

## 차나무 겹동근무늬병 방제용 미생물제제 개발을 위한 길항세균 *Bacillus subtilis* BD0310의 대량배양 최적조건

김경희 · 오순옥 · 허재선<sup>1</sup> · 염규진<sup>2</sup> · 고영진\*

순천대학교 식물의학과, <sup>1</sup>환경교육과, <sup>2</sup>코엔바이오기술연구소

### Optimum Cultivation Conditions for Mass Production of an Antagonistic Bacterium *Bacillus subtilis* BD0310 for Development of a Microbial Agent Controlling Gray Blight of Tea Plants

Gyoung Hee Kim, Soon-Ok Oh, Jae-Seoun Hur<sup>1</sup>, Kue-Jin Yum<sup>2</sup> and Young Jin Koh\*

Department of Plant Medicine, Suncheon National University, Suncheon 540-742, Korea

<sup>1</sup>Department of Environmental Education, Suncheon National University, Suncheon 540-742, Korea

<sup>2</sup>Coenbio Institute of Research and Development, 73-6 Dongoh-Ri Hyangnam-Myun, Hwasung-Si, Kyunggi-Do 445-921, Korea

(Received on April 1, 2006)

*Bacillus subtilis* BD0310 isolated from tea leaves was used for the development of a biofungicide against *Pestalotiopsis longiseta* causing gray blight of tea plants. The optimum growth conditions were investigated for the mass cultivation of the microbial agent. The optimum temperature and cultivation time were determined as 12~24 hours at 30°C and the optimum initial pH was pH 7.0 in nutrient broth. Among the tested carbon sources of fructose, galactose, glucose, glycerol, inositol, lactose, maltose, sorbitol and starch, maltose and inositol were found to highly increase antifungal activity of the microbial agent against *P. longiseta*. Yeast extract and tryptone apparently increased antifungal activity of the microbial agent among the tested nitrogen sources of casein, tryptone, malt extract, yeast extract and (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. The results will make a contribution to mass production of the antagonistic bacterium *Bacillus subtilis* BD0310 for development of a microbial agent controlling gray blight of tea plants.

**Keywords :** *Bacillus subtilis* BD0310, Biocontrol, Gray blight, Microbial agent, *Pestalotiopsis longiseta*

차나무(茶, Tea, *Camellia sinensis* O. Kuntze)는 미얀마의 이라와디강 원류지대에서 기원하는 동백나무과(Theaceae), 동백나무속(*Camellia*)에 속하는 상록관목이다. 우리나라에서는 최근에 남해안 일대에서 대규모 다원이 조성되면서 집단으로 재배되는 차나무에는 과거 야생 상태로 자생하던 차나무와는 달리 여러 가지 병해가 발생하고 있으며 그 피해도 증가하는 추세이다. 지금까지 우리나라에서 재배되고 있는 차나무에는 갈색마름병(brown blight, *Pseudomonas syringae* pv. *theae*), 그을음병(scab, *Cladosporium herbarum*), 잎마름병(brown blight, *Glomerella cingulata*), 검은부스럼병(leaf spot, *Coccochorina*

*japonica*), 탄저병(anthraxnose, *Colletotrichum theae-sinensis*), 딱병(blister blight, *Exobasidium vexans*), 겹동근무늬병(gray blight, *Pestalotiopsis longiseta*, *P. theae*), 흰별무늬병(white scab, *Sphaceloma theae*) 등이 발생하는 것으로 보고되었다(한국식물병리학회, 2004). 그 중에서 겹동근무늬병은 탄저병과 더불어 일본에서도 가장 문제가 되는 병해로 보고되었으며(Ezuka와 Ando, 1994), 우리나라에서도 가장 큰 피해를 주는 병해로 알려졌다(Koh 등, 2001; 박 등, 1996; Shin 등, 2000).

