

Tærskeskadigelsers indflydelse på mikroflora og spireevne hos byg under opbevaringen

Af *Boldt Welling*

834. beretning fra Statens Forsøgsvirksomhed i Plantekultur

Ved Statens plantepatologiske Forsøg's botaniske afdeling er der foretaget undersøgelser over den betydning, som tærskeskadigelser kan have på svampevegetationens omfang og sammensætning samt på spireevnen hos byg.

Arbejdet er udført som led i en række undersøgelser over forskellige faktorer, der kan påvirke kornets kvalitet under lagringen.

Beretningen er udarbejdet af plantepatolog *Boldt Welling*.

Forstanderne ved Statens Forsøgsvirksomhed i Plantekultur

Indledning og litteraturstudier

Grovere beskadigelser som knækkede kerner er lette at erkende, men i mange tilfælde er der tale om beskadigelser, der ikke umiddelbart ses. Det vil fremgå af det følgende, at der ikke altid er sammenhæng mellem synlige og i praksis usynlige beskadigelser.

Allerede i 1872 påviste Nobbe, at maskintærskning kunne have en mindre gunstig effekt på kernens spireevne. Siden da har anvendelsen af mejetærskeren, større krav om en velkørnet vare og den megen mekaniske transport af kornet gjort sit til, at man i dag finder mange partier med stærkt beskadigede kerner (*Joelsson* 1961).

En metode til bestemmelse af tærskeskadigelsernes omfang er udarbejdet af samme forfatter, der også foretog enkelte orienterende forsøg med disse beskadigede kerner. Således var *Penicillium*-udviklingen lokaliseret til steder med skalbeskadigelser og stod i relation til beskadigelsesgraden.

Mitchell 1955 undersøgte indflydelsen af mejetærskerens cylinderhastighed på beskadigelsesgraden ved tærskning af byg og hvede med forskelligt vandindhold. Kornet blev lagret, og der blev med mellemrum udtaget prøver. Inden for forskellige grupper af vandindhold fandtes en negativ korrelation mellem procent synligt beskadigede kerner og spireevne og po-

sitiv korrelation mellem førstnævnte og svampevæksten.

Arnold (1963) fandt, at kvaliteten af hvede, målt ved spireevnen og varmedannelsen, var negativt korreleret med beskadigelsesgraden i hvede høstet og lagret med 18-20 pct. vand. Ved andre fugtighedsniveauer formindskedes denne tendens. Samme forfatter konkluderer: Hvede tærsket med vandindhold fra 18 til 24 pct. kan opbevares i god kvalitetstilstand, utørret, i lang tid, hvis der ingen beskadigede kerner er.

Hyde og Galley (1951) fandt, at mycel ikke forekom i aleuronlaget.

Om infektion af svampe i kernerne skrev *Caldwell og Davies* (1956), at betingelsen for infektion afhænger af:

- 1) at patogenet er til stede, samt
- 2) hvilken resistens kernerne udviser efter inokulation – altså i inkubationstiden.

Videre konkluderedes, at denne resistens nedbrydes ved brud på testa, aleuronlaget eller begge dele, hvorved svampene kan trænge ind i kernen og kan finde let tilgængelige næringsstoffer.

Hurd (1921) fandt, at ubeskadigede hvedekerner under almindelige forhold ikke blev ødelagt af svampe, hvilket var tilfældet med beskadigede. Endvidere fandt samme forfatter, at skader, hvorved frøhviden blev blotlagt, til-

lod vækst af saprofytiske svampe, der brugte næring i frøhviden og forhindrede normal udvikling af spirene. Beskadigelse af kimen bandede vej for svampe, der nedsatte spireevnen (Russell og Ledigham, 1941).

Ved inokulering med *Fusarium culmorum* forekom større infektion i spirer fra kerner med brud på testa og pericarp, end hos spirer fra ubeskadigede kerner (Machacek og Greaney, 1936).

