

차나무 겹등근무늬병의 발생소장 및 엽권 길항미생물 선발

오순옥 · 김경희 · 임광미¹ · 허재선² · 고영진*순천대학교 식물의학과, ¹생물학과, ²환경교육과

Disease Progress of Gray Blight on Tea Plant and Selection of a Biocontrol Agent from Phylloplanes of the Plant

Soon-Ok Oh, Gyoung Hee Kim, Kwang-Mi Lim¹, Jae-Seoun Hur² and Young Jin Koh*Department of Plant Medicine, ¹Department of Biology, ²Department of Environmental Education, Suncheon National University, Suncheon 540-742, Korea

(Received on November 7, 2005)

Disease progress of gray blight of tea (*Camellia sinensis* O. Kuntze) cv. Yabukita was investigated during the growing season of 2004 at Boseong Tea Experiment Station, Jeonnam Agriculture Research and Extension Service, Boseong, Jeonnam. The disease began to occur from late June and peaked in late July. Antagonistic bacteria against *Pestalotiopsis longiseta*, the causal pathogen of causing gray blight of tea plants were isolated from phylloplanes of tea plants. An isolate BD0310 which showed the strongest antifungal activity against the pathogen but nonpathogenic to tea plants was selected as a biocontrol agent for the gray blight. The isolate was identified as *Bacillus subtilis* based on its cultural, morphological, and biochemical characterization and 16S rDNA sequence analysis.

Keywords : *Bacillus subtilis*, Biocontrol, Gray blight, *Pestalotiopsis longiseta*, Tea plant

차나무(*Camellia sinensis* O. Kuntze)는 열대지방에서 온 대지방에 이르기까지 광범위하게 분포하는 아열대성 상록식물로서 우리나라에서는 남부지방에서 주로 자생하거나 재배되고 있다. 최근에 기능성 식품으로서 녹차의 다양한 효능이 알려지면서 소비량이 급증함에 따라 차나무 재배에 적합한 남해안 일대에 대규모의 다원이 조성되고 있다. 집약화된 다원에서 재배되는 차나무에는 10여종의 병해가 발생하는 것으로 보고되었는데(한국식물병리학회, 2004), 다년생 상록관목인 차나무의 재배적 특성 때문에 차나무의 가지와 잎이 서로 얽혀 자라는 수관내에서 병원균은 쉽게 전파되고 월동할 수 있어서 일단 병이 발생하면 매년 지속적으로 병이 발생하고 피해도 증가하는 경향이다.

차나무에 발생하는 병해를 방제하기 위하여 대규모 다원에서는 연중 수차례에 걸쳐 살균제를 살포를 하고 있

으나 화학농약의 살포는 다른 작물 재배에서와 마찬가지로 약제저항성균의 출현, 환경오염, 잔류독성 등 여러 가지 부작용을 일으키는 문제점이 있다(Horikawa, 1986; Oniki 등, 1986; Shin 등, 2000). 더구나 녹차는 차나무 잎에 있는 성분을 그대로 우려내어 마시기 때문에 차나무 잎에 잔류독성을 일으킬 수 있는 화학농약의 살포는 소비자에게 극도의 거부감을 불러일으킬 수 밖에 없다. 따라서 화학농약을 대체하여 차나무 병해를 제어할 수 있는 새로운 방제방법의 개발 및 실용화가 절실하다. 환경 친화적인 미생물농약의 개발 및 활용 방안이 화학농약에 대한 대안으로 유력하게 대두되고 있지만 국내외에서 아직까지 차나무 병해 방제전용 미생물농약은 연구되지 않았다.

