한국환경농학회지 제28권 제3호 (2009)
Korean Journal of Environmental Agriculture Vol. 28, No. 3, pp. 289-294

연구보문

사과 곰팡이병에 길항하는 *Streptomyces* sp. S-1110의 분리 및 길항 물질의 생산

신진호 · 김은정 · 박선지 · 이인구 · 신재호*

경북대학교 응용생명과학부

(2009년 9월 2일 접수, 2009년 9월 24일 수리)

Isolation and Production of Antibiotic Substance from *Streptomyces* sp. S-1110 Antagonistic to Multiple Apple Mold Diseases.

Jin-Ho Shin, Eun-Jung Kim, Sun-Ji Park, In-Koo Rhee, and Jae-Ho Shin*(School of Applied Biosciences, Kyungpook National University, Daegu, 702-701, Korea)

ABSTRACT: Concerning about the negative impact of chemical pesticides on human health and the environment has been leading to dramatic increase of research in natural product-based pesticides. An antagonistic bacterium *Streptomyces* sp. S-1110 was isolated from apple farm soil. The culture filtrate of the strain showed growth inhibition effects to apple pathogenic fungi, *Botryosphaeria dothidea, Colletotrichum gloeosporioides* and *Rhizoctonia solani*. The unidentified antibiotic substances from the strain kept antagonistic activity either after heat treatment at 121 ℃ for 1 h or pH treatment at range of pH 3 - pH 12 for 24 h. The substances also prevented apple fruit from spoiling by inoculated two pathogenic molds, *B. dothidea* and *C. gloeosporioides*. These results suggested that the isolated strain would be useful as a biocontrol agent to control apple spoiling occurred from mold.

Key Words: Antagonistic bacteria, Biocontrol agent, *Botryosphaeria dothidea, Colletotrichum gloeosporioides, Rhizoctonia solani*

서 론

우리나라 과수 재배 면적의 20% 이상을 차지하는 대표적 과실인 사과는 재배 중일 때를 비롯하여 수확 후에도 다양한 병해를 받고 있다[1]. 특히 과실에 나타나는 병해는 농가의 직접적인 수익과 직결되므로 병해 방제가 중요하다. 사과 재배에 큰 피해를 주는 병해로는 사과 겹무늬썩음병, 사과 탄저병, 라이족토니아병 등이 대표적이다[2-4]. 최근에는 화학 농약의 과다 사용으로 인한 품질저하, 염류집적 등의 문제와 화학합성 식물보호제의 존재나 독성으로 인한 안전성 문제가 소비자들에 의해 제기되고 있는 상황이므로 사과 병충해 방제용 약제의 사용에 많은 제약이 있는 실정이다. 따라서 화학약제를 대신할 수 있는 생물학적 병충해 방제법이 관심을 받으면서 그에 대한 연구도 활발히 진행되고 있다[5-9]. 그러나 지금까지는 주로 한 종류의 병해에 대한 생물학적 방제 연구가 대부분이어서 다양한 병해에 복합적인 길항력을 가지는 길항미생물에 대한 연구는 드물었다.

본 논문에서는 *Botryosphaeria dothidea*을 원인균으로 발생하는 사과의 겹무늬썩음병, *Colletotrichum gloeosporioides*가 원인인 탄저병, *Rhizoctonia solani*에 의해 발생하는 라이족토니아병 등에 대한 복합 길항력을 가지는 길항미생물의 분리와 그 효과를 검증하였다. 또한 저장 중의 사과 과실에 발생하는 곰팡이병에 효과적인 생물학적 방제제로서의 가능성을 확인하였다.

