**RESEARCH ARTICLE** 

# 대<del>둔</del>산과 칠갑산 나뭇잎에서 야생효모들의 분리 및 특성

한상민, 이상엽, 김하근, 이종수\*

배재대학교 바이오 · 의생명공학과

# Characterization of Wild Yeasts Isolated from Leaves Obtained from Mt. Daedun and Mt. Chilgap, Korea

Sang-Min Han, Sang-Yeop Lee, Ha-Kun Kim, Jong-Soo Lee\*

Department of Biomedicinal Science and Biotechnology, Paichai University, Daejeon 35345, Korea

\*Corresponding author: biotech8@pcu.ac.kr

#### **Abstract**

Several yeast strains were isolated from leaves collected from Mt. Daedun and Mt. Chilgap in Korea. A total of 79 strains of 32 species were isolated from 44 leaves obtained from Mt. Daedun. Cryptococcus spp., including Cryptococcus magnus, were found to be dominant, while 16 strains of Aureobasidium pullulans were isolated. Among the strains isolated from Mt. Daedun, Asterotremella humicola JSL502, Barnettozyma californica JSL503, Bullera unica JSL501, Bulleromyces albus JSL505, and Candida vaccinii JSL507 are considered rare yeast species in Korea. All of these rare strains, except for Bulleromyces albus JSL505, formed ascospores. Bullera unica JSL501 was able to grow in yeast extract-peptone-dextrose (YPD) medium containing 10% NaCl. Twenty-five yeast strains of 18 species were isolated from 43 leaves obtained from Mt. Chilgap. Six strains of *Pseudozyma* spp., including three strains of Pseudozyma aphidis, were isolated in the dormant state. Of these strains, the occurrence of Rhodotorula phylloplana JSL515, Rhodotorula pinicola JSL516, Schwanniomyces vanrijiae JSL517, and Sporisorium loudetiae JSL518 is rare in Korea. Only Sporisorium loudetiae JSL518 formed ascospores, while Rhodotorula pinicola JSL516 and Sporisorium loudetiae JSL518 formed pseudomycelia. The halophilic yeast Schwanniomyces vanrijiae JSL517 was isolated and observed to grow in YPD medium containing 5% NaCl.

Keywords: Chilgap Mt., Daedun Mt., Isolation, Leaves, Yeasts

## 서 론

효모는 자낭포자 또는 담자포자를 생성하는 유성세대와 출아법 등으로 영양생식만 유지하는 무성세대를 갖는 진교류의 일종으로 오래 전부터 전통 주류와 장류 제조 등에 주로 이용되

# OPEN ACCESS

Kor. J. Mycol. 2017 March, 45(1): 31-42 https://doi.org/10.4489/KJM.20170004

pISSN: 0253-651X eISSN: 2383-5249

Received: 7 February, 2017 Revised: 24 February, 2017 Accepted: 24 February, 2017

© The Korean Society of Mycology



This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attrib-

ution Non-Commercial License (http://creative-commons.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.

어왔다[1].

지금까지 효모는 주로 발효식품과 이들의 원료 등에서 분리, 동정되어 보고되었으나[1, 2] 최근 필자 등이 우리나라 자연 환경의 효모 종 다양성을 확립하기 위하여 우리나라 주요 산과 섬, 논밭과 과수원, 수목원, 하천 등지의 다양한 야생화들로부터 야생효모들을 분리, 동정하였다[3-10]. 또한 각종 산림 토양[11, 12]이나 담수 주변 토양[13]으로부터 야생 효모들을 분리, 동정 하였고 이들 중 국내 미기록 효모들을 선별하여 미생물학적 특성 등을 조사하여 보고하였다.

이들 야생효모 중 약 38%가 *Cryptococcus*속 균들이었고 *Candida*속 균들도 많이 분리 되었으며 지역간, 야생화 종류간의 효모 종 다양성이 있음을 보고하였다.

본 연구에서는 국내 나뭇잎들의 효모 종 다양성 조사 연구의 일환으로 먼저 충청남도 남부와 전라북도 북부에 걸쳐있는 대둔산과 충청남도 청양군에 있는 칠갑산의 나뭇잎들로부터 야생효모들을 분리, 동정하였고 이들 중 국내 희귀 효모들을 선별하여 이들의 균학적, 배양적특성을 조사하였다.

