

## 복숭아 미이라과로부터 분리한 방선균의 항균 활성 및 동정

임태현\* · 이정목 · 장태현 · 차병진<sup>1</sup>  
(주) 대유식물영양연구소, <sup>1</sup>충북대학교 농생물학과

**Antifungal Activity and Identification of an Actinomycetes Strain Isolated from Mummified Peaches.**  
**Lim, Tae Heon\*, Jung Mok Lee, Tae Hyun Chang, and Byeongjin Cha<sup>1</sup>.** \*Research Institute of Plant Nutrient, Daeyu Co, Inc. Kyongsan 712-820, Korea, <sup>1</sup>Department of Agricultural Biology, Chungbuk National University, Cheongju 361-763, Korea – An actinomycetes strain which produced chitinase, urease, and antifungal substances to *Monilinia fructicola* was isolated from peaches mummified by *Monilinia fructicola*. The strain TH-04 was identified as *Streptomyces* sp. based on cultural and morphological characteristics, cell wall diaminopimelic acid, and sugar patterns of whole-cell extracts. *Streptomyces* sp. TH-04 showed antifungal activity to several fungi including *Monilinia fructicola*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Magnaporthe grisea*, *Rhizoctonia solani*, *Phytophthora capsici*, *Alternaria kikuchiana*, *Fusarium solani*, and *Fusarium oxysporum*. The optimum cultural conditions for the production of antifungal substances were 20°C, pH 7, and 7 days.

**Key words:** antifungal substance, chitinase, *Monilinia fructicola*, *Streptomyces* sp., urease.

농작물의 안정적 생산에 있어 병해충의 방제를 위한 농약 사용은 필수적이다[1]. 농약을 사용하지 않을 경우 벼 및 맥류의 경우 약 20-30% 정도의 수확량 감소를 나타내며, 사과와 복숭아의 경우 수확이 불가능할 정도의 피해를 받는다고 하였다[1]. 식물병원균에 의한 병해는 직접적인 수확량의 감소뿐만 아니라, 병원균의 2차 대사 산물에 의한 인축에 대한 독성 피해도 알려져 있다[19]. 식물 병원균의 직·간접적인 피해 방지를 위해 계속적이고 광범위하게 유기합성 농약을 사용하고 있으나, 환경 오염, 저항성 균주의 출현에 따른 효과 저하 및 생산물의 안정성 등의 문제를 야기하고 있다[1,2,5,7-9]. 이러한 합성 농약의 문제점을 극복하고 안정적인 농작물 생산을 위한 방제 수단으로 저항성 품종의 이용, 재배방법의 개선, 미생물을 이용한 생물적 방제 및 천연물 이용 방법 등이 연구되고 있다[1,4,13]. 특히, 천연물질의 경우 활성성분의 직접적인 이용뿐만 아니라 신농약 개발을 위한 선도물질로서의 이용가치가 높다[11-13,18]. 미생물은 천연물 탐색을 위한 연구의 대상으로, 또한 미생물 자체를 이용한 식물병 방제 재료로 중요성이 인식되고 있다. 현재 식물병 방제를 위하여 이용되는 미생물은 *Streptomyces* spp., *Trichoderma* spp., *Bacillus* spp., *Agrobacterium* spp., *Pseudomonas* spp. 등을 비롯하여 여러 종류가 있다[3,4,10,14,16]. 미생물을 이용한 식물병 방제는 미생물의 직접 이용, 병원성 진균의 주요 세포벽 성분을 가수분해하는 효소인 chitinase, glucanase, mannanase 등

의 이용, 토양내의 urea로부터 휘발성 ammonia 생산 유도 및 병원균의 생육을 저해하는 항생물질의 이용 등 아주 다양하다[14,16-18].

본 연구에서는 *Monilinia fructicola*에 의한 핵과류 잿빛 무늬병의 생물학적 방제원을 탐색하기 위하여 *Monilinia fructicola*에 의해 감염되어 폐놀화합물의 축적으로 미이라화된 복숭아 열매로부터 유용 미생물을 분리하였으며, 작물의 지상부 병 방제에 이용하고자 분리된 미생물을 동정하고, 항진균 활성 물질의 분비, 세포벽 가수분해 효소(chitinase)와 urease의 생산 여부를 확인하여 이용 가능성을 확인하였다.

