

RESEARCH ARTICLE

낙동강 상주보와 금강중류 대청댐 주변으로부터 야생효모의 분리 및 국내 미기록 효모들의 균학적 특성

한상민¹, 박동재¹, 김지윤¹, 임효진², 이향범², 이종수^{1,*}¹배재대학교 바이오-의생명공학과, ²전남대학교 응용생물공학부

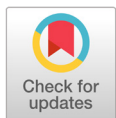
Isolation of Wild Yeasts Obtained from Waters and Soils of Riversides in Sangjubo of Nakdong River and Daechung Dam of Geumgang Midstream, Korea and Characterization of Unrecorded Wild Yeasts

Sang-Min Han¹, Dong-Jae Park¹, Ji-Yoon Kim¹, Hyo Jin Lim², Hyang Burm Lee², and Jong-Soo Lee^{1,*}¹Faculty of Biomedicine and Biotechnology, Paichai University, Daejeon 35345, Korea²Division of Food Technology, Biotechnology and Agrochemistry, Chonnam National University, Gwangju 61186, Korea

*Corresponding author: biotech8@pcu.ac.kr

ABSTRACT

The goal of this study was to isolate wild yeasts from waters and soils in Sangjubo of Nakdong river and Daechung dam in Daejeon city, Korea and investigate characteristics of previously unrecorded novel wild yeasts. In total, 94 strains from 39 different species of wild yeasts were isolated from 47 soils and waters samples obtained from Sangjubo in Nakdong river. Among these, 3 strains, including *Rhodospiridium azoricum* JSL-GRU-009, represented novel yeast strains which were previous recorded. Two hundred nine strains from 105 different species of wild yeasts were isolated from 130 soils and water samples obtained from Daechungdaegyo and Daechung dam of Shintanjin in Daejeon city, Korea. Ten strains including *Bullera pseudoalba* JSL-GRU-005 also represented newly recorded strains in Korea. All the 13 previously unrecorded yeasts were oval or global in shape, and nine strains, including *R. azoricum* JSL-GRU-009, formed ascospores. Ten strains grew well in vitamin-free medium. *R. azoricum* JSL-GRU-009 grew well in 20% glucose-containing yeast extract-peptone-dextrose (YPD) medium and 3 strains, including *Rhodotorula oryzae* JSL-GRU-003, grew well in 5% NaCl-containing YPD medium.

Keywords: Daechung dam, Nakdong river, Sangjubo, Unrecorded yeast, Wild yeast

OPEN ACCESS

pISSN : 0253-651X
eISSN : 2383-5249Kor. J. Mycol. 2020 September, 48(3): 237-249
<https://doi.org/10.4489/KJM.20200025>**Received:** May 15, 2020**Revised:** September 16, 2020**Accepted:** September 16, 2020

© 2020 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

진균류의 일종인 효모는 오래전부터 우리나라의 전통 발효식품 제조에 이용되어오고 있고 생리활성 펩타이드와 유기산, 비타민 등을 함유하고 있어 일부 식, 사료 첨가물로도 사용되고 있다 [1,2]. 최근에는 외래단백질 발현을위한 숙주 등의 분자생물학적 연구 외에도 효모로부터 항고혈압성과 항치매활성, 항통풍활성 등 다양한 생리활성 물질 생산이 보고되고 있어 앞으로 건강소재 생산을 위한 약용효모로서 매우 유용한 미생물이다[3].

최근 나고야 의정서 발효에 따른 자국의 생물자원 보호에 대한 중요성이 크게 강조되고 있고 우리나라에 자생하고 있는 새로운 생물자원의 발굴과 이들의 이용에 관한 연구 필요성이 크게 대두되었다 따라서 필자 등은 우리나라 내륙지역의 산이나 논, 밭 등의 토양이나 야생화 등 자연환경에 분포하는 약 2,000여종의 다양한 야생 효모들을 분리, 동정하여 보고하였고[3-19] 또한, 200여종의 국내 미기록 야생효모들을 선별하여 이들의 균학적 특성 등을 보고하였다 [12,14,16,18,19].

그러나, 한반도에 자생하는 것으로 알려진 600여종의 담수균류들은 담수 생태계 유지와 식의 약 소재개발 및 중금속 분해 등 환경 정화에 매우 응용성이 큰 생물분류군임에도 불구하고 담수 환경으로부터의 새로운 효모균류 발굴 연구는 매우 미흡하여 필자 등이 영산강과 낙동강 및 금강 일부 등의 주변 물과 토양등으로부터 야생효모들을 분리, 동정하고 이들 중 국내미기록 효모들을 선별하여 이들의 특성을 보고하였을 뿐이다[20-23].

한편, 낙동강과 금강은 각각 영남지방과 충청지방의 생활환경과 수많은 생물들의 생태환경에 큰 영향을 미치고 있다. 상주보는 낙동강 상류의 상주시 도남동과 중동면 사이에 설치되어있고 소수력 발전소와 수변생태공원, 경천섬, 병성천 낙동강 합류점등이 주변에 있다[24]. 금강하구로부터 150 km 상류지점인 대전광역시 동북쪽과 청주시 남쪽에 위치한 대청댐은 본댐과 보조댐, 수력발전소 등이있고 주변의 평균 기온은 12.3°C, 평균 상대습도는 71.4%이며 평균 강우량은 약 1,110 mm정도이다[25]. 지금까지 이들 지역의 생물생태연구는 주로 식물 분포특성조사만이 이루어져 있을 뿐, 이들 주변의 체계적인 효모 종 분포특성 연구는 매우 미흡한 실정이다.

