

## NGHIÊN CỨU ĐA DẠNG NẤM MEN PHÂN LẬP TẠI VƯỜN QUỐC GIA CÁT TIÊN VÀ NÚI LANGBIANG, TỈNH LÂM ĐỒNG

TRẦN THỊ LỆ QUYÊN, ĐÀO THỊ LƯƠNG,  
HÀ THỊ HẰNG, DƯƠNG VĂN HỢP

*Viện Vi sinh vật và Công nghệ Sinh học, Đại học Quốc gia Hà Nội*

Nấm men lần đầu tiên được Antonie Van Leeuwenhoek mô tả vào năm 1680 nhưng vào thời điểm đó nấm men chưa được coi là một cơ thể sống. Cho đến những năm 1857-1863 Pasteur đã xác nhận nấm men là một cơ thể sống và phát hiện ra nấm men chính là nguồn gốc của quá trình lên men rượu. Kể từ đó tới nay, với vai trò và ý nghĩa to lớn của mình, nấm men không ngừng được các nhà khoa học phân lập, nghiên cứu độ đa dạng và xác định hình thái, các đặc điểm sinh lý và khả năng đồng hóa đường cùng hàng loạt các đặc điểm khác. Mặc dù nấm men có tầm ảnh hưởng lớn đối với hệ sinh thái tự nhiên và đời sống con người, nhưng theo ước tính chỉ có 5% số loài nấm men được mô tả. Người ta không chắc rằng liệu tỷ lệ ít ỏi này có thể đại diện cho toàn thể đa dạng nấm men. Số lượng loài nấm men được mô tả cho đến năm 2000 là trên 800 loài vẫn bị giới hạn bởi một số yếu tố, bao gồm số lượng có hạn của các nhà sinh thái học và các nhà phân loại học nấm men. Một yếu tố nữa góp phần vào việc giới hạn số lượng nấm men là các phương pháp phụ thuộc nuôi cấy được sử dụng để phân lập và xác định đặc điểm nấm men. Các môi trường dinh dưỡng và điều kiện nuôi cấy hiệu khí được sử dụng cho nghiên cứu nấm men đã hạn chế sự phát triển của nhiều loài nấm men.

Việt Nam là nước có sự đa dạng lớn về môi trường tự nhiên và đa dạng sinh học, được xếp thứ 16 trong số các nước có đa dạng sinh học cao nhất. Việt Nam có khu hệ động thực vật rất phong phú, có khoảng 13.000 loài thực vật, 12.000 loài động vật và khoảng 1.000 loài nấm lớn được phát hiện ở Việt Nam. Riêng về khu hệ vi sinh vật thì hầu như chưa có điều tra nào đáng kể. Góp phần tìm hiểu đa dạng và tìm kiếm nguồn gen vi sinh vật nói chung và nấm men nói riêng trong tự nhiên, chúng tôi thực hiện đề tài “Nghiên cứu đa dạng nấm men phân lập tại Vườn Quốc gia Cát Tiên và núi Lang Biang-Đà Lạt”.

### I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

**1. Nguyên liệu:** 12 mẫu đất, 12 mẫu lá mục và 7 mẫu lá tươi được thu thập tại Vườn Quốc gia Cát Tiên và núi Lang Biang Đà Lạt-Lâm Đồng vào tháng 9/2010.

**2. Phân lập:** Mẫu lá tươi và lá mục được phân lập theo Lanhell và cs. Mẫu đất phân lập theo phương pháp pha loãng giới hạn.

**3. Nghiên cứu hoạt tính sinh học:** Các chủng nấm men phân lập được kiểm tra một số hoạt tính sinh học, gồm khả năng sinh các enzyme ngoại bào (xylanase, CMCase, protease, lipase, amylase) và kháng vi sinh vật kiểm định (*Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*, *Fusarium oxysporum*).

**4. Phân loại:** Quan sát hình thái khu ẩn lạc và tế bào nấm men theo phương pháp của Yarrow (1998). Phân loại nấm men bằng sinh học phân tử: DNA tổng số của các chủng nấm men được tách chiết theo Manitis. Phản ứng PCR nhân đoạn gen D1/D2 sử dụng cặp mồi NL1/NL4 được tiến hành theo Kurtzman và Robnett. Trình tự của rDNA 26S đoạn D1/D2 được xác định theo phương pháp của Kurtzman và Robnett, sử dụng phần mềm CLUSTAL X của Thompson và cộng sự (1997). Các trình tự tham khảo dùng trong nghiên cứu cây phát sinh chủng loại được lấy từ dữ liệu của Genbank. Cây phát sinh được xây dựng theo Kimura sử dụng phương pháp của Saitou và Nei; phân tích bootstrap (Felsenstein, 1985) được thực hiện từ 1000 lần lặp lại ngẫu nhiên.

## II. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

### 1. Phân lập và bảo quản

Có 90 chủng nấm men được phân lập từ 11/12 mẫu đất, 4/12 mẫu lá mục, 7/7 mẫu lá tươi. Số lượng chủng phân lập được thể hiện cụ thể ở Bảng 1.

