

해양 유래 미생물을 이용한 어류질병세균에 대한 항균활성 탐색

김동휘, 박소현, 김지현, 이해리, 허문수*
제주대학교 해양과학대학 수산생명의학과

Received: August 24, 2017 / Revised: September 7, 2017 / Accepted: September 8, 2017

Screening of Antimicrobial Activity of Marine-Derived Biomaterials against Fish Pathogens

Dong-Hwi Kim, So-Hyun Park, Ji-Hyun Kim, Hae-Ri Lee, and Moon-Soo Heo*

Marine Applied Microbes and Aquatic Organism Disease Control Lab, Department of Aquatic Biomedical Sciences, School of Marine Biomedical Sciences & Marine and Environmental Research Institute, Jeju National University, Jeju 63243, Republic of Korea

The prevalence of infections due to pathogenic bacteria such as *Edwardsiella tarda*, *Streptococcus parauberis*, and *Photobacterium phosphoreum* in fish farms in Jeju Island and their management by marine-derived biomaterials was studied. In this study, we isolated eight species type of marine-derived biomaterials from four sea areas of Jeju Island. An antibiotic disc susceptibility test confirmed that the isolated marine-derived biomaterials showed weak resistance only to oxytetracycline and penicillin and sensitivity to the other antibiotics tested, and antimicrobial activity against fish pathogens with the inhibitory zone of 22 mm, 18 mm, and 19 mm for MD-02, MD-04, and MD-06 against *E. tarda* strains, respectively, and 19 mm, 22 mm, 30 mm, and 29 mm for MD-01, MD-02, MD-04, and MD-06 against *S. parauberis* strains, respectively, while all the marine-derived biomaterials showed antibacterial activity against *P. phosphoreum*. Among the eight biomaterials selected, *Bacillus subtilis* MD-02 displayed the greatest antibacterial activity against the three tested fish pathogens and also displayed susceptibility to antibiotics. The growth of *Bacillus subtilis* MD-02 was greatest with the carbon source, dextrine; nitrogen source, peptone; and mineral source, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$. Hence, the present study confirmed that the isolate *B. subtilis* MD-02 from Jeju Island could be a potential antimicrobial agent against fish pathogens and a potential pharmaceutical agent.

Keywords: Antibiotic substance, antimicrobial activity, fish pathogen, marine derived biomaterials, olive flounder

서론

국내의 육상 양식 산업은 현재 많은 발전을 하여 새로운 먹거리의 한 축으로 자리 잡았다. 하지만 양식 도중 발생하는 어류 질병이 경제적 손실에 심각한 악 영향을 미치는 것으로 보고되었다. 육상 양식은 한정된 면적에서 생산량을 극대화하기 위해 무분별하게 고밀도 사육을 하여, 어체의 중체를 저하 및 각종 질병 발생의 직접적인 원인을 제공하여 폐사에 따른 경제적 손실을 일으킨다[1].

제주 양식넙치의 경우 폐사현황을 보면 2010년 4,519톤(생산량 21,370톤), 2011년 4,427톤(생산량 22,823톤), 2012년

5,601톤(생산량 24,575톤), 2013년 5,760톤(생산량 23,002톤), 2014년 6,710톤(생산량 26,283톤), 2015년 6,928톤(생산량 27,142톤)으로 해마다 증가하고 있다. 또한 폐사로 인한 피해액은 2010년 294억원, 2011년 376억원, 2012년 513억원, 2013년 403억원, 2014년 485억원, 2015년 529억원으로 조사되었다[2, 3].

넙치의 양식과정에서 발생하는 주요 세균성 질병의 원인균으로 에드워드스증(*Edwardsiella* sp.), 연쇄구균증(*Streptococcus* sp.), 비브리오증(*Vibrio* sp.), 활주세균증(*Flexibacter maritimus*) 등이 보고되고 있다[4, 5].

이런 세균성 질병에 대한 근본적인 치료 대책이 미비하여 대부분의 양식장에서는 화학 항생제 및 극약으로 지정된 포르말린을 사용하고 있는 실정이다. 이에 많은 연구진들은 천연 항생제에 대한 연구를 진행 중에 있으며, 최근 probiotics, 천연식물에서 분리한 항생물질 등을 이용하여 사료첨가제

*Corresponding author

Tel: +82-64-754-3473, Fax: +82-64-756-3493

E-mail: msheo@jejunu.ac.kr

© 2017, The Korean Society for Microbiology and Biotechnology

개발을 하고 있다[6].

