

# 黄曲霉对不同含水量新疆鲜食核桃 活性氧代谢的影响

王园梦<sup>1,2</sup>,白羽嘉<sup>1,2\*</sup>,冯作山<sup>1,2</sup>,王洁<sup>1,2</sup>,喻苹<sup>1,2</sup>

(1. 新疆农业大学 食品科学与药学学院,新疆 乌鲁木齐 830052;2. 新疆果品采后科学与技术重点实验室,  
新疆 乌鲁木齐 830052)

**摘要:**以新疆“新2”薄皮核桃为材料,无菌水接种为对照组,探究人工接种从自然霉变核桃上分离纯化出的黄曲霉菌后不同含水量的鲜食核桃活性氧代谢相关酶的变化规律。结果表明,不同含水量的鲜食核桃遭受到黄曲霉感染后,在感染前期,各含水量的鲜食核桃体内活性氧迅速累积,酶促清除系统被激活,不同的抗氧化酶为抵御病原微生物的感染活性开始有明显的升高并达到峰值,但随着感染时间的延长,酶促清除系统清除活性氧的能力减弱,活性氧的大量积累导致果实细胞膜结构被破坏,加快了其老化、腐烂。黄曲霉感染含水量25%的鲜食核桃时,酶促清除系统的抗氧化酶活性明显高于其他含水量的鲜食核桃。

**关键词:**黄曲霉菌;感染;新疆薄皮核桃;鲜食核桃;活性氧代谢

## Effect of *Aspergillus flavus* on Reactive Oxygen Metabolism of Fresh Walnut with Different Water Content in Xinjiang

WANG Yuanmeng<sup>1,2</sup>, BAI Yujia<sup>1,2\*</sup>, FENG Zuoshan<sup>1,2</sup>, WANG Jie<sup>1,2</sup>, YU Ping<sup>1,2</sup>

(1. School of Food Science and Pharmacy, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052, Xinjiang, China;  
2. Xinjiang Key Laboratory of Fruit Post-Recovery Science and Technology, Urumqi 830052, Xinjiang, China)

**Abstract:** This paper, with Xinjiang 'new 2' thin-skinned walnut as material and vaccinated sterile water as control group, explored the change pattern of enzymes related to reactive oxygen metabolism in fresh walnut with different water content after artificial inoculation of *A. flavus* from natural mildew walnut. The results showed that in the early stage of the infection, fresh walnut with different water content rapidly accumulated reactive oxygen species, and enzymatic clearance system was activated. Thus different antioxidant enzymes significantly increased and reached the peak to resist the pathogenic microorganisms. However, with the growth of infection time, the ability of the enzymatic clearance system decreased, and reactive oxygen species accumulated in a large amount, thereby destroying the cell membrane structure of the fruit as well as speeding up its aging and decay. When *A. flavus* infected fresh walnuts with 25% water content, the antioxidant enzyme activity of the enzymatic clearance system was significantly higher than that of fresh walnuts with other water content.

**Key words:** *Aspergillus flavus*; infection; Xinjiang thin-skinned walnut; fresh walnut; reactive oxygen metabolism

引文格式:

王园梦,白羽嘉,冯作山,等.黄曲霉对不同含水量新疆鲜食核桃活性氧代谢的影响[J].食品研究与开发,2024,45(6):78-84.

WANG Yuanmeng, BAI Yujia, FENG Zuoshan, et al. Effect of *Aspergillus flavus* on Reactive Oxygen Metabolism of Fresh Walnut with Different Water Content in Xinjiang[J]. Food Research and Development, 2024, 45(6): 78-84.

基金项目:自治区高校科研计划自然科学项目

作者简介:王园梦(1997—),女(汉),硕士研究生,研究方向:农产品加工与综合利用。

\*通信作者:白羽嘉(1984—),男,副教授,博士,研究方向:农产品加工与综合利用、作物遗传育种、果品采后生物学与物流保鲜。

核桃,又称胡桃、万岁子等,属胡桃科胡桃属植物<sup>[1]</sup>。中国核桃栽培面积居世界第一,年产量在10万t以上<sup>[2]</sup>。核桃仁营养成分均衡,并具有健胃、补血、润肺、益肾和补脑等多种功效<sup>[3]</sup>。新疆核桃虽然面积和产量优势不明显,但其已经建成以“温185”、“新2号”品种为主的全国最大的薄皮核桃产区<sup>[4]</sup>。目前,去掉青皮直接出售的鲜食核桃因其口味新奇、口感细腻,且营养价值较高,越来越受到人们的喜爱。在中国,鲜食核桃的消费热度和需求量越来越高,销售量每年都不断增加。研究发现,干制核桃的营养价值、含水量及代谢水平均低于鲜食核桃,在自然条件下影响霉菌生长繁殖的主要因子是环境水分和环境温度,所以在自然环境下鲜食核桃受到霉菌污染而变质的可能性比干制核桃更高<sup>[5]</sup>,这大大降低了鲜食核桃的营养价值和市场价格。

黄曲霉菌(*Aspergillus flavus*)是一种真菌,它的重要代谢产物黄曲霉毒素(aflatoxin, AFT)因其致癌、致畸、致突变性,已成为国民健康的重要威胁。黄曲霉是自然环境中较为常见的霉菌,其孢子可扩散至空气传播<sup>[6]</sup>,经常在种植、贮藏、加工和运输过程污染玉米、花生等富含脂肪酸的粮食及各类坚果<sup>[7-8]</sup>,在适宜的环境条件下会产生多种次级代谢产物<sup>[9]</sup>。当前关于黄曲霉菌对花生、玉米等粮食产物的抗病性的研究及报道较多<sup>[10]</sup>,但很少有学者研究黄曲霉菌对核桃侵染后的变化。故研究黄曲霉菌污染后鲜食核桃的某些生理代谢机制至关重要,可为进一步控制鲜食核桃采后病害提供科学依据。

