

앞새버섯 봉지재배에 적합한 배지조성 연구

김정한^{1*} · 최종인¹ · 지정현² · 원선이³ · 서건식⁴ · 주영철¹

¹경기도농업기술원 버섯연구소, ²경기도농업기술원 작물연구과,
³경기도농업기술원 원예연구과, ⁴한국농업대학 특용작물학과

Investigation on Favorable Substrate Formulation for Bag Cultivation of *Grifola frondosa*

Jeong-Han Kim^{1*}, Jong-In Choi¹, Jeong-Hyun Chi², Sun-Yee Won³,
Geon-Sik Seo⁴ and Young-Cheoul Ju¹

¹Mushroom Research Station, GARES, Gwangju 464-873, Korea

²Division of Crop Research, GARES, Hwasung 445-300, Korea

³Division of Horticulture Research, GARES, Hwasung 445-300, Korea

⁴Department of Industrial crop, KNAC, Hwaseong 445-893, Korea

(Received February 25, 2008. Accepted June 2, 2008)

ABSTRACT: This study was carried out to develop artificial culture method of *Grifola frondosa* in polypropylene bag. To find out the favorable substrate formulation of *G. frondosa*, physicochemical conditions were investigated. The T2 formulation (55 : 25 : 12 : 8) mixing ratio of oak sawdust, oak chip, dried bean-curd refuse and wheat bran showed the shortest time to complete the crop cycle and the highest yield (weight of fresh mushrooms harvested at maturity). Those physicochemical conditions were pH 4.3, 2.4% crude fat contents, 54.1% total carbon, 1.42% total nitrogen, 38.1 C/N ratio, 75.5% porosity and 0.21 g/cm³ bulk density. Among the physicochemical factors, pH, crude fat and total nitrogen may affect mushroom yield. Therefore, development of favorable substrate would be benefit to increase production efficiency of *G. frondosa* mushrooms and be commercial potential.

KEYWORDS : Artificial cultivation, Bag cultivation, *Grifola frondosa*, Substrate formulation, Yield

건강과 참살이에 대한 관심은 고조되고 있는 가운데 인삼이나 베이비 채소와 같은 기능성 농산물의 소비는 꾸준히 증가하고 있다. 앞새버섯은 식용이면서 약리작용이 뛰어난 기능성 버섯으로 인체의 면역세포를 조절하여 면역력을 증가시키고(Wu *et al.*, 2006), 암세포에 대하여 기존의 화학치료제와 병행시 부작용을 줄이면서 효과적으로 암세포를 억제하였으며(Kodama *et al.*, 2005) 그 밖에도 AIDS 원인균인 HIV에 대한 억제작용(Nanba *et al.*, 2000), 혈당강하작용(Talpur *et al.*, 2002), 혈압강하작용(Choi *et al.*, 2001), 콜레스테롤 억제작용(Fukushima *et al.*, 2001), 항산화작용(Mau *et al.*, 2002) 등이 있는 것으로 알려져 있다. 한편, 기존 버섯류의 항암제(표고버섯; *Lentinan*, 치마버섯; *Shizophyllan*)들은 경구투여보다는 주사제에 의해 효과가 있다고 알려져 있으나, 앞새버섯 유래의 β -glucan(*Grifolan*, MD fraction)은 특이한 분자고리에 의해 경구투여로도 항암효과가 있다는 것이 증명되면서 식용가치를 더욱 주목 받게 되었다(Mark, 2001).

앞새버섯은 1981년에 일본에서 325톤이 상업적으로 생산된 이후, 그 생산량이 꾸준히 증가하여 1985년에 1,500톤, 1991년에 8,000톤, 1993년에 10,000톤을 넘어 현재는 전세계적으로 거의 40,000톤 이상 생산되고 있으며(Shen and Royse, 2001), 현재 일본에서도 팽이, 표고, 만가닥 다음으로 생산과 소비가 높은 버섯이다(きのこ年鑑, 2006). 최근 느타리, 팽이버섯, 표고 중심으로 단순하게 진행되어 왔던 국내 버섯산업이 소비자의 다양한 욕구와 기능성 먹거리 선호에 따라 버들송이, 만가닥 등의 다양한 버섯의 재배를 시도하고 있다. 따라서 일부품종의 과잉재배를 해소하고 앞새버섯이 새로운 농가소득원으로 개발하기 위하여 본 시험을 수행하였다.