그 중에서도 본 연구진은 해양유래 미생물을 이용하여 어류질병세균을 제어하고자 한다. 해양미생물은 해수와 퇴적층에서의 물질 순환에 중요한 역할을 수행하고 있으며, 근래에는 해양오염이나 어류질병문제에서도 많은 관심을 받고 있다. 해양미생물의 응용사례로는 호염성 해양미생물로부터 항생제 istamycin, biopolymer, glycine betaine 생산, 내한성 미생물의 경우 세제용 효소의 개발, 빙핵활성 단백질 생산 등 다양한 방면에서 이용되고 있으며 앞으로 새로운 기능이 밝혀짐에 따라 산업적 이용은 더욱 확대될 것이다[7, 8].

따라서 본 연구에서는 제주도 해양에서 분리한 해양유래 미생물 중 육상 양식장에 피해를 주는 어류질병세균에 대한 항균활성을 가지는 미생물을 탐색하고자 한다.

재료 및 방법

해양유래 미생물 후보 균주 확보

해양유래 미생물 후보 균주를 분리 하기 위해 제주도 내 4개 해역(성산, 표선, 대정, 한림)에서 각각 해수를 채취하였다(Fig. 1). 채취한 해수는 무균 채수병에 담아 4°C에 보관하여 실험실로 운반하여 실험을 진행하였다. 채취한 해수는 0.85% 생리 식염수에 희석하여 Marine Agar (MA, Difco, USA), ISP Medium 2 (ISP2, Difco, USA), Reasoner's 2A Agar (R2A, Difco, USA)에 각각 접종하였다. 접종한 배지는 25°C에서 48시간 배양하였다[9]. 배양 된 균주를 이용하여 어류질병세균에 대하여 항균활성을 가진 해양유래 미생물 후보 균주만 선별하였다. 선별된 균주는 Marine Broth (MB, Difco, USA), ISP medium 2 Broth (ISP2, Difco, USA), Reasoner's 2A Broth (R2B, Difco, USA)에 접종하여 25°C에서 48시간 배양시킨 후, -80°C에 20% (v/v) glycerol에 보관하였다[10, 11].

어류질병세균 확보

제주도 내 넙치 양식장에서 주로 발생하는 *Streptococcus parauberis* KCTC 3651 (Sp), *Edwardsiella tarda* KCTC 12267 (Et), *Photobacterium phosphoreum* KCTC 12377 (Pp)를 생물자원센터(Korea Collection for Type Culture, KCTC)에서 분양받았다. 분양받은 균주를 Brain Heart Infusion Agar (BHIA, Difco, USA)에 접종하여 25°C에서 48시간 배양하였다[12, 13]. 배양된 균주를 NaCl이 1.5% 첨가된 Brain Herat Infusion Broth (BHIB, Difco, USA)에 접종하여 25°C에서 48시간 배양시킨 후, -80°C에 20% (v/v) glycerol에 보관하였다[10, 11].

항생제 감수성 테스트

항생제 종류는 Florfenicol 외 11종(Table 1)을 사용하였고, 세균의 내성유무를 확인하기 위해 일반적으로 사용되는 항생제에 Bauer-kirby test를 통해 항생제 내성 균주와 감수성 균주로 분류하였다[14]. 세균 배양액을 Muller Hinton Agar (MHA, Difco, USA) 배지 위에 접종하고 이 위에 항생제 디스크를 올려놓으면 배지에 항생제 농도 구배가 생기며, 디스크 주위로 생기는 억제환이 항균력을 나타낸다[15]. 억제환은 항생제의 용해도와 세균의 감수성 정도에 따라 크기가 다르게 나타난다. 유용미생물 후보 균주를 각각의 배지에 전 배양 시킨 후, MHA 배지에 도말하여 각각의 항생제 디스크를 올려 놓은 다음 25°C에서 48시간 배양시킨다. 항생제 디스크에 대한 억제환의 크기를 측정하여 항생제 내성에 대한 유무를 판단한다[16].

해양유래 미생물에 대한 어류질병세균의 항균활성

제주 해역에서 분리한 해양유래 미생물 후보 균주에 대한 어류질병세균의 항균 활성능을 paper disc법을 이용하여 측정하였다[15]. 8 mm paper disc에 전 배양한 해양유래 미생



Fig. 1. Collection place from the coast of Jeju Island for isolated candidate strains of marine derived biomaterials. (A) Seongsan, (B) Pyoseon, (C) Daejeong, (D) Hanlim.

