- Review -

Ecology of Groundwater Microorganisms in Aquifers

Young-Hwa Kim and Yeonghee Ahn*

Department of Environmental Engineering, Dong-A University, Busan 604-714, Korea Received September 12, 2017 / Revised September 19, 2017 / Accepted September 20, 2017

> There is growing interest in groundwater resources to overcome the loss of surface water resources due to climate change. An understanding of the microbial community of aquifers is essential for monitoring and evaluating groundwater contamination, as well as groundwater management. Most microorganisms that inhabit aquifer ecosystems are attached to sediment particles rather than planktonic, as is the case in groundwater. Since sampling aquifer sediment is not easy, groundwater, which contains planktonic microorganisms, is generally sampled in microbial community research. Although many studies have investigated microbial communities in contaminated aquifers, there are only a few reports of microbial communities in uncontaminated or pristine aquifers, resulting in limited information on aquifer microbial diversity. Such information is needed for groundwater quality improvement. This paper describes the ecology and community structure of groundwater bacteria in uncontaminated aquifers. The diversity and structures of microbial communities in these aquifers were affected by the concentration or distribution of substrates (e.g., minerals, organic matter, etc), in addition to groundwater characteristics and human activities. Most of the microbial communities in these uncontaminated aquifers were dominated by Proteobacteria. Studies of microbial communities in uncontaminated aquifers are important to better understand the biogeochemical processes associated with groundwater quality improvement. In addition, information on the microbial communities of aquifers can be used as a basis to monitor changes in community structure due to contamination.

Key words: Aquifer, ecology, groundwater, microbial community, planktonic cell

서 론

지구 전체 담수의 약 98%에 이르는 귀중한 수자원인 지하수는 주요 식수원이 될 뿐만 아니라 농업이나 산업 분야에서도 이용되고 있다. 기후변화로 인한 지표수 자원의 손실이 커지고 지표수 저장시설을 통한 수자원 확보가 어려워지고 있다 [35]. 또한, 도시화 및 산업화에 따른 지표수 오염이 증가함에따라 지표수 중심의 물 자원 이용과 관리는 상대적으로 취약하다.

이러한 지표수 이용의 불안에 대비하기 위해 기후 변화에 대해 비교적 덜 민감하게 반응하여 안정적이고 안전한 지하수 자원에 대한 중요성이 크게 부각되고 있다. 그러나 지하수 과잉 채수로 인한 수위 저하와 고갈뿐 아니라 오염 관리의 어려움이 발생할 수 있어 기후변화에 대응할 수자원 확보를 위해서 대수층 인공함양 기술이 사용되기도 한다[13, 35, 36, 48]. 대수층 인공함양은 자원(강물, 빗물, 하수처리장 방류수 등)을

*Corresponding author

Tel: +82-51-200-7677, Fax: +82-51-200-7683

E-mail: yahn@dau.ac.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

인위적으로 대수층에 주입함으로써, 수자원을 저장할 뿐만 아 니라 주입한 물의 오염 물질이 저장되는 동안 자연 저감을 통해 수질이 개선된다.

지하수를 포함하고 있는 지층인 대수층의 생태계에 대한 정보는 생지화학적 순환, 지하수 수질의 결정, 그리고 오염된 대수층의 수질을 회복하는 수단으로써 중요하다. 대수층 내에서 미생물의 다양성은 아직 많이 알려져 있지 않으며, 오염되지 않은 대수층과 오염된 대수층 내에서 미생물 군집 차이, 오염물 분해에 기여하는 미생물 등에 관해서는 더 많은 연구가 필요하다. 본 논문에서는 대수층 생태계의 지하수 미생물생태에 관해 기술하고자 한다. 미생물 군집 조성과 그들의 활성을 이해함으로써 대수층의 생지화학적 과정과 자연저감 능력에 대한 정보를 제공할 수 있을 것이다. 또한 이러한 정보는 오염물질의 유입이나 인간의 활동으로 인한 교란으로 인해미생물 군집의 변화가 일어나므로 이에 따른 지하수 수질을모니터링 하는데도 유용하다. 따라서 대수층 미생물 군집 분석은 향후 오염의 영향, 기후 변화 등에 따른 군집 변화의 비교를 위한 기본 참고자료로 이용될 수 있다.

본 론

지하수와 대수층

대수층은 지하수를 포함하는 지층으로 투과성이 있는 퇴적 토로 구성되어 있다. 지하수면의 상부는 불포화대(unsaturated zone)로서 토양입자들 사이에 형성된 공극에 물과 공기로 채워져 있다(Fig. 1). 반면에 지하수면 아래의 포화대(saturated zone) 내에서 공극은 물로 포화되어 있는데 이 물을 지하수라고 한다[63]. 대수층은 자유면 대수층(unconfined aquifer)과 피압 대수층(confined aquifer)으로 구분된다. 자유면 대수층은 하부에만 불투수층(점토, 암석 등)이 존재하며, 지표와 인접해 있어 외부의 오염물 유입이 가능하다. 반면에 피압 대수층은 상하로 불투수층이 존재하므로 그 사이에 대수층이 가두어진 상태이다[55].

대수층 인공함양 기술

우리나라에서 수자원 이용량의 11%를 차지하는 지하수(미국은 24.1%, 일본은 12.6%)는 먹는 물뿐 아니라 생활용수, 농업용수로 다양하게 활용되고 있다[44]. 지하수는 오염될 가능성이 높은 지표수에 비해 수질이 비교적 안정적이고 안전하지만, 한번 오염되면 지표수보다 본래 상태로의 회복이 어려워철저한 관리가 필요하다.

인공함양 기술은 다양한 수자원을 인위적으로 대수층에 저장해 두었다가, 물이 부족할 때 쓸 수 있는 방법으로 기후변화에 강한 수자원 확보기술이다. 또한 이 기술은 대수층 고갈을 막거나 부족한 수자원을 확보할 수 있고, 해안 대수층의 염수침입을 방지하기 위한 목적으로도 이용될 수 있다. 인공함양을 통해 연수화, 황화수소 감소, 부영양화 물질 및 세균 감소,물리적 입자제거, 독성물질 제거 등의 수질개선 효과와 지하오염원의 확산을 막거나 희석하여 오염저감 효과를 기대할수 있다[2, 13, 36, 47].

