

重寄生真菌盾壳霉与核盘菌对峙培养的 差异代谢物分析

贺 珍^{1,2} 胡先文¹ 付艳苹² 姜道宏²

1. 华中农业大学理学院, 武汉 430070; 2. 湖北省作物病害监测和安全控制重点实验室(华中农业大学), 武汉 430070

摘要 运用基于液相质谱联用技术的代谢组分析手段, 检测重寄生真菌盾壳霉和宿主植物病原菌核盘菌对峙培养时的代谢物差异。结果发现: 盾壳霉与核盘菌对峙接触能显著诱发盾壳霉代谢物的分泌, 构建盾壳霉特定代谢物数据库检测到 3 种代谢物涉及重寄生过程, 分别为 Macrosphelide A, Benzenediol 和 5-Aminopentanoate, 且对峙接触 2 d 时检测到的代谢物积累量最大。对盾壳霉重寄生过程代谢物变化的分析结果表明, 真菌重寄生能诱发代谢物水平的交流和次级代谢物积累。

关键词 盾壳霉; 核盘菌; 重寄生; 共培养; 代谢组

中图分类号 S 482.2 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2017)01-0035-07

盾壳霉 *Coniothyrium minitans* 是核盘菌 *Sclerotinia sclerotinia* 的选择性重寄生真菌, 能寄生和杀死植物病原菌核盘菌的菌丝和菌核, 从而达到控制油菜菌核病的目的^[1-5]。在北美和欧洲已经存在商品化的盾壳霉生物防治剂用于田间病害防治。目前从代谢物水平阐述重寄生相关研究较少^[6], 基因组^[7-8]和转录组水平^[9-10]分析显示重寄生过程涉及到大量代谢物生物途径的参与^[11-12]。为此, 笔者将盾壳霉与寄主核盘菌进行对峙培养, 运用液相质谱联用技术分析重寄生过程中涉及的活性次级代谢物。以对峙培养诱发的代谢物为载体, 帮助从代谢物水平理解重寄生相互作用过程, 以期为后续新型农药靶标分子设计提供指导。

1 材料与方法

1.1 菌株与培养基

盾壳霉菌株 ZS-1、核盘菌菌株 1980 由华中农业大学湖北省作物病害监测和安全控制重点实验室提供。

以上菌株都在 PDA 培养基中 20 ℃ 培养活化。PDA 培养基采用去皮马铃薯 200 g, 切成小块, 加水煮沸 30 min, 2 层纱布过滤, 滤液中加入 20 g 葡萄糖、10 g 琼脂粉, 溶解后加水定容为 1 000 mL, 湿热高压灭菌(121 ℃, 30 min)。

收稿日期: 2016-05-30

基金项目: 国家自然科学基金项目(31572048); 湖北省自然科学基金项目(2014CFB936); 中央高校基本科研业务费专项(2662015PY055)

贺 珍, 硕士研究生, 研究方向: 微生物代谢组学分析. E-mail: zhen_he_01@163.com

通信作者: 胡先文, 博士, 副教授, 研究方向: 天然产物分析. E-mail: hxw@mail.hzau.edu.cn

1.2 主要仪器和试剂

试剂: 甲醇(分析纯, 国药集团), 二氯甲烷(分析纯, 国药集团), 乙酸乙酯(分析纯, 国药集团), 乙腈(色谱纯, Thermo Fisher), 甲酸(色谱纯, Thermo Fisher)。

仪器: 超净工作台(北京东联), 立式压力蒸汽灭菌器(上海三申), 超声波清洗仪, 氮吹仪(杭州奥德), 高效液相色谱四级杆飞行时间质谱联用仪(1260 Q-TOF 6540, Agilent)。

1.3 对峙培养

盾壳霉 ZS-1 菌落(14 d 龄)边缘取菌丝尖端琼脂块(直径 5 mm)接种于含 20 mL PDA 培养基的培养皿(直径 9 cm)一端, 待菌落直径至 3 cm 时(培养 5 d 后), 同一培养皿另一端接种核盘菌 1980 的菌丝尖端琼脂块(直径 5 mm)。密封保存, 20 ℃ 培养。盾壳霉与核盘菌菌丝接触 0、2、4、8 和 12 d 时, 每皿盾壳霉和核盘菌接触区取 2 块琼脂块(直径 8 mm)置于 2 mL EP 管中作为 1 个样品, 3 个重复组。以相同培养条件下 ZS-1 和 1980 单独培养菌落作为对照组, 拍照观察。对峙培养接触 0 d 的菌丝块采用显微镜观察。所有样品经液氮速冻, -80 ℃ 保存。