재료 및 방법

사과 과수원 토착 미생물의 분리

사과 과수원에 존재하는 토착 길항미생물을 분리하기 위하여 경북 영천, 군위, 문경, 대구시 일대의 사과 과수원을 위주로 표면 10~15 cm 깊이의 근권 토양에서 약 100 g 시료

*연락저자:
Tel: +82-53-950-5716 Fax: +82-53-953-7233
E-mail: jhshin@knu.ac.kr

를 채취하였다. 시료는 실험실로 옮긴 후 4℃의 저온실에 보관하며 미생물 분리를 실시하였다. 토양 시료는 0.85% 생리식염수에 현탁하여 미생물 생육 배지에 도말한 후 30℃에서 배양하면서 다양한 종류의 미생물 콜로니를 확보하였다. 세균을 분리할 목적으로는 nutrient agar(0.85% sodium chloride, 0.5% peptone, 0.3% beef extract, 1.5% agar) 배지를 사용하였고 방선균 분리를 위해서는 yeast extract-soluble starch(1.0% soluble starch, 0.2% yeast extract, 1.5% agar) 배지를 사용하였으며 효모와 같은 진균류의 분리를 위해서는 maltose-yeast(0.3% yeast extract, 0.3% maltose extract, 0.5% peptone, 1.0% glucose, 2.0% agar) 배지를 사용하였다[10,11].

사과 병원균 및 분리 미생물의 배양

사과에 병을 일으키는 병원균으로는 실험실 자체에서 보유한 사과 겹무늬썩음병균(*B. dothidea*)과 탄저병균(*C. gloeosporioides*) 및 라이족토니아균(*R. solani*)을 potato dextrose agar(PDA: potato dextrose agar, 2.0% dextrose, 0.4% potato starch, 1.5% agar) 배지에서 순수 분리하여 사용하였다. 균의 배양 온도는 각각 28℃, 28° C, 25℃를 사용하였다. 사과 병원균에 대한 길항력 실험을 위해 분리된 미생물은 각각의 분리용 배지에 배양하여 단독 콜로니를 형성시킨 후 콜로니 전체를 PDA 배지로 옮겨 길항력을 조사하였다.

길항미생물의 선발

사과 병원균에 길항하는 미생물은 대치배양을 통한 억제환 생성법(inhibition zone method)으로 선발하였다. 길항미생물 선발을 위해서 potato dextrose agar(PDA) 배지 중앙에 각각 *B. dothidea*, *C. gloeosporioides*, *R. solani* 를 함유한 25 mm²(5 mm × 5 mm) 크기의 함균(含菌) 한천 디스크를 접종하고 각각의 온도에서 배양하였다. 병원균이 중앙으로부터 자라나와 직경이 4 cm 정도가 되었을 때 길항미생물 선발을 위한 후보 콜로니들을 병원균의 가장자리로부터 1 cm 떨어진 위치에 접종하여 계속 생육시키면서 길항 여부를 판단하였다. 이때 *B. dothidea*는 28℃에서 4 일간, *C. gloeosporioides*는 28℃에서 9 일간, *R. solani*는 25℃에서 2 일간 배양하면서 관찰하였다. 병원균의 성장을 억제하는 생육억제환이 보이는 균주들을 최종적으로 길항력이 있는 균주로 판정하였으며 이 중에서 세 가지 병원균에 모두 길항력을 보이는 균주들을 선발하였다.

선발된 길항미생물의 동정

길항미생물의 동정은 16S rRNA 염기서열의 분석을 통하여 실시하였다[12]. 길항미생물로부터 염색체 DNA를 분리하고 이를 주형으로 하고 2종의 프라이머 27F(5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3'), 1492R(5'-TACGGYTACCTTGTTACGACTT-3')과 함께 Pfu DNA polymerase(Solgent Co., Korea)를 이용하여 16S rRNA 영역을 PCR로 증폭하였다. 증폭된 PCR 산물은 T-vecter에 클로닝하여 솔젠트사(Solgent Co., Korea)에 의뢰하여 염기서열을 분석하였다. 염기서열 결과에 대한 분석은 National Center for Biotechnology Information (NCBI) 에서 운영하고 있는 nucleotide megablast 프로그램을 이용하였고 DNA 염기서열 및 아미노산 서열의 상동성 검색은 NCBI에서 운영하는 BLAST 검색 프로그램을 이용하였다

길항미생물의 항진균 활성분포

선발된 길항미생물 배양액에 함유된 항진균 물질의 활성을 측정하기 위해 Dendroid test[13]를 변형한 방법을 사용하였다. 먼저 nutrient broth에 배양한 배양액 20 mL을 12,000 rpm 에서 10 분간 원심분리 후 상등액을 0.45 ㎛ membrane filter로 여과하여 배양상등액 혹은 culture filtrate로 사용하였다. 균체파쇄액은 원심분리 후 모인 균체(cell pellet)를 배양액 1/10 부피의 0.85% 생리식염수에 현탁하고 세포압추출기(Vision VS-4600P, Korea)를 이용하여 파쇄하고 원심분리 한 상등액을 원 배양액과 동일한 부피의 0.85% 생리식염수에 현탁하여 제조하였다.

