



TLATEMOANI
Revista Académica de Investigación
Editada por Eumed.net
Año 15, no. 45 – Abril 2024.
España-ISSN: 1989-9300
revista.tlatemoani@uaslp.mx

USO DE UN MEDIO SEMI-SINTÉTICO COMO HERRAMIENTA PARA LA EVALUACIÓN DEL CRECIMIENTO VEGETATIVO DEL HONGO OSTRA PLEUROTUS OSTREATUS

USE OF A SEMI-SYNTHETIC MEDIUM AS A TOOL FOR THE EVALUATION OF VEGETATIVE GROWTH OF OYSTER MUSHROOM PLEUROTUS OSTREATUS

AUTORAS:

Tania Marieel Ovalle-Ruiz
Tecnológico Nacional de México
Campus Pabellón de Arteaga,
Aguascalientes, México
tania.or@pabellon.tecnm.mx

Nivia Iracemi Escalante-García
Tecnológico Nacional de México
Campus Pabellón de Arteaga,
Aguascalientes, México
nivia.eg@pabellon.tecnm.mx

Pamela Romo-Rodríguez*
Tecnológico Nacional de México
Campus Pabellón de Arteaga
Laboratorio de Biotecnología Fúngica,
Aguascalientes, México
pamela.rr@pabellon.tecnm.mx

*Autor de correspondencia

RESUMEN

Este estudio presenta un nuevo medio semi-sintético para el cultivo del hongo ostra *Pleurotus ostreatus*, conocido por su capacidad para crecer en sustratos lignocelulósicos. Los métodos de cultivo tradicionales, a menudo poco prácticos para espacios de laboratorio de investigación, son reemplazados por este nuevo enfoque, que implica pulverizar el sustrato y combinarlo con agar bacteriológico. Tras probar diversas formulaciones, se determinó que el medio óptimo era 0.5% de agar con 10% de sustrato. Este método es particularmente ventajoso para evaluar diferentes sustratos, incluidos los residuos lignocelulósicos disponibles regionalmente, y sus combinaciones. El uso de grano invadido con micelio como inóculo aborda

TLATEMOANI, No. 45, abril 2024.
<https://www.eumed.net/rev/tlatemoani/index.html>



tanto restricciones económicas como de tiempo experimental, aprovechando la biomasa micelial presente en cada grano. Este estudio no solo examina la capacidad de invasión micelial de varios sustratos de manera cuantitativa, sino que también aborda las limitaciones de los métodos cualitativos y cuantitativos existentes, que a menudo requieren equipos especializados y extenso tiempo y recursos. Los resultados revelan diferencias significativas en las tasas de extensión apical utilizando diferentes sustratos y combinaciones. La utilidad de la metodología se valida aún más por su capacidad para identificar sustratos propensos a la contaminación, lo que podría generar errores que consuman recursos si no se detectan tempranamente en pruebas tradicionales a gran escala. El análisis estadístico robusto de los resultados fue facilitado por las numerosas repeticiones de cada experimento. Además, el método permitió la observación de primordios y estructuras reproductivas durante la fase reproductiva del hongo. Se requiere un mayor control y monitoreo de las variables ambientales para establecer valores de productividad, pero el potencial de esta metodología para evaluar la productividad del hongo en varios sustratos es prometedor.

PALABRAS CLAVE: medio de cultivo; hongo ostra; sustrato; tasa de extensión apical; *Pleurotus ostreatus*.

ABSTRACT

This study introduces a novel semi-synthetic medium for the cultivation of oyster mushroom *Pleurotus ostreatus*, a mushroom known for its ability to grow on lignocellulosic substrates. Traditional cultivation methods, often impractical for research laboratory spaces, are supplanted by this new approach, which involves pulverizing the substrate and combining it with bacteriological agar. After testing various formulations, the optimal medium was determined to be 0.5% agar with 10% substrate. This method is particularly advantageous for evaluating different substrates, including regionally available lignocellulosic waste, and their combinations. The use of grain invaded with mycelium as inoculum addresses both economic and experimental time constraints, leveraging the consistent mycelial biomass in each grain. This study not only examines the mycelial invasion capacity of various substrates quantitatively but also addresses the limitations of existing qualitative and quantitative methods, which often require specialized equipment and extensive time and resources. The results reveal significant differences in apical extension rates using different substrates and combinations. The methodology's utility is further validated by its ability to identify substrates prone to contamination, which could lead to resource-intensive errors if not detected early in traditional large-scale tests. The robust statistical analysis of the results was facilitated by the numerous repetitions of each experiment. Additionally, the method allowed for the observation of primordia and reproductive structures during the mushroom's reproductive phase. Further control and monitoring of environmental variables are required to establish productivity values, but the potential of this methodology for evaluating mushroom productivity on various substrates is promising.

KEYWORDS: culture media; oyster mushroom; substrate; apical extension rate; *Pleurotus ostreatus*.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años, en México, ha surgido un notable interés en la tecnología de producción de hongos comestibles, la cual ha adquirido una relevancia sustancial en la alimentación de la población rural. Los hongos comestibles se han convertido en una estrategia fundamental de subsistencia, aprovechando los recursos naturales disponibles en la región (Aguilar et al., 2002). Tanto los productores como los investigadores de este campo tienen como objetivo primordial aumentar la producción en las áreas dedicadas a esta actividad en un lapso corto de tiempo, mediante el uso de cepas altamente productivas.

Esta creciente atención hacia la producción de hongos comestibles se enmarca en un contexto más amplio de preocupación por la seguridad alimentaria en las comunidades rurales mexicanas. La disponibilidad y accesibilidad a alimentos nutritivos son desafíos persistentes en estas áreas, donde factores como la limitada infraestructura, la falta de acceso a mercados y la variabilidad climática pueden dificultar la producción agrícola tradicional.

La incorporación de la producción de hongos comestibles como una alternativa viable en la dieta local ofrece una solución innovadora a estas problemáticas. Los hongos son una fuente rica en proteínas, vitaminas y minerales, lo que los convierte en un complemento nutricional valioso para las poblaciones rurales, especialmente en áreas donde el acceso a otras fuentes de proteínas puede ser limitado. Además, su ciclo de crecimiento relativamente corto y su capacidad para prosperar en condiciones ambientales específicas los hacen una opción atractiva para la producción local y sostenible de alimentos.

Al abordar la problemática de la alimentación en las poblaciones rurales desde una perspectiva integral, que combina la innovación tecnológica con el aprovechamiento de los recursos locales, se puede avanzar hacia la construcción de sistemas alimentarios más resilientes y equitativos. La promoción de la producción de hongos comestibles no solo contribuye a la seguridad alimentaria, sino que también fomenta el desarrollo económico y la conservación de los ecosistemas locales, creando oportunidades para el empoderamiento y la mejora del bienestar en las comunidades rurales de México.