Bảng 1

Số lượng nấm men phân lập

Nguồn phân lập	Số lượng mẫu phân lập	Số lượng mẫu có nấm men	Số lượng chủng	Tỉ lệ (%)
Đất	12	11	32	35,6
Rác thực vật	12	4	10	11,1
Lá tươi	7	7	48	53,3
<b>Tổng số</b>	<b>31</b>	<b>22</b>	<b>90</b>	<b>100</b>

Kết quả thu được cho thấy số lượng chủng nấm men phân lập được nhiều nhất ở các mẫu lá (53,3%) rồi đến các mẫu đất (35,6%) và hiếm gặp nhất trên các mẫu lá mục (11,1%). Các nghiên cứu trước đây của Đào Thị Lương và cs. ở Vườn Quốc gia Cúc Phương và Phong Nha-Kẻ Bàng cũng cho kết quả tương tự, tần suất bắt gặp nấm men trên lá cây luôn lớn nhất.

### 2. Hoạt tính sinh học

**Hoạt tính enzyme:** Có 38,8% số chủng có khả năng sinh enzyme phân giải tributyrin, 8% số chủng phân giải CMC và 17% số chủng phân giải xylan, tuy nhiên đường kính vòng phân giải nhỏ (< 10 mm). Khả năng phân giải tinh bột và kit in của các chủng phân lập hầu như không có.

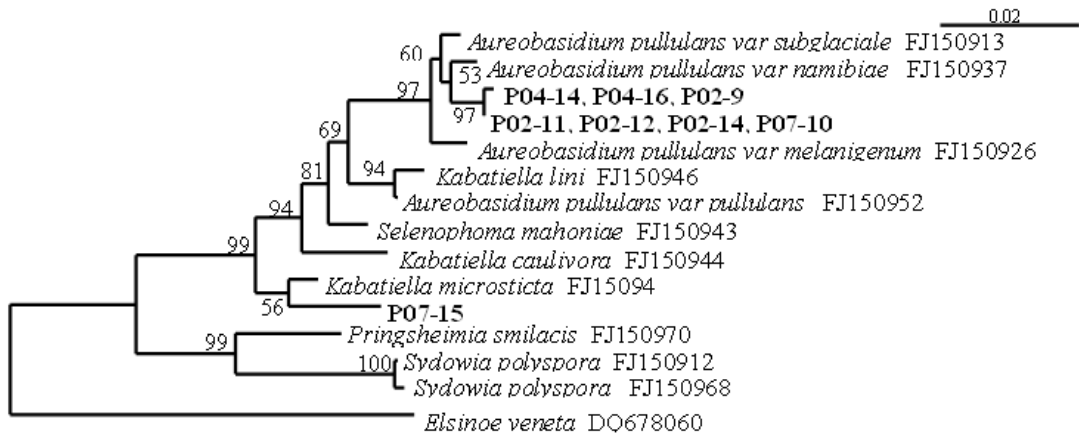
**Hoạt tính kháng khuẩn:** Không có chủng nào được tìm thấy có khả năng sinh kháng sinh kháng lại các vi sinh vật kiểm định. Kết quả này tương tự với nghiên cứu của Đào Thị Lương và cs. (2009) về đa dạng nấm men ở Vườn Quốc gia Phong Nha-Kẻ Bàng. Trong số 57 chủng phân lập, hầu hết các chủng không có khả năng phân giải tinh bột, casein, kitin, xenluloza, tween 80, một số chủng có xuất hiện vòng phân giải nhưng đường kính rất nhỏ; khả năng sinh kháng sinh chỉ có một chủng có khả năng kháng lại *Candida albicans*, hai chủng kháng *Bacillus subtilis*.

### 3. Phân loại

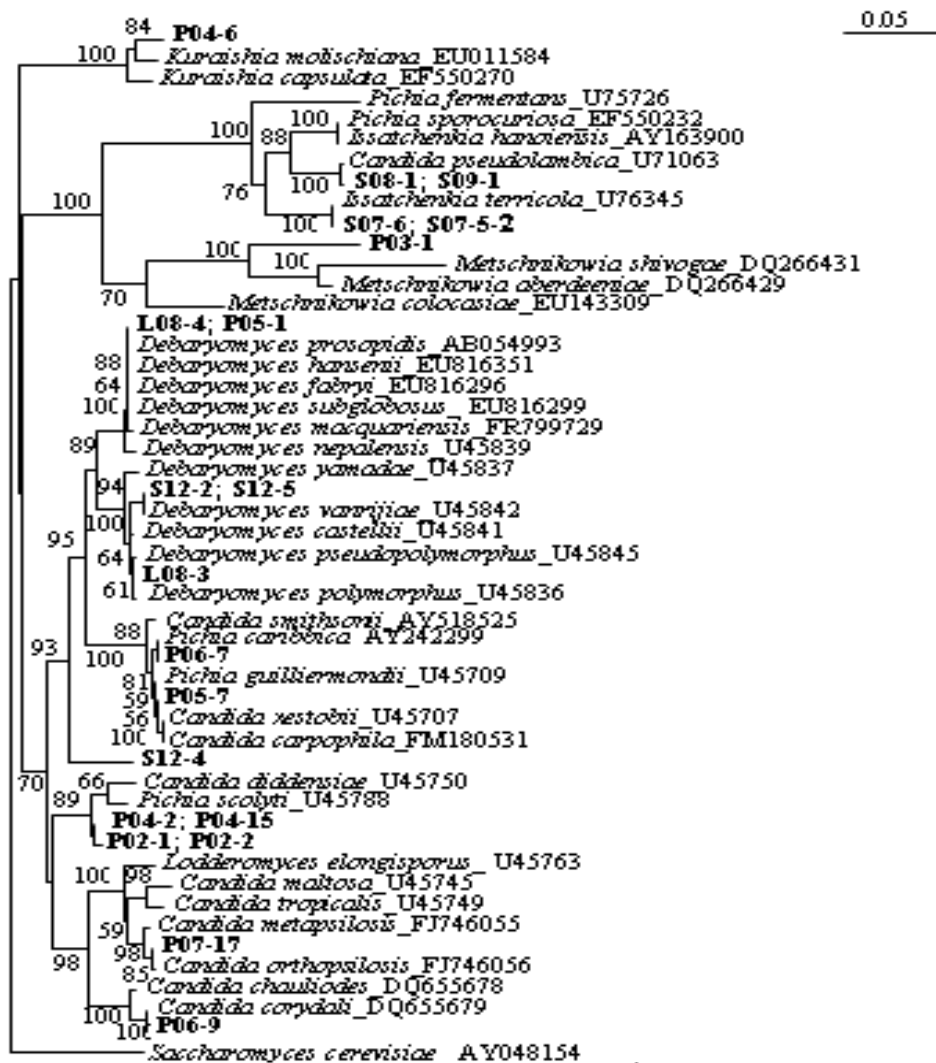
90 chủng nấm men phân lập được xếp vào 40 loài thuộc 21 chi dựa vào quan sát hình thái tế bào, khuẩn lạc, kết hợp phân tích trình tự DNAr 26S đoạn D1/D2.

