

研究报告

# 不同浓度壳聚糖对炭黑曲霉和硫色镰刀菌生长和发育的影响

唐迎博<sup>1</sup>, 宗元元<sup>1</sup>, 张学梅<sup>1</sup>, 张凤<sup>1</sup>, 龚迪<sup>1</sup>, 毕阳<sup>\*1</sup>, Dov Prusky<sup>2</sup>

1 甘肃农业大学食品科学与工程学院, 甘肃 兰州 730070

2 Department of Postharvest Science of Fresh Produce, Agricultural Research Organization,  
Rishon LeZion 7505101, Israel

唐迎博, 宗元元, 张学梅, 张凤, 龚迪, 毕阳, Dov Prusky. 不同浓度壳聚糖对炭黑曲霉和硫色镰刀菌生长和发育的影响[J].  
微生物学通报, 2023, 50(10): 4448-4457.

TANG Yingbo, ZONG Yuanyuan, ZHANG Xuemei, ZHANG Feng, GONG Di, BI Yang, Dov Prusky. Different concentrations of chitosan affect the growth and development of *Aspergillus carbonarius* and *Fusarium sulphureum*[J]. Microbiology China, 2023, 50(10): 4448-4457.

**摘要:** 【背景】壳聚糖是广泛存在于甲壳动物的一种多糖, 具有广谱的抗真菌活性, 但壳聚糖是否影响炭黑曲霉(*Aspergillus carbonarius*)和硫色镰刀菌(*Fusarium sulphureum*)生长和发育尚未见报道。【目的】明确不同浓度壳聚糖对 *A. carbonarius* 和 *F. sulphureum* 生长和发育的影响。【方法】通过在 PDA 培养基中添加不同浓度壳聚糖, 测定两种真菌的菌落直径、生物量和菌丝干重, 观察产孢量、孢子萌发和芽管长度, 比较抑菌的差异。【结果】壳聚糖处理可显著改变两种真菌的菌落形态, 处理浓度越高菌落皱缩和变形越明显; 壳聚糖还可以有效抑制两种真菌的菌落生长、菌丝干重和菌丝生物量, 抑制效果呈明显的浓度依赖, 对 *F. sulphureum* 的抑制效果更好。壳聚糖可抑制两种真菌的产孢量、孢子萌发和芽管伸长, 处理浓度越高抑制效果越好, 对 *F. sulphureum* 的抑制效果更为明显。壳聚糖对 *A. carbonarius* 和 *F. sulphureum* 的  $EC_{50}$  值分别为 0.12 mg/mL 和 0.075 mg/mL。【结论】壳聚糖可有效抑制 *A. carbonarius* 和 *F. sulphureum* 的生长发育, 抑制效果呈浓度依赖, *F. sulphureum* 对壳聚糖更为敏感。

**关键词:** 壳聚糖; 炭黑曲霉; 硫色镰刀菌; 生长发育;  $EC_{50}$  值

资助项目: 国家自然科学基金中-以国际合作与交流项目(31861143046)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China-Israel International Cooperation Project (31861143046).

\*Corresponding author. E-mail: biyang@g sau.edu.cn

Received: 2023-02-16; Accepted: 2023-04-21; Published online: 2023-06-14

# Different concentrations of chitosan affect the growth and development of *Aspergillus carbonarius* and *Fusarium sulphureum*

TANG Yingbo<sup>1</sup>, ZONG Yuanyuan<sup>1</sup>, ZHANG Xuemei<sup>1</sup>, ZHANG Feng<sup>1</sup>, GONG Di<sup>1</sup>, BI Yang<sup>\*1</sup>, Dov Prusky<sup>2</sup>

1 College of Food Science and Engineering, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, Gansu, China

2 Department of Postharvest Science of Fresh Produce, Agricultural Research Organization,  
Rishon LeZion 7505101, Israel

**Abstract:** [Background] Chitosan (CTS) is a polysaccharide ubiquitous in crustaceans. CTS has broad-spectrum antifungal activities, while whether CTS affects the growth and development of *Aspergillus carbonarius* and *Fusarium sulphureum* remains unknown. [Objective] To determine the effects of different concentrations of CTS on the growth and development of *A. carbonarius* and *F. sulphureum*. [Methods] The colony diameters, biomass, and mycelial dry weights of the two fungal species cultured in the potato dextrose agar (PDA) media with different concentrations of CTS were determined. The inhibitory effects of CTS on the two fungal species were evaluated by comparison of the sporulation, spore germination, and germ tube length. [Results] CTS treatment significantly altered the colony morphology of both fungal species. Higher concentrations of CTS resulted in more obvious colony shrinkage and deformation. CTS reduced colony diameter, mycelial dry weight, and mycelial biomass of both fungal species in a concentration-dependent manner, with stronger inhibitory effect on *F. sulphureum*. Similarly, CTS inhibited the sporulation, spore germination, and germ tube elongation in a concentration-dependent manner, which was more significant on *F. sulphureum*. The  $EC_{50}$  values of CTS on *A. carbonarius* and *F. sulphureum* were 0.12 mg/mL and 0.075 mg/mL, respectively. [Conclusion] CTS inhibited the growth and development of *A. carbonarius* and *F. sulphureum* in a concentration-dependent manner, with stronger effect on *F. sulphureum*.

