

RESEARCH NOTE

국내 담수환경에서 분리된 국내 미기록 효모 6종 보고

오유선, 서민정, 고재덕, 문혜연*

국립낙동강생물자원관 미생물연구실, 균류연구팀

Six Yeast Strains Isolated from Freshwaters for the First Record in Korea

Yoosun Oh, Min Jeong Seo, Jaeduk Goh, and Hye Yeon Mun*

Fungi Research Team, Microbial Research Department, Nakdonggang National Institute of Biological Resources, Sangju 37242, Korea

*Corresponding author: outcastm@nnibr.re.kr

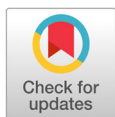
ABSTRACT

This study aimed to isolated wild yeasts from freshwater in Korea. The strains were identified by using the D1/D2 domains of the 26S rDNA regions. Consequently, six strains were named as *Apiotrichum chiropterorum* (NNIBRFG36995), *A. domesticum* (NNIBRFG32938), *A. dulcimum* (NNIBRFG33144), *A. laibachii* (NNIBRFG36991), *Saprochaete quercus* (NNIBRFG33183) and *Tausonia pullulans* (NNIBRFG33181). These yeasts have not previously been recorded in Korea, this paper is the first report. We were investigated to the morphological and cultural characteristics of these yeasts. All the strains grew well on Yeast extract peptone dextrose (YPD), Potato dextrose (PD), and Yeast mold (YM) media and in temperature range of 15-30°C. *A. domesticum* (NNIBRFG32938), *A. laibachii* (NNIBRFG36991) and *T. pullulans* (NNIBRFG33181) grew even in 20% glucose containing YPD medium, so they had glucose tolerance. *A. domesticum* (NNIBRFG32938) and *A. laibachii* (NNIBRFG36991) had salt resistance as growing even in 5% NaCl containing YPD medium.

Keywords: Freshwater, yeast, *Apiotrichum chiropterorum*, *Apiotrichum domesticum*, *Apiotrichum dulcimum*, *Apiotrichum laibachii*, *Saprochaete quercus*, *Tausonia pullulans*

Tausonia 속 및 *Apiotrichum* 속은 담자균문에 속하는 효모이다. *Tausonia* 속은 Agaricomycotina; Tremellomycetes; Mrakiaceae에 속하며 현재까지 알려진 종은 *T. pullulans*, *T. pamirica* 2개이다. *T. pullulans* 는 *Guehomyces pullulans*와 synonym 관계에 있다[1].

Apiotrichum 속은 Trichosporonaceae에 속하는 속으로서, *Apiotrichum porosum*이 *Trichosporon* 속으로 재지정되었다가[2] Liu 등[3]에 의해 다시 사용되었다. *Apiotrichum* 속은 자연에서 널리 분포되어 있으며, 24개 종이 속해 있다. *A. dulcimum*, *A. laibachii*, *A. loubieri* 는 토양에서 분리되었고[4], *A. domesticum*, *A. montevidense*는 human summer-type hypersensitivity pneumonitis (SHP)을 가진 환자의 집에서 분리되었다[3]. *A. akiyoshidainum*, *A. chiropterorum*, *A. coprophilum*, *A. otac*는 박쥐의 배설물에서 분리되었다[5].



OPEN ACCESS

pISSN : 0253-651X
eISSN : 2383-5249Kor. J. Mycol. 2022 September, 50(3): 217-224
<https://doi.org/10.4489/KJM.20220022>

Received: July 25, 2022

Revised: September 13, 2022

Accepted: September 13, 2022

© 2022 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.

*Saprochaete*는 자낭균문의 Saccharomycetes에 속하는 속으로서, 토양, 비료, 과일, 유제품, 인간 피부, 곤충 등 다양한 환경에 분포되어 있으며, 13개 종이 알려져 있다. *Saprochaete* 속은 *Geotrichum* 속과 매우 밀접하게 연관되어 있으며, *S. suaveolens*, *S. gigas*, *S. ingens* 및 *S. clavata*는 *Geotrichum* 속에 속하는 종과 synonym을 가진다. *Saprochaete*의 유성세대는 *Magnusiomyces* 속에 속한다. *S. quercus*는 루브라참나무(*Quercus rubra*)의 유출액에서 분리되었다[6].