우리나라보다 차나무 재배역사가 길고 재배면적도 훨씬 넓은 일본에서는 차나무 겹동근무늬병의 방제약제로 thiophanate methyl, chlorothalonil 등 수 십종이 등록되어 있으며, 연중 십여 차례에 걸쳐 약제를 살포하고 있다(Horikawa, 1986; 1987; Oniki 등, 1986). 우리나라에서도

\*Corresponding author

Phone)+82-61-750-3865, Fax)+82-61-750-3208

E-mail) youngjin@sunchon.ac.kr

최근에 집약적으로 차나무를 재배하는 대단위 다원에서는 유사한 약제들을 매년 수차례씩 살포하고 있는 실정이다(Shin 등, 2000). 그러나 차나무 병해충 방제를 위한 화학약제의 남용은 포장에서 약제저항성균의 출현과 녹차에서 잔류독성과 같은 부작용을 일으킬 수 있기 때문에 화학농약을 대체할 수 있는 새로운 방제제의 개발이 시급하다(이, 2000).

오 등(2005)은 차나무 엽권으로부터 겹동근무늬병을 일으키는 *Pestalotiopsis longiseta*에 대해 강력한 항균활성을 가졌지만 차나무에는 병원성을 나타내지 않는 *Bacillus* 속 길항미생물 BD0310 균주를 분리·선발하였다. 선발된 균주는 배양적, 형태적, 생화학적 특성 조사와 16S rDNA 염기서열 분석에 의해 *Bacillus subtilis*로 동정되었다.

따라서 본 시험에서는 화학약제를 대체하여 차나무 병해충을 제어할 수 있는 새로운 미생물제제를 개발하기 위한 기초연구의 하나로써 차나무 주요 병해인 겹동근무늬병균 *P. longiseta*에 대해 길항능력이 우수한 차나무 엽권 토착 세균인 *B. subtilis* BD0310의 대량배양을 위한 배양 조건과 *P. longiseta*에 대한 항균활성을 증대시킬 수 있는 탄소원과 질소원을 선발하였다.

## 재료 및 방법

**시험균주 및 배양.** 차나무에 겹동근무늬병을 일으키는 *P. longiseta*에 대하여 강력한 항균활성을 가진 균주로 선발된 차나무 엽권 길항세균 *Bacillus subtilis* BD0310 균주를 시험에 사용하였다(오 등, 2005). Nutrient broth(NB)에서 160 rpm, 30°C, 18시간동안 배양한 길항균주 배양액 1 ml을 채취해 250 ml용 삼각플라스크의 100 ml NB에 접종하여 각 시험에서 사용하였다. 각 시험에서는 결과의 재현성을 확인하기 위하여 3회씩 수행하였으며, 모든 시험은 3반복으로 수행되었다.

**배양 적온 및 시간 조사.** 길항세균 *B. subtilis* BD0310 균주의 대량배양을 위한 배양 적온 및 적정 배양 시간을 조사하기 위하여 NB에 길항균주를 접종한 후 20°C에서 45°C까지 5°C 간격으로 조정된 진탕배양기에서 160 rpm으로 배양하면서 12시간 간격으로 배양액 1 ml을 채취하여 살균수로 10배 희석한 후 560 nm에서 흡광도를 조사하여 세균의 밀도를 경시적으로 조사하였다.

**배양 적정 pH 조사.** 길항세균 *B. subtilis* BD0310 균주의 대량배양에 적합한 초기 pH를 조사하기 위하여 NB를 1 N NaOH와 1 N HCl을 이용하여 pH 3에서 pH 11까지 pH 2 간격으로 보정하고, 길항균주를 접종하여 진탕배양기에서 30°C, 160 rpm으로 24시간동안 배양한 후

배양액 1 ml을 채취하여 살균수로 10배 희석한 후 560 nm에서 흡광도를 조사하여 세균의 밀도를 비교하였다.