1.4 样品提取

每管样品加入 750 μ L 的有机溶剂体系, 即甲

醇：二氯甲烷：乙酸乙酯(1：2：3,体积比)混合体系中加入 1%的甲酸。超声水浴 60 min,溶剂转移到干净的 2 mL EP 管,置氮吹仪中至溶剂挥发干。每管样品加入 500 μ L 的甲醇,超声水浴 20 min,以充分溶解提取物。过 0.45 μ m 的 PTFE 针头式过滤器至干净的 2 mL 液相进样瓶中。 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存待测。

1.5 LC-MS 分析

液相条件:色谱柱为 Agilent ZORBAX Eclipse Plus-C18 column (100 mm $\times$ 2.1 mm,3.5 μ m),柱温 $40\text{ }^{\circ}\text{C}$;流动相 A 和流动相 B 分别为 90% 乙腈水溶液和 0.1% 甲酸水溶液;流速设为 0.30 mL/min,进样量为 15 μ L;梯度洗脱方案如下:0~1.5 min,15% A;1.5~21.5 min,15%~100% A;21.5~24.5 min,100% A;24.5~25 min,15% A,总分析时间为 25 min。

质谱条件:通过连续注入质谱溶液(121.050873 和 922.009798,阳性离子)进行动态质谱轴校准,扫描方式:正离子模式扫描,喷雾器压力:275 600 Pa;采集范围:50~1 800 u,扫描频率 2.00 S^{-1} ;各气路均使用氮气,干燥气流速为 9 L/min,干燥气温度为 $350\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

1.6 数据处理

1)色谱数据的提取和数据的前处理。采集 LC-

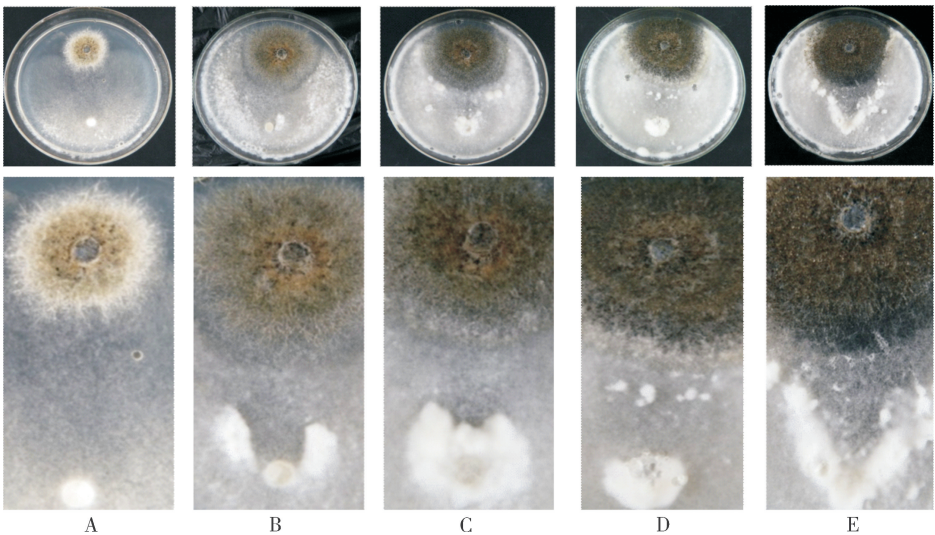
MS 的原始数据(.d)由 MassHunter 软件转换为(.mzData)格式,使用 XCMS 进行特征提取,保留时间校准和对齐,CAMERA 进行离子类型的注释分析,最终得到包含保留时间、质核比和峰强度的数据列表。导入 MetaboAnalyst 3.0 主成分分析(PCA)观察空白对照组、处理组样本的分布和分组关系。

2)盾壳霉特定次级代谢物鉴定。收集盾壳霉代谢物相关文献以及公共数据库 KNApSAcK 中盾壳霉临近物种代谢物信息,通过 Agilent Formula Database Generator 构建盾壳霉特异代谢物数据库。统计筛选显著差异代谢组分,显著性 P 小于 0.05,倍数变化大于 2。总体差异代谢物首先通过精确分子质量与盾壳霉数据库进行比对,进行差异代谢物归属鉴别。

