

RESEARCH ARTICLE

동해안 하조대와 경포대 해수욕장 주변 토양으로부터 분리한 국내 미기록 야생효모들의 균학적 특성과 생리활성

김하근¹, 김지윤¹, 한상민¹, 김창무², 이종수^{1,*}¹배재대학교 바이오·의생명공학과²국립생물자원관 미생물자원과

Microbiological Characteristics and Physiological Functionalities of Unrecorded Wild Yeast Strains in the Soils of Hajodae and Gyungpodae Beaches in Korea

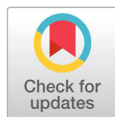
Ha-Kun Kim¹, Ji-Yoon Kim¹, Sang-Min Han¹, Changmu Kim², Jong-Soo Lee^{1,*}¹Department of Biomedical Science and Biotechnology, Paichai University, Daejeon 35345, Korea²Microorganism Resources Division, National Institute of Biological Resources, Incheon 22689, Korea

*Corresponding author: biotech8@pcu.ac.kr

ABSTRACT

The goal of this study was to isolate and characterize the wild yeast strains in the soils of Hajodae and Gyungpodae Beaches, Gyungpo Lake in Kangwon-do, Korea and evaluate their anti-demential and tyrosinase inhibitory activities. Among the 27 yeast strains isolated from 30 soil samples from Hajodae Beach, *Cyberlindnera culbertsonii* HJ31-1, *Dothichiza pithyophila* HJ22-4, *Metschnikowia bicuspidata* HJ16-1, and *Sakaguchia cladiensis* HJ14-1 were recorded for the first time in Korea. Additionally, six of the 55 wild yeast strains isolated from 45 soil samples from Gyungpodae Beach and Gyungpo Lake had not previously been detected in Korea, such as *Aureobasidium melanogenum* JR3-1. The microbiological characteristics and anti-demential and tyrosinase inhibitory activities of these previously unrecorded yeasts were investigated. Almost all of them were oval-shaped and had ascospores except for *Dothichiza pithyophila* HJ22-4, *Diutina siamensis* JR37-5, and *Canadida gelsemii* DC 35-1. Furthermore, they were all sugar-tolerant and able to grow in 20% glucose-containing YPD broth, except for *Cyberlindnera culbertsonii* HJ31-1. *Diutina siamensis* JR37-5 had the highest tyrosinase inhibitory activity (30.9%).

Keywords: Hajodae and Gyungpodae beaches, Physiological functionality, Soil, Unrecorded wild yeasts



OPEN ACCESS

pISSN : 0253-651X
eISSN : 2383-5249Kor. J. Mycol. 2019 September, 47(3): 000-00
<https://doi.org/10.4489/KJM.20190000>**Received:** May 31, 2019**Revised:** September 11, 2019**Accepted:** September 19, 2019

© 2019 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

효모는 오래전부터 전통발효식품 제조에 이용되어 왔고[1] 근래에는 여러가지 생리활성 물질 생산 균주[2]와 분자생물학 연구에서 숙주 균주로도 폭넓게 이용되고 있다. 이와 같이 근래에 산업적 응용성이 커지고 있는 효모를 다양하게 발굴하여 확보하고자, 최근 필자 등은 한라산, 덕유산 등의 우리나라 주요 산들과 제주도, 울릉도 등의 섬 및 도시와 농촌 등지의 야생효모들과 토양 및 각종 부식물 등으로부터 약 1,800여종의 야생효모들을 분리하여 동정하여 보고하였다[3-18].

또한, 이들 중 비병원성 효모들의 경우 건강소재 개발을 위한 생리활성 우수 효모들을 선별하여 보고하였고[4,8,9,18,19], 아직까지 국내에서 보고되지 않은 미기록 야생효모들은 선별한 후 이들의 미생물학적 특징들을 보고하였다[10,12,14,15,17].

지금까지의 연구를 통하여, 자연계에 분포하고 있는 야생효모들은 지역간의 기후 특성에 따른 야생화와 토양, 부식물 등의 분리원에 따라 독특한 효모 종 다양성이 있었고, 같은 분리원이라도 공원이나 주택지와 공단지역, 산림지, 논, 밭 등 분리원의 채취 장소에 따라 야생효모들이 다양하게 분포하고 있었다. 또한 같은 지역이라도 재배 식물에 따라 토양에 분포하는 야생효모 종 특성이 달라서 인삼 재배지 토양에서는 *Rhodotomular glutinis*가 가장 많이 분리되었고 당귀밭에서는 *Cyberlindnera saturnus* 야생효모가 주로 분리, 동정되었다[18].

