

< Original Article >

사료자원에 서식하는 세균의 소화효소활성, 항생제내성 및 병원성에 관한 특성

이권정¹ · 조상섭² · 김수기^{1*}

전국대학교 동물자원과학과¹, 양주시농업기술센터²

Characteristics of digestive enzyme activity, antibiotic resistance, and pathogenicity of bacteria inhabited in animal feed resources

Kwon Jung Yi¹, Sang Seop Cho², Soo-Ki Kim^{1*}

¹Department of Animal Science and Technology, Konkuk University, Seoul 06029, Korea

²Yangjucity Agricultural Technology Center, Yangju 11421, Korea

(Received 3 June 2017; revised 23 June 2017; accepted 27 June 2017)

Abstract

Among different types of spoilage, microbial contamination can cause feed decomposition, which results in decreases in feed intake and productivity, infection, and breeding disorder. During the storage time, various microbes have a chance to inoculate with depreciation of feed and to infect the animals. We investigated bacteria that inhabit diverse feed ingredients and complete feed which have been stored for a few months. We isolated and identified 30 genera and 62 species of bacteria. Among these 62 species, 21 species were of non-pathogenic bacteria, 18 species were of pathogenic bacteria, 9 species were of opportunistic pathogens, and 14 species were of unknown bacteria. *Pantoea allii* and 24 species showed proteolytic enzyme activity. We also confirmed that 6 species including *Pseudomonas psychrotolerans* showed α -amylase activity, and 29 species including *Burkholderia vietnamiensis* showed cellulase activity. *Microbacterium testaceum* and 3 species showed resistance to Ampicillin, Kanamycin, Streptomycin, Gentamicin, Carbenicillin, and Erythromycin (50 μ g/mL). Using mealworm larvae (*Tenebrio molitor* L.) as a model for pathogenicity, we confirmed that 8 species including *Staphylococcus xylosus* had pathogenicity for mealworm larvae. Especially, *Enterobacter hormaechei*, *Staphylococcus xylosus*, and *Staphylococcus hominis* were reported as being pathogenic for humans. This research suggests that hygienic management of animal feed is essential because beneficial and harmful bacteria can inhabit animal feed differently during storage and distribution.

Key words : Antibacterial resistance, Bacteria, Enzyme activity, Feed, Pathogenicity

서 론

사료의 오염은 가축들의 사료섭취량 저하, 소화 및 번식장애로 인한 가축의 생산성 저하를 일으킨다 (Fink-Gremmels, 2008). 사료의 오염에는 농약, 중금속이나 기계 윤활유 등에 의한 화학적 오염, 금속과 유리조각에 의한 물리적 오염, 그리고 기생충이나 병원

균, 바이러스, 곰팡이 등의 미생물에 의한 오염이 있다. 사료원료에는 유용 미생물과 유해 미생물이 모두 서식할 수 있다(Kim 등, 2014). 사료자원이 유해 미생물에 오염되면 부패가 일어나게 되고 사료의 품질을 저하시킨다.

현재 우리나라에서 규제하고 있는 사료 내 곰팡이 독소는 아플라톡신과 오크라톡신이다. 아플라톡신은 동물실험을 통해 발암성이 가장 강한 발암물질이자

*Corresponding author: Soo-Ki Kim, Tel. +82-2-450-3728, Fax. +82-2-458-3728, E-mail. sookikim@konkuk.ac.kr

(Chawanthayatham 등, 2015) 돌연변이원이며(Moctezuma-Zarate 등, 2015), 1960년 영국에서 칠면조의 대량 폐사의 원인으로 밝혀진 적도 있다(Blount, 1961). 오크라톡신은 신장과 간을 손상시키며 면역기능의 저하를 일으킨다(Hanif와 Muhammad, 2015). 국내에서는 규제 대상이 아닌 T-2 독소는 과아미노산혈증(Hyperaminoacidemia)을 일으키고(Meloche와 Smith, 1995), 디옥시니발레놀(DON)은 구토를 일으키는 대표적인 곰팡이 독소이다(Chung 등, 1991). 제랄레논은 에스트로겐과 구조적으로 유사하여 섭취한 가축에게 번식장애를 유발한다(Smith, 1980). 또한 사료의 오염은 축산물의 품질에도 영향을 줄 수 있는데, 착유우가 아플라톡신 B₁을 섭취하면 우유 중에 아플라톡신 M₁의 형태로 분비된다(Iha 등, 2013). 따라서 사료첨가제로써 곰팡이 독소와 결합하는 곰팡이 바인더가 사용되고 연구되고 있다(Kissell 등, 2012).

세균에 의한 오염 역시 사료의 영양적 조성 변화나 부패취 발생에 따른 섭취량 저하, 병원균에 의한 감염 등으로 가축에게 영향을 미친다(Maciorowski 등, 2007; Yi 등, 2015). 또한 식물에서 식물 성장 촉진 효과를 가지는 유용 균주가 사람에게서는 기회성 감염을 일으키기도 한다(Berg 등, 2005). 이러한 균주들이 가지는 병원성의 정도를 나방 유충이나 예쁜꼬마선충(*Caenorhabditis elegans*) 등을 이용한 모델 동물로 조사하여 알 수 있다(Tedesco 등, 2015).

사료의 오염은 가축 관리 시 일상적으로 사료를 접하는 사람에게도 매우 중요하다. 하지만 이러한 사실에도 불구하고 “사료 등의 기준 및 규격(2015)”에 따르면 사료 내 세균의 규제는 살모넬라의 검출 여부만이 규제 대상인 실정이다. 따라서 사료안전에 관한 연구의 일환으로 여러 상태의 사료자원에 어떠한 미생물들이 서식하고 있는지를 파악하는 것은 매우 중요하다. 단미사료, 비지박, 맥주박, 미강 등 사료용 농업부산물, 배합사료 및 사일리지 등 사료원료 및 사료에 따라 수분함량이나 영양분 조성이 매우 다양하다. 본 연구에서는 사료보관에 따른 다양한 사료원료 및 배합사료에 서식하는 세균을 분리 및 동정하여 이들 세균들의 효소활성, 약제내성 및 병원성을 파악하여 미생물학적 변화 특성을 구명하고자 하였다.

재료 및 방법

사료 원료의 샘플링

다양한 사료 원료에 서식하는 세균을 분리 및 동정하기 위하여 여러 가지 사료 원료를 이용하였다. 단미사료에 해당하는 보리, 사료용 농업 부산물인 비지박, 맥주박, 미강과 배합사료인 양돈 사료, 양계 사료, 축우 사료와 사일리지를 실험 재료로 사용하였다. 모든 시료는 시중에 유통되는 사료원료를 각 1점씩 이용하였다. 또한 각 재료들은 신선한 상태에서 실험에 사용하지 않고 본 실험실에서 2주~6개월 정도 상온에 보관한 후 채취하여 실험에 사용하였다.

세균의 분리 및 동정

채취한 시료 1 g을 멸균 증류수 9 mL로 희석(1:9)한 후 단계 희석하여 Nutrient Agar (NA), Luria Bertani (LB), de Man, Rogosa and Sharpe (MRS), Yeast Malt (YM), Reasoner's 2A (R2A) 평판 배지에 도말하였다. 배지는 Difco사(USA)의 제품을 사용하였다. 시료를 도말한 NA, LB, MRS 배지는 37°C에서 24시간, YM 배지는 30°C에서 48시간 그리고 R2A 배지는 25°C에서 72시간 배양하였다. 각 배지에서 단일 집락을 확인한 후 동정하였다. 동정은 마크로젠(Seoul, Korea)에 의뢰하였으며 16S ribosomal DNA의 염기서열을 분석하였다. 추출한 DNA의 증폭에는 27F (5'-AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG-3'), 1492R (5'-TAC GGY TAC CTT GTT ACG ACT T-3') 프라이머를 사용하였다. 염기서열의 분석에는 분석시료에 따라 미강, 비지박, 맥주박은 785F (5'-GGA TTA GAT ACC CTG GTA-3'), 907R (5'-CCG TCA ATT CMT TTR AGT TT-3') 프라이머를 사용하였으며, 보리, 양돈 사료, 양계사료, 축우사료 및 사일리지는 27F 프라이머를 사용하였다. DNA 상동성 검색은 NCBI의 BLAST와 EzTaxon의 데이터베이스를 이용하였다.