재료 및 방법

종균 및 접종원 제조

본 시험에 사용된 균주는 경기도농업기술원 버섯연구소의 참앞새(*Grifola frondosa*, (Fr.) S.F. Gray, KME44009)를 공식균주로 PDB(potato dextrose broth) 배지에서 증식시키

*Corresponding author <E-mail : kjh75@gg.go.kr>

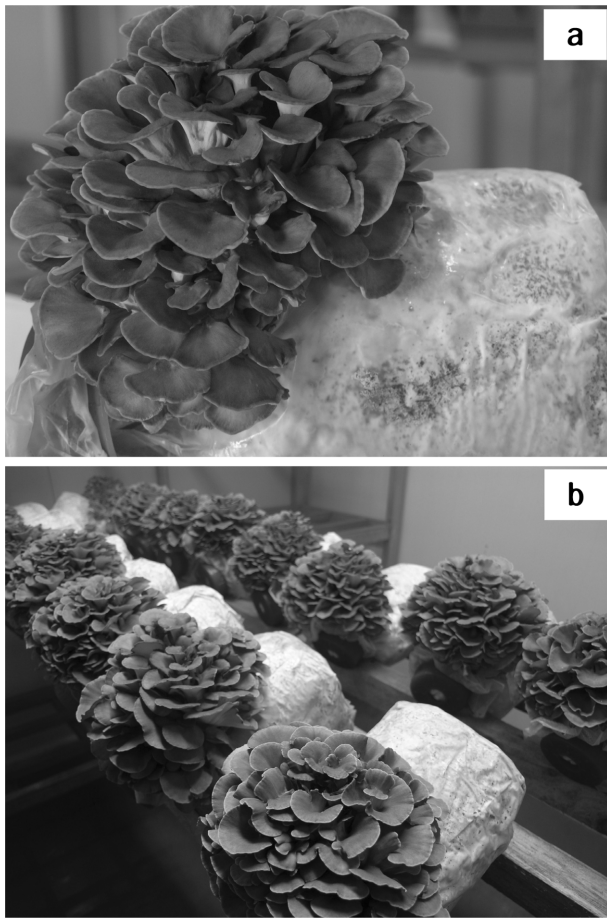


Fig. 1. Isolate KME44009(*Grifola frondosa*) was selected for this study (a) and its fruiting (b) from 55% oak sawdust and 25% of oak chip supplemented with 12% of dried bean-curd refuse and 8% of wheat bran 66 days after inoculation at GARES mushroom research station.

면서 액체종균용 접종원으로 사용하였다(Fig. 1a). 액체종균의 배지조성은 Table 1과 같이 제조하여 18 l 내열성 배양병에 담아 121°C에서 20분간 멸균한 후 접종원을 첨가하여 약 10일간 배양하여 액체종균으로 사용하였다.

배지제조 및 접종

봉지재배에 적합한 배지조성을 찾기 위하여 주재료로 참나무톱밥, 참나무칩, 미루나무톱밥, 콘코브를, 영양원으로 밀기울, 미강, 건비지, 옥수수피를 사용하여 Table 2와 같이 부피비율로 혼합하여 5처리를 두고 수분함량을 60~65%로 조절하였으며, 수분조절된 배지는 2 kg 내열성 P.P봉지에 1.5 kg씩 충전한 후 가볍게 다져 2.0~2.5 cm의 막대

Table 2. The substrate formulation supplemented with various combinations of selected nutrients of *Grifola frondosa* (volume/volume)

Treatment	Major substrate ingredients ^a				Nutrient supplement			
	OS ^b	OC ^c	PS	CC	WB	DSR	CH	RB
T1(ctrl)	75	—	25	—	—	—	—	15
T2	55	25	—	—	8	12	—	—
T3	55	25	—	—	14	—	6	—
T4	30	30	—	20	—	—	—	20
T5	65	25	—	—	—	7	—	3

^aOS: oak sawdust, OC: oak chip, PS: poplar sawdust, CC: corn cobs, WB: wheat bran, DS: dried bean-curd refuse, CH: corn husk, RB: rice bran.