Materialer og metoder

Til undersøgelsen benyttedes byg af sorten Ingrid høstet 1965 og 1966. Forskellige beskadigelsesgrader blev fremstillet således:

1. Håndtærskning
2. Maskintærskning
3. Maskintærskning og svag kørning
4. Maskintærskning og stærk kørning

Til bedømmelse af de opnåede beskadigelsesgrader anvendtes en modificeret farvemethode, beskrevet af Joelsson 1961. Farvestoffet (indigokarmin) trænger ind gennem huller og sprækker, opstået ved den mekaniske behandling, og farver kim og frøhvide blå langt hurtigere end de omgivende skaldele farves. Til undersøgelsen anvendtes 2×100 kerner, der blev blødgjort 12 timer i vand efterfulgt af neddykning 4 minutter i 1 pct. indigokarminopløsning og derefter skyllet omhyggeligt i rindende vand. Beskadigelsesgraden blev bestemt som procent kerner med tydelig blåfarvning.

Undersøgelser over kornets kvalitet efter hver enkelt tærskemetode er foretaget efter opbevaring i glas, der rummede fra 0,75–1,5 kg korn og dækket med 0,02 mm tyk højtrykspolyethylen-folie.

Opbevaringen for hvert enkelt led er foretaget efter to metoder, nemlig:

Forsøg 1: Opbevaring i 8 uger ved 15°C, derefter 21 uger ved 30°C (2 glas pr. forsøgsled à 0,75 kg korn).

Forsøg 2: Opbevaring i 24 uger ved 30°C (1 glas à 1,5 kg korn pr. forsøgsled).

Med 1–4 ugers mellemrum blev der udtaget prøver til bestemmelse af vandindhold, spireevne og bedømmelse af svampeflora.

Vandindholdet bestemtes ved hjælp af en halvautomatisk tørreovn (1 time ved 130°C efter formaling). I forsøg 1 var vandindholdet ved forsøgets begyndelse 17 pct. og 15 pct. ved afslutningen. I forsøg 2 var vandindholdet omkring 18 pct. igennem hele forsøgsperioden.

Spireevnen blev, efter 10 døgn, bestemt på 200 kerner i sand ved stuetemperatur.

Ved bestemmelse af svampevegetationen på kernerne anvendtes i forsøg 1 en metode, hvorefter de enkelte kolonier isoleredes på rørglas til senere undersøgelse. Der benyttedes to substrater: kartoffel-dextrose-agar (KDA) og 10 pct. salt-malt-agar (SA). I forsøg 2 anvendtes ligeledes 2 substrater, nemlig maltagar (MA) og 10 pct. salt-maltagar. Til hvert substrat blev anvendt 2×10 kerner, der forinden blev overfladedesinficeret 1 minut i 1 pct. NaClO-opløsning. Inkubationstiden og den anvendte temperatur var for malt-agar 6–8 døgn ved 20°C og for salt-malt-agar 10 dage ved 25°C.

Med det formål at fremme sporuleringen blev der under dyrkning af svampene på malt-agar anvendt en såkaldt black-light lampe med bølgelængde på ca. 3800 Å. Svampefloraen på kernerne blev efter inkubationstidens ophør undersøgt ved hjælp af et stereomikroskop og almindeligt præparatmikroskop. I vanskelige tilfælde foretoges isolation til senere bestemmelse.

Endelig anvendtes som supplement »Blotter test«-metoden, hvorefter 25 kerner uden overfladedesinfektion blev lagt på fugtigt filterpapir i petriskåle. Inkubation og temperatur var som ved malt-agar.

Resultater

Tærskebeskadigelser i praksis

127 bygrprøver – indsamlet fra forskellige gårde rundt omkring i landet – er undersøgt efter nævnte metode (tabel 1). Det fremgår heraf, at knækkede kerner kun udgør en mindre del af samtlige beskadigede kerner (korrelationskoefficient = 0,62).

Tabel 1. Fordeling af prøver med beskadigede kerner vurderet efter farvning med indigokarmin samt det gennemsnitlige procentiske indhold af knækkede kerner

Pct. beskadigede kerner i alt	Gns. pct. knækkede kerner	Antal prøver	
		i alt	pct.
0-2	0	4	3
3-4	0,7	22	17
5-6	1,2	30	24
7-8	1,3	22	17
9-10	1,9	16	13
11-12	2,3	9	7
13-14	2,7	7	6
over 14	3,2	17	13

Bedømmelse af beskadigelsesgraden

I tabel 2 er givet en oversigt over resultaterne af farvebedømmelsen efter farvning med indigokarmin.

