

PROCEDIMIENTO PARA LA PRODUCCIÓN, CONSERVACIÓN Y MANTENIMIENTO DE LAS CEPAS *PLEUROTUS OSTREATUS*

PROCEDURE FOR THE PRODUCTION, CONSERVATION AND MAINTENANCE OF *PLEUROTUS OSTREATUS* STRAINS

Yolexis Roberta Cardona Soberao¹, Lianet Maura Cardoso Paneque¹, Lourdes Mariana Crespo Zafra¹, Armando Antonio Macías González¹, [Amaury Pérez Sánchez¹](#)

¹Universidad de Camagüey “Ignacio Agramonte Loynaz”, Camagüey, Cuba.

Autor para correspondencia: Amaury Pérez Sánchez, amaury.perez84@gmail.com

Recibido: 07/12/2023

Aceptado: 21/12/2023

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo consiste en elaborar un procedimiento para la producción, conservación, y mantenimiento de la cepa del género *Pleurotus ostreatus*, que permita llevar a cabo, de forma práctica, estas operaciones de la manera más eficiente posible. Dentro de los métodos empleados para realizar esta investigación se encuentran la síntesis de bibliografías relacionadas con el cultivo de setas de género *Pleurotus* spp. Como resultado principal de este estudio se obtiene la propuesta de un procedimiento que indique las condiciones idóneas a aplicar durante la fase de laboratorio para lograr una mejor calidad de las cepas de *Pleurotus ostreatus* en las tareas de producción, conservación y mantención, sin comprometer la calidad de las mismas y del proceso en general.

PALABRAS CLAVE: control de calidad, preservación, procedimiento de laboratorio, setas comestibles.

ABSTRACT

The objective of this work is to develop a procedure for the production, conservation, and maintenance of the strain of the genus *Pleurotus ostreatus*, which allows these operations to be practically carried out in the most efficient way possible. Among the methods used to carry out this research are the synthesis of bibliographies related to the cultivation of mushrooms of the genus *Pleurotus* spp. The main result of this study is the proposal of a procedure that indicates the ideal conditions to apply during the laboratory phase to achieve better quality of *Pleurotus ostreatus* strains in production, conservation and maintenance tasks, without compromising the quality of them and the process in general.

KEYWORDS: quality control, preservation, laboratory procedure, edible mushrooms.

INTRODUCCIÓN

Las setas comestibles han sido utilizadas por décadas con fines medicinales y alimentarios como parte de una dieta sana, ya que controla muchas funciones del cuerpo humano y reduce el riesgo de varias enfermedades.

La palabra “hongo” es un término de uso general que en realidad se refiere al cuerpo fructífero macroscópico del hongo. Los cuerpos fructíferos tienen formas extremadamente diversas; algunos parecen globos amorfos de gelatina, mientras que

otros asemejan a un paraguas, algunos otros parecieran corales, y hay los que aparentan ser huevos. También se encuentran los que simulan ser nidos de pájaros, y estrellas de mar (Sahagún, 2020).

Las setas comestibles se alimentan de la materia orgánica en la que están creciendo, llamada sustrato, degradando las sustancias con enzimas que liberan al medio húmedo que les rodea, por ello es importante el suministrar un sustrato adecuado al hongo cuando se le intente cultivar para que los nutrientes puedan ser aprovechados por las hifas del micelio. Para que la seta se desarrolle adecuadamente se requiere de una temperatura y humedad adecuadas, así como aire que aporte oxígeno y cierta cantidad de luz. Con estos factores se deducen las necesidades que tiene que satisfacer el cultivo del hongo seta. El conocer el desarrollo de un hongo en la naturaleza y entender su ciclo de vida, nos dará el conocimiento para poder manipularlo y producirlo en condiciones artificiales de cultivo (Gaitán-Hernández et al., 2006).

Los sustratos donde se cultivaron los hongos, una vez utilizados, también se pueden usar como biofertilizante para enriquecer la fertilidad de los suelos, como alimento para animales y también para la producción de biogás. Según (Grimm et al., 2021; Nongthombam et al., 2021), esto garantiza el cierre de los ciclos productivos y el uso de un subproducto de un proceso, como materia prima para otro. El cultivo de hongo se puede adoptar como industria artesanal porque al ser un cultivo protegido, no compite por el área con ningún otro cultivo y se encuentra a salvo de los caprichos de la naturaleza. Tiene un enorme potencial de exportación como producto básico que genera ingresos (Ali et al., 2007).

En los últimos tiempos el aumento de producción de los hongos comestibles ha sido uno de los retos para satisfacer las necesidades alimentarias a nivel mundial, y

junto con esto también ha aumentado el consumo de este producto. Entre las especies más cultivadas se encuentran *Agaricus*, *Lentinula*, *Pleurotus* y *Volvariella*, siendo *Agaricus* el de mayor producción. Las especies de *Pleurotus* son la más fáciles y menos costosas para cultivar; muy pocas especies de otros hongos demuestran tal adaptabilidad, agresividad y productividad (López, 2014).

