

计8片叶,立即放入冰盒中,迅速带回实验室擦干净,放入海尔BD-492HC低温冰箱中,0℃处理12 h保存待用,准备进行生理生化指标的测定。

1.2.1 可溶性蛋白质含量测定 准确称取0.1 g叶片,放入研钵中,加入5 mL蒸馏水在冰浴中研成匀浆,离心( $4\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ , 10 min),将上清液倒入10 mL容量瓶,再向残渣中加入2 mL蒸馏水,悬浮后再离心10 min,合并上清液,定容至10 mL刻度。另取1支具塞试管,准确加入0.1 mL样品提取液,再加入0.9 mL蒸馏水,与5 mL的考马斯亮蓝G-250试剂混合均匀后放置2 min,然后在595 nm波长下快速进行比色,记录吸光度值。

1.2.2 可溶性糖和淀粉含量测定 取植物叶片在110℃烘箱中烘15 min,然后调至70℃过夜。干叶片磨碎后称取500 mg样品倒入10 mL刻度试管内,加入4 mL 80%酒精,置于80℃水浴中不断搅拌40 min,离心,收集上清液,残渣加2 mL 80%酒精重复提取2次,合并上清液。在上清液中加10 mg活性炭,80℃脱色30 min,定容至10 mL,过滤后吸取上述酒精提取液1 mL,加5 mL蒽酮试剂混合,沸水浴煮10 min,取出冷却。在620 nm处测OD值。从标准曲线上得到提取液中糖的含量。

测糖后离心管中的残渣用10 mL去离子水转移到试管中,进行沸水浴15 min,然后再加 $9.2\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 高氯酸2 mL,充分提取15 min。然后冷却过滤,用去离子水定容至25 mL容量瓶中。吸取0.2 mL提取液于试管中,依次加入1.8 mL去离子水、0.5 mL 2%蒽酮乙酸乙酯及5 mL 98%的浓硫酸,然后在振荡器上充分振荡混匀立即投入到沸水浴保温1 min,自然冷却后在620 nm波长下测定OD值。

1.2.3 SOD、POD、CAT活性的测定 超氧化物歧化酶(SOD)活性的测定采用氮蓝四唑(NBT)法<sup>[5]</sup>。过氧化物酶(POD)活性测定按Rao(19%)的方法( $A=470\text{ nm}$ ),记录愈创木酚被氧化的速率。过氧化氢酶(CAT)活性参照Aebi的方法,连续记录240 nm吸收值的变化(用石英比色杯),以吸光值变化0.001为一个酶单位。

1.2.4 数据分析 数据采用Excel 2003进行处理,利用DPS 7.05进行方差分析,并利用Graph-

pad prism 5 绘制柱形图。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同矮化砧木类型叶片抗寒生理生化指标变化

低温处理后,12份参试矮化砧木类型叶片抗寒生理生化指标发生了显著的变化。由图1A可知,参试12份苹果砧木中,山丁子的蛋白质含量最高,其次是MD001和GM301,最小的为T337。通过在低温处理,砧木枝条抗寒性强的可溶性蛋白含量还是高于砧木枝条抗寒性弱的,山丁子的蛋白质含量是T337的3倍。由图1B可看出,MD001的可溶性糖含量最高,而山丁子、GM310总体上也要高于P60、M111、T337和Pajamal1。由图1C表明,在低温条件下,抗寒力较强的砧木山丁子、MD001、GM310、辽砧2、GM256的淀粉含量明显高于其它砧木,具有较高的储藏养分。经过低温处理后12个样品的SOD活性变化幅度不大,但是从图1D中仍然可以看出,整体呈下降趋势,山丁子和MD001的SOD活性要高于其它砧木。在POD研究方面,过氧化物酶的活性与抗寒性之间密切相关,抗寒品种的POD活性比不抗寒品种高。从图1E可以看出GM310、GM256的POD活性明显高于其它砧木。图1F中可以看出12个砧木当中山丁子、MD001、GV16、GM256的CAT活性要高于其它砧木。P1、P60、Pajamal2的CAT活性最低,MD001CAT活性是P60的7倍。

### 2.2 各生理指标间的相关性分析

对所有供试材料生理生化指标进行方差分析可看出,在不同砧木资源间SOD活性、POD活性、CAT活性、蛋白质含量、可溶性糖含量以及可溶性淀粉含量等单项生理生化指标差异均达到极显著水平( $P<0.01$ )。进一步对试验材料的各项生理生化指标的测定值进行相关性分析。由表2可以看出,山丁子蛋白质含量与辽砧2、GM256、Pajamal1、P1、P60、Pajamal2、M111以及T337之间存在极显著差异,而T337除了M111外,与其它10个种苹果砧木中都存在极显著差异。12种苹果砧木中,MD001的可溶性糖含量与其它11个砧木存在极显著差异,而其它11个砧木之间差异没有到达极显著水平。GM310、GV16以及

GM256 三者淀粉含量存在极显著差异。山丁子和 MD001 的 SOD 含量与 P60、M111 以及 T337 之间存在极显著差异,但是山丁子和 MD001 之间以及 P60、M111 和 T337 之间 SOD 活性差异不显著。GM310 的 POD 活性与山丁子、MD001、辽砧 2、Pajamal1、P1、P60、Pajamal2、M111 以及 T337 之间存在极显著差异。而 MD001 的 CAT 活性与 GM310、GM256、Pajamal1 以及 T337 之间存在极显著差异,与辽砧 2、P1、P60、Pajamal2 以及 M111 之间也存在极显著差异。

同时,对 12 份砧木的抗寒性指标进行比较分析发现,山丁子的蛋白质含量和 SOD 活性均最高;MD001 的可溶性糖含量以及 CAT 活性最高;而 GM310 的 POD 活性最高,且这 3 个材料的其它抗寒指标也都处于较高水平,由此可知,山丁子、MD001 以及 GM310 的抗寒性较好。而 GV16、GM256、P1、P60、M111 以及 T337 的抗寒性指标均处于较低水平,表明这 6 个砧木材料的抗寒性较差。