2 结果与分析

2.1 对峙培养菌丝形态观察

盾壳霉 ZS-1 与宿主核盘菌 1980 在平皿中进行对峙培养,分别在对峙接触不同时间段即接触 0、2、4 和 8 d 以及 12 d 时进行观察,结果表明盾壳霉与核盘菌接触区有浅黄色菌丝坏死带,核盘菌的菌落和菌核表面有盾壳霉黑色分生孢子器的形成(图 1)。



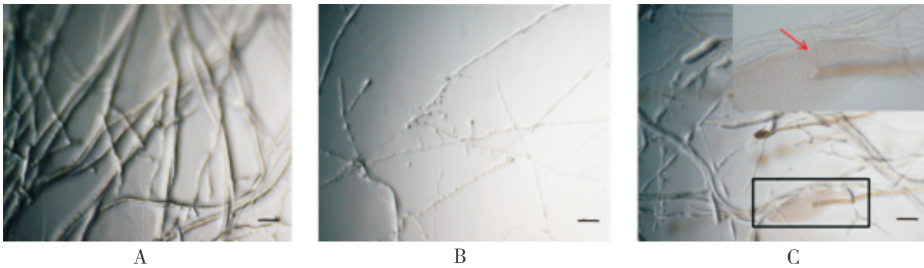
A.盾壳霉核盘菌对峙接触 0 d 时; B.盾壳霉核盘菌对峙接触 2 d 时; C.盾壳霉核盘菌对峙接触 4 d 时; D.盾壳霉核盘菌对峙接触 8 d 时; E.盾壳霉核盘菌对峙接触 12 d 时。A.Dual culture for 0 day; B.Dual culture for 2 days; C.Dual culture for 4 days; D.Dual culture for 8 days; E.Dual culture for 12 days.

图 1 盾壳霉 ZS-1(黑色菌落)与核盘菌 1980(白色菌落)不同时间段对峙培养(3 $\times$)

Fig.1 Development of mycoparasitic reaction of *Coniothyrium minitans* against *Sclerotinia sclerotiorum* at different time point

盾壳霉与核盘菌对峙接触 0 d 时的菌丝显微观察,从图 2 可以明显区分核盘菌菌丝和盾壳霉菌丝,两者存在明显菌丝形态大小差异,核盘菌的菌丝(图 2 A)明显粗壮于盾壳霉菌丝(图 2 B),对峙接触区域(图 2 C)观察到核盘菌接触盾壳霉时出现菌丝尖

端膨大和变形,菌丝尖端破裂,细胞质物质渗漏分泌现象,以及盾壳霉菌丝对核盘菌的向性生长。通过菌丝形态观察,表明盾壳霉和核盘菌存在重寄生相互作用,也保证了该对峙取样时间点的有效性。



A.核盘菌单独培养时的菌丝; B.盾壳霉单独培养时的菌丝; C.盾壳霉与核盘菌对峙培养时的菌丝;图中标尺为 100 μm。A. Hyphae of *S. sclerotiorum* alone; B. Hyphae of *C. minitans* alone; C. Hyphae of *C. minitans* and *S. sclerotiorum* co-culture; the scale bar for 100 μm.

图 2 核盘菌单独、盾壳霉单独以及对峙培养接触 0 d 时的菌丝形态

Fig.2 Optic microscopy of the mycelium of *C. minitans* and *S. sclerotiorum* co-culture at 0 day

2.2 对峙培养的代谢组差异

对不同时间点下盾壳霉、核盘菌以及对峙区的菌丝块样品液相质谱数据进行统计分析。主成分分析(principal component analysis)在未知样品数据分组的情况下,对样品中的变量进行分析,筛选最能区分样品差异的方差即主成分(PC)。样品(共 15 组样品,分为 5 个时间点,每个时间点有 3 个不同处理,即盾壳霉单独、核盘菌单独和盾壳霉-核盘菌对峙)的主成分分析样品打分图(图3)显示各组间样

