

Pyrosequencing을 이용한 전통된장 제조과정 중 세균군집구조의 분석

김용상¹ · 정도연² · 황영태³ · 엄태봉^{1*}

¹전북대학교 자연과학대학 생명과학과, ²(재)순창발효미생물관리센터, ³우리촌

Bacterial Community Profiling during the Manufacturing Process of Traditional Soybean Paste by Pyrosequencing Method

Yong Sang Kim¹, Do Yeon Jeong², Young Tae Hwang³, and Tai-Boong Uhm^{1*}

¹Department of Biological Sciences, Chonbuk National University, Jeonju 561-756, Republic of Korea

²Sunchang Research Center for Fermentation Microbes (SRCM), Sunchang 595-804, Republic of Korea

³Woorichon, Imsil 566-861, Republic of Korea

(Received August 26, 2011 / Accepted September 28, 2011)

In order to evaluate the diversity and change of bacterial population during the manufacturing process of traditional soybean paste (doenjang), bacterial communities were analyzed using 16S rRNA gene-based pyrosequencing. In rice straw, the most important inoculum source for fermentation, the bacterial sequences with a relative abundance greater than 1% were assigned to four phyla, *Proteobacteria* (71%), *Actinobacteria* (20.6%), *Bacteroidetes* (4.2%), and *Firmicutes* (1.3%). Unlike bacterial community composition of rice straw, a different pattern of bacterial population in meju was observed with predominantly high abundance (99.1%) of *Firmicutes*. Phylum composition in young doenjang was almost same as that of meju. Major genera in young doenjang were *Bacillus* (81.3%), *Clostridium* (6.9%) and *Enterococcus* (6.3%) and the predominant species among bacterial population was *B. amyloliquefaciens* (63.6%). Abundance of the phylum *Firmicutes* in mature doenjang was 99.98%, which was even higher value than those in meju and young doenjang. Predominant species in mature doenjang were *B. amyloliquefaciens* (67.3%), *B. atrophaeus* (12.7%), *B. methylophilus* (6.5%), *B. mojavensis* (3.2%), and *B. subtilis* (2.5%), which were also identified as major species of the microbial flora in meju. These results suggested that rice straw was a primary source for supplement of *Bacillus* species in manufacturing the traditional doenjang and that some species of *Bacillus* strains were mainly involved in the fermentation process of traditional doenjang.

Keywords: *Bacillus*, bacteria, microbial community, pyrosequencing, soybean paste

장류는 한국인의 밥상에 가장 중요한 부식임에도 불구하고, 장류 발효 과정 동안 미생물군집에 대한 연구들(3, 12-14)은 복잡한 발효과정 때문에 제한적으로만 진행되어왔다. 장류 발효에는 기본적으로 여러 미생물 군들이 관여하여 맛과 풍미를 만들어내므로(22) 장류제조 동안 미생물군집 연구는 장류의 발효과정을 이해하고, 발효 동안 생길 수 있는 위생적인 문제와 품질 유지를 위해 필수적으로 요구된다. 최근 장류 재료인 국내 메주들의 미생물군집 구조를 분석하기 위해 16S

rRNA 유전자 서열 분석에 기반을 둔 pyrosequencing 연구가 수행되었다(11). 이 연구에서 전국적으로 수집한 18 종 메주의 우점종 세균은 문(phylum) 수준에서 전체 미생물 군집의 평균 93.6%를 차지한 *Firmicutes*였으며 다음으로는 *Proteobacteria* (4.5%), *Bacteroidetes* (0.8%) 순임을 보였다. 또한 *Firmicutes*의 대부분은 *Bacillus*와, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* 속을 포함하는 젖산균들로서 이들 비율은 메주 산지에 따라 다르게 나타났다. 이 연구는 국내산 메주들의 미생물군집구조의 다양성에 초점이 맞추어져 있어 된장의 제조 과정 동안 미생물 군집 구조의 변화는 다루고 있

* For correspondence. E-mail: tbuhm@jbnu.ac.kr; Tel.: +82-63-270-3439, Fax: +82-63-270-3362