La producción de *Pleurotus ostreatus*, un hongo comestible altamente valorado, ha sido mayormente a pequeña escala debido a la falta de conocimiento tecnológico entre la mayoría de los productores. Esta carencia se manifiesta en diversas áreas, desde la selección inadecuada de sustratos hasta la falta de comprensión sobre las condiciones óptimas de crecimiento. Por ejemplo, muchos productores carecen de conocimientos básicos sobre la preparación adecuada del sustrato, la esterilización de los materiales y el control de la humedad y la temperatura, lo que conduce a una menor productividad y a pérdidas económicas en las comunidades rurales (Martínez et. al., 2000).

En muchos casos, los pequeños y medianos productores han dependido de tecnologías obsoletas y prácticas tradicionales que no aprovechan plenamente el potencial de la producción de hongos. La falta de

acceso a información actualizada y capacitación especializada ha limitado su capacidad para adoptar métodos más eficientes y rentables. Esta brecha tecnológica se refleja en la escasa utilización de herramientas modernas, como sistemas de riego automatizados, sensores de monitoreo ambiental y técnicas avanzadas de inoculación.

La introducción de tecnologías innovadoras en el cultivo de hongos comestibles podría revolucionar la industria y mejorar significativamente las condiciones de vida de los productores rurales. Por ejemplo, sistemas de cultivo en ambiente controlado, como invernaderos o salas de cultivo, pueden proporcionar condiciones óptimas de crecimiento durante todo el año, aumentando así la productividad y reduciendo la dependencia de factores climáticos variables.

Es importante destacar que la falta de conocimiento tecnológico no solo afecta la productividad, sino también la calidad y la seguridad de los productos finales. Por ejemplo, la falta de control adecuado de la temperatura y la humedad durante el almacenamiento puede resultar en la proliferación de hongos no deseados o la pérdida de valor nutricional.

Además, el hongo seta, mencionado por Chang y Miles (2004), destaca por su alto valor nutricional y su capacidad para utilizar subproductos agrícolas como sustrato, los cuales pueden reciclarse para ser utilizados como abono orgánico. Esta práctica no solo contribuye a la reducción de desechos agrícolas, sino que también puede ayudar a retener la mano de obra en las comunidades locales, promoviendo así el desarrollo económico y social en las zonas rurales. En resumen, la falta de conocimiento tecnológico entre los productores de hongos comestibles ha sido una limitación importante para el desarrollo de la industria. Sin embargo, con el acceso a tecnologías avanzadas y la capacitación adecuada, se pueden superar estos desafíos y abrir nuevas oportunidades para mejorar la productividad, la rentabilidad y la sostenibilidad de esta actividad en las comunidades rurales.

Los hongos, clasificados como macro-hongos, constituyen un grupo vasto e intrigante dentro del reino fúngico, distinguido por sus estructuras reproductivas únicas que incluyen mecanismos portadores de esporas y cuerpos fructíferos carnosos. Esta diversidad asombrosa de hongos, con más de 14,000 especies conocidas, refleja su adaptabilidad a una amplia gama de entornos y condiciones climáticas. Dentro de este vasto repertorio, un subconjunto significativo de aproximadamente 3,000 especies ha sido reconocido como comestible, mientras que otras exhiben propiedades medicinales o tóxicas.

Más allá de su atractivo culinario, los hongos desempeñan un papel fundamental en la medicina y la toxicología. Se estima que casi 700 especies poseen propiedades medicinales, utilizadas en diversas culturas tradicionales para tratar una variedad de dolencias, desde infecciones hasta enfermedades crónicas. Por otro lado, alrededor de 1,400 especies han sido identificadas como tóxicas, algunas de las cuales pueden causar desde malestar gastrointestinal hasta envenenamiento grave e incluso la muerte en casos extremos.

Dentro de este amplio reino fúngico, un subconjunto particularmente notable son los hongos ostra, que comprenden más de 200 categorías distintas. Los hongos ostra, con su forma de sombrero distintiva y estructura de branquias, ocupan un lugar prominente entre las variedades de hongos cultivados debido a su palatabilidad y versatilidad en aplicaciones culinarias. Su capacidad para crecer en una amplia variedad de sustratos y condiciones ambientales los convierte en una opción atractiva para los agricultores y aficionados al cultivo de hongos en todo el mundo.

Esta extensa diversidad y naturaleza multifacética de los hongos subrayan su importancia no solo como un deleite culinario, sino también como fuente de compuestos medicinales y objeto de exploración científica y clasificación. Investigaciones como las realizadas por Mattila et al. (2000) y Lesa et. al. (2022) han contribuido significativamente a nuestro entendimiento de la biología, la ecología y las aplicaciones potenciales de los hongos en diversas áreas, desde la medicina hasta la agricultura y la biotecnología. En conjunto, estos estudios continúan revelando el potencial aún no explotado de los hongos y promoviendo su reconocimiento como recursos valiosos en múltiples aspectos de la vida humana y el ecosistema.

Los hongos ostra, frecuentemente reconocidos como alimentos funcionales, merecen esta distinción debido a su rico y diverso contenido de nutrientes, lo que los convierte no solo en adiciones sabrosas a las creaciones culinarias, sino también en contribuyentes valiosos a una dieta equilibrada y saludable. Entre sus atributos más destacados se encuentra su excepcional contenido de proteínas de alta calidad.

Los hongos se destacan como una fuente excepcional de proteína, y su contenido es particularmente notable porque abarca los nueve aminoácidos esenciales (AAEs) cruciales para la nutrición humana. Esta característica distingue a los hongos de muchas otras fuentes de proteínas vegetales, que a menudo carecen de uno o más AAEs. Además, lo que diferencia aún más a los hongos es su composición elevada de aminoácidos de cadena ramificada, una característica típicamente asociada con fuentes de proteínas de origen animal.

El perfil de proteínas de los hongos es casi equivalente al de las proteínas animales, lo que los convierte en una fuente valiosa y completa de nutrientes esenciales (Raut y Adhikari, 2021). Este aspecto nutricional resalta la importancia de los hongos como un componente significativo de una dieta equilibrada, especialmente para aquellos que siguen una dieta vegetariana o vegana, así como para aquellos que buscan alternativas saludables a las fuentes de proteínas animales. La investigación continua, como la llevada a cabo por Raut y Adhikari (2021), sigue profundizando en nuestro entendimiento de los beneficios para la salud y la nutrición asociados con el consumo de hongos, promoviendo así su reconocimiento como un recurso valioso en la alimentación y la salud humanas.

Los hongos son ampliamente aclamados por su perfil nutricional completo y beneficioso, lo que los convierte en una opción alimenticia ideal para personas de todas las edades. Su contenido nutricional incluye una variedad de proteínas, fibra dietética, vitaminas y minerales esenciales para la salud humana.

Por ejemplo, Singh et. al. (2011) señalan que los hongos contienen un alto porcentaje de agua, lo que los convierte en una fuente hidratante, y un porcentaje significativo de fibra, que contribuye a la salud digestiva y al control del peso.