#### 재료 및 방법

#### 야생효모의 분리 및 동정

충청남도 금산군과 전라북도 완주군에 있는 대둔산 북쪽과 남쪽 지역에 서식하고 있는 소나무( $Pinus\ densiflora$ ), 신갈나무( $Quercus\ mongolica$ ), 굴참나무( $Quercus\ variabilis$ ), 졸참 나무( $Quercus\ serrata$ ), 서어나무( $Carpinus\ laxiflora$ ) 등과 충청남도 청양군 대치면 대치리에 있는 칠갑산에 서식하고 있는 소나무, 편백( $Chamaecyparis\ obtusa$ ), 자작나무( $Betula\ platyphylla$ ), 밤나무( $Castanea\ crenata$ ), 잣나무( $Pinus\ koraiensis$ ) 등의 나뭇잎들을 2016년 6월과 8월 사이에 무균적으로 채취하여 멸균 튜브에 넣고,  $3\ mL$ 의 멸균수를 첨가한 후 1시간 동안 진탕하였다. 이들 현탁액 일부를 스트렙토마이신( $100\ \mu g/mL$ )과 앰피실린( $100\ \mu g/mL$ )이 들어 있는 yeast extract peptone dextrose 한천배지에 도말하고  $30\ mathred or 9$  형성된 효모 집락들을 분리하였다[5].

효모의 동정을 위하여 26S rDNA의 D1/D2 부위의 염기서열을 분석하여 결정하였으며 결정된 염기서열들을 NCBI의 BLAST를 사용하여 데이터베이스에 등록되어 있는 효모들과의 상동성을 비교하였고 분자생물학적 유연관계를 분석하여 동정하였다[5].

#### 국내 희귀 효모의 균학적 특성

전보[4, 6, 11, 14]에서 대둔산과 칠갑산 나뭇잎들로부터 분리한 야생효모들 중 당시에 국내에 보고되지 않은 희귀 효모들에 대하여 일반 미생물 실험방법 등을 이용하여 형태학적, 배양학적 특징 등을 조사하였다[10, 11].

### 결과 및 고찰

#### 대둔산 나뭇잎들로부터 야생효모의 분리 및 동정

Table 1. Yeast isolated from leaves of Daedunsan Mountain in Korea

No.	Putative species	Isolated no.	Related Genebank	Identity (%)	Remarks
1	Asterotremella humicola	JSL502	sequence KY110010.1	637/637 (100%)	North site
2	Aureobasidium pullulans	JSL302 JSL0105	AY213693.1	604/617 (98%)	North Site
2	Aureoousiaium puituians	JSL0105 JSL0106	KX893329.1	608/617 (99%)	
		JSL0100 JSL0107	KX893325.1	575/576 (99%)	
		JSL0107 JSL0108	AY213693.1	608/615 (99%)	
		JSL0108 JSL0109	KX893324.1	608/615 (99%)	
		JSL0109 JSL0110	KX893328.1	609/614 (99%)	
		JSL0110 JSL0111	KX893323.1	606/614 (99%)	
		JSL0111 JSL0112	KX893324.1	574/574 (100%)	
		JSL0112 JSL0113	AY213693.1	597/604 (99%)	
		JSL0113 JSL0114	KX893323.1	588/590 (99%)	
		JSL0114 JSL0115	KX893323.1	594/594 (100%)	
3	Barnettozyma californica	JSL503	KX693323.1 KY106171.1	633/633 (100%)	
4	Bullera unica	JSL503 JSL501	AY887945.1	401/401 (100%)	
5	Bulleromyces albus	JSL501 JSL505	DQ377658.1	637/637 (100%)	
6	Candida sp.	JSL303 JSL0116	EF550331.1	597/597 (100%)	
U	Сапана sp.	JSL0110 JSL0117	JN936885.1	604/607 (99%)	
		JSL0117 JSL0118	AB294739.1	590/591 (99%)	
7	Candida pseudolambica	JSL506	KU316731.1	604/606 (99%)	
8	Cryptococcus aureus	JSL0119	EU304246.1	587/590 (99%)	
9	Cryptococcus bestiolae	JSL0119 JSL0120	FJ534903.1	628/635 (99%)	
	Cryptococcus oesitotae	JSL0120 JSL0121	FJ534903.1	604/606 (99%)	
10	Cryptococcus magnus	JSL0121 JSL0122	AY242120.1	640/644 (99%)	
10	Cryptococcus magnus	JSL0122 JSL0123	JX188126.1	627/634 (99%)	
		JSL0124	AY242120.1	637/644 (99%)	
		JSL0121	JX188126.1	616/616 (100%)	
		JSL0126	JX188126.1	604/604 (100%)	
11	Cryptococcus sp.	JSL0127	JQ327851.1	613/626 (98%)	
••	c. yproceecus sp.	JSL0128	GQ181171.1	577/580 (99%)	
		JSL0129	JX067803.1	573/578 (99%)	
		JSL0130	JQ327851.1	639/642 (99%)	
12	Cryptococcus tephrensis	JSL0131	JN400781.1	593/598 (99%)	
	c.yp.c.c.c.	JSL0132	JX188134.1	618/629 (98%)	
		JSL0133	JN400781.1	624/632 (99%)	
		JSL0134	JN400781.1	621/630 (99%)	
		JSL0135	JX188134.1	632/639 (99%)	
		JSL0136	JX188134.1	605/606 (99%)	
13	Hannaella oryzae	JSL0137	JQ754134.1	602/604 (99%)	
_				(	

