

文章编号: 1001-411X(2001)04-0048-04

曲霉及穗霉侵染对银杏种子采后生理的影响

于新¹, 冯彤¹, 余小林², 张百超³, 庞杰³

(1 仲恺农业技术学院食品科学系, 广东 广州 510225; 2 华南农业大学食品科学系, 广东 广州 510642;

3 西南农业大学食品科学学院, 重庆 400716)

摘要: 研究了常温贮藏过程中, 曲霉(*Aspergillus* spp.)及穗霉(*Spicaria* sp.)侵染对银杏(*Ginkgo biloba* L.)种子采后生理的影响. 结果表明: 在 25 °C, RH85% 的条件下, 接种侵染的银杏种子的病害症状各不相同. 接种第 18 d 与 CK 组比较, 各接种组的呼吸强度(RI)增加了 198.4~564.7 mg/(kg·h), 相对电导率(REC)增加了 8.91%~18.55%, 失水率增加 32.0~212.6 g/kg, 达到极显著差异水平($P < 0.01$). *Spicaria* sp. 组的 RI、膜透性和失水率均大于 *Aspergillus* spp. 组. 上述 3 项生理指标上升的快慢是不同步的, 因不同病原菌而异. 接种 12 或 15 d 时, 接种组淀粉和蛋白质相对含量均高于 CK 组, 并达到显著差异水平($P < 0.05$).

关键词: 银杏; 曲霉; 穗霉; 贮藏; 病害生理

中图分类号: S432.1; S664.3

文献标识码: A

银杏(*Ginkgo biloba* L.)具有较高的食用和药用价值, 在我国大量种植. 当前银杏采后贮藏保鲜问题日益突出. 银杏贮藏过程中种仁硬化、霉变不仅降低了银杏的食用和药用品质与价值, 而且降低种子的发芽率. 银杏硬化与温度、湿度、呼吸作用及相关的酶活性有关^[1~8]. 本试验研究了曲霉(*Aspergillus* spp.)及穗霉(*Spicaria* sp.)侵染对采后银杏种子的呼吸强度、膜透性、失水率、淀粉和蛋白质代谢的影响.

1 材料与方法

1.1 试验材料

采自广东南雄的新鲜银杏(*Ginkgo biloba* L.)种子, 脱去外种皮, 选大小一致、无腐烂和机械损伤者为试验材料. 贮于 4~5 °C 冰箱中备用. 接种试验所用病原菌均由自然条件下霉变的银杏种子分离所得, 经鉴定、接种和观察确定为银杏采后病原菌 *Aspergillus flavus*, *A. sydowi*, *A. niger*, *A. ochraceus*, *A. candies* 及 *Spicaria* sp., 由仲恺农业技术学院微生物室提供.

1.2 试验方法

1.2.1 病原菌接种 用 $\varphi=75\%$ 酒精浸银杏种子 10 min, 然后用无菌水冲洗 3 次. 在无菌条件下沥干表面水分, 分为 6 组, 每组 100 粒, 装入已灭菌的三角瓶. 分别喷入浓度为 3×10^4 个/mL 的上述病原菌的

孢子悬浮液 1 mL. 摇匀, 25 °C 恒温培养. 每组处理重复 5 次, 未接种的健康种子为对照.

1.2.2 生理指标测定 病原菌接种后 3、6、9、12、15、18 d 测定种子的生理指标. 采用气流法于 25 °C 测定呼吸强度^[9], 相对电导率法测定膜透性^[9], 重量法测定失水率^[10]; 酸水解法测定淀粉^[11], 紫外分光光度法测定蛋白质^[11]. 破壳统计各组的硬化率.

2 结果与分析

2.1 *Aspergillus* spp. 和 *Spicaria* sp. 采后侵染对银杏种子的呼吸作用的影响

接种 *Aspergillus* spp. 和 *Spicaria* sp. 的各组银杏种子, 初期虽然表面出现霉点, 但除 *A. candidus* 之外, 其呼吸强度(RI)与 CK 组无显著差异. 在 25 °C、RH85% 条件下, 从接种第 6 d 开始, 除 *A. flavus* 外, 其余各接种组的 RI 较 CK 组极显著增强($P < 0.01$). 第 18 d, *A. sydowi* 接种组的 RI 最低也达到 470.9 mg/(kg·h); *Spicaria* sp. 接种组的 RI 最高, 达到 837.2 mg/(kg·h). 分别较同期 CK 组增加了 198.4 和 564.7 mg/(kg·h)(表 1).