차나무에 발생하는 병해 중에서 차나무 겹등근무늬병이 우리나라에서 가장 큰 피해를 주는 병해로 보고되고 있다(Koh 등, 2001; Park 등, 1996; Shin 등, 1999, 2000). 따라서 차나무 겹등근무늬병에 대한 미생물농약 개발연구는 차나무에 발생하는 모든 병해 방제에서 화학농약을 대체할 수 있는 가능성을 타진하는 시급성이 될 것이다. 이 논문에서는 차나무 겹등근무늬병 방제전용 미생물농

*Corresponding author

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

E-mail) youngjin@sunchon.ac.kr

약을 개발하기 위한 기초연구로서 포장에서 발생하는 차나무 겹동근무늬병의 발생소장을 조사하고, 겹동근무늬병이 발생한 포장의 차나무 엽권으로부터 다양한 길항미생물을 분리하고 겹동근무늬병균에 대한 길항력을 검정한 후 길항력이 우수한 균주를 선발하고 동정한 결과를 보고한다.

재료 및 방법

차나무 겹동근무늬병 발생소장 조사. 전라남도 보성군 보성읍 소재 전라남도농업기술원 보성차시험장에서 재배 중인 차나무 야부기타 품종에서 2004년 6월 30일부터 10월 30일까지 약 10일 간격으로 14회에 걸쳐 차나무 겹동근무늬병 발생소장을 조사하였다. 식재되어 있는 차나무 수관에서 6구획(6 m²)을 임의로 선정하고 각 시험구내에서 20×20 cm의 정사각형의 철망을 이용하여 구분한 후에 철망내의 차나무 총엽수에 대한 발병엽수를 조사하여 발병엽률로 산출하였다.

차나무 겹동근무늬병균 균주. 차나무 엽권에서 분리한 미생물들의 길항능력을 평가하기 위한 대치배양 실험에 사용한 겹동근무늬병균 균주는 차나무 겹동근무늬병 발생소장 조사포장의 차나무 야부기타 품종에서 발생한 전형적인 겹동근무늬병 증상을 나타내는 병환부로부터 순수 분리한 후 병원균의 균학적 특성 조사와 병원성 검정을 통해 *Pestalotiopsis longiseta*로 동정한 후 사용하였다.

차나무 엽권으로부터 길항미생물의 분리. 전라남도 보성군 보성읍 소재 대한다원과 몽중산다원에서 차나무 잎을 채집한 후 멸균수 100 ml에 차나무 잎 5장씩 넣고 25°C 진탕배양기에서 1시간 동안 진탕시켰다. 진탕시킨 멸균수를 80°C 항온수조에서 15분 동안 열처리를 하였으며 NA (Nutrient agar, Difco, USA) 평판배지 위에 100 μl를 분주하여 도말평판법으로 도말하고 24시간 동안 배양한 후 형성된 단일균총을 순수 분리하였다. 순수 분리된 세균은 포도당 배지(Glucose 10 g, Beef extract 10 g, Peptone 5 g, NaCl 5 g, Agar 20 g, 증류수 1 l) 위에서 차나무 겹동근무늬병균과 대치배양하여 길항효과가 우수한 세균들만 선발하였다.

길항미생물의 차나무에 대한 병원성 검정. 차나무 겹동근무늬병균에 대하여 길항효과가 우수한 세균들을 NB에서 12시간 배양한 후 배양액 속의 세균농도를 흡광도 (Optical density) 560 nm에서 1.43×10¹² cells/ml로 조정하여 접종원을 만들었다. 각 접종원을 차나무 잎에 상처점종하고 25°C, 90% 이상의 상대습도가 지속되는 점종상에서 3일간 배양하면서 길항세균을 점종하지 않은 대조구와 비교하여 차나무 잎에 길항세균에 의한 병발생 유무

를 조사하였다.

길항미생물의 동정. 차나무에는 병원성을 나타내지 않고 겹동근무늬병에 대해서는 길항효과가 가장 우수한 길항균주를 동정하기 위해 길항균주의 형태적, 생리·생화학적 동정과 AccuPrep PCR Purification Kit를 이용한 분자생물학적 동정을 병행하였다.

길항균주의 크기와 형태는 그람염색을 하여 광학현미경(×1,000)으로 관찰하였고 1% PTA Negative 염색을 하여 전자현미경(SEM)으로 관찰하였다. 길항균주에서 내생포자 형성 유무와 내생포자의 위치는 NB에서 24시간 진탕배양한 후 배양액을 살균된 falcon tube에 2 ml씩 넣고, 80°C에서 15분간 열처리하여 methylene blue로 염색하여 광학현미경(×1,000)으로 관찰하였다.