본 연구에서는 국내 담수 환경에서 물과 토양을 채집하여 야생효모를 분리 및 동정하였고 이들 중 국내 미기록 효모 6종을 선별하여 종 특성을 알아보았다.

담수효모를 분리하기 위해 광주광역시와 전라남도 여수시의 담수환경에서 담수시료와 담수 퇴적물을 채집하였다. 담수시료는 조사 현장에서 핸드펌프와 nitrocellulose membrane filter (pore size 0.45 μm MCE membrane, MF-Milipore[™], Burlington, MA, USA)를 이용하여 50 mL을 여과하였다. 필터의 시료가 여과된 면을 water agar (WA, 20 g/L, agar)에 부착하여 15°C에서 1일간 배양 후 membrane filter를 제거하고 실체현미경을 이용하여 발아한 포자를 배지에서 분리하여 V8 agar배지 (V8A; 8% V8 juice [v/v] and 1.5% agar [w/v] adjusted to pH 6.0 using 10 N NaOH)에 배양하였다. 채집한 토양시료는 10³배 희석하여 streptomycin 100 ppm이 첨가된 potato dextrose agar (PDA, Difco, Detroit, MI, USA)에 도말하여 3일간 15°C에서 배양하였다. 배양된 배지에서 단포자 분리를 통하여 담수효모를 V8A 배지에 순수분리 하였다. 분리된 효모 확보를 위하여 yeast extract peptone dextrose broth (YPDB, Sigma-Aldrich, Darmstadt, Germany)에 agar를 첨가한 yeast extract peptone dextrose agar (YPDA)배지에 계대배양 하였다. 분리 효모의 포자를 관찰하기 위하여 광학현미경 (H550S, Nikon, Tokyo, Japan)을 이용하여 화상자료를 확보하였다.

분리된 효모의 동정을 위하여 이 균주들의 26S rDNA의 D1/D2 부위의 염기서열을 분석하였다. NL1/NL4 primer를 이용하여 염기서열을 결정한 후 NCBI의 BLAST를 사용하여 데이터베이스에 등록되어 있는 효모들과 상동성을 비교하였고 MEGA-X를 이용하여 계통수를 작성하였다[7].

환경조건에 따른 생육 특성을 조사하기 위하여 15-40°C의 6개 온도 범위와 pH 4-8의 5개 pH 범위의 YPDB, 5%와 15% NaCl (sodium chloride [w/v])을 첨가한 YPDB, 10%와 20% glucose [w/v]를 첨가한 YPDB, yeast vitamin free base (YVB, Formedium Ltd, Hustanton, England), yeast mold broth (YMB, Difco, Detroit, MI, USA), potato dextrose broth (PDB, Difco, Detroit, MI, USA) 배지를 실험에 사용하였다[8]. 각각의 배지를 125 mL 삼각플라스크에 30 mL씩 조제하여 48시간동안 250 rpm으로 진탕 배양한 후 흡광도(600 nm, microplatereader Epoch2, Biotek, Winooski, Vermont, USA)를 측정하였다.

TAXONOMY

Apiotrichum chiropterorum M. Takash., Kurakado, O. Cho, K. Kikuchi, Sugiy. & Sugita [5] (Figs. 1 and 2; Table 1)

