

## 신규 항진균 물질 AF-011A의 생산균주 동정, 정제 및 물리 화학적 특성

김성호 · 현봉철 · 서정우 · 김창완 · 연창석 · 이덕근  
김광표 · 정재경 · 임용호 · 이철훈\*  
제일제당(주) 종합연구소

### Taxonomy, Purification and Physicochemical Properties of Novel Antifungal Antibiotics AF-011A

Kim, Sung-Ho, Bong-Chul Hyun, Jung-Woo Suh, Chang-One Kim, Chang-Suek Yon, Duk-Keun Lee, Kwang-Pyo Kim, Jae-Kyung Jung, Yoong-Ho Lim and Chul-Hoon Lee\*

Microbiology Lab., R & D Center, Cheil Foods & Chemicals, Inc. 522-1, Dokpyong-ri, Majang-myon, Ichon-kun, Kyonggi-do 467-810, Korea

**Abstract** — AF-011A is a novel lipopeptide with potent antifungal activity isolated from *Pseudomonas cepacia* AF6008 deposited as KFCC 10759. The compound was isolated from the fermentation broth by extraction with 50% isopropyl alcohol. Purification was effected by chromatography on Diaion HP-20, Alumina and C<sub>18</sub> followed by HPTLC on silica gel. These techniques afforded two closely related compounds, AF-011A<sub>1</sub> and AF-011A<sub>2</sub>. The molecular weights of AF-011A<sub>1</sub>/A<sub>2</sub> were determined by fast atom bombardment mass spectrometry(A<sub>1</sub> m/z 1,215 : A<sub>2</sub> m/z 1,199).

Griseofulvin, Nystatin, Amphotericin-B 등 수많은 항진균 항생물질들이 미생물로부터 발견되었으며, 유기합성법에 의하여 다양한 항진균제가 개발되었으나, 진균감염증 치료에 실용화되고 있는 것은 얼마되지 않는다. 비록 실용화된 항진균제라 할지라도 항진균 활성 스펙트럼이 넓지 못하거나 독성에 있어서 대부분 만족할 만한 수준이 못되어 체내 깊숙이 감염된 심재성 진균증을 완치하기는 어려운 점을 고려할 때, 앞으로 저독성, 속효성, 완치성 항진균제의 개발이 절실히 요구되고 있다.

한편, 지금까지 실용화되어온 유기합성 농약은 농작물의 잔류독성과 환경오염이 크게 문제로 대두되어 이제 그 사용이 제한되고 있는 실정이다. 따라서 이런 문제점으로 인하여 유기합성 항진균제를 저독성 천연물로 대체하고자 미생물로부터 유용한 항진균물질을 탐색하는 연구가 관심을 모으고 있다.

본 연구에서는 인체진균증 뿐만 아니라 농작물진균증에도 저농도에서 우수한 항진균력을 나타내고, 단기간에 진균류를 사멸시킬 수 있으며 저독성인 항진균 항생물질을 개발하기 위하여 토양으로부터 항진균활성을 나타내는 미생물을 탐색하였으며, 분리된 균주들 중 항진균활성이 우수한 미생물 AF6008의 특성 및 이 미생물이 생산하는 항진균 항생물질 AF-011A의 물리 화학적 특성을 조사하였다.

### 재료 및 방법

#### 균주의 분리 및 선별

전국 120여 지역의 토양으로부터 미생물을 분리하기 위하여 채취한 토양 1g을 멸균수 50 ml에 가하고 12시간 동안 잘 흔든 다음 희석하여 영양 한천 배지(1)에 도말하였으며 colony 형성 균주들을 YM한천배지(1)에 옮겨 25°C에서 3일간 배양하였다. 그리고 *Candida albicans* 균을 사용하여 희석평판법(1)으로 항진균활성이 있는 균주를 분리하였다. 1차 선별된 균주

**Key words:** *Pseudomonas cepacia*, antifungal antibiotics

\*Corresponding author

들을 glucose 20 g/l, bactopectone 5 g/l, yeast extract 10 g/l, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 1 g/l, CaCO<sub>3</sub> 5 g/l(pH 6.8)을 함유하는 배지에 배양하여 가장 강력한 항진균활성을 나타내는 후보균주를 선발하여 연구에 사용하였다.