소화효소 활성

효소활성을 측정하기 위해 agar well diffusion method (Perez 등, 1990)를 이용하였다. 전분분해효소, 섬유소분해효소, 단백질분해효소, 지방분해효소의 활성을 확인하였다. 각각의 효소활성을 확인하기 위해서 Starch (Sigma-Aldrich Co., USA), Carboxymethylcellu-

lose (Sigma-Aldrich Co., USA), Skimm milk (Difco, USA), Tributyrin (Sigma-Aldrich Co., USA)을 모두 2% 씩 넣어 배지를 만들었다(Taguchi 등, 1998; Mishra와 Behera, 2008; Treichel 등, 2009; Datta 등, 2010). 분리한 세균들의 배양액을 4°C, 3,000 rpm의 조건으로 15분간 원심분리한 후 4가지 기질이 들어있는 배지의 well에 500 µL씩 분주하였다. 37°C 배양기에서 24시간 배양한 후 투명환(Clear zone)을 확인하였다. 이때, 지름이 0.0~10.0 mm는 +, 10.1~20.0 mm는 ++, 20.1~30.0 mm는 +++, 30.1 mm 이상은 ++++로 표시하였다.

항생제 내성 검사

항생제 내성 실험을 위해 효소활성 실험과 동일하게 agar well diffusion method를 이용하였다. 항생제는 Ampicillin과 Kanamycin (Bio basic Inc., Canada), Streptomycin, Gentamicin, Carbenicillin, Erythromycin (Sigma-Aldrich Co., USA)을 사용했으며 모두 50 µg/mL의 농도로 진행하였다. 24시간 배양한 각 세균들을 최초로 분리했던 배지의 종류에 맞춰 도달한 후 배지에 well을 만들어 각각의 항생제를 분주하였다. NA, LB, MRS 배지는 37°C에서 24시간, YM 배지는 30°C에서 48시간 그리고 R2A 배지는 25°C에서 72시간 배양하였다. 그 후 투명환을 측정하여 지름이 0.0~10 mm 이하는 +, 10~20 mm 이하는 ++, 20~30 mm 이하는 +++, 30 mm 이상은 ++++로 표시하였다.

갈색거저리 유충(*Tenebrio molitor* L.)을 이용한 병원성 조사

갈색거저리 유충이 죽으면 멜라닌화로 인해 검게 되는 것을 이용하여 분리한 세균들의 병원성을 조사하였다(Noonin 등, 2010). 갈색거저리 유충은 양주시 농업기술센터에서 분양받아 사용하였다. 한 종류의 세균에 갈색거저리 유충 10마리를 사용하여 실험하였다. 90 mm 배양접시에 밀기울을 1 g씩 담고 며칠 동안 관찰할 것을 고려하여 10~12일령의 활동성이 높은 갈색거저리 유충을 골라서 넣었다. 갈색거저리 유충은 젤리형태의 사료를 잘 먹기 때문에 배지에 각 균주를 접종한 젤리형태의 한천배지도 함께 공급하였다. 1/10 농도의 NA, LB, MRS, YM, R2A 영양배지로 1% 한천배지를 만들어 약 50°C 정도로 식힌 후 배지가 굳기 전에 분리한 세균의 배양액의 양을 배지

의 10%가 되게 넣고 균혀 젤리를 만들었다. 이 젤리를 갈색거저리 유충이 들어 있는 배양접시에 넣어 주었다. 음성대조구로 무균배지들(LB, MRS, YM, R2A)을 이용하였고 양성대조구에는 LB에 병원성이 있는 *Listeria monocytogenes* SK728를 접종한 후 만든 젤리를 급여하여 이용하였다.

이 때 각 세균들은 최초 분리 시 사용한 각각의 배지에서 배양을 하여 OD₆₀₀의 값이 0.4~0.6 사이가 되었을 때 사용하였다. 이렇게 만들어진 평판접시는 30°C에서 보관하였다. 세균이 포함된 배지 젤리를 넣고 72시간 후 죽은 갈색거저리 유충의 수를 세어 기록하였다(0점). 살아있는 갈색거저리 유충은(즉 건드리지 않아도 활발하게 움직이면) 3점, 건드린 후에 움직임이 있으면 2점, 그리고 건드린 이후에도 움직임이 거의 없고 머리카락의 움직임만 조금 있을 경우에는 1점으로 점수화하였다.

결과 및 고찰

사료자원에 서식하는 세균의 분리 및 특성

사료자원인 미강, 두부비지, 맥주박, 보리, 배합사료(가금, 양돈, 착유우), 그리고 옥수수 사일리지에서 30개의 속, 62종의 세균을 분리하고 동정을 하였다(Table 1). 이중 간균은 41종, 구균은 16종이었으며 구상간균은 5종이 분리되었다. 비병원성균이 21종으로 가장 많았으며 병원성균이 18종, 그리고 병원성인 기회 감염균이 9종, 그리고 유익한 균인지 아니면 병원성 균주인지에 관해 아직 잘 알려지지 않은 세균이 14종이 분리되었다. 병원성균과 기회감염균이 거의 1/2 정도 분리된 것은 단미사료 및 배합사료 샘플들이 신선한 것을 사용한 것이 아니기 때문에 저장기간 동안 유해균의 오염 및 증식이 일어난 것으로 판단된다. 분리한 세균들 중 그람양성균과 그람음성균은 각각 65%와 35%로 나타났다.

Table 1에서와 같이 *Lactococcus lactis* SK3858, *Lactobacillus plantarum* SK3728, *Bacillus megaterium* SK3755, *Bacillus amyloiquefaciens* SK3736, *Bacillus subtilis* SK3754와 같은 유익한 균과 *Stenotrophomonas maltophilia* SK3725, *Enterococcus faecium* SK3745, *Staphylococcus saprophyticus* SK3714 등과 같이 병원성을 가지는 것으로 예상되는 균들이 주로 서식하는 것으로 나타났다. *Bacillus pumilus* SK3716, *Bacillus*