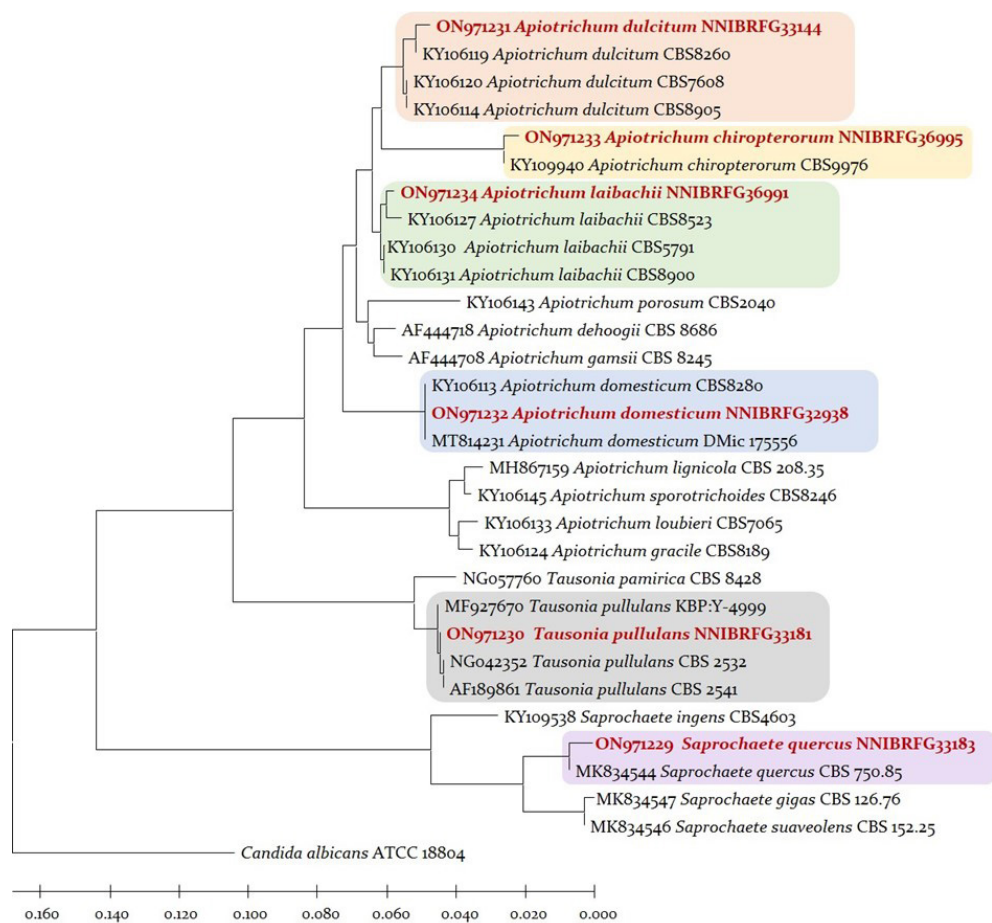


Fig. 1. Phylogenetic tree of unrecorded yeasts isolated from freshwater and related species based on a Neighbor-joining analysis of the nucleotides sequences of large subunit 26S ribosomal DNA D1/D2 region, using MEGA-X. The sequences of *Candida albicans* was used as outgroup. The unrecorded yeasts are shown in bold and red.

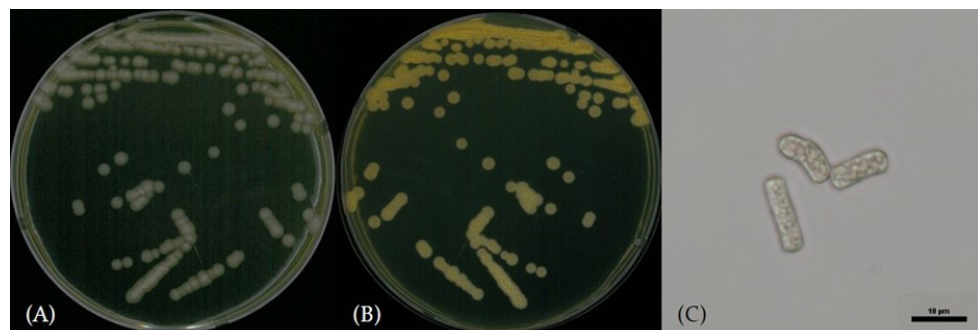


Fig. 2. Morphology of *Apiotrichum chiropterorum* NNIBRFG36995. The colony of front (A) and back (B) on yeast extract peptone dextrose agar for 2 days at 25°C and conidia (C). scale bar=10 μm (x600).

Table 1. Morphological and cultural characteristics of the newly reporting yeasts from Korea.

