RESEARCH ARTICLE

유기산을 이용한 pH 조절 처리가 잎새버섯 자실체 발이 및 생산성에 미치는 영향

김정한[1], 장명준[2,*]
[1]경기도농업기술원 버섯연구소
[2]공주대학교 산업과학대학 식물자원학과

Effects of Organic Acid Addition on Fruiting Productivity and Primordium Formation in *Grifola frondosa*

Jeong-Han Kim[1], Myoung-Jun Jang[2,*]
[1]Mushroom Research Institute, Gyeonggido Agricultural Research & Extension Services, Gwangju 12805, Korea
[2]Department of Plant Resources, Kongju National University, Yesan 32439, Korea

*Corresponding author: plant119@kongju.ac.kr

ABSTRACT

This study was performed to develop a useful method for substrate pH adjustment in bottle cultivation of *Grifola frondosa*. Four types of organic acid solution—citric acid, malic acid, tartaric acid, and succinic acid—were added at 0.5% to 3.0% (w/v) into the substrate. The pH after the organic acid treatments ranged from 3.8 to 4.8 for the mycelial growth of *G. frondosa* after sterilization. Supplementation with succinic acid at 0.5% resulted in a shorter cultivation period and higher consistent yields compared to other organic acid treatments. These results indicate that the technique we developed is beneficial for higher production of *G. frondosa* using bottle cultivation.

Keywords: Bottle cultivation, *Grifola frondosa*, Organic acid, pH adjustment, Productivity

Check for updates

OPEN ACCESS

pISSN : 0253-651X
eISSN : 2383-5249

Kor. J. Mycol. 2019 September, 47(3): 233-40
https://doi.org/10.4489/KJM.20190027

Received: July 31, 2019
Revised: September 20, 2019
Accepted: September 24, 2019

© 2019 THE KOREAN SOCIETY OF MYCOLOGY.

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

서론

잎새버섯(*Grifola frondosa*)은 주름버섯강(Agaricomycetes) 구멍장이버섯목(Polyporales) 왕잎새버섯과(Meripilaceae) 잎새버섯속(*Grifola* spp.)에 속하는 버섯으로 가을에 참나무 고목에 사물기생하여 다발로 발생하는 백색목재부후균으로 우리나라를 비롯한 동아시아, 유럽, 북미 등에 분포되어 있다[1].

잎새버섯은 식용이면서 약리작용이 뛰어난 기능성 버섯으로 항암작용[2, 3], 항바이러스작용[4], 혈중 콜레스테롤 저해작용[5], 항산화작용[6] 등이 있는 것이 보고된 후 생산과 소비가 꾸준히 증가하였다. 잎새버섯은 1981년에 일본에서 325톤이 상업 생산된 후, 꾸준히 생산량이 증가하여

현재는 전 세계적으로 약46,000톤 이상 생산되고 있으며[7], 이는 우리나라 느타리버섯의 생산량과 맞먹는 규모이다. 우리나라에서도 2018년에 잎새버섯 우량계통인 '대박'이 육성되고 인공재배법이 개발되었으나[8], 현재까지 많이 확산되지는 못하고 있는 실정이다.

일반적으로 버섯의 균사생장에 적합한 pH는 버들송이는 7.0[9], 느타리버섯은 5.0~6.0[10], 큰느타리버섯은 6.0[11]으로, 대부분 중성부근에서 균사생장이 우수하다고 알려졌으나, 잎새버섯과 꽃송이버섯은 pH 4.0~5.0로서 약산성 부근에서 균사생장이 우수한 것으로 보고되었다[12, 13]. 또한 본 연구진의 잎새버섯 봉지재배법 개발 선행연구에서, 배지의 이화학성 중 버섯수량에 영향을 주는 요인을 분석한 결과 배지 pH가 잎새버섯의 수량에 영향을 끼치는 것으로 나타났다[12]. 그러나 현재 배지의 pH를 높일 수 있는 첨가제(탄산칼슘, 패화석분 등)는 많이 알려져 있으나, pH를 낮출 수 있는 첨가제에 대해서는 연구가 미흡한 실정이다. 따라서 본 연구는 잎새버섯 안정생산을 위한 적합 pH 조절제를 선발하기 위하여 수행되었다.

