

<Short Note>

유전자 클로닝을 이용한 가축 매몰지 관측정, 침출수 및 주변 지하수의 세균 분석

김희정^{1,*} · 이시원² · 최인철²

¹서울대학교 지구환경과학부
²국립환경과학원 상하수도연구과

요 약

2010-2011년 전국적 구제역 확산으로 매몰지의 수가 증가하였으며, 매몰지에서 발생하는 침출수 및 매몰지의 사후 관리로 인한 환경 및 인체 영향에 관한 문제점이 제기되어 왔다. 이번 연구에서는 유전자 클로닝 방법을 이용하여 매몰지 관측정, 침출수 및 주변 지하수의 세균 특성을 조사하였다. 매몰지 주변 수계 환경에서는 모두 Proteobacteria가 높은 비율로 우점 하였으나, phylum 또는 class-level에서 침출수가 관측정 및 주변 지하수에 비해 상대적으로 낮은 다양성이 분석되었다. 또한 침출수에서는 우점하는 분석된 proteobacteria 중에서도 α - 및 γ -proteobacteria의 비율이 높게 나타났고, 관측정과 주변 지하수에서는 β - 및 δ -proteobacteria의 비율이 높게 나타났다. Operational taxonomic unit (OTU) 분석 결과 세 지점 모두 유사한 다양성이 나타났으나, 클로닝 기반의 결과들은 염기서열 수에 제한으로 분석에 제한이 있었으며 비 배양 metagenomics 기반의 접근은 가능할 것으로 예상되었다. 또한 이번 조사 지점에서 세균 특성을 분석한 결과 매몰지와 연관성을 언급할 수 있는 분석 자료는 나타나지 않았다. 관측정, 침출수 및 주변 지하수에서 모두 매몰지와 관계없는 미생물학적 특성이 분석되었으나 향후 후속적으로 비배양 metagenomic 기반의 매몰지 주변 환경 조사가 필요할 것으로 사료 된다.

주요어: 지하수 관측정, 계통수, 매몰지, 침출수

Heejung Kim, Siwon Lee and In-Cheol Choi, 2016, Characterization of bacteria in monitoring-well, leachate and surrounding groundwater near the animal carcass disposal sites using the gene cloning assay. Journal of the Geological Society of Korea. v. 52, no. 2, p. 155-161

ABSTRACT: The nationwide outbreak of foot-and-mouth disease in 2010-2011, the number of carcass burial sites has increased. Numerous studies have investigated the various environmental and human health-related problems caused by leachate from the burial sites and post-burial site management. In this study, the characteristics of bacteria detected in burial site monitoring wells, leachate from the burial site, and groundwater collected from nearby areas were investigated by gene cloning. Although proteobacteria dominated the aquatic environment near the burial site, relatively low phylum and class-level bacterial diversity was observed in the leachate. Further, among the abundant proteobacteria, α - and γ -proteobacteria dominated the leachate, while β - and δ -proteobacteria were present at high levels in the burial site monitoring well and groundwater. Operational taxonomic unit (OTU) analysis was conducted, but the data could not be precisely analyzed because the limited number of DNA sequences revealed similar bacterial diversity at all samples. Bacteria were identified according to the phylogenetic tree derived from our study sites. And the characteristics of the identified bacteria were investigated. In this study, there is no relation between bacterial type and burial site. It is conducted that investigation of burial site using non-culture-based metagenomic approach is indispensable to the identification of groundwater contamination sources around animal carcass disposal sites.

Key words: groundwater monitoring well, phylogenetic tree, animal carcass burial site, leachate

(Heejung Kim, School of Earth and Environmental Sciences, Seoul National University, Seoul 08826, Republic of Korea; Siwon Lee and In-Cheol Choi, Water Supply & Sewerage Research Division, National Institute of Environmental Research, Incheon 22689, Republic of Korea)