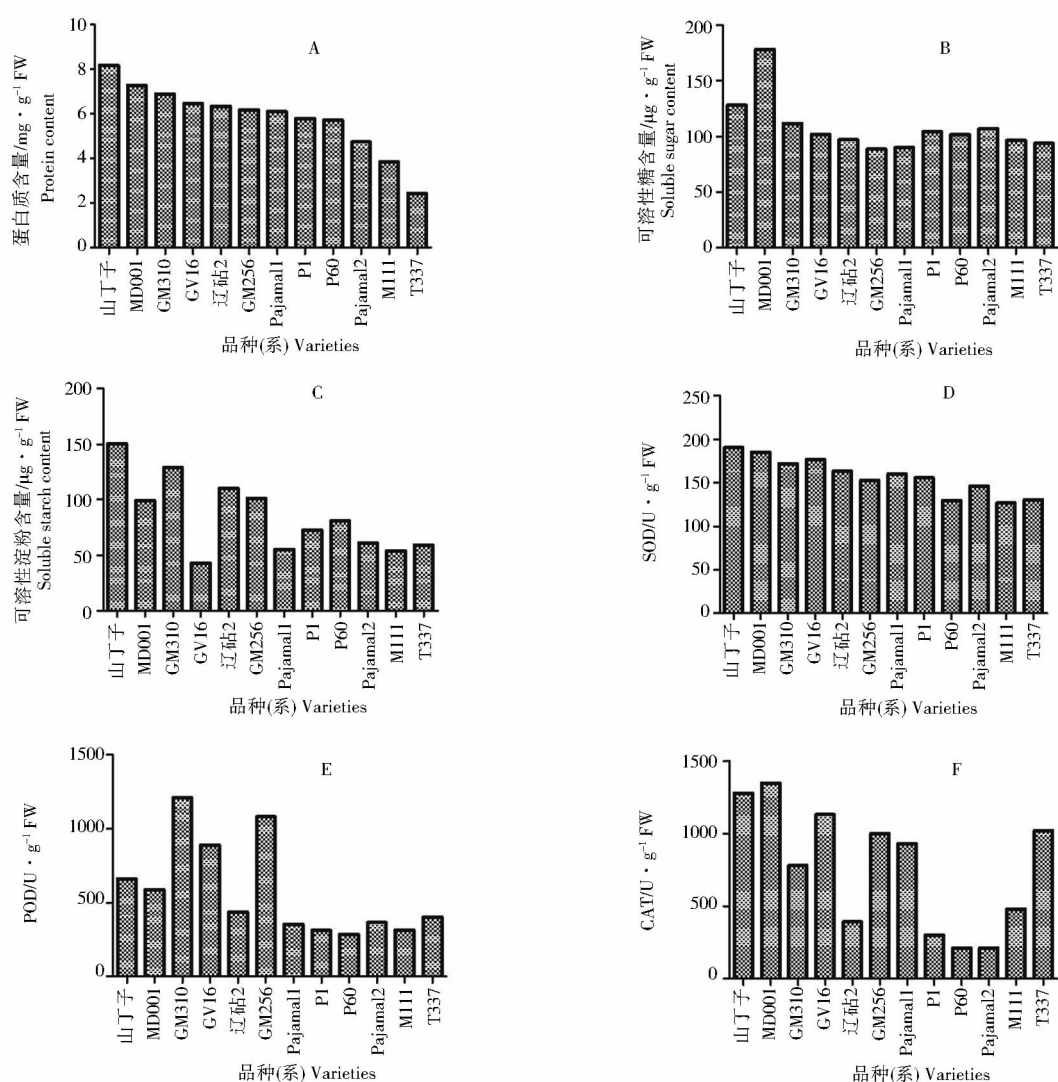


图 1 不同砧木类型抗寒生理生化指标含量变化

Fig. 1 Change of physiological and biochemical indexes for cold resistance of different stocks

表 2 低温条件对苹果矮化砧木资源 6 个生理生化指标影响

Table 2 Effects on 6 physiological and biochemical indexes in apple dwarfing rootstock resources under low temperature treatment

砧木名称 Varieties	蛋白质含量/ mg·g <sup>-1</sup> FW Protein content	可溶性糖含量/ μg·g <sup>-1</sup> FW Soluble sugar content	可溶性淀粉 含量/μg·g <sup>-1</sup> FW Soluble starch content	SOD/ U·g <sup>-1</sup> FW	POD/ U·g <sup>-1</sup> FW	CAT/ U·g <sup>-1</sup> FW
山丁子 Shandingzi	8.15 A	128.46 B	150.59 BC	190.65 A	660.00 BC	1280.00 AB
MD001	7.26 AB	178.10 A	99.31 BC	185.41 A	586.67 BC	1350.00 A
GM310	6.89 AB	111.94 B	129.14 A	172.12 AB	1209.33 A	780.00 B
GV16	6.45 AB	101.84 B	43.15 F	176.50 AB	888.00 AB	1130.00 AB
辽砧 2 Liaozen 2	6.32 BC	96.87 B	110.33 AB	163.42 AB	434.67 C	390.00 C
GM256	6.18 BC	88.51 B	101.10 B	152.59 AB	1082.00 A	1000.00 B
Pajamal1	6.10 BC	90.09 B	55.46 EF	160.21 AB	353.33 C	930.00 B
P1	5.79 BC	104.48 B	72.56 DE	155.64 AB	310.67 C	300.00 C
P60	5.71 BC	101.59 B	80.68 CD	129.47 B	282.67 C	210.00 C
Pajamal2	4.72 CD	106.96 B	60.85 DEF	146.06 AB	362.67 C	210.00 C
M111	3.85 DE	96.46 B	53.92 EF	126.85 B	313.33 C	480.00 C
T337	2.43 E	93.98 B	59.31 EF	130.38 B	400.00 C	1020.00 B

注:同列中不同大写字母表示差异极显著( $P<0.01$ )。

Note:Different capital letters mean significant difference at 0.01 level( $P<0.01$ ).

从表 3 可以看出,6 个生理生化指标之间都存在正相关,其中蛋白质含量、可溶性糖以及可溶性淀粉含量与 SOD 活性相关性最高,分别为 0.872 6、0.523 8 和 0.472 0。而 CAT 活性分别与 SOD 活性和 POD 活性相关性最高为 0.656 7 和 0.492 1。

表 3 6 个生理生化指标的相关系数矩阵

Table 3 Correlation matrix of six physiological and biochemical indexes

项目 Items	蛋白质含量 Protein content	可溶性糖含量 Soluble sugar content	可溶性淀粉含量 Soluble starch content	SOD 活性 SOD activity	POD 活性 POD activity	CAT 活性 CAT activity
蛋白质含量 Protein content	1.0000					
可溶性糖含量 Soluble sugar content	0.4452	1.0000				
可溶性淀粉含量 Soluble starch content	0.5749	0.3255	1.0000			
SOD 活性 SOD activity	0.8726	0.5238	0.4720	1.0000		
POD 活性 POD activity	0.3997	0.0164	0.4477	0.5056	1.0000	
CAT 活性 CAT activity	0.3766	0.4367	0.1085	0.6567	0.4921	1.0000

注:相关系数临界值  $\alpha=0.01$  时, $r=0.707\ 9$ 。

Note:When the critical value of correlation coefficient was 0.01, $r=0.707\ 9$ .

3 结论与讨论

植物经低温处理后,其体内的蛋白质含量,可溶性糖含量以及可溶性淀粉含量等相关生理生化指标发生了显著的变化,对这些指标的测定,可以

直接反映出其抗寒性的强弱。许多学者对可溶性蛋白质含量和果树抗寒锻炼的关系进行研究,发现两者密切相关。蛋白质含量的增加可以提高细胞内的束缚水含量同时降低冰点,蛋白质含量的

增加还可以加强细胞的保水能力,同时可能引起细胞液过冷的形成,对抗寒性的研究水平提高具有重要作用。而可溶性糖不仅可以降低细胞质的冰点,还能促进 ABA 积累,诱导蛋白质的合成,从而提高植物的抗寒性<sup>[6-7]</sup>。通常植物在低温条件下,其生理表现为糖分的积累和增加,并且束缚水含量变化与这种变化规律有较好相似性,抗寒性弱的植物其可溶性糖含量总是低于抗寒性强的植物。同时可溶性糖的含量同抗寒性有相似现象存在,抗寒性强的品种的可溶性糖的含量较抗寒性弱的品种高。因此,该研究选择了蛋白质含量、可溶性糖含量、可溶性淀粉含量、SOD 活性、POD 活性以及 CAT 活性 6 个与抗寒性强弱密切相关的生理生化指标来对 12 份参试材料的抗寒性进行检测,以期对于苹果育种中抗寒性砧木选择提供指导。

赵玲玲等对低温胁迫下 4 种苹果砧木叶片多糖的变化进行分析,结果表明山丁子具有较强的抗寒性<sup>[8]</sup>。在该研究中,通过对试验材料进行各项生理生化指标的测定,可以看出在参试的 12 份砧木中,山丁子的蛋白质含量及 SOD 活性最高,具有较强的抗寒性,这一结果与前人的研究结果相符;同时,该研究还发现,砧木 MD001 可溶性糖含量和 CAT 活性最高;砧木 GM310 的 POD

活性最高,表明这两个砧木材料也具有较强的抗寒性。由此可见,在参试 12 份材料中,山丁子、MD001 以及 GM310 的抗寒性较好。但植物的抗寒性是一个及其复杂的生理生化过程<sup>[9]</sup>,通过上述几个生理指标只对苹果砧木的抗寒性进行了初步比较,还有待于进一步验证。