Table 1. Isolation and identification of bacteria on animal feed resources

Stock #	Homology		Isolated source	Habitat	Reference	Colony morphology			Enzyme activity ³⁾							Antibiotic resistance ⁴⁾					Pathogenicity								
	Query coverage	Identity				Identification	Color ¹⁾	Appearance ²⁾	Pro	Amy	Cel	Ap	Km	Sm	Gm	Cb	Em	Mortality (%)	Score	Pathogen ⁵⁾									
SK3888	100	100	<i>Microbacterium testaceum</i>	Rice bran	Potato leaves	Morohoshi et al., 2011	O	Rd	-	-	-	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	30	16	NP	
SK3889	100	95	<i>Kocuria aegyptia</i>	Soil	Soil	Mahyarudin et al., 2015	W	Rd	-	-	-	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	0	19	NP	
SK3890	100	100	<i>Pantoea allii</i>	Onion seed	Onion seed	Brady et al., 2011	Y	Rd, Mu	++++	-	+	++	+++	++	+++	++	+++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	20	16	P
SK3891	100	99	<i>Escherichia hermannii</i>	Infected toe	Infected toe	Yamanaka et al., 2010	Y	Rd	-	-	-	R	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	20	16	OP
SK3892	100	98	<i>Microbacterium liquefaciens</i>	Milk	Milk	Gomez-Ramirez et al., 2015	LY	Rd	-	-	+	+++	++	+++	++	+++	++	+++	++	+++	++	+++	++	+++	++	+++	10	23	Un
SK3896	100	98	<i>Leclercia adecarboxylata</i>	Drinking water	Drinking water	Shin et al., 2012	W	Rd, S	++++	-	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	10	19	OP
SK3897	100	100	<i>Curtobacterium citreum</i>	Chinese paddy	Chinese paddy	Funke et al., 2005	Y	Rd	+++	-	-	+++	++	+++	++	+++	++	+++	++	+++	++	+++	++	+++	++	+++	20	8	NP
SK3898	100	100	<i>Methylobacterium oryzae</i>	Rice	Rice	Kwak et al., 2014	R	Rd	-	-	-	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	10	27	NP	
SK3902	100	100	<i>Enterobacter hormaechei</i>	Human	Human	Wenger et al., 1997	LY	Rd, B	-	-	-	R	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	50	10	OP
SK3903	100	100	<i>Bacillus cereus</i>	Blood, Food	Blood, Food	Winding et al., 2015	W	Rd, B	-	-	-	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	30	13	P
SK3907	100	100	<i>Rhizobium larrymoorei</i>	Benjamina tree	Benjamina tree	Young, 2004	W	Rd	-	-	-	R	+	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	10	20	P
SK3909	100	100	<i>Xanthomonas sacchari</i>	Fruits	Fruits	Fang et al., 2015	Y	Rd	-	+	-	+++	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	20	18	P	
SK3910	100	100	<i>Pseudomonas psychrotolerans</i>	Small animals and ungulates	Small animals and ungulates	Hauser et al., 2004	Y	Wr	-	++	+++	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	0	20	Un
SK3856	100	98	<i>Bacillus infantis</i>	Soybean Curd Residue	Blood of newborn child	Ko et al., 2006	P	Rd	-	-	-	++++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	10	13	P
SK3857	100	100	<i>Leuconostoc citreum</i>	Kimchi	Kimchi	Choi et al., 2003	W	Rd, S	-	-	-	R	+++	++	+++	++	+++	++	+++	++	+++	++	+++	++	+++	++	30	12	NP
SK3858	100	98	<i>Lactococcus lactis</i>	Fermented food	Fermented food	Neef et al., 2014	W	Rd, S	-	-	-	++++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	20	17	NP

Table 1. Continued

Stock #	Homology		Isolated source	Habitat	Reference	Colony morphology			Enzyme activity ³⁾							Antibiotic resistance ⁴⁾					Pathogenicity						
	Query coverage	Identity				Identification	Color ¹⁾	Appearance ²⁾	Pro	Amy	Cel	Ap	Km	Sm	Gm	Cb	Em	Mortality (%)	Score	Pathogen ⁵⁾							
SK3859	100	100	<i>Leucobacter chromiirensistens</i>	Soil	Sturm et al., 2011	LY	Rd	-	-	-	R	+++	++	R	++++	++	++	++	++	++	++	++	++	30	11	NP	
SK3860	100	99	<i>Curtobacterium plantarum</i>	Soybean	Dunleavy, 1989	Y	Rd	-	-	-	+	++	++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	20	14	P	
SK3861	100	100	<i>Enterococcus gallinarum</i>	Animal intestine	Tharvomvee et al., 2016	Be	Rd, S	+	-	+	+++	+++	++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	22	P	
SK3862	100	100	<i>Bacillus altitudinis</i>	High altitudes	Elbanna et al., 2014	Be	Wr, B	++	-	++	+++	+++	++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	50	9	P	
SK3865	100	100	<i>Chryseobacterium bovis</i>	Raw milk	Hantsis-Zacharov et al., 2008	Y	Rd	-	-	-	+++	+++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	18	NP	
SK3852	100	100	<i>Lactobacillus fermentum</i>	Brewer's Grain	Bao et al., 2009	W	Rd, S	-	-	-	R	++	++	++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	12	NP	
SK3853	100	98	<i>Xanthomonas maltensis</i>	Rice leaves	Triplett et al., 2015	Y	Rd	-	-	+	++	++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	30	10	Un	
SK3854	100	98	<i>Xanthomonas cucurbitae</i>	Leaves	Lamichhane et al., 2010	Y	Rd	++	-	-	+++	+++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	20	13	P	
SK3855	100	99	<i>Acetobacter peroxydans</i>	Wetland rice	Muthuku-marasamy et al., 2005	W	Rd, S	-	-	-	R	+++	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	10	15	Un	
SK3866	100	100	<i>Pseudoaerobacter caeni</i>	Sludge	Srinivasan et al., 2012	Y	Rd, S	-	-	-	+++	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	0	15	Un	
SK3869	100	100	<i>Burkholderia vietnamiensis</i>	Soil	Gillis et al., 1995	W	Rd	-	++	-	R	++	R	++	R	++	R	++	R	++	R	++	R	0	15	OP	
SK3871	100	100	<i>Burkholderia vietnamiensis</i>	Soil	Gillis et al., 1995	W	Rd, B	-	++	-	R	++	R	++	R	++	R	++	R	++	R	++	R	10	13	OP	
SK3772	100	99	<i>Acinetobacter hwoffii</i>	Urine	Regalado et al., 2009	W	Rd	-	-	-	R	+++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	10	15	P
SK3774	100	99	<i>Erwinia tasmaniensis</i>	Flower and bark	Geider et al., 2006	W	Rd	-	-	-	R	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	0	14	NP
SK3711	100	99	<i>Bacillus methylotrophicus</i>	Soil	Madahayan et al., 2010	W	Wr, Mu	+++	-	++	++	++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	20	20	NP	
SK3712	100	99	<i>Bacillus aquimaris</i>	Seawater	Mahendran et al., 2010	LY	Rd, B	+++	-	+	++++	+++	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	ND	ND	Un

Table 1. Continued

Stock #	Homology		Isolated source	Habitat	Reference	Colony morphology			Enzyme activity ²⁾			Antibiotic resistance ⁴⁾						Pathogenicity		
	Query coverage	Identity				Identification	Color ¹⁾	Appearance ²⁾	Pro	Amy	Cel	Ap	Km	Sm	Gm	Cb	Em	Mortality (%)	Score	Pathogen ⁵⁾
SK3713	100	100	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Moth	Lacey, 2007	W	Irregular	+++	-	-	R	+	+	+	R	+	+	10	18	NP
SK3714	100	99	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	Urine	Widerstrom et al., 2007	W	Wr, S	-	-	+++	+	+	+	+	+	+	+	ND	ND	P
SK3715	100	99	<i>Staphylococcus xylosum</i>	Human skin	Thornton et al., 2003	W	Wr, Mu	+++	-	+	+	+	+	+	+	+	+	60	8	P
SK3716	100	100	<i>Bacillus pumilus</i>	Soil, Root	Hill et al., 2009	W	Wr, Mu	+++	-	+	+	+	+	+	+	+	+	ND	ND	P
SK3146	96	97	<i>Paenibacillus soli</i>	Feed	Kim et al., 2014	W	Rd, S	+++	-	-	R	R	+	+	R	+	+	30	17	NP
SK3152	100	100	<i>Curtobacterium citreum</i>	Chinese paddy	Kim et al., 2014	Y	Rd	+	-	+++	R	+	+	R	+	+	+	20	11	Un
SK3718	100	100	<i>Enterococcus pseudoavium</i>	Bovine mastitis	Collins et al., 1989	LY	Irregular	+	-	+++	+	+	+	+	+	+	+	10	23	NP
SK3719	100	100	<i>Enterococcus devriesei</i>	Poultry slaughter plant	Svec et al., 2005	W	Rd, S	-	-	+++	R	R	+	+	R	+	+	10	19	Un
SK3721	100	100	<i>Enterococcus lactis</i>	Raw milk cheeses	Morandi et al., 2013	W	Rd, S	-	-	+	R	R	R	R	R	R	R	30	15	Un
SK3722	100	100	<i>Enterococcus durans</i>	Dried milk	Cheon and chae, 1996	W	Wr, Mu	+++	-	+	+	+	+	+	+	+	+	10	15	P
SK3723	100	100	<i>Corynebacterium flavescens</i>	Cheese	Masoud and Jakobsen, 2003	Y	Rd	-	-	+++	+	+	+	+	R	+	+	10	18	P
SK3725	100	99	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	Cancer patient	Brooke, 2012	Y	Rd	-	-	-	R	R	R	R	R	R	R	30	12	P
SK3728	100	100	<i>Lactobacillus plantarum</i>	Fermented food	Li et al., 2012	W	Rd	+++	+	+	+	+	+	+	R	R	R	30	17	NP
SK3730	100	99	<i>Staphylococcus hominis</i>	Patients	Zhang et al., 2013	W	Rd	-	-	++++	+	+	+	+	+	+	+	30	10	OP
SK3733	100	100	<i>Lactobacillus curvatus</i>	Fermented meat	Casaburi et al., 2016	W	Rd, S	+	-	+	R	+	+	+	+	+	+	30	15	NP