在合适的生理条件下,植物体内活性氧的各种相关酶及其他水溶性、脂溶性的抗氧化剂等物质可形成自身抗氧化防御系统,使氧化性损伤与抗氧化防御系统处于一种动态平衡<sup>[11]</sup>。当外界环境发生变化时,会导致植物体内的动态平衡被破坏,活性氧累积会导致膜脂发生过氧化反应,不断攻击植物细胞,导致植物细胞膜发生不可逆损害,从而导致植物体受到伤害<sup>[12-13]</sup>。为从生理生化方面解释植物的抗性机理,近年来,人们越来越重视研究植物的抗病性与活性氧及细胞内保护酶系统的关系,先后发现黄瓜、水稻、小麦、玉米、茭白等多种植物受到病原微生物感染后,其体内活性氧代谢及防御酶系统的活性发生变化,并与植物的抗病性相关<sup>[14-15]</sup>。本研究以新疆薄皮鲜食核桃为试材,将黄曲霉菌接种于不同含水量的新疆薄皮鲜食核桃上,研究黄曲霉菌侵染采后新疆薄皮鲜食核桃的活性氧代谢,分析活性氧代谢关键酶活性变化规律,从活性氧的角度解释新疆薄皮鲜食核桃抵御病原菌侵染的作用机制,以期为黄曲霉菌侵染采后鲜食核桃发生病变的发生机理以及采后防病害、保鲜提供理论参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

鲜食核桃:来自于新疆阿克苏地区温宿县的“新2”薄皮核桃,采摘后在无菌条件下剥去青果皮和外壳,取无菌状态的新鲜核桃仁。黄曲霉菌:分离于自然霉变的核桃仁果实上,纯化后马铃薯葡萄糖琼脂培养基(potato dextrose agar, PDA)保存。

冰乙酸、氢氧化钠、氨水、无水乙醇、无水乙酸钠、双氧水(均为分析纯):天津市致远化学试剂有限公司;α-萘胺、乙二胺四乙酸、乙二胺四乙酸二钠、还原型辅酶II二钠、聚乙烯吡咯烷酮-K30、聚乙二醇辛基苯基醚、氯化硝基四氮唑蓝、氧化性谷胱甘肽(均为分析纯):上海生工生物工程技术有限公司。

### 1.2 仪器与设备

NBCJ-B型无菌操作台、MHP-250型恒温霉菌培养箱:上海鸿都电子科技有限公司;LDZX-50KBS型立式压力蒸汽灭菌器:上海申安医疗器械厂;FA2104N型电子天平:上海民桥精密科学仪器有限公司;XHF-DY型高速分散器:宁波新芝生物科技股份有限公司;TGL-16G型高速冷冻离心机:上海安亭科学仪器厂;TU-1810PC型紫外-可见分光光度计:北京普析通用仪器有限公司;DHS-16卤素水分测定仪:上海菁海仪器有限公司。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 新疆薄皮鲜食核桃仁预处理

对照组:随机抽取100组鲜食核桃仁测量初始含水量后,根据初始含水量,采用烘干的方式,将核桃仁的含水量调整至30%、25%、20%、15%、10%并置于4℃恒温冰箱24h使含水量平衡。将同一含水量的核桃仁分别称取20g,3组放入灭好菌的组培瓶中,作为平行样品。将称取好的不同含水量核桃仁接种0.4mL无菌水。接种后放入(28±1)℃霉菌培养箱进行培养。培养至第3天开始取样,每隔1d取样1次,取至第15天,用于后续测量指标。

试验组:测量鲜食核桃仁的初始含水量,根据初始含水量将核桃仁用烘干的方式,将核桃仁的含水量调整至30%、25%、20%、15%、10%,放入4℃恒温冰箱24h使水分平衡。将同一含水量的核桃仁分别称取20g,3组放入灭好菌的组培瓶中,作为平行样品。将称取好的不同含水量核桃仁接种0.4mL、浓度为 $1.0 \times 10^6$  cfu/mL的黄曲霉菌孢子悬浮液。用移液枪接种后放入(28±1)℃霉菌培养箱进行培养。培养至第3天开始取样,每隔1d取样1次,取至第15天,用于后续测量指标。

#### 1.3.2 丙二醛和O<sub>2</sub><sup>-</sup>产生速率的测定

丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量:每克核桃仁样品中MDA的含量,以μmol/g FW表示,具体方法参

考曹建康等<sup>[16]</sup>的测定方法。超氧阴离子产生速率的测定参考曹建康<sup>[16]</sup>等的测定方法。

### 1.3.3 活性氧代谢相关酶活性的测定

过氧化物酶(peroxidase, POD)活性、过氧化氢酶(catalase, CAT)活性、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性、抗坏血酸过氧化物酶(ascorbateperoxidase, APX)活性参考曹建康等<sup>[16]</sup>的方法进行测定。

### 1.3.4 还原型谷胱甘肽含量与谷胱甘肽还原酶活性测定

谷胱甘肽还原酶(glutathione reductase, GR)活性的测定参考曹建康等<sup>[16]</sup>的测定方法,还原型谷胱甘肽

(glutathione, GSH)含量参考曹建康等<sup>[16]</sup>的方法测定。

### 1.4 数据统计与分析

采用 Origin 2018b 64Bit 和 IBM SPSS Statistics 25 处理试验数据并作图,试验组均采用 3 次试验,取平均值。

## 2 结果与分析

### 2.1 黄曲霉侵染对不同含水量的鲜食核桃仁丙二醛和超氧阴离子产生速率的影响

黄曲霉侵染不同含水量鲜食核桃仁后对 MDA 含量的影响如表 1 所示。

表 1 黄曲霉侵染不同含水量鲜食核桃仁后对 MDA 含量的影响

Table 1 Effect of *Aspergillus flavus* on malondialdehyde (MDA) after infecting fresh walnut with different water content