### 재료 및 방법

#### 미생물의 분리 및 1차 항균활성검정

*Monilinia fructicola*에 의한 잿빛무늬병의 생물학적 방제를 위한 미생물은 경북 경산, 청도, 영덕 및 충남 조치원 지역 과수원으로부터 채집한 미이라화된 복숭아 열매로부터 분리하였다. 채집된 시료는 80°C에서 약 30분간 열처리 후 살균수로 표면을 3회 세척 후 풍건하여 분리원으로 사용하였다. Starch-nitrate agar 배지에서 2-4주간 배양 후 방선균 집락을 최종 분리하여 배양하였다. 분리된 방선균은 동결 보관하며 다음 실험에 이용하였다. 1차 항균활성은 복숭아 잿빛무늬병균 *M. fructicola*를 대상으로 대치 배양하여 조사하였다. 분리 균을 감자한천배지 또는 감자한천배지와 yeast extract-malt extract-dextrose(YMD) 배지를 1:1로 혼합하여 제조한 배지에 획선 접종하여 5일간 배양하여 chloroform으로 혼중처리 한 후 7일간 전 배양된 *M*

\*Corresponding author

Tel. 82-53-817-3012, Fax. 82-53-817-3016

E-mail: jhkwa@chollhan.net

*fructicola*의 균사절편(직경 5 mm)을 접종하여 7일 후 항균 활성을 확인하였다.

#### 항균활성범위조사

1차 항진균 활성 검정결과 선발된 방선균의 복숭아 잭빛 무늬병균 *M. fructicola*, 고추 탄저병균 *Colletotrichum gloeosporioides*, 고추 역병균 *Phytophthora capsici*, 벼 도열병균 *Magnaporthe grisea*, 벼 잎집무늬마름병균 *Rhizoctonia solani*, 배 검은별무늬병균 *Alternaria kikuchiana*, 채소류 시들음병균 *Fusarium oxysporum* 및 뿌리썩음병균 *Fusarium solani* 등 8종의 식물 병원균에 대한 항진균 활성을 대치 배양법으로 조사하였다. 분리 균을 감자한천배지와 YMD 배지를 1:1로 혼합하여 제조한 배지에 획선 접종하여 5일간 배양 후 chloroform으로 혼중 처리하고, 7일간 전 배양한 병원균의 균사절편(직경 5 mm)을 접종하여 7일 후 항균 활성을 조사하였다.

#### Crude culture filtrates의 항균활성

Crude culture filtrates의 항균활성은 선발된 TH-04 분리 균을 방선균 배양배지(DIFCO: 0957-17-4) plate에 25°C에서 14일간 배양 후 배지를 수확하여 70% acetone으로 7일간 추출하여 복숭아 잭빛무늬병균 *M. fructicola* 외 7종의 식물 병원균에 대한 항균활성을 측정하였다. 감자한천배지내 추출물의 농도는 1.0%로 조절하였고, 벼 도열병균은 oatmeal 배지를 이용하여 검정하였다. 생산된 항생물질의 활력은 다음과 같이 균사생육억제력으로 계산하였다.

균사 생육 억제력(%)=(1-처리구 균사 신장/대조구 균사 신장)×100

#### Chitinase 및 Urease 생산 확인

선발된 방선균 TH-04 균주의 chitinase 생산 여부 확인은 chitinase 검정배지(colloidal chitin 15 g, peptone 1 g, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 7 g, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 2 g, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1 g, sodium citrate 0.5 g, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.1 g, agar 15 g, water 1000 ml, pH 7.0)의 plate에 선발된 TH-04 균주를 접종한 후 colloidal chitin이 분해되어 형성되는 clear zone의 형성 유무로 chitinase 생산 여부를 판단하였다[18]. TH-04 균주의 urease 생산 여부는 Christensen-urea 배지(urea 20 g, NaCl 5 g, peptone 1 g, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 2 g, glucose 1 g, phenol red 0.012 g, agar 15 g, water 1000 ml, pH 6.8)에 선발 균주를 접종하고 28°C 배양기에서 배양하여 붉은색-보라색 색깔의 형성으로 urease 생산여부를 판단하였다[9,18].