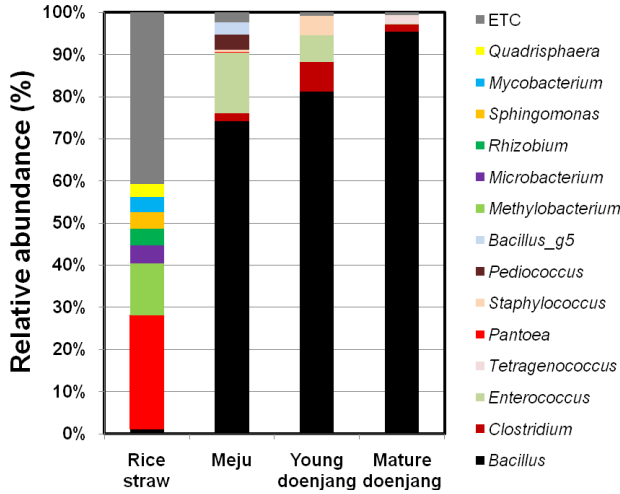


Fig. 1. Genus-level abundance for comparing bacterial communities in rice straw, meju, young doenjang, and mature doenjang samples.

bacterium (3.6%)등으로 구성되었으며 이들 중 토양 세균인 *Pantoea* 및 *Methylobacterium* 속이 벼짚 군집의 약 40%를 차지했다(Fig. 1.). 종 수준의 세균군집구조를 보면 *Pantoea allii*, *P. ananatis*, *P. agglomerans*, *P. vagans*가 비슷하게 각 6% 수준의 상대적 서열빈도를 보였고, *Methylobacterium persicinum* (3.8%), *M. aquaticum* (3.4%), *Quadrisphaera granulorum* (3.2%)가 그 뒤를 이었다(Table 2). 종 수준의 세균 군집분포를 볼 때 벼짚에 주로 존재하는 세균들은 주로 토양과 식물 기원의 세균들이 주류를 이루었고 특히 *Pantoea* 속의 일부는 식물 부착 병원성 균들로 알려져 있다(19, 24). 한편, 된장 주요 발효균의 하나(2)인 *Bacillus amyloliquefaciens*는 벼짚 전체 군집의 0.21%에 불과해서, 벼짚에서는 상대적으로 장류 발효세균의 분포가 낮았다. 벼 재배 지역의 토양에 따라 미생물 군집분포가 다르다는 것(25)을 고려하면 접종원으로 사용하는 벼짚의 미생물 분포 역시 다를 것으로 예상되었다. 벼짚 세균의 지역적 분포 차이와 토양, 물, 식물들로부터 벼짚 표면에 부착되는 미생물의 다양성을 고려할 때, 벼짚에 장독소 생산 *B. cereus* group과 같은 위해 미생물의 존재 가능성은 상존한다. 비록 벼짚을 이용하는 전통장류 제조 방식이 풍미 관점에서 우수하다 하더라도 장류의 균일한 품질 유지와 식품 위해 요소 중점관리 기준(HACCP)에 부합하기 위해서는 장류 제조를 위한 접종 원으로서 현재와 같은 벼짚 사용 방식은 개선해야 할 것이다.

