

RESEARCH ARTICLE

향신료 재배 토양과 주변 산림 토양으로부터 야생효모의 분리 및 국내 미기록 효모들의 특성

김지윤, 한상민, 박선정, 장지은, 이종수*
배재대학교 바이오·의생명공학과

Isolation and Characterization of Unrecorded Wild Yeasts Obtained from Soils of Spice Fields and Mountains

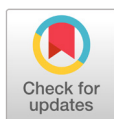
Ji-Yoon Kim, Sang-Min Han, Seon-Jeong Park, Ji-Eun Jang and Jong-Soo Lee*
Department of Biomedical Science and Biotechnology, Paichai University, Daejeon 35345, Korea

*Corresponding author: biotech8@pcu.ac.kr

Abstract

The goal of this study was to investigate the diversity present among wild yeasts obtained from soils of spice fields and from mountain soils, and to further, characterize previously unrecorded novel wild yeast strains. In total, 36 strains from 17 different species of wild yeasts were isolated from 35 soil samples obtained from garlic fields of Geumsan, Chungcheongnam-do, Korea. Among these, six yeast strains of *Trichosporon moniliiforme*, and four strains each of *Papiliotrema flavescens* and *Candida melibiosica* species were isolated. Additionally, 22 strains of 18 different species of wild yeasts were isolated from 32 soil samples collected from the ballonflower and ginger fields of Geumsan, Korea. Finally, 46 strains of wild yeasts were isolated from 35 soil samples obtained from Mt. Daedun in Geumsan, Korea. Among the total of 106 isolated wild yeast strains, 10 strains, including *Debaryomyces vindobonensis* GHY31-3 represented novel yeast strains which were previously unrecorded. All the 10 previously unrecorded yeasts were oval or global in shape, and five strains, including *Filobasidium stepposum* SFG1-4 formed ascospores. Three strains, including *Pseudozyma alboarmeniaca* CD 23-5 grew well in vitamin-free medium. Cell-free extract obtained from *Filobasidium magnum* SFG1-3 indicated 28.6% of xanthine oxidase inhibitory activity.

Keywords: Microbiological characteristics, spices field, mountain soils, unrecorded wild yeasts



OPEN ACCESS

pISSN : 0253-651X
eISSN : 2383-5249

Kor. J. Mycol. 2020 June, 48(2): 151-160
<https://doi.org/10.4489/KJM.20200016>

Received: March 07, 2020

Revised: June 26, 2020

Accepted: June 28, 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

진균류 중 곰팡이와 더불어 산업적으로 매우 유용하게 오래전부터 사용되어 오고 있는 효모는 그동안 우리나라 전통 발효식품 등으로부터 주로 분리되었고[1,2], 근래에 산과 섬, 과수원, 수목원 등의 다양한 꽃들과 토양 등으로부터 다양한 야생효모들이 분리, 동정되었다[3-22]. 또한, 생리활성이 우수한 비병원성 야생효모들과 국내 미기록 야생효모들의 균학적 특성 등이 보고되었다[23-27].

위와 같이 지금까지의 야생효모들은 주로 야생화들이나 산, 들, 공원 등의 토양과 부식물들로부터, 분리, 동정되어 왔다. 그러나, 향신료나 인삼 등의 특용작물 집단 재배지 토양은 인근 지역의 일반 농작물 재배지 토양들과 온도, 습도 등이 유사한 환경임에도 불구하고 이들 토양의 물성과 비옥도, 미네랄 및 유기물 함량 차이와 재배 작물 종류에 따라 독특한 미생물 종 다양성을 형성할 것으로 생각된다. 특히 마늘, 생강 등의 향신료들이나 인삼, 당귀 등의 약용작물들은 생육 중에 직, 간접적으로 특유의 다양한 물질들을 생성하며 일부는 토양주변으로 분비하여 야생효모 등의 생물체들이 독특하게 분포할 것으로 추정된다.

따라서 필자들은 특용작물 재배지 토양의 효모 분포 특이성을 조사하고 이들중 아직까지 국내에 보고되지 않은 야생효모들을 선별하여 이들의 특성을 밝히고자 전보[20]에서는 충남 금산군 진악산주변의 향신료 재배환경으로부터 분리된 야생효모들 중에서 선별된 5종의 국내 미기록 효모들의 균학적 특성과 향치매 활성을 측정하여 보고하였다.

