

## Streptomyces sp. A252의 배양적 특성 및 항진균활성

이용세<sup>†</sup> · 최장원 · 라경수\* · 백형석\*\*

대구대학교 자연자원대학 자연자원학부

\*대구공업전문대학 식품영양학과

\*\*부산대학교 미생물학과

### Antifungal Activity and Cultural Characteristics of the *Streptomyces* sp. A252

Yong Se Lee<sup>†</sup>, Jang Won Choi, Kyung Soo Ra\* and Hyung Suk Baik\*\*

Department of Natural Resources, Taegu University, Kyongsan 712-714, Korea

\*Department of Food and Nutrition, Taegu Technical College, Taegu 704-350, Korea

\*\*Department of Microbiology, Pusan National University, Pusan 609-735, Korea

#### Abstract

The growth rate of the A252 strain was increased in tryptic soy broth (TSB) and malt extract-yeast extract medium (ISP-2), but the antifungal activity of culture filtrate was efficient in the media of TSB and nutrient broth. The mycelial growth and the antifungal activity of culture filtrate in TSB medium were optimized at 25°C and pH 6.5. The growth in 2% TSB concentration was more effective than 1%, but there was no difference of the antifungal activity by the TSB concentrations. The mycelial growth of A252 strain reached to maximum at 72 hr after inoculation, whereas the antifungal activity of culture filtrate was shown to have the highest level at idiophase (60 hr) after inoculation and was decreased a little after 96 hr incubation. The antifungal activity was stable in the pH range of 4 to 11 and evenly at 121°C. The A252 strain was characterized as *Streptomyces* species by the physiological properties and examination of sporophore morphology.

Key words : *Streptomyces* sp., Antifungal activity, Plant pathogenic fungi

#### 서 론

분지형태의 균사체를 형성하며 주로 토양중에 서식하는 방선균 (Actinomycetes)은 항균성물질을 생산하는 대표적인 미생물로 [7], 약 3,000종류 이상의 항균성물질이 분리, 동정되어 보고되어있다 [10]. 방선균이 생산하는 항

균성물질은 항생제 및 농약으로 개발되어 사용되고 있으며, Blasticidin S, Kasugamycin 및 Polyoxin 등은 대표적인 방선균 유래 농약이다. 또한 여러 종류의 방선균이 작물병원균에 대한 길항균으로 보고되어 있으며 [5, 8, 11], 방선균을 이용한 식물병의 생물적 방제에 관한 연구가 활발히 수행되어져 왔다 [6, 9, 15].

<sup>†</sup> Corresponding author

미생물이 생성분비하는 항균성물질은 2차 대사산물로서 배양기의 조성 및 배양조건에 따라 동일한 균주에서도 생성정도 및 생성되는 종류에 차이가 있을 수 있다 [10]. 따라서 길항균의 배양에 적합한 배양기의 선정 및 배양조건은 매우 중요하므로, 이 논문에서는 식물병원진균에 대한 항균활성과 보리 흰가루병균에 대한 배양액의 예방효과 및 치료효과가 항진균성물질에 의한 것으로 판단된 방선균의 일종인 A252 균주 [13]의 항진균성물질의 생성에 적합한 배양기의 종류 및 배양조건을 *in vitro*에서 식물병원진균에 대한 효과로 조사하였고, 온도 및 pH에 대한 항진균성물질의 안전성을 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 공시균주 및 배양

전보 [13]에서 분리한 A252균주를 공시하였다. 식물병원진균은 *Microdochium nivale*, *Fusarium culmorum*, *F. graminearum*, *Phytophthora capsici*, *Rhizoctonia cerealis*, *Pythium ultimum*을 사용하였다. 공시 병원진균의 배양은 potato dextrose agar (PDA, Difco)를 사용하였으며, A252균주의 증식은 tryptic soy agar (TSA, Difco)를 사용하였다.