항진균 활성 측정을 위한 평판배지는 준비한 배양상등액이나 균체파쇄액 10 mL와 0.1 M acetate buffer (pH 5.4) 10 mL를 1.25 배 농축한 PDA 배지 80 mL에 혼합하여 페트리 접시에 굳혀 제조하였다. 준비된 활성 측정용 평판배지의 중앙에 각 병원균이 자라있는 25 mm²(5 mm × 5 mm) 크기의 함균(含菌) 한천 디스크를 접종한 후 사과 겹무늬썩음병균은 28℃에서 4 일간, 사과 탄저병균은 28℃에서 9 일간, 라이족토니아균은 25℃에서 2 일간 배양하여 병원균이 자라면서 전개된 직경으로 항진균 활성을 간접 측정하였다. 항진균 활성의 수치는 PDA 배지만을 그대로 쓴 대조군에서 자란 병원균의 전개 직경과 상대적으로 비교하여 백분율로 나타내었으며 구체적인 수식은 다음과 같다.

Antifungal activity = (CED -TED) / CED X 100
CED, controlled expanding diameter(대조구의 병원균 전개 직경)
TED, tested expanding diameter(실험구의 병원균 전개 직경)

길항미생물이 생산하는 길항물질의 내열성, pH 안정성 조사

길항미생물이 생산하는 길항물질의 열과 pH에 대한 안정성을 조사하였다. 길항미생물의 배양상등액을 80℃, 90℃, 100℃, 및 121℃에서 각각 1 시간의 열처리를 하였다. 열처리한 배양상등액은 Dendroid test를 변형한 방법으로 항진균 활성을 측정하였다. 길항물질의 pH에 대한 안정성 조사를 위해서는 배양상등액을 0.1 N HCl 또는 0.1 N NaOH로 각각 pH 3에서 pH 12까지의 범위로 수소이온농도를 조정한 다음 4℃에서 24 시간 방치한 후 항진균 활성을 측정하였다.

사과 과실에서 길항물질 방제력 검증

분리된 길항미생물이 생산하는 길항물질이 실험실의 배지가 아닌 사과 과실에서도 길항력을 가지는지 검증하기 위하여 경상북도 군위군 부계면에서 재배된 만생종 후지(부사) 종류의 사과 과실을 생체 시료로 사용하여 조사하였다. 먼저 사과를 1%로 희석된 글리세린 지방산 에스테르(일신유화, 한국)로 세척한 후 10% hypochlorite 용액으로 한 번 더 세척하였다. 사과의 꼭지 주위 세 곳과 배 부분의 과점에 멸균한 유리봉을 이용하여 2 mm × 2 mm의 상처를 낸 다음 길항미생물의 배양상등액 300 mL에 사과를 10 초간 침지시키고 풍건시켰다. 풍건된 사과의 상처 부위에 *B. dothidea* 및 *C. gloeosporioides*의 포자를 접종하여 28℃에서 10 일간 보존하면서 겹무늬썩음병과 탄저병의 발병여부와 발병 억제력을 확인하였다.

결과 및 고찰

길항미생물의 분리 및 길항력 검정

사과 겹무늬썩음병, 탄저병, 라이족토니아병에 항균활성을 보이는 길항미생물을 분리하기 위하여 경북 지역의 사과 과수원 토양에서 분리한 280점의 균주를 사과 병원균인 *B. dothidea*, *C. gloeosporioides*, *R. solani* 과 대치 배양하여 세 가지 병원균에 모두 길항하는 9 종의 균주를 분리하였다(Table 1).