대수층에 강물을 저장하고, 자연 수질 개선 능력을 활용하여 저장된 물의 수질을 개선하는 친환경 기술이 국내에서는처음으로 개발 중이다('대규모 청정 지하저수지 기술 개발 연구단', 국토교통부 물관리연구사업; 2013-2018년)[48]. 낙동강하류 델타 지역의 부산시 삼락공원에 위치한 시험시설은 관정

을 이용하여 지표수를 대수층에 충진시킨다. 주입된 물은 일 정기간 저장 후 수질이 개선되면 양수하여 사용하기 위한 목 적이다. 낙동강 하구의 대규모 삼각주 퇴적층에 형성된 피압 대수층은 자유면 대수층에 비해 지표면의 오염물로부터 보호 될 수 있으므로 수질 보호 측면에서 더 유리하다. 주입된 물에 존재하는 오염물의 제거는 주로 대수층의 토착 미생물에 의한 자연정화로 이루어진다. 대수층 인공함양 기술에서 대수층 토 착 미생물에 의한 수질개선과 그와 관련된 미생물에 대한 연 구는 최근에 보고되기 시작했으며, 우리나라에서는 많이 보고 되지 않아 대수층 미생물 군집에 관한 연구가 필요하다.

지하수의 주요 오염물

지하수 오염은 오랜 기간에 걸쳐 점진적으로 진행되므로 지표수에 비해 발생 오염을 신속하게 처리하기 어렵다. 지하수 오염이 발견될 경우는 이미 오염 정도가 대부분 심각하다. 그래서 원인규명과 오염정화에 시간소요가 길고 비용 등의 문제를 초래할 수 있다. 따라서, 상수원으로서 지하수를 사용할 경우 오염물질에 대한 인식과 그에 대한 관리가 필요하다. 지하수 오염물(예, 철, 망간 등)은 대수층의 생지화학(biogeochemical)반응에 의해 지하수에서 농도가 높아지기도 한다. 또한 산업, 농업, 주거, 생활 등과 같은 인간의 활동에 의해서 오염물이 지하수로 유입되어 수질에 영향을 미친다.

지하수의 주요 오염물은 무기물, 유기물, 그리고 미생물/미생물 기원 오염물로 구분할 수 있다(Table 1). 무기물은 주로 금속, 질산성 및 아질산성 질소 등이고, 대표적인 유기물은 자연유기물질(natural organic matter, NOM)이다. 한편 미생물 오염물로서는 대장균군(coliform bacteria)이 대표적이다. 질산성 질소는 유아 청색증을 초래한다[38]. 이를 제거하기 위한 탈질 미생물은 지표하의 생태계에서 존재하며, 일반적으로 무산소나 혐기 조건에서 활성을 나타낸다.

NOM은 지표수와 지하수에 있는 자연에서 발생된 모든 유

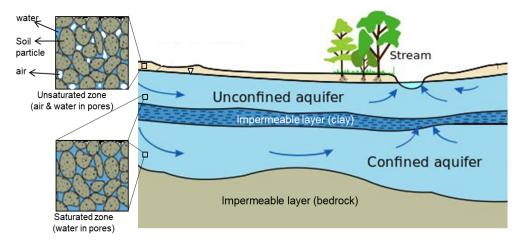


Fig. 1. Confined and unconfined aquifers (modified from diagram of Hillewaert [31]). ∇, groundwater table. Arrows indicate directions of groundwater flow.

Table 1. Major groundwater contaminants and their sources

Contaminants	Sources to groundwater			
Inorganic				
NO ₃ -N	Occurs naturally in mineral deposits, soils, seawater, freshwater systems, the atmospher and biota. More stable form of combined nitrogen in oxygenated water. Found the highest levels in groundwater under extensively developed areas. Enters the environment from fertilizer, feedlots, and sewage.			
NO ₂ -N	Enters environment from fertilizer, sewage, and human or farm-animal waste.			
Aluminum	Occurs naturally in some rocks and drainage from mines.			
Arsenic	Enters environment from natural processes, industrial activities, pesticides, and industrial waste, smelting of copper, lead, and zinc ore.			
Chloride	May be associated with the presence of sodium in drinking water when present in high concentrations. Often from saltwater intrusion, mineral dissolution, industrial and domestic waste.			
Copper	Enters environment from metal plating, industrial and domestic waste, mining, and mineral leaching.			
Cyanide	Often used in electroplating, steel processing, plastics, synthetic fabrics, and fertilizer production; also from improper waste disposal.			
Iron	Occurs naturally as a mineral from sediment and rocks or from mining, industrial waste, and corroding metal.			
Lead	Enters environment from industry, mining, plumbing, gasoline, coal, and as a water additive.			
Manganese	Occurs naturally as a mineral from sediment and rocks or from mining and industrial waste.			
Zinc	Found naturally in water, most frequently in areas where it is mined. Enters environment from industrial waste, metal plating, and plumbing, and is a major component of sludge.			
Sulfate	Elevated concentrations may result from saltwater intrusion, mineral dissolution, and domestic or industrial waste.			
Organic				
NOM	Complex organic matters detected in natural groundwater and surface water. They were mainly originated from the remains of organisms and their waste products. NOM includes both humic and non-humic fractions.	12, 14, 33 34, 40, 41		
Volatile organic compounds	Enter environment when used to make plastics, dyes, rubbers, polishes, solvents, crude oil, insecticides, inks, varnishes, paints, disinfectants, gasoline products, pharmaceuticals, preservatives, spot removers, paint removers, degreasers, etc.			
Chlorinated organic solvent	Tetrachloroethylene (PCE), trichloroethylene (TCE), trichloroethane (TCA)			
Pesticides	Enter environment as herbicides, insecticides, fungicides, rodenticides, and algicides.			
Phenol	Widely used as explosives, fertilizers, paints, paint removers, rubber, asbestos products, wood preservatives, textiles, medicines, perfume, plastic product production, etc.			
Xenobiotic substances	Nanomaterials, pharmaceuticals, personal care products, caffeine, nicotine, etc.			
Microbiological				
Coliform bacteria	Occur naturally in the environment from soils and plants and in the intestines of humans and other warm-blooded animals. Used as an indicator for the presence of pathogenic bacteria, viruses, and parasites from domestic sewage, animal waste, or plant or soil material.			
Other bacteria	Salmonella spp., Legionella spp., Streptococcus spp., Vibrio cholerae, Escherichia coli, Staphylococcus spp., Bacillus spp., Clostridia spp.			
Virus	Hepatitis A, E (HAV, HEV), Norovirus			

기물질의 복합체라 할 수 있다. 상수 내에 존재하는 NOM 자체가 건강에 큰 영향을 미치지 않지만, 정수처리 공정시 소독제와 응집제 등의 화학물질의 필요량을 증가시키고, 소독 공정시 소독제와 결합하여 유해물질인 소독 부산물을 발생시킬수 있다. 또한, 미생물의 성장과 관 부식을 증가시키는 요인중 하나이기도 하다[41]. 이 밖에도, 산업이 발달함에 따라 나노 입자, 의약품, 카페인, 니코틴 등의 새로운 유기 오염물에 대한 연구도 진행되었다[40].