#### 参考文献:

- [1] 王小得. 浙皖地区桉木属(*Eurya*)植物抗逆性研究[D]. 南京:南京林业大学,2005:24-31.
- [2] 李彦慧,杜绍华,纪惠芳,等. 低温胁迫对大叶女贞膜脂过氧化及保护酶活性的影响[J]. 北林果研究,2007(3):84-86.
- [3] 余文琴,刘星辉. 低温胁迫下芒果叶片若干生理生化变化[J]. 福建农业大学学报,2001,30(2):180-184.
- [4] 高志红,章镇,韩振海. 果梅种质枝条抗寒性鉴定[J]. 果树学报,2005,22(6):9-11.
- [5] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京:高等教育出版社,2000:167-169.
- [6] Chen H H, Li P H. Biochemical changes in tuber-bearing Solanums Species in relation to frost hardiness during cold acclimation[J]. Plant Physiol,1980,66:414-421.
- [7] Yelenosky G, Guy C L. Carbohydrate accumulation in leaves and stems of 'Valencia' Orange at Progressively colder temperature[J]. Bot Gaz,1977,138(1):13-17.
- [8] 赵玲玲,宋来庆,刘志,等. 低温胁迫下 4 种苹果砧木叶片多糖的变化[J]. 果树学报,2008,25(2):151-156.
- [9] 倪志华,陈团显,朱博,等. 果树抗寒性研究进展[J]. 现代园艺,2009(8):11-13.

## Effects of Low-temperature on the Physiological Indexes of Stock Leaf of Different Varieties of Apple

FENG Zhang-li<sup>1</sup>, LIU Chang<sup>1</sup>, ZHAO De-ying<sup>2</sup>, LIU Yan-jie<sup>1</sup>, GU Guang-jun<sup>1</sup>, CHENG Xian-min<sup>1</sup>, BU Hai-dong<sup>1</sup>

(1. Mudanjiang Branch of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Mudanjiang, Heilongjiang 157041; 2. Research Institute of Pomology, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Xingcheng, Liaoning 125100)

**Abstract:** To explore the cold resistance of different apple stocks, the physiological changes for 12 varieties of apple stocks at low temperature were analyzed comparatively. The results showed that the protein content, soluble starch content and SOD activity were the highest in Shandingzi, and the soluble sugar content and CAT activity of MD001 were the highest, GM310 had the highest POD activity, which indicated that Shandingzi, MD001 and GM310 had stronger cold resistance than the others among the 12 apple stocks. Further variance analysis showed that there were extremely significant differences of the SOD activity, POD activity, CAT activity, soluble sugar content and soluble protein content between 12 stocks ( $P < 0.01$ ), which indicated that different cold resistance was among different stocks.

**Key words:** low temperature treatment; apple stock; leaf; physiological indexes

# 冬枣果实品质对比研究

姚立新<sup>1,2</sup>, 马庆华<sup>2</sup>, 龚艳君<sup>3</sup>, 续九如<sup>2</sup>

(1. 北京市林业种子苗木管理总站, 北京 100029; 2. 北京林业大学 林木育种国家工程实验室, 北京 100083; 3. 北京市大东流苗圃, 北京 102211)

**摘要:**冬枣(*Zizyphus jujuba* Mill. cv. Dongzao)是我国特有的优良晚熟、鲜食枣品种,具有较高的经济效益。为探讨不同产地冬枣果实品质的差异,在山东沾化、河北黄骅和沧县三地设立产地对比试验园,将选自不同产地(沾化、黄骅、庆云、沧县和乐陵)的冬枣按照完全随机区组设计在同一立地条件下栽培,对冬枣果实营养成分和感官评价等指标进行了测定分析。结果表明:不同试验园和不同年份间差异显著,说明影响冬枣果实品质的主要因素是环境条件和栽培管理措施,而不是产地来源。

**关键词:**冬枣;果实品质;对比研究

中图分类号:S665.1

文献标识码:A

文章编号:1002-2767(2014)05-0092-03

冬枣,又名冻枣、雁来红、苹果枣和冰糖枣,是我国特有的晚熟枣品种<sup>[1]</sup>,也是一个优良鲜食枣品种,冬枣的定义以《中国果树志·枣卷》为准<sup>[2]</sup>。由于冬枣优良的品质和较高的经济效益,除了山东、河北的原产地大面积发展冬枣外,山西、河南、陕西、北京和新疆等省区都有不同规模的引种栽培<sup>[3-4]</sup>,引种栽培面积不断扩大。

果实品质是鉴别果树品种的重要指标,目前国内已有许多有关冬枣品种特性的研究<sup>[5-8]</sup>。但是,许多对比试验采用分产地采样或者小范围、单点试验,结果受很多因素的影响。该试验将不同产地的冬枣栽种于同一地区,多次重复,随机配置,对各试验地冬枣的果品营养指标在同一立地条件下进行对比分析,以研究探讨导致不同产地冬枣果实品质差异的真正原因,为冬枣遗传改良提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

选用5个产地(沾化、黄骅、庆云、沧州和乐陵)的冬枣为试验材料。

### 1.2 方法

1.2.1 试验设计 采用完全随机区组设计,在山东省沾化县、河北省黄骅市和沧县设立3个对比试验园进行试验。于2006年、2007年和2009年冬枣成熟期(9月底至10月初),在山东沾化、河北黄骅和沧县三地试验园采集健康、完整、有代表性的冬枣果实。按照试验园和产地分别装袋后冷藏带回,用于营养成分分析和感官评价。

1.2.2 测定项目及方法 (1)营养成分分析:VC含量依照GB/T 6195-1986测定;可滴定酸依照GB/T 12293-1990测定;总糖依照NY/T 1278-2007测定;可溶性固形物使用阿贝折射仪,依照GB/T 12295-1990测定。(2)感官评定:对2006年和2007年采集样品同时进行感官评定。具体方法:对各试验园、各产地冬枣分类摆放,做好标记后随机邀请20人参与品尝,并按照品评标准(见表1)<sup>[8]</sup>进行打分。

试验数据用SPSS软件分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同试验园及年份冬枣营养成分对比分析

由表2可知,VC和可滴定酸度在不同试验园之间差异不显著,但是总糖和可溶性固形物两项指标在不同试验园间存在显著差异。

黄骅市和沧县两试验园总糖和可溶性固形物含量差异不显著,沾化县试验园总糖和可溶性固形物含量显著低于这两个试验园,且总糖和可溶性固形物在不同试验园间含量变化规律相似,3个试验园含量从大到小依次为黄骅市试验园>沧县试验园>沾化县试验园。

收稿日期:2014-01-30

基金项目:国家“十一五”科技支撑计划资助项目(2006BAD18B0205);国家林业局重点科研资助项目(2005-03)

第一作者简介:姚立新(1982-),男,河北省邢台县人,博士,工程师,从事林木栽培育种与管理工作。E-mail:ylxin029@163.com。

通讯作者:续九如(1942-),男,内蒙古自治区呼和浩特市人,硕士,教授,博士生导师,从事经济林栽培与育种及数量遗传学研究。E-mail:xjru@sohu.com。

表 1 冬枣果实品质感官评定标准  
Table 1 The standard of sense evaluation for winter jujube

评定指标 Index	评定标准 Standards		
外观 Appearance	果皮光滑,外表美观,着色好 (10~15 分)	果皮较光滑,外表稍差,着色一般 (5~9 分)	果皮粗糙,果型较差,着色差 (0~4 分)
口感 Taste	细嫩多汁,肉质酥脆, 口感极佳,口食无渣(60~75 分)	汁液中等,较细嫩,肉质较脆, 口感好,口食无渣(50~59 分)	汁液较少,质地疏松,口感一般, 口食少渣(40~49 分)
果皮厚 Pericarp thickness	果皮特薄特脆 (8~10 分)	果皮较薄而脆 (5~7 分)	果皮较厚,脆度一般 (0~4 分)

表 2 不同试验园冬枣营养成分多重比较  
Table 2 Multiple comparison on the fruit nutrition of winter jujube in different experimental orchards

试验地点 Sites	VC/ mg•(100 g) <sup>-1</sup>	可滴定酸度/% Titratable acidity	总糖/% Total sugar	可溶性固形物/% Soluble solids
沾化县 Zhanhua county	359.667 a	0.288 a	15.620 b	20.427 b
黄骅市 Huanghua city	373.733 a	0.289 a	18.900 a	24.673 a
沧县 Cang county	372.933 a	0.269 a	18.260 a	23.373 a

注:同列中小写字母表示 0.05 水平差异显著。下同。  
Note: The lowercase means significate difference at 0.05 level. The same below.

