

경북 울릉도와 경남 옥지도 야생화들로부터 효모의 분리 및 종 분포 특성

현세희¹ · 민진홍¹ · 이항범² · 김하근¹ · 이종수^{1*}

¹배재대학교 바이오 · 의생명공학과, ²전남대학교 응용생물공학부

Isolation and Diversity of Yeasts from Wild Flowers in Ulleungdo and Yokjido, Korea

Se-Hee Hyun¹, Jin-Hong Min¹, Hyang Burm Lee², Ha-Kun Kim¹ and Jong-Soo Lee^{1*}

¹Department of Biomedical Science and Biotechnology, Paichai University, Daejeon 302-735, Korea

²Division of Applied Bioscience & Biotechnology, Chonnam National University, Gwangju 500-757, Korea

ABSTRACT : Various yeasts from wild flowers of Ulleungdo in Gyeongsangbuk-do and Yokjido in Gyeongsangnam-do, Korea were isolated and identified by comparison of nucleotide sequences for PCR-amplified D1/D2 region of 26S rDNA using BLAST. Forty eight yeast strains of twenty two species and sixty yeast strains of twenty five species were isolated from wild flowers of Ulleungdo and Yokjido, respectively. Only seven species were overlapped from the two different islands areas: *Cryptococcus albidus*, *Cryptococcus laurentii*, *Metschnikowia reukafii*, *Pichia scolyti*, *Rhodotorula glutinis*, *Rhodotorula graminis* and *Rhodotorula mucilaginosa*. Among forty species from two different islands, other thirty three species were restricted to specific collection site suggesting that each area has distinctive yeast flora.

KEYWORDS : Identification, Ulleungdo, Wild flowers, Yeases, Yokjido

서 론

효모는 대부분 오래전부터 전통발효식품 제조에 많이 이용되어 왔고, 따라서 지금까지 효모는 발효식품에서 주로 분리되어 일부가 산업적으로 이용되고 있다[1-5]. 그러나 꽃과 과일 등 온도와 습도 등의 기후변화가 심한 자연환경에 분포하고 있는 효모들의 종 다양 특성과 유용효모의 분리 및 이용 연구는 거의 실시되지 않아 이들로부터 유용 균

주들을 선별하여 고부가가치의 의약 산업이나 건강기능성 식품산업 등에 응용할 필요성이 있다.

따라서 필자 등은 최근 환경부 국립생물자원관과 공동으로 자연환경에 분포하고 있는 다양한 효모들을 발굴하여 효모 종 다양성을 확립하고자 먼저 대전지역 일부 하천과 야산 등의 야생화들로부터 효모들을 분리, 동정하여 이들의 다양성[6]과 국내에서 처음 보고되는 국내 미기록 효모들의 특성을 보고하였다[7]. 대전의 계족산, 충남 홍성의 오서산 일대와 전북 정읍 백암산 등의 산악지대에서 식생하고 있는 야생화들을 수집하여 이들로부터 효모를 분리, 동정하였고[8], 이들 중 국내 미기록 효모들을 선별한 결과, 이들이 매우 독특한 균학적 특성을 갖고 있음을 보고하였다[9].

또한 우리나라 해안지대 야생화들[10]과, 경기도와 제주도 야생화들로부터 효모를 분리하여 이들로부터 항통풍성 물질생산에 관한 연구를 실시한 결과 *Pseudozyma hubeiensis* 228-S-1의 무세포 추출물이 19.6%의 항통풍성 xanthine oxidase 저해활성을 갖고 있음을 보고한 바 있다[11].

본 연구에서는 섬지역 서식 야생화들의 효모 종 다양성을 조사하는 연구의 일환으로 우리나라의 대표적인 섬들인

Kor. J. Mycol. 2014 March, 42(1): 28-33
http://dx.doi.org/10.4489/KJM.2014.42.1.28
pISSN 0253-651X
© The Korean Society of Mycology

*Corresponding author

E-mail: biotech8@pcu.ac.kr

Received January 27, 2014

Revised March 18, 2014

Accepted March 21, 2014

©This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

동해의 울릉도와 남해의 욕지도에 있는 야생화들로부터 효모들을 분리, 동정하고 이들의 다양성을 조사하였다.

