

패랭이꽃으로부터 분리한 효모 *Starmerella vaccinii* 균주 특성

윤정아¹, 김정운², 신소희³, 김명동^{4,5*}

¹강원대학교 식품환경융합학과 박사과정, ²강원대학교 바이오산업공학부 식품생명공학전공 학사과정

³강원대학교 식품환경융합학과 석사과정, ⁴강원대학교 바이오산업공학부 식품생명공학전공 교수, ⁵강원대학교 누룩연구소 소장

Characteristics of the Yeast *Starmerella vaccinii* Isolated from *Dianthus chinensis*

Jeong-Ah Yoon¹, Jung-Un Kim², So-Hee Shin³, Myoung-Dong Kim^{4,5*}

¹Ph.D. Candidate, Department of Food Biotechnology and Environmental Science, Kangwon National University, Chuncheon 24341, Korea

²Undergraduate Student, Department of Food Science and Biotechnology, Kangwon National University, Chuncheon 24341, Korea

³Master's Student, Department of Food Biotechnology and Environmental Science, Kangwon National University, Chuncheon 24341, Korea

⁴Professor, Department of Food Science and Biotechnology, Kangwon National University, Chuncheon 24341, Korea

⁵Chief Technology Officer, Institute of Fermentation and Brewing, Kangwon National University, Chuncheon 24341, Korea

*Corresponding author: Myoung-Dong Kim (E-mail: mdkim@kangwon.ac.kr)

ABSTRACT

Received: 2 February 2021

Revised: 21 March 2021

Accepted: 24 March 2021

Two hundred and fifty-eight strains of yeast were isolated from wild flowers collected in Chuncheon, Gangwon Province, Korea. The MBY/L7303 strain from *Dianthus chinensis* showed remarkable growth in medium supplemented with glucose, xylose, cellobiose, and galactose as the carbon source. This strain was identified as *Starmerella vaccinii*, and its 26S rRNA gene sequence was registered in GenBank (MW465704). The *S. vaccinii* MBY/L7303 utilized glucose, cellobiose, sucrose, galactose, xylose, xylan, and starch as carbon sources and did not produce ethanol. The strain grew to a maximum cell density (OD_{600}) of 21.93 ± 0.09 in the cellobiose-supplemented medium. The highest specific growth rate was 0.41 ± 0.00 1/h at pH 5.0 and 30°C. These results serve as valuable information for the potential industrial application of *S. vaccinii*.

Keywords: *Dianthus chinensis*, *Starmerella vaccinii*, Wild flowers, Yeast

서론

효모는 단세포 진핵미생물로서 오래전부터 빵, 주류, 장류 등의 발효식품 제조에 이용되어 왔으며(Lee et al., 1997; Lee et al., 2003; Lee, 1972), 상대적으로 저렴한 배지에서 배양이 가능한 효모는 진핵미생물을 연구하기 위한 모델로서 중요한 역할을 하고 있다(Oslan et al., 2012). 혈전분해능(Yi et al., 2014), 유해미생물 생육 억제능(Lee, 2005), 향



기 성분 생성능(Rollero et al., 2018), 알코올 생성능(Choi et al., 2016) 또는 열내성 우수 균주(Choi et al., 2017) 등이 보고되었으며, 이 중 일부는 산업적으로 이용되고 있다. 덴마크 코펜하겐의 Carlsberg 양조장에서는 *Saccharomyces cerevisiae* 균주를 사용하여, 맥주를 생산하고 있으며(Hansen, 1883), 망고에서 분리된 *S. boulardii* 균주는 프로바이오틱스 효과가 입증되어 의약품으로 사용되고 있다(Rajkowska et al., 2012; Soccol et al., 2010; Toma et al., 2005). 이러한 효모의 고부가가치 산업 활용을 위해 새로운 효모의 분리 및 동정, 유용 특성을 탐색하기 위한 연구가 필요하다. 효모는 식품의 잎, 꽃, 나무줄기, 곤충, 토양, 동물의 배설물, 바다, 강 등 다양한 곳에서 분리되며, 국내에서는 전통 발효식품 유래의 효모 균주에 대한 연구가 활발히 보고되어 있다(Choi et al., 2016; Choi et al., 2017; Jung et al., 2019; Park et al., 2013; Yoo et al., 2016).

Jung 등(Jung et al., 2019)은 누룩으로부터 46°C에서 자일로스를 대사하여 자일리톨을 생산하는 *Millerozyma farinose* MBY/L1597 균주를 분리한 바 있으며, Choi 등(Choi et al., 2016)은 누룩으로부터 맥아당을 이용하여 에탄올을 생산하는 *S. cerevisiae* MBYK45 균주를 분리 및 보고한 바 있다.