### 배양기에 따른 Streptomyces sp. A252 균주의 성장 및 항균활성

*Streptomyces* sp. A252 균주의 적정배양기를 조사하기 위하여 25 ml의 TSB를 담은 100 ml 삼각플라스크에 25℃에서 24시간 전배양한 접종원 (OD<sub>600</sub>=0.01)을 1 ml 취하여 50 ml의 배양기 (oatmeal broth, czapekdox broth, potato dextrose broth, malt extract-yeast extract broth, nutrient broth, TSB)를 각각 담은 100 ml 삼각플라스크에 3개씩 접종하여 25℃에서 72시간 진탕배양하였다. 배양기의 pH는 고압증기살균전에 6.5으로 적정하였으며, 배양 후 균체와 배양액을 원심분리에 의해 분리하여 성장정도 및 항진균활성력을 조사하였다. 균체의 성장정도는 회수한 균체를 98℃에서 24시간 건조시킨 다음 무게를 측정하여 조사하였고, 배양여액의 항균활성은 전보 [13]와 동일한 방법으로 조사하였다.

### Streptomyces sp. A252 균주의 배양조건 확립

균체의 성장 및 배양여액의 항균활성이 가장 높게 나타

난 TSB를 사용하여 적정배양조건을 조사하였다. 적정농도를 설정하기 위해 TSB의 농도를 2.0%, 1.0% 및 0.5%로 하고 pH를 6.5로 조절한 다음, 25℃에서 120rpm으로 72시간 배양 후 균체의 성장과 항균활성을 조사하였다. TSB의 적정 pH를 설정하기 위해 농도를 2.0%로 하고 pH를 6.0, 6.5, 7.0 및 7.5로 조절하여 만든 배양기에서 배양 후 성장과 항균활성을 조사하였다. 배양 온도에 따른 성장 및 항균활성은 TSB (2.0%, pH6.5)에 접종 후 15℃, 20℃, 25℃ 및 30℃에서 각각 배양 한 다음 조사하였다.

### 항진균성물질의 온도 및 pH에 대한 안전성

항진균성물질의 온도에 대한 안전성은 배양여액을 -20℃에서 121℃ 까지 각각 적정시간 처리 후 항균활성에 의해 조사하였다. pH에 대한 안전성은 배양여액을 pH 3에서 pH 13 까지 HCl (1.0 N)과 NaOH (1.0 N)를 사용하여 조절한 다음 실온에서 24시간 방치 후 항균활성을 검정하여 조사하였다.

### Streptomyces sp. A252 균주의 동정

A252 균주의 형태 및 생리적 특성은 Cross와 Goodfellow의 방법 [4] 및 Shring과 Gottlieb의 방법 [16]에 준하여 관찰 조사하였다. A252 균주를 여러 종류의 배양기에 접종한 다음 25℃에서 7-21일간 배양 후 생리적 특성을 조사하였으며, 분생자경의 형태는 광학현미경을 사용 petri dish상에서 400×로 직접 관찰하였다.

## 결 과

### 배양기종류에 따른 A252 균주의 성장 및 항진균활성

배양기 종류에 따른 A252 균주의 균사성장 및 배양여액의 공시 식물병원진균에 대한 활성은 Table 1에 나타내었다. 실험한 6 종류의 배양기 중 TSB가 균사성장 및 배양여액의 항진균활성이 가장 높았다. Nutrient broth에서는 균사생장은 다른 배양기에 비하여 낮았으나 배양여액의 항균활성은 TSB와 유사하였으며, oat meal 과 czapekdox 배양기에서는 균사성장 및 항진균활성이 낮았다.

### 배양조건에 따른 Streptomyces sp. A252 균주의 성장 및 항균활성

균사성장 및 배양여액의 공시 식물병원진균에 대한 활

Table 1. Effect of various media on the mycelial growth and the antifungal activity of *Streptomyces* sp. A252

Medium	Cell growth <sup>a</sup> (mg/ml)	Relative inhibition rate <sup>b</sup> (%)					
		<i>F. c.</i>	<i>F. g.</i>	<i>M. n.</i>	<i>P. c.</i>	<i>P. u.</i>	<i>R. c.</i>
Czapekdox	0.85±0.07	68.7±3.2	52.9±3.1	81.5±4.6	35.2±2.5	37.4±3.7	51.2±4.2
MYB	2.24±0.09	75.8±2.9	59.7±4.2	87.1±5.1	38.7±3.1	50.8±4.2	55.4±3.9
NB	1.01±0.05	80.3±2.8	68.8±2.6	100±0.0	52.3±3.4	60.7±3.9	56.1±3.1
Oat meal	0.45±0.03	45.6±4.1	31.4±2.8	48.3±2.0	8.7±0.8	12.6±0.8	42.7±4.2
PDB	1.97±0.05	69.5±3.8	59.6±3.1	78.9±4.7	39.5±2.5	45.9±2.6	53.5±4.6
TSB	2.45±0.04	80.4±2.6	70.2±4.2	100±0.0	54.8±4.1	59.8±3.1	57.0±3.8

a: Dry weight of the mycelium (mg)/culture filtrate (ml).

