

RESEARCH ARTICLE

금강 중류 공주시 주변 물과 토양으로부터 야생효모의 분리 및 국내 미기록 효모 특성

한상민¹, 김지윤¹, 이향범², 김하근¹, 이종수^{1*}¹배재대학교 바이오-의생명공학과, ²전남대학교 농식품생명화학부

Isolation and Characterization of Wild Yeasts from Water and Riverside Soils of Geumgang Midstream in Gongju City, Korea

Sang-Min Han¹, Ji-Yoon Kim¹, Hyang Burm Lee², Ha-Kun Kim¹, Jong-Soo Lee^{1*}¹Department of Biomedical Science and Biotechnology, Paichai University, Daejeon 35345, Korea²Division of Food Technology, Biotechnology and Agrochemistry, College of Agriculture and Life Science, Chonnam National University, Gwangju 61186, Korea

*Corresponding author: biotech8@pcu.ac.kr

ABSTRACT

The goal of this study was to elucidate wild yeast diversity of the midstream region of the Geumgang river, Gongju, Chungnam province, Korea. Fifty strains of 24 species of wild yeasts were isolated from 45 water and soil samples among which *Cryptococcus* spp. (11 strains), *Cryptococcus magnus* (7 strains), *Rhodotorula* spp. (9 strains), and *Hanseniaspora* spp. (6 strains) were dominant. Four species, *Candida chaudiodes* WJSF 0201, *Candida oleophila* WJSF 0202, *Candida catemulata* WJSF 0203, and *Candida jaroonii* WJSF 0204, represented newly recorded yeasts in Korea. All of these unrecorded yeasts were oval in shape, formed ascospores and pseudomycelium, and grew in vitamin-free medium. *Candida oleophila* WJSF 0202 was thermophilic which can grow at 37°C.

Keywords: Geumgang river, Riverside soil, Unrecorded wild yeast, Water

OPEN ACCESS

Kor. J. Mycol. 2018 June, 46(2): 98-104
<https://doi.org/10.4489/KJM.20180013>

pISSN : 0253-651X
eISSN : 2383-5249

Received: April 10, 2018

Accepted: May 8, 2018

© 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.

서론

산업적으로나 학술적으로 매우 유용한 효모는 진핵세포를 가진 고등미생물로 이미 오래전부터 전통 발효식품 등에서 분리되어 이들의 제조에 이용되어왔다[1].

최근 자연환경에 분포하고 있는 효모들의 종 다양성을 확인하고 이들로부터 산업적으로 유용한 야생효모들을 선별하여 활용하고자 필자 등은 우리나라 산과 들, 섬 등 여러 지역들의 다양한 야생화들과 토양들로부터 *Candida*속 균을 우점균으로 한 약 1,800 여종의 야생효모들을 분리, 동정하였다[2-12]. 이들 중 국내에 보고되지 않은 미기록 효모들의 균학적 특성을

조사하여 보고하였다[8, 10-12].

또한, 최근 필자 등은 하천이나 연못, 강이나 물이나 주변 토양과 각종 부식물 등에서 수생 균류들과 같이 다양한 유기물들의 분해에 관여하고 있을 것으로 추정되는 야생효모들의 분포 특성을 확인하고 이들을 산업적으로 응용하기 위한 자료를 얻고자 장성 호수 주변의 꽃과 토양[8], 낙동강과 영산강 담수와 주변 토양으로부터 야생효모들을 분리하여 보고하였다[13]. 또한, 대전광역시내를 흐르는 대전천과 갑천의 담수와 토양으로부터 야생효모들을 분리하여 보고하였고 이들로부터 선별된 국내 미기록 효모들의 특성을 보고하였다[14, 15].

본 연구에서는 우리나라 3대 강의 하나인 금강의 물과 주변 토양들의 야생효모들의 종 다양성을 확인하고자 먼저 금강 중류지역인 공주시를 흐르는 금강의 물과 주변 토양들로부터 야생효모들을 분리, 동정하였고 이들 중 국내 미기록 효모들을 선별하여 이들의 균학적 특성을 조사하였다.