#### 배양적 특성, 세포벽 성분 및 당 성분 분석

TH-04 균주를 동정하기 위하여 ISP(International Streptomyces Project)방법에 따라 공시 배지에서의 생육 정도, 기증 균사의 색 및 색소형성 유무 등 배양적 특성을 조사하

였다[9,16]. 형태적 특성은 inorganic salts starch agar(ISP 4) 배지에서 배양 후 주사전자현미경(SEM)으로 관찰하였다. 또한 세포벽 성분을 분석하기 위하여 starch-casein-nitrate 배지에서 3일간 배양한 균체를 8,000 g로 원심분리 후 가라앉은 앙금을 회수하여 French pressure(Sime amunco)로 파쇄하고, 다시 16,000 g로 15분간 원심분리하여 앙금을 동결건조하였다. Diaminopimelic acid(DAP)와 아미노산 분석은 동결건조한 균체 15 mg을 6N HCl 5 ml에 현탁하고 그 중 1 ml를 100°C에서 가수분해하여 탈염산 시킨 후 methanol 80:water 15:5N HCl 5:pyridine 10을 전개 용매로 하여 cellulose F TLC plate에 전개시켜 acetonic ninhydrin으로 발색시킨 후 spot의 위치를 비교 분석하였다[15]. 세포내 당분석은 동결 건조한 TH-04 균주의 균체 60 mg을 2N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1 ml에 현탁하여 2시간 동안 가수분해시키고 Ba(OH)<sub>2</sub>를 이용하여 pH 5.0-5.2로 조절한 후 원심분리하여 침전물을 제거하였다. 상등액을 감압 농축하여 TLC 시료로 사용하였으며, ethyl acetate 100:pyridine 35:water 25:acetic acid 5를 전개용매로 하여 전개시켜 aniline phthalate로 발색시킨 후 표준 당과 비교 분석하였다[6].

#### 항생물질 생산성 조건

선발된 TH-04 균주의 항진균성 항생물질의 생산성에 미치는 배양조건을 조사하기 위하여 배양온도, 배지 pH 및 배양시간을 조사하였다. 배양온도는 10°C부터 40°C까지 5°C간격으로 조절하여 실험하였다. YMD 액체배지(pH 7.0)에서 4일간 전 배양 후 TH-04의 농도를 1%로 YMD 액체배지(pH 7.0)에 접종하여 각각의 온도조건에서 5일간 배양 후 균 생장과 항균활성을 조사하였다. 항균활성은 30배 농축한 배양여액을 이용하였으며, 배지내 농도는 1%로 조절하여 조사하였다. 최적 pH는 4부터 10까지 1 간격으로 조절한 YMD 액체배지를 이용하였다. TH-04 균주의 접종, 균 생장 및 항균활성은 배양온도의 영향과 동일한 방법으로 조사하였다. 배양시간에 따른 항균활성은 24시간 간격으로 12일 까지 배양하여 배양온도의 영향과 동일한 방법으로 조사하였다. 항생 물질의 활성은 crude culture filtrate의 항균활성 시험과 동일한 식으로 계산하였다.

#### 결과 및 고찰

1차 항균활성 및 항균 범위. 미이라화된 복숭아로부터 총 200 균주를 분리하여 *Monilinia fructicola*에 대한 항균 활성을 검정한 결과, 정산 지역에서 분리된 TH-04 외 9 균주의 방선균이 활성을 보였다(Table 1). 1차 항균활성 검정에서 선발된 균주들중 *M. fructicola*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Magnaporthe grisea*, *Rhizoctonia solani*, *Phytophthora capsici*, *Alternaria kikuchiana*, *Fusarium solani* 및 *Fusarium oxysporum* 등 8종의 식물 병원성 곰팡이에 대한 항균 활

