

# Biocontrol Activity of Three Endolichenic Fungi from *Peltigera*

Fan Liu<sup>1\*</sup>, Jingyuan Yang<sup>2\*</sup>, Liufu Han<sup>1#</sup>, Shouyu Guo<sup>3#</sup>

<sup>1</sup>College of Life Science, Hebei Normal University, Shijiazhuang Hebei

<sup>2</sup>Shennongjia National Nature Reserve Administration, Shennongjia Hubei

<sup>3</sup>State Key Laboratory of Mycology, Institute of Microbiology, CAS, Beijing

Email: <sup>#</sup>guosy@im.ac.cn, <sup>#</sup>hanlf@hbnu.edu.cn

Received: Nov. 13<sup>th</sup>, 2017; accepted: Nov. 27<sup>th</sup>, 2017; published: Dec. 4<sup>th</sup>, 2017

---

## Abstract

Three strains of endolichenic fungi identified as *Creosphaeria sassafras*, *Annulohypoxyton multi-forme* and *Penicillium vulpinum*, were isolated from samples of *Peltigera* species collected from Shennongjia forest region in Central China. The anti-pathogenic microorganism activities of them were assessed by the methods of culturing with their fermentation broth and plate confrontation co-culture against four pathogenic fungi. The results showed that some strains had more obvious inhibitory effect than positive control strain *Chaetomium globosum*. We conclude that some endolichenic fungi have the potential for use in developing a novel therapy to control plant disease and saprolegniasis.

## Keywords

Endolichenic Fungi, Fermentation Broth, Inhibition Rate, Biocontrol Activity, Saprolegniasis

---

# 三株地卷地衣内生真菌的生防活性

刘帆<sup>1\*</sup>, 杨敬元<sup>2\*</sup>, 韩留福<sup>1#</sup>, 郭守玉<sup>3#</sup>

<sup>1</sup>河北师范大学生命科学学院, 河北 石家庄

<sup>2</sup>湖北神农架国家级自然保护区管理局, 湖北 神农架

<sup>3</sup>中国科学院微生物研究所真菌学国家重点实验室, 北京

Email: <sup>#</sup>guosy@im.ac.cn, <sup>#</sup>hanlf@hbnu.edu.cn

收稿日期: 2017年11月13日; 录用日期: 2017年11月27日; 发布日期: 2017年12月4日

---

\*共同第一作者。

#通讯作者。

## 摘要

检测地卷地衣内生真菌的生防活性。从湖北神农架地卷属地衣中分离获得3株对4种植物病原真菌和水霉病原卵菌拮抗性好的抑制率高的优势生防菌株, 分别为*Creosphaeria sassafras*, *Annulohyphoxylon multifforme*和*Penicillium vulpinum*; 通过液体发酵液及拮抗试验检测了3株地衣内生真菌的生防潜力。结果显示其对病原菌的抑制作用优于常用的生防菌球毛壳菌, 在与植物病原真菌的营养竞争过程中占有一定优势。地衣内生真菌可用于植物病害和水霉病的防治。

## 关键词

地衣内生真菌, 发酵液, 抑制率, 生防活性, 水霉病

Copyright © 2017 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

地衣是真菌(地衣中称为 mycobiont, 真菌生物体)与绿藻和/或蓝藻(地衣中称为 photobiont, 光合生物体)在漫长的进化过程中形成的稳定的共生联合体[1]。已发现的最早地衣化石在苏格兰 4 亿多年前泥盆纪的燧石中[2], 而在中国贵州瓮安发现的象地衣(lichen-like)的化石则更早, 约为 6 亿年前[3]。在地衣中, 除了占主体地位的共生真菌和光合作用的共生藻类, 还存在许多内生的微生物, 其中的真菌称之为地衣内生真菌(endolichenic fungi, ELF)。目前已发现的地衣近 2 万种, 而据估计其内生真菌可超过 10 万种[1] [4]。大多数的 ELF 属于子囊菌门中的盘菌亚门(Pezizomycotina), 主要分布在粪壳菌纲(Sordariomycetes)、散囊菌纲(Eurotiomycetes)和座囊菌纲(Dothideomycetes)中[5] [6]。