최근에는 국내외에서 식품 외의 자연환경으로부터 다양한 효모를 확보하기 위한 연구들이 수행되고 있으며(Hyun et al., 2014; Hyun et al., 2013; Lopes et al., 2018; Yoo et al., 2016; Yoon et al., 2020), Lopes 등(Lopes et al., 2018)은 브라질 생태계의 썩은 나무로부터 셀로비오스 발효 효율이 우수한 *Candida jaroonii*와 *Yamadazyma* sp1. 균주를 분리 및 보고하였다. Han 등(Han et al., 2017)은 대한민국 충남 서천군 토양으로부터 분리한 20점의 효모 균주를 동정하고 배양학적 특성을 확인하였으며, 선유도 일대의 야생화에서 분리된 *Kazachstania servazzii* SY14-3 균주는 98.6%으로 높은 α -glucosidase 저해활성을 나타냈으며(Hyun et al., 2014), 서울 구로동에서 분리된 *Pseudozyma hubeiensis* 228-S-1 균주의 경우 xanthine oxidase 저해물질을 생성하여 야생화에서 분리한 효모의 산업적 활용가능성을 확인한 바 있다(Hyun et al., 2013). 또한 Yoon 등(Yoon et al., 2020)의 연구에서 춘천에서 수집한 시네라리아 꽃으로부터 40°C의 온도에서 10.05 ± 0.06 g의 에탄올을 생산하는 *Hanseniaspora opuntiae* MBY/L6793 균주를 분리하여 동시당화 활용가능성을 확인한 바 있다.

Starmerella vaccinii 균주는 일본의 블루베리 꽃으로부터 처음 분리되었고(Santos et al., 2018), 유전자 계통 발생학적 분석에 따라 2018년 *Candida vaccinii*에서 *Starmerella vaccinii*로 새롭게 명명되었다(Santos et al., 2018). *S. vaccinii* 균주는 시리아의 아욱꽃으로부터 분리된 *S. syriaca* 균주(Sipiczki, 2015), 한국의 대둔산에서 분리된 *Asterotremella humicola* 등과 같은 희귀 균주들의 생리적 특성을 확인하기 위해 비교된 바 있으나(Han et al., 2017), *S. vaccinii* 균주의 자체 특성을 확인하기 위한 연구는 미비한 상황이다. 따라서 *S. vaccinii* 균주에 대한 생육특성, 배양특성에 대한 연구 및 산업적 이용가능성에 대한 검토가 필요하다.

본 연구에서는 춘천의 패랭이꽃(*Dianthus chinensis*)으로부터 분리한 *S. vaccinii* 균주의 탄소원 대사 및 배양특성을 확인하여 산업적 응용 가능성을 확보하고자 하였다.

재료 및 방법

강원도 춘천시에서 수집한 10종의 야생화를 chloramphenicol(100 mg/l, Sigma-Aldrich, USA)이 첨가된 YEPD (yeast extract 10 g/l, peptone 20 g/l, glucose 20 g/l, BD Diagnostic, USA) 배지에 현탁하여 30°C에서 24시간 동안 배양한 후, YEPD 평판 배지에 도말하여 단일집락을 확보하였다.

다양한 탄소원을 대사할 수 있는 효모를 선별하기 위해 단일집락을 YEPD 배지에 접종하고 24시간 동안 배양한 후,

원심분리(5,000 ×g, 2 min)하여 균체를 회수하였다. 균체는 멸균 증류수로 3회 세척하고 세포흡광도(OD₆₀₀)가 1.0이 되도록 한 후, 연속적으로 10배씩 희석하여 2%의 글루코스, 자일로스, 셀로비오스, 갈락토스를 각각 포함하는 YEP 고체 배지에 8 μl씩 점적하고 40°C에서 배양하였다.

선발된 균주의 염색체 유전자는 ExiPrep™ Tissue Genomic DNA Kit(Bioneer, Korea)를 이용하여 추출하였으며, 프라이머 NL1(5'-GCATATCAATAAGCGGAGGAAAAG-3')과 NL4(5'-GGTCCGTGTTTCAAGACGG-3') (Reynolds and Taylor, 1993)를 사용하여 26S rRNA 유전자 단편을 증폭하였다. 분석된 염기서열은 Blast(<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)를 통해 NCBI(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)에 등록되어 있는 염기서열과의 상동성을 비교하여 분리균주를 동정하였으며, MEGA-X(Kumar et al., 2018)의 이웃연결방법(neighbor joining method)(Saitou and Nei, 1987)을 사용하여 계통수를 분석하였다.