발효된 메주에서 군집구조는 *Firmicutes* 문이 99.1%, *Proteobacteria* 문이 0.9%로 메주의 미생물 공급원이었던 벼짚의 세균군집구조와는 극적인 변화가 있었다. 벼짚에서 *Firmicutes* 문은 전체 염기 서열 수의 1.3%에 불과했으나, 메주 세균에서는 99% 이상을 차지하면서 벼짚에서 우점종이던 *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Bacteroidetes* 문을 완전히 대체하였다. 이 결과는 전국 17곳의 메주 시료에서 *Firmicutes* 문이 70.6-99.9%의 가장 높은 우점종으로 동정되었다는 보고와 일치했다(11). *Firmicutes* 문의 속 수준에서 비율은 *Bacillus* 77%, *Enterococcus* 14.5%, *Pediococcus* 3.6%, *Clostridium* 1.8%를 나타냈다(Fig. 1.). 특히 *Bacillus* 속은 강력한 protease 활성과 빠른 증식 속도(세대 시간 8-26분)를 가지기 때문에(1) 단백질이 풍부한 콩에서 다른 속에 비해 우점종이 될 수 있다, 그러나 김 등(11)에 의해 수행된 18 종 메주 시료에 대한 pyrosequencing 결과에서 *Bacillus* 속의 군집구조는 1.5-94.1%의 넓은 범위에 걸쳐있어 항상 높지만 낮았다. 일부 *B. subtilis*, *B. licheniformis*, *B. amyloliquefaciens*이 *B. cereus* group, *Staphylococcus*와 같은 Gram 양성균과 *Enterococcus*와 같은 Gram 음성 균들에 대해 항 세균 특성을 지닌 항생물질 또는 계면활성제들을 분비한다는 보고들(5, 7, 9, 12, 15, 26, 28, 30, 31)로 볼 때, 이러한 항균능력을 지닌 *Bacillus*들이 벼짚에 존재했을 경우에는 메주에서 우점종을 형성했을 가능성이 크다.

숙성 전 된장의 문 수준에서 세균 군집구조를 보면 *Firmicutes* 문이 전체 염기서열 빈도의 99.85%, *Proteobacteria* 문이 0.15%로 메주 세균의 군집구조분포와 비슷하였다. 한편 종 수준에서 군집구조를 보면 메주에서 32.5%로서 가장 높은 분포를 보였던 *B. siamensis*는 0.1%로 낮아진 반면 두 번째였던 *B. amyloliquefaciens* (19.2%)가 67.3%로 우점종이 되었고, *B. atrophaeus*는 12.7%로 그 뒤를 이었다(Table 2). 숙성 전 된장이 만들어지기 위해서는 메주를 18% 염수 하에서 45일간 담그는 과정을 거쳐야 하며, 이 때 높은 염 농도와 미 호기적 상태에서 견딜 수 있는 미생물만이 생존할 수 있기 때문에 이러한 군집 변화가 일어났다고 예측되었다.

숙성 후 된장의 세균군집구조를 보면, 숙성 전 81.3%였던 *Bacillus* 속의 상대적 군집빈도는 숙성 후에 95.5%로 증가되었다. 가장 많았던 우점종은 *B. amyloliquefaciens* (67.3%)였고, 다음으로 *B. atrophaeus* (12.7%), *B. methylotrophicus* (6.5%), *B. mojavensis* (3.2%), *B. subtilis* (2.5%)순으로 이들 5종 만의 *Bacillus*의 상대적 군집 빈도는 92.2%에 달했다(Table 2). 내염성 젖산균인 *Tetragenococcus halophilus* (2.0%)

Table 1. Bacterial diversity indices of each stuff during the manufacturing process of fermented doenjang

Sample	Total reads	Average length (bp)	OTUs ^a	ACE	Chao1	Shannon	Simpson	Goods lib. coverage
Rice straw	5552	433	143	276	215	1.35	0.6	98.9
Meju	2824	488	80	103	106	2.92	0.1	99.3
Young doenjang	1939	505	48	76	63	2.08	0.27	99.2
Mature doenjang	24990	488	221	342	318	3.22	0.08	99.7

^aThe operational taxonomic units (OTUs) were defined by 3% dissimilarity.

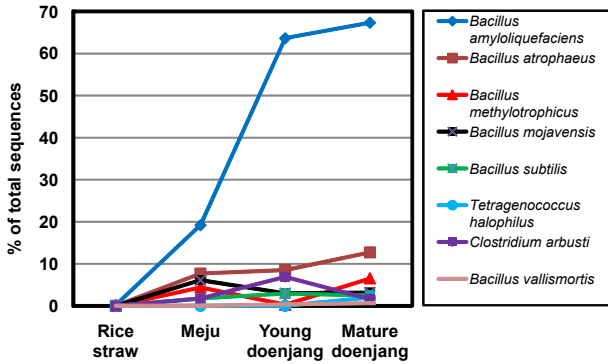


Fig. 2. Species-level abundance for comparing bacterial communities in rice straw, meju, young doenjang, and mature doenjang.