La seta *Pleurotus ostreatus* degrada compuestos lignocelulósicos, presenta propiedades alimenticias, medicinales entre las que se puede señalar inhibición antiviral, anticancerígenas, y antibióticas, además de ayudar en el control del colesterol (Jaramillo, 2013). Igualmente, estudios de (Vargas et al., 2012) mencionan que el uso como sustrato del bagazo de caña fomenta la producción de enzimas lignocelulolíticas debido a que el bagazo de caña contiene cantidades apreciables de celulosa y hemicelulosa. En (Garzón & Cuervo, 2008) se destaca que la utilización del bagazo de caña de azúcar permite producir un alimento realmente alto en el nivel nutricional, el cual es el hongo *Pleurotus ostreatus*. Este hongo llega hasta un 40% en materia seca consumiendo el sustrato bagazo de caña de azúcar.

La composición nutricional de *Pleurotus ostreatus* varía dependiendo del tipo de sustrato en el que se cultive, los minerales (potasio, sodio, fósforo, cadmio, etc.) se concentran en los cuerpos fructíferos, mientras que el contenido de proteínas del mismo está relacionado con la cantidad de nitrógeno que el sustrato posea. Su contenido de grasas y carbohidratos es bajo, posee vitaminas B1, B2, tocoferol, cobalamina, carotenos, entre otros (Donado, 2014). En cuanto a su composición, (Juárez et al., 2021) menciona en su investigación que el valor nutritivo del hongo *Pleurotus ostreatus* reside en las proteínas que contiene, donde se resalta el gran valor de tener los aminoácidos alanina, ácido glutámico y glutamina, por lo que se llega a la conclusión que sus propiedades nutritivas aportan mucho más

proteínas que las plantas y llega a acercarse al aporte dado por la proteína animal.

El *Pleurotus ostreatus* en Cuba empezó a cultivarse con el empleo de subproductos de la industria cañera (paja y bagazo) con excelentes resultados y con un avanzado logro de su tecnología por el Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar (ICIDCA) en 1988 (Bermúdez et al., 2001). Esta tecnología fue empleada por el Centro de Estudios de Biotecnología Industrial (CEBI) de la Universidad de Oriente, sustituyendo a la caña de azúcar por otros subproductos agroindustriales existentes en la provincia oriental, como los del café, con los cuales este centro de investigaciones ha alcanzado resultados importantes, sobre todo en las ramas de la producción de fármacos y de algunos productos derivados de la seta (García et al., 2007; García et al., 2016).

Sin embargo, el consumo de los hongos comestibles no figura en la tradición culinaria del pueblo cubano debido a que no existen centros de producción cercanos que abastezcan el mercado nacional y la gran mayoría de las veces que se consume es a través del producto importado (en conserva) principalmente el champiñón.

En la Universidad de Camagüey se lleva a cabo el proyecto “Desarrollo de tecnologías para la elaboración de alimentos sanos a partir de setas comestibles” en el departamento de Ciencia y Tecnología de los Alimentos desde el 2018. Como parte de este proyecto se trabaja en la creación de infraestructuras que permitan en un futuro la producción de setas con recursos y materias primas netamente del territorio, aunque existe la problemática de que, hasta el momento, se han empleado las cepas pertenecientes al CEBI tanto para investigaciones o capacitaciones (Puig et al., 2020), las cuales deben ser transportadas, reproducidas y conservadas con ciertos parámetros y condiciones que permitan la preservación biológica de esta especie tan

frágil en esta etapa. Una vez que se instale en la Universidad de Camagüey la tecnología y se ponga en marcha las producciones, se hace necesario contar con cepas obtenidas en nuestras entidades investigativo-productivas, siempre cumpliendo con condiciones que apunten a la eficiencia en el trabajo y la inocuidad y preservación del producto.

La adecuada conservación de las cepas garantiza la calidad y continuidad en la producción de la semilla comercial y además mantiene la viabilidad y el potencial productivo de las especies al cultivarlas (Valencia et al., 2006). Sin embargo, las cepas de *Pleurotus ostreatus* son vulnerables a pérdidas de vitalidad y daños irreparables en su fisiología ante cambios ambientales bruscos durante su producción, aspecto que influye negativamente en la calidad de las producciones de setas comestibles.

De esta manera, el objetivo del presente artículo consiste en elaborar un procedimiento para la producción, conservación y mantenimiento de la cepa del género *Pleurotus ostreatus*, sin comprometer la calidad de las mismas, mediante el establecimiento de las condiciones necesarias en la fase de laboratorio. Para cumplir el objetivo trazado se partió de una revisión bibliográfica actualizada en el período comprendido de octubre y noviembre del año 2022.

Se asumió la revisión bibliográfica como el proceso de detectar, recuperar y consultar materiales de interés para la investigación, para sistematizar la información contenida en ellos y extraer conclusiones válidas referidas al objeto de estudio. Por tal razón, se consideraron para el análisis: artículos originales y de revisión publicados preferentemente en idioma español; artículos de revistas, libros, trabajos de culminación de estudio y cualquier tipo de reporte de investigación que abordara el tema.