따라서 본 연구는 낙동강과 금강 주변 환경의 야생효모 분포특성과 종 다양성 확립 및 국내 미기록 야생효모들의 발굴연구의 일환으로 실시되었다. 이를 위해 전보[20,23]에 이어 낙동강 상주보 주변과 금강 중, 상류지역인 대전광역시 대청대교와 대청댐주변의 물과 토양들로부터 야생효모들을 분리하여 동정하였다. 또한, 국내에 보고되지 않은 미기록 야생효모들을 선별하여 이들의 균학적 특성을 조사하였다.

재료 및 방법

야생효모의 분리 및 동정

낙동강 상주보(GPS: N; 36°27'38.5", E; 128°14'13")와 금강 중류 대전광역시 신탄진부근 대청대교(GPS: N; 36°28'28.3" E; 127°28'32")와 대청댐(GPS: N; 36°29'41.3", E; 127°24'19.9") 주변 물, 토양과 식물체 등 177점들을 2019년 4월부터 9월 사이에 무균적으로 채취하여 멸균 튜브에 넣고, 5 mL의 멸균수를 첨가한 후 2시간 동안 진탕하였다. 이들 현탁액 일부를 스트렙토마이신($100 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)과 암피실린($100 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)이 들어 있는 YPD (yeast extract-peptone-dextrose)한천배지에 도말하고 30°C에서 48시간 배양한 후 형성된 효모 집락들을 일반 야생 효모균주로 분리하였다[23]. 또한 20% 포도당을 함유한 YPD배지에서 분리한 효모들을 내당성 효모로, 5% NaCl을 함유한 YPD배지에서 생육한 효모들을 내염성 야생효모로 분리하였다.

분리효모들의 동정을 위하여 먼저 이들의 26S rDNA의 D1/D2 부위 및 ITS (internal transcribed spacer) 부위의 염기서열들을 결정한 후 결정된 염기서열들을 NCBI의 BLAST를 사용하여 데이터베이스에 등록되어 있는 효모들과의 상동성을 비교하여 분자생물학적 유연관계를 분석하여 동정하였다[23].

국내 미기록 효모들의 선별 및 균학적 특성

위와 같이 분리, 동정한 야생효모들을 대상으로 국립 생물자원관 DB와 한국 진균관련 학술자료들을 이용하여 국내 미기록효모들을 선별한 후 일반 미생물 실험방법 등을 이용하여 이들의 몇 가지 균학적 특성 등을 조사하였다[23].

결과 및 고찰

낙동강 상주보주변 물과 토양들로부터 야생효모의 분리 및 동정

낙동강 상주보주변 물과 토양 47점에서 일반 효모 17종, 내당성 효모 14종과 내염성 효모 8종 등 모두 39종, 94균주의 야생효모들을 분리하였고 이들중 균 이름과 GenBank 번호가 같으면서 분리(시료) 번호만 다른 효모균주는 모두 70균주이었다(Table 1). 이들 야생효모들중 *Cryptococcus*속균이 5속균으로 많았고 단일균주로는 *Rhodospiridium fluviale* 균주가 17균주로 가장 많았다.

이들 가운데 특히 *R. azoricum* JSL-GRU-009, *Pseudozyma graminicola* JSL-GRU-010, *Candida davisiana* JSL-GRU-011 등 3균주들이 우리나라에 아직까지 보고되지 않은 국내 미기록 야생효모들로 선별되었다.

Table 1. Wild yeasts from soils and waters in Sangju of Nakdong river, Gyeongsangbuk-do, Korea.

No.	Putative species	Isolated No.	GenBank No.	Identity (%)	Remarks
1	<i>Aureobasidium pullulans</i>	NKY11-1	JX103180.1	607/614 (99%)	General yeasts
2	<i>Cryptococcus aureus</i>	NKY2-2	KT895965.1	632/640 (99%)	
3	<i>C. tephrensii</i>	NKY5-3	JN400781.1	628/640 (98%)	
4	<i>C. magnus</i>	NKY15-6	AY242120.1	635/644 (99%)	
5	<i>Dioszegia zsoitii</i>	NKY18-6	JQ219318.1	623/634 (98%)	
6	<i>Erythrobasidium hasegawianum</i>	NKY9-4	KJ507252.1	603/616 (98%)	
7	<i>Hannaella oryzae</i>	NKY5-4	JN544025.1	604/612 (99%)	
8	<i>Kwoniella pini</i>	NKY29-1	MG190049.1	551/551 (100%)	
9	<i>Papiliotrema flavescens</i>	NKY6-2	MF045447.1	635/640 (99%)	
10	<i>Pseudozyma hubeiensis</i>	NKY13-1	DQ008953.1	632/641 (99%)	
11	<i>Naganishia globosa</i>	NKY6-3	KU316759.1	634/639 (99%)	
12	<i>Rhodospiridium azoricum</i>	JSL-GRU-009	AF321978.1	561/562 (99%)	
13	<i>R. fluviale</i>	NKS1-1	KJ507301.1	610/617 (99%)	
14	<i>Rhodospiridiobolus fluvialis</i>	NKY2-1	KU316718.1	609/616 (99%)	
15	<i>Rhodotorula nothofagi</i>	NKY24-3	KC006668.1	610/620 (98%)	
16	<i>Sporobolomyces phaffii</i>	NKY19-2	KU316719.1	609/614 (99%)	
17	<i>Torulaspora delbrueckii</i>	NKS3-4	JQ512830.1	578/580 (99%)	
1	<i>Aureobasidium pullulans</i>	NK26-2	JX067761.1	608/615 (99%)	Sugar-tolerant yeasts
		NK42-2	JX103180.1	609/615 (99%)	
2	<i>Bullera alba</i>	NK2-8	DQ377658.1	631/640 (99%)	
3	<i>Cryptococcus flavus</i>	NK22-3	KJ507264.1	634/643 (99%)	
4	<i>C. tephrensii</i>	NK22-2	JN400781.1	630/639 (99%)	
5	<i>Dioszegia zsoitii</i>	NK24-4	JQ219318.1	629/634 (99%)	
6	<i>Leucosporidium creatinivorum</i>	NK13-3	AB259918.1	608/619 (98%)	
7	<i>Microstroma juglandis</i>	NK24-2	KJ507276.1	636/643 (99%)	
8	<i>Papiliotrema aspenensis</i>	NK13-2	KX621788.1	580/581 (99%)	
9	<i>Pseudozyma antarctica</i>	NK43-1	JQ650240.1	631/641 (98%)	
10	<i>Pseudozyma hubeiensis</i>	NK5-1	DQ008953.1	634/642 (99%)	
11	<i>Rhodospiridiobolus fluvialis</i>	NK2-7	KU316718.1	608/615 (99%)	
12	<i>Rhodospiridium fluviale</i>	NK2-5	KJ507301.1	610/618 (99%)	
13	<i>Rhodotorula glutinis</i>	NK13-1	MF045460.1	606/617 (98%)	
14	<i>Pseudozyma graminicola</i>	JSL-GRU-010	HQ637565.1	594/596 (99%)	
1	<i>Aureobasidium pullulans</i>	NNK11-1	JX067761.1	606/614 (99%)	Salt-tolerant yeasts
2	<i>Candida davisiana</i>	JSL-GRU-011	GU373794.1	600/612 (98%)	
3	<i>Cryptococcus laurentii</i>	NNK32-1	KU316755.1	633/638 (99%)	
4	<i>C. tephrensii</i>	NNK1-2	JN400781.1	632/640 (99%)	
5	<i>Filobasidium magnum</i>	NNK26-4	DQ377663.1	606/609 (99%)	
6	<i>Pseudozyma pruni</i>	NNK22-1	EU379943.1	629/640 (98%)	
7	<i>Rhodospiridiobolus fluvialis</i>	NNK1-1	KU316718.1	606/616 (98%)	
8	<i>Trichosporon moniliiforme</i>	NNK8-1	KU316725.1	630/637 (99%)	

