436

SONDERDRUCK aus:

DIE GARTENBAUWISSENSCHAFT

In Verbindung mit der Deutschen Gartenbauwissenschaftlichen Gesellschaft e. V.

herausgegeben von

W. BUSCH, Hannover
R. FRITZSCHE, Wädenswil
W. GLEISBERG, Braunlage/Harz
P. G. DE HAAS, Hannover
L. M. KOPETZ †, Wien
R. MAATSCH, Hannover
W. NICOLAISEN, Hannover
H. RIETHUS, Berlin

Redigiert von

P. G. DE HAAS

31. (13.) BAND HEFT 4/1966

Sterilisation von Nährböden mit Äthylenoxid für die Kultur von Champignons.

Vorläufige Mitteilung

Von W. Huhnke, Gertraud Lemke und R. v. Sengbusch

Bayerischer Landwirtschaftsverlag München Basel Wien

Aus dem Max-Planck-Institut für Kulturpflanzenzüchtung, Hamburg-Volksdorf
Dir.: Prof. Dr. R. v. Sengbusch

635.82 : 631.879.4 *Nährboden* : 631.462 *Äthylenoxid*

Sterilisation von Nährböden mit Äthylenoxid für die Kultur von Champignons.

Vorläufige Mitteilung

Von W. Huhnke, Gertraud Lemke und R. v. Sengbusch

Beim Champignon-Kulturverfahren nach Till ist Sterilisation des Nährsubstrates vor der Beimpfung mit Mycel erforderlich. Völlige Keimfreiheit wird durch Autoklavieren bei 121 °C erreicht. Da das Autoklavieren großer Mengen Substrat in geeigneten hitzebeständigen Gefäßen technische und finanzielle Probleme aufwirft, ist es angebracht, nach neuen Sterilisierungsmöglichkeiten zu suchen (1).

Mit chemischen Lösungen, wie Formalin, Alkohol oder Säuregemischen, kann kein befriedigender Sterilisationseffekt erzielt werden. Von den gasförmigen Substanzen hat in neuerer Zeit Äthylenoxid Bedeutung erlangt, da es sowohl fungizid als auch bakterizid und insektizid wirkt.

Die Kaltsterilisation mit Äthylenoxid wird heute bereits in zunehmendem Maße bei mikrobiologischen Arbeiten und bei industrieller Schädlingsbekämpfung angewendet (2, 3).

Da reines Äthylenoxid leicht entflammbar ist, wird meist ein Gemisch von 10% Äthylenoxid mit 90% Kohlensäure, sogenanntes „Carboxid", oder ein Gemisch von 90% Äthylenoxid mit 10% Kohlensäure, sogenanntes „T-Gas", benutzt.

Fragestellung

Bei den vorliegenden Versuchen sollte geklärt werden, ob Vergasung mit Äthylenoxid an Stelle der bisher gebräuchlichen Autoklavierung zum Sterilisieren von Nährböden für die Champignonkultur geeignet ist. Es handelt sich um folgende Nährböden:

1. Gekochte Weizenkörner mit einem Feuchtigkeitsgehalt von etwa 50%, die als Trägersubstanz für das Mycel dienen und als sogenannte „Körnerbrut" das Impfmaterial für das Kultursubstrat darstellen.
2. Das Kultursubstrat, bestehend aus einem Gemisch aus Weizenstrohhäcksel, Torf, Kalk, Baumwollsaatmehl und Sojamehl bei einem Feuchtigkeitsgehalt von etwa 70%, das nach dem Beimpfen, Durchspinnen und Decken die Fruchtkörperernte liefert.

Herrn Prof. Dr. Franz Schwanitz zum 60. Geburtstag gewidmet.

Versuchsanstellung

Erste orientierende Versuche wurden in einer DEGESCH-Vakuumbegasungsanlage der Firma TESTA (Internationale Gesellschaft für Schädlingsbekämpfung m. b. H.) in Hamburg mit T-Gas durchgeführt.

Es wurden gekochte Weizenkörner in 1-l-Glasflaschen und Nährsubstrat in Petrischalen in 1-l-Gläsern und in größeren Kunststoffgefäßen aus Polypropylen begast. In allen Behältern wurde Sterilität erreicht. Es mußte jedoch entsprechend der Substratmenge und der Luftdurchlässigkeit der Verschlüsse, besonders bei den größeren Gefäßen recht lange gewartet werden, bis alle Gasrückstände entwichen waren und die Mycelbeimpfung erfolgen konnte. Die erforderlichen Entlüftungszeiten reichten von 2 Tagen bei den Petrischalen mit ca. 15 g Substrat bis zu 3 Wochen bei den Kunststoffgefäßen mit ca. 4 kg Substrat.