Table 1. Continued

Stock #	Query coverage	Homology		Isolated source	Habitat	Reference	Colony morphology		Enzyme activity ³⁾							Antibiotic resistance ⁴⁾					Pathogenicity	
		Identity	Identification				Color ¹⁾	Appearance ²⁾	Pro	Amy	Cel	Ap	Km	Sm	Gm	Cb	Em	Mortality (%)	Score	Pathogen ⁵⁾		
SK3735	100	99	<i>Staphylococcus lentus</i>	Broiler feed	Animal and human	Sillankorva et al., 2010	W	Rd	-	-	-	+++	++	++	++	++	++	R	10	17	OP	
SK3736	100	100	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>		Soil	Nihorimber et al., 2012	W	Wr	++++	-	++	+++	++	+++	++	+++	+++	+++	60	8	NP	
SK3737	100	99	<i>Staphylococcus cohnii</i>		Hospital environment	Fernandes et al., 1996	W	Rd	-	-	+	R	+++	++	+++	++	R	40	11	OP		
SK3738	100	100	<i>Bacillus safensis</i>		Space craft	Satomi et al., 2006	W	Wr	+++	-	++	+++	++	++	++	++	++	++	20	14	NP	
SK3740	100	100	<i>Brevibacterium epidermidis</i>		Human skin	McCaughy and Damani, 1991	O	Rd	-	-	-	R	R	R	++	++	++	10	14	Un		
SK3745	100	100	<i>Enterococcus faecium</i>		Urinary tract	Top et al., 2008	W	Rd, S	-	-	+	++	++	++	++	++	R	0	14	OP		
SK3746	99	100	<i>Pediococcus lolii</i>		Fermented food	Doi et al., 2009	W	Wr, Mu	+++	-	++	R	R	R	++	++	+++	10	15	Un		
SK3806	100	100	<i>Acinetobacter oleivorans</i>	Milking cow feed	Soil	Kang et al., 2011	Y	Rd, S	-	-	+	R	+++	R	R	R	R	20	21	Un		
SK3807	100	99	<i>Pantoea agglomerans</i>		Knee laceration patient	Dutkiewicz et al., 2016	W	Rd	++	-	+	+	++	++	++	++	R	20	18	P		
SK3809	100	99	<i>Pediococcus acidilactici</i>		Fermented food	Turgis et al., 2016	W	Rd	-	-	-	R	++	++	++	R	+++	10	19	OP		
SK3810	100	99	<i>Pediococcus lolii</i>		Fermented food	Doi et al., 2009	W	Rd, S	-	-	+	R	R	R	R	R	+++	10	19	Un		
SK3753	100	100	<i>Sreptomyces albidoflavus</i>	Corn Silage	Culture of fungi	Rong et al., 2009	W	Rd	+++	-	++	R	++	++	++	R	+++	10	16	NP		
SK3754	100	100	<i>Bacillus subtilis</i>		Culture of fungi	Morikawa, 2006	W	Wr, B	+++	-	++	++	++	++	++	++	+++	0	13	NP		
SK3755	100	100	<i>Bacillus megaterium</i>		Rice	Pandian et al., 2010	W	Wr, Mu	+++	-	++	+++	++	++	++	++	+++	20	19	NP		
SK3756	99	100	<i>Bacillus endophyticus</i>		Cotton plants	Reva et al., 2002	W	Rd, S	-	-	-	++	R	R	R	++	+++	20	15	Un		

Table 1. Continued

Stock #	Homology		Isolated source	Habitat	Reference	Colony morphology			Enzyme activity ³⁾						Antibiotic resistance ⁴⁾						Pathogenicity				
	Query coverage	Identity				Identification	Color ¹⁾	Appearance ²⁾	Pro	Amy	Cel	Ap	Km	Sm	Gm	Cb	Em	Mortality (%)	Score	Pathogen ⁵⁾					
SK3757	100	100	<i>Bacillus aryabhatai</i>	Altitude	Shivaji et al., 2009	Y	Wr, B	++	-	+	+	+	+	+	+	++	++	++	++	++	++	++	50	10	Un
SK3758	99	99	<i>Bacillus cereus</i>	Blood, Food	Winding et al., 2015	W	Rd	-	-	-	R	+	+	R	+	+	+	+	+	+	+	10	14	P	
SK3760	100	99	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	Soil	Patterson et al., 1991	W	Irregular	++	-	+	+	+	+	+	R	+	+	+	+	+	+	10	12	OP	
SK3761	99	99	<i>Acinetobacter oleivorans</i>	Soil	Kang et al., 2011	W	Irregular	++	-	+	+	+	+	+	R	+	+	+	+	+	+	30	11	Un	

¹⁾O: orange, W: white, Y: yellow, LY: light yellow, R: red, P: pink, Be: beige.
²⁾Rd: round, Mu: mucoid, S: small, B: big, Wr: wrinkle, Irregular: irregular.
³⁾Pro: protease, Amy: amylase, Cel: cellulase, Lip: lipase.
⁴⁾Ap: ampicillin, Km: kanamycin, Sm: streptomycin, Gm: gentamicin, Cb: carbenicillin, Em: erythromycin, R: resistant. Clear zone (Diameter) for sensitivity: +, 0.0~10.0 mm; ++, >10.0~20.0 mm; +++, >20.0~30.0 mm; ++++, >30.0 mm; ND: not determined.
⁵⁾NP: nonpathogen, P: pathogen, OP: opportunistic pathogen, Un: unknown bacteria.

cerus SK3758, SK3903 등처럼 유익한 균이지만 특정 환경에서는 독소를 생성하는 병원성을 가지는 것으로 보고된 균주도 있었다(From 등, 2007). *Bacillus* 속이 13종으로 가장 다양하였다.

분리한 세균의 효소활성

Table 1에서와 같이 *Pantoea allii* SK3890 외 24종의 세균에서는 단백질분해 활성이 확인되었다. 전분분해 효소는 *Pseudomonas psychrotolerans* SK3910 외 5종, 섬유소분해효소는 *Burkholderia vietnamiensis* SK3869 외 28종에서 분비되는 것으로 나타났다. 그러나 지방 분해효소의 활성을 보이는 세균은 없었다.