탄소원 대사특성은 API 20C AUX kit(BioMérieux, France)(Davey et al., 1995)를 사용하여 확인하였다. 또한, 균주 배양액을 원심분리(5,000 ×g, 2 min)한 후, 균체를 회수하여 멸균 증류수로 3회 세척하고, 2%의 글루코스, 수크로스, 갈락토스, 자일로스, 자일란, 전분, 셀로비오스를 각각 포함하는 YEP 배지에 세포흡광도(OD₆₀₀)가 0.1이 되도록 접종하였다. 배양액은 30°C에서 200 rpm으로 교반하며, 세포흡광도(OD₆₀₀)와 에탄올 농도를 측정하였다.

배양 온도와 배지의 산도에 따른 균체성장을 확인하기 위해 균주 배양액을 원심분리(5,000 ×g, 2 min)하여 균체를 회수하였으며, 멸균 증류수로 3회 세척한 후 YEPD 배지에 세포흡광도(OD₆₀₀)가 0.1이 되도록 접종하였다. 배양액은 200 rpm으로 교반하며 2시간 마다 세포흡광도(OD₆₀₀)를 측정하였다. 배지의 산도는 완충용액(pH 4.0, 5.0: citrate buffer, pH 6.0, 7.0: potassium phosphate buffer, pH 8.0: tris-HCl buffer)을 사용하여 조정하였다.

세포흡광도(OD₆₀₀)는 분광광도계(Mecasys, Korea)를 사용하여 측정하였으며, 에탄올 농도는 굴절률 검출기(Shimadzu, Japan)가 장착된 고성능 액체 크로마토 그래프(High Performance Liquid Chromatograph, Shimadzu, Japan)를 사용하여 측정하였다. 컬럼은 Rezex ROA-Organic Acid H⁺ (Phenomenex, USA)를 65°C로 유지하여 사용하였으며, 이동상인 0.005 N의 황산용액은 0.6 ml/min의 유속으로 흘려주었다. 모든 측정은 3회 반복하였으며, SPSS Statistics(v22, IBM, USA)를 이용하여 Duncan의 다중범위 검정법(Duncan, 1955)으로 유의성을 검증하였다.

결과

강원도 춘천시에서 수집한 10종의 야생화로부터 258점의 균주를 분리하였으며, 그 중 37°C에서 생육하는 균주 26점을 선별하여 배지 탄소원에 따른 생육을 40°C에서 비교하였다(Fig. 1). MBY/L7198과 MBY/L7204를 제외한 대

Table 1. The homology cross table of the 26S rRNA region of the *Starmerella vaccinii* MBY/L7303 and other yeast strains

	1	2	3	4	5	6
1. <i>Starmerella vaccinii</i> MBY/L7303 (MW465704)	-	98.57	95.95	95.66	95.82	94.65
2. <i>Starmerella vaccinii</i> (KY106857)	-	-	95.13	94.70	94.70	93.70
3. <i>Starmerella magnoliae</i> (NG060814)	-	-	-	98.41	97.84	96.38
4. <i>Starmerella sorbosivorans</i> (NG060827)	-	-	-	-	98.27	96.24
5. <i>Starmerella geochares</i> (NG060806)	-	-	-	-	-	96.54
6. <i>Starmerella apis</i> (NG060800)	-	-	-	-	-	-

부분의 균주들은 갈락토스가 첨가된 배지에서 우수한 생육을 나타냈으며, MBY/L7277과 MBY/L7303을 제외한 균주들은 자일로스가 첨가된 배지에서 잘 생육하지 못하였다. 패랭이꽃으로부터 분리된 MBY/L7303 균주의 26S rRNA 유전자 염기서열을 분석한 결과, *Starmerella vaccinii*(KY106857) 균주와 99%의 상동성을 나타냈으며, 분석된 염기서열은 GenBank(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/>)에 등록하여 *Starmerella vaccinii* MBY/L7303 (MW465704)으로 명명하였다(Fig. 2, Table 1).