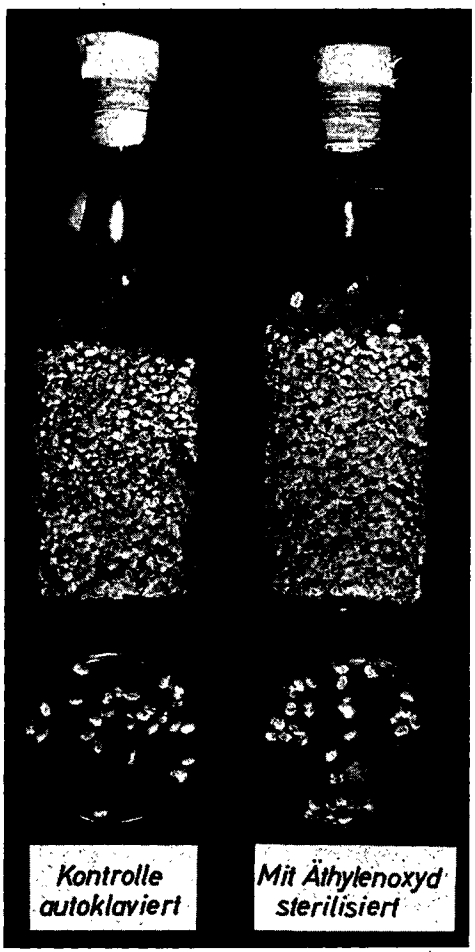

Abb. 1: Sterilitätstest bei autoklavierter und mit Äthylenoxid sterilisierter Körnerbrut
Test for sterility on grain spawn sterilized (left) in an autoclave (right) with ethylene oxide

Weitere Versuchsserien wurden im eigenen Labor in einem Exsikkator unter Vakuum mit T-Gas durchgeführt. Dabei wurden Mengen von 15–40 ml des Gases in flüssigem Zustand pro 22 l Rauminhalt angewendet. Es wurden jeweils zwei 1-l-Gläser mit Nährsubstrat und zwei 1-l-Glasflaschen mit Weizenkörnern bei einer Temperatur von 25 °C einige Stunden lang begast und danach mehrmals abwechselnd belüftet und wieder evakuiert.

In späteren Versuchen wurde das flüssige Gas direkt in die Behälter mit Nährboden gespritzt. Es wurden je 1 l-Gefäß 2–5 ml T-Gas in flüssiger Form injiziert. Sofort nach der Einspritzung wurden die Gefäße luftdicht verschlossen und danach 5 Stunden lang bei einer Temperatur von 50 °C gehalten. Danach wurden die luftdichten Verschlüsse durch luftdurchlässige ersetzt. Nach einer Entlüftungszeit von 7 Tagen wurde mit Champignonmycel beimpft.

Ergebnisse

Bei den Weizenkörnern wurde durch Begasung mit T-Gas ohne Schwierigkeiten ein guter Sterilisationseffekt erzielt. Das ausgeimpfte Mycel wuchs etwas feinfädiger und langsamer als in den autoklavierten Kontrollflaschen, entwickelte sich sonst aber normal. Der Sterilitätstest der fertigen Körnerbrut auf Biomalzagar war in allen Fällen einwandfrei und zeigte keinen Unterschied gegenüber autoklavierter Brut. In Abb. 1 ist sogar ein Wachstumsvorsprung der begasten Körnerbrut deutlich sichtbar, der aber auch zufällig sein kann. Bei Verwendung der durch T-Gas sterilisierten Körner als Impfmaterial für das Kultursubstrat war die Mycelentwicklung normal und die späteren Pilzerträge entsprachen den autoklavierten Kontrollen.

Etwas schwieriger war die Begasung des Kultursubstrates. Von den ersten Versuchen bei der TESTA konnten nur die Petrischalen mit gutem Erfolg beimpft werden. Das vom Mycel durchsponnene Substrat wurde halbiert und auf 2 Petrischalen verteilt. In die leeren Schalenhälften wurde entsprechend dem Halb-

Abb. 2: Fruchtkörperanlagen auf mit Äthylenoxid sterilisiertem Kultursubstrat im Halbschalentest

Display of fruit bodies on substrate sterilized with ethylene oxide in a „Halbschalentest"

schalentest nach EGER Deckerde eingefüllt. Auf der Deckerde entstanden Fruchtkörperanlagen und kleine Pilze (s. Abb. 2). Bei den größeren Gefäßen war infolge der langen Entlüftungszeiten die oberste Schicht des Substrates meist zu stark ausgetrocknet, so daß das ausgeimpfte Champignonmycel nicht die entsprechenden Wachstumsbedingungen vorfand und sich daher nicht weiter entwickeln konnte. Erst die Direkteinspritzung des flüssigen Gases in 1-l-Gläser war erfolgreich. Die Mycelentwicklung war langsamer und das Substrat wurde schwächer durchsponnen als bei autoklaviertem Substrat, es brachte jedoch eine normale Fruchtkörperernte (s. Abb. 3).

