

RESEARCH ARTICLE

금강 상류와 태안, 순천만 해변들로부터 야생효모의 분리 및 국내 미기록 효모들의 균학적 특성

박선정¹, 장지은¹, 이항범², 이종수^{1*}¹배재대학교 바이오의약학부, ²전남대학교 응용생물공학부

Isolation of Wild Yeasts from Riversides in Geumgang Upstream, Taean and Suncheonman Seashores and Microbiological Characteristics of the Unrecorded Wild Yeasts

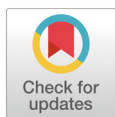
Seon-Jeong Park¹, Ji-Eun Jang¹, Hyang-Burm Lee², and Jong-Soo Lee^{1*}¹Faculty of Biomedicine and Biotechnology, Paichai University, Daejeon 35345, Korea²Division of Food Technology, Biotechnology and Agrochemistry, Chonnam National University, Gwangju 61186, Korea

*Corresponding author: biotech8@pcu.ac.kr

ABSTRACT

This study aimed to isolate wild yeasts from waters and soils on the riversides of Geumgang upstream in Geumsan, seashores of Cheongpodae in Taean and Suncheonman in Suncheon, Korea, and to investigate their unrecorded microbiological characteristics. Forty-nine species of wild yeasts, including *Aureobasidium pullans* YH 4-3, were isolated from 40 samples of Cheonnaegang in Geumgang upstream. Fifty-six species and 36 species of wild yeasts were also isolated from 80 samples of Cheongpodae Beach and Suncheonman Mashland, respectively. Species from *Candida* genus were isolated from all three locations. Among them, *Candida michaelii* NNIBRFG28278, *Sporobolomyces japonicus* NNIBRFG28271, *Dioszegia buhagiarrii* NNIBRFG28279, *Ustilago spermophora* NNIBRFG28273, *Nakazawaea pomicola* NNIBRFG31590, *Candida natalensis* NNIBRFG31591, *Candida pseudorhagii* NNIBRFG31592, *Candida santamariae* NNIBRFG31593, *Cutaneotrichosporon terricola* NNIBRFG31594, and *Meira nashicola* NNIBRFG31595 represent newly recorded yeast strains in Korea. Almost all of these unrecorded yeasts were oval shaped, and *Sporobolomyces japonicus* NNIBRFG28271 and *Candida natalensis* NNIBRFG31591 have ascospores. All the strains grew well in yeast extract-peptone-dextrose (YPD) and yeast extract-malt extract (YM) media, and *Ustilago spermophora* NNIBRFG28273 grew well in vitamin-free medium. *Sporobolomyces japonicus* NNIBRFG28271 grew well in 15% NaCl-containing YPD medium, and *Ustilago spermophora* NNIBRFG28273 and *Dioszegia buhagiarrii* NNIBRFG28279 assimilated starch, and *Ustilago spermophora* NNIBRFG28273 produced ethanol.

Keywords: Cheongpodae beach, Geumgang upstream, Suncheonman mashland, Unrecorded yeasts, Wild yeasts



OPEN ACCESS

pISSN : 0253-651X
eISSN : 2383-5249Kor. J. Mycol. 2021 March, 49(1): 67-79
<https://doi.org/10.4489/KJM.20210007>**Received:** January 25, 2021**Revised:** February 05, 2021**Accepted:** February 19, 2021

© 2021 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 진핵세포를 가진 고등 미생물로서 오래전부터 우리나라 전통 발효식품의 제조에 이용되어왔고[1] 최근에는 효모의 여러 가지 생리활성[2-5]과 probiotics 균들이[6] 알려짐에 따라 이들의 산업적 응용성이 크게 증가하고 있다. 또한, 대표 균주인 *Saccharomyces cerevisiae*의 게놈분석이 완료됨에 따라 이들을 이용한 고부가가치의 의약이나 건강소재 물질 생산과 외래단백질 발현을 위한 많은 분자생물학적 연구 등이 실시되고 있다[7].

최근 새로운 생물자원의 발굴과 이들의 이용에 관한 연구 필요성이 크게 대두됨에 따라 우리나라 내륙지역과 섬 등의 야생화나 토양 등 자연환경과 담수환경으로부터의 새로운 효모균류 발굴로 영산강과 낙동강 및 금강 하류와 공주부근의 중류 등의 주변 물과 토양 등으로부터 2,000여 종의 다양한 야생 효모들을 분리, 동정하여 보고하였고[8-28] 이들 중 국내 미기록 야생효모들이 선별되어 이들의 균학적 특성 등이 보고되었다[15,17,20,23-26,28].

한편, 금강 상류인 충남 금산주변에는 봉황천과 금산천 등 및 천내강, 적벽강 등이 금강 상류로 이어지며 주변 비옥한 산림토양에서는 많은 약용 작물들이 재배되고 있다. 그러나 이들 지역의 생물 생태 연구는 주로 자생식물과 버섯류의 분포 조사 등이 일부 이루어져 있을 뿐, 효모를 비롯한 다양한 미생물 종 분포특성과 새로운 자원 발굴 연구는 필자 등이 향신료 재배 산림토양으로부터 야생효모들을 분리하여 보고[23,25] 하였을 뿐 금강 상류 주변의 미생물 분포조사는 이루어지지 않은 실정이다.

우리나라는 3면이 바다로 둘러싸여 이들 해안에 많은 해수욕장과 해상 공원들이 조성되어 많은 사람들의 휴식공간과 생태환경 체험 등으로 활용되고 있다. 그러나 많은 간척사업과 무분별한 생활 편의시설 등으로 주변 생물환경이 크게 훼손되고 있어 이들 공원의 생태보존과 새로운 생물자원 발굴이 조속히 실시되어야 한다.

따라서 본 연구에서는 금강 상류인 충남 금산지역과 태안 해상국립공원의 청포대 해수욕장 및 순천만 국가정원 습지대 주변의 야생효모 종 분포특성을 알아보기 위해 이들 지역 주변의 물과 토양 등으로부터 야생효모들을 분리하여 동정하였다. 또한, 이들 야생효모들 중 국내에 보고되지 않은 미기록 야생효모들을 선별하여 이들의 균학적 특성을 조사하였다.