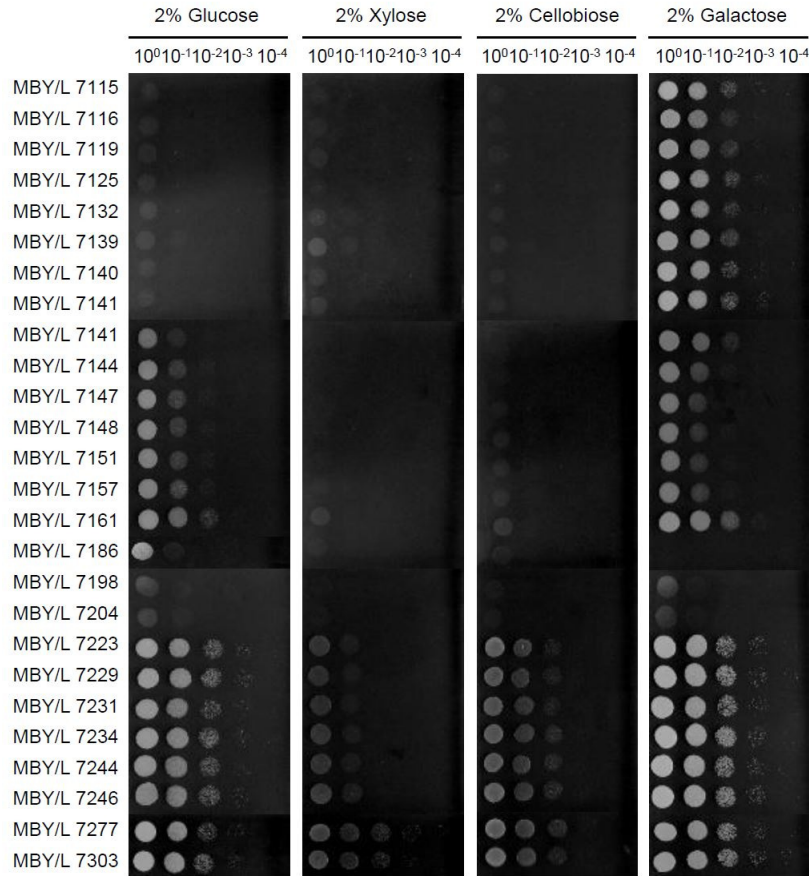


Fig. 1. Carbon source-dependent growth of yeast strains isolated from the wild flowers at 40°C.

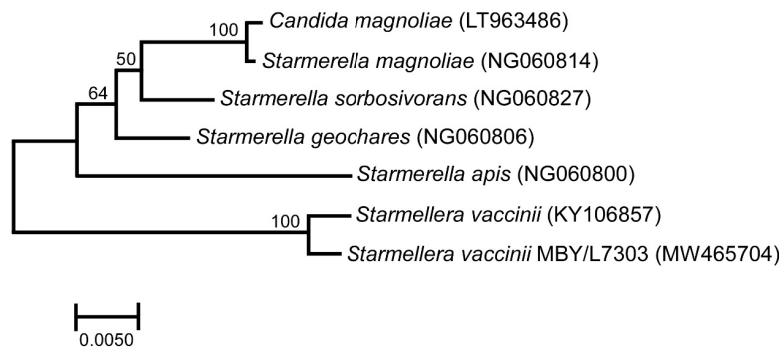


Fig. 2. Phylogenetic relationships of the 26S rRNA region of *Starmerella vaccinii* MBY/L7303 with other yeast strains. One segment corresponds to an evolution distance of 0.005 and is indicated by bars. The number shown is the bootstrap value, and the GenBank accession numbers are shown in parentheses.

S. vaccinii 균주는 블루베리 꽃에서 분리된 바 있으나 국내외에 잘 보고되지 않은 희귀 미생물이며(Santos et al., 2018), 야생화에서 분리된 미생물로는 *K. servazzi*(Hyun et al., 2014), *P. hubeiensis*(Hyun et al., 2013), *H. opuntiae* (Yoon et al., 2020), *S. syriaca*(Sipiczki, 2015) 등이 보고된 바 있다.

Starmerella 속 균주들의 유전적 상동성을 비교한 결과(Table 1), *S. vaccinii* MBY/L7303(MW465704)은 *S. vaccinii*(KY106857) 균주와 98.57%으로 가장 높은 유전적 상동성을 나타냈으며, *S. magnoliae*(NG060814) 균주와 95.95%의 상동성을 나타냈다. *S. magnoliae*(NG060814)와 *S. sorbosivorans* 균주, *S. sorbosivorans*와 *S. geochares*(NG060806) 균주는 98.41%와 98.27%으로 다른 종의 균주이나 유전적으로 유사한 것으로 사료된다.