Además, los hongos son bajos en grasa total, como señalan Dundar et al. (2008), y presentan una proporción notablemente alta de ácidos grasos poliinsaturados, que son beneficiosos para la salud cardiovascular. La composición nutricional específica de especies como *P. ostreatus* y *P. sajor-caju*, cultivadas en paja de arroz, según Bonatti et al. (2004), muestra niveles significativos de grasa, ceniza, fibra y proteína, destacando su valor como fuente de nutrientes esenciales en la dieta.

Estos datos subrayan la importancia de los hongos como una fuente valiosa de nutrientes para la salud humana. Además de su perfil nutricional, los hongos también ofrecen otros beneficios para la salud, como propiedades antioxidantes y antiinflamatorias, según estudios adicionales (mencione algunos estudios específicos aquí si tiene alguno en mente). Su contenido vitamínico, en especial de vitaminas C y B, así como de minerales como potasio, sodio, fósforo, zinc y magnesio, los convierte en un alimento completo y equilibrado para una dieta saludable y variada.

Los hongos ostra, además de su destacado contenido proteico, representan una fuente valiosa de diversos nutrientes esenciales para la salud humana, como el fósforo, hierro y una amplia gama de vitaminas, como tiamina, riboflavina, ácido ascórbico, ergosterol y niacina, como señala Barros et. al. (2008). Estos nutrientes desempeñan roles vitales en el mantenimiento de funciones corporales óptimas y la prevención de enfermedades.

Se ha reconocido ampliamente que los hongos poseen propiedades terapéuticas significativas, lo que los convierte en alimentos prometedores para prevenir una serie de condiciones de salud, como la hipertensión, la diabetes, el hipercolesterolemia y el cáncer. La investigación, como la mencionada por Perera y Li (2011), ha revelado que estas propiedades beneficiosas se atribuyen principalmente a la presencia de fibra dietética, en particular quitina y betaglucanos, presentes en los hongos. Estos compuestos han demostrado tener efectos positivos en la salud cardiovascular, el control glucémico y la inmunidad.

Además, se ha observado que ciertos hongos específicos pueden tener un impacto notable en la regulación de los niveles elevados de azúcar en la sangre. Aunque los mecanismos detrás de este efecto aún no se comprenden completamente, la investigación continúa explorando estas conexiones. Algunos hongos bien estudiados han demostrado ser especialmente prometedores en este aspecto, lo que sugiere un potencial futuro para su uso en la prevención y el manejo de la diabetes y otras enfermedades metabólicas.

Los hongos ostra no solo son una fuente rica en nutrientes esenciales, sino que también poseen propiedades terapéuticas que los hacen beneficiosos para la salud en general. Su capacidad para ayudar

en la prevención de enfermedades crónicas, como la diabetes y el cáncer, y para promover una salud cardiovascular óptima, destaca su importancia como parte de una dieta equilibrada y saludable.

La importancia de los hongos ostra como una fuente nutricional valiosa y con propiedades terapéuticas resalta la necesidad creciente de llevar a cabo investigaciones dedicadas a su producción. Dada la complejidad de estos organismos y sus necesidades específicas de nutrientes, es fundamental comprender y optimizar los sustratos utilizados para su cultivo. En este sentido, la formulación y la mejora de los sustratos derivados de materiales orgánicos y residuos agrícolas juegan un papel crucial en el éxito del cultivo de hongos ostra.

Los estudios realizados por Doroski et. al. (2022) y Elkanah et al. (2022) subrayan la importancia de la selección y composición adecuadas de los sustratos en el cultivo de hongos ostra. La calidad y la disponibilidad de los nutrientes en el sustrato tienen un impacto significativo en el contenido nutricional, el rendimiento y la calidad general de los hongos producidos. Por ejemplo, la presencia de ciertos nutrientes específicos en el sustrato puede influir en la concentración de proteínas, vitaminas y minerales en los hongos cultivados.

Además, la elección del sustrato puede afectar la capacidad de los hongos para desarrollarse adecuadamente y expresar sus propiedades terapéuticas. Los sustratos ricos en nutrientes pueden promover un crecimiento óptimo de los hongos y aumentar su contenido de compuestos bioactivos beneficiosos para la salud. Por otro lado, los sustratos deficientes pueden limitar el crecimiento y la calidad de los hongos producidos, afectando así su valor nutricional y terapéutico.

En este contexto, la investigación continua y el desarrollo de técnicas de cultivo innovadoras son esenciales para mejorar la eficiencia y la sostenibilidad del cultivo de hongos ostra. La comprensión de los requisitos nutricionales específicos de los hongos y la optimización de los sustratos pueden conducir a mejoras significativas en la calidad y la cantidad de la producción de hongos ostra, lo que a su vez podría beneficiar la salud y el bienestar de la población.

Los hongos destacan por su versatilidad para crecer en una amplia variedad de sustratos, lo que ha despertado un creciente interés mundial en su cultivo como una forma eficiente de convertir los desechos agrícolas e industriales en alimentos valiosos y nutritivos (Ingale y Ramteke, 2010). Esta capacidad de adaptación se basa en la capacidad de los hongos para utilizar carbono, nitrógeno y otros nutrientes presentes en los residuos sólidos para su crecimiento óptimo y metabolismo (Nyochembeng et. al., 2008).

Entre las especies de hongos, las del género *Pleurotus* se destacan por su rápido crecimiento y adaptabilidad a condiciones semi-controladas, lo que les permite prosperar en espacios reducidos utilizando una variedad de sustratos lignocelulósicos (Bhatti et. al., 2007). Esta capacidad ha posicionado a *Pleurotus* como el segundo género de hongos más cultivado en términos de producción mundial. La clave

de su éxito radica en su habilidad para secretar enzimas degradantes como celulasas, hemicelulasas, xilanasas, LiP, MnP y lacasa, cuya actividad varía en las especies de *Pleurotus spp.* dependiendo de la cepa y el tipo de sustrato, durante sus diferentes etapas de desarrollo (Periasamy y Natarajan, 2004).

Por ejemplo, los residuos agrícolas como la paja de arroz, la paja de trigo, la paja de soja, entre otros, son sustratos potenciales para el cultivo de *Pleurotus* debido a su abundancia y contenido nutricional. Estos hongos tienen la capacidad de descomponer los componentes de la celulosa y la lignina presentes en estos sustratos, convirtiéndolos en una fuente de nutrientes aprovechable para su crecimiento y desarrollo.

La versatilidad de los hongos en términos de sustrato no solo representa una oportunidad para la producción de alimentos, sino que también contribuye a la gestión sostenible de los residuos agrícolas e industriales. Al convertir estos desechos en productos valiosos, el cultivo de hongos no solo ofrece una solución para la eliminación de residuos, sino que también promueve la producción de alimentos saludables y nutritivos para satisfacer las demandas alimentarias crecientes a nivel mundial.