Det ses, at den stærke kørning har bevirket en højere procent beskadigede kerner end den svage kørning. Der er god relation mellem beskadigede kerner og spireevnen.

Tabel 3 viser ændringerne i spireevnen under

opbevaringen. For begge forsøg gælder, at spireevnen falder afhængig af tid og beskadigelsesgrad. Fælles for de to forsøg gælder endvidere, at spireevnen falder brat efter henholdsvis 20 og 12 ugers opbevaring. Årsagen kan være for lav iltspænding i forbindelse med forhøjet CO₂ indhold i opbevaringsglassene. En sådan luftsammensætning er iflg. tidligere undersøgelser ødelæggende for spireevnen. At denne falder hurtigere i forsøg 2 end i forsøg 1 kan skyldes den lille forskel i vandindholdet og den lave opbevaringstemperatur, der anvendtes i begyndelsen af forsøg 1, samt forskellen i spireevnen ved forsøgenes begyndelse.

Ændringer i svampefloraen under opbevaring

Makroskopisk bedømmelse

Under opbevaring indfinder der sig svampewækst af skimmelsvampe, væsentligst *Aspergillus*- og *Penicillium*-arter, der viser sig som grålige og hvide belægninger på kernerne. Ud bredelsen af disse svampe er bedømt ved en

Tabel 2. Procent beskadigede kerner samt spireevne i forbindelse med stigende mekanisk beskadigelse

Forsøgsled nr.	Gennemsnit af 2 × 100 kerner			
	Forsøg 1		Forsøg 2	
	pct. beskadigede	pct. spireevne	pct. beskadigede	pct. spireevne
1. Håndtærskning	1	100	0	83
2. Maskintærskning	6	99	2	83
3. » +svag kørn.	14	98	8	83
4. » +stærk kørn.	25	95	67	56

Tabel 3. Procent spireevne i bygkerner med 4 beskadigelsesgrader opbevaret ved 30°C

	Forsøg 1. Høst 1965								Forsøg 2. Høst 1966							
	%	opbevaret antal uger*							%	opbevaret antal uger						
beskadigede	0	13	15	17	20	23	25	29	beskadigede	0	2	3	7	11	12	20
1	100	96	99	91	80	38	27	4	0	83	93	88	89	88	84	1
6	99	95	92	80	66	29	12	1	2	83	94	86	84	78	69	2
14	98	85	79	53	44	19	6	1	8	83	93	85	79	58	44	1
25	95	88	55	22	13	0	0	0	67	56	40	34	10	4	5	1

*Kernerne opbevaredes i forsøg 1 de første 8 uger ved 15°C. Tallene for spireevnen i denne periode er ikke medtaget i tabel 3, da der ikke registreredes nogen væsentlig ændring.

Tabel 4. Bedømmelse af svampevækst i byg opbevaret med forskellige beskadigelsesgrader.

(Karakter 0-10; 0 = ingen svampevækst, 10 = helt dækket)

Forsøg 1. Høst 1965

Forsøgsled	%beskadigede	Opbevaret antal uger							
		nr.	kerner	11	13	15	18	21	23
1	1	0	0	1	1	1	1	1	1
2	6	0	1	1	1	2	2	2	2
3	14	1	4	4	4	4	4	4	4
4	25	2	6	7	7	7	7	7	7

Forsøg 2. Høst 1966.

		0	2	3	6	10	14
1	0	0	0	0	0	0	1
2	2	0	0	0	0	1	2
3	8	0	1	1	2	2	4
4	67	0	4	6	8	10	10

karaktergivning, idet 0 angiver kerner helt fri for mycelvækst og 10 angiver, at kernerne er helt dækkede.

En sammenligning mellem forsøgsledene (tabel 4) viser, at på stærkt beskadigede kerner (led 3-4) forekommer synlig svampevækst tidligere og udviser kraftigere vækst end på mindre beskadigede kerner (led 1-2).