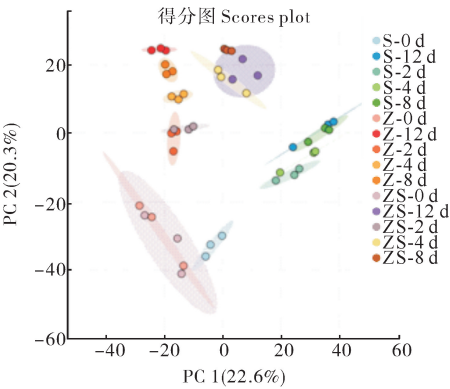
品都有明显的区分,组间样品重复都能较好地聚集,其中主成分 1(PC1)代表的变量差异比例为 22.6%,主成分 2(PC2)的变量差异比例为20.3%。

2.3 对峙培养中盾壳霉代谢产物变化

对所有时间序列样品进行统计分析,以显著性 $P=0.05$ 为阈值,从 273 个差异组分中筛选到 108 个显著差异组分(图 4A),结合 K-mean 进行组间变化模式层次聚类分析,帮助区分处理差异数据间的变化模式。

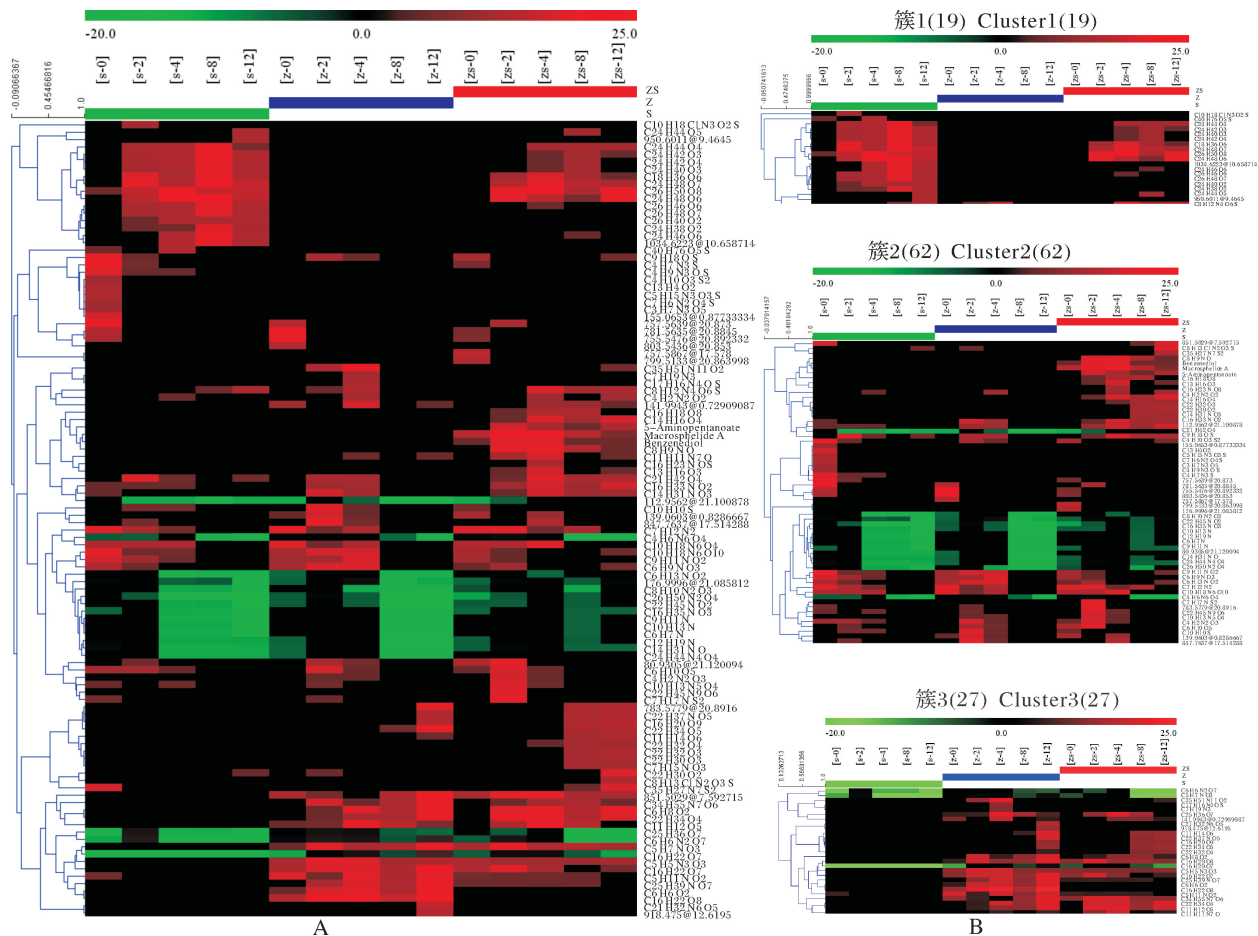
通过聚类分析将数据划分为 3 类变化簇,即进一步分析簇间样品变化量的差异,可以进一步确定总差异样品主要来自 3 类变化,即与核盘菌单独样品(S)比较时差异组分的相对含量较高,图 4B 的 Cluster 1 表示差异组分相对强度变化模式为核盘菌单独(S)>对峙样品(ZS)>盾壳霉单独(Z),核盘菌单独(S)差异组分的相对含量较高;聚类分析中的 Cluster 3 表示差异组分相对强度变化模式为盾壳霉单独(Z)>对峙样品(ZS)>核盘菌单独(S),盾壳霉单独(Z)差异组分的相对含量较高;聚类分析中的 Cluster 2 表示差异组分相对强度变化模式为对峙样品(ZS)>盾壳霉单独(Z)>核盘菌单独(S),盾壳霉与核盘菌的对峙样品(ZS)差异组分的相对含量较高。盾壳霉与核盘菌的对峙培养相比于单独培养时,能显著提高代谢物质的积累和相互作用。