금강중류 대청댐주변 물과 토양들로부터 야생효모의 분리 및 동정

세종특별자치시와 대전광역시 신탄진의 대청댐사이의 금강중류에있는 아람찬교와 대청대교주변 물과 식물체 부식물 및 토양 70점에서 야생효모들을 분리한 결과 (Table 2) 일반 효모 32종과 내당성 효모 4종, 내염성 효모 8종등 모두 44종, 96균주의 야생효모들이 분리, 동정되었고 이들 중 52균주가 분리번호가 다르면서 GenBank 번호와 균 이름이 동일한 야생효모들이었다.

Table 2. Wild yeasts from soils and waters in Daechungdaegyo of Shintanjin in Daejeon city, Korea.

No.	Putative species	Isolated No.	GenBank No.	Identity (%)	Remarks
1	<i>Aureobasidium namibiae</i>	BGY22-4	KC160559.1	556/569 (98%)	General yeasts
2	<i>A. pullulans</i>	BGY7-2	KC160612.1	556/571 (97%)	
		BGY8-1	JX103180.1	608/616 (99%)	
		BGY24-1	JX129908.1	574/574 (100%)	
		BGY16-1	LC326044.1	566/566 (100%)	
		BGY32-1	KC433817.1	554/554 (100%)	
		BGP21-1	HE802469.1	560/560 (100%)	
3	<i>Bulleromyces albus</i>	BGP23-2	KC433763.1	592/592 (100%)	
4	<i>Bullera pseudoalba</i>	JSL-GRU-005	AF075504.1	622/627 (99%)	
5	<i>Cryptocline arctostaphyli</i>	BGP24-1	MH873458.1	601/616 (98%)	
6	<i>Cryptococcus aureus</i>	BGY6-3	KT895965.1	635/640 (99%)	
		BGP12-2	JQ768865.1	630/641 (98%)	
7	<i>C. dimennae</i>	BGY9-2	JN400759.1	627/639 (98%)	
8	<i>C. magnus</i>	BGY11-5	AY242120.1	642/643 (99%)	
9	<i>C. tephrensii</i>	BGY9-1	JN400781.1	631/639 (99%)	
10	<i>C. victoriae</i>	BGY34-2	AJ749830.1	628/640 (98%)	
		BGY35-5	AM160647.1	634/640 (99%)	
11	<i>Curvibasidium pallidicorallinum</i>	JSL-GRU-001	JX188149.1	626/633 (99%)	
12	<i>Dioszegia zsoltii</i>	BGY11-3	JQ219318.1	629/634 (99%)	
		BGP35-2	KM891580.1	587/589 (99%)	
13	<i>Erythrobasidium hasegawianum</i>	BGY16-2	KJ507252.1	610/616 (99%)	
		BGY38-6	EU002835.1	556/557 (99%)	
14	<i>Filobasidium globisporum</i>	JSL-GRU-006	AF075495.1	615/631 (97%)	
15	<i>F. magnum</i>	BGP7-1	MF448298.1	593/594 (99%)	
		BGP15-3	MF448327.1	597/598 (99%)	
		BGP43-1	MF448277.1	601/602 (99%)	
16	<i>Hanseniaspora valbyensis</i>	JSL-GRU-004	KM210526.1	565/565 (100%)	
17	<i>Holtermanniella takashimae</i>	BGY18-4	FM242574.1	639/643 (99%)	
18	<i>Leucosporidium fragarium</i>	BGP35-4	JN400801.1	623/634 (98%)	
19	<i>Metschnikowia koreensis</i>	BGY18-2	KJ507292.1	517/521 (99%)	
20	<i>Microstroma juglandis</i>	BGY44-1	KJ507276.1	635/642 (99%)	
21	<i>Papiliotrema aurea</i>	BGY38-5	JN004200.1	595/599 (99%)	
22	<i>Rhodospiridium fluviale</i>	BGY18-3	KJ507301.1	610/617 (99%)	
23	<i>Rhodotorula glutinis</i>	BGY27-4	MF045460.1	611/617 (99%)	
24	<i>R. ingeniosa</i>	BGY34-1	AJ749834.1	625/632 (99%)	
25	<i>R. mucilaginosa</i>	BGY12-1	KY296083.1	610/614 (99%)	
		BGP42-2	MH611513.1	568/572 (99%)	
26	<i>R. nothofagi</i>	BGY6-5	KC006668.1	618/620 (99%)	
27	<i>R. oryzicola</i>	JSL-GRU-003	AB863570.1	499/505 (99%)	
28	<i>Sporobolomyces carnicolor</i>	BGP36-3	KU316784.1	608/615 (99%)	
29	<i>S. phaffii</i>	BGY34-3	KU316721.1	608/612 (99%)	
30	<i>Tilletiopsis washingtonensis</i>	JSL-GRU-007	AM160640.1	639/644 (99%)	
31	<i>Vishniacozyma victoriae</i>	BGY17-2	MF462753.1	590/598 (99%)	
32	<i>Wickerhamomyces onychis</i>	JSL-GRU-002	EU809437.1	627/636 (99%)	
1	<i>Cryptococcus flavus</i>	4CD49-1	EU177572.1	631/641 (98%)	Sugar-tolerant yeasts
2	<i>C. laurentii</i>	4CD20-1	KU316735.1	634/639 (99%)	
3	<i>Moesziomyces aphidis</i>	4CD23-2	KY992087.1	636/649 (98%)	
4	<i>Pseudozyma tsukubaensis</i>	4CD17-1	LC333508.1	603/604 (99%)	
		4CD23-3	JQ219313.1	610/617 (99%)	Salt-tolerant yeasts
1	<i>Clavispora lusitanae</i>	NCD46-1	FJ627984.1	510/513 (99%)	
2	<i>Cryptococcus aureus</i>	NCD27-2	KT895965.1	636/640 (99%)	
3	<i>C. flavus</i>	NCD5-2	EU177572.1	633/640 (99%)	
4	<i>C. laurentii</i>	NCD44-1	AJ876597.1	585/595 (98%)	
5	<i>C. magnus</i>	NCD3-1	JQ964210.1	585/595 (98%)	
6	<i>Papiliotrema aspenensis</i>	NCD5-1	KX621788.1	577/580 (99%)	
7	<i>Rhodotorula glutinis</i>	NCD43-1	MF045460.1	611/619 (99%)	
8	<i>Sakaguchia dacryoidea</i>	NCD9-1	AF189972.1	559/571 (98%)	