실험실이 아닌 산업적인 규모의 생물학적 방제법을 개발하기 위해서는 안정성의 유지와 유통이 힘든 길항미생물을 직접 사용하기보다 길항미생물이 내는 천연 항생물질을 제제화하는 것이 유리하다는 것이 근래의 생물학적 방제법 연구의 경향이다[14,15]. 이에 따라 분리된 9 종의 균주 중에서 안정한 길항물질을 분비하는 미생물을 찾기 위하여 각 미생물의 균체와 배양액을 121℃에서 15 분간 가열한 후 여액에 남아있는 길항력을 조사하였다. 아홉 종의 미생물 중 8 종은 열처리한 여액에서 전혀 길항력이 발견되지 않았고 열처리 후의 여액에서 3 종의 병원균에 대한 복합 길항력이 확인된 것은 S-1110 뿐이었다. S-1110은 특히 콜로니의 크기에 비해 길항환의 형성이 우수하였으므로 천연 길항물질의 생산이 우수할 것으로 추정되어 최종적으로 사과의 병해 방제를 위한 길항미생물로 선발하였다.

길항미생물 S-1110의 동정

길항미생물 S-1110의 genomic DNA를 주형으로 약 1.3 kb 크기의 16S rRNA 영역을 PCR 증폭하여 염기서열을 확보하고 GeneBank의 BLAST 검색을 활용하여 다른 미생물과의 상동성을 분석한 결과 *Streptomyces virginiae* ATCC 19817, *S. lavendulae* ATCC 19777, *S. spororaveus* ATCC 43694, *S. nojiriensis* ATCC 29781, *S. xanthophaeus* ATCC 19819 등과 100% 일치하였다. 이들 중 *S. virginiae*는 최근 그람양성 및 음성 세균과 효모, 사상균 등에 대한 길항력이 보고된 바 있고[16], *S. nojiriensis*는 세균의 생장을 억제하는 streptothricin계 항생물질을 생산하는 것이 보고되었다[17]. 특히 *S. lavendulae*는 peptide계 항진균 물질인 glomecidin을 생산하는 것이 확인된 바 있다[18]. S-1110이 생산하는 항진균 물질은 열에 매우 안정하였으므로 peptide계 항진균 물질은 아닌 것으로 판단되었고 16S rDNA 염기서열분석이나 생화학적 특성에 따른 분류방법으로는 종의 동정이 매우 어려운 것으로 알려진 *Streptomyces* 속의 특성을 감안하여 분리된 길항미생물을 *Streptomyces* sp. S-1110으로 명명하였다.

배양상등액 및 균체추출액의 항진균 활성

분리된 길항미생물 *Streptomyces* sp. S-1110이 생산하는

Table 1. Growth inhibition of 9 antifungal bacteria on mycelia growth of apple pathogens

Isolates	Isolated media	Inhibition rate of mycelia growth		
		Rhizoctonia solani	*Botryosphaeria dothidea*	*Collectotrichum gloeosporioides*
S-85	YS Agar	++[a]	+	++
S-279	YS Agar	+	+	+
S-1110	**YS Agar**	**++**	**++**	**+++**
J-1	Nutrient Agar	++	+++	+++
J-2	Nutrient Agar	+++	++	++
J-3	Nutrient Agar	+++	+++	+++
J-4	Nutrient Agar	+	+	−
J-5	Nutrient Agar	++	++	++
J-6	MY Agar	++	+	+

[a] Symbols: −, no inhibition zone; +, inhibition zone less than 2 mm; ++, inhibition zone between 2 mm to 5 mm; +++, inhibition zone more than 5 mm.

