

# Penicillium sp. K-82 균주로부터 신항균성물질 개발

백수봉\* · 임용호\*\* · 심성철\*\*\* · 김은영\*\*\*

(\*건국대학교 식량자원학과 교수 · \*\*건국대학교 응용생물화학학과 교수 ·

\*\*\*건국대학교 식량자원학과 대학원생)

## Development of New Antibiotics from Penicillium sp. K-82

Su-Bong Paik\* · Yoong-Ho Lim\*\* · Sung-Chur Sim\*\*\* · Eun-Young Kim\*\*\*

Coll. of Agri. & Life Sciences, Kon-Kuk Univ., Seoul, 143-701, Korea.

### 적 요

토양에서 분리한 *Penicillium* spp. 중에서 잔디병 Brown patch(*Rhizoctonia solani* AG 1-1)과 Large patch(*Rhizoctonia solani* AG 2-2)에 강한 항균활성을 나타내는 균주를 선발하여 이것이 분비하는 항균활성 물질을 분리, 동정하였다.

공시된 541균주 중에서 항균활성이 강한 *Penicillium* sp. K-82 균주가 선발되었고 포장에서 Brown patch병은 66.6%, Large patch 병은 70.3%의 방제효과를 나타냈다.

TLC, MS, NMR 분석을 통한 항균활성물질은 분자량이 278로 추정되며 monosaccharide를 포함하고 ethyl group을 1개 갖고 있는 물질로 확인되었고 지금까지 *Penicillium*이 생산하는 항생물질과는 다른 형태의 것으로 추정된다.

### I. 서론

토양전염성병 방제를 위하여 유기합성농약을 계속 사용함으로써 환경오염, 저항성출현, 인축독성 등의 많은 문제가 제기되고 있어 무공해 및 무독성 농약 개발이 불가피하게 되었고 특히 천연물농약은 그 합성성분 자체 뿐 아니라 그 골격을 이용한 새로운 합성 농약을 만들 수 있기 때문에 이 분야에 대한 연구는 활발히 진행되고 있는 실정이다. 지금까지 식물병 방제를 위한 길항 미생물로는 *Trichoderma* spp.<sup>1,2,43</sup>, *Pseudomonas* spp.<sup>7,24,25,28,31,32,42</sup>, *Gliocladium* spp.<sup>1,17,43</sup>, *Bacillus* spp.<sup>3,12,22,28,34,35,47,48,49,51,57</sup>, *Erwinia* sp.<sup>23</sup>, *Chaetominum* sp.<sup>10</sup>. 등에 대한 연구가 있으며 이들이 생산하

는 항진균성 물질로는 *Bacillus subtilis*가 생산하는 iturin계 물질<sup>45,11,18,21,41,61</sup>, 또는 bacillomycin D, F, L 물질<sup>45,46,56</sup>이 밝혀졌으며 *Pseudomonas fluorescens*는 penazine-1-carboxylic acid<sup>13,30,59</sup>, HCN<sup>60</sup>, siderophore<sup>20,54</sup>, *P. aeruginosa*의 어떤 균주도 penazine-1-carboxylic acid<sup>26</sup> 또는 siderophore<sup>14, 54</sup>를 생성한다.

최근 *P. cepacia* 균주는 pyrrolnitrin, aminopyrrolnitrin, 2-chloro- aminopyrrolnitrin<sup>15,16,19,36,50</sup> 등과 pseucanes<sup>15,16</sup> xylocandin A, B, C D<sup>8,37</sup> cepacidine A<sup>27,29,33,53</sup>를 생성하는 것으로 보고되었고 *Aspergillus* 속균은 aculacin A<sup>38, 39,44</sup>와 echinocandin B<sup>52,58</sup>, mulundocandin<sup>40</sup>, plusbacins<sup>55,56</sup> 등을 생산한다는 연구보고도 있으나 항균성물질을 분비하는 *Penicillium* sp.에 대한 연구는 거의 이루어지지 않고 있다.

본 연구에서는 천연물에서 유래한 새로운 항균성 물질을 탐색하기 위하여 토양으로부터 *Rhizoctonia solani*에 강한 생육저해 활성을 나타내는 *Penicillium* sp. 균주를 분리하게 되어 이것이 분비하는 항균성물질을 분리 동정하여 천연물 농약개발의 가능성을 검토하고자 한다.

## II. 재료 및 방법

### 1. *Penicillium* 균의 분리 및 활성균주의 선발

KIST부설 유전공학연구소의 미생물 탐색실에서 전국의 토양으로부터 수집한 곰팡이 541균주를 분양받아 potato dextrose agar(PDA)배지에서 *Penicillium* spp.를 위주로 순수 분리하였다.