**후보균주의 동정**

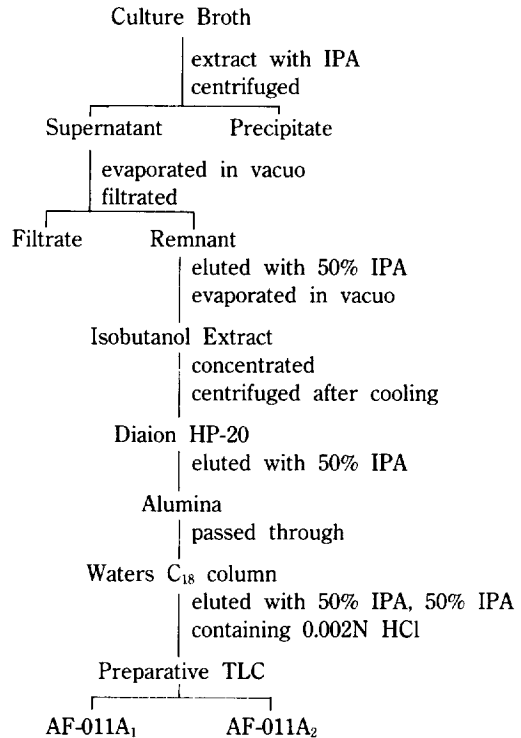
후보균주 AF6008의 동정을 위하여 Bergey's Manual of Systematic Bacteriology(2)와 The Procarvate(3) 그리고 기타문헌(4,5)에 따라 균주의 형태적, 생리적 특성들을 조사하였다.

**항생물질의 생산**

분리한 균주 AF6008을 glucose 20 g/l, bactopectone 10 g/l, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 1 g/l, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.5 g/l, CaCO<sub>3</sub> 3 g/l(pH 7)로 조성된 배지 500 ml에 접종하여 1일간 배양한 후, 이 배양액 500 ml을 glucose 30 g/l, bactopectone 15 g/l, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 1 g/l, CaCO<sub>3</sub> 5 g/l를 함유하는 액체배지 10l에 접종하여 25℃에서 3일간 호기적으로 배양하였다. 이렇게 얻은 AF6008 배양액으로부터 항진균 항생물질을 분리, 정제하였다.

**항진균 항생물질의 분리 및 정제**

상기의 방법으로 얻은 배양액 10l와 isopropyl alcohol(IPA) 10l를 혼합하여 6시간 경과 후 원심분리하여 상등액을 취하였다. 상등액은 감압농축기를 사용하여 60℃에서 IPA를 회수하고, 잔류액을 25℃로 냉각한 다음 규조토로 여과하였다. 여과액은 버리고 규조토를 50% IPA 2l로 수세해 내었으며, 수세액으로부터 IPA를 제거하였다. Isobutanol, methanol 혼합용매(8 : 2) 2l로 잔류액으로부터 항진균 항생물질을 추출한 후 이 추출물을 200 ml로 농축하고 영하 10℃에 6시간 보존하여 침전물을 형성시켰다. 원심분리하여 분리한 침전물을 0.01N NaOH 함유 50% IPA 200 ml에 용해하고 증류수를 가하여 용량을 2l로 하였다. 이렇게 준비한 용액을 Diaion HP-20 수지에 흡착시켰으며 50% IPA로 elution하여 획득한 용액을 alumina column(pH 4)에 통과시켰다. Alumina 통과액은 IPA를 제거하고 Waters C<sub>18</sub> column으로 항진균 활성성분을 분리하였으며 preparative TLC(silicagel)로 AF-011A<sub>1</sub>과 AF-011A<sub>2</sub>를 단리하였다(Fig. 1). 그러나 TLC로부터 분리하여 얻을 수 있는 AF-011A<sub>1</sub>과 A<sub>2</sub>의 양이 매우 제한되어 있었으므로, 아미노산 조성시험 및 FAB/MS에 의한 분자량 측정시험을 제외한 모든 실험항목에서는 AF-011A<sub>1</sub>과 A<sub>2</sub>의 혼합시료인



**Fig. 1. Purification procedure of antifungal compound produced by strain AF6008.**

AF-011A를 사용하였다. 정량분석에 의한 A<sub>1</sub>과 A<sub>2</sub>의 생산성 측정결과, A<sub>1</sub> : A<sub>2</sub>는 약 9 : 1의 비율로 생산되었다.