通过差异组分的精确分子质量在盾壳霉特异代谢物数据库进行物质归属分析。盾壳霉与核盘菌对峙样品含量较高(Cluster 2)的差异组分初步归属的



图中 S 表示核盘菌单独培养,Z 表示盾壳霉单独培养,ZS 表示盾壳霉-核盘菌对峙培养;而 0 d、2 d、4 d、8 d、12 d 分别表示对峙接触时间点为 0、2、4、8 和 12 d。S: *S. sclerotiorum* alone; Z: *C. minitans* alone; ZS: Co-culture; 0 d、2 d、4 d、8 d、and 12 d for co-culture with 0,2,4,8, and 12 d respectively.

图 3 不同对峙时间处理下样品的 LC-MS 数据主成分分析 PCA
Fig.3 PCA score plot generated using MetaboAnalyst based on *C. minitans* culture extract at different timepoint in positive mode



图中纵轴表示差异代谢物,横轴表示不同时间点样品,样品分为 3 类,即核盘菌单独(S)样品用绿色表示,盾壳霉单独(Z)样品用蓝色表示,盾壳霉-核盘菌对峙(ZS)样品用红色表示,相对峰强度从低到高以绿到红的颜色深度区分。Axis of abscissas indicates the differential metabolites,axis of ordinates indicates the serial number of sample,differently sample class green for S, *S. sclerotiorum* alone ; blue for Z, *C. minitans* alone; red for ZS,co-culture; relative peaks intensity of low and high are shown in green to red,the figures in brackets indicate the number of metabolites.

图 4 重寄生时间序列样品中筛选的显著差异组分热图(A)和成簇分析结果(B)

Fig.4 Heatmap of significantly differential metabolites in all time series samples(A) and cluster analysis result(B)