来源于真菌的抗生素和其他药物在世界各地已经使用了几十年, 拯救了无数的生命。1928 年发现的青霉素, 是第一个源于真菌的抗菌化合物, 其发现加速了真菌类微生物的药物开发[7]。近十年来, 地衣内生真菌因其能产生独特的次级代谢产物受到越来越多的关注[5] [6] [7]。作为丰富天然产物宝库, 地衣内生真菌和其宿主地衣一道已成为有机化学和生物医学领域共同关注的生物资源, 目前从近 30 种地衣内生真菌已有超过 145 个新的代谢产物, 包括甾体类、醌类、萜类化合物等被发现[7] [8] [9]。在地衣内生真菌作为潜在药物及重要生物活性物质资源被不断发掘的同时, 其生防作用也逐渐被关注[10], 其中地卷属中的地衣内生真菌因其研究较为系统而得到特别重视[11] [12]。

本文对分离自湖北神农架地卷属地衣中的重要内生真菌菌株的生防活性进行初步研究; 试验了 3 株地衣内生真菌对 2 种植物病害病原真菌及 2 种水霉病害病原卵菌的抑制作用, 以期对植物病害及水霉病害防治提供新的途径, 旨在为地衣内生真菌资源的开发及利用提供科学参考。

## 2. 材料与方法

### 2.1. 供试菌株

供试地卷属地衣内生真菌菌株 *Creosphaeria sassafras* (GHL-LF2016R1), *Annulohyphoxylon multifforme* (GHL-LF2016R2)和 *Penicillium vulpinum* (GHL-LF2016R3), 均分离自湖北神农架大龙潭地卷属地衣中,

具体分离方法参照 Li 等[9]和范莉莉等[10]的文献。供试病原菌为引起植物病害的腐皮镰刀菌(*Fusarium solani*)和黄瓜萎蔫病菌(*Plectosphaerella cucumerina*); 及引起水霉病的两性绵霉(*Achlya bisexualis*)和一种腐霉(*Pythium capillosum*)。上述菌株均由中国科学院微生物研究和河北师范大学的地衣研究组共同保存和提供。阳性对照生防菌球毛壳菌(*Chaetomium globosum* strain 6, CGS6)由河北师范大学地衣研究组提供。

## 2.2. 供试培养基

PDA 培养基: 马铃薯 200 g、葡萄糖 20 g、琼脂 20 g、蒸馏水定容至 1000 mL。PDB 培养基: PDA 培养基中不添加琼脂。

## 2.3. 地衣内生真菌及病原真菌菌株的活化

将从湖北神农架林区采集的地卷属地衣中分离获得的 3 株地衣内生真菌及供试的 4 株病原菌及阳性对照球毛壳菌菌株 CGS6 接种于 PDA 斜面培养基上, 25°C 培养, 长满斜面后转接, 经过 3 次转接活化。

## 2.4. 液体发酵培养及发酵液制备

在 250 mL 三角瓶中加入 125 mL PDB 培养基, 封口膜封口, 常规高压灭菌(121°C 20 min)。静置冷却后, 用解剖刀和接种针从活化的地衣内生真菌挑取 0.5 cm × 0.5 cm 的菌丝块 5 个接种于三角瓶的培养基中, 25°C 下 180~200 r/min 的摇床上振荡培养 15 d。每种地衣内生真菌接种 4 瓶。发酵培养终止, 离心, 用四层无菌纱布过滤发酵产物, 同种的滤液合并浓缩至 100 mL, 置于 4°C 冰箱中保存备用。