MATERIALES Y MÉTODOS

Método de revisión bibliográfica

Durante el estudio, revisión y análisis bibliográfico prevaleció el empleo de los métodos teóricos: análisis-síntesis; inducción-deducción y el hipotético-deductivo. Y, sobresalió como método empírico la revisión de documentos.

La búsqueda de investigaciones se llevó a través del motor de búsqueda el Google Académico y se consideraron bases de datos de acceso abierto como IRESIE, Redalyc, SciELO y Dialnet, en el contexto iberoamericano. Como estrategia de búsqueda se utilizaron los siguientes descriptores: preparación de cepas, generación, conservación y preparación; aislamiento y mantenimiento de la cepa de *Pleurotus ostreatus*. Los criterios de inclusión establecidos fueron publicaciones preferentemente español y de la región de Iberoamérica.

A partir de las estrategias de búsquedas, se localizaron 80 artículos, de los cuales se utilizó 40. La selección de los estudios se realizó según los siguientes pasos: I) lectura de los títulos de los artículos; II) lectura de los resúmenes; III) lectura completa de los artículos seleccionados a partir de los resúmenes.

La selección se manejó bajo los siguientes criterios:

- Generalidades de *Pleurotus ostreatus*.
- Fundamentación de los referentes teóricos sobre la producción, conservación y mantenimiento de las cepas de *Pleurotus ostreatus*.
- Factores más importantes que condicionan o limitan el desarrollo de las cepas.
- Condiciones constructivas de un laboratorio.

Consulta a expertos

En búsqueda de asesoría acerca del tema se consultó a especialistas del CEBI

perteneciente a la Universidad de Santiago de Cuba. Se investigó acerca de las experiencias prácticas en la producción del aislamiento, conservación y mantenimiento de cepas de *Pleurotus ostreatus*.

Caracterización del laboratorio de producción de cepas de *Pleurotus ostreatus*

Para efectuar la caracterización del laboratorio de producción de cepas de *Pleurotus ostreatus* se realizó una entrevista al responsable del diseño de dicho laboratorio. Se consultó trabajos de grado y artículos de estudiantes vinculados con el diseño de la planta. Igualmente se realizó una visita y recorrido por las instalaciones.

Elaboración del procedimiento para la producción, conservación y mantenimiento de las cepas *Pleurotus ostreatus*

Se puntualizaron los aspectos a tratar en un procedimiento para la producción, conservación y mantenimiento de las cepas *Pleurotus ostreatus* en una planta piloto de setas comestibles. Se analizó las necesidades específicas de este laboratorio y se valoró los beneficios de la aplicación de un documento de este tipo.

Elaboración del glosario

Para la elaboración del glosario se verificó cuáles eran los términos de mayor complejidad y se buscó su significado en manuales técnicos sobre el cultivo de setas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Generalidades de *Pleurotus ostreatus*

Pleurotus ostreatus es un hongo saprofítico que descompone plantas superiores muertas o sustratos vegetales en proceso de descomposición. Su crecimiento vegetativo es impulsado exclusivamente por su propio complejo enzimático, donde a una humedad suficiente en el material, las enzimas degradan moléculas complejas de lignocelulosa en moléculas más simples que el hongo puede consumir (Maccapa, 2021).

Morfología general de *Pleurotus ostreatus*

La seta comestible de *Pleurotus ostreatus* contiene dos partes fundamentales: el cuerpo vegetativo y el cuerpo reproductor. El cuerpo vegetativo se encuentra colonizando el sustrato o bajo el suelo en algunos hongos silvestres. Está formado por unos filamentos llamados hifas y por septos conteniendo dos núcleos, que se comunican entre sí a través de un conducto llamado fíbula. Al conjunto de todas las hifas es a lo que se le llama micelio (Fig. 1).

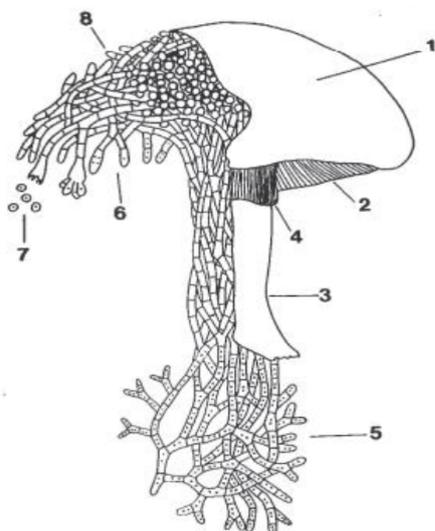


Figura 1. Estructura de un hongo basidiomiceto. 1 - Píleo, 2 - Himenio laminar, 3 - Pie o estipe, 4 - Anillo, 5 - Micelio, 6 - Desarrollo del basidio, 7 - Esporas, 8 - Estructura de la superficie del píleo. (Romero, 2006)

La función del micelio es absorber las sustancias minerales del suelo para alimento propio, excretando enzimas con acción sobre el rompimiento enzimático de los compuestos como la lignina y la celulosa, a través de la cooperación de enzimas como las ligninasas y celulasas. El micelio en realidad es el hongo, ya que la seta (comúnmente llamado hongo), es su aparato reproductor (Oei, 2016).