**길항세균의 항균활성을 증가시키는 탄소원 선발.** 길항세균 *B. subtilis* BD0310 균주의 대량배양을 위한 탄소원 중에서 *P. longiseta*에 대한 항균활성을 증가시키는 탄소원을 선발하기 위하여 0.05%  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 와 0.005%  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 를 첨가한 NB 배지를 기본배지로 하고 fructose, galactose, glucose, glycerol, inositol, lactose, maltose, sorbitol, starch 등 9가지 탄소원을 각각 1.0%씩 첨가한 후 길항균주를 접종하고 30°C, 160 rpm으로 진탕배양하였다. 5일간 진탕배양하여 얻은 배양여액을 4,000 rpm으로 10분간 원심분리한 후 필터(milipore filter, 0.22  $\mu\text{m}$ )를 사용하여 여과시킨 상등액을 *P. longiseta*의 균사생장 억제정도를 파악하기 위한 배양시험에 사용하였다. 감자천배지(PDA)를 두께 5 mm가 되게 Petri dish에 붓고 PDA plate의 중앙에 cork borer(직경 9 mm)를 이용하여 hole(직경 9 mm)을 만들고 그 속에 paper disc(직경 9 mm)를 치상한 후 길항균주의 상등액 300  $\mu\text{l}$ 를 넣어 무균상태에서 음건시키면서 흡습시켰다. 10일동안 PDA에서 배양한 *P. longiseta* 균총으로부터 동일한 직경의 cork borer로 떼어낸 신선한 균총 disc의 표면이 길항균주의 상등액이 음건된 paper disc 표면과 접촉하도록 PDA plate hole 속에 치상시켰다. 대조구는 탄소원을 첨가하지 않은 NB에서 배양한 길항균주의 상등액을 사용하였다. 25°C에서 7일간 배양시킨 후 성장한 *P. longiseta* 균총의 직경을 측정하여 대조구에서 성장한 *P. longiseta* 균총의 직경과 비교하였다.

**길항세균의 항균활성을 증가시키는 질소원 선발.** 길항세균 *B. subtilis* BD0310 균주의 대량배양을 위한 질소원 중에서 *P. longiseta*에 대한 항균활성을 증가시키는 질소원을 선발하기 위하여 0.05%  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 와 0.005%  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 와 항균활성을 증가시키는 탄소원으로 선발된 maltose를 첨가한 NB를 기본배지로 하여 casein, tryptone, malt extract, yeast extract,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  등 5가지 질소원을 각각 0.5%씩 첨가한 후 길항균주를 접종하고 30°C, 160 rpm으로 진탕배양하였다. 5일간 진탕배양하여 얻은 배양여액을 4,000 rpm으로 10분간 원심분리한 후 필터(milipore filter, 0.22  $\mu\text{m}$ )를 사용하여 여과시킨 상등액을 *P. longiseta*의 균사생장 억제정도를 파악하기 위한 배양시험에 사용하여 앞서 기술한 탄소원 선발실험과 동일한 방법으로 수행하였다.

## 결 과

**배양 적온 및 시간.** *B. subtilis* BD0310 균주의 배양

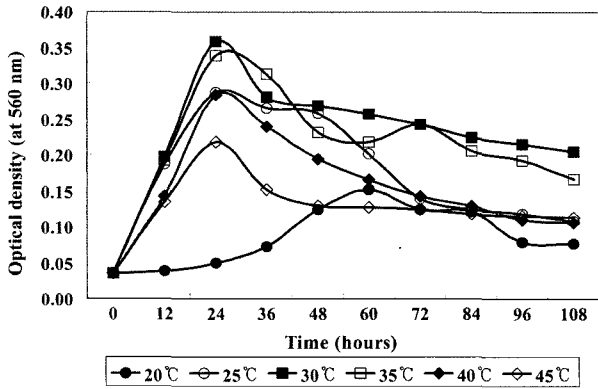


Fig. 1. Effect of cultivation temperature and time on the cell growth of *Bacillus subtilis* BD0310 in nutrient broth.

