

RESEARCH ARTICLE

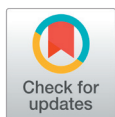
해금강과 금강상류 남대천 및 금산천 주변으로부터 야생효모의 분리 및 국내 미기록 효모들의 균학적 특성

문정수¹, 이항범², 이종수^{1*}¹배재대학교 의생명과학과, ²전남대학교 농생명화학과

Isolation and Determination of Microbiological Characteristics of Unrecorded Wild Yeasts from Waters and Soils of Haegeumgang in the Southern Sea, and from Namdaecheon and Geumsancheon Upstream of Geumgang, Korea

Jeong-Su Moon¹, Hyang-Burm Lee², and Jong-Soo Lee^{1*}¹Faculty of Biomedicine and Biotechnology, Paichai University, Daejeon 35345, Korea²Department of Agricultural Biological Chemistry, Chonnam National University, Gwangju 61186, Korea

*Corresponding author: biotech8@pcu.ac.kr



OPEN ACCESS

pISSN : 0253-651X
eISSN : 2383-5249Kor. J. Mycol. 2022 September, 50(3): 149-160
<https://doi.org/10.4489/KJM.20220016>

Received: August 25, 2022

Revised: September 28, 2022

Accepted: September 29, 2022

© 2022 THE KOREAN SOCIETY OF MYCOLOGY.



This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

ABSTRACT

The goal of this study was to investigate the diversity of wild yeasts from the waters and soils of Haegeumgang in Gyungangnam-do, and Namdaecheon and Geumsancheon in upstream of Geumgang, Korea and to characterize any previously unrecorded wild yeast strains. In total, 52 strains comprising 22 different species of wild yeasts were isolated from 35 samples obtained from Haegeumgang. Forty three and seven nine wild yeast strains were isolated from 90 samples taken from Namdaecheon and Geumsancheon, respectively. Among the total 174 isolated wild yeast strains, 4 strains, i.e., *Exobasidium rhododendri* HGG10-5 (NNIBR2022633FG1), *Udeniomyces pyricola* NDC29-1 (NNIBR2022633FG2), *Diddensiella caesifluorescens* GSC2-2 (NNIBR2022633FG5) and *Pichia scaptomyzae* BAC2-3 (NNIBR2022633FG4) were previously unrecorded yeasts were oval or spherical in shape, only *Pichia scaptomyzae* BAC 2-3 formed ascospores. Three strains with the exception of *Udeniomyces pyricola* NDC 29-1 grew well in vitamin-free medium and *Exobasidium rhododendri* HGG 10-5 grew well in YPD medium containing 10% NaCl. All four novel strains assimilated fructose, lactose, raffinose, starch and xylose.

Keywords: Geumsancheon, Haegeumgang, Namdaecheon, Microbiological characteristics, Unrecorded wild yeasts

서론

진균류의 일종인 효모의 다양한 생리활성등이 최근 보고[1-6]되어 이들의 산업성 응용성이 증가되고 있지만 지금까지의 효모는 주로 전통발효식품이나 이들의 주,부원료로부터 분리, 동정되었다[5]. 그러나 최근 각 나라마다 자국의 생물자원 보호와 새로운 생물자원의 탐색등에 관한 연구 필요성이 대두됨에 따라[7] 우리나라도 2000년에 들어와 자연환경과 담수환경등으로부터의 새로운 균류 발굴과 이들의 이용개발에 관한 연구가 시작되었다. 특히 야생효모의 분리와 국내 미기록효모의 발굴 연구도 2011년부터 본격적으로 시작되어 야생화와 토양등으로부터 많은 야생효모등이 분리, 동정되었다[8-18,19-22]. 최근에는 담수환경인 금강과 영산강, 낙동강등으로부터 다양한 야생 효모들이 분리, 동정되어 보고되었고[23-28] 이들 중 국내 미기록 야생효모들을 선별과 이들의 미생물학적 특성 등이 보고되었다[24-28].

해금강은 남해안 한려수도 해상공원중 바다의 금강산이라 불리울 정도의 아름다운 기암절벽이 많고 주변에 해수욕장이 많아 매년 수만명의 사람들이 다녀가는 휴양관광지이다. 또한 전라북도와 충청남도의 도계에 위치한 무주는 겨울철 스키휴양지 이고 금강의 본원지인 덕유산 자락에 있으며 주변에 남대천과 주상천등이 금강상류의 본류를 형성하고 이들이 금산 제원천, 금산천등을 지나 금강 중류인 대전의 대청호로 유입된다. 지금까지 남해안 최대 휴양지인 해금강과 금강 상류 무주 주변 하천등의 효모 균류 발굴은 지금까지 이루어지지 않았다.

따라서 본 연구에서는 남해안 해금강과 주변 해수욕장, 금강 상류인 전북 무주군 무주읍을 지나는 남대천과 충남 금산군 금산읍 금산천의 야생효모 중 분포특성을 알아보기 위해 이들 주변의 물과 토양 등으로부터 야생효모들을 분리하여 동정하였다. 또한, 이들 야생효모들 중 국내에 보고되지 않은 미기록 야생효모들을 선별하여 이들의 미생물학적 특성을 조사하였다.

재료 및 방법

야생효모의 분리 및 동정

경상남도 남해안에 있는 해금강(34°44'12.9"N, 128°40'31.4"E)과 금강상류 전북 무주군 남대천(36°0'20.6"N, 127°39'37.8"E) 및 충남 금산군 금산천(36°6'7.3"N, 127°29'17.8"E) 주변의 물, 토양과 부식물등 시료 125점들을 2022년 4월부터 6월사이에 무균적으로 채취하여 멸균 튜브에 넣고, 5 mL의 멸균수를 첨가한 후 3시간 동안 진탕하였다. 이들 현탁액 0.5 mL를 스트렙토마이신(100 µg/mL)과 앰피실린(100 µg/mL)이 들어 있는 YPD (yeast extract-peptone-dextrose)한천배지에 도말하고 30°C에서 72시간까지 배양하면서 형성된 효모 집락들을 일반 야생 효모균주로 분리하였다[25]. 또한 3% NaCl을 함유한 YPD배지에서 생육한 효모들을 내염성 야생효모로 분리하였다.