본 연구는 우리나라 동해안 해수욕장 주변 토양들의 야생효모 종 다양성을 확립하고 이들 중 아직까지 국내에 보고되지 않은 미기록 야생효모들을 선별하여 이들의 균학적 특성을 밝히고 나아가 건강소재를 생산하는 산업적 우수효모들을 선별할 목적으로 실시되었다.

이를 위해 해마다 많은 사람들이 이용하는 하조대와 경포대 해수욕장과 경포호수 주변 토양들로부터 야생효모들을 분리하여 동정하였고 이들 야생효모들 중 국내에 보고되지 않은 미기록 야생효모들을 선별하여 이들의 균학적 특성을 조사하였다. 또한 이들의 무세포추출물들을 제조한 후, 항치매성 acetylcholine esterase 저해활성, butyrylcholine esterase 저해활성 및 미백성 tyrosinase 저해활성 등을 측정하였다.

재료 및 방법

야생효모의 분리 및 동정

강원도 동해안의 하조대 해수욕장(38°01'25.8"N, 128°43'27.2"E) 주변 토양 30점과 경포대 해수욕장(37°48'21.8"N, 128°54'29.9"E)과 경포 호수(37°47'55.1"N, 128°54'37.5"E) 주변 토양 45점들을 2018년 7월에 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 YPD(yeast extract-peptone-dextrose) 한천배지에 도말하고 30°C 에서 48시간 배양한 후 형성된 효모 집락들을 분리하였다[13].

분리효모들의 동정을 위하여 먼저 이들의 26S rDNA의 D1/D2 부위의 염기서열들을 결정한 후, 이들 염기서열들을 미국 국립생물정보센터(NCBI, <http://ncbi.nlm.nih.gov>)의 BLAST를 사용하여 데이터베이스에 등록되어 있는 효모들과의 상동성을 비교하여 분자생물학적 유연관계를 분석하여 동정하였다[11-13].

국내 미기록 효모들의 선별 및 균학적 특성

위와 같이 하조대와 경포대 해수욕장 주변 토양 시료들에서 분리, 동정한 126종의 야생효모들을 대상으로 국립 생물자원관(NIBR, the National Institute of Biological Resources) DB와 한국 진균관련 학술자료들을 이용하여 국내 미기록 효모들을 선별한 후 일반 미생물 실험방법 등을 이용하여 이들의 몇 가지 균학적 특성 등을 조사하였다[10,12].

국내 미기록 야생효모들의 acetylcholinesterase, butyrylcholinesterase 저해활성과 tyrosinase 저해활성 측정

위와 같이 선별된 국내 미기록 야생효모들을 YPD배지에 접종하여 30°C에서 24시간 배양한 후 8,000 rpm으로 20분간 원심 분리하여 세포배양물을 얻었다.

세포 배양물은 다시 0.1 M Tris-HCl 완충용액(pH 8.3)에 현탁시킨 후 초음파 균체파쇄기(Vibra cell; SONICS & Materials, Newtown, USA)로 파쇄하고 12,000 rpm으로 20분간 원심 분리하여 무세포추출물을 얻었다. 무세포추출물들을 동결건조시킨 후 이들을 0.1 M Sodium phosphate 완충용액(pH 7.3)에 10 mg/mL로 용해시켜 생리활성 측정용 시료로 사용하였다[9].

먼저 항치매성 Acetylcholinesterase (AChE) 저해활성은 각 well plate에 0.1 M sodium 인산완충용액 (pH 7.3) 110 μ L, acetylcholinesterase (0.8 unit/ml) 30 μ L, 기질 (2 mM acetylthiocholine chloride) 30 μ L, 2 mM DTNB 20 μ L, assay buffer에 1 mg/mL로 용해시킨 sample 10 μ L들을 혼합하여 37°C에서 6 분 동안 반응시킨 후 A VERSAmax microplate reader (Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA)로 415 nm에서 흡광도를 측정한 후 아래와 같이 AChE저해활성을 계산하였다[8, 19].

Acetylcholinesterase/Butyrylcholinesterase 저해활성(%) =

$$1 - \frac{S_{6min} - C_{0min}}{C_{6min} - C_{0min}} \times 100$$

(C; 대조구의 흡광도 S; 시료구의 흡광도)

Butyrylcholinesterase (BChE) 저해활성은 무세포추출물 50 μ L에 0.1M 인산완충(pH 7.3) 70 μ L, BChE (0.8unit/ml) 30 μ L, DTNB (2mM) 20 μ L 들을 혼합한 후 2mM acetylcholine chloride 30 μ L을 첨가하여 37°C에서 15분간 반응시킨 다음, 415nm에서 흡광도를 측정하여 위와 같은 AChE저해활성 측정식으로 BChE저해활성을 계산하였다.