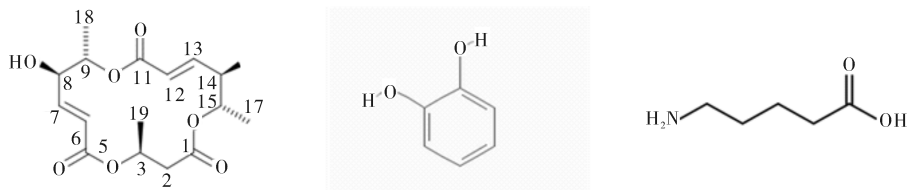


图 5 共培养中鉴定出的盾壳霉代谢物结构

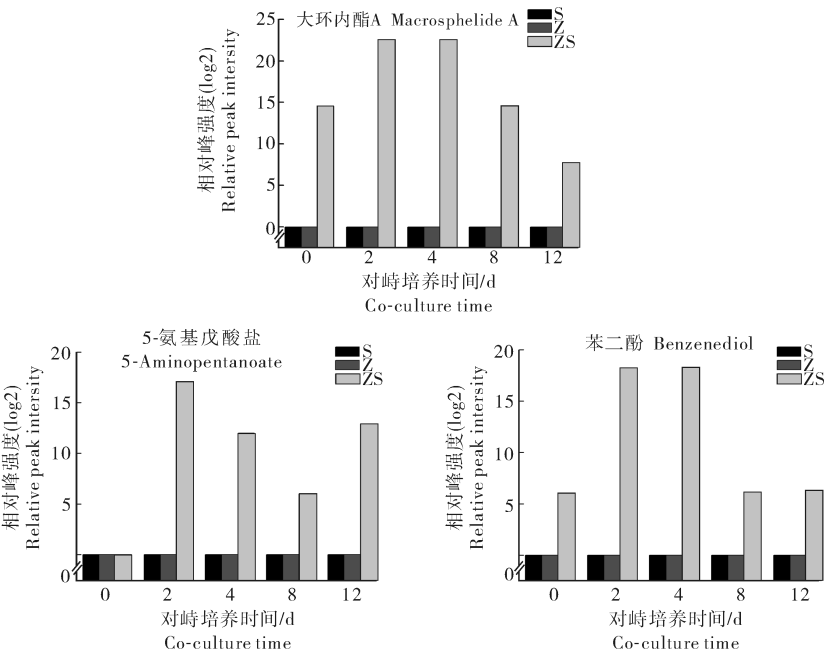
Fig.5 Metabolites structure of metabolites produced by *C. minitans* in co-culture situation

次级代谢物质(图 5)包括:Macrosphelide A(分子式 $C_{16}H_{22}O_8$, m/z 值为 360.165 8),Benzenediol(分子式 $C_6H_6O_2$, m/z 值为 111.043 8),5-Aminopentanoate(分子式 $C_5H_{11}NO_2$, m/z 值为 118.084 6)。

通过对不同时间段对应次级代谢物的相对定量分析结果(图 6)显示,鉴定出的次级代谢物都是盾壳霉与核盘菌对峙培养的条件下显著上调表达的,即盾壳霉在单独培养的样品中对应物质的信号较

低,并且实验是通过收集构建盾壳霉特异的代谢物数据库进行相关物质的鉴定,可以很好地确定相关差异物质的生物来源。通过对时间序列的分析即盾壳霉与核盘菌接触培养 0、2、4、8 和 12 d 的样品分析中,可以看出检测到的 3 种次级代谢物 Macro-

sphelide A、Benzenediol 和 5-Aminopentanoate 诱发积累量都在接触 2 d 时最高,随后时间段检测到的差异物质大体趋势上积累量逐渐降低。结果表明重寄生前期涉及到特定代谢物的诱发积累,在后期逐渐降解,且接触 2 d 时盾壳霉的代谢物积累水平最高。



图中 S 表示核盘菌单独培养, Z 表示盾壳霉单独培养, ZS 表示盾壳霉-核盘菌对峙培养; S: *S. sclerotiorum* alone; Z: *C. minitans* alone; ZS: Co-culture.

图 6 不同时间段 3 种次级代谢物的相对定量分析

Fig.6 Relative quantification analysis of three metabolites at different time points

3 讨论

已有报道表明盾壳霉具有分泌抗真菌和抗细菌代谢物的能力^[13-15],本研究的结果表明,重寄生过程在代谢组水平能观测到显著差异,针对盾壳霉的次级代谢物,检测到 3 种代谢物 Macrospheptide A、Benzenediol 和 5-Aminopentanoate 在盾壳霉和核盘菌接触培养 2 d 时代谢物积累量最大。这 3 种次级代谢物都是在重寄生接触中诱发产生,即在盾壳霉、核盘菌的单独培养样品中信号强度极低,而在对峙培养样品中能检测到显著信号。

Macrospheptide A 是已报道的盾壳霉次级代谢物,属大环内酯类,具有抗细胞粘连和广谱抗菌作用^[16]。5-Aminopentanoate 为氨基脂肪酸类,主要涉及到赖氨酸降解途径、精氨酸和脯氨酸代谢途径,而这些氨基酸生物途径被报道涉及盾壳霉的生长发