재료 및 방법

야생효모의 분리 및 동정

금강 상류 금산군 동쪽에 위치한 천내강(36°05'46.9"N, 127°35'44.1"E)과 태안 국립해상공원 청포대 해수욕장(36°38'23.2"N, 126°18'05.2"E) 및 순천만 국가정원 습지대(34°52'23.3"N, 127°31'09.5"E) 주변 물, 토양과 야생화 등 시료 120점들을 2020년 4월부터 9월 사이에 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°C에서 48시간 배양한 후 형성된 효모 집락들을 일반 야생 효모균주로 분리하였다[25]. 또한 20% 포도당을 함유한 YPD배지에서 분리한 효모들을 내당성 효모로, 5% NaCl을 함유한 YPD배지에서 생육한 효모들을 내염성 야생효모로 분리하였다.

분리 효모들의 동정을 위하여 먼저 이들의 26S rDNA의 D1/D2 부위의 염기서열들을 결정한 후 결정된 염기서열들을 NCBI의 BLAST를 사용하여 데이터베이스에 등록되어 있는 효모들과의 상동성 비교와 분자생물학적 유연관계를 분석하여 동정하였다[26].

국내 미기록 효모들의 선별 및 특성

위와 같이 분리, 동정한 야생효모들을 대상으로 국립 생물자원관 DB와 한국 진균관련 학술자료들을 이용하여 국내 미기록 효모들을 선별한 후 일반 미생물 실험방법 등을 이용하여 이들의 형태학적 특성과 배양학적 특성을 조사하였고[25, 26], 탄소원들에 대한 자화성과 발효성은 최소 배지에 시험 탄소원들을 첨가하여 배양한 후를 생육과 이산화탄소 생성 유무를 확인하여 조사하였다. 또한, YPD배지에 에탄올을 0-10%, CoCl₂ 등의 중금속들을 400 ppm 첨가하여 배양한 후 이들의 생육도를 측정하여 내성을 조사하였고[1,27], 단백질분해효소와 전분분해효소 생성 여부를 skim milk와 가용성 전분 등을 이용하여 측정하였다[29].

결과 및 고찰

금강 상류 금산 천내강, 태안 해상국립공원과 순천만 습지대 주변 생태환경으로부터 야생효모의 분리 및 동정

금강 상류인 충남 금산의 천내강 주변 물과 토양 40점에서 49종의 야생효모들을 분리, 동정하였고, 이들 야생효모들 중 *Candida* 속 균이 7주로 가장 많이 분리되었고 *Cryptococcus* 속 균과 *Rhodotomular* 속 균도 6균주씩 분리되었다(Table 1).

또한 이들 금강 상류 천내강 주변 생태환경에서 분리한 야생효모들 중 *Candida michaelii* NNIBRFG28278, *Sporobolomyces japonicus* NNIBRFG28271, *Dioszegia buhagiarii* NNIBRFG28279, *Ustilago spermophora* NNIBRFG28273 등 4균주들이 우리나라에 아직까지 보고되지 않은 국내 미기록 야생효모들로 선별되었다.

충남 태안 국립공원의 청포대 해수욕장과 전남 순천의 순천만 습지대 주변 물과 식물체 부식물 및 토양 80점에서 각각 56종, 36종의 야생효모들을 분리, 동정하였다(Table 2 and Table 3). 이들 해상 국립공원 시료에서도 *Candida* 속 균이 10종 (태안), 5종 (순천), *Cryptococcus* 속 균이 7종 (태안)과 5종 (순천)씩 가장 많이 분리되었다.

위와 같이 서해안 청포대 해수욕장과 전남 순천의 순천만 습지대 주변에서 분리한 야생효모들 중 *Nakazawaea pomicola* NNIBRFG31590, *Candida natalensis* NNIBRFG31591, *C. pseudorhagii* NNIBRFG31592, *C. santamariae* NNIBRFG 31593, *Cutaneotrichosporon terricola* NNIBRFG31594, *Meira nashicola* NNIBRFG31595 등 6균주들이 우리나라에 아직까지 보고되지 않은 국내 미기록 야생효모들로 선별되었다.

한편 이들 금강 상류와 청포대 해수욕장, 순천만 습지대에서 공통적으로 *Aureobasidium pullulans*, *Papiliotrema flavescens*, *Cryptococcus flavus*, *C. laurentii*, *Debaryomyces hansenii*, *C. aureus*, *Moesziomyces aphidis* 등 7종들이 분리, 동정되었고 이들 중 *Aureobasidium pullulans*와 *C. laurentii* 균들이 각각 6종으로 가장 많았다.

Table 1. Isolated wild yeasts from freshwaters and soils in riversides of Cheonaegang in Geumgang upstream of Geumsan-gun, Chungcheongnam-do, Korea.