**Keywords:** chitosan; *Aspergillus carbonarius*; *Fusarium sulphureum*; growth and development;  $EC_{50}$  value

炭黑曲霉(*Aspergillus carbonarius*)和硫色镰刀菌(*Fusarium sulphureum*)是两种常见的果蔬采后病原真菌。*A. carbonarius* 分生孢子头炭黑色, 分生孢子较大, 可达 9  $\mu\text{m}$ , 孢壁显著粗糙<sup>[1]</sup>。*F. sulphureum* 分生孢子呈独特的硫色色调, 形态呈带状、镰刀状、短棒状等特征<sup>[2]</sup>。前者主要引起多种果实的黑腐病<sup>[3]</sup>, 后者是引起马铃薯块茎干腐病的主要病原物<sup>[4]</sup>。除了导

致果蔬腐烂变质外, 这 2 种真菌还可产生对消费者安全具有潜在危害的真菌毒素<sup>[5-6]</sup>。壳聚糖(chitosan, CTS)又名甲壳胺或壳多糖, 是由 2-氨基-脱氧- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖和 2-乙酰氨基-脱氧- $\beta$ -D-葡萄糖残基组成的杂多糖, 主要存在于甲壳类动物、昆虫、酵母和真菌的细胞壁中, 是美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)认定的“公认安全物质”

(generally recognized as safe)<sup>[7-8]</sup>。壳聚糖具有广谱的抑菌活性，可有效抑制多种采后病原真菌的生长发育，抑制效果呈明显的浓度依赖<sup>[9]</sup>。壳聚糖可显著抑制赭曲霉(*A. ochraceus*)的菌落生长和孢子萌发，当浓度为 0.1%时，菌落生长和孢子萌发抑制率分别为 34.5% 和 81%<sup>[10]</sup>。壳聚糖还可抑制黑曲霉(*A. niger*)的菌落生长和孢子萌发，当浓度为 3 g/L 时，菌落生长和孢子萌发抑制率分别为 78% 和 50%<sup>[11]</sup>。壳聚糖对黄曲霉(*A. flavus*)菌落生长也表现出良好的抑制效果，当浓度为 2% 时，菌落生长抑制率可达 73.11%<sup>[12]</sup>。除了对多种曲霉的抑制外，壳聚糖还可有效抑制茄病镰刀菌(*F. solani*)的菌丝生长、孢子萌发和芽管伸长，当浓度为 1% 时菌丝干重、孢子萌发和芽管长度抑制率分别为 96.67%、92.2% 和 80.65%<sup>[13]</sup>。壳聚糖可显著抑制尖孢镰刀菌(*F. oxysporum*)的生长发育，当浓度为 2 mg/mL 时，菌落生长和产孢量抑制率分别为 55.06% 和 72.02%<sup>[14]</sup>。 $EC_{50}$  值是评价抑菌效果的重要指标，壳聚糖对 *A. niger* 和 *A. flavus* 的  $EC_{50}$  值分别为 1% 和 1.5%<sup>[12]</sup>，对 *F. concentricum*、*F. moniliforme* 和 *F. graminearum* 的  $EC_{50}$  值分别为 0.53<sup>[15]</sup>、0.94<sup>[16]</sup> 和 0.13 mg/mL<sup>[17]</sup>，表明镰刀菌对壳聚糖更为敏感。

尽管已有壳聚糖在体外条件下抑制多种曲霉和镰刀菌生长发育的报道，但壳聚糖是否抑制 *A. carbonarius* 和 *F. sulphureum* 生长发育及其效果比较尚未见报道。因此，本研究通过在 potato dextrose agar (PDA)培养基中添加不同浓度水溶性壳聚糖，观察其对 *A. carbonarius* 和 *F. sulphureum* 菌落形态和菌落直径的影响，并测定处理菌丝的生物量和菌丝干重，观察处理真菌的产孢量、孢子萌发和芽管长度，比较其对 2 种真菌的抑制效果。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 样品

*A. carbonarius* NRRL368 由以色列农业研究组织沃卡尼中心采后与食品研究所 Dov Prusky 教授惠赠。*F. sulphureum* BNCC117681 由甘肃省农业科学院植物保护研究所提供。

#### 1.1.2 主要试剂和仪器

壳聚糖(水溶性，脱乙酰度≥90%，纯度≥99%，分子量 20 kDa)购自青岛弘海生物技术有限公司。

超净工作台，苏州安泰空气技术有限公司；立式高压蒸汽灭菌锅，上海博迅实业有限公司；光学显微镜，奥林巴斯公司；荧光显微镜，上海永科光学仪器公司。

#### 1.1.3 培养基

PDA 培养基(g/L): 马铃薯 200.0, 葡萄糖 20.0, 琼脂粉 17.0, 自然 pH。PDB 培养基(g/L): 马铃薯 200.0, 葡萄糖 20.0, 自然 pH。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 不同浓度壳聚糖培养基的制备

用无菌蒸馏水先将壳聚糖配制成 1% (质量体积分数)的母液，经 0.22 μm 的无菌滤膜过滤除菌后，分别吸取 0.125、0.25、0.5、0.75 和 1 mL 的母液加入 50 mL 无菌融化的培养基中，充分振荡混匀之后制得壳聚糖浓度分别为 0.025、0.05、0.1、0.15 和 0.2 mg/mL 的 PDA/PDB 培养基<sup>[18]</sup>。

#### 1.2.2 孢子悬浮液的配制

在无菌操作台中，向 28 °C 培养 5 d 的 *A. carbonarius* NRRL368 和 *F. sulphureum* BNCC117681 的 PDA 平板中分别加入约 10 mL 0.05% Tween-80 无菌水，使用无菌涂布器轻轻刮取培养基表面的病原菌孢子，然后用 4 层无菌纱布过滤除去菌丝后收集至 50 mL 无菌离心

管中。振荡均匀后,吸取 20  $\mu\text{L}$  孢子悬浮液滴加在血球计数板上,放置于光学显微镜下采用 25×16 型的计数室,取左上、左下、右上、右下、中央 5 个中型格,用计数器计出其中的孢子数量。对于压线的孢子,计数时遵循计上不计下、计左不计右的原则,最终配制浓度为  $1\times10^6$  spores/mL<sup>[19]</sup>。

孢子个数(mL)=5 个中型格孢子总数/ $5\times25\times10^4\times$ 稀释倍数。

### 1.2.3 菌落直径、菌丝生物量和菌丝干重的测定

在不同浓度壳聚糖 PDA 培养基正中央接入 2  $\mu\text{L}$  孢子悬浮液,在 28 °C 恒温培养箱中培养 9 d,观察菌落形态,采用十字交叉法测量菌落直径(mm)<sup>[20]</sup>。

将直径为 8 cm 的玻璃纸高温灭菌后平铺在不同浓度壳聚糖 PDA 平板上,接种 2  $\mu\text{L}$  上述孢子悬浮液,于 28 °C 黑暗培养 5 d 后称重<sup>[21]</sup>。计算菌丝生物量。