본 연구에서는 충청남도 금산군 진산면의 향신료 재배토양과 인근 대둔산 일대의 토양에서 야생효모들을 분리, 동정하였고 분리한 야생효모들 중 10종의 국내 미기록 효모들을 선별하여 이들의 주요 균학적 특성과 생리활성 등을 조사하였다

재료 및 방법

야생효모의 분리 및 동정

충청남도 금산군 진산면의 도라지, 마늘, 생강 등 향신료 재배토양과 인근 대둔산 토양들을 2018년 8월과 2019년 4월에 걸쳐 모두 105점을 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 30에서 48시간 배양한 후 형성된 효모 집락들을 분리하였다[19, 20].

분리된 효모들의 동정을 위하여 먼저 이들의 26S rDNA의D1/D2 부위의 염기서열들을 결정한 후, 결정된 염기서열들은 NCBI의 BLAST를 사용하여 데이터베이스에 등록되어 있는 효모들과 상동성을 비교하여 분자생물학적 유연관계를 분석하고 동정하였다[10-12].

국내 미기록 효모들의 선별 및 특성

위와 같이 도라지, 마늘, 생강 등 향신료 재배 토양과 인근 대둔산 토양 등에서 분리, 동정한 104 균주의 야생효모들을 대상으로 국립생물자원관 DB와 한국 진균관련 학술자료들을 이용하여 국내 미기록 효모들을 선별하였다.

이들 미기록 야생효모 균주들의 형태학적 특성과 배양학적 특성은 일반 미생물 실험법에 따라 조사하였고, 단백질분해효소, 전분분해효소 및 섬유소분해효소 생성 여부를 skim milk, 가용성 전분과 CM cellulose 등을 이용하여 측정하였다[14, 15]. 또한, 이들을 YPD 배지에 접종하여 30°C에서 24시간 배양하여 무세포추출물을 제조한 후 항산화 활성, 항통풍성 Xanthine oxidase (XOD)저해활성과 미백성 Tyrosinase 저해활성들을 측정하였다[8].

결과 및 고찰

향신료 재배지 토양과 산림 토양들로부터 야생효모들의 분리 및 동정

충청남도 금산군 진산면의 향신료 재배토양 58점에서 야생효모들을 분리, 동정한 결과 Table 1과 Table 2와 같이 모두 35종 58균주의 야생효모들을 분리, 동정하였다.

Table 1. Isolated wild yeasts from soils of garlic field in Geumsan, Chungcheongnam-do, Korea.

No.	Putative species	Isolated No.	Related Genebank No.	Identity (%)	Remark (collected field)
1	<i>Barnettozyma californica</i>	M4a-2	KY106171.1	630/635 (99)	Garlic cultivation area (<i>Allium sativum</i> L.)
2	<i>Candida friedrichii</i>	M12-6	KY106453.1	587/592 (99)	
3	<i>Candida intermedia</i>	M4a-1	LT635767.1	558/563 (99)	
		M4b-1	LT635767.1	555/562 (99)	
		M4c-1	LT635767.1	555/563 (99)	
4	<i>Candida melibiosica</i>	M2b-1	KY106567.1	547/558 (98)	
		M2c-1	NG_055230.1	489/490 (99)	
		M4b-3	KY106567.1	551/559 (99)	
5	<i>Candida pseudolambica</i>	M1a-2	KU316731.1	598/605 (99)	
		M1b-2	KU316731.1	595/605 (98)	
		M1c-1	KU316731.1	596/604 (99)	
6	<i>Cryptococcus laurentii</i>	M3c-1	AJ876597.1	629/640 (98)	
		M7b-2	KU316755.1	624/639 (98)	
		M10c-1	KU316736.1	637/641 (99)	
		M15-1	KU316755.1	631/643 (98)	
7	<i>Cryptococcus luteolus</i>	M9c-1	AM160633.1	630/640 (98)	
8	<i>Cyberlindnera fabianii</i>	M14-1	KY778710.1	540/553 (98)	
9	<i>Debaryomyces vindobonensis</i>	GHY31-3	KY107591.1	611/615 (99)	
10	<i>Filobasidium stepposum</i>	SFG1-4	MN128835.1	641/643 (99)	
11	<i>Hannaella oryzae</i>	M9b-1	KM246122.1	635/641 (99)	
		M13-3	KM246122.1	630/641 (98)	
12	<i>Meyerozyma guilliermondii</i>	M1c-3	MG015938.1	605/616 (98)	
13	<i>Papiliotrema flavescens</i>	M4c-4	MF045447.1	626/640 (98)	
		M8c-3	MF045447.1	636/641 (99)	
		M12-1	MF045447.1	630/641 (98)	
		M17-2	MF045447.1	629/640 (98)	
14	<i>Papiliotrema laurentii</i>	M8a-2	KY218681.1	593/593 (100)	
15	<i>Pseudozyma alboarmeniaca</i>	CD23-5	MF187551.1	623/624 (99)	
16	<i>Trichosporon moniliiforme</i>	M3a-1	KU316725.1	630/638 (99)	
		M5a-1	KU316725.1	633/638 (99)	
		M6c-1	KT895976.1	632/639 (99)	
		M7b-1	KU316725.1	631/637 (99)	
		M8b-1	KT895976.1	629/639 (98)	
		M13-1	KU316725.1	629/638 (99)	
		M1a-3	KY296073.1	612/618 (99)	
17	<i>Wickerhamomyces anomalus</i>	M4c-2	KY296073.1	610/618 (99)	