재료 및 방법

효모의 분리 및 동정

경북 울릉도와 경남 통영의 욕지도 일대에서 2013년 봄에 개화한 꽃(화분)들을 각각을 멸균튜브에 채취한 후, 5 ml의 멸균수를 넣고 1시간 동안 진탕하여 현탁액을 얻었다. 현탁액 일부를 Min[6]의 방법에 따라 스트렙토마이신 (50 µg/ml)과 앰피실린 (50 µg/ml)이 들어 있는 Yeast extract-peptone dextrose 한천배지에 도말하고 30°C에서 48 시간 배양한 후 형성된 효모 집락들을 분리하였다.

효모들의 동정은 26S rDNA의 D1/D2 부위의 염기서열 상동성 비교법을 이용하여 전보[6,11]와 같이 실시하였다. 이와 같이 얻은 염기서열들을 NCBI의 BLAST를 사용하여 데이터베이스에 등록되어 있는 효모들과의 분자생물학적 유연관계를 분석하여 동정하였다.

결과 및 고찰

울릉도 야생화들로부터 효모의 분리 및 동정

울릉도 나리분지 주위에서 2013년 6월 26~27일 개화한

섬말나리꽃 등 33점의 야생화들을 수집하여 이들로부터 효모들을 분리하여 동정한 결과는 Table 1과 같다. 분리된 48주의 효모들은 모두 22종으로 동정되었고 이들 중 *Metschnikowia koreensis*가 5주, *Metschnikowia reukaufii*가 5주, *Pichia mexicana*가 5주, *Pichia scolytii*가 4주, *Rhodotorula glutinis*가 4주, *Rhodotorula graminis*가 5주로서 전체 분리된 48주 효모들의 약 58.3%를 차지하였다.

경상북도 울릉군 북면 나리리 해발 406 m에 위치한 나리분지는 외륜산으로 둘러싸여 있고 연평균 강수량은 약 1480 mm, 평균기온은 12°C이고 여름은 25°C 내외로 육지보다 온화한 날씨를 보이는 지역이다. 이러한 특징을 가진 나리 분지에서 *Pichia* 속, *Metschnikowia* 속 및 *Rhodotorula* 속의 효모가 특히 많이 분리된 점은 울릉도 나리분지의 독특한 환경과 연계되어 있는 것으로 추정되고 이에 대한 추가의 연구가 요구된다.

욕지도 야생화들로부터 효모 분리 및 동정

경상남도 통영 앞바다에 위치하고 있는 욕지도의 천황산(해발 392 m) 주위에 2013년 5월 17~18일 개화한 쑥갓꽃 등 36점의 야생화들로부터 위와 같이 효모들을 분리하여 동정한 결과는 Table 2와 같다. 분리된 60주의 효모들은 모두 25종으로 동정되었으며 특히 *Metschnikowia reukaufii*가 13주로 가장 많았고 *Rhodotorula mucilaginosa*도 10주가 분

Table 1. Yeasts species isolated from wild flowers collected in Ulleungdo, Gyeongsangbuk-do, Korea

No.	Putative species	Isolated No.	Related Genbank sequence	Identity (%)
1	<i>Candida intermedia</i>	UL42-1	DQ377635.1	559/559(100)
2	<i>Candida silvae</i>	UL42-2	GQ222354.1	573/573(100)
3	<i>Cryptococcus albidus</i>	UL1-2	AF335982.1	617/621(99)
		UL41-4	AF335982.1	621/624(99)
4	<i>Cryptococcus flavus</i>	UL42-4	EU177572.1	634/636(99)
5	<i>Cryptococcus laurentii</i>	UL15-4	AM931019.1	627/627(100)
6	<i>Hanseniaspora uvarum</i>	UL19-1	AM160628.1	608/612(99)
7	<i>Kuraishia capsulata</i>	UL40-2	DQ409142.1	602/602(100)
8	<i>Metschnikowia koreensis</i>	UL28-3	AF257272.1	526/534(99)
		UL32-1	AF257272.1	528/533(99)
		UL37-1	JX067740.1	551/552(99)
		UL38-2	AF257272.1	526/535(98)
		UL48-1	JX067740.1	551/552(99)
9	<i>Metschnikowia reukaufii</i>	UL22-1	JX067740.1	551/552(99)
		UL22-3	JX067740.1	551/552(99)
		UL28-1	JX067740.1	551/552(99)
		UL3-1	JX067740.1	525/526(99)
		UL45-2	JX067740.1	551/552(99)
10	<i>Metschnikowia viticola</i>	UL19-3	JN544019.1	547/550(99)
11	<i>Meyerozyma caribbica</i>	UL10-1	KC111450.1	613/613(100)
		UL5-1	KC111450.1	613/613(100)