^bOS particle size ratio: ~1 mm 18%, 1~2 mm 64%, 2~4 mm 36%.

^cOC particle size ratio : ~1 mm 8%, 1~2 mm 24%, 2~4 mm 52%, 6 mm ~16%.

기로 구멍을 뚫은 후 필터가 달린 스크류 마개로 봉지의 입구를 막았다. 입봉이 완료되면 배기를 시키가면서 살균을 실시하는데 121°C 도달 후에 60분 이상 유지하였다. 살균을 완료한 배지는 냉각실에서 배지온도를 25°C 이하로 냉각한 후 액체종균 접종기를 이용하여 봉지당 20 ml 씩 분주하면서 접종하였다.

배양 및 생육관리

종균접종이 완료된 배지는 배양실로 옮겨 20°C의 온도에서 소량의 환기를 하고 습도를 60~70% 유지하면서 배양한다. 배지표면을 육안으로 판단하여 균사배양이 완료되고 균사축적이 진행된 배지는 생육실로 옮겨 원기형성 부위의 봉지를 칼로 도려내어 자실체의 발생을 유도하였다. 이때 실내온도는 $16 \pm 1^\circ\text{C}$, 습도는 95% 이상, CO₂ 농도는 1000 ppm이 넘지 않도록 조절하여 생육을 실시하고 버섯이 발생하여 약 2주 정도 경과되면 버섯은 다발로 자라게 되는데 포자가 비산되기 직전에 수확하여 생육조사를 실시하였다(Fig. 1b).

배지의 이화학성 분석

배지재료 및 혼합배지의 수분함량은 105°C 건조중량법으로, pH는 배지재료와 증류수를 1 : 10의 무게비로 혼합하여 1시간 동안 정치한 후 pH meter(MeterLab Ion 450)로 측정하였다. 수집된 배지재료들에 대한 성분분석을 위해 시료를 건조 후 분쇄하여 총탄소는 회화법으로, 총질소 함량은 단백질 자동분석기를(Buchi B-324)를 이용한 Kjeldahl법으로 정량분석 하였다. 또한 조지방 함량은 조지방 자동분석기(Soxtherm 416)를 이용하여 Soxhlet법으

Table 1. The media composition of submerged culture spawn of *Grifola frondosa*

Parched bean flour	Sugar	Wheat powder	KH ₂ PO ₄	MgSO ₄	Corn oil	Distilled water
15 g	200 g	50 g	0.5 g	5 g	10 ml	10 l

로 분석하였으며, 배지의 공극률과 용적밀도는 100 ml 코아용기를 이용하여 측정하였다.

배양 · 생육특성 조사 및 통계분석

배양 및 생육특성은 느타리버섯의 배양 및 생육조사 기준과 농촌진흥청 표준조사법에 준하여 실시하였고, 잎새버섯의 특성에 맞게 일부 변형하여 조사하였으며, 그 결과의 통계처리는 Duncan의 다중범위검정(Duncan's-multiple range test)을 통하여 평균값들에 대한 유의성을 검정하였다. 또한 배지의 이화학적 특성과 버섯의 수량과의 관계는 SAS 프로그램을 이용하여 상관분석을 실시하였다.