특히 *Pantoea allii* SK3890, *Leclercia adecarboxylata* SK3896, *Pseudomonas psychrotolerans* SK3910, *Bacillus altitudinis* SK3862, *Bacillus methylotrophicus* SK3711, *Bacillus aquimaris* SK3712, *Staphylococcus xylosus* SK3715, *Bacillus pumilus* SK3716, *Enterococcus durans* SK3722, *Lactobacillus plantarum* SK3728, *Lactobacillus curvatus* SK3733, *Bacillus amyloliquefaciens* SK3736, *Bacillus safensis* SK3738, *Pediococcus lolii* SK3746, *Streptomyces albidoflavus* SK3753, *Bacillus subtilis* SK3754, *Bacillus megaterium* SK3755, *Acinetobacter calcoaceticus* SK3760, *Acinetobacter oleivorans* SK3761 균주가 2개 이상의 소화효소 활성이 높은 균주로 확인되었다. 특히 보리와 사일리지에서 분리·동정한 대부분 세균들은 다른 사료자원에서 분리된 것들보다도 효소 활성이 높은 특징을 보였다.

항생제 내성 검사

항생제 내성 실험에서 *Microbacterium testaceum* SK3888, *Kocuria aegyptia* SK3889, *Methylbacterium oryzae* SK3898, *Stenotrophomonas maltophilia* SK3725의 4종류의 세균은 Ampicillin, Kanamycin, Streptomycin, Gentamicin, Carbenicillin, Erythromycin의 6가지 항생제에 대해 모두 내성을 가지고 있음을 알 수 있었다. 특이한 것은 이들 세균들은 단백질분해효소, 전분분해효소, 섬유소분해효소를 분비하지 않았다.

모든 항생제에 대해서 항생제 감수성을 타나낸 균주는 *Microbacterium liquefaciens* SK3892, *Bacillus infantis* SK3856, *Bacillus altitudinis* SK3862, *Bacillus methylotrophicus* SK3711, *Bacillus aquimaris* SK3712, *Bacillus thuringiensis* SK3713, *Staphylococcus xylosus*

SK3715, *Bacillus pumilus* SK3716, *Enterococcus pseudoavium* SK3718, *Enterococcus durans* SK3722, *Staphylococcus hominis* SK3730, *Bacillus amyloliquefaciens* SK3736, *Bacillus safensis* SK3738, *Bacillus subtilis* SK3754, *Bacillus megaterium* SK3755, *Bacillus aryabhatai* SK3757으로 총 16종이었다. 항생제별로 가장 많은 균주가 내성을 나타낸 것은 Kanamycin과 Gentamicin이었다. 비지, 보리 및 옥수수 사일리지에서 분리·동정한 균주들은 대부분 높은 항생제 감수성을 보였으나 다른 사료자원에서는 항생제 내성이 강한 세균들이 서식하고 있었다.

갈색거저리 유충(*Tenebrio molitor* L.)을 이용한 병원성 실험

사료자원에서 분리한 세균들의 병원성을 조사하기 위하여 곤충인 갈색거저리 유충을 이용하여 분리한 세균들을 급여하여 병원성이 어느 정도 있는지 관찰하였다(Fig. 1). 양성 대조구로는 병원성균인 *Listeria monocytogenes* SK728을 배지에 넣어 급여하였다. 아무런 세균을 넣지 않은 경우에도 시간이 경과하면서 자연 사멸하게 되는 치사율이 평균 약 10%였으며 병원성 점수는 평균 27점이었다. 즉 병원성균의 감염이 아닌 자연적으로 갈색거저리 유충이 사멸하는 확률이 약 10%가 될 수 있음을 시사하였다. 그러나 병원성균인 *Listeria monocytogenes* SK728을 첨가한 경우에는 치사율이 60%로 가장 높았으며 병원성 점수는 4점으로 가장 낮은 수치를 나타내었다.

대조구인 *Listeria monocytogenes* SK728의 60%의 치사율과 같은 수치를 기록한 균주는 *Staphylococcus xylosus* SK3715와 *Bacillus amyloliquefaciens* SK3736이었으며 이보다 조금 낮은 치사율인 50%를 기록한 세균은 *Enterobacter hormaechei* SK3902, *Bacillus altitudinis* SK3862 및 *Bacillus aryabhatai* SK3757이었다. 이들 균주는 병원성 점수가 10점 이하를 기록했다.

Curtobacterium citreum SK3897, *Xanthomonas maliensis* SK3853 그리고 *Staphylococcus hominis* SK3730은 치사율이 각각 20%, 30%, 30%로 높은 치사율은 아니었으나 병원성 점수는 10점 이하로 매우 낮은 점수를 기록하였다.

높은 치사율과 낮은 병원성 점수를 기록한 세균들 중 사람에게 감염을 일으키는 세균은 *Enterobacter hormaechei* SK3902와 *Staphylococcus xylosus* SK3715, *Staphylococcus hominis* SK3730으로 나타났다. 특히, *Enterobacter hormaechei* SK3902는 사람에게는 감염증을 일으키지만(Wenger 등, 1997), 토마토와 같은 식물에 있어서는 반대로 성장을 촉진시키는 기능이 있는 것으로 나타났다(Egamberdieva 등, 2014; Vaikuntapu 등, 2014). *Bacillus altitudinis* SK3862는 식물의 성장을 촉진시키며 다른 병원성균의 감염을 저해하는 것으로 알려져 왔으나(Sunar 등, 2013; Lu 등, 2017), 사과와 배에서 무름병(Bacterial soft rot)을 일으킨다는 보고도 있다(Elbanna 등, 2014). *Curtobacterium citreum* SK3897, *Bacillus amyloliquefaciens* SK3736, *Bacillus aryabhatai* SK3757는 식물의 성장을 촉진시키거나 (Idriss 등, 2002), 살충제를 분해하는 등의 보고는 있으나(Pailan 등, 2015) 병원성에 대한 보고는 없다.

결 론

본 연구에서는 미강, 두부비지, 맥주박, 보리, 배합 사료(가금, 양돈, 착유우), 그리고 옥수수 사일리지에서 서식하고 있는 세균들을 동정하여 유해균과 유익균의 분포를 조사하였다. 대부분의 사료는 제조 후 유통 시간이 오래된 제품들에서 조사하였으며 이들 사료원료와 배합사료에는 다양한 세균들을 확인할 수 있었다. 이들 세균들은 대부분 일차적으로는 수확 시 토양에서 작물로 전이된 균들로 추정되며, 일부는 사료제조 후에도 포자형성 균은 생존하여 다시 영양

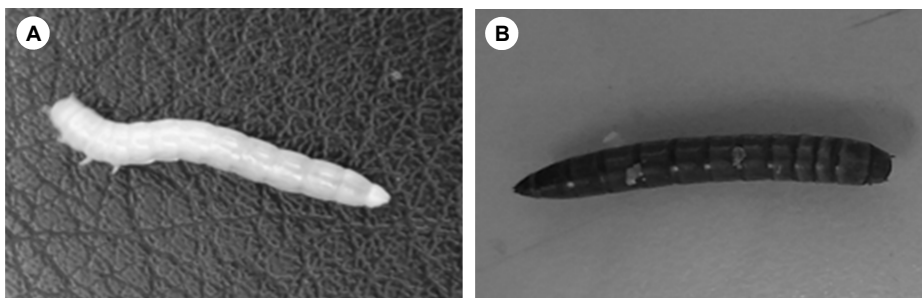


Fig. 1. Healthy and dead mealworms (*Tenebrio molitor* L.). Melanized mealworm larvae showing black color after death. (A) Healthy mealworm. (B) Dead mealworm.