**Table 1. Actinomycete isolates which show antifungal activity against *Monilinia fructicola***

Isolates	Source	Location
TH-03	Mummified Peach	Chochiwon, 1998
TH-04	Mummified Peach	Kyongsan, 1998
TH-15	Mummified Peach	Kyongsan, 1998
TH-90	Mummified Peach	Youngduk, 1998
TH-120	Mummified Peach	Youngduk, 1998
TH-121	Mummified Peach	Chochiwon, 1998
TH-143	Mummified Peach	Kyongsan, 1998
TH-156	Mummified Peach	Youngduk, 1998
TH-200	Mummified Peach	Youngduk, 1998

성 범위가 가장 넓은 균주는 TH-04로 모든 대상 균주들에 대하여 항균활성을 보였다. TH-143 균주는 *M. fructicola*, *C. gloeosporioides*, *A. kikuchiana*, *F. solani* 및 *F. oxysporum* 등 5종의 식물병원균에 대하여 항균활성을 보였고, 그 밖의 균주들은 상대적으로 좁은 항균활성 spectrum을 보였다(Table 2).

**Crude culture filtrates의 항균활성.** TH-04 균주의 crude culture filtrate 는 *M. fructicola*에 대하여 80% 이상의 균사생장 억제력을 보여 가장 높은 항균활성을 보였으며, *C. gloeosporioides*, *M. grisea* 및 *P. capsici*에 대해서는 60% 이상의 균사 생육억제력을 보였다(Fig. 1). 그 외의 병원균에 대해서는 50% 정도의 낮은 항균 활성을 보이는 것으로 나타났다.

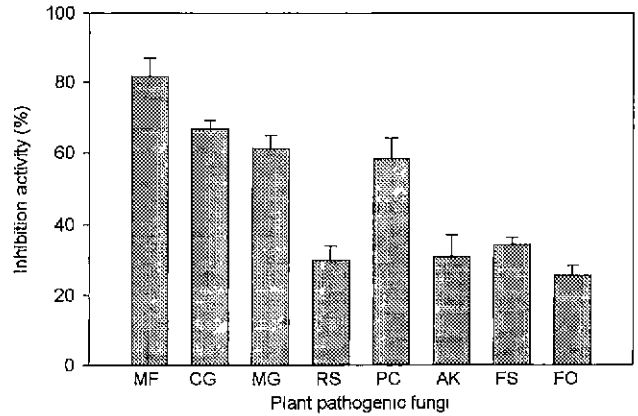
**Chitinase 및 Urease 생산 확인.** 1차 항균활성 검정 결과, 선발된 방선균을 chitinase 검정배지에 접종 한 후 clear zone 형성 유무로 chitinase 생산 여부를 조사하였다. TH-04, 15, 121 및 156 균주는 균총 주변에 clear zone을

**Table 2. Chitinase and urease producing ability and antifungal activity of actinomycete strains isolated from mummified peaches to several plant pathogenic fungi**

Isolates	Antifungal activity								Chitinase	Urease
	MF	CG	MG	RS	PC	AK	FS	FO		
TH-03	+	-	-	-	-	-	-	-	N	N
TH-04	+	+	+	+	-	+	+	+	P	P
TH-15	-	-	+	-	-	+	-	-	P	N
TH-90	+	-	-	-	-	-	-	-	N	N
TH-120	-	-	-	+	-	+	-	+	N	P
TH-121	+	-	-	-	-	-	-	-	P	N
TH-143	+	+	-	-	-	+	-	+	N	N
TH-156	+	-	+	-	-	-	-	-	P	N
TH-168	+	-	-	-	-	-	-	-	N	N
TH-200	+	-	+	-	-	-	-	-	N	N

MF: *Monilinia fructicola*(brown rot), CG: *Colletotrichum gloeosporioides*(anthracnose), MG: *Magnaporthe grisea*(rice blast), RS: *Rhizoctonia solani*(Sheath blight), PC: *Phytophthora capsici*(blight), AK: *Alternaria kikuchiana*(black spot), FS: *Fusarium solani*(root rot), FO: *Fusarium oxysporum*(wilt).