Table 1. Antibiotics list for selection of antibiotic resistant strains.

Antibiotics	Concentra- tions (μg)	Diameter of inhibition zone (mm)		
		Resistant	Weakly sensitive	Sensitive
Florfenicol (FFL)	30	≤ 12	13–17	≥ 18
Amoxicillin (AML)	10	≤ 13	14–17	≥ 18
Oxolinic acid (OA)	20	≤ 9	10–12	≥ 13
Flumequine (UB)	10	≤ 15	16–20	≥ 21
Nalidixic acid (NA)	30	≤ 13	14–18	≥ 19
Ciprofloxacin (CIP)	5	≤ 15	16–20	≥ 21
Doxycycline (DO)	30	≤ 12	13–15	≥ 16
Oxytetracycline (OTC)	30	≤ 14	15–18	≥ 19
Neomycin (NEO)	10	≤ 12	13–16	≥ 17
Tetracycline (TC)	30	≤ 14	15–18	≥ 19
Penicillin (PE)	10 unit	≤ 19	20–27	≥ 28
Spiramycine (SP)	20	≤ 13	14–16	≥ 17

물 후보 균주를 100 μl씩 분주하여 25°C에서 24시간 건조 시켰다. 어류질병 균주는 전 배양하여 MHA에 도말 후 일정 간격으로 건조시킨 paper disc를 올려 놓은 후 25°C에서 48시간 동안 배양하였다. 배양 후 paper disc 주위에 억제환의 형성 유무를 확인하여 항균 활성능을 확인하였다[16].

해양유래 미생물 최적배양조건

최소 생육 배지인 GY 배지에 대표적인 탄소원, 질소원, 무기염을 추가로 첨가할 때 나타나는 생육활성을 대조구와 비

교 하고자 한다.

해양유래 미생물 후보 균주의 배지조성에 따른 생육활성을 알아보기 위하여 최소 생육 배지인 GY 배지(Glucose 10 g, Yeast extract 2.5 g, Distilled water 1 L)에 대표적인 탄소원 Dextrine, Saccharose, Sorbitol을 각각 1% 첨가하여 30°C, 150 rpm으로 24시간 배양한 후 배양액의 탁도를 660 nm에서 측정하였다. 대조구는 GY 배지에서 glucose가 첨가되지 않은 배지를 사용하였다[17, 18].

해양유래 미생물 후보 균주의 배지조성에 따른 생육활성을 알아보기 위하여 최소 생육 배지인 GY 배지에 대표적인 질소원 Malt extract, Peptone, Yeast extract를 각각 0.5% 첨가하여 30°C, 150 rpm으로 24시간 배양한 후 배양액의 탁도를 660 nm에서 측정하였다. 대조구는 GY 배지에서 yeast extract가 첨가되지 않은 배지를 사용하였다[18, 19].

해양유래 미생물 후보 균주의 배지조성에 따른 생육활성을 알아보기 위하여 최소 생육 배지인 GY 배지에 대표적인 무기염 KH₂PO₄, MgSO₄·7H₂O, FeSO₄·7H₂O를 각각 0.1% 첨가하여 30°C, 150 rpm으로 24시간 배양한 후 배양액의 탁도를 660 nm에서 측정하였다. 대조구는 GY 배지에서 MgSO₄·7H₂O가 첨가되지 않은 배지를 사용하였다[18, 20].

결과 및 고찰

해양유래 미생물 후보 균주

해양유래 미생물 후보균주는 총 8종이 분리되었으며, *Bacillus safensis* 2종, *Bacillus subtilis* 3종, *Psychrobacter pulmonis*, *Pseudomonas balearica*, *Psychrobacter celer*이 분리되었다(Table 2). 분리된 균주는 MD-01~MD-08으로 명

Table 2. Candidate strain of marine derived biomaterials isolated from coast of Jeju Island.