2.3 *Aspergillus* spp. 和 *Spicaria* sp. 采后侵染对银杏种子膜透性的影响

Aspergillus spp. 和 *Spicaria* sp. 接种后的各组相对电导率(REC)较 CK 组均有显著增加, 但 REC 的增

收稿日期: 2001-05-28

作者简介: 于新(1959-), 男, 副教授, 硕士.

基金项目: 广东省自然科学基金资助项目(960522); 广东省“百项工程”资助项目(99B05903X); 广东省教育厅自然科学基金重点资助项目(963303)

加与 *RI* 的增加不是同步的, *REC* 的增加相对滞后, 增加的绝对值也相对较小。接种后的第 9 d, *Aspergillus* spp. 各组与 CK 组的 *REC* 皆呈显著差异($P<0.05$), *Spicaria* sp. 组已达到极显著差异水平($P<0.01$)。第 12 d, 所有接种组的 *REC* 较大幅度增加, 与 CK 组相比均达到极显著差异水平($P<0.01$)。第 18 d, 接种组 *REC* 为 16.59%~26.23%, 较 CK 组增加了 8.91%~18.55%(表 2)。

表 1 *Aspergillus* spp. 和 *Spicaria* sp. 采后侵染对银杏种子呼吸作用的影响¹⁾

Tab. 1 Effect of infection by <i>Aspergillus</i> spp. and <i>Spicaria</i> sp. on respiration of post-harvest <i>Ginkgo</i> seed (25 °C, RH 85%)						
接种病原菌 inoculated pathogenic fungi	呼吸强度 respiratory intensity / (mg·kg ⁻¹ ·h ⁻¹)					
	3 d	6 d	9 d	12 d	15 d	18 d
CK	210.5±2.4	216.1±3.5	231.4±2.1	243.2±3.7	258.6±3.2	272.5±2.6
<i>A. flavus</i>	211.3±1.2	217.8±2.4	265.8±2.4**	301.2±3.2**	384.7±3.4**	592.6±2.9**
<i>A. sydowi</i>	211.0±2.6	233.2±2.8**	261.7±3.0**	299.3±3.5**	347.2±3.6**	470.9±3.2**
<i>A. niger</i>	211.5±1.7	228.7±2.5**	250.6±2.7**	309.4±2.9**	385.1±2.8**	526.7±3.6**
<i>A. ochraceus</i>	210.6±1.8	225.9±2.7**	263.2±2.3**	343.8±2.5**	452.7±3.3**	550.2±3.7**
<i>A. candidus</i>	220.3±2.0**	247.7±3.2**	275.8±2.9**	346.2±3.0**	467.3±3.2**	593.4±3.9**
<i>Spicaria</i> sp.	211.6±2.5	253.7±3.7**	298.1±3.1**	395.4±3.6**	610.3±2.9**	837.2±3.3**

1) 表中数值为 5 次重复的平均数, *, ** 分别表示 0.05 和 0.01 差异显著水平(*t* 检验)