菌丝生物量(g)=总重量(g)-玻璃纸重量(g)。

在不同浓度壳聚糖 PDB 培养基中按照 1% (体积分数)接种量,接入浓度为  $1\times10^6$  spores/mL 孢子悬浮液,28 °C、180 r/min 培养 36 h,然后用布氏漏斗过滤收集菌丝,最后于 75 °C 烘箱 12 h 烘干,称量菌丝干重(g)<sup>[22]</sup>。

### 1.2.4 产孢量的测定

将 2  $\mu\text{L}$   $1\times10^6$  CFU/mL 的孢子悬浮液接种于不同浓度壳聚糖 PDA 平板中央,28 °C 黑暗条件下培养 5 d,然后每个平板加入 5 mL 无菌水,用灭菌的涂布器收集孢子,血球计数板计数孢子浓度<sup>[23]</sup>。

### 1.2.5 孢子萌发率和芽管长度的测定

在不同浓度壳聚糖 PDA 平板中央接种 2  $\mu\text{L}$   $1\times10^6$  CFU/mL 孢子悬浮液,于 28 °C 黑暗条件下分别培养 8 h 和 10 h 后在显微镜下观察

孢子萌发率(%)<sup>[24]</sup>,测量芽管长度( $\mu\text{m}$ )<sup>[25]</sup>。

### 1.2.6 半抑制浓度(EC<sub>50</sub>)的计算

根据 1.2.3 所测菌落直径计算菌丝生长抑制率。

抑制率(%)=(对照菌落直径-处理菌落直径)/对照菌落直径×100。

以壳聚糖浓度(mg/mL)为横坐标(x)、抑制率为纵坐标(y),拟合毒力曲线并计算 EC<sub>50</sub> 值<sup>[26]</sup>。

## 1.3 统计分析

上述各项观察和测定至少重复 3 次。所有数据均采用 Excel 2019 计算平均值及标准误(±SE),用 SPSS 26.0 进行 Duncan's 显著性分析( $P<0.05$ ),采用 OriginPro 9.8 制图。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同浓度壳聚糖对 2 种真菌菌落生长的影响

如图 1 所示,不同浓度壳聚糖处理均有效抑制了 *A. carbonarius* 和 *F. sulphureum* 的菌落生长,抑制效果呈现明显的浓度依赖性。当处理浓度为 0.1 mg/mL 时, *A. carbonarius* 菌落出现皱缩和变形;当处理浓度为 0.025 mg/mL 时, *F. sulphureum* 菌落不规则,甚至完全变形(图 1A、1B)。此外,壳聚糖处理还抑制了两种真菌的菌落生长。当处理浓度为 0.15 mg/mL 时, *A. carbonarius* 和 *F. sulphureum* 的菌落直径分别低于对照 35.74% 和 87.8% (图 1C、1D)。上述结果表明,壳聚糖处理可改变两种真菌的菌落形态并有效抑制菌落生长,对 *F. sulphureum* 的抑制更为明显。

### 2.2 不同浓度壳聚糖对 2 种真菌菌丝干重和生物量的影响

由图 2 可知,不同浓度壳聚糖处理均有效抑制了 *A. carbonarius* 和 *F. sulphureum* 的菌丝干重和生物量,抑制效果呈现明显的浓度依赖

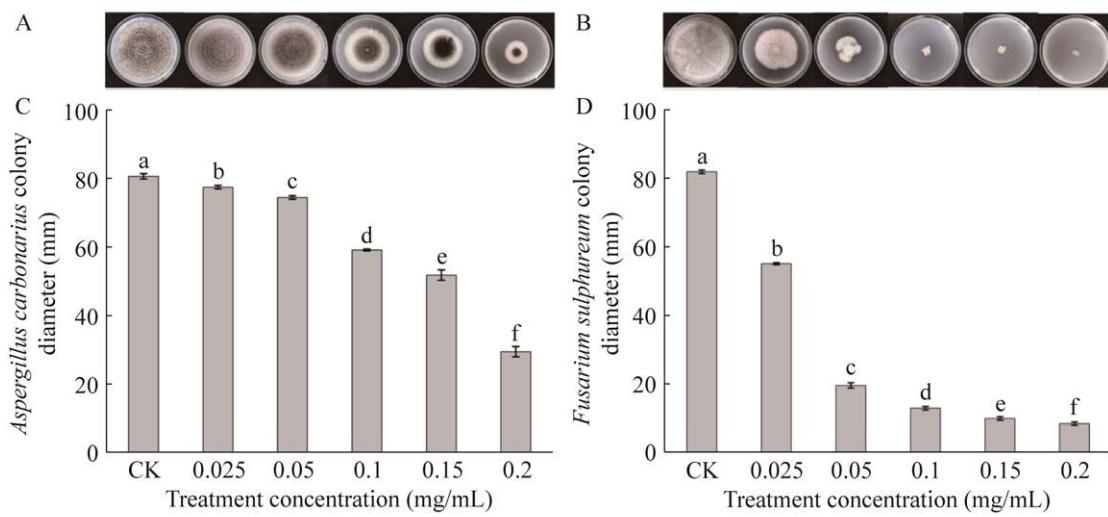


图 1 不同浓度壳聚糖处理对 *Aspergillus carbonarius* 和 *Fusarium sulphureum* 菌落形态(A、B)和菌落直径(C、D)的影响 不同小写字母表示差异显著( $P<0.05$ ). 下同

Figure 1 Effect of different concentrations of chitosan on colony morphology (A, B) and colony diameter (C, D) of *Aspergillus carbonarius* and *Fusarium sulphureum* in vitro. Different lowercase letters indicate significant ( $P<0.05$ ). The same below.