분리효모들의 분자계통분류학적 동정을 위하여 먼저 NL1 (5'-GCA TAT CAA TAA GCG GAG GAAAAG-3')와 NL4 (5'-CGT CCG TGT TTC AAG ACG G-3') primer를 이용하여 26S rDNA의 D1/D2 부위를 PCR로 증폭한 후 염기서열들을 결정하였다(Cosmogenetech, Daejeon, Korea). 결정된 염기서열들을 NCBI의 BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov>)를 사용하여 데이터베이스에 등록되어 있는 효모들과의 상동성 비교한 후, 분자생물학적 유연관계를 분석하여 동정하였다[26].

국내 미기록 효모들의 선별 및 특성

위와 같이 분리, 동정한 야생효모들을 대상으로 국립 생물자원관 DB와 한국 진균관련 학술 자료들을 이용하여 국내 미기록 효모들을 선별한후 일반 미생물 실험방법 등을 이용하여 이들의 모양, 크기, 포자 및 의균사형성 유무 등의 형태학적 특성과 최적 배지, 배양온도 등의 배양학적 특성을 조사하였다[25,26]. 또한 탄소원들에 대한 자화성과 발효성은 Yeast nitrogen base (Difco, USA) 배지에 시험 탄소원들을 각각 첨가하여 배양한 후 660 nm에서 흡광도를 측정, 생육정도를 확인하여 자화성을 판정하였고 배지에 추가한 Durham관의 이산화탄소 생성 유무를 확인하여 발효성을 조사하였다. 또한, YPD배지에 CoCl_2 등의 중금속들을 400 ppm과 800 ppm씩 각각 첨가하여 30°C에서 3일간 배양한후 660 nm에서의 흡광도를 측정, 이들의 생육도를 확인하여 내성을 조사하였다[26].

결과 및 고찰

해금강과 무주 남대천 및 금산 금산천 주변 환경으로부터 야생효모의 분리 및 동정

남해안 해금강 주변 물, 토양등의 시료 35점에서 일반효모 14종 27균주, 내(호)염성 효모 8종 25균주등 총 22종 52균주의 야생 효모를 분리, 동정하였다(Table 1). 이들중 특히 *Rhodotomular mucilaginosa* 균주가 25균주로 우점균이었고 11균주들이 호염성 효모들이었다.

금강 상류인 무주군 남대천 주변 물과 토양 30점에서 24종 43균주의 야생효모들을 분리, 동정하였고, 이 지역에서도 *Rhodotomular mucilaginosa* 가 가장 많이 분리되었다(Table 2). 또한 금강상류 금산군 진악산에서 발원하여 금산읍내를 흐르는 금산천 주변 물과 토양 60점에서 79균주의 야생 효모들을 분리, 동정하였다(Table 3). 이들 시료에서도 해금강과 남대천에서와 같이 *Rhodotomular* 속 균이 특히 많이 분리되었다. 시내를 흐르는 남대천과 금산천 주변에서 일부 병원성 야생효모들이 다른 강이나 호수보다 더 많이 분리되었는데, 이는 이들 천변지역에 있는 재래시장과 주택 및 축사등으로부터 생활폐수와 일부 축산폐수등이 유입되는것과 연관이 있을것으로 추정된다.

한편 이들 지역에서 분리된 우점균들은 지금까지 필자등이 금강중류 공주, 대전등지에서 우점균으로 *Candida* 속 균, *Bullera* 속 균, *Cryptococcus* 속 균, *Rhodotomular* 속 균, *Hansenia* 속 균 등을 분리한 결과와 영산강과 낙동강[20] 시료 등에서도 우점균으로 보고된 *Cryptococcus* 속 균, *Rhodotomular* 속 균, *Candida* 속 균들과 유사한 분포경향을 보였다.

국내 미기록 야생효모들의 미생물학적 특성 및 효소활성

위와같이 남해안 해금강과 무주 남대천 및 금산의 금산천 주변에서 분리한 야생효모들 중 *Exobasidium rhododendri* HGG10-5 (NNIBR2022633FG1), *Udeniomyces pyricola* NDC29-1 (NNIBR2022633FG2), *Pichia scaptomyzae* BAC2-3 (NNIBR2022633FG4), *Diddensiella caesiifluorescens* GSC2-2 (NNIBR2022633FG5) 등 야생균주들이 우리나라에서 아직까지 보고되지 않은 국내 미기록 야생효모들로 최종 선별되었다.

Table 1. Wild yeast strains from waters and soils of Haegeumgang in Gyeongsangnam-do, Korea.

