

## 참나무분 첨가에 따른 표고 액체종균의 균체생산 및 효소 활성

김정한<sup>1,\*</sup> · 강영주<sup>1</sup> · 백일선<sup>1</sup> · 정윤경<sup>1</sup> · 이용선<sup>1</sup> · 조해석<sup>2</sup> · 이영순<sup>1</sup><sup>1</sup>경기도농업기술원 버섯연구소<sup>2</sup>청운표고(주)Mycelial growth and wood decaying enzymatic activity analysis by various addition rates of oak powder in the liquid spawn of *Lentinula edodes*Jeong-Han Kim<sup>1,\*</sup>, Young-Ju Kang<sup>1</sup>, Il-Sun Baek<sup>1</sup>, Yun-Kyeong Jeung<sup>1</sup>, Yong-Seon Lee<sup>1</sup>, Hae-Seok Cho<sup>2</sup>, and Young-Soon Lee<sup>1</sup><sup>1</sup>Mushroom Research Institute, Gyeonggi-do Agricultural Research & Extension Services, Gwangju 12805, Korea<sup>2</sup>Chungwoon Mushroom Farm, Icheon 17408, Korea

**ABSTRACT:** This study was carried out to establish a suitable method for liquid spawn production from *Lentinula edodes*. The optimum production of liquid spawn (OLS) was achieved using soybean meal medium (SMM) with 0.3% of 850 um oak powder and 10-day incubation period and 0.6 vvm aeration volume. OLS showed activities of laccase on ABTS agar plate and carboxymethyl cellulase (CM-cellulase) on CMC agar plate. In case of liquid spawn, fruiting-body development period was delayed approximately 1 day compared to that of sawdust spawn, however, the yield of 153 g per 1.2 kg polypropylene bag was similar to that of sawdust spawn.

**KEYWORDS:** *Lentinula edodes*, Liquid spawn, Oak powder, Wood decaying enzyme, Mycelia amount

## 서 론

국내 표고 생산량은 2016년 현재 24,014MT이고 생산액은 2,379억원으로 버섯 가운데 단일 품목으로는 가장 높다. 표고는 수요에 비하여 공급이 부족하여 중국으로부터 종균이 집중되어 군사배양이 완료된 배지가 2016년에만 43,904톤이 수입되었다. 따라서 국내 표고버섯의 자급

율을 높이기 위해서는 생산 기반 확충이 시급한 실정이다.

버섯 종균은 종균을 구성하는 배지의 종류에 따라 크게 톱밥종균, 액체종균 등으로 나누어진다. 또한 버섯 재배에 영향을 미치는 여러 가지 환경요인 중 종균의 활력이 중요하며, 그 활력을 유지하는데 있어서 고체종균보다 액체종균이 유리하고(Hong, 2003), 액체종균은 톱밥종균에 비하여 배지에 군사를 신속하게 활착하게 하며, 군사생장을 균일하게 한다고 보고되고 있다(Shim *et al.*, 2014).

표고 재배에서 액체종균은 톱밥배지중 군사생장속도가 빨라 톱밥종균 집중으로 120일 소요되는 톱밥배지 생산기간이 90일로 단축되었다고 보고되었으며(Kawai *et al.*, 1996), Lee *et al.*(2006)은 종균 종류에 따른 표고 생산성을 비교한 결과, 액체종균의 생산성이 떨어지는 것으로 나타났다고 하였다. 그럼에도 불구하고, 표고버섯 재배시 생력화와 생산량 증대를 위해서는 큰느타리, 팽이버섯 재배처럼 액체종균의 활용기술 개발이 필요할 것으로 생각된다.