含水量/%	组别	MDA 含量/( $\mu\text{mol/g FW}$ )						
		3 d	5 d	7 d	9 d	11 d	13 d	15 d
10	对照组	0.001 86	0.001 80	0.001 23	0.001 81	0.002 01	0.002 65	0.001 63
	试验组	0.001 80	0.001 67	0.003 40	0.003 18	0.002 14	0.001 97	0.001 95
15	对照组	0.001 51	0.001 44	0.002 33	0.002 21	0.002 31	0.001 49	0.001 49
	试验组	0.001 66	0.001 64	0.001 66	0.001 95	0.002 01	0.002 96	0.002 03
20	对照组	0.001 57	0.000 50	0.002 04	0.003 47	0.002 54	0.001 95	0.001 86
	试验组	0.005 06	0.004 89	0.004 64	0.004 00	0.005 66	0.004 21	0.003 99
25	对照组	0.002 50	0.002 31	0.002 27	0.002 80	0.001 90	0.001 92	0.001 67
	试验组	0.005 20	0.007 49	0.008 40	0.006 63	0.004 71	0.005 38	0.004 43
30	对照组	0.000 83	0.000 67	0.000 71	0.000 98	0.001 31	0.002 46	0.002 22
	试验组	0.001 19	0.001 32	0.001 56	0.001 25	0.001 19	0.000 99	0.001 11

由表 1 可知,试验组中,含水量为 10%、15%、30% 的核桃仁随着侵染时间的延长,MDA 含量整体呈现先上升后下降的趋势,含水量 20% 的核桃仁随着侵染时间的延长 MDA 含量出现先下降后上升最后下降的趋势,含水量为 25% 的核桃仁随着侵染时间的延长 MDA 含量变化趋势不明显。含水量 10% 的试验组在第 7 天出现峰值,MDA 含量为  $0.003\ 40\ \mu\text{mol/g FW}$ 。含水量 15% 的试验组在第 13 天出现峰值,为  $0.002\ 96\ \mu\text{mol/g FW}$ 。含水量 25% 和 30% 的试验组变化趋势明显,均在第 7 天出现峰值,MDA 含量为  $0.008\ 40\ \mu\text{mol/g FW}$  和  $0.001\ 56\ \mu\text{mol/g FW}$ ,分别是各对照组同一天 MDA 含量的 3.70 倍和 2.20 倍。对比发现,含水量 25% 的试验组 MDA 含量变化最明显。

黄曲霉侵染不同含水量鲜食核桃仁后对超氧阴离子产生速率的影响如表 2 所示。

如表 2 所示,不同含水量的核桃仁随着侵染时间的延长超氧阴离子产生速率整体呈现先上升后下降的趋势,且试验组不同含水量鲜食核桃仁的超氧阴离子产生速率均高于对照组。含水量 10% 和 20% 的试验组,均在第 13 天出现峰值,超氧阴离子产生速率分别为  $43.79$ 、 $57.19\ \text{nmol}/(\text{min}\cdot\text{g FW})$ ,是侵染初期的 2.31、5.53 倍,是各对照组同一天超氧阴离子产生速率的

表 2 黄曲霉侵染不同含水量鲜食核桃仁后对超氧阴离子产生速率的影响

Table 2 Effect of *Aspergillus flavus* on  $\text{O}_2^-$  after infecting fresh walnut with different water content

含水量/%	组别	超氧阴离子产生速率/[ $\text{nmol}/(\text{min}\cdot\text{g FW})$ ]						
		3 d	5 d	7 d	9 d	11 d	13 d	15 d
10	对照组	2.91	3.73	4.46	4.63	4.65	5.46	4.50
	试验组	18.96	22.72	28.61	30.26	39.57	43.79	33.28
15	对照组	2.33	3.06	3.59	4.17	4.48	5.41	3.73
	试验组	25.33	29.77	33.37	35.38	50.95	44.19	42.36
20	对照组	2.76	3.89	4.25	5.24	6.65	5.06	4.83
	试验组	10.35	11.13	15.13	26.50	36.55	57.19	47.29
25	对照组	2.33	2.37	3.50	5.59	7.67	6.79	5.37
	试验组	20.28	22.40	44.39	73.85	89.23	62.30	58.90
30	对照组	2.49	3.39	3.57	4.32	6.29	8.04	6.25
	试验组	16.73	26.41	47.73	49.73	58.70	52.65	35.43

8.02 倍和 11.30 倍。含水量 15%、25%、30% 的试验组均在第 11 天出现峰值,超氧阴离子产生速率分别为  $50.95$ 、 $89.23$ 、 $58.70\ \text{nmol}/(\text{min}\cdot\text{g FW})$ ,是侵染初期的 2.01、4.40、3.51 倍,分别是各对照组同一天超氧阴离子产生速率的 11.38、11.64、9.33 倍。综合对比发现,含

水量 25% 的试验组超氧阴离子产生速率变化最明显。  
2.2 黄曲霉侵染对不同含水量的鲜食核桃仁活性氧代谢相关酶活性的影响

黄曲霉侵染不同含水量鲜食核桃仁后对 CAT 活性的影响如表 3 所示。

如表 3 所示,不同含水量的核桃仁随着侵染时间的延长 CAT 的活性整体上出现先上升后下降的趋势。说明核桃仁在受到黄曲霉侵染后,为保护自身,过氧化氢酶活性增强。但随着侵染时间延长,受到黄曲霉胁迫强度增强过氧化氢酶活性被抑制,呈逐渐下降趋势。试验组在 9~13 d 时出现峰值,CAT 活性分别为 32.48、38.67、49.11、133.00、50.89 U。根据 CAT 活性峰值的不同,可以看出在核桃仁含水量为 25% 时,CAT 活性达到最高,是含水量为 10% 的核桃仁峰值的 4.09 倍,是其对照组在同一天的 CAT 活性的 5.44 倍。而且在侵染的第 13 天出现最高值,说明 25% 含水量的核桃仁受到病害的程度最大,抗病性也较强。