Mikroskopisk bedømmelse

Forsøg 2

I tabel 5 er givet en oversigt over svampefloraens sammensætning under opbevaring. *Alternaria*-udbredelsen er 100 pct. i alle forsøgsled ved forsøgets begyndelse, men svinder bort i løbet af ca. 15 ugers opbevaring.

Aspergillus spp. iagttoges ikke ved forsøgets begyndelse, men er fundet i stor mængde efter 2 ugers forløb, mest på de stærkt beskadigede kerner. Efter 3 ugers forløb er der 100 pct. i alle ledene. Samme tendens iagttages ved malt-agar- og blotter test-metoden, blot er udviklingen i nævnte rækkefølge noget forsinket.

Den procentiske udbredelse af *Penicillium spp.* er størst ved stærkeste beskadigelsesgrad, og den er jævnt stigende forsøget igennem. Denne udvikling ses tydeligst på blotter-test og malt-agar i nævnte rækkefølge.

Andre svampearter. Denne gruppe består af *Fusarium spp.*, *Pullularia*, *Helminthosporium*,

Acremoniella, *Gonatobotrys*, *Stemphylium*, *Botrytis*, *Trichothecium*, *Epicoccum*, *Papulaspora*. Disse svampearter er slået sammen i en gruppe. Den procentiske forekomst er aftagende forsøget igennem.

Opgørelse over fordelingen af de enkelte *Aspergillus*-arter viser, at *Aspergillus glaucus*-gruppen er den hyppigst forekommende. Den iagttages allerede efter 2 ugers forløb på salt-agar, hvor dens frekvens ved største beskadigelsesgrad er 100, medens den i de øvrige forsøgsled varierer fra 10-45 pct. Sammenholdes disse værdier med de tilsvarende værdier ved *sterilt mycelium* (overvejende *Alternaria spp.*) ses det, at sidstnævnte efterhånden fortrænges af *Aspergillus glaucus*-gruppen. Efter 3 ugers forløb er *Aspergillus'* frekvens på nævnte substrat 100 pct. i alle ledene.

Arter som *Aspergillus candidus* og *A. versicolor* forekommer mest udbredt i den sidste del af forsøgsperioden og synes at være uafhængig af beskadigelsesgraden.

Afhængig af de benyttede dyrkningsmetoder registreres svampene med forskellig hyppighed. Således forekommer *Aspergillus glaucus* næsten udelukkende på salt-agar, hvorimod *A. candidus* og *A. versicolor* vokser på begge substrater. Blotter-test må karakteriseres som uegnet til påvisning af *Aspergillus*-arter. Forekomst af bakterier og gærsvampe er sporadisk.