No.	Putative species	Isolated No.	Related GenBank No.	Identity (%)
1	<i>Aureobasidium pullulans</i>	YH4-3	KC160612.1	573/575(99%)
		AYH2-1	KC160612.1	574/575(99%)
2	<i>Barnettozyma californica</i>	AYH24-3	EF550276.1	598/603(99%)
		YH29-2	KU316729.1	591/593(99%)
3	<i>Bullera japonica</i>	YH2-2	AF444760.2	598/609(98%)
4	<i>Candida carpophila</i>	YH20-2	FM180531.1	574/582(99%)
5	<i>Candida michaelii</i>	NNIBRFG28278	DQ466545.1	525/533(98%)
6	<i>Candida parapsilosis</i>	HW5-4	KU316730.1	570/572(99%)
7	<i>Candida pseudolambica</i>	HHW5-2	KU316731.1	557/560(99%)
8	<i>Candida sake</i>	HW7-1	MF462783.1	564/567(99%)
		AHW5-1	MF462787.1	559/562(99%)
9	<i>Candida solani</i>	AYH29-2	KU167670.1	494/494(100%)
10	<i>Candida vartiovaarae</i>	AHW22-1	KU316734.1	578/580(99%)
11	<i>Cryptococcus adeliensis</i>	AYH12-2	KJ410348.1	605/610(99%)
12	<i>Cryptococcus aureus</i>	YH-1	KT895965.1	594/600(99%)
13	<i>Cryptococcus flavus</i>	YH31-1	EU177572.1	588/590(99%)
14	<i>Cryptococcus laurentii</i>	HW2-1	KU316755.1	598/599(99%)
		HHW7-1	JQ968469.1	609/613(99%)
		YH19-1	KU316755.1	599/599(100%)
15	<i>Cryptococcus luteolus</i>	YH41-3	AM160633.1	604/609(99%)
16	<i>Cryptococcus terricola</i>	HW3-2	AM039670.1	608/612(99%)
17	<i>Cryptococcus zeae</i>	YH41-1	AM748533.1	599/605(99%)
18	<i>Cyberlindnera mrakii</i>	HHW4-1	KY849583.1	582/585(99%)
19	<i>Cyberlindnera satumus</i>	HHW20-1	KU316712.1	575/579(99%)
		AHW17-1	KT895984.1	577/579(99%)
20	<i>Cystobasidium slooffiae</i>	HYH12-1	JQ277256.1	594/596(99%)
21	<i>Debaryomyces hansenii</i>	HYH2-1	KU316715.1	574/575(99%)
22	<i>Dioszegia buhagiarii</i>	NNIBRFG28279	AY562151.1	561/570(98%)
23	<i>Dioszegia hungarica</i>	HW12-4a	AB558455.1	594/609(98%)
24	<i>Hannaella oryzae</i>	AHW1-1	KT895972.1	603/609(99%)
		YH41-4	JN544025.1	592/598(99%)
25	<i>Holtermanniella takashimae</i>	HW14-2	MF448307.1	598/599(99%)
26	<i>Leucosporidium golubevii</i>	HW15-1	DQ513269.1	594/601(99%)
27	<i>Moesziomyces aphidis</i>	HYH31-1	KY992087.1	617/624(99%)
28	<i>Papiliotrema aspenensis</i>	HW13-3	KX621788.1	576/577(99%)
29	<i>Papiliotrema flavescens</i>	YH35-3	MF448286.1	599/600(99%)
30	<i>Papiliotrema laurentii</i>	YH13-1	KX118629.1	605/609(99%)
31	<i>Pichia occidentalis</i>	YH13-2	GU373797.1	561/563(99%)
32	<i>Pichia pipjperi</i>	YH33-1	AB449698.1	558/563(99%)
33	<i>Pseudozyma graminicola</i>	HYH21-1	HQ637570.1	588/588(100%)
34	<i>Rhodospordiobolus fluvialis</i>	YH3-1	KU316718.1	579/580(99%)
35	<i>Rhodotorula glutinis</i>	HW5-2	MF045460.1	588/590(99%)
36	<i>Rhodotorula ingeniosa</i>	AHW5-2	AJ749834.1	596/599(99%)
37	<i>Rhodotorula mucilaginoso</i>	HYH23-1	AF335987.1	580/583(99%)
38	<i>Rhodotorula oryzaicola</i>	HHW13-1	AY335161.1	547/549(99%)
		HYH25-2	AB863570.1	498/504(99%)
39	<i>Rhodotorula taiwanensis</i>	YH41-2	KR995814.1	553/554(99%)
40	<i>Rhodotorula vanillica</i>	HW12-2	KC442286.1	592/594(99%)
41	<i>Satumispora silvae</i>	HW14-1	FJ463644.1	534/535(99%)
42	<i>Sporobolomyces camicolor</i>	HW21-2	KU316784.1	578/582(99%)
43	<i>Sporobolomyces japonicus</i>	NNIBRFG28271	AY070009.1	569/577(99%)
44	<i>Sporobolomyces phaffii</i>	AHW14-1	KU316719.1	574/576(99%)
45	<i>Torulaspora delbrueckii</i>	YH39-1	FJ468458.1	573/573(100%)
46	<i>Trichosporon moniliiforme</i>	AYH4-3	KU316725.1	597/598(99%)
		YH4-1	KT895976.1	604/607(99%)
47	<i>Ustilago trichophora</i>	HYH33-1	AJ236141.2	611/617(99%)
48	<i>Ustilentyloma graminis</i>	YH24-1	MF448317.1	575/577(99%)
49	<i>Ustilago spemphora</i>	NNIBRFG28273	FJ527112.1	579/580(99%)

Table 2. Isolated wild yeasts from freshwaters and soils in seashore of Cheongpodae beach of Taean, Chungcheongnam-do, Korea. (to be continued)