表 4 黄曲霉侵染不同含水量鲜食核桃仁后对 POD 活性的影响

Table 4 Effect of *Aspergillus flavus* on peroxidase (POD) after infecting fresh walnut with different water content

含水量/%	组别	POD 活性/U						
		3 d	5 d	7 d	9 d	11 d	13 d	15 d
10	对照组	0.009 83	0.015 50	0.019 37	0.024 67	0.021 33	0.017 07	0.012 47
	试验组	0.057 13	0.054 60	0.058 53	0.068 33	0.053 20	0.033 60	0.032 70
15	对照组	0.004 83	0.013 63	0.023 33	0.014 40	0.011 43	0.008 80	0.008 23
	试验组	0.012 13	0.005 10	0.145 63	0.123 73	0.073 10	0.067 20	0.063 40
20	对照组	0.012 20	0.003 50	0.010 73	0.018 63	0.020 77	0.018 83	0.012 80
	试验组	0.058 53	0.037 70	0.059 97	0.061 67	0.117 20	0.186 83	0.157 10
25	对照组	0.015 10	0.004 20	0.019 23	0.036 20	0.021 73	0.014 30	0.014 37
	试验组	0.037 73	0.013 63	0.055 67	0.059 33	0.277 93	0.088 00	0.083 67
30	对照组	0.024 27	0.022 57	0.016 67	0.019 47	0.020 63	0.025 47	0.014 33
	试验组	0.037 57	0.016 80	0.018 67	0.020 67	0.026 67	0.092 87	0.091 20

由表 4 可知,不同含水量的核桃仁随着侵染时间的延长 POD 活性整体呈现先上升后下降的趋势。含水量为 10% 的试验组在第 9 天出现峰值,为 0.068 33 U,是第 9 天对照组的 2.77 倍,含水量为 15% 的试验组在第 7 天出现峰值,POD 活性为 0.145 63 U,是第 7 天对照组的 6.24 倍,含水量为 20% 和 30% 的试验组均在第 13 天出现峰值,POD 活性分别为 0.186 83 U 和 0.092 87 U,分别是对照组第 13 天的 9.92 倍和 3.65 倍,含水量为 25% 的试验组在第 11 天出现峰值,POD 活性为 0.277 93 U,是对照组第 11 天的 12.79 倍。含水量为 25% 的核桃仁 POD 活性明显高于其他含水量,与 CAT 活性相同。POD 活性的增加是植物组织受逆性被激发的主要表现形式,说明含水量为 25% 的核桃仁本身抗病能力较强。

黄曲霉侵染不同含水量鲜食核桃仁后对 APX 活性的影响如表 5 所示。

表 3 黄曲霉侵染不同含水量鲜食核桃仁后对 CAT 活性的影响  
Table 3 Effect of *Aspergillus flavus* on catalase (CAT) after infecting fresh walnut with different water content

含水量/%	组别	CAT 活性/U						
		3 d	5 d	7 d	9 d	11 d	13 d	15 d
10	对照组	5.56	7.67	13.41	16.63	18.15	13.67	6.89
	试验组	16.85	15.30	21.15	22.67	26.48	32.48	7.53
15	对照组	4.81	8.96	23.11	23.20	41.30	44.78	37.89
	试验组	19.93	28.59	33.96	36.78	38.67	15.04	12.56
20	对照组	22.78	24.56	27.63	30.15	37.26	33.07	17.00
	试验组	22.74	24.78	41.37	49.11	22.22	20.96	6.81
25	对照组	16.81	36.63	60.93	38.52	32.54	24.44	5.96
	试验组	16.85	57.63	32.56	17.07	42.00	133.00	58.81
30	对照组	22.59	21.30	11.70	32.59	40.74	44.85	9.07
	试验组	16.67	27.48	26.56	40.11	50.89	44.19	40.15

黄曲霉侵染不同含水量鲜食核桃仁后对 POD 活性的影响如表 4 所示。

表 5 黄曲霉侵染不同含水量鲜食核桃仁后对 APX 活性的影响  
Table 5 Effect of *Aspergillus flavus* on ascorbate peroxidase (APX) after infecting fresh walnut with different water content

含水量/%	组别	APX 活性/U						
		3 d	5 d	7 d	9 d	11 d	13 d	15 d
10	对照组	33.30	54.93	56.33	67.07	65.85	45.48	44.07
	试验组	66.52	87.78	100.50	97.04	89.70	67.48	76.76
15	对照组	10.63	22.96	22.85	23.48	23.63	44.59	22.41
	试验组	45.00	77.41	63.70	66.96	88.63	128.56	122.30
20	对照组	22.52	34.11	22.07	23.22	34.00	100.22	23.00
	试验组	33.85	44.67	123.00	67.00	44.74	88.52	66.48
25	对照组	22.95	88.30	99.89	32.33	34.37	54.81	55.59
	试验组	32.86	34.11	55.48	111.33	140.26	77.48	78.89
30	对照组	11.52	44.85	33.45	22.26	22.37	11.59	11.26
	试验组	11.30	31.63	33.07	66.30	44.30	33.96	43.52