따라서 본 연구에서는 표고 액체종균의 군사 활력과 군사체 생산성을 높이기 위하여 대두박분에 참나무분을 첨

J. Mushrooms 2018 June, 16(2):74-78  
<http://dx.doi.org/10.14480/JM.2018.16.2.74>  
 Print ISSN 1738-0294, Online ISSN 2288-8853  
 © The Korean Society of Mushroom Science

\*Corresponding author  
 E-mail : kjh75@gg.go.kr  
 Tel : +82-31-229-6126, Fax : +82-31-229-6139

Received March 19, 2018  
 Revised April 16, 2018  
 Accepted June 25, 2018

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.

가한 액체종균을 개발하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 참나무분 첨가 액체종균의 군사생장 및 효소활성

본 연구에 사용한 표고 시험균주는 ‘산조701호’로서 Potato Dextrose Agar (PDA) 배지에 배양한 후 사용하였다. 액체종균은 물 1 l에 탈지 대두박분 3 g, 설탕 30 g,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.5 g,  $\text{MgSO}_4$  0.5 g에, 식용유 3 mL을 첨가하여 대두박분 배지를 제조하였다. 여기에 입도가  $850 \mu\text{m}$  이하인 참나무분을 대두박분 배지에 0.3, 0.6, 0.9, 1.2%(w/v)를 첨가하고  $121^\circ\text{C}$ 에서 20분간 살균하였다. 배지가 식은 후 페트리디쉬에서 성장한 표고 균사체를 수술용 메스로 2~3 mm의 사각형 크기로 잘라 접종한 후 진탕배양기에서 배양온도  $25^\circ\text{C}$ , 진탕속도 150 rpm으로 14일 동안 액체배양을 한 후 배양된 균사체는  $80^\circ\text{C}$ 에서 48시간 건조하여 건조중량을 측정하였다.

표고체배지에서의 군사성장속도 조사는 참나무톱밥과 미강을 80:20(v/v)으로 혼합하고 수분함량이 60% 되도록 조절한 후 직경 20 mm, 길이 200 mm되는 유리시험관에 넣어  $121^\circ\text{C}$ 에서 40분간 살균한 다음 참나무분 첨가 액체종균 처리별로 접종한 후  $21 \pm 1^\circ\text{C}$ 의 항온실에서 20일간 배양시키면서 군사성장 길이를 측정하였다.

Laccase활성은 무기물 혼합 농축액( $\text{K}_2\text{HPO}_4$  2.0 g, KCl 2.0 g,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  2.0 g, 증류수 1 l, pH 6.0) 50 ml와 ABTS(2,2'-azino-bis(3-ethylthiazoline-6-sulfonic acid) 0.5487 g, Bacto Agar 15.0 g을 혼합한 후, 증류수를 가해 배지 1 l를 제조하고 높이 15 mm, 직경 85 mm되는 페트리디쉬에 20 mL씩 분주하여 ABS Agar Plate를 제조하였다. 여기에 액체종균 처리별로 Plate 중앙에 표고 시험균주를 접종한 후,  $25^\circ\text{C}$ 에서 5일간 암조건에서 배양한 후 시험균주를 중심으로 청록색으로 나타나는 발색환의 직경을 측정하였다.

셀룰로오스 분해 효소의 활성은 Jeon과 Ka(2014)의 방법에 따라 직경이 85 mm 되는 CMC Agar Plate ( $\text{NaNO}_3$  2.0 g,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  1.0 g,  $\text{MgSO}_4$  0.5 g, KCl 0.5 g, Carboxymethylcellulose Sodium Salt 2.0 g, Peptone 0.2 g, Agar 15.0 g, 증류수 1 l, pH 6.0)를 제조한 후 CMC Agar Plate 중앙에 시험 균주를 접종하여  $25^\circ\text{C}$ 에서 8일간 배양하고, Gram's Iodine Solution(KI 2.0 g,  $\text{I}_2$  1.0 g, 증류수 300 mL)을 배지 중앙에 3 mL씩 떨어뜨려 고르게 분산시킨 후, 암조건에서 2시간 동안 상온에 방치 한 후 투명한 직경을 측정하였다.