Table 1. (Continued)

No.	Putative species	Isolated no.	Related Genebank sequence	Identity (%)	Remarks
14	Microstroma juglandis	JSL0138	EU069497.1	637/642 (99%)	
		JSL0139	EU069497.1	637/644 (99%)	
15	Plowrightia periclymeni	JSL0140	FJ215702.1	589/606 (97%)	
		JSL0141	FJ215702.1	600/616 (97%)	
		JSL0142	FJ215702.1	605/615 (98%)	
16	Pseudozyma prolifica	JSL0143	KU316746.1	633/638 (99%)	
		JSL0144	KU316746.1	643/649 (99%)	
_17	Starmerella bombicola	JSL0145	U45705.1	510/516 (99%)	
1	Aureobasidium pullulans	JSL0146	KX893328.1	637/638 (99%)	South site
		JSL0147	KX893325.1	604/606 (99%)	
		JSL0148	AY213693.1	605/606 (99%)	
		JSL0149	KX893324.1	546/550 (99%)	
		JSL0150	KX893328.1	637/639 (99%)	
2	Candida sp.	JSL0151	AB294739.1	548/553 (99%)	
		JSL0152	EF621560.1	616/616 (100%)	
		JSL0153	JN936885.1	604/604 (100%)	
		JSL0154	EF550331.1	604/604 (100%)	
3	Candida vaccinii	JSL507	U45708.1	449/450 (99%)	
4	Cryptococcus aureus	JSL0155	FJ534903.1	578/578 (100%)	
		JSL0156	EU304246.1	584/585 (99%)	
		JSL0157	EU304246.1	587/590 (99%)	
		JSL0158	EU304246.1	589/591 (99%)	
		JSL0159	EU304246.1	593/593 (100%)	
5	Cryptococcus bestiolae	JSL0160	FJ534903.1	594/597 (99%)	
6	Cryptococcus flavescens	JSL0161	AB698750.1	590/591 (99%)	
		JSL0162	FJ743610.1	598/602 (99%)	
7	Cryptococcus magnus	JSL0163	AY242120.1	594/594 (100%)	
		JSL0164	JX188126.1	597/597 (100%)	
		JSL0165	JX188126.1	604/607 (99%)	
8	Cryptococcus sp.	JSL0166	GQ181171.1	613/613 (100%)	
		JSL0167	AY508880.1	639/639 (100%)	
9	Cryptococcus tephrensis	JSL0168	JX188134.1	588/590 (99%)	
10	Cryptococcus terrestris	JSL0169	KC006535.1	595/600 (99%)	
11	Metschnikowia reukaufii	JSL0170	FJ455114.1	513/517 (99%)	
		JSL0171	JX067756.1	519/523 (99%)	
		JSL0172	JX067756.1	519/525 (99%)	
12	Metschnikowia sp.	JSL0173	JX257178.1	648/648 (100%)	
13	Rhodotorula mucilaginosa	JSL0174	HE660055.1	573/575 (99%)	
14	Rhodotorula slooffiae	JSL0175	EU583485.1	595/596 (99%)	
		JSL0176	AB566328.1	596/600 (99%)	
15	Yarrowia lipolytica	JSL0177	HF545658.1	510/512 (99%)	

대둔산에서 수집한 소나무 등의 나뭇잎들로부터 야생효모들을 분리, 동정한 결과는 Table 1과 같다. 먼저 대둔산의 북쪽 지역인 충남 금산군 진산면 대둔산 기슭의 나뭇잎 22점으로부터 모두 17종 46균주의 효모를 분리, 동정하였다. 분리 균주 중 Aureobasidium pullulans가 11균주로 가장 많았고 Cryptococcus tephrensis가 6균주, Cryptococcus magnus 5균주 순이었다. 또한 전체 분리 균주 중 Cryptococcus속 균이 18균주로 거의 40%를 차지하여 가장 많이 분리 되었다.