Table 2. Isolated wild yeasts from soils of ballonflower and ginger field in Geumsan, Chungcheongnam-do, Korea.

No.	Putative species	Isolated No.	Related Genebank No.	Identity (%)	Remark (collected field)
1	<i>Cryptococcus podzolicus</i>	R 5-2	KT895970.1	639/641 (99)	Ballonflower cultivation area (<i>Platycodon grandiflorus</i>)
2	<i>Cyberlindnera saturnus</i>	R 5-1	KU316712.1	616/619 (99)	
		R 6-1	KU316712.1	608/619 (98)	
3	<i>Hannaella oryzae</i>	R 7-4	KM246122.1	630/642 (98)	
4	<i>Holtermanniella takashimae</i>	R 1-4	FM242574.1	632/643 (98)	
5	<i>Nadsonia starkeyi-henricii</i>	R 6-2	EU289354.1	533/544 (98)	
6	<i>Papiliotrema anemochoreius</i>	NK2-12	NG_058364.1	640/640 (100)	
7	<i>Papiliotrema flavescens</i>	R 1-2	MF045447.1	629/642 (98)	
		R8-1	MF045447.1	631/641 (98)	
8	<i>Papiliotrema laurentii</i>	R 5-3	KY108740.1	630/640 (98)	
		R10-1	KY108740.1	635/641 (99)	
9	<i>Piskurozyma taiwanensis</i>	R 4-1	LC178803.1	586/589 (99)	
10	<i>Saitozyma podzolica</i>	R 3-5	KY107252.1	637/640 (99)	
		R 5-5	KY107252.1	636/640 (99)	
1	<i>Candida intermedia</i>	PA1b-1	LT635767.1	557/563 (99)	Ginger cultivation area (<i>Zingiber officinale</i>)
2	<i>Debaryomyces hansenii</i>	K2a-1	KU316713.1	601/612 (98)	
3	<i>Meyerozyma guilliermondii</i>	K5a-1	MG015938.1	608/616 (99)	
4	<i>Papiliotrema laurentii</i>	K4b-2	KY108740.1	630/640 (98)	
5	<i>Rhodotorula oryzaicola</i>	PA3c-1	AB863570.1	497/504 (99)	
6	<i>Rhodotorula taiwanensis</i>	K5c-2	KY109163.1	602/617 (98)	
7	<i>Sampaiozyma ingeniosa</i>	K1c-3	KY109536.1	621/631 (98)	
8	<i>Trichosporon moniliiforme</i>	K4b-1	KT895976.1	629/639 (98)	

이들 중 마늘밭에서 36균주들이 분리, 동정되었는데 *Trichosporon moniliiforme* 균주가 6균주로 가장 많았고, *Papiliotrema flavescens*와 *Candida melibiosica* 균들도 각각 4균주 씩 분리되었다. 그러나 도라지와 생강 재배 토양에서는 동일한 수의 시료에서 마늘재배 토양에서보다 적은 22균주만이 분리되었다. 이러한 야생효모 분리 균주 수는 김등[19]이 인삼과 당귀 재배 토양시료 50점에서 야생효모 21종 43균주를 분리하였고, 이들 지역에서 *Rhodotorula glutinis*와 *Cyberlindnera saturnus* 균주가 우점균의 분포 특성을 보였다.

