

# MycoMate® liquid Culture Vial

- 1 Incluido
  - 2 Requerido
  - 3 Inoculación
  - 4 Almacenamiento
  - 5 Experimentación
- Clonación
  - Híbridos
  - Grano
  - Sustratos a granel

## \*TIP:

Para obtener mejores resultados, utilice Viales de Cultivo Líquido MycoMate® con los productos de la línea MycoMate® y MycoMate®. El éxito depende de la integridad de cada producto usado en combinación con los Viales de Cultivo Líquido MycoMate®.



## INSTRUCCIONES Medio de cultivo líquido para el cultivo del micelio de hongos comestibles

### 1 INCLUIDO:

- Vial de Cultivo Líquido Mycomate®
- Hisopos con alcohol estériles
- Jeringa esterilizada y aguja calibre 18- Vial de Cultivo Líquido

### 2 REQUERIDO:

- Llama de gas (un encendedor "tipo antorcha" funciona bien)
- Vial de suspensión de esporas comestibles SporeMate® o jeringa de esporas; Vial de Cultivo Líquido Mycomate® (que contenga el micelio); Kit de Clonación Mycomate®, u otro inoculante apropiado.
- Kit Mycomate® para Hongos Comestibles o Esclerocios, u otros medios o sustratos adecuados para el crecimiento (si el resultado final deseado son hongos).
- Manos limpias y un área aseada para trabajar

### 3 Inoculación:

Inyección y colonización del cultivo líquido:

1. Si el medio líquido de cultivo se encuentra refrigerado, retírelo del refrigerador y almacénelo a temperatura ambiente 24 horas antes de usarlo.
2. Lávese muy bien las manos (el uso de jabón antibacterial es opcional). Séquese con una toalla limpia (p. ej. con toallas de papel).
3. Retire el vial de la bolsa y ubique en una mesa limpia en un área aseada, libre de residuos.
4. Aplique alcohol sobre el puerto de inyección del Vial de Cultivo Líquido y cualquier otro lugar destinado a ser inyectado (p. ej. vial de esporas o Vial de Cultivo Líquido). Utilice un hisopo limpio por cada producto que deba humedecer, con el fin de reducir la contaminación mutua. No exhale directamente sobre los sitios de inyección.
5. Retire la jeringa y la aguja de la bolsa. Retire la cubierta de plástico que protege la aguja (gire en el sentido de las manecillas del reloj y hale). No permita que la aguja entre en contacto con ningún objeto, pues de lo contrario deberá volver a ser esterilizada\*. En caso de utilizar una jeringa de cualquier otro proveedor, ésta deberá también ser esterilizada.  
\* Las agujas pueden ser esterilizadas con una llama. Es deseable que la aguja quede al rojo vivo, teniendo cuidado de no sobrecalentar y derretir el área donde la aguja está adherida al plástico. Siempre deje enfriar la aguja antes de inyectarla (ver figura a).
6. Si se utiliza un vial de esporas o de Cultivo Líquido colonizado, agite vigorosamente para mezclar la suspensión. Sostenga el vial en un ángulo, inyecte con la jeringa, y extraiga la cantidad deseada de suspensión (ver figura b).
7. Inyecte varias gotas de suspensión de cultivo (es decir, líquido colonizado del vial de cultivo) o entre varias gotas y 1 ml de suspensión de esporas (dependiendo de la densidad de la solución de esporas) en el Vial de Cultivo Líquido. Retire la aguja muy lentamente, pues de lo contrario la presión puede ocasionar que un poco del líquido sea rociado afuera—lo cual no representa problema alguno (ver figura c).
8. Limpie el puerto de inyección del Vial de Cultivo Líquido con un hisopo limpio humedecido en alcohol; deje secar, y almacene verticalmente en una bolsa plástica de cierre hermético.
9. Agite vigorosamente el vial una vez al día durante diez segundos y almacene lejos de la luz solar. Incube las especies de hongos a la temperatura apropiada (generalmente de 23° a 27° C). Una temperatura menor retrasa el tiempo de germinación y colonización de las esporas. Sin embargo, una temperatura demasiado alta (por encima de 27° C) incrementa el riesgo de contaminación (ver figura d).  
Nota: Los requerimientos de temperatura dependen de la especie.
10. El crecimiento es similar tanto con esporas como con Cultivo Líquido. Sin embargo, el crecimiento con esporas tarda más que con éste último.  
Suspensión de esporas: Las esporas generalmente tardan entre 24 y 72 horas en germinar, y entre 3 y 7 días deberá ser observable la colonización del medio líquido creciendo en los dos tercios inferiores del vial.  
Nota: Los Viales de Cultivo Líquido MycoMate® requieren de muy pocas esporas para su crecimiento.  
Cultivo líquido: El crecimiento se hace evidente durante las 24 horas siguientes a la transferencia del micelio desde un vial colonizado de Cultivo Líquido a viales de Cultivo Líquido frescos. Los viales frescos generalmente son colonizados tras varios días (dependiendo de la especie, variedad, y temperatura).  
La observación es más efectiva cuando se sostiene con cuidado el vial a trasluz, evitando agitar. El sedimento del medio de cultivo puede agitarse si no se es lo suficientemente cuidadoso, haciendo más difícil identificar el crecimiento (esto no representa problema, pues al rato el sedimento se asentará nuevamente en el fondo). Hilos blancos de micelio (hongo) flotarán hacia la superficie a medida que levanta el vial. Deberá haber una pequeña nubosidad alrededor del micelio, pero el vial completo no debe estar opaco. El área alrededor de la nubosidad del micelio deberá ser razonablemente transparente. Si el vial es levantado lentamente y sin embargo aparece completamente opaco es posible que se encuentre contaminado. Deje reposar el vial sin ninguna perturbación durante varias horas y revise nuevamente para descartar que se trate de sedimento proveniente del fondo lo que oscurecía el vial. Este puede ser utilizado tan pronto como haya crecimiento saludable o después de una o dos semanas cuando el vial muestre mayor colonización.  
Nota: Cuando entre uno y dos tercios del vial han sido colonizados deberá ser utilizado o almacenado bajo refrigeración para uso posterior (ver abajo).