결과 및 고찰

배지재료의 화학적 특성은 다음과 같다(Table 3). 주재료 중에서는 참나무톱밥과 참나무칩의 pH가 각각 3.4, 3.5로 낮았는데, 미루나무톱밥은 7.4로 다소 높았다. 일반적인 참나무톱밥의 pH는 5.2로 나타났으나(테이타 없음), 본 시험에 사용된 참나무 톱밥은 야적을 3개월 실시한 톱밥으로 공기중의 산소, 빗물, 효소작용 등에 의해 톱밥이 산화됨에 따라 pH가 낮아진 것으로 판단된다. 영양원 가운데는 건비지와 옥수수피의 pH가 각각 4.7, 4.8로 낮았으며 미강과 밀기울은 각각 6.3, 6.4이었다. 조지방 함량은 톱밥의 종류에 관계없이 0.2~0.3% 수준이었고, 영양원 중에서는 미강이 17.1%로 가장 높은 함량을 보여주었으며, 건비지(4.8%), 밀기울(4.1%), 옥수수피(3.9%)순으로 나타났다. 주재료의 총탄소 함량과 총질소 함량은 유의적인 차가 없었으나, 영양원 가운데 총탄소 함량은 옥수수피

(54.2%) > 건비지(53.7%) > 기울(52.9%) > 미강(51.4%) 순이었으며, 총질소 함량은 건비지(3.2%) > 밀기울(2.5%) > 미강(2.3%) > 옥수수피(1.5%)순으로 나타났다.

혼합배지 처리별 이화학적 특성 다음과 같다(Table 4). 혼합배지의 pH는 참나무톱밥과 참나무칩만을 주재료로 사용된 T2, T3, T5가 각각 4.4, 4.6, 4.3으로 pH가 낮았으나 T1과 T4는 각각 5.3, 5.9로 상대적으로 높게 나타났다. 일반적으로 pH는 균사의 생장에 관여하는 중요한 요소로서 잎새버섯은 pH 4~5에서 균사생장이 양호한 것으로 알려져 있는데(정, 1996; 지 등, 2007), T2, T3, T5의 pH가 최적범위 내에 포함되는 것으로 나타났다. 한편, T1과 T4의 pH가 높게 나타난 이유는 pH가 비교적 높은 원재료인 미루나무톱밥(7.4), 콘코브(5.1), 미강(6.3)에 의한 것으로 추정된다.

조지방 함량은 주로 미강이 많이 함유된 처리구에서 상대적으로 높게 나타났으며 T4가 6.6%로 가장 많이 함유되었다. 총탄소 함량은 유의적인 차이를 보이지 않았으나 총질소 함량은 건비지와 밀기울이 사용된 T2가 1.42%로 가장 높았으며 T1(0.92%), T5(0.89), T4(0.85), T3(0.74) 순으로 나타났다. 배지의 C/N율은 자실체의 형성과 수율에 영향을 주는 것으로, 일반적으로 C/N율이 낮을수록 부식속도가 빠르다고 한다(Philippoussis *et al.*, 2002). 본 연구소의 잎새버섯 10계통의 생리실험결과도 C/N율 10~20에서 균사생장이 양호한 것으로 나타나(지 등, 2007), 영양원 요구도가 비교적 높은 것으로 조사되었다. 조성배지의 C/N율 분석결과 T2가 38.1로 가장 낮게 조사되어 영양원의 비율이 다른 처리구보다 높은 것으로 나타났으며, T1(58.4), T5(61.1), T4(63.1), T3(73.5) 순으로 조사되

Table 3. Chemical properties of raw materials for substrate formulation

Raw materials of substrate		pH (1:10)	Crude fat (%)	Total carbon (%)	Total nitrogen (%)	C/N ratio
Major substrate ingredients	OS	3.4	0.2	55.3	0.2	276
	OC	3.5	0.3	54.9	0.2	274
	PS	7.4	0.2	55.0	0.2	275
	CC	5.1	0.4	54.3	0.4	135
Nutrient supplements	DSR	4.7	4.8	53.7	3.2	16
	CH	4.8	3.9	54.2	1.5	36
	RB	6.3	17.1	51.4	2.3	22
	WB	6.4	4.1	52.9	2.5	21

Table 4. Physiochemical properties of the substrate formulation supplemented with various combinations of selected nutrients of *Grifola frondosa*