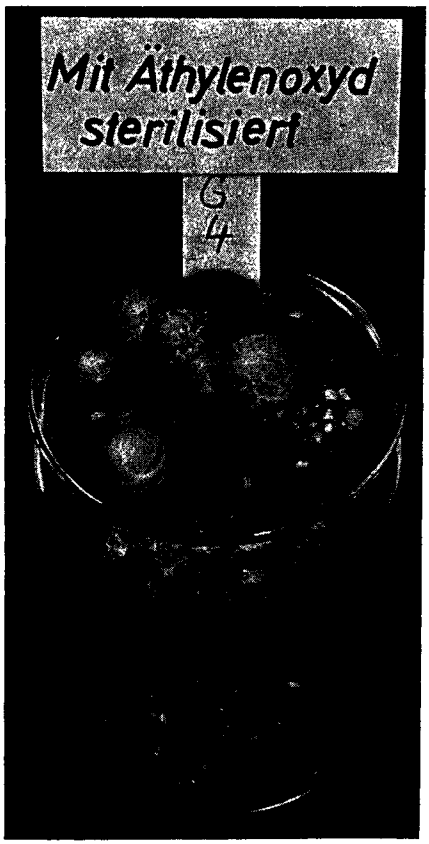

Abb. 3. Normale Fruchtkörperbildung auf mit Äthylenoxid sterilisiertem Kultursubstrat im 1-l-Glas

Normal formations of fruit bodies in a 1 liter jar of substrate sterilized with ethylene oxide

Damit war unseres Wissens nach erstmalig der Beweis erbracht, daß auf einem mit T-Gas sterilisiertem Nährboden auch ohne Aufschluß durch Autoklavierung Champignons produziert werden können.

Auf Grund der vorliegenden Versuchsergebnisse kann folgendes festgestellt werden:

1. Kaltsterilisation mit Äthylenoxid an Stelle von Autoklavierung ist für die Herstellung steriler Körnerbrut geeignet.
2. Die Sterilisation des Kultursubstrates beim TILL-Verfahren durch Äthylenoxid ist möglich.

Ob diese Sterilisationsmethode des Nährsubstrates genauso gut ist wie Autoklavierung, müßten weitere Versuche in größerem Umfang und besserer technischer Durchführung bei entsprechenden Ertragsvergleichen klären.

Zusammenfassung

Kaltsterilisation mit Äthylenoxid zur Herstellung steriler Champignonkörnerbrut und zur Herstellung sterilen Champignon-Nährsubstrates brachte positive Ergebnisse.

Summary

Sterilization of culture-mediums with ethylene oxide using TILL*'s method of mushroom cultivation*

The sterilization of mushroom grain spawn and mushroom substrate by treating them with ethylene oxide brought positive results.

Résumé

Stérilisation des terrains nourriciers par ethylene oxide dans le procédé de culture du champignon de couche suivant TILL

La stérilisation par ethylene oxide pour recevoir du blanc sur grain stéril et du substrat nourricier stéril du champignon de couche était avec succès.

Wir danken Herrn Prof. Dr. G. M. Hoffmann, Hannover, für die Anregung und wertvolle Unterstützung bei der Planung dieser Versuche. Herrn Dr. Drosihn gilt unser Dank für das Entgegenkommen, Begasungen in einer Anlage der Firma Testa, Hamburg, durchführen zu können. Frl. Liselotte Wendt sei herzlich gedankt für die technische Durchführung und sorgfältige Betreuung der Versuche.

Literatur

1. HUHNKE, W., G. LEMKE u. R. v. SENGBUSCH: „Die Weiterentwicklung des Till'schen Champignon-Kulturverfahrens auf nicht kompostiertem sterilen Nährsubstrat (2. Phase)". Gartenbauwissenschaft **30**, 189–207, (1965). – 2. KIMMICH, J.: Sterilisation mit Äthylenoxyd im Überdruckverfahren. Dissertation, Universität Mainz 1957. – 3. LIESE, W. u. U. AMMER: „Über die Empfindlichkeit einiger holzabbauender Pilze bei Kaltsterilisation mit Propylenoxyd". Angew. Bot. **39**, Heft 3/4, Okt. 1965.