**항균력조사**

AF-011A의 항균력조사를 위하여, YM 한천배지를 사용한 희석평판법(6)에 따라 최소저지농도(MIC)를 측정하였다. 시험균의 농도는 10<sup>5</sup> CFU/ml로 하였으며 AF-011A 처리 72시간 후의 결과를 기준으로 하였다. 시험시료는 AF-011A<sub>1</sub>과 AF-011A<sub>2</sub>의 혼합물로 하였다.

**AF-011A의 물리 화학적 특성조사**

Thin layer chromatography를 위하여 HPTLC silicagel plate(Merck Cat. No. 5642)를 사용하였으며 전개용매로는 Table 4의 용매를 사용하였다. 30℃의 밀폐된 용기에서 전개시켜 5% ammonium molybdate, 0.1% ceric ammonium sulfate를 함유하는 10% 황산 수용액을 분무한 다음 100℃에서 10분간 발색시켰다. UV spectrum은 AF-011A를 DMSO와 물에 용

해하여 Beckman DU-70을 사용, 측정하였다.  $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz)과  $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz) spectrum은 AF-011A를 DMSO- $d_6$ 에 용해하여 Bruker ARX400 계기로 측정하였다.

분자를 구성하는 당을 확인하기 위하여 시료를 10% 황산으로 가수분해하고 가수분해물을  $\text{Ba}(\text{OH})_2$  포화 용액으로 중화시킨 다음 원심분리하여 상등액을 농축, Waters carbohydrate analysis system에 의하여 분석하였다. 구성 아미노산 분석은, 시료를 6N HCl로 105°C에서 18시간 가수분해하여 Waters amino acid analysis system으로 수행하였다.

## 결과 및 고찰

### 후보균주의 동정

선발된 균주 AF6008은 Gram 음성 간상세균이며 0.8~1.0×1.2~1.5  $\mu\text{m}$  크기로 운동성이 있으며 oxidase 양성, catalase 양성으로서 *Pseudomonas*속의 특징을 나타내었다. 이 균주의 형태학적, 생리적 특성을 조사한 결과(Table 1, 2), lactose와 maltose를 이용할 수 있다는 점이 상이하고 그 이외의 특징은 Bergy's Manual of Systematic Bacteriology(2)에 기재된 *Pseudomonas cepacia*와 동일하여 *P. cepacia*로 동정하였으며 *Pseudomonas cepacia* AF6008로 명명하여 한국중균협회에 기탁하였다(KFCC 10759).

*Pseudomonas cepacia*는 진균성 농작물 병해의 bio-control을 위해 최근 많은 연구가 수행되고 있으며, *P. cepacia* 균주들이 pyrrolnitrin, aminopyrrolnitrin, monochloroaminopyrrolnitrin 등의 phenylpyrroles

그리고 pseudanes 등을 생산하므로써 병원성 진균을 제어하는 것으로 보고된 바 있다(7-12).

### AF-011A의 항균력

AF-011A의 항균력을 측정한 결과, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 10586, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145 등 세균에 대해서는 500  $\mu\text{g/ml}$  농도에서도 생육 저지효과가 없었으며, yeast type fungi와 mold type fungi에 모두 강한 항균활성을 보였고 그 결과를 Table 3에 나타내었다.

### AF-011A의 물리 화학적 특성

AF-011A는 용융점이 210~214°C (decomp.)이며  $[\alpha]_D^{20} = +3.8^\circ$  (C 0.0013, DMSO)인 물질로서 DMSO에 잘 용해되며 유기용매에는 거의 용해되지 않으나 50% 알콜 수용액에는 비교적 잘 용해된다. pH 안정성이 매우 높아서 pH 2와 pH 11 사이의 범위에서는 30°C에 2일간 보존하여도 항균활성에 변화가 없으나, pH 12에서는 30°C에서 1일 후 항균활성의 1/16 만이 유지되었다. 50% ethanol 수용액(pH 7)에 용해하여 60°C에 1일간 보존하여도 항균활성이 그대로 유지되나 100°C에서 30분간 처리하면 항균활성의 50%가 감소되었다.