한편, 향신료 재배지 인근의 대둔산 일대 산림 토양 등에서 야생효모들을 분리, 동정한 결과는 Table 3과 같다. 시료 35점에서 *Metschnikowia reukaufii* 등 모두 36종 46균주의 야생효모들이 분리, 동정되었고 향신료 재배지 토양에서보다 다양한 종류의 야생효모들이 분리된 것은 대둔산의 동쪽과 남쪽의 비교적 광범위한 지역에서 시료를 채취하였기 때문인 것으로 추정된다.

국내 미기록 야생효모들 선별 및 특성

위와 같이 향신료 재배지 토양들과 대둔산 일대 산림토양 등으로부터 분리한 야생효모들 중 *Debaryomyces vindobonensis* GHY31-3 (NIBRFGC000503421), *Pseudozyma alboarmeniaca* CD23-5 (NIBRFGC000503422), *Filobasidium stepposum* SFG1-4 (NIBRFGC000503423), *Aureobasidium caulivorum* HD17-5 (NIBRFGC000503424), *Metschnikowia noctiluminum* HD29-2 (NIBRFGC000503425), *Papiliotrema anemochoreius* NK2-12 (NIBRFGC000503426), *Hannaella surugaensis* DCH25-5 (NIBRFGC000503430), *Microbotryozyma collariae* DCH1-4 (NIBRFGC000503428), *Rhodospodiobolus lusitaniae* DCH30-2 (NIBRFGC000503427), *Wickerhamiella azyma* DCH46-3 (NIBRFGC000503429) 등 10균주들이 국내 미기록 효모들로 최종 선별되었다.

Table 3. Isolated wild yeasts from soils of Mt. Daedun in Chungcheongnam-do, Korea.

