

Płynna kultura podstawy

(Liquid Culture Basics)

wersja ang. www.en.psilosophy.info/wjehrepebxjabzcqclalbxga
original text: <https://www.shroomery.org/9145/Liquid-Culture-Basics>

[tłumaczenie: cjuchu]

Wstęp

Płynne (tkankowe) kultury są stosowane do wyhodowania grzybni w roztworze płynu w celu zaszczepienia wybranego substratu. Są jak strzykawka wielozarodnikowa, z wyjątkiem tego, że zarodniki wykiełkowały w grzybnię. Ponieważ zarodniki już wykiełkowały; czasy kolonizacji są znacznie szybsze a zaszczepione substraty mają prędkościową przewagę nad zakażeniami.

Oprócz znacznej szybkości przewyższającej zaszczepianie wielozarodnikowe, grzybni nie szkodzi nadtlenek wodoru (H_2O_2), więc może być on dodany do substratu by pomógł zredukować zakażenia. Normalnie nie można tego zrobić aż grzybnia zacznie rosnąć, ponieważ H_2O_2 zabija zarodniki.

Jedną strzykawkę zarodników można przerobić na litry płynnej kultury. Z jednego odcisku zarodników, kultury agarowej i tkanki grzyba także można zrobić litry.

Płynne kultury są ekonomiczne, gdyż 1cm^3 ze strzykawki z zarodnikami może dostarczyć dużych ilości płynnego zaszczepiacza, który można zastosować do wielu słoików/toreb. Także jeśli płynny zaszczepiacz jest klonem (utworzonym z posektorowanego agaru lub tkanki grzyba), wówczas każdy słoik powinien wykazać się podobnymi szybkościami rozwoju i dojrzewania.

Płynne kultury są normalnie 4% roztworem różnych cukrów i innych związków odżywczych rozcieńczonych w wodzie. Mogą to być 4 gramy cukrów na 96 ml/cm^3 wody. (Woda waży 1 gram na 1 ml/cm^3 .)

Podłoże

Niektórymi źródłami związków odżywczych są:

- Karo (potrzebujesz klarownego, posiadającego czerwoną metkę; "Jasny z wanilią". NIE STOSUJ ciemnego Karo, które zawiera brązowy cukier)
- Miód (wiadomo, że nieorganiczny działa, lecz bardzo polecany jest miód organiczny.)
- Cukier kukurydziany
- Jasny ekstrakt słodowy (lub ekstra jasny. Im jaśniejszy tym lepiej, ponieważ dzięki temu będzie łatwiej obserwować rozwój w słoiku.)
- Dekstroza (glukoza)
- Choć polecane jest to, co powyżej, ponieważ zostało wypróbowane i przetestowane, z powodzeniem były stosowane inne źródła, takie jak organiczny syrop klonowy.

Cukier domowy (sacharoza) nie powinien być stosowany.

Sama dekstroza nie jest zazwyczaj polecana, lecz zadziała, z powodu braku dodatkowych związków odżywczych rozwój w niej może być wolniejszy lecz dzięki jej klarowności może być łatwiej wypatrzeć zakażenie. Jasny ekstrakt słodowy i miód można stosować same. Można dodać dodatkowe związki odżywcze, takie jak pepton, różne mąki, lecz trudniej określić etap rozwoju grzybni z powodu zmętnienia.

Zważono 1 łyżkę jasnego ekstraktu słodowego i 1 łyżkę dekstrozy. Oto ich wagi;

1 łyżka jasnego ekstraktu słodowego = 10,3 g

1 łyżka dekstrozy = 10,1 g

Plus minus dziesiętna grama.

Słód i dekstroza

Jeden z członków stosuje:

1 łyżkę suchego ekstraktu słodowego lub dekstrozy na 250 ml (1 szklanka) wody.

Kolejny:

2% dekstrozy i 2% jasnego ekstraktu słodowego.

Stanowiłoby to 1/2 łyżki dekstrozy i 1/2 łyżki jasnego ekstraktu słodowego na 250 ml (1 szklanka) wody.