+: present, -: absent, N: negative, P: positive



**Fig. 1. Inhibitory effects of crude culture filtrates of the isolate TH-04 (*Streptomyces* sp.) against mycelial growth of *Monilinia fructicola*(MF), *Colletotrichum gloeosporioides*(CG), *Magnaporthe grisea* (MG), *Rhizoctonia solani*(RS), *Phytophthora capsici*(PC), *Alternaria kikuchiana*(AK), *Fusarium solani*(FS), and *Fusarium oxysporum*(FO).**

Inhibition activity(%)={1-(Diameter of mycelial growth on amended medium/Diameter of mycelial growth on unamended medium)}×100. Bars represent standard deviation.

형성하여 chitinase를 생산하는 것이 확인되었다(Table 2, Fig 2B). 또한 TH-04와 120 균주는 Christensen-urea 배지에서 균총 주변을 붉은색 보라색으로 변화시켜 urease 생성을 확인 할 수 있었다(Table 2, Fig. 2C). 따라서 여러 병원균에 대하여 항진균 활성을 보였던 TH-04 균주의 길항력은 항진균성 물질을 분비하는 동시에 이 균주가 생산하는 chitinase에 의한 곰팡이 세포벽의 분해와 urease에 의한 urea의 가수분해에 따른 것이라 생각할 수 있다. Urease는 휘발성 ammonia 분자와 carbonic acid를 생산하여 pH를 급격하게 상승시키며, 그에 따라 병원균의 생육을 저해하는 것으로 알려져 있다[18]. 이러한 결과를 고려할 때 본 연구를 통하여 분리된 방선균 TH-04 균주는 지상부·지하부 식물병의 생물적 방제균으로서 이용 가능성이 클 것으로 생각한다[4,12,18].

**배양적 특성, 세포벽 성분 및 세포당 성분 분석.** 몇 가지의 ISP 배지에서 배양한 TH-04 균주의 배양적 특성을 보면(Table 3), 공시한 9종의 배지 중 Czapeck's sucrose agar 배지에서만 생육이 저조하였고, tryptone yeast extract agar(ISP 1)를 비롯한 나머지 8 종류의 배지에서는 전반적으로 생육이 양호하였다. 기중 균사의 색깔은 모두 흰색이었으며, tryptone yeast extract agar(ISP 1), yeast malt extract agar(ISP 2), oatmeal agar(ISP 3) 및 bennett's agar 배지에서는 배지를 갈색으로 변색시켰으나, 다른 배지에서는 색소를 형성하지 않았다. Inorganic salt starch agar(ISP 4) 배지에서 성장한 균총을 주사전자현미경으로 관찰한 결과, Table 4 및 Fig. 3과 같이 포자의 표면은 smooth하고 포자 사슬은 rectiflexible한 것으로 나타났다.

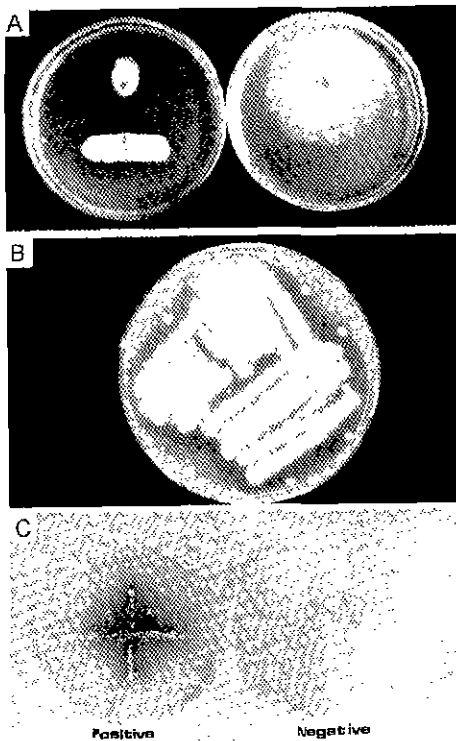


Fig. 2. Antifungal activity of the isolate TH-04 (*Streptomyces* sp.) against *Monilinia fructicola* which cause brown rot of stone fruits (A), production of chitinase(B), and urease(C).