이들 중에는 위의 낙동강 상주보 시료에서처럼 *Cryptococcus*속균이 8종으로 많이 분리되었고 *Holtermanniella takashimae* 균주가 10균로 가장 많았다.

또한, 이들중 *Bullera pseudoalba* JSL-GRU-005, *Curvibasidium pallidicorallinum* JSL-GRU-001, *Filobasidium globisporum* JSL-GRU-006, *Hanseniaspora valbyensis* JSL-GRU-004, *Rhodotorula oryzae* JSL-GRU-003, *Tilletiopsis washingtonensis* JSL-GRU-007 와 *Wickerhamomyces onychis* JSL-GRU-002등 7균주들이 국내 미기록 야생효모 균주들로 최종 선별되었다.

한편, 대청댐과 대청호수주변 물과 토양 60점에서는 *Rhodospodidium fluviale* 야생효모 6균주와 *Rhodotorula paludigena* 6균주들을 포함한 총 61종 113 균주들이 분리, 동정되었고 분리번호가 다르면서 균 이름과 GenBank 번호가 같은 균주는 모두 60균주이었다(Table 3). 이들 분리균주들 중에는 *Cryptococcus friedmannii* JSL-GRU-012, *Naganishia cerealis* JSL-GRU-013 와 *Sporobolomyces longiusculus* JSL-GRU-008 균주들이 국내에서는 처음으로 분리된 미기록 야생효모들이었다.

Table 3. Wild yeasts from soils and waters in Daechung dam in Daejeon city, Korea.