또한 지하수 오염은 주로 공단지역에서 사용되는 유기용제류인 trichloroethylene (TCE), tetrachloroethylene (PCE)로 인한 오염과 기타 저유시설의 누수에 의한 유류 누출 등에 의해발생할 수 있다. 농경지에 뿌린 농약이나 비료가 지하수면에도달하여 지하수 오염이 발생할 수도 있다. 정화조의 오수나매립장의 침출수 누출로 지하수에 오염물질이 유입되는 경우도 있다. 따라서 지하수에서는 지표수에서 관찰될 수 있는 대부분의 오염물질이 관찰된다.

대장균군은 병원성 세균 오염 및 분변 오염의 지표로 사용된다. 대장균은 비병원성이지만, E. coli O157:H7 균주는 용혈성요독 증후군, 출혈성 대장염, 설사, 복통, 구토 등을 야기하는 것으로 알려져 있다. 이러한 분변성 세균이 대수층으로 이동한 것이 보고되었고 사람 장내 바이러스 등도 보고되었다 [45, 49, 50].

기후변화가 생태계에서 구조와 기능뿐만 아니라 생물체의 대사율을 변화시킴으로써 생물의 종 다양성에 영향을 미친다. 기후변화가 대수층의 수리 및 지화학에 어느 정도 영향을 미치는지 아직 확실하지 않다. 그러나 지하수위가 기후변화로 인해 감소하면 장기간 오염물이 대수층에 축적되어 지하수내 오염물의 농도가 증가할 수 있다고 보고되었다[7, 8, 57]. 따라서 기후변화에 의한 대수층의 변화는 미생물 군집에 직간접적인 영향을 줄 수 있으며 차례로 수질에 영향을 미칠수 있다.

대수층 내 오염물의 자연저감과 생분해

대수층 내 오염물질이 자연 저감되는 주요 기작은 이류 (advection), 확산(dispersion), 흡착(sorption), 희석(dilution), 휘발(volatilization), 화학적 변형(chemical transformation), 생분해(biodegradation) 등이 관여한다[1, 52]. 특히 대수층 토착 미생물에 의한 생분해는 대수층의 오염물을 제거하는데 주 역할을 하는 것으로 보고되었다. 미생물은 대수층에서 NOM과 무기물의 생분해[37, 47]와 철과 망간[17]같은 금속의 전환에 관여한다고 보고되었다.

대수층 환경에서 병원균의 제거 및 분해는 물리적 요인과 생물학적 요인들의 조합으로 제거된다고 보고되었다[2, 39, 58]. 대수층의 퇴적토에 의해 유입된 대장균과 병원성 미생물이 여과된다고 보고되었다[2, 23]. 한편 대수층에서 대장균과 병원성 미생물들이 생존능을 상실하거나, 포식자에 의해 포식

되기도 하고 또한 토착 미생물과 먹이에 대해 경쟁함에 따라 수가 감소한다고 보고되었다.

이러한 보고들은 대수층 내에서 지하수 오염물질이 자연저 감되거나 생분해가 되는 것은 증명하였으나 부지환경 특이성 에 따라 생분해에 참여하는 토착 미생물 군집조성과 더불어 활성이 달라지므로 일반화하기는 어렵다.

대수층의 미생물 생태

대수층 미생물들은 그 기원에 따라 토착 미생물(autochthonous)과 외래 미생물(allochthonous)로 나눌 수 있다. 토착 미생물은 대수층 내에서 그 환경에 적응하여 존재하는 미생물이고, 외래 미생물은 대수층 외의 환경에서 지표수를 통해 대수층으로 유입된 개체들이다. 이들은 대수층 내의 환경에 잘 적응하여 토착 미생물의 일부분이 되기도 한다[22].

산화/환원 전위, 용존 산소, 특정 미네랄 성분, pH 등과 같은 대수층 환경과 지하수 성상은 대수층 내에서 미생물의 군집구조와 활성에 영향을 준다. 또한 미생물의 군집구조와 활성에 의해 대수층 환경과 지하수 성상은 영향을 받는다. 대수층 내에서 미생물이 살기 위해서는 기본적으로 탄소원, 전자공여체 및 전자수용체, 질소, 황, 인, 미량원소가 필요하다[32]. 전자공여체는 유기물이거나 무기물(예, 수소, 황, Fe²+ 등)이며, 전자수용체는 산소, NO₃, Fe³+, CO₂ 등이다. 대수층에서는 주로 표토로부터 유입되거나 대수층 내에서 광물의 풍화로부터 생성된 물질들에 의해서 생태계가 유지된다[61]. 필수 원소(예, Ca, Mg, K)는 대부분 대수층에 충분히 존재하지만, 일부(예, N, S, P, Fe)는 제한적이다. 이러한 경우, 미생물이 대수층 광물을 용해하여 그들의 대사에 필수적인 원소를 용출하게된다[51].

대수층 환경은 광합성을 하는 개체에 의해 유기탄소원이계속 유입되는 다른 수생 환경과는 다르다. 대수층 생태계는 일반적으로 빛이 없고, 유기탄소의 이용이 낮으며 비교적 낮은 온도를 유지하기 때문에 극한 환경이라고 여겨질 수 있다. 하지만 대수층 내의 미생물 군집은 이러한 조건에 잘 적응하고 서식하고 있는 미생물들로 구성되어 있다. 오염되지 않은 대수층에서 미생물 군집의 형태학적 다양성을 조사한 결과, 미생물의 크기가 0.4-0.9 μ m 정도였으며 비교적 영양분이 충분하지 않은 환경이어서 활성화가 잘되지 않은 것으로 보고되었다[5].