Table 3. Cultural characteristics of the isolate TH-04

Media	Growth	Aerial mycelium	Reverse color	Soluble pigment
Tryptone yeast extract agar(ISP 1)	G	White	Brown	Brown
Yeast-malt extract dextrose agar(ISP 2)	G	White	Brown	Brown
Oatmeal agar(ISP 3)	G	White	Brown	Brown
Inorganic salt starch agar(ISP 4)	G	White	Brown	None
Glycerol-asparagine agar(ISP 5)	G	White	White	None
Tyrosine agar(ISP 7)	G	White	Brown	None
Czapeck's sucrose agar	P	None	None	None
Bennett's agar	G	White	Brown	Brown

G: good, P: poor

방선균 내의 세포벽 성분인 LL, meso 및 3-OH diaminopimelic acid(DAP)의 구성을 확인 결과, Table 5와 Fig. 4A에 나타난 바와 같이 세포벽이 LL-DAP로 구성되어 있으며, *Streptomyces* spp.의 세포벽에 존재하는 아미노산인 glycine[15]이 확인되었다. 그러나 세포물질의 chromatography에서는 특이한 당을 확인할 수 없었다(Fig. 4B).

이와 같은 TH-04 균주의 배양적, 형태적 특성, 세포벽 성분 및 세포내 당 성분 분석결과를 방선균 동정기준과 비

Table 4. Morphological characteristics of the isolate TH-04

Characteristics	TH-04
Colony surface	Powdery
Spore chain	Rectiflexible
Spore surface ornamentation	Smooth
Other pigment	None
Reverse color	White - Brown
Aerial mass color	White



Fig. 3. Spore chain of the *Streptomyces* sp. TH-04 growing on inorganic salt starch agar( $\times 20,000$ ).

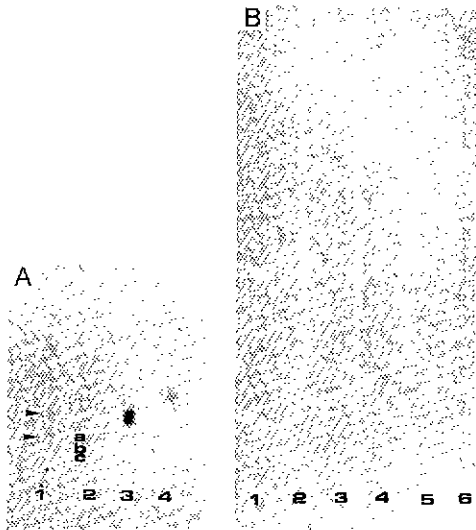
Table 5. Diagnostic characteristics of *Streptomyces* and TH-04 isolate from mummified peaches

Characteristics	<i>Streptomyces</i>	TH-04
Colony size	Discrete	Discrete
Substrate mycelium		
Spores	±	+
Sporangia	-	-
Motile spores	-	-
Aerial mycelium		
Chains of arthrospores	+	+
Arthrospores in verticils	-	-
Spore surface smooth	+	+
Sugars in cell hydrolysates		
Arabinose, galactose, xylose	-	-
Cell wall hydrolysates	L,L-DAP	L,L-DAP

+: positive, -: negative, ND: not determined

교한 결과 *Streptomyces*속으로 동정 할 수 있었다[15].

**항생물질 생산조건.** 선발된 형진균성 방선균 *Streptomyces* sp. TH-04의 생육과 항생물질 생산에 미치는 최적 배양 온도, pH 및 배양시간을 YMD 액체배지를 기본 배지로 하여 조사하였다. 배양온도에 따른 항생물질 생산은 Fig. 5A와 같이 20°C에서 가장 많았으며, 균 생육도 20°C에서 가장 왕성한 것으로 나타났다. 그러나 균 생육은 25°C부터, 항생물질은 35°C부터 급격히 감소하기 시작하여 40°C에서