적온과 적정 배양 시간을 조사하기 위하여 NB에 접종한 후 20°C에서 45°C까지 5°C 간격으로 진탕배양시키면서 12시간 간격으로 길항균주의 증식 밀도를 경시적으로 조사한 결과 온도별로 다양한 성장곡선을 나타내었다(Fig. 1). 25°C에서 45°C까지 배양온도가 올라갈수록 생육이 왕성해져 길항균주의 밀도가 증가하는 경향이였으며, 배양 24시간을 정점으로 배양시간이 경과함에 따라 서서히 길항균주의 밀도가 감소하였다. 여러 가지 배양 온도 중에서 30°C에서 24시간 배양하였을 때 최고 생육에 도달하였으며, 이어서 35°C, 25°C, 40°C, 45°C 순이었다. 20°C에서 배양하였을 때에는 길항균주의 생육이 극히 저조하였으며, 다른 배양 온도와는 달리 60시간 배양하였을 때 밀도가 가장 높게 나타났다.

**배양 적정 pH 조사.** *B. subtilis* BD0310 균주를 여러 가지 pH로 보정된 NB에서 24시간과 48시간 배양 후 길항균주의 증식 밀도를 조사한 결과 pH 3과 pH 11에서는

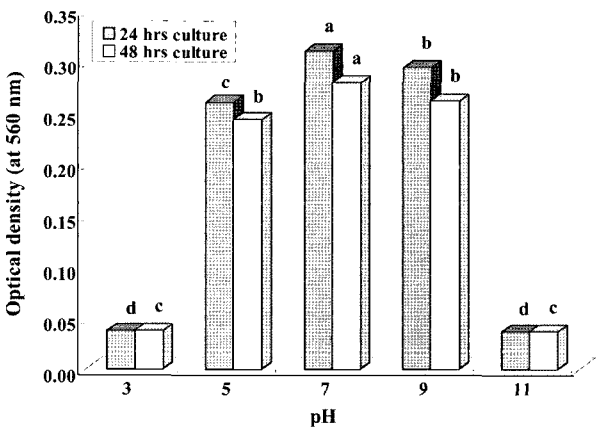


Fig. 2. Effect of initial pH on the cell growth of *Bacillus subtilis* BD0310 in nutrient broth. Means followed by the same letter are not significantly different by Duncan's multiple range tests at  $P = 0.05$ .

길항균주가 거의 성장하지 않았으나 pH 5에서 pH 7까지는 pH가 증가함에 따라 생육이 왕성해져 길항균주의 밀도가 급격하게 증가하였으나 pH 9에서 다소 밀도가 감소하는 경향을 나타내었다(Fig. 2). 24시간 배양에 비해 48시간 배양하였을 때에는 길항균주의 밀도가 감소하였다.

**길항세균의 항균활성을 증가시키는 탄소원.** *B. subtilis* BD0310 균주의 대량배양을 위한 탄소원 중에서 *P. longiseti*에 대한 항균활성을 증가시키는 탄소원을 선발하기 위하여 NB배지를 기초배지로 하여 9가지 탄소원을 1%씩 첨가시킨 배지에서 배양시킨 길항균주의 배양여액이 *P. longiseti*의 균사생육에 미치는 영향을 조사한 결과 maltose를 첨가한 배지에서 배양한 길항균주의 배양여액이 *P. longiseti*의 균사생육을 가장 크게 억제시켰으며, 그 다음으로 inositol, lactose, glycerol, galactose, sorbitol, glucose, starch 등을 첨가한 배지에서 배양한 배양여액 순으로 *P. longiseti*의 균사생육을 억제시켰다(Fig. 3). 대조구에서 생장한 *P. longiseti* 균층의 직경은 50.4 cm인데 비하여 maltose를 첨가하였을 경우에는 21.4 cm로 60%에 가까운 균사생육 억제효과를 나타내었다.