由表 5 可知,试验组含水量 10%、15%、20% 的核桃仁随着侵染时间的延长 APX 活性整体呈现先上升

再下降最后上升的趋势,含水量为25%、30%的试验组随着侵染时间的延长APX活性整体呈先上升后下降的趋势。含水量为10%和20%的试验组的APX活性均在第7天出现峰值,分别为100.50 U和123.00 U,含水量为15%的试验组的APX活性在第13天出现峰值,为128.56 U,含水量为25%的试验组的APX活性在第11天出现峰值,为140.26 U,其APX活性最高,是对照组第13天的4.08倍,是侵染初期的4.27倍。说明含水量为25%的鲜食核桃仁抗病性最强。

黄曲霉侵染不同含水量鲜食核桃仁后对SOD活性的影响如表6所示。

表6 黄曲霉侵染不同含水量鲜食核桃仁后对SOD活性的影响  
Table 6 Effect of *Aspergillus flavus* on superoxide dismutase (SOD) after infecting fresh walnut with different water content

含水量/%	组别	SOD活性/U						
		3 d	5 d	7 d	9 d	11 d	13 d	15 d
10	对照组	6.82	5.82	6.29	5.73	5.98	7.20	4.67
	试验组	9.26	9.77	9.94	10.07	10.43	10.27	10.18
15	对照组	6.41	9.14	8.16	5.16	5.04	4.52	2.70
	试验组	8.67	9.23	9.61	9.89	10.54	11.64	10.32
20	对照组	3.33	4.85	6.23	6.58	6.75	7.11	4.35
	试验组	14.15	13.55	13.69	13.83	14.43	14.83	14.27
25	对照组	1.93	6.80	7.01	4.92	4.84	3.46	2.03
	试验组	13.30	12.71	13.90	14.41	13.28	12.25	12.00
30	对照组	4.65	5.07	5.60	5.73	5.90	5.03	3.26
	试验组	9.95	10.96	11.70	11.94	11.79	13.78	10.71

由表6可知,不同含水量的核桃仁随着侵染时间的延长SOD活性大致呈先上升后下降的趋势,且试验组不同含水量鲜食核桃仁的SOD活性均高于对照组。含水量为10%、15%、20%的试验组变化趋势平缓,分别第11天、第13天、第13天出现SOD活性峰值,为10.43、11.64、14.83 U,与侵染初期相比分别为其1.13、1.34倍和1.04倍。含水量为25%和30%的试验组变化趋势较为明显,分别第9天和第13天出现SOD活性峰值,为14.41、13.78 U,是其侵染初期的1.08倍和1.38倍,是其对照组同一天SOD活性的2.93倍和2.74倍。

### 2.3 黄曲霉侵染对不同含水量的鲜食核桃仁GSH活性与GR活性的影响

黄曲霉侵染对不同含水量的鲜食核桃仁GSH活性的影响如表7所示。

由表7可知,不同含水量的核桃仁随着侵染时间的延长GSH活性呈先上升后下降的趋势。含水量为10%、15%、30%的试验组均第11天出现峰值,GSH活性为569.16、847.85、867.56  $\mu\text{mol/g FW}$ ,分别是侵染初期的1.53、2.70、1.43倍,含水量为20%、25%的试验组第13天出现峰值,GSH活性为1 150.90、1 207.17  $\mu\text{mol/g FW}$ ,分别是侵染初期的1.88、3.43倍。

表7 黄曲霉侵染不同含水量鲜食核桃仁后对GSH活性的影响  
Table 7 Effect of *Aspergillus flavus* on glutathione (GSH) after infecting fresh walnut with different water content

含水量/%	组别	GSH活性/ $\mu\text{mol/g FW}$						
		3 d	5 d	7 d	9 d	11 d	13 d	15 d
10	对照组	142.04	225.91	268.18	180.75	130.90	112.47	102.26
	试验组	372.94	414.16	448.21	471.51	569.16	458.06	396.24
15	对照组	273.23	671.61	371.08	394.73	254.95	345.81	345.81
	试验组	313.80	361.29	372.94	827.97	847.85	406.99	374.73
20	对照组	466.77	347.42	406.02	553.33	581.83	639.35	430.22
	试验组	613.26	783.51	822.94	812.19	937.63	1 150.90	611.47
25	对照组	343.12	357.63	416.24	426.45	307.10	256.56	221.61
	试验组	352.33	356.81	568.28	616.67	666.85	1 207.17	629.21
30	对照组	160.00	165.59	171.61	185.81	184.60	250.65	133.44
	试验组	607.71	612.19	692.83	735.84	867.56	596.95	592.47

含水量为25%的试验组第13天的GSH活性是培养同一天对照组的GSH活性的4.71倍。

黄曲霉侵染不同含水量鲜食核桃仁后对GR活性的影响如表8所示。

表8 黄曲霉侵染不同含水量鲜食核桃仁后对GR活性的影响  
Table 8 Effect of *Aspergillus flavus* on glutathione reductase (GR) after infecting fresh walnut with different water content

含水量/%	组别	GR活性/U						
		3 d	5 d	7 d	9 d	11 d	13 d	15 d
10	对照组	14.41	44.93	49.94	36.41	32.04	15.81	10.52
	试验组	222.85	112.48	225.44	168.59	165.52	116.22	56.48
15	对照组	33.96	56.19	50.37	94.26	62.04	50.67	45.00
	试验组	88.92	123.81	135.93	142.11	187.26	287.67	197.07
20	对照组	36.30	27.93	42.94	44.15	46.66	62.81	53.74
	试验组	241.81	293.07	366.70	391.93	403.30	471.15	386.22
25	对照组	33.26	50.22	84.07	61.15	57.63	54.78	22.00
	试验组	225.15	278.52	389.06	667.00	559.37	497.96	388.85
30	对照组	39.63	33.15	36.96	47.22	35.22	31.29	21.19
	试验组	128.85	72.93	144.93	145.93	377.22	362.03	360.74