Entre las especies de *Pleurotus spp.* cultivadas con éxito se encuentran el hongo ostra árbol (*P. ostreatus*), ostra gris (*P. sajor-caju*), ostra blanco (*P. florida*), ostra oro (*P. citrinopileatus*), ostra rosado (*P. flabellatus*) y el hongo ostra negro (*P. sapidus*) (Martínez-Carrera, 1998; Frimpong-Manso et al., 2011). Estas variedades de hongos ostra han sido sometidas a cultivo en una amplia gama de sustratos y combinaciones de los mismos, lo que ha demostrado una sorprendente eficiencia biológica, alcanzando ratios de peso del hongo fresco respecto al peso seco del sustrato entre el 72% y el 208% (Zhang et. al., 2002; Ahmed et. al., 2009; Jafarpour et. al., 2011).

Por ejemplo, estudios han revelado que la paja de trigo y arroz son dos de los sustratos más adecuados para el cultivo de diversas especies de *Pleurotus* debido a su composición química óptima. Estos sustratos proporcionan una reserva de celulosa, hemicelulosa y lignina, que son componentes esenciales para el crecimiento del micelio y la fructificación del hongo (Yildiz et. al., 2002). La estructura química de estos sustratos brinda al hongo los nutrientes necesarios para su desarrollo óptimo, lo que resulta en un aumento significativo en la producción de biomasa y una mayor eficiencia en la conversión de materia orgánica en hongos comestibles.

La diversidad de sustratos utilizados en el cultivo de *Pleurotus* refleja la adaptabilidad de estos hongos a una variedad de condiciones ambientales y recursos disponibles. Además de la paja de trigo y arroz, se han empleado otros materiales agrícolas como la paja de soja, paja de cebada, residuos de maíz y césped, entre otros, para el cultivo exitoso de hongos ostra. Esta capacidad de utilizar una amplia gama de sustratos contribuye a la sostenibilidad del cultivo de *Pleurotus* al reducir la dependencia de recursos específicos y aprovechar los desechos agrícolas de manera eficiente para la producción de alimentos.

A pesar de que la evaluación de sustratos para la producción de hongos utilizando bolsas de plástico es una práctica común, presenta ciertas limitaciones que han motivado la búsqueda de alternativas más eficientes. Si bien esta metodología ha sido ampliamente utilizada debido a su relativa simplicidad y facilidad de implementación, se enfrenta a desafíos significativos, como el requerimiento de grandes cantidades de sustrato y la necesidad de áreas de trabajo extensas (Ejigu et. al., 2022; Akter et. al., 2022).

El uso de bolsas de plástico implica la preparación de grandes volúmenes de sustrato para llenar las bolsas, lo que puede resultar en un consumo considerable de recursos y tiempo. Además, el manejo de estas bolsas puede ser laborioso y requerir espacio adicional para su almacenamiento y manipulación durante el proceso de cultivo. Estas limitaciones pueden ser especialmente problemáticas en entornos donde los recursos son escasos o costosos, lo que dificulta la viabilidad económica y la escalabilidad del proceso.

Además, el uso de bolsas de plástico puede generar residuos no biodegradables, lo que plantea preocupaciones ambientales. La acumulación de desechos plásticos puede tener un impacto negativo en el medio ambiente y la salud humana si no se gestionan adecuadamente. Por lo tanto, existe un interés creciente en desarrollar métodos de evaluación de sustratos que sean más sostenibles y respetuosos con el medio ambiente.

En respuesta a estas limitaciones, se han propuesto y desarrollado diversas técnicas alternativas para evaluar sustratos de manera más eficiente y económica. Estas incluyen métodos que utilizan recipientes más pequeños y económicos, como bandejas o cajas, que requieren menos sustrato y espacio de trabajo. Además, se han explorado enfoques innovadores, como el uso de sistemas automatizados o dispositivos de análisis de datos, que pueden agilizar el proceso de evaluación y reducir la necesidad de mano de obra y recursos físicos.

Si bien el uso de bolsas de plástico ha sido una práctica común para evaluar sustratos en la producción de hongos, presenta limitaciones significativas en términos de consumo de recursos, generación de residuos y viabilidad económica. Por lo tanto, es importante explorar y desarrollar nuevas metodologías que sean más eficientes, sostenibles y respetuosas con el medio ambiente.

Debido a esto, este documento describe una nueva metodología para la caracterización de sustratos utilizados por los hongos ostra para su crecimiento; la metodología se basa en el uso de sustrato en polvo contenido en una matriz de agar. Al inocular los hongos en este medio, se pueden establecer eficazmente valores de tasa de extensión apical, e incluso se puede observar una mayor capacidad para la formación de primordios. El uso de placas de Petri para esta metodología permite llevar a cabo un gran número de pruebas y combinaciones de sustratos sin necesidad de un espacio extenso y de instalaciones especializadas.

METODOLOGÍA

CEPA Y CONDICIONES DE CRECIMIENTO

Para garantizar la uniformidad y consistencia de los experimentos, se seleccionó la cepa de hongo ostra *P. ostreatus* NRRL 3526 del Centro Nacional de Investigación sobre Utilización Agrícola, ARS, USDA, ubicado en Peoria, IL, EE. UU. Esta cepa se eligió debido a su historial bien documentado y su robustez en entornos de laboratorio.

El micelio necesario para la inoculación se cultivó en granos de cereales, lo que proporciona una fuente confiable y ampliamente disponible de inóculo. Este método se prefirió sobre el cultivo de micelio en otros sustratos debido a su facilidad de preparación y su capacidad para mantener la integridad del micelio durante el proceso de inoculación.

Cada placa de Petri se inoculó con un solo grano de cereal invadido por micelio para garantizar una distribución uniforme del micelio en el medio de cultivo. Después de la inoculación, las placas se mantuvieron en condiciones controladas de temperatura y luz para promover el crecimiento óptimo del micelio. Durante los primeros 15 días, se incubaron en la oscuridad a una temperatura de 28 °C para fomentar el crecimiento inicial del micelio. Posteriormente, se expusieron a la luz del día a una temperatura ligeramente más baja de 22 °C durante 20 días adicionales para inducir la formación de cuerpos fructíferos y otras estructuras reproductivas. Estas condiciones de crecimiento se seleccionaron cuidadosamente para imitar las condiciones naturales en las que el hongo ostra prospera, lo que garantiza resultados representativos y significativos en los experimentos.

MEDIOS DE CULTIVO SEMI SINTÉTICOS

Antes de utilizar los sustratos en los experimentos, fue necesario prepararlos adecuadamente para su uso en el medio de cultivo. Para lograr esto, los sustratos seleccionados fueron pulverizados para garantizar una distribución uniforme en el medio y una mayor accesibilidad para el micelio del hongo.

La formulación del medio de cultivo se realizó con precisión, utilizando una concentración del 15% del sustrato a probar y un 0.5% de agar bacteriológico como matriz. Esta proporción se determinó después de una serie de pruebas y ajustes para garantizar una consistencia óptima y resultados reproducibles en los experimentos.

Una vez que se prepararon las formulaciones del medio de cultivo, se procedió a la esterilización mediante autoclave a 15 psi durante 15 minutos. Este paso es crucial para eliminar cualquier contaminante potencial y garantizar un ambiente de crecimiento estéril para el micelio del hongo.