No.	Putative species	Isolated No.	GenBank No.	Identity (%)	Remarks
1	<i>Cryptococcus aureus</i>	CD1-2	KT895965.1	634/640 (99%)	General yeasts
2	<i>C. flavus</i>	CD49-1	EU177572.1	629/640 (98%)	
		CD23-2	JX975677.1	603/613 (98%)	
3	<i>C. friedmannii</i>	JSL-GRU-013	KT427564.1	563/567 (99%)	
4	<i>Naganishia cerealis</i>	JSL-GRU-012	KX621784.1	577/577 (100%)	
5	<i>Pseudozyma hubeiensis</i>	CD23-4	DQ008953.1	632/641 (99%)	
6	<i>P. pruni</i>	CD23-3	EU379943.1	632/639 (99%)	
7	<i>Rhodospodidium fluviale</i>	CD1-1	KJ507301.1	612/617 (99%)	
8	<i>Rhodotorula taiwanensis</i>	CD24-1	KR995814.1	545/555 (98%)	
9	<i>Saitozyma flava</i>	CD46-2	KY952856.1	590/593 (99%)	
1	<i>Aureobasidium pullulans</i>	DCH25-4	JX067761.1	612/615 (99%)	Sugar-tolerant yeasts
2	<i>Candida corydali</i>	DCH46-2	KC798422.1	574/581 (99%)	
3	<i>Cryptococcus aureus</i>	DCH5-5	KT895965.1	628/641 (98%)	
4	<i>C. magnus</i>	DCH35-5	AY242120.1	638/643 (99%)	
5	<i>Dioszegia zsoltii</i>	DCH18-5	JQ219318.1	629/633 (99%)	
6	<i>Hannaella oryzae</i>	DCH25-2	KM246122.1	630/640 (98%)	
8	<i>Kodamaea ohmeri</i>	DCH41-1	FM180533.1	531/536 (99%)	
9	<i>Metschnikowia koreensis</i>	DCH46-2	KU316743.1	547/558 (98%)	
11	<i>Moesziomyces aphidis</i>	DCH5-2	KY992087.1	643/650 (99%)	
12	<i>Papiliotrema aspenensis</i>	DCH1-3	KX621788.1	571/581 (98%)	
		DCH31-1	KX621788.1	579/580 (99%)	
13	<i>P. aurea</i>	DCH1-2	JN004200.1	579/586 (99%)	
14	<i>P. flavescens</i>	DCH16-4	MF045447.1	613/619 (99%)	
15	<i>Piskurozyma taiwanensis</i>	DCH21-1	LC178803.1	594/597 (99%)	
16	<i>Pseudozyma hubeiensis</i>	DCH5-6	DQ008953.1	632/643 (98%)	
17	<i>P. pruni</i>	DCH6-3	EU379943.1	632/644 (98%)	
18	<i>P. tsukubaensis</i>	DCH11-2	LC333508.1	583/590 (99%)	
19	<i>Rhodospodiobolus fluvialis</i>	DCH46-6	KU316718.1	602/616 (98%)	
21	<i>R. ruineniae</i>	DCH16-2	AF070434.1	594/605 (98%)	
22	<i>Rhodospodidium fluviale</i>	DCH11-1	KJ507301.1	610/617 (99%)	
		DCH21-2	KP017412.1	564/571 (99%)	
23	<i>Rhodotorula glutinis</i>	DCH1-1	MF045460.1	612/618 (99%)	
24	<i>R. mucilaginosa</i>	DCH16-1	KY296083.1	602/614 (98%)	

Table 3. Wild yeasts from soils and waters in Daechung dam in Daejeon city, Korea.

No.	Putative species	Isolated No.	GenBank No.	Identity (%)	Remarks
25	<i>Rhodotorula paludigena</i>	DCH4-1	KU316709.1	607/617 (98%)	
		DCH6-1	MF737004.1	565/568 (99%)	
		NDCH23-3	KJ507301.1	615/618 (99%)	
26	<i>Saitozyma flava</i>	DCH1-6	KY952856.1	588/594 (99%)	
27	<i>Sporidiobolus pararoseus</i>	DCH5-3	MF045462.1	600/615 (98%)	
		DCH5-4	HE802485.1	553/559 (99%)	
28	<i>Sporobolomyces carnicolor</i>	DCH5-1	KU316784.1	608/614 (99%)	
29	<i>S. phaffii</i>	DCH35-4	KU316710.1	608/611 (99%)	
		DCH35-6	AY070011.1	601/601 (100%)	
30	<i>Tetrapisispora nanseiensis</i>	DCH29-1	KU316776.1	616/621 (99%)	
31	<i>Vishniacozyma victoriae</i>	DCH11-3	MF462753.1	590/598 (99%)	
1	<i>Aureobasidium pullulans</i>	NDCH5-1	JX067761.1	606/614 (99%)	Salt-tolerant yeasts
2	<i>Bullera japonica</i>	NDCH30-3	AF444760.2	616/627 (98%)	
3	<i>Candida corydali</i>	NDCH36-1	KC798422.1	574/582 (99%)	
4	<i>Cryptococcus aureus</i>	NDCH5-3	KT895965.1	633/640 (99%)	
		NDCH12-1	HQ641274.1	549/556 (99%)	
5	<i>C. laurentii</i>	NDCH18-3	KC433775.1	580/591 (98%)	
		NDCH37-2	KU316735.1	615/638 (96%)	
6	<i>C. podzolicus</i>	NDCH29-3	KU316703.1	584/586 (99%)	
7	<i>Dioszegia zsoltii</i>	NDCH18-2	JQ219318.1	632/633 (99%)	
8	<i>Hannaella oryzae</i>	NDCH30-2	JN544025.1	566/575 (98%)	
9	<i>Kodamaea ohmeri</i>	NDCH41-1	HM771259.1	481/488 (99%)	
10	<i>Metschnikowia koreensis</i>	NDCH46-1	KU316742.1	544/557 (98%)	
11	<i>Microstroma juglandis</i>	NDCH39-3	KJ507276.1	625/644 (97%)	
12	<i>Moesziomyces aphidis</i>	NDCH30-1	KY992087.1	642/648 (99%)	
13	<i>Papiliotrema aurea</i>	NDCH5-3	KY108728.1	587/597 (98%)	
		NDCH11-2	KY108729.1	587/600 (98%)	
		DCH1-2	JN004200.1	579/586 (99%)	
14	<i>P. flavescens</i>	NDCH18-4	MF045447.1	637/640 (99%)	
		NDCH24-1	MF448286.1	585/595 (98%)	
15	<i>Plowrightia periclymeni</i>	NDCH25-3	FJ215702.1	603/616 (98%)	
16	<i>Rhodosporidium fluviale</i>	NDCH14-1	KC006616.1	560/568 (99%)	
		NDCH23-3	KJ507301.1	615/618 (99%)	
17	<i>Rhodotorula paludigena</i>	NDCH4-2	MF737004.1	579/582 (99%)	
		NDCH6-2	KU316709.1	602/617 (98%)	
18	<i>Rhodosporidium paludigenum</i>	NDCH11-1	HQ670686.1	612/617 (99%)	
19	<i>Saturnispora saitoi</i>	NDCH33-1	AB557856.1	529/534 (99%)	
20	<i>Sporobolomyces carnicolor</i>	NDCH5-2	KU316784.1	609/614 (99%)	
21	<i>S. longiusculus</i>	JSL-GRU-008	AY158657.1	555/566 (98%)	