### 통기량에 따른 참나무분 첨가 액체종균의 $\text{CO}_2$ 발생량 및 군사 성장량

표고 액체종균 배양에 필요한 적정 통기량을 조사하기 위하여 Jang et al.(2010)의 방법에 따라 실시하였다. 액체

종균 제조는 대두박분 배지에 참나무분을 부피대비 중량비로 0.3%를 첨가하고  $121^\circ\text{C}$ 에서 60분간 살균한 후 배지를 냉각시킨 다음 시험균주 접종원을 부피대비 중량비로 배지량의 2%로 접종한 후 통기량을 유량계를 이용하여 분당 0.3, 0.6, 0.9, 1.2vvm(vessel volume per minute)으로 조절한 후  $25^\circ\text{C}$ 에서 12일간 3반복으로 배양하였으며 처리구별 이산화탄소 발생량은 액체배양 중 공기가 배출되는 부분에 Gas Data PAQ(Gas data Ltd.)를 부착하여 배양일별로 조사하였다. 통기량에 따른 액체종균의 배지 증발량을 조사하기 위하여 시험균주 접종원을 접종한 직후의 액체종균 배지량을 측정하고, 군사배양이 완료되는 시점의 배지량을 측정하여 그 차이를 산출하였으며, 군사배양 완료 후의 건조균사체량은  $80^\circ\text{C}$ 에서 48시간 건조하여 건조중량을 산출하였다.

### 배양기간에 따른 참나무분 첨가 액체종균의 $\text{CO}_2$ 발생량 및 군사성장량

참나무분을 첨가한 표고 액체종균의 적정 배양기간을 구명하기 위하여 대두박분 배지에 참나무분 0.3%를 첨가하고 통기량을 0.6vvm으로 조절하여  $25^\circ\text{C}$ 에서 배양기간을 3, 7, 10, 14, 17, 21일째로 구분하여 배양하며 이산화탄소 발생량과 건조균사체량을 조사하였다. 이산화탄소 발생량은 액체배양 중 공기가 배출되는 부분에 Gas Data PAQ(Gas data Ltd.)를 부착하여 측정하고, 건조균사체량은  $80^\circ\text{C}$ 에서 48시간 건조하여 건조 중량을 산출하였다.

### 선발된 액체종균의 자실체 생산성 비교

표고 액체종균의 생산성을 톱밥종균과 비교하기 위하여 톱밥봉지재배용 배지는 참나무톱밥과 미강을 부피비율로 85:15로 혼합하여 배지수분을 60%로 조절한 다음 Polypropylene 봉지에 1.2 kg씩 입봉하여,  $121^\circ\text{C}$ 에서 90분간 살균, 냉각 후 액체종균과 톱밥종균을 접종하였다. 이 때 사용한 액체종균은 대두박분 배지에 참나무분 0.3%를 첨가하여 통기량 0.6 vvm에서 10일간 배양하여 사용하였고, 톱밥종균은 참나무톱밥과 미강을 부피비율로 80:20으로 혼합한 배지에 표고 균을 접종한 다음 약 30일간 배양한 종균을 사용하였으며 접종량은 두 처리 모두 배지 무게의 2%를 접종하였으며  $20^\circ\text{C} \pm 1$ 로 조절된 배양실에서 배양하면서 배양소요일수를 조사하였고, 갈변 유도를 위하여 2001 ux 이상의 명배양을 하였으며 봉지 하단부위까지 갈변이 완료된 시점을 갈변기간으로 산출하였다. 생육기간은 갈변이 완료된 배지가  $17 \pm 3^\circ\text{C}$ 로 조절된 생육실로 옮겨진 후 부터 수확시까지를 산출하고 총 재배기간은 군사배양, 갈변, 생육기간을 합쳐 산출하였다. 자실체 개체수는 봉지당 유효 발생수를 조사하고, 수량은 각 처리당 9봉지씩 1회 조사를 실시하였다.