Para los experimentos, se utilizaron placas de Petri estándar que contenían 25 ml de medio de cultivo cada una. Estas placas proporcionaron un entorno confinado y controlado para el crecimiento del micelio, lo que facilitó la observación y evaluación de su desarrollo en respuesta a los diferentes sustratos.

Además, se incluyó un control de crecimiento utilizando agar papa dextrosa (PDA), un medio de cultivo estándar ampliamente utilizado en microbiología, para comparar el crecimiento del micelio en los sustratos probados con un medio conocido y establecido. Esto permitió una evaluación más precisa de los efectos de los sustratos en el crecimiento del hongo ostra en comparación con las condiciones de crecimiento estándar.

MEDICIONES DEL CRECIMIENTO MICELIAL Y ENSAYO DE PRODUCTIVIDAD

La metodología utilizada para medir la tasa de extensión apical se basó en un enfoque previamente descrito en la literatura científica (Sánchez y Viniegra-Gonzalés, 1996), con algunas adaptaciones específicas para este estudio. En esencia, se siguió un protocolo sistemático para evaluar el crecimiento del micelio en diferentes sustratos a lo largo del tiempo.

Inicialmente, las placas de Petri inoculadas con el hongo ostra se mantuvieron en condiciones de oscuridad para estimular el crecimiento micelial. Se realizó un seguimiento del contorno de cada colonia de hongos a intervalos regulares de 48 horas durante un período de 10 días. Este seguimiento implicó medir el diámetro de cada colonia y registrar los datos correspondientes.

Para analizar los datos recopilados, se utilizó un enfoque de regresión lineal en los gráficos de radio versus tiempo. Este análisis permitió calcular la pendiente de cada tratamiento, expresada en micrómetros por hora ($\mu\text{m}\cdot\text{h}^{-1}$), lo que proporcionó una medida cuantitativa de la tasa de extensión apical para cada sustrato evaluado.

Posteriormente, después de un período de incubación de 15 días en oscuridad, las placas de Petri se transfirieron a una incubación con luz. Durante un período de 20 días adicionales bajo condiciones de iluminación controlada (8 horas de fotoperiodo en una cámara de luminiscencia), se registró fotográficamente la aparición de estructuras reproductivas, como primordios y cuerpos fructíferos.

Este enfoque combinado permitió una evaluación exhaustiva del crecimiento micelial y la aparición de estructuras reproductivas en respuesta a diferentes sustratos y condiciones ambientales. Los datos recopilados proporcionaron información crucial sobre la capacidad de los sustratos para promover el crecimiento y la reproducción del hongo ostra, lo que ayudó a identificar los sustratos óptimos para su cultivo y producción a escala.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Cada muestra se sometió a un riguroso análisis estadístico para garantizar la robustez y la validez de los resultados obtenidos. Se realizaron tres réplicas de cada experimento, con un total de 15 repeticiones por réplica, lo que permitió obtener un conjunto de datos significativo y representativo. Los resultados se registraron como valores medios acompañados de desviaciones estándar para evaluar la consistencia y la variabilidad de los datos.

Para el análisis estadístico, se utilizó el software MiniTab 17, una herramienta ampliamente reconocida y utilizada en investigaciones científicas. Se llevó a cabo un análisis de varianza de una vía (ANOVA) para determinar si existían diferencias significativas entre las medias de los diferentes tratamientos o sustratos evaluados. Posteriormente, se aplicó la prueba post-hoc de diferencia significativa honesta de Tukey para identificar las diferencias significativas entre las medias individuales.

Las diferencias entre las medias se consideraron estadísticamente significativas a un nivel de confianza del 95%, lo que se traduce en un valor de $p < 0.05$. Este enfoque estadístico riguroso permitió identificar con precisión las diferencias significativas entre los tratamientos y garantizó la fiabilidad de los resultados obtenidos.

En resumen, este análisis estadístico proporcionó una evaluación objetiva y rigurosa de los datos experimentales, lo que permitió extraer conclusiones significativas sobre la eficacia de los diferentes sustratos en el cultivo del hongo ostra.

RESULTADOS

El uso de placas de Petri para el crecimiento de microorganismos, aunque una práctica establecida desde hace mucho tiempo, sigue siendo fundamental en la investigación microbiológica. Desde la descripción inicial de Julius Richard Petri en 1887, estas placas se han convertido en una herramienta estándar en laboratorios de todo el mundo. Sin embargo, con el continuo descubrimiento de nuevas especies de microorganismos y el avance de las investigaciones, surge la necesidad de desarrollar técnicas de cultivo más especializadas y sofisticadas, que proporcionen resultados reproducibles y verificables estadísticamente.

Para los hongos ostra, en particular, las perspectivas emergentes de investigación se centran en encontrar los sustratos más adecuados para lograr altos rendimientos de producción y entender cómo estos sustratos pueden influir en las posibles aplicaciones biotecnológicas de este género. El género *Pleurotus*, al cual pertenecen los hongos ostra, es conocido por su capacidad para crecer en sustratos lignocelulósicos, lo que lo convierte en un área de interés significativa en la investigación micológica.

Aunque existen numerosos estudios que han investigado la capacidad de crecimiento de los hongos ostra en diferentes sustratos, muchos de estos se han realizado a una escala que resulta impráctica para la mayoría de los laboratorios de investigación. La mayoría de los experimentos se llevan a cabo en condiciones que no son fácilmente escalables o reproducibles en entornos más pequeños. Algunos intentos se han hecho para realizar cultivos a pequeña escala con el fin de ahorrar espacio y aumentar la variedad de condiciones probadas, pero la falta de una metodología unificada para evaluar la capacidad de crecimiento de los hongos ostra en diferentes sustratos sigue siendo un desafío significativo en la investigación (Liu et. al., 2022; Dissasa, 2022).

Por lo tanto, existe una necesidad creciente de desarrollar métodos estandarizados y reproducibles que permitan a los investigadores evaluar de manera eficiente y precisa el potencial de crecimiento de los hongos ostra en una variedad de sustratos. Estos métodos podrían ayudar a mejorar nuestra comprensión de cómo los diferentes factores ambientales y nutricionales afectan el crecimiento de los hongos ostra, y podrían tener importantes implicaciones para su cultivo comercial y aplicaciones biotecnológicas.

El desarrollo de un medio semisintético para el crecimiento del hongo ostra ha sido un avance significativo en la investigación micológica. Mediante la pulverización del sustrato, independientemente de su naturaleza, y la adición de agar bacteriológico como matriz, se ha logrado crear un medio viable que permite evaluar una amplia gama de sustratos para la producción de hongos ostra.

Inicialmente, se llevaron a cabo numerosas pruebas para encontrar la formulación óptima del medio de cultivo semisintético. Se experimentó con diferentes concentraciones de agar bacteriológico como matriz, que variaron desde 0.25 hasta 2%, y con diferentes concentraciones de sustrato, que oscilaron entre 1 y 15%. Este proceso de optimización se realizó con el objetivo de superar desafíos como la poca fluidez al manipular el medio y la sedimentación del sustrato en las placas de cultivo.