No.	Putative species	Isolated No.	Related GenBank No.	Identity (%)
1	<i>Aureobasidium pullulans</i>	TC4-1	JX067768.1	585/618(95%)
		HTC29-1	MF979208.1	564/567(99%)
2	<i>Bullera pseudoalba</i>	CPD10-2	KC006449.1	591/594(99%)
3	<i>Candida bombiphila</i>	CPD22-4	LT631807.2	562/568(99%)
4	<i>Candida catenulata</i>	CPD33-1	LN998135.1	458/458(100%)
5	<i>Candida cretensis</i>	TC7-1	KU316775.1	609/615(99%)
6	<i>Candida haemulonii</i>	CPD2-1	EU568918.1	295/300(98%)
7	<i>Candida natalensis</i>	NNIBRFG31591	KJ794716.1	560/563(99%)
8	<i>Candida parapsilosis</i>	CPD3-1	KY296076.1	609/614(99%)
		HCPD3-1	KU316730.1	609/613(99%)
		ACPD19-4	EF063136.1	599/604(99%)
9	<i>Candida pseudorhagii</i>	NNIBRFG31592	EF120600.1	527/533(99%)
10	<i>Candida tropicalis</i>	ATC9-3	FJ432611.1	606/614(99%)
		TC19-1	AJ749824.1	608/614(99%)
		ACPD22-4	FJ432611.1	607/618(98%)
11	<i>Candida vartiovaarae</i>	TC27-1	KU316734.1	612/619(99%)
12	<i>Clavispora lusitaniae</i>	HCPD23-1	FJ627986.1	552/557(99%)
13	<i>Cryptococcus adeliensis</i>	ACPD9-1	KT239028.1	594/594(100%)
14	<i>Cryptococcus aureus</i>	TC3-1	KT895965.1	632/641(99%)
15	<i>Cryptococcus flavus</i>	HTC16-2	EU177572.1	631/639(99%)
		CPD15-3	EU523632.1	572/574(99%)
16	<i>Cryptococcus friedmannii</i>	CPD28-1	KP789311.1	588/590(99%)
17	<i>Cryptococcus laurentii</i>	HTC31-1	KU316736.1	626/641(98%)
		CPD18-1	KP789312.1	594/596(99%)
18	<i>Cryptococcus magnus</i>	ATC34-1	AY242120.1	634/643(99%)
		TC34-1	AY242120.1	637/643(99%)
19	<i>Cryptococcus victoriae</i>	ATC3-1	AJ749830.1	626/639(98%)
20	<i>Cyberlindnera saturnus</i>	TC11-1	KU316712.1	614/617(99%)
21	<i>Debaryomyces hansenii</i>	ATC19-2	KU316714.1	605/612(99%)
		HTC19-1	KR062070.1	573/590(97%)
		HCPD32-1	FJ432605.1	594/600(99%)
22	<i>Diutina catenulata</i>	ACPD38-3	KU167676.1	455/455(100%)
23	<i>Hannaella oryzae</i>	TC22-3	JN544025.1	608/613(99%)
24	<i>Hannaella sinensis</i>	TC29-2	AF363648.1	617/625(99%)
25	<i>Hannaella zeae</i>	ATC29-5	KY826437.1	576/597(96%)
26	<i>Kluyveromyces lactis</i>	TC35-1	HE660059.1	582/588(99%)
27	<i>Metschnikowia bicuspidata</i>	TC10-2	EU285506.1	556/560(99%)
28	<i>Metschnikowia koreensis</i>	ACPD2-1	KC160550.1	500/500(100%)
29	<i>Meyerozyma guilliermondii</i>	CPD8-3	KU316708.1	609/613(99%)
		HCPD8-1	JQ965868.1	579/580(99%)
30	<i>Moesziomyces aphidis</i>	ACPD8-1	KY992087.1	644/648(99%)
31	<i>Naganishia globosa</i>	ATC2-1	KU316758.1	625/636(98%)
32	<i>Nakazawaea pomicola</i>	NNIBRFG31590	JF749218.1	555/559(99%)
33	<i>Papiliotrema aurea</i>	ACPD10-2	JN004200.1	591/595(99%)
34	<i>Papiliotrema flavescens</i>	ATC7-1	MF045447.1	634/641(99%)
		TC22-2	MF045447.1	635/640(99%)
35	<i>Pichia guilliermondii</i>	TC14-1	AM160625.1	608/613(99%)
		HCPD19-1	FJ432597.1	611/615(99%)
		ACPD22-2	AY894828.1	600/605(99%)
36	<i>Pichia kudriavzevii</i>	CPD19-2	KY296068.1	602/608(99%)
37	<i>Pichia scolyti</i>	HTC22-1	U45788.1	514/520(99%)
		CPD40-2	EF042018.1	483/487(99%)
38	<i>Pseudozyma antarctica</i>	CPD28-2	JQ650240.1	635/642(99%)
39	<i>Pseudozyma aphidis</i>	CPD8-4	JX049426.1	598/598(100%)
		HCPD8-2A	GU373766.1	606/611(99%)
40	<i>Pseudozyma hubeiensis</i>	ACPD1-2	KC845938.1	592/594(99%)
41	<i>Pseudozyma pruni</i>	ACPD23-2	EU379943.1	633/639(99%)
42	<i>Rhodospidium paludigenum</i>	ACPD3-1	FJ463627.1	560/560(100%)
43	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	ATC22-1	KU316772.1	608/614(99%)

Table 2. Isolated wild yeasts from freshwaters and soils in seashore of Cheongpodae beach of Taean, Chungcheongnam-do, Korea.

No.	Putative species	Isolated No.	Related GenBank No.	Identity (%)
44	<i>Rhodotorula nothofagi</i>	HTC25-1	AF335987.1	607/615(99%)
45	<i>Rhodotorula paludigena</i>	TC22-1	KC006668.1	613/620(99%)
46	<i>Rhodotorula taiwanensis</i>	CPD8-2	KX771202.1	558/558(100%)
47	<i>Rhodotorula toruloides</i>	CPD15-1	KR995814.1	554/555(99%)
48	<i>Sarocladium strictum</i>	ATC12-1	KU316747.1	602/616(98%)
49	<i>Sarocladium strictum</i>	CPD17-3	KF488736.1	479/483(99%)
50	<i>Satumispora silvae</i>	ACPD19-3	KU167683.1	537/537(100%)
51	<i>Scheffersomyces shehatae</i>	ATC1-1	JQ714021.1	604/613(99%)
52	<i>Vanrija humicola</i>	CPD5-1	KU316773.1	634/637(99%)
53	<i>Yamadazyma mexicana</i>	ACPD32-2	KM816739.1	517/518(99%)
54	<i>Yamadazyma mexicana</i>	CPD32-1	KM816739.1	516/517(99%)
55	<i>Zygoascus polysorbophila</i>	CPD19-1	LC060996.1	585/590(99%)
	<i>Zygosaccharomyces rouxii</i>	CPD22-6	JX848543.1	539/539(100%)

Table 3. Isolated wild yeasts from freshwaters and soils in Suncheonman marshland of Jeollanam-do, Korea.