No.	Putative species	Isolated No.	Related Genebank No.	Identity (%)	Remarks
1	<i>Aureobasidium pullulans</i>	HGG10-2	JX067761.1	614/614 (100%)	General yeasts
2	<i>Cryptococcus aureus</i>	HGG9-3	EU304246.1	585/586 (99%)	
		HGG29-2	KT895965.1	640/640 (100%)	Unrecorded yeast
3	<i>Exobasidium rhododendri</i>	HGG10-5	DQ025491.1	531/554 (96%)	
4	<i>Hannaella kunmingensis</i>	HGG9-2-1	FJ828962.1	608/628 (97%)	
5	<i>Metschnikowia viticola</i>	HGG30-1	LC333489.1	499/528 (95%)	
6	<i>Papiliotrema flavescens</i>	HGG25-1	MF045447.1	640/642 (99%)	
7	<i>Pseudozyma hubeiensis</i>	HGG10-3	DQ008953.1	641/641 (100%)	
8	<i>Rhodospiridium toruloides</i>	HGG35-2	HQ199215.1	548/548 (100%)	
9	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	HGG22-1	FN428885.1	576/578 (99%)	
		HGG23-1	FN428899.1	589/590 (99%)	
		HGG25-2	FN428899.1	589/590 (99%)	
		HGG26-1	FN428899.1	589/590 (99%)	
		HGG27-1	FN428899.1	588/590 (99%)	
		HGG28-1	FN428899.1	589/590 (99%)	
		HGG29-1	FN428899.1	588/590 (99%)	
		HGG30-2	FN428899.1	589/590 (99%)	
		HGG31-1	FN428899.1	588/591 (99%)	
		HGG32-1	FN428899.1	589/590 (99%)	
		HGG33-1	FN428899.1	589/590 (99%)	
		HGG34-1	FN428899.1	589/590 (99%)	
		HGG35-3	GQ303715.1	613/613 (100%)	
10	<i>Rhodotorula paludigena</i>	HGG9-1	KY109146.1	614/614 (100%)	
11	<i>Saccharomyces servazzii</i>	HGG35-1	FM200037.1	595/595 (100%)	
12	<i>Sporobolomyces carnicolor</i>	HGG10-1	KU316784.1	613/614 (99%)	
13	<i>Tetracladium setigerum</i>	HGG10-4	AB698747.1	603/614 (98%)	
14	<i>Tremella fuciformis</i>	HGG27-3	AF075476.1	616/627 (98%)	
1	<i>Aureobasidium pullulans</i>	HHGG10-2	JX067761.1	614/614 (100%)	Halophilic yeasts
		HHGG21-2	JX067761.1	612/614 (99%)	
		HHGG29-1	AB104687.1	614/614 (100%)	
2	<i>Bulleromyces albus</i>	HHGG20-3	AM748526.1	600/627 (96%)	
3	<i>Cryptococcus aureus</i>	HHGG10-1	KT895965.1	639/640 (99%)	
		HHGG25-1	KT895965.1	640/640 (100%)	
4	<i>Hannaella kunmingensis</i>	HHGG9-1	FJ828962.1	608/628 (97%)	
5	<i>Rhodospiridium paludigenum</i>	HHGG9-3	HQ670686.1	616/617 (99%)	
		HHGG13-1	HQ670686.1	617/617 (100%)	
		HHGG35-1	HQ670686.1	617/617 (100%)	
6	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	HHGG22-1	FN428899.1	589/590 (99%)	
		HHGG23-1	FN428899.1	588/590 (99%)	
		HHGG24-1	FN428899.1	589/590 (99%)	
		HHGG25-2	FN428899.1	589/590 (99%)	
		HHGG26-1	FN428899.1	577/578 (99%)	
		HHGG27-1	FN428899.1	589/590 (99%)	
		HHGG28-1	FN428899.1	589/590 (99%)	
		HHGG29-2	FN428899.1	589/590 (99%)	
		HHGG31-1	FN428899.1	589/590 (99%)	
		HHGG32-1	FN428899.1	589/590 (99%)	
		HHGG33-1	FN428899.1	589/590 (99%)	
		HHGG34-1	FN428899.1	589/590 (99%)	
7	<i>Sporobolomyces carnicolor</i>	HHGG12-1	KU316784.1	614/614 (100%)	
		HHGG14-1	KU316784.1	614/614 (100%)	
8	<i>Trichosporon pullulans</i>	HHGG23-3	AJ507665.1	612/612 (100%)	

Table 2. Wild yeast strains from waters and soils of Namdaechon in Muju-gun of Jeollabuk-do, Korea.

No.	Putative species	Isolated No.	Related Genebank No.	Identity (%)	Remarks
1	<i>Cryptococcus laurentii</i>	NDC18-1	JQ968479.1	634/634 (100%)	General yeasts
2	<i>Cryptococcus tephrensis</i>	NDC30-3	JN400781.1	637/639 (99%)	
3	<i>Cryptococcus victoriae</i>	NDC26-3	AJ749830.1	628/639 (98%)	
4	<i>Cystofilobasidium capitatum</i>	NDC15-1	KC433851.1	585/585 (100%)	
5	<i>Hannaella kunmingensis</i>	NDC19-3	FJ828962.1	608/628 (97%)	
6	<i>Naganishia cerealis</i>	NDC27-3	KX621784.1	581/583 (99%)	
7	<i>Papiliotrema aspenensis</i>	NDC25-2	KX621788.1	580/581 (99%)	
8	<i>Papiliotrema flavescens</i>	NDC4-2	MF045447.1	640/640 (100%)	
		NDC12-2	MF045447.1	640/640 (100%)	
		NDC15-3	MF045447.1	640/640 (100%)	
9	<i>Papiliotrema laurentii</i>	NDC17-3	KC798409.1	599/629 (95%)	
10	<i>Rhodotorula ingeniosa</i>	NDC9-1	AJ749834.1	631/631 (100%)	Unrecorded yeast
11	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	NDC5-2	FN428899.1	589/590 (99%)	
		NDC6-1	FN428899.1	589/590 (99%)	
		NDC7-2	FN428899.1	589/590 (99%)	
		NDC11-4	FN428899.1	588/590 (99%)	
		NDC19-2	FN428899.1	589/590 (99%)	
		NDC20-2	FN428899.1	589/590 (99%)	
		NDC21-2	FN428899.1	589/590 (99%)	
		NDC25-1	FN428899.1	589/590 (99%)	
		NDC28-3	FN428899.1	588/590 (99%)	
		NDC30-1	FN428899.1	589/590 (99%)	
12	<i>Udeniomyces pyricola</i>	NDC29-1	AF075507.1	630/630 (100%)	Unrecorded yeast
13	<i>Pichia scaptomyzae</i>	BAC2-3	KT933336.1	586/587 (99%)	
1	<i>Cryptococcus magnus</i>	HNDC4-1	AY242120.1	643/643 (100%)	Halophilic yeasts
2	<i>Aureobasidium pullulans</i>	HNDC17-2	JX067761.1	611/614 (99%)	
3	<i>Cryptococcus laurentii</i>	HNDC10-2	JQ968479.1	631/634 (99%)	
		HNDC25-3	JN400761.1	628/639 (98%)	
4	<i>Cryptococcus magnus</i>	HNDC11-1	AY242120.1	643/643 (100%)	
		HNDC20-1	AY242120.1	641/643 (99%)	
5	<i>Cystofilobasidium capitatum</i>	HNDC5-1	KC433851.1	585/585 (100%)	
6	<i>Filobasidium magnum</i>	HNDC6-2	KY296074.1	633/633 (100%)	
7	<i>Mrakia aquatica</i>	HNDC9-3	GQ911522.1	644/646 (99%)	
8	<i>Papiliotrema flavescens</i>	HNDC23-2	MF045447.1	640/640 (100%)	
9	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	HNDC2-1	FN428899.1	589/590 (99%)	
		HNDC3-1	FN428899.1	589/590 (99%)	
		HNDC8-2	FN428899.1	587/590 (99%)	
		HNDC10-1	FN428899.1	587/591 (99%)	
		HNDC17-1	MH611513.1	564/566 (99%)	
		HNDC18-1	FN428899.1	587/590 (99%)	
		HNDC23-1	FN428899.1	589/590 (99%)	
10	<i>Udeniomyces pyricola</i>	HNDC4-2	JF706622.1	584/584 (100%)	

Table 3. Wild yeast strains from waters and soils of Geumsancheon in Geumsan-gun of Chungcheongnam-do, Korea.