AF-011A는 산성 용매 조건하에서 전개시키면 단 일물질인 것처럼 보이나, 알칼리성 용매로 전개시키면 2종류의 물질로 분리된다(Table 4). 이때 분리된 Rf 0.53인 물질을 AF-011A<sub>1</sub>, Rf 0.58인 물질을 AF-011A<sub>2</sub>라 하였고, 이 두 물질은 HPLC로는 분리되지 않았

Table 1. Morphological and cultural characteristics of strain AF6008

Morphology			
colony shape	smooth	Growth	
colony color	milky	4°C	NG
colony margin	entire	37°C	G
cell size	0.8~1.0×1.2~1.5 $\mu\text{m}$	41°C	NG
cell type	short rod		
gram stain	negative	3% NaCl	G
motility	positive	10% NaCl	NG
Cultural characteristics		pH 3	NG
diffusible pigment in Luisetti medium	positive	pH 7	G
fluorescence in King's medium A	negative	pH 9	NG

G: Growth, NG: No Growth

**Table 2. Physiological characteristics of strain AF6008**

Oxidase	positive	Acid from	
Catalase	positive	D-glucose	positive
Urease	negative	D-fructose	positive
β-Galactosidase	positive	D-galactose	positive
DNase	negative	D-lactose	positive
Phenylalanin deaminase		D-maltose	positive
	negative	D-xylose	positive
Decarboxylase		D-mannose	positive
lysine	positive	sucrose	negative
ornithine	positive	L-arabinose	positive
arginine	negative	L-rhamnose	positive
Nitrate reduction	positive	L-raffinose	positive
Voges-Proskauer test	positive	D-melibiose	positive
O/F test	oxidative	D-cellobiose	positive
H <sub>2</sub> S production	negative	starch	negative
Indole production	negative	mannitol	positive
Hydrolysis of		sorbitol	positive
PHB	negative	xylitol	positive
gelatin	positive	salicin	negative
tween 80	positive	inulin	negative
starch	negative	Benzene ring cleavage	ortho
esculin	negative		
Levan formation	negative		
Citrate utilization	positive		

**Table 3. Antifungal activity of AF-011A**

Test Organisms	MIC(μg/ml)
<i>Candida albicans</i> KCTC 1940	0.1
<i>Cryptococcus neoformans</i> KCTC 1197	0.025
<i>Aspergillus niger</i> KCTC 1252	0.1
<i>Trichophyton mentagrophytes</i> KCTC 6085	0.1
<i>Piricularia oryzae</i> KCTC 1939	4.0
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC6633	>500
<i>Escherichia coli</i> ATCC10586	>500
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC29213	>500
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC10145	>500

으며 TLC(silica gel)로 분리하여 각각의 분자량, 구성 아미노산 조성을 조사하였다. UV spectrum을 조사한 결과 AF-011A를 DMSO에 용해할 경우 278 nm에서 최대 흡광도를 보였으며 물에 용해하면 232 nm와 274 nm에서 최대 흡광도를 보여 2개의 peak을 나타내었다. AF-011A의 UV spectrum은 Fig. 2에서 보는 바와 같다. KBr법에 의한 IR spectrum 측정결과

**Table 4. Thin layer chromatography of AF-011A**

Compound	Solvent n-butanol : acetic acid : water = 3 : 1 : 1(Vol.)	isobutanol : water : ammonia water = 4 : 1 : 2(Vol.)
AF-011A <sub>1</sub>	Rf 0.18	Rf 0.53
AF-011A <sub>2</sub>	Rf 0.18	Rf 0.58

Fig. 3과 같다. TLC 시험결과 AF-011A가 ninhydrin에 양성반응을 나타내었으며(Table 5) IR spectrum에서 amide carbonyl기에 해당되는 강력한 1660 cm<sup>-1</sup>과 1540 cm<sup>-1</sup>의 peak들이 뚜렷하였으므로 이 물질이 peptide인 것으로 생각되어 산 가수분해를 수행하여 구성 아미노산을 조사하였다. 또한 TLC 결과 AF-011A가 aniline에 양성반응을 하였으므로 분자 구성요소로서 당(sugar)을 함유하는지 조사하였다. 가수분해 실험 결과 AF-011A<sub>1</sub>과 AF-011A<sub>2</sub>는 모두 xylose를 구성요소로 가지고 있었으며 Table 6에 구성물의 조성을 나타내었다. <sup>1</sup>H-NMR(400 MHz) spectrum(Fig. 4)에서 6.67 ppm과 7.13 ppm의 두 doublet은 방향족

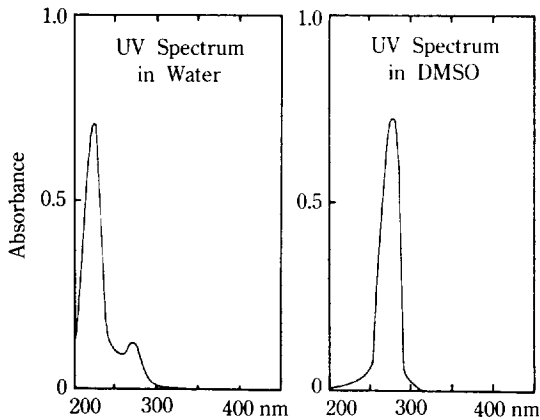


Fig. 2. UV spectra of AF-011A.