## 결과 및 고찰

### 참나무분 첨가 표고 액체종균의 균사생장 및 효소활성

참나무분 첨가율별 표고 액체종균의 균사생장 속도를 톱밥배지를 이용한 시험관에서 시험한 결과는 Table 1과 같다. 종균접종 후 균사배양 20일째 균사생장 속도는 PDB배지 종균은 117.1 mm, 대두박분 액체종균(SMM)은 112.7 mm, 참나무분 첨가 대두박분 액체종균은 112.0~119.0 mm으로 나타났다. 참나무분 첨가에 따른 액체종균의 균사생장 속도는 톱밥배지를 이용한 시험관에서 큰 차이가 없는 것으로 나타났다.

참나무분 첨가 수준별 표고 대두박분 액체종균 pH 변화 및 균사생장량을 측정하였다(Table 2). pH 변화를 살균 전과 살균 후에 조사한 결과, Potato Dextrose Broth(PDB) 배지는 5.08로 변화가 없었고 대두박분 액체종균은 살균 전 5.77 에서 살균 후 5.91로 약간 높아졌으며 대두박분 액체종균은 참나무분 첨가율이 증가할수록 살균 전 pH가 낮아져서 5.83~5.63으로 나타났으며, 살균 후 pH도 5.73~5.35로 낮아졌으며 참나무분 첨가율별 모두 살균 전에 비하여 살균 후 다소 낮아졌다.

균사체 건중량은 참나무분 0.6%와 0.3% 첨가구가 각

553 mg, 457 mg으로 높게 나타났으며, PDB배지와 대두박분 액체종균은 각 230 mg, 279 mg으로 나타났다. 참나무분이 0.9% 이상 첨가된 처리구에서는 균사체량이 매우 감소되었는데 이는 액체종균 배양 시 적정 비율 이상의 참나무분을 첨가할 경우 오히려 균사의 생장과 증식을 억제하였을 것으로 생각되었다.

버섯균은 대부분은 목재 부후성 균으로 Lignin과 Cellulose를 분해하여 생육에 필요한 영양분을 얻으며 살아가며, 이때 Laccase와 Cellulase는 매우 중요한 효소로 작용한다. 참나무분 첨가 율별 표고 액체종균의 리그닌 분해력을 알아보기 위하여 ABTS Agar Plate에서 Laccase 활성을 발색환으로 측정된 결과(Table 3), 참나무분 첨가 대두박분 액체종균 처리구의 발색환이 49.7~50.3 mm로 첨가별 차이는 보이지 않았으나, 대두박분 액체종균의 53.6 mm에 비하여 다소 낮았으며 PDB 배지는 40.4 mm로 대두박분 액체종균에 비하여 현저하게 낮았다.

섬유소 분해력 조사를 위하여 Carboxymethylcellulose (CMC)를 기질로 한 고체 평판배지(CMC Agar Plate)에 CM-cellulase 활성을 투명환으로 측정된 결과(Table 3), 참나무분 0.3%를 첨가한 대두박분 액체종균 처리구가 투명환이 26.4 mm로 가장 우수하였고, 대두박분에 참나무분 0.9%를 첨가한 대두박분 액체종균 처리구가 22.0 mm, 참나무분 0.6% 및 1.2%를 첨가한 대두박분 액체종균 처리구가 약 17 mm 순으로 나타났으며 PDB 배지는 활성이 다른 처리구들에 비하여 낮았다. 이는 표고버섯균은 균사 생장에 필요한 영양소를 감자가 주재료로 포함된 PDB는 비교적 쉽게 이용할 수 있으나, 대두박분을 첨가한 액체종균 및 대두박분에 참나무분이 첨가율별로 첨가된 액체종균들은 Lignin 및 Cellulose의 분해를 위하여 Laccase와 Cellulase의 분비가 촉진되어 이와 같은 결과가 나타난 것으로 판단되었다.