재료 및 방법

야생효모의 분리 및 동정

공주시 청벽대교 밑(N36.434765, E127.211221)의 금강 물과 주변 토양들을 2017년 10월에 45점을 무균적으로 채취하여 멸균 튜브에 넣고, 5 mL의 멸균수를 첨가한 후 2시간 동안 진탕하였다. 이들 현탁액 일부를 스트렙토마이신(100 µg/mL)과 앰피실린(100 µg/mL)이 들어 있는 yeast extract-peptone-dextrose (YPD) 한천배지에 도말하고 30°C에서 48시간 배양한 후 형성된 효모 집락들을 분리하였다[5].

분리효모들의 동정을 위하여 먼저 이들의 26S rDNA의 D1/D2 부위의 염기서열들을 결정한 후 결정된 염기서열들을 NCBI의 BLAST를 사용하여 데이터베이스에 등록되어 있는 효모들과의 상동성을 비교하여 분자생물학적 유연관계를 분석하여 동정하였다[5, 7].

국내 미기록 효모의 선별 및 균학적 특성

위와 같이 분리한 야생효모들을 국립생물자원관 DB와 한국 진균 관련 학술자료들을 이용하여 국내 미기록 효모들을 선별한 후 일반 미생물 실험방법 등을 이용하여 이들의 몇 가지 균학적 특성 등을 조사하였다[7, 9].

결과 및 고찰

금강 중류 공주시 주변의 물과 토양으로부터 야생효모의 분리 및 동정

금강은 전라북도 장수군 장수읍 신무산에서 발원하여 충청남도와 충청북도를 경유하여 강경과 군산만을 거쳐 서해로 흘러 들어가는, 약 394 km의 거대한 강이다. 이들 지역의 연 평균 온도는 11~12°C이고 연 평균 강수량은 1,100~1,300 mm로 온도와 강수량이 다양한 생물들의 생육에 비교적 적합한 환경이다.

이들 금강 중류지역인 공주시 청벽대교 밑을 흐르는 금강의 물과 주변 토양 45점에서 야생효모들을 분리, 동정한 결과 Table 1과 같이 모두 총 51균주의 야생효모들을 분리, 동정하였다.

이들 중 *Cryptococcus magnus* 7주를 포함하는 *Cryptococcus*속 균이 11주로 가장 많았고 *Rhodotorula*속 균이 9주, *Hanseniaspora*속 균이 6주가 분리되어 이들이 우점균들이 있고 야생화들이나 영산강이나 대전천 등의 주변 토양이나 물 등에서 공통적으로 분리된 *Candida*속 균, *Pichia*속 균, *Pseudozyma*속 균들이 다양하게 분리되었다.

Table 1. Yeast isolated from water and riverside soils of Geumgang midstream in Gongju city, Korea

Putative species	Isolated no.	Related Genebank sequence	Identity (%)
<i>Bullera coprosmaensis</i>	WJSF0191	FN428908.1	640/640 (100%)
<i>Candida catenulata</i>	WJSF0203	EU585763.1	508/509 (99%)
<i>Candida chauliodis</i>	WJSF0201	NG042500.1	572/573 (99%)
<i>Candida jaroonii</i>	WJSF0204	KY106531.1	543/544 (99%)
<i>Candida oleophila</i>	WJSF0163	EU326130.1	603/607 (99%)
	WJSF0202	AB278598.1	608/617 (99%)
<i>Cryptococcus adeliensis</i>	WJSF0183	JN400746.1	596/601 (99%)
<i>Cryptococcus flaveszens</i>	WJSF0164	FJ743610.1	573/575 (99%)
	WJSF0165	FJ743610.1	622/630 (99%)
	WJSF0166	FJ743610.1	622/630 (99%)
<i>Cryptococcus magnus</i>	WJSF0179	AY242120.1	620/626 (99%)
	WJSF0184	AY242120.1	639/639 (100%)
	WJSF0188	JX188126.1	613/614 (99%)
	WJSF0197	JX188126.1	613/614 (99%)
	WJSF0198	JX188126.1	596/601 (99%)
	WJSF0199	JX188126.1	588/593 (99%)
<i>Hanseniaspora opuntiae</i>	WJSF0200	JX188126.1	638/639 (99%)
	WJSF0159	KC111446.1	573/573 (100%)
	WJSF0161	KC111446.1	573/573 (100%)
<i>Hanseniaspora uvarum</i>	WJSF0196	KC111446.1	610/610 (100%)
	WJSF0155	AM160628.1	643/643 (100%)
	WJSF0175	AM160628.1	640/640 (100%)
<i>Kwoniella europaea</i>	WJSF0176	AM160628.1	635/642 (99%)
	WJSF0172	HE996972.1	636/636 (100%)
	WJSF0174	KC119207.1	601/602 (99%)
<i>Meyerozyma guilliermondii</i>	WJSF0180	KC119207.1	534/540 (99%)
	WJSF0173	EU069497.1	528/535 (99%)
<i>Microstroma juglandis</i>	WJSF0182	EU069497.1	616/616 (100%)
	WJSF0171	FN428901.1	613/626 (98%)
<i>Occultifur externus</i>	WJSF0154	AJ746339.1	613/613 (100%)
<i>Pichia kluyveri</i>	WJSF0156	AJ746339.1	600/613 (98%)
	WJSF0160	AJ746339.1	612/613 (99%)
	WJSF0162	KC111446.1	612/614 (99%)