이 그 다음 순위였다(Table 2). *B. amyloliquefaciens*의 일부 균주들은 plantazolicin (28), subtilosin (30), Bacillomycin D (15)와 같은 식물 병원균들에 대해 억제 능을 가지는 항균 물질들을 분비한다고 보고되고 있다. 약 18% 염을 포함하는 숙성 전후 과정 동안 *B. amyloliquefaciens*가 우점종을 계속 유지하는 것(Fig. 2.)으로 보아 이 균종 역시 내염 특성을 가지면서 다른 균 증식에 대해 길항작용이 있는 항균 물질들을 생산할 가능성이 높다. 비록 벧짚에서 우점종이었던 *Proteobacteria*, *Actinobacteria* 문들은 메주가공, 숙성 전 후 과정을 거치면서 0.03% 수준까지 떨어졌지만 *Bacillus*와 높은 염도에서 저항성을 지닌 일부 종들은 생존해 숙성 후까지 남았을 것으로 추정되었다(결과 미제시).

종 수준에서 벧짚의 상대적인 세균군집분포를 보면 *B. siamensis*가 0.85%(29위), *B. amyloliquefaciens* 0.21% (64위)였다(Table 2). 하지만 메주발효 후에는 이들의 세균군집비율이 벧짚에서 순위처럼 각각 1, 2위로 올라갔고, 된장 숙성 후에는 전체 군집의 상위 5위까지 모두 *Bacillus* 종들이 차지했다(Fig. 2). 벧짚의 염기서열들로부터 분석된 143 OTUs 중 *Bacillus* 종은 *B. siamensis*와 *B. amyloliquefaciens* 뿐이었지만 메주에서 확인된 총 80 OTUs중 *Bacillus*는 17종이 확인되었고 이들의 상대적 군집비율들도 상위(상위 8위 안에 6종 포함)에 속했다(Table 2). 메주에서 추가로 확인된 15종의 *Bacillus*들은, 메주 발효실내의 공기나 삶은 콩, 또는 벧짚으로부터 기원되었을 것으로 추정할 수 있다. 비록 공기나 삶은 콩 표면에 부착된 미생물들이 접종원일 가능성도 배제할 수 없지만, 60일 간 메주 표면과 직접적이고 연속적인 접촉을 하면서 삶은 콩에 가장 많은 양의 미생물을 접종한 것은 벧짚이다. 벧짚의 세균군집을 Chao1 richness index와 ACE index에 따라 예측했을 때, 215-276의 OTUs를 함유하는 것으로 추정되었고(Table 1), rarefaction curve (Fig. 4.)에서 분석한 5,552개의 염기서열 수에서도 OTUs를 나타내는 곡선이 다른 시료들에 비해 더 가파른 증가로 벧짚시료에 포함된 모든 종을 확인하지 못한 것으로 나타났다. 따라서 벧짚 세균에 대한 pyrosequencing의 결과에서는 나타나지 않았지만 벧짚표면에

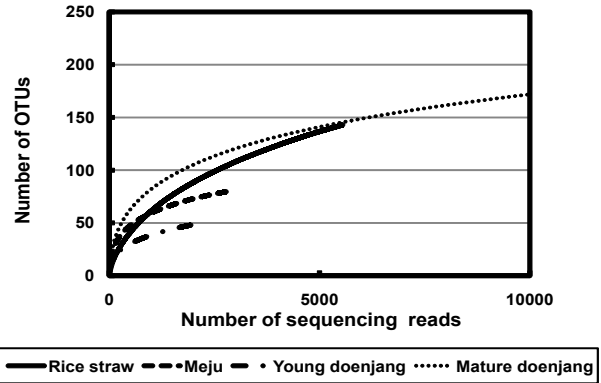


Fig. 3. Rarefaction curves of OTUs defined by 3% dissimilarity for the four different samples.