**Table 1.** Mycelial growth of liquid spawn by various addition rate of oak powder on the sawdust substrates in *Lentinula edodes*

Treatment	Mycelial growth(mm) <sup>b</sup>
Potato Dextrose Broth(PDB)	117.1±6.65
Soybean Meal Medium(SMM) <sup>a</sup>	112.7±5.65
Oak Powder 0.3% + SMM	114.8±3.51
Oak Powder 0.6% + SMM	119.0±9.40
Oak Powder 0.9% + SMM	113.0±3.58
Oak Powder 1.2% + SMM	112.0±5.60

<sup>a</sup> Soybean meal medium(SMM) : soybean meal 0.3%, sugar 3%, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.05%, MgSO<sub>4</sub> 0.05%, edible plant oil 0.3%, water 1l

<sup>b</sup> Values are mean±SD of three replicates.

**Table 2.** pH changes and dried mycelial amount by various addition ratio of oak powder on the liquid spawn in *Lentinula edodes*

Treatment	pH before sterilization	pH after sterilization	Dried mycelial amount(mg)
Potato Dextrose Broth	5.08	5.08	230 <sup>bc</sup>
Soybean Meal Medium(SMM)	5.77	5.91	279 <sup>b</sup>
Oak Powder 0.3% + SMM	5.83	5.73	457 <sup>ab</sup>
Oak Powder 0.6% + SMM	5.76	5.58	553 <sup>a</sup>
Oak Powder 0.9% + SMM	5.67	5.48	151 <sup>c</sup>
Oak Powder 1.2% + SMM	5.63	5.35	189 <sup>c</sup>

<sup>abc</sup> DMRT at 5%

**Table 3.** Laccase and CM-cellulase activities by various addition rate of oak powder on the liquid spawn in *Lentinula edodes*

Treatment	Laccase activity (mm/5days) <sup>a</sup>	CM-cellulase activity (mm/8days) <sup>b</sup>
Potato Dextrose Broth	40.4±2.67	15.3±1.10
Soybean Meal Medium(SMM)	53.6±1.44	22.8±2.71
Oak Powder 0.3% + SMM	49.7±1.27	26.4±1.33
Oak Powder 0.6% + SMM	50.1±1.58	17.9±1.57
Oak Powder 0.9% + SMM	50.7±3.27	22.0±2.52
Oak Powder 1.2% + SMM	50.3±3.16	17.2±2.89

<sup>a</sup>Laccase activity was determined by the diameter of chromogenic(blue~green) zone.

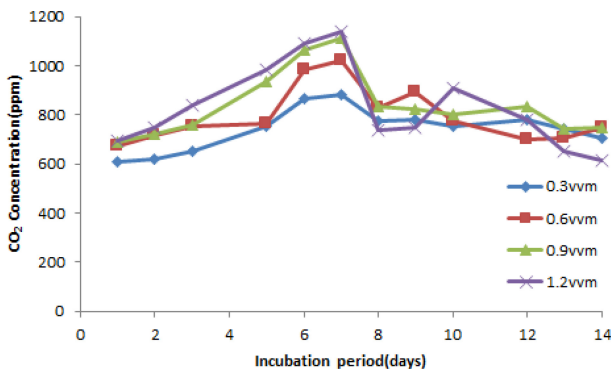
<sup>b</sup>CM-cellulase activity was determined by the diameter of cellulolytic zone.

Values are mean±SD of three replicated.

**통기량에 따른 CO<sub>2</sub> 발생량 및 균사생장량**

대두박분 배지에 참나무분 0.3%를 첨가한 표고 액체중균을 사용하여 배양일수 경과에 따른 통기량별 이산화탄소 발생량을 조사한 결과(Fig. 1), 모든 통기량 처리구에서 배양 7일째 까지 이산화탄소 농도가 증가하다가 그 이후에 감소하는 경향을 나타내었으며 통기량이 증가할수록 이산화탄소 발생량도 증가한 것으로 나타났다. Jang *et al.* (2010)에 따르면 잣버섯 액체배양시 배양일수가 경과할수록 이산화탄소 발생량이 증가하고 6~7일경에 최고치에 도달한다고 하였는데 본 시험에서도 유사한 경향이 나타나서 표고 액체중균의 균사생장은 배양 6~7일경에 가장 활발하게 이루어지는 것으로 판단되었다.