La seta (carpóforo) es la parte reproductora que sale al exterior de los hongos superiores. El carpóforo, está conformado por un sombrero o píleo es la parte superior, generalmente tiene forma de paraguas,

aunque pueden adoptar diversas formas. El sombrero o píleo es amplio y puede ser algo deprimido en el centro. Tiene un estípote o tallo que habitualmente no es central sino lateral o excéntrico, lo que junto con la forma de su sombrero le da el aspecto de ostra. Las esporas suelen ser blancas, pero las hay levemente amarillentas o rosadas. Las laminillas "acompañan" al estípote del hongo, prolongándose a lo largo del mismo, por lo que se dicen que son decurrentes. Las especies de este género carecen de anillo (Fig. 2).



Figura 2. Partes del hongo *Pleurotus ostreatus*. (Romero, 2022)

Características biotecnológicas de *Pleurotus ostreatus*

Investigaciones recientes han demostrado a *Pleurotus ostreatus* como un potencial biotecnológico muy prometedor, ya que tiene un efecto antitumoral debido a la presencia de cantidades importantes de polisacáridos de estructura molecular compleja; los que seguramente actuarán potenciando a las células de defensa para que destruyan células cancerosas sin efectos colaterales al individuo.

Este mismo mecanismo estimula el sistema inmune del organismo para actuar de manera eficiente contra virus y bacterias. Tienen también propiedades antiinflamatorias, debido a que en distintas investigaciones se han aislado glicopéptidos (lectinas) que contienen aminoácidos, ácidos con glucosa, arabinosa, galactosa, manosa, y xilosa, en la cadena de carbohidratos, con excelente

capacidad fungicida y antibiótica. Estos componentes han sido aislados tanto del micelio como de los cuerpos fructíferos de *Pleurotus japonicus*, *P. ostreatus* y *P. cornucopiae* (Pérez et al., 2021).

Se ha reportado que estas sustancias han sido útiles en el control de algunas enfermedades de las plantas. Algunas de las ventajas de los hongos para su uso en bioremediación se deben a que están presentes en sedimentos acuáticos y hábitats terrestres, además de que sus hifas pueden penetrar en suelos contaminados y producir enzimas extracelulares que degradan los contaminantes. Tal es así que *Pleurotus ostreatus* ha demostrado tener la capacidad de absorber metales pesados del suelo como cobalto y cadmio (Jaramillo, 2013).

Caracterización del laboratorio de producción de cepas de *Pleurotus ostreatus*

En la Universidad de Camagüey se trabaja en la construcción de un laboratorio para la producción y conservación de setas comestibles. Debido a la situación en la que se encuentra el laboratorio de producción de cepas, es imposible la realización de la parte práctica del presente estudio, sin embargo, se señalan algunas condiciones que dicha habitación debe cumplir para garantizar la inocuidad sanitaria y microbiológica de los procesos que allí se realizará.

- Condiciones necesarias:

Se dispondrá de espacio suficiente para realizar el trabajo de laboratorio en condiciones de seguridad y para la limpieza y el mantenimiento. Su pintura debe ser de colores claros, debe estar construido de materiales durables. Las paredes, los techos y los suelos serán lisos para disminuir la posibilidad de acumulación de desechos o gérmenes, deberán ser fáciles de limpiar, impermeables a los líquidos y resistentes a los productos químicos, a elementos corrosivos o tóxicos y desinfectantes normalmente utilizados en el laboratorio. El recubrimiento de paredes y el techo deberá ser

impermeable a los agentes químicos y resistente al desgaste, igualmente deberá tener buenas propiedades térmicas y poca conductividad. Los suelos deberán ser antideslizantes.

Los medios, los reactivos y los instrumentos de vidrio que deban almacenarse en la misma habitación en que se llevan a cabo los análisis microbiológicos habrán de guardarse en envases herméticamente cerrados, y todos los artículos deberán almacenarse en armarios limpios de polvo, preferiblemente con puertas corredizas de vidrio. Estas puertas deben estar permanentemente cerradas, salvo cuando haya que acceder a los armarios. Los muros deben pintarse con una pintura impermeable y a prueba de moho, que proporcione una superficie lisa e impenetrable de fácil limpieza. Se recomienda el uso de baldosines resistentes, lisos y que puedan fregarse rápidamente (FAO, 1992).