No.	Putative species	Isolated No.	Related Genebank No.	Identity(%)	Remarks
1	<i>Aureobasidium pullulans</i>	GSC22-4	JQ916049.1	593/593 (100%)	General yeasts
		GSC26-3	JQ916059.1	593/593 (100%)	
2	<i>Candida pseudolambica</i>	GSC10-2	KP087891.1	578/578 (100%)	
3	<i>Candida sake</i>	GSC9-2	KC485459.1	578/578 (100%)	
		GSC10-3	LC215952.1	582/582 (100%)	
		GSC18-2	LC215952.1	580/580 (100%)	
4	<i>Candida subhashii</i>	GSC2-1	AB985632.1	549/549 (100%)	
		GSC13-1	AB985632.1	549/549 (100%)	
5	<i>Candida tropicalis</i>	GSC6-2	LC215950.1	586/586 (100%)	
		GSC10-1	KY106824.1	593/593 (100%)	
6	<i>Cryptococcus flavescens</i>	GSC11-1	AF487885.1	618/618 (100%)	Unrecorded yeast
7	<i>Cryptococcus magnus</i>	GSC5-3	JQ650237.1	611/611 (100%)	
		GSC20-3	JQ650237.1	621/621 (100%)	
8	<i>Curvibasidium pallidicorallinum</i>	GSC25-2	MH041892.1	608/608 (100%)	
9	<i>Cyberlindnera jadinii</i>	GSC6-1	KU218483.1	456/456 (100%)	
10	<i>Debaryomyces hansenii</i>	GSC2-3	KY296090.1	588/588 (100%)	
		GSC11-2	KY296090.1	587/587 (100%)	
11	<i>Diddensia caesiifluorescens</i>	GSC2-2	GU195656.1	500/556 (90%)	
12	<i>Naganishia cerealis</i>	GSC23-2	KX621784.1	582/583 (99%)	
13	<i>Pichia fermentans</i>	GSC4-1	KT933337.1	573/573 (100%)	
14	<i>Rhodospiridium kratochvilovae</i>	GSC28-1	KP263774.1	553/553 (100%)	
15	<i>Rhodotorula glutinis</i>	GSC19-1	MF045460.1	587/587 (100%)	
		GSC28-2	KJ507281.1	604/604 (100%)	
16	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	GSC3-1	FN428899.1	577/578 (99%)	
		GSC5-2	FN428899.1	576/577 (99%)	
		GSC7-2	FN428899.1	576/577 (99%)	
		GSC9-1	FN428899.1	576/577 (99%)	
		GSC10-4	FN428899.1	576/577 (99%)	
		GSC12-1	FN428899.1	576/577 (99%)	
		GSC14-1	FN428899.1	576/577 (99%)	
		GSC15-1	FN428899.1	576/577 (99%)	
		GSC16-1	FN428899.1	576/577 (99%)	
		GSC17-3	FN428899.1	576/577 (99%)	
		GSC18-4	FN428899.1	576/577 (99%)	
		GSC20-1	FN428899.1	576/577 (99%)	
		GSC21-1	FN428899.1	576/577 (99%)	
		GSC23-1	FN428899.1	576/577 (99%)	
		GSC24-2	FN428899.1	576/577 (99%)	
		GSC25-1	FN428899.1	576/577 (99%)	
		GSC26-1	FN428899.1	576/577 (99%)	
		GSC27-1	FN428899.1	576/577 (99%)	
		GSC28-3	FN428899.1	576/577 (99%)	
17	<i>Rhodotorula nothofagi</i>	GSC20-2	KC006668.1	614/614 (100%)	
18	<i>Sampaiozyma vanillica</i>	GSC18-3	AF189970.1	609/609 (100%)	
19	<i>Trichosporon moniliiforme</i>	GSC17-2	AB557863.1	596/596 (100%)	
20	<i>Yarrowia lipolytica</i>	GSC9-4	JX561142.1	510/510 (100%)	
		GSC18-1	FM212452.1	525/525 (100%)	

Table 3. Wild yeast strains from waters and soils of Geumsancheon in Geumsan-gun of Chungcheongnam-do, Korea.

No.	Putative species	Isolated No.	Related Genebank No.	Identity(%)	Remarks
1	<i>Candida subhashii</i>	GSCH1-1	AB985632.1	549/549 (100%)	Halophilic yeasts
2	<i>Aureobasidium pullulans</i>	GSCH26-2	JX067761.1	591/591 (100%)	
3	<i>Candida intermedia</i>	GSCH9-1	KU708236.1	540/540 (100%)	
		GSCH18-1	KU708236.1	540/540 (100%)	
4	<i>Candida sake</i>	GSCH6-3	KC485459.1	578/578 (100%)	
5	<i>Candida subhashii</i>	GSCH2-1	AB985632.1	549/549 (100%)	
		GSCH13-1	AB985632.1	549/549 (100%)	
		GSCH23-1	AB985632.1	549/549 (100%)	
		GSCH24-1	AB985632.1	549/549 (100%)	
6	<i>Candida tropicalis</i>	GSCH6-2	LC215950.1	588/588 (100%)	
		GSCH9-3	LC215950.1	588/588 (100%)	
		GSCH10-1	LC215950.1	588/588 (100%)	
7	<i>Cryptococcus magnus</i>	GSCH3-2	JQ650237.1	610/610 (100%)	
8	<i>Cryptococcus tephrensis</i>	GSCH20-1	KM891575.1	625/628 (99%)	
9	<i>Debaryomyces hansenii</i>	GSCH1-2	KY296090.1	590/590 (100%)	
		GSCH4-1	KY296090.1	587/587 (100%)	
		GSCH6-1	EU637079.1	601/601 (100%)	
		GSCH18-2	KY296090.1	587/587 (100%)	
10	<i>Filobasidium magnum</i>	GSCH17-1	MF045448.1	616/616 (100%)	
		GSCH22-1	MF045448.1	620/620 (100%)	
11	<i>Kabatiella microsticta</i>	GSCH25-1	KU254558.1	586/587 (99%)	
12	<i>Rhodospiridium babjevae</i>	GSCH19-1	FN357232.1	595/595 (100%)	
13	<i>Rhodotorula glutinis</i>	GSCH11-1	KJ507281.1	592/592 (100%)	
		GSCH22-2	MF045460.1	595/595 (100%)	
		GSCH28-2	KJ507281.1	590/590 (100%)	
14	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	GSCH8-1	FN428899.1	576/577 (99%)	
		GSCH9-4	FN428899.1	576/577 (99%)	
		GSCH14-1	FN428899.1	576/577 (99%)	
		GSCH24-3	FN428899.1	576/577 (99%)	
		GSCH26-1	FN428899.1	576/577 (99%)	
15	<i>Rhodotorula nothofagi</i>	GSCH9-2	KT156708.1	609/609 (100%)	
16	<i>Yarrowia lipolytica</i>	GSCH10-2	MH545931.1	524/525 (99%)	