No.	Putative species	Isolated No.	Related GenBank No.	Identity (%)
1	<i>Aureobasidium proteae</i>	ASCM4-5	HE802542.1	566/566(100%)
2	<i>Aureobasidium pullulans</i>	SCM4-8	JX067761.1	614/614(100%)
		ASCM5-1	KR995769.1	544/544(100%)
3	<i>Auriculibuller fuscus</i>	SCM4-7	AM748525.1	615/627(98%)
4	<i>Barnettozyma californica</i>	SCM19-3	DQ377655.1	633/633(100%)
5	<i>Candida homilientoma</i>	SCM35-2	EU523619.1	497/497(100%)
6	<i>Candida melibiosica</i>	SCM30-3	MN203651.1	509/511(99%)
7	<i>Candida pseudolambica</i>	SCM1-1	KU316731.1	602/602(100%)
8	<i>Candida santamariae</i>	NNIBRFG31593	GQ911489.1	565/565(100%)
9	<i>Candida zeylanoides</i>	SCM32-1	KU316697.1	608/613(99%)
10	<i>Clavispora lusitaniae</i>	HSCM27-1	KJ756765.1	495/495(100%)
11	<i>Cryptococcus aureus</i>	SCM39-1	KT895965.1	640/640(100%)
12	<i>Cryptococcus bestiolae</i>	SCM26-1	AY917100.1	593/595(99%)
13	<i>Cryptococcus flavus</i>	SCM15-1	EU177572.1	639/639(100%)
14	<i>Cryptococcus laurentii</i>	ASCM16-1	KU316735.1	583/583(100%)
15	<i>Cryptococcus podzolicus</i>	SCM3-1	FN428938.1	615/616(99%)
16	<i>Cutaneotrichosporon terricola</i>	NNIBRFG31594	KU167667.1	580/583(99%)
17	<i>Cyberlindnera fabianii</i>	SCM30-1	LK392383.1	607/615(99%)
18	<i>Debaryomyces hansenii</i>	HSCM12-1	JQ916047.1	563/563(100%)
19	<i>Hannaella kunmingensis</i>	SCM16-1	FJ828962.1	567/587(97%)
20	<i>Hanseniaspora opuntiae</i>	SCM26-1	KU316739.1	615/615(100%)
		HSCM26-1	KP975393.1	568/568(100%)
21	<i>Lachancea thermotolerans</i>	SCM36-1	JX129903.1	557/557(100%)
		ASCM4-2	KT922407.1	556/557(99%)
22	<i>Meira nashicola</i>	NNIBRFG31595	JX896169.1	565/566(99%)
23	<i>Metschnikowia viticola</i>	ASCM26-1	JN544019.1	493/496(99%)
24	<i>Meyerozyma guilliermondii</i>	HSCM6-1	KY108543.1	564/564(100%)
		ASCM35-2	MN123970.1	564/564(100%)
25	<i>Moesziomyces aphidis</i>	ASCM35-1	KY992087.1	600/600(100%)
26	<i>Papiliotrema flavescens</i>	SCM12-3	MF045447.1	640/640(100%)
27	<i>Pichia manshurica</i>	HSCM13-1	KF268291.1	547/547(100%)
28	<i>Pseudozyma antarctica</i>	SCM27-1	JQ650240.1	597/598(99%)
29	<i>Pseudozyma aphidis</i>	ASCM9-2	KC763347.1	583/583(100%)
30	<i>Pseudozyma tsukubaensis</i>	HSCM4-2	LC333508.1	589/590(99%)
31	<i>Rhodospiridiobolus fluvialis</i>	ASCM19-1	KU316718.1	570/570(100%)
32	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	HSCM15-1	MF966571.1	568/568(100%)
33	<i>Sporobolomyces carnicolor</i>	SCM4-1	KU316784.1	614/614(100%)
34	<i>Trichosporon moniliiforme</i>	SCM40-1	KT895976.1	639/639(100%)
		ASCM40-1	KU316725.1	591/591(100%)
35	<i>Vanrija humicola</i>	SCM26-1	KU316773.1	637/637(100%)
36	<i>Wickerhamomyces anomalus</i>	SCM2-1	HF952838.2	616/616(100%)
		ASCM5-2	MF769591.1	563/563(100%)
		HSCM5-1	KP171608.1	570/570(100%)

필자 등은 지금까지 금강의 야생 효모 종 분포 특성 규명을 위해 금강 하류인 충남 서천군 한산면 신성리부터 대전광역시 신탄진의 대청호까지 4년동안 금강주변 담수와 토양 환경에서 우점균으로 *Candida subhashii*, *Bullera japonica*, *Cr. magnus*, *Rhodotonular*속 균, *Hansenia*속 균, *C. chauliodes*, *Holtermanniella takashimae* 등을 분리, 동정하여 보고하였고[22,26], 영산강과 낙동강[20] 시료 등에서도 우점균으로 *Cryptococcus*속 균, *Rhodotonular*속 균, *Candida* 속 균등을 보고 하였다.

본 연구에서도 위의 담수환경 야생효모 분리 결과와 유사하게 *Candida*, *Cryptococcus*, *Rhodotonular*속 균들이 많이 분리되었으나 해안 환경과 습지대 주변 환경에서 좀더 다양한 야생 효모 종들이 분리된 것이 특이점이었다. 또한 이들 담수환경에서 10균주의 국내 미기록 효모들을 선별할 수 있었다. 최근 유 등[28]은 강원도 태백시 등의 담수시료에서 *Candida railenensis* 등 7종의 국내 미기록 야생효모들은 분리하여 이들의 균학적 특성을 보고하였다.

국내 미기록 야생효모들의 균학적 특성 및 효소활성

위와 같이 금강 상류 금산의 천내강과 적벽강, 태안 국립해상공원과 순천만 습지대 주변에서 분리, 동정한 야생효모들 중 국내 미기록 야생효모들로 최종 선별된 *C. michaelii* NNIBRFG28278, *Sp. japonicus* NNIBRFG28271, *D. buhagiarii* NNIBRFG28279, *U. spermophora* NNIBRFG28273, *N. pomicola* NNIBRFG31590, *C. natalensis* NNIBRFG31591, *C. pseudorhagii* NNIBRFG31592, *C. santamariae* NNIBRFG31593, *Cu. terricola* NNIBRFG31594, *M. nashicola* NNIBRFG31595 등 10균주들에 대하여 균학적 특성으로 형태학적, 배양학적 특성과 에탄올 등에 대한 내성 및 탄소원들에 대한 자화성과 발효성을 조사하였다.

형태학적, 배양학적 특성; 이들 미기록 효모들의 형태적, 배양적 특성과 이들의 phylogenetic trees는 각각 Table 4, Fig. 1, Fig. 2와 같다. 이들 미기록 효모들은 *C. pseudorhagii* NNIBRFG31592와 *Cu. terricola* NNIBRFG31594만이 구형이고 나머지 균들은 난형으로 출아에 의해 영양 증식을 하였으며 *Sp. japonicus* NNIBRFG28271과 *C. natalensis* NNIBRFG31591 두 균주만이 포자를 생성하였다. *U. spermophora* NNIBRFG28273 균주는 vitamin-free배지에서도 생육이 아주 양호하였고 20% 포도당을 함유한 YPD배지에서 모두 생육이 양호하였으며, 특히 *Sp. japonicus* NNIBRFG28271 균주는 15% NaCl을 함유한 YPD배지에서도 생육이 양호한 호염성균으로 내염성 효소등의 유용 대사산물 생산에 매우 유용할 것으로 사료된다.