미백성 Tyrosinase 저해활성은 무세포추출물 시료 25 μ L에 0.1 M potassium phosphate 완충용액(pH 6.8) 150 μ L, 1.5 mM L-tyrosinase 50 μ L 혼합 후 37°C에서 ELISA reader를 이용하여 5분간 incubation한 후 tyrosinase 40 U을 첨가하여 37°C에서 10분간 반응시켜 470 nm에서 흡광도를 측정한 후 아래와 같은 식으로 tyrosinase 저해활성을 계산하였다[18, 20].

$$\text{Tyrosinase 저해활성(\%)} = \{[C - (T - B)] / C\} \times 100$$

(C, 대조구의 흡광도 T, 시료구의 흡광도 B, 시료구 blank의 흡광도)

결과 및 고찰

하조대와 경포대 해수욕장, 경포호수 주변 토양들로부터 야생효모의 분리 및 동정

강원도 동해안 북부 속초 부근에 위치한 하조대 해수욕장 주변 토양 30점에서 야생효모들을 분리, 동정한 결과, Table 1과 같이 모두 18속, 22종, 27균주의 다양한 야생효모들을 분리, 동정하였다. 이들 중 *Metschnikowia* 속 균과 *Candida* 속 균 등이 많이 분리, 동정되었고 5탄당 자화균주로 알려진 *Trichosporon moniliiforme* 균주도 3균주 분리되었다. 또한, 강릉에 위치한 경포대 해수욕장과 경포호수 주변 토양 45점에서는 *Aureobasidium melanogenum* JR 3-13을 포함하는 39종 55균주의 야생 효모들이 분리, 동정되었다(Table 2). 이와 같이 하조대와 경포대 해수욕장 주변 토양(75점)에서 각각 27균주와 56균주의 야생효모들이 분리된 것은, 민 등(5)이 동해안의 동해시와 서해안의 대천 해수욕장, 남해안의 완도 대문리 등지의 야생화 시료들에서 각각 27균주, 34균주, 22균주의

Table 1. Wild yeasts from soils of Hajodae beaches in Gangwon-do, Korea

No.	Putative species	Isolated No.	Related Genebank No.	Identity(%)	Accession No.
1	<i>Aureobasidium pullulans</i>	HJ22-2	JX067761.1	604/615(98)	
2	<i>Candida railenensis</i>	HJ33-2	KY106718.1	609/617(99)	
3	<i>Candida subhashii</i>	HJ2-2	EU836708.1	606/616(98)	
4	<i>Cryptococcus adeliensis</i>	HJ12-2	JN400752.1	628/641(98)	
5	<i>Cryptococcus laurentii</i>	HJ3-2	KU316735.1	628/639(98)	
		HJ12-1	AJ876597.1	630/646(98)	
6	<i>Cyberlindnera culbertsonii</i>	HJ31-1	NG_058894.1	535/536(99)	MN339674
7	<i>Dothichiza pithyophila</i>	HJ22-4	FJ150969.1	535/553(97)	MN339673
8	<i>Metschnikowia bicuspidata</i>	HJ16-1	EU285506.1	548/560(98)	MN339681
9	<i>Metschnikowia koreensis</i>	HJ26-2	KU316743.1	580/593(97)	
10	<i>Metschnikowia viticola</i>	HJ23-1	NG_058346.1	551/563(98)	
11	<i>Meyerozyma guilliermondii</i>	HJ17-1	MG015938.1	607/616(99)	
12	<i>Moesziomyces antarcticus</i>	HJ1-2	MH185804.1	638/649(98)	
13	<i>Papiliotrema flavescens</i>	HJ24-1	MF045447.1	629/640(98)	
14	<i>Rhodotorula glutinis</i>	HJ25-1	MF045460.1	607/618(98)	
15	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	HJ29-1	CP029160.1	609/616(99)	
16	<i>Sakaguchia cladiensis</i>	HJ14-1	KY109526.1	563/584(96)	MN339680
		HJ8-1	KY109526.1	568/584(97)	
17	<i>Schwanniomyces vanrijiae</i>	HJ28-2	KY109646.1	607/613(99)	
18	<i>Solicoccozyma aerea</i>	HJ31-2	GQ911490.1	627/644(97)	
19	<i>Torulaspora delbrueckii</i>	HJ28-1	NG_058413.1	607/617(98)	
20	<i>Trichosporon moniliiforme</i>	HJ5-1	KT895976.1	638/651(98)	
		HJ5-2	KU316725.1	628/640(98)	
		HJ27-1	KT895976.1	629/640(98)	
21	<i>Wickerhamomyces anomalus</i>	HJ22-1	KY296073.1	613/617(99)	
		HJ26-1	KY296073.1	613/617(99)	
22	<i>Yamadazyma scolyti</i>	HJ34-1	KY110163.1	567/576(98)	