이들 국내 미기록 효모들에 대한 외국 학술지의 주요 보고 내용으로 먼저 *Exobasidium rhododendri* 는 처음 담자리참꽃(알프스 장미)의 잎과 줄기에 기생하는 균으로 분리되었고[29] 이 균은 다른 담 자균속균과 달리 숙주 식물의 조직에서 영양증식을 하는것으로 알려졌다. *Udeniomyces pyricola* 는 Nakase 등이[30] 처음 분리하여 이들의 형태적 특성과 생육특성, 발효성등을 보고하였고 *Diddensiella caesiifluorescens* 균주는 Petere등[31]이 riboflavin 생산 효모로 분리, 동정하여 보고하였다. 또한 *Pichia scaptomyzae* 균주는 칠레 남부에 서식하는 상시류의 일종인 *Scaptomyza multisporea*의 소화기관에서 처음 분리되어 이들의 형태학적, 생리적 특성등이 보고된바 있다[32].

형태학적, 배양학적 특성 및 증균속 이온들에 대한 내성; 이들 미기록 효모들을 YPD배지에 접 종하여 30°C에서 2일 배양한 후 광학 현미경(BX43F, OLYMPUS, JAPAN)으로 이들의 형태를 관 찰하였고(Fig. 1) 크기, 포자형성 유무등의 형태적 특징과 배양적 특성 및 이들의 phylogenetic trees는 각각 Table 4, Fig. 2, Fig. 3와 같다. 이들 미기록 효모들중 *Udeniomyces pyricola* NDC29-1 와 *Diddensiella caesiifluorescens* GSC2-2는 구형이고 나머지 균들은 난형으로 출아에 의해 영양증식을

하였으며 *Pichia scaptomyzae* BAC2-3 균주만이 포자를 생성하였다. *Udeniomyces pyricola* NDC29-1 균주와 모든 미기록 균주들이 vitamin-free배지에서도 생육이 아주 양호 하였고 *Diddensiella caesiifluorescens* GSC2-2 균주와 *Pichia scaptomyzae* BAC2-3 균주는 40% 포도당을 함유한 YPD배지에서 모두 생육이 양호하였다. 한편, 미기록 야생 효모들 중 특히 *Pichia scaptomyzae* BAC2-3 균주는 Ca, Mg, Zn, Li, Co, Cu, Fe 등의 중금속 이온들에 대하여 800 ppm에서도 생육하는 내성을 보였다.

탄소원들에 대한 자화성과 발효성; 위와 같은 미기록 야생효모들의 각종 당류들에 대한 자화성과 발효성을 조사한 결과는 Table 3과 같다. 미기록 효모들 모두 fructose와 lactose, raffinose, xylose, 전분등을 자화시켰고 섬유소를 자화시키지 못하였다. 또한 4균주 모두 시험에 사용한 포도당 등 10종의 당류들을 발효시키지 못하였다.