\* **Nấm túi:** Dựa vào kết quả phân tích trình tự rDNA 26S đoạn D1/D2, 29/90 chủng nấm men phân lập được xếp vào nhóm nấm túi, thuộc 9 chi (*Aureobasidium*, *Candida*, *Debaryomyces*, *Metschnikowia*, *Pichia*, *Issatchenkia*, *Kuraishia*, *Saccharomyces* và *Kabatiella*) và 16 loài. Trong nhóm nấm túi, chỉ có 2 chủng được phân lập từ lá mục và 8 chủng được phân lập từ đất, phần lớn các chủng được phân lập từ lá tươi (19/23 chủng).

Cây phát sinh chủng loại của 8 chủng nấm men túi với 11 loài thuộc các chi *Aureobasidium*, *Kabatiella*, *Selenophoma*, *Pringsheimia*, *Sydowia* được xây dựng dựa vào trình tự của rDNA 26S đoạn D1/D2; *Elsinoe veneta* làm nhóm ngoài (Hình 1). Quan sát cây phát sinh chủng loại cho thấy: Các chủng P04-14, P04-16, P02-11, P02-12, P02-14, P07-10, P02-9 nằm cùng nhánh với loài *Aureobasidium pullulans* var *namibiae*; chủng P07-5 nằm cùng nhánh với loài *Kabatiella microsticta*.

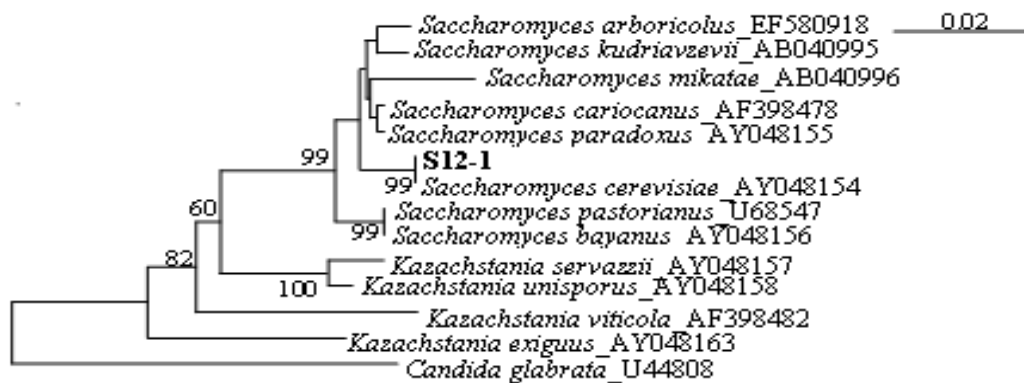


Hình 1: Vị trí phân loại của 8 chủng thuộc chi *Aureobasidium* và *Kabatiella*



Hình 2: Vị trí phân loại của nhóm các chủng nấm men thuộc các chi *Candida*, *Debaryomyces*, *Issatchenkia*, *Kuraihsia*, *Lodderomyces*, *Metschnikowia* và *Pichia*