## 2.5. 地衣内生真菌发酵液抑制病原真菌的活性测定

取制备好的地衣内生真菌发酵浓缩液 2 mL, 加入 18 mL 预融化的 PDA 培养基中, 混匀, 制成含发酵液的培养基。待培养基在 9 cm 的平板中凝固后, 在中央接入供试病原真菌的菌块(0.5 cm × 0.5 cm), 使带有菌丝的一面贴在培养基表面, 每个处理设 3 次重复。以未添加地衣内生真菌发酵浓缩液的培养基接种病原真菌为对照, 25°C 培养 7 d。

通过十字交叉法测量供试病原真菌的菌落直径, 按公式: 抑制率(%) = (对照病原真菌菌落直径 - 处理的病原真菌菌落直径)/对照病原真菌菌落直径 × 100% 计算地衣内生真菌发酵液对病原真菌的抑制率。

## 2.6. 菌株对峙培养及竞争作用的测定

将 3 株地衣内生真菌分别和 2 株可引起植物病害的供试病原真菌进行对峙培养, 先将地衣内生真菌和植物病原真菌分别在直径 9 cm 的 PDA 培养基上培养 5 d, 用直径 0.5 cm 的打孔器取其菌饼置于平板两侧, 两菌饼相距 5 cm, 25°C 恒温箱静置培养。观察并记录对峙生长情况, 以单独接病原真菌为阴性对照, 生防菌球毛壳菌菌株 CGS6 为阳性对照, 设置 5 个重复。培养 5 d 后, 测量病原真菌菌落直径, 观察地衣内生真菌对植物病原真菌菌落的抑制情况, 并按 2.5 节中所列公式计算抑菌率。

## 2.7. 数据统计与分析

试验数据采用 Excel 列表, 通过 SPSS 19.0 软件进行作图和采用单因素方差分析检验(ANOVA-LSD 法)地衣内生真菌菌株抗病原菌活性之间的差异显著性水平( $P < 0.005$ )。

# 3. 结果与分析

## 3.1. 三株地卷属地衣内生真菌的培养特征和系统位置

供试 3 株地衣内生真菌均分离自湖北神农架大龙潭的地卷属地衣(表 1), 其培养特征描述如下。各菌

株与相近类群基于真菌首选 DNA 条形码 ITS 序列的系统发育树见图 1。各菌株的形态及培养特征与分子鉴定结果一致。

***Creosphaeria sassafras*** (Schwein.) Y. M. Ju, F. San Martín & J. D. Rogers, *Mycotaxon* 47: 223 (1993)

菌株 GHL-LF2016R1 在 9 cm 平板 PDA 培养基上, 25°C 培养 7 d 直径可达 7.5 cm, 菌落初期白色, 后期铁灰色、棕褐色至褐色, 菌落平展, 弥散, 边缘不规则。菌丝埋生或表生, 分枝, 具隔, 淡褐色; 分生孢子梗具分枝, 有隔。分生孢子长椭圆形或近纺锤形, 单胞, 无隔; 7.0~10.0 × 3.5~7.5 μm。

***Annulohypoxyton multiforme*** (Fr.) Y. M. Ju, J. D. Rogers & H. M. Hsieh, *Mycologia* 97(4): 859 (2005)

菌株 GHL-LF2016R2 在 9 cm 平板 PDA 培养基上, 25°C 培养 7 d 直径可达 5.5 cm, 菌落初期白色, 后棕褐色至黄褐色, 羊毛状, 无环纹, 不成带, 边缘弥散不规则, 零散分布黑色小块; 平板背面暗绿色。产孢结构粗糙, 黄色至浅棕色; 产孢细胞透明, 光滑, 10.0~20.0 × 2.5~3.0 μm; 分生孢子透明, 椭球形, 3.5~6.5 × 2.5~3.0 μm。