대둔산의 남쪽 지역인 전라북도 완주군의 대둔산 기슭에 서식하고 있는 나뭇잎 22점에서는 Cryptococcus aureus와 Aureobasidium pullulans가 각각 5균주를 포함하여 모두15종 33 균주의 야생효모가 분리되었고 대둔산 북쪽에서와 같이 Cryptococcus속 균이 15주로 가장 많았다.

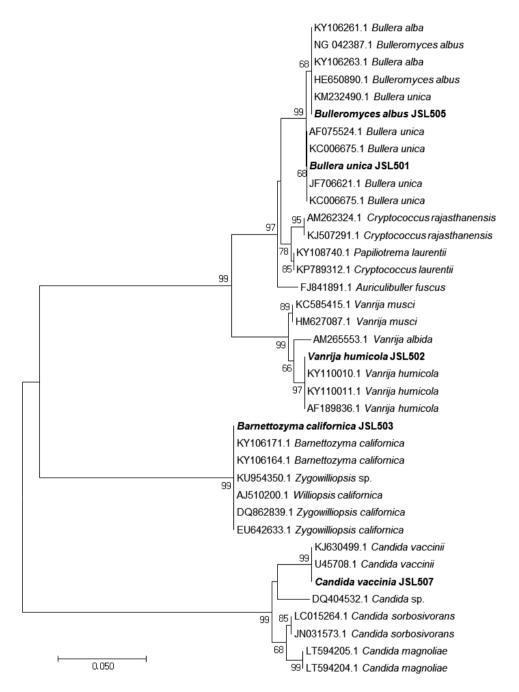
이상의 결과를 종합하면 대둔산 북쪽과 남쪽 지역 나뭇잎들에서 가장 많이 분리된 야생효 모는 Cryptococcus속 균이었고 종 수준에서는 Aureobasidium pullulans가 16균주로 가장 많 았으며 공통으로 분리된 효모들은 Cryptococcus magnus 등 7종이었다. 또한 남쪽 지역보다 는 북쪽 지역에 서식하고 있는 나무들의 잎에서 야생효모 2종 13균주가 더 분리되었다.

지금까지 대둔산의 미생물 종 다양성에 대한 연구는 Cho와 Kim[15]이 대둔산 도립공원의 균류 다양성에 관한 연구에서 풀귀버섯, 주황귀버섯, 다색귀버섯, 부채버섯, 졸각버섯 등의 버섯균류들이 다양하게 분포하고 있음을 보고하였을 뿐 곰팡이와 효모 등의 다양성에 관한 연구는 실시 되지 않았다. 따라서 대둔산의 효모 종 다양성 연구 결과들은 대둔산의 생물 종 다양성 확립과 유용자원 개발 등에 귀중한 자료로 활용 될 수 있을 것으로 생각된다.

#### 대둔산 야생효모 중 국내 희귀 효모들의 선별 및 특성

대둔산에서 분리, 동정한 야생효모 중 전보[4, 6, 11]에서 당시 국내 미기록 효모들이었던 Asterotremella humicola JSL502, Barnettozyma californica JSL503, Bullera unica JSL501, Bulleromyces albus JSL505, Candida vaccinii JSL507 국내 희귀 효모 종들의 phylogenetic tree는 Fig. 1과 같고 이들의 형태적 특징을 조사한 결과는 Table 2와 같다.

이들 균주들중 Bulleromyces albus JSL505만이 포자를 형성하지 않았고 Asterotremella humicola JSL502와 Barnettozyma californica JSL503들은 의균사를 형성하였다. 또한 Barnettozyma californica JSL503만이 비타민이 없는 배지에서 잘 생육하였고 Bullera unica JSL501과 Bulleromyces albus JSL505는 10% NaCl을 함유한 yeast extract-peptone-dextrose (YPD) 배지에서 생육하는 호염성 효모로서 이들로부터 내염성 효소 생산 등의 산업적 응용에 관한 추가 연구가 요구된다. 이들 국내 희귀 효모들에 대한 외국 학술지 보고로는 Cadete 등[16]은 아마존 숲 보존 지역의 썩은 목재 시료들로부터 분리한 224주의 야생효모들 중 xylitol를 생성하는 균주로 Asterotremella humicola를 선별하여 이들의 특성을 보고하였고 Barnettozyma californica은 포도나 포도주에서 처음 분리되었으며[17], D-xylose를 발효시켰고 xylanase 생산하는 효모로도 보고되었다[18]. Bullera unica에 관한 국외 연구로 Golubev와 Nakase[19]는 Bullera unica가 균체 외로 생산하는 killer toxin의 항진균활성과 이들의 표현형 등에 대하여 보고 하였고 Nakase[20]는 1980년에서 2000년까지 아시아-태평양 연안 국가들의 엽권(phyllosphere)에 서식하고 있는 Ballistosporous 효모로 Bullera



**Fig. 1.** Phylogenetic tree of rare yeasts isolated from Daedunsan Mountain 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.