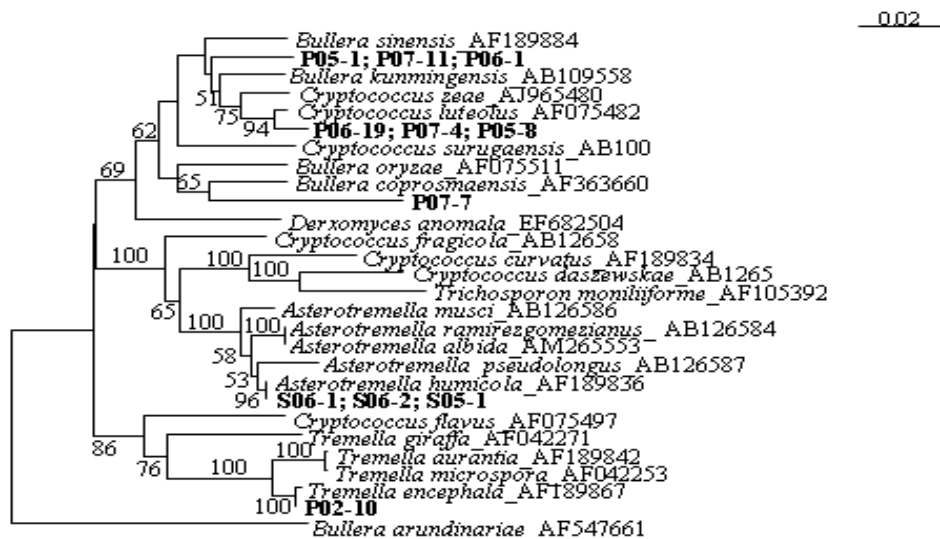
Trên cây phát sinh chủng loại (Hình 2) của 20 chủng nấm men cùng 35 loài thuộc 7 chi *Candida*, *Debaryomyces*, *Issatchenkia*, *Kuraishia*, *Lodderomyces*, *Metschnikowia* và *Pichia*, chủng P06-9 nằm cùng vị trí với *Candida corydalis*; chủng P07-17 cùng nhánh với *Candida orthopsilosis*; chủng S08-1, S09-1 cùng nhánh với *Candida pseudolambica*; chủng S07-5-2, S07-6 cùng vị trí với *Issatchenkia terricola*; các chủng L08-4, P04-1 cùng vị trí với *Debaryomyces subglobosus*; chủng L08-3 cùng nhánh với *Debaryomyces polymorphus*; chủng S12-2, S12-5 cùng nhánh với *Debaryomyces vanrijiae*; chủng P06-7 cùng vị trí với *Pichia caribbica*; chủng P05-7 cùng vị trí với *Pichia guilliermondii*; 4 chủng P04-2, P04-15, P02-1, P02-2 nằm cùng nhánh với *Pichia scolyti*; chủng P04-6 cùng nhánh với *Kuraishia molischiana*; chủng P03-1 nằm riêng biệt một nhánh trong chi *Metschnikowia*, tương tự, chủng S12-4 nằm riêng một nhánh so với các loài đã công bố.



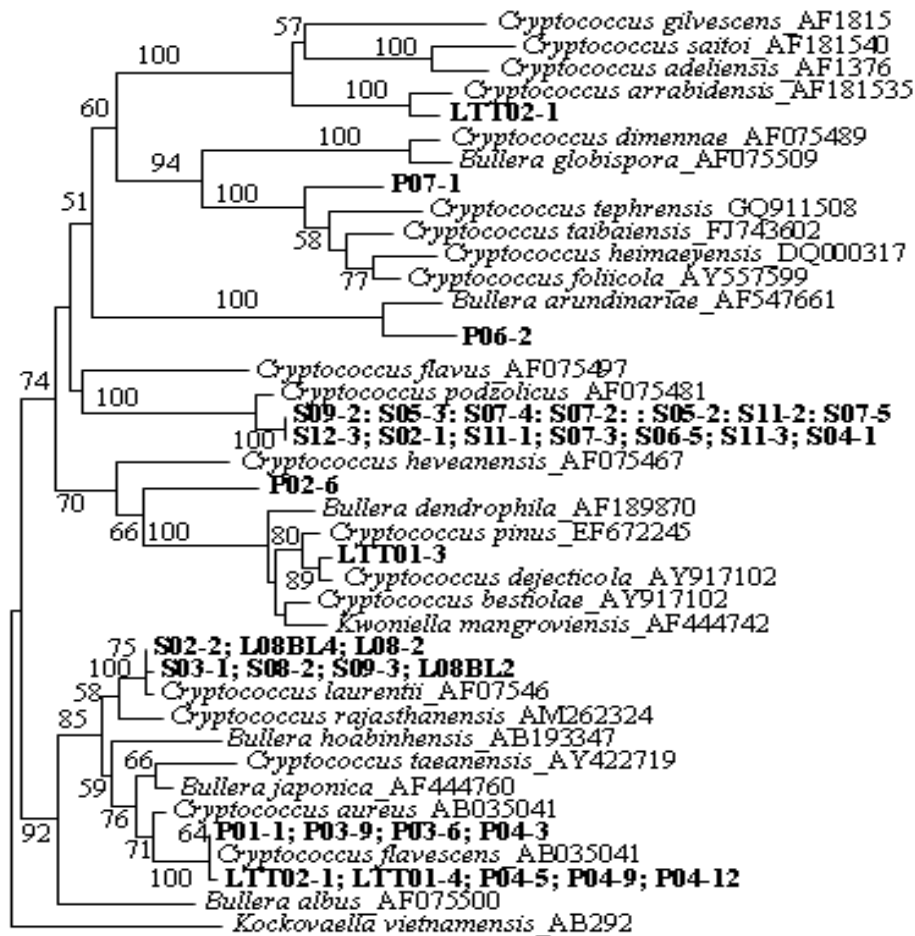
Hình 3: Vị trí phân loại của chủng nấm men túi thuộc chi *Saccharomyces*

Quan sát cây phát sinh chủng loại của chủng S12-1 với 12 loài thuộc 2 chi *Saccharomyces*, *Kazachstania* cho thấy chủng này nằm cùng vị trí với *Saccharomyces cerevisiae* trên phát sinh chủng loại (Hình 3).