育和重寄生能力^[17-18]。Benzenediol 形成的内酯物质被报道是真菌中重要的聚酮类化合物,具有广泛的生物活性,如细胞毒性、抗线虫和受体识别^[19]。而苯二酚氧化还原酶即漆酶 (benzenediol : oxygen oxidoreductases, EC 1.10.3.2) 在真菌降解木质素、产孢、产色素以及重寄生过程的宿主识别都扮演着重要角色^[20-21]。木霉 (*Trichoderma*) 为对象的重寄生机制研究表明,重寄生菌接触到植物病原菌后会激活自身的 G 蛋白偶联受体和 MAPK 信号途径,分泌合成相应的细胞壁降解酶和次级代谢物使病原菌菌丝受损^[22]。为此,我们推测对峙培养诱发生物的这 3 类代谢物是盾壳霉接触到核盘菌刺激后,通过信号途径激活物质合成基因簇而诱发产生的代谢物,这 3 种物质在重寄生过程中的具体功能有待进一步研究。微生物交互诱发相关代谢物的分泌机理研究表明,作为长期进化的结果,生物只在特定的环

境或刺激下才会分泌功能生物活性物质响应外界刺激,如扮演通讯功能的信号分子,防御功能的次级代谢物等^[23-26]。

本试验首次运用代谢组手段分析了盾壳霉对核盘菌的重寄生,从代谢物差异角度阐释盾壳霉次级代谢物在重寄生过程中的变化规律。后期将设计实验对盾壳霉重寄生过程中显著积累代谢物的生物活性进行验证和分析,从代谢物角度分析盾壳霉重寄生,将对后续生物源农药的研发有着重要指导意义。

参 考 文 献

- [1] BUDGE S P, MCQUILKEN M P, FENLON J S, et al. Use of *Coniothyrium minitans* and *Gliocladium virens* for biological control of *Sclerotinia sclerotiorum* in glasshouse lettuce [J]. *Biological control*, 1995, 5(4): 513-522.
- [2] DE VRIJE T, ANTOINE N, BUITELAAR R M, et al. The fungal biocontrol agent *Coniothyrium minitans*: production by solid-state fermentation, application and marketing [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2001, 56(1/2): 58-68.
- [3] GERLAGH M, GOOSSEN-VAN DE GEIJN H M, FOKKE-MA N J, et al. Long-term biosanitation by application of *Coniothyrium minitans* on *Sclerotinia sclerotiorum*-infected crops [J]. *Phytopathology*, 1999, 89(2): 141-147.
- [4] LI G Q, HUANG H C, MIAO H J, et al. Biological control of sclerotinia diseases of rapeseed by aerial applications of the mycoparasite *Coniothyrium minitans* [J]. *European journal of plant pathology*, 2006, 114(4): 345-355.
- [5] DAVID B C, LISA M, COOKE B M. Sustainable disease management in a European context [M]. Netherlands: Springer Netherlands, 2008: 323-330.
- [6] CHAMOUN R, ALIFERIS K A, JABAJI S. Identification of signatory secondary metabolites during mycoparasitism of *Rhizoctonia solani* by *Stachybotrys elegans* [J]. *Frontiers in microbiology*, 2015, 6: 353.
- [7] DRUZHININA I S, SEIDL-SEIBOTH V, HERRERA-ESTRELLA A, et al. *Trichoderma*: the genomics of opportunistic success [J]. *Nature reviews microbiology*, 2011, 9(10): 749-759.
- [8] MUKHERJEE P K, HORWITZ B A, KENERLEY C M. Secondary metabolism in *Trichoderma* — a genomic perspective [J]. *Microbiology*, 2011, 158(1): 35-45.
- [9] MUKHERJEE M, MUKHERJEE P K, HORWITZ B A, et al. *Trichoderma*—plant-pathogen interactions: advances in genetics of biological control [J]. *Indian journal of microbiology*, 2012, 52(4): 522-529.
- [10] QUALHATO T F, LOPES F A, STEINDORFF A S, et al. Mycoparasitism studies of *Trichoderma* species against three phytopathogenic fungi: evaluation of antagonism and hydrolytic enzyme production [J]. *Biotechnology letters*, 2013, 35(9): 1461-1468.
- [11] CHAMOUN R, JABAJI S. Expression of genes of *Rhizoctonia solani* and the biocontrol *Stachybotrys elegans* during mycoparasitism of hyphae and sclerotia [J]. *Mycologia*, 2011, 103(3): 483-493.
- [12] SEIDL V, SONG L, LINDQUIST E, et al. Transcriptomic response of the mycoparasitic fungus *Trichoderma atroviride* to the presence of a fungal prey [J]. *BMC genomics*, 2009, 10: 567.
- [13] 姜道宏, 李国庆, 易先宏, 等. 盾壳霉所产抗细菌物质的特性 [J]. *植物病理学报*, 1998, 28(1): 29-32.
- [14] 韩永超. 盾壳霉产生抗真菌物质的调控及其分子机理研究 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2010.
- [15] 李国庆, 杨龙, 姜道宏, 等. 重寄生菌盾壳霉及其防治核盘菌病的研究进展 [J]. *湖北植保*, 2009(S1): 54-58.
- [16] MCQUILKEN M P, GEMMELL J, HILL R A, et al. Production of macrosphelide A by the mycoparasite *Coniothyrium minitans* [J]. *FEMS microbiology letters*, 2003, 219(1): 27-31.
- [17] GONG X, FU Y, JIANG D, et al. L-Arginine is essential for conidiation in the filamentous fungus *Coniothyrium minitans* [J]. *Fungal genetics and biology: FG & B*, 2007, 44(12): 1368-1379.
- [18] LI B, FU Y, JIANG D, et al. Cyclic GMP as a second messenger in the nitric oxide-mediated conidiation of the mycoparasite *Coniothyrium minitans* [J]. *Applied and environmental microbiology*, 2010, 76(9): 2830-2836.
- [19] SHEN W, MAO H, HUANG Q, et al. Benzenediol lactones: a class of fungal metabolites with diverse structural features and biological activities [J]. *European journal of medicinal chemistry*, 2015, 97: 747-777.
- [20] HATVANI N, KREDICS L, ANTAL Z, et al. Changes in activity of extracellular enzymes in dual cultures of *Lentinula edodes* and mycoparasitic *Trichoderma* strains [J]. *Journal of applied microbiology*, 2002, 92(3): 415-423.
- [21] CATALANO V, VERGARA M, HAUZENBERGER J R, et al. Use of a non-homologous end-joining-deficient strain (Δ ku70) of the biocontrol fungus *Trichoderma virens* to investigate the function of the lacase gene *lcc1* in sclerotia degradation [J]. *Current Genetics*, 2011, 57(1): 13-23.
- [22] DRUZHININA I S, SEIDL-SEIBOTH V, HERRERA-ESTRELLA A, et al. *Trichoderma*: the genomics of opportunistic success [J]. *Nature reviews microbiology*, 2011, 9(10): 749-759.
- [23] CHAMOUN R, ALIFERIS K A, JABAJI S. Identification of signatory secondary metabolites during mycoparasitism of *Rhizoctonia solani* by *Stachybotrys elegans* [J]. *Frontiers in microbiology*, 2015, 6: 353.