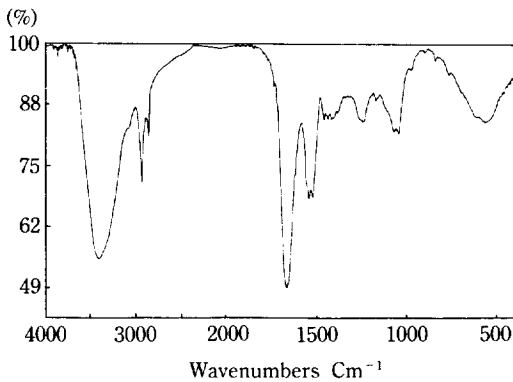


Fig. 3. IR spectrum of AF-011A.

Table 5. Color reaction of AF-011A<sub>1</sub> and AF-011A<sub>2</sub>

Compound	Reagent	Reaction
AF-011A <sub>1</sub>	aniline	grey green
	ninhydrin	purple
AF-011A <sub>2</sub>	aniline	grey green
	ninhydrin	purple

\*aniline reagent: 2 ml aniline, 2 g diphenylamine, 10 ml 85% phosphoric acid, 100 ml acetone.

ninhydrin reagent: 0.3 g ninhydrin, 3 ml acetic acid, 100 ml acetone.

화합물을 포함하고 있음을 보여주고 1.22 ppm 큰 peak와 <sup>13</sup>C-NMR spectrum(Fig. 5)의 22~23 ppm peak들은 methylene group의 긴 사슬이 존재함을 암시하며 아미노산 분석 결과 물에 불용성인 methylene moiety를 분리할 수 있었다.

Low resolution FAB/MS(Fig. 6) 및 high resolution FAB/MS(Table 7)에 의한 분자량 측정 결과 AF-

Table 6. Molecular composition of AF-011A<sub>1</sub> and AF-011A<sub>2</sub>

Component	Compound	
	AF-011A <sub>1</sub>	AF-011A <sub>2</sub>
glycine	1	1
serine	2	2
aspartic acid	1	2
β-hydroxyaspartic acid	1	0
2,4-diaminobutyric acid	1	1
xylose	1	1
aromatic compound	1	1
methylene chain	1	1

\*Molar ratio.

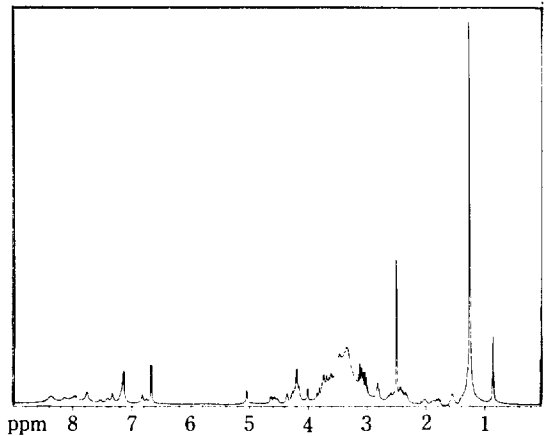


Fig. 4. <sup>1</sup>H-NMR spectrum of AF-011A in DMSO-d<sub>6</sub>.

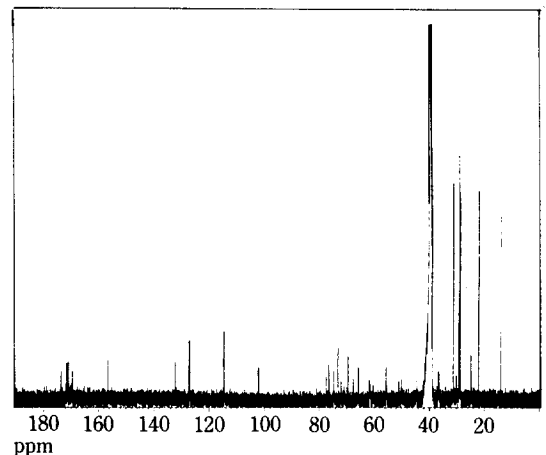


Fig. 5. <sup>13</sup>C-NMR spectrum of AF-011A in DMSO-d<sub>6</sub>.