재료 및 방법

접종원 및 액체종균 제조

본 실험에 사용된 균주는 경기도농업기술원 버섯연구소에서 수집 선발한 '참' 잎새버섯(*Grifola frondosa*, (Fr.) S.F. Gray)을 PDB (potato dextrose broth, BD Difico, USA) 배지에서 증식시키면서 액체종균용 접종원으로 사용하였다. 배지조성은 증류수 10 L 기준으로 대두박 15 g, 설탕 200 g, 밀가루 50 g, $MgSO_4$ 5 g, KH_2PO_4 0.5 g, 식용유 10 mL를 첨가하여 18 L 내열성 배양병에 담아 121°C에서 20분간 멸균하여 식힌 후 접종원을 100 mL 접종하여 약 10일간 배양하여 액체종균으로 사용하였다.

배지의 pH 조절 및 접종

잎새버섯 재배용 배지조성은 주재료로 참나무톱밥(80%)을 사용하였고 여기에 영양원으로 건비지와 옥수수피를 각각 5%, 15%를 부피 비율로 첨가하였다. 또한 사전에 수분함량을 60%로 조절하기 위한 물 투입량을 산출하여, 여기에 pH 조절제로 식품첨가용 구연산, 사과산, 주석산, 호박산을 이용하였다. 유기산 첨가수준은 물 투입량의 0.5, 1, 1.5, 2, 3%가 되도록 농도를 조절한 뒤 잘 용해시켜 혼합배지에 첨가하였다. 그리고 850 mL 병당 배지를 500 g씩 충진하여, 121°C에서 90분간 고압살균 후 20°C이하로 냉각하여 액체종균 자동접종기를 이용하여 병당 15 mL씩 접종하였다. pH 조절에 따른 혼합배지의 경시적 균사생장정도를 측정하기 위해 20×200 mm 시험관을 이용하여 위의 pH 처리별 혼합배지를 충진한 후 121°C에서 40분간 고압 살균하였다. 그리고 접종원으로 페트리디시에서 생장한 균사체를 직경 5 mm의 코르크보러로 절단한 균사체 2개를 접종한 후 21±1°C의 항온실에서 배양시키면서 경시적으로 균사생장 길이를 조사하였다.

배양 및 생육 특성 조사

종균접종이 완료된 배지는 배양실로 옮겨 21±1°C의 온도에서 소량의 환기를 시켜가면서 배양하고 병의 배양 상단의 공간에 균사가 모여 축적될 때까지 후숙을 실시하였다. 배양 및 생육 특성

은 느타리버섯의 배양 및 생육조사 기준과 농촌진흥청 표준조사법에 준하여 실시하되, 발이일수는 균사생장이 완료되어 입상한 시점에서 전체 발이 물량의 70% 이상 발이가 형성된 시점의 기간이며, 수확기간은 자실체 첫수확부터 끝날 때까지의 기간을 조사하였다. 또한, 자실체의 생육조사는 잎새버섯의 특성에 맞게 일부 변형하여 조사하였다[14,15]. 그 결과의 통계처리는 SAS 프로그램을 이용하여 Duncan의 다중범위검정(Duncan's-multiple range test)을 통하여 평균값들에 대한 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

본 실험에 사용된 기본배지는 참나무톱밥+건비지+옥수수피(80:5:15, v/v)로서 살균 전의 pH가 6.1, 조지방함량 2.4, C/N율은 54로 측정되었다. 유기산 첨가에 따른 잎새버섯 균사생장 정도를 컬럼테스트를 이용하여 측정한 결과(Table 1, Fig. 1), 0.5% 농도의 유기산 처리구가 대조구 및 다른 농도 처리구보다 균사생장이 우수하였고, 이중에서도 호박산 처리구가 균사생장이 가장 빠른 것으로 나타났다. 그러나, 유기산의 첨가농도가 높을수록 균사생장은 억제되는 경향으로 특히, 사과산과 주석산은 1.0%이상부터 균사생장이 억제되었다.