#### unica를 보고한 바 있다.

Moriyama 등[21]은  $Bulleromyces\ albus$ 가 생산하는 decaprenyl diphosphate synthase 유전자를 대장균에 형질전환시켜 Co  $Q_{10}$ 과 Co  $Q_{8}$ 을 생산하였다고 보고 하였고 Sampaio 등 [22]은 포르투갈의 Arrabida 자연공원에서 분리한  $Bullera\ alba$ 와  $Bulleromyces\ albus$ 이 분류학적으로 완전히 다른 분자생물학적 특성이 있음을 보고 하였다.  $Candida\ vaccinii$ 에 관한

Table 2. Characteristics of the rare yeast species from leaves of Daedunsan Mountain in Korea

	Asterotremel la humicola JSL502	Barnettozyma californica JSL503	Bullera unica JSL501	Bulleromyces albus JSL505	Candida vaccinii JSL507
Morphological characteristics					
Shape	E	E	O	O	O
Vegetative reproduction	В	В	В	В	В
Size (µm)	$0.2 \times 0.8$	$0.3 \times 0.7$	$1.3 \times 1.7$	$0.7 \times 1.1$	$1.9 \times 1.2$
Ascospore	+	+	+	-	+
Pseudomycelium	+	+	_	-	_
Cultural characteristics					
Growth on YPD/YM/PD media	+++/++/+	+++/+++/+	++/+++/++	++/+/++	++/+/+++
Color on YPD medium	P	C	W	C	C
Growth on Vitamin-free medium	-	++	-	-	-
Growth on 50% glucose-YPD medium	_	-	-	_	_
Growth on 5%/10%/20% NaCl-YPD medium	-/-/-	-/-/-	++/+/ -	+/+/ -	-/-/-
Growth on temp/pH range	25~37°C /pH 6~7	25~37°C /pH 4~7	25~30°C /pH 6~7	25~30°C /pH 6~7	25~30°C /pH 6~10

YM, yeast extract-malt extract; YPD, yeast extract-peptone-dextrose; PD, potato-dextrose; E, ellipsoidal; O, oval; B, budding; +++, very good growth; ++ or +, good growth; -, no growth; P, pink color; C, cream color; W, white color.

국외 연구로 Sipiczki[23]는 Syria의 Malva 꽃에서 분리한, 내염성 *Starmerella syriaca*가 *Candida vaccinii*와 가장 근연의 균임을 보고하였다.

#### 칠갑산 나뭇잎들로부터 야생효모의 분리 및 동정

충남 청양군 대치면 대치리에 위치한 칠갑산 일대의 소나무, 밤나무, 잣나무 등의 나뭇잎 43점으로부터 야생효모들을 분리, 동정한 결과는 Table 3과 같다.

칠갑산에서는 18종의 효모 25균주 분리하였고 이 중 Pseudozyma aphidis 3균주를 포함하는 Pseudozyma속 균들이 6균주로 가장 많았고 Debaryomyces hansenii와 Kuraishia capsulate, Schwanniomyces vanrijiae가 각각 2균주씩 분리 되었다.

#### 칠갑산 야생 효모 중 국내 희귀 효모들의 특성

칠갑산 일대 나뭇잎들로부터 분리한 야생효모들 중 전보[11, 14]에서 당시 국내 미기록 효모들이었던 Rhodotorula phylloplana JSL515와 Rhodotorula pinicola JSL516, Schwanniomyces vanrijiae JSL517과 Sporisorium loudetiae JSL518의 phylogenetic tree는 Fig. 2와 같고 이들의 형태적, 배양적 특성을 조사한 결과는 Table 4와 같다. 세포의 형태는 구형~타원형으로