No.	Putative species	Isolated No.	Related Genebank No.	Identity (%)	Remark (collected field)
1	<i>Candida glabrata</i>	GHY44-3	HM591628.1	577/577 (100)	East site
2	<i>Candida vartiovaarae</i>	GMM14-2	KU316734.1	612/618 (99)	
3	<i>Cryptococcus bestiolae</i>	GHP41-1	AY917100.1	624/633 (99)	
4	<i>Debaryomyces hansenii</i>	GHY8-1	KU316787.1	608/614 (99)	
		GHY24-1	KU316787.1	610/614 (99)	
5	<i>Hannaella oryzae</i>	GHP50-1	KM246122.1	638/641 (99)	
6	<i>Holtermanniella takashimae</i>	GHY13-1	FM242574.1	638/643 (99)	
		GHY41-1	FM242574.1	639/642 (99)	
7	<i>Kazachstania unispora</i>	GMM12-1	HM627101.1	608/616 (99)	
8	<i>Kodamaea ohmeri</i>	GMM21-1	HM771259.1	494/495 (99)	
9	<i>Lachancea thermotolerans</i>	GHY44-1	HM191681.1	570/571 (99)	
10	<i>Metschnikowia koreensis</i>	GMM38-1	KC160624.1	490/497 (99)	
11	<i>Metschnikowia reukaufii</i>	GMM3-1	JX067756.1	549/556 (99)	
		GHY10-1	FJ527190.1	487/488 (99)	
		GHY14-1	JX067756.1	551/558 (99)	
		GHY26-1	JX067756.1	553/557 (99)	
12	<i>Meyerozyma guilliermondii</i>	GHP25-1	MG015938.1	606/614 (99)	South site
		GHY29-1	MG015938.1	607/613 (99)	
13	<i>Papiliotrema flavescens</i>	GHY19-1	MF045447.1	631/642 (98)	
14	<i>Pichia guilliermondii</i>	GMM24-1	AY894828.1	603/605 (99)	
15	<i>Rhodospidium fluviale</i>	GMM1-1	KJ507301.1	614/618 (99)	
16	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	GHP40-2	KU316766.1	603/617 (98)	
17	<i>Rhodotorula nothofagi</i>	GHP20-2	MH594964.1	570/571 (99)	
18	<i>Vishniacozyma victoriae</i>	GHY23-2	MF462753.1	591/600 (99)	
1	<i>Aureobasidium caulivorum</i>	HD17-5	MH870057.1	613/614 (99)	
2	<i>Aureobasidium pullulans</i>	NKY11-1	JX103180.1	607/614 (99)	
		SFG38-4	JX067761.1	605/615 (98)	
3	<i>Bullera alba</i>	NK2-8	DQ377658.1	631/640 (99)	
4	<i>Candida boleticola</i>	SFG47-2	KY106351.1	560/564 (99)	
5	<i>Cryptococcus tephrensii</i>	SFG36-6	GQ911508.1	590/592 (99)	
6	<i>Dioszegia zsoitii</i>	NKY18-6	JQ219318.1	623/634 (98)	
7	<i>Filobasidium magnum</i>	SFG1-3	MF448298.1	602/602 (100)	
		SFG3-3	KY107722.1	636/643 (99)	
		SFG36-1	KY107722.1	638/645 (99)	
8	<i>Hannaella surugaensis</i>	DCH25-5	NG_058303.1	933/935 (99)	
9	<i>Hannaella zeae</i>	SFG8-3	NG_058304.1	635/641 (99)	
10	<i>Metschnikowia noctiluminum</i>	HD29-2	KJ706935.1	500/500 (100)	
11	<i>Microbotryozyma collariae</i>	DCH1-4	AB831085.1	534/537 (99)	
12	<i>Microstroma juglandis</i>	NK24-2	KJ507276.1	636/643 (99)	
13	<i>Papiliotrema aurea</i>	SFG38-2	JN004200.1	592/596 (99)	
14	<i>Pseudozyma tsukubaensis</i>	SFG8-1	NG_058382.1	644/649 (99)	
15	<i>Rhodospordiobolus lusitaniae</i>	DCH30-2	AF070423.1	613/621 (99)	
16	<i>Rhodotorula glutinis</i>	SFG5-2	MF045460.1	607/613 (99)	
		SFG13-3	MF045460.1	611/617 (99)	
17	<i>Sakaguchia dacryoidea</i>	SFG20-3	KY109529.1	574/584 (98)	
18	<i>Wickerhamiella azyma</i>	DCH46-3	KC798427.1	562/570 (99)	

군학적 특성; 이들 국내 미기록 효모들의 형태적, 배양적 특성과 분자생물학적 유연관계는 각각 Table 4와 Fig. 1과 같다. 이들 미기록 효모들은 구형 또는 타원형으로 출아 및 분열에 의해 영양 증식을 하였고, *Filobasidium stepposum* SFG1-4, *Metschnikowia noctiluminum* HD29-2, *Papiliotrema anemochoreius* NK2-12, *Rhodospordiobolus lusitaniae* DCH30-2 와 *Hannaella surugaensis* DCH25-5들은 포자를 형성하였다.