Nanook z Nan's Nook stosuje:

1 płaska łyżka dekstrozy (lub jasnego ekstraktu słodowego) na 75 ml wody.

lub

1 i 1/4 łyżki dekstrozy (lub jasnego ekstraktu słodowego) na 100 ml wody.

Miód

4 cm³/ml to dokładnie wymagana proporcja 4%. Dobrym narzędziem do odmierzenia jest strzykawka bez nałożonej igły. 1 łyżka organicznego, żółtego miodu na 100 ml wody jest dość zbliżona.

Uwaga odnośnie proporcji roztworu

Jeśli twój roztwór jest trochę poza (3%-5%), nie martw się. W większości sytuacji nadal wyda żywotną grzybnię. Lepiej mieć roztwór za słaby niż za mocny, za mocny roztwór cukru (około 10%) jest dla grzybni toksyczny, i nie pozwoli niczemu urosnąć (dlatego dżem zwany jest konfiturą!)

Mieszanie

Gdy już wybrałeś swą metodę (którakolwiek najbardziej ci odpowiada lub jest najłatwiejsza do zrobienia) czas zrobić jakąś mieszankę.

Przed dodaniem cukrów woda może być ewentualnie gorąca lub ciepła co pozwoli na ich szybsze rozpuszczenie.

Zawiń górę słoika w folię aluminiową, umieść w szybkowarze i powoli doprowadź go do 15 psi na 15-20 minut. Dłużej może spowodować skarmelizowanie Karo/miodu.

Pozwól szybkowarowi ostygnąć przed wyjęciem.

Pojemniki próżniowe

Możesz wywiercić w pokrywce słoika mały otwór, na tyle duży by zmieściła się igła strzykawki. (Ćwierćlitrowe nadają się do tego najlepiej.) Teraz nałóż na niego z obu stron kropelkę uszczelniającego silikonu (najlepiej przezroczystego). Obróć by się upewnić, że ma centymetr grubości wokół otworu po obu stronach. Jest to samozasklepiające się miejsce inokulacji, więc możesz dodawać zarodniki i wysysać inokulant bez potrzeby otwierania słoika po sterylizacji. Jeśli szczelnie umieścisz obręcz na słoiku przed szybkowarowaniem, utworzy się próżnia i wessie zarodniki, więc musisz tylko szybko przekłuć miejsce wstrzyknięcia. Jeśli obręcz pozostawisz luźno, powinieneś docisnąć ją tuż po ostygnięciu szybkowaru, gdyż nie będzie mieć próżniowego uszczelnienia. Przed zaszczepianiem zawsze powinieneś przetrzeć alkoholem silikonowe miejsce wstrzykiwania oraz igłę (wypaloną przedtem nad płomieniem).

Roztrząsanie

Niektórzy ludzie dodają do słoika, przed sterylizacją, kawałek stłuczonego szkła, szkło marmurowe lub kamyk. Roztrząsanie pozwala pociąć grzybnię, która może uformować się w słoiku w niezasysalną bryłę. Dlatego najlepsze są grube igły (rozmiar 18 lub niższy).

Nieco bardziej zaawansowaną metodą jest wrzucenie do słoika pręcika mieszającego (lub tylko 2 cm kawałek nieizolowanego przewodu) i zastosowanie płytki mieszadła magnetycznego do wstrząśnięcia grzybnią. Jest to preferowana metoda wstrząsania, ponieważ nie pozwala zmoczyć filtra w pokrywie (na przykład waty polyfil) podczas wstrząsania słoikiem, co może prowadzić do zakażenia. Zrób to sam; magnetyczne mieszadła są dość łatwe do zrobienia i istnieją tony poradników dostępnych zarówno na forach shroomery.org, jak i w Internecie.

Sterylizacja w mikrofalówce

Miód/Karo można wysterylizować w mikrofalówce. Pamiętaj, by do mieszanki dodać więcej wody, ponieważ wyparuje podczas podgrzewania dając bardziej stężony roztwór cukrowy (w szybkowarze to nie zachodzi). Nie stosuj w mikrofali metalowych opasek. Plastikowe pokrywki sprzedawane są obok metalowych. Nigdy nie wkładaj do mikrofali metalopodobnej folii aluminiowej lub igieł strzykawkowych. Doprowadź płyn do wrzenia, następnie nastaw mikrofale na odmrażanie/niską temperaturę na około 15 minut. ZAKRĘTKI ZAKRĘCONE LUŻNO! Pozwól temu całkowicie ostygnąć w mikrofali przez kilka godzin.