Tras exhaustivas pruebas y evaluaciones, se determinó que la mejor formulación consistía en utilizar un 0.5% de agar y un 10% de sustrato. Esta combinación proporcionó las condiciones ideales para el crecimiento del hongo ostra, permitiendo una distribución uniforme del sustrato en el medio y facilitando la manipulación de este durante el proceso de cultivo.

Aunque se reconoce que algunos sustratos pueden presentar desafíos en términos de pulverización, se postula que la mayoría de los materiales vegetales lignocelulósicos utilizados como medio de crecimiento tienen las características necesarias para ser utilizados en esta formulación. Este avance representa un paso significativo hacia el desarrollo de métodos estandarizados y reproducibles para evaluar el potencial de crecimiento de los hongos ostra en diferentes sustratos, lo que puede tener importantes implicaciones tanto para la investigación académica como para la industria del cultivo de hongos.

En la producción de hongos ostra a pequeña y gran escala en todo el mundo, el grano de cereal invadido con micelio ha surgido como un inoculante ampliamente utilizado. Esta elección se fundamenta en la disponibilidad generalizada de este tipo de inoculante y en la conveniencia que representa en términos económicos y de tiempo en comparación con la obtención de inoculantes a partir de cultivos puros. Utilizar grano con micelio invadido como inoculante agiliza el proceso experimental y reduce los costos asociados con la producción de inoculantes específicos para cada experimento.

El uso de grano como inoculante es particularmente ventajoso debido a que cada grano está invadido por una cantidad constante de biomasa micelial, lo que garantiza una consistencia en la inoculación. Esta uniformidad en la cantidad de micelio presente en cada grano es comparable a considerar la cantidad de micelio presente en bloques de agar, lo que facilita la estandarización del proceso de inoculación y reduce la variabilidad entre los experimentos.

La capacidad del hongo ostra para invadir el sustrato ha sido objeto de estudio tanto cualitativa como cuantitativamente. En el ámbito cualitativo, se han empleado diversas metodologías, aunque no siempre proporcionan respuestas definitivas debido a la naturaleza subjetiva de la evaluación. Por otro lado, las metodologías cuantitativas ofrecen resultados más precisos, pero suelen requerir equipos y instalaciones a gran escala que no están fácilmente disponibles para la mayoría de los laboratorios. Además, estos métodos suelen ser prolongados y consumir tiempo, lo cual puede ser un obstáculo significativo en un campo de investigación en el que la rapidez y la eficiencia son cruciales.

Considerando que muchas investigaciones en el ámbito de la producción de hongos ostra están orientadas a responder a las necesidades de los productores locales, con los cuales la academia colabora cada vez más, el factor tiempo se convierte en un recurso crítico y limitante. Por lo tanto, la elección del método de evaluación de la capacidad de invasión del sustrato debe tomar en cuenta no solo la precisión de los resultados, sino también la disponibilidad de recursos y la eficiencia en términos de tiempo.

Con la metodología propuesta, se abre la posibilidad de determinar la capacidad de invasión micelial de una amplia variedad de sustratos y sus combinaciones. En este estudio, los sustratos elegidos fueron seleccionados por su disponibilidad regional y su composición lignocelulósica, pero es importante destacar que la metodología puede ser aplicada para probar cualquier tipo de desecho lignocelulósico. La Tabla 1 presenta una lista de los sustratos utilizados en este trabajo, abarcando una gama de materiales que reflejan la diversidad de desechos agrícolas y forestales que podrían ser potencialmente utilizados como sustrato para el cultivo de hongos.

Los resultados obtenidos revelaron diferencias significativas en las tasas de extensión apical al utilizar diferentes sustratos y combinaciones de estos. Específicamente, se observaron las tasas más altas de extensión micelial en los sustratos MO-07 (Aserrín 50%-Alfalfa 50%) y MO-08 (Aserrín 75%-Alfalfa 25%), con valores de 292.853 y 339.6681 $\mu\text{m}\cdot\text{h}^{-1}$ respectivamente (Tabla 1). Estos hallazgos destacan la

influencia que la composición del sustrato puede tener en la velocidad de crecimiento y colonización del micelio de los hongos.

Tabla 1.

Tipos y proporciones de sustrato utilizados y las respectivas tasas de extensión apical registradas. *Se utilizó PDA como control.

| Medio | Sustratos usados | Tasa de extensión apical ($\mu\text{m}\cdot\text{h}^{-1}$) |
|--------------|-------------------------|--|
| PDA* | - | 378.2407 |
| MO-01 | Paja 100% | 254.4591 |
| MO-02 | Aserrín 100% | 165.0579 |
| MO-03 | Paja 50%-Aserrín 50% | 282.8871 |
| MO-04 | Paja 75%-Aserrín 25% | 209.593 |
| MO-05 | Paja 25%-Aserrín 75% | 244.028 |
| MO-06 | Paja 50%-Alfalfa 50% | 138.0072 |
| MO-07 | Aserrín 50%-Alfalfa 50% | 292.853 |
| MO-08 | Aserrín 75%-Alfalfa 25% | 339.6681 |

Fuente: Elaboración propia.

Es importante señalar que, durante el experimento, se encontró que algunas combinaciones de sustratos no arrojaron resultados positivos debido a una alta contaminación en el medio semisintético. Por ejemplo, el uso del 100% de alfalfa siempre resultó en contaminación, incluso cuando se aumentó el tiempo de esterilización en autoclave en 10 minutos. Del mismo modo, la combinación de Aserrín 25%-Alfalfa 75% también presentó problemas de contaminación. Sin embargo, este inconveniente no resta validez a la metodología, sino que, por el contrario, confirma su utilidad al permitir detectar y abordar problemas potenciales en la elección y preparación de los sustratos.

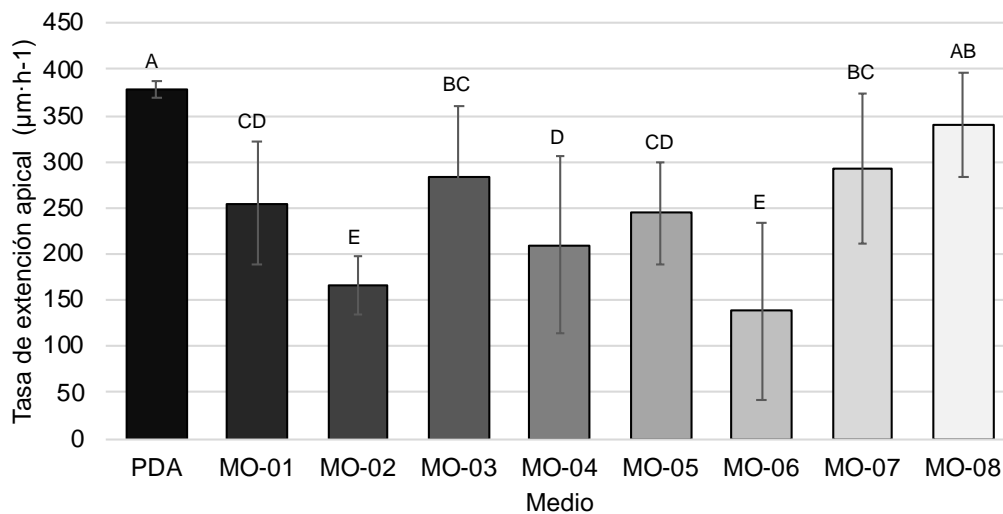
En comparación con los métodos tradicionales que requieren el uso de grandes cantidades de sustrato en bolsas o contenedores, la metodología propuesta en este estudio ofrece una alternativa más eficiente en términos de consumo de sustrato, tiempo y recursos. Utilizar pequeñas cantidades de sustrato para realizar pruebas como estas no solo minimiza el desperdicio, sino que también permite una evaluación más rápida

y precisa de la capacidad de los sustratos para sostener el crecimiento micelial de los hongos, lo que resulta en un avance significativo en la investigación y la producción de hongos ostra.