由表8可知,试验组含水量10%、30%的核桃仁随着侵染时间的延长GR活性出现先下降再上升最后下降的趋势,试验组含水量15%、20%、25%的核桃仁随着侵染时间的延长GR活性呈现先上升后下降的趋势,且试验组不同含水量鲜食核桃仁GR活性均高于对照组。含水量10%的试验组变化趋势不大,在第7天出现峰值,GR活性为225.44 U,与侵染初期相比增加了1.16%。含水量15%、20%的试验组均第13天出现峰值,分别为287.67、471.15 U,是侵染初期的3.23、1.95倍。含水量25%和30%的试验组变化趋势明显,分别第9天、第11天出现峰值,GR活性为667.00 U和377.22 U,分别是各侵染初期的2.96倍和2.93倍,是各对照组同一天GR活性的10.91倍和10.71倍。对比发现,含水量25%的试验组GR活性变化最明显。

### 3 讨论与结论

病原菌入侵会促使植物产生活性氧,破坏植物细胞壁进入内部细胞,造成细胞大量凋零、死亡,给植物带来不可逆的伤害<sup>[17]</sup>。但同时植物也可以通过自身的酶促清除系统清除活性氧来减轻自身受到活性氧的伤害并适应不利的环境改变<sup>[18]</sup>。酶促清除系统在植物体内清除活性氧发挥着不可替代的角色,酶促清除系统中的酶系主要包括超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)、还原型谷胱甘肽(GSH)等<sup>[19]</sup>。

本文研究发现黄曲霉侵染新疆薄皮鲜食核桃仁时,CAT、POD、SOD活性在各含水量都大致呈现先上升后下降的变化趋势。说明各含水量鲜食核桃体内因受到微生物胁迫发生了应激反应,触动了自身的抵御能力来消灭活性氧。但随着侵染时间的延长,各含水量鲜食核桃被黄曲霉侵染程度加深,核桃受损和衰老进程加速,这些酶的活性开始出现下降。当鲜食核桃仁含水量为25%时,这些抗氧化酶活性变化趋势最为明显,增加幅度最大,而且在侵染至9~13 d时各种酶活性都出现了峰值。说明含水量25%的鲜食核桃最易受到黄曲霉的侵染,造成鲜食核桃的果实的损伤和产业的损失。陈高等<sup>[19]</sup>研究黄曲霉侵染花生,发现POD和CAT活性先出现峰值后逐渐下降的情况。闫彩霞等<sup>[20]</sup>研究发现黄曲霉侵染花生后,随着侵染时间的延长,CAT和POD活性逐渐上升出现峰值后开始下降。吴媛媛等<sup>[21]</sup>研究发现蓝莓遭受到灰霉菌侵染后,短时间内这些抗氧化酶活性上升到峰值后逐渐下降。番茄受到病原菌的侵染后,一定时间内诱导CAT、POD、APX和SOD活性出现先上升后下降的趋势<sup>[22]</sup>。黄曲霉侵染不同含水量新疆薄皮鲜食核桃,试验组含水量10%、30%的核桃仁随着培养时间的延长GR活性呈现先下降后上升再下降的趋势,黄曲霉的生长对水分含量有一定的要求,这两个含水量GR活性出现较大波动可能是因为鲜食核桃含水量过高或过于干燥,不利于黄曲霉的生长,侵染初期GR活性出现了下降趋势,等到侵染中期,少量较为活跃的黄曲霉适应了环境开始缓慢生长,对鲜食核桃细胞壁造成伤害,产生活性氧,GR活性出现了上升趋势;黄曲霉侵染不同含水量新疆薄皮鲜食核桃,GSH活性均出现先上升到峰值后逐渐下降的趋势,而且试验组始终高于对照组。植物在受到微生物侵害时,植物表皮及细胞壁是抵抗病原菌的首道保护屏障。当植物感受到微生物的入侵时,产生活性氧,进而酶促清除系统开始工作,努力抵抗病原菌的伤害,所以在早期的入侵过程中能有效制止病原菌的伤害,酶促清除系统的关键酶活性也逐渐达到峰值。但随着病原微生物的大量繁殖,侵染程度加深,植物细胞大量凋亡,自身的抵抗能力减弱,抵抗

活性氧的酶活性也会随之下降。刘馨怡等<sup>[23]</sup>研究发现,油梨受到油梨蒂腐病菌侵害时,第2天GSH含量上升到峰值后开始缓慢下降。王瑾等<sup>[24]</sup>研究发现,伽师瓜遭受到链格孢侵染时,GSH活性在第15天出现了峰值后开始下降;在黄曲霉侵染不同含水量的新疆薄皮鲜食核桃时,超氧阴离子产生速率均出现先上升到峰值后逐渐下降的趋势,而且试验组始终高于对照组。鲜食核桃受到黄曲霉胁迫的初期,超氧阴离子累积量缓慢增加。随着黄曲霉的生长繁殖侵染程度加深,超氧阴离子过度累积达到峰值,鲜食核桃细胞遭到破坏,病原菌大量入侵使鲜食核桃受损严重。超氧阴离子累积量下降。梁炫强等<sup>[25]</sup>在探究花生人工接种黄曲霉菌后活性氧代谢与抗病性的关系中发现,随着接种时间的加长花生的超氧阴离子产生速率呈出现峰值后缓慢下降的走向。裴冬丽等<sup>[26]</sup>研究发现给番茄接种枯萎菌后,超氧阴离子含量出现峰值后缓慢下降,且试验组的番茄超氧阴离子含量始终高于对照组;黄曲霉侵染试验组各含水量核桃仁随着培养时间的延长MDA含量变化稍有差异,但整体呈现先逐渐上升直至出现峰值后再下降的趋势。黄曲霉接种到核桃仁上后,生长繁殖需要适应<sup>[27]</sup>,生长较为缓慢,破坏核桃仁质膜的能力较弱,侵染中期黄曲霉适应了环境条件,大量繁殖后快速破坏核桃仁的质膜,使MDA含量达到峰值。后期植物细胞死亡产生MDA的量减少。丁玉梅等<sup>[28]</sup>把枯萎病菌接在南瓜上,测量丙二醛的含量与抗病性的关联性,发现丙二醛含量呈先上升再下降最后上升的趋向。