Treatment	Moisture (%)	pH (1 : 10)	Crude fat (%)	Total carbon (%)	Total nitrogen (%)	C/N ratio	Porosity (%)	Bulk density (g/cm ³)
T1	63.5	5.3	4.8	53.7	0.92	58.4	73.1	0.23
T2	60.0	4.4	2.4	54.1	1.42	38.1	75.5	0.21
T3	62.8	4.6	1.3	54.4	0.74	73.5	75.0	0.21
T4	60.6	5.9	6.6	53.6	0.85	63.1	74.0	0.21
T5	60.4	4.3	1.8	54.4	0.89	61.1	73.3	0.21

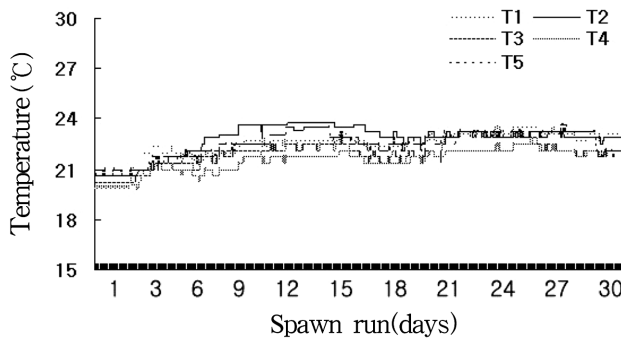


Fig. 2. Changes of temperature of the various substrate formulation during spawn run of *Grifola frondosa*.

었다. 주재료 형태와 공극률 또한 균사의 배양기간에 직접적으로 영향을 주는 것으로 알려져 있는데(Philippoussis *et al.*, 2003), 조성배지의 물리성 분석결과 T1(대조구)의 공극률이 73.1%로 참나무칩이 첨가된 T2, T3, T4, T5 처리구보다 상대적으로 낮았다. 또한 용적밀도는 참나무칩 첨가구(T2~T5)가 0.21 g/cm³로 T1의 0.23 g/cm³에 비해 가벼운 것으로 나타났다. 이상의 결과, T2의 배지조성이 다른 처리구보다 앞새버섯의 균사생장에 더 적합한 것으로 생각된다.

균사배양중 봉지배지 내부의 배지품온 변화는 다음과 같다(Fig. 2). 배양 초기의 온도는 20°C이었으나 균사의 배양기간이 경과함에 따라 모든 처리구의 온도가 서서히 올라가 12일째 23°C에 도달하여 유지되다가 15일을 기점으로 다시 낮아지는 경향을 보였다. 균사배양중 배지품온의 상승은 균사가 배지내 양분을 흡수, 분해하면서 발생

되는 에너지 때문이며, T2의 배지품온의 상승이 높았던 것은 균사배양이 다른 처리구보다 활발하게 이루어졌기 때문으로 여겨진다.

배지조성별 균사배양 특성은 Table 5와 같다. 균사배양 일수는 T2와 T5가 41일로 가장 짧았으나 이에 비해 T1(대조구)은 47일로 6일 가량 늦은 것으로 조사되었다. 균사배양완성률은 T2와 T5가 각각 98.0%, 95.0%로 양호하였으나, T1은 42.5%로 앞새버섯의 균사배양이 원활하지 않음을 알 수 있었다. 초발이 소요일수는 T2가 8일로 가장 짧았으며 T5는 9일, T3은 12일, T1은 15일 순으로 나타났다. T4는 발이가 되지 않았다. 일반적으로 발이과정은 영양생장을 계속한 2핵 균사가 영양원, 광, 온도 등의 자극을 받아 자실체 원기를 형성한다고 알려져 있는데(조 등, 1994), 본 실험결과, T4가 버섯 발생에 필요한 물질을 충분히 공급받지 못해 발이가 진행되지 않은 것으로 생각된다. 전체적으로 재배일수는 T2가 66일로 대조구(T1)의 79일 보다 약 13일 정도 단축된 것으로 나타났다.

배지조성별 자실체 특성은 Table 6과 같다. 갓 크기에서는 큰 차이를 보이지 않았으나 T2와 T5의 다발 크기가 대조구(T1)보다 큰 것으로 나타났다. 수량은 배지중량이 1.5 kg으로 충전된 봉지배지에서 T2가 338.0 g, T5가 234.8 g, T3가 205.4 g, T1이 145.2 g 순으로 나타났으며, T2가 T1(대조구) 보다 약 2.2배 이상 증수되는 것으로 나타났다.