활성균주의 선발은 1차선발에서는 대치배양, 2차선발은 액체배양액처리 및 습지원판법에 의하여 실시하였다.

1차선발에서 대치배양은 PDA에서 28°C로 3일간 배양한 *Penicillium* sp. 균주와 별도로 PDA에서 28°C로 7일간 배양한 *Rhizoctonia solani* (AG 1-1, AG 2-2)균주의 균총을 직경 5mm의 cork borer로 punching한 후 PDA plate에 20mm거리로 대치하게 접종하여 28°C에서 72시간 배양하여 병원균 균사의 억제력을 조사하여 4균주를 선발하였다. 2차 선발은 potato dextrose broth(PDB) 100ml들어 있는 250ml flask에 선발된 4개 균주를 접종하여 28°C의 shaking incubator에서 150rpm으로 7일 동안 배양하고 배양액을 여과지(whatman No.2)로 여과한 것을 감압농축하여 살균수 10ml로 희석한 추출액을 PDA와 9:1로 혼합하고 멸균하여 petri dish에 분주하였다. 여기에 7일간 배양한 병원균의 균총을 5mm cork borer로 punching하여 접종하고 72시간 후에 균총의 직경을 조사하여 억제력을 조사하여 강력한 항균활성을 나타내는 1균주를 선발하였다. 그리고 습지원판법으로 선발된 1균주를 PDB 배지에서 7일동안 150rpm, 28°C에서 배양한후, 여과지(whatman No.2)로 여과한 배양액을 ethyl acetate을 v/v비율로 혼합하여 분획된 2개의 층중에서 ethyl acetate층을 농축시켜 500 $\mu$ l를 직경 5mm paper disk에

처리하여 PDA plate의 중앙에 놓고 양쪽에 병원균을 대치하여 항균 활성을 조사하였다.

### 2. 방제 효과 검정

병원균은 PDA에서 7일간 배양후 귀리와 모래(1 : 10, v/v) 혼합살균배지에 접종하여 28°C에서 2주간 배양하여 접종원으로 사용하였고, 최종적으로 선발한 항균활성균주를 PDB배지에서 7일동안 150rpm, 28°C에서 진탕 배양한후, 여과지로 여과한 액을 감압농축하여 사용하였다. 사용시 10ml살균수로 희석하여 원액으로 공시하여 방제 효과시험을 실시했다. 방제효과검정을 위하여 서양잔디와 한국잔디에 5cm 구멍을 파고 5g의 접종원(*Rhizoctonia solani* AG 1-1, AG 2-2)을 넣고 비닐로 24시간 피복하여 인위적으로 발병시켰으며 준비된 공시액에 물로 100배 희석한 50ml를 발병부위에 1회 관주처리 하여 1주후에 발병직경을 조사하였다. 대조구로 지오판 수화제를 처리하였고 모든 실험은 난괴법 3반복으로 구당 면적은 50cm<sup>2</sup>로 하였다.

### 3. 항균성물질의 분리 및 동정

PDB 배지가 100ml씩 들어있는 250ml flask에 선발된 K-82 균주를 접종한 후 28°C의 shaking incubator에서 150rpm으로 7일 동안 배양하였다. 배양된 액을 여과지(whatman no.2)로 여과한 후 v/v의 비율로 ethyl acetate와 혼합 후 갈라진 두개의 층 중에서 ethyl acetate층을 감압 농축시켰다. 농축시킨 액 10ml를 TLC board(Kiesel gel 60F254, Merck)에 spot한 후 chloroform과 methanol 9:1로 섞여 있는 용매로 전개시킨 결과 10개의 band가 나타났다. 각각의 band를 긁어서 ethyl acetate로 물질을 추출하여 농축시킨 농축액 40ml를 paper disk에 묻힌 다음 PDA에서 72시간 28°C에 공시병원균과 습지원판법으로 항균력 test를 하였다. 항균력 test를 하여 가장 항균활성이 높은 10번째 band를 가지고 다시 TLC plate(전개용매는 chloroform:methanol:water=3:1:2)로 전개시켰다. 전개시킨 결과 3개의 band로 분리되었는데 이것을 가지고 대치법으로 항균력 test를 하였다. 그 결과

1번째 band가 항균활성을 나타내었다. 이 1번째 band를 가지고 MASS, NMR 등의 기기를 사용하여 구조 분석을 하였다.