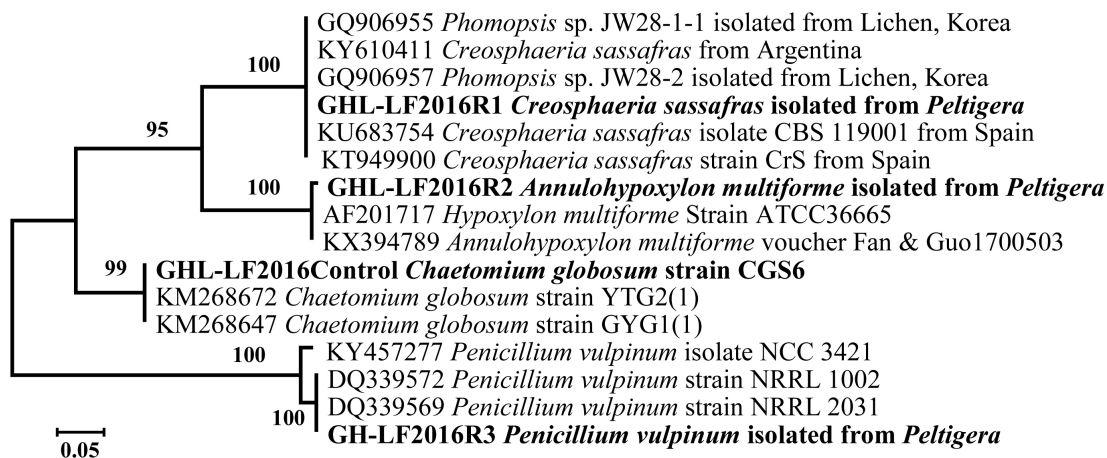
***Penicillium vulpinum*** (Cooke & Masee) Seifert & Samson, in Samson & Pitt (eds), *Advances in Penicillium and Aspergillus Systematics* (New York): 144 (1986) [1985]

菌株 GHL-LF2016R3 在 9 cm 平板 PDA 培养基上, 25°C 培养 9 d 直径可达 4.5 cm, 表面菌丝体白色, 形成菌丝束, 菌丝束基部深棕色, 排列成环形带, 具透明渗出液, 培养基背面黄棕色; 有特殊气味; 产生不规则帚状枝, 每轮 2~4 个梗基, 棒状, 9.0~12.0 × 2.0~3.0 μm, 瓶梗细长, 圆柱状, 每轮 3~5 个, 9.0~12.5 × 2.0~2.5 μm; 分生孢子椭圆形或近球形, 浅蓝绿色至蓝绿色, 胞壁光滑, 3.5~4.5 × 3.0~3.5 μm。

**Table 1.** Systematic positions of 3 endolichenic fungi isolated from *Peltigera*

**表 1.** 三株地卷属地衣内生真菌的系统位置

Strain/菌株编号	Name/名称	Class/纲	Order/目	Family/科	Host and Locality/宿主及产地
GHL-LF2016R1	<i>Creosphaeria sassafras</i>	Sordariomycetes	Xylariales	Xylariaceae	<i>Peltigera rufescens</i> , Dalongtan, Shennongjia
GHL-LF2016R2	<i>Annulohypoxyton multiforme</i>	Sordariomycetes	Xylariales	Xylariaceae	<i>Peltigera canina</i> , Dalongtan, Shennongjia
GHL-LF2016R3	<i>Penicillium vulpinum</i>	Eurotiomycetes	Eurotiales	Trichocomaceae	<i>Peltigera leucophlebia</i> , Dalongtan, Shennongjia



**Figure 1.** The phylogenetic tree of the endolichenic fungal strains based on ITS sequence

**图 1.** 基于 ITS 序列的地衣内生真菌的系统发育树



### 3.2. 地衣内生真菌发酵液对病原真菌的抑制效果

*Annulohyphoxylon multiforme* 的发酵液对水霉病病原卵菌两性绵霉的抑制作用较强, 平均抑制率超过 70%; *Creosphaeria sassafras* 的发酵液对黄瓜萎蔫病菌(78.3%)和两性绵霉(50.4%)的抑制作用较为明显; *Penicillium vulpinum* 的发酵液对 4 种供试病原菌均具有较强的抑制活性, 尤其对两性绵霉达到 81.3%。在对植物病原菌黄瓜萎蔫病菌和腐皮镰刀菌的抑制作用中, 均有 2 株地衣内生真菌优于对照的球毛壳菌, 而在对引起水霉病的两性绵霉的抑制作用中, 3 株地衣内生真菌均优于对照的球毛壳菌; 但是所有菌株对腐霉的抑制作用均不明显(图 2)。