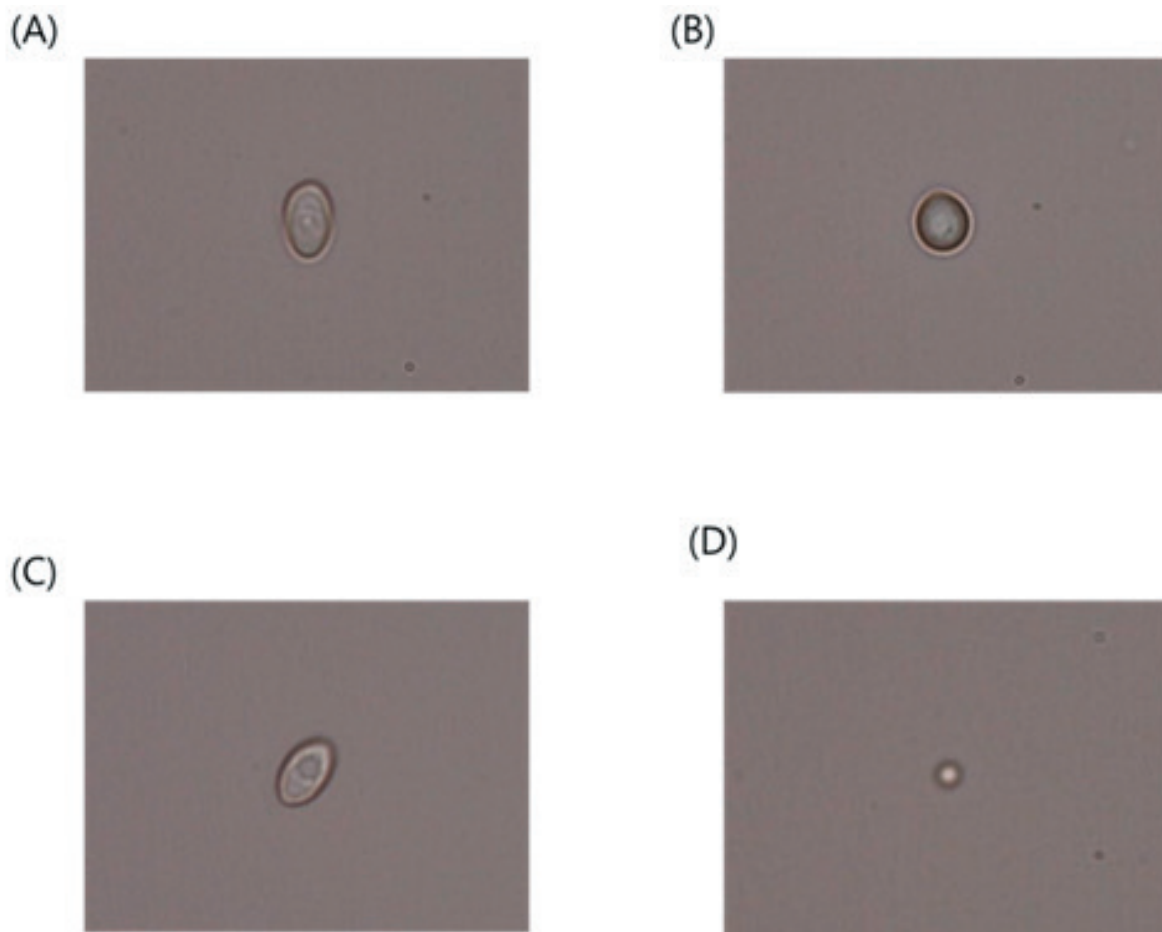


Fig. 1. Microscopic features of the unrecorded yeasts isolated from Haegeumgang and Namdaecheon and Geumsancheon in Korea. (A) *Pichia scaptomyzae* BAC2-3, (B) *Diddensiella caesiifluorescens* GSC2-2, (C) *Exobasidium rhododendri* HGG10-5, (D) *Udeniomyces pyricola* NDC29-1.

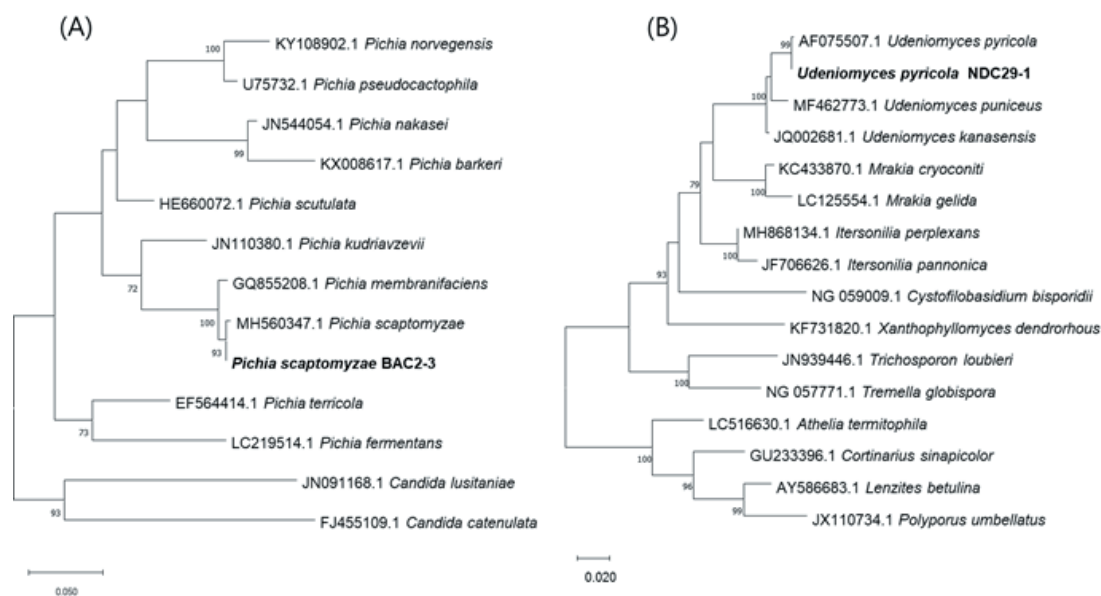


Fig. 2. Phylogenetic tree of the unrecorded yeasts, *Pichia scaptomyzae* BAC2-3 (A) and *Udeniomyces pyricola* NDC29-1(B) isolated from waters and soils of Namdaechon in Geumgang upstream of Korea, based on the nucleotide sequences of large subunit 26S ribosomal DNA D1/D2 region. The tree was generated by the neighbor-joining method, using MEGA X.

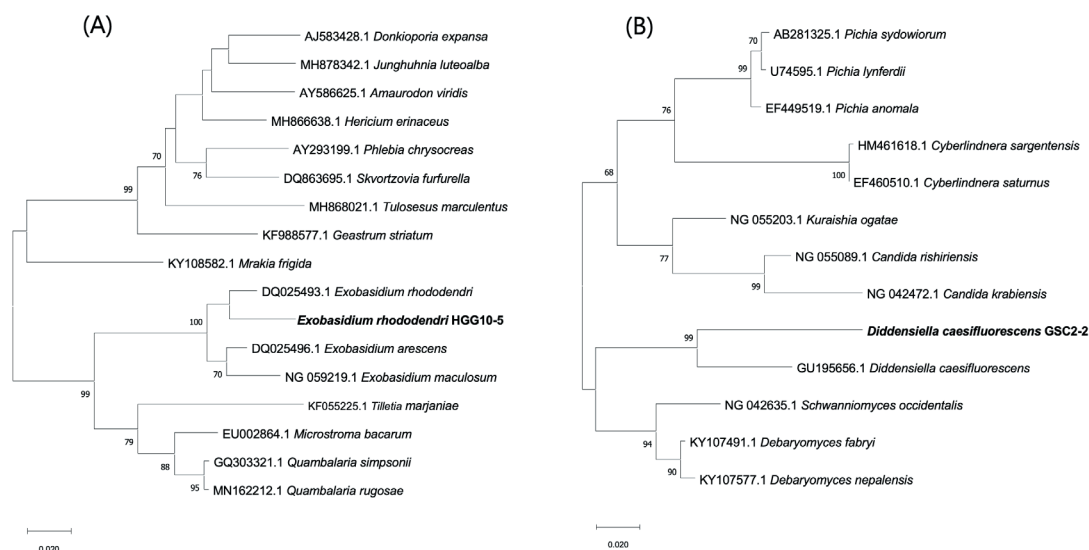


Fig. 3. Phylogenetic tree of the unrecorded yeasts, *Exobasidium rhododendri* HGG10-5 (A) and *Diddensiella caesifluorescens* GSC2-2 (B) isolated from waters and soils of Haegumgang in southern sea and Geumsancheon in Geumgang upstream of Korea, based on the nucleotide sequences of large subunit 26S ribosomal DNA D1/D2 region. The tree was generated by the neighbor-joining method, using MEGA X.

Table 4. Microbiological characteristics of unrecored wild yeasts.