* Corresponding author: +82-2-873-3647, E-mail: re503@snu.ac.kr

1. 서론

지난 2010년 경북 안동에서 구제역(Foot and mouth disease)이 발생된 후 2011년 4월 전국적으로 확산되면서 매몰지의 수가 약 4,600여개까지 증가하였으며(Central disaster and safety countermeasures headquarters, 2011), 이 후 농림수산식품부의 매몰지 사후관리 지침에 따라 이전 및 폐쇄 등으로 현재는 감소 추세이다. 그러나 매몰지에서 발생하는 침출수 및 사후관리로 인한 환경 및 인체 영향 등의 2차 피해에 대한 문제점은 지속적으로 제기되고 있다(Choi *et al.*, 2013; Kawon *et al.*, 2015). 이에 따라 매몰지 주변 지하수에 대하여 바이러스 및 병원성 세균 등이 조사되었고(Oh, 2012; Ahn, 2013; Kim *et al.*, 2010), 환경부 국립환경과학원에서는 2011년부터 현재까지 전국적인 가축 매몰지 주변 지하수 종합조사(I-VI)를 통해 국가적 관리를 수행하고 있다.

그러나 가축매몰지역 환경조사 지침에 따르면, 매몰지 주변 150 m 이내 위치한 지하수 관정으로 제한을 두고 있어 상대적으로 관측정과 침출수에 대한 조사는 미흡하다. 또한 150 m 이내 주변 지하수 관정에서도 수온, pH, 전기전도도 및 용존산소 등의 기초 항목과 염소이온, 암모니아성 질소, 질산성 질소 등 이화학적 항목을 중심으로 운영되고 있어 미생물에 대한 조사는 오직 지표 미생물인 총대장균군 뿐이다.

이에 따라 매몰지 주변 미생물학적 영향에 대한 관리 지침의 필요성이 제기되었고, 기초 조사로 국립환경과학원 가축 매몰지 주변 지하수 병원성 미생물 조사 연구(2011-2013)에서는 매몰지 주변 음용 및 비음용 지하수 약 3,500여개 시료에 대하여 Fecal coliform (검출율 14.6%), *Escherichia coli* (7.7%), *Escherichia coli* O157:H7 (미검출), *Clostridium perfringens* (0.8%), *Salmonella* spp. (0.3%), *Shigella* spp. (미검출), *Norovirus* (1.5%) 및 *Enterovirus* (1.2%) 등에 대하여 조사하여 일반적인 축산 지역 주변의 음용 및 비음용 지하수 관정과 유사하게 분석된 바 있다. 또한 매몰지의 생물학적 안전성 확보를 위해 최근 *Clostridium perfringens*를 생물학적 안전성에 대한 지표미생물로 지정하여, 3년 경과 매몰지 사후관리 및 3년 이내 매몰지의 이설 등에 활용하고 있다.

한편, 지하수에서 미생물 유전자 다양성에 대한 연구는 amplified ribosomal DNA restriction analysis가 적용된 이후(Kim *et al.*, 2000), 비 배양 유전자 기반의 세균 군집 다양성 연구가 일부 적용되어 왔으나(Kim, 2006; Flynn *et al.*, 2013; França *et al.*, 2015), 가축 매몰지 주변 환경에서 비 배양 기반 유전적 접근은 미흡하며, 특히 매몰지 관측정 및 침출수에서 적용된 사례는 없었다. 따라서, 본 연구에서는 유전자 클로닝 방법을 이용하여 매몰지 관측정, 침출수 및 주변 지하수에 대한 세균 특성을 조사하였다.

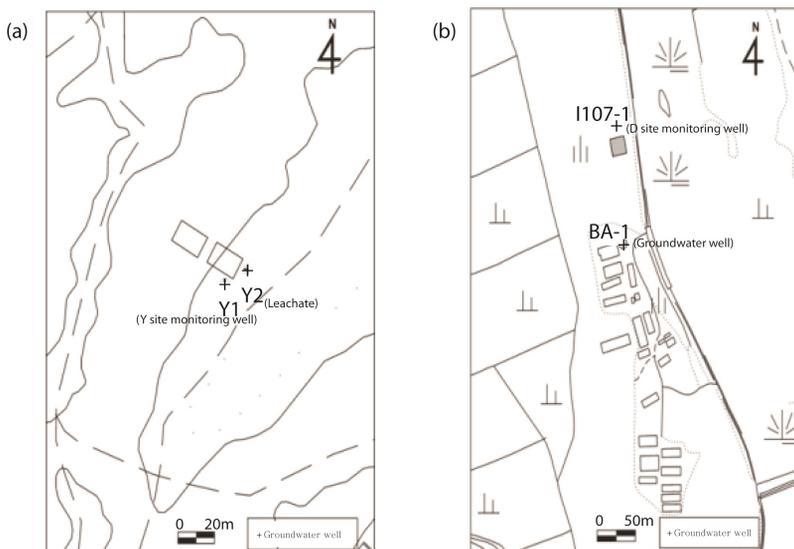


Fig. 1. The groundwater sampling wells in Y-burial site (a) and D-burial site (b).