Strains	NNIBRFG36995	NNIBRFG32938	NNIBRFG33144	NNIBRFG36991	NNIBRFG33183	NNIBRFG33181
Morphological characteristics						
Shape	R	O	O	G	R	O
Vegetable reproduction	B	B	B	B	B	B
Size (μm)	2×10	3-5×8-10	2-3×8	3×4	3×100	2×3-5
Ascospore	-	-	-	-	-	-
Pseudomycelium	-	-	-	-	-	-
Culture characteristics						
Growth range in pH/temperature	pH 4-8/15-30°C	pH 4-8/15-30°C	pH 5-8/15-30°C	pH 4-8/15-30°C	pH 4-8/15-30°C	pH 5-8/15-30°C
Growth on PD/YM	+/+/+	+/+/+	+/+	+/+/+	+/+	+/+/+
Vitamin-free medium	-	-	-	++	+	-
5%/15% NaCl-YPD medium	-/-	+++/-	-/-	+/+	-/-	-/-
10%/20% Glucose-YPD medium	-/-	+/+/+	-/-	+/+/+	+/+	+/+/+

R: Rod; O: Ovoid; G: Globose; B: Budding; PD: Potato dextrose; YM: Yeast mold; YPD: Yeast peptone dextrose; +: 설명; ++: 설명; +++: 설명; -: 설명.

Mycobank No.: MB834542

Characterization: YPDA 배지에 희선도말하여 25°C에서 2일간 배양하였을 때 콜로니 색은 가운데부분은 노란색, 가장자리는 흰색을 띠었다. 포자의 형태는 막대형으로 자낭포자와 의균사는 관찰되지 않았다. 출아에 의한 무성생식을 하였으며, 크기는 폭 2 μm×길이 10 μm 이다. YPDB, PDB, YMB에서 생육하였고, 생육 pH는 4-8, 생육 온도는 15-30°C의 범위에서 성장하였다. Vitamin-free 배지, NaCl 및 glucose가 함유된 배지에서는 성장하지 않았다.

Habit: 하천의 담수퇴적물

Specimen examined: 광주광역시 서구 광주천, 2021.03.19., NNIBRFG36995, 국립낙동강생물자원관

Note: NNIBRFG36995 균주는 26S D1/D2 영역의 염기서열을 NCBI의 blast를 이용하여 비교한 결과, *A. chiropterorum* CBS9976(KY109940) 균주와 100%의 상동성을 보였으며, 계통수 상에서도 같은 clade에 속하는 것으로 확인되어 최종적으로 *A. chiropterorum*으로 동정되었다.

Apiotrichum domesticum (Sugita, A. Nishikawa & Shinoda) Yurkov & Boekhout [3] (Figs. 1 and 3; Table 1)

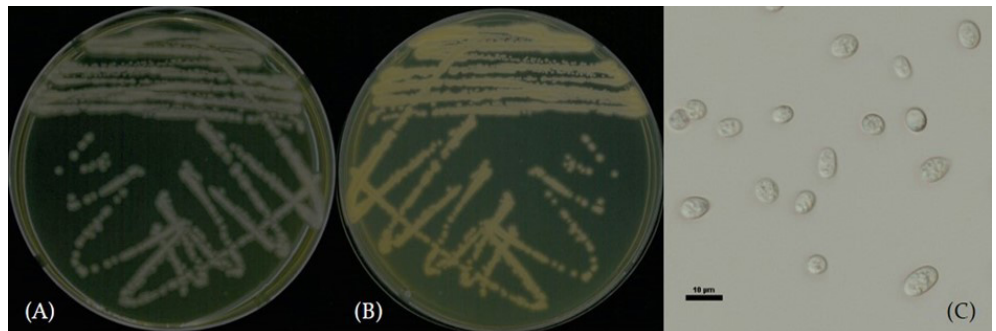


Fig. 3. Morphology of *Apiotrichum domesticum* NNIBRFG32938. The colony of front (A) and back (B) on yeast extract peptone dextrose agar for 2 days at 25°C and conidia (C). scale bar=10 μm (x400).