Strain No.	Species	Sequence
MD-01	<i>Bacillus safensis</i>	TGATTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCGGGTTGTACCCGGCAGTCACCTAGAGTGCCCACTGATGCTGCTAGATCAAGGGTTGCGCTCGTGCG
MD-02	<i>Bacillus subtilis</i>	CATCCCCAACCTTTCTCCGGTTGTACCCGGCAGTCACCTAGAGTGCCCACTGAATGCTGGCACTAGATCAAGGGTGCCTCGTTGCGGGACTTAC
MD-03	<i>Psychrobacter pulmonis</i>	ACTTCTCGGTGTACCCGGCAGTCACCTAGAGTGCCCACTGATGCTGCTGCTAGATCAGGTGCGCTCGTGCGGGACTACCCACATCTCCACGACACGAGCT
MD-04	<i>Bacillus subtilis</i>	CCCGCTCTCAGTTGTACTGCAGTATCTAGAGTCCGCAAACGCTGTACTAGACAAGGTGCGCTCGTGCGGACTACCAACATCTCAGACACGAGCT
MD-05	<i>Bacillus safensis</i>	TCTCCGGTTGTACCCGGCAGTCACCTTAGAAGTGCCCAACTGAATGCTGGCAACTAAGATCAAGGGTGCGCTCGTTGCGGGACTAACCCACATCT
MD-06	<i>Bacillus subtilis</i>	ATCCCCACCTTCTCCGGTTGTACCCGGCAGTCACCTAGAGTGCCCACTGAATGCTGCTGCTAGATCAGGTGCGCTCGTGCGGGACTACCCACATCTC
MD-07	<i>Pseudomonas balearica</i>	CATCCCCACCTTCTCCGGTTGTACCCGGCAGTCACCTAGAGTGCCCACTGAATGCTGGCACTAGATCAAGGGTGCCTCGTGCGGGACTAACCC
MD-08	<i>Psychrobacter celer</i>	TGACTTGACGTCATCCCCACCTTTCTCCGGTTGTACCCGGCAGTCTCTAGAGGTGCCACCTAACGTGCTGGTACTAGACAGGGTGCCTCGTAC

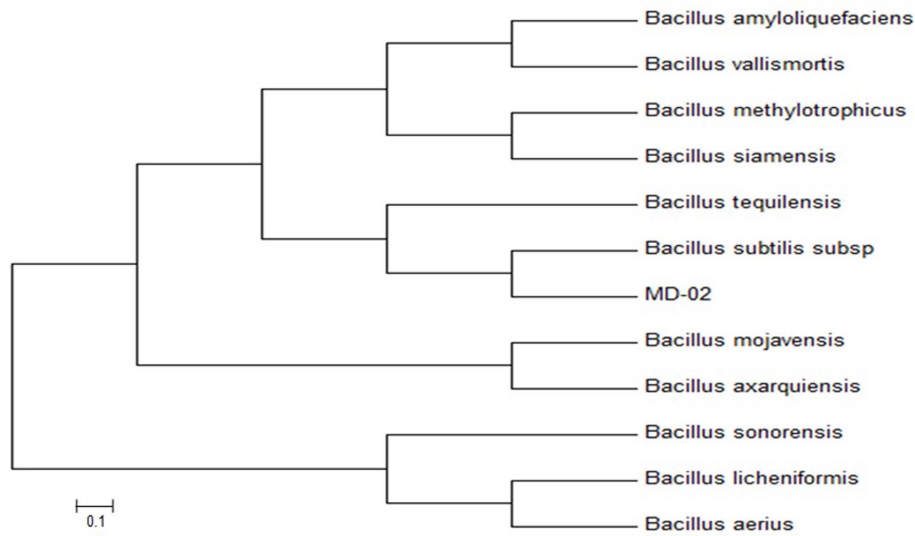


Fig. 2. Neighbour-joining phylogenetic tree based on 16S rRNA gene sequences showing the position of strain MD-2 within the radiation of the genus Bacillus. Bootstrep percentage (from 1000 replication)>50% are shown at branch points. Bar, 0.1 substitutions per nucleotide position.