### III. 결과 및 고찰

#### 1. 항균미생물의 선발

KIST부설 유전공학 연구실로부터 분양받은 541균주를 공시하여 *Rhizoctonia solani*에 대하여 항균성이 높은 14균주의 *Penicillium* spp.가 1차선발하였고 (표 1) 다시 4균주를 공시하여 2차선발 결과 항균력이 강한 K-82 균주를 얻었다(표 2, Fig. 1).

#### 2. 방제효과

서양잔디와 한국잔디에 병원균을 인위적으로 접종하여 *Penicillium* sp. K-82 배양추출액에 대한 방제효

과를 검정한 결과(표 3)에서 보는 바와 같이 대조 약제에 대해서는 다소 방제효과가 떨어지나 대조구에 비해서는 Brown patch병에 대해서는 66.6%, Large patch병에 대해서는 70.3%의 방제효과를 나타냈다.

#### 3. 항균성 물질의 분리 및 동정

*Penicillium* sp. K-82균주가 생산하는 항생물질을 분리하기 위하여 TLC에서 분리한 결과 10개의 band가 short wave에서 나타났으며(Fig. 2) 이 중에서 10번째 band가 *Rhizoctonia solani*에 대하여 항균활성을 나타냈다(Fig. 3). 이것을 계속 TLC에서 분리한 결과 다시 3개 band가 나타났고 첫번째 band에서만 저지대가 형성되었다(Fig. 4).

이 결과 첫번째 band가 항균활성이 있는 것으로 판단되었다. 이 첫번째의 구조를 1H-NMR spectrum과 2D-COSY spectrum으로부터 분석한 결과(Fig. 5, 6) 이 화합물은 당을 한 개, ethyl group을 한 개를 갖

Table 1. Inhibition of hyphal growth *Rhizoctonia solani* on the PDA medium by the isolates of *Penicillium* sp.

Isolates	<i>Rhizoctonia solani</i> AG 2-2	<i>Rhizoctonia solani</i> AG 1-1
K-93123	+++*	+
93128	++	+
93168	++	+
94015	++	+
94029	++	+
94033	+++	++
94043	++	+
94052	+++	++
94055	++	+
94058	++	+
94080	+++	+++
94082	+++	+++
94085	++	+
94087	++	+

\*Inhibition zone: +++>15mm ++> 10mm

Values are the average of three replication

**Table 2. Inhibition of hyphal growth *Rhizoctonia solani* on the PDA medium by culture liquid of screening isolates, K-94033, 94052, 94080 and 94082**

Culture liquid of screening isolates	<i>Rhizoctonia solani</i> AG 2-2		<i>Rhizoctonia solani</i> AG 1-1	
	Colony diameter(mm)	Inhibition percentage(%)	Colony diameter(mm)	Inhibition percentage(%)
K-94033	20.0	71.0	19.0	63.5
94052	24.0	65.0	20.0	61.5
94080	5.0	93.0	10.0	80.8
94082	0.0	100.0	2.7	94.8
Contro	68.0		52.0	

Values are the average of three replication

**Table 3. Control effect of the culture filtrate of *Penicillium* sp. K-82 on brown patch and large patch disease**

Agent	Brown patch		Large patch	
	Infection diameter(mm)	Control value(%)	Infection diameter(mm)	Control value(%)
Culture filtrate	9.7 b	66.6	8.5 b	70.3
Fungicide	5.0 a	82.8	4.0 a	86.0
Control	29.0 c		28.6 c	

고 있는 것으로 판단되었다. 5.1ppm에서 anomeric peak이 관찰되고 3-4ppm에서 당의 peaks가 관찰되어서 당의 존재가 확인되었고, 1.1ppm의 methyl peak과 1.2ppm의 methylene peak, 그리고 COSY에서 이 둘이 correlation하는 점으로 보아 ethyl group의 존재가 확인되었다. 또한 EI/MS로부터 이 화합물의 분자량은 278로 추정되는데(Fig. 7) 당이 차지하는 180과 ethyl group이 차지하는 29를 제외한 69에 해당되는 functional group은 현재로서는 미확인되었다.

지금까지 밝혀진 *Penicillium*균이 생산하는 항생물질의 구조와는 다른 형태의 것으로 추정되며 더 이상의 구조 분석이 곤란하였다. 이상의 결과를 종합해 보면 선발된 K-82균주는 강한 항균력이 있어 잔디 Brown patch병과 Large patch병에 방제효과를 나타내므로 미생물농약으로서 개발이 가능하다고 보나

정확한 구조가 확인되지 못하여 앞으로 더욱 계속 연구가 필요하다고 사료된다.