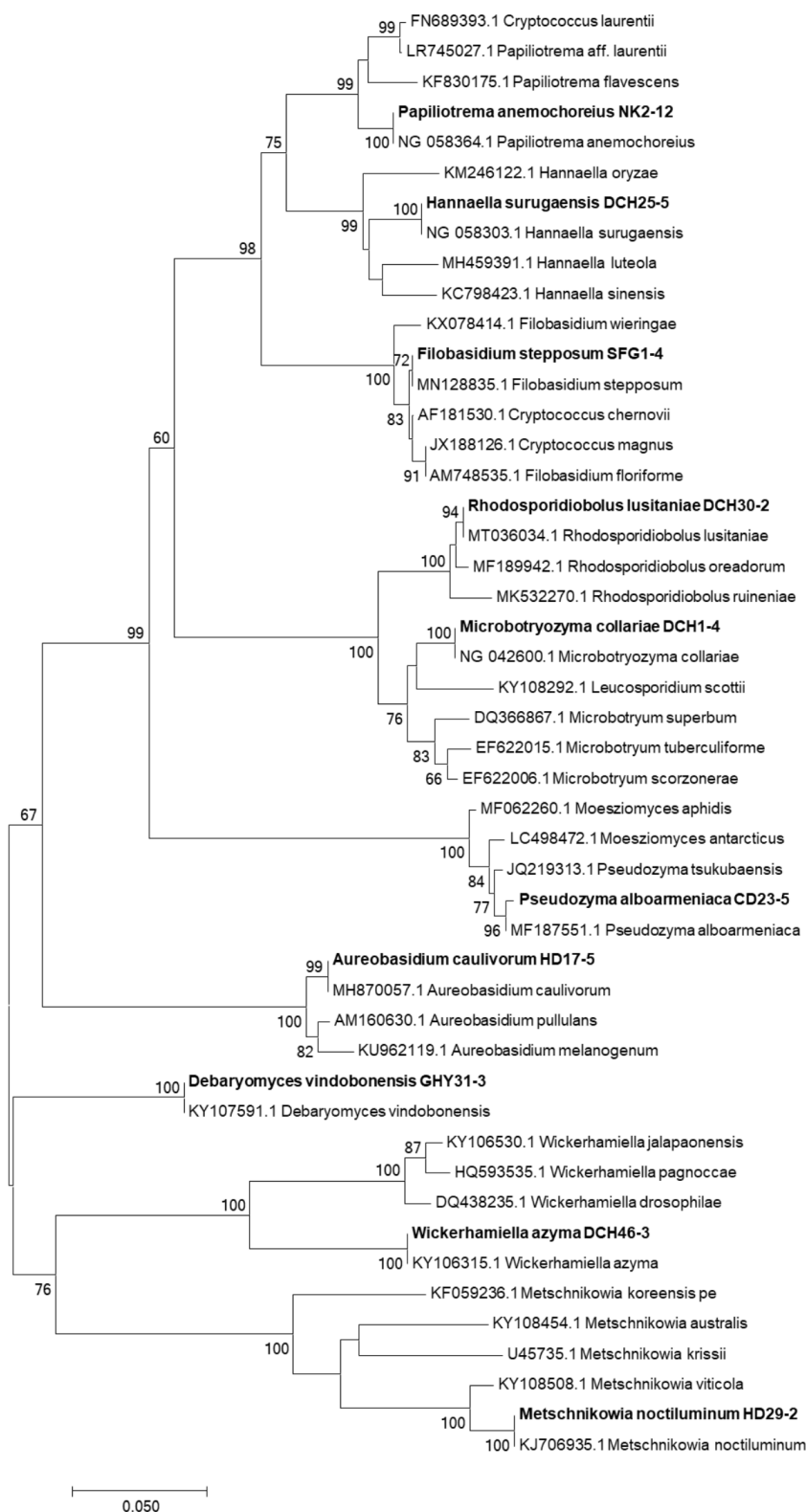


Fig. 1. Phylogenetic tree of the unrecorded yeasts isolated from soils of spices plants fields and Mt. Daedun of Chungcheongnam-do, Korea, based on the nucleotide sequences of large subunit 26S ribosomal DNA D1/D2 region. The tree was generated by the neighbor-joining method, using MEGA7.

모든 미기록 효모들은 YPD 배지와 yeast extract-malt extracts (YM)배지에서 잘 자랐으며, *Pseudozyma alboarmeniaca* CD 23-5, *Microbotryozyma collariae* DCH1-4와 *Wickerhamiella azyma* DCH46-3 균주들은 비타민을 첨가하지 않은 YPD 배지에서도 모두 생육하였다. 특히 *Wickerhamiella azyma* DCH 46-3는 20% 포도당을 함유한 YPD 배지에서, *Debaryomyces vindobonensis* GHY31-3 균주는 5% NaCl을 함유한 YPD 배지에서 잘 자라는 특성을 지니고 있어 이들 효모들은 내당성과 내염성 효소 생산 등의 산업적인 이용에 매우 유용할 것으로 추정된다.

효소 활성과 생리활성; 위와 같이 선별한 국내 미기록 야생효모들에 대하여 건강 소재 생성 균주로 활용하기 위한 생리 활성 기능으로 항산화 활성 및 항통풍성 Xanthine oxidase 저해 활성과 미백성 tyrosinase 저해활성을 측정하였다(Table 5).