생리·생화학적 특성은 혐기생장 여부, 30~60°C에서 생장 여부, pH 5.7에서 생장 여부, NaCl 2~7%에서의 생장 여부, arabinose, mannitol, xylose을 이용한 산 생성 유무, citrate의 이용 여부, 전분분해 및 Voges-Proskauer test 등을 조사하였다. 또한 분자생물학적인 동정을 위하여 길항균주의 DNA를 추출하고 PCR에서 증폭시킨 후 PCR purification kit를 사용해 gene cleaning한 후 염기서열을 읽어 NCBI에 이미 등록된 염기서열과 상동성을 비교하여 종을 동정을 하였다.

결 과

차나무 겹동근무늬병의 병징. 차나무 겹동근무늬병은 잎에 마름증상을 일으키는데, 초기에 잎의 가장자리에 갈색의 작은 반점이 보이고 확대되어 10~15 mm의 원형 또는 부정형의 병반을 형성하였으며, 병이 진전됨에 따라 나이트 모양의 뚜렷한 겹동근무늬를 나타내었다. 병의 진전 후기에는 겹동근무늬 병반 위에 작고 검은 분생포자층이 많이 형성되었으며, 오래된 병반부위는 회백색으로 변하였다(Fig. 1A,B).

차나무 겹동근무늬병 발생소장 조사. 차나무에서 겹동근무늬병의 병징을 6월 30일 이전에는 거의 찾아 볼 수 없었으나 6월 30일 조사에서 1% 정도의 발병엽률을 나타내었다. 그 후 발병엽률은 급속하게 증가하기 시작하여 7월 27일 조사에서는 19.2%로 가장 높은 발병엽률을 나타내었다. 그 후부터는 발병률이 점차 감소하기 시작하였으며 9월 18일 이후에는 1% 내외의 낮은 발병엽률만을 나타내었다(Fig. 2).

차나무 엽권으로부터 우수 길항균주의 선발. 차나무 잎으로부터 토착 길항세균 50여개 균주를 분리하여 포도당 배지상에서 차나무 겹동근무늬병균과 대치배양하여 균