#### IV. 결론

천연물에서 유래한 새로운 항균성물질을 탐색하기 위하여 토양으로부터 *Rhizoctinia solani*에 강한 생육 저해 활성을 나타내는 *Penicillium* sp. 균주를 분리하여 이것이 분비하는 항균활성물질을 분리, 동정하였다.

공시된 541균주 중에서 항균활성이 강한 *Penicillium* sp. K-82균주를 선발하였고 포장에서 잔디 Brown patch병은 66.6%, Large patch병은 70.3% 방제효과를 얻었다.

TLC, MS, NMR 분석을 통한 항균활성물질은 분자량이 278로 추정되며 monosaccharide를 포함하고

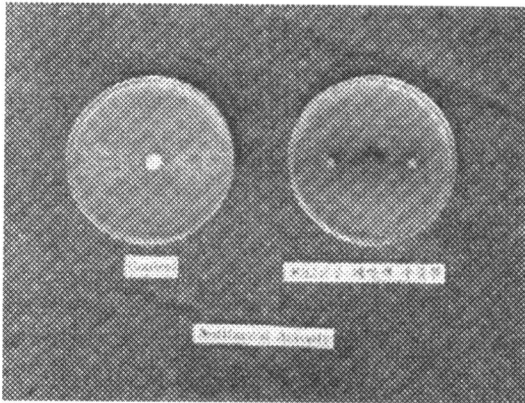


Fig. 1. Inhibition of mycelium growth of *Rhizoctonia solani* by culture of *Penicillium* sp. K-82

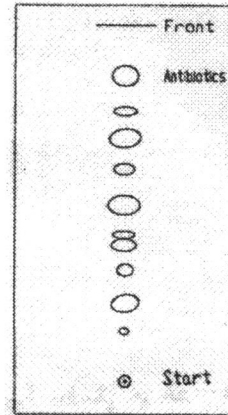


Fig. 2. Analysis of TLC

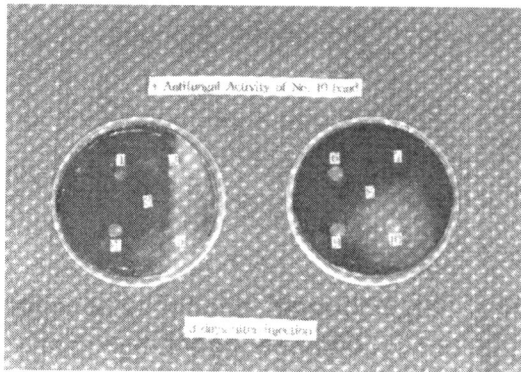


Fig. 3. Antifungal activity of No. 1~10 band by analysis of TLC

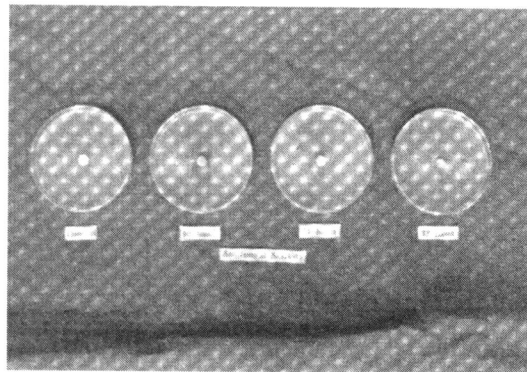


Fig. 4. Antifungal activity of No.11~13 Band by analysis of TLC

ethyl group를 1개 갖고 있는 물질로 확인되었고 지금까지 *Penicillium* 이 생산하는 항생물질과는 다른 형태의 것으로 추정되었다.

앞으로 정확한 구조 분석이 이루어지면 미생물농약으로서 개발이 가능하리라 사료된다.

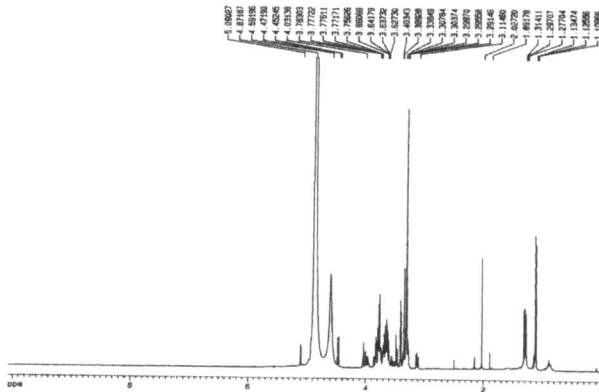


Fig. 5.  $^1\text{H-NMR}$  spectrum of antifungal substance purified from the culture filtrate of *Penicillium sp.* K-82