Table 1. Continued

No.	Putative species	Isolated No.	Related Genbank sequence	Identity (%)
12	<i>Pichia guilliermondii</i>	UL47-1	EU177574.1	609/611(99)
13	<i>Pichia mexicana</i>	UL26-1	DQ409143.1	562/572(98)
		UL29-4	DQ409143.1	562/572(98)
		UL16-2	DQ409143.1	562/572(98)
		UL7-3	DQ409143.1	562/572(98)
		UL8-3	DQ409143.1	562/572(98)
14	<i>Pichia scolyti</i>	UL23-2	FR819712.1	621/626(99)
		UL25-2	FR819712.1	621/629(99)
		UL33-1	JQ689050.1	547/550(99)
		UL9-2	JQ689050.1	547/550(99)
15	<i>Pichia silvicola</i>	UL6-1	EF550302.1	590/591(99)
		UL25-3	EF550302.1	590/591(99)
16	<i>Pseudozyma hubeiensis</i>	UL29-2	AB566327.1	637/645(99)
17	<i>Rhodospiridium fluviale</i>	UL15-3	KC006616.1	605/606(99)
18	<i>Rhodotorula glutinis</i>	UL25-6	AM160642.1	614/625(98)
		UL26-3	AM160642.1	614/614(100)
		UL31-3	AM160642.1	614/614(100)
		UL42-3	AM160643.1	614/614(100)
19	<i>Rhodotorula graminis</i>	UL20-3	EU563930.1	614/614(100)
		UL9-3	EU563930.1	614/614(100)
		UL6-4	EU563930.1	614/614(100)
		UL35-3	EU563930.1	614/614(100)
		UL36-4	EU563930.1	614/614(100)
20	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	UL17-2	EU285542.1	610/610(100)
		UL46-4	EU285542.1	610/610(100)
21	<i>Sporidiobolus pararoseus</i>	UL42-5	JQ219311.1	609/611(99)
22	<i>Sporobolomyces carnicolor</i>	UL32-3	JN940713.1	604/604(100)

Table 2. Yeasts species isolated from wild flowers collected in Yokjido, Gyeongsangnam-do, Korea

No.	Putative species	Isolated No.	Related Genbank sequence	Identity (%)
1	<i>Candida albicans</i>	YJ23-2	AF156537.1	608/609(99)
2	<i>Candida bombi</i>	YJ29-1	AY188358.1	500/506(99)
		YJ41-2	AY188358.1	500/506(99)
		YJ51-1	AY188358.1	501/506(99)
3	<i>Candida corydali</i>	YJ33-1	DQ655679.1	589/592(99)
4	<i>Candida</i> sp.	YJ36-2	AB294739.1	573/574(99)
5	<i>Cryptococcus adeliensis</i>	YJ19-2	JN400746.1	638/638(100)
6	<i>Cryptococcus albidus</i>	YJ14-1	AF335982.1	620/621(99)
		YJ41-1	AF335982.1	624/624(100)
		YJ46-3	AF335982.1	623/624(99)
7	<i>Cryptococcus aureus</i>	YJ4-1	EU304246.1	630/630(100)
		YJ25-1	EU304246.1	630/630(100)
8	<i>Cryptococcus laurentii</i>	YJ26-1	FJ743631.1	637/637(100)
		YJ34-1	FJ743631.1	638/640(99)