Table 2. Wild yeasts from soils of Gyungpodae beaches and Gyungpo lake in Gangwon-do, Korea

No.	Putative species	Isolated No.	Related Genebank No.	Identity(%)	Accession No.
1	<i>Aureobasidium melanogenum</i>	JR3-1	MH875142.1	605/616(98)	MN339678
2	<i>Aureobasidium pullulans</i>	GP21-5	JX067761.1	599/614(98)	
		DC18-1	KX958050.1	604/616(98)	
3	<i>Bullera alba</i>	DC1-3	KY106263.1	589/591(99)	MN339672
4	<i>Candida berkhoutiae</i>	GP88-8	EF460636.1	456/456(100)	
		DC19-2	EU289343.1	538/544(99)	
5	<i>Candida boleticola</i>	GP47-1	KY106351.1	538/545(99)	
6	<i>Candida gelsemii</i>	DC35-1	KY106461.1	590/598(98)	
7	<i>Candida pseudolambica</i>	GP73-8	KY106708.1	553/566(98)	
8	<i>Candida tropicalis</i>	GP57-9	MG720231.1	606/613(99)	
		GP99-8	MG720231.1	607/615(99)	
9	<i>Cryptococcus aspenensis</i>	GP82-3	KC469777.1	576/576(100)	MN339676
10	<i>Cryptococcus aureus</i>	DC10-1	KJ439602.1	541/542(99)	
		DC11-2	KT895965.1	626/640(98)	
		GP3-5	KT895965.1	627/640(98)	
11	<i>Cryptococcus flavus</i>	GP42-1	EU177572.1	637/640(99)	
12	<i>Cryptococcus podzolicus</i>	GP87-7	LC134055.1	640/641(99)	
		GP46-1	LC134055.1	638/640(99)	
13	<i>Cystofilobasidium infirmominiatum</i>	GP92-1	KY107456.1	635/639(99)	
14	<i>Diutina siamensis</i>	JR37-5	KT336715.1	486/487(99)	
15	<i>Filobasidium magnum</i>	GP76-6	KY107722.1	634/643(99)	
16	<i>Hannaella oryzae</i>	GP54-3	KY107722.1	638/644(99)	
		DC1-1	KM246122.1	575/586(98)	
		DC16-1	KT895972.1	629/640(98)	MN339679
17	<i>Hannaella sinensis</i>	GP9-3	KM246122.1	633/640(99)	
		GP18-2	FJ743606.1	629/637(99)	
18	<i>Hanseniaspora uvarum</i>	DC10-4	KY107846.1	615/627(98)	
19	<i>Holtermanniella takashimae</i>	GP26-7	FM242574.1	635/642(99)	
		GP60-2	FM242574.1	635/642(99)	
20	<i>Kazachstania servazzii</i>	GP62-5	KY107945.1	609/615(99)	
21	<i>Metschnikowia colchici</i>	JR2-2	JX656745.1	507/523(97)	
22	<i>Meyerozyma guilliermondii</i>	GP11-9	KY107722.1	609/613(99)	
		DC19-1	KU316708.1	605/612(99)	
23	<i>Moesziomyces aphidis</i>	DC2-1	KY992087.1	633/649(98)	
		DC3-2	KY992087.1	633/655(97)	
		DC10-2	KY992087.1	635/648(98)	MN339677
24	<i>Papiliotrema flavescens</i>	DC9-3	MF045447.1	626/640(98)	
25	<i>Pichia sporocuriosa</i>	GP76-5	KY108918.1	595/603(99)	
26	<i>Pseudozyma pruni</i>	JR13-2	NG_058380.1	638/649(98)	
27	<i>Rhodospiridiobolus fluvialis</i>	DC10-5	KU316718.1	605/616(98)	
		GP23-3	KY108963.1	616/618(99)	
28	<i>Rhodospiridium fluviale</i>	DC20-1	KJ507301.1	609/617(99)	
		DC20-2	KJ507301.1	610/618(99)	
29	<i>Rhodotorula glutinis</i>	DC1-4	MF045460.1	611/623(98)	
		GP60-6	KY945223.1	611/617(99)	
30	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	DC4-1	KY109375.1	603/617(98)	MN339675
31	<i>Sarocladium bactrocephalum</i>	DC7-2	KC798431.1	183/190(96)	
32	<i>Sarocladium strictum</i>	DC6-1	MH869709.1	592/602(98)	
33	<i>Sporidiobolus pararoseus</i>	DC20-3	KY109715.1	602/614(98)	
34	<i>Sporobolomyces carnicolor</i>	DC1-2	KY109743.1	562/563(99)	
35	<i>Sporobolomyces phaffii</i>	GP84-5	KU316721.1	610/615(99)	
36	<i>Sporophora toruliformis</i>	JR24-1	MH868634.1	635/650(98)	
37	<i>Trichosporon moniliiforme</i>	GP97-5	KU316725.1	627/638(98)	
38	<i>Wickerhamomyces pijperi</i>	GP99-3	EF550335.1	566/574(99)	
39	<i>Williopsis saturnus</i>	GP34-9	EU543664.1	537/538(99)	