\* **Nấm đấm**



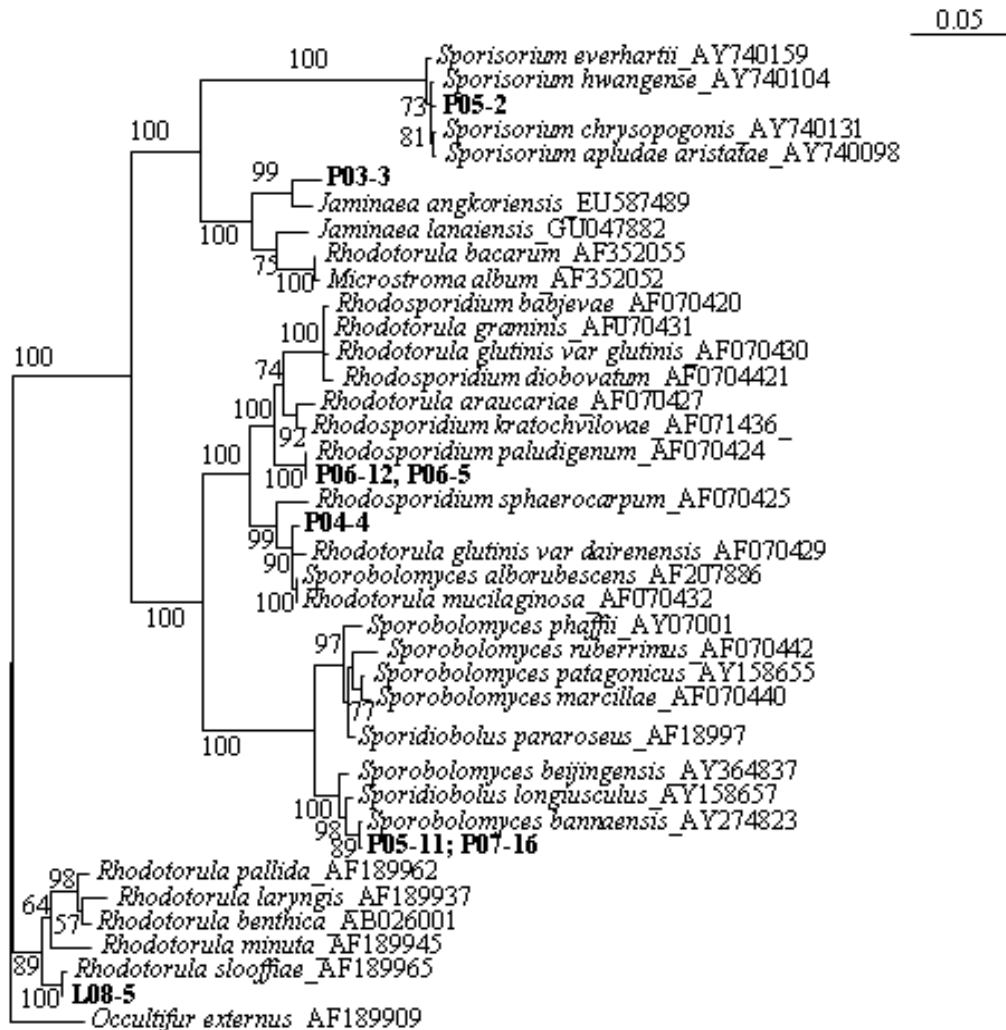
Hình 4: Vị trí phân loại của các chủng nấm men đấm thuộc chi *Asterotremella*, *Bullera*, *Cryptococcus* và *Tremella*



Hình 5: Vị trí phân loại của các chủng nấm men thuộc chi *Cryptococcus* và *Bullera*