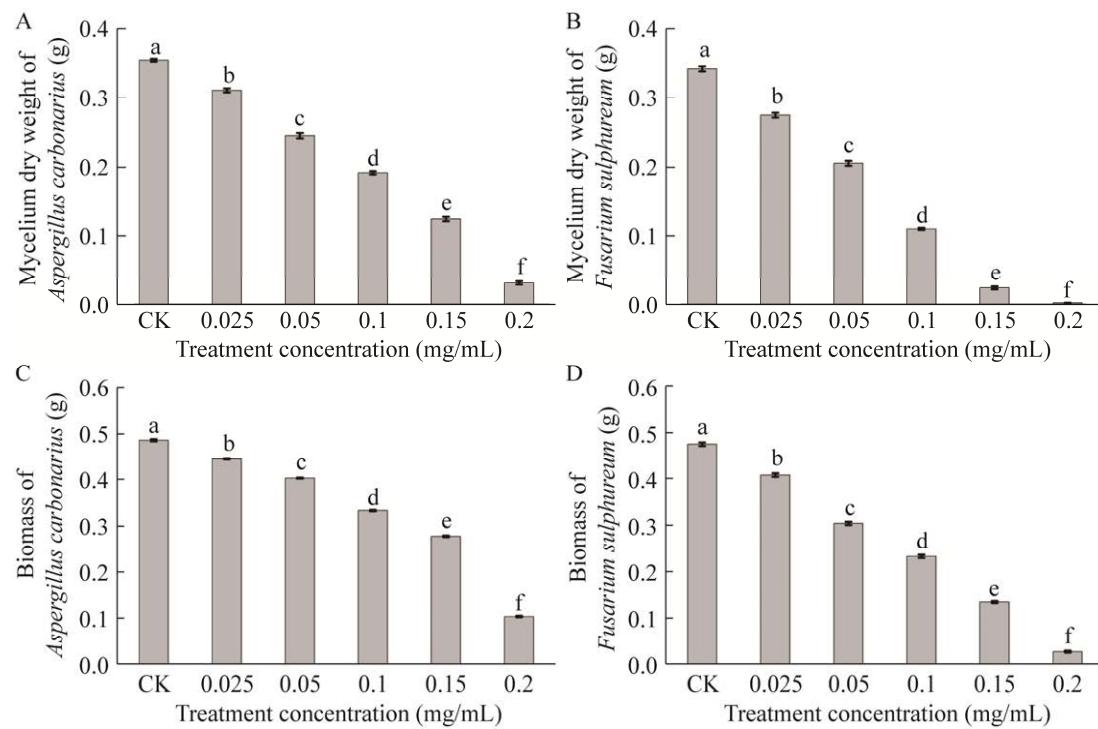


图 2 不同浓度壳聚糖处理对 *Aspergillus carbonarius* 和 *Fusarium sulphureum* 菌丝干重(A、B)和生物量(C、D)的影响

Figure 2 Effect of different concentrations of chitosan on dry weight (A, B) and biomass of mycelium (C, D) of *Aspergillus carbonarius* and *Fusarium sulphureum*.

性。当处理浓度为 0.15 mg/mL 时, *A. carbonarius* 和 *F. sulphureum* 的菌丝干重分别低于对照 64.69% 和 82.84% (图 2A、2B)。同样处理浓度下两种真菌的菌丝生物量分别低于对照 43% 和 71.58% (图 2C、2D)。上述结果表明, 壳聚糖处理显著抑制了 *A. carbonarius* 和 *F. sulphureum* 的菌丝干重和菌丝生物量, 对 *F. sulphureum* 的作用效果更为明显。

### 2.3 不同浓度壳聚糖对 2 种真菌产孢量的影响

如图 3 所示, 不同浓度壳聚糖处理均有效抑制了 *A. carbonarius* 和 *F. sulphureum* 的产孢量, 处理效果呈现明显的浓度依赖。当处理浓度为 0.025 mg/mL 时, *A. carbonarius* 和 *F. sulphureum* 的产孢量分别低于对照 25.35% 和 55.17% (图 3A、3B)。当处理浓度为 0.2 mg/mL 时几乎完全抑制了 *F. sulphureum* 产孢(图 3B)。上述结果表明, 壳聚糖处理可有效抑制 *A. carbonarius* 和 *F. sulphureum* 产孢, 对 *F. sulphureum* 的抑制效果更为明显。

### 2.4 不同浓度壳聚糖对 2 种真菌孢子萌发和芽管长度的影响

如图 4 所示, 不同浓度壳聚糖对 *A. carbonarius*

和 *F. sulphureum* 的孢子萌发抑制存在差异, 低浓度壳聚糖(0.025 mg/mL)促进 *A. carbonarius* 孢子萌发, 但高浓度(0.1 mg/mL)则表现为抑制(图 4A)。不同浓度壳聚糖对 *F. sulphureum* 孢子萌发的抑制呈现明显的浓度依赖, 当处理浓度为 0.15 mg/mL 时, 孢子萌发率低于对照 73.95% (图 4B)。不同浓度壳聚糖处理均有效抑制了 2 种真菌的芽管伸长, 处理效果呈现明显的浓度依赖。当处理浓度为 0.15 mg/mL 时, *A. carbonarius* 和 *F. sulphureum* 的芽管长度分别低于对照 73.72% 和 92.66% (图 4C、4D)。上述结果表明, 不同浓度壳聚糖对 *A. carbonarius* 和 *F. sulphureum* 孢子萌发的抑制效果存在差异, 但均可抑制芽管伸长, *F. sulphureum* 对壳聚糖更为敏感。

### 2.5 壳聚糖对 2 种真菌的 $EC_{50}$ 值

如图 5 所示, 依据菌丝生长抑制率拟合菌丝生长抑制曲线, 求得壳聚糖对 *A. carbonarius* 和 *F. sulphureum* 的  $EC_{50}$  值分别为 0.12 mg/mL 和 0.075 mg/mL, *F. sulphureum* 的  $EC_{50}$  值显著低于 *A. carbonarius* (图 5A、5B)。