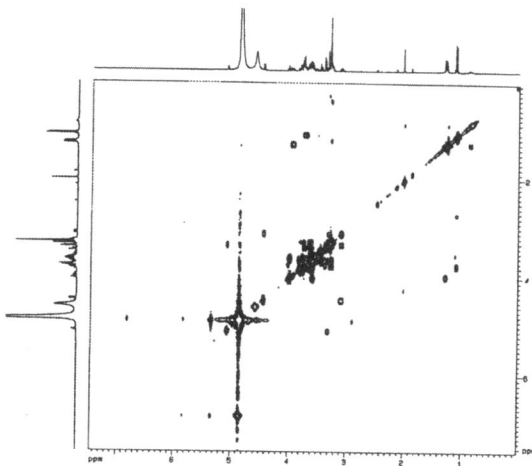


Fig. 6. 2D-COSY spectrum of antifungal substance purified from the culture filtrate of *Penicillium sp.* K-82

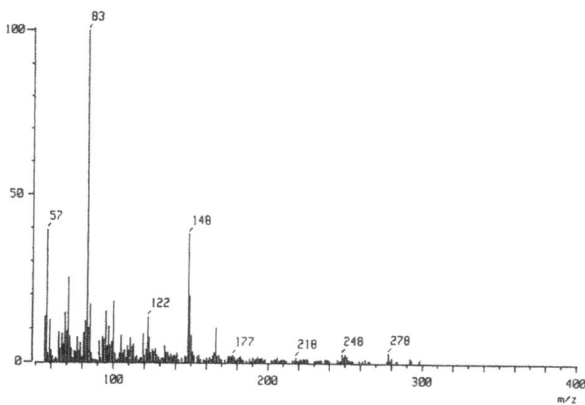


Fig. 7. MS spectrum of antifungal substance purified from the culture filtrate of *Penicillium sp.* K-82

인용문헌

- 1) Abdelwalbab, D. A. and Buchenau, G. W., 1984, Factors affecting biological control of *Phythium ultimum* on alfalfa using seed treatment with *Gliocladium virens*, *Trichoderma harzianum* and *T. hamatum*, *Phytopathology* 74, p.863.
- 2) Ahamed, J. S. and Baber, R., 1987, Rhizosphere competence of *Trichoderma harzianum*, *Phytopathology* 77, pp.182-189.
- 3) Baker, C. J., Stavely, J. R., Tomas, C. A., Myron, S. and Janet S. M., 1983, Inhibitory effect of *Bacillus subtilis* on *Uromyces phasoli* and on development of rust pustules on bean leaves, *Phytopathology* 73(8), pp.1148-1152.
- 4) Besson, F. and Michel, G., 1986, Isolation and characterization of new iturin: inturin D and iturin E, *J. Antibiotics* 40, pp.437-442.
- 5) Besson, F., Peyponx, F., Michel, G. and Delcombe, L., 1978, Identification of antibiotics of iturin group in various strains of *Bacillus subtilis*, *J. Antibiotics* 31, pp.384-388.
- 6) Besson, F. and Michel, G., 1988, Bacillomycins Fb and Fc: Isolation and characterization, *The Journal of Antibiotics* 41, pp.282-287.
- 7) Bin, L., Knudsen, G. R. and Eschen, D. J., 1991, Influence of an antagonistic strain of *Pseudomonas fluorescens* on growth and ability of *Trichoderma harzianum* to colonizesclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum* in soil, *Phytopathology* 81, pp.994-1000.
- 8) Bisacchi, G.S., Hockstein, D.R., Koster, W.H., Parker, W.L., Rathnum, M.L. and Unger, S.E., 1987, Xylocandin: a new complex of antifungal Peptides. II. Structural studies and chemical modifications, *The Journal of Antibiotics* 40, pp.1520-1529.
- 9) Chet, I. and R. Baker., 1981, Isolation and biocontrol potential of *Trichoderma hamatum* from soil naturally suppressive of *Rhizoctonia solani*, *Phytopathology* 71, pp.260-269.
- 10) Di Pietro, A and Gut-Rella, M, J. P., et al, 1992, Role of antibiotic produced by *Chaetominum globosum* in biocontrol of *Phythium ultimum*, a causal agent damping-off, *Phytopathology* 82, pp.131-135.
- 11) Eshita, S. M., Roberto, N. H., Beale, J. M., Mamiya, B. M. and Workman, R. F., 1995, Bacillomycin Lc, a new antibiotic of the iturin group: isolations, structures, and antifungal activities of the congeners, *J. Antibiot.* 48, pp. 1240-1247.
- 12) Fravel, D. R. and Spurr, H. W. Jr., 1977, Biocontrol of tobacco brown-spot disease by *Bacillus cereus* sub sp. mycoides in a controlled environment, *Phytopathology* 67, pp.930-932.
- 13) Gurusiddaian, S., Weller, D.M., Sarker, A. and Cook, R.J., 1986, Characterization of an antibiotic produced by a strain of *Pseudomonas fluorescens* inhibitory to *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* and *Pythium* spp. *Antimicrob, Agents Chemother.* 29, pp.488-495.
- 14) Hofte, M., Seong, K.Y., Jurkevitch, E. and Verstraete, W., 1991, Pyoverdine production by the plant growth beneficial *Pseudomonas* strain 7NSK2: Economic significance in soil, pp.289-297. In: Chen, Y. and Hadar, Y. Eds., Iron nutrition and interactions in plants, *Kluwer Academic Publishers*.
- 15) Homma, H. and Suzui, T., 1989, Role of antibiotic production in suppression of radish damping-off by seed bacterization, *Ann. Phytopath. Soc. Japan* 55, pp.643-652.
- 16) Homma, Y. and Sato, Z., Hirayama, F., Konno, K., Shiarhama, H. and Suzui, T., 1989, Production of antibiotics by *Pseudomonas cepacia* as an agent for biological control of soil born plant