유기산 첨가에 따른 배양중 배지의 pH 변화는 Table 2와 같다. 배지혼합을 위해 첨가되는 물의 pH가 7.8이었는데, 여기에 유기산을 첨가농도별로 용해시켜 용액으로 제조했을 때, 유기산 첨가수준이 높을수록 용액의 pH는 낮아지는 경향을 보였다. 대조구는 살균 전 pH가 6.1이었으나 살균

Table 1. Mycelial growth of *Grifola frondosa* by organic acids addition

Organic acid	Concentration (%)	Incubation (days)			
		8	15	22	29
Citric acid	0.5	40[a]	60	78	97
	1.0	26	48	74	90
	1.5	22	46	68	79
	2.0	13	31	45	54
	3.0	12	25	38	53
Malic acid	0.5	15	47	71	91
	1.0	18	40	60	79
	1.5	15	34	49	59
	2.0	13	29	43	57
	3.0	8	18	28	43
Tartaric acid	0.5	22	54	77	91
	1.0	15	40	56	69
	1.5	12	33	54	71
	2.0	13	25	40	51
	3.0	4	16	23	28
Succinic acid	0.5	29	55	81	105
	1.0	18	50	82	100
	1.5	18	42	65	89
	2.0	15	31	50	63
	3.0	16	39	56	66
Control		36	49	64	70

[a] length of hyphae growth on Column

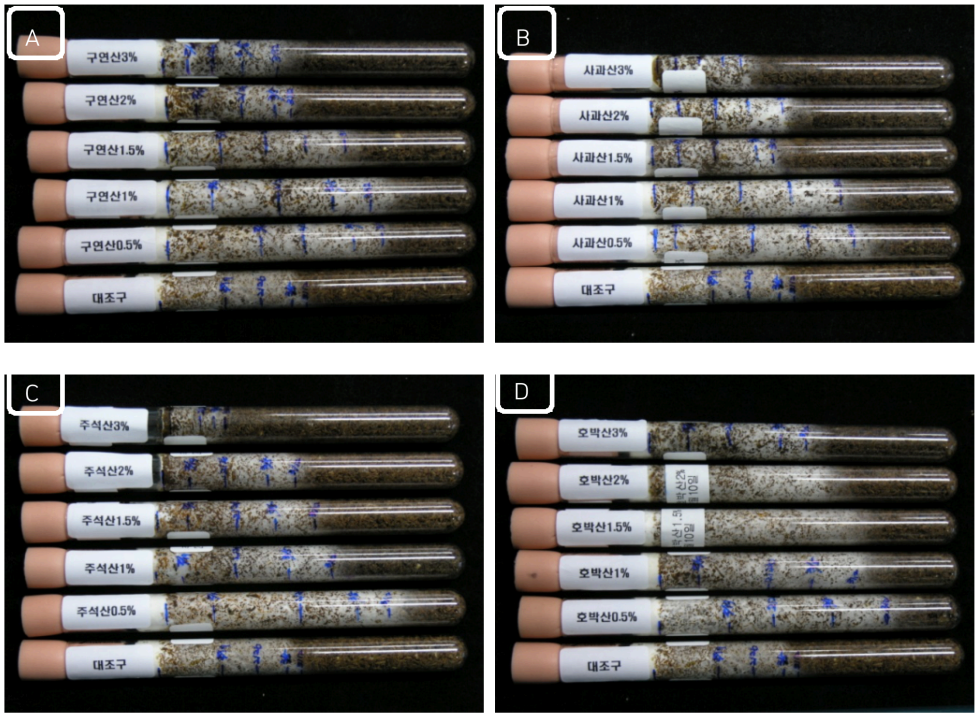

Fig. 1. Mycelial growth of *Grifola frondosa* by organic acid addition (29 days of incubation). A, citric acid. B, malic acid. C, tartaric acid. D, succinic acid

Table 2. Changes in pH of substrates of *Grifola frondosa* by organic acids addition