由表 3 可知,不同年份间冬枣的果品营养差异很大。尤其是果实中 VC 含量的测定值差距很大,2007 年数据比 2006 年和 2009 年高出 1 倍多,变化范围为 261.93~564.07 mg•(100 g)<sup>-1</sup>。果实中可滴定酸度、总糖和可溶性固形物含量在年份之间差距不大。综合评价,3 a 中 2007 年果实营养表现最好。

表 3 不同年份冬枣果实营养多重比较  
Table 3 Multiple comparison on the fruit nutrition of winter jujube in different years

采样年份 Years	VC/ mg•(100 g) <sup>-1</sup>	可滴定酸度/% Titratable acidity	总糖/% Total sugar	可溶性固形物/% Soluble solids
2006	261.93 b	0.256 b	15.320 b	20.720 b
2007	564.07 a	0.314 a	19.627 a	23.540 a
2009	280.33 b	0.276 b	17.833 a	24.213 a

冬枣果实营养中可滴定酸度、总糖和可溶性固形物比较稳定,对比中可真实地反映果实营养状况。VC 含量变化较大,这与 VC 本身极易降解的特性有关,果实成熟期、采样时间、运输和储存方式、测样时间等因素的差别都会导致 VC 含量的差异。测定中应该尽可能保证条件一致,并尽快处理,结果才有更好的可比性。

2.2 不同年份不同试验园冬枣口感评价对比分析

果实的外观和口感是冬枣品质好坏的重要标

志,通过随机品尝和评价可得出较为客观的结论。对 2006 年和 2007 年不同产地冬枣感官评价进行统计分析(见表 4)。可知,冬枣果实感官评价在不同产地间差异不显著,但在年份和试验地点间表现显著差异。2007 年果实感官评价高于 2006 年,与果实营养分析结果一致。

对不同试验地点间果实感官评价进一步做多重比较分析可知,不同试验园间差异明显。黄骅试验园口感评价与沧县试验园无显著差异,果皮厚度评价得分低于沧县试验园,外观和总分显著高于其它两地试验园;而沾化试验园感官评价四项指标均低于其它试验园。

表 4 不同年份不同试验园冬枣感官评价多重比较

Table 4 Multiple comparison on the sense evaluation of winter jujube in different years

变异来源 Source of variation		外观 Appearance	口感 Taste	果皮厚 Pericarp thickness	总分 Total score
年份 Years	2006 年	7.71 b	55.82 b	6.95 b	70.49 b
	2007 年	10.53 a	59.62 a	7.39 a	77.54 a
试验地点 Sites	沾化	6.94 c	53.12 b	6.88 c	67.13 c
	黄骅	11.37 a	59.88 a	7.23 b	78.48 a
	沧县	9.06 b	59.98 a	7.40 a	76.43 b

分析不同试验地点和年份之间冬枣感官评价的差异原因,主要是因为不同生产试验园间以及不同年份管理者不同,栽培管理措施及环境气候也不同,这些差别都很大程度上影响了冬枣的果品营养和感官评价。同时,不同年份环境气候对冬枣品质影响也很大,而在同一试验园内,只要栽培管理和立地条件基本一致,不同产地的冬枣果实品质就没有明显差异。

### 3 结论与讨论

多点、多年观测结果表明,在不同年份、不同试验园之间,冬枣果实营养组成差异显著。说明影响冬枣果实表型和品质的主要因素是环境条件和栽培管理措施,而不是产地来源。

除了栽培措施差异以外,环境气候因素也有很大影响。由于 2007 年的冬枣盛花期(6 月下旬~7 月上旬),沧州枣区遭遇 5 a 以来最严重的绿盲蝽象危害,导致落花落果严重,坐果率极低;而秋季收获季节又遭遇连阴雨,裂果严重,严重影响了产量,沧县和黄骅地区冬枣产量仅为往年的 20%~40%。产量降低后,树体有限的养分供应较少的果实,果实品质一定程度上得到提高。

冬枣尽管在不同产地之间没有显著差异,但

在长期栽培过程中,由于芽变和人工选择,仍存在着个别单株的变异。所以,冬枣遗传改良的方向不应是产地的选择,而是单株的选择。

生产当中,适当控制产量,精细化栽培管理,保持充足的营养供应,很大程度上会提高果实品质。对冬枣产业来说,追求质量第一,产量第二,才能取得可持续的发展。

#### 参考文献:

- [1] 周正群. 冬枣无公害高效栽培技术[M]. 北京:中国农业出版社,2002:2-3.
- [2] 续九如,李守勇,张昌盛. 冬枣的形态特征及其与其他晚熟枣品种的区别[J]. 河北林果研究,2003(3):38-42.
- [3] 郭裕新,单公华,杨茂林. 我国枣树的区化栽培[J]. 中国果树,2002(4):44-46,51.
- [4] 刘孟军. 中国枣产业发展报告[M]. 北京:中国林业出版社,2008:28,72-124.
- [5] 李守勇. 不同产地冬枣品质特性及其遗传变异研究[D]. 北京:北京林业大学,2004:72-96.
- [6] 周广芳. 枣优质高效安全生产技术[M]. 济南:山东科学技术出版社,2008:38.
- [7] 胡新艳. 产地和肥料对冬枣主要性状表现的影响[D]. 北京:北京林业大学,2005:18-23.
- [8] 马庆华. 不同产地冬枣遗传品质差异及其栽培技术研究[D]. 北京:北京林业大学,2007:26-50.

## 长白山地区野生地被植物在沈阳的引种 筛选及园林应用初探

徐 岚

(沈阳市园林科学研究院, 辽宁 沈阳 110016)

**摘要:**为解决城市中国林地被植物种类单调问题,通过对长白山地区野生地被植物调查、引种,引入野生地被植物共 33 种,在沈阳进行试栽植,并经过 2 a 的物候观测,初步选出适合沈阳园林绿化利用的地被植物 18 种,并对其园林利用价值进行初步分析评价。

**关键词:**野生地被植物;筛选;评价

**中图分类号:**S688

**文献标识码:**A

**文章编号:**1002-2767(2014)05-0095-04

地被植物是指株丛紧密、低矮(50 cm 以下)、用以覆盖园林地面而免杂草孽生的植物,包括多年生的低矮草本植物和一些适应性强的低矮、匍匐型的灌木及藤本植物。地被植物以其适应性强、生长较快、覆盖力强,可弥补乔木生长缓慢、下层空隙过大的不足,在短期内收到较好的景观效果。因此,筛选和推广应用适合沈阳地区的园林地被植物对丰富城市景观、改善生态环境及提升园林绿化水平具有重要意义。