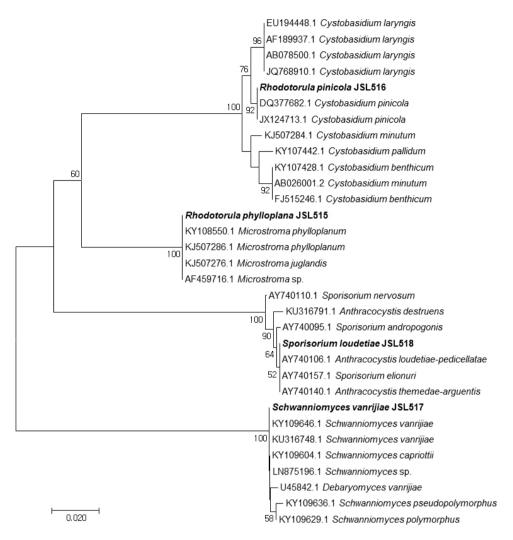
Table 3. Yeasts isolated from leaves of Chilgapsan Mountain in Korea

Putative enecies	Isolated No.	Genebank No	Identity (%)
•			602/616 (98%)
•		•	628/642 (98%)
Debaryomyces hansenii	JSL613	KU316714.1	607/613 (99%)
	JSL612	KU316714.1	608/614 (99%)
Kluyveromyces yarrowii	JSL616	AF313367.1	569/575 (99%)
Kuraishia capsulata	JSL605	DQ409142.1	597/606 (99%)
	JSL621	DQ409142.1	598/606 (99%)
Lachancea thermotolerans	JSL608	CU928180.1	607/614 (99%)
Meyerozyma guilliermondii	JSL609	KU316708.1	605/613 (99%)
	JSL618	LC134306.1	604/614 (98%)
Moesziomyces antarcticus	JSL606	LC176928.1	444/444 (100%)
Ogataea naganishii	JSL611	EU011601.1	567/571 (99%)
Plowrightia periclymeni	JSL622	FJ215702.1	604/618 (98%)
Pseudozyma aphidis	JSL614	JN940519.1	637/648 (98%)
	JSL615	JN940519.1	633/649 (98%)
	JSL602	JN940519.1	640/648 (99%)
Pseudozyma hubeiensis	JSL617	XR_001099828.1	636/649 (98%)
Pseudozyma tsukubaensis	JSL603	LC177041.1	593/596 (99%)
	JSL610	JQ219313.1	605/616 (98%)
Rhodotorula phylloplana	JSL515	KY108550.1	609/613 (99%)
* * *	JSL516	DQ377682.1	600/601 (99%)
_		•	600/613 (98%)
, ,			601/603 (99%)
Sporisorium loudetiae			615/618 (99%)
•			606/615 (99%)
	Kuraishia capsulata  Lachancea thermotolerans Meyerozyma guilliermondii  Moesziomyces antarcticus Ogataea naganishii Plowrightia periclymeni Pseudozyma aphidis  Pseudozyma hubeiensis	Aureobasidium pullulans Cystobasidium minutum JSL623 Debaryomyces hansenii JSL613 JSL612 Kluyveromyces yarrowii JSL616 Kuraishia capsulata JSL605 JSL621 Lachancea thermotolerans Meyerozyma guilliermondii JSL609 JSL618 Moesziomyces antarcticus JSL606 Ogataea naganishii JSL611 Plowrightia periclymeni JSL622 Pseudozyma aphidis JSL614 JSL615 JSL602 Pseudozyma hubeiensis JSL603 Rhodotorula phylloplana JSL515 Rhodotorula pinicola Schwanniomyces vanrijiae JSL607 JSL517 Sporisorium loudetiae	Aureobasidium pullulans         JSL619         EF595769.1           Cystobasidium minutum         JSL623         JQ768913.1           Debaryomyces hansenii         JSL613         KU316714.1           Kluyveromyces yarrowii         JSL616         AF313367.1           Kuraishia capsulata         JSL605         DQ409142.1           Lachancea thermotolerans         JSL608         CU928180.1           Meyerozyma guilliermondii         JSL609         KU316708.1           JSL618         LC134306.1         LC176928.1           Ogataea naganishii         JSL611         EU011601.1           Plowrightia periclymeni         JSL622         FJ215702.1           Pseudozyma aphidis         JSL614         JN940519.1           JSL602         JN940519.1         JSL602           JSL615         JN940519.1           JSL602         JN940519.1           JSL603         LC177041.1           JSL610         JQ219313.1           Rhodotorula phylloplana         JSL515         KY108550.1           Rhodotorula pinicola         JSL516         DQ377682.1           Schwanniomyces vanrijiae         JSL607         KU316748.1           Sporisorium loudetiae         JSL518         KY109604.1

출아에 의해 영양증식을 하였고 *Sporisorium loudetiae* JSL51은 자낭포자를 형성하는 유포 자 효모이었으며 *Sporisorium loudetiae* JSL518과 *Rhodotorula pinicola* JSL516은 의균사를 형성하였다.