2. 연구지역 및 방법

2.1 연구지역

수리지질학적 특성이 다른 연구 부지를 선정하여 관측정, 침출수, 그리고 주변 지하수의 미생물학적 특성을 비교하였다. 조사 지점으로는 평지에 위치한 D 매몰지와 산지에 위치한 Y 매몰지를 선정하였다. 두 매몰지는 모두 일반 매몰지로, 2011년 1월 구제역으로 D 매몰지는 약 1,500두 및 Y 매몰지는 약 4,800두의 돼지가 매몰되었다. 조사 시료는 두 매몰지 내부에 위치한 관측정(Y1, I107-1), Y 매몰지의 침출수(Y2) 및 D 매몰지에서 약 100 M 지점에 위치한 지하수(BA-1)를 대상으로 시료를 채취하였다(그림 1).

2.2 연구방법

총 핵산 추출을 위하여 FastDNA SPIN Kit (MP Biomedicals, CA)를 사용하여 제품의 매뉴얼에 따라 수행하였고, 추출한 결과 총 핵산의 농도는 20.0-50.0 ng/ μ l로 분석에 충분한 양이 회수되었다. 세균의 16S rRNA gene 증폭을 위하여 27F-1492R primer를 사용하였으며 조성과 조건은 Lee 등의 연구와 같다 (Lee *et al.*, 2009). 증폭 산물을 TopRed nucleic acid gel stain (Biopure, UK)이 포함된 1.2% agarose gel (Sigma, USA)에서 전기영동 하였으며(Lee and Shin, 2014), 모든 시료에서 밴드가 형성되었다(data not shown). 증폭된 산물을 MEGA-spin™ Agarose Gel Extraction Kit (iNtRON, Korea)를 사용하여 정제 후, pGEM™ T-easy vector systems (Promega, USA) 및 *E. coil* strain JM109 (Promega, USA)를 사용하여 클로닝을 수행하였다. Blue/white colony 선별 방법에 의하여 두 개의 관측정망, 침출수 및 주변 지하수 관정에서 각각 20개의 클론을 순수 분리하였으며, 최종적으로 80개의 클론이 분리되었다(data not shown). 분리한 클론은 -80°C 초저온 냉동고에 보존하였으며, 계대 후 AccuPrep Plasmid Extraction kit (Bioneer, Korea)를 사용하여 plasmid DNA를 분리하였으며, Macrogen, co. Ltd. (Korea)에 염기서열 분석을 의뢰하였다(Cha, 2010).

클론의 동정을 위하여 plasmid 부분을 삭제한 뒤 EzTaxon server (Kim *et al.*, 2012)를 사용하여 유사성을 분석하였다. Operational taxonomic unit (OTU) 분석을 위하여 Mothur version 1.36.1 소프트웨어 패키지

를 사용하였고 cut off 97.0% 수준으로 OTU를 분석하였다. 또한, 정밀 동정을 위해 계통 분석을 수행하였다. National Center for Biotechnology Information (NCBI) 및 EzTaxon server에서 참고 및 out-groups (domain archaea)의 염기서열[*Halobacterium piscisalsi* JCM14661 (NR_113057), *Nanoarchaeum equitans* Kin4-M (NR_102878), *Candidatus Korarchaeum cryptofilum* OPF8 (NR_074112) and *Desulfurococcus fermentans* Z-1312 (AY264344)]를 수집하였다. 이후 BioEdit (Hall, 1999)를 사용하여 multiple sequence alignment 후 Molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) version 5.1 (Tamura *et al.*, 2011)을 사용하여 1,000 반복으로 neighbor joining (NJ)-Kimura 2 parameter (K2P) tree를 구축하였다.