Este cuarto conviene que esté equipado con aire acondicionado. El aire acondicionado central ofrece varias ventajas. En primer lugar, el aire que entra es filtrado, con lo que se reduce el peligro de contaminación ambiental del laboratorio. En segundo lugar, las ventanas cerradas reducen al mínimo las corrientes de aire, que pueden causar contaminación, además impiden la entrada de moscas y otros insectos voladores que contaminan las muestras o las superficies del laboratorio. En tercer lugar, el aire acondicionado controla la humedad (un 50 % es óptimo), lo que atenúa los problemas con los soportes higroscópicos y los productos químicos, sobre todo en los países de clima tropical. Además, una humedad excesiva durante un período prolongado puede provocar el crecimiento de mohos en las superficies del laboratorio. Las esporas pueden hacerse aéreas, lo que afectaría a los resultados de los análisis. Por último, el aire acondicionado estabiliza la temperatura de la habitación, lo que permite un funcionamiento más eficaz de las incubadoras. Los ventiladores no son un sustituto

recomendable para lograr un sistema eficiente de ventilación, porque levantan polvo y pueden ser una causa importante de contaminación en el laboratorio de microbiología (Baggini, 2022).

Procedimientos para la producción de la cepa de *Pleurotus ostreatus* y el aislamiento de carpóforos

Las setas se reproducen por medio de esporas, las cuales se alojan en las laminillas que se ubican debajo del píleo o sombrero, tejido que se utiliza para el aislamiento de la cepa. Para cultivar los tejidos de los cuerpos fructíferos de la cepa que se quiera aislar es necesario realizar una selección cuidadosa de los individuos con mejores cualidades fenotípicas como: tamaño, aspecto, color, crecimiento, adaptación, precocidad, etc.

Una vez escogidas las setas, se toma un trozo del sombrero y en una caja de Petri vacía y estéril se hacen cortes del tejido externo del trozo seleccionado y se desechan. Luego, el tejido resultante se sumerge en una solución desinfectante (hipoclorito al 25%), durante 5 minutos, pasado el tiempo el tejido se sumerge en agua destilada estéril para eliminar el desinfectante y se traslada a una caja de Petri que contenga servilletas estériles, con las cuales se le elimina el exceso de agua y nuevamente se le hacen cortes externos, dejando solamente la parte interna, la cual es transferida a una caja de Petri con agar extracto de malta y se incuba a 25°C de 7 a 10 días.

La cepa así aislada puede mantenerse vigorosa hasta por año y medio, siempre y cuando se almacene a temperaturas de refrigeración y/o crioconservación, realizando repiques en agar cada tres meses.

- Procedimiento

1. Preparar cajas de Petri con agar extracto de malta, papa dextrosa agar y/o agar Sabouraud, de acuerdo con la metodología básica de laboratorio.
2. Disponer de los siguientes materiales: cajas de Petri vacías, cajas de Petri con servilletas,

pinzas, pipetas de 10 ml, Beaker de 100 ml, bisturí, botellas con agua estéril.

3. Lavar y esterilizar el material de vidrio y el instrumental de acuerdo a las metodologías básicas de laboratorio.

4. Retirar de la nevera los medios para la siembra y desinfectar las cajas con alcohol. Para permitir que se aclimate antes de utilizarlo debe ser retirado aproximadamente 1 día antes.

5. Limpiar y desinfectar el laboratorio y la cabina de flujo laminar o área de siembra según las metodologías básicas de laboratorio. Encender mecheros.

6. Mantener cerrada la puerta del laboratorio. Mantener una bata limpia, cofia y tapabocas al interior del laboratorio, y una a la salida para el cambio.

7. Seleccionar un carpóforo con excelentes características fenotípicas y seccionar un trozo para aislar la cepa, y eliminar los tejidos externos con la ayuda del bisturí y de las pinzas.

8. Desinfectar el trozo de carpóforo en hipoclorito al 25% durante 5 minutos, luego sumergir el trozo en agua destilada estéril durante 5 minutos más.

9. Eliminar el exceso de agua pasando el pedazo de tejido a una caja de Petri con servilletas estériles.

10. El fragmento de carpóforo se siembra en una caja de Petri con agar extracto de malta y se incuba a 25 °C, de 7 a 10 días.

11. Recoger la basura y limpiar y desinfectar el área de trabajo, después de realizada la siembra.

12. Para control de hongos y bacterias es recomendable realizar aspersiones con formol al 0,3% en volumen, es decir adicionar 3 ml de formol comercial en un litro de agua.

13. Evaluar diariamente el crecimiento micelial, retirar el material contaminado y disponerlo de acuerdo con lo establecido en las metodologías básicas.

14. Cuando la invasión del hongo sea entre el 95 y 100%, sellar la caja de Petri con vinilpel, desinfectarla externamente y guardarla en la nevera entre 4 y 6 °C.

15. Cuando ocurran contaminaciones lejos del área de crecimiento micelial del hongo, puede realizarse un repique a otras cajas de Petri con agar para eliminar el contaminante, y disponer el material contaminado conforme a lo expresado en el presente protocolo.