서 낮은 세균 밀도로 존재했거나 또는 포자 형태로 존재하던 *Bacillus* 종들이 메주 발효과정 동안 증식했을 가능성이 있다. 또한 숙성 후 된장의 상대적 군집비율에 따라서 상위 30위까지 존재하는 종들 중 적어도 22종은 메주에서도 발견되었고, 메주에서 상위 6종이 숙성 후 된장에서 90% 이상의 상대적 우점종을 형성했다(Table 2)는 점에서 메주의 주요 균 종들은 숙성 후 된장에서 발견되는 세균 종과 밀접히 관계된다는 것을 보여주었다. 나머지 주요 2종은 아마 염수로부터 유래했을 가능성이 있는 호염 세균들(*Tetragenococcus halotolerans*, *Brevibacterium halotolerans*)이었다(Table 2). 각 시료간 세균 군집 다양성을 비교하기 위해 UniFrac service를 이용하여 Phylogenetic tree를 작성하였다(Fig. 4.). 예상대로 군집구조 유사성을 보인 숙성 전과 숙성 후 된장과 달리, 메주군집에서는 벧짚으로부터 선택적으로 접종된 미생물들과 내염성이 없는 미생물들이 함께 포함되었기 때문에 숙성 전, 후 된장과 벧짚의 군집구조의 중간위치에 존재했다. 이러한 결과로 볼 때 숙성된 된장의 주요 미생물들은 메주로부터 기원한 것이며, 메주 세균들 역시 기본적으로 벧짚 세균으로부터 접종되었을 것으로 추정되었다. 이의 검증을 위해 앞으로 삶은 콩, 발효실 공기, 염수의 미생물 군집 분포를 확인할 필요가 있다. 또한 여러 지역에서 수거한 전통 장류용 벧짚들과 최종 장류의 미

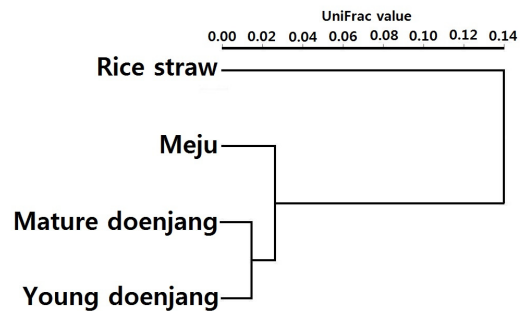


Fig. 4. Clustering analysis for the samples using the UniFrac service after pyrosequencing. The scale indicates the distance between clusters in UniFrac units.

Table 2. Changes in the relative percentage of the bacterial species in Meju, young doenjang, and aged doenjang

Bacterial species ^a	% of total sequence			
	Rice straw	Meju	Young doenjang	Mature doenjang
<i>Bacillus siamensis</i>	0.85	32.54	0.1	0.38
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	0.21	19.19	63.64	67.34
<i>Enterococcus durans</i>	0	11.01	5.98	0.1
<i>Bacillus atrophaeus</i>	0	7.68	8.51	12.71
<i>Bacillus mojavensis</i>	0	6.13	2.99	3.17
<i>Bacillus methylophilus</i>	0	4.39	0.26	6.51
<i>Pediococcus lolii</i>	0	2.3	0	0
<i>Bacillus subtilis</i>	0	1.77	2.94	2.45
<i>Clostridium arbusti</i>	0	1.74	6.91	1.62
<i>Pediococcus acidilactici</i>	0	1.1	0	0
<i>Pantoea vagans</i>	5.72	0.07	0	0
<i>Tetragenococcus halophilus</i>	0	0	0	1.98
<i>Brevibacterium halotolerans</i>	0	0	1.44	0.6
<i>Pantoea ananatis</i>	6.36	0	0	0
<i>Pantoea allii</i>	6.36	0	0	0
<i>Pantoea agglomerans</i>	5.93	0	0	0
<i>Methylobacterium persicinum</i>	3.81	0	0	0
<i>Methylobacterium aquaticum</i>	3.39	0	0	0
<i>Quadrisphaera granulorum</i>	3.18	0	0	0
ETC	64.19	12.08	7.23	3.14

The species were selected on the basis of high rank in the percentage of total sequences in each sample

생물 군집 분포 사이의 상관 관계를 조사하고, 이 상관성에 주 발효균인 *Bacillus*의 길항능력이 어떤 영향을 주는지 밝혀야 할 것이다.