세포로 자라는 것으로 추정된다. 또한 사료원료 및 배합사료는 시간이 지남에 따라 공기 중의 세균들과 접촉하여 혼입된다. 따라서 사료는 오염되지 않도록 보관하면서 신선한 것을 가축에게 급여하는 것이 위생적 관점에서 바람직하다. 배합사료의 제조 직후나 농업부산물의 발생 시부터 유통 및 저장기간 동안 미생물의 발생에 대한 연구를 통하여 사료를 안전하게 관리하기 위한 기초 자료가 보다 필요할 것으로 사료된다.

감사의 글

본 논문은 농촌진흥청 연구사업(세부과제번호: PJ010906)의 지원에 의해 연구되었음.

REFERENCES

- Bao Y, Zhang Y, Zhang Y, Liu Y, Wang S, Dong X, Wang Y, Zhang H. 2010. Screening of potential probiotic properties of *Lactobacillus fermentum* isolated from traditional dairy products. *Food Control* 21: 695-701.
- Berg G, Eberl L, Hartmann A. 2005. The rhizosphere as a reservoir for opportunistic human pathogenic bacteria. *Environ Microbiol* 7: 1673-1685.
- Blount WP. 1961. Turkey "X" disease. *J Brit Turkey Fed* 9: 52-77.
- Brady CL, Goszczynska T, Venter SN, Cleenwerck I, De Vos P, Gitaitis RD, Coutinho TA. 2011. *Pantoea allii* sp. nov., isolated from onion plants and seed. *Int J Syst Evol Microbiol* 61: 932-937.
- Brooke JS. 2012. *Stenotrophomonas maltophilia*: an emerging global opportunistic pathogen. *Clin Microbiol Rev* 25: 2-41.
- Casaburi A, Di Martino V, Ferranti P, Picariello L, Villani F. 2016. Technological properties and bacteriocins production by *Lactobacillus curvatus* 54M16 and its use as starter culture for fermented sausage manufacture. *Food Control* 59: 31-45.
- Chawanthayatham S, Thiantanawat A, Egner PA, Groopman JD, Wogan GN, Croy RG, Essigmann JM. 2015. Prenatal exposure of mice to the human liver carcinogen aflatoxin B₁ reveals a critical window of susceptibility to genetic change. *Int J Cancer* 136: 1254-1262.
- Cheon DS, Chae C. 1996. Outbreak of diarrhea associated with *Enterococcus durans* in piglets. *J Vet Diagn Invest* 8: 123-124.
- Choi IK, Jung SH, Kim BJ, Park SY, Kim J, Han HU. 2003. Novel *Leuconostoc citreum* starter culture system for the fermentation of kimchi, a fermented cabbage product. *Antonie van Leeuwenhoek*, 84: 247-253.
- Chung TK, Gelberg HB, Dorer JL, Baker DH. 1991. Safety of L-tryptophan for pig. *J Anim Sci* 69: 2955-2960.
- Collins MD, Facklam RR, Farrow JA, Williamson R. 1989. *Enterococcus raffinosus* sp. nov., *Enterococcus solitarius* sp. nov. and *Enterococcus pseudoavium* sp. nov. *FEMS microbiol lett* 57: 283-288.
- Datta S, Holmes B, Park JI, Chen Z, Dibble DC, Hadi M, Blanch HW, Simmons BA, Sapra R. 2010. Ionic liquid tolerant hyperthermophilic cellulases for biomass pretreatment and hydrolysis. *Green Chem* 12: 338-345.
- Doi K, Nishizaki Y, Fujino Y, Ohshima T, Ohmomo S, Ogata S. 2009. *Pediococcus lolii* sp. nov., isolated from ryegrass silage. *Int J Syst Evol Microbiol* 59: 1007-1010.
- Dunleavy JM. 1989. *Curtobacterium plantarum* sp. nov. is ubiquitous in plant leaves and is seed transmitted in soybean and corn. *Int J Syst Bacteriol* 39: 240-249.
- Dutkiewicz J, Mackiewicz B, Lemieszek MK, Golec M, Milanowski J. 2016. *Pantoea agglomerans*: a mysterious bacterium of evil and good. Part III. Deleterious effects: infections of humans, animals and plants. *Ann Agric Environ Med* 23: 197-205.
- Egamberdieva D, Botir H, Abeer H, Abd-Allah EF. 2014. Characterization of salt tolerant *Enterobacter hormaechei* strain associated with tomato root grown in arid saline soil. *J Pure Appl Microbiol* 8: 4231-4239.
- Elbanna K, Elnaggar S, Bakeer A. 2014. Characterization of *Bacillus altitudinis* as a new causative agent of bacterial soft rot. *J Phytopathol* 162: 712-722.
- Fang Y, Lin H, Wu L, Ren D, Ye W, Dong G, Zhu L, Guo L. 2015. Genome sequence of *Xanthomonas sacchari* R1, a biocontrol bacterium isolated from the rice seed. *Genome Announcement* 206: 77-78.
- Fernandes AP, Perl TM, Herwaldt LA. 1996. *Staphylococcus cohnii*: a case report on an unusual pathogen. *Clin Perform Qual Health Care* 4: 107-109.
- Fink-Gremmels J. 2008. The role of mycotoxins in the health and performance of dairy cows. *The Veterinary Journal* 176: 84-92.
- From C, Hormazabal V, Granum PE. 2007. Food poisoning associated with pumilacidin-producing *Bacillus pumilus* in rice. *Int J food microbiol* 115: 319-324.
- Funke G, Aravena-Roman M, Frodl R. 2005. First description of *Curtobacterium* spp. isolated from human clinical specimens. *J Clin Microbiol* 43: 1032-1036.
- Geider K, Auling G, Du Z, Jakovljevic V, Jock S, Völsch B. 2006. *Erwinia tasmaniensis* sp. nov., a non-phytopathogenic bacterium from apple and pear trees. *Int J Syst Evol Microbiol* 56: 2937-2943.
- Gillis M, Van Van T, Bardin R, Goor M, Hebbar P, Willems A, Segers P, Kersters K, Heulin T, Fernandez MP. 1995. Polyphasic taxonomy in the genus *Burkholderia* leading to an emended description of the genus and proposition of *Burkholderia vietnamiensis* sp. nov. for N₂-fixing iso-