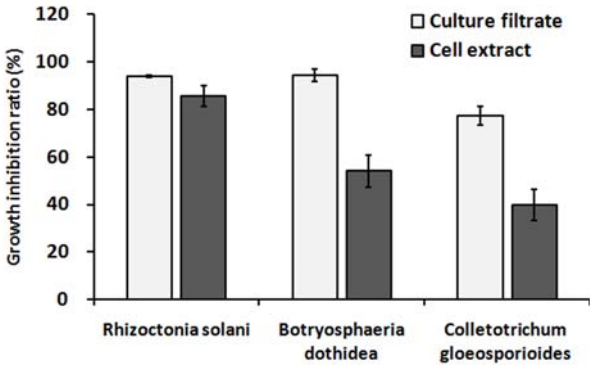

Fig. 1. Growth inhibition effect of cell extract and culture filtrate of the ***Streptomyces*** sp. S−1110 against apple pathogenic fungi. Cell was cultured for 24 h at 30℃ with vigorous shaking. After centrifugation of the culture, supernatant was filtered by 0.45 ㎛ pore sized filter paper and prepared as culture filtrate. Cell pellet was resuspended in saline solution with same volume of the supernatant. Cell extract was prepared by recovering supernatant of the cell resuspension after passing french press twice. Each values of the graph are average of three repeated experiments and error bar represent standard deviation.

항진균 활성 물질의 분비 여부를 확인하기 위하여 균을 nutrient broth에 24 시간 배양하여 배양상등액과 세포추출물의 항진균 활성을 각각 조사하였다. 항진균 활성은 재료 및 방법에 기술된 바와 같이 항진균 물질에 의한 병원균 콜로니의 성장의 저해정도를 대조구와 비교하여 측정하였다. Fig. 1에서와 같이 *Streptomyces* sp. S−1110의 배양상등액 및 균체추출액에서 모두 항진균 활성을 관찰할 수 있었다. 라이족토니아병의 원인균인 *R. solani*에 대하여 배양상등액과 균체추출액은 모두 90% 내외의 저해율을 보였고, 겹무늬썩음병균인 *B. dothidea*에 대해서는 배양상등액은 90% 이상의 저해율을 보인 반면에 균체추출액에서는 50% 내외의 저해율이 나타났다. 탄저병의 원인균인 *C. gloeosporioides*에 대해서도 배양상등액은 80% 정도의 저해율을 보였으나 균체추출액은 40% 정도의 저해율을 보였다. 이 결과로 볼 때 길항미생물 S−1110의 길항 성분은 nutrient broth에서 성장하면서 대부분 분비가 되는 것으로 보이며 이것은 많은 토양 방선균이 항생물질을 생산하는 형태와 유사하였다[19].

S−1110이 생산하는 항진균 물질의 안정성

길항미생물 *Streptomyces* sp. S−1110이 생산하는 항진균 물질의 온도안정성을 조사하기 위하여 길항미생물의 배양상등액을 80℃ − 121℃ 범위의 온도에서 각각 한 시간의 열처리를 한 후 잔존해 있는 항진균활성을 조사하였다(Fig. 2).

Fig. 2의 그래프에서 보는 바와 같이 라이족토니아병의 원인균인 *R. solani* 에 대해서는 121℃의 열처리군에서도 90% 이상의 생육저해정도를 나타내므로 열에 매우 안정한

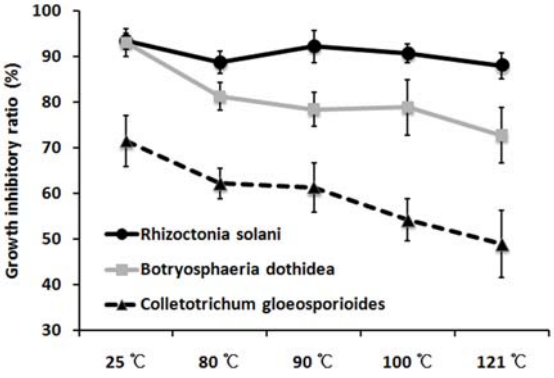

Fig. 2. Antifungal activity of the heat treated culture filtrate of ***Streptomyces*** sp. S−1110 against apple pathogenic fungi. Culture filtrate was treated for 1 h at each temperature before the growth inhibition rate (%) was measured. Error bar represent standard deviation of three repeated experiments.