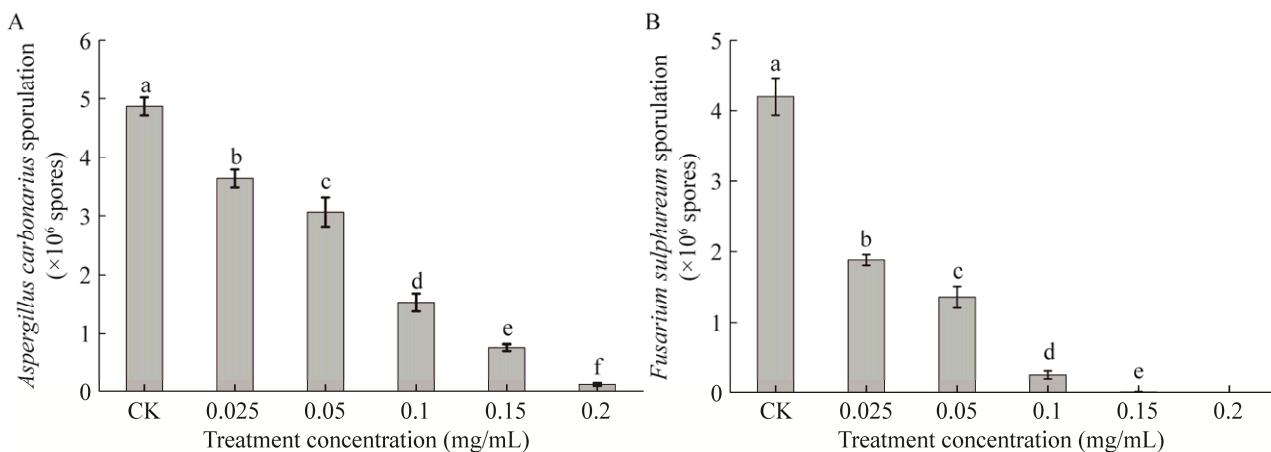


图 3 不同浓度壳聚糖处理对 *Aspergillus carbonarius* (A) 和 *Fusarium sulphureum* (B) 产孢量的影响

Figure 3 Effect of different concentrations of chitosan on spore production of *Aspergillus carbonarius* (A) and *Fusarium sulphureum* (B).

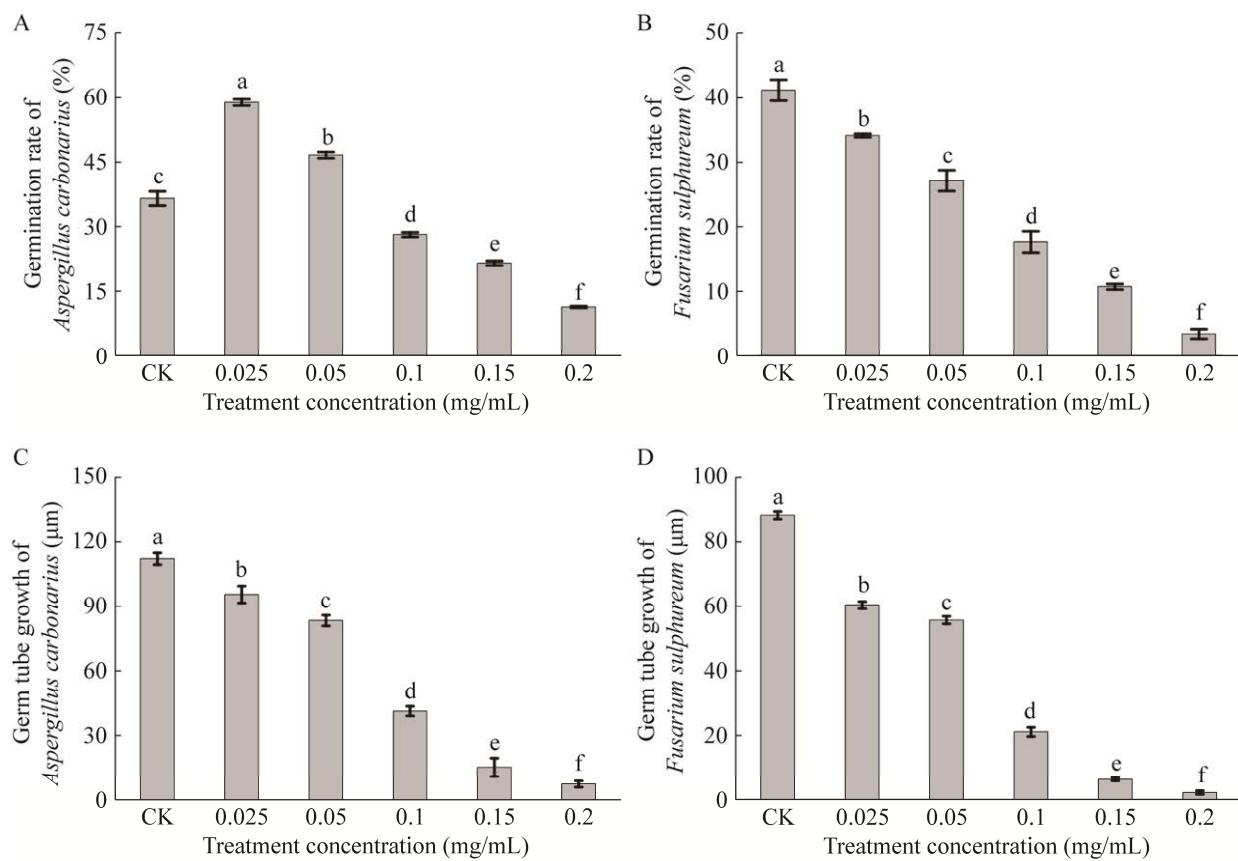


图 4 不同浓度壳聚糖处理对 *Aspergillus carbonarius*、*Fusarium sulphureum* 孢子萌发(A、B)和芽管长(C、D)的影响

Figure 4 Effect of different concentrations of chitosan on spore germination (A, B) and bud tube length (C, D) of *Aspergillus carbonarius* and *Fusarium sulphureum*.

