

Biosphère Urbaine : Clônage de champignons

 Biosphère Expérience



https://wiki.lowtechlab.org/wiki/Biosph%C3%A8re_Urbaine:_Cl%C3%B4nage_de_champignons

Dernière modification le 23/10/2024

 Difficulté **Difficile**

 Durée **2 jour(s)**

 Coût **20 EUR (€)**

Description

Ce tutoriel a été créé dans le cadre de l'expérience de mode de vie low-tech en ville menée par Biosphère Expérience à Boulogne Billancourt. Il présente les étapes de confection de mycélium en grains par la filière dédiée à la culture de champignons.

Sommaire

Sommaire

Description

Sommaire

Introduction

Étape 1 - Achat du matériel

Étape 2 - Préparation des boîtes de Pétri

Étape 3 - Stérilisation des boîtes de Pétri

Étape 4 - Clônage du champignon

Étape 5 - Préparation des grains

Étape 6 - Inoculation des grains de seigle

Notes et références

Commentaires

Introduction

Le projet - Biosphère Urbaine

Pendant 4 mois, Corentin et Caroline ont expérimenté un mode de vie low-tech en ville en collaboration avec un réseau d'acteurs locaux. L'idée est de profiter de la forte densité de population pour répartir les connaissances, diviser le travail et mutualiser le matériel. Ainsi, Emma a constitué et coordonné des filières temporaires composées de structures locales mais aussi de citoyens. Au total, ce sont 14 personnes du territoire de Boulogne Billancourt qui ont participé à cette expérience !

Filière - culture de pleurotes

Les champignons sont délicieux et nutritifs, mais leur coût élevé sur le marché pose souvent un défi financier. Pour résoudre ce problème, Emma a créé une filière temporaire de culture de pleurotes qui assure tout le cycle de reproduction. À partir de pellets de paille et de mycélium en grains confectionnés au ChampiLab, Virginie, Laurine, Corentin et Caroline ont reconstitué tout le cycle de culture du pleurote. L'idée est de mutualiser un espace pour créer des ateliers de confection des tours de culture mais aussi pour stocker le matériel et les tours pendant la phase d'incubation. Ce tutoriel vise à démocratiser la culture de pleurotes à l'échelle d'un territoire.

Déroulé de l'organisation durant l'expérience :

- Toutes les 2 semaines, du mycélium en grains était confectionné au ChampiLab
- Toutes les 2 semaines, les 4 personnes citées plus haut se retrouvaient au ChampiLab pour confectionner 8 kits de culture. À cette occasion, chaque personne repartait avec 2 tours de champignons à faire fructifier chez elle (voir tutoriel Biosphère Urbaine - Culture de pleurotes)

Si vous souhaitez découvrir la culture de pleurotes, sans créer de filière de ce type, rendez-vous sur le [tutoriel de la science participative dédié à la culture de pleurotes maison](#).

Matériaux

Ceci est une liste de matériaux exhaustive. Si vous avez déjà certains éléments, nous vous conseillons de favoriser la seconde main et d'adapter les dimensions et tailles tout au long du tuto.

Quantité pour réaliser 8 tours de champignons

- 1,4 kg de grains de seigle
- 800 mL d'eau
- 300 g de pommes de terre
- 4 g d'agar agar
- 4 g de sucre de betterave

Outils

Ceci est une liste d'outils exhaustive à adapter en fonction de ce que vous possédez déjà.

- 1 sac de culture
- 8 boîtes de pétri
- Un autoclave ou une cocotte minute avec manomètre
- Un scalpel
- Gants hygiéniques
- Masque hygiénique
- Blouse de laboratoire
- Protège chaussure
- Lampe à alcool
- Thermoscelleuse

Étape 1 - Achat du matériel

Suivant le montage que vous choisissez et votre utilisation du réemploi, nous estimons entre 10 et 20 euros le coût pour réaliser un sac de mycélium en grains. Cela dépend de...

Avant de faire vos achats, nous vous conseillons fortement de lire en entier le tutoriel. Nous vous encourageons à réaliser des achats groupés pour éviter le gaspillage et partager les éventuels frais de livraison.