### 3.3. 地衣内生真菌与植物病原真菌的营养竞争关系

根据 3 株地衣内生真菌和 2 株植物病原真菌对峙培养后第 5 d 测定的抑制率可以看出(表 2), *Creosphaeria sassafras* 和 *Penicillium vulpinum* 分别对黄瓜萎蔫病菌、腐皮镰刀菌有较好的抑制作用, 其抑制率菌均超过 60%, 表现出较好的竞争优势; 而 *Annulohyphoxylon multiforme* 及 *Penicillium vulpinum* 分别对黄瓜萎蔫病菌、腐皮镰刀菌的抑制作用也优于对照生防菌球毛壳菌。这些地衣内生真菌在与植物病原真菌的营养竞争过程中占有一定优势, 其抑制作用与发酵培养液的效果一致。

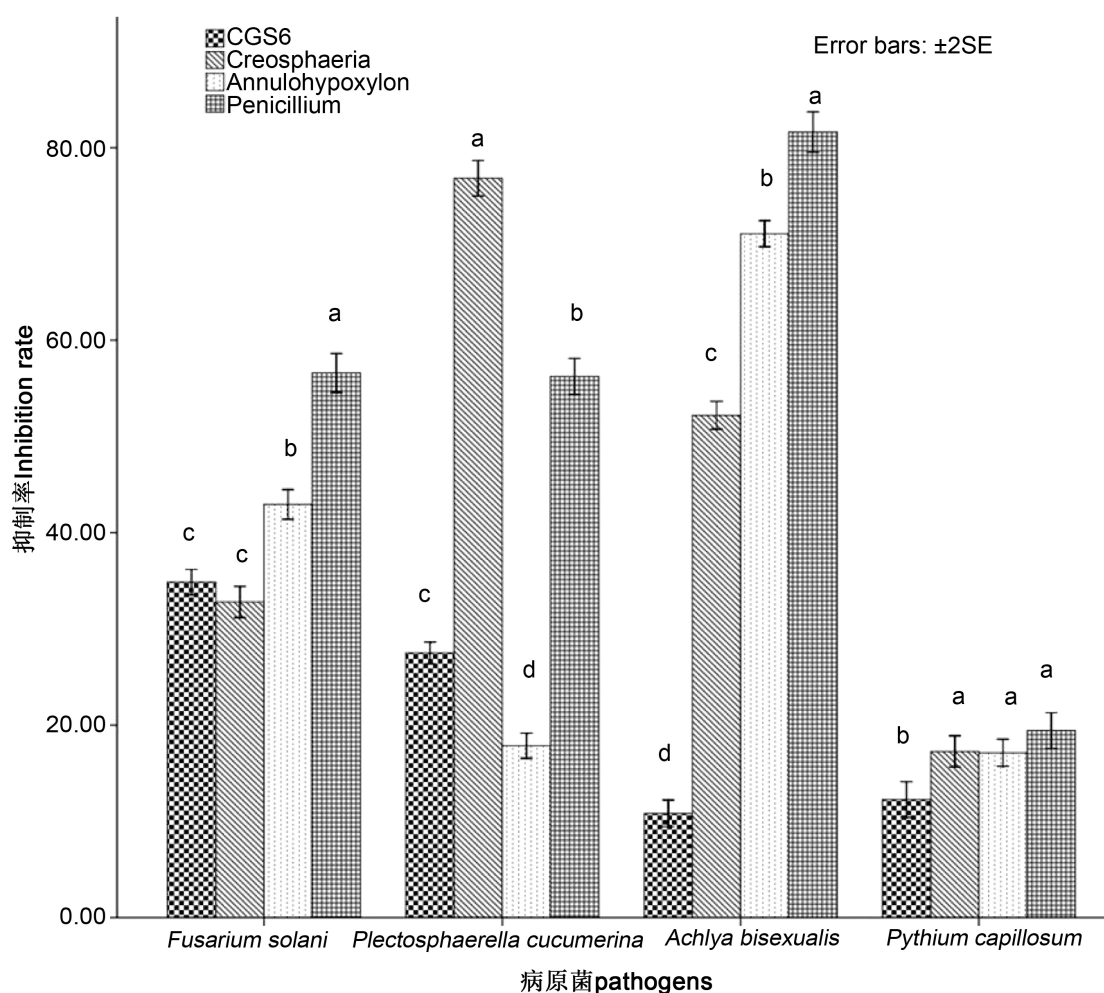


Figure 2. The inhibition rate of the endolichenic fungi against pathogens  
图 2. 地衣内生真菌对病原菌的抑制率

**Table 2.** The inhibition rate (%) of 3 endolichenic fungi from *Peltigera* against 2 pathogens  
**表 2.** 对峙培养中 3 株地卷地衣内生真菌对 2 种植物病原真菌的抑制率(%)

Endolichenic fungi/地衣内生真菌	<i>Fusarium solani</i> /腐皮镰刀菌	<i>Plectosphaerella cucumerina</i> /黄瓜萎蔫病菌
<i>Creosphaeria sassafras</i>	42.22 ± 1.68 <sup>d</sup>	81.98 ± 3.97 <sup>a</sup>
<i>Annulohypoxylon multiforme</i>	54.16 ± 2.29 <sup>b</sup>	30.10 ± 1.95 <sup>d</sup>
<i>Penicillium vulpinum</i>	62.48 ± 1.99 <sup>a</sup>	58.40 ± 1.52 <sup>b</sup>