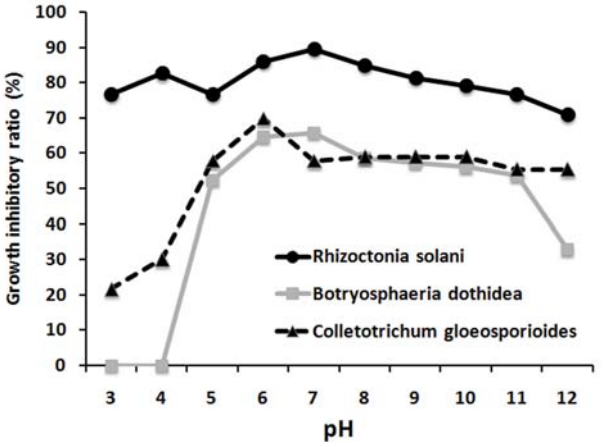

Fig. 3. Antifungal activity of the pH−treated culture filtrates of ***Streptomyces*** sp. S−1110 against apple pathogenic fungi. Culture filtrate was treated for 24 h at each pH before the growth inhibition rate (%) was measured.

물질임을 알 수 있었다. 겹무늬썩음병의 원인균인 *B. dothidea*와 탄저병의 원인균인 *C. gloeosporioides*에 대해서도 정도의 차이는 있으나 열처리 후에도 상당량의 활성이 잔존해 있었다. 열처리 후 세 가지 병해균에 대한 생육저해정도의 감소가 조금씩 다르게 나타나는 것은 각 병해균들의 길항물질에 대한 감수성이 다르기 때문인 것으로 추정된다.

항진균 물질의 pH 안정성을 조사하기 위하여 길항미생물의 배양 상등액을 pH 3에서 pH 12 사이 범위의 수소이온농도에서 각각 24 시간 처리를 한 후 남아있는 항진균 활성을 조사하였다. Fig. 3의 그래프에서 보는 바와 같이 라이족토니아병의 원인균인 *R. solani* 에 길항을 나타내는 물질의 경우 pH 3에서 pH 12의 매우 넓은 범위의 pH에서도 안정함을 알 수 있었으며 탄저병의 경우에는 pH 5 이상의 영역에서는 비교적 안정하였으나 pH 3과 pH 4의 범위에서는 각각 20%

와 30% 정도의 생육저해활성을 나타내었다. 낮은 pH의 처리 후에 항진균 활성이 떨어지는 것은 겹무늬썩음병의 원인균인 *B. dothidea*에서 특히 두드러지게 나타났다. S-1110이 생산하는 항균물질은 pH 4 이하의 범위에서는 급속히 안정성이 떨어지는 현상을 보였다. 이렇게 각 병원균에 대한 길항물질의 pH 안정성의 경향이 다르게 나타나는 것으로 보아 S-1110은 각각의 병원균에 단독 혹은 복합적으로 작용하는 길항물질을 최소한 두 가지 이상 생산하는 것으로 판단되며 이들이 어떤 특성을 가지고 있는지는 계속된 실험으로 밝혀져야 할 것으로 보인다.

길항미생물 *Streptomyces* sp. S-1110가 생산하는 길항물질은 비교적 우수한 온도안정성과 넓은 범위의 pH 안정성을 가지고 있으므로 상업적인 생물학적 방제제의 개발을 위한 균주로서의 가치가 있을 것으로 판단된다.

사과과실에 대한 길항물질의 병해 억제력 검증

토양에서 분리한 길항미생물인 *Streptomyces* sp. S-1110이 사과 과실에 발생하는 곰팡이병을 효과적으로 방제 할 수 있는지 검증하기 위하여 사과 과실에 직접 사과 겹무늬썩음병과 탄저병을 발병시킨 후 S-1110 배양상등액으로 방제처리를 하였다. Fig. 4에서와 같이 *B. dothidea* 균에 의해 발병되는 겹무늬썩음병의 경우 사과에 병원균을 접종한 시점으로