야생효모들 총 54점을 분리, 동정하였던 결과 보고와 같이 해안지역들과 야생화, 토양 등의 시료들간에 독특한 효모 종 다양성을 보이는 것으로 사료된다. 또한 이들 결과들은 전보[3,4,7,9,11-14]

의 내륙지역 야생화와 토양들에서 분리된 야생 효모들보다는 좀 더 다양한 효모 속과 종 분포특성을 보였다.

하조대와 경포대 해수욕장에서 분리, 선별한 국내 미기록 야생효모들의 균학적 특성

하조대와 경포대 해수욕장, 경포호수로부터 분리한 야생효모들중 *Cyberlindnera culbertsonii* HJ31-1 (NIBRFGC000502620, Genebank MN339674), *Dothichiza pithyophila* HJ22-4 (NIBRFGC000502621, Genebank MN339673), *Metschnikowia bicuspidata* HJ16-1 (NIBRFGC000502622, Genebank MN339681), *Sakaguchia cladiensis* HJ14-1 (NIBRFGC000502623, Genebank MN339680), *Aureobasidium melanogenum* JR3-1 (NIBRFGC000502624, Genebank MN339678), *Diutina siamensis* JR37-5 (NIBRFGC000502625, Genebank MN339676), *Metschnikowia colchici* JR2-2 (NIBRFGC000502626, Genebank MN339679), *Pseudozyma pruni* JR13-2 (NIBRFGC000502627, Genebank MN339677), *Sporophora toruliformis* JR24-1 (NIBRFGC000502628, Genebank MN339675) 와 *Candida gelsemii* DC35-1 (NIBRFGC000502629, Genebank MN339672) 등 모두 10균주들이 국내 미기록 효모들로 최종 선별되었다. 이들의 균학적 특성과 계통수는 Table 3, Fig. 1, Fig. 2와 같다.

이들 미기록 효모들의 형태적, 배양적 특징으로 먼저 *Metschnikowia bicuspidata* HJ16-1외에는 모두 구형으로 출아에 의해 영양증식을 하였고 *Cyberlindnera culbertsonii* HJ31-1, *Metschnikowia bicuspidata* HJ16-1, *Sakaguchia cladiensis* HJ14-1, *Aureobasidium melanogenum* JR3-1, *Metschnikowia colchici* JR2-2, *Pseudozyma pruni* JR13-2과 *Sporophora toruliformis* JR24-1들은 자낭포자를 형성하였다.

또한, *Aureobasidium melanogenum* JR3-1, *Metschnikowia colchici* JR2-2, *Pseudozyma pruni* JR13-2

Table 3. Microbiological characteristics of unrecorded wild yeasts from Hajodae and Gyungpodae beaches of Gangwon-do, Korea

Strains	<i>Cyberlindnera culbertsonii</i>	<i>Dothichiza pithyophila</i>	<i>Metschnikowia bicuspidata</i>	<i>Sakaguchia cladiensis</i>	<i>Aureobasidium melanogenum</i>	<i>Diutina siamensis</i>	<i>Metschnikowia colchici</i>	<i>Pseudozyma pruni</i>	<i>Sporophora toruliformis</i>	<i>Candida gelsemii</i>
Isolated No.	HJ31-1	HJ22-4	HJ16-1	HJ14-1	JR3-1	JR37-5	JR2-2	JR13-2	JR24-1	DC35-1
Accession No.	MN339674	MN339673	MN339681	MN339680	MN339678	MN339676	MN339679	MN339677	MN339675	MN339672
Morphological characteristics										
Shape	Oval	Oval	Global	Oval	Oval	Oval	Oval	Oval	Oval	Oval
Vegetative reproduction	Budding	Budding	Budding	Budding	Budding	Budding	Budding	Budding	Budding	Budding
size(μm)	0.5×1.2	1.0×1.2	1.5×1.5	1.0×1.8	1.7×2.9	1.1×1.3	1.0×1.6	0.9×1.9	0.7×2.1	1.1×1.4
Ascospore	Formed	Not formed	Formed	Formed	Formed	Not formed	Formed	Formed	Formed	Not formed
Pseudomycelium	Not formed	Not formed	Not formed	Not formed	Not formed	Not formed	Not formed	Formed	Not formed	Formed
Cultural characteristics										
Growth on YPD/YM/PD media	-/+/*	-/+	+/+	-/+	+/+/+	-/+	+++/>+	+++/>+	+++/>+	-/+
Color on YPD medium	Cream	Cream	Cream	Cream	Cream	Cream	Cream	Cream	Cream	Cream
Growth on Vitamin-free medium	-	--	-	-	++	-	+	++	++	-
Growth on 10%/20% glucose-YPD medium	+/-	+++	+/+	+/+	+/+	+/+	+++/>+	+++/>+	+++/>+	+/+
Growth on 5%/15% NaCl-YPD medium	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
Growth on temp/pH range	20°C-30°C/ pH6-7	20°C-30°C/ pH6-7	20°C-30°C/ pH6-7	20°C-30°C/ pH6-7	20°C-30°C/ pH6-7	20°C-30°C/ pH6-7	20°C-30°C/ pH6-7	20°C-30°C/ pH6-7	20°C-30°C/ pH6-7	20°C-30°C/ pH6-7