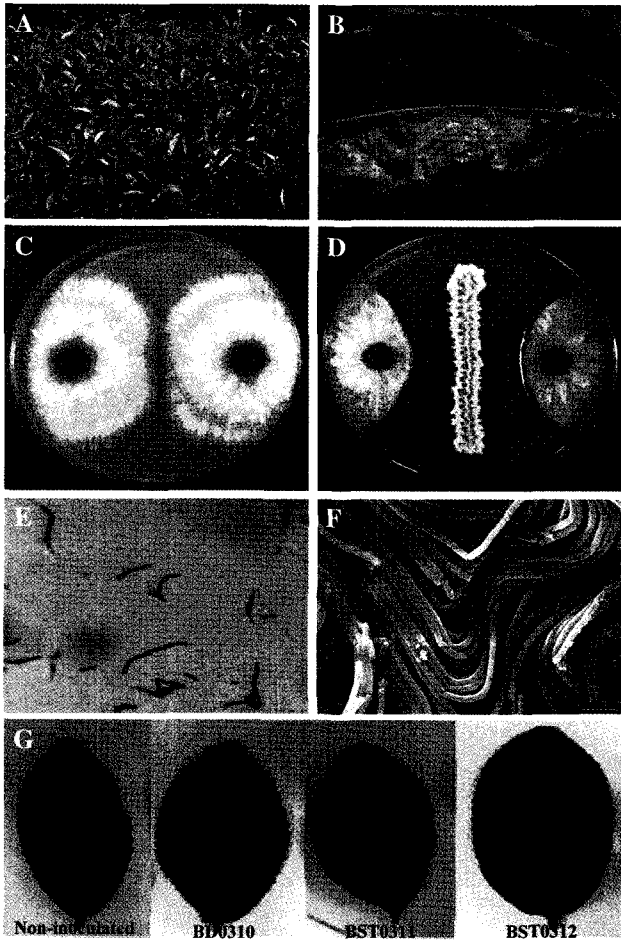


Fig. 1. Disease symptoms of gray blight on tea plants and characteristics of the selected antagonistic bacterial strain, *Bacillus subtilis* BD0310. (A) Diseased field, (B) Typical symptom of gray blight on a tea leaf, (C) Normal mycelial growth of *Pestalotiopsis longiseta* on potato dextrose + nutrient agar plate, (D) Inhibition of mycelial growth of *P. longiseta* by *B. subtilis* BD0310, (E) Micrograph of gram-stained cells of *B. subtilis* BD0310, (F) Scanning electron micrograph of cells of *B. subtilis* BD0310, (G) Lesion development on a tea leaf inoculated by each of 3 strains of *B. subtilis* isolated from phylloplanes of tea plants, respectively.

사생장 억제정도를 확인하여 길항력이 가장 우수한 BD0310 등 3개 균주를 선발하였다(Fig. 1C,D).

우수 길항균주의 차나무에 대한 병원성. 차나무 겹등 근무늬병에 대하여 길항력이 우수한 3개 균주 BD0310, BST0311, BST0312의 차나무에 대한 병원성 유무를 확인한 결과 BST0311 균주는 차나무 잎의 상처접종한 부위를 검게 변색시키는 병징을 일으켰으며, BST0312 균주는 BST0311 균주보다 훨씬 더 크게 진전되는 병징을 일으켰다(Fig. 1G). 그러나 BD0310 균주는 차나무 잎에 아무런 병징을 일으키지 않아 병원성이 전혀 없는 것으로 확인되어 BD0310 균주를 차나무 겹등근무늬병균에 대한

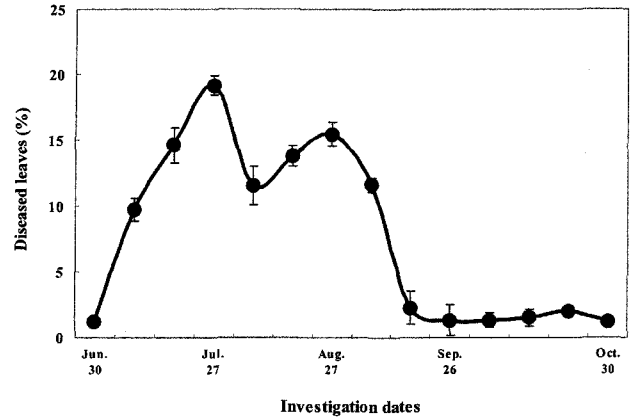


Fig. 2. Seasonal disease progress of disease incidences of gray blight on tea plants during the growing season of 2004 at Boseong Tea Experiment Station, Jeonnam Agriculture Research and Extension Service, Boseong, Jeonnam.

Table 1. Cultural, morphological, and biochemical characteristics of *Bacillus* isolate BD0310 compared with *Bacillus subtilis*

Characteristics	Isolate BD0310	<i>Bacillus subtilis</i> ^a
Cell diameter>1.0 μm	-	-
Spores round	-	-
Gram reaction	+	+
Form	rod	rod
Sporangium swollen	-	-
Parasporal crystals	-	-
Anaerobic growth	-	-
Voges-Proskauer test	+	+
Acid from :		
D-Glucose	+	+
L-Arabinose	+	+
D-Mannitol	+	+
D-Xylose	+	+
Gas from glucose	-	-
Hydrolysis of starch	+	+
Utilization of citrate	+	+
Growth at pH 5.7	+	+
Growth in NaCl		
2%	+	+
5%	+	+
7%	+	+
Growth at		
30°C	+	+
40°C	+	+
50°C	+	+
60°C	-	-