3. 연구결과 및 토의

연구지역 침출수와 지하수 시료의 물리화학적 특성을 조사하기 위해 다음과 같은 항목(Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{2+} , Mn^{2+} , Cl^- , NO_3^- , SO_4^{2-} , HCO_3^- , NH_4^+ , DOC, T, pH, EC, DO)을 분석하였다. 산지에 위치한 Y 매몰지 지하수 시료는 EC, HCO_3^- , Cl^- , Ca^{2+} , DOC 그리고 NH_4^+ 항목에서 D 매몰지 지하수 시료보다 음양이온 성분이 높게 나타났다(Kaown *et al.*, 2015). 침출수는 음양이온 중 HCO_3^- , Cl^- , NH_4^+ 성분이 가장 우세하였다. 연구지역 지하수의 pH는 5.3~7.3 약산성에서 약알칼리성을, 침출수의 경우 7.1 약알칼리성을 나타내며, EC는 지하수의 경우 217~2,600 $\mu\text{S}/\text{cm}$, 침출수의 경우 4,677 $\mu\text{S}/\text{cm}$ 으로 나타나고 있다 (Kaown *et al.*, 2015).

관측정(Y1, I107-1) 40개 클론, 주변 지하수(BA-1) 20개 클론 및 침출수(Y2) 20개 클론 염기서열을 기반으로 동정을 수행하였다. Phylum 및 class-level 분석 결과, 매몰지 관측정에서는 β -Proteobacteria가 50.0%로 우점하였고, δ -Proteobacteria 및 Bacteroidetes가 12.5%로 차우점하였다. 침출수에서는 α -Proteobacteria (35.0%)와 β -Proteobacteria (25.0%)가 높은 비율로 나타나 전체적으로 Proteobacteria가 70.0%로 우점하였으며, Bacteroidetes가 15.0%로 나타났다. 주변 지하수에서는 δ -Proteobacteria가 40.0%로 우점하였고, Bacteroidetes (20.0%), δ -Proteobacteria (15.0%) 순으로 나타났다. 또한 관측정에서는 타 시료에서

Table 1. Comparison of the bacterial characteristics in monitoring-wells, leachate and surrounding groundwater near the animal carcass disposal sites at the phylum or class-level.

| Phylum-level (%) | Monitoring wells (Y1, I107-1) | Leachate (Y2) | Surrounding groundwater (BA-1) |
|--------------------------|-------------------------------|---------------|--------------------------------|
| Actinobacteria | 10.0 | 5.0 | - |
| Bacteroidetes | 12.5 | 15.0 | 20.0 |
| Chloroflexi | - | - | 5.0 |
| Firmicutes | 10.0 | - | - |
| Proteobacteria | 62.5 | 70.0 | 60.0 |
| α -Proteobacteria | - | 35.0 | - |
| β -Proteobacteria | 50.0 | 25.0 | 40.0 |
| γ -Proteobacteria | - | 10.0 | - |
| δ -Proteobacteria | 12.5 | - | 15.0 |
| Unknown proteobacteria | - | - | 5.0 |
| Spirochaetes | 2.5 | - | 5.0 |
| Elusimicrobia | 2.5 | - | - |
| Nitrospirae | - | - | 10.0 |
| Unclassified | - | 10.0 | - |
| Total | 100.0 | 100.0 | 100.0 |

나타나지 않은 Firmicutes와 Elusimicrobia가 나타났다. 침출수에서는 γ -Proteobacteria, 주변 지하수에서는 Nitrospirae, Chloroflexi 및 Unknown proteobacteria가 특징적으로 나타났다. Phylum 및 class-level에서는 관측정 및 주변 지하수에 비해 침출수에서 다양성이 떨어지고 우점도가 높아지는 경향이 분석되었다(표 1). 이에 따라 관측정 및 주변지하수에 비해 침출수에서 미생물학적 오염이 상대적으로 높을 가능성이 예상되었다.