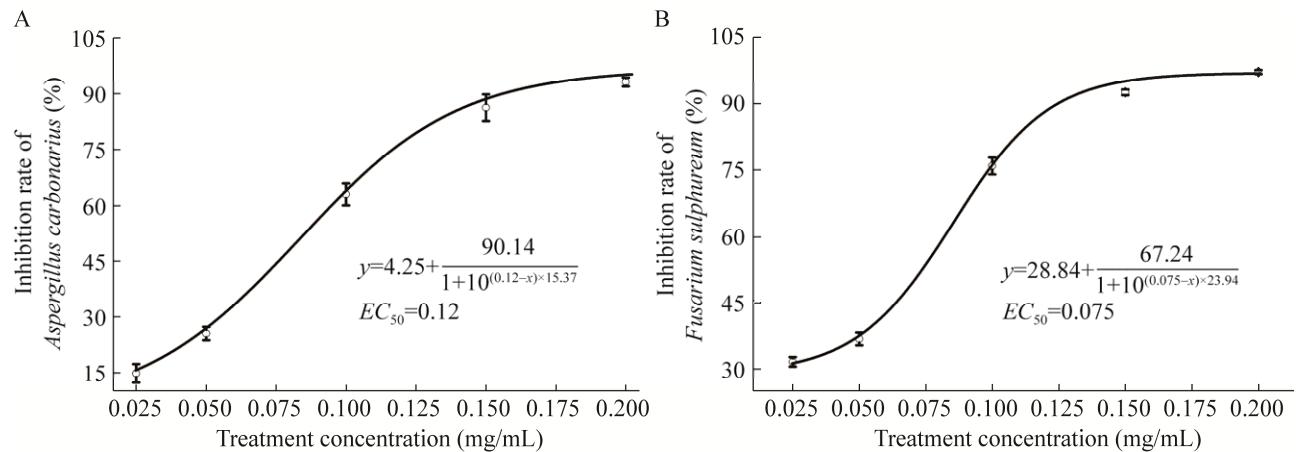


图 5 *Aspergillus carbonarius* (A)和 *Fusarium sulphureum* (B)对不同浓度壳聚糖的  $EC_{50}$  值

Figure 5  $EC_{50}$  values of *Aspergillus carbonarius* (A) and *Fusarium sulphureum* (B) for different concentrations of chitosan.

### 3 讨论

本研究发现, 壳聚糖可有效抑制 *A. carbonarius* 和 *F. sulphureum* 菌落生长、菌丝干重和生物量, 抑制效果呈明显浓度依赖(图 1, 图 2)。该结果与壳聚糖抑制 *A. niger*、*F. solani* 菌丝生长的结果基本一致<sup>[11,13]</sup>。有报道表明, 壳聚糖可激活真菌几丁质酶活性, 促进真菌细胞壁组分几丁质的降解, 从而破坏真菌细胞壁结构<sup>[27]</sup>。壳聚糖处理 *F. concentricum* 后也能诱导其几丁质酶的活性升高, 催化细胞壁中的几丁质水解为几丁寡糖, 减少 *F. concentricum* 菌丝产量<sup>[15]</sup>。类似地, 低聚壳聚糖处理后可激活 *A. flavus* 和 *A. fumigatus* 几丁质酶活性, 促进真菌细胞壁组分几丁质降解, 从而破坏真菌细胞壁结构, 减弱细胞壁功能<sup>[28]</sup>。还有报道表明, 壳聚糖分子所带的正电氨基可与真菌细胞膜表面的负电荷基团相互作用, 从而改变细胞膜的通透性, 使细胞膜透性增大<sup>[29]</sup>。壳聚糖处理后 *A. ochraceus* 的质膜和细胞壁明显分离, 且质膜严重受损<sup>[10]</sup>。同样地, 壳聚糖处理尖孢镰刀菌黄瓜专化型 (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum*) 后使其形态也发生了变化, 菌丝生长扭曲、肿胀和聚集, 细胞壁明显增厚<sup>[30]</sup>。因此认为壳聚糖可能通过破坏细胞壁的结构和细胞膜的完整性来改变菌落形态, 抑制 *A. carbonarius* 和 *F. sulphureum* 的菌落生长、菌丝干重和生物量。

本研究发现, 壳聚糖可有效抑制 *A. carbonarius* 和 *F. sulphureum* 的产孢量、孢子萌发和芽管伸长(图 3, 图 4)。该结果与壳聚糖抑制 *A. niger* 和 *F. oxysporum* 的产孢量、孢子萌发和芽管伸长的结果<sup>[11,14]</sup>基本一致。有研究表明, 真菌分生孢子的发育主要是由 FluG 调控异源 G 蛋白 FadA/SfaD/GpgA 的  $\alpha$  亚基相关的生长信号诱导<sup>[31-33]</sup>。据此推测壳聚糖可能通过影响 FluG

抑制了 *A. carbonarius* 和 *F. sulphureum* 产孢。*cAMP-PKA* 信号通路和异源三聚体 G 蛋白通路会调控真菌的孢子萌发和芽管生长<sup>[34-35]</sup>。据此推测壳聚糖可能通过调控 *cAMP-PKA* 信号通路和异源三聚体 G 蛋白通路抑制了 *A. carbonarius* 和 *F. sulphureum* 的孢子萌发和芽管伸长, 但具体调控机制有待进一步揭示。

两种真菌对壳聚糖的敏感性存在明显差异, *A. carbonarius* 的  $EC_{50}$  值明显高于 *F. sulphureum* (图 5)。有报道表明, 耐壳聚糖真菌的细胞壁中存在较高的几丁质/葡聚糖比值<sup>[35]</sup>, 壳聚糖处理 *F. oxysporum*、*A. flavus* 和 *A. fumigatus* 后, 其几丁质酶活明显增强, 几丁质含量显著下降<sup>[28,36]</sup>。据此推测, *F. sulphureum* 对壳聚糖较高的敏感性可能与其细胞壁中几丁质/葡聚糖比值较低以及壳聚糖增强了其几丁质酶活性有关, 但具体机理尚有待进一步研究。

### 4 结论

壳聚糖处理可明显改变 *A. carbonarius* 和 *F. sulphureum* 菌落形态, 有效抑制菌落生长, 减少菌丝干重和生物量, 壳聚糖还显著抑制了两种真菌的产孢量、孢子萌发和芽管伸长。另外, 壳聚糖对 *A. carbonarius* 和 *F. sulphureum* 生长发育的抑制呈现明显的浓度依赖, 对 *F. sulphureum* 的抑制效果更优。鉴于壳聚糖对 *A. carbonarius* 和 *F. sulphureum* 良好的抑菌效果, 可考虑将其用于果实黑腐病和马铃薯块茎干腐病的控制。

### REFERENCES

- [1] Houbraek J, Kocsué S, Visagie CM, Yilmaz N, Wang XC, Meijer M, Kraak B, Hubka V, Bensch K, Samson RA, Frisvad JC. Classification of *Aspergillus*, *Penicillium*, *Talaromyces* and related genera (*Eurotiales*): an overview of families, genera, subgenera, sections, series and species[J].