Organic acid	Concentration (%)	pH of solution	pH of substrates before sterilization	pH of substrates after sterilization	Incubation period (days)					
					5	10	15	20	25	30
Citric acid	0.5	2.5	5.0	4.8	4.7	4.7	4.8	4.9	5.3	5.2
	1.0	2.1	4.4	4.4	4.4	4.4	4.3	4.7	4.6	4.5
	1.5	2.0	4.2	4.2	4.3	4.1	4.2	4.3	4.7	4.4
	2.0	2.0	3.9	4.1	4.1	3.9	3.9	4.1	4.2	4.1
	3.0	2.0	3.6	4.3	3.9	3.7	3.7	4.0	4.1	4.0
Malic acid	0.5	2.5	4.8	4.7	4.6	4.7	4.7	4.9	5.4	4.8
	1.0	2.3	4.2	4.3	4.3	4.3	4.2	4.9	5.0	5.1
	1.5	2.2	4.0	4.2	4.2	4.1	4.0	4.1	4.9	4.2
	2.0	2.2	3.8	4.0	4.0	3.9	3.8	3.9	4.2	4.1
	3.0	2.1	3.5	3.8	3.7	3.6	3.6	3.7	3.7	3.6
Tartaric acid	0.5	2.5	4.7	4.6	4.7	4.5	4.5	4.7	4.9	4.7
	1.0	2.3	4.2	4.3	4.3	4.2	4.2	4.2	4.4	4.2
	1.5	2.1	3.8	4.2	4.0	3.9	3.8	4.0	4.1	3.9
	2.0	2.0	3.6	3.9	3.8	3.7	3.4	3.8	3.8	3.8
	3.0	1.9	3.2	3.5	3.5	3.4	3.6	3.5	3.5	3.4
Succinic acid	0.5	2.8	4.9	4.7	4.6	4.6	4.7	4.6	5.0	4.9
	1.0	2.6	4.4	4.5	4.6	4.5	4.5	4.7	4.9	4.9
	1.5	2.5	4.3	4.3	4.4	4.3	4.4	4.5	5.1	5.1
	2.0	2.5	4.2	4.4	4.3	4.2	4.2	4.4	4.4	5.1
	3.0	2.4	3.9	4.1	4.1	4.2	4.0	4.1	4.3	4.1
Control		7.8	6.1	5.3	5.3	5.3	5.3	5.3	5.1	4.8

후에는 pH가 5.3으로 급격하게 떨어졌으며, 유기산 처리구는 0.5%수준에서는 pH가 4.8~5.0, 1% 수준에서는 4.2~4.4, 1.5%수준에서는 3.8~4.3, 2%수준에서는 3.6~4.2, 3%수준에서는 3.2~3.9사이로 유기산의 첨가농도가 높을수록 혼합배지의 pH는 낮아지는 경향이었다. 또한 유기산 처리구는 대조구와는 달리 살균 전과 후의 pH의 급격한 변화는 관찰되지 않았다. 배양경과에 따라 대조구의 pH는 6.1에서 4.8로 서서히 낮아지는 반면, pH 조절제 처리구는 배양기간 중 큰 변화가 없었다.

한편, 잎새버섯은 일반적으로 균사생장 최적 pH 범위가 계통간의 차이는 있지만 pH 4~5범위의 약산성으로 알려져 있는데[12, 14], 본 실험에서는 혼합배지의 살균 후 pH를 기준으로, 구연산은 0.5~3%, 사과산은 0.5~2%, 주석산은 0.5~1.5%, 호박산 0.5~3%로 첨가했을 때 잎새버섯의 균사생장 최적 pH 범위내에 있는 것으로 나타났다.

유기산 첨가농도에 따른 잎새버섯 발이율은(Table 3), 대조구의 발이개시일은 7일로 나타났으나, 0.5%의 구연산, 사과산, 호박산 처리구에서는 6일째 발이가 개시되었다. 그러나 1.0% 이상의 유기산 처리구 모두 발이개시일이 지연되거나 발이율이 현저하게 떨어지는 경향이었으며, 특히 사과산과 주석산의 발이억제 현상이 두드러지게 관찰되었다. 발이경과일수가 늘어남에 따라 발이율은 서서히 증가하다가 발이 16일에 대조구의 발이율이 60%인 반면 0.5% 호박산 처리구는 95%, 0.5% 구연산 처리구는 92.5%, 0.5%의 주석산과 사과산 처리구는 80%로 각각 나타났다.