CK: <i>Chaetomium globosum</i> strain 6* (球毛壳)	46.70 ± 2.06 <sup>c</sup>	37.78 ± 1.99 <sup>c</sup>

Note: Data were the mean ± SD. The lowercase letters in the same column indicated significant difference at 0.005 level. The control strain *Chaetomium globosum* marked with \*. 注: 表中各数据为平均值±标准差, 同列数据后不同小写英文字母表示在 0.005 水平上差异显著。标有\*号的菌株为对照球毛壳菌。

## 4. 讨论

目前, 农业生产和水产养殖上通常超量使用化学药剂防治病害, 其效果明显, 但后果也很严重, 产生了一系列问题, 如污染环境、农药残留和产生抗药性等。生物防治是用合适的微生物代替化学药剂通过生物之间的相互作用来抑制病原菌的生长及繁殖, 从而达到有效控制的效果。这种方法绿色环保、人畜无害、循环性强, 可以减少化学防治带来的污染问题, 符合当前我国农业和环境可持续发展的迫切需求[13]。

在神农架地卷属地衣中分离的 850 余株内生真菌中, 挑选 30 株对引起植物病害和水霉病害的病原菌进行生防活性研究, 初选出 12 株内生真菌至少对 1 种病原菌表现出一定水平的抑制作用(抑制率 > 30%)。本文报道其中 3 株抑制作用较强的, 至少对其中 1 种病原菌的抑制率大于 50%。范莉莉等[10]报道从扁枝衣(*Evernia mesomorpha*)中分离的地衣内生真菌 FF-6 菌株(与 *Xylaria frustulosa* 相近), 对黄瓜萎蔫病菌有较好的抑制作用, 我们从地卷中分离的内生真菌对植物病原菌的抑制作用, 1 株与其相当, 2 株较其更优。在研究中, 对于数据的统计分析, 我们将统计显著性的默认 P 值阈限设置为 0.005。我们认同对于新现象的探索研究中, 如果 P 值在 0.005 到 0.05 之间, 则应该使用“启示性(suggestive)”来标示; 如果 P 值小于 0.005, 才能使用统计显著[14], 以避免出现假阳性, 进而得出误导性结论。