- pathogens, *Soil Biol. Biochem.* 21, pp.723-728.
- 17) Howell, C. R., 1991, Biological control of *Pythium* damping-off of cotton with seed-coating preparation of *Gliocladium virens*, *Phytopathology* 81, pp.738-741.
  - 18) Isogai, A., Takayama, S., Muradoshi, S. and Suzuki, A., 1982, Structure of  $\beta$ -amino acids in antibiotics iturin A, *Tetrahedron Lett.* 23, pp. 3065-3068.
  - 19) Janisiewicz, W.J. and Roitman, J., 1988, Biological control of blue mold and gray mold on apple and pear with *Pseudomonas cepacia*, *Amer. Phytopathol. Soc.* 78, pp.1697-1700.
  - 20) John, Leong, 1986, Siderophores: Their biochemistry and possible role in the biocontrol of plant pathogens, *Ann. Rev., Phytopathol.* 24, pp.187-209.
  - 21) Kajimura, Y., Sugiyama, M. and Kaneda, M., 1995, Bacillopeptins, new cyclic lipopeptide antibiotics from *Bacillus subtilis* FR-2, *J. Antibiot.* 48, pp.1095-1103.
  - 22) Keith, A., Seifert, Wendy E. H., Colette, B. and Maureen, B., 1987, Evaluation of *Bacillus subtilis* C186 as a potential biological control of supstain and mould unseasoned lumber, *Canada J. Microbial.* 33, pp.1102-1107.
  - 23) Kempf, H. J. and Wolf, G., 1989, *Erwinia herbicola* as a biocontrol agent of *Fusarium culmorum* and *Puccinia recondita* f. sp. tritici on wheat, *Phytopathology.* 79, pp.990-994.
  - 24) 김범석, 황병국, 1992, 고추재배 토양에서 *Phytophthora capsici*에 길항효과가 있는 항생물질 생성세균의 분리와 항균작용, *한국식물병리학회지* 8(4), pp.241-248.
  - 25) Kim, B. S. and Byung, K. H., 1993, Production and antifungal activity of antibiotic substance produced by *Pseudomonas aeruginosa* strain B5, *Journal of Microbiology and Biotechnology* 3(1), pp.12-18.
  - 26) 김경석, 홍수형, 이은주, 박용복, 박용태, 하지홍, 1995, *Pseudomonas aeruginosa* KGM-100이 생산하는 항생물질의 특성 및 구조, *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 23, pp.98-103.
  - 27) 김성호, 현봉철, 서정우, 김창완, 연창석, 이덕근, 김광표, 정재경, 임용호, 이철훈, 1993, 신규 항균 물질 AF-011A의 동정, 정제 및 물리 화학적 특성, *Kor. J. Appl. Microbiol. biotechnol.* 21, pp.556-563.
  - 28) Kim, Yong-Su, Ho-Seong, Lim, and Sang-dal, Kim., 1994, *Bacillus subtilis* YB-70 as abiocontrol agent of *Fusarium solani* causing plant root-rot, *Journal of Microbiology and Biotechnology* 4(1), pp.68-74.
  - 29) Lee, C.H., Kim, S.H., Hyun, B.C., Suh, J.W., Yon, C.S., Kim, C.O., Lim, Y.H. & Kim, C.S., 1994, Cepacidine A, a novel antifungal antibiotic produced by *Pseudomonas cepacia*. I, taxonomy, production, isolation and biological activity, *The Journal of Antibiotics* 47, pp.1402-1405.
  - 30) Leisinger, T. and Margraff, R., 1979, Secondary metabolites of the fluorescent *Pseudomonas*, *Microbiol. Rev.* 43, pp.422-442.
  - 31) 이은중, 지정진, 박경석, 김충희, 1990, 고추역병에 대한 생물학적 방제 연구 IV. 농가하우스 포장에서의 길항균 시용효과, *한국식물병리학회지* 6(1), pp.58-64
  - 32) 이영희, 심재열, 이은중, T. W. Mew., 1990, 실내 및 온실에서 형광성 *Pseudomonas* spp. 의 수도진균병에 대한 생물학적 방제효과 검증, *한국식물병리학회지* 6(1), pp.73-80.
  - 33) Lim, Y.H., Suh, J.W., Kim, S.H., Hyun, B.C., Kim, C.S. and Lee, C.H., 1994, Cepacidine A, a novel antifungal antibiotic produced by *Pseudomonas cepacia*. II. Physico-chemical properties and structure elucidation, *The Journal of Antibiotics* 47, pp.1402-1405.
  - 34) Mahaffee, W. F. and Bakman, P. A., 1993, Effect of seed factors on spermosphere and