**길항세균의 항균활성을 증가시키는 질소원.** *B. subtilis* BD0310 균주의 대량배양을 위한 질소원 중에서 *P. longiseti*에 대한 항균활성을 증가시키는 질소원을 선발하기 위하여 5가지 질소원을 0.5%씩 첨가한 배지에서 배양한 길항균주의 배양여액이 *P. longiseti*의 균사생육에 미치는 영향을 조사한 결과 yeast extract를 첨가한 배지에서 배양한 길항균주의 배양여액이 *P. longiseti*의 균사생육을 가

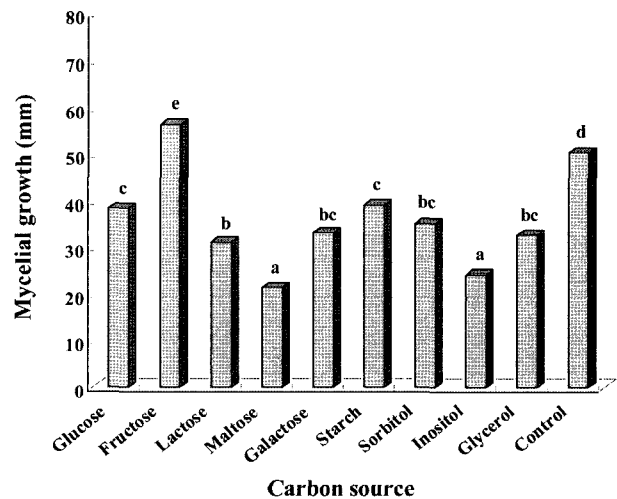
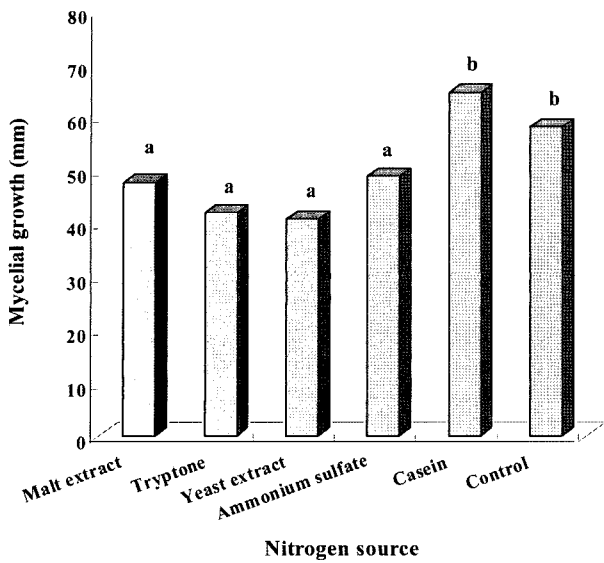


Fig. 3. Effect of various carbon sources on antifungal activity of *Bacillus subtilis* BD0310 against *Pestalotiopsis longiseti* on potato dextrose agar. Means followed by the same letter are not significantly different by Duncan's multiple range tests at  $P = 0.05$ .



**Fig. 4.** Effect of various nitrogen sources on antifungal activity of *Bacillus subtilis* BD0310 against *Pestalotiopsis longiseta* on potato dextrose agar. Means followed by the same letter are not significantly different by Duncan's multiple range tests at  $P = 0.05$ .

장 크게 억제시켰으며, 그 다음으로 tryptone, malt extract,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , casein 등을 첨가한 배지에서 배양한 배양액 순으로 *P. longiseta*의 균사생육을 억제시켰다(Fig. 4). 대조구에서 성장한 *P. longiseta* 균총의 직경은 58.1 cm인데 비하여 yeast extract를 첨가하였을 경우에는 40.7 cm로 30% 정도의 균사생육 억제효과를 나타내었다.