- Studies in Mycology, 2020, 95: 5-169.
- [2] LI YT, XIA XN, ZHAO QM, DONG P. The biocontrol of potato dry rot by microorganisms and bioactive substances: a review[J]. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 2022, 122: 101919.
- [3] 彭青枝, 杨冰洁, 王璐荣, 杨书珍, 朱晓玲. 3种杀菌处理对炭黑曲霉生长和赭曲霉毒素A产生量的影响[J]. *食品工业科技*, 2019, 40(10): 152-157.
- PENG QZ, YANG BJ, WANG LR, YANG SZ, ZHU XL. Effects of three fungicidal treatments on growth of *Aspergillus carbonarius* and production of ochratoxin A[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2019, 40(10): 152-157 (in Chinese).
- [4] 胡林刚, 李渐鹏, 李永才, 毕阳, 葛永红, 王毅. 处理对马铃薯块茎干腐病的控制及其机理[J]. *中国农业科学*, 2013, 46(22): 4745-4752.
- HU LG, LI JP, LI YC, BI Y, GE YH, WANG Y. Control of exogenous H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> on dry rot of potato tuber and possible mechanism of action[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2013, 46(22): 4745-4752 (in Chinese).
- [5] MALIR F, OSTRY V, PFOHL-LESZKOWICZ A, MALIR J, TOMAN J. Ochratoxin A: 50 years of research[J]. *Toxins*, 2016, 8(7): 191.
- [6] 唐亚梅, 薛华丽, 毕阳, 赵莹, 沈科萍, 王毅. 硫色镰刀菌(*Fusarium sulphureum*)体外产毒条件的筛选[J]. *食品科学*, 2014, 35(11): 100-104.
- TANG YM, XUE HL, BI Y, ZHAO Y, SHEN KP, WANG Y. Screening of conditions for mycotoxin production by *Fusarium sulphureum* in vitro[J]. *Food Science*, 2014, 35(11): 100-104 (in Chinese).
- [7] DUAN C, MENG X, MENG JR, KHAN MIH, DAI L, KHAN A, AN XY, ZHANG JH, HUQ T, NI YH. Chitosan as A preservative for fruits and vegetables: a review on chemistry and antimicrobial properties[J]. *Journal of Bioresources and Bioproducts*, 2019, 4(1): 11-21.
- [8] 竹泳俊, 李艳芳, 颜廷亭, 李潘, 刘金坤, 王若璇, 冷崇燕. 壳聚糖/透明质酸钠偶联水凝胶的制备及性能研究[J]. *化工新型材料*, 2021, 49(4): 190-193, 198.
- ZHU YJ, LI YF, YAN TT, LI P, LIU JK, WANG RX, LENG CY. Fabrication and characterization of CS/SH coupled hydrogel[J]. *New Chemical Materials*, 2021, 49(4): 190-193, 198 (in Chinese).
- [9] ABD EL-HACK ME, EL-SAADONY MT, SHAFI ME, ZABERMAWI NM, ARIF M, ELSABER BATIHA G, KHAFAGA AF, ABD EL-HAKIM YM, AL-SAGHEER AA. Antimicrobial and antioxidant properties of chitosan and its derivatives and their applications: a review[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 164: 2726-2744.
- [10] MENG D, GARBA B, REN Y, YAO M, XIA XS, LI MY, WANG Y. Antifungal activity of chitosan against *Aspergillus ochraceus* and its possible mechanisms of action[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 158: 1063-1070.
- [11] PLASCENCIA-JATOMEA M, VINIEGRA G, OLAYO R, CASTILLO-ORTEGA MM, SHIRAI K. Effect of chitosan and temperature on spore germination of *Aspergillus niger*[J]. *Macromolecular Bioscience*, 2003, 3(10): 582-586.
- [12] DEWI R, NUR RM. Antifungal activity of chitosan on *Aspergillus* spp.[J]. *International Journal of Bioengineering & Biotechnology*, 2017, 2(4): 24-30.
- [13] EWEIS M, ELKHOLY SS, ELSABEE MZ. Antifungal efficacy of chitosan and its thiourea derivatives upon the growth of some sugar-beet pathogens[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2006, 38(1): 1-8.
- [14] AL-HETAR MY, ZAINAL ABIDIN MA, SARIAH M, WONG MY. Antifungal activity of chitosan against *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*[J]. *Journal of Applied Polymer Science*, 2011, 120(4): 2434-2439.
- [15] 贾瑞秀, 邱苗, 黄建颖, 周雁. 壳聚糖及其衍生物对镰孢菌的抑菌机理[J]. *中国食品学报*, 2016, 16(11): 70-75.
- JIA RX, QIU M, HUANG JY, ZHOU Y. Antibacterial mechanism of chitosan and its derivatives on *Fusarium concentricum*[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2016, 16(11): 70-75 (in Chinese).
- [16] 于汉寿, 陈永萱. 壳聚糖对水稻恶苗病菌和油菜菌核病菌的作用[J]. *植物保护学报*, 2002, 29(4): 295-299.
- YU HS, CHEN YX. Effects of chitosan on *Fusarium moniliforme* and *Sclerotinia sclerotiorum*[J]. *Journal of Plant Protection*, 2002, 29(4): 295-299 (in Chinese).
- [17] ZHANG WJ, GAO FK, CHENG CH, LU L, DU HY, LI Y, HOU WL, YANG YD, WANG XP. Evaluation of sulfonated oxidized chitosan antifungal activity against *Fusarium graminearum*[J]. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 2022, 33(12): 1495-1510.
- [18] 刘艳如, 余萍, 郑怡. 水溶性壳聚糖的抑菌作用研究[J]. *中国海洋药物*, 2001, 20(2): 42-44.
- LIU YR, YU P, ZHENG Y. Study on bacteriostatic effect of water-soluble chitosan[J]. *Chinese Journal of Marine Drugs*, 2001, 20(2): 42-44 (in Chinese).