전통 장류의 품질 우수성을 유지하기 위해서는, 기본적으로 *B. cereus*, *Aspergillus flavus* 같은 독소 미생물들의 증식이 없어야 하고, 대량 생산되는 장류에 부족한 전통 장류만의 풍미를 가진 미생물의 발효가 필요할 것이다. 이러한 목표를 달성하기 위해서 전통 장류에서 발견되는 독소미생물들의 증식을 억제하면서 동시에 풍미가 좋은 발효 균주들을 선발할 필요가 있다. 이 연구는 순창의 한 지역을 대상으로 된장 제조 중 미생물군집과 제조 중 군집의 변화를 관찰하였다. 앞으로 전국적인 조사를 통해 장류 미생물들의 군집 분포를 밝히고 이를 통해 독소 미생물들에 대해 길항 특성을 가지면서 전통장류의 풍미를 지닌 발효 균주들을 지속적으로 발굴할 예정이다.

적요

전통 방식으로 된장을 만드는 과정 동안 세균군집의 다양성과 변화를 관찰하기 위하여 16S rRNA 유전자 서열을 기반으로 하는 pyrosequencing을 수행하였다. 전통 된장 제조에 가장 중요한 집종원으로서 벚짚에 존재하는 세균 군집을 문 수준에서 확인했을 때, 상대적 군집 비율로 1% 이상의 분포를 보였던 4종류는 *Proteobacteria* (71%), *Actinobacteria* (20.6%), *Bacteroidetes* (4.2%), *Firmicutes* (1.3%) 문이었다. 그러나 벚짚 세균 군집구조 결과와 달리 메주의 군집구조에서는 99.1%가 *Firmicutes* 문이었다. 문 수준에서 숙성 전 된장

의 군집분포를 보면 *Firmicutes* 문 비율이 99.85%로 메주와 비슷한 수준이었다. 그러나 종 수준의 군집구조에서는 메주에서 32.54%의 가장 높은 군집빈도를 보였던 *Bacillus siamensis*는 0.1%로 거의 사라진 반면 *B. amyloliquefaciens*가 63.64%로 가장 높은 우점종이 되었다. 숙성 후 된장의 세균군집구조를 보면 숙성 전에 비해 *Bacillus* 비율이 증가되었으며 이들 중 군집의 상대빈도가 가장 높았던 우점종은 *B. amyloliquefaciens* (67.3%)였고, 5위까지 모두 *Bacillus* 종들(전체 군집분포의 92.2%)이 차지했다. 또한 메주 내 상위 11 위까지 우점을 이루던 세균 종들 중 10종이 숙성 후 된장에서도 우점종을 형성하여, 메주 미생물들이 숙성 후 된장 발효까지 영향을 준다는 것을 보였다. 이 결과들로부터 전통 장류에서 발효 주 세균은 *Bacillus* 종이며 이들은 기본적으로 벚짚으로부터 기원되어 메주에서 우점종을 형성한 것으로 추정되었다. 따라서 풍미와 위생성이 동시에 요구되는 전통 장류의 제조를 위해서는 벚짚 표면에 이 기능을 가진 *Bacillus* 종들의 군집 분포가 필요할 것으로 예상되었다.

감사의 말

본 연구는 2010년 농림수산식품부 농림기술개발사업(주관 농림수산식품기술기획평가원; 과제번호 308018-03-3-HD160), 2010년 지역 농식품 선도클러스터 육성사업(순창군) 및 2011년 전북대학교 자연계열 대학원생 지원 프로그램(김용상)에 의해 수행되었습니다.