Tabel 5. % kerner med følgende svampearter

Opbevaringstid i uger ved 30°C

Svampeart	For-søgsled	Maltagar						Salt-maltagar						Blotter-test				
		0	2	3	11	15	24	0	2	3	11	15	24	0	2	3	11	15
Aspergillus glaucus	1	0	0	0	95	5	0	0	35	100	100	90	100	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	95	0	0	0	10	100	100	85	100	0	0	0	0	0
	3	0	0	0	0	0	0	0	45	100	100	95	100	0	0	0	0	0
	4	0	10	5	0	0	0	0	100	100	100	95	100	0	0	0	0	0
Aspergillus candidus	1	0	0	0	0	95	10	0	0	0	0	65	40	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	5	100	5	0	10	0	15	85	0	0	0	0	0	0
	3	0	0	0	15	100	5	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	0
	4	0	0	0	35	75	100	0	5	0	5	75	60	0	0	0	12	0
Aspergillus versicolor	1	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	85	0	0	0	0	0
	3	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0
	4	0	0	0	0	0	90	0	0	0	0	0	60	0	0	0	0	0
Aspergillus spp.	1	0	0	0	100	100	100	0	35	100	100	100	100	0	0	0	100	80
	2	0	0	0	95	100	100	0	20	100	100	100	100	0	0	0	100	100
	3	0	0	5	100	100	100	0	45	100	100	100	100	0	0	0	100	80
	4	0	10	5	100	75	100	0	100	100	100	100	100	0	0	0	96	100
Penicillium spp.	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	12
	2	0	0	0	45	0	0	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0
	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8	84
	4	0	0	5	10	70	60	0	0	0	0	0	100	52	56	28	0	100
Alternaria	1	100	100	100	20	0	0	0	0	0	0	0	0	80	100	96	44	0
	2	95	100	100	15	0	0	0	0	0	0	0	0	44	100	80	24	0
	3	95	100	100	25	5	0	0	0	0	0	0	0	92	80	84	0	0
	4	100	95	100	20	10	0	0	0	0	0	0	0	32	100	80	100	0
Andre svampearter	1	20	35	75	0	5	20	0	0	0	0	0	0	24	8	25	36	32
	2	65	35	50	25	0	5	0	0	0	15	0	0	32	90	40	32	56
	3	30	20	20	10	0	15	0	0	0	0	0	0	45	60	8	20	12
	4	25	10	10	0	35	0	0	5	0	0	5	0	80	12	24	16	0
Sterile mycelier	1	0	0	0	0	0	0	100	65	0	0	0	0	0	0	0	4	0
	2	0	0	0	0	0	0	100	80	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	3	0	0	0	0	0	0	100	55	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	4	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	0	16	0	12	0
Bakterier/gærsvampe	1	0	0	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	16
	2	10	0	0	0	50	15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	16	16
	3	0	10	0	0	20	0	0	0	0	0	0	0	0	4	4	12	0
	4	15	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	40	32	0	8

Diskussion og konklusion

Undersøgelsen omfatter indvirkning af tærskelbeskadigelser på spireevnen og svampefloraen under opbevaring ved 17-18 pct. vandindhold i 8 uger ved 15°C og 21 uger ved 30°C samt i 20 uger ved 30°C. Ved forskellige trin af beskadigelse efter mekanisk behandling af 4 kornpartier (tabel 2) iagttages, at spireevnen i det ene forsøg (forsøg 2) går ned som følge af behandlingen. Der er her tale om en øjeblikkelig reduktion. En tilsvarende reduktion er ikke iagttaget i forsøg 1, hvilket formentlig skyldes en mindre hårdhændet behandling af kernerne (færre procent beskadigede kerner).

Under opbevaring reduceres spireevnen (tabel 3) hurtigere i de forsøgsled, hvor kernerne er stærkt beskadigede.

Kernernes naturlige resistens mod svampevækst er ved beskadigelsen formindsket, (dette stemmer også med undersøgelser af *Caldwell* og *Davies* (1956), således at svampene uhindret kan få adgang til kernernes indre dele. Spireevnens reduktion skyldes formentlig utilstrækkelig næringstilførsel til kimen på grund af de indtrængende svampes næringsforbrug eller indvirkning af svampenes stofskifteprodukter.

Ved sammenligning af resultaterne fra de to forsøg vil det fremgå, at spireevnen i forsøg 1 og 2 efter henholdsvis 20 og 12 ugers forløb falder brat. En mulig forklaring herpå kan være, at luftsammensætningen i opbevaringsglassene på dette tidspunkt har haft en letal virkning på kernerne (*Welling* 1966).

Mikroskopiske undersøgelser over svampefloraens sammensætning (tabel 5) viser tydeligt, at *Alternaria* under de givne opbevaringsbetingelser forsvinder med tiden. Den erstattes af skimmelsvampe som *Aspergillus*- og *Penicillium*-arter. Navnlig *Aspergillus*-arterne indfinder sig hurtigt, således at de efter 2 ugers opbevaring er dominerende på samtlige beskadigede kerner – i noget mindre udstrækning på de lettere beskadigede kerner. Sammenholdes disse iagttagelser med den makroskopiske svampebedømmelse (tabel 4) iagttages en langt større afhængighed af beskadigelsesgraden, idet der f.eks. efter 10 ugers forløb (2. forsøg) ikke findes synlig mycelvækst på ubeskadigede kerner, hvorimod kernerne er helt dækkede af svampemycel efter største beskadigelsesgrad. Ved den mikroskopiske undersøgelse omkring dette tidspunkt var udbredelsen af *Aspergillus spp.* 100 pct. Det må formodes, at de stærkest beskadigede kerner afgiver de bedste vækstbetingelser for svampene som følge af lettere tilgængelig næring som antydtes af *Caldwell* og *Davies* (1956).