다양한 탄소원에 대한 대사특성을 확인하였다(Table 2). Sipiczki(Sipiczki, 2015)의 연구에 따르면 *S. vaccinii* CBS7318 균주의 경우, 자일로스와 갈락토스를 대사하지 못하였으며, 셀로비오스를 천천히 대사하였다(Table 2). 또한, 꽃으로부터 분리된 *S. syriaca* 2-1362 균주(Sipiczki, 2010)는 자일로스는 대사하였지만 갈락토스와 셀로비오스를 대사하지 못하였으며, *C. stigmatis* 11-469 균주(Sipiczki, 2010)는 자일로스와 갈락토스를 대사하지 못하고 셀로비오스에서 적은 생육을 나타냈다. *S. vaccinii* MBY/L7303 균주는 꽃으로부터 분리된 다른 균주들과 비교하여 더 많은 탄소원을 이용하였다. 특히 동종인 *S. vaccinii* CBS7318와 비교하여 자일로스, 갈락토스를 대사할 수 있을 뿐만 아니라 셀로비오스에 대해 더 우수한 대사능을 나타냈다.

각각의 탄소원을 첨가한 배지에서 *S. vaccinii* MBY/L7303 균주의 배양특성을 확인하였다(Fig. 3). 배양 20 시간

Table 2. Characteristics of carbohydrate utilization in *Starmerella vaccinii* MBY/L7303 and other yeast strains

Characteristics	<i>S. vaccinii</i> MBY/L7303	<i>S. vaccinii</i> CBS7318	<i>S. syriaca</i> 2-1362	<i>C. stigmatis</i> 11-469
Glucose	+	+	+	+
Glycerol	+	+	+	+
2-Keto-D-gluconate	-	d	+	-
L-Arabinose	-	-	-	-
D-Xylose	+	-	+	-
Adonitol	-	-	-	+
Xylitol	-	d	+	-
D-Galactose	+	-	-	-
Inositol	-	-	-	-
D-Sorbitol	+	n	n	n
α-Methyl-D-glucoside	-	-	-	-
N-Acetyl-D-glucosamine	-	n	n	n
D-Cellobiose	+	w, d	-	w
D-Lactose	-	-	-	-
D-Maltose	-	-	-	-
D-Saccharose	+	w	-	+
D-Trehalose	-	n	-	-
D-Melezitose	-	n	-	-
D-Raffinose	-	-	-	+
Reference	This study	(Sipiczki, 2015)	(Sipiczki, 2010)	(Sipiczki, 2010)

+: growth, -: no growth, w: weak growth, d: delayed growth, n: data not available

후, 셀로비오스를 첨가한 배지에서 *S. vaccinii* MBY/L7303 균주의 세포흡광도(OD₆₀₀)는 21.93 ± 0.09으로 가장 높은 성장을 나타냈으며, 글루코스를 탄소원으로 사용한 경우 세포성장은 세포흡광도(OD₆₀₀) 15.00 ± 0.08이었다. 이러한 결과는 표 2의 결과와도 일치하였으며, *S. vaccinii* CBS7318 균주(Sipiczki, 2015)와 비교하여 셀로비오스 대사 능력이 우수할 것으로 판단된다. *S. vaccinii* MBY/L7303 균주의 자일란과 전분 대사속도는 다른 탄소원의 대사속도와 비교하여 더뎠으나, 최대 세포흡광도(OD₆₀₀)는 16.23 ± 0.05와 17.17 ± 0.05으로 셀로비오스를 제외한 다른 탄소원들과 유사하게 나타났다. 모든 탄소원을 첨가한 배지에서 에탄올은 측정되지 않았다. *S. vaccinii* 균주의 배양특성에 대한 연구는 보고된 바 없으며, Ha 등(Ha et al., 2011)의 연구에서 *S. cerevisiae* D452-2 균주는 셀로비오스 40 g/l와 갈락토스 40 g/l를 각각 첨가한 배지에서 36시간 동안 최대 세포흡광도(OD₆₀₀) 약 13과 10까지 성장하여 *S. vaccinii* MBY/L7303 균주보다 상대적으로 낮은 균체성장을 나타냈다.

S. vaccinii MBY/L7303 균주는 기존에 보고된 균주들과 비교하여 다양한 탄소원을 대사할 수 있으며, 균체성장 또한 우수한 것으로 판단된다. 에탄올을 생산하지 않아 대사한 탄소원 대부분은 균체 성장에 이용된 것으로 추정되며, 추가 연구를 통해 균체 또는 유용 단백질 생산을 위한 균주로 사용될 가능성을 검토할 필요가 있을 것으로 판단된다.