[24] HOLZLECHNER M, REITSCHMIDT S, GRUBER S, et al. Visualizing fungal metabolites during mycoparasitic interaction by MALDI mass spectrometry imaging [J].Proteomics,2016, 16;11-12.

[25] NETZKER T, FISCHER J, WEBER J, et al. Microbial commu-

nication leading to the activation of silent fungal secondary metabolite gene clusters [J].Frontiers in microbiology,2015, 6; 299.

[26] KUHLSCH C, POHNERT G. Metabolomics in chemical ecology [J].Natural product reports,2015, 32(7);937-955.

Metabolic profile of *Coniothyrium minitans*
co-cultured with *Sclerotinia sclerotiorum*

HE Zhen^{1,2} HU Xianwen¹ FU Yanping² JIANG Daohong²

1.College of Science, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China ;
2.The Provincial Key Laboratory of Plant Pathology of Hubei Province ,
College of Plant Science and Technology ,
Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China

Abstract LC-MS based metabolomics analysis was used to explore metabolic profile of *Coniothyrium minitans* co-culture with its host fungus *Sclerotinia sclerotiorum*.The results showed that co-culture could significantly influence fungal metabolic profile. Three metabolites, namely Macrosphelide A, Benzenediol, and 5-Aminopentanoate, were identified in *C. minitans* specific metabolites database and the largest metabolites accumulation was detected at 2 d of co-culture. This approach allowed the investigation of metabolic patterns in mycoparasitism and indicated that mycoparasitism could induce metabolites communication and secondary metabolites accumulation.

Keywords *Coniothyrium minitans*; *Sclerotinia sclerotiorum*; mycoparasitism; co-culture; metabolomics

(责任编辑:边书京)