11. Cuando la colonización esté completa el vial puede ser usado para inocular otros Viales MycoMate® de Cultivo Líquido (repetiendo los pasos 1 a 10), Kits MycoMate® para Hongos Comestibles o Esclerocios (repetiendo los pasos 1 a 6), u otros usos mencionados abajo. Adicionalmente, siga las indicaciones de otros productos usados en combinación con su cultivo líquido.

El Cultivo Líquido MycoMate® hace sencilla la preservación, la producción en masa, y el comercio entre asociados.

### 4 almacenamiento:

Los Viales de Cultivo Líquido MycoMate® pueden ser utilizados para almacenamiento de cultivos tanto de corta como de larga duración, incluyendo—mas no limitado a—variedades multiespora, aisladas o clonadas. Un Vial de Cultivo Líquido puede ser utilizado para producir miles más. Una vez que el vial ha sido inoculado, y el micelio coloniza entre el 30% y el 65% del medio líquido, éste puede ser almacenado bajo refrigeración (entre 2° y 8° C) durante varios meses (o más) sin percibir por ello efectos nocivos. Almacene verticalmente en dos o tres bolsas plásticas selladas herméticamente. No se requiere agitar los cultivos durante este período. Ahorre tiempo valioso: Cuando el cultivo líquido sea requerido, simplemente retire el vial del refrigerador y utilícelo.

### 5 experimentación:

Clonación:

Los Viales de Cultivo Líquido MycoMate® pueden ser utilizados con Kits de Clonación MycoMate® para clonar tanto hongos como esclerocios. Los cultivos multiespora se derivan de un grupo de padres y variedades que no son todos compatibles el uno con el otro y por lo tanto son incapaces de reproducirse (fructificar). Los clones se desarrollan a partir del cultivo de tejido de un solo padre (hongo o esclerocio) en contraposición a un cultivo multiespora (es decir, con jeringa de esporas). Los clones son considerados variedades puras (monocultivos) y con frecuencia pueden producir rendimientos significativamente más elevados y con un mayor grado de predictibilidad. Los Kits de Clonación MycoMate® hacen de la clonación algo sencillo. De manera alternativa, las técnicas de clonación estándar pueden ser utilizadas. Sin embargo, recomendamos revisar la documentación apropiada antes de intentar esto por su cuenta.

Híbridos:

Los viales de Cultivo Líquido MycoMate® pueden ser utilizados de manera experimental para la creación de híbridos. Esencialmente, los híbridos pueden ser formados a partir de sub-variedades de una sola variedad, o entre diferentes variedades de la misma especie.

Grano:

El Cultivo Líquido MycoMate® le permite inocular cantidades mucho mayores de medio de cultivo sobre grano de lo que el uso exclusivo de esporas permitiría. El tiempo de colonización y la contaminación se reducen así de manera substancial, lo que resulta en una mejor fructificación de los hongos.

Sustratos a granel:

Los Viales de Cultivo Líquido MycoMate® pueden ser utilizados para inocular exitosamente sustratos a granel (p. ej. paja pasteurizada, estiércol, aserrín, astillas de madera y papel periódico). Los resultados finales dependen de la experiencia y la especie que sea utilizada, y los procedimientos adecuados deberán ser investigados con anterioridad a la experimentación.

Sugerencia: Para obtener mejores resultados, utilice Viales de Cultivo Líquido MycoMate® con los productos de la línea MycoMate® y SporeMate®. El éxito depende de la integridad de cada producto usado en combinación con los Viales de Cultivo Líquido MycoMate®.

Nota para investigadores: Estos viales pueden ser utilizados en entornos no estériles (e.g. en el campo) durante el curso de una investigación con un alto grado de esterilidad y predictibilidad. Empero, los niveles de contaminación se reducen estadísticamente en relación con la limpieza del entorno en el cual sean efectuadas las inoculaciones.

¿Busca una variedad pura (monocultivo)? Pruebe el Kit de Clonación MycoMate®.

Más información en [www.sporemate.com](http://www.sporemate.com) y [www.mycomamte.com](http://www.mycomamte.com)