011A<sub>1</sub>은 1,215, AF-011A<sub>2</sub>는 1,199로 나타났으며 이 두 물질간의 분자량 차이 16은 AF-011A<sub>1</sub>의 경우에는

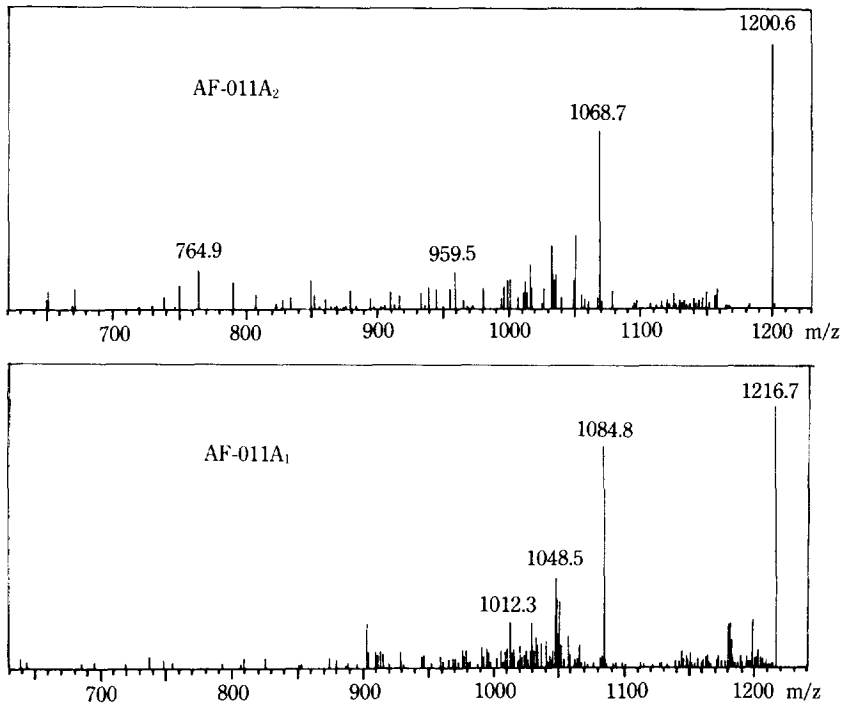


Fig. 6. FAB/MS spectra of AF-011A<sub>1</sub> and AF-011A<sub>2</sub>.

$\beta$ -hydroxyaspartic acid(가수분해 실험 결과)를, AF-011A<sub>2</sub>는 aspartic acid(가수분해 실험 결과)를 각각 구성 아미노산으로 함유하기 때문이다. 또한 <sup>13</sup>C-NMR과 FAB/MS 분석결과 두 compound 모두 52 개의 탄소를 가지는 것으로 측정된 점을 종합하여 분석 함으로써 이들의 분자식을 결정할 수 있었다.

이상의 물리 화학적 특성을 종합하여 볼 때 AF-011 A<sub>1</sub>과 AF-011A<sub>2</sub>는 Bacillomycin(13, 14), Iturin(15) 또는 Xylocandin(16, 17)과 유사제열의 lipo-peptide 구조의 항진균물질임을 알 수 있다. Bacillomycin은 구성 아미노산으로 aspartic acid, asparagine, tyrosine, threonine, serine, glutamic acid, proline을 동일비율로 함유하는 cyclic peptide로 보고되었으며, Iturin은 asparagine, tyrosine, glutamine, proline, serine을 3 : 1 : 1 : 1 : 1의 비율로 함유하는 cyclic peptide라고 보고되었다. 그러나 Xylocandin의 경우, methylene 사슬구조의 조성물을 제외하고는 Xylocandin A<sub>1</sub>과 A<sub>2</sub>의 분자량, 구성 아미노산 및 당의 조성이 AF-011A<sub>1</sub>과 A<sub>2</sub>의 그것과 동일한 것으로 확인되었다. 그러므로 AF-011A와 Xylocandin A가 동일한 물질일 가능성이 매우 높으나 생물학적 활성을 비교하여 보면 역가의 차이가 존재한다. 물론 Xylocandin A를 AF-