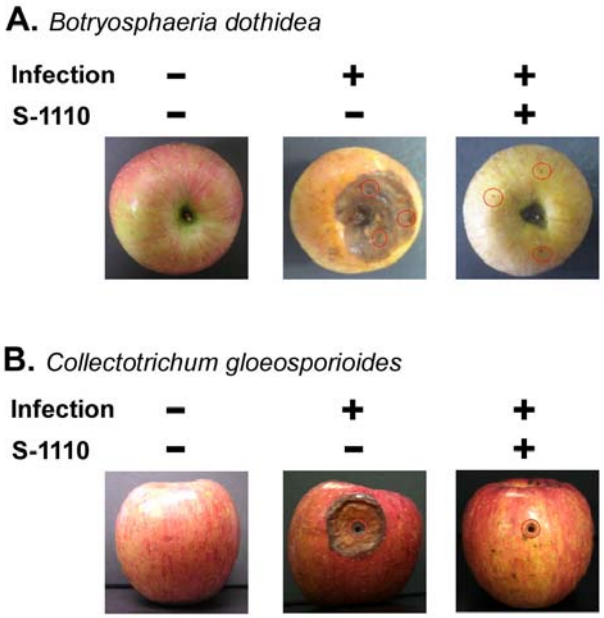

Fig. 4. Antagonistic effects of the culture filtrate of *Streptomyces* sp. S-1110 to apple pathogenic fungi. A, *Botryosphaeria dothidea* infection and its antagonistic treatment; B. *Collectotrichum gloeosporioides* infection and its antagonistic treatment. S-1110 culture broth was sprayed before inoculate the apple pathogenic fungi. + means inoculation or treatment. Circles indicate that the initial infection points. All pictures were taken after 10 days from each treatment.

부터 6 일에서 10 일이 지나면 완전히 발병하였지만 접종 부위에 *Streptomyces* sp. S-1110의 배양상등액을 먼저 처리한 경우에는 10 일이 경과하여도 전혀 발병하지 않았다(Fig. 4A). 또한 탄저병의 경우에도 접종 후 5 일이 지난 시점부터 발병이 시작되어 8 일에서 10 일 후에는 완전히 발병하지만 배양액을 처리한 사과에서는 10 일이 지나도 발병환이 3 mm 이내로 유지되었다(Fig. 4B). 이렇게 *Streptomyces* sp. S-1110은 사과 생산과 저장에 피해를 주는 곰팡이 병을 효과적으로 방제할 수 있었으며 따라서 과수원 노지 및 저장소에서 동시에 사용할 수 있는 천연 복합방제제로의 개발 전망이 밝은 것으로 기대된다. 따라서 본 연구팀은 본 균주가 생산하는 항생물질의 종류와 구조를 동정하고 보다 다량의 항생물질을 생산할 수 있는 변이체 균주를 육종 중에 있다.

요 약

사과 재배에 피해를 주고 있는 사과 겹무늬썩음병, 탄저병, 라이족토니아병을 복합적으로 방제하기 위한 기초연구로서 각 병원균에 대하여 우수한 길항력을 동시에 가지는 길항미생물을 선발하고 *Streptomyces* sp. S-1110으로 동정하였다. 분리된 길항미생물은 배양상등액으로 길항물질을 분비하였으며 우수한 열안정성과 pH 안정성을 가지는 특성이 있었으며 각 병원균에 대한 감수성이 조금씩 달라서 2 종 이상의 길항물질이 동시에 생산되어 길항작용을 하는 것으로 추정되었다. 또한 분리균이 생산하는 길항물질을 사과 과실에 직접 접종된 사과 겹무늬썩음병과 탄저병의 방제를 위해 실험한 결과 높은 방제력을 보였다. 따라서 분리된 길항미생물은 사과 과수원 및 저장소에서 동시에 수 종의 질병방제에 쓰일 수 있는 천연 복합방제제의 개발을 위한 기초 균주로의 가치가 높은 것으로 판단된다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 바이오그린21사업(과제번호: 20080401034042)과 농업특정연구개발사업(과제번호: 20080401-033-084-001-03-00)의 지원에 의해 이루어진 것이며 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. Kim H. Y. (2000). The Perspectives of Apple Industry for 21C in Korea, *KOR. J. Hort. Sci. & Technol.* 18(2), pp.140.
2. Kim, E., Kim, H. H., Lee, H. Y., and Uhm, J. Y. (1997). Reduction of Inoculum Density in Apple White Rot by the Coating of Diseased Stems with Polymers, *Plant. Pathlol. J.* 13(5), 349-357.