배지의 이화학적 특성중 버섯수량에 가장 큰 영향을 주는 요인을 찾고자 상관분석을 실시한 결과(Table 7), pH가 버섯수량에 가장 높은 상관($r = -0.92$)을 보였으며, 조지방함량($r = -0.83$) 및 질소함량($r = -0.64$)순으로 나타났다.

Table 5. Cultural characteristics in the bag cultivation with the various substrate formulation of *Grifola frondosa*

Treatment	Spawn run time (days)	Completed rate of spawn run (%)	Primordia development time (days)	Fruiting body development time (days)	Crop cycle time (days)
T1	47	42.5	15	17	79
T2	41	98.0	8	17	66
T3	45	77.5	12	18	75
T4	44	72.5	—	—	—
T5	41	95.0	9	18	68

Table 6. Morphological characteristics and productivity in the bag cultivation with the various substrate formulation of *Grifola frondosa*

Treatment	Fruiting body					Yield (g/1.5 kg bag)
	Cluster		Pileus			
	Diameter (mm)	Height (mm)	Width (mm)	Length (mm)	Thick-ness (mm)	
T1	128.8	92.8	38.7	26.7	1.1	145.2 ^d
T2	152.0	111.8	35.2	23.3	1.6	338.0 ^a
T3	149.8	84.9	31.8	22.1	1.2	205.4 ^c
T4	—	—	—	—	—	—
T5	159.8	84.5	30.8	23.9	1.5	234.8 ^b

^{a-d} Different letters within a column are significantly different ($p < 0.05$).

Table 7. Correlation coefficient between physiochemical factors of various substrate and yield of *Grifola frondosa*

pH	Crude fat	Total nitrogen	C/N	Bulk density	Porosity
-0.92	-0.83	0.641	-0.55	-0.43	0.48

다. 한편, 본 연구소에서 수행한 잎새버섯 수집 10계통 (KME44001~44010)의 생리실험결과 pH는 4.0~5.0으로 약산성에서 균사생장이 우수하였으며, 최적 C/N을 범위도 10~20으로 영양원의 요구도가 다소 높은 것으로 조사되었다 (지 등, 2007). 이상의 결과를 종합해보면 T2 배지 조성이 pH 4.4, 조지방함량 2.4%, C/N을 38.1로서 다른 처리의 배지조성보다 균사생장에 더 적합하였기에 수량성에 영향을 끼친 것으로 판단된다.

적 요

잎새버섯을 연중 안정적으로 생산할 수 있는 배지를 개발하기 위하여 주재료로 참나무톱밥, 미루나무톱밥 등 4종, 영양원으로 건비지, 미강 등 4종을 혼합하여, 혼합비율별 5처리로 시험을 수행하여 배지재료 및 배지조성별 이화학적 특성을 분석하고 균사배양 및 수량적 특성을 조사한 결과는 다음과 같다. 배지재료별 pH는 참나무톱밥과 참나무칩이 3.4~3.5, 건비지와 옥수수피가 4.7~4.8로 비교적 낮게 나타났고 조지방 함량은 미강이 17.1%로 가장 높았으며, 질소함량은 건비지가 3.2%로서 가장 높게 조사되었다. 배지조성별 pH는 T2, T3, T5 처리가 4.3~4.6으로 T1, T4에 비해 낮았으며, 조지방 함량은 미강의 함량이 많은 T4가 높았고, 질소함량은 T2가 건비지가 12% 함유되어 높게 나타났으며 따라서 C/N율은 T2에서 상대적으로 낮게 나타났다. 배지조성별 용적밀도는 T1이 0.233 g/cm³로 T2~T5의 0.205~0.214 g/cm³에 비해 높았으나, 공극률은 처리간의 유의적인 차이가 없었다. 균사 배양일수는 T2, T5가 26일로 T1(관행)에 비해 6일 정도 짧았으며, 균사배양 완성율도 각각 98, 95%로 우수하였다. T2의 초발이 소요일수는 8일로 관행의 15일보다 7일 정도 짧아 전체 재배일수가 13일가량 단축되었으며, 수량은 338 g/1.5 kg 봉지로 T1(관행) 대비 2.3배 증수되었다. 배지의 이화학적 특성중 수량에 영향을 미치는 요인을 찾기위해 상관분석을 실시한 결과 pH, 조지방함량, 질소함량 순으로 나타났다.