Mycobank No.: MB#834542

Characterization: YPDA 배지에 획선도말하여 25°C에서 2일간 배양하였을 때 콜로니색은 전체적으로 연한 노란빛을 띠는 흰색이었다. 포자의 형태는 타원형으로 자낭포자와 의균사는 관찰되지 않았다. 출아에 의한 무성생식을 하였으며, 크기는 폭 3-5 μm × 길이 8-10 μm 이다. YPDB, PDB, YMB에서 생육하였고, 20% glucose와 5% NaCl을 함유한 YPDB에서 각각 생육하는 내당성과 내염성을 보였다. 생육 pH는 4-8, 생육 온도는 15-30°C의 범위에서 성장하였다. Vitamin-free 배지에서는 성장하지 않았다.

Habit: 하천의 여과한 물

Specimen examined: 전라남도 여수시 주삼천, 2021.03.24., NNIBRFG32938, 국립낙동강생물자원관

Note: NNIBRFG32938 균주는 26S D1/D2 영역의 염기서열을 NCBI의 blast를 이용하여 비교한 결과, *A. domesticum* CBS8280(KF036966) 균주와 100%의 상동성을 보였으며, 계통수 상에서도 *A. domesticum* CBS8280, *A. domesticum* DMic175556 균주와 같은 clade에 속하는 것으로 확인되어 최종적으로 *A. domesticum*으로 동정되었다.

Apiotrichum dulcitum (Berkhout) Yurkov & Boekhout [3] (Figs. 1 and 4; Table 1)



Fig. 4. Morphology of *Apiotrichum dulcitum* NNIBRFG33144. The colony of front (A) and back (B) on yeast extract peptone dextrose agar for 2 days at 25°C and conidia (C). scale bar=10 μm (x600).

Mycobank No.: MB813412

Characterization: YPDA 배지에 획선도말하여 25°C에서 2일간 배양하였을 때 콜로니는 연한 노란색을 띠었고 광택이 났다. 포자의 형태는 타원형으로 자낭포자와 의균사는 관찰되지 않았다. 출아에 의한 무성생식을 하였으며, 크기는 폭 2-3 μm × 길이 8 μm 이다. YPDB, PDB, YMB에서 생육하였고, 생육 pH는 5-8, 생육 온도는 15-30°C의 범위에서 성장하였다. Vitamin-free 배지, NaCl 및 glucose가 함유된 배지에서는 성장하지 않았다.

Habit: 하천의 여과한 물

Specimen examined: 광주광역시 광산구 풍영정천, 2021.03.19., NNIBRFG33144, 국립낙동강생물자원관

Note: NNIBRFG33144 균주는 26S D1/D2 영역의 염기서열을 NCBI의 blast를 이용하여 비교한 결과, *A. dulcitum* CBS8257 (KF036967) 균주와 99.8%의 상동성을 보였으며, 계통수 상에서도 *A. dulcitum* CBS8260 균주와 같은 clade에 속하는 것으로 확인되어 최종적으로 *A. dulcitum*으로 동정되었다.

Apiotrichum laibachii (Windisch) Yurkov & Boekhout [3] (Figs 1 and 5; Table 1)

Fig. 5. Morphology of *Apiotrichum laibachii* NNIBRFG36991. The colony of front (A) and back (B) on yeast extract peptone dextrose agar for 2 days at 25°C and conidia (C). scale bar=10 μm (x600).

Mycobank No.: MB813415

Characterization: YPDA 배지에 희선도말하여 25°C에서 2일간 배양하였을 때 콜로니는 연한 노란색을 띠었다. 포자의 형태는 둥근 원형으로 자낭포자와 의균사는 관찰되지 않았다. 출아에 의한 무성생식을 하였으며, 크기는 폭 3 μm×길이 4 μm이다. YPDB, PDB, YVB, YMB에서 생육하였고, 20% glucose와 5% NaCl을 함유한 YPDB에서 생육하는 내당성과 내염성을 보였다. 생육 pH는 4.8, 생육 온도는 15-30°C의 범위에서 성장하였다.

Habit: 하천의 여과한 물

Specimen examined: 광주광역시 서구 광주천, 2021.03.19., NNIBRFG36991, 국립낙동강생물자원관

Note: NNIBRFG36991 균주는 26S D1/D2 영역의 염기서열을 NCBI의 blast를 이용하여 비교한 결과, *A. laibachii* CBS5790(KF036976) 균주와 100%의 상동성을 보였으며, 계통수 상에서도 *A. laibachii* CBS8523 균주와 같은 clade에 속하는 것으로 확인되어 최종적으로 *A. laibachii*으로 동정되었다.