호기성 미생물의 전자수용체로서 산소는 이들의 생장을 조절하는 중요한 지표이다. 얕은 자유면 대수층과 지표수와 인접한 대수층에서 산소 분압이 가장 높다[21]. 유기탄소원으로 작용하는 지하수 내 용존유기탄소(dissolved organic carbon, DOC)는 종종 총유기탄소(total organic carbon, TOC)의 약90% 이상을 차지한다. 대부분 미생물이 이용 가능한 탄소는 대수층에 도달하기 전에 불포화층 토양 내에서 호기성 미생물에 의해 분해된다. 따라서 대수층 내에서 DOC 농도는 깊이가

증가함에 따라 감소하며, 따라서 미생물의 바이오매스 양도 감소한다[4, 6, 18].

대수층은 불균질(heterogeneity)한 특성을 나타낸다. 거시적 규모로 볼 때, 대수층은 자갈과 점토를 가진 모래층처럼 다른 형태의 지질학적 물질로 구성되어 있기 때문에 불균질하다. 미시적 규모로는, 다른 크기와 유형의 광물 입자로 인해 공극 크기가 다양해지므로 불균질하다고 볼 수 있다. 생태학적 관점에서 대수층은 별개의 거시적 및 미시적 규모 서식지의 이질적인 조합으로 간주되어 다양한 서식 조건을 제공할수 있다. 따라서 미생물의 군집과 그들의 활성이 이질적으로 분포할 수 있으며 이로 인해 대수층 내에서 미생물들의 다양성이 큰 것으로 여겨진다[22].

대수층 내에 존재하는 대부분의 원핵생물들은 지하수 내에 부유하는 것보다 퇴적토 입자에 더 많이 부착되어 있다[25]. 지하수 생태계에서 세균 수는 지하수와 퇴적토의 경우 각각 10^2 - 10^6 cells/cm³와 10^4 - 10^8 cells/cm³로 다양하게 존재한다고 보고되었다[26, 56]. 기질 성분이 부족한 대수층 환경에서 이렇게 미생물이 토양입자에 부착해서 서식하는 것은 지하수보다지화학적으로 더 다양한 생태적 환경을 제공하기 때문인 것으로 여겨진다. 계절 변화에 따라 지하수의 부유 미생물 군집에는 상당한 역동성을 나타내나, 부착 미생물 군집은 크게 영향을 받지 않고 안정적이라고 보고되었다[64]. 많은 연구에서 대

수층 내의 퇴적토에 붙어 있는 부착 세균 군집과 지하수에 부유하는 세균 군집이 서로 다르다고 밝힌 바 있다[20, 25]. 같은 위치에서 퇴적토와 지하수 군집을 직접 비교한 결과, 미생물 군집의 약 30% 정도만 서로 겹치는 경향을 나타내었다 [19, 20]. 따라서 지하수 시료만 이용하면 대수층 내의 미생물 군집 조성에 대한 정보를 파악하기에 한계가 있으므로 퇴적토시료의 부착 미생물도 같이 분석하는 것이 바람직하다.

대수층 미생물연구를 위한 분자생물학적 방법

대수층을 포함한 자연환경 서식지의 미생물 중 상당수가 실험실에서 배양되지 않고, 배양이 되더라도 오랜 시간이 소요된다고 알려져 있다[3]. 따라서 기존의 전통적인 배양방법 (평판배양법, 최적확수법 등)은 지하수 미생물 군집을 분석하는데 한계가 있다. 이러한 한계를 극복하기 위해 분자생물학적 방법을 사용하여 대수층 미생물에 대한 정보를 제공할 수 있다. 다양한 유전자를 대상으로 분자생물학적 방법을 응용할수 있지만 원핵생물(세균과 고세균 영역의 미생물) 군집에 대한 정보를 얻기 위해서는 small subunit 리보솜의 16S rRNA 유전자를 주로 이용한다. 16S rRNA 유전자의 염기서열은 보존된 서열(conserved sequence)과 더불어 가변 서열(variable sequence)을 가지고 있어 다양한 개체군을 확인하고, 그들간의 계통발생학적 관계도 파악할 수가 있다[62]. 이 유전자의

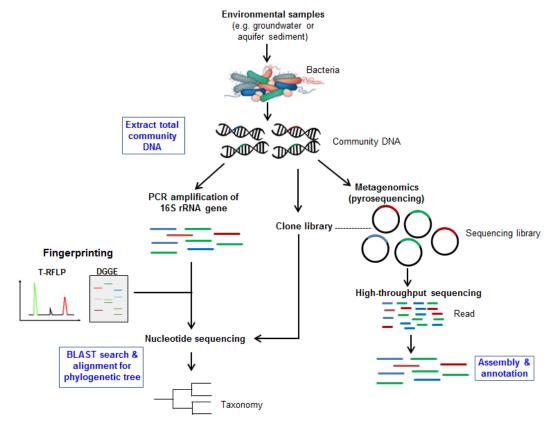


Fig. 2. Culture-independent molecular techniques used to analyze microbial communities in environmental samples.

염기서열이 결정되면 GenBank 등의 데이터베이스를 검색하여 등록되어 있는 미생물과의 연관성을 밝히고 계통학적 위치도 밝힐 수 있다.

대수층 미생물 군집을 조사를 위해서 환경 시료(지하수나 퇴적토)로부터 직접 추출한 DNA를 이용하여 16S rRNA 유전 자를 증폭한 다음, terminal restriction fragment length polymorphism (T-RFLP), denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE), clone library, 또는 pyrosequencing 등을 사용할 수 있다(Fig. 2). T-RFLP나 DGGE와 같은 분자 지문 분석법(fingerprinting)은 유전자 서열과 크기가 다른 PCR 산물이 젤 (gel)에서 이동하는 이동성의 차이로 분리된다. 각각의 밴드들 이 하나의 개체군을 나타낸다고 가정하고, 생성된 밴드패턴들 은 군집의 다양성을 반영한다고 할 수 있다. 동시에 밴드로부 터 회수한 DNA 절편들의 염기서열 분석을 통해서 계통발생 학적 정보들을 얻을 수 있다. Clone library가 대표성을 가지기 위해서는 많은 수의 클론이 필요하며 이를 분석하기 위해서는 많은 시간과 노력을 요구하기 때문에 많은 양의 샘플을 처리 하기에는 부적합하다.

지문 분석법이나 정량 PCR (qPCR) 등과 같은 기법의 적용으로 미생물의 유무와 그 농도는 확인할 수 있지만, 획득할수 있는 미생물 및 유전자의 정보는 매우 제한적이다. 이를보완하기 위해, 454 pyrosequencing, Illumina와 같은 차세대염기서열 분석 시스템(Next Generation Sequencing, NGS)을통한 토착 미생물의 군집과 기능성을 파악하는 연구가 최근에는 활발하게 이루어지고 있다.