Osady

Po wyjęciu, obecne mogą być jakieś osady.

By to rozwiązać, otwórz słoik i przefiltruj płyn przez dwa filtry do kawy, przelej płyn z powrotem do słoika, zakryj pokrywką z filtrem, i szybkowaruj ponownie. Jeśli masz dużo płynu, możesz zdekantować go ostrożnie do kolejnego słoika pozostawiając osad. (Osady nie są szkodliwe lecz mogą zostać pomyłone z rozwojem grzybni, przyjemniej jest zobaczyć czysty rozwój.) Nie powinno się tego robić z miodem/Karo. Po kilku dniach w miodzie mogą osiąść na dnie białka lub mogą unosić się wokoło. Po wstrząśnięciu, ponownie się wymieszają.

Napowietrzanie

Podczas sterylizacji/ogrzewania, większość tlenu zostanie wyparta z płynu. Wstrząsanie pomoże sieci grzybni szybciej rosnać, lecz takie rzeczy jak podpinanie do słoików napowietrzacza nie są konieczne. Uważaj by nie zamoczyć łąty filtracyjnej (jeśli stosujesz), gdyż mogą przez to przerosnąć z zewnątrz do wnętrza, przez filtr, zakażenia.

Rozwój

Po zaszczepieniu w jakikolwiek sposób (zarodniki, klonowanie, agar), przechowuj w CIEMNYM miejscu o optymalnej temperaturze 27-30°C (przyp. tłum. - optymalna temperatura dla cubensis nie powinna przekraczać 28°C), a w temperaturze pokojowej jeśli nie ma dostępu do inkubatora. Oznaki rozwoju pojawią się maksymalnie po jednym tygodniu, a pełna gotowość będzie maksymalnie w 3 tygodniu. Niektórzy zauważają rozwój w czasie krótszym niż jeden dzień i pełną gotowość w dniu trzecim. Gdy rozwój spowolni (zakończy się), albo stosuj natychmiast albo przechowuj w lodówce.

Przechowywanie

Płynne kultury mogą być przechowywane w lodówce przez 6-8 miesięcy (lub dłużej). Niektórzy dodają w tym momencie H_2O_2 (około 1-3 cm^3), ponieważ grzybnia jest w stanie sobie z nią poradzić, może to pomóc zapobiec zakażeniom.

Karmelizacja cukru

Jeśli zbyt długo sterylizujesz w szybkowarze Karo lub miód, roztwór może pożółknąć. Nazywa się to karmelizacją i jest nadmiernym ugotowaniem cukrów, co może skutkować słabym rozwojem lub jego brakiem. Jeśli się tak stanie, wciąż możesz spróbować wyhodować kulturę w słoiku ze skarmelizowanym cukrem, lecz jeśli cierpisz na brak zarodników najlepiej zacząć od początku. Jest to coś, czego trzeba unikać. Płyny nie potrzebują zbyt długiego sterylizowania więc nie odnosisz żadnej korzyści z szybkowarowania dłuższego niż maksymalnie 15-20 minut.

Sterylizacja we wrzątku

Jeśli nie masz szybkowaru, można zastosować gotowanie. Doprowadź do mocnego wrzenia i gotuj swoje pojemniki zanurzone w wodzie przynajmniej do połowy przez 20 minut.

Uwagi

1 ml wody waży 1 gram.

1 łyżka dekstrozy waży ~10 gram. (może się nieznacznie różnić)

1 łyżka jasnego ekstraktu słodowego waży ~10 gram. (może się nieznacznie różnić)

10 ml miodu waży 14 gram.

1 łyżeczka (5 ml) miodu = 7 g.

1 łyżka (15 ml) miodu = 21 g.

[tłumaczenie: cjuchu]