Procedimientos para el mantenimiento y conservación de la cepa de *Pleurotus ostreatus*

Propuesta 1: La conservación de cepas de *Pleurotus* spp. en agua destilada estéril o método de Castellani, el cual es un método que garantiza elevados porcentajes de viabilidad, pureza y estabilidad de las cepas; esto unido a su bajo costo y sencillez, la convierte en una alternativa ventajosa para el mantenimiento de las mismas.

Es un método simple de conservación, las cepas se pueden conservar en pequeños tubos de 2-10 ml con agua destilada estéril.

Procedimiento

1. Inocular la cepa en un medio de cultivo para hongo, donde mejor crezca el Basidiomiceto. Incubar a 27-28°C o temperatura ambiente por 7-12 días.
2. Cortar varias tiras de papel de filtro en pequeños tamaños (2 cm de largo x 1 cm de ancho) colocar dentro de un recipiente que se pueda esterilizar por medio de autoclave, puede ser una caja Petri u otro frasco de mayor tamaño u Erlenmeyer con tapón.
3. Preparar medio de cultivo para hongo, donde mejor crezca el Basidiomiceto, y preparar varias placas (de 3-5 por cepas).
4. Esterilizar mediante autoclave por 15 min a una temperatura de 121 °C.
5. En flujo laminar o cuarto de siembra verter el medio de cultivo en las placas
6. Una vez solidificado el medio, colocar en su interior varias tirillas de papel de filtro estéril con ayuda de una aguja bacteriológica o pinza estéril y frente al o los mecheros en el cuarto de siembra.
7. Tomar, con ayuda de la aguja bacteriológica, una muestra del micelio de la cepa e inocular encima de cada tirilla de papel

de filtro. Incubar a 27-28 °C o temperatura ambiente por 7 días, observar periódicamente.

8. En tubos de rosca o frasquitos de penicilina añadir 5ml de agua destilada y esterilizar mediante autoclave por 15 min a una temperatura de 121 °C.

9. Transcurrido el tiempo de incubación, y al observar desarrollo micelial en los fragmentos de papel de filtro, se retira cada fragmento con ayuda de la aguja bacteriológica o cuidadosamente con una pinza estéril en cuarto de siembra y frente al mechero, y se colocan dentro de cada tubo de rosca o frasco de penicilina conteniendo los 5ml de agua destilada estéril.

10. Se recomienda depositar unas gotas de aceite mineral o parafina estéril en la superficie del agua para evitar la evaporación.

11. Al final se pueden mantener guardadas en refrigerador o a temperatura ambiente por 2 años y más.

12. La eficiencia de la técnica se verifica a partir de un tiempo prologado al resembrar la cepa en un medio de cultivo para hongo.

Propuesta 2: Otros métodos consisten en la preparación de los medios de cultivo más frecuentemente utilizados en preservación de cepas de *Pleurotus ostreatus*.

Título: Agar con extracto de malta

Ingredientes:

- Extracto de Malta: 10 g
- Agar-Agar: 15 g

Procedimiento:

Se pesan los ingredientes y se mezclan en el matraz con 1000 ml de agua destilada. La suspensión se calienta y agita hasta que queden totalmente disueltos los ingredientes.

Título: Agar con dextrosa y papa

Ingredientes:

- Papa: 200 g
- Agar-Agar: 15 g
- Dextrosa o Glucosa: 20 g
- Levadura: 2 g

Procedimiento:

Pelar y poner a hervir la papa en 500 ml de agua destilada o purificada durante 10-15 min. El extracto se filtra y se adiciona más agua hasta ajustar 1000 ml para reponer lo que se evaporó. Se agregan los otros ingredientes y se calienta a fuego lento moviendo constantemente durante 1-2 min hasta que queden totalmente disueltos.

Glosario de términos relacionados con la producción, conservación y mantenimiento de las cepas *Pleurotus ostreatus*

Carpóforos: Prolongación del receptáculo que lleva encima al gineceo y luego al fruto.

Estípite: En micología el término estípite hace referencia al pie que sustenta el píleo o sombrero del cuerpo fructífero de un basidiomiceto. Estos hongos se denominan estipitados. Como todos los tejidos fúngicos el estípite se compone de tejido estéril hifal, quedando el tejido fértil del himenio bajo el píleo.

Píleo: El sombrero, o píleo, es la parte superior. Generalmente tiene forma de paraguas, aunque puede adoptar diversas formas. Bajo el sombrero se encuentra el himenio que es una membrana que envuelve a los elementos fértiles, las esporas, de ahí que se denomine a la seta como cuerpo reproductor.

***Pleurotus*:** Es un género de setas con el himenio laminado que incluye a algunas especies comestibles de gran interés comercial, como el champiñón ostra o la seta de cardo.

Macromicetos: Son hongos (organismos eucariotas como mohos, levaduras y royas) que tienen estructuras microscópicas productoras de esporas. Presentan crecimiento en la punta del tubo y tienen paredes celulares compuestas de quitina, un polímero de N-acetilglucosamina.