지하수 미생물 군집조성

지하수 수질에 대한 관심의 증가로 인해 지하수 오염물 분해에 관여하는 대수층 미생물에 대한 인식도 증가하였다. 지하수 생태계는 다양한 미생물 군집의 광범위하고 복잡한 서식지를 제공한다. 이에 대수층 내 미생물 군집은 세균뿐 아니라고세균, 진균, 바이러스, 원생동물 등을 포함하고 있다. 하지만세균 외에 다른 미생물들은 상대적으로 많은 연구가 이루어지지 않았다.

대수층 미생물은 대수층 퇴적토와 지하수에 서식하지만 대부분은 퇴적토 입자 표면에 주로 부착되어 있는 것으로 알려졌다[26]. 대수층 퇴적토 시료 채취의 어려움으로 인해 대수층 미생물에 대한 정보는 대부분 지하수 시료를 분석한 결과를 바탕으로 한다. 대수층 퇴적토 시료 채취는 표준관입시험법 (standard penetration test; SPT) (Fig. 3)과 같은 시추 작업을통해 이루어지므로 비용면이나 기술적으로 어렵다[56]. 따라서, 대수층 퇴적토 미생물에 대한 정보는 부족한 실정이다. 그 대신 대부분의 대수층 미생물 군집 연구는 시료 채취가비교적 용이한 지하수 시료를 통해 이루어지고 있다. 지하수시료 채취는 관정으로부터 양수한 지하수 시료의 부유 미생물을 막으로 포집해서 분석에 이용한다. 본 논문에서는 대수층



Fig. 3. Modified standard penetration test (SPT) employed to sample aquifer sediment in the Nakdong River Delta. The method is basically the same as conventional SPT except modified split barrel sampler.

지하수 내 세균 군집을 중심으로 기술하였다.

대수층 지하수의 미생물 군집분석을 위해 다양한 분자생물학적 방법들이 사용되었다(Table 2). 오염되지 않은 얕은 대수층의 미생물 군집은 표토의 미생물 군집과는 뚜렷한 차이를나타내었으며 다양성이 낮게 나타났다[9]. 최근 Sirisena 등 [54]은 뉴질랜드 전국에서 채취한 지하수의 세균 군집 구조를 T-RFLP 방법으로 분석하였다. 한 나라 전체의 지하수 세균 군집 구조를 체계적으로 분석한 최초의 연구였으며, 세균 구조는 지하수 화학적 특성, 특히 산화 환원 전위, 인간의 활동에의한 영향과 크게 연관이 있다고 보고하였다. 한편 Gregory 등[24]은 영국의 오염되지 않은 대수층의 미생물 군집 연구를통하여 대수층 내의 광물이나 수리화학에 의해 미생물 군집은 영향을 받으며 특히 Proteobacteria가 우점하였다고 보고하였다.

사실 지금까지 보고된 바에 의하면 대수층 환경에서 대부분 Proteobacteria 문에 해당하는 미생물이 우세한 것으로 나타났다(Table 2). 그 중에서도 β 와 γ -Proteobacteria 강(class)이 우세하다고 보고되었다[20, 29, 53]. 하지만 어떤 경우에는 α -, β -Proteobacteria, 그리고 Actinobacteria가 동일하게 우세하는 것으로 보고되었다[29]. 대수층 미생물 군집의 구조는 대수층 내의 미생물 기질이 될 수 있는 광물과 같은 무기물이나 유기물

1092

Table 2. Microbial communities in groundwater of pristine aquifers

Location	Aquifer	Depth (m, bgl [*])	Bacteria (dominant taxa)	Method	Reference
Doñana National Park, Spain	Coastal/ confined	15	Proteobacteria, Acidobacteria, Planctomycetes, Nitrospirae, some divergent lineages and the candidate divisions SPAM, OP3, OP11, 'Endomicrobia' or Termite Group 1 and a novel division-level group including denitrifying bacteria	Clone library	43
		80	Proteobacteria, Firmicutes		
Mahomet aquifer, IL, USA	Confined/ glacial	Not described	Attached and suspended microbes from the same well share, on average, only one third of their microbial community. <i>Geobacter</i> and <i>Geothrix</i> represent more than 20% of the total attached community, but no more than 1% of the suspended community.	T-RFLP	19
Jeju island, Korea	Pristine	Not described	Actinobacteria	Pyrosequencing	59
Finniss River Catchment, South Australia	Unconfined	13-19	Rhodospirillales, Rhodocyclales, Chlorobia, Circovirus	Pyrosequencing	55
	Confined	79-84	$\mathcal{E} ext{-Proteobacteria}$, Clostridiales		
Fort McCoy, WI, USA	Military installation	11	β-, γ-Proteobacteria	FISH	53
Mallorca island, Spain	Carbonate	51, 64, 71, 77	Proteobacteria, Actinobacteria, Bacteroidetes	Pyrosequencing	30
MAR filed site in Taif river, Saudi Arabia	Shallow	0.01-0.02	Proteobacteria was the most abundant. It was followed by Bacteroidetes mainly, including the classes Sphingobacteria (7.6%) and Flavobacteria (2.5%), Acidobacteria, Actinobacteria, Firmicutes, including Clostridia (1.6%), Planctomycetes, Chloroflexi, and Cyanobacteria. β-Proteobacteria, γ-Proteobacteria are positively correlated with DOC concentration.	Pyrosequencing	42
	Intermediate- saturated	0.1-0.5	Proteobacteria was most abundant group. The other dominant phyla included Bacteroidetes, mainly consisting of Sphingobacteria (7.2%), Acidobacteria, Actinobacteria, Firmicutes consisting of Bacilli (3.0%) and Clostridia (1.4%), Planctomycetes, and Nitrospira.		
Mahomet aquifer, IL, USA	Not described	41-117	δ-Proteobacteria (Desulfobacteraceae, Desulfobulbaceae) primarily taxa associated with iron and sulfate reduction was abundant in attached bacterial community. a-, β-, and y-Proteobacteria were more predominant in the suspended bacterial community.	Clone library	20

^{*} bgl, below ground level.

