质量影响的研究日益受到关注。金银花中绿原酸最高含量出现在9月份, 这个时期正处于结实期, 只有合理施加微量元素肥料, 才能实现金银花生产的优质、高产, 而金银花对微量元素的吸收受微量元素形态、土壤类型、土壤pH值、有机质含量、碳酸钙含量、含盐量以及土壤中N、P、K等水平的影响, 因此, 在金银花施肥中必须考虑营养元素配施的最佳配比、土壤性质、金银花品种等多方面因素, 结合生产实际进行合理施肥。

参考文献

- Camacho-Cristóbal JJ, Lunar L, Lafont F, Baumert A, González-Fontes A (2004). Boron deficiency causes accumulation of chlorogenic acid and caffeoyl polyamine conjugates in tobacco leaves. *J Plant Physiol*, 161: 879–881
- Campa C, Noirot M, Bourgeois M, Pervent M, Ky CL, Chrestin H, Hamon S, de Kochko A (2003). Genetic mapping of a caffeoyl-coenzyme A 3-O-methyltransferase gene in coffee trees. Impact on chlorogenic acid content. *Theor Appl Genet*, 107: 751–756
- Chen C, Yang F, Liu H, Yao H, Song G (2013). Effects and evaluation of soil trace elements after grassland converted into cropland in Guizhou karst area. *Trans Chin Soc Agric Eng*, 29 (7): 230–237 (in Chinese with English abstract) [陈超, 杨丰, 刘洪来, 姚红艳, 宋高翔(2013). 贵州喀斯特地区草地开垦对土壤微量元素的影响与评价. *农业工程学报*, 29 (7): 230–237]
- He L, Chen S (2013). Research progresses on synthesis of chlorogenic acid in plants. *Pharm Biotech*, 20 (5): 463–466 (in Chinese with English abstract) [何柳, 陈士林(2013). 植物中绿原酸合成途径