- rhisosphedre colonization of cotton by *Bacillus subtilis* GB03, *Phytopathology* 83(10), pp.1120-1125.
- 35) Mckeen, C. D., Reilly, C. C. and Pusey, P. L., 1986, Production and partial Characterization of antifungal substance antagonistic to *Monilinia* from *Bacillus subtilis*, *Phytopathology* 76(2), pp.136-139.
- 36) McLoughlin, T.J., Quinn, J.P., Bettermann, A. and Bookland, R., 1992, *Pseudomonas cepacia* suppression of sunflower wilt fungus and role of antifungal compounds in controlling the disease, *Appl. Environ. Microbiol.* 58, pp.1760-1763.
- 37) Meyers, E., Bisacchi, G.S., Dean, L., Liu, W.C., Minassian, B., Slusarchyk, D.S., Sykes, R.B., Tanaka, S.K. & Trej, W., 1987, Xylocandin: A new complex of antifungalpeptides. I. Taxonomy, isolation and biological activity, *The Journal of Antibiotics* 40, pp.1515-1519.
- 38) Mizoguchi, J., Saito, T., Mizuno, K. and Hayano, K., 1977, On the mode of action of a new antifungal antibiotic, aculeacin A: inhibition of cell wall synthesis in *Saccharomyces cerevisiae*, *J. Antibiot.* 30, pp.308-313.
- 39) Mizuno, K., Yagi, A., Satoi, S., Takada, M., Hayashi, M., Asano, K. and Matsuda, T., 1977, Studies on aculeasin, I. Isolation and characterization of aculeacin A, *J. Antibiot.* 30, pp.297-302.
- 40) Mukhopadgyay, T. and Ganguli, B.N., 1987, Muludocandin, a new lipopeptide antibiotic. II. Stucture elucidation, *the Journal of Antibiotics* 40, pp.281-289.
- 41) Ohno, A., Ano, t. and Shoda, T., 1995, Effect of temperature on production of lipopeptide antibiotics, iturin A and surfactin by a dual producer, *Bacillus subtilis* RB14, in solid state fermentation, *J. Ferment. Bioeng.* 80, pp.517-519.
- 42) 박경석, 추원황, 김충희, 1993, Isolation of an antibiotic substance from *Pseudomonas cepacia* antagonistic to *Phytophthora capsici*, *한국식물병리학회지* 9(1), pp.1-6.
- 43) Papavizas, G. C., 1985, *Trichoderma* and *Gliocladium*: Biology, Ecology, and *Romycesflavus* in soil and survival in alginate pellets, *Phytopathology* 77, pp.131-139.
- 44) Prez, P., Varona, Garcia- Acha, I. and Dum, A., 1981, Effect of paulacandin B and aculeacin A on  $\beta$ -(1,3) glucan- synthase from *Geotrichum lactis*, *FEBS Lett.* 129, pp.249-252.
- 45) Peypoux, F., Besson, F., Michel, G. and Delcambe, L., 1981, Structure of bacillomycin D, a new antibiotic of the iturin group, *Eur. J. Biochem.* 118, pp.323-327.
- 46) Peypoux, F., Pommier, M.T., Das, B.C., Besson, F., Delcombe, L. and Michel, G., 1984, Structure of bacillomycin D and bacillomycin L peptidolipid antibiotics from *Bacillus subtilis*, *J. Antibiot.* 37, pp.1600-1604.
- 47) 복성해 외, 1990, 미생물공학을 이용한 신규무공해 살균제 개발( I ), 한국과학재단.
- 48) 복성해 외, 1990, 미생물 자원탐색을 통한 신규 천연생리활성물질의 개발: 신규 항진균성물질의 개발( II ), 한국과학기술처
- 49) Pusey, P. L. and Wilson, C. L., 1984, Postharvest biological control of stone fruit brown rot by *Bacillus subtilis*, *Plant disease.* 68, pp.753-756.
- 50) Roitman, J.N., Mahoney, N.E., Janisiwicz, W. J. and Benson, M., 1990, A new chlorinated phenylpyrrole antibiotic produced by the antifungal bacterium *Pseudomonas cepacia*, *J. Agric. Food Chem.* 38, pp.538-541.
- 51) Rytter, J. L., Lukezic, F. L., Craig, R. and Moorman, G. W., 1989, Biological control of Germanium rust by *Bacillus subtilis*, *Phytopathology.* 79(3), pp.367-370.