沈阳位于  $N41^{\circ}1' \sim 42^{\circ}17'$ ,  $E122^{\circ}25' \sim 123^{\circ}48'$ , 平均海拔高度 50 m, 属于北温带受季风影响的大陆性气候, 气候特点四季分明, 春季多风干旱, 夏季炎热, 7~8 月多雨, 秋季凉爽, 冬季寒冷漫长。年均气温  $7.0 \sim 7.8^{\circ}\text{C}$ , 一月份平均气温  $-12.5^{\circ}\text{C}$ , 绝对最低气温  $-33.1^{\circ}\text{C}$ , 绝对最高气温  $39.3^{\circ}\text{C}$ , 城市南北温差在  $2^{\circ}\text{C}$  左右, 年均降雨量为  $574.4 \sim 684.8 \text{ mm}$ , 年蒸发量在  $1408 \sim 1765 \text{ mm}$ , 年均相对湿度 65%, 年均日照  $2630.6 \text{ h}$ , 无霜期 156 d, 适宜暖温带植物生长。

长白山位于吉林省东南部, 属北温带和寒温带气候类型, 是整个欧亚东大陆和北半球同纬度地区温带生态系统和森林植物保存较完整的地

收稿日期:2014-01-03

作者简介:徐岚(1980-),女,辽宁省沈阳市人,学士,工程师,从事园林植物引种栽培研究工作。E-mail:742744361@qq.com。

## Study on the Quality Variation of Winter Jujube

YAO Li-xin<sup>1,2</sup>, MA Qing-hua<sup>2</sup>, GONG Yan-jun<sup>3</sup>, XU Jiu-ru<sup>2</sup>

(1. General Administration of Forest Seeds and Seedlings of Beijing, Beijing 100029; 2. National Engineering Laboratory of Forest Tree Breeding, Beijing Forestry University, Beijing 100083; 3. Beijing Dadongliu Nursery, Beijing 102211)

**Abstract:** Winter jujube (*Zizyphus jujuba* Mill. cv. Dongzao) is regarded as the best late maturing and fresh cultivars of Chinese jujubes, and has high economic benefit, in order to explore the fruit quality of different provenances, three comparison orchards, which located in Zhanhua county in Shandong province, Huanghua city and Cangxian county in Hebei province were established with randomized complete-block design. Indexes as the components of fruit nutrients, food sensory evaluation were analyzed at comparison orchards for 3 years. The results showed that there was the difference between different orchards and different years was significant. It showed the fruit quality of winter jujube were mainly contributed by environmental conditions, cultivation and management measures, but not by provenances.

**Key words:** winter jujube (*Zizyphus jujuba* Mill. cv. ); fruit quality; comparison research



区,蕴藏着极为丰富的野生植物资源,其中许多具有很高观赏价值的地被植物尚未开发利用。对长白山野生地被资源进行调查,并引种筛选出新优园林地被品种,是解决城市中园林地被植物种类单调,丰富园林绿地景观的重要途径。

长白山区森林茂密,地形复杂,生态环境十分优越,野生观赏植物资源非常丰富,总计有 124 科、405 属、804 种;其中草本类有 98 科、315 属、602 种,木本类有 39 科、92 属、202 种。其中地被类的植物共有 47 科、137 属、227 种。由于受不同海拔高度、土壤、温度、降水和湿度等因子的影响,植物种类多种多样,许多种类集多种观赏价值于一身,是园林绿化的优良素材<sup>[1]</sup>。

对长白山地区野生地被植物资源进行调查,对部分材料进行试种,筛选出适应沈阳地区气候条件,并具有较高观赏价值的地被植物品种,是丰富沈阳地区现有地被植物的有效方法之一。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

以 33 种野生植物(见表 1)作为引种材料。

### 1.2 方法

1.2.1 引种遵循的原则 引种选择多年生或具有自播繁衍能力的一、二年生草本植物;丛生或具有地下横走根茎或地上匍匐茎;植株低于 50 cm;具有较高观赏价值的花、叶、果、株型等;生长迅速,覆盖地面所需时间短;抗旱、抗盐碱、耐瘠薄、耐荫能力强。

1.2.2 筛选方法 2010 年 9 月将引种材料栽植于沈阳市园林科学研究院院内。对引种的地被植物品种进行为期 2 a 的物候观测,内容包括萌动期、展叶期、花期、果期以及植株高度、露地栽培情况和生长迅速等,并根据其在沈阳地区所表现的生态特性,对其在园林绿化中的应用进行初步评价。

表 1 长白山野生地被植物引种

Table 1 The introduction of ground cover plants in Changbai Mountains

名称 Names	科 Family	属 Genera
扁枝石松 <i>Diplazium complanatum</i> (L.) Holub	石松科	扁枝石松属
东北石松 <i>Lycopodium clavatum</i> var. <i>robustius</i> (Hook. et Grev.) Nakai	石松科	石松属
肾叶高山蓼 <i>Oxyria digyna</i> (L.) Hill.	蓼科	山蓼属
侧金盏花 <i>Adonis amurensis</i> Regel et Radde	毛茛科	侧金盏花属
多被银莲花 <i>Anemone raddeana</i> Regel	毛茛科	银莲花属
驴蹄草 <i>Caltha palustris</i> L.	毛茛科	驴蹄草属
拟扁果草 <i>Enemion raddeanum</i> Regel.	毛茛科	拟扁果草属
獐耳细辛 <i>Hepatica asiatica</i> Nakai	毛茛科	獐耳细辛属
菟葵 <i>Eranthis stellata</i> Maxim.	毛茛科	菟葵属
东北延胡索 <i>Corydalis ambigua</i> Cham. et Schltd.	罂粟科	紫堇属
山荷叶 <i>Astilboides tabularis</i> (Hemsl.) Engler	虎耳草科	山荷叶属
斑点虎耳草 <i>Saxifraga punctata</i> L.	虎耳草科	虎耳草属
金腰子 <i>Chrysosplenium alternifolium</i> L.	虎耳草科	金腰子属
红花鹿蹄草 <i>Pyrola incarnata</i> Fisch. ex DC.	鹿蹄草科	鹿蹄草属
山酢浆草 <i>Oxalis acelosella</i> L.	酢浆草科	酢浆草属
尾叶香茶菜 <i>Plectranthus excises</i> Maxim.	唇形科	香茶菜属
东北点地梅 <i>Androsace filiformis</i> Retz.	报春花科	点地梅属
山茄子 <i>Brachybotrys paridiformis</i> Maxim.	紫草科	山茄子属

续表 1

Continuing Table 1

名称 Names	科 Family	属 Genera
百里香 <i>Thymus mongolicus</i> Ronn.	紫草科	百里香属
兔儿伞 <i>Syneilesis aconitifolia</i> (Bunge) Maxim	菊科	兔儿伞属
金刚草 <i>Disporum ovale</i> Ohwi	百合科	万寿竹属
猪牙花 <i>Erythronium japonicum</i> Decne	百合科	猪牙花属
二叶舞鹤草 <i>Maianthemum bifolium</i> (L.) F. W. Schm.	百合科	舞鹤草属
牛皮杜鹃 <i>Rhododendron chrysanthum</i> Pall.	百合科	杜鹃花属
北重楼 <i>Paris verticillata</i> M. Bieb.	百合科	重楼属
玉竹 <i>Polygonatum odoratum</i> (Mill.)	百合科	黄精属
茗葱 <i>Allium victorialis</i> L.	百合科	葱属
七筋姑 <i>Clintonia udensis</i> Trautv. et Mey.	百合科	七筋姑属
朝鲜顶冰花 <i>Gagea lutea</i> (L.) Ker.	百合科	顶冰花属
白花延龄草 <i>Trillium camschatcense</i> Ker-Gawl.	百合科	延龄草属
臭菘 <i>Symplocarpus foetidus</i> (L.) Salisb	天南星科	臭菘属
羊耳蒜 <i>Liparis japonica</i> (Miq.) Maxim	兰科	羊耳蒜属
山兰 <i>Oreorchis patens</i> (Lindl.) Lindl.	兰科	山兰属