- [19] 胡蝶, 董腾, 薛雅文, 寇晓萌, 郭佳琳, 王静, 姬华. 抑菌剂对红枣中黑曲霉和黄曲霉的抑制作用[J]. 农产品加工, 2022(18): 23-26.
- HU D, DONG T, XUE YW, KOU XM, GUO JL, WANG J, JI H. Inhibitory effect of antimycotic agents on *Aspergillus niger* and *Aspergillus flavus* in jujube[J]. Farm Products Processing, 2022(18): 23-26 (in Chinese).
- [20] GARCÍA-RINCÓN J, VEGA-PÉREZ M.G, GUERRA-SÁNCHEZ A.N, HERNÁNDEZ-LAUZARDO A, PEÑA-DÍAZ M.G, VELÁZQUEZ-DEL VALLE. Effect of chitosan on growth and plasma membrane properties of *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.:Fr.) Vuill[J]. Pesticide Biochemistry and Physiology, 2010, 97(3): 275-278.
- [21] 刘梦娇, 张英伟, 柴立伟, 黄艺, 邱国玉. 铜胁迫下4种外生菌根真菌的耐受性比较[J]. 菌物研究, 2017, 15(1): 39-45.
- LIU MJ, ZHANG YW, CHAI LW, HUANG Y, QIU GY. Comparison the tolerance of four ectomycorrhizal fungi under copper stress[J]. Journal of Fungal Research, 2017, 15(1): 39-45 (in Chinese).
- [22] MILETIĆ D, PANTIĆ M, SKNEPNEK A, VASILJEVIĆ I, LAZOVIĆ M, NIKŠIĆ M. Influence of selenium yeast on the growth, selenium uptake and mineral composition of *Coriolus versicolor* mushroom[J]. Journal of Basic Microbiology, 2020, 60(4): 331-340.
- [23] SHI ZS, ZHAO Y, LIU S, WANG YT, YU QL. Size-dependent impact of magnetic nanoparticles on growth and sporulation of *Aspergillus niger*[J]. Molecules, 2022, 27(18): 5840.
- [24] ZHANG XM, ZONG YY, GONG D, YU LR, SIONOV E, BI Y, PRUSKY D. NADPH oxidase regulates the growth and pathogenicity of *Penicillium expansum*[J]. Frontiers in Plant Science, 2021, 12: 696210.
- [25] LI YC, YANG ZM, BI Y, ZHANG JL, Wang D. Antifungal effect of borates against *Fusarium sulphureum* on potato tubers and its possible mechanisms of action[J]. Postharvest Biology and Technology, 2012, 74: 55-61.
- [26] 阮宏椿, 石妞妞, 田佩玉, 杜宜新, 陈文乐, 陈巧红, 陈凤平, 陈福如. 福建省稻瘟病菌对4种杀菌剂的敏感性分析[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2022, 50(2): 125-134.
- RUAN HC, SHI NN, TIAN PY, DU YX, CHEN WL,
- CHEN QH, CHEN FP, CHEN FR. Sensitivity of *Magnaporthe oryzae* in Fujian to 4 fungicides[J]. Journal of Northwest A&F University (Natural Science Edition), 2022, 50(2): 125-134 (in Chinese).
- [27] MENG XH, YANG LY, KENNEDY JF, TIAN SP. Effects of chitosan and oligochitosan on growth of two fungal pathogens and physiological properties in pear fruit[J]. Carbohydrate Polymers, 2010, 81(1): 70-75.
- [28] KE Y, DING BB, ZHANG MM, DONG TJ, FU Y, LÜ QY, DING WP, WANG XD. Study on inhibitory activity and mechanism of chitosan oligosaccharides on *Aspergillus flavus* and *Aspergillus fumigatus*[J]. Carbohydrate Polymers, 2022, 275: 118673.
- [29] XING K, ZHU X, PENG X, QIN S. Chitosan antimicrobial and eliciting properties for pest control in agriculture: a review[J]. Agronomy for Sustainable Development, 2015, 35(2): 569-588.
- [30] ELAGAMEY E, ABELLATEF M A.E, ARAFAT MY. Proteomic insights of chitosan mediated inhibition of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum*[J]. Journal of Proteomics, 2022, 260: 104560.
- [31] PARK HS, YU JH. Genetic control of asexual sporulation in filamentous fungi[J]. Current Opinion in Microbiology, 2012, 15(6): 669-677.
- [32] YU JH. Heterotrimeric G protein signaling and RGSs in *Aspergillus nidulans*[J]. Journal of Microbiology, 2006, 44(2): 145-154.
- [33] SOM T, KOLAPARTHI VS. Developmental decisions in *Aspergillus nidulans* are modulated by Ras activity[J]. Molecular and Cellular Biology, 1994, 14(8): 5333-5348.
- [34] FILLINGER S, CHAVEROCHE MK, SHIMIZU K, KELLER N, D'ENFERT C. cAMP and ras signalling independently control spore germination in the filamentous fungus *Aspergillus nidulans*[J]. Molecular Microbiology, 2002, 44(4): 1001-1016.
- [35] LOPEZ-MOYA F, SUAREZ-FERNANDEZ M, LOPEZ-LLORCA L. Molecular mechanisms of chitosan interactions with fungi and plants[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2019, 20(2): 332.
- [36] REN J, TONG J, LI PH, HUANG XQ, DONG P, REN MZ. Chitosan is an effective inhibitor against potato dry rot caused by *Fusarium oxysporum*[J]. Physiological and Molecular Plant Pathology, 2021, 113: 101601.