Saprochaete quercus de Hoog & M.T. Sm [6] (Figs 1 and 6; Table 1)

Fig. 6. Morphology of *Saprochaete quercus* NNIBRFG33183. The colony of front (A) and back (B) on yeast extract peptone dextrose agar for 2 days at 25°C and conidia (C). scale bar=10 μm (x400).

Mycobank No.: MB500145

Characterization: YPDA 배지에 획선도말하여 25°C에서 2일간 배양하였을 때 콜로니는 전체적으로 흰색을 띠었다. 포자의 형태는 막대형으로 자낭포자와 의균사는 관찰되지 않았다. 출아에 의한 무성생식을 하였으며, 크기는 폭 3 μm × 길이 100 μm 이다. YPDB, PDB, YVB, YMB에서 생육하였고, 생육 pH는 4-8, 생육 온도는 15-30°C의 범위에서 성장하였다. 10% glucose가 포함된 배지에서는 성장하여 내당성이 있었으며, NaCl이 함유된 배지에서는 성장하지 않았다.

Habit: 하천의 여과한 물

Specimen examined: 광주광역시 서구 광주천, 2021.03.19., NNIBRFG33183, 국립낙동강생물자원관

Note: NNIBRFG33183 균주는 26S D1/D2 영역의 염기서열을 NCBI의 blast를 이용하여 비교한 결과, *S. quercus* CBS750.85 (MK834544) 균주와 99.81%의 상동성을 보였으며, 계통수 상에서도 같은 clade에 속하는 것으로 확인되어 최종적으로 *S. quercus*으로 동정되었다.

Tausonia pullulans Xin Zhan Liu, F.Y. Bai, M. Groenew & Boekhout [3] (Figs 1 and 7; Table 1)

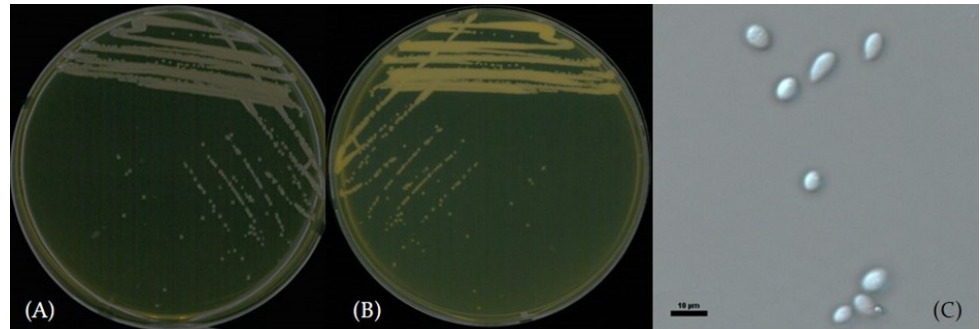


Fig. 7. Morphology of *Tausonia pullulans* NNIBRFG33181. The colony of front (A) and back (B) on yeast extract peptone dextrose agar for 2 days at 25°C and conidia (C). scale bar=10 μm (x400).

Mycobank No.: MB#812190

Characterization: YPDA 배지에 획선도말하여 25°C에서 2일간 배양하였을 때 콜로니는 연한 노란색을 띠며 광택이 났다. 포자의 형태는 타원형으로 자낭포자와 의균사는 관찰되지 않았다. 출아에 의한 무성생식을 하였으며, 크기는 폭 2 μm × 길이 3-5 μm 이다. YPDB, PDB, YMB에서 생육하였고, 20% glucose를 함유한 배지에서 생육하는 내당성을 보였다. 생육 pH는 5-8, 생육 온도는 15-30°C의 범위에서 성장하였다. Vitamin-free 배지, NaCl이 함유된 배지에서는 성장하지 않았다.