表 2 *Aspergillus* spp. 和 *Spicaria* sp. 采后侵染对银杏种子膜透性的影响¹⁾

Tab. 2 Effect of infection by <i>Aspergillus</i> spp. and <i>Spicaria</i> sp. on permeability of cell membrane of post-harvest <i>Ginkgo</i> seed (25 °C, RH85%)						
接种病原菌 inoculated pathogenic fungi	相对电导率 relative electric conductivity / %					
	3 d	6 d	9 d	12 d	15 d	18 d
CK	6.40±0.12	6.47±0.16	6.53±0.21	6.65±0.16	7.12±0.22	7.68±0.24
<i>A. flavus</i>	6.41±0.10	6.43±0.19	6.78±0.23*	7.54±0.20**	8.87±0.24**	16.59±0.27**
<i>A. sydowi</i>	6.41±0.15	6.52±0.20	6.81±0.24*	7.53±0.18**	8.64±0.21**	15.68±0.23**
<i>A. niger</i>	6.40±0.09	6.51±0.17	6.78±0.20*	7.62±0.23**	9.01±0.18**	16.22±0.26**
<i>A. ochraceus</i>	6.42±0.13	6.47±0.23	6.81±0.19*	8.87±0.21**	16.75±0.23**	17.43±0.27**
<i>A. candidus</i>	6.44±0.17	6.48±0.21	6.79±0.25*	9.36±0.19**	17.83±0.25**	19.47±0.24**
<i>Spicaria</i> sp.	6.45±0.14	6.99±0.24**	8.37±0.22**	12.05±0.26**	19.63±0.28**	26.23±0.25**

1) 表中数值为 5 次重复的平均数, *, ** 分别表示 0.05 和 0.01 差异显著水平(*t* 检验)

2.4 *Aspergillus* spp. 和 *Spicaria* sp. 采后侵染对银杏种子失水率的影响

在试验条件下, CK 组失水缓慢。病原菌接种后的第 6 d, 各接种组失水率均显著上升; 第 18 d, CK 组的失水率仅 9.3 g/kg。在各接种组中, 失水率最低的 *A. flavus* 为 41.3 g/kg, 失水率最高的 *Spicaria* sp. 为 221.9 g/kg, 较 CK 组增加了 32.0~212.6 g/kg。 *Spicaria* sp. 的失水率高于 *Apergillus* sp. (表 3)。

表 3 *Aspergillus* spp. 和 *Spicaria* sp. 采后侵染对银杏种子失水率的影响¹⁾

Tab. 3 Effect of infection by <i>Aspergillus</i> spp. and <i>Spicaria</i> sp. on water loss of post-harvest <i>Ginkgo</i> seed (25 °C, RH85%)						
接种病原菌 inoculated pathogenic fungi	失水率 water loss / (g·kg ⁻¹)					
	3 d	6 d	9 d	12 d	15 d	18 d
CK	0.2±0.1	0.9±0.2	1.2±0.3	3.4±0.6	7.5±1.0	9.3±1.3
<i>A. flavus</i>	0.3±0.1	1.8±0.3**	4.9±0.7**	15.6±1.2**	28.5±1.2**	41.3±1.5**
<i>A. sydowi</i>	0.5±0.2*	4.2±0.6**	9.7±1.0**	47.3±1.6**	85.4±2.3**	123.3±2.7**
<i>A. niger</i>	0.2±0.1	2.3±0.5**	8.5±0.8**	36.7±1.3**	67.3±2.1**	103.0±1.9**
<i>A. ochraceus</i>	0.6±0.2**	5.7±0.09**	11.3±0.9**	25.8±1.0**	57.7±1.6**	85.2±2.0**
<i>A. candidus</i>	0.3±0.1	1.8±0.3**	8.7±0.6**	17.6±0.8**	32.4±1.2**	54.7±1.8**
<i>Spicaria</i> sp.	0.4±0.1*	4.6±0.5**	14.2±1.3**	78.3±1.9**	124.7±2.4**	221.9±3.4**

1) 表中数值为 5 次重复的平均数, *, ** 分别表示 0.05 和 0.01 差异显著水平(*t* 检验)

2.5 *Aspergillus* spp. 和 *Spicaria* sp. 采后侵染对银杏种子淀粉含量的影响

9 d有所增加, 而且 *Aspergillus* spp. 组在后期淀粉相对含量的增幅小于 *Spicaria* sp. 组. 第 18 d, *Spicaria* sp. 与 CK 组相比, 各接种组的淀粉相对含量于第 组的淀粉相对含量较 CK 组增加了 44.4 g/kg(表 4).