관측정, 침출수 및 주변 지하수에서는 모두 15~16개의 OTU가 분석되어 유사성 97.0% 기준에서는 유사한 다양성이 분석되었다. 시료에 따른 OTU 우점 분석 결과, D 관측정망에서는 OTU 01이 우점(20.0%), OTU 11이 차우점(10.0%) 하였으며, Y 관측정망에서는 OTU 03이 우점(15.0%), OTU 12가 차우점(10.0%) 하였다. 또한 침출수에서는 OTU 06, 07, 08 및 09가 각각 10.0%로 공동 우점 하였으며, 주변 지하수에서는 OTU 02가 20.0%로 우점, OTU 04가 10.0%로 차우점하였다(data not shown). 계통수를 통해 분석한 결과, 관측정망에서 우점 또는 차우점한 4개의 OTU (01, 03, 11 및 12)는 *Candidatus Planktophila limnetica*, *Brevibacillus levickii*, *Sulfuricella denitrificans*

및 *Sideroxydans lithotrophicus* cluster로 나타났고, 침출수에서 공동 우점한 4개의 OTU는 *Flavobacterium sasangense*, unclassified (phylum-level), *Curvibacter fontanus* 및 α -proteobacteria로 분류되는 새로운 cluster로 나타났으며, 주변 지하수에서 우점 및 차우점한 OTU 02 및 04는 *Propionivibrio dicarboxylicus*와 *Sediminibacterium goheungense* cluster로 분석되었다(그림 2).

침출수에서 특징적으로 나타난 α - 및 γ -Proteobacteria는 *Acidisphaera rubrifaciens*, *Ferrovibrio* sp., *Sphingomonas sediminicola*, *Asticcacaulis benevestitus*, *Prosthecomicrobium enhydrum*, *Devosia insulae*, unknown α -proteobacteria cluster, *Arenimonas maotaiensis* 및 unknown γ -proteobacteria cluster였다(그림 2). *Acidisphaera*속은 오직 1종으로 호기적 조건에서 성장하며 세균 염록소를 포함하고 있으며 산성 환경에서 분리된 바 있다(Hiraishi *et al.*, 2000). *Ferrovibrio*속은 통성혐기성으로 Fe(II)를 산화하며, *F. denitrificans* 한 종으로 구성된다(Sorokina *et al.*, 2012). *Sphingomonas*속은 약 100여종으로 구성되며, 다양한 환경 중 서식하는 것이 보고되어 있다. 특히 매몰지와 관련 없는 지하수에서도 보고된 바 있으며(França *et al.*, 2015),