의 분포와 농도에 따라 영향을 받는 것으로 여겨진다. Boyd 등[10]은 Proteobacteria에 해당되는 강들 중에서 기질의 종류에 따라 우점하는 강이 다르게 나타났다고 하였다. Fahy 등[15]은 오염되지 않은 대수층 시료에서 β -Proteobacteria가 우세했는

데, benzene에 노출되었을 때는 Actinobacteria가 우세하였다고 보고하였다[16].

대체적으로 안정한 대수층 환경 조건에서는 미생물의 다양성이 증가된 반면, 오염된 환경에서는 다양성이 감소된 군집

이 나타났다[27]. 그러나 가축폐수가 대수층 내로 침투되었을 경우 오히려 미생물 다양성이 증가되었다는 보고도 있다[11]. 이는 가축폐수에 포함되어 있는 동물 배설물 자체가 많은 수의 미생물을 가지고 있기 때문인 것으로 여겨진다. 오염되지 않은 지하수 시료에서는 βProteobacteria가 우세하게 나타났으나, 가축폐수로 오염된 시료에서는 Cytophaga-Flexibacter-Bacteroidetes와 low-G+C gram positive group이 우세하게 나타났다. 그러나 대수층 내로 도입된 세균들이 장기적으로 지하수 환경에서 잘 적응해서 서식할 수 있을지는 알 수 없다.

오염되지 않은 대수층에서 발견된 대부분 미생물들은 해롭지 않다 하더라도, 인간의 활동에 의해 오염된 경우 병원성 미생물이 검출되기도 한다. 가령, Salmonella spp., Legionella spp., Streptococcus spp., Vibrio cholerae, Escherichia coli, Staphylococcus spp., Bacillus spp., Clostridia spp. [24]와, 장관계 바이러스인 Hepatitis-A, - E virus [50] 등이 지하수 내로 유입된보고가 있다.

결 론

지하수는 기후변화에 대비한 비교적 안정적이고 안전한 수 자원이다. 지하수를 포함하는 지하 대수층의 생지화학적 과정에 미생물이 중요한 역할을 한다. 그러므로 지하수의 수질 개선 및 모니터링에 대수층 미생물 군집정보가 필요하다. 또한 미생물 정보는 대수층 인공함양기술에서 공정의 효율을 모니터링 하는데도 필요하다. 대수층 내에서 미생물의 다양성과 오염물에 대한 미생물의 활성에 대한 지속적이고 폭넓은 이해를 통해 지하수 수질 개선에 기역할 것이다.

감사의 글

본 연구는 국토교통부 물관리연구개발사업의 연구비 지원 (code 17AWMP-B066761-05)에 의해 수행되었습니다.

References

- Ahn, Y., Sung, N. C. and Lee, Y. C. 2015. Introduction to pollution and purification of soil environment. Goomibook. Korea
- 2. Ahn, Y. and Park, J. Y. 2016. Removal of Escherichia coli in

- river water introduced in saturated-zone soil: Laboratory-scale column test. J. Kor. Soc. Env. Tech. 17, 493-500.
- Amann, R. I., Ludwing, W. and Schleifer, K. H. 1995.
 Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. *Microbiol. Rev.* 59, 143-169.
- Baker, M. A., Valett, H. M. and Dahm, C. N. 2000. Organic carbon supply and metabolism in a shallow groundwater ecosystem. *Ecology* 81, 3133-3148.
- Balkwill, D. L. and Ghiorse, W. C. 1985. Characterization of subsurface bacteria associated with two shallow aquifers in Oklahoma. *Appl. Environ. Microbiol.* 50, 580-588.
- Batiot, C., Emblanch, C. and Blavoux, B. 2003. Total organic carbon (TOC) and magnesium (Mg): two complementary tracers of residence time in karstic systems. *Comptes. Rendus. Geosci.* 335, 205-214.
- Bloomfield, J. P., Gaus, I. and Wade, S. D. 2003. A method for investigating the potential impacts of climate-change scenarios on annual minimum groundwater levels. Water Environ. J. 17, 86-91.
- 8. Bloomfield, J. P., Williams, R. J., Gooddy, D. C., Cape, J. N. and Guha, P. 2006. Impacts of climate change on the fate and behavior of pesticides in surface and ground-water-A UK perspective. *Sci. Total Environ.* **369**, 163-177.
- Bone, T. L. and Balkwill, D. L. 1988. Morphological and cultural comparison of microorganisms in surface soil and subsurface sediments at a pristine study site in Oklahoma. *Microb. Ecol.* 16, 49-64.
- Boyd, E. C., Cummings, D. E. and Geesey, G. G. 2007. Mineralogy influences structure and diversity of bacterial communities associated with geological substrata in a pristine aquifer. *Microb. Ecol.* 54, 170-182.
- 11. Cho, J. C. and Kim, S. J. 2000. Increase in bacterial community diversity in subsurface aquifers receiving livestock wastewater input. *Appl. Environ. Microbiol.* **66**, 956-965.
- 12. Díaz-Cruz, M. S. and Barceló, D. 2008. Trace organic chemicals contamination in ground water recharge. *Chemosphere* **72**, 333-342.
- 13. Dillon, P. J. 2005. Future management of aquifer recharge. *Hydrogeol. J.* **13**, 313-316.
- Dowideit, K., Scholz-Muramatsu, H., Miethling-Graff, R., Dohrmann, A. B. and Tebbe, C. C. 2010. Spatial heterogeneity of dechlorinating bacteria and limiting factors for in situ trichloroethene dechlorination revealed by analyses of sediment cores from a polluted field site. *FEMS Microbiol. Ecol.* 71, 444-459.
- Fahy, A., Lethbridge, G., Earle, R., Ball, A. S., Timmis, K. N. and McGenity, T. J. 2005. Effects of long-term benzene pollution on bacterial diversity and community structure in groundwater. *Environ. Microbiol.* 7, 1192-1199.
- Fahy, A., Ball, A. S., Lethbridge, G., McGenity, T. J. and Timmis, K. N. 2008. High benzene concentrations can favor Gram-positive bacteria in groundwaters from a contaminated aquifer. FEMS Microbiol. Ecol. 65, 526-533.
- 17. Farnsworth, C. E. and Hering, J. G. 2011. Inorganic geochemistry and redox dynamics in bank filtration settings.