유기산 첨가농도에 따른 생육단계별 소요기간을 측정한 결과(Table 4), 배양일수는 대조구가 35일인데 비해 0.5%의 구연산, 호박산, 사과산 처리구는 30~31일로 대조구보다 4~5일 단축되었다.

Table 3. The ratio of primordium formation of *Grifola frondosa* by organic acids addition

Organic acid	Concentration (%)	Incubation period (days)										
		6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Citric acid	0.5	12.5	25	35	37.5	37.5	55	67.5	67.5	85	92.5	92.5
	1.0	-[a]	12.5	15	17.5	17.5	25	22.5	25	32.5	35	35
	1.5	-	-	-	-	5	5	7.5	7.5	7.5	15	15
	2.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	3.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Malic acid	0.5	5	32.5	45	45	47.5	52.5	60	70	72.5	80	80
	1.0	-	-	-	15	15	17.5	20	22.5	30	40	40
	1.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	3.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Tartaric acid	0.5	-	15	30	35	50	55	57.5	60	65	72.5	80
	1.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	3.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Succinic acid	0.5	10	35	35	45	57.5	75	85	92.5	95	95	95
	1.0	-	-	-	15	20	20	27.5	27.5	30	30	30
	1.5	-	-	-	5	10	10	10	15	15	15	15
	2.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	3.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Control		-	10	15	20	20	30	35	45	50	57.5	60

[a] non-primordia formation

Table 4. Cultivation properties of *Grifola frondosa* by organic acid addition

Organic acid	Concentration (%)	Incubation period (days)	Primordium formation (days)	Fruiting body development (days)	Cultivation period (days)
Citric acid	0.5	31	12	11	54
	1	36	13	11	60
	1.5	38	15	12	65
	2	-[a]	-	-	-
	3	-	-	-	-
Malic acid	0.5	31	12	11	54
	1	35	14	11	60
	1.5	-	-	-	-
	2	-	-	-	-
	3	-	-	-	-
Tartaric acid	0.5	34	12	12	58
	1	-	-	-	-
	1.5	-	-	-	-
	2	-	-	-	-
	3	-	-	-	-
Succinic acid	0.5	30	11	11	52
	1	35	12	11	58
	1.5	40	13	12	65
	2	-	-	-	-
	3	-	-	-	-
Control		35	13	11	59

[a] non-primordia formation

또한 발이일수는 대조구가 13일인데 비해 호박산이 11일로 가장 빠르고, 그 다음 구연산이 12일로 나타났으며, 유기산 첨가농도가 높을수록 발이일수가 지연되는 경향이었다. 총 재배기간은 0.5% 호박산이 52일, 0.5% 구연산과 사과산 처리구가 54일, 0.5%의 주석산과 1%의 호박산 처리구가 58일로 나타났으나, 그 외의 처리구는 대조구(59일)보다 지연되는 것으로 나타났다.

유기산 첨가에 따른 잎새버섯 자실체 생산성을 보기 위하여 3회 재배 시 평균 수량을 조사하였다(Table 5). 대조구의 병당 수량이 87.5 g인데 비해 0.5% 호박산 처리구가 121 g, 0.5% 구연산 처리구가 107 g순으로 나타났으며, 두 처리간의 유의성은 없었다. 또 0.5% 사과산 처리구는 병당 수량이 95.7 g으로 대조구와 비슷한 수량을 보여주었으나, 0.5% 주석산 처리구는 73.4 g으로 대조구보다 수량이 낮게 나타나 이 두 종류의 유기산은 잎새버섯의 생산에 적합하지 않는 것으로 판단된다. 또한, 1.0% 이상의 모든 유기산 처리구에서 발이가 억제되거나 버섯 발생이 되지 않는 것으로 나타나 일정 수준 이상의 유기산 첨가는 자실체 발생을 오히려 방해할 것으로 판단된다.

이상의 결과를 종합하면, 잎새버섯의 안정한 생산을 위해 배지의 pH를 조절하기 위해서 호박산을 0.5% 농도로 첨가하면 살균 후 혼합배지의 pH가 4.7로 조절되며 균사생장과 발이가 촉진되어 자실체 생산성을 향상시키는 것으로 나타났다.