2 结果与分析

2.1 建立野生草本地被植物种质资源圃

在对长白山野生地被植物资源调查基础上,成功引入野生植物共计 33 种,分属科,建立了地被植物引种资源圃(见表 1)<sup>[2]</sup>。

2.2 优良野生地被植物筛选及园林利用初评

对引种的地被植物品种进行为期 2 a 的物候观测,遵循引种原则,科学筛选出适应沈阳地区气候条件,并具有较高观赏价值的地被植物品种 13 种,并根据其在沈阳地区所表现的生态特性,对其在园林绿化中的应用进行了初步评价。

2.2.1 侧金盏花 多年生草本,株高 10~25 cm,叶在花后伸展,花黄色,叶片正三角形,花期 3~4 月,果期 4~5 月。开花早,在园林上可做观花植物,可用于林下地面和早春花坛、花境的绿化。

2.2.2 多被银莲花 多年生草本,株高 10~30 cm,叶为三出复叶,广卵形 2~3 深裂,花白色,花期 4~5 月,果期 6 月。在园林上可做观花植物,可用于林下地面和早春花坛、花境的绿化。

2.2.3 驴蹄草 多年生草本,株高 10~40 cm,

基生叶丛生,叶肾形,基部心形,茎生叶少数,与基生叶同形,花黄色,花期 5~6 月,果期 7 月,花期长,为重要观花植物,在园林上可用于林下地面和湖畔、河岸、池边等浅水处绿化。

2.2.4 獐耳细辛 株高 8~18 cm,基生叶 3~6,叶三角状宽卵形,基部深心形,3 裂至中部,裂片宽卵形,全缘,花粉红色,叶片造型奇特,为观叶、观花植物,在园林上可做林下地被。

2.2.5 东北延胡索 多年生草本,株高 10~18 cm,叶二回三出全裂,长圆形或倒卵形,总状花序顶生,淡蓝色至蓝色,开花早,为观花、观叶植物,在园林上可用于林下地面及早春花坛、花境的绿化。

2.2.6 金腰子 多年生草本,株高 6~10 cm,叶片肾圆形,基部深心形,聚伞花序,鲜黄色,蒴果,花期 4~5 月,果期 6~7 月。开花早,为观花、观叶植物,在园林上可用于林下地面及湖畔、河岸、池边等湿地的绿化。

2.2.7 山酢浆草 多年生草本,株高 5~15 cm,无地上茎,只有基生叶,顶生 3 小叶,无柄,倒心形,顶生 1 花,白色,果红棕色或褐色,花期 5~6

月,果期7~8月。在园林上可做观叶、观花植物,也是优良的林下地被。

2.2.8 百里香 茎多数,匍匐或上升,营养枝被短柔毛,花枝长达10 cm,叶卵形,被腺点,花序头状,花冠紫红、紫或粉红色,花期7~8月,果期8~9月,株形优美,花色艳丽,花朵密集,气味芳香,耐贫瘠,抗干旱,为观形,观花植物,可用于地面及假山的绿化。

2.2.9 兔儿伞 多年生草本,株高70~120 cm,叶片圆盾形,掌状深裂,头状花序多数,在顶端密集成复伞房状,花淡红色,花期6~7月,果期7~8月,在园林上可做观花、观叶植物,可用于地被植物。

2.2.10 猪牙花 多年生草本,株高25~30 cm,叶片椭圆形至披针状长圆形,叶片隼秀,花单朵顶生,下垂,较大,紫红色,基部有3齿状的黑紫色斑纹,花花精巧别致,色泽艳丽,花期4~5月,果期6~7月,在园林上可做观花、观叶植物,可用于林下地面及花坛、花境的绿化。

2.2.11 北重楼 多年生直立草本,株高20~50 cm,叶5~8枚轮生于茎顶,叶片倒卵形或倒卵状披针形,花期5~6月,果期8~9月,叶片造型奇特,花清秀别致,果实色泽艳丽,在园林上可做观叶、观花、观果植物,可做林下地面的绿化。

2.2.12 玉竹 多年生草本,株高20~50 cm,叶片通常7~12(14)枚互生于茎中上部,椭圆形、长

圆形至卵状长圆形。花绿黄色或白色,有香气,花被片合生成筒状,浆果圆球形,花期5~6月,果期7~8月。在园林上可做观花、观叶、观果植物,可用于林下地面及花坛、花境的绿化。

2.2.13 羊耳蒜 株高17~24 cm,无毛,叶2枚,基生,宽卵形或椭圆形,总状花序,花淡黄色或带紫色,花期6~7月;果期8~9月,叶片优美,花造型奇特,在园林上可做为观叶、观花植物,可用做林下地被植物。

### 3 结论

地被植物广泛的适应性和抗逆性可大大降低养护管理费用。根据不同的绿地性质和功能,可以选择不同的地被植物来协调环境,野生地被植物更是丰富的品种资源宝库。该文对所选的野生地被,是最初适生性选择,在园林上的应用也是初步的分析评价,对于合理开发野生地被资源,对抗逆性进行进一步筛选,并将筛选出的野生地被品种进行扩繁及合理应用于各类型的园林绿化还有待于进一步研究探索<sup>[3]</sup>。

#### 参考文献:

- [1] 周繇. 长白山区野生地被植物资源的研究[J]. 湖北大学学报:自然科学版, 2003(4): 332-335.
- [2] 周繇, 朱俊义, 于俊林. 中国长白山观赏植物彩色图志[M]. 吉林: 吉林教育出版社, 2005.
- [3] 马洁. 北京地区野生草本地被植物引种、筛选与利用[D]. 北京: 北京林业大学, 2006.

## Introduction, Selection and Landscape Application of Wild Ground Cover Plants of Changbai Mountains in Shenyang Area

XU Lan

(Shenyang Academy of Landscape-Gardening, Shenyang, Liaoning 110016)

**Abstract:** In order to solve the problem of ground cover plant species drab in city garden, through investigation and introduction of the wild ground cover plants in Changbai Mountain region, thirty-three wild ground cover plants were planted in Shenyang. After two years of phenology observation, eighteen ground cover plants were chosen which were suitable for growing in Shenyang, and the landscape application was analyzed and evaluated.

**Key words:** wild ground cover plants; selection; evaluation

# 植酸酶固定化条件的研究

王成波

(黑龙江省农业科学院 玉米研究所,黑龙江 哈尔滨 150086)

**摘要:**为将植酸酶固定到壳聚糖载体上,以壳聚糖为载体,戊二醛为交联剂,利用共价结合的方法,对酶的固定化方法进行了研究。对影响固定化的主要因素:戊二醛溶液的体积分数、加酶量和交联时间进行分析,以酶活力为指标,评价各水平间的影响。在单因素试验的基础上,利用正交试验进行优化。结果表明:植酸酶固定化最佳条件为戊二醛溶液的体积分数 4%,加酶量  $65 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$ ,交联时间 5 h,酶活力 1 665 U。

**关键词:**植酸酶;壳聚糖;戊二醛;固定化

**中图分类号:**Q556

**文献标识码:**A

**文章编号:**1002-2767(2014)05-0099-04

我国是世界第二大玉米种植国,常年种植面积达 3 000 万  $\text{hm}^2$ ,70%的玉米用于饲料生产,饲料原料中一半成分是玉米。玉米中总磷的50%~80%以植酸形式存在,但这种形式的磷不能被猪等单胃动物消化利用,随动物粪便排泄后还会严重污染环境。植酸酶是催化植酸及其盐类水解为肌醇与磷酸(盐)的一类酶的总称,属磷酸单酯水解酶,具有特殊的空间结构<sup>[1]</sup>。植酸酶可以降解饲料中含量丰富的植酸,能够依次分离植酸分子中的磷,不但可以释放出有利于动物生长发育的无机磷,同时也可以释放出与植酸结合的其它营养物质,以被猪、禽等单胃动物更好的吸收利用<sup>[2]</sup>,而且每年还可减少饲料中磷酸氢钙的添加量 80 万~120 万 t,降低饲料成本,减少动物粪便中磷的排泄量 30%~40%,减轻环境污染。因此,植酸酶是目前应用较多且前景较好的一种绿色饲料添加剂<sup>[3]</sup>。