内生真菌是一个多样性丰富的生物类群, 在生物防治方面有着重要的开发利用价值。其中毛壳菌属的种类, 特别是球毛壳菌对多种植物病原菌有很好的抑制作用[15] [16] [17] [18] [19]。我们获得的地衣内生真菌较一般的毛壳菌对植物病原菌的抑制作用更强, 但与优良菌株的比较尚待进一步试验。对于水产养殖中水霉病的防治, 自从孔雀石绿被禁用以来, 试验了多种试剂及其组合, 尚无特别有效的方法[20] [21]。地衣中的松萝酸及一些地衣提取物被用来抑制水霉病相关病原卵菌的研究[20] [21], 有一定的作用, 但效果不显著, 生产上可行性小。使用地衣内生真菌发酵液效果较好, 有望开拓控制水霉病防治的新途径。

近来, 有研究显示, 生防菌剂的复配效果比单一生防菌剂的生防效果要好, 生防菌可以不同种类间复配, 也可以与次生代谢产物复配, 提高生防的效果和稳定性[13]。因此, 对来自地衣内生真菌的生防菌株菌剂复配的研究将有可能成为今后探索其生防活性的一个新方向。

## 致 谢

感谢湖北省神农架国家级自然保护区管理局科研所相关人员在野外采样时提供帮助。

## 基金项目

国家科技支撑计划项目(2013BAD03B03)和湖北省重点实验室开放基金(2012snjAB001)资助。

## 参考文献 (References)

- [1] Lutizoni, F. and Miądlkowska, J. (2009) Lichens. *Current Biology*, **19**, R502-R503.