Table 1. (Continued)

Putative species	Isolated no.	Related Genebank sequence	Identity (%)
<i>Pseudozyma aphidis</i>	WJSF0185	JN940520.1	612/614 (99%)
	WJSF0186	JN940520.1	634/642 (99%)
	WJSF0187	JN940520.1	510/512 (99%)
<i>Pseudozyma rugulosa</i>	WJSF0157	JN940523.1	510/511 (99%)
	WJSF0190	JN940523.1	612/613 (99%)
	WJSF0194	JN940523.1	607/607 (100%)
	WJSF0195	JN940523.1	564/564 (100%)
<i>Rhodotorula graminis</i>	WJSF0193	JN940523.1	577/582 (99%)
	WJSF0189	EU563930.1	592/595 (99%)
	WJSF0192	EU563930.1	591/594 (99%)
<i>Rhodotorula hennula</i>	WJSF0181	AB038130.1	478/485 (99%)
<i>Rhodotorula minuta</i>	WJSF0158	AB026000.2	523/534 (98%)
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	WJSF0178	AF335987.1	614/614 (100%)
<i>Rhodotorula pinicola</i>	WJSF0167	DQ377682.1	599/599 (100%)
	WJSF0168	DQ377682.1	598/599 (99%)
	WJSF0169	DQ377682.1	641/641 (100%)
<i>Rhodotorula</i> sp.	WJSF0170	JQ768925.1	641/641 (100%)
<i>Torulaspora delbrueckii</i>	WJSF0177	HE660065.1	641/641 (100%)

이상의 결과들을 종합하였을 때 공주시에서 세종시와 대전광역시 방향인 청백대교 밑에서 채취한 물과 주변 토양 90점에서 23종 37균주의 야생효모들이 분리되었다.

지금까지 금강 중류를 비롯한 전 금강유역에서의 미생물 특히 효모 종 다양성에 대한 연구는 본 연구가 처음 시도된 것으로 앞으로 순차적으로 금강 상류와 하류들의 효모 종 발굴 연구를 지속적으로 실시한 후 총체적인 금강 야생효모들의 종 다양성을 확립할 계획이다.

본 연구의 금강 중류 공주 부근의 효모 종 다양성 연구 결과들은 앞으로 한강이나 낙동강 등 국내 주요 강들의 효모 종 다양성 확립과 유용자원 개발 등에 귀중한 자료로 활용될 수 있을 것으로 생각된다.

국내 미기록 야생효모의 선별 및 특성

위와 같이 금강 중류 공주시 청백대교 밑에서 채취한 물과 주변 토양에서 분리한 야생효모들 중 *Candida chauliodes* WJSF 0201, *Candida oleophila* WJSF 0202, *Candida catenulata* WJSF 0203와 *Candida jaroonii* WJSF 0204 등 4균주들을 국내 미기록 효모 균주들로 최종 선별하였다.

이들 국내 미기록 효모 균주들의 계통수는 Fig. 1과 같고 이들의 몇 가지 균학적 특성을 조사한 결과는 Table 2와 같다.