酶作为生物催化剂,在反应溶液中使用量较少且不可回收,一方面由于反应物对酶造成污染,另一方面昂贵的价格造成酶制剂的浪费也是不容忽视的。固定化酶,即将酶固定或限制于固定化载体的某一特定区域内,酶仍然具有其特有的催化反应特性,并可回收重复使用的一类技术,因此将酶固定到载体上是解决这一问题必不可少的方法<sup>[4]</sup>。大部分的固定化酶比游离酶的稳定性有所提高,延长了使用寿命。酶本身作为一种蛋白质,对热并不稳定。而固定化酶耐热性较游离酶有所

提高,使酶的最适温度提高,在较高温度下酶依然可以进行催化作用,加快反应速率,使酶的作用效率提高。酶经固定化后在操作过程中可以长时间的保留活力,半衰期延长,真正的具有工业应用价值<sup>[5]</sup>。因此,该文利用共价结合的方法,以壳聚糖为载体,戊二醛为交联剂,将植酸酶其固定到壳聚糖载体上。通过单因素及正交试验,以酶活力为指标,分析确定最佳固定化条件,以寻求植酸酶能在我国食品工业、饲料工业和畜牧业得到大规模的推广和应用。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

试验仪器为 TG238 型分析天平(上海医用激光仪器厂)、MS-H 磁力搅拌器(顺德市兰谱电器制造有限公司)、SY-2-4 数显恒温水浴锅(余姚市东方电工仪器厂)、高速离心机(北京医疗仪器修理厂)、ZK-82B 真空干燥箱(上海-恒科学仪器有限公司)、722 型紫外可见分光光度计(上海精密科学仪器有限公司)、HEQ-C 空气振荡器(北京普析通用仪器有限公司)及 FE20K pH 计(海兴行实业有限公司);试验试剂为壳聚糖(玉环县海洋生物化学有限公司)、植酸酶(苏柯汉生物工程有限公司)、硫酸铵(天津石英钟厂霸州市化工分厂)、醋酸钠(天津市精细化工开发中心)、冰乙酸(天津市精细化工开发中心)、戊二醛(天津市科密欧化学试剂厂),植酸钠和钼酸铵由天津市化学试剂一厂提供,磷酸二氢钠、浓硫酸、乙酸钠、三氯乙酸均由天津市化学试剂三厂提供。

### 1.2 方法

1.2.1 植酸酶固定化 (1)壳聚糖载体的制备:配制 100 mL 体积分数 1.5%的乙酸溶液,精确称

收稿日期:2014-01-08

作者简介:王成波(1962-),男,黑龙江省哈尔滨市人,高级农艺师,副研究员,从事玉米生物技术研究。

取 5.00 g 壳聚糖粉末加入乙酸溶液中,搅拌使其充分溶解,缓慢逐滴加入到 50 mL 1 mol·L<sup>-1</sup> NaOH 溶液中,此时形成白色微球体。用磷酸缓冲溶液进行冲洗至中性,烘干即为壳聚糖微球体<sup>[6]</sup>。(2)固定化的方法:取壳聚糖载体 0.5 g,加入不同体积的戊二醛溶液,水浴震荡后室温下放置不用时间进行交联,用磷酸缓冲溶液冲洗交联载体,加入不同量的酶液于 4℃ 下固定 4 h。磷酸缓冲溶液冲洗,真空抽滤得到固定化酶<sup>[7]</sup>。

1.2.2 固定条件单因素试验 初步判断对固定效果有影响的因素,即戊二醛浓度、酶液量、交联时间、缓冲液 pH 及固定化时间等。根据试验条件及相关资料确定戊二醛浓度、酶液量、交联时间为单因素。以植酸酶酶活力作为指标,对植酸酶进行固定化。

(1)戊二醛浓度对固定化效果的影响。平行取 0.50 g 壳聚糖,进行不同浓度的戊二醛的固定实验。分别加入体积分数为 2%、3%、4%、5% 和 6% 的戊二醛溶液,采用 65 U·g<sup>-1</sup> 的酶液量,交联时间 5 h。其余按照 1.2.1 酶的固定化方法操作。

分别测定固定化酶的酶活力<sup>[8]</sup>。

(2)酶液量对固定化效果的影响。平行取 0.50 g 壳聚糖,进行不同酶液量的固定试验。分别加入 50、55、60、65 及 70 U·g<sup>-1</sup> 的酶液量,即 10 mL 含酶量分别为 7.70、8.50、9.20、10.00、10.80 g 的酶液。采用 4% 的戊二醛浓度,交联时间 5 h。其余按照 1.2.1 酶的固定化方法进行,分别测定固定化酶的酶活力<sup>[9]</sup>。

(3)交联时间对固定化效果的影响。平行取 0.50 g 壳聚糖,进行不同交联时间的固定试验。交联时间分别设定为 3.5、4.0、4.5、5.0 和 5.5 h,采用 4% 戊二醛浓度,65 U·g<sup>-1</sup> 酶液量。其余按照 1.2.1 酶的固定化方法进行,分别测定固定化酶的酶活力。

1.2.3 最佳固定条件确定 根据单因素试验的结果,选取对固定化效果有影响的因素水平,以固定化酶的酶活力为评价指标,选用正交设计表 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>) 安排试验,得出植酸酶的最佳固定化条件,因素水平设计见表 1。

表 1 正交试验因素水平设计  
Table 1 Orthogonal design of factors and levels

水平 Levels	因素 Factors		
	A 戊二醛浓度/% Glutaraldehyde concentration	B 酶液量/U·g <sup>-1</sup> Amount of enzyme	C 交联时间/h Crosslinking time
1	4	60	4.5
2	5	65	5
3	6	70	5.5

## 2 结果与分析

### 2.1 固定条件单因素选择

采用交联固定化法,选取影响固定效果的 3 个主要因素:戊二醛浓度、酶液量和交联时间,每个因素选取 5 个水平,分别做单因素试验。

2.1.1 戊二醛浓度的确定 由图 1 可知,随着戊二醛浓度的增加,酶活力呈现出逐渐上升的趋势,固定化效果逐渐变好,当戊二醛浓度为 4% 时,酶活力达到最大值;戊二醛浓度继续增加时,酶活力又开始下降,说明固定化效果逐渐下降。

试验结果选取固定效果较好的戊二醛浓度 4%、5% 及 6% 三个水平做正交试验。

2.1.2 酶液量的确定 由图 2 可知,随酶液量的增加,酶活力逐渐上升,当酶液量为 65 U·g<sup>-1</sup> 时,

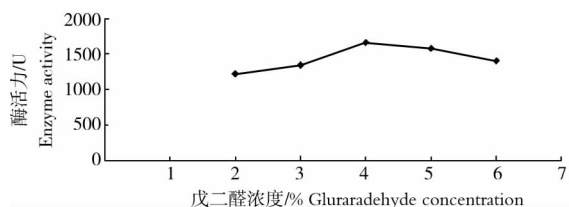


图 1 不同戊二醛浓度与酶活力关系

Fig. 1 The relationship between different concentration of glutaraldehyde and enzymatic activity