b: A mycelial disk (5 mm in dia.) which contain actively growing fungi was placed on potato dextrose agar containing 10% culture filtrates. After 2-7 days incubation at 27°C, the mycelial growth was measured in the presence (p) or absence (c) of the culture filtrate. Relative inhibition rate (%) was calculated as follows: Relative inhibition rate (%) = (1-a/c) × 100.

*F. c.*: *Fusarium culmorum*, *F. g.*: *F. graminearum*, *M. n.*: *Microdochium nivale*, *P. c.*: *Phytophthora capsici*, *P. u.*: *Pythium ultimum*, *R. s.*: *Rhizoctonia cerealis*.

성이 가장 높았던 TSB를 선정하여 TSB의 농도 및 pH와 배양온도에 따른 균사생장도와 항균활성을 72시간, 120 rpm으로 진탕액체 배양 후 조사하였다. 배양기의 초기 pH를 6.5으로 조절하고 2.0%, 1.0% 및 0.5%로 TSB의 농도를 달리하여 만든 배양기에 A252 균주를 접종한 다음 25°C에서 배양 후 균사생장과 항균활성을 조사한 결과 생장은 2.0%가 가장 좋았으며, 배양여액의 항균활성은 2.0%와 1.0%간에 차이가 없었다 (Table 2). 2.0% 농도의 TSB를 pH 6.0, 6.5, 7.0 및 7.5로 조절하여 만든 배양기에 A252 균주를 각각 접종 후 25°C에서 배양하였을 때 균사생장은 pH 6.5가 가장 좋았으며, 항균활성은 pH 6.5와 pH 7.0에서 유사하였다 (Table 3). TSB의 농도를 2.0%, pH를 6.5로 조절하여 만든 배양기에 A252 균주를 접종하여 배양 온도에

따른 생장과 항균활성을 조사한 결과 25°C에서 균사생장과 배양여액의 항균활성이 가장 높았으나, 실험한 온도범위내에서 생장 및 항균활성의 현저한 차이는 없었다 (Table 4).

*Streptomyces* sp. A252 균주의 생장 및 항진균성 물질의 생성정도

250 ml의 TSB(2.0%, pH 6.5)를 담은 1.0 liter 삼각플라스크에 24시간 전배양한 A252 균주의 전접종원 1.0 ml (OD<sub>660</sub>=0.01)를 접종 후 25°C에서 120 rpm으로 진탕배양하면서 12시간 간격으로 96시간 까지 균사생장 및 배양여액의 항균활성을 조사한 결과 Fig. 1과 같다. 균사 생장은 72시간 후 최대치에 도달하였으며, 배양여액의 항균활성은 trophophase에 생성되기 시작하여 접종 60시간 후인

Table 2. Effects of TSB concentrations on the mycelial growth and the antifungal activity of *Streptomyces* sp. A252

Concentration of TSB (pH 6.5)	Cell growth <sup>a</sup> (mg/ml)	Relative inhibition rate <sup>b</sup> (%)		
		<i>Microdochium nivale</i>	<i>Phytophthora capsici</i>	<i>Rhizoctonia cerealis</i>
0.5 %	1.08±0.06	100	38.6±3.9	37.4±3.6
1.0 %	1.82±0.06	100	54.6±4.3	56.8±4.2
2.0 %	2.43±0.05	100	54.8±4.1	57.0±3.8

a: Dry weight of the mycelium (mg)/culture filtrate (ml).

b: A mycelial disk (5 mm in dia.) which contain actively growing fungi was placed on potato dextrose agar containing 10% culture filtrates. After 2-7 days incubation at 27°C, the mycelial growth was measured in the presence (p) or absence (c) of the culture filtrate. Relative inhibition rate (%) was calculated as follows: Relative inhibition rate (%) = (1-a/c) × 100.