Table 2. Continued

No.	Putative species	Isolated No.	Related Genbank sequence	Identity (%)
9	<i>Cryptococcus magnus</i>	YJ4-3	AY242120.1	643/643(100)
10	<i>Cryptococcus saitoi</i>	YJ40-2	JN400762.1	638/639(99)
11	<i>Cryptococcus uzbekistanensis</i>	YJ10-4	KC006556.1	626/626(100)
		YJ48-1	KC006556.1	626/626(100)
12	<i>Fibulobasidium inconspicuum</i>	YJ52-1	AF363641.1	614/627(98)
13	<i>Lodderomyces elongisporus</i>	YJ38-1	EF394940.1	610/613(99)
		YJ38-3	EF394940.1	611/613(99)
14	<i>Metschnikowia reukaufii</i>	YJ12-1	JX067778.1	552/553(99)
		YJ13-1	JX067778.1	552/554(99)
		YJ5-1	JX067778.1	555/558(99)
		YJ7-1	JX067778.1	552/553(99)
		YJ9-1	JX067778.1	552/553(99)
		YJ22-1	JX067778.1	552/553(99)
		YJ24-1	JX067778.1	552/553(99)
		YJ30-1	JX067778.1	552/553(99)
		YJ35-2	JX067778.1	554/556(99)
		YJ39-2	JX067778.1	554/556(99)
		YJ42-3	JX067778.1	555/557(99)
		YJ45-3	JX067778.1	555/556(99)
		YJ51-2	JX067778.1	555/556(99)
15	<i>Meyerozyma guilliermondii</i>	YJ34-3	KC119207.1	613/613(100)
		YJ34-2	KC119207.1	610/610(100)
16	<i>Pichia scolytii</i>	YJ14-2	JQ689050.1	547/550(99)
17	<i>Pseudozyma</i> sp.	YJ37-2	AJ876780.1	646/649(99)
18	<i>Rhodospiridium paludigenum</i>	YJ41-4	HQ670686.1	617/617(100)
19	<i>Rhodotorula glutinis</i>	YJ35-4	AM160643.1	617/617(100)
		YJ42-4	AM160643.1	617/617(100)
		YJ54-2	AM160643.1	617/617(100)
20	<i>Rhodotorula graminis</i>	YJ48-2	EU563930.1	615/617(99)
		YJ20-3	EU563930.1	612/614(99)
		YJ36-1	EU563930.1	617/617(100)
21	<i>Rhodotorula minuta</i>	YJ27-1	JQ768912.1	635/642(99)
22	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	YJ39-1	GQ303715.1	612/613(99)
		YJ4-4	EU285542.1	610/610(100)
		YJ5-2	EU285542.1	610/610(100)
		YJ16-1	GQ303715.1	610/610(100)
		YJ19-1	GQ303715.1	610/610(100)
		YJ37-1	HE660055.1	612/613(99)
		YJ38-4	GQ303715.1	613/613(100)
		YJ42-2	EU177573.1	601/614(98)
		YJ46-1	EU563932.1	612/614(99)
		YJ34-7	EU285542.1	610/610(100)
23	<i>Rhodotorula nothofagi</i>	YJ1-1	FJ743617.1	631/631(100)
		YJ22-2	FJ743617.1	628/628(100)

Table 2. Continued

No.	Putative species	Isolated No.	Related Genbank sequence	Identity (%)
23	<i>Rhodotorula nothofagi</i>	YJ1-1	FJ743617.1	631/631(100)
		YJ22-2	FJ743617.1	628/628(100)
24	<i>Rhodotorula slooffiae</i>	YJ10-3	AB566328.1	637/639(99)
25	<i>Rhodotorula</i> sp.	YJ38-2	AF444745.1	599/601(99)