- 52) Schmatz, D.M., Romancheck, M.A., Pittarelli, L.A., Schwartz, R.E., Fromtling, R.A., Nollstadt, K.H., Vanmiddlesworth, Wilson, K.E. and Turner, M.J., 1990, Treatment of *Pneumocystis carinii* pneumonia with 1, 3- $\beta$ -glucan synthesis inhibitors, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 87, pp.5950-5954.
- 53) 서정우, 임용호, 김성호, 현봉철, 김창완, 연창석, 이덕근, 김광표, 정재경, 이철훈, 1993, 신규 항진균 물질 AF-011A의 생물학적 활성 및 구조 분석, *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 21, pp.564-569.
- 54) Seong, K.Y., Hofte, M., Boelens, J. and Berstraete, W., 1991, Growth, survival, and root-colonization of plant growth beneficial *Pseudomonas fluorescens* ANP15 and *Pseudomonas aeruginosa* 7NSK2 at different temperatures, *Soil Biol. Biochem.* 23, pp.423-428.
- 55) Shoji, J., Hino, H., Katayama, T., Matsumoto, K., Tanimoto, T., Hattori, T., Higashiyama, I., Miwa, H., Motokawa, K. and Yoshida, T., 1992, Isolation and characterization of new peptide antibiotics, Plusbacins A1-A4 and B1-B4, *The Journal of Antibiotics* 45, pp.817-823.
- 56) Shoji, J., Hino, H., Katayama, T., Nakagawa, Y., Ikenishi, Y., Iwatani, K. and Yoshida, T., 1992, Structures of new peptide antibiotics, Plusbacins A1-A4 and B1-B4, *The Journal of Antibiotics* 45, pp.824-831.
- 57) Smith, R. A. and Couche, G. A., 1991, The phylloplane as a source of *Bacillus thuringiensis* variants, *Applied and Environmental Microbiology*, 57(1), pp.311-315.
- 58) Taft, C.S. and Seliirennikoff, C.P., 1988, LY 121019 inhibits *Neurospora crassa* growth and (1-3)- $\beta$ -D-Glucan synthase, *J. Antibiot.* 41, pp.697-701.
- 59) Thomashow, L.S., Weller, D.M., Bomsall, R.F., and Pierson III, L.S., 1990, Production of the antibiotic phenazine-1-carboxylic acid by fluorescent *Pseudomonas* species in the rhizosphere of wheat, *Appl. Environ. Microbiol.* 56, pp.908-911.
- 60) Voisard, C., Keel, C., Haas, D. and Defago, G., 1989, Cyanide production by *Pseudomonas fluorescens* helps suppress black root of tobacco under antibiotic conditions., *The EMBO Journal* 8, pp.351-358.
- 61) Winkelman, G., Allagaier, H., Lupp, R. and Jung, G., 1983, Iturin AL-A new long chain Iturin A possessing an unusual high content of C16- $\beta$  -amino acids, *J. Antibiot.* 36, pp.1451-1457.