Table 3. Effects of initial TSB pHs on the mycelial growth and the antifungal activity of *Streptomyces* sp. A252

Initial pH of TSB (2.0%)	Cellgrowth <sup>a</sup> (mg/ml)	Relative inhibition rate <sup>b</sup> (%)		
		<i>Microdochium nivale</i>	<i>Phytophthora capsici</i>	<i>Rhizoctonia cerealis</i>
6.0	1.80±0.04	100	48.4±3.2	53.2±3.4
6.5	2.43±0.05	100	54.8±4.1	57.0±3.8
7.0	1.92±0.03	100	54.8±4.5	57.0±4.0
7.5	2.10±0.06	100	50.6±3.7	56.5±2.6

a: Dry weight of the mycelium (mg)/culture filtrate (ml).

b: A mycelial disk (5 mm in dia.) which contain actively growing fungi was placed on potato dextrose agar containing 10% culture filtrates. After 2-7 days incubation at 27°C, the mycelial growth was measured in the presence (p) or absence (c) of the culture filtrate. Relative inhibition rate (%) was caculated as follows: Relative inhibition rate (%) = (1-a/c) × 100.

Table 4. Effects of culture temperatures on the mycelial growth and the antifungal activity of *Streptomyces* sp. A252

Culture temperature	Cell growth <sup>a</sup> (mg/ml)	Relative inhibition rate <sup>b</sup> (%)		
		<i>Microdochium nivale</i>	<i>Phytophthora capsici</i>	<i>Rhizoctonia cerealis</i>
15 °C	2.26±0.07	100	50.2±3.6	55.6±3.4
20 °C	2.40±0.04	100	54.6±4.4	57.0±4.2
25 °C	2.43±0.03	100	54.8±4.1	57.0±3.8
30 °C	2.38±0.05	100	53.2±3.5	56.8±4.6

a: Dry weight of the mycelium (mg)/culture filtrate (ml).

b: A mycelial disk (5 mm in dia.) which contain actively growing fungi was placed on potato dextrose agar containing 10% culture filtrates. After 2-7 days incubation at 27°C, the mycelial growth was measured in the presence (p) or absence (c) of the culture filtrate. Relative inhibition rate (%) was caculated as follows: Relative inhibition rate (%) = (1-a/c) × 100.

idiophase에 거의 최대치에 도달하였다. 배양여액의 pH 변화는 배양 24시간 후부터 증가하기 시작하여 84시간 후에는 pH 8.3였으나 더 이상 증가하지는 않았다.

에서는 항진균활성에 변화가 미약하였으나, pH 3.0과 pH 13.0으로 조절한 배양여액의 활성은 약 10-35% 저하되었다 (Table 6).

항진균성물질의 온도 및 pH에 대한 안전성

TSB (2.0%, pH 6.5)에 25°C에서 72시간 120 rpm으로 진탕배양 후 취한 A252 균주의 배양여액을 일정시간 동안 저온 및 고온 처리 후 공시 진균에 대한 항진균활성을 조사한 결과는 Table 5와 같다. -20°C 및 6°C에서 24시간 및 70°C에서 4시간 처리한 배양여액은 항진균활성에 변화가 없었다. 그러나 100°C에서 2시간 및 121°C에서 15분 동안 고압 증기살균한 배양여액의 활성은 각각 10% 및 15% 정도 활성이 저하되었다. 배양여액을 pH 3.0에서 pH 13.0까지 HCl과 NaOH로 적정한 다음 24시간 실온에 방치 후 조사한 항진균활성은 Table 6과 같다. pH 4.0에서 pH 11.0 범위

*Streptomyces* sp. A252 균주의 생리 및 배양적 특성

A252 균주의 생리적 특성은 Table 7과 같다. ISP-6 배양기에서 melanin을 생성하였으며, starch를 hydrolysis시킬 수 있었으나 citrate는 이용하지 못하였다. NaCl에 대한 tolerance는 3.0% 였으며, 생장적온은 25°C 였다. 탄소원은 glucose와 sucrose를 이용할 수 있었으며, arabniose 등은 이용할 수 없었다. A252 균주의 배양적 특성은 oatmeal agar (ISP-3)와 soil extraction agar에서 옅은 분홍색, inorganic salt starch agar (ISP-4)에서는 짙은 회색의 기증 균사와 포자를 형성하였으며, 분생자경의 형태는 전형적인 flexibilis였다 (Fig. 2). 균사의 생장은 oatmeal agar, PDA