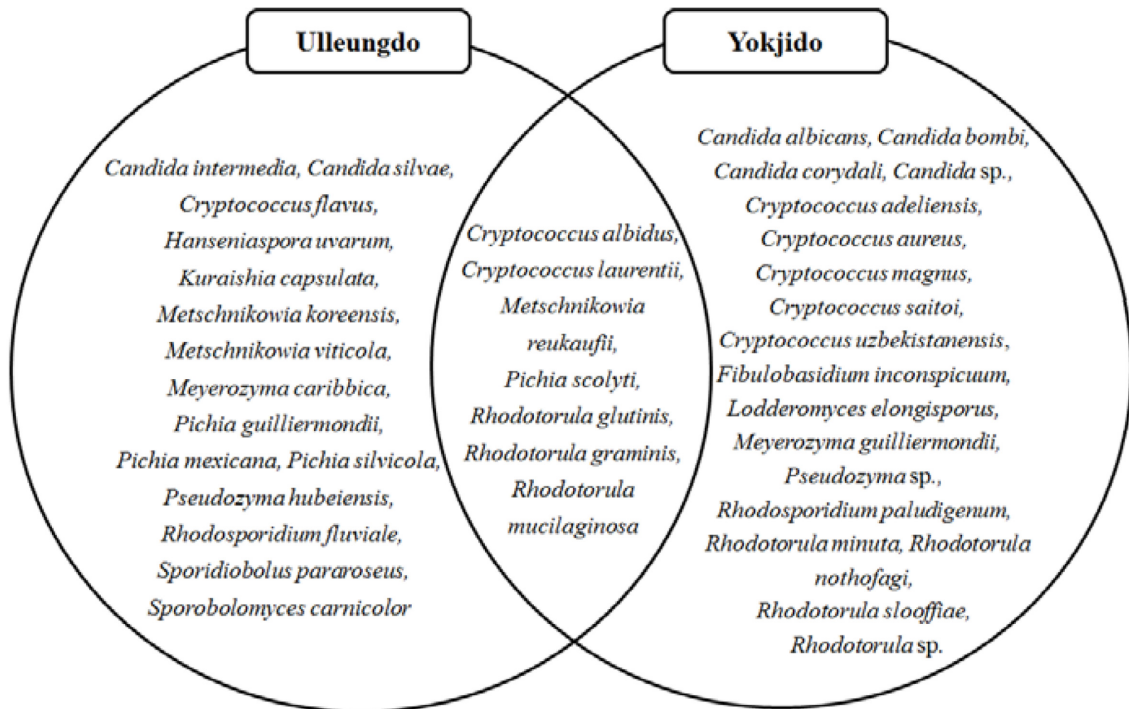


Fig. 1. Diversity of yeasts isolated from wild flowers collected in Ulleungdo and Yokjido, Korea.

리되었다. *Rhodotorula* 속군이 7종 21균주가 분리되어 가장 많았고, 다른 지역에서와는 달리 *Cryptococcus* 속군이 7종, 12균주가 분리되었다.

울릉도와 옥지도의 야생화로부터 분리된 효모의 종 분포 특성

동쪽과 남쪽으로 매우 다른 위치에 있는 두 섬들의 야생화들로부터 분리된 효모들의 분포양상은 Fig. 1과 같이 두 섬에서 공통으로 분리된 균들은 *Cryptococcus albidus* 외 6종이었고 이들 중 *Rhodotorula* 속군이 3종류로 가장 많았다. 또한 울릉도 야생화에서만 분리된 효모는 *Candida intermedia* 등 15종으로 *Pichia* 속군이 3종, *Candida* 속군과 *Metschnikowia* 속군이 각각 2종씩 분포하고 있었다. 옥지도 야생화에서만 분리된 효모는 *Candida albicans* 등 18종이었고 *Cryptococcus* 속군이 5종으로 가장 많았고 *Candida* 속군과 *Rhodotorula* 속군이 각각 4종류씩 분포하고 있었다.

비록 자연 환경의 효모 종 다양특성에는 많은 요인들이 관여하겠지만 채집 장소가 다른 두 섬의 야생화 채집 시 온

도(27°C 내외)와 채집시기(울릉도: 6월 26~27일, 옥지도: 5월 17~18일) 및 연평균 강수량(1485 mm와 1398 mm)과 습도, 바람 등의 환경요인의 차이 등도 일부 두 섬지역의 효모의 종 다양 특성에 영향을 주고 있는 것으로 추정되었다. 특히 옥지도에서 *Candida albicans*와 *Cryptococcus* 속군들이 많이 분리된 있는 점은 이들 기후 환경 요인 외에 거주민과 관광객 등의 생활환경 등 다양한 원인이 있을 것으로 사료된다.