Table 7. Accurate mass measurement(FAB/MS) of AF-011A<sub>1</sub> and AF-011A<sub>2</sub>

Compound	m/z (M+H) <sup>+</sup>		Formula
	calcd.	expt. (ppm)	
AF-011A <sub>1</sub>	1216.5949	1216.5999(-4.1)	C <sub>52</sub> H <sub>85</sub> O <sub>22</sub> N <sub>11</sub>
AF-011A <sub>2</sub>	1200.5999	1200.6011(-0.9)	C <sub>52</sub> H <sub>85</sub> O <sub>21</sub> N <sub>11</sub>

011A와 직접 비교하면 가장 확실한 방법이겠으나 Xylocandin A를 입수할 수 없는 상황이었으므로 Amphotericin B를 대조약물로 하여 간접 비교를 할 수 밖에 없었으며, 사용한 시험 진균들도 상이하었으므로 완벽한 활성비교라고 확신할 수 없다. 그러나 Xylocandin A의 MIC값은 *Candida albicans*의 경우 0.2~0.4  $\mu$ g/ml, *Trichophyton mentagrophytes*의 경우 0.2  $\mu$ g/ml, 그리고 *Candida glabrata*의 경우 0.2  $\mu$ g/ml이었으며 각각의 경우 Amphotericin B의 MIC값은 0.4  $\mu$ g/ml, 12.5  $\mu$ g/ml 그리고 0.8  $\mu$ g/ml인 것으로 보고되어 있다. 그에 비해 본 연구실에서 수행한 AF-011 A와 Amphotericin B의 MIC값은 *Candida albicans*의 경우 0.1  $\mu$ g/ml과 0.39  $\mu$ g/ml이고, *Trichophyton mentagrophytes*의 경우 0.1  $\mu$ g/ml과 25  $\mu$ g/ml이었으며

Table 8. Antifungal activity of Xylocandin A, AF-011A and Amphotericin B(in vitro)

Organisms	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )			
	Xylocandin A(16)	Amphotericin B(16)	Amphotericin B	AF-011A
<i>Candida albicans</i>	0.2~0.4	0.4	0.39	0.1
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	0.2	12.5	25	0.1
<i>Candida glabrata</i>	0.2	0.8	0.78	0.025

*Candida glabrata*의 경우는 0.025  $\mu\text{g/ml}$ 과 0.78  $\mu\text{g/ml}$ 이었다. 이상의 경우, 각각 상이한 두 실험실에서 수행한 MIC값 측정결과 Amphotericin B의 MIC값이 매우 일정하였으므로 AF-011A와 Xylocandin A의 MIC 비교가 가능하였고 그 결과는 AF-011A가 좀 더 우수한 역가를 가지고 있음을 알 수 있었다(Table 8).

이상의 역가의 차이는 두 항진균물질이 구성아미노산은 동일하더라도 아미노산의 배열순서의 차이에서도 기인될 수 있으며, 또한 methylene 사슬구조의 상이함에도 기인될 수 있다. 그러나 Xylocandin의 경우 최종 구조규명이 아직 보고되어 있지 않으므로 직접 비교할 수 없음을 유감이었다. AF-011A의 구조규명과 좀더 자세한 생물학적 활성에 대한 연구를 계속 수행하였으며 동 학술지에 게재하였다.

## 요 약

토양미생물 탐색을 통하여 항진균활성이 우수한 균주의 미생물을 분리하였으며 이 균주의 특성을 조사한 결과 *Pseudomonas cepacia*로 동정되었다. 이 균주가 생산하는 항진균 항생물질 AF-011A<sub>1</sub>과 AF-011A<sub>2</sub>는 효모 뿐만 아니라 mold type 진균류에도 강한 항균활성을 나타내며 넓은 온도, pH 범위에서 안정하였다. AF-011A<sub>1</sub>/A<sub>2</sub>는 xylose, amino acids, methylene group들로 구성된 lipopeptide 구조이다. 이 물질은 항균활성이 우수하고 안정하므로 의약품 또는 항균농약으로의 개발 가능성이 높다.