교주 모두 YPD 배지와 yeast extract-malt extract 배지, potatoes dextrose 배지에서 잘 생육하였고 Schwanniomyces vanrijae JSL517과 Rhodotorula phylloplana JSL515는 비타민이 없는 배지에서도 잘 생육하였다. 특히 Rhodotorula pinicola JSL516과 Schwanniomyces vanrijiae JSL517은 5% NaCl을 함유한 YPD 배지에서도 생육하는 호염성 효모이었다. 또한이들 희귀 효모 균주들은 20∼30와 pH 4.0∼7.0에서 생육하였다.

이들 효모들에 대한 외국 학술지 발표로 Janisiewicz 등[24]은 자두 표면에서 분리된 Rhodotorula phylloplana이 핵과류의 균핵병을 생물학적으로 방제하기 위한 유용 효모임을 보고 하였고 Zhou 등[25]은 등골나물(Eupatorium adenophorum)의 병이 없는 잎에서 분리한 Ustilaginomycetes 균들이 Rhodotorula phylloplana와 근연균임을 보고 하였다. 또한 Vaca 등[26]은 남극 해안 해면동물에서 저온내성 효모로서 Rhodotorula pinicola를 분리하



**Fig. 2.** Phylogenetic tree of rare yeasts isolated from Chilgapsan Mountain 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.

여이들의 균체 외효소 생성 유무를 확인한 결과 전분과 단백질, 지질 분해 활성이 있어 이들이 산업적으로 매우 중요한 자원이 될 것으로 보고하였다. Maksimova 등[27]은 러시아 Novosibirsk 근처의 Birch-Pine Grass 숲의 Anthill material에서 우점균 효모로 본 연구의 희귀 효모인 Schwanniomyces vanrijiae를 보고하였고 Ingold[28]는 Sporisorum loudetiae-pedicellatae를 남아프리카 북부 Chippind에서 분리하여 이들의 특이적인 동포자(teliospore)의 발아에 대하여 보고하였다.

#### 적 요

충청남도와 전라북도에 걸쳐있는 대둔산과 충청남도 청양군 칠갑산의 각종 나뭇잎 87점을 수집하여 야생효모들을 분리, 동정하였다. 대둔산 나뭇잎들에서는 *Cryptococcus tephrensis* JSL0131를 포함하는 *Cryptococcus*속 균이 18균주로 가장 많이 분리되었고

**Table 4.** Characteristics of the rare yeasts species from leaves of Chilgapsan Mountain in Korea

	Rhodotorula phylloplana JSL515	Rhodotorula pinicola JSL516		Sporisorium loudetiae JSL518
Morphological characteristics				
Shape	O	0	G	E
Vegetative reproduction	В	В	В	В
Size (µm)	$0.9 \times 1.2$	1.3 × 1.9	1.1 × 1.2	$0.8 \times 0.2$
Ascospore	_	_	_	+
Pseudomycelium	_	+	_	+
Cultural characteristics				
Growth on YPD/YM/PD media	++/+/++	+++/++/++	++/++/+++	++/+/++
Color on YPD medium	C	C	P	C
Growth on Vitamin-free medium	++	-	++	_
Growth on 50% glucose-YPD medium	-	-	_	_
Growth on 5%/10%/20% NaCl-YPD medium	-/-/-	+/-/-	++/-/-	-/-/-
Growth on temp/pH range	25~30°C/pH 4~7	20~30°C/pH 6~7	20~30°C/pH 4~7	25~30°C/pH 6~7

YM, yeast extract-malt extract; YPD, yeast extract-peptone-dextrose; PD, potato-dextrose; O, oval; G, global; E, ellipsoidal; B, budding; +++, very good growth; ++ or +, good growth; -, no growth; C, cream color; P, pink color; W, white color.

Aureobasidium pullulans도 16균주가 분리되었다. 이들 중에서 Asterotremella humicola JSL502, Barnettozyma californica JSL503, Bullera unica JSL501, Bulleromyces albus JSL505와 Candida vaccinia JSL507이 국내 희귀 효모들이었고 Bulleromyces albus JSL505와 Bullera unica JSL501은 10%의 NaCl을 함유한 배지에서도 생육하는 호염성 효모였다. 칠갑산 나뭇잎에서는 Pseudozyma aphidis JSL614를 포함하는 Pseudozyma속 균이 가장 많이 분리 되었다. Rhodotorula phylloplana JSL515, Rhodotorula pinicola JSL516과 Schwanniomyces vanrijiae JSL517과 Sporisorium loudetiae JSL518 등 4균주들이 국내 희귀 종이었고 Sporisorium loudetiae JSL518은 포자와 의균사를 형성하였으며 Rhodotorula pinicola JSL516과 Schwanniomyces vanrijiae JSL517은 5% NaCl을 함유한 YPD 배지에서 생육하는 호염성 효모이었다.