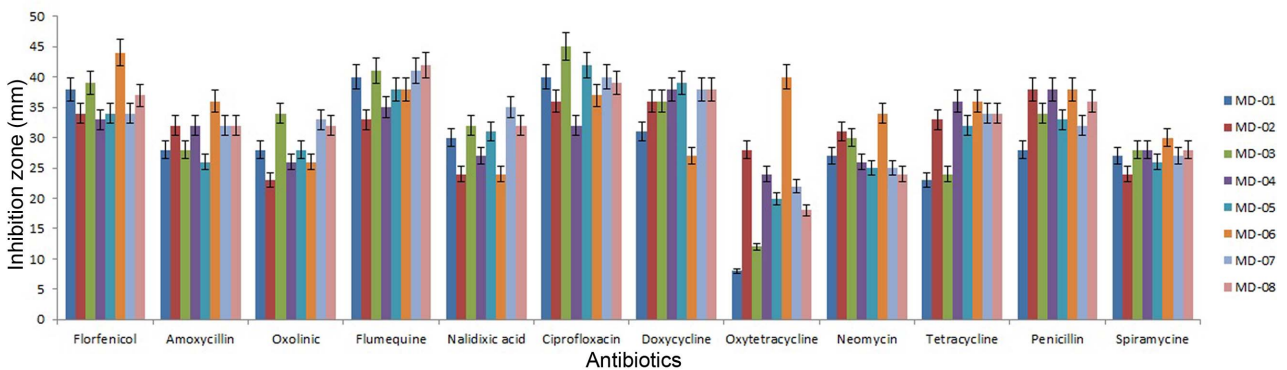


Fig. 3. Antibiotics susceptibility test for candidate strains of marine derived biomaterials.

명하여 본 실험에 사용하였다.

항생제 감수성 테스트 확인

항생제 감수성 결과 실험에 사용된 모든 해양유래 미생물에서 항생제에 대하여 감수성을 보였다(Fig. 3). 하지만 MD-01, MD-03은 양식장에서 주로 사용하고 있는 Oxytetracycline에 대해서는 8 mm의 억제환을 보여 다른 해양미생물에 비해 약한 내성을 보이는 것을 확인하였다. 또한 MD-07은 Penicillin에 11 mm의 억제환을 보여 다른 해양 미생물에 비해 약한 내성을 보였다. Oxytetracycline과 penicillin에 대하여 약한 내성을 보이는 이유로는 해수를 채취한 연안 주변에 육상 양식장이 밀집해 있는 것과 관련이 있다고 사료된다. 양식장에서 사육하고 배출하는 배출수에 기존의 항생제가 남아있어 바다로 유입되어 약한 내성을 보이는 것으로 사

료된다. 또한 항생제에 감수성을 보이는 해양유래 미생물을 선택하는 이유는 항생제에 내성을 보이는 균주를 사용할 경우 환경 중으로 방출되는 항생물질에 의한 생태계의 영향 및 양식생물에 미치는 영향을 고려하여 항생제에 감수성을 보이는 균주로 선택하였다[21].

해양유래 미생물에 대한 어류질병세균의 항균활성

분리한 해양유래 미생물을 이용하여 어류질병세균에 대한 항균활성을 확인한 결과 *E. tarda*에 대해서는 MD-02, MD-04, MD-06이 각각 22 mm, 18 mm, 19 mm로 억제환을 보여 항균활성을 나타냈다(Fig. 4A). *S. parauberis*에 대해서는 MD-01, MD-02, MD-04, MD-06이 각각 19 mm, 22 mm, 30 mm, 29 mm로 억제환을 보여 항균활성을 나타냈다(Fig. 4B). *P. phosphoreum*에 대해서는 모든 해양 유래 미생물에