S. vaccinii MBY/L7303 균주의 배양온도와 배지산도에 따른 생육특성을 확인하기 위해 비성장속도를 측정하였다 (Fig. 4). *S. vaccinii* MBY/L7303 균주는 pH 5.0에서 0.41 ± 0.00 1/h로 가장 높은 비성장속도를 나타내어 내산성이 우수할 것으로 판단되며, pH 4.0과의 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 배양온도 30°C에서 0.42 ± 0.00 1/h로 가장 높은 비성장속도를 나타냈으나, 0.41 ± 0.00 1/h의 비성장속도를 나타낸 35°C와의 차이는 미미하였다. 배양온도 45°C에서의 비성장속도는 30°C에서의 약 24% 수준으로 가장 낮은 비성장속도를 나타냈다. 따라서, *S. vaccinii* MBY/L7303 균주는 배양온도 30°C, 초기 pH 5.0에서 가장 우수한 비성장속도를 나타냈다.

본 연구 결과는 희귀 미생물인 *S. vaccinii* 균주를 분리하고 특성을 확인하였으며, 효소 활성 및 유용 단백질 생산성 평가 등 추가 연구를 통해 바이오산업에 응용하기 위한 기초자료로 활용될 수 있을 것으로 사료된다.

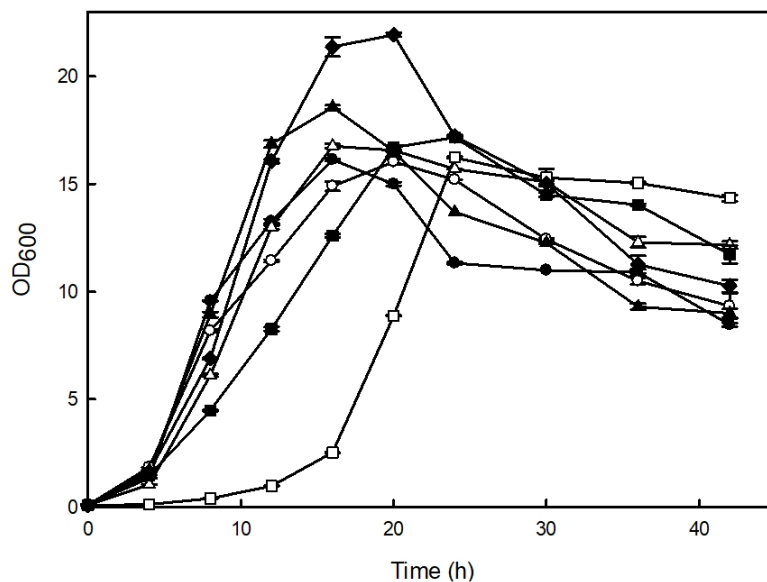


Fig. 3. Effects of carbon sources (●: glucose, ○: sucrose, ▲: galactose, △: xylose, ■: starch, □: xylan, ◆: cellobiose) on the growth of *Starmerella vaccinii* MBY/L7303.

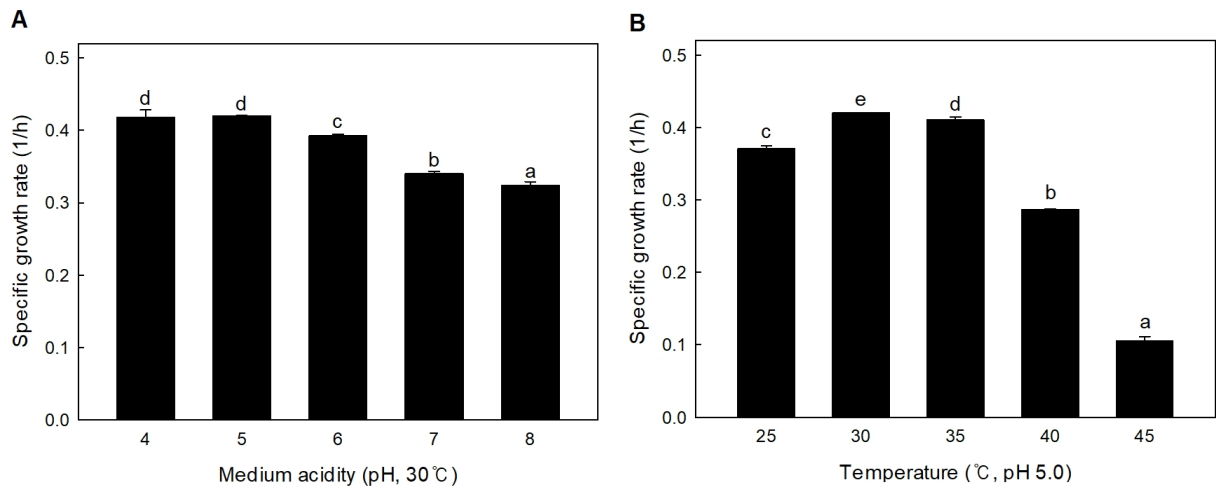


Fig. 4. Effects of pH (A, 30°C) and temperature (B, pH 5.0) on specific growth rates of *Starmarella vaccinii* MBY/L7303. Averages and standard errors from three independent cultures are shown. Different letters indicate significant differences between averages.