에탄올과 중금속에 대한 내성; 10주의 국내 미기록 야생효모들의 에탄올과 중금속들에 대한 내성을 조사한 결과는 Table 4와 같다. *D. buhagiarii* NNIBRFG28279, *U. spermophora* NNIBRFG28273, *C. natalensis* NNIBRFG31591, *C. santamariae* NNIBRFG31593, *Cu. terricola* NNIBRFG31594 등 5균주들이 10% 에탄올을 함유한 YPD배지에서 생육하여 강한 에탄올 내성을 보였다.

한편, 미기록 야생 효모들은 Pb, Hg, Li, Co, Cu, Fe 등의 2가 중금속 이온들에 대하여 400 ppm에서도 생육하는 내성을 보였으나 Zn 이온에 대하여는 *Sp. japonicus* NNIBRFG28271, *D. buhagiarii* NNIBRFG28279, *Cu. terricola* NNIBRFG31594 등 3균주는 내성이 없었다. 이러한 중금속 이온들과 에탄올에 대한 내성은 이 등[1]이 재래식 된장과 고추장에서 분리한 *Saccharomyces*속 균들과 *Zygosaccharomyces* 속 균들이 Pb, Hg, Co, Cu 2가이온들에 대하여 800ppm 내성을 보였고 8% 에탄올 내성 결과와 유사하였다. 또한, 김 등[30]이 재래식 메주에서 분리한 고온성 *S. cerevisiae* OE-16의 Pb, Hg, Co 이온들에 대한 내성(800 ppm)들과도 유사한 결과이었으나 에탄올 내성(6%)은 본 연구결과보다 낮았다.

탄소원들에 대한 자화성과 발효성; 미기록 야생효모들의 탄소원으로 당류와 당알코올 및 유기산들에 대한 자화성과 발효성을 조사한 결과 Table 5와 같이 미기록 효모들 모두 포도당을 자화시키고 발효하였으나 lactose는 모두 자화시키지 못하였다. Maltose는 *M. nashicola* NNIBRFG31595 외 9균주들이 자화시켰고 특히, *U. spermophora* NNIBRFG28273 균주는 cellobiose를 자화시키면서 알코올 발효하였고, 동시에 *D. buhagiarrii* NNIBRFG28279와 더불어 전분을 자화시켜 이들 두 미기록 효모들은 앞으로 섬유소를 이용한 bioethanol생산에 유용하게 활용될 것으로 사료된다. 한편 탄소원으로 구연산을 *M. nashicola* NNIBRFG31595와 9균주들이 모두 이용할 수 있었으나 초산은 모두 이용하지 못하였다.

Table 4. Microbiological characteristics of unrecorded wild yeasts from Cheonnaegang of Geumsan-gun, Cheonpodae beach of Taean and Suncheonman marshland in Korea.

Characteristics	<i>Candida michaelii</i>	<i>Sporobolomyces japonicus</i>	<i>Dioszegia buhagiarrii</i>	<i>Ustilago spermophora</i>	<i>Nakazawaea pomicola</i>
	NNIBRFG28278	NNIBRFG28271	NNIBRFG28279	NNIBRFG28273	NNIBRFG31590
Morphological characteristics					
Shape/size (μm)	Oval/ 1.3×0.8	Oval/ 2.0×1.2	Oval/ 1.4×1.0	Oval/ 1.8×1.1	Oval/ 1.5×1.2
Vegetative reproduction	Budding	Budding	Budding	Budding	Budding
Spore/ Pseudomycelium	-/-	+/+	-/-	-/-	-/-
Cultural characteristics					
Growth on YPD /YM/PD media	+/+/+/+	+/+/+/+	+/+/+/+	+/+/+/+	+/+/+/+
Color on YPD medium	cream	pink	cream	cream	White
Growth:					
Vitamin-free medium	-	+	-	++	+
10/20% glucose YPD medium	+/+	+/+/+	+/+/+	+/+/+	+/+/+
5/15% NaCl YPD medium	+/-	+/+/+	+/-	+/+	+/+
5/10% ethanol YPD medium	-/-	-/-	+/+	+/+	-/-
Heavy metal resistance ^a	All	Part	Part	All	All
Growth on temp/ pH	20-40°C/ pH 6-7	20-30°C/ pH 4,6-8	20-40°C/ pH 6-7	20-30°C/pH 4-8	20-30°C/pH4-8

+: Growth; -: No growth; YPD: yeast extract-peptone-dextrose; YM: yeast extract-malt extract; PD: potato dextrose

^a All: growth in 400 ppm of Pb²⁺, Hg²⁺, Li⁺, Co²⁺, Cu²⁺, Fe²⁺ and Zn²⁺; Part: all except Zn²⁺

Table 4. Microbiological characteristics of unrecorded wild yeasts from Cheonnaegang of Geumsan-gun, Cheonpodae beach of Taean and Suncheonman marshland in Korea.

Characteristics	<i>Candida michaelii</i>	<i>Sporobolomyces japonicus</i>	<i>Dioszegia buhagiarrii</i>	<i>Ustilago spermophora</i>	<i>Nakazawaea pomicola</i>
	NNIBRFG28278	NNIBRFG28271	NNIBRFG28279	NNIBRFG28273	NNIBRFG31590
Morphological characteristics					
Shape/ Size (μm)	Oval/ 1.7×1.6	Global/ 1.2×1.2	Oval/ 1.7×1.3	Global/ 1.3×1.3	Oval/ 2.1×0.6
Vegetative reproduction	Budding	Budding	Budding	Budding	Budding
Spore/ Pseudomycelium	+/-	-/-	-/+	-/-	-/-
Cultural characteristics					
Growth on YPD /YM/PD media	+/+/+/+	+/+/+	+/+/+/+	+/+/+/+	+/+/+
Color on YPD medium	cream	cream	White	White	cream
Growth:					
Vitamin-free medium	+	-	+	-	-
10/20% glucose YPD medium	+/+	+/+/+	+/+/+	+/+/+	+/+/+
5/15% NaCl YPD medium	+/-	+/-	+/-	+/+	-/-
5/10% ethanol YPD medium	+/+	-/-	+/+	+/+	-/-
Heavy metal resistance ^a	All	All	All	Part	All
Growth on temp/ pH	20-40°C/pH 6-7	20-40°C/ pH 5-7	20-40°C/pH 6-7	20-40°C/pH 6-7	20-30°C/pH 6-7

+: Growth; -: No growth; YPD: Yeast extract-peptone-dextrose; YM: Yeast extract-malt extract; PD: Potato dextrose.