根据以上分析得出,不同含水量的鲜食核桃遭受到黄曲霉侵染后,在侵染前期,各含水量的鲜食核桃体内活性氧迅速累积,酶促清除系统被激活,不同的抗氧化酶为抵御病原微生物的侵染活性开始有明显的升高并达到峰值;黄曲霉侵染含水量25%的鲜食核桃时,酶促清除系统的抗氧化酶活性相比于其他含水量的鲜食核桃都高。说明黄曲霉在含水量25%的鲜食核桃上更易生长繁殖,破坏能力也更强;同时,含水量25%的鲜食核桃的抗逆性也较强,但随着侵染时间的延长,受到侵害的鲜食核桃组织大量死亡,酶促清除系统清除活性氧的能力减弱,受到侵染的鲜食核桃因为活性氧的大量积累细胞膜结构被破坏,加快了果实的老化、腐烂。

### 参考文献:

- [1] 马庆国,乐佳兴,宋晓波,等. 新中国果树科学研究70年——核桃[J]. 果树学报, 2019, 36(10): 1360-1368.  
MA Qingguo, LE Jiaying, SONG Xiaobo, et al. Fruit scientific research in New China in the past 70 years: Walnut[J]. Fruit Journal of Fruit Science, 2019, 36(10): 1360-1368.
- [2] Food and Agriculture Organization of the United Nations. Report