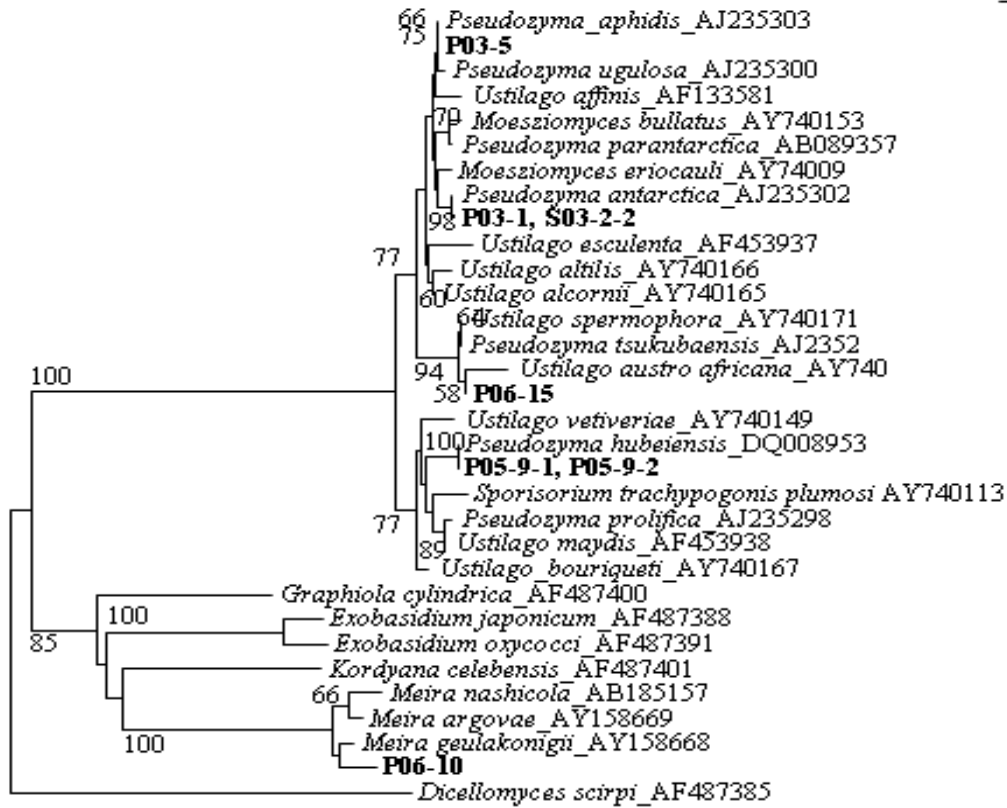
Nhóm nấm đảm gồm 61 chủng được tìm thấy trong lá mục (8 chủng), đất (24 chủng) và lá tươi (29 chủng), chúng được xếp vào 12 chi (*Asterotremella*, *Cryptococcus*, *Jaminaea*, *Bullera*, *Meira*, *Pseudozyma*, *Rhodospodium*, *Rhodotorula*, *Sporisorium*, *Sporobolomyces*, *Tremella* và *Ustilago*) và 24 loài. Quan sát vị trí của các chủng nghiên cứu với 22 chủng chuẩn thuộc chi *Asterotremella*, *Bullera*, *Cryptococcus* và *Tremella* (Hình 4): Ba chủng nấm men S05-1, S06-1, S06-2 cùng vị trí với *Asterotremella humicola*, chủng P02-10 nằm cùng nhánh với *Tremella encephala*; các chủng P05-1, P07-11, P06-1 nằm ở nhánh khác so với các loài đã công bố thuộc chi *Bullera* và *Cryptococcus*; chủng P07-7 cùng nhánh với *Bullera coprosmaensis*; các chủng P06-19, P07-4, P05-8 cùng nhánh với *C.luteolus*. Trong nhóm nấm men đảm, chi *Cryptococcus* chiếm số lượng chủng nhiều nhất (35 chủng) gồm 7 loài, có 3 loài mới (Hình 5). Quan sát trên cây phát sinh chủng loại: Các chủng S02-2, S03-1, S08-2, S09-3, L08BL2, L08BL4, L08-2 nằm cùng vị trí với *Cryptococcus laurentii*; các chủng P01-1, P03-9, P03-6, P04-3, LTT01-1, LTT01-4, P04-5, P04-9, P04-12 nằm cùng vị trí với *Cryptococcus flavescens*; các chủng S09-2, S05-3, S07-4, S07-2, S12-3, S02-1, S11-1, S07-3, S06-5, S11-3, S04-1, S07-5, S05-2, S11-2 nằm cùng nhánh với *Cryptococcus podzolicus*; chủng LTT02-1 cùng nhánh với *Cryptococcus arrabidensis*; chủng LTT01-3 cùng nhánh với *Cryptococcus dejecticola*; chủng P02-6 cùng nhánh với *Cryptococcus heveanensis*; chủng P07-1 cùng nhánh với *Cryptococcus taibaiensis*; chủng P06-2 cùng nhánh với *Bullera arundinariae*.

Kết quả trên cây phát sinh chủng loại (Hình 6) của 7 chủng nấm men và 32 loài chuẩn có quan hệ họ hàng gần cho thấy: Chủng P03 -3 nằm cùng nhánh với *Jaminaea angkoriensis*; 2 chủng P06-12 và P06-5 cùng vị trí với *Rhodospodium paludigenum*; chủng P04 -4 cùng nhánh với *Rhodotorula glutinis* var *dairenensis*; chủng L08 -5 cùng nhánh với *Rhodotorula slooffiae*; chủng P05-2 cùng nhánh với *Sporisorium everhartii*; 2 chủng P07 -16, P05- 11 cùng nhánh với *Sporobolomyces bannaensis*.



Hình 6: Vị trí phân loại của các chủng nấm men thuộc chi *Jaminaea*, *Rhodospodium*, *Rhodotorula*, *Sporisorium* và *Sporobolomyces*

Cây phát sinh chủng loại của 7 chủng nấm men đảm thuộc các chi *Pseudozyma*, *Ustilago* và *Meira* với 26 loài có quan hệ họ hàng gần đã được xây dựng (Hình 7). Quan sát cây phát sinh chủng loại cho thấy: Chủng P03-5 nằm cùng vị trí với *Pseudozyma aphidis*; các chủng P03-2, S03-2-2 cùng vị trí với *Pseudozyma antarctica*; hai chủng P05-9-1, P05-9-2 nằm cùng vị trí với *Pseudozyma hubeiensis*; chủng P06-10 cùng nhánh với *Meira geulakonigii* và chủng P06-15 nằm cùng nhánh với *Ustilago austro africana*. Từ các kết quả của các hình 1-7 và so sánh mức độ tương đồng rDNA 26S của 90 chủng nghiên cứu và các loài có quan hệ họ hàng gần, đa dạng của các loài nấm men phân lập được thể hiện ở Bảng 2.