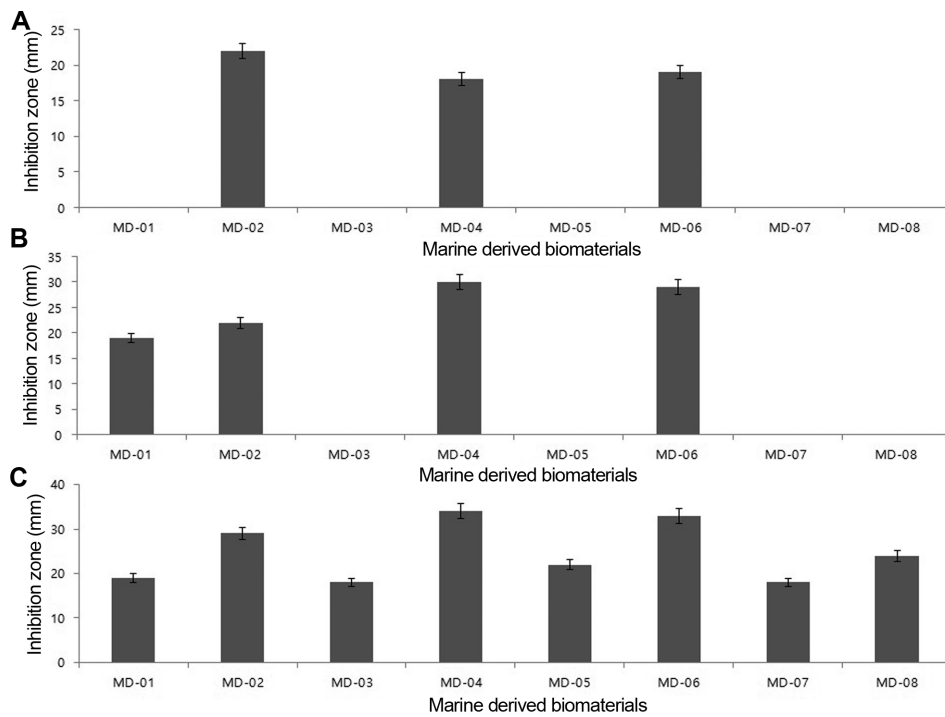


Fig. 4. Antimicrobial activity of candidate strains of marine derived biomaterials for fish pathogens. (A) *E. tarda*, (B) *S. parauberis*, (C) *P. phosphoreum*.

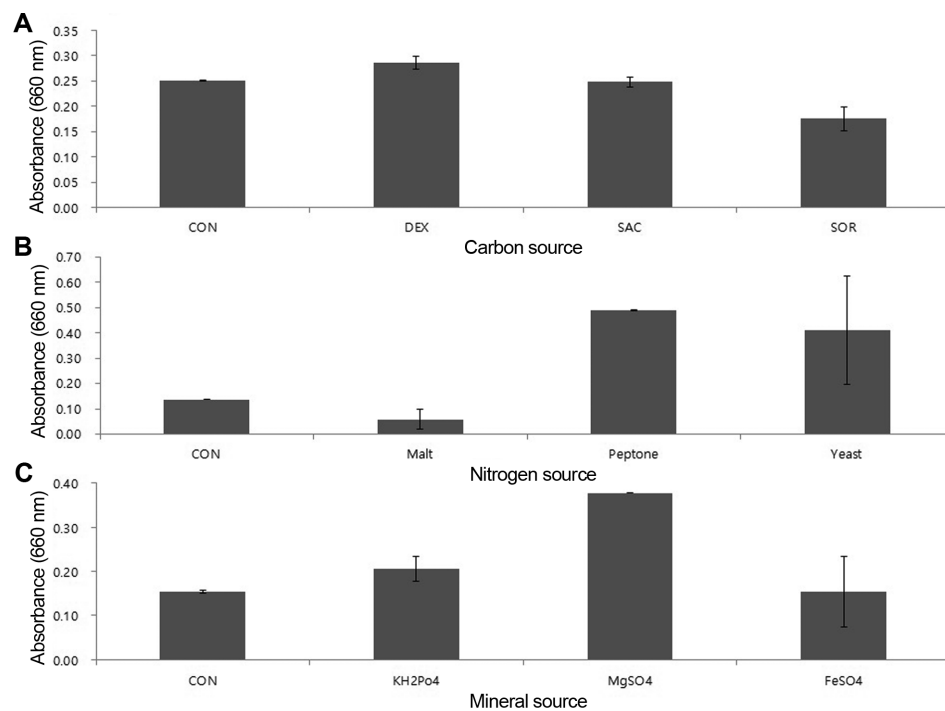


Fig. 5. Effect of carbon source, nitrogen source and mineral source on the cell growth of *B. subtilis* MD-02. (A) Carbon Source, (B) Nitrogen Source, (C) Mineral Source.

서 항균활성을 보였다(Fig. 4C). 이에 어류질병세균에 대한 항균활성이 좋으며 항생제에 감수성을 보이는 *Bacillus subtilis* MD-02로 최종 선정하였다(Fig. 2).

해양유래 미생물 최적배양조건

각종 배지성분은 항균물질 생산에 중요한 것으로 알려져 있기 때문에[22], 해양유래 미생물인 *B. subtilis* MD-02의 배지조성에 탄소원인 Dextrine, Saccharose, Sorbitol을 첨가하여 생육활성을 측정하였다. 측정 결과 배지에 아무것도 첨가하지 않은 control에 비해 Dextrine만 생육 활성이 증가한 것을 확인할 수 있었다. Saccharose와 Sorbitol의 경우 control에 비해 생육활성이 변화가 없거나 감소하는 것을 확인하였다(Fig. 5A).

해양유래 미생물인 *B. subtilis* MD-02의 배지조성에 질소원인 Malt extract, Peptone, Yeast extract를 첨가하여 생육활성을 측정하였다. 측정 결과 control과 비교 시 Peptone, Yeast extract가 생육활성이 증가하는 것을 확인할 수 있었다. Malt extract의 경우 control에 비해 생육활성이 감소하는 것을 확인하였다(Fig. 5B). 이전 연구결과에 따르면 항진균성 항생물질을 생산할 때 yeast extract가 가장 효과적이라고 보고하였다[23].