대두박분 배지에 참나무분 0.3%를 첨가한 표고 액체중균을 통기량별 배지 증발량, 균사체 입자크기, 건조균사체 중량을 조사한 결과(Table 4), 통기량이 많을수록 배지 증발량도 증가하였으며, 특히 1.2vvm 처리구에서는 증발과 정에서 배지 고형분이 배양 용기의 내부 벽면에 많이 부착되는 것이 나타났다. 배지 균사체의 입도는 통기량이 증가할수록 감소되는 경향이었으며 균사체의 건조량도 통기량이 증가할수록 왕성하여 0.3vvm 처리구에서 2.7g, 1.2vvm 처리구에서 4.3 g까지 증가하는 것으로 나타났다. Jang *et al.*(2010)이 잣버섯 액체중균 배양 시 통기량이 감



**Fig. 1.** Changes of CO<sub>2</sub> concentration in liquid spawn according to various rate of aeration during mycelial incubation period.

**Table 4.** Evaporation rate of medium, particle size and dried weight of mycelia in liquid spawn by various aeration rate for 14 days

Aeration (vvm)	Evaporation rate of medium(%) <sup>a</sup>	Particle size of mycelia(mm)	Dried weight of mycelia(g/l)
0.3	18.2±1.52 <sup>b</sup>	4.9±0.27	2.7±0.10
0.6	32.3±1.74	3.2±0.59	3.5±0.11
0.9	46.0±2.31	3.2±0.08	3.9±0.06
1.2	56.9±0.76	2.7±0.33	4.3±0.17

<sup>a</sup>Initial medium amount/final medium amount×100

<sup>b</sup>Values are mean±SD of three replicated.

소할수록 균사체량이 감소하였는데 이는 배양액내의 용존 산소의 부족으로 인한 것으로 보고하였는데 본 연구에서도 이와 유사한 결과를 나타내었으며 0.9vvm 이상의 통기량은 배지 증발률이 증가하여 액체중균 배지가 매우 감소되었다. 따라서 본 연구에서는 표고 액체중균의 적정 통기량으로서 액체중균 배지 증발률이 감소되고 1당 균사체 생산량이 3.5 g인 0.6vvm 처리구가 선발되었다.

**액체중균 배양기간에 따른 CO<sub>2</sub>농도 변화 및 균사 생장량**

대두박분 배지에 참나무분 0.3%를 첨가한 표고 액체중균의 적정 배양기간을 구명하기 위하여 배양기간에 따른 이산화탄소 발생량과 균사체의 건조량을 측정된 결과 (Table 5), 이산화탄소 발생량은 배양 7일째에 1,297 ppm으로 최대치를 보이며 14일째까지 지속되다가 그 이후에 급격히 감소되는 것으로 나타났다. 균사체 건조량은 7일째 급격히 증가하기 시작하여 배양 10일째 3.0 g으로 최대치를 보이다가 배양 17일째 이후 급격히 감소하는 것으로 나타났다. 따라서 본 연구에서는 표고 액체중균의 적정 배양일수로서 균사체 건조량이 가장 많은 10일이 선발되었다.

**선발된 액체중균의 자실체 생산성**

참나무분을 첨가한 표고 액체중균의 생산성을 톱밥중균과 비교하기 위하여 대두박분 배지에 참나무분 0.3%를 첨가한 표고 액체중균으로 시험을 수행한 결과(Table 6), 균사배양기간과 갈변기간은 각각 30일, 57일로 차이가 없었으나, 자실체 생육기간에서 액체중균이 9일로 톱밥중균에 비해 1일 지연되었으며, 총 재배기간은 액체중균은 97일 톱밥중균은 96일로 나타났다. 그러나 봉지당 유효 개체수와 수량은 유의적인 차이가 없는 것으로 나타났다.