이들 세포의 형태는 구형으로 출아에 의해 영양증식을 하였고 모두 자낭포자와 의균사를 형성하였다. 또한, 4균주 모두 비타민을 첨가하지 않은 YPD 배지에서도 생육하였고 5% NaCl를 함유한 YPD 배지에서 생육하는 내염성을 보였다. 특히 *Candida oleophila* WJSF

0202는 37°C에서도 생육하는 고온성 효모로 앞으로 내열성 효소 생산과 고온 발효공정에서 유용할 것으로 생각되어 추가 실험이 진행 중이다.

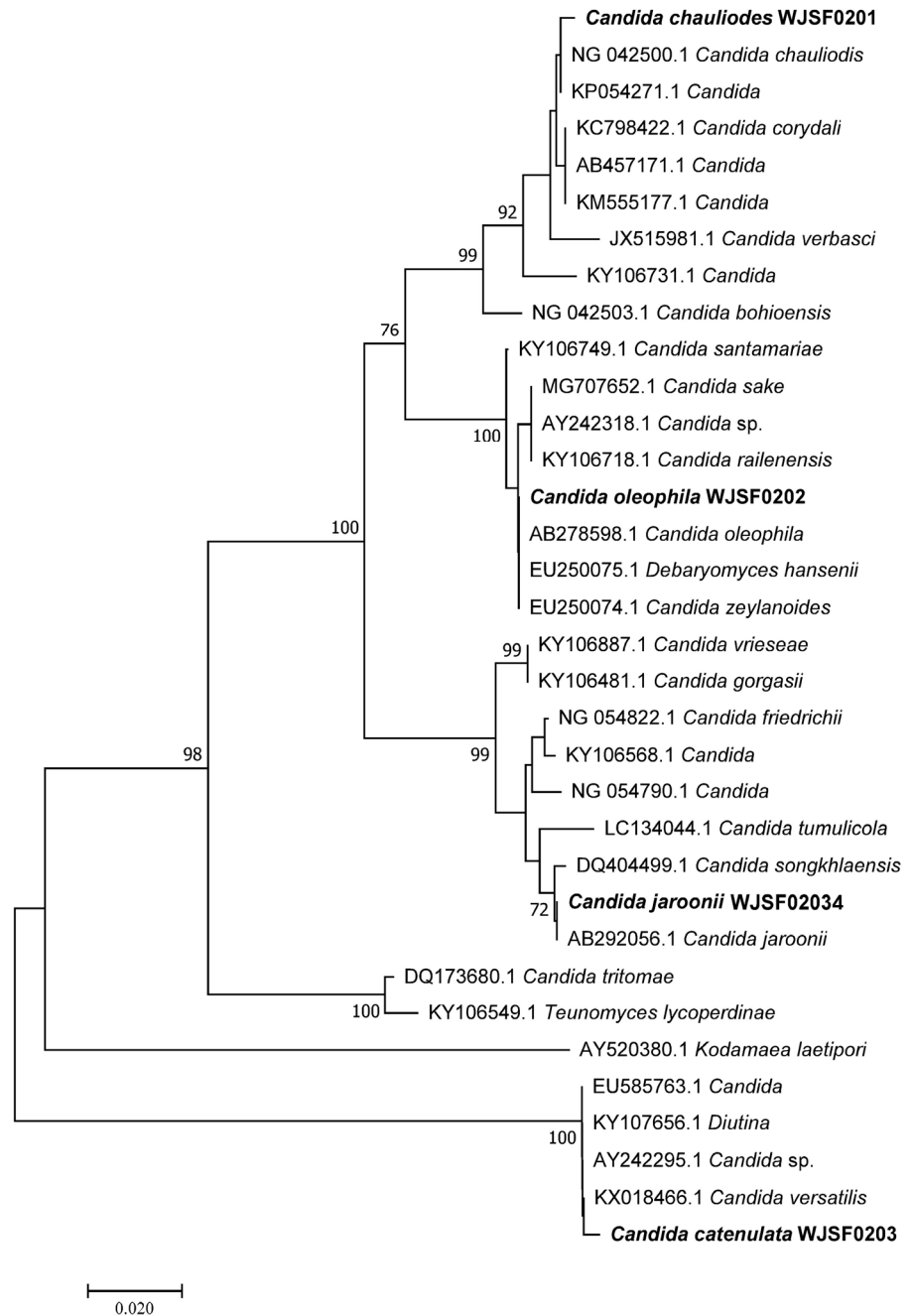


Fig. 1. Phylogenetic tree of the unrecorded yeasts isolated from water and riverside soils of Geumgang midstream in Gongju city, Korea, based on the nucleotide sequences of large subunit 26S ribosomal DNA D1/D2 region. The tree was generated by the neighbor-joining method, using MEGA7.