# **Acknowledgements**

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

#### REFERENCES

- Lee JS, Yi SH, Kwon SJ, Ahn C, Yoo JY. Enzyme activities and physiological functionality of yeasts from traditional Meju. Korean J Appl Microbiol Biotechnol 1997;25:448-53.
- 2. Min JH, Kim YH, Kim JH, Choi SY, Lee JS, Kim HK. Comparison of microbial diversity of Korean commercial Makgeolli showing high  $\beta$ -glucan content and high antihypertensive activity, respectively. Mycobiology 2012;40:138-41.
- 3. Min JH, Ryu JJ, Kim HK, Lee JS. Isolataion and identification of yeasts from wild flowers in Gyejoksan, Oseosan and Baekamsan of Korea. Kor J Mycol 2013;41:47-51.
- 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. Korean J Microbiol Biotechnol 2013;41:383-90.
- 5. 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.
- 6. 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.
- 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.
- 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; 44:108-12.
- 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. 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;41:185-91.
- 15. Cho DH, Kim JM. Biodiversities and fungal resources of Mt. Daedun provincial park. Korean J Plant Res 2003;16:119-20.
- 16. Cadete RM, Melo MA, Dussán KJ, Rodrigues RC, Silva SS, Zilli JE, Vital MJ, Gomes

- FC, Lachance MA, Rosa CA. Diversity and physiological characterization of D-xylose-fermenting yeasts isolated from the Brazilian Amazonian Forest. PLoS One 2012;7:e43135.
- 17. Drumonde-Neves J, Franco-Duarte R, Lima T, Schuller D, Pais C. Yeast biodiversity in vineyard environments is increased by human intervention. PLoS One 2016;11:e0160579.
- Morais CG, Cadete RM, Uetanabaro AP, Rosa LH, Lachance MA, Rosa CA. D-xylosefermenting and xylanase-producing yeast species from rotting wood of two atlantic rainforest habitats in brazil. Fungal Genet Biol 2013;60:19-28.
- 19. Golubev VI, Nakase T. Mycocinogeny in Bullera genus: killer activity of *Bullera unica* and intragenus killer-sensitive relationships. Mikrobiologiia 1998;67:225-30.
- 20. Nakase T. Expanding world of ballistosporous yeasts: distribution in the phyllosphere, systematics and phylogeny. J Gen Appl Microbiol 2000;46:189-216.
- 21. Moriyama D, Kaino T, Yajima K, Yanai R, Ikenaka Y, Hasegawa J, Washida M, Nanba H, Kawamukai M. Cloning and characterization of decaprenyl diphosphate synthase from three different fungi. Appl Microbiol Biotechnol 2017;101:1559-71.
- 22. Sampaio JP, Inácio J, Fonseca A, Gadanho M, Spencer-Martins I, Scorzetti G, Fell JW. *Auriculibuller fuscus* gen. nov., sp. nov. and *Bullera japonica* sp. nov., novel taxa in the Tremellales. Int J Syst Evol Microbiol 2004;54:987-93.
- 23. Sipiczki M. Starmerella syriaca f.a., sp. nov., an osmotolerant yeast species isolated from flowers in Syria. Antonie Van Leeuwenhoek 2015;107:847-56.
- 24. Janisiewicz WJ, Jurick WM 2nd, Peter KA, Kurtzman CP, Buyer JS. Yeasts associated with plums and their potential for controlling brown rot after harvest. Yeast 2014;31: 207-18.
- Zhou ZX, Jiang H, Yang C, Yang MZ, Zhang HB. Microbial community on healthy and diseased leaves of an invasive plant Eupatorium adenophorum in southwest China. J Microbiol 2010;48:139-45.
- Vaca I, Faúndez C, Maza F, Paillavil B, Hernández V, Acosta F, Levicán G, Martínez C, Chávez R. Cultivable psychrotolerant yeasts associated with Antarctic marine sponges. World J Microbiol Biotechnol 2013;29:183-9.
- 27. Maksimova IA, Glushakova AM, Kachalkin AV, Chernov IY, Panteleeva SN, Reznikova ZI. Yeast communities of *Formica aquilonia* colonies. Microbiology 2016;85:124-9.
- 28. Ingold CT. Unusual teliospore germination in *Ustilago triodiae* and *Sporisorium loudetiae-pedicellatae*. Mycol Res 1999;103:137-40.