*A600: >1.5; +++, >1.0; ++, >0.5; +, <0.5; -

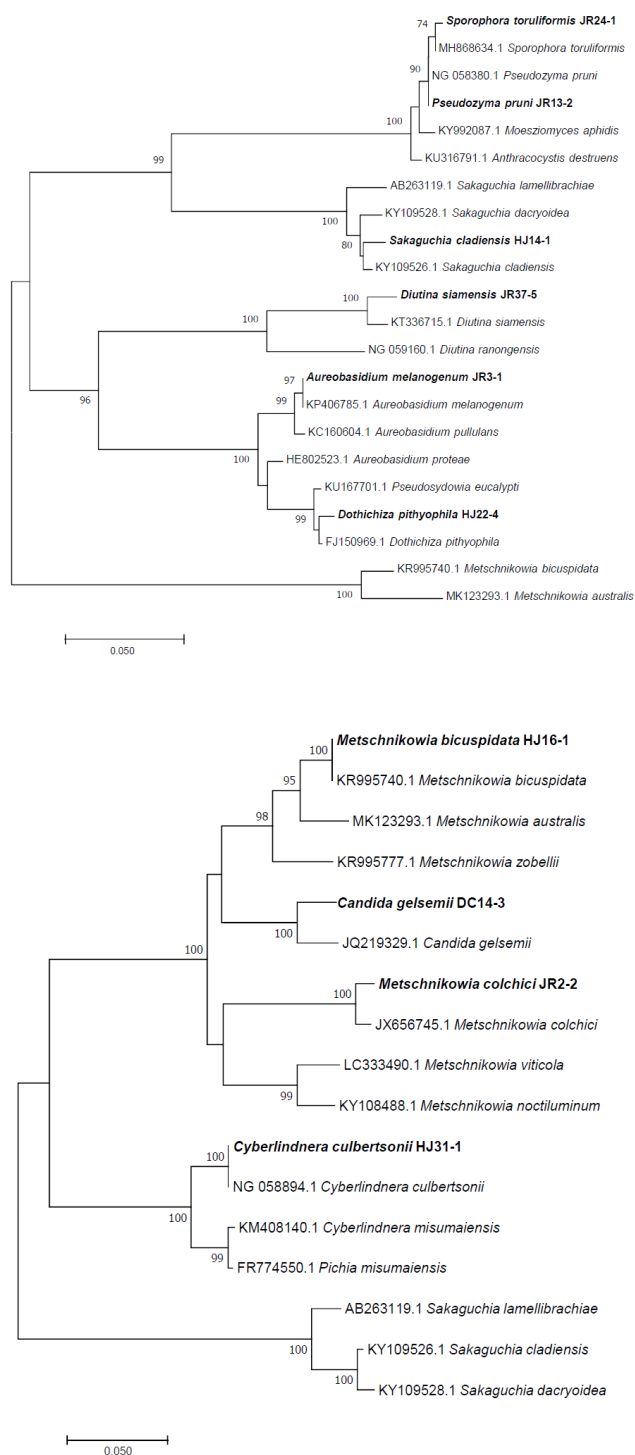


Fig. 1. Phylogenetic tree of the unrecorded yeasts isolated from Hajodae and Gyungpodae Beaches in Korea, based on the nucleotide sequences of D1/D2 region of 26S ribosomal. The tree was generated by the neighbor-joining method, using MEGA7.