요약

강원도 춘천시에 서식하는 야생화로부터 258점의 효모 균주를 분리하였다. 분리된 균주 중 40°C에서 글루코스, 자일로스, 셀로비오스, 갈락토스를 탄소원으로 사용하고 생육이 우수한 MBY/L7303 균주를 선발하였다. 균주의 26S rRNA 유전자 염기서열을 분석한 결과 *Starmarella vaccinii*로 동정되어 GenBank(MW465704)에 등록하였다. *S. vaccinii* MBY/L7303 균주는 글루코스, 셀로비오스, 수크로스, 갈락토스, 자일로스, 자일란, 전분을 탄소원으로 이용하는 것이 확인되었으며, 배지에 첨가된 2% 셀로비오스로부터 에탄올은 생산하지 않았으나 세포흡광도(OD₆₀₀) 21.93 ± 0.09까지 성장하였다. 배양온도와 pH에 따른 *S. vaccinii* MBY/L7303 균주의 생육특성을 확인한 결과 30°C, pH 5.0 에서 가장 높은 비성장속도(0.41 ± 0.00 1/h)를 나타냈다. 본 연구를 통해 확보된 결과는 *S. vaccinii* 균주의 산업적 응용을 위한 기초자료로서 활용될 수 있을 것으로 사료된다.

사사

본 연구는 2020년 대학혁신지원사업 도전 연구비지원 프로그램의 지원을 받아 수행된 결과입니다.

인용문헌(References)

- Choi, D. H., Choi, Y. H., Yeo, S. H., Kim, M. D. (2016) Isolation and characterization of *Saccharomyces cerevisiae* from nuruk for production of ethanol from maltose. *Microbiol Biotechnol Lett* 44:34-39.
- Choi, D. H., Park, E. H., Kim, M. D. (2017) Isolation of thermotolerant yeast *Pichia kudriavzevii* from nuruk. *Food Sci Biotechnol* 26:1357-1362.
- Davey, K. G., Chant, P. M., Downer, C. S., Campbell, C. K., Warnock, D. W. (1995) Evaluation of the AUXACOLOR system, a new method of clinical yeast identification. *J Clin Pathol* 48:807-809.
- Duncan, D. B. (1955) Multiple range and multiple F tests. *Biometrics* 11:1-42.