Penicillium spp. forekommer i større udstrækning kun på de stærkest beskadigede kerner og efter længere tids opbevaring. Den er således afvigende i sin optræden sammenlignet med *Aspergillus spp.* Spireevnen falder i takt med mycelvækstens tiltagen, bedømt makroskopisk, og synes ikke at være afhængig af den procentiske udbredelse.

Som konklusion viser resultaterne, at tærskelbeskadigelser forringer kornets holdbarhed og kvalitet under opbevaring. Reduktion i spireevnen opstår dels som følge af direkte kernebeskadigelser, og dels som følge af øget svampevækst. Der er ingen tvivl om, at tærskelbeskadigelser er en faktor, der sammen med vandindhold og opbevaringstemperatur i meget høj grad har indflydelse på kornets kvalitet. Hertil kommer, at den stærke svampevækst på beskadigede kerner indebærer risiko for forgiftning ved brug af kornet som fodermiddel.

Summary

The influence of threshdamage on microflora and germination of barley during storage

Barley grains with four degrees of injuries were stored with 17–18 per cent water content for 8 weeks at 15°C and 21 weeks at 30°C, and for 20 weeks at 30°C. The following observations were carried out:

- I. High degree of injury reduced the germination power faster than low degree of injury.
- II. At the beginning of the experimental period *Alternaria spp.* was the dominant fungus but during the storage period it was replaced by various other fungi.

- III. Macroscopic observations revealed increasing mycelial growth with increasing degree of injury.
- IV. Microscopic investigations showed that *Aspergillus* spp. were found on nearly all grains independent of the degree of injury, while *Penicillium* spp. were dominant on the more injured grains.

The results suggest that storage of injured grains under certain conditions may be a risk for the quality just as high water content and high temperature.

Litteratur

- R. E. Arnold*: Effects of harvest damage on the rate of fall in viability of wheat stored at a range of moisture levels. Repr. Journ. Agric. Engin. Res. Vol. 8, nr. 1: 7-16, 1963.
- F. Caldwell & A. C. W. Davies*: The relation of development of pathogenic fungi to the mechanical injury and storage moisture content of cereal grains. Journ. agric. engin. res. vol. 1: 67: 1956.
- A. M. Hurd*: Seed-coat injury and viability of seeds of wheat and barley as factors in susceptibility to moulds and fungicides. Journ. agric. Res. 21: 99-122, 1921.

- M. B. Hyde & H. B. Galley*: The subepidermal fungi of cereal grains. II. The nature, identity and origin of the mycelium in wheat. Ann. appl. Biol. 38: 348-356, 1951.
- G. Joelsson*: Bestämning av de mikroskopiska skadorna i skalet hos spannmålskärnan medelst färgning med indigokarmin. Meddel. Sta. Centr. Frökontrolanst. nr. 36: 43-52, 1961.
- J. E. Machacek & F. J. Greaney*: Studies on the control of rootrot diseases of cereals. IV. Influence of mechanical seed injury on infection by *Fusarium culmorum* in wheat. Ca. Journ. Res. »C«, 14: 438-444, 1936.
- F. S. Mitchell et al.*: The effect of drum setting and crop moisture content on the germination of combine harvested wheat and barley. Nat. Inst. Agric. Engin. Rep. no. 51 og 56, 1955.
- F. Nobbe*: Über die Wirkungen des Maschinendruckes auf die Keimfähigkeit des Getreides. Landw. Vers. Stat. 15: 252-275, 1872.
- R. C. Russell & R. J. Ledingham*: Wheat seed testing from the pathological standpoint with special reference to embryo exposure. Scientific Agriculture 21: 761-775, 1940.
- B. Welling*: Undersøgelse over spireevne og svampeflora i forbindelse med lufttæt lagring af byg. Ugeskrift for Landmænd 46: 759-763, 1966.