- on global walnut crop production in 2019[EB/OL]. (2021-03-18) [2021-08-11]. <http://www.fao.org/faostat/zh/#search/walnut>.
- [3] 李俊南, 习学良, 熊新武, 等. 核桃的营养保健功能及功能成分研究进展[J]. 中国食物与营养, 2018, 24(5): 60-64.  
LI Junnan, XI Xueliang, XIONG Xinwu, et al. Nutritional function and functional components of walnut[J]. Food and Nutrition in China, 2018, 24(5): 60-64.
- [4] 秦江南, 郭永翠, 宋卫, 等. 不同浓度乙烯利对核桃温 185 适时采收的影响[J]. 现代农业科技, 2022(9): 83-86.  
QIN Jiangnan, GUO Yongcui, SONG Wei, et al. Effect of different concentrations of ethephon on timely harvest of walnut Wen 185[J]. Modern Agricultural Science and Technology, 2022(9): 83-86.
- [5] 李勇鹏, 潘莉, 宁德鲁, 等. 不同处理核桃青果常温保鲜效果的比较[J]. 西部林业科学, 2018, 47(3): 41-44, 62.  
LI Yongpeng, PAN Li, NING Delu, et al. Effect of different treatments on preservation of fresh walnut fruit at room temperature[J]. Journal of West China Forestry Science, 2018, 47(3): 41-44, 62.
- [6] LONG X D. Aflatoxin B<sub>1</sub> occurrence, detection and toxicological effects[M]. Rijeka: IntechOpen, 2020.
- [7] DING N, XING F G, LIU X, et al. Variation in fungal microbiome (mycobiome) and aflatoxin in stored in-shell peanuts at four different areas of China[J]. Frontiers in Microbiology, 2015, 6: 1055.
- [8] ZHANG S Y, WANG H, YANG M, et al. Versicolorin A is a potential indicator of aflatoxin contamination in the granary-stored corn [J]. Food Additives & Contaminants Part A, Chemistry, Analysis, Control, Exposure & Risk Assessment, 2018, 35(5): 972-984.
- [9] YU B L, HUAI D X, HUANG L, et al. Identification of genomic regions and diagnostic markers for resistance to aflatoxin contamination in peanut (*Arachis hypogaea* L.)[J]. BMC Genetics, 2019, 20(1): 32.
- [10] 荆丹, 岳晓凤, 白艺珍, 等. 黄曲霉对花生和玉米的侵染研究[J]. 中国油料作物学报, 2022, 44(2): 442-450.  
JING Dan, YUE Xiaofeng, BAI Yizhen, et al. Study on *Aspergillus flavus* infection in maize and peanut[J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2022, 44(2): 442-450.
- [11] KAWANO T. Roles of the reactive oxygen species-generating peroxidase reactions in plant defense and growth induction[J]. Plant Cell Reports, 2003, 21(9): 829-837.
- [12] PEI Z M, MURATA Y, BENNING G, et al. Calcium channels activated by hydrogen peroxide mediate abscisic acid signalling in guard cells[J]. Nature, 2000, 406(6797): 731-734.
- [13] GILL S S, TUTEJA N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2010, 48(12): 909-930.
- [14] 宿畅, 廉华, 马光恕, 等. 木霉不同施用方式对黄瓜膜脂过氧化作用、保护性酶活性及枯萎病防效的影响[J]. 植物保护, 2021, 47(2): 142-149, 155.  
SU Chang, LIAN Hua, MA Guangshu, et al. Effect of *Trichoderma* application modes on membrane lipid peroxidation, protective enzyme activity of cucumber seedlings leaf and control effect against *Fusarium wilt*[J]. Plant Protection, 2021, 47(2): 142-149, 155.
- [15] 康璐瑶, 崔海峰, 邢阿宝, 等. 龙茭 2 号不同发育阶段茎部活性氧的检测分析[J]. 长江蔬菜, 2015(22): 92-94.  
KANG Luyao, CUI Haifeng, XING Abao, et al. Detection and analysis of active oxygen in different developmental stages of Longjiao 2[J]. Journal of Changjiang Vegetables, 2015(22): 92-94.
- [16] 曹建康, 姜微波, 赵玉梅. 果蔬采后生理生化实验指导[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2007.  
CAO Jiankang, JIANG Weibo, ZHAO Yumei. Guidance on postharvest physiological and biochemical experiments of fruits and vegetables[M]. Beijing: China Light Industry Press, 2007.
- [17] KEPPLER L D. O<sub>2</sub><sup>-</sup> initiated lipid peroxidation in a bacteria-induced hypersensitive reaction in tobacco cell suspensions[J]. Phytopathology, 1989, 79(5): 555.
- [18] RUSTERUCCI C, STALLAERT V, MILAT M L, et al. Relationship between active oxygen species, lipid peroxidation, necrosis, and phytoalexin production induced by elicitors in *Nicotiana*[J]. Plant Physiology, 1996, 111(3): 885-891.
- [19] 陈高, 闫彩霞, 李春娟, 等. 黄曲霉侵染前后花生过氧化物酶与过氧化氢酶活性变化的研究[J]. 山东农业科学, 2009, 41(3): 12-14.  
CHEN Gao, YAN Caixia, LI Chunjuan, et al. Activity changes of peroxidase and catalase in peanut before and after invaded by *Aspergillus flavus*[J]. Shandong Agricultural Sciences, 2009, 41(3): 12-14.
- [20] 闫彩霞, 张浩, 李春娟, 等. 黄曲霉侵染后花生胚发育动态及抗病相关种质群体结构[J]. 山东农业科学, 2017, 49(3): 1-9.  
YAN Caixia, ZHANG Hao, LI Chunjuan, et al. Dynamic change of peanut embryo development after *Aspergillus flavus* infection and population structure of related genotypes[J]. Shandong Agricultural Sciences, 2017, 49(3): 1-9.
- [21] 吴媛媛, 刘瑞玲, 邵海燕, 等. 灰霉菌侵染对蓝莓采后品质变化及抗氧化性的影响[J]. 中国食品学报, 2019, 19(1): 148-155.  
WU Yuanyuan, LIU Ruiling, GAO Haiyan, et al. Effects of *Botrytis cinerea* infection on post-harvest quality and antioxidant activities in blueberry fruits[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2019, 19(1): 148-155.
- [22] 何娟, 潘光军, 官涵杰, 等. 灰霉菌侵染对番茄幼苗活性氧积累及抗氧化酶活性的影响[J]. 蔬菜, 2020(5): 15-20.  
HE Juan, PAN Guangjun, GUAN Hanjie, et al. Effects of *Botrytis cinerea* infection on active oxygen accumulation and antioxidant enzyme activity in tomato seedling[J]. Vegetables, 2020(5): 15-20.
- [23] 刘馨怡, 吴珂, 徐丹, 等. 油梨蒂腐病菌对油梨果实活性氧代谢的影响[J]. 分子植物育种, 2022(18): 6145-6151.  
LIU Xinyi, WU Ke, XU Dan, et al. *Lasioidiplodia theobromae*-induced alteration on ROS metabolism in avocado fruits[J]. Molecular Plant Breeding, 2022(18): 6145-6151.
- [24] 王瑾, 冯作山, 白羽嘉, 等. 链格孢侵染对伽师瓜果皮活性氧代谢的影响[J]. 现代食品科技, 2019, 35(11): 83-92, 211.  
WANG Jin, FENG Zuoshan, BAI Yujia, et al. Effects of *Alternaria alternata* infection on reactive oxygen species metabolism in pericarp of Jiashi muskmelon[J]. Modern Food Science and Technology, 2019, 35(11): 83-92, 211.
- [25] 梁炫强, 潘瑞焱, 周桂元. 活性氧及膜质过氧化与花生抗黄曲霉侵染的关系[J]. 中国油料作物学报, 2002, 24(4): 19-23.  
LIANG Xuanqiang, PAN Ruichi, ZHOU Guiyuan. Involvement of active oxygen generation and lipid peroxidation in susceptibility/resistance of peanut seed infected by *Aspergillus flavus*[J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2002, 24(4): 19-23.
- [26] 裴冬丽, 朱晓琴, 徐园园, 等. 番茄抗感品种对接种枯萎病的生理响应[J]. 北方园艺, 2017(4): 1-3.  
PEI Dongli, ZHU Xiaoqin, XU Yuanyuan, et al. Physiological reactions of resistant and susceptible tomato varieties after *Fusarium wilt* inoculation[J]. Northern Horticulture, 2017(4): 1-3.
- [27] 黄亚成, 秦云霞. 植物中活性氧的研究进展[J]. 中国农学通报, 2012, 28(36): 219-226.  
HUANG Yacheng, QIN Yunxia. Advances on reactive oxygen species in plants[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2012, 28(36): 219-226.
- [28] 丁玉梅, 张杰, 谢俊俊, 等. 枯萎病菌胁迫下 3 种黑籽南瓜 HQRGA2 表达及抗氧化酶活性差异分析[J]. 植物生理学报, 2019, 55(3): 349-358.  
DING Yumei, ZHANG Jie, XIE Junjun, et al. Expression analysis of HQRGA2 and differences of anti-oxidant enzymes in three varieties of *Cucurbita ficifolia* under stress of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum*[J]. Plant Physiology Journal, 2019, 55(3): 349-358.