Hongo saprofítico: Un hongo saprófito (del griego *sapros* = putrefacto y *fyton* = planta) es el que se alimenta de materia orgánica muerta o en descomposición. Son los más frecuentes en determinados ecosistemas e intervienen en la mineralización de los restos

vegetales para que puedan posteriormente formar parte del humus.

Contaminación microbiológica: Se refiere a la introducción involuntaria o no intencionada de microorganismos infecciosos como las bacterias, levaduras, mohos, hongos, virus, priones, protozoos o de sus toxinas y/o subproductos.

Esterilizar: Se denomina esterilización al proceso por el cual se obtiene un producto libre de microorganismos. El proceso de esterilización debe ser diseñado, validado y llevado a cabo para asegurar que es capaz de eliminar la carga microbiana del producto o un microorganismo más resistente.

Desinfectar: Se denomina desinfección a un proceso químico que mata o erradica los microorganismos sin discriminación tales como bacterias, virus y protozoos, impidiendo el crecimiento de microorganismos patógenos en fase vegetativa que se encuentren en objetos inertes.

Esporas: En biología, el término espora designa un cuerpo microscópico unicelular o pluricelular que se forma con fines de dispersión y supervivencia por largo tiempo en condiciones adversas, y que generalmente es una célula haploide.

Hifa: La hifa es un filamento que se origina a partir de las esporas en hongos, pseudohongos y actinobacterias.

Laminillas: Son las estructuras laminares existentes bajo el sombrero de algunas setas, cuya función es actuar como himenóforos en el cuerpo fructífero del hongo. Es la estructura más frecuente, pero no exclusiva, en los agáricos.

Lignocelulosa: Se refiere a la materia seca vegetal, llamada biomasa lignocelulósica. Es la materia prima más abundante disponible en la Tierra para la producción de biocombustibles, principalmente bioetanol. Está compuesto por polímeros de carbohidratos y un polímero aromático.

Micelio: Es una estructura de los hongos de apariencia similar a una raíz, consistente en una masa de hifas ramificadas y de textura como de hilo, que forman la parte vegetativa

de los hongos pluricelulares tales como las setas y los mohos.

Medio de cultivo: Es una técnica de laboratorio que consta de un gel o una solución que contiene los nutrientes necesarios para permitir, en condiciones favorables de pH y temperatura, el crecimiento de virus, microorganismos, células, tejidos vegetales o incluso pequeñas plantas.

Valoración de la pertinencia de los procedimientos a emplear en la UC

La Universidad de Camagüey, específicamente la carrera de Ciencias Alimentarias, trabaja de conjunto con un grupo de especialistas en el diseño y construcción de un laboratorio para la producción, conservación y producción de setas comestibles, haciendo énfasis en el *Pleurotus ostreatus*. La conservación de las cepas en un laboratorio es una actividad cotidiana de vital importancia porque representa el resguardo adecuado de los recursos genéticos vivos. Es de vital importancia elegir sistemas eficientes y seguros que garantice la conservación de los micelios.

Luego de un análisis exhaustivo de la literatura y experiencias de la Universidad de Oriente se puede indicar que existen varios métodos utilizados mundialmente: el almacenamiento a largo plazo y almacenamiento a corto plazo. Entre los más factibles a realizar en la Universidad de Camagüey se encuentra el de la conservación de cepas de *Pleurotus* spp. en agua destilada estéril o método de Castellani, el cual es un método fácil, de bajo costo y sencillo por lo que es recomendable su utilización. También se recomienda el método de resiembra continua y el método de cultivo seriado.

CONCLUSIONES

La aplicación de un procedimiento para la producción, conservación y mantenimiento de las cepas permitirá preservar la calidad en la etapa de laboratorio de la producción de setas. Al tratarse de un laboratorio investigativo-productivo, la aplicación de documentos normativos garantiza la eficacia de los procesos, manteniendo estándares de la calidad adecuados.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ali, M. A., Mehmood, M. I., Nawaz, R., Hanif, M. A., & Wasim, R. (2007). Influence of substrate pasteurization methods on the yield of oyster mushroom (*Pleurotus* species). *Pak. J. Agri. Sci.*, 44(2), 300-303.
- Baggini, S. P. (2022). *Buenas Prácticas de Laboratorio (BPL)*. Santa Fé, Argentina: Universidad Nacional de Rosario.
- Bermúdez, R. C., García, N., Gross, P., & Serrano, M. (2001). Cultivation of *Pleurotus* on agricultural substrates in Cuba. *Micología Aplicada Internacional*, 13(1), 25-29.
- Donado, T. V. (2014). *Evaluación de tres sustratos para la producción de hongo ostra (Pleurotus ostreatus); Moyuta, Jutiapa*. (Tesis de Diploma), Universidad Rafael Landívar, Escuintla, Guatemala.
- FAO. (1992). *Manuales para el control de calidad de los alimentos 12. la garantía de la calidad en el laboratorio microbiológico de control de los alimentos*. Roma, Italia: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO).
- Gaitán-Hernández, R., Salmones, D., Merlo, R. P., & Mata, G. (2006). *Manual práctico del cultivo de setas. Aislamiento, siembra y producción*. Veracruz, México: Instituto de Ecología A.C.
- García, N., Bermúdez, R. C., Augur, C., Roussos, S., & Perraud-Gaime, I. (2007). Producción de lacasa extracelular, remoción de fenoles y cafeína por *Pleurotus* spp. cultivado en pulpa de café. *Tecnología Química*, XXVII(3), 83-91.