참고문헌

1. Ahn, Y.S., Y.S. Kim, and D.H. Shin. 2006. Isolation, identification, and fermentation characteristics of *Bacillus* sp. with high protease activity from traditional cheonggukjang. *Korean J. Food Sci. Technol.* 38, 82-87.
2. Cho, S.J., S.H. Oh, R.D. Pridmore, M.A. Juillerat, and C.H. Lee. 2003. Purification and characterization of proteases from *Bacillus amyloliquefaciens* isolated from traditional soybean fermentation starter. *J. Agric. Food. Chem.* 51, 7664-7670.
3. Choi, K.K., C.B. Cui, S.S. Han, and D.S. Lee. 2003. Isolation, identification and growth characteristics of main strain related to meju fermentation. *J. Kor. Soc. Food. Sci. Nutr.* 32, 818-824.
4. Chun, J., J.H. Lee, Y. Jung, M. Kim, S. Kim, B.K. Kim, and Y.W. Lim. 2007. EzTaxon: a web-based tool for the identification of prokaryotes based on 16S ribosomal RNA gene sequences. *Int. J. sys. Evol. Microbiol.* 57, 2259-2261.
5. Dischinger, J., M. Josten, C. Szekat, H.Sahl, and G. Bierbaum. 2009. Production of the novel two-peptide lantibiotic lichenicidin by *Bacillus licheniformis* DSM 13. *PLoS One* 4, 1-11.
6. Good, I.J. 1953. The population frequencies of species and the estimation of population parameters. *Biometrika* 40, 237-264.
7. Grangemard, I., J. Wallach, R. Maget-Dana, and F. Peypoux. 2001. Lichenysin: A more efficient cation chelator than surfactin. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 90, 199-210.
8. Jeong, J.Y., H.D. Park, K.H. Lee, H.W. Weon, and J.O. Ka. Microbial community analysis and identification of alternative host-specific fecal indicators in fecal and river water samples using pyrosequencing. *J. Microbiol.* 49, 585-594.
9. Jung, S.S., J.I. Choi, W.H. Joo, H.H. Suh, A.S. Na, Y.K. Cho, J.Y. Moon, K.C. Ha, D.H. Paik, and D.O. Kang. 2009. Characterization and purification of the bacteriocin produced by *Bacillus licheniformis* isolated from soybean sauce. *J. Life Sci.* 19, 994-1002.
10. Kim, B.S., B.K. Kim, J.H. Lee, M. Kim, Y.M. Lim, and J. Chun. 2008. Rapid phylogenetic dissection of prokaryotic community structure in tidal flat using pyrosequencing. *J. Microbiol.* 46, 357-363.
11. Kim, Y.S., M.C. Kim, S.W. Kwon, S.J. Kim, I.C. Park, J.O. Ka, and H.Y. Weon. 2011. Analysis of bacterial communities in Meju, a Korean traditional fermented soybean bricks, by cultivation-based and pyrosequencing methods. *J. Microbiol.* 49, 340-348.
12. Kim, Y.S., S.H. Yun, D.Y. Jeong, K.S. Hahn, and T.B. Uhm. 2010. Isolation of *Bacillus licheniformis* producing antimicrobial agents against *Bacillus cereus* and its properties. *Kor. J. Microbiol.* 46, 270-277.
13. Kim, T.W., J.H. Lee, M.H. Park, and H.Y. Kim, 2010. Analysis of bacterial and fungal communities in Japanese and Chinese soybean pastes using nested PCR-DGGE. *Curr. Microbiol.* 60, 315-320.
14. Kim, T.W., J.H. Lee, S.E. Kim, M.H. Park, H.C. Chang, and H.Y. Kim. 2009. Analysis of microbial communities in doenjang, a Korean fermented soybean paste, using nested PCR-denaturing gradient gel electrophoresis. *Int. J. Food Microbiol.* 131, 265-271.
15. Koumoutsis, A., X-H. Chen, J. Vater, and R. Borriss. 2007. DegU and YczE positively regulate the synthesis of Bacillo-mycin D by *Bacillus amyloliquefaciens* strain FZB42. *Appl. Environ. Microbiol.* 73, 6953-6964.
16. Lane, D.J. 1991. 16S/23S rRNA sequencing, p. 115-148. *In* E. Stackebrandt and M. Goodfellow (eds.), *Nucleic acid techniques in bacterial systematic*, John Wiley and Sons, Chister, England.