- Environ. Sci. Technol. 45, 5079-5087.
- Findlay, S. E., Sinsabaugh, R. L., Sobczak, W. V. and Hoostal, M. 2003. Metabolic and structural response of hyporheic microbial communities to variations in supply of dissolved organic matter. *Limnol. Oceanogr.* 48, 1608-1617.
- 19. Flynn, T. M, Sanford, R. A. and Bethke, C. M. 2008. Attached and suspended microbial communities in a pristine confined aquifer. *Water Resour. Res.* 44, W07425.
- Flynn, T. M., Sanford, R. A., Ryu, H., Bethke, C. M., Levine, A. D., Ashbolt, N. J. and Santo Domingo, J. W. 2013. Functional microbial diversity explains groundwater chemistry in a pristine aquifer. *BMC Microbiol.* 13, 146.
- Gavrieli, I., Burg, A. and Guttman, J. 2002. Transition from confined to phreatic conditions as the factor controlling salinization and change in redox state, Upper subaquifer of the Judea Group, Israel. *Hydrogeol. J.* 10, 483-494.
- Goldscheider, N., Hunkeler, D. and Rossi, P. 2006. Review: Microbial biocenoses in pristine aquifers and an assessment of investigative methods. *Hydrogeol. J.* 14, 926-941.
- Gooddy, D. C., Hughes, A. G., Williams, A. T., Armstrong, A. C., Nicholson, R. J. and Williams, J. R. 2001. Field and modelling studies to assess the risk to UK groundwater from earth-based stores for livestock manure. *Soil Use Manage*. 17, 128-137.
- Gregory, S. P., Maurice, L. D., West, J. M. and Gooddy, D. C. 2014. Microbial communities in UK aquifers: current understanding and future research needs. Q. J. Eng. Geol. Hydrogeol. 47, 145-157.
- Griebler, C., Mindl, B., Slezak, D. and Geiger-Kaiser, M. 2002. Distribution patterns of attached and suspended bacteria in pristine and contaminated shallow aquifers studied with an in situ sediment exposure microcosm. *Aquat. Microb. Ecol.* 28, 117-129.
- 26. Griebler, C. and Lueders, T. 2009. Microbial biodiversity in groundwater ecosystems. *Freshw. Biol.* **54**, 649-677.
- Haack, S. K., Fogarty, L. R., West, T. G., Alm, E. W., McGuire, J. T., Long, D. T., Hyndman, W. and Forney, L. J. 2004. Spatial and temporal changes in microbial community structure associated with recharge-influenced chemical gradients in a contaminated aquifer. *Environ. Microbiol.* 6, 439-448.
- Haveman, S. A., Swanson, E. W. A., Voordouw, G. and Al, T. A. 2005. Microbial populations of the river-recharged Fredericton aquifer. *Geomicrobiol. J.* 22, 311-324.
- 29. Hendrickx, B., Dejonghe, W., Boenne, W., Brennerova, M., Cernik, M., Lederer, T., Bucheli-Witschel, M., Bastiaens, L., Verstraete, W., Top, E. M., Diels, L. and Springael, D. 2005. Dynamics of an oligotrophic bacterial aquifer community during contact with a groundwater plume contaminated with benzene, toluene, ethylbenzene, and xylenes: An in situ mesocosm study. *Appl. Environ. Microbiol.* 71, 3815-3825.
- Hery, M., Volant, A., Garing, C., Herndl, G. J. and Jürgens, K. 2014. Diversity and geochemical structuring of bacterial communities along a salinity gradient in a carbonate aquifer subject to seawater intrusion. FEMS Microbiol. Ecol. 90, 922-934.

- 31. Hillewaert, H. 2007. Schematic aquifer cross section. U.S. Geological Survey circular 1186.
- 32. Humphreys, W. F. 2009. Hydrogeology and groundwater ecology: Does each inform the other? *Hydrogeol. J.* 17, 5-21.
- 33. Im, H., Yeo, I., Maeng, S. K. and Choi, H. 2015. Removal of organic matter and pharmaceuticals in wastewater effluent through managed aquifer recharge. *J. Kor. Soc. Environ.* 37, 182-190.
- 34. Johnson, A., Llewellyn, N., Smith, J., van der Gast, C., Lilley, A., Singer, A. and Thompson, I. 2004. The role of microbial community composition and groundwater chemistry in determining isoproturon degradation potential in UK aquifers. FEMS Microbiol. Ecol. 49, 71-82.
- 35. Kim, Y. and Kim, Y. 2009. Artificial groundwater technology for climate change. J. Korea Water Resour. Assoc. 42, 58-65.
- Kim, Y. and Kim, Y. 2010. A review on the state of the art in the management of aquifer recharge. J. Geo. Soc. Korea 46, 521-533.
- 37. Kolehmainen, R. E., Tiirola, M. A. and Puhakka, J. A. 2008. Spatial and temporal changes in *Actinobacterial* dominance in experimental artificial groundwater recharge. *Water Res.* 42, 4525-4537.
- 38. Kross, B. C., Ayebo, A. D. and Fuortes, L. J. 1992. Methemoglobinemia: nitrate toxicity in rural America. *Am. Fam. Physician* **46**, 183-188.
- Langmark, J., Storey, M. V., Ashbolt, N. J. and Stenstrom, T. A. 2004. Artificial groundwater treatment: biofilm activity and organic carbon removal performance. Water Res. 38, 740-748
- 40. Lapworth, D. J., Baran, N., Stuart, M. E. and Ward, R. S. 2012. Emerging organic contaminants in groundwater: A review of sources, fate and occurrence. *Environ. Pollut.* **163**, 287-303.
- 41. Leenheer, J. A. and Croue, J. P. 2003. Characterizing aquatic dissolved organic matter. *Environ. Sci. Technol.* **37**, 18-26.
- Li, D., Sharp, J. O., Saikaly, P. E., Ali, S., Alidina, M., Alarawi, M. S., Keller, S., Hoppe-Jones, C. and Drewes, J. E. 2012. Dissolved organic carbon influences microbial community. *Appl. Environ. Microbiol.* 78, 6819-6828.
- López-Archilla, A. I., Moreira, D., Velasco, S., López-García, P. 2007. Archaeal and bacterial community composition of a pristine coastal aquifer in Doñana National Park, Spain. Aquat. Microb. Ecol. 47, 123-139.
- 44. Ministry of Land, Infrastructure and Transport. 2017. Groundwater survey annual report No.11635.
- Morris, B., Darling, W., Cronin, A., Rueedi, J., Whitehead, E. and Gooddy, D. 2006. Assessing the impact of modern recharge on a sandstone aquifer beneath a suburb of Doncaster, UK. *Hydrogeol. J.* 14, 979-997.
- 46. National Institute of Environmental Research. 2014. Safe groundwater management manual from norovirus and microbial contamination for private and small water supply user. Korea.
- 47. Park, J. Y. and Ahn, Y. 2014. Removal of nitrate in river water by microorganisms in saturated-zone soil: Laboratory-scale column test. *J. Life Sci.* **24**, 543-548.