^aClaus and Berkeley (1986).

```

AACGCTGGCGGCGTGCCTAATACATGCAAGTGCAGCGGACAGATGGGAGCTTGCTCCCTG 60
ATGTTAGCGCGGACGGGTGAGTAAACAGTGGGTAACTGCTGTAAGACTGGGATAACT 120
CCGGAAACCGGGGCTAATACCGGATGNTTGTGTTAAACCGCATGGTTGAGACATAAAAGG 180
TGGCTTCGGTACCCTTACAGATGGACCCGCGGGCGATTAGCTAGTTGGTAGGTAACG 240
GCTCAGCAAGGACNACATGCGTAGCGACCTGAGAGGGTGTATCGGCCACACTGGGACTGA 300
GCACGGCCACAGACTCTACGCGGAGGACGAGTACGGAACTCTTCCGCAATGGACAAAAG 360
CTGACGGAGAACGCGCGGTGAGTGTAAAGGTTTTCGGATCGTAAAGCTCTGTGTTAG 420
GGAAAGAACAGTGCCTGTTCAAAATAGGGCGGACCTTGCAGGTACCTAACGAGAAAGCCAC 480
GGCTAACTACGTGCCAGCAGCGCGTAAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCGGGAATTAT 540
TGGGCTAAAGGGCTCGCAGCGCGTTCCTTAAAGTGTAGTGTAAAGCCCGCGCTCAACC 600
GGGAGGGTCAATTGGAACTGGGAACTTGGTGCAGAAAGGAGAGTGGAAATCCACGT 660
GTAGCGGTGAAATGCTGAGAGTGTGGAGGAAACACCGAGTGGCGAAAGGGCGACTCTCTGGT 720
CTGTAAGTACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCCTGGTAG 780
TCCACGCGCTAAACGATGAGTGTCTAAGTGTAGGGGGTTTCCGCCCTTGTAGTCTGCGAGC 840
TAACGCATTAAGCACTCCGCGTGGGAGTACGGTCCGCAAGACTGAAACTCAAAAGGAATTG 900
ACGGGGCCCGCACAAGCGTGGAGCATGTGGTTTAAATCGAAGCAACCGGAAAGAACTT 960
ACCAGGTCTTGACATCCTGACAACTGAGATAGGACGTCCCTTCGCGGGGACAGAT 1020
GACAGGTGTTGCTGGTGTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG 1080
CGAGCGCAACCGTTGATCTTATGTTGCGAGCATTCAGTTGGGCACTTAAGGTGACTGCCG 1140
GTGCAAAACCGGAGGAAAGTGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGGGG 1200
TACACAGTGTCTACAATGGACAGAAACAAAGGGGCGAGCGAAACCGCGAGGTTAAGCCATCC 1260
CACAAATCTGTTCTCAGTTCGAGTTCGAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGCTGGAATCG 1320
CTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCCGGTGAAATACGTTTCCGGGCGCTTGTACACACCGCG 1380
CGTCAACCCAGAGGTTGTAAACCCGAAAGTCCGTTGAGGTAACCTTTTAGGAGCCAGC 1440
CGTGAAGGTGGACAGAG 1458
    
```

Fig. 3. 16S rDNA sequences of an antagonistic bacterial strain *Bacillus subtilis* BD0310 isolated from phylloplanes of tea plants.

우수 길항균주로 최종 선발하였다.

우수 길항균주의 동정. 차나무 겹등근무늬병균에 대한 우수 길항균주로 선발된 BD0310 균주를 광학현미경(Fig. 1E)과 전자현미경(Fig. 1F)으로 관찰한 결과 내생포자를 생성하였으며 세균의 길이는 약 10 µm 정도인 그람양성의 간균이었다. 또한 BD0310 균주의 생리·생화학적 특성을 조사한 결과 호기적 성장을 하며, 50°C의 고온에서도 생존하였으며, 1~7% NaCl에서도 성장하였고, 전분을 가수분해하고, 질산염을 환원시켰고, Citrate를 이용하고 V-P test에서 모두 양성반응을 보여 BD0310 균주는 *Bacillus subtilis*로 동정할 수 있었다(Table 1). 그리고 BD0310 균주의 16S rDNA 염기서열을 분석한 결과 1,457 bp 중에서 1,453 bp의 염기서열이 Gene bank database의 *B. subtilis*와 99.9%의 상동성을 보였다. 따라서 이 실험에서 차나무 겹등근무늬병균에 대한 우수 길항균주로 선발된 BD0310은 *B. subtilis*로 최종 동정되었다(Fig. 3).