表 4 *Aspergillus* spp. 和 *Spicaria* sp. 采后侵染对银杏种子淀粉含量的影响¹⁾

Tab. 4 Effect of infection by *Aspergillus* spp. and *Spicaria* sp. on starch content of post-harvest *Ginkgo* seed (25 °C, RH85%)

接种病原菌 inoculated pathogenic fungi	w(淀粉 starch) / (g·kg ⁻¹)					
	3 d	6 d	9 d	12 d	15 d	18 d
CK	318.3±2.6	317.9±3.1	316.4±2.4	314.2±2.7	313.7±3.2	319.8±3.7
<i>A. flavus</i>	318.3±2.3	318.8±2.8	318.9±2.6*	319.5±2.9**	320.3±3.4**	324.7±3.5**
<i>A. sydowi</i>	317.9±2.7	318.9±3.0	319.7±2.0*	325.6±2.6**	329.7±2.8**	334.2±3.1**
<i>A. niger</i>	318.0±2.4	318.2±3.3	319.4±2.5*	319.9±2.3**	325.6±2.9**	344.5±2.5**
<i>A. ochraceus</i>	318.2±1.8	318.9±2.4	321.3±2.7**	324.3±2.8**	328.4±3.1**	338.6±3.4**
<i>A. candidus</i>	318.4±2.5	318.7±2.7	319.2±2.9*	319.8±3.0**	322.7±3.3**	326.8±2.9**
<i>Spicaria</i> sp.	318.6±2.1	319.0±2.9	329.5±2.6**	334.7±2.5**	344.5±2.7**	364.2±3.2**

1) 表中数值为 5 次重复的平均数, *, ** 分别表示 0.05 和 0.01 差异显著水平(*t* 检验)

2.6 *Aspergillus* spp. 和 *Spicaria* sp. 采后侵染对银杏种子蛋白质含量的影响

病原菌接种 15 d, 各接种组的蛋白质相对含量 显著水平(表 5).

表 5 *Aspergillus* spp. 和 *Spicaria* sp. 采后侵染对银杏种子蛋白质含量的影响¹⁾

Tab. 5 Effect of infection by *Aspergillus* spp. and *Spicaria* sp. on protein content of post-harvest *Ginkgo* seed (25 °C, RH85%)

接种病原菌 inoculated pathogenic fungi	w(蛋白质 protein) / (g·kg ⁻¹)					
	3 d	6 d	9 d	12 d	15 d	18 d
CK	83.7±0.6	83.9±1.1	84.3±0.9	84.4±1.3	84.6±1.2	84.78±1.7
<i>A. flavus</i>	83.8±1.0	83.9±1.4	84.0±1.2	84.5±1.5	84.9±1.6	85.6±1.4
<i>A. sydowi</i>	83.7±0.5	84.0±1.3	84.1±0.8	85.8±1.1*	86.5±1.4*	88.6±2.1**
<i>A. niger</i>	83.8±1.0	83.9±1.0	84.1±1.1	84.7±1.0	87.7±1.7**	88.9±2.5**
<i>A. ochraceus</i>	83.6±1.2	84.1±1.6	84.2±1.5	84.6±1.4	86.9±2.0*	88.7±2.7**
<i>A. candidus</i>	83.7±0.8	83.8±1.8	84.0±1.3	84.6±1.8	87.5±1.3**	91.6±1.9**
<i>Spicaria</i> sp.	83.7±1.6	83.9±1.2	84.4±1.6	86.6±2.0*	88.9±2.2**	90.8±2.8**

1) 表中数值为 5 次重复的平均数, *, ** 分别表示 0.05 和 0.01 差异显著水平(*t* 检验)

3 讨论

银杏种子硬化多由失水和霉变所致. 从试验可知, 各接种组 *RI*、发病时间、表现的症状存在显著差异. 银杏种子受病原菌侵染, 发生霉变并加速失水, *REC* 显著增加, 即膜透性与感病关系密切. 比较各组 *REC* 和 *RI* 的变化趋势, 发现二者呈显著的正相关. 这可能是由于病原菌产生的胞外酶如纤维素酶、果胶酶等具有一定的水解作用, 破坏了细胞膜、细胞壁, 引起组织或细胞内容物外渗的结果. 病原菌侵染促进 *RI* 和 *REC* 的增加, 但 *REC* 的增加相对滞后, 说明 *RI* 的增加是健康银杏种子组织或细胞感病后的刺激反应, *REC* 的增加是侵染的结果.