## 참고문헌

1. 島津 昭. 1986. 抗生物質, Pp. 746-758. In 山里一英, 宇田川 俊一, 兒玉 徹, 森地 敏樹(ed.), 微生物의 分離法, R & D planning.
2. Palleroni, N.J. 1989. *Pseudomonadaceae*, Pp. 141-218. In Krieg, N.R. and J.G. Holt(ed.), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Vol. 1. Williams & Wilkins.
3. Bergan, T. 1981. Human and Animal Pathogenic Members of the Genus *Pseudomonas*, Pp. 666-700. In Mortiner, T.S., H. Stolp, H.G. Tr per, A. Balows, H.G. Schlegel(ed.), *The Procaroyotes*, Vol. 1. Springer-Verlag.
4. McFaddin, J.F. 1980. *Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria*, Williams & Wilkins.
5. Smibert, R.M. and P.K. Noel. 1981. General Characterization, Pp. 409-443. In P. Gerhardt, R.G.E. Murray, R.Costilow, E.W. Nester, W.A. Wood, N. R. Krieg, G. Phillips(ed.), *Manual of Methods for General Bacteriology*, ASM.
6. McGinnis, M.R. and M.G. Rinaldi. 1986. Antifungal Drugs, Pp. 223-281. In Lorian, V.(ed.), *Antibiotics in Laboratory Medicine*, Williams & Wilkins.
7. Janisiewicz, W.J. and J. Roitman. 1988. Biological Control of Blue Mold and Gray Mold on Apple and Pear with *Pseudomonas cepacia*. *Phytopath.* **78**: 1697-1700.
8. Yoshihisa, H. and S. Takahito. 1989. Role of Antibiotic Production in Suppression of Raddish Damping-off by Seed Bacterization with *Pseudomonas cepacia*. *Ann. Phytopath. Soc. Japan.* **55**: 643-652.
9. Yoshihisa, H., S. Zenji, H. Fukushi, K. Katsuhiko, S. Haruhisa and S. Takahito. 1989. Production of Antibiotics by *Pseudomonas cepacia* as an Agent for Biological Control of Soilborne Plant Pathogens. *Soil Bio. Biochem.* **21**: 723-728.
10. Roitman, J.N., N.E. Mahoney, W.J. Janisiewicz and M. Benson. 1990. A new Chlorinated Phenylpyrrole Antibiotic produced by the Antifungal Bacterium *Pseudomonas cepacia*. *J. Agric. Food Chem.* **38**: 538-541.
11. Roitman, J.N., N.E. Mahoney and W.J. Janisiewicz. 1990. Production and Composition of Phenylpyrrole Metabolites Produced by *Pseudomonas cepacia*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **34**: 381-386.
12. McLoughlin, T.J., J.P. Quinn, A. Bettermann and R. Bookland. 1992. *Pseudomonas cepacia* Suppression of Sunflower wilt fungus and Role of Antifungal Compounds in Controlling the Disease.

- App. Environ. Microbiol.* **58**: 1760-1763.
13. Peyroux, F., F. Besson, G. Michel and L. Delcambe. 1981. Structure of Bacillomycin D, a New Antibiotic of the Itulin Group. *Eur. J. Biochem.* **118**: 323-327.
  14. Peyroux, F., M.T. Pommier, B.C. Das, F. Besson, L. Delcambe and G. Michel. 1984. Structure of Bacillomycin D and Bacillomycin L peptide Antibiotics from *Bacillus subtilis*. *J. Antibiot.* **37**: 1600-1604.
  15. Aagaier, H., R. Lupp and G. Jung. 1983. Itulin A<sub>1</sub>-a new Long Chain Possessing and Unusual high Content of C<sub>18</sub>-β-amino acids. *J. Antibiot.* **36**: 1451-1457.
  16. Meyers, E., G.S. Bisacchi, L. Dear, W.C. Liu, B. Minassian, D.S. Slusarchyk, R.B. Sykes, S.K. Tanaka and W. Trejo. 1987. Xylocandin: A New Complex of Antifungal Peptides. I. Taxonomy, Isolation and Biological Activity. *J. Antibiot.* **40**: 1515-1519.
  17. Bisacchi, G.S., D.R. Hockstein, W.H. Koster, W.L. Parker, M.L. Pathnum and S.E. Unger. 1987. Xylocandin; A New Complex of Antifungal Peptides. II. Structural Studies and Chemical Modifications. *J. Antibiot.* **40**: 1520-1529.

(Received August 19, 1993)