## 고 찰

최근에 경제적인 생활수준이 향상되어 건강에 대한 관심이 증대됨에 따라 녹차는 대표적인 기능성 건강식품으로 각광을 받고 있다. 녹차 소비가 급증함에 따라 제주도 와 남해안 일대에는 대규모 다원이 조성되고 있는데 일반인들에게 다원은 무공해의 상징처럼 여겨지고 있다. 그러나 화학농약을 살포하지 않고 차나무를 재배할 것이라는 일반인의 생각과는 달리 대규모 다원에서는 적지 않은 화학농약이 살포되고 있다(Shin 등, 2000). 차나무에 화학농약을 살포하는 경우에도 화학농약의 사용기준을 철저히 지키면 녹차 속에 잔류농약 문제가 발생하지 않는다. 그렇지만 차나무에 화학농약을 살포한다는 사실 자체만으로도 차나무 잎을 그대로 우려내어 마시는 녹차 소비자에게 극도의 거부감을 불러 일으킬 수밖에 없다. 따라서 차나무 병해 방제법도 화학농약을 대체할 수 있는 환경친화형 방제법으로 전환되는 것이 불가피하다고 판단된다.

오 등(2005)은 차나무 엽권에서 분리한 수많은 미생물들에 대한 길항력 검정 시험을 통하여 *P. longiseta*에 대해 강력한 항균활성을 나타내는 길항세균 *B. subtilis* BD0310 균주를 차나무 겹등근무늬병 방제용 미생물제제로 개발하기 위한 길항균주로 선발하였다. 선발된 *B. subtilis* BD0310 균주는 *P. longiseta*에 대하여 강력한 길항능력을 PDA상에서 나타내었지만 차나무 잎에는 상처접종에도 불구하고 병원성을 전혀 나타내지 않는 유용한 길항균주로 확인되었다. 따라서 이 연구에서는 *B. subtilis* BD0310 균주를 차나무 겹등근무늬병 방제전용 미생물제제로 개발하기 위한 기초연구로서 길항균주의 대량배양을 위한 배양조건을 조사하였다.

*B. subtilis* BD0310 균주의 배양 적온을 조사하기 위한 여러 가지 조합 중에서 30°C에서 24시간 배양했을 때 길항균주의 밀도가 최고에 도달하였다. 또한 *B. subtilis* BD0310 균주를 NB에서 배양할 경우 초기 pH를 7로 보정했을 때 가장 높은 세균 밀도를 나타내었다. 한편 *B. subtilis* BD0310 균주를 30°C에서 배양했을 때에도 24시간 배양 이후에는 시간이 경과함에 따라 길항균주의 밀도는 오히려 감소하였으며, pH 7에서도 48시간 배양했을 경우 24시간 배양에 비해 길항균주의 밀도가 감소하였다. 미생물제제의 산업화를 위한 대량배양 공정에서는 배양시간을 단축시키는 것이 경제적이면서 안정적이다. 따라서 배양온도, 배양 pH와 배양시간을 종합적으로 고려하면 *B. subtilis* BD0310 균주를 대량배양하기 위한 최적온도, 최적 pH 및 시간은 30°C, pH 7, 24시간인 것으로 확인되었다.

한편 길항세균을 대량배양하여 미생물제제로 제형화할 때 길항세균의 항균활성을 증대시킬 수 있는 특정 영양원을 배지에 첨가함으로써 미생물제제의 길항능력을 향상시킬 수 있다(박 등, 2005). 특히 *Bacillus* 속 세균들은 항생물질을 분비함으로써 길항능력을 발휘하는 것은 잘 알려진 사실이다(강 등, 2000; Nagano 등, 1988; Nguyen 등, 2004; Silo-Suh 등, 1994; Vanittanakom 등, 1992). 따라서 *Bacillus* 속 세균들을 대량배양하는 배지 속에 항생물질의 생성을 촉진시킬 수 있는 탄소원 또는 질소원을 첨가시켜 주는 것은 길항능력이 향상된 미생물제제를 생산하기 위하여 바람직한 공정이다. 이 연구에서도 길항세균 *B. subtilis* BD0310 균주의 대량배양 과정에서 *P. longiseta*에 대한 항균활성을 증가시키는 탄소원을 선발하기 위하여 9가지 탄소원을 첨가시켜 배양한 후 길항균주의 배양액에 의한 *P. longiseta*의 균사생육 억제효과를 조사한 결과 특히 maltose와 inositol을 탄소원으로 첨가한 배지에서 배양한 길항균주의 배양액이 *P. longiseta*