病原菌侵染破坏了银杏种子细胞组织的膜系

统, 失水显著, 致使各接种组的淀粉和蛋白质相对含量高于 CK 组. 接种组呼吸强度高, 消耗较多的淀粉, 以及病原菌产生的胞外酶如淀粉酶的水解作用使淀粉绝对含量较 CK 组下降^[7]. *Aspergillus* spp. 组在后期淀粉相对含量的增幅小于 *Spicaria* sp. 组. 在试验条件下, *Aspergillus* spp. 可能产生淀粉酶的数量多或酶活力更强. *Spicaria* sp. 组蛋白质相对含量高于 *Aspergillus* spp. 组, 与前者较高的失水率是一致的.

参考文献:

[1] 冯彤, 于新, 庞杰. 银杏种子贮藏期硬化生理研究[J]. 西南农业大学学报, 1998, 20(3): 212—215.
[2] 于新, 冯彤, 黄小丹, 等. 贮藏方法对银杏采后霉变及硬化的影响[J]. 仲恺农业技术学院学报, 1998, 11

(2): 14—17.

[3] 于 新, 冯 彤, 张百超. 银杏种子气调生理研究[J]. 西南农业学报, 2000, 13(4): 90—94.

[5] FENG T, YU X. Effects of heat shock treatment on floating percentage of *Ginkgo* seed during storage [J]. 西南农业学报, 1999, 12(3): 93—96.

[6] 冯 彤, 于 新, 庞 杰, 等. 冷冲击处理对贮藏期间银杏硬化的影响[J]. 仲恺农业技术学院学报, 1998, 11(2): 42—45.

[7] 黄小丹, 李素春, 于 新. 银杏采后真菌病害的初步研究[J]. 仲恺农业技术学院学报, 1998, 11(2): 50—55.

[8] 于 新, 冯 彤, 庞 杰, 等. 不同时期银杏种子成分及呼吸变化[J]. 仲恺农业技术学院学报, 1998, 11(2): 19—23.

[9] 上海植物生理学会. 植物生理学实验手册[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1985. 129—144.

[10] 邹 琦. 植物生理生化实验指导[M]. 北京: 中国农业出版社, 1995. 215—236.

[11] 王菽淳. 食品卫生检验技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 1988. 152—207.

Effects on Post-Harvest Patho-Physiology of *Ginkgo biloba* Seed Infected with *Aspergillus* spp. and *Spicaria* sp.

YU Xin¹, FENG Tong¹, YU Xiao-lin², ZHANG Bai-chao³, PANG Jie³
(1 Dept. of Food Science, Zhongkai Agrotechnical College, Guangzhou 510225, China;
2 Dept. of Food Science, South China Agric. Univ., Guangzhou 510642, China;
3 College of Food Science, Southwest Agric. Univ., Chongqing 400716, China)

Abstract: Effects of infection with pathogenic fungi, *Aspergillus* spp. and *Spicaria* sp., on post-harvest physiology of *Ginkgo biloba* seed were studied at 25 °C and RH85%. The result showed different symptoms of various diseases on inoculated seeds. Compared to normal seeds(CK), the respiratory intensity(RI) of infected seeds was increased 198.4 ~ 564.7 mg/(kg °h), the relative electric conductivity(REC) and the rate of water lose were 8.91% ~ 18.55%, 32.0 ~ 212.6 g/kg higher than that of CK respectively after 18 days inoculation. The above physiologic indices of the seeds inoculated with *Spicaria* sp. were higher than those of the seeds inoculated with *Aspergillus* spp. The differences between the above mentioned indices of inoculated groups and CK were significant at 0.01 level ($P<0.01$), and their development was asynchronous and depended on the specific pathogenic fungi. The relative contents of starch and protein of inoculated seeds were higher than those of CK and their differences were significant at 0.05 level ($P<0.05$) on 12 or 15 d after inoculation.

Key words: *Ginkgo biloba* seed; *Aspergillus* spp.; *Spicaria* sp.; storage; patho-physiology

【责任编辑 柴 焰】