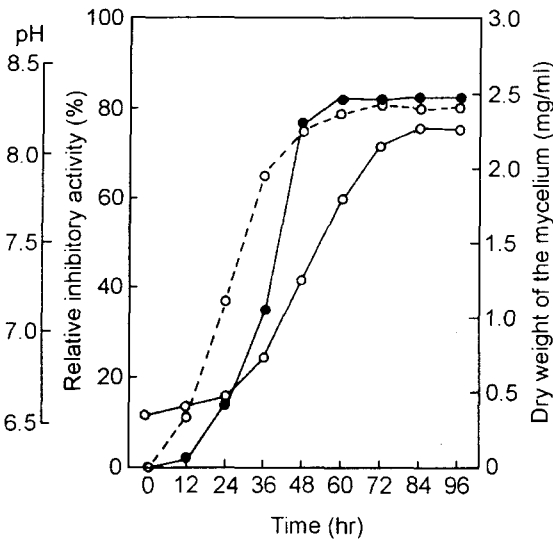


Fig. 1. Antifungal activity of culture filtrate against *Microdochium nivale* (●), mycelial growth (---○---) and pH value of culture filtrate (○) of the *Streptomyces* sp. A252.

및 inorganic salt starch agar에서 가장 좋았다 (data not shown).

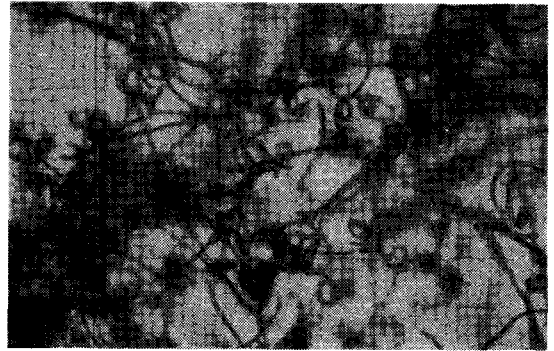


Fig. 2. Sporophores of *Streptomyces* sp. A252. Sporophores of *Streptomyces* sp. A252 were observed on aerial mycelium (cultivated on soil extraction agar for 10 days at 25°C). Magnification (400×).

### 고 찰

길항미생물이 분비하는 항균활성물질의 생성은 배양조건, 특히 배양기의 조성에 따라 영향을 받는 것으로 알려져 있기 때문에 [3] 식물병원진균에 대해 항균활성이 높은

Table 5. Effects of storage temperatures of culture filtrate on the antifungal activity of *Streptomyces* sp. A252

Test fungi	Fresh <sup>a</sup>	-20 °C	6 °C	70 °C	100 °C	121 °C
		24 hr <sup>b</sup>	24 hr	4 hr	2 hr	1/4 hr
<i>Microdochium nivale</i>	100 <sup>c</sup>	100	100	100	86.7±5.6	82.0±4.8
<i>Phytophthora capsici</i>	54.8±3.4	53.6±3.6	55.0±3.2	48.2±3.8	40.6±4.2	38.6±4.0
<i>Rhizoctonia cerealis</i>	56.8±3.2	57.0±4.1	54.3±4.8	56.0±5.4	46.7±4.4	37.2±4.2

a: Fresh culture filtrate.

b: Storage time (hour).

c: Relative inhibition rate (%) according to the method referred in Table 1.

Table 6. Effects of various pH values on the antifungal activity of *Streptomyces* sp. A252

Test fungi	pH								
	3.0	5.0	5.0	7.0	8.0	9.0	10.0	11.0	13.0
<i>Microdochium nivale</i>	94.0 <sup>a</sup>	100	100	100	100	100	100	93.2	92.4
<i>Phytophthora capsici</i>	38.2	46.4	54.0	54.4	54.6	5.42	54.0	46.2	38.8
<i>Rhizoctonia cerealis</i>	36.4	50.3	56.7	56.4	56.5	56.2	56.0	42.4	28.6

The culture filtrate of *Streptomyces* sp. 252 was adjusted to each pH with HCl or NaOH, stored at room temperature for 24 hours and then, antifungal activity was tested according to the method referred in Table 1.

a: Relative inhibition rate (%).