El medio MO-08 destacó cuantitativamente al exhibir la tasa de extensión apical más alta en comparación con los demás sustratos probados. Este hallazgo resalta la capacidad única de este medio para promover el crecimiento micelial de los hongos ostra. Al realizar un análisis estadístico detallado, se observó que era posible diferenciar claramente aquellos sustratos con una alta tasa de extensión apical (grupos AB y BC) de aquellos con una baja tasa de extensión apical (grupos CD y E), como se muestra en la Figura 1.

Figura 1.

Comparación de las tasas de extensión apical en diferentes medios semisintéticos para el crecimiento de hongos ostra. Las barras representan el promedio de las tasas de extensión apical y las barras de error representan la desviación estándar (n=35). Las letras denotan grupos de medios que no son significativamente diferentes según la prueba post-hoc de diferencia significativa honesta de Tukey ($p < 0.05$).



Este análisis estadístico fue posible gracias al uso de un gran número de repeticiones en cada experimento, con un total de n=35. Esta abundancia de datos contrasta con las metodologías comunes, donde el número de repeticiones suele ser limitado. La inclusión de un mayor número de repeticiones en el diseño experimental proporcionó una mayor confiabilidad en los resultados y permitió una evaluación más precisa de las diferencias entre los sustratos en términos de su capacidad para favorecer el crecimiento micelial de los hongos ostra.

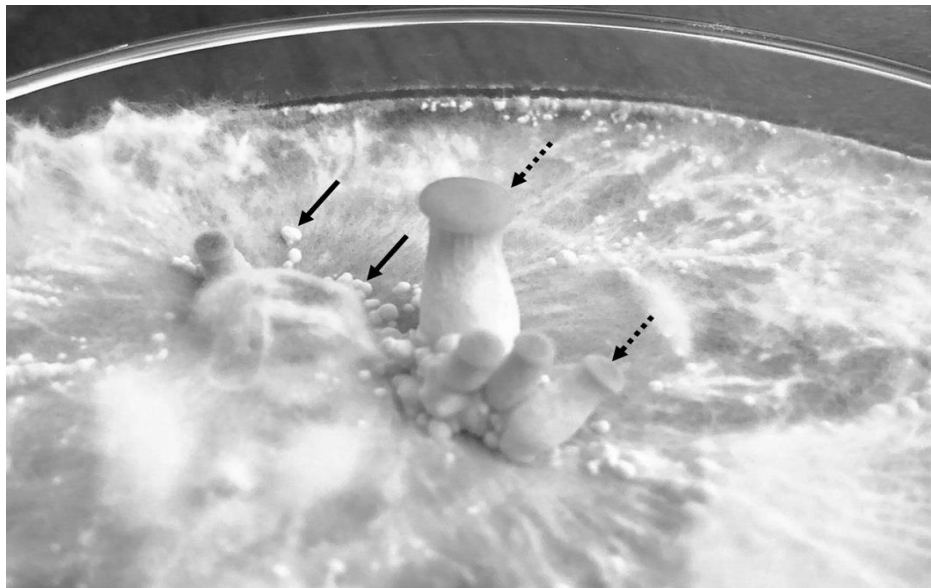
El análisis estadístico no solo confirmó la superioridad del medio MO-08 en términos de tasa de extensión apical, sino que también permitió identificar patrones claros en la respuesta del micelio a los diferentes

sustratos. Estos hallazgos son fundamentales para comprender mejor cómo los diversos componentes del sustrato pueden influir en el crecimiento y desarrollo de los hongos ostra, y pueden servir como base para la optimización de medios de cultivo en futuras investigaciones. En última instancia, este enfoque estadístico robusto fortalece la validez y la relevancia de los resultados obtenidos, brindando una base sólida para el avance del conocimiento en el campo de la micología aplicada.

La metodología implementada no solo permite la observación de la aparición de primordios y otras estructuras reproductivas durante la fase reproductiva de los hongos, sino que también ofrece un enfoque valioso para evaluar la productividad de los hongos en los diversos sustratos utilizados. La Figura 2 ilustra claramente la capacidad de esta metodología para detectar la formación de primordios, proporcionando una visión visual crucial del desarrollo reproductivo de los hongos ostra en los diferentes medios de cultivo.

Figura 2.

Crecimiento de hongos ostra en el medio semisintético MO-08 durante la etapa reproductiva (fotoperíodo de 8 horas de luz y 16 horas de oscuridad). Se observan cuerpos fructíferos (flecha punteada) y primordios (flecha sólida).



Sin embargo, para establecer valores cuantitativos de productividad, es necesario un control y monitoreo más riguroso de variables como la temperatura y la humedad. Estas condiciones ambientales desempeñan un papel crítico en el crecimiento óptimo y la producción de hongos, y su influencia precisa sobre la productividad debe ser cuidadosamente evaluada. La implementación de un control más estricto de estas variables permitiría una comparación más precisa de la productividad de los hongos en los diferentes sustratos, lo que a su vez podría proporcionar información valiosa sobre qué condiciones son más favorables para la producción de hongos ostra.

A pesar de esta necesidad de un control más detallado, la metodología ofrece una plataforma prometedora para futuras investigaciones orientadas a comprender mejor los factores que afectan la productividad de los hongos ostra. Con la incorporación de un monitoreo más preciso de las condiciones ambientales, esta metodología podría utilizarse para evaluar la eficacia de diferentes sustratos en términos de producción de hongos, lo que podría tener implicaciones significativas para la optimización de los procesos de cultivo y la mejora de la rentabilidad en la industria de la micología.

CONCLUSIONES

En resumen, el desarrollo y la aplicación de este innovador medio semisintético representan un avance significativo en las técnicas de cultivo del hongo ostra *P. ostreatus*. Esta metodología ofrece una solución práctica y eficiente para abordar las limitaciones asociadas con los métodos tradicionales de cultivo, proporcionando un medio flexible y adaptable para el análisis tanto cualitativo como cuantitativo de la invasión y el crecimiento micelial.