와 *Sporophora toruliformis* JR24-1 등은 비타민을 함유하지 않은 YPD 배지에서도 생육하였고 특히 *Cyberlindnera culbertsonii* HJ31-1 외에 9 균주 모두 20% 포도당을 함유한 YPD 배지에서 생육하는 내당성 효모들로서 이들은 알코올 발효산업에서 고농도 담금에 유용할 것이고 내당성(삼투압

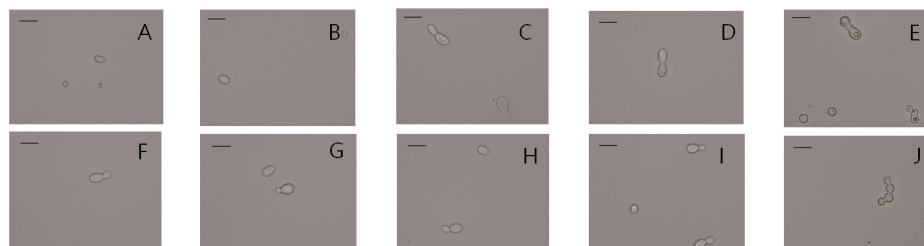


Fig. 2. Microscopic features of the unrecorded yeasts isolated from Hajodae and Gyungpodae Beaches in Korea A; *Cyberlindnera culbertsonii* HJ31-1, B; *Dothichiza pithyophila* HJ22-4, C; *Metschnikowia bicuspidata* HJ16-1, D; *Sakaguchia cladiensis* HJ14-1, E; *Aureobasidium melanogenum* JR3-1, F; *Diutina siamensis* JR37-5, G; *Metschnikowia colchici* JR2-2, H; *Pseudozyma pruni* JR13-2, I; *Sporophora toruliformis* JR24-1, J; *Candida gelsemii* DC35-1

성) 효소생산 등에도 매우 유용할 것으로 사료된다.

항치매활성과 미백활성을 가진 건강 소재를 생성하는 야생효모들을 선별하기 위하여 미기록 야생효모들의 무세포 추출물에 대한 항치매성 acetylcholinesterase 와 butyrylcholinesterase 저해활성과 미백성 tyrosinase 저해활성들을 측정하였다(Table 4). 10주의 국내 미기록 야생효모들의 무세포추출물들중 *Diutina siamensis* JR37-5 균주가 30.9%의 가장 높은 tyrosinase 저해활성을 보였고 *Aureobasidium melanogenum* JR 3-1 균주도 20.3%의 tyrosinase저해활성을 보였으나 항치매성 acetylcholinesterase 와 butyrylcholinesterase 저해활성은 대부분의 무세포 추출물들이 없거나 5%미만을 보였다. *Diutina siamensis* JR37-5의 30.9% tyrosinase 저해활성은 김 등[18]의 인삼발 토양에서 분리한 야생효모 *Naganishia globosa* G1-7의 28%와 한 등[21]의 *Starmerella bombicola* 80-J-1의 저해활성(36.2%)과 비슷하거나 약간 낮은 저해활성이었다. 또한 tyrosinase 저해활성이 가장 높았던 *Diutina siamensis* JR37-5균주는 Khunnamwong 등[22]이 태국의 벼 잎 조직에서 처음 분리, 동정하여 보고되었을 뿐 이들의 산업적 응용 연구는 본 연구가 처음이다. 따라서 이 야생효모 균주는 앞으로 미백 기능성 소재 생산에 매우 유용할 것으로 사료되고 tyrosinase 저해물질 생산조건외 최적화와 물질 특성 규명 등의 추가연구가 요구된다.

Table 4. Inhibitory activities of acetylcholinesterase, butyrylcholinesterase and tyrosinase of unrecorded wild yeasts from Hajodae and Gyungpodae beaches of Gangwon-do, Korea

Unrecorded yeasts	Isolated No.	AChE inhibitory activity(%)	BChE inhibitory activity(%)	Tyrosinase inhibitory activity(%)
<i>Cyberlindnera culbertsonii</i>	HJ31-1	n.d*	n.d	n.d
<i>Dothichiza pithyophila</i>	HJ22-4	n.d	n.d	n.d
<i>Metschnikowia bicuspidata</i>	HJ16-1	n.d	n.d	n.d
<i>Sakaguchia cladiensis</i>	HJ14-1	n.d	n.d	n.d
<i>Aureobasidium melanogenum</i>	JR3-1	n.d	n.d	20.3(±1.1)
<i>Diutina siamensis</i>	JR37-5	n.d	n.d	30.9(±2.7)
<i>Metschnikowia colchici</i>	JR2-2	n.d	n.d	13.7(±1.8)
<i>Pseudozyma pruni</i>	JR13-2	n.d	3.0(±0.1)	14.3(±0.3)
<i>Sporophora toruliformis</i>	JR24-1	n.d	n.d	5.8(±0.5)
<i>Candida gelsemii</i>	DC35-1	n.d	n.d	n.d