Table 7. Physiological properties of the *Streptomyces* sp. A252

Soluble pigment	+
Melanin formation in ISP-6	+
Starch hydrolysis	+
Nitrate reduction	-
Citrate utilization	-
NaCl tolerance	3.0%
H <sub>2</sub> S production	-
Acid production	+
Liquefaction of gelatin (21 °C)	-
Catalase	+
Oxidase	+
Optimum pH for growth	6.5
Optimum temperature for growth	25°C
Utilization of carbohydrate	
L-Arabinose	-
Cellulose	-
D-Fructose	-
D-Glucose	+
I-Inositol	-
D-Mannitol	-
Raffinose	-
Sucrose	+
D-Xylose	-

+, positive, -, negative

것으로 확인된 A252 균주 [13]의 배양기의 종류에 따른 항진균활성 및 균체의 생장을 조사한 결과 영양원이 충분한 tryptic soy broth (TSB) 배양기에서 균사생장 및 항진균효과가 가장 좋았다. TSB와 비교하여 nutrient broth는 균사생장이 저조하였으나, 배양액의 항진균효과는 TSB와 비슷한 정도를 보였으며 malt extract-yeast extract는 균사생장은 좋았으나 배양액의 항진균효과는 낮아 배양기의 종류에 따라 항진균활성의 차이가 있었다. TSB의 적정농도 및 pH를 조사한 결과 1.0 %와 2.0 %의 TSB 농도간에는 차이가 없어 항진균활성을 순수분리하기 위해 대량 배양할 경우 1.0 %를 사용하여도 항진균활성의 생성정도에는 차이가 없을 것으로 판단되어 TSB의 농도를 1.0%로 배양기를 만들어 사용함으로써 비용을 절감할 수 있을 것으로 사료되었다. TSB의 초기 pH는 6.5가 균사생장 및 항진균효과가 가장 좋았으며 6.0은 균사생장과 항진균효과가 비교적 낮았다.

배양시간별로 항진균효과를 조사한 결과 trophophase에서 항진균물질이 생성되기 시작하여 idiophase에 최대치에 도달하였으며 사멸기로 가면서 항진균효과는 점차 감소하는 경향을 보였다. 이와 같은 결과는 미생물이 생성하는 2차 대사생성물질의 전형적인 특성과 일치하였다 [3, 10, 14].

항진균물질의 종류에 따라 온도 및 pH에 대한 안정성이 다르며 항진균물질의 안정성은 항진균물질의 순수분리과정 및 처리에 매우 중요한 요인 중의 하나이다 [10]. A252 균주의 배양액의 온도와 pH에 대해 높은 안정성을 보여 A252 균주가 생성하는 항진균물질은 macrolide계통의 일종으로 사료되었다.

방선균은 배양기상에서 형성되는 분생자경의 형태, 포자의 형성, 기증균사의 색 등에 의해서 1차적으로 분류할 수 있다 [7]. 그러나 미세한 형태적인 차이는 정확히 구별할 수 없기 때문에 현재는 세포막의 조성 등 각종 화학적인 분석이 이용되고 있다 [2, 7, 11]. A252 균주를 동정하기 위하여 Cross와 Goodfellow [4] 및 Shirling과 Gottlieb [16]의 고전적인 방법을 사용하여 관찰하였다. Oatmeal agar 및 inorganic salts-starch agar에서 flexibilis한 분생자경을 형성하여 전형적인 *Streptomyces* spp.의 형태를 보여 *Streptomyces* sp.의 일종으로 분류하였다. 그러나 species까지 정확히 동정하기 위해서는 세포막의 조성 등 생화학적 분석이 요구되었다.