지금까지 필자들은 금강의 효모 종 분포특성과 이들의 다양성 규명을 위해 금강 하류인 충남 서천군 한산면 신성리 주변 토양에서 *Candida subhashii* 6균주 등 20균주의 야생효모들과 *Bullera japonica* YJ10-1 등 4균주의 국내 미기록 야생효모의 특성을 조사하여 보고하였고[15], 금강 중류인 충남 공주시 공주보와 청백대교 주변 토양과 물 등으로부터 우점균으로 *Cryptococcus magnus* 7주 등과 *Rhodotorula* 속균, *Hansenia* 속균들을 분리하고 *Candida chauliodes* WJSF0201 등 4균주의 국내 미기록 야생효모들을 선별하였다[22]. 또한 금강 중류 세종특별자치시 금남면 불티교와 연기군 세종리 햇무리교 주변 토양과 물 65점 시료에서 40종 63균주의 야생효모들을 분리, 동정하였고 *Holtermanniella takashimae* 등 12종의 국내 미기록 야생효모들을 선별하여 이들의 특성을 조사하여 보고하였다[23].

위의 낙동강 상주보와 금강 하천과 대청호수 주변 환경에서 분리, 동정한 야생효모들을 종합했을 때 다른 금강 중, 하류와 영산강 시료 등에서와 같이 *Cryptococcus* 속 균, *Rhodotorula* 속 균, *Candida* 속 균들이 많아 이들이 우점균들로 추정되었고 이들 강이나 호수 주변이 논, 밭, 산림 등의 내륙지역과 온도와 습도, 유기물 함량 등이 많이 다름에도 불구하고 야생효모 종 분포특성은 매우 유사하였다[3,5,7-15]. 다만, 낙동강 상주보와 금강 중류 대청대교, 대청댐 주변의 물과 토양 등에서 13종의 국내 미기록 효모들을 대량 분리할 수 있었던 점은 매우 특이한 결과였다.

낙동강 상주보와 금강 중류 대청댐 주변에서 분리한 국내 미기록 야생효모들의 특성

위와 같이 낙동강 상주보 주변과 금강 중류 대청대교와 대청댐 주변에서 분리, 동정한 야생효모들 중 *Curvibasidium pallidicorallinum* JSL-GRU-001, *Wickerhamomyces onychis* JSL-GRU-002, *Rhodotorula oryzae* JSL-GRU-003, *Hanseniaspora valbyensis* JSL-GRU-004, *Bullera pseudoalba* JSL-GRU-005, *Filobasidium globisporum* JSL-GRU-006, *Tilletiopsis washingtonensis* JSL-GRU-007, *Sporobolomyces longiusculus* JSL-GRU-008, *Rhodospiridium azoricum* JSL-GRU-009, *Pseudozyma graminicola* JSL-GRU-010, *Candida davisiana* JSL-GRU-011, *Cryptococcus friedmannii* JSL-GRU-012, *Naganishia cerealis* JSL-GRU-013 등 13균주들이 국내 미기록 야생효모들로 최종 선별하여 이들의 주요 미생물학적 특성과 이들의 계통수는 Table 4, Fig. 1과 같다. 이들의 26S D1/D2 부위의 sequence를 NCBI의 GenBank에 업로드하였다(Accession No.: MT928728-MT928740).

형태적 특징: 이들 미기록 균주들의 모양은 2균주가 구형이었고 나머지 11균주들은 계란모양의 타원형으로 출아에 의한 영양증식을 하였다. *Curvibasidium pallidicorallinum* JSL-GRU-001을 포함한 9균주들이 자낭포자를 생성하였고 *C. pallidicorallinum* JSL-GRU-001 등 7균주들이 의균사를 생성하였다.

배양학적 특징: *Sporobolomyces longiusculus* JSL-GRU-008균주가 YM (yeast malt)와 PDA (potato-dextrose agar)에서 생육하지 못했고 YPD 배지에서도 미약한 생육을 보였을 뿐 나머지 12균주들은 일반적인 진균배지로 적합한 YPD, YM, PD배지에서 잘 생육하였다. *Curvibasidium pallidicorallinum* JSL-GRU-001, *Tilletiopsis washingtonensis* JSL-GRU-007, *Sporobolomyces longiusculus* JSL-GRU-008균주 외에 10균주들은 모두 비타민을 함유하지 않은 YPD배지에서도 생육하였다.

Table 4. Microbiological characteristics of the unrecorded wild yeasts.