고 찰

차나무 겹등근무늬병은 차나무에 발생하는 10여종의 병해 중에서 우리나라에서 가장 커다란 피해를 주는 병해로 보고되었다(한국식물병리학회, 2004). 차나무 겹등근무늬병을 일으키는 병원균으로 *Pestalotiopsis longiseta* 및 *Pestalotiopsis theae* 2종이 알려졌으나 *P. longiseta*에 의한 피해가 더 큰 것으로 알려졌다(Koh 등, 2001; Park 등, 1996; Shin 등, 1999, 2000). 차나무에서 겹등근무늬병의 발생소장을 경시적으로 조사한 결과 겹등근무늬병은 6월 말부터 시작되는 것으로 확인되었다. 7월초부터 겹등근무늬병의 발생은 급격하게 증가하여 7월말에 최대발병률을 나타내었으나 8월에 접어들면서 겹등근무늬병의 발병률

은 점차 감소하기 시작하여 9월 중순 이후에는 경미한 발병만 관찰되었다. 따라서 차나무 겹등근무늬병의 발생소장은 7월말을 정점으로 하는 정규분포곡선을 그리는 것으로 추정할 수 있으며, 8월 7일과 8월 19일에 상대적으로 낮은 발병률이 산출된 것은 8월초 차나무 정지로 인하여 수관 바깥 부위에 있는 발병엽들이 주로 전정되었기 때문이었다. 이러한 결과로부터 차나무 겹등근무늬병 방제용 미생물농약은 겹등근무늬병이 발생하기 전인 6월 말 이전에 살포해야 예방효과를 얻을 수 있고 겹등근무늬병의 발병 최성기인 7~8월에 집중적인 방제가 이루어져야 한다는 결론을 얻을 수 있었다.

우리나라보다 차나무 재배역사가 길고 재배면적도 훨씬 넓은 일본에서도 차나무 겹등근무늬병이 문제되는 병해로 보고되었다(Ezuka와 Ando, 1994). 또한 일본에서는 차나무 겹등근무늬병의 방제약제로 thiophanate methyl, chlorothalonil 등 수십 종이 등록되어 있으며, 연중 수십 차례에 걸쳐 많은 차나무 재배지에서 약제살포를 하고 있다(Horikawa, 1987). 우리나라에서도 최근에 집약적으로 차나무를 재배하는 대단위 다원에서는 유사한 약제들을 매년 수차례씩 살포하고 있는 실정이다(Shin 등, 2000).

그러나 화학약제의 계속적이고 무분별한 살포는 대다수의 농작물 재배지에서 환경오염문제와 잔류독성 문제가 심각하게 대두되고 있으며 일부 약제들에 대한 저항성 균주가 출현하고 있는 실정이다(Shin 등, 2000). 더구나 최근 FTA 체결로 인한 친환경 고부가 가치 농산물 생산이 필수적이고, 기능성 건강식품으로 각광을 받기 시작한 녹차에 화학농약 살포는 지양되어야 한다는 전제는 차나무 재배자나 소비자 모두에게 이론의 여지가 없다. 따라서 차나무병해에 대해 화학농약을 사용하는 화학적 방제법도 환경친화형 방제법으로 일대 전환기를 맞이하고 있다.