## 요 약

A252 균주의 항진균물질의 생성 및 균주의 배양적 특성을 조사한 결과 균체의 생장은 TSB와 malt extract-yeast extract (ISP-2) 배양기가 좋았으며, 배양액의 항진균활성은 TSB와 nutrient broth에서 효과적이었다. TSB 배지에서 균사생장 및 배양액의 항진균활성은 25°C와 pH 6.5에서 최적화 되었으며, 2% TSB 농도에서는 1%에 비해 생장은 좋았으나 배양액의 항진균활성에는 차이가 없었다. A252 균주의 균사 생장은 접종 72시간 후에 최대치에 달하였으며 반면 배양액의 항진균력은 접종 60시간 후인 idiophase에 가장 높은 수준을 보였지만 96시간 후에는 약간 감소하는 경향을 나타냈다. 배양액의 항진균활성은 121°C 고온에서도 안정하였으며, pH에 대한 안정성은 4.0 - 9.0의 범위였다. A252 균주의 생리적 특성 및 분생자경의 형태 등을

관찰한 결과 *Streptomyces* sp.로 동정되었다.

## 감사의 글

이 논문은 1997년도 대구대학교 학술연구비의 지원에 의해 수행되었습니다.

## 참고 문헌

1. Alderson, G. and Goodfellow, M. 1979. Classification and identification of actinomycetes causing mycetoma. *Postępy Higieny i Medycyny Doswiadczalnej* **33**, 109-124.
2. Alderson, G., Goodfellow, M. E. M. H., Williams, S. T., Minnikin, S. M., and Minnikin, D. E. 1981. Chemical and numerical taxonomy of *Nocardia mediterranea*. *Zentralblatt fur Bakteriologie, Mikrobiologie und Hygiene. I. Abteilung, Supplement* **11**, 39-46.
3. Bushell, M. E. 1989. Growth, product formation and fermentation technology. In ; *Actinomycetes in biotechnology*, (Goodfellow, M., S. T. Williams and M. Mordarski, eds.), Academic Press, New York.
4. Cross, T. and Goodfellow, M. 1973. Taxonomy and classification of the actinomycetes. In ; *Actinomycetales : Characteristics and practical importance*, (Sykes, G. and F. A. Skinner, eds.), 11-112. Academic Press, London.
5. Fawcett, C. H. and Spencer, D. M. 1970. Plant chemotherapy with natural products. *Ann. Rev. Phytopathology*, **8**, 403-418.
6. Filonow, A. B. and Lockwood, J. L. 1985. Evaluation of several actinomycetes and the fungus *Hyphochytrium catenoides* as biocontrol agents for phytophthora root rot of soybean. *Plant Disease*, **96**, 1033-1036.
7. Goodfellow, M. and Cross, T. 1984. Classification. In ; *The biology of the actinomycetes*, (Goodfellow, M., M. Mordarski and S. T. Williams, eds.), 7-164. Academic press, New York.
8. Heitefuss, R. 1987. Pflanzenschutz-Grundlagen der praktischen Phytomedizin. Thieme- Verlag, Stuttgart, 2. Aufl.
9. Kundu, P. K. and Nandi, B. 1984. Control of cauliflower damping-off by using antagonist coated seeds. *Pedobiologia*, **27**, 43-48.
10. Lancini, G. and Parenti, F. 1982. Antibiotics. Springer Verlag, New York.
11. Lechevalier, M. P. 1988. Actinomyceten in agriculture and forestry. In ; *Actinomycetes in biotechnology*, (Goodfellow, M., S. T. Williams and M. Mordarski, eds.), Academic Press, New York.
12. Lechevalier, M. P., Vievre, C., and Lechevalier, H. 1977. Chemotaxonomy of aerobic Actinomycetes : Phospholipid composition. *Biochemical Systematics and Ecology*, **5**, 249-260.
13. Lee, Y. S., and Wolf, G. 1995. Biological control of powdery mildew by antibiotic-producing microorganisms antagonistic to Erysiphe graminis, *J. of Microbiology and Biotechnology*, **5**, 341-345.
14. Piret, J. M. and Demain, A. L. 1988. Actinomycetes in biotechnology. An overview. In ; *Actinomycetes in biotechnology*, (Goodfellow, M., S. T. Williams and M. Mordarski, eds.), Academic Press, New York.
15. Rothrock, C. S. and Gottlieb, D. 1984. Role of antibiosis in antagonism of *Streptomyces hygroscopicus* var. *geldanus* to *Rhizotonia solani* in soil. *Can. J. Microbiology*, **30**, 1440-1447.
16. Shirling, E. B. and Gottlieb, D. 1966. Methods for characterization of Streptomyces species. *International Journal of Systematic Bacteriology*, **16**, 313-340.