또한, 위와 같이 두 섬의 야산등지에서는 주로 *Candida* 속군과 *Cryptococcus* 속군이 많이 분리된 것에 비하여 대전 계곡산 야생화들에서는 주로 *Rhodotorula* 속군이 많이 분포하였고 [8], 충남 홍성의 오서산과 전북 정읍의 백암산 야생화들에는 *Cryptococcus flavescens*균과 *Sporobolomyces ruberrimus*균 [8], 제주도 송악산과 성산일출봉 야생화들에서는 *Pseudozyma aphidis*와 *Sporobolomyces ruberrimus* 등이 많이 분리 [11]되었다는 필자 등의 보고와 같이 자연계에 존재하는 효모의 분포양상은 지역의 환경 요인에 의해서 절대적으로 좌우되는 것으로 사료되었다.

적 요

경상북도 울릉도와 경상남도 옥지도의 야생화들에 분포하고 있는 효모 종 다양특성을 알아보고자 이들로부터 효모를 분리하고 분자생물학적인 26S rDNA의 D1/D2 영역 염기서열을 확인, 비교하여 동정하였다. 울릉도 야생화들에서는 22종 48균주, 옥지도에서 야생화들로부터는 25종 60균주 효모들을 분리, 동정하였다. 두 섬에서 분리한 효모들 중 *Cryptococcus albidus*, *Cryptococcus laurentii*, *Metschnikowia reukafii*, *Pichia scolytii*, *Rhodotorula glutinis*, *Rhodotorula graminis* and *Rhodotorula mucilaginosa* 등 7종이 공통으로 분리되었고 나머지 33종이 두 섬에서 특이적으로 분리되었다.

감사의 글

본 논문은 환경부 재원으로 국립생물자원관의 지원을 받아 수행된 연구(NIBR No 2013-02-001) 결과의 일부로 연구비 지원에 감사드립니다.

REFERENCES

1. Lee JS, Choi YJ, Kwon SJ, Yoo JY, Chung DH. Screening and characterization of osmotolerant and gas-producing yeasts from traditional Doenjang and Kochujang. Food Biotechnol 1996;5:54-58.
2. Lee JS, Yi SH, Kim JH, Yoo JY. Isolation of wild killer yeast from traditional meju and production of killer toxin. Kor J Biotechnol Bioeng 1999;14:434-439.
3. Kim JH, Kim NM, Lee JS. Physiological characteristics and ethanol fermentation of thermotolerant yeast *Saccharomyces cerevisiae* OE-16 from traditional meju. Kor J Food & Nutr 1999;12:490-495.
4. Jang IT, Kim YH, Yi SH, Lim SI, Lee JS. Screening of a new fibrinolytic substances-producing yeast. Kor J Mycol 2011;39: 227-228.
5. Min JH, Kim YH, Kim JH, Choi SY, Lee JS, Kim HK. Comparison of microbial diversity of Korean commercial Makgeolli showing high β -glucan content and high antihypertensive activity, respectively. Mycobiol 2012;40:138-141.
6. Min JH, Hyun SH, Kang MG, Lee HB, Kim CM, Kim HK, Lee JS. Isolation and identification of yeasts from wild flowers of Daejeon city and Chungcheongnam-do in Korea. Kor J Mycol 2012;40:141-144.
7. Kang MG, Hyun SH, Ryu JJ, Min JH, Kim HK, Lee JS. Note on newly isolated yeasts from wild flowers in Daejeon city, Korea. Kor J Mycol 2012;40:174-176.
8. Min JH, Ryu JJ, Kim HK, Lee JS. Isolation and identification of yeasts from wild flowers in Gyejoksan, Oseosan and Beakamsan of Korea. Kor J Mycol 2013;41:47-51.
9. Hyun SH, Lee HB, Kim CM, Lee JS. New records of yeasts from wild flowers in coast near areas and inland areas, Korea. Kor J Mycol 2013;41:74-80.
10. Min JH, Lee HB, Lee JS, Kim HK. Identification of yeasts isolated from wild flowers collected in coast areas of Korea based on the 26S rDNA sequences. Kor J Mycol 2013;41: 185-191.
11. Hyun SH, Mun HY, Lee HB, Kim HK, Lee JS. Isolation of yeasts from wild flowers in Gyeonggi-do and Jeju island of Korea and production of anti-gout xanthine oxidase inhibitor. J Microbiol Biotechnol 2013;41:383-390.