해양유래 미생물인 *B. subtilis* MD-02의 배지조성에 무기염인 KH_2PO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 를 첨가하여 생육활성을 측정하였다. 측정 결과 control과 비교 시 KH_2PO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 가 생육활성이 증가하는 것을 확인할 수 있었다. $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 의 경우 control과 비교 시 생육활성의 차이가 없었다(Fig. 5C). 이전 연구결과에 따르면 항균물질을 생산할 때 KH_2PO_4 가 효과적이라고 보고하였다[24].

이에 따라 해양유래 미생물인 *B. subtilis* MD-02의 가장 좋은 생육활성 환경은 배지에 Dextrine, Peptone, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 를 첨가하여 배양 시 높은 생육활성을 기대할 수 있다고 사료된다.

요 약

제주도 육상 양식장에서 주로 발생하는 어류 질병세균인 *Edward tarda*, *Streptococcus parauberis*, *Photobacterium phosphoreum*에 대한 피해를 줄이고 치료하고자 해양유래 미생물을 이용하고자 한다. 본 연구진은 제주 지역 4개 해역에서 해양유래 미생물을 8종 분리하였다. 분리된 해양유래 미생물을 이용하여 항생제 디스크에 대한 감수성 확인을 한 결과, Oxytetracycline과 penicillin에서만 약한 내성을 보일 뿐 나머지 항생제 디스크에 대해선 감수성을 보였다. 해양유래 미생물을 이용하여 어류질병에 대한 항균활성을 확인한 결과 *E. tarda*에 대해선 MD-02, MD-04, MD-06이 각각

22 mm, 18 mm, 19 mm의 억제환이 나타났다. *S. parauberis*에 대해선 MD-01, MD-02, MD-04, MD-06이 각각 19 mm, 22 mm, 30 mm, 29 mm의 억제환이 나타났으며, *P. Phosphoreum*에 대해선 모든 해양 유래 미생물에서 항균활성을 보였다. 이 중 어류질병세균에 대하여 항균활성이 가장 좋으며 항생제에 감수성을 보이는 *B. subtilis* MD-02를 최종 선정하였다. *B. subtilis* MD-02의 배지조성은 탄소원에서는 Dextrine, 질소원에서는 Peptone, 무기염에서는 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 에서 생육이 가장 활발한 것을 확인하였다. 이에 따라 해양에서 분리된 *B. subtilis* MD-02는 어류질병균주에 대한 항균활성을 가지는 동시에 향후 치료제로써의 가치가 있다고 사료된다.

Acknowledgments

This research was supported by The Leading Human Resource Training Program of Regional Neo industry through the National Research Foundation of Korea (NRF) funded by the Ministry of Science, ICT and future Planning (2016H1D5A1911152 & 2017R1A2B4005688).

References

1. Ministry for Food Agriculture Forestry and Fisheries. 2015. Statistical year book of maritime affairs and fisheries.
2. Kim DH, Subramanian D, Jang YH, Heo MS. 2016. Inhibitory effect of transition metal gallium ($\text{Ga}(\text{NO}_3)_3$) on biofilm by fish pathogens. *Microbiol. Biotechnol. Lett.* **44**: 535-539.
3. Statistics Korea. 2016. Aquaculture Status Survey.
4. Lee CH, Kim PY, Ko CS, Oh DC, Kang BJ. 2007. Biological characteristics of *Streptococcus iniae* and *Streptococcus parauberis* isolated from cultured flounder, *Paralichthys olivaceus*, in Jeju. *J. Fish Pathol.* **20**: 33-40.
5. Nguyen HT, Kanai K. 1999. Selective agars for the isolation of *Streptococcus iniae* from Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*, and its cultural environment. *J. Appl. Microbiol.* **86**: 769-776.
6. Kim DH, Subramanian D, Park SH, Jang YH, Heo MS. 2017. Assessment and potential application of the probiotic strain, *Bacillus amyloliquefaciens* JFP2, isolated from fermented seafood-Jeotgal in flounder *Paralichthys olivaceus* juveniles. *Isr. J. Aquac.* **69**: 1352-1364.
7. Cottrell MT, Moore JA, Kirchman DL. 1999. Chitinases from uncultured marine microorganisms. *J. Appl. Environ. Microbiol.* **65**: 2553-2557.
8. Friedrich AB, Merkert H, Fendert T, Hacker J, Proksch P, Hentschel U. 1999. Microbial diversity in the marine sponge *Aplysina cavernicola* (formerly *Verongia cavernicola*) analyzed by fluorescence in situ hybridization (FISH). *J. Mar. Biol.* **134**: 461-470.
9. Bergman O, Haber M, Mayzel B, Anderson MA, Shpigel M, Hill RT, et al. 2011. Marine-based cultivation of *Diacarnus* sponges and the bacterial community composition of wild and maricultured