- lates from rice in Vietnam. *Int J Syst Evol Microbiol* 45: 274-289.
- Gomez-Ramirez M, Montero-Alvarez LA, Tobon-Aviles A, Fierros-Romero G, Rojas-Avelizapa NG. 2015. *Microbacterium oxydans* and *Microbacterium liquefaciens*: a biological alternative for the treatment of Ni-V-containing wastes. *J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng* 50: 602-610.
- Hanif NQ, Muhammad G. 2015. Immunotoxicity of ochratoxin A and role of *Trichosporon mycotoxinivorans* on the humoral response to infectious viral disease vaccines in broilers. *Pakistan J Zool* 47: 1683-1689.
- Hantsis-Zacharov E, Senderovich Y, Halpern M. 2008. *Chryseobacterium bovis* sp. nov., isolated from raw cow's milk. *Int J Syst Evol Microbiol* 58: 1024-1028.
- Hauser E, Kampf P, Busse HJ. 2004. *Pseudomonas psychrotolerans* sp. nov. *Int J Syst Evol Microbiol* 54: 1633-1637.
- Hill JE, Baiano JC, Barnes AC. 2009. Isolation of a novel strain of *Bacillus pumilus* from penaeid shrimp that is inhibitory against marine pathogens. *J Fish Dis* 32: 1007-1016.
- Idriss EE, Makarewicz O, Farouk A, Rosner K, Greiner R, Bochow H, Tichter T, Borriss R. 2002. Extracellular phytase activity of *Bacillus amyloliquefaciens* FZB45 contributes to its plant-growth-promoting effect. *Microbiology* 148: 2097-2109.
- Iha MH, Barbosa CB, Okada IA, Trucksess MW. 2013. Aflatoxin M₁ in milk and distribution and stability of aflatoxin M₁ during production and storage of yoghurt and cheese. *Food Control* 29: 1-6.
- Kang YS, Jung J, Jeon CO, Park W. 2011. *Acinetobacter oleivorans* sp. nov. is capable of adhering to and growing on diesel-oil. *J Microbiol* 49: 29-34.
- Kim GH, Yi KJ, Lee AR, Jang IH, Song IG, Kim DW, Kim SK. 2014. Viability of probiotics in feed under high temperature conditions and their growth inhibitory effect on contaminant Microbes. *Korean J Microbiol* 50: 345-350.
- Kissell L, Davidson S, Hopkins BA, Smith GW, Whitlow LW. 2012. Effect of experimental feed additives on aflatoxin in milk of dairy cows fed aflatoxin-contaminated diets. *J Anim Physiol Anim Nutr* 97: 694-700.
- Ko KS, Oh WS, Lee MY, Lee JH, Lee H, Peck KR, Lee NY, Song JH. 2006. *Bacillus infactis* sp. nov. and *Bacillus idriensis* sp. nov., isolated from a patient with neonatal sepsis. *Int J of Sys Evol Microbiol* 56: 2541-2544.
- Kwak MJ, Jeong H, Madhaiyan M, Lee Y, Sa TM, Oh TK, Kim JF. 2014. Genome information of *Methylobacterium oryzae*, a plant-probiotic methylotroph in the phyllosphere. *PLoS ONE* 9: e106704.
- Lacey LA. 2007. *Bacillus thuringiensis* serovariety israelensis and *Bacillus sphaericus* for mosquito control. *J Am Mosq Control Assoc* 23: 133-163.
- Lamichhane JR, Varvaro L, Balestra GM. 2010. Bacterial leaf spot caused by *Xanthomonas cucurbitae* reported on pumpkin in Nepal. *New Disease Reports* 22: 20.
- Li S, Zhao Y, Zhang L, Zhang X, Huang L, Li D, Niu C, Yang Z, Wang Q. 2012. Antioxidant activity of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from traditional Chinese fermented foods. *Food Chem* 135: 1914-1919.
- Lu X, Zhou D, Chen X, Zhang J, Huang H, Wei L. 2017. Isolation and characterization of *Bacillus altitudinis* JSCX-1 as a new potential biocontrol agent against *Phytophthora sojae* in soybean [*Glycine max* (L.) Merr.]. *Plant Soil* 1-14.
- Maciorowski KG, Herrera P, Jones FT, Pillai SD, Ricke SC. 2007. Effects on poultry and livestock of feed contamination with bacteria and fungi. *Anim Feed Sci Technol* 133: 109-136.
- Madhaiyan M, Poonguzhali S, Kwon SW, Sa TM. 2010. *Bacillus methylophilicus* sp. nov., a methanol-utilizing, plant-growth-promoting bacterium isolated from rice rhizosphere soil. *Int J Syst Evol Microbiol* 60: 2490-2495.
- Mahendran S, Sankaralingam S, Shankar T, Vijayabaskar P. 2010. Alkalophilic protease enzyme production from estuarine *Bacillus aquimaris*. *World J Fish and Marine Sci* 2: 436-443.
- Mahyarudin, Rusmana I, Lestari Y. 2015. Metagenomic of actinomycetes based on 16S rRNA and *nifH* gene in soil and roots of four Indonesian rice cultivars using PCR-DGGE. *HAYATI Journal of Biosciences* 22: 113-121.
- Masoud W, Jakobsen M. 2003. Surface ripened cheeses: the effects of *Debaryomyces hansenii*, NaCl and pH on the intensity of pigmentation produced by *Brevibacterium linens* and *Corynebacterium flavescens*. *Int Dairy J* 13: 231-237.
- McCaughey C, Damani NN. 1991. Central venous line infection caused by *Brevibacterium epidermidis*. *J Infect* 23: 211-212.
- Meloche JL, Smith TK. 1995. Altered tissue amino acid metabolism in acute T-2 toxicosis. *Proc Soc Exp Biol Med* 210: 260-265.
- Mishra S, Behera N. 2008. Amylase activity of a starch degrading bacteria isolated from soil receiving kitchen wastes. *Afr J Biotechnol* 7: 3326-3331.
- Moctezuma-Zarate MG, Carvajal-Moreno M, Espinosa-Aguirre JJ, Gonsabatt-Bonaparte ME, Rojo-Callejas F, Castillo-Urueta P, Perez-Lopez I, Ruiz-Velasco S. 2015. Role of pH in the mutagenicity of aflatoxin B1 in maize tortillas during in vitro human digestion model. *J Food Nutr Disor* 4: 1-10.
- Morandi S, Silvetti T, Brasca M. 2013. Biotechnological and safety characterization of *Enterococcus lactis*, a recently described species of dairy origin. *Antonie Van Leeuwenhoek* 103: 239-249.
- Morikawa M. 2006. Beneficial biofilm formation by industrial bacteria *Bacillus subtilis* and related species. *J Biosci Bioeng* 101: 1-8.
- Mrohoshi T, Wang WZ, Someya N, Ikeda T. 2011. Genome sequence of *Microbacterium testaceum* StLB037, an N-acetylhomoserine lactone-degrading bacterium isolated