항산화 활성은 거의 없거나 10% 미만의 활성을 보였으나, Xanthine oxidase 저해 활성은 *Filobasidium magnum* SFG1-3가 28.6%로 높은 활성을 보였기 때문에 항통풍성 기능성 소재로 활용 가능성이 있음을 확인할 수 있었다. 이들 활성은 Han 등[23]이 야생화에서 분리한 *Sporobolomyces ruberrimus* 121-Z-3 무세포추출물의 48.4%, *Kuraishia capsulata* UL40-2의 46.4%와 느타리 버섯 물 추출물의 78.3%보다 낮은 활성을 나타내었으나[28], Hyun 등[4]이 제주도 야생화에서 분리한 *Pseudozyma hubeiensis* 228-8-1 효모 무세포추출물의 19.6% 보다는 높은 활성을 보였다.

미백성 tyrosinase 저해활성은 *Rhodotorula mucilaginosa* GHP40-2 무세포추출물이 26%로 가장 높았고 *Candida glabrata* GHY44-3 균주도 20.5%를 보였다. 이들 생리활성은 인삼밭 토양에서 Kim 등 [27]이 분리한 야생효모 *Naganishia globosa*의 28%와 Han 등[23]의 *Starmerella bombicola*의 저해활성(36.2%)보다는 낮은 활성을 나타내었다.

적요

향신료 재배 토양 내에서 분리한 효모 중 이들의 분포와 국내 미기록 야생효모들의 특성을 조사한 결과, 충청남도 금산군 진산면의 향신료 재배토양에서 35종 58균주의 야생효모들을 분리, 동정하였고 *Trichosporon moniliiforme*균이 우점균으로 확인되었다. 또한, 대둔산 일대 산림토양에서 46균주의 야생효모들을 분리하였고 이들 향신료 토양들과 산림 토양 등에서 분리한 야생효모들 중 아직까지 국내에 보고되지 않은 *Debaryomyces vindobonensis* GHY31-3, *Pseudozyma alboarmeniaca* CD23-5, *Filobasidium stepposum* SFG1-4, *Aureobasidium caulivorum* HD17-5, *Metschnikowia noctiluminum* HD29-2, *Papiliotrema anemochoreius* NK2-12, *Hannaella surugaensis* DCH25-5, *Microbotryozyma collariae* DCH1-4, *Rhodospordiobolus lusitaniae* DCH30-2, *Wickerhamiella azyma* DCH46-3등 10균주의 국내 미기록 효모들을 선별하였다. 이들 미기록 균주들은 구형-타원형으로 출아, 분열법으로 영양 증식하였다. *Filobasidium stepposum* SFG1-4균주를 포함하는 5균주들은 포자를 형성하였고 *Pseudozyma alboarmeniaca* CD 23-5등 3 균주들은 비타민을 첨가하지 않은 YPD 배지에서도 모두 생육하였다. *Wickerhamiella azyma* DCH 46-3는 20% 포도당을 함유한 YPD 배지에서, *Debaryomyces vindobonensis* GHY31-3 균주는 5% NaCl을 함유한 YPD 배지에서 잘 자라는 특성을 보였다. 또한, 이들의 무세포추출물들의 항산화 활성은 거의 없거나 10% 미만이었지만, 항통풍성 xanthine oxidase 저해활성은 *Filobasidium magnum* SFG1-3가 28.6%로 높게 나타났으며, 미백성 tyrosinase 저해활성은 *Rhodotorula mucilaginosa* GHP40-2 균주의 무세포추출물이 26%로 가장 높게 나타났다.

Table 4. Microbiological characteristics of unrecorded wild yeasts from soils of spice fields and Mt. Daedun in Chungcheongnam-do, Korea.