의 균사생육을 가장 강하게 억제시키는 것으로 밝혀졌다. 이것은 두 탄소원이 길항균주의 항균활성을 증대시켰기 때문으로 풀이된다. 따라서 *B. subtilis* BD0310 균주를 대량배양을 할 경우 *P. longiseta*에 대한 항균활성을 가장 높게 증가시키는 탄소원은 maltose로 확인되었으며, inositol도 maltose에 버금갈 정도로 길항균주의 항균활성을 증가시킬 것으로 기대된다. 같은 방법으로 5가지 질소원을 첨가시켜 배양한 후 길항균주의 배양여액에 의한 *P. longiseta*의 균사생육 억제효과를 조사한 결과 *P. longiseta*에 대한 항균활성을 가장 높게 증가시키는 질소원은 yeast extract로 확인되었으며, tryptone도 yeast extract와 비등하게 항균활성을 증가시켰다.

차나무의 엽권으로부터 분리된 길항세균 *B. subtilis* BD0310 균주를 이 연구에서 밝혀진 대량배양 조건에서 배양하여 미생물제제로 실용화하기 위해서는 *P. longiseta*에 대한 길항능력을 향상시킬 수 있는 제형화 연구 및 현장 적용 시험 등이 추가로 수행되어야 한다. 식물체 표면에 존재하는 미생물상은 서식지에서 햇빛, 바람과 비에 노출정도, 유용한 영양원의 종류 및 함량, 지형 등에 의해 결정되고(Andrews와 Harris, 2000), 특히 건조와 UV에 대한 내성이나 회피가 식물체 표면 서식지에서 미생물의 생존에 가장 중요하다(Beattie와 Lindow, 1999). 이러한 점들을 고려하면 대규모 다원에서 재배되고 있는 차나무 수관은 밀식된 차나무 가지와 잎이 서로 촘촘하게 엮혀 있어서 다른 작물에 비해 길항세균이 안정적으로 정착할 수 있는 서식지를 제공해 줄 것으로 판단된다(오 등, 2005). 따라서 *B. subtilis* BD0310 균주를 차나무 수관에 살포하였을 경우 안정적으로 차나무 엽권에 정착할 수 있도록 내생포자의 발아율을 증대시키고 엽권에서 생존 및 증식능력을 향상시킬 수 있는 제형 개발이 추후 차나무 겹등근무늬병 미생물농약 상용화의 관건이 될 것으로 전망된다.

## 요 약

차나무 겹등근무늬병을 일으키는 *Pestalotiopsis longiseta*에 대하여 강력한 길항능력을 나타내는 *Bacillus subtilis* BD0310 균주의 대량배양을 위한 배양조건과 *P. longiseta*에 대한 항균활성을 증대시킬 수 있는 탄소원과 질소원을 선발하였다. *B. subtilis* BD0310 균주를 대량배양하기 위한 최적온도 및 시간은 30°C, 24시간인 것으로 확인되었으며, 초기 최적 pH는 7로 확인되었다. *B. subtilis* BD0310 균주를 대량으로 배양할 경우 *P. longiseta*에 대한 항균활성을 가장 높게 증가시키는 탄소원을 선발하기 위하여 fructose, galactose, glucose, glycerol, inositol, lactose,

maltose, sorbitol, starch 등 9가지 탄소원을 사용하여 조사한 결과 maltose와 inositol이 가장 효율적인 탄소원으로 선발되었으며, casein, tryptone, malt extract, yeast extract, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 등 5가지 질소원 중에서 yeast extract와 tryptone이 가장 효율적인 질소원으로 선발되었다. 이러한 결과들은 길항세균 *B. subtilis* BD0310를 차나무 겹등근무늬병 방제용 미생물제제로 개발하기 위한 대량배양 생산 공정을 확립하는데 기여할 것으로 전망된다.