- from potato leaves. *J Bacteriol* 193: 2072-2073.
- Muthukumarasamy R, Cleenwerck I, Revathi G, Vadivelu M, Janssens D, Hoste B, Gum KU, Park KD, Son CY, Sa T, Caballero-Mellado J. 2005. Natural association of *Gluconacetobacter diazotrophicus* and diazotrophic *Acetobacter peroxydans* with wetland rice. *Syst Appl Microbiol* 28: 277-286.
- Neef J, Koedijk DG, Bosma T, van Dijk JM, Buist G. 2014. Efficient production of secreted staphylococcal antigens in a non-lysing and proteolytically reduced *Lactococcus lactis* strain. *Appl Microbiol Biotechnol* 98: 10131-10141.
- Nihorimbere V, Cawoy H, Seyer A, Brunelle A, Thonart P, Ongena M. 2012. Impact of rhizosphere factors on cyclic lipopeptide signature from the plant beneficial strain *Bacillus amyloliquefaciens* S499. *FEMS Microbiol Ecol* 79: 176-191.
- Noonin C, Jiravanichpaisal P, Soderhall I, Merino S, Tomas JM, Soderhall K. 2010. Melanization and pathogenicity in the insect, *Tenebrio molitor*, and the crustacean, *Pacifastacus leniusculus*, by *Aeromonas hydrophila* AH-3. *PLoS ONE* 5: e15728.
- Pailan S, Gupta D, Apte S, Krishnamurthi S, Saha P. 2015. Degradation of organophosphate insecticide by a novel *Bacillus aryabhatai* strain SanPS1, isolated from soil of agricultural field in Burdwan, West Bengal, India. *Int Biodeterior Biodegrad* 103: 191-195.
- Pandian SR, Deepak V, Kalishwaralal K, Rameshkumar N, Jeyaraj M, Gurunathan S. 2010. Optimization and fed-batch production of PHB utilizing dairy waste and sea water as nutrient sources by *Bacillus megaterium* SRKP-3. *Bioresour Technol* 101: 705-711.
- Patterson JE, Vecchio J, Pantelick EL, Farrel P, Mazon D, Zervos MJ, Hierholzer WJ Jr. 1991. Association of contaminated gloves with transmission of *Acinetobacter calcoaceticus* var. anitratus in an intensive care unit. *Am J Med* 91: 479-483.
- Perez C, Pauli M, Bazerque P. 1990. An antibiotic assay by the agar well diffusion method. *Acta Biol Med Exp* 15: 113-115.
- Regalado NG, Martin G, Antony SJ. 2009. *Acinetobacter lwoffii*: bacteremia associated with acute gastroenteritis. *Travel Med Infect Dis* 7: 316-317.
- Reva ON, Smimov VV, Pettersson B, Priest FG. 2002. *Bacillus endophyticus* sp. nov., isolated from the inner tissues of cotton plants (*Gossypium* sp.). *Int J Syst Evol Microbiol* 52: 101-107.
- Rong X, Guo Y, Huang Y. 2009. Proposal to reclassify the *Streptomyces albidoflavus* clade on the basis of multi-locus sequence analysis and DNA-DNA hybridization, and taxonomic elucidation of *Streptomyces griseus* subsp. solvifaciens. *Syst Appl Microbiol* 32: 314-322.
- Satomi M, La Duc MT, Venkateswaran K. 2006. *Bacillus safensis* sp. nov., isolated from spacecraft and assembly-facility surfaces. *Int J Syst Evol Microbiol* 56: 1735-1740.
- Shin GW, You MJ, Lee HS, Lee CS. 2012. Catheter-related bacteremia caused by multidrug-resistant *Leclercia adecarboxylata* in a patient with breast cancer. *J Clin Microbiol* 50: 3129-3132.
- Shivaji S, Chaturvedi P, Begum Z, Pindi PK, Manorama R, Padmanaban DA, Shouche YS, Pawar S, Vaishampayan P, Dutt CB, Datta GN, Manchanda RK, Rao UR, Bhargava PM, Narlikar JV. 2009. *Janibacter hoylei* sp. nov., *Bacillus isronensis* sp. nov. and *Bacillus aryabhatai* sp. nov., isolated from cryotubes used for collecting air from the upper atmosphere. *Int J Syst Evol Microbiol* 59: 2977-2986.
- Sillankorva S, Neubauer P, Azeredo J. 2010. Phage control of dual species biofilms of *Pseudomonas fluorescens* and *Staphylococcus lentus*. *Biofouling* 26: 567-575.
- Smith TK. 1980. Influence of dietary fiber, protein and zeolite on zearalenone toxicosis in rats and swine. *J Anim Sci* 50: 278-285.
- Sturm G, Jacobs J, Sproer C, Schumann P, Gescher J. 2011. *Leucobacter chromiuresistens* sp. nov., a chromate-resistant strain. *Int J Syst Evol Microbiol* 61: 956-960.
- Srinivasan S, Kim HS, Kim MK, Lee M. 2012. *Pseudoclavibacter caeni* sp. nov., isolated from sludge of a sewage disposal plant. *Int J Syst Evol Microbiol* 62: 786-790.
- Sunar K, Dey P, Chakraborty U, Chakraborty B. 2013. Biocontrol efficacy and plant growth promoting activity of *Bacillus altitudinis* isolated from Darjeeling hills, India. *J Basic Microbiol* 55: 91-104.
- Svec P, Vancanneyt M, Koort J, Naser SM, Hoste B, Vihavainen E, Vandamme P, Swings J, Bjorkroth J. 2005. *Enterococcus devriesei* sp. nov., associated with animal sources. *Int J Syst Evol Microbiol* 55: 2479-2484.
- Taguchi S, Ozaki A, Momose H. 1998. Engineering of a Cold-Adapted protease by sequential random mutagenesis and a screening system. *Appl Environ Microbiol* 64: 492-495.
- Tedesco P, Visone M, Parrilli E, Tutino ML, Perrin E, Maida I, Fani R, Ballestriero F, Santos R, Pinilla C, Schiavi ED, Tegos G, De Pascale D. 2015. Investigating the role of the host multidrug resistance associated protein transporter family in *Bukholderia cepacia* complex pathogenicity using a *Caenorhabditis elegans* infection model. *PLoS ONE* 10: e0142883.
- Tharvornvee W, Pruksakorn C, Lekcharoensuk P. 2016. Inducible vancomycin resistance is common in porcine *Enterococcus gallinarum* and *E. casseliflavus* isolates. *Thai J Vet Med* 46: 627-635.
- Thornton VB, Davis JA, St Clair MB, Cole MN. 2003. Inoculation of *Staphylococcus xylosus* in SJL/J mice to determine pathogenicity. *Contemp Top Lab Anim Sci* 42: 49-52.
- Top J, Willems R, Bonten M. 2008. Emergence of CC17 *Enterococcus faecium*: from commensal to hospital-adapted pathogen. *FEMS Immunol Med Microbiol* 52: 297-308.

- Treichel H, De Oliveira D, Mazutti MA, Luccio MD, Oliveira JV. 2009. A review on Microbial lipases production. Food Bioprocess Technol 3: 182-196.
- Triplet LR, Verdier V, Campillo T, Malderghem CV, Cleenwerch I, Maes M, Deblais L, Corral R, Koita O, Cottyn B, Leach JE. 2015. Characterization of a novel clade of *Xanthomonas* isolated from rice leaves in Mali and proposal of *Xanthomonas maliensis* sp. nov. Antonie van Leeuwenhoek 107: 869-881.
- Turgis M, Vu KD, Millette M, Dupont C, Lacroix M. 2016. Influence of Environmental Factors on Bacteriocin Production by Human Isolates of *Lactococcus lactis* MM19 and *Pediococcus acidilactici* MM33. Probiotics Antimicrob Proteins 8: 53-59.
- Vaikuntapu PR, Dutta S, Samudrala RB, Rao VRVN, Kalam S, Podile AR. 2014. Preferential promotion of *Lycopersicon esculentum* (Tomato) growth by plant growth promoting bacteria associated with tomato. Indian J Microbiol 54: 403-412.
- Wenger PN, Tokars JI, Brennan P, Samel C, Bland L, Miller M, Carson L, Arduino M, Edelstein P, Aguero S, Riddle C, O'Hara C, Jarvis W. 1997. An outbreak of *Enterobacter hormaechei* infection and colonization in an intensive care nursery. Clin Infect Dis 24: 1243-1244.
- Widerström M, Wiström J, Ferry S, Karlsson C, Monsen T. 2007. Molecular epidemiology of *Staphylococcus saprophyticus* isolated from women with uncomplicated community-acquired urinary tract infection. J Clin Microbiol 45: 1561-1564.
- Winding A, Santos S, Hendriksen NB, Jakobsen HH. 2015. Fate of pathogenic *Bacillus cereus* spores after ingestion by protist grazers. Bacterial Genetics and Ecology
- Yamanaka T, Sumita-Sasazaki Y, Sugimori C, Matsumoto-Mashimo C, Yamane K, Mizukawa K, Yoshida M, Hayashi H, Nambu T, Leung KP, Fukushima H. 2010. Biofilm-like structures and pathogenicity of *Escherichia hermannii* YS-11, a clinical isolate from a persistent apical periodontitis lesion. FEMS Immunol Med Microbiol 59: 456-465.
- Yi K, Yeon JS, Kim J, Kim SC, Moon HI, Jeon CO, Lee SS, Kim DW, Kim SK. 2015. Microbiological and chemical changes of complete feed during spoilage. J Life Sci 25: 1148-1155.
- Young JM. 2004. Renaming of *Agrobacterium larrymoorei* Bouzar and Jones 2001 as *Rhizobium larrymoorei* (Bouzar and Jones 2001) comb. nov. Int J Syst Evol Microbiol 54: 149.
- Zhang L, Thomas JC, Miragaia M, Bouchami O, Chaves F, d'Azevedo PA, Aanensen DM, de Lencastre H, Gray BM, Robinson DA. 2013. Multilocus sequence typing and further genetic characterization of the enigmatic pathogen, *Staphylococcus hominis*. PLoS ONE 8: e66496.