17. Li, W. and A. Godzik. 2006. Cd-hit: a fast program for clustering and comparing large sets of protein or nucleotide sequences. *Bioinformatics* 22, 1658-1659.
18. Margulies, M., M. Egholm, W.E. Altman, S. Attiya, J.S. Bade, L.A. Bemben et al. 2005. Genome sequencing in microfabricated high-density picoliter reactors. *Nature* 437, 376-380.
19. Morohoshi, T., Y. Nakamura, G. Yamazaki, A. Ishida, N.Kato, and T. Ikeda. 2007. The plant pathogen *Pantoea ananatis* produces N-acylhomoserine lactone and causes center rot disease of onion by quorum sensing. *J. Bacteriol.* 189, 8333-8338.
20. Myers, E.W. and W. Miller. 1988. Optimal alignments in linear space. *Comput. Appl. Biosci.:CABIOS* 4, 11-17.
21. Parameswaran, P., R. Jalili, L. Tao, S. Shokralla, B. Gharizadeh, M. Ronaghi et al. 2007. A pyrosequencing-tailored nucleotide barcode design unveils opportunities for large-scale sample multiplexing. *Nucleic Acids Res.* 35, e130.
22. Park, H.K., B. Gil., and J.K. Kim. 2003. Characteristics of taste components of commercial kochujang. *Korean J. Food Sci. Technol.* 12, 119-121.
23. Roh, S.W., K.H. Kim, Y.D. Nam, H.W. Chang, E.J. Park, and J.W. Bae. 2010. Investigation of archaeal and bacterial diversity in fermented seafood using barcoded pyrosequencing. *ISME J.* 4, 1-16.
24. Roper, M.C. 2011. *Pantoea stewartii* subsp. *stewartii*: lessons learned from a xylem-dwelling pathogen of sweet corn. *Mol. Plant Pathol.* 12, 628-637.
25. Ryu, J.C., S.W. Kwon, J.S. Kim, J.S. Suh, B.G. Jung, and S.S. Choi. 2002. Analysis of microbial community structure in soil and crop root system. *Korean J. Soil Sci. Fert.* 35, 118-126.
26. Ryu, H.S., M.Y. Shon, S.J. Cho, S.K. Park, and S.W. Lee. 2007. Characterization of antibacterial substance-producing *Bacillus subtilis* isolated from traditional Doenjang. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.* 50, 87-94.
27. Schloss, P.D., S.L. Westcott, T. Ryabin, J.R. Hall, M. hartmann, E.B. Hallister, R.A. Lesniewski, B.B. Oakley, D.H. Parks, C.J. Robinson, J.W. Sahl, B. Stres, G.G. Thallinger, D.J. van Horn, and C.F. Weber. 2009. Introducing mothur: open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities. *Appl. Environ. Microbiol.* 75, 7537-7541.
28. Scholz, R., K.J. Molohon, J. Nachyigall, J. Vater, A.L. Markley, R.D. Sussmuth, D.A. Mitchell, and R. Borriss. 2011. Plantazolicin, a novel microcin B17/streptolysin S-like natural product from *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42. *J. Bacteriol.* 193, 215-224.
29. Secondary planning report for rural-based industry promotion project. 2008. Ministry of Knowledge Economy. Republic of Korea.
30. Sutyak, K.E., R.E. Wirawan, A.A. Aroutcheva, and M.L. Chikindas. 2008. Isolation of the *Bacillus subtilis* antimicrobial peptide subtilosin from the dairy product-derived *Bacillus amyloliquefaciens*. *J. Appl Microbiol.* 104, 1067-1074.
31. Yakimov, M.M., K.N. Timmis, V. Wray, and H.H. Fredrickson. 1995. Characterization of a new lipopeptide surfactant produced by thermotolerant and halotolerant subsurface *Bacillus licheniformis* BAS50. *Appl. Environ. Microbiol.* 61, 1706-1713.
32. Yoo, J.Y., H.G. Kim, and W.J. Kim. 1998. Physico-chemical and microbiological changes of traditional meju during fermentation in Kangweondo area. *Korean J. Food Sci. Technol.* 30, 908-915.