No.	Strain	Morphological characteristics				Growth					
		Shape/size (μm)	Vegetative reproduction	Ascospore	Pseudomycelium	YPD /YM /PD	Color on YPD medium	Vitamin-free medium	10/20% glucose-YPD medium	5/15% NaCl-YPD medium	Growth on temp. /pH range
1	<i>Curvibasidium pallidicorallinum</i> JSL-GRU-001	Oval/1.0×1.8	Budding	+	+	+++ /++ /++	White	-	-/-	++/-	20-30°C /pH7-8
2	<i>Wickerhamomyces onychis</i> JSL-GRU-002	Oval/1.2×1.9	Budding	-	-	+++ /++ /++	White	+++	+++ /++	-/-	20-30°C /pH7-8
3	<i>Rhodotorula oryicola</i> JSL-GRU-003	Oval/0.8×1.2	Budding	-	-	+++ /++ /++	Cream	+	++ /++	+++ /-	20-30°C /pH5-7
4	<i>Hanseniaspora valbyensis</i> JSL-GRU-004	Oval/1.0×1.7	Budding	+	+	+++ /++ /+	Cream	++	++ /++	+++ /-	20-30°C /pH5-6
5	<i>Bullera pseudoalba</i> JSL-GRU-005	Global/1.0×1.6	Budding	+	+	+++ /++ /++	Cream	++	++ /+	+++ /-	20-30°C /pH6-7
6	<i>Filobasidium globisporum</i> JSL-GRU-006	Oval/0.8×1.3	Budding	+	+	+++ / +++ /++	Cream	+++	++ /+	++ /-	20-30°C /pH6
7	<i>Tilletiopsis washingtonensis</i> JSL-GRU-007	Oval/1.0×1.5	Budding	+	+	+++ /++ /++	Cream	-	++ /-	-/-	20-30°C /pH6
8	<i>Sporobolomyces longiusculus</i> JSL-GRU-008	Oval/2.2×1.2	Budding	+	+	+ /- /-	Cream	-	-/-	+/-	20-30°C /pH4.0-7.0
9	<i>Rhodospiridium azoricum</i> JSL-GRU-009	Oval/2.2×1.2	Budding	+	-	++ /+++ /+++	Pink	++	+++ /+++	++ /-	30°C /pH5-7
10	<i>Pseudozyma graminicola</i> JSL-GRU-010	Global/3.0×1.0	Budding	+	+	++ /++ /+++	Cream	+	+++ /-	++ /-	20-30°C /pH7-8
11	<i>Candida davisiana</i> JSL-GRU-011	Oval/1.4×1.5	Budding	-	-	+++ /+ /++	Cream	+	+++ /++	++ /-	20-30°C /pH7-8
12	<i>Cryptococcus friedmannii</i> JSL-GRU-012	Global/1.3×1.3	Budding	-	-	+++ /++ /+	Cream	++	++ /+	++ /-	pH6-7
13	<i>Naganishia cerealis</i> JSL-GRU-013	Oval/1.7×1.7	Budding	+	-	++ /+++ /++	Cream	+	++ /+	-/-	20-40°C /pH5-8

YPD: Yeast extract-peptone dextrose; YM: Yeast Malt; PD: Potato dextrose.

+++; very good growth; ++; good growth; +; growth; -; not growth.

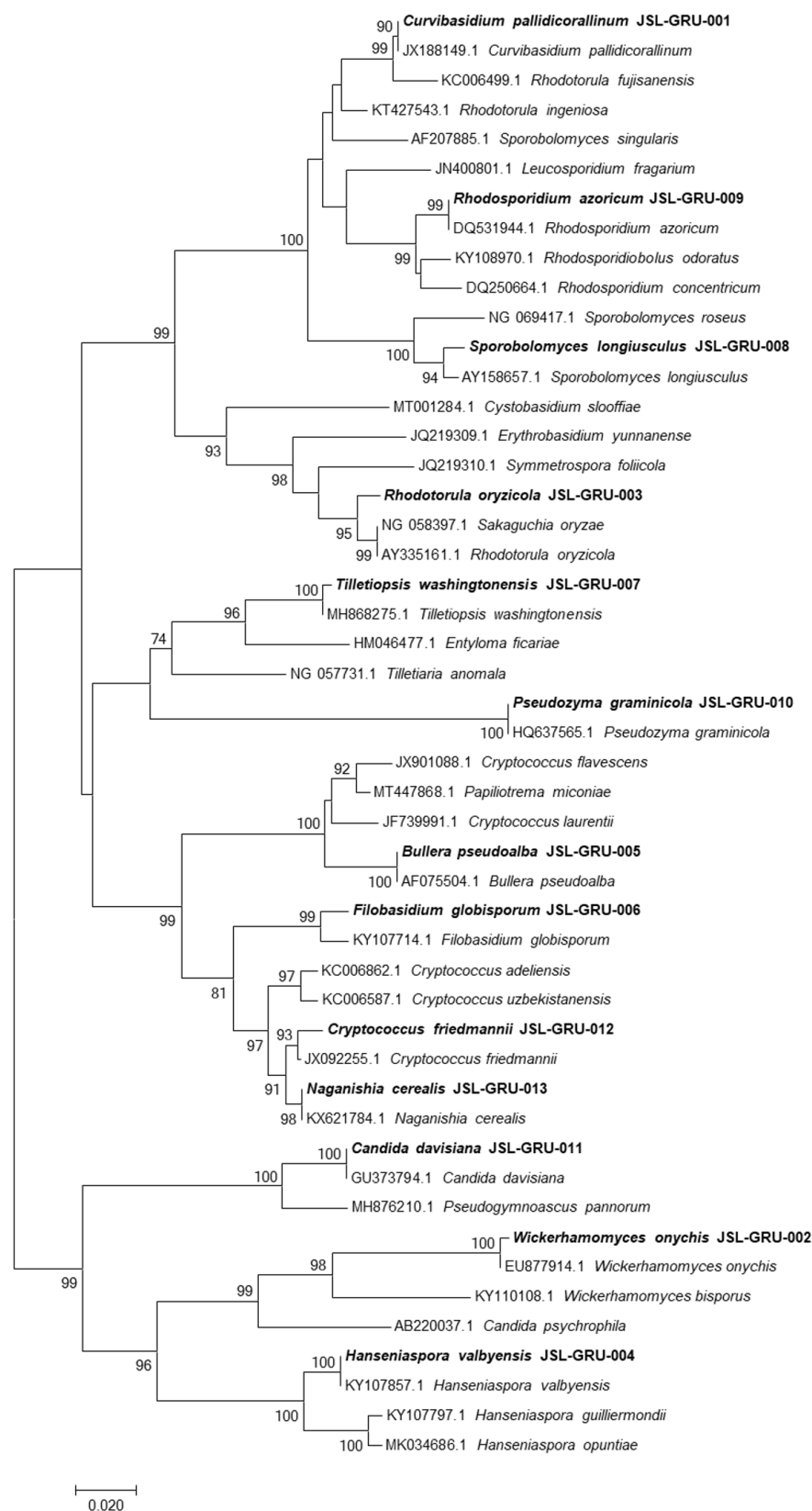


Fig. 1. Phylogenetic tree of the unrecorded yeasts isolated from soils of spices plants fields and Mt. Daedun of Chungcheongnam-do, Korea, based on the nucleotide sequences of large subunit 26S ribosomal DNA D1/D2 region. The tree was generated by the neighbor-joining method, using MEGA7.