^a All: growth in 400 ppm of Pb²⁺, Hg²⁺, Li⁺, Co²⁺, Cu²⁺, Fe²⁺ and Zn²⁺; Part: all except Zn²⁺

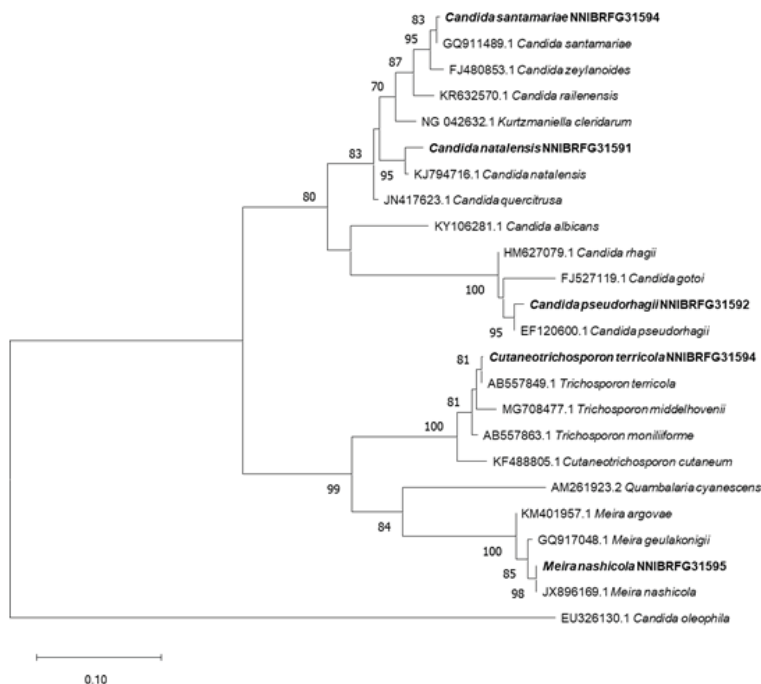


Fig. 1. Phylogenetic tree of the unrecorded yeasts isolated from freshwaters and soils of Cheonnaegang in Geumgang upstream, based on the nucleotide sequences of large subunit 26S ribosomal DNA D1/D2 region. The tree was generated by the neighbor-joining method, using MEGA 7. The bar indicates the number of substitutions per position. The new isolates from the present study are shown in bold and its detailed characteristics were described in Table 4.

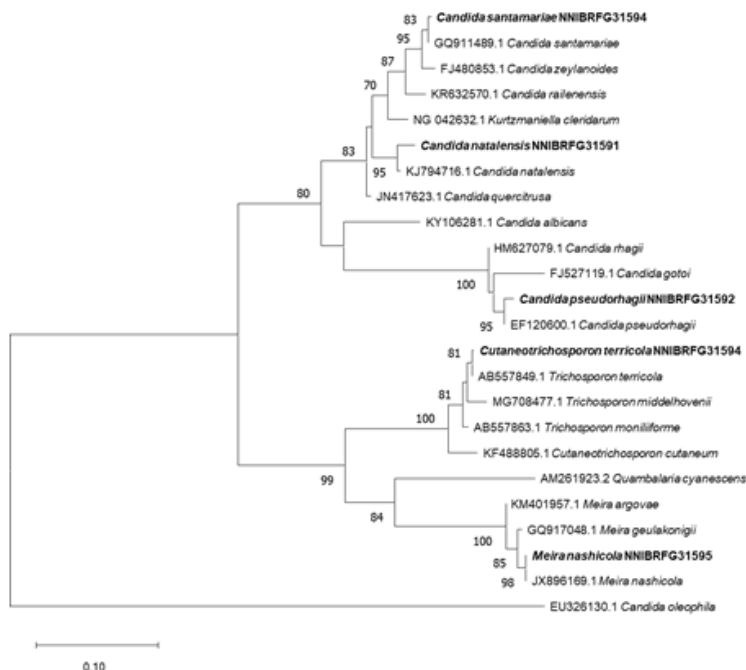


Fig. 2. Phylogenetic tree of the unrecorded yeasts isolated from freshwaters and soils of Cheongpodae beach in Taeon and Suncheonman marshland in Suncheon, based on the nucleotide sequences of large subunit 26S ribosomal DNA D1/D2 region. The tree was generated by the neighbor-joining method, using MEGA 7. The bar indicates the number of substitutions per position. The new isolates from the present study are shown in bold and its detailed characteristics were described in Table 4.

Table 5. Assimilation and fermentation on sugars, sugar alcohols and organic acid of unrecorded wild yeasts.

Sugars /Sugar alcohol.	Strain No.										
	(Assimilation/fermentation)										
	<i>C. michaelii</i> NNIBRFG28278	<i>S. japonicus</i> NNIBRFG28271	<i>D. buhagiarri</i> NNIBRFG28279	<i>U. spermophora</i> NNIBRFG28273	<i>N. pomicola</i> NNIBRFG31590	<i>C. natalensis</i> NNIBRFG31591	<i>C. pseudorthagii</i> NNIBRFG31592	<i>C. santamariae</i> NNIBRFG31593	<i>C. ferricola</i> NNIBRFG31594	<i>M. nashicola</i> NNIBRFG31595	
glucose	++/-	+/-	+/-	++/-	+/+++	++/-	+/++	+/++	+/-	+/-	
fructose	++/-	+++/-	+/-	++/-	+++/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	
galactose	++/-	-/-	-/-	-/-	-/-	++/-	++/-	-/-	+/-	+++/-	
mannose	++/-	++/-	+/-	++/-	++/-	++/-	++/+	++/+	+/-	+/-	
sucrose	++/-	++/-	-/-	+/-	++/-	++/+	++/+	-/-	+/-	+/-	
cellobiose	-/-	+/-	+/-	++/+	+/-	++/-	++/+	++/+	+/-	-/-	
lactose	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	
raffinose	+/-	-/-	+/-	+/-	-/-	+/-	++/+	+/-	+/-	+/-	
maltose	+/-	++/-	+/-	++/-	++/-	++/-	++/+	++/+	+/-	-/-	
xylose	+/-	+/-	+/-	++/-	+/-	-/-	+/-	-/-	+/-	+/-	
starch	-/-	-/-	+/-	+/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	
mannitol	++/-	+/-	-/-	-/-	+/-	++/+	++/+	-/-	+/-	+/-	
sorbitol	-/-	+/-	+/-	-/-	+/-	++/+	++/+	-/-	+/-	+/-	
citric acid ^a	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	
acetic acid ^b	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

