

Herstellung einer Agarplatte als Nährboden in Petrischalen (Schwierigkeitsstufe 3 – SpezialistIn)

In dieser Anleitung wird ein Rezeptvorschlag für 1 L "MEA" (Malzextrakt-Agar-Medium) vorgestellt, das für die meisten Pilzgattungen geeignet ist. Speziell für das Arbeiten mit Sporen werden auch fertige antibakterielle Agar-Mischungen angeboten, die nur noch mit Wasser gemischt werden müssen.

Empfohlenes Zubehör:

24 g Agar-Agar 20 g Malzextrakt 2 g Trockenhefe 1 g Pepton 1 L Trinkwasser

Erlenmeyer-Kolben
Sterile Einweg-Petrischalen oder Glas-Petrischalen
Messbecher
Waage
Parafilm
Latexhandschuhe
Gesichtsmaske und Haarnetz
Hand- und Flächendesinfektionsmittel
Steriler Arbeitsraum; Glove Bag/Box,
oder steriler Luftstrom (HEPA, Laminar Flow)

Substrat mischen

Die Zutaten zusammen mit warmem Wasser in einem Erlenmeyer-Kolben (gut verschrauben, schütteln) mischen. Wir empfehlen, den Medienbehälter nur bis 2/3 zu befüllen. Anschließend wird der Erlenmeyer-Kolben ohne Deckel in den Druckkochtopf gegeben. Um zu vermeiden, dass Kondenswasser in die Lösung gelangt, wird der Hals des Kolbens mit Alufolie ummantelt (ergibt eine Art Alu-Schlauch um die Öffnung - das obere Ende knicken Sie zur Seite hin, so dass die Öffnung nach unten zeigt).





Substrat sterilisieren

Der Agar wird für 45 Minuten sterilisiert. Für die Sterilisation verwendet man einen Druckkochtopf. In den Topf gibt man zuerst ca. 2-3 cm Wasser und eine Auflage (bitte Produktinformationen des Topfherstellers

beachten!). Dann werden die Kolben aufrecht in den Topf gestellt. Sie dürfen nicht schwimmen - gegebenenfalls etwas Wasser abgießen.

Den Deckel fest und gleichmäßig verschließen. Nun wird der Topf auf eine Kochplatte gestellt. Ab dem Zeitpunkt, an dem die Druckanzeige des Topfes die höchste Stufe (bei Haushalts-Druckkochtöpfen) oder 121 °C / 250 °F / 15 psi (pound per square inch)/ 1,05 bar (bei professionellen Töpfen) erreicht hat, wird die Sterilisationszeit gemessen. Beim Sterilisieren von Agar ist besonders darauf zu achten, dass die Temperatur den oben genannten Wert nicht deutlich übersteigt, vor allem nicht für längere Zeit. Dies kann zur Zerstörung der in der Lösung enthaltenen Nährstoffe führen. Sollte die Flüssigkeit nach der Sterilisation eine eher bräunliche Färbung zeigen (statt eher gelblich), war die Temperatur zu hoch und das Medium ist unbrauchbar (Achtung: die Farbe der Flüssigkeit kann sich je nach Rezept unterscheiden).

Nach Ablauf der Sterilisationszeit wird der Topf zum Auskühlen an einen sauberen Ort gebracht und am besten vor einen HEPA-Filter (steriler Luftstrom) zum Auskühlen gestellt. Während des Auskühlens kann ein feuchtes, sauberes Tuch über den Topf gegeben werden, dieses filtert die Luft, welche in den Topf hineingesogen wird.





Agarmischung in Petrischalen gießen

Nachdem der Druckkochtopf etwas abgekühlt ist und die Druckanzeige auf null steht kann der Topf geöffnet werden. Sobald der Druck aus dem Kochtopf entwichen ist, soll die Agarmischung zügig in die Petrischalen gegossen werden, da diese während des Abkühlens aushärtet (verwendet man Glaspetrischalen, sind diese vorher zu sterilisieren). Wir empfehlen 25-30 ml Agar pro Petrischale (Ø - 90 mm). Somit ergibt 1 L Agar-Mischung rund 35-40 gefüllte Petrischalen.

Die fertig gegossenen Petrischalen sollen während des Auskühlens vor einem Luftfilter bzw. in einer Impfbox stehen, um Kontaminationen zu vermeiden. Sobald der Nährboden in den Petrischalen fest geworden und auf Zimmertemperatur abgekühlt ist, können sie verarbeitet werden. Wenn nicht alle gegossenen Petrischalen sofort verwendet werden, können diese im Kühlschrank (+ 2 bis + 4°C) für bis zu 4 Wochen gelagert werden. Um eine Kontamination zu vermeiden, empfehlen wir, die Schalen mit Parafilm zu verschließen und zusätzlich in einer Plastiktüte einzupacken.

Literaturnachweis:

- "Mycelium running/ How mushrooms can help save the world", Paul Stamets; Ten Speed Press, Berkeley/Toronto;
- "The Mushroom Cultivator: A Practical Guide to Growing Mushrooms at Home", Paul Stamets, Agarikon Press; First Edition (December 1983);
- "Growing Gourmet and Medicinal Mushrooms", Paul Stamets, Ten Speed Press, Berkeley/Toronto;