- 研究进展. 药物生物技术, 20 (5): 463-466]
- Huang TM, Xue JJ, Fang ZB (2007). The effect of iron content and applied methods on leaves with iron-deficiency of mango. Trop Agric Sci Technol, 30 (2): 17-18 (in Chinese with English abstract) [黄台明, 薛进军, 方中斌(2007). 铁肥及其不同施用方法对缺铁失绿芒果叶片铁素含量的影响. 热带农业科技, 30 (2): 17-18]
- Jiang NH (2015). Study on chemical constituents of *Lonicera japonica* bud. J Chin Med Mater, 38 (2): 315-316 (in Chinese with English abstract) [姜南辉(2015). 金银花化学成分研究. 中药材, 38 (2): 315-316]
- Jiang X (2013). Cloning and function analysis of chlorogenic acids biosynthetic pathway key genes from *Lonicera japonica* Thunb. (PhD thesis). Changsha: Hunan University (in Chinese with English abstract) [蒋向辉(2013). 金银花绿原酸合成途径关键酶基因克隆与功能分析(博士学位论文). 长沙: 湖南大学]
- Jiang XH, Yuan J, Zhu JW, Hu XH, Yang CH (2015). Seasonal variation of mineral nutrient contents in *Cyclocarya paliurus* leaves. J Zhejiang For Sci Technol, 35 (2): 17-21 (in Chinese with English abstract) [蒋向辉, 苑静, 祝军委, 胡秀虹, 杨承慧(2015). 青钱柳叶片矿质营养元素含量季节动态变化研究. 浙江林业科技, 35 (2): 17-21]
- Lao J (1988). Manual of Analysis for Soil Agro-Chemistry. Beijing: Agriculture Press, 79-85 (in Chinese) [劳家桢(1988). 土壤农化分析手册. 北京: 农业出版社, 79-85]
- Li A, Sun J, Sun H (2001). Transference characteristics and speciation analysis of trace elements in largehead *Atractylodes* rhizome. Stud Trace Elem Health, 18 (3): 37-39 (in Chinese with English abstract) [李爱红, 孙建民, 孙汉文(2001). 白术中微量元素的溶出特性和形态分析. 微量元素与健康研究, 18 (3): 37-39]
- Li K, Zhu J (2009). Effect of boron and molybdenum on the seed yield of alfalfa. Pratac Sci, 26 (1): 61-63 (in Chinese with English abstract) [李科, 朱进忠(2009). 硼、钼元素对苜蓿种子的增产效果. 草业科学, 26 (1): 61-63]
- Lieurance D, Cipollini D (2013). Environmental influences on growth and defence responses of the invasive shrub, *Lonicera maackii*, to simulated and real herbivory in the juvenile stage. Ann Bot, 112: 741-749
- Liu LJ, Zhang WD, Qin JM, Xu HY, Wang YM (2010). Changes of nutrient elements and chlorogenic acid content in *Senecio canabifolius* Less. Henan Agric Sci, 10 (2): 89-91 (in Chinese with English abstract) [刘丽娟, 张卫东, 秦佳梅, 徐鸿雁, 王育民(2010). 返魂草营养元素与绿原酸含量变化规律研究. 河南农业科学, 10 (2): 89-91]
- Liu Z, Cheng Z, He Q, Lin B, Gao P, Li L, Liu Q, Song S (2016). Secondary metabolites from the flower buds of *Lonicera japonica* and their *in vitro* anti-diabetic activities. Fitoterapia, 110: 44-51
- Lu H, Lei Z, Huang H (2015). Study on the isolation of active constituents in *Lonicera japonica* and the mechanism of their anti-upper respiratory tract infection action in children. Afr Health Sci, 15 (4): 1295-1301
- Mortvedt JJ, Giordano PM, Lindsay WL (1984). Micronutrients in Agriculture. Beijing: Agriculture Press, 109-115 (in Chinese) [莫尔维德特, 吉奥尔达诺, 林赛(1984). 农业中的微量营养元素. 北京: 农业出版社, 109-115]
- Shen H (2010). Influence of soil microelement on plant. For Sci Technol Inform, 42 (4): 12-15 (in Chinese with English abstract) [沈惠国(2010). 土壤微量元素对植物的影响. 林业科技情报, 42 (4): 12-15]
- Su JR, Deng J, Luo X, Yang WY (2005). Studies on fertilization of young *Acer truncatum* Bunge. I. Effect of various nutrition supply conditions on growth and morphology of *Acer truncatum* Bunge. For Res, 18 (2): 147-152 (in Chinese with English abstract) [苏建荣, 邓疆, 罗香, 杨文云(2005). 元宝槭幼树施肥研究. I. 不同施肥处理对生长与构型的影响. 林业科学研究, 18 (2): 147-152]
- Tan HP, Gao Y, Lü H, Zhang YL, Cheng NW, Tang N, Wang XL (2010). Application of microwave digestion in nutritional elements analysis for tea and soil. China Meas Test, 36 (3): 49-52 (in Chinese with English abstract) [谭和平, 高杨, 吕昊, 张玉兰, 陈能武, 唐宁, 王晓玲(2010). 微波消解在茶叶和土壤中营养元素分析的应用. 中国测试, 36 (3): 49-52]
- Wu J, Wang XC, Liu Y, Du H, Shu QY, Su S, Wang LJ, Li SS, Wang LS (2016). Flavone synthases from *Lonicera japonica* and *L. macranthoides* reveal differential flavone accumulation. Sci Rep, 6: 19245
- Wu Y, Wang H, Fang MF, Yue M, Li YF, Li S (2013). Review of studies on influence of environmental factors on formation of medicinal materials from botanicals. Nat Prod Res Dev, 25: 416-420, 429 (in Chinese with English abstract) [吴洋, 王慧, 房敏峰, 岳明, 李易非, 李珊(2013). 环境因子对药用植物药材形成的影响研究进展. 天然产物研究与开发, 25: 416-420, 429]
- Zeng WQ, Zhang FP, Yuang Y, Wang XF (2016). Determination of trace elements Zn, Fe, Cu, Mn in senna. Stud Trace Elem Health, 33 (1): 38-39 (in Chinese with English abstract) [曾文琴, 张风平, 袁洋, 王秀峰(2016). 番泻叶中Zn、Fe、Cu、Mn微量元素测定. 微量元素与健康研究, 33 (1): 38-39]
- Zhang P, Song FH, Shi YJ (2013). Effects of trunk injection of Mn on yield and quality of *Ziziphus jujuba* cv. Huizao in Xinjiang. J Plant Nutr Fert, 19 (4): 1018-1024 (in Chinese with English abstract) [张萍, 宋锋惠, 史彦江(2013). 树干注射锰肥对新疆灰枣生长和品质的影响. 植物营养与肥料学报, 19 (4): 1018-1024]
- Zheng H (2010). Trace Elements Nutrition Diagnosis. Tianjin: Tianjin Science and Technology Translation Publishing Press, 32-37 (in Chinese) [郑鹤龄(2010). 微量元素营养诊断. 天津: 天津科技翻译出版社, 32-37]
- Zucker M, Levy CC (1959). Some factors which affect the synthesis of chlorogenic acid in disks of potato tuber. Plant Physiol, 34 (2): 108-112

The effects of trace elements on formation and accumulation of chlorogenic acid in *Lonicera japonica*

JIANG Xiang-Hui*, DAI Gui-Dong, WANG Xiang

College of Chemistry and Materials Engineering, Kaili University, Kaili, Guizhou 556011, China

Abstract: Chlorogenic acid is the main chemical component in honeysuckle (*Lonicera japonica*) for medicine. It has become a hotspot of research to stabilize and improve *L. japonica* chlorogenic acid in these years. Through giving trace elements such as Fe, Mn, B, Zn and Mo to *L. japonica*, the research compared the contents between trace elements and chlorogenic acid in *L. japonica*, and studied the effects of trace elements on the level of trace elements and the content of chlorogenic acid. The results show that it plays an obvious role in promoting chlorogenic acid of *L. japonica* to give the trace elements Fe, Mn, B, Zn and Mo to the root in the soil, especially the trace element Fe, B, Zn and Mo. It also plays an obvious role in promoting chlorogenic acid in *L. japonica* to give high concentrations of B and Mo and medium concentration of Fe to the root in the soil. The research provides important basis for controlling the content of *L. japonica* chlorogenic acid artificially and developing the trace element fertilizer which is dedicated to *L. japonica* of artificial cultivation.

Key words: *Lonicera japonica*; chlorogenic acid; trace elements; fertilization; cultivation

Received 2016-09-08 Accepted 2017-03-21

This work was supported by the Joint Funds Project of the Department of Science and Technology of Guizhou Province (Grant Nos. LH[2014]7219 and LH[2015]7740), the Project of Guizhou Technological Department (Grant No. J[2015]2131), and the Educational Commission of Guizhou Province of China (Grant Nos. KY[2014]281 and KY[2014]228).

*Corresponding author (E-mail: jxfei789@163.com).