Habit: 하천의 여과한 물

Specimen examined: 광주광역시 서구 광주천, 2021.03.19., NNIBRFG33181, 국립낙동강생물자원관

Note: NNIBRFG33181 균주는 26S D1/D2 영역의 염기서열을 NCBI의 blast를 이용하여 비교한 결과, *T. pullulans* KBP:Y4999 (MF927670) 균주와 99.43%의 상동성을 보였으며, 계통수 상에서도 *T. pullulans* CBS2532, CBS2541 균주와 같은 clade에 속하는 것으로 확인되어 최종적으로 *T. pullulans*으로 동정되었다.

적요

본 연구는 광주광역시와 전라남도 여수시의 담수환경으로부터 야생효모를 분리하여 특성 분석을 하였다. 분리된 효모의 동정을 위하여 26S rDNA의 D1/D2부위 염기서열을 이용하였다. 결과적으로 *Apiotrichum chiropterorum* (NNIBRFG36995), *A. domesticum* (NNIBRFG32938), *A. dulciturum* (NNIBRFG33144), *A. laibachii* (NNIBRFG36991), *S. quercus* (NNIBRFG33183), *Tausonia pullulans* (NNIBRFG33181) 등 6종의 야생효모들을 동정하였다. 이들 6종의 효모는 국내에 기록된 바가 없으며, 본 논문이 최초보고이다. 미기록 효모 모두 PD, YM 배지에서 잘 자랐으며, 15-30°C 온도 범위에서 생육하였다. *A. domesticum* (NNIBRFG32938), *A. laibachii* (NNIBRFG36991), *Tausonia pullulans* (NNIBRFG33181) 균주들은 20% glucose를 함유한 YPD 배지에서 생육하는 내당성을 보였으며 *A. domesticum* (NNIBRFG32938)과 *A. laibachii* (NNIBRFG36991)는 5% NaCl을 함유한 YPD 배지에서도 생육하여 내염성을 가졌다.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was supported by a grant from the Nakdonggang National Institute of Biological Resources (NNIBR), funded by the Ministry of Environment (MOE) of the Republic of Korea (NNIBR202201107).

REFERENCES

1. Fell JW, Scorzetti G. Reassignment of the basidiomycetous yeasts *Trichosporon pullulans* to *Guehomyces pullulans* gen. nov., comb. Nov. and *Hyalodendron lignicola* to *Trichosporon lignicola* comb. Nov. *Int J Syst Evol Microbiol* 2004;54:995-8.
2. Middelhoven WJ, Scorzetti G, Fell JW. *Trichosporon porosum* comb. nov., an anamorphic basidiomycetous yeast inhabiting soil, related to the *loubieri/laibachii* group of species that assimilate hemicelluloses and phenolic compounds. *FEMS Yeast Res* 2001;1:15-22.
3. Liu XZ, Wang QM, Göker M, Groenewald M, Kachalkin AV, Lumbsch HT, Millanes AM, Wedin M, Yurkov AM, Boekhout T, et al. Towards an integrated phylogenetic classification of the Tremellomycetes. *Stud Mycol* 2015;81:85-147.
4. Sugita T. In the yeasts, a taxonomic study, 5th edn, *Trichosporon* Behrend (1890). In: Kurtzman CP, Fell JW, Boekhout T, editors. Amsterdam: Elsevier; 2011. p. 2015-61.
5. Takashima M, Kurakado S, Cho O, Sugiyama J, Sugita T. Description of four *Apiotrichum* and two *Cutaneotrichosporon* species isolated from guano samples from bat-inhabited caves in Japan. *Int J Syst Evol Microbiol* 2020;70:4458-69.
6. de Hoog GS, Smith MT. Ribosomal gene phylogeny and species delimitation in *Geotrichum* and its teleomorphs. *Studies in Mycology* 2004;50:489-515.
7. Kumar S, Stecher G, Li M, Knyaz C, Tamura K. MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Mol Biol Evol* 2018;35:1547-9.
8. Hyun SH, Han SM, Lee JS. Characteristics and physiological functionalities of unrecorded yeasts from wild flowers of Seonyudo in Jeollabuk-do, Korea. *Korean J Microbiol Biotechnol* 2014;42:402-6.