## 감사의 글

본 연구는 농림부 농림기술개발사업의 지원에 의해 수행되었습니다.

## 참고문헌

- Andrews, J. H. and Harris, R. F. 2000. The ecology and biogeography of microorganisms on plant surfaces. *Annu. Rev. Phytopathol.* 38: 145-180.
- Beattie, G. A. and Lindow, S. E. 1999. Bacterial colonization of leaves: spectrum of strategies. *Phytopathology* 89: 353-359.
- Exuka, A. and Ando, Y. 1994. *Tea Diseases in Japan*. Japan. Plant Protection Association, Tokyo, Japan. 213 pp.
- 한국식물병리학회. 2004. 한국식물병명목록. 제4판. 한국식물병리학회. 779 pp.
- Horikawa, T. 1986. Occurrence of resistance of tea gray blight pathogen, *Pestalotiopsis longiseta* Spegazzini to benzimidazole fungicides. *Bull. Shizuoka Tea Ezpt. Stn.* 12: 9-14.
- Horikawa, T. 1987. Effective fungicides and application time for control of tea gray blight caused by *Pestalotiopsis longiseta* Speg. *Tea Research J.* 62: 45-56.
- 강길진, 정지현, 조정일. 2000. *Bacillus subtilis*가 생산하는 길항물질에 의한 아플라톡신 생성균의 억제. *한국식품위생안전성학회지* 15: 122-127.
- Koh, Y. J., Shin, G. H. and Hur, J. S. 2001. Seasonal Occurrence and Development of Gray blight of Tea Plants in Korea. *Plant Pathol. J.* 17: 40-44.
- 이상범. 2000. 미생물농약의 개발현황 및 전망. *농약과학소식* 4: 9-18.
- Nagano, M. M., Marahiel, M. A. and Zuber, P. 1988. Identification of a genetic locus required for biosynthesis of the lipopeptide antibiotic surfactin in *Bacillus subtilis*. *J. Bacteriol.* 170: 5662-5668.
- Nguyen, T. T. H., Oh, S.-O., Kim, G. H., Hur, J.-S. and Koh, Y. J. 2005. *Bacillus subtilis* S1-0210 as a Biocontrol Agent against *Botrytis cinerea* in Strawberries. *Plant Pathol. J.* 21: 59-63.
- 오순옥, 김경희, 임광미, 허재선, 고영진. 2005. 차나무 겹등근무늬병의 발생소장 및 엽권 길항미생물 선발. *식물병연구* 11: 162-166.

- Oniki, M., Narisawa, N. and Ando, Y. 1986. Incidence of strains of tea gray blight fungi *Pestalotiopsis longiseta* and *Pestalotiopsis theae* resistant to benzimidazole fungicides in Japan. *Tea Research J.* 64: 29-33.
- 박종영, 김한우, 김현주, 전옥주, 정순재, 최우봉, 이선우, 문병주. 2005. 길항세균 *Stenotrophomonas maltophilia* BW-13의 대량배양을 위한 최적 배양조건. *식물병연구* 11: 158-161.
- 박서기, 박기범, 차광홍. 1996. 차나무의 병해 III. *Pestalotiopsis longiseta*에 의한 차 겹둥근무늬병. *한국식물병리학회지* 12: 463-465.
- Shin, G. H., Hur, J. S. and Koh, Y. J. 2000. Chemical Control of Gray Blight of Tea in Korea. *Plant Pathol. J.* 16: 162-165.
- Silo-Suh, L. A., Lethbridge, B. J., Raffel, S. J., He., H., Clardy, J. and Handelsman, J. 1994. Biological activities of two fungistatics produced by *Bacillus cereus* UW85. *Appl. Environ. Microbiol.* 60: 2023-2030.
- Vanittanakom, N., Loeffler, W., Koch, U. and Jung, G. 1986. Fengycin - a novel antifungal lipopeptide antibiotic produced by *Bacillus subtilis* F-29-3. *J. Antibiotics* 39: 888-900.