지금까지 미생물농약 연구는 주로 근권미생물을 이용하여 식물체 뿌리에 발생하는 토양전염성병해 방제용 미생물농약 개발에 치중해왔으며 지상부에 발생하는 병해 방제용 길항미생물 탐색도 근권미생물을 이용해왔다. 그러나 이 연구에서는 차나무 잎에 발생하는 겹등근무늬병 방제용 미생물농약을 개발하기 위한 첫단계로 차나무의 엽권으로부터 길항미생물 선발을 시도하였다. 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 중요하다고 알려졌다(Beattie와 Lindow, 1999). 차나무 수관은 차나무 가지와 잎이 서로 얽혀 있어서 차나무 엽권은 여러 가지 미생물들이 안정적으로 정착할 수

있는 서식지를 제공해준다. 따라서 차나무 엽권에서 분리한 길항균은 근권미생물에 비하여 차나무 수관에 정착할 능력이 우수할 것으로 예상되어 차나무 겹등근무늬병 방제용 미생물농약 제제로 적합할 것으로 판단된다.

이 연구에서는 차나무 엽권에서 분리한 수많은 미생물들에 대한 길항력 검정 시험을 통하여 차나무 겹등근무늬병균에 효과적인 길항미생물 *B. subtilis* BD0310 균주가 선발되었다. 선발된 *B. subtilis* BD0310 균주는 차나무 겹등근무늬병균에 대하여 강한 길항능력을 배지상에서 나타내었지만 차나무 잎에는 상처접종에도 불구하고 병원성을 전혀 나타내지 않는 유용한 길항균주로 확인되었다. 따라서 *B. subtilis* BD0310 균주의 길항능력을 향상시킬 수 있는 제형화 연구 및 현장적용 시험 등을 거쳐 차후 차나무 겹등근무늬병 방제전용 미생물농약 개발에 유용하게 사용될 수 있을 것으로 기대된다.

요 약

차나무(*Camellia sinensis* O. Kuntze) 겹등근무늬병의 발생소장을 2004년도 전남 보성군 보성읍 소재 전남농업기술원 보성차시험장에 식재되어 있는 야부기타 품종에서 조사하였다. 차나무 겹등근무늬병은 6월말부터 발생하기 시작하여 7월말에 최대발병률을 나타내었다. 차나무의 엽권으로부터 차나무 겹등근무늬병균에 대한 길항미생물을 분리하였으며, 차나무 겹등근무늬병균에 대하여 가장 길항능력이 우수하고 차나무에는 병원성을 나타내지 않는 BD0310 균주를 겹등근무늬병 방제용 길항미생물로 선발하였다. 선발된 균주는 배양적, 형태적, 생화학적 특성 조사와 16S rDNA 염기서열 분석에 의하여 *Bacillus subtilis* 로 동정되었다.

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.
- Claus, D. and Berkeley, R. C. W. 1986. Genus *Bacillus*. In : *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Volume 2. by H. A. S. Peter, N. S. Mair, and E. Sharp. 1,105-1,139. Williams & Wilkins, Baltimore.
- Exuka, A. and Ando, Y. 1994. *Tea Diseases in Japan*. Japan Plant Protection Association, Tokyo, Japan. 213 pp.
- 한국식물병리학회. 2004. 한국식물병명명목록. 제4판. 한국식물병리학회. 779 pp.
- Horikawa, T. 1986. Occurrence of resistance of tea gray blight pathogen, *Pestalotiopsis logiseta* 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 logiseta* Speg. *Tea Research J.* 62: 45-56.
- 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.
- Oniki, M., Narisawa, N. and Ando, Y. 1986. Incidence of strains of tea gray blight fungi *Pestalotiopsis logiseta* and *Pestalotiopsis theae* resistant to benzimidazole fungicides in Japan. *Tea Research J.* 64: 29-33.
- Park, S. K., Park, K. B. and Cha, K. H. 1996. Diseases of Tea Tree. Gray blight of tea tree caused by *Pestalotiopsis logiseta*. *Korean J. Pl. Pathol.* 12: 463-465.
- Shin, G. H., Choi, H. K., Hur, J. S. and Koh, Y. J. 1999. First report on gray blight of tea plant caused by *Pestalotiopsis theae* in Korea. *Plant Pathol. J.* 15: 308-310.
- 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.