3. Lee, D. H., Kim, D. A. Lee, S. W., Choi, K. H., and Uhm, J. Y. (2004). Resent Status of Apple Diseases in Major Fruit Producing Areas of Korea('92~'00), *KOR. J. Hort. Sci. & Technol.* 22(sI), pp.131.
4. Lee, Y. H., Cho, W. D., Kim, W. K., Lee, E. J., Han, S.J., and Chung, H. S. (1993) Detailed Survey of Apple and Pear Diseases in Major Fruit Producing Areas of Korea(´88 ~´92), *Plant. Pathlol. J.* 9(1), 47-51.
5. Kim, Y. K., Lee, S. D., Ryu, J. G., and Ryu, J. D. (2003) Biological Control of Blue Mold of Apples by *Bacillus* spp. and *Serratia marcescens*, *Res. Plant Dis.* 9(4), 229-236.
6. Peighamy-Ashnaei, S., Sharifi-Tehrani, A., Ahmad-zadeh, M., and Behboudi, K. (2008) Interaction of media on production and biocontrol efficacy of *Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus subtilis* against grey mould of apple, *Commun. Agric. Appl. Biol. Sci.* 73(2), 249-255.
7. Yu, T., Chen, J., Lu, H., and Zheng, X. (2009) Indole-3-Acetic Acid Improves Postharvest Biological Control of Blue Mold Rot of Apple by *Cryptococcus laurentii, Phytopathol.* 99(3), 258-264.
8. El-Ghaouth, A., Smilanick, J. L., Wisniewski, M., and Wilson, C. L. (2000) Improved Control of Apple and Citrus Fruit Decay with a Combination of *Candida saitoana* and 2-Deoxy-D-Glucose, *Plant Dis.* 84(3), 249-253.
9. Janisiewicz, W. J., Tworkoski, T. J., and Kurtzman, C. P. (2001) Biocontrol Potential of *Metchnikowia pulcherrima* Strains Against Blue Mold of Apple, *Phytopathol.* 91(11), 1098-1108.
10. Ikeda, H., Kotaki, H., Tanaka, H., and Ōmura, S. (1988) Involvement of glucose catabolism in avermectin production by *Streptomyces avermitilis*. *Antimicrob, Agents Chemother.* 32, 282-284.
11. Skaar, I. and Stenwig, H. (1996) Malt-yeast extract-sucrose agar, a suitable medium for enumeration and isolation of fungi from silage, *Appl. Environ. Microbiol.* 62(10), 3614-3619.
12. Lane, D. J., Pace, B., Olsen, G. J., Stahl, D. A., Sogin, M. L., and Pace N. R. (1985) Rapid determination of 16S ribosomal RNA sequences for phylogenetic analyses, *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* 82(20), 6955-6959
13. Iwasa, T., Higashide, E., and Shibata, M. (1971) Studies of validamycins, new antibiotics. 3. Bioassay methods for the determination of validamycin, *J. Antibiot.* 24(2),114-118.
14. Raaijmakers, J., Vlami, M., and de Souza, J. (2002) Antibiotic production by bacterial biocontrol agents, *Antonie. van Leeuwenhoek* 81(1), 537-547.
15. Dayan, F. E., Cantrell, C. L., and Duke, S. O. (2009) Natural products in crop protection, *Bioorg. Med. Chem.* 17(12), 4022-4034.
16. Rifaat, H. M. and Kansoh, A. L. (2004) *Streptomyces virginiae*: Taxonomy, identification and biological activities, *Arab J. Biotechnol.* 8(1), 29-34
17. Miyashiro, S., Ando, T., Hirayama, K., Kida, T., Shibai, H., Murai, A., Shiio, T., and Udaka S. (1983) New streptothricin-group antibiotics, AN-201 I and II. Screening, fermentation, isolation, structure and biological activity, *J. Antibiot.* 36(12), 1638-1643.
18. Kunihiro, S. and Kaneda, M. (2003) Glomecidin, a novel antifungal cyclic tetrapeptide produced by *Streptomyces lavendulae* H698SY2, *J. Antibiot.* 56(1), 30-33.
19. Watve, M., Tickoo, R., Jog, M., and Bhole, B. (2001) How many antibiotics are produced by the genus *Streptomyces*?, *Arch. Microbiol.* 176(5), 386-390.