Table 5. Yield of *Grifola frondosa* by organic acids addition

Organic acid	Concentration (%)	Yield (g/bottle)			Average Yield (g/bottle)	CV[g]
		1st	2nd	3rd		
Citric acid	0.5	100.3	104.7	116.0	107.0[ab]	7.6
	1.0	66.0	75.0	56.3	65.7[de]	14.2
	1.5	42.6	9.6	47.6	33.3[f]	62.1
Malic acid	0.5	89.9	104.1	93.1	95.7[bc]	7.9
	1.0	72.0	101.0	83.2	85.4[bcd]	17.1
Tartaric acid	0.5	85.3	58.4	76.6	73.4[cde]	18.7
Succinic acid	0.5	107.2	125.5	130.3	121.0[a]	10.1
	1.0	32.1	52.3	65.3	49.9[ef]	33.5
	1.5	62.0	48.3	47.2	52.5[ef]	15.7
Control		62.0	90.4	110.0	87.5[bcd]	27.6

[a-f] Different letters within a column are significantly different ($p < 0.05$)

[g] Coefficient of variation

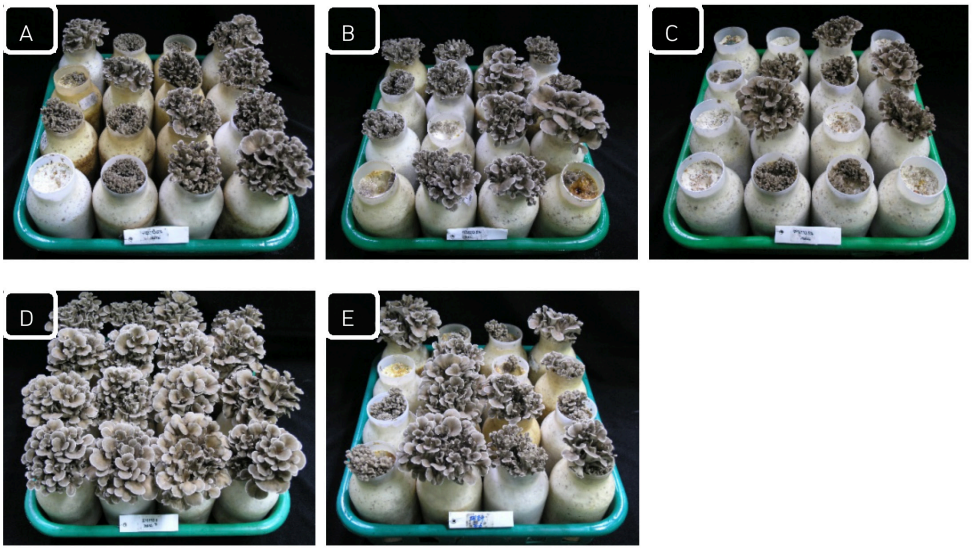

Fig. 2. Morphological properties of *Grifola frondosa* by organic acids addition. A, citric acid (0.5%: 54 days after inoculation, 1%: 60 days after inoculation, 1.5%: 65 days after inoculation, 2 and 3%: non-primordia formation). B, malic acid (0.5%: 54 days after inoculation, 1%: 60days after inoculation, 1.5 – 3%: non-primordia formation). C, tartaric acid (0.5%: 58 days after inoculation, 1 – 3%: non-primordia formation). D, succinic acid (0.5%: 52 days after inoculation, 1%: 58 days after inoculation, 1.5%: 65 days after inoculation, 2 – 3%: non-primordia formation). E, control (59 days after inoculation).

적요

잎새버섯 안정생산을 위하여 배지의 pH를 적정하게 조절할 수 있는 방법을 개발하고자 유기산을 이용한 pH 조절 및 적정 첨가농도를 구명하기 위하여 수행하였다. 혼합배지에 4종의 유기산(구연산, 호박산, 사과산, 주석산)를 5수준(0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3%)으로 처리하여 균사생장정도를 측정한 결과 유기산 0.5% 수준에서 균사생장이 빨랐으며, 그 중에서도 호박산이 가장 우수하였다.