감사의 글

본 연구결과는 농촌진흥청 현장협력기술개발과제 연구비지원의 일부결과이며, 연구비 지원에 감사드립니다.

참고문헌

- 정인창. 1996. 잎새버섯(*Grifola frondosa* 9006)의 균사체 배양조건. 서라벌대학 논문집 19:95-109
- 조수목, 서건식, 유익동, 신관철. 1994. 영지버섯 백색변이주의 광 및 온도에 의한 생리적 반응. 한국산업미생물학회지 22: 115-119.
- 지정현, 김정환, 원선이, 서건식, 주영철. 2007. 잎새버섯 균주의 균사체 생육 최적조건. 한국균학회지 35:76-80.
- きのこ年鑑. 2006. (株)ブラソツワルド.
- Choi, H. S., Cho, H. Y., Yang, H. C., Ra, K. S. and Suh, H. J. 2001. Angiotensin I-converting enzyme inhibitor from *Grifola frondosa*. *Food Res. Intl.* 34:177-182.
- Fukushima, M., Ohashi, T., Fujiwara, Y., Sonoyama, K. and Nakano, M. 2001. Cholesterol-lowering effects of maitake (*Grifola frondosa*) fiber, shitake (*Lentinus edodes*) fiber, and enokitake (*Flammulina velutipes*) fiber in rats. *Soc. Exp. Biol. Med.* 226:758-765.
- Kodama, N., Murata, Y., Asakawa, A., Inui, A., Hayashi, M., Sakai, N. and Nanba, H. 2005. Maitake D-fraction enhances antitumor effects and reduces immunosuppression by mitomycin-C in tumor-bearing mice. *Nutrition* 21:624-629.
- Mark, M. 2001. Maitake extracts and their therapeutic potential-A review. *Altern. Med. Rev.* 6:48-60.
- Mau, J. L., Lin, H. C. and Song, S. F. 2002. Antioxidant properties of several specialty mushrooms. *Food. Res. Intl.* 35:519-526.
- Nanba, H., Kodama, N. Schar, D. and Turner, D. 2000. Effects fo maitake (*Grifola frondosa*) glucan in HIV-infected patients. *Mycosci.* 41:293-295.
- Phillippoussis, A., Diamantopoulou, P. and Zervakis, G. 2002. Monitoring of mycelium growth and fructification of *Lentinula edodes* on several lignocellulosic residues. pp. 279-287. In Sanchez, J. E., Huerts, G. and Montiel, E. Eds. Mushroom Biology and Mushroom products. UAEM, Cuernavaca, Mexico.
- Phillippoussis, A., Diamantopoulou, P. and Zervakis, G. 2003. Correlation of the properties of several lignocellulosic substrates to the crop performance of the shitake mushroom *Lentinula edodes*. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 19:551-557.
- Shen, Q. and Royse, D. J. 2001. Effects of nutrient supplements on biological efficiency, quality and crop cycle time of maitake (*Grifola frondosa*). *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 57:74-78.
- Talpur, N. A., Echard, B. W., Fan, A. Y., Jaffari, O., Bagchi, D. and Preuss, H. G. 2002. Antihypertensive and metabolic effects of whole maitake mushroom powder and its fractions in two rat strains. *Mol. Cell. Biochem.* 237:129-136.
- Wu, M. J., Cheng, T. L., Cheng, S. Y., Lian, T. W., Wang, L. and Chiou, S. Y. 2006. Immunomodulatory properties of *Grifola frondosa* in submerged culture. *J. Agric. Food Chem.* 54:2906-2914.