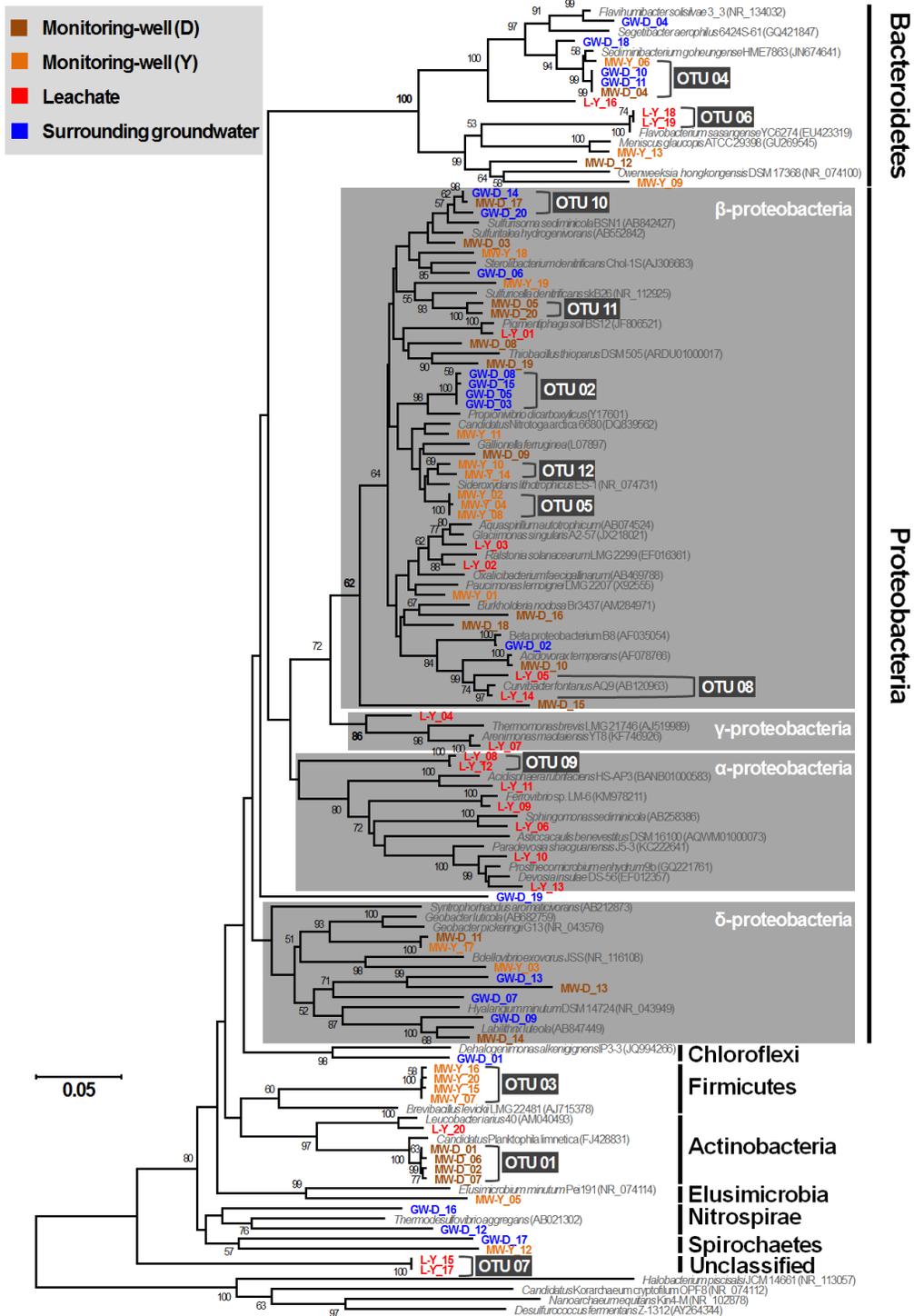


Fig. 2. Phylogenetic tree of the 16S rRNA gene sequences of eighty clones from monitoring-wells, leachate and surrounding groundwater. A neighbor-joining tree was reconstructed with the Kimura two-parameter in MEGA 5. Kingdom archaea used as an out-group. Bootstrap values less than 50% based on 1,000 replications are shown. Bar, 0.05 nucleotide substitutions per nucleotide position.

Sphingobium, *Sphingopyxis*, *Novosphingobium*, *Porphyrobacter* 및 *Rhizorhabdus*속 등 다수의 *Sphingomonadaceae*가 지하수 중 서식이 보고되었다(Lee *et al.*, 2015). *Asticcacaulis* 속은 총 5종으로 구성되며, 동토대 습지 토양, 큰뽕무 뿌리, 산림 흙 및 호수 등에서 보고된 바 있다[List of prokaryotic names with standing in nomenclature (LPSN), 2016a]. *Prosthecomicrobium* 속은 총 6종으로 구성되며, 바다, 토양 등 환경에 존재하며 cellulose를 분해할 수 있는 것으로 보고되었다(LPSN, 2016b). *Devosia*속은 총 16종으로 구성되고, 심해 및 해변 저질토, diesel-contaminated, 살충제를 버린 토양 등 주로 토양에서 서식하며, hexachlorocyclohexane dump site, 의료거머리 및 수생공과식물 등에서도 보고된 바 있으며, 일부 질소고정 능력이 알려져 있다(LPSN, 2016c). 또한 *Arenimonas* 속은 9종으로 구성되며, 퇴비, 토양, 민물 등 환경 중 넓은 서식 범위가 알려져 있는 등(LPSN, 2016d), 침출수에서만 나타난 특이적 세균은 대부분 환경 중 서식이 가능한 것으로 추정되며, 매몰지와의 연관성은 나타나지 않았다. 또한 침출수에서 나타나지 않은 δ -Proteobacteria와 Spirochaetes는 세부적으로 *Bdellovibrio*, *Hyalangium*, unknown δ -Proteobacteria cluster 및 unknown spirochaetes cluster로 분석되었다(그림 2).