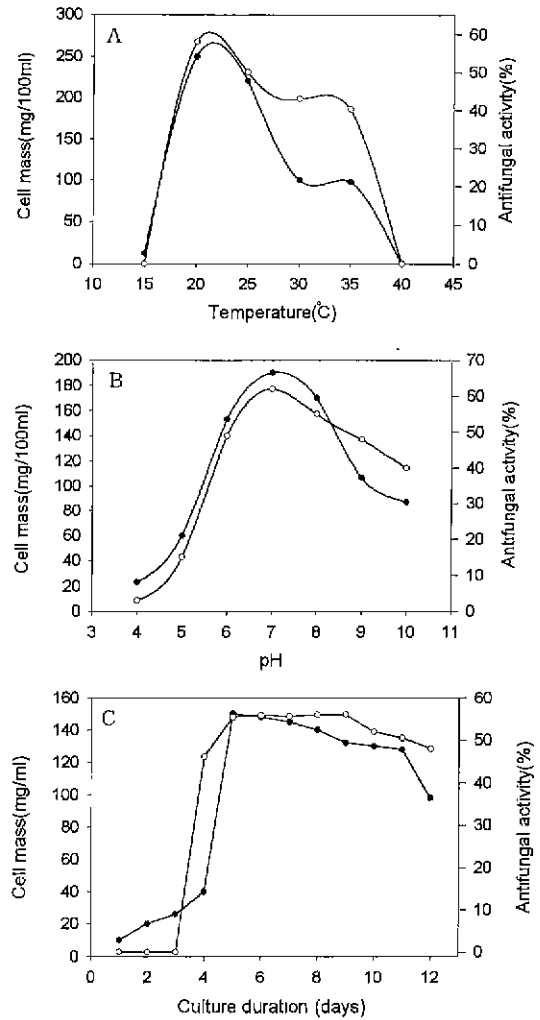
**Fig. 4.** Cellulose thin layer chromatogram of cell wall diaminopimelic acid(DAP) isomer and amino acids(A) and sugar patterns(B) for whole cell extract of the *Streptomyces* sp. TH-04.

A: 1. Cell wall extract hydrolysate, 2. DAP isomer(a; LL-DAP, b; meso-DAP, c; 3-OH DAP), 3. glycine, 4. glutamic acid.  
 B: 1. arabinose, 2. galactose, 3. glucose, 4. mannose, 5. rhamnose, 6. whole cell wall extract.

는 자라지도 않고 항균성도 보이지 않았다(Fig. 5A). 또한 pH가 상승함에 따라 균 생육과 물질 생산 능력이 동시에 증가하여, pH 7에서 최고에 이르렀으나, 그 이상에서는 감소하는 것으로 나타났다(Fig. 5B). 균 생육이 가장 좋았던 20°C에서 조사하였을 때, 배양 5일만에 균 밀도가 최고에 이르러 stationary phase를 유지하다가 9일째부터 서서히 감소하기 시작하였는데, 항균활성은 균 밀도 증가 보다 다소 늦게, 그러나 비슷한 경향으로 증가하여 7일째 최고치를 보이고 약 4일 정도 유지되다가 감소하기 시작하였다(Fig. 5C). 따라서 항균성 물질의 생산 최적 조건은 온도 20°C, pH 7 및 배양기간 7-8일로 나타났다. 현재 항균물질의 동정을 위한 실험을 수행하고 있으며, 차후에 이에 관한 결과를 발표할 예정이다.

**요 약**

*Monilinia fructicola*에 의해 감염되어 미이라화된 복숭아 열매로부터 *Monilinia fructicola*에 강한 항진균성 물질, chitinase 및 urease을 분비하는 방선균을 분리하였다. 선발된 TH-04 균주는 배양적·형태적 특성, 세포벽 성분 및 세포내 당 성분을 분석한 결과, 전형적인 *Streptomyces*속에 속하는 방선균으로 동정되었다. TH-04 균주는 *Monilinia fructicola*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Magnaporthe grisea*, *Rhizoctonia solani*, *Phytophthora capsici*, *Alternaria kikuchiana*, *Fusarium solani* 및 *Fusarium oxysporum* 등 8종의



**Fig. 5.** Effects of temperature (A), pH (B), and time (C) on growth (●) and antifungal activity (○) of *Streptomyces* sp. TH-04.