Hình 7: Vị trí phân loại của các chủng nấm men đằm thuộc chi *Pseudozyma*, *Ustilago* và *Meira*

Bảng 2

Đa dạng nấm men phân lập

TT	Chi	Loài	Số lượng chủng trong loài	Số lượng loài trong chi
1.	<i>Asterotremella</i>	<i>Asterotremella humicola</i>	3	3 (1 <sup>b</sup> )
2.	<i>Aureobasidium</i>	<i>Aureobasidium pullulans</i> var. <i>namibiae</i>	7	7 (1 <sup>b</sup> )
3.	<i>Bullera</i>	<i>Bullera</i> sp.	5 (3 <sup>a</sup> )	5 (3 <sup>b</sup> )
4.	<i>Candida</i>	<i>Candida pseudolambica</i>	2	5 (4 <sup>b</sup> )
		<i>Candida corydali</i>	1	
		<i>Candida orthopsilosis</i>	1	
		<i>Candida</i> sp.	1(1 <sup>a</sup> )	
5.	<i>Cryptococcus</i>	<i>Cryptococcus laurentii</i>	7	37 (8 <sup>b</sup> )
		<i>Cryptococcus flavescens</i>	9	
		<i>Cryptococcus dejecticola</i>	1	
		<i>Cryptococcus podzolicus</i>	14	
		<i>Cryptococcus</i> sp.	3 (3 <sup>a</sup> )	
		<i>Cryptococcus luteus</i>	3	
6.	<i>Debaryomyces</i>	<i>Debaryomyces subglobosus</i>	2	5 (3 <sup>b</sup> )
		<i>Debaryomyces polymorphus</i>	1	
		<i>Debaryomyces vanriijiae</i>	2	

TT	Chi	Loài	Số lượng chủng trong loài	Số lượng loài trong chi
7.	<i>Issatchenkia</i>	<i>Issatchenkia terricola</i>	2	2 (1 <sup>b</sup> )
8.	<i>Jaminaea</i>	<i>Jaminaea angkoriensis</i>	1	1 (1 <sup>b</sup> )
9.	<i>Kabatiella</i>	<i>Kabatiella</i> sp.	1 (1 <sup>a</sup> )	1 (1 <sup>b</sup> )
10.	<i>Kuraishia</i>	<i>Kuraishia</i> sp.	1 (1 <sup>a</sup> )	1 (1 <sup>b</sup> )
11.	<i>Meira</i>	<i>Meira</i> sp.	1 (1 <sup>a</sup> )	1 (1 <sup>b</sup> )
12.	<i>Metschnikowia</i>	<i>Metschnikowia</i> sp.	1 (1 <sup>a</sup> )	1 (1 <sup>b</sup> )
13.	<i>Pichia</i>	<i>Pichia guilliermondii</i>	1	6 (3 <sup>b</sup> )
		<i>Pichia caribbica</i>	1	
		<i>Pichia scolyti</i>	4	
14.	<i>Pseudozyma</i>	<i>Pseudozyma aphidis</i>	1	5 (3 <sup>b</sup> )
		<i>Pseudozyma antarctica</i>	2	
		<i>Pseudozyma hubeiensis</i>	2	
15.	<i>Rhodospodium</i>	<i>Rhodospodium paludigenum</i>	2	2 (1 <sup>b</sup> )
16.	<i>Rhodotorula</i>	<i>Rhodotorula slooffiae</i>	1	2 (2 <sup>b</sup> )
		<i>Rhodotorula glutinis</i> var. <i>dairenensis</i>	1	
17.	<i>Saccharomyces</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	1	1 (1 <sup>b</sup> )
18.	<i>Sporisorium</i>	<i>Sporisorium everhartii</i>	1	1 (1 <sup>b</sup> )
19.	<i>Sporobolomyces</i>	<i>Sporobolomyces bannaensis</i>	2	2 (1 <sup>b</sup> )
20.	<i>Tremella</i>	<i>Tremella encephala</i>	1	1 (1 <sup>b</sup> )
21.	<i>Ustilago</i>	<i>Ustilago</i> sp.	1 (1 <sup>a</sup> )	1 (1 <sup>b</sup> )
<b>Tổng cộng</b>			<b>90 (12<sup>a</sup>)</b>	<b>90 (40<sup>b</sup>)</b>

Ghi chú: <sup>a</sup> Số chủng nghi ngờ là loài mới (Mức độ tương đồng thấp hơn 99% so với trình tự rDNA 26S đoạn D1/D2 so với loài gần nhất trong ngân hàng gen). <sup>b</sup> Số lượng loài.