Characteristics	Strains			
	<i>Exobasidium rhododendri</i>	<i>Udeniomyces pyricola</i>	<i>Diddensiella caesiifluorescens</i>	<i>Pichia scaptomyzae</i>
Isolated No.	HGG 10-5	NDC 29-1	GSC 2-2	BAC 2-3
Morphological characteristics				
Shape	Oval	Global	Global	Oval
Size (μm)	1.8×0.9	0.4×0.4	1.3×1.3	1.8×1.1
Vegetative reproduction	Budding	Budding	Budding	Budding
Spore	-	-	-	+
Pseudomycelium	-	-	+	-
Cultural characteristics				
Growth on YPD ¹⁾ /YM ²⁾ /PD ³⁾ media	++/+/+4)	++/-/++	++/+/+/+	++/+/+/+
Color on YPD medium	Cream	Cream	Cream	Cream
Growth				
Vitamin-free medium	++	-	++	++
30/40/50% glucose YPD medium	-/-/-	-/-/-	++/+/+/-	++/+/+/-
10/15% NaCl YPD medium	+/-	-/-	-/-	-/-
Growth range of temp./pH	20-30℃/pH 5.0-9.0	15-30℃/pH 5.0-9.0	15-35℃/pH 4.0-9.0	20-35℃/pH 4.0-9.0
Assimilation and fermentation of sugars				
Assimilation (+)	Glu, Fru, Mal, Lac, Raf, Sta, Xyl	Fru, Gal, Suc, Lac, Raf, Sta, Xyl	Glu, Fru, Gal, Suc, Mal, Lac, Raf, Sta, Xyl	Glu, Fru, Gal, Suc, Mal, Lac, Raf, Sta, Xyl
Assimilation (-)	Gal, Suc, Cel	Glu, Mal, Cel	Cel	Cel
Fermentation	All (-)	All (-)	All (-)	All (-)
Heavy metal resistance				
400 ppm	CuSO ₄	FeCl ₃ , LiCl	ZnCl ₂	
800 ppm	CaCl ₂ , FeCl ₃ , MgSO ₄ , ZnCl ₂	CaCl ₂	CaCl ₂ , CoCl ₂ , CuSO ₄ , FeCl ₃ , LiCl, MgSO ₄ ,	CaCl ₂ , CoCl ₂ , CuSO ₄ , FeCl ₄ , LiCl, MgSO ₄ , ZnCl ₂

¹⁾YPD: yeast extract-peptone-dextrose; ²⁾YM: yeast extract-malt extract; ³⁾PD: potato dextrose; ⁴⁾+: growth; -: no growth; Glu: Glucose; Fru: Fructose; Mla: Maltose; Lac: Lactose; Raf: Raffinose; Sta: Starch; Xyl: Xylose; Gal: Galactose; Suc: Sucrose; Cel: Cellulose.

적요

남해안과 금강상류 주변환경의 야생효모들의 효모 종 분포특성을 조사하고 국내 미보고된 효모들을 선별하여 이들의 균학적 특성들을 알아보고자 남해안의 해금강과 금강상류인 전북 무주의 남대천 및 금산의 금산천 주변의 물과 토양들로부터 야생효모들을 분리, 동정하였다. 해금강 주변 시료 35점에서 22종 52균주의 야생효모들을 분리, 동정하였고 무주의 남대천 주변 물과 토양 30점에서는 24 종 43균주의 야생효모들을, 금산의 금산천변 시료 60점에서 45종 79균주의 야생효모들을 분리, 동정하였다. 이들 지역에서 분리, 동정한 야생효모들중 *Exobasidium rhododendri* HHG10-5 (NNIBR2022633FG1), *Udeniomyces pyricola* NDC29-1 (NNIBR2022633FG2), *Pichia scaptomyzae* BAC2-3 (NNIBR2022633FG4), *Diddensiella caesiifluorescens* GSC2-2 (NNIBR2022633FG5) 등 4균주들이 국내 미기록 야생효모들로 최종 선별되었다. 이들의 균학적 특성을 조사한 결과 *Udeniomyces pyricola* NDC29-1 과 *Diddensiella caesiifluorescens* GSC2-2 균은 구형이었고 *Exobasidium rhododendri* HGG10-5 와 *Pichia scaptomyzae* BAC2-2 균들은 난형이었으며 *Pichia scaptomyzae* BAC2-3 균주만이 포자를 생성하였다. *Udeniomyces pyricola* NDC29-1 균주 외

에는 모두 vitamin-free배지에서도 생육이 아주 양호하였고 *Pichia scaptomyzae* BAC2-3, *Diddensiella caesifluorescens* GSC2-2 균주는 40% glucose를 함유한 YPD배지에서도 생육하는 내당성균이었다. *Udeniomyces pyricola* NDC29-1 균주를 제외한 나머지 균들은 Ca 등의 중금속등에 대하여 강한 내성을 보였다.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was supported by a grant from the Nakdonggang National Institute of Biological Resources (NNIBR), funded by the Ministry of Environment (MOE) of the Republic of Korea.