식물병원균에 대하여 항진균 활성을 나타냈다. 항생물질 생산을 위한 배양조건은 온도 20°C, pH 7 및 배양기간 7일로 확인되었다.

**REFERENCES**

1. Agrios, G. N. 1997. *Plant Pathology*; pp.635. Academic Press, Inc., New York. 635pp.
2. Ames, B. N. 1979. Identifying environmental chemicals causing mutations and cancer. *Science* **204**: 587-593.
3. Baker, C. J., J. R. Stavelly, C. A. Thomas, M. Saser, and J. S. MacFall. 1983. Inhibitory effect of *Bacillus subtilis* on *Uromyces phaseoli* and on development of rust pustules on bean leaves. *Phytopathology* **73**: 1148-1152.
4. Becker, J. O. 1993. Control of soil-born pathogens with living bacteria and fungi: status and outlook. *Pestic. Sci.* **37**: 355-363.
5. Bus, V. G., A. J. Bongers, and L. A. Risse. 1991. Occur-

- rence of *Penicillium digitatum* and *P. italicum* resistant to benomyl, thiabendazole, and imazail on citrus fruit from different geographic origins. *Plant Dis.* **75**: 1098–1100.
6. Chaplin, M. F. and J. F. Kennedy. 1986. TLC analysis of carbohydrates. *Carbohydrate Analysis*, pp. 12. Oirl Press, Oxford.
  7. Delp, C. J. 1988. *Fungicide resistance in North America*, pp.133. The American Phytopathological Society, St. Paul, Minn.
  8. Elmer, P. G. A. and R. E. Gaunt. 1994. The biological characteristics of dicarboximide-resistant isolates of *Monilinia fructicola* from New Zealand stone-fruit orchards. *Plant Pathology* **43**: 130–137.
  9. Juileta, U. C., N. Elango, I. Polaccheck, and E. Cabib. 1982. Endochitinase, a mannan-associated enzyme from *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Biol. chem.* **257**: 1392–1397.
  10. Katz, E. and A. Demain. 1977. The peptide antibiotics of *Bacillus*: chemistry, biogenesis, and possible functions. *Bacteriol. Rev.* **41**: 449–474.
  11. Lange, L., J. Breinholt, F. W. Rasmussen, and R. I. Nielsen. 1993. Microbial fungicide—the natural choice. *Pestic. Sci.* **39**: 155–160.
  12. Lechevalier, H., M. P. Lechevalier, and B. Becker. 1966. Comparison of the chemical composition of cell-walls of nocardiae with that of other aerobic actinomycetes. *International Journal Systemic Bacteriology* **16**: 151–160.
  13. Lee, J. Y., B. S. Kim, and B. K. Hwang. 1995. Numerical identification of *Streptomyces flaveus* producing antibiotic substances inhibitory to plant pathogenic fungi. *Journal of Microbiology and Biochemistry* **5**: 324–334.
  14. Powel, K. A. and F. M. Fox. 1993. Technical and commercial aspects of biocontrol products. *Pestic. Sci.* **37**: 315–321.
  15. Shirling, E. B. and D. Gottlieb. 1966. Methods for characterization of *Streptomyces* species. *International Journal Systemic Bacteriology* **16**: 313–340.
  16. Sivan, A. and I. Chet. 1989. Degradation of fungal cell wall by lytic enzymes of *Trichoderma harzianum*. *J. Gen. Microbiol.* **135**: 675–682.
  17. Skujus, J. J., H. J. Potgieter, and M. Alexander. 1965. Dissolution of fungal cell walls by a Streptomycete chitinase and  $\beta$ -(1–3)glucanase. *Arch. Biochem. Biophys.* **111**: 358–364.
  18. Taso, P. H. and J. J. Oster. 1981. Relation of ammonia and nitrous acid to suppression of *Phytophthora* in soils amended with nitrogenous organic substances. *Phytopathol.* **71**: 53–59.
  19. Vesdoner, R. F. and P. Golinski. 1989. Metabolites of *Fusarium*. In: *Fusarium-mycotoxins, taxonomy and pathogenicity*, ed. by Chelkwski, pp.1–39. Amsterdam, Elsevier.

(Received February 22, 2000)