- sponges and their larvae. *Mar. Biotechnol.* **13**: 1169-1182.
10. Jung SH, Choi DL, Kim JW, Jo MR, Jee BY, Seo JS. 2009. Pharmacokinetics of oxolinic acid in cultured olive flounder *Paralichthys olivaceus* by oral administration, injection and dipping. *J. Fish Pathol.* **22**: 125-135.
 11. Woo SH, Lee JH, Kim YK, Cho MY, Jung SH, Kim JW, et al. 2010. Effects of garlic *Allium sativum* extract immersion on the immune responses of olive flounder *Paralichthys olivaceus* pre-challenged with pathogenic bacteria. *J. Fish Pathol.* **23**: 199-209.
 12. Chiang WC, Martin M, Jensen PØ, Høiby N, Nielsen TE, Givskov M, et al. 2013. Extracellular DNA shields against aminoglycosides in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Antimicrob. Agents Chemother.* **57**: 2352-2361.
 13. Kim JH, Kim CH, Hacker J, Ziebuhr W, Lee BK, Cho SH. 2008. Molecular characterization of regulatory genes associated with biofilm variation in a *Staphylococcus aureus* strain. *J. Microbiol. Biotechnol.* **18**: 28-34.
 14. Oh EG, Yu HS, Shin SB, Son KT, Park KB, Kwon JY, Lee HJ. 2008. Trimethoprim resistance of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from the fish farm. *J. Korean Fish. Soc.* **41**: 324-329.
 15. Lee KW, Park KS. 2010. Antibiotic-resistance profiles and the identification of the ampicillin-resistance gene of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from seawater. *Korean J. Fish Aquat. Sci.* **43**: 637-641.
 16. Park EH, Kim JA, Choi SH, Bin JH, Cheigh HS, Suk DH, et al. 2007. Isolation and antimicrobial susceptibility of *Campylobacter jejuni* from diarrhea patients. *J. Life Sci.* **17**: 811-815.
 17. Park WM, Kim GH, Hyeon JW. 1995. New synthetic medium for growth of mycelium of *Pleurotus* species. *Korean J. Mycol.* **23**: 275-283.
 18. Sung JM, Choi YS, Shrestha B, Park YJ. 2002. Cultural characteristics of mycelial growth by *Cordyceps militaris*. *Korean J. Mycol.* **30**: 1-5.
 19. Ok M, Choi YS. 2005. Screening of fibrinolytic enzyme producing from microorganisms in Korean fermented soybean paste and optimum conditions of enzyme production. *Korean J. Food Preserv.* **12**: 643-649.
 20. Kang AS, Cha DY, Hong IP, Chang HY, Yu SH. 1994. Studies of cultural condition on the mycelial vegetative growth in *Naematoloma sublateritium* (Fr.) Karst. *Korean J. Mycol.* **22**: 153-159.
 21. Oh EG, Son KT, Ha KS, Yoo HD, Yu HS, Shin SB, et al. 2009. Antimicrobial resistance of *Vibrio* strains from brackish water on the coast of Gyeongsangnamdo. *Korean J. Fish Aqua Sci.* **42**: 335-343.
 22. Ryu HS, Shon MY, Cho SJ, Park SK, Lee SW. 2007. Characterization of antibacterial substance-producing *Bacillus subtilis* isolated from traditional Doenjang. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.* **50**: 87-94.
 23. Kang B, Zhang X, Wu Z, Wang Z, Park S. 2014. Production of citrinin-free *Monascus* pigments by submerged culture at low pH. *Enzyme Microb. Tec.* **55**: 50-57.
 24. Chen W, He Y, Zhou Y, Shao Y, Feng Y, Li M, et al. 2015. Edible filamentous fungi from the species *Monascus*: early traditional fermentations, modern molecular biology, and future genomics. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* **14**: 555-567.