유기산의 첨가농도가 높을수록 혼합배지의 pH는 낮아지는 경향으로 배양기간 경과에 따라 대조구의 pH는 서서히 낮아지는 경향을 보인 반면 유기산 처리구는 유지되는 경향이었다. 발이율은 0.5%의 농도에서 호박산이 95%, 구연산 92.5%, 사과산과 주석산 80%로 대조구의 60%보다 우수하였다. 그러나 유기산의 농도가 1% 이상에서는 발이가 지연되거나 억제되는 경향을 보여주었다. 배양기간은 유기산 0.5% 처리구가 30～34일로 대조구의 35일보다 빠른 것으로 나타났으며, 전체 재배기간은 0.5% 호박산이 52일, 0.5%의 구연산과 사과산이 54일, 0.5%의 주석산이 52일로 대조구의 59일보다 빠른 것으로 나타났다. 병당 수량성은 0.5%의 호박산과 구연산 첨가 시 각각 121 g, 107 g으로 가장 우수하였고 대조구의 87.5 g에 비해 21～37% 증수되었다.

REFERENCES

1. Mark, M. Maitake extracts and their therapeutic potential - A review. Altern Med Rev 2001;6:48-60.
2. Wu MJ, Cheng TL, Cheng SY, Lian TW, Wang L, Chiou SY. Immunomodulatory properties of *Grifola frondosa* in submerged culture. J Agric Food Chem 2006;54:2906-14.
3. Kodama N, Murata Y, Asakawa A, Inui A, Hayashi M, Sakai N, Nanba H. Maitake D-fraction enhances antitumor effects and reduces immunosuppression by mitomycin-C in tumor-bearing mice. Nutrition 2005;21:624-9.
4. Nanba H, Kodama N, Schar D, Turner D. Effects of maitake (*Grifola frondosa*) glucan in HIV-infected patients. Mycoscience 2000;41:293-5.
5. Fukushima M, Ohashi T, Fujiwara Y, Sonoyama K, Nakano M. Cholesterol-lowering effects of maitake (*Grifola frondosa*) fiber, shiitake (*Lentinus edodes*) fiber, and enokitake (*Flammulina velutipes*) fiber in rats. Exp Biol Med 2001;226:758-65.
6. Mau JL, Lin HC, Song SF. Antioxidant properties of several specialty mushrooms. Food Res Int 2002;35:519-26.
7. Shen Q, Royse DS. Effects of nutrient supplements on biological efficiency, quality and crop cycle time of maitake (*Grifola frondosa*). Appl Microbiol Biotechnol 2001;57:74-8.
8. Jeon DH, Lee YH, Choi JI, Gwon HM, Chi JH, Hong HJ, Jang GY. Characteristics of a new *Grifola frondosa* cultivar "Daebak" with stable pinheading and high yield. J Mushrooms 2018;16:203-7.
9. Cheong JC, Hong IP, Jang KY, Park JS. Culture condition and inoculum volume of liquid spawn on the bottled cultivation of *Agarocybe cylindracea*. Kor J Mycol 2003;31:94-7.
10. Hong JS. Studies on the physio-chemical properties and the cultivation of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*). Appl Biol Chem 1978;21:150-84.
11. Kang MS, Kang TS, Kang AS, Shon HR, Sung JM. Studies on mycelial growth and artificial cultivation of *Pleurotus eryngii*. Kor J Mycol 2000;28:73-80.
12. Chi JH, Kim JH, Won SY, Seo GS, Ju YC. Optimal condition of mycelial growth of *Grifola frondosa*. Kor J Mycol 2007;35:76-80.
13. Shim JO, Son SG, Yoon SO, Lee YS, Lee TS, Lee SS, Lee KD, Lee MW. The optimal factors for the mycelial growth of *Sparassis crispa*. Kor J Mycol 1998;26:39-46.
14. Kim JH, Choi JI, Chi JH, Won SY, Seo GS, Ju YC. Investigation on favorable substrate formulation for bag cultivation of *Grifola frondosa*. Kor J Mycol 2008;36:26-30.
15. Chi JH, Kim JH, Won SY, Seo GS, Ju YC. Studies on favorable light condition for artificial cultivation of *Grifola frondosa*. Kor J Mycol 2008;36:31-5.