Strains	<i>Debaryomyces</i>	<i>Pseudozyma</i>	<i>Filobasidium</i>	<i>Aureobasidium</i>	<i>Metschnikowia</i>	<i>Papiliotrema</i>	<i>Rhodsporidiobolus</i>	<i>Microbotryozyma</i>	<i>Wickerhamiella</i>	<i>Hannaella</i>
Isolated No.	<i>albobaermeniaca</i>	<i>albobaermeniaca</i>	<i>stepposum</i>	<i>caulivorum</i>	<i>noctiluminum</i>	<i>anemochoreus</i>	<i>lusitaniae</i>	<i>collariae</i>	<i>azyma</i>	<i>surugensis</i>
	CD23-5	CD23-5	SFG1-4	HD17-5	HD29-2	NK2-12	DCH30-2	DCH1-4	DCH46-3	DCH25-5
Morphological characteristics										
Shape	Global Budding	oval	Oval Budding	Oval Budding	Oval Budding	Oval Budding	ovall Budding	Oval Budding	Global Budding	Oval Budding
Vegetative reproduction	1.1x1.3	Fission 1.0x2.4	1.3x1.9	1.9x2.7	1.7x2.1	0.8x1.8	1.0x2.7	0.9x1.5	1.1x1.2	1.5x2.0
Size(µm)	-	-	+	-	+	+	+	-	-	+
Ascospore	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Pseudomycelium	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Cultural characteristics										
Growth on YPD /YM/YPD media	+++ /++ /+ *	++ /+ /+	++ /++ /-	++ /++ /+	++ /++ /+	++ /++ /+	++ /++ /+	++ /++ /++	++ /++ /++	++ /++ /+
Color on YPD medium	White	Cream	White	Cream	White	Cream	Pink	Yellow	White	Cream
Growth on Vitamin-free medium	+	++	-	-	-	+	-	++	+++	+
Growth on 10%/20% glucose-YPD medium	++ /+	++ /+	++ /-	++ /+	++ /+	++ /+	++ /++	++ /+	++ /++	++ /+
Growth on 5%/15% NaCl-YPD medium	++ /++	- /-	- /-	+ /-	+ /-	+ /-	- /-	- /-	+ /-	- /-
Growth on pH range	pH 6-8	pH 6-7	pH 6-7	pH 6-7	pH 5-7	pH 5-6	pH 6-7	pH 6-7	pH 5-6	pH 5-6

* +; growth, -; No growth

Table 5. Enzyme activities and physiological functionalities of cell-free extract obtained from unrecorded wild yeasts.

Strains	Isolated No.	Enzyme activity*			Functionality		
		protease	amylase	cellulase	Antioxidant activity (%)	XOD ** inhibitory activity (%)	Tyrosinase inhibitory activity (%)
<i>Debaryomyces</i>	GHY31-3	-	-	-	3.5 (±0.1)	9.7 (±0.5)	8.2 (±1.0)
<i>Pseudozyma</i>	CD23-5	-	-	-	n.d***	n.d	n.d
<i>Filobasidium</i>	SFG1-4	+	++	-	n.d	28.0 (±1.0)	n.d
<i>Aureobasidium</i>	HD17-5	++	-	++	n.d	10.0 (±1.0)	n.d
<i>Metschnikowia</i>	HD29-2	-	-	+	2.8 (±0.8)	n.d	7.0 (±0.4)
<i>Papiliotrema</i>	NK2-12	-	-	-	3.2 (±1.2)	8.3 (±0.3)	5.9 (±0.9)
<i>Rhodsporidiobolus</i>	DCH30-2	-	+	-	2.4 (±0.4)	6.0 (±0.4)	n.d
<i>Microbotryozyma</i>	DCH1-4	-	-	-	n.d	n.d	2.1 (±0.1)
<i>Wickerhamiella</i>	DCH46-3	-	-	-	6.9 (±0.8)	8.2 (±0.5)	9.5 (±1.0)
<i>Hannaella</i>	DCH25-2	-	-	-	n.d	n.d	2.8 (±0.2)

* ++: Strong activity; +: Activity; - : No activity; **XOD : Xanthine oxidase ; ***n.d: Not detected or <1% ;

ACKNOWLEDGEMENTS

This research was supported by the project(NIBR201902113) on the survey of Korean indigenous species of the National Institute of Biological Resources 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. 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;5:54-8.
3. 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;41:47-50
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. 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;44:108-115
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;44:350-54.

16. 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.
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. 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.
19. 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;46:205-11.
20. 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.
21. 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;47:75-81.
22. 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 Gyungpodae beaches in Korea. *Kor J Mycol* 2019;47:249-58.
23. 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.
24. Hyun SH, Min JH, Lee HB, Kim HK, Lee JS. Microbiological characteristics and physiological functionality of new records of yeasts from wild flowers in Yokjido, Korea. *Mycobiol.* 2014;42:198-202.
25. 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.
26. 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.
27. 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.
28. Jang IT, Hyun SH, Shin JW, Lee YH, Ji JH, Lee JS. Characterization of an anti-gout xanthine oxidase inhibitor from *Pleurotus ostreatus* *Mycobiol* 2014;42:296-300.