**적 요**

표고 재배용 액체중균 배지조성은 대두박분 배지에 입도가 850 μm이하인 참나무분 0.3% 첨가 시 균사체 건조

**Table 5.** Changes of CO<sub>2</sub> concentration and dried weight of mycelia by various incubation period of mycelia

Incubation period of mycelia (days)	CO <sub>2</sub> concentration (ppm)	Dried weight of mycelia (g/l)
0	772	0
3	890	1.4
7	1,297	2.3
10	1,115	3.0
14	1,039	2.4
17	895	1.8
21	700	1.8

**Table 6.** Mycelial Growth and fruitbody characteristics by spawn types in *Lentinula edodes*

Spawn type	Incubation period of mycelia (days)	Browning period (days)	Development period of fruitbody (days)	Total cultivation period (days)	Available stipe No. (stipe/bag)	Yield (g/1.2 kg)
Liquid	30	57	10	97	4	153 <sup>a</sup>
Sawdust	30	57	9	96	4	157 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> DMRT at 5%

량이 457 mg으로 다소 높았으며, Laccase 활성도는 참나무분 첨가율별 대두박분 배지에 큰 차이가 없었으나 Cellulase 활성도는 CMC Agar Plate에서 26.4 mm로서 참나무분 첨가율별 대두박분 액체종균 처리구중에서 가장 우수하였다. 액체종균의 통기량이 증가할수록 이산화탄소 발생량이 증가하여 배양 7일째 최대치를 나타내었으며 균사체 건중량은 10일째 3.0g/l로 가장 우수한 것으로 나타났다. 통기량이 증가할수록 이산화탄소 발생량, 균사체 건중량도 증가하였으며 0.6vvm 처리시 배지 증발율이 32%, 균사체 건중량이 3.5g/l로서 우수하였다. 선발된 액체종균을 톱밥 종균과 생산성 비교를 위하여 톱밥재배 봉지배지에 시험한 결과, 액체종균의 생육기간이 톱밥종균에 비해 1일 지연되었으나, 봉지당 유효 개체수와 수량에는 유의적인 차이가 없는 것으로 나타났다.

### 감사의 글

본 논문은 농림축산식품부의 재원으로 농림수산식품기술기획평가원의 기술사업화지원사업의 지원을 받아 연구되었으며(816008-02-2-HD020) 이에 감사드립니다.

### REFERENCES

- Hong SJ, Lee WH, Shin BS, Sung JM. 2003. Production of *Pleurotus ostreatus* and *Flammulina velutipes* using liquid spawn inoculation system. *Kor J Mycol.* 31:22-27(in Korean).
- Jang MJ, Lee YH, Ju YC, Koo HM. 2010. Cultural characteristics by sawdust and liquid spawn for the cultivation of *Neolentinus lepideus*. *Kor J Mycol.* 38:125-129(in Korean).
- Joen SM, Ka KH. 2014. Mycelial growth and extracellular enzyme activities of wood-decaying mushroom strains on solid media. *Kor J Mycol.* 42:40-49(in Korean).
- Kawai G, Kobayashi H, Fukushima Y, Ohsaki K. 1996. Effect of liquid mycelial culture used as a spawn on sawdust cultivation of shiitake (*Lentinula edodes*). *Mycoscience.* 37:201-207.
- Lee BH, Bak WC, Yoon KH. 2006. Comparison of shiitake productivity in sawdust media according to the use of sawdust, plug-shaped and liquid spawn. *Kor J Mycol.* 34:79-83(in Korean).
- Shim KK, Yoo YJ, Koo CD, Kim MK. 2014. Changes of nutrients in media and mycelia on liquid spawn culture of *Lentinula edodes*. *Kor J Mycol.* 42:144-149(in Korean).