- García, N., Bermúdez, R. C., Castillo, I., Serrano, M., & Perraud-Gaime, I. (2016). Evaluación de la producción de lacasa de *Pleurotus* spp. *Revista Tecnología Química*, 36(1), 79-83.
- Garzón, J. P., & Cuervo, J. L. (2008). Producción de *Pleurotus ostreatus* sobre residuos sólidos lignocelulósicos de diferente procedencia. *NOVA*, 6(10), 126-140.
- Grimm, A., Eilertsen, L., Chen, F., Huang, R., Atterhem, L., & Xiong, S. (2021). Cultivation of *Pleurotus ostreatus* Mushroom on Substrates Made of Cellulose Fibre Rejects: Product Quality and Spent Substrate Fuel Properties. *Waste and Biomass Valorization*, 12, 4331-4340. <https://doi.org/10.1007/s12649-020-01311-y>
- Jaramillo, I. P. (2013). *Evaluación de tres residuos agroindustriales lignocelulósicos provenientes de cebada (Hordeum vulgare L.), arroz (Oriza sativa.) y eucalipto (Eucalyptus globulus L.) para el cultivo de dos cepas de hongo ostra (Pleurotus ostreatus j.) bajo invernadero.* (Tesis de Diploma), Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba, Ecuador.
- Juárez, J. I. N., Ruiz, Á. D. C., & López, W. R. (2021). Evaluación del cultivo del hongo *Pleurotus ostreatus* y de su composición nutricional en borra de café. *Revista TECNIA*, 31(2), 27-32. <https://doi.org/10.21754/tecnia.v21i2.1026>
- López, A. (2014). El género *Pleurotus* y su diversificación taxonómica en especies. *Fungicultura*, 14, 1-19.
- Maccapa, L. (2021). *Producción de hongo ostra (Pleurotus ostreatus (Jacq.) P. Kumm) sobre residuos lignocelulósicos en la provincia de Puno.* (Tesis de Diploma), Universidad Nacional Del Altiplano, Puno, Perú.
- Nongthombam, J., Kumar, A., Ladli, Manikanta, B., Madhushekhar, M., & Patidar, S. (2021). A Review on Study of Growth and Cultivation of Oyster Mushroom. *Plant Cell Biotechnology and Molecular Biology*, 22(5&6), 55-65.
- Oei, P. (2016). *Mushroom cultivation IV: Appropriate technology for mushroom growers* (4th ed.). Amsterdam, The Netherlands: ECO Consult Foundation.
- Pérez, G., Lopez-Moya, F., Chuina, E., Ibañez-Vea, M., Garde, E., López-Llorca, L. V., . . . Ramírez, L. (2021). Strain Degeneration in *Pleurotus ostreatus*: A Genotype Dependent Oxidative Stress Process Which Triggers Oxidative Stress, Cellular Detoxifying and Cell Wall Reshaping Genes. *Journal of Fungi*, 7, 862. <https://doi.org/10.3390/jof7100862>
- Puig, Y., Crespo, L. M., Cardona, Y. R., Matos, L., & Serrano, M. (2020). Evaluación de tres residuos agroindustriales como sustratos para cultivo del *Pleurotus ostreatus* var. Florida. *YACHASUN*, 4(7), 164-176. <https://doi.org/10.46296/yc.v4i7.0040>
- Romero, A. J. (2006). *Cultivo de Pleurotus spp. sobre sustratos no convencionales.* (Tesis de Diploma), Instituto Politécnico Nacional, México, D. F.
- Romero, H. G. (2022). *Producción de hongos comestibles "Pleurotus ostreatus" utilizando como sustrato los residuos agrícolas de cosecha en la Empresa Agro Industrial Paramonga S.A.A.* (Tesis de Maestría), Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú.
- Sahagún, F. L. V. (2020). Aprovechamiento sostenible de hongos comestibles; hacia una seguridad alimentaria. *Meio Ambiente (Brasil)*, 2(5), 45-55.
- Valencia, N. R., Fonseca, M. L. A., & Perdomo, F. P. (2006). *Mantenimiento de cepas de hongos comestibles y medicinales.* Colombia: Cenicafé.
- Vargas, P. S., Hoyos, J. L., & Mosquera, S. A. (2012). Uso de hojarasca de roble y bagazo de caña en la producción de *Pleurotus ostreatus*. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 10(1), 136-145.