REFERENCES

1. Lee DH, Lee DH, Lee JS. Characterization of a new antimentia β -secretase inhibitory peptide from *Saccharomyces cerevisiae*. *Enzyme Microbiol Technol* 2007;42:83-8.
2. Jeong SC, Lee DH, Lee JS. Production and characterization of an anti-angiogenic agent from *Saccharomyces cerevisiae* K-7. *J Microbiol Biotechnol* 2006;16:1904-11.
3. Han SM, Lee JS. Production and its anti-hyperglycemia effects of gamma-aminobutylic acid from the wild yeast strain *Pichia silvicola* UL6-1 and *Sporobolomyces carnicolor* 402-JB-1. *Mycobiol* 2017;45:199-203.
4. Kim JY, Lee SY, Han SM, Lee JS. Production of anti-dementia acetylcholinesterase from the wild yeasts *Saccharomyces cerevisiae* WJSL0113 and *Wickerhamomyces anomalus* JSF0128. *Kor J Mycol* 2018;46:447-57.
5. Lee JS, Lee SH, Kwon SJ, Ahn C, Yoo JY. Enzyme activities and physiological functionality of yeasts from traditional Meju. *Kor J Appl Microbiol Biotechnol* 1997;25:448-53.
6. Moon JE, Heo W, Lee SH, Lee SH, Lee HG, Lee JH, Kim YJ. Trehalose protects the probiotic yeast *Saccharomyces boulardii* against oxidative stress-induced cell death. *J Microbiol Biotechnol* 2020;30:54-61.
7. Ryu HY. Advanced technologies and mechanisms for yeast evolutionary engineering. *Mycobiol* 2020;48:423-8.
8. Min JH, Ryu JJ, Kim HK, Lee JS. Isolation and identification of yeasts from wild flowers in Gyejoksan, Oseosan and Baekamsan of Korea. *Kor J Mycol* 2013;41:47-51.
9. Hyun SH, Mun HY, Lee HB, Kim HK, Lee JS. Isolation of yeasts from wild flowers in Gyeonggi-do province and Jeju island in Korea and the production of anti-gout xanthine oxidase inhibitor. *Kor J Microbiol Biotechnol* 2013;41:383-90.
10. Hyun SH, Lee JK, Park WJ, Kim HK, Lee JS. Isolation and diversity of yeasts from fruits and flowers of orchard in Sinam-myeon of Yesan-gun, Chungcheongnam-do, Korea. *Kor J Mycol* 2014;42:21-7.
11. Hyun SH, Min JH, Lee HB, Kim HK, Lee JS. Isolation and diversity of yeasts from wild flowers in Ulleungdo and Yokjido, Korea. *Kor J Mycol* 2014;42:28-33.
12. Hyun SH, Min JH, Kim SA, Lee JS, Kim HK. Yeasts associated with fruits and blossoms collected from Hanbat arboretum, Daejeon, Korea. *Kor J Mycol* 2014;42:178-82.
13. Hyun SH, Han SM, Lee JS. Isolation and physiological functionality of yeasts from wild flowers in Seonyudo of Gogunsanyeoldo, Jeollabuk-do, Korea. *Kor J Mycol* 2014;42:201-6.

14. Han SM, Hyun SH, Lee JS. Isolation and identification of yeasts from wild flowers in Deogyu mountain and their physiological functionalities. *Kor J Mycol* 2015;43:47-52.
15. Han SM, Lee SY, Kim HK, Lee JS. Characterization of wild yeasts Isolated from leaves obtained from Mt. Daedun and Mt. Chilgap, Korea. *Kor J Mycol* 2017;45:31-42.
16. Han SM, Lee JS. Characterization of unrecorded yeasts Isolated from leaves of trees of Oknyeobong peak and Yeonjasan mountains in Daejeon, Korea. *Kor J Mycol* 2017;45:23-30.
17. Han SM, Kim JY, Kim CM, Lee JS. Characteristics of unrecorded wild yeasts obtained from the soil of spices plant fields and its physiological functionality. *Kor J Mycol* 2019;47:75-81.
18. Kim HK, Kim JY, Han SM, Kim CM, Lee JS. Microbiological characteristics and physiological functionalities of unrecorded wild yeast strains in the soils of Hajodae and Gyungpodae beaches in Korea. *Kor J Mycol* 2019;47:249-58.
19. Kim JY, Han SM, Park SJ, Jang JE, Lee JS. Isolation and characterization of unrecorded wild yeasts obtained from soils of spice fields and mountains. *Kor J Mycol* 2020;48:151-60.
20. Kim JS, Lee M, Kim JY, Heo J, Kwon SW, Yun BS, Kim SJ. Distribution and species diversity of wild yeasts isolated from flowers in Korea. *Kor J Mycol* 2020;48:475-84.
21. Han SM, Han JW, Bae SM, Park WJ, Lee JS. Isolation and identification of wild yeasts from soils of paddy fields in Daejeon metropolitan city and Chungcheongnam-do, Korea. *Kor J Mycol* 2016;44:1-7.
22. Han SM, Lee JS. Isolation and identification of wild yeasts from soils of an herb park in Seoul metropolitan city and characteristics of unrecorded yeasts. *Kor J Mycol* 2016;44:108-12.
23. Han SM, Kim JY, Lee HB, Kim HK, Lee JS. Isolation and characterization of wild yeasts from water and riverside soils of Geumgang midstream in Gongju city, Korea. *Kor J Mycol* 2018;46:98-104.
24. Han SM, Kim HK, Lee HB, Lee JS. Isolation and identification of wild yeasts from freshwaters and soils of Nakdong and Yeongsan river, Korea, with characterization of two unrecorded yeasts. *Kor J Mycol* 2016;44:350-4.
25. Han SM, Lee SY, Kim HK, Lee JS. Isolation and diversity of wild yeasts from the waters and bank soils of Daejeoncheon, Gapcheon, and Yedeungcheon in Daejeon metropolitan city, Korea. *Kor J Mycol* 2017;45:259-69.
26. Han SM, Park DJ, Kim JY, Lim HJ, Lee HB, Lee JS. Isolation of wild yeasts obtained from waters and soils of riversides in Sangjubo of Nakdong river and Daechung dam of Geumgang midstream, Korea and characterization of unrecorded wild yeasts. *Kor J Mycol* 2020;48:237-49.
27. Jeon YJ, Park S, Hwang H, Park YH, Cheon W, Goh J, Chung N, Mun HY. Seven yeast strains isolated from freshwaters for the first record in Korea. *Kor J Mycol* 2020;48:523-31.
28. Han SM, Hyun SH, Lee HB, Lee HW, Kim HK, Lee JS. Isolation and identification of yeasts from wild flowers collected around Jangseong lake in Jeollanam-do, Republic of Korea, and characterization of the unrecorded yeast *Bullera coprosmaensis*. *Mycobiol* 2015;43:266-71.
29. Patrignani G, Pellegrini S, Gerola FM. Reproductive and ultrastructural aspects of *Exobasidium rhododendri*: phylogenetic considerations. *Caryologia* 1989;42:1-10.
30. Takashima M, Nakase T. The yeasts, a taxonomic study. Amsterdam: Elsevier; 2011. p. 2063-64.
31. Peter G, Dlauchy D, Price NPJ, Kurtzman CP. *Diddensiella caesiifluorescens* gen. nov., sp. nov., a riboflavin-producing yeast species of the family *Trichomonascaceae*. *Intl J Sys Evol Microbiol* 2012;62:3081-7.
32. Ramirez C, Gonzalez A. *Pichia scaptomyzae* sp. nov., isolated from *Scaptomyza multispinosa* Malloch (Diptera) in southern Chile. *C Mycopathol* 1984;88:79-80.