한편, D 매몰지 주변의 관측정 및 주변 지하수에서 OTU 04와 10이 공통적으로 나타났다. OTU 04는 *Sediminibacterium goheungense* cluster로, *Sediminibacterium*속은 부영양 저질토에서 *S. salmonium*이 최초 보고 후(Kim *et al.*, 2013), *S. ginsengisoli*와 *S. goheungense*가 인삼밭 토양 및 민물호수에서 추가 보고되어(Kojima and Fukui, 2011; Kang *et al.*, 2014) 현재까지 총 3종이 포함된다. *Sediminibacterium*속은 현재까지 토양과 호수 등 일반 자연환경에서도 존재할 가능성이 있어 매몰지와의 큰 상관성 알 수 없으나, gentamicin과 kanamycin 등 항생제 내성이 있는 것으로 보고된 바 있어(Kang *et al.*, 2014), 가축 사료 또는 비료 등과 관련성이 예상된다. OTU 10은 *Sulfurisoma sediminicola* cluster로, *Sulfurisoma*속은 민물 호수에서 분리된 오직 *S. hydrogenivorans* 한 종만이 보고되고 있으며(Kojima and Fukui, 2011), 이들은 통성혐기성으로 무기독립영양 또는 종속영양을 하는 것으로 알려져 있다. 또한 다른 모든 시료에서는 공통된 OTU가 분석되지 않았고, 총 80개 클

론에서 61개 OTU가 분석되었다.

4. 결 론

이번 연구에서는 유전자 클로닝을 기반으로 매몰지 관측정, 침출수 및 주변 지하수의 세균 특성을 분석하였다. 특히 침출수는 phylum-level의 다양성에서 다양성이 줄고 우점도가 높아지는 경향성이 분석되었는데, 이것은 관측정과 주변 지하수에 비해 상대적으로 미생물학적 오염 정도가 높은 것으로 나타날 수 있으나, 침출과정 중 주변 토양 등 타 환경에 의한 영향의 가능성을 고려할 필요성이 있다. 또한 본 연구에서 수행한 클로닝 기반의 OTU 분석은 염기서열수에 제한으로 어려움이 있었으나, next generation sequencing 등 metagenomics를 이용한 비배양성 기반의 microbial source tracking으로 매몰지 주변 미생물학적 환경 영향 평가에 대한 연구적 접근은 가능할 것으로 예상된다. 따라서 이번 연구의 방법적 접근과 결과는 향후 매몰지 주변 지하수 등 수계 환경 중 미생물학적 환경 영향을 연구하는데 기초 자료로 활용 할 수 있을 것이라고 기대된다.

사 사

이 논문은 2015년도 정부(미래창조과학부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 연구(No. 0409-20150163)입니다.

REFERENCES

- Ahn, K.M., 2013, Association of microorganisms with physico-chemical and microbiological characters of ground water near foot-and-mouth disease burial sites. Master thesis, Seoul National University, Seoul, Korea, 3 p.
- Central Disaster and Safety Countermeasures Headquarters, 2011, Comprehensive management measures of carcass burial sites (in Korean).
- Cha, G.U., 2010, Diversity of archaea and ammonia-oxidizing archaea in soil and sediment of the Cheon-ho reservoir. Master thesis, Dankook University, Cheonan, Korea, 7-9 p.
- Choi, N.C., Choi, E.J., Kim, B.J., Park, J.A., Kim, S.B. and Park, C.Y., 2013, Characterization of water quality and bacteria of leachate from animal carcass disposal on the