Una de las ventajas clave de este enfoque es su capacidad para adaptarse a una amplia variedad de sustratos lignocelulósicos, lo que lo hace altamente versátil y aplicable en diferentes contextos. Además, el uso de fuentes de inóculo fácilmente disponibles, como los granos de cereal invadidos con micelio, mejora aún más su utilidad tanto para la producción de hongos a pequeña escala como a nivel comercial.

Al ofrecer una alternativa eficaz a los métodos tradicionales, esta metodología tiene el potencial de impulsar avances significativos en la investigación y producción de hongos ostra. Su capacidad para proporcionar resultados reproducibles y estadísticamente verificables, junto con su facilidad de implementación, lo convierten en una herramienta valiosa para la comunidad científica y la industria micológica en general.

En última instancia, el desarrollo de este medio semisintético representa un paso adelante en el campo de la micología, ofreciendo nuevas posibilidades para la exploración y comprensión de los procesos de crecimiento y desarrollo de los hongos ostra, y abriendo la puerta a nuevas oportunidades en la producción y aplicación de este importante recurso alimenticio y biotecnológico.

El análisis estadístico de las tasas de extensión apical, respaldado por la capacidad de realizar numerosas repeticiones de experimentos, subraya la efectividad y la reproducibilidad de esta técnica. Esta capacidad para realizar análisis estadísticos robustos proporciona una base sólida para la interpretación de los resultados y la toma de decisiones informadas en cuanto a la selección de sustratos y la optimización de condiciones de cultivo.

Además, la identificación de desafíos como problemas de contaminación durante el proceso experimental señala áreas específicas para futuras mejoras. Por ejemplo, se ha sugerido la posible adición de óxido de calcio en la preparación de los medios como una medida para abordar este problema. La inclusión de óxido de calcio podría ayudar a mitigar la contaminación al elevar el pH del medio, lo que inhibiría el crecimiento

de microorganismos no deseados y mejoraría las condiciones para el desarrollo del micelio de los hongos ostra.

Estas mejoras potenciales en la formulación del medio y los procedimientos experimentales tienen el potencial de aumentar aún más la fiabilidad y la eficacia de la metodología propuesta. Al abordar los desafíos identificados y optimizar los aspectos clave del proceso experimental, se pueden obtener resultados más precisos y confiables, lo que mejorará la utilidad y aplicabilidad general de esta técnica en la investigación y producción de hongos ostra.

Esta metodología no solo facilita una evaluación más precisa y eficiente de los sustratos óptimos para el cultivo de hongos ostra, sino que también promete evaluar el impacto de estos sustratos en la productividad de los hongos bajo condiciones ambientales controladas. Al proporcionar una plataforma experimental robusta y reproducible, esta técnica permite investigar cómo diferentes sustratos afectan no solo el crecimiento micelial sino también la formación de estructuras reproductivas, como primordios y cuerpos fructíferos.

Además, esta metodología ofrece la oportunidad de explorar más a fondo cómo factores ambientales, como la temperatura y la humedad, interactúan con los sustratos para influir en la productividad de los hongos. Esto puede llevar a una comprensión más completa de los requisitos de cultivo óptimos para maximizar los rendimientos y la calidad de los productos finales.

En general, este enfoque representa un paso significativo en la investigación del cultivo de hongos, ofreciendo conocimientos valiosos tanto para la investigación académica como para aplicaciones prácticas en la industria de producción de hongos. Los resultados obtenidos a través de esta metodología pueden informar la selección de sustratos en entornos de producción a gran escala, lo que potencialmente conduce a una mejora en la eficiencia y la sostenibilidad de la producción de hongos ostra.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Fondo Estatal de Innovación Tecnológica 2023 del Estado de Aguascalientes por el apoyo para la realización de este proyecto.

REFERENCIAS

- Akter, M., Halawani, R. F., Aloufi, F. A., Taleb, M. A., Akter, S., & Mahmood, S. (2022). Utilization of agro-industrial wastes for the production of quality oyster mushrooms. *Sustainability*, 14(2), 994.
- Balan, V., Zhu, W., Krishnamoorthy, H., Benhaddou, D., Mowrer, J., Husain, H., & Eskandari, A. (2022). Challenges and opportunities in producing high-quality edible mushrooms from lignocellulosic biomass in a small scale. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 106(4), 1355-1374.

- Barros, L., Cruz, T., Baptista, P., Estevinho, L. M., & Ferreira, I. C. (2008). Wild and commercial mushrooms as source of nutrients and nutraceuticals. *Food and Chemical Toxicology*, 46(8), 2742-2747.
- Dissasa, G. (2022). Cultivation of different oyster mushroom (*Pleurotus* species) on coffee waste and determination of their relative biological efficiency and pectinase enzyme production, Ethiopia. *International Journal of Microbiology*, 2022.
- Doroški, A., Klaus, A., Režek Jambrak, A., & Djekic, I. (2022). Food Waste Originated Material as an Alternative Substrate Used for the Cultivation of Oyster Mushroom (*Pleurotus ostreatus*): A Review. *Sustainability*, 14(19), 12509.
- Ejigu, N., Sitotaw, B., Girmay, S., & Assaye, H. (2022). Evaluation of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) production using water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) biomass supplemented with agricultural wastes. *International Journal of Food Science*, 2022.
- Elkanah, F. A., Oke, M. A., & Adebayo, E. A. (2022). Substrate composition effect on the nutritional quality of *Pleurotus ostreatus* (MK751847) fruiting body. *Heliyon*, 8(11).
- Lesá, K. N., Khandaker, M. U., Mohammad Rashed Iqbal, F., Sharma, R., Islam, F., Mitra, S., & Emran, T. B. (2022). Nutritional value, medicinal importance, and health-promoting effects of dietary mushroom (*Pleurotus ostreatus*). *Journal of Food Quality*, 2022.
- Liu, R., Yuan, S., Shi, H., Long, X., & Jin, H. (2022). Study on Changes of Microclimate in Greenhouse of *Pleurotus nebrodensis* in Jizhou, Tianjin. *Journal of Geoscience and Environment Protection*, 10(8), 66-79.
- Mattila, P., Suonpää, K., & Piironen, V. (2000). Functional properties of edible mushrooms. *Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif.)*, 16(7-8), 694-696.
- Perera, P. K., & Li, Y. (2011). Mushrooms as a functional food mediator in preventing and ameliorating diabetes. *Functional foods in health and disease*, 1(4), 161-171.
- Petri, R. J. (1887). A minor modification of the plating technique of Koch. *Centralbl Bacteriol Parasitenkunde*, 1, 279-280.
- Raut, J. K., & Adhikari, M. K. (2021). Mushroom: A true super food. Comprehensive Insights in Vegetables of Nepal. Khumaltar: Nepal Academy of Science & Technology.
- Sánchez, C., & Viniegra-González, G. (1996). Detection of highly productive strains of *Pleurotus ostreatus* by their tolerance to 2-deoxy-D-glucose in starch-based media. *Mycological Research*, 100(4), 455-461.