- <https://doi.org/10.1016/j.cub.2009.04.034>
- [2] Taylor, T.N., Hass, H., Remy, W. and Kerp, H. (1995) The Oldest Fossil Lichen. *Nature*, **378**, 244. <https://doi.org/10.1038/378244a0>
- [3] Yuan, X.L., Xiao, S.H. and Taylor, T.N. (2005) Lichen-Like Symbiosis 600 Million Years Ago. *Science*, **308**, 1017-1020. <https://doi.org/10.1126/science.1111347>
- [4] Divakar, P.K., Crespo, A., Wedin, M., *et al.* (2015) Evolution of Complex Symbiotic Relationships in a Morphologically Derived Family of Lichen-Forming Fungi. *New Phytologist*, **208**, 1217-1226. <https://doi.org/10.1111/nph.13553>
- [5] Kellogg, J.J. and Raja, H.A. (2017) Endolichenic Fungi: A New Source of Rich Bioactive Secondary Metabolites on the Horizon. *Phytochemistry Reviews*, **16**, 271-293.
- [6] U'Ren, J.M., Lutzoni, F., Miądlikowska, J. and Arnold, A.E. (2010) Community Analysis Reveals Close Affinities between Endophytic and Endolichenic Fungi in Mosses and Lichens. *Microbial Ecology*, **60**, 340-353. <https://doi.org/10.1007/s00248-010-9698-2>
- [7] Singh, B.N., Upreti, D.K., Gupta, V.K., Dai, X.F. and Jiang, Y.M. (2017) Endolichenic Fungi: A Hidden Reservoir of Next Generation Biopharmaceuticals. *Trends in Biotechnology*, **35**, 808-813. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2017.03.003>
- [8] Nisa, H., Kamili, A.N., Nawchoo, I.A., *et al.* (2015) Fungal Endophytes as Prolific Source of Phytochemicals and Other Bioactive Natural Products: A Review. *Microbial Pathogenesis*, **82**, 50-59. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2015.04.001>
- [9] Li, W.C., Zhou, J., Guo, S.Y. and Guo, L.D. (2007) Endophytic Fungi Associated with Lichens in Baihua Mountain of Beijing, China. *Fungal Diversity*, **25**, 69-80.
- [10] 范莉莉, 刘伟, 郭守玉, 等. 六株扁枝衣内生真菌的抗病原真菌活性[J]. 北方园艺, 2017(6): 117-122.
- [11] U'Ren, J.M., Riddle, J.M., Monacell, J.T., Carbone, I., Miądlikowska, J. and Arnold, A.E. (2014) Tissue Storage and Primer Selection Influence Pyrosequencing-Based Inferences of Diversity and Community Composition of Endolichenic and Endophytic Fungi. *Molecular Ecology Resources*, **14**, 1032-1048. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12252>
- [12] Arnold, A.E., Mejía, L.C., Kyllö, D., Rojas, E.I., Maynard, Z., Robbins, N. and Herre, E.A. (2003) Fungal Endophytes Limit Pathogen Damage in a Tropical Tree. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **100**, 15649-15654. <https://doi.org/10.1073/pnas.2533483100>
- [13] 陈嘉敏, 管维轩, 朱洁倩, 等. 植物病害生防菌株的研究进展[J]. 微生物前沿, 2017, 6(2): 35-43. <https://doi.org/10.12677/AMB.2017.62005>
- [14] Benjamin, D.J., Berger, J.O., Johannesson, M., *et al.* (2017) Redefine Statistical Significance. *Nature Human Behaviour*. <https://doi.org/10.1038/s41562-017-0189-z>
- [15] Istifadah, N. and McGee, P.A. (2006) Endophytic *Chaetomium globosum* Reduces Development of Tan Spot in Wheat Caused by *Pyrenophora tritici-repentis*. *Australasian Plant Pathology*, **35**, 411-418. <https://doi.org/10.1071/AP06038>
- [16] Shanthiyaa, V., Saravanakumar, D., Rajendran, L., *et al.* (2013) Use of *Chaetomium globosum* for Biocontrol of Potato Late Blight Disease. *Crop Protection*, **52**, 33-38. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2013.05.006>
- [17] Li, H.Q., Li, X.J., Wang, Y.L., *et al.* (2011) Antifungal Metabolites from *Chaetomium globosum*, an Endophytic Fungus in *Ginkgo biloba*. *Biochemical Systematics and Ecology*, **39**, 876-879. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2011.06.019>
- [18] Soyong, K., Kanokmedhakul, S., Kukongviriyapa, V., *et al.* (2001) Application of *Chaetomium* Species (Ketomium®) as a New Broad Spectrum Biological Fungicide for Plant Disease Control: A Review Article. *Fungal Diversity*, **7**, 1-15.
- [19] 许秀兰, 黄晓丽, 张翅, 等. 云杉内生优势毛壳菌的筛选及其生防机制研究[J]. 中国生物防治学报, 2014, 30(4): 511-519.
- [20] 王立宝, 刘文霞, 左万星, 等. 松萝酸对3种水霉病致病菌的抑制作用[J]. 河北师范大学学报(自然科学版), 2017, 41(4): 354-357.
- [21] Guo, S.Y., Liu, W.X., Han, L.F. and Chen, J.Z. (2017) Antifungal Activity of Lichen Extracts and Usnic Acid for Controlling the Saprolegniasis. *International Journal of Environmental & Agriculture Research*, **3**, 43-47. <https://doi.org/10.25125/agriculture-journal-IJOEAR-APR-2017-35>

**知网检索的两种方式：**

1. 打开知网页面 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>  
下拉列表框选择：[ISSN]，输入期刊 ISSN：2327-0810，即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>  
左侧“国际文献总库”进入，输入文章标题，即可查询

投稿请点击：<http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱：[amb@hanspub.org](mailto:amb@hanspub.org)