Table 2. Characteristics of the unrecorded yeasts from water and riverside soils of Geumgang midstream in Gongju city, Korea

	<i>Candida chauliodes</i> WJSF0201	<i>Candida oleophila</i> WJSF0202	<i>Candida catenulata</i> WJSF0203	<i>Candida jaroonii</i> WJSF0204
Morphological characteristics				
Shape	O	O	O	O
Vegetative reproduction	B	B	B	B
Size (μm)	0.8 × 1.2	0.9 × 1.5	0.8 × 1.2	1.0 × 1.5
Ascospore	+	+	+	+
Pseudomycelium	+	+	+	+
Cultural characteristics				
Growth on YPD /YM/PD media	+++ / + / +++ ²	+++ / + / +	++ / - / ++	++ / + / +
Color on YPD medium	C	C	C	C
Growth on vitamin-free medium	+	+	+	+
Growth on 50% glucose-YPD medium	—	—	—	—
Growth on 5%/10%/NaCl-YPD medium	+ / —	+ / —	+ / —	+ / —
Growth on temp/pH range	20~30°C/pH 4~7	25~37°C/pH 4~7	25~30°C/pH 6~7	20~30°C/pH 6~8

O, oval; B, budding; +++, very good growth; ++ or +, good growth; —, no growth; C, cream color; YM, yeast extract-malt extract medium; YPD, yeast extract-peptone-dextrose medium; PD, potato-dextrose medium.

적 요

우리나라 3대 강의 하나인 금강의 물과 주변 토양들의 야생효모들의 분포 특성을 알아보기 위해 먼저 금강 중류지역인 공주시 청백대교 밑을 흐르는 금강의 물과 주변 토양들을 2017년 10월에 45점을 채취하여 야생효모들을 분리, 동정하였고 이들 중 국내 미기록 효모들을 선별하여 이들의 균학적 특성을 조사하였다. 이들 금강 중류 시료들로부터 24종 51균주가 분리되었고 이들 중 가장 많이 분리된 야생효모는 *Cryptococcus magnus* 7주를 포함한 *Cryptococcus* 속 균으로 11주가 분리되었고 *Rhodotorula* 속 균과 *Hanseniaspora* 속 균들이 우점균으로 많이 분리되었다. *Candida chauliodes* WJSF 0201, *Candida oleophila* WJSF 0202, *Candida catenulata* WJSF 0203, *Candida jaroonii* WJSF 0204 등 4균주들이 국내 미기록 효모 균주들로 선별되었고 이들 야생효모들은 구형으로 출아법으로 영양증식하였다. 모든 미기록 효모 균주들이 비타민을 함유하지 않은 yeast extract-peptone-dextrose (YPD) 배지에서도 잘 생육하였고 5% NaCl를 함유한 YPD 배지에서 생육하는 내염성 효모들이었다. 특히, *Candida oleophila* WJSF 0202는 37°C에서도 생육하는 고온성 효모로 내염성 효소 등 산업적으로 매우 유용할 것으로 생각된다.

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 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.
2. 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.
3. 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.
4. 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.
5. Hyun SH, Lee JG, 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.
6. 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.
7. 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.
8. 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*. *Mycobiology* 2015;43:266-71.
9. Han SM, Han JW, Bae SM, Park WJ, Lee JS. Isolation and identification of wild yeasts from soils of fields in Daejeon metropolitan city and Chungcheongnam-do, Korea. *Kor J Mycol* 2016;44:1-7.
10. 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.
11. 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.
12. 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.
13. 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.
14. Han SM, Lee SY, Kim HK, Lee JS. Isolation and diversity of wild yeasts from the waters and bank soils of Daejeoncheon, Gapcheon, and Yudeungcheon in Daejeon metropolitan city, Korea. *Kor J Mycol* 2017;45:259-69.
15. Han SM, Lee SY, Kim HK, Lee JS. Characterization of the unrecorded wild yeasts from the water and riverside soils of Daejeoncheon and Gapcheon in Daejeon metropolitan city, Korea. *Kor J Mycol* 2017;45:153-9.