Wickerhamomyces onychis JSL-GRU-002 등 9 균주들이 20% 포도당을 함유한 YPD 배지에서 생육하는 내당성을 보였고, 특히 *Rhodospiridium azoricum* JSL-GRU-009 균주는 20% 포도당을 함유한 YPD 배지에서 가장 생육이 양호하여 내당성이 강한 효모이었다. 또한 *Rhodotorula oryzae* JSL-GRU-003와 *Hanseniaspora valbyensis* JSL-GRU-004, *Bullera pseudoalba* JSL-GRU-005 등은 5% NaCl을 함유한 YPD 배지에서 생육하는 호염성 효모들이었고 *Naganishia cerealis* JSL-GRU-013 균주는 40°C에서도 생육하는 고온성 효모이었다.

한편, 이들 미기록효모들의 무세포 추출물들을 제조하여 skim milk를 이용한 이들의 단백질분해효소 활성을 조사한 결과 *Filobasidium globisporum* JSL-GRU-006이 약 1 cm의 분해환을 보여 활성이 우수하였고 *Sporobolomyces longiusculus* JSL-GRU-008도 0.5 cm를 보였다. 또한, *Curvibasidium pallidicorallinum* JSL-GRU-001, *Filobasidium globisporum* JSL-GRU-006, *Tilletiopsis washingtonensis* JSL-GRU-007, *Sporobolomyces longiusculus* JSL-GRU-008, *Rhodospiridium azoricum* JSL-GRU-009, *Pseudozyma graminicola* JSL-GRU-010 등의 무세포 추출물들이 가용성 전분배지에서 0.1-0.4 cm의 분해환을 보여 전분분해활성이 있었다(data not shown).

따라서, 앞으로 이들 효모들은 전분가공 등 다양한 발효산업에서 유용하게 활용될 것이고 나아가 고온성, 내염성 등 극한환경 미생물의 생리생화학적 연구와 이들을 이용한 유용 효소 생산 등의 추가연구가 필요한 것으로 사료된다.

적요

경상북도 낙동강의 상주보와 금강중류인 대전시 신탄진의 대청댐주변의 야생효모들의 종 분포특성을 알아보기 위해 먼저 이들지역의 토양과 물들로부터 야생효모들을 분리, 동정하였다. 낙동강의 상주보에서 채취한 시료 47점에서 모두 39종 94 균주의 야생효모들이 분리, 동정되었고 *Cryptococcus*속 균들이 가장 많았다. 이들중 *Rhodospiridium azoricum* JSL-GRU-009를 포함한 3 균주들이 아직까지 국내에 보고되지 않은 미기록 효모들로 최종 선별되었다. 또한, 금강중류지역인 대전시 신탄진의 대청대교와 대청댐주변 토양과 물 등 130종의 시료들로부터 105종 209 균주들이 분리, 동정되었고 이들 야생효모 균주들로부터 *Bullera pseudoalba* JSL-GRU-005를 포함한 10종의 균들이 국내 미기록 효모들로 최종 선별되었다. 이들 낙동강 상주보와 대청댐등에서 선별된 13 균주들의 균학적 특성을 조사한 결과 이들 미기록 균주들은 구형-타원형으로 출아, 분열법으로 영양 증식하였다. *R. azoricum* JSL-GRU를 포함한 9 균주들이 포자를 형성하였고 10 균주들이 비타민을 첨가하지 않은 YPD 배지에서 생육하였다. *R. azoricum* JSL-GR 균주는 20% 포도당을 함유한 YPD 배지에서 잘 생육하였고, *R. oryzae* JSL-GRU-003를 포함한 3 균주는 5% NaCl을 함유한 YPD 배지에서 생육하였다.

ACKNOWLEDGEMENTS

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

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 and Biotechnol* 1996;5:54-58.
2. 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.
3. Hyun SH, Mun HY, Lee HB, Kim HK, Lee JS. Isolation of yeasts from wild flowers in Gyonggi-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. 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.
5. 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.
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*. *Mycobiol* 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;44:108-12.
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 Yeonjisan mountains in Daejeon, Korea. *Kor J Mycol* 2017;45:23-30.
15. Han SM, Lee SY, Lee HB, Lee JS. Isolation of wild yeasts from soils of reed fields in Seocheon-gun county, Chungcheongnam-do, south Korea, and characterization of unrecorded yeasts. *Kor J Mycol* 2017;45:234-50.
16. Han SM, Lee SY, Lee JS. Isolation of wild yeasts from humus-rich soil in city park of Daejeon metropolitan city, Korea, and characterization of the unrecorded wild yeasts. *Kor J Mycol* 2018;46:75-82.
17. 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.
18. 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.
19. 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 Gyungpodaee beaches in Korea. *Kor J Mycol* 2019;47:249-58.
 20. 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.
 21. 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.
 22. 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.
 23. Han SM, Kim JY, Lee JS. Isolation of wild yeasts from the water and riverside soil of Geumgang midstream in Sejong city, Korea, and characterization of unrecorded wild yeasts. *Kor J Mycol* 2019;47:51-61.
 24. Jeong JH, Hong SC, Park HJ, Paik WK. The flora in tributary region of middle stream of the Nakdong River (Young-gang, Naeseong-cheon, Wi-cheon, Gam-cheon and Byeongseong-cheon). *Kor J Plant Res* 2019;32:615-32.
 25. Geum River Basin Environmental Office. Daechung Dam/Daechung Dam upstream mid-range planning report. Korea: Ministry of Environment;2010. p.15.