酶活力最大。酶液量继续增加时,酶活力又开始下降。

分析原因可能是开始时酶液量小导致固定化效果不好,总体趋势变化不大。

试验结果选取固定效果较好的酶液量 60、65

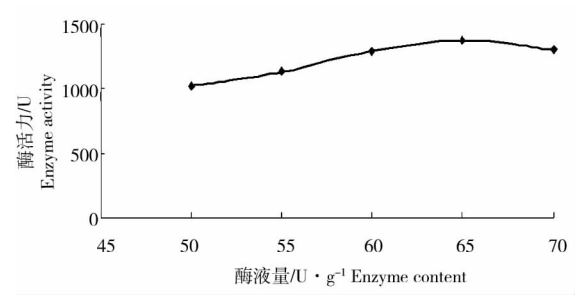


图 2 不同酶液量与酶活力关系  
Fig. 2 The relationship between different enzyme content and enzyme activity

和 70 U·g<sup>-1</sup> 三个水平做正交试验。

2.1.3 交联时间的确定 从图 3 可知,随着交联时间的增加,酶活力逐渐上升,当交联时间为 5 h 时,酶活力最大。交联时间继续增加,酶活力又开始下降。

分析原因可能是随交联时间的增加,固定化

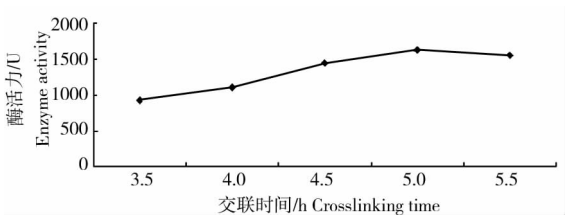


图 3 不同交联时间与酶活力的关系  
Fig. 3 The relationship between different crosslinking time and enzyme activity

程度逐渐变强,当时间为 5 h 时,固定化效果最好;时间大于 5 h 后,会使本来已经固定化的酶变为游离酶,使固定化效果下降,酶活力下降。

试验结果选取固定效果较好的交联时间 4.5、5.0、5.5 h 三个水平做正交试验。

2.2 最佳固定条件的确定

2.2.1 正交分析 通过单因素试验确定因素水平,以酶活力为考察指标进行正交试验,结果见表 2。

表 2 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>) 正交试验结果

Table 2 Orthogonal result of L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)

因素 Factors					
编号 No.	A 戊二醛浓度/% Glutaraldehyde concentration	B 酶液量/U·g <sup>-1</sup> Amount of enzyme	C 交联时间/h Crosslinking time	D	酶活力/U Enzyme activity
1	1(4)	1(60)	1(4.5)	1	1326
2	1	2(65)	2(5.0)	2	1665
3	1	3(70)	3(5.5)	3	1445
4	2(5)	1	2	3	1464
5	2	2	3	1	1189
6	2	3	1	2	1064
7	3(6)	1	3	2	1289
8	3	2	1	3	1390
9	3	3	2	1	1577
K <sub>1</sub>	4436	4079	3780	4092	$\bar{x}=1378$
K <sub>2</sub>	3717	4244	4706	4018	
K <sub>3</sub>	4256	4086	3923	4299	
k <sub>1</sub>	1478	1360	1260	1364	
k <sub>2</sub>	1239	1415	1569	1339	
k <sub>3</sub>	1419	1362	1308	1433	
R	239	55	309	94	
优水平	A <sub>1</sub>	B <sub>2</sub>	C <sub>2</sub>	D <sub>3</sub>	

通过表 2 可以看出,各因素对试验结果影响的大小顺序为 C>A>B,即交联时间>戊二醛浓度>酶液量;最佳提取条件为 A<sub>1</sub>B<sub>2</sub>C<sub>2</sub>,即戊二醛浓度为 4%,酶液量为 65 U·g<sup>-1</sup>,交联时间为 5 h,酶活力为 1 665 U。

由此可得,9 个试验中的最优条件为 A<sub>1</sub>B<sub>2</sub>C<sub>2</sub>,由于这个结果是直接试验得到的数据,因此比较可靠;而依据正交试验的统计计算,优水平为 A<sub>1</sub>B<sub>2</sub>C<sub>2</sub>,与直接试验的结果是相同的。在这两个优水平中,主要影响因素都是交联时间和戊二醛

浓度,次要影响因素为酶液量。

### 2.2.2 直观分析 根据正交表中血凝反应后上

清液的吸光度值水平的平均值( $k$ )绘制直观图(见图4)。

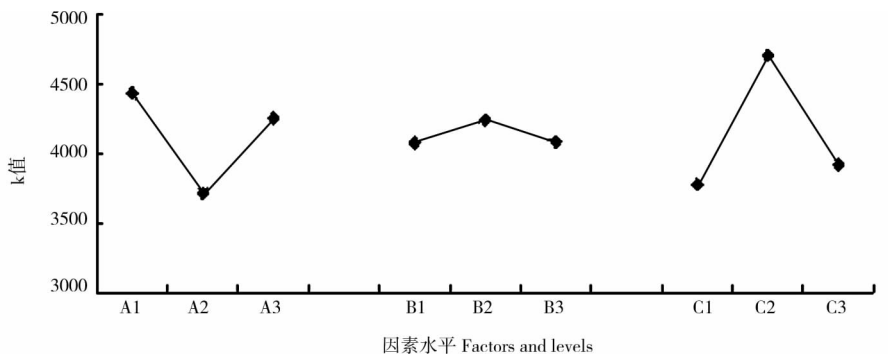


图4 因素水平的直观分析

Fig. 4 Direct analysis of factors and levels

由图4可知,3个因素中2个主要影响因素,交联时间和戊二醛浓度的最佳提取条件在比较理想的水平,次要影响酶液量则不太理想,根据直观图中的趋势,应在适当范围内增加酶液量,来寻求更加理想的酶液量。由于酶液量为次要的影响因素,因此对试验的结果影响不突出。

### 3 结论

试验结果表明,酶的固定化最佳条件为戊二醛浓度4%,酶液量 $65 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$ ,交联时间5 h。此时固定化酶活力最大,计算得酶活力为1 665 U。由于固定化试验所用植酸酶活力较低,若进一步提高自由酶活力则固定化酶活力会更高。

#### 参考文献:

[1] 罗贵民,曹淑桂,张今. 酶工程[M]. 北京:化学工业出版社, 2002:17-20.

[2] 汪世华,吕茂洲,孙长春,等. 植酸酶的现状及其研究进展[J]. 广州食品工业科技, 2006, 18(1): 91-94.

[3] Gao Jun-jie, Che Xiao-rong. Effect of Phytase Supplementation on Availability of Ca, P and Bone Development in Pigs[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2007, 19(4): 357-365.

[4] 李佳,刘钟滨. 植酸酶的研究进展及应用[J]. 同济大学学报:医学版, 2004, 25(6): 234-240.

[5] 罗贵民. 酶工程[M]. 北京:化学工业出版社. 2004, 234-240.

[6] 李红,王炜军,徐凤彩,等. 壳聚糖微球体的制备[J]. 华南农业大学学报, 2000, 1: 19-24.

[7] 孙君社,江正强,刘萍. 酶的应用[M]. 酶与酶工程及其应用, 2006: 321-333.

[8] 陈建龙,祁建城,曹仪植,等. 固定化酶研究进展[J]. 化学与生物工程, 2006, 23(2): 7-9.

[9] 王积涛,张宝申,王永梅,等. 有机化学[M]. 天津:南开大学出版社, 2003: 70-100.

## Study on Immobilization Conditions of Phytase

WANG Cheng-bo

(Maize Research Institute of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin, Heilongjiang 150086)

**Abstract:** In order to immobilize the phytase into carrier, taking chitosan as carrier and glutaraldehyde as crosslinking reagent, the covalent bonding was used to study the immobilized method of phytase. The main factors affecting the immobilization were analyzed including the glutaraldehyde content, the amount of enzyme and the crosslinking time. The results of orthogonal design showed that the best volume fraction of glutaraldehyde was 4%, the best amount of enzyme was  $65 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$ , and the best crosslinking time was five hours. The calculation showed the phytase activity was 1 665 U.

**Key words:** phytase; chitosan; glutaraldehyde; immobilize