- disposal lapse time. *Economic and Environmental Geology*, 46, 345-350.
- Flynn, T.M., Sanford, R.A., Rye, H., Bethke, C.M., Levine, A.D., Ashbolt, N.J. and Domingo, J.W.S., 2013, Functional microbial diversity explains groundwater chemistry in a pristine aquifer. *BMC Microbiology*, 13, 146.
- França, L., Lopéz-Lopéz, A., Rosselló-Móra, R. and da Costa, M.S., 2015, Microbial diversity and dynamics of a groundwater and a still bottled natural mineral water. *Environmental Microbiology*, 17, 577-593.
- Hall, T.A., 1999, BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, 41, 95-98.
- Hiraishi, A., Matsuzawa, Y., Kanbe, T. and Wakao, N., 2000, *Acidisphaera rubrifaciens* gen. nov., sp. nov., an aerobic bacteriochlorophyll-containing bacterium isolated from acidic environments. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 50, 1539-1546.
- Kang, H., Kim, H., Lee, B.I., Joung, Y. and Joh, K., 2014, *Sediminibacterium goheungense* sp. nov., isolated from a freshwater reservoir. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 64, 1328-1333.
- Kaown, D., Kim, H., Moon, H.S., Ko, K.S. and Lee, K.K., 2015, Hydrogeochemical and microbial characteristics in aquifers contaminated with leachate from animal carcass disposal sites. *Environmental Earth and Science*, 73, 4647-4657.
- Kim, J.S., 2006, Culture-independent methods of microbial community structure analysis and microbial diversity in contaminated groundwater with major pollutants. *Journal of Soil and Groundwater Environment*, 11, 66-77.
- Kim, K.H., Kim, K.R., Kim, H.S., Lee, G.T. and Lee, K.H., 2010, Assessment of soil and groundwater contamination at two animal carcass disposal sites. *Korean Journal of Soil Science and Fertilizer*, 43, 384-389.
- Kim, O.S., Cho, Y.J., Lee, K., Yoon, S.H., Kim, M., Na, H., Park, S.C., Jeon, Y.S., Lee, J.H. and other authors. 2012, Introducing EzTaxon-e: a prokaryotic 16S rRNA gene sequence database with phylotypes that represent uncultured species. *Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 62, 716-721.
- Kim, Y.J., Nguyen, N.L., Weon, H.Y. and Yang, D.C., 2013, *Sediminibacterium ginsengisoli* sp. nov., isolated from soil of a ginseng field, and emended descriptions of the genus *Sediminibacterium* and of *Sediminibacterium salmoneum*. *Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 63, 905-912.
- Kim, Y.W., Min, B.R. and Choi, Y.K., 2000, The genetic diversity of bacterial communities in the groundwater. *Korean Journal of Environmental Biology*, 18, 53-61.
- Kojima, H. and Fukui, M., 2011, *Sulfuritalea hydrogenivorans* gen. nov., sp. nov., a facultative autotroph isolated from a freshwater lake. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 61, 1651-1655.
- Lee, D.R., Choi, J.G., Kim, J.H., Shin, D.Y. and Lee, S., 2015, Identification and phylogenetic analysis of culturable-bacteria in groundwater of Yeonpyeongdo. *Bulletin of Dongnam Health University*, 33, 49-57.
- Lee, S., Oh, H.W., Lee, K.H. and Ahn, T.Y., 2009, *Methylobacterium dankookense* sp. nov., isolated from drinking water. *Journal of Microbiology*, 47, 716-720.
- Lee, S. and Shin, Y.G., 2014, Development and practical use of RT-PCR for seed-transmitted *Prune dwarf virus* in quarantine. *The Plant Pathology Journal*, 30, 178-182.
- List of prokaryotic names with standing in nomenclature 2016a, Genus *Asticcacaulis*, <http://www.bacterio.net/asticcacaulis.html> (March 10, 2016).
- List of prokaryotic names with standing in nomenclature, 2016b, Genus *Prosthecomicrobium*, <http://www.bacterio.net/prosthecomicrobium.html> (March 10, 2016).
- List of prokaryotic names with standing in nomenclature 2016c, Genus *Devosia*, <http://www.bacterio.net/devosia.html> (March 10, 2016).
- List of prokaryotic names with standing in nomenclature, 2016d, Genus *Arenimonas*, <http://www.bacterio.net/arenimonas.html> (March 10, 2016).
- Oh, H.R., 2012, Nationwide surveillance of pathogenic bacteria and viruses in groundwater near land burial sites of animal carcass associated with food-and-mouth disease epidemics in Korea, 2010. Master thesis, Pusan National University, Pusan, Korea, 3 p.
- Sorokina, A.Y., Chernousova, E.Y. and Dubinina, G.A., 2012, *Ferrovibrio denitrificans* gen. nov., sp. nov., a novel neutrophilic facultative anaerobic Fe(II)-oxidizing bacterium. *FEMS Microbiology Letters*, 335, 19-25.
- Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M. and Kumar, S., 2011, MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Molecular Biology and Evolution*, 28, 2731-2739.

Received : March 30, 2016
 Revised : April 21, 2016
 Accepted : April 22, 2016