- Ha, S. J., Wei, Q., Kim, S. R., Galazka, J. M., Cate, J., Jin, Y. S. (2011) Cofermentation of cellobiose and galactose by an engineered *Saccharomyces cerevisiae* strain. *Appl Environ Microbiol* 77:5822-5825.
- Han, S. M., Lee, S. Y., Kim, H. K., Lee, J. S. (2017) Characterization of wild yeasts isolated from leaves obtained from Mt. Daedun and Mt. Chilgap, Korea. *Kor J Mycol* 45:31-42.
- Hansen, E. C. (1883) Undersøgelser over alkoholgaersvampenes fysiologi og morfologi II Om asko sporedannelse hos slægten *Saccharomyces*. *Medd Carlsberg Lab* 2:29-86
- Hyun, S. H., Han, S. M., Lee, J. S. (2014) Characteristics and physiological functionalities of unrecorded yeasts from wild flowers of Seonyudo in Jeollabuk-do, Korea. *Microbiol Biotechnol Lett* 42:402-406.
- Hyun, S. H., Mun, H. Y., Lee, H. B., Kim, H. K., Lee, J. S. (2013) Isolation of yeasts from wild flowers in Gyonggi-do province and Jeju island in Korea and the production of anti-gout xanthine oxidase inhibitor. *Microbiol Biotechnol Lett* 41:383-390.
- Jung, E. H., Bae, Y. W., Kwun, S. Y., Park, E. H., Kim, M. D. (2019) Isolation of xylitol-producing thermotolerant yeast *Millerozyza farinosa* from nuruk. *Microbiol Biotechnol Lett* 47:530-535.
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., Tamura, K. (2018) MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Mol Biol Evol* 35:1547-1549.
- Lee, J. S., Yi, S. H., Kwon, S. J., Ahn, C., Yoo, J. Y. (1997) Enzyme activities and physiological functionality of yeasts from traditional Meju. *Kor J Appl Microbiol Biotechnol* 25:448-453.
- Lee, S. H. (2005) Development of bactericidal yeast strain by expressing the leucocin a gene on the cell surface of *Saccharomyces cerevisiae*. *Kor J Life Sci* 15:923-927.
- Lee, S. K., Cho, N. J., Park, W. J. (2003) Development of the formula for natural bread-making starter. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32:1245-1252.
- Lee, T. S. (1972) The role of useful yeasts in the soy sauce mash. *Korean J Microbiol* 10:87-92.
- Lopes, M. R., Lara, C. A., Moura, M. E., Uetanabaro, A. P. T., Morais, P. B., Vital, M. J., Rosa, C. A. (2018) Characterisation of the diversity and physiology of cellobiose-fermenting yeasts isolated from rotting wood in Brazilian ecosystems. *Fungal Biol* 122:668-676.
- Oslan, S. N., Salleh, A. B., Abd Rahman, R. N. Z. R., Basri, M., Chor, A. L. T. (2012) Locally isolated yeasts from Malaysia: identification, phylogenetic study and characterization. *Acta Biochim Pol* 59:225-229.
- Park, I. C., Kim, J. S., Jung, J., Yoo, J. H. (2013) Characterization of phosphate solubilizing yeasts from Korean traditional fermented foods. *Kor J Mycol* 41:218-224.
- Rajkowska, K., Kunicka-Styczyńska, A., Rygala, A. (2012) Probiotic activity of *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* against human pathogens. *Food Technol Biotechnol* 50:230-36.
- Reynolds, D. R., Taylor, J. W. (1993) The fungal holomorph: mitotic, meiotic and pleomorphic speciation in fungal systematics. *CAB International* 225-233.
- Rollero, S., Bloem, A., Ortiz-Julien, A., Camarasa, C., Divol, B. (2018) Fermentation performances and aroma production of non-conventional wine yeasts are influenced by nitrogen preferences. *FEMS Yeast Res* 18:1-11.
- Saitou, N., Nei, M. (1987) The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol Biol Evol* 4:406-425.
- Santos, A. R. O., Leon, M. P., Barros, K. O., Freitas, L. F., Hughes, A. F., Morais, P. B., Rosa, C. A. (2018) *Starmerella camargoi* fa, sp. nov., *Starmerella ilheusensis* fa, sp. nov., *Starmerella litoralis* fa, sp. nov., *Starmerella opuntiae* fa, sp. nov., *Starmerella roubikii* fa, sp. nov. and *Starmerella vitae* fa, sp. nov., isolated from flowers and bees, and transfer of related *Candida* species to the genus *Starmerella* as new combinations. *Int J Syst Evol Microbiol* 68:1333-1343.
- Sipiczki, M. (2010) *Candida stigmatis* sp. nov., a new anamorphic yeast species isolated from flowers. *FEMS Yeast Res* 10:362-365.

- Sipiczki, M. (2015) *Starmerella syriaca* fa, sp. nov., an osmotolerant yeast species isolated from flowers in Syria. *Antonie van Leeuwenhoek* 107:847-856.
- Soccol, C. R., Vandenberghe, L. P. D. S., Spier, M. R., Medeiros, A. B. P., Yamaguishi, C. T., Lindner, J. D. D., Thomaz-Soccol, V. (2010) The potential of probiotics: a review. *Food Technol Biotechnol* 48:413-434.
- Toma, M. M., Raipulis, J., Kalnina, I., Rutkis, R. (2005) Effect of probiotic yeast on genotoxicity. *Food Technol Biotechnol* 43:301-305.
- Yi, J. H., Heo, N. K., Choi, B. G., Park, E. H., Kwun, S. Y., Kim, M. D., Baek, S. Y. (2014) Isolation of fibrinolytic yeasts from Korean traditional fermented soybean. *Microbiol Biotechnol Lett* 42:184-189.
- Yoo, B. H., Park, E. H., Kim, M. D. (2016) Enhanced resistance to lactic acid by laboratory adaptive evolution of *Saccharomycopsis fibuligera*. *Microbiol Biotechnol Lett* 44:488-492.
- Yoon, J. A., Do, Y. E., Park, E. H., Bae, Y. W., Kim, M. D. (2020) Isolation of ethanol-producing thermotolerant yeast *Hanseniaspora opuntiae* from *Senecio cruentus*. *Microbiol Biotechnol Lett* 48:179-184.