+ : assimilated or fermented; - : not assimilated or fermented; ^a : Only assimilation of citric acid and acetic acid were investigated.

적요

금강 상류와 태안, 순천만 등 해안주변환경의 야생효모들의 효모 종 분포특성을 조사하고 국내 미발표된 효모들을 선별하여 이들의 균학적 특성들을 알아보고자 금강 상류인 충남 금산의 천내강과 서해안에 있는 청포대 해수욕장 및 순천만 습지대 주변의 물과 토양들로부터 야생효모들을 분리, 동정하였고 이들 중 국내 미기록 효모들을 선별하여 이들의 균학적 특성을 조사하였다. 금산의 천내강 주변 물과 토양 40점에서 49종의 야생효모들을 분리, 동정하였고, 태안의 청포대 해수욕장과 순천만 습지대 주변 물과 식물체 부식물 및 토양 80점에서 각각 56종, 36종의 야생효모들을 분리, 동정하였다. 이들 지역에서 분리, 동정한 야생효모들 중 *C. michaelii* NNIBRFG28278, *Sp. japonicus* NNIBRFG28271, *D. buhagiarii* NNIBRFG28279, *U. spermophora* NNIBRFG28273, *N. pomicola* NNIBRFG31590, *C. natalensis* NNIBRFG31591, *C. pseudorhagii* NNIBRFG31592, *C. santamariae* NNIBRFG31593, *Cu. terricola* NNIBRFG31594, *M. nashicola* NNIBRFG31595 등 10균주들이 국내 미기록 야생효모들로 최종 선별되었다. 이들 미기록 효모들은 *C. pseudorhagii* NNIBRFG31592과 *Cu. terricola* NNIBRFG31594 만이 구형이고 나머지 균들은 난형으로 *Sp. japonicus* NNIBRFG28271와 *C. natalensis* NNIBRFG31591 두 균주만이 포자를 생성하였다. *U. spermophora* NNIBRFG28273균주는 vitamin-free배지에서도 생육이 아주 양호하였고 *Sp. japonicus* NNIBRFG28271균주는 15% NaCl을 함유한 YPD배지에서도 생육이 양호한 호염성균이었다.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was supported by a grant from the Nakdonggang National Institute of Biological Resources (NNIBR, project No: NNIBR202001207), 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 Biotechnol* 1996;5:54-8.
2. Lee DH, Lee DH, Lee JS. Characterization of a new antidiabetic β -secretase inhibitory peptide from *Saccharomyces cerevisiae*. *Enzyme and Microbiol Technol* 2007;42:83-8.
3. Jeong SC, Lee DH, Lee JS. Production and characterization of an anti-angiogenic agent from *Saccharomyces cerevisiae* K-7. *J Microbiol Biotechnol* 2006;16:1904-11.
4. Han SM, Lee JS. Production and its anti-hyperglycemia effects of gamma-aminobutylic acid from the wild yeast strain *Pichia silvicola* UL6-1 and *Sporobolomyces carnicolor* 402-JB-1. *Mycobiol* 2017;45:199-203.
5. Kim JY, Lee SY, Han SM, Lee JS. Production of anti-dementia acetylcholinesterase from the wild yeasts *Saccharomyces cerevisiae* WJSL0113 and *Wickerhamomyces anomalus* JSF0128. *Kor J Mycol* 2018;46:447-57.
6. Moon JE, Heo W, Lee SH, Lee SH, Lee HG, Lee JH, Kim YJ. Trehalose protects the probiotic yeast *Saccharomyces boulardii* against oxidative stress-induced cell death. *J Microbiol Biotechnol* 2020;30:54-61.
7. Ryu HY. Advanced technologies and mechanisms for yeast evolutionary engineering.

- Mycobiol 2020;48:423-8.
8. 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.
 9. 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.
 10. 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.
 11. 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.
 12. 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.
 13. 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.
 14. 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.
 15. 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.
 16. 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.
 17. 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.
 18. 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.
 19. Han SM, Lee JS. Characterization of unrecorded yeasts Isolated from leaves of trees of Oknyeobong peak and Yeonjasan mountain in Daejeon, Korea, *Kor J Mycol* 2017;45:23-30.
 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, 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.
 24. 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.
 25. Kim JY, Han SM, Park SJ, Jang JE, Lee JS. Isolation and characterization of unrecorded wild

- yeasts obtained from soils of spice fields and mountains. Kor J Mycol 2020;48:151-60.
26. Han SM, Park DJ, Kim JY, Lim HJ, Lee HB, Lee JS. 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. Kor J Mycol 2020;48:237-49.
 27. Kim JS, Lee M, Kim JY, Heo J, Kwon SW, Yun BS, Kim SJ. Distribution and species diversity of wild yeasts isolated from flowers in Korea. Kor J Mycol 2020;48:475-84.
 28. Jeon YJ, Park S, Hwang H, Park YH, Cheon W, Goh J, Chung N, Mun HY. Seven yeast strains isolated from freshwaters for the first record in Korea. Kor J Mycol 2020;48:523-31.
 29. 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.
 30. Kim JH, Kim NM, Lee JS. Physiological characteristics and ethanol fermentation of thermotolerant yeast *Saccharomyces cerevisiae* OE-16 from traditional meju. Kor J Food Nutr 1999;12:490-5.