### III. KẾT LUẬN

Từ 31 mẫu (12 mẫu đất, 12 mẫu lá rụng và 7 mẫu lá tươi) thu thập ở Vườn Quốc gia Cát Tiên và núi Lang Biang-Đà Lạt đã phân lập được 90 chủng nấm men. Khả năng sinh các enzyme ngoại bào phân giải các cơ chất không cao: tributyrin (38,8%), CMC (8%), xylan (17%); không phân giải tinh bột và chitin. Các chủng phân lập đều không có hoạt tính kháng khuẩn. Phân loại 90 chủng nấm men dựa vào hình thái khuẩn lạc, tế bào và phân tích trình tự rDNA 26S đoạn D1/D2, chúng thuộc về 22 chi, 40 loài, có 14 chủng nghi ngờ loài mới.

Có 29 chủng thuộc nấm túi và 61 chủng thuộc nấm đảm, trong đó số chủng thuộc chi *Cryptococcus* chiếm số lượng nhiều nhất (37/90), các chi *Aureobasidium* có 7 chủng, kể đến là chi *Pichia* (6 chủng), *Bullera*, *Candida*, *Debaryomyces*, *Pseudozyma*, (5 chủng), còn lại thuộc các chi *Asterotremella* (3 chủng), *Issatchenkia*, *Rhodospodium*, *Rhodotorula* và *Sporobolomyces* (2 chủng), *Jaminaea*, *Kabatiella*, *Kuraishia*, *Meira*, *Saccharomyces*, *Sporisorium* và *Tremella* (1 chủng).

**Lời cảm ơn:** Công trình được sự hỗ trợ kinh phí từ nhiệm vụ: “Bảo tồn và lưu giữ nguồn gen vi sinh vật” thuộc chương trình Quỹ Gen-Bộ Khoa học và Công nghệ.



### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Đào Thị Lương, Phạm Văn Ty**, 2007: *Tạp chí Công nghệ Sinh học*, 5(1), 99-108.
2. **Nguyễn Lâm Dũng, Đoàn Xuân Muội, Nguyễn Phùng Tiến, Đặng Đức Trạch, Phạm Văn Ty**, 1972: *Một số phương pháp nghiên cứu vi sinh vật học*, NXB. KH&KT, Hà Nội, tập 2.
3. **Kimura M.**, 1980: *J. Mol. Evol.*, 16: 111-120.
4. **Kurtzman C. P. and C. J. Robnett**, 1997: *J. Clin. Microbiol.*, 35: 1216-1223.
5. **Kurtzman C. P. and C. J. Robnett**, 1998: *Antonie van Leeuwenhoek*, 67: 151-171.
6. **Landell M. F., J. N. Mautone, P. Valente**, 2006: *Microbiologia*, 14(2): 144-149.
7. **Luong D. T., P. T. T. Mai, T. T. L. Quyen, D. V. Hop**, 2009: Study on biodiversity of yeasts isolated in samples, collected in Phongnha-Kebang National Park, 6<sup>th</sup> ACM meeting-Hanoi, p. 63-70.
8. **Manitis T., E. F. Fritsch, J. Sambrook**, 1982: “*Molecular cloning: a laboratory manual. Cold Spring Harbor laboratory: Cold Spring Harbor*”, New York, USA, p. 187-209.
9. **Rosa C., G. Péter**, 2006: *Biodiversity and Ecophysiology of Yeasts*, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Germany.
10. **Saitou N. and M. Nei**, 1987: *Mol. Biol. Evol.*, 4: 406-425.
11. **Yarrow D.** 1998: “Methods for isolation, maintenance and identification of yeasts”, In *The Yeasts, a Taxonomic Study*, 4<sup>th</sup> ed. ed. by Kurtzman C. P. and J. W. Fell, Elsevier Science Publ., Amsterdam, p. 77-100.

### BIODIVERSITY OF YEASTS ISOLATED FROM CAT TIEN NATIONAL PARK AND LANG-BIANG MOUNTAIN, LAM DONG PROVINCE

TRAN THI LE QUYEN, DAO THI LUONG,  
HA THI HANG, DUONG VAN HOP

#### SUMMARY

From 31 samples (12 soil, 12 litter and 7 leaf samples) collected from Cat Tien National Park and Lang Biang mountain, 90 yeast strains were isolated. 35 yeast strains degraded tributyrin, number of yeast strains produced CMCase and xylanase activities were 7 and 15, respectively. None of them degraded starch and kichin as well as produced antibacterial compounds against four different pathogenic bacteria.

90 yeast strains were identified based on morphological characteristics and the sequence analysis of D1/D2 domain of 26S rDNA. They were identified to 21 genera and 40 species, of which, 10 species were suspected as new species. There were 29 strains grouped into 9 Ascomycetes genera, 61 others belonged to 13 Basidiomycetes genera. Of 90 yeast strains mainly belonged to genus of *Cryptococcus* (37/90), the other 53 strains were identified to the genera of *Aureobasidium* (7 strains), *Pichia* (6 strains), *Bullera*, *Candida*, *Debaryomyces*, *Pseudozyma* (5 strains), *Asterotremella* (3 strains), *Issatchenkia*, *Rhodospiridium*, *Rhodotorula* and *Sporobolomyces* (2 strains), *Jaminaea*, *Kabatiella*, *Kuraishia*, *Meira*, *Saccharomyces*, *Sporisorium* and *Tremella* (1 strain).