AChE; acetylcholinesterase, BChE; butyrylcholinesterase

*n.d; not detected

적요

우리나라 강원도 동해안 해수욕장 주변 토양의 야생효모들의 종 분포특성을 알아보고자 하조대와 경포대 해수욕장, 경포호수 주변 토양들로부터 야생효모들을 분리, 동정하였고, 이들 중 국내 미기록 효모들을 선별하여 이들의 균학적 특성과 생리활성 등을 조사하였다. 하조대 해수욕장 주변 토양 30점 시료들로부터 22종, 27균주의 야생효모들을 분리, 동정하였고 경포대 해수욕장과 경포호수 주변 토양 45점에서 *Aureobasidium melanogenum* JR 3-13을 포함하는 39종 55균주의 야생효모들을 분리하였다. 이들 두 해수욕장에서 분리한 야생효모들 중 *Cyberlindnera culbertsonii* HJ31-1, *Dothichiza pithyophila* HJ22-4, *Metschnikowia bicuspidata* HJ16-1, *Sakaguchia cladiensis* HJ14-1, *Aureobasidium melanogenum* JR3-1, *Diutina siamensis* JR37-5, *Metschnikowia colchici* JR2-2, *Pseudozyma pruni* JR13-2, *Sporophora toruliformis* JR24-1과 *Candida gelsemii* DC35-1 등 10균주들이 국내 미기록 효모들로 최종 선별되었다. 이들은 대부분 구형으로 출아법으로 영양증식을 하였고 *Cyberlindnera culbertsonii* HJ31-1, *Metschnikowia bicuspidata* HJ16-1, *Sakaguchia cladiensis* HJ14-1, *Aureobasidium melanogenum* JR3-1, *Metschnikowia colchici* JR2-2, *Pseudozyma pruni* JR13-2와 *Sporophora toruliformis* JR24-1 등은 자낭포자를 형성하였다. *Aureobasidium melanogenum* JR3-1 등 4종의 미기록 효모들은 vitamin을 함유하지 않은 YPD 배지에서도 생육하였고 *Cyberlindnera culbertsonii* HJ31-1 외에 9균주들이 20% 포도당을 함유한 YPD 배지에서 생육하는 내당성 효모들이었다. 이들 국내 미기록 야생효모들의 무세포추출물들 중 *Diutina siamensis* JR37-5 균주가 30.9%의 가장 높은 tyrosinase 저해활성을 나타내었고 *Aureobasidium melanogenum* JR3-1 균주도 20.3%의 tyrosinase 저해활성을 보였다.

ACKNOWLEDGEMENTS

This research was supported by the project on the survey and excavation of Korean indigenous species of the National Institute of Biological Resources (NIBR 201902113) under the Ministry of Environment, 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. Han SM, Jeon SJ, Lee HB, Lee JS. Screening of γ -aminobutyric acid (GABA)-producing wild yeasts and their microbiological characteristics. *Kor J Mycol* 2016;44:87-93.
3. Min JH, Ryu JJ, Kim HK, Lee JS. Isolation and identification of yeasts from wild flowers in Gyeongjoksan, Oseosan and Baekamsan of Korea. *Kor J Mycol* 2013;41:47-51.
4. 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.
5. 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.
6. 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.
7. 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.
 8. 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.
 9. 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.
 10. 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.
 11. 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.
 12. 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.
 13. 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.
 14. 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.
 15. 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.
 16. 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;45:98-104.
 17. 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.
 18. Kim JY, Han SM, Lee JS. Isolation and tyrosinase inhibitory activity of wild yeasts obtained from soil in the fields of medicinal plants, ginseng and Korean angelica. *Kor J Mycol* 2018;46:315-23.
 19. Kim JY, Lee SY, Han SM, Lee JS. Production of anti-dementia acetylcholinesterase inhibitors from the wild yeasts *Saccharomyces cerevisiae* WJSL0113 and *Wickerhamomyces anomalus* JSF0128. *Kor J Mycol* 2018;46:447-57.
 20. Seo DS, Jang JH, Kim NM, Lee JS. Optimal extraction condition and characterization of antidementia acetylcholinesterase inhibitor from Job's tears (*Coix lachrymajobi* L.). *Korean J Med Crop Sci* 2009;17:434-8.
 21. Han SM, Hyun SH, Kim NM, Lee JS. Antioxidant activity and inhibitory activities of xanthine oxidase and tyrosinase of yeasts from wild flowers in Korea. *Kor J Mycol* 2015;43:99-103.
 22. Khunnamwong P, Lertwattanasakul N, Jindamorakot S, Limtong S, Lachance MA. Description of *Diutina* gen. nov., *Diutina siamensis*, f.a. sp. nov., and reassignment of *Candida catenulata*, *Candida mesorugosa*, *Candida neorugosa*, *Candida pseudorugosa*, *Candida ranongensis*, *Candida rugosa* and *Candida scorzettiae* to the genus *Diutina*. *Int J Syst Evol Microbiol* 2015;65:4701-9.