- 48. Park, N. S., Jung, E. T. and Nam, B. H. 2016. Aquifer storage and water quality enhancement of surface water. *Kor. Soc. Civ. Eng.* **64**, 25-31.
- 49. Powell, K. L., Cronin, A. A., Pedley, S. and Barrett, M. H. 2002. Microbiological quality of groundwater in UK urban aquifers: Do we know enough? pp. 91-96 In: Thornton S. F., and Oswald, S. E. (eds), Groundwater Quality: natural and enhanced restoration of groundwater pollution. IAHS publication 275. International Association of Hydrological Sciences Publishing, Sheffield, UK.
- Powell, K. L., Taylor, R. G., Cronin, A. A., Barrett, M. H., Pedley, S., Sellwood, J., Trowsdale, S. A. and Lerner, D. N. 2003. Microbial contamination of two urban sandstone aquifers in the UK. Water Res. 37, 339-352.
- 51. Rogers, J. R. and Bennett, P. C. 2004. Mineral stimulation of subsurface microorganism: release of limiting nutrients from silicates. *Chem. Geol.* **203**, 91-108.
- Schulze-Makuch, D. 2009. Advection, Dispersion, Sorption, Degradation, Attenuation, pp. 55-68. In: Groundwater - Vol. II. EOLSS Publications, USA.
- 53. Shi, Y., Zwolinski, M. D., Schreiber, M. E., Bahr, J. M., Sewell, G. W. and Hickey, W. J. 1999. Molecular analysis of microbial community structures in pristine and contaminated aquifers: Field and laboratory microcosm experiments. *Appl. Environ. Microbiol.* **65**, 2143-2150.
- Sirisena, K. A., Daughney, C. J., Moreau-Fournier, M., Ryan, K. G. and Chambers, G. K. 2013. National survey of molecular bacterial diversity of New Zealand groundwater: Relationships between biodiversity, groundwater chemistry and aquifer characteristics. FEMS Microbiol. Ecol. 86, 490-504.
- 55. Smith, R. J., Jeffries, T. C., Roudnew, B., Fitch, A. J., Seymour, J. R., Delpin, M. W., Newton, K., Brown, M. H. and Mitchell, J. G. 2012. Metagenomic comparison of microbial communities inhabiting confined and unconfined aquifer ecosystems.

- Environ. Microbiol. 14, 240-253.
- Sorensen, J. P. R., Maurice, L., Edwards, F. K., Lapworth,
 D. J., Read, D. S., Allen, D., Butcher, A. S., Newbold, L. K., Townsend, B. R. and Williams, P. J. 2013. Using boreholes as windows into groundwater ecosystems. *PLoS ONE* 8, e70264.
- Stuart, M., Gooddy, D., Bloomfield, J. and Williams, A. 2011.
 A review of the impact of climate change on future nitrate concentrations in groundwater of the UK. Sci. Total Environ. 409, 2859-2873.
- 58. Toze, S., Bekele, E., Page, D., Sidhu, J. and Shackleton, M. 2010. Use of static quantitative microbial risk assessment to determine pathogen risks in an unconfined carbonate aquifer used for managed aquifer recharge. Water Res. 44, 1038-1049.
- Unno, T., Kim, J., Kim, Y., Nguyen, S. G., Guevarra, R. B., Kim, G. P., Lee, J. H. and Sadowsky, M. J. 2015. Influence of seawater intrusion on microbial communities in groundwater. *Sci. Total Environ.* 532, 337-343.
- Urenda, F. R. 2009. Groundwater contamination, protection and remediation. pp. 16-52. In: Groundwater - Vol. III. EOLSS Publications, USA.
- 61. Uroz, S., Calvaruso, C., Turpault, M. P. and Frey Klett, P. 2009. Mineral weathering by bacteria: ecology, actors and mechanisms. *Trends Microbiol.* 17, 378-387.
- Woese, C. R. 1987. Bacterial evolution. *Microbiol. Rev.* 51, 221-271.
- 63. Younger, P. L. 2007. Groundwater in the environment: an introduction, pp. 1-25, 1st ed., Blackwell publishing Ltd. Victoria, Australia.
- 64. Zhou, Y., Kellermann, C. and Griebler, C. 2012. Spatio-temporal patterns of microbial communities in a hydrologically dynamic pristine aquifer. *FEMS Microbiol. Ecol.* **81**, 230-242.

초록: 대수층 지하수 미생물의 생태

김영화·안영희*

(동아대학교 공과대학 환경공학과)

기후변화로 인한 지표수 자원의 손실에 대비하기 위해 지하수 자원에 대한 관심이 대두되고 있다. 지하수 오염에 대한 모니터링 및 평가뿐 아니라 지하수 자원 관리를 위해 대수층 미생물 군집에 대한 이해가 필요하다. 대수층에서 미생물은 지하수에 부유하는 것보다 대부분이 대수층 퇴적토 입자 표면에 부착해서 서식한다. 하지만 대수층 퇴적토 시료 채취가 쉽지 않으므로 대부분의 대수층 미생물 군집 연구는 관정으로부터 채취한 지하수 시료의 부유 세포를 이용하였다. 오염된 대수층에서 미생물 군집에 대한 연구는 비교적 많으나, 오염되지 않은 대수층에서의 미생물 다양성과 수질개선을 위한 그들의 역할에 대한 정보는 여전히 부족한 실정이다. 본 논문에서는 대수층 지하수 내에 존재하는 세균의 생태와 군집 구조에 관해 기술하였다. 지금까지 보고된 연구에 의하면 오염되지 않은 대수층 지하수 미생물 군집은 대부분 Proteobacteria가 우세한 것으로 나타났다. 이들은 대수층 내의 기질(광물, 유기물 등)의 농도나 분포, 지하수의 성상, 인간의 활동 등에 영향을 받는다. 오염되지 않은 대수층 지하수 미생물 군집에 관한 연구는 지하수의 수질 개선에 관련된 생지화학적 과정을 더 잘 이해하기 위해 중요하며, 또한 대수층 오염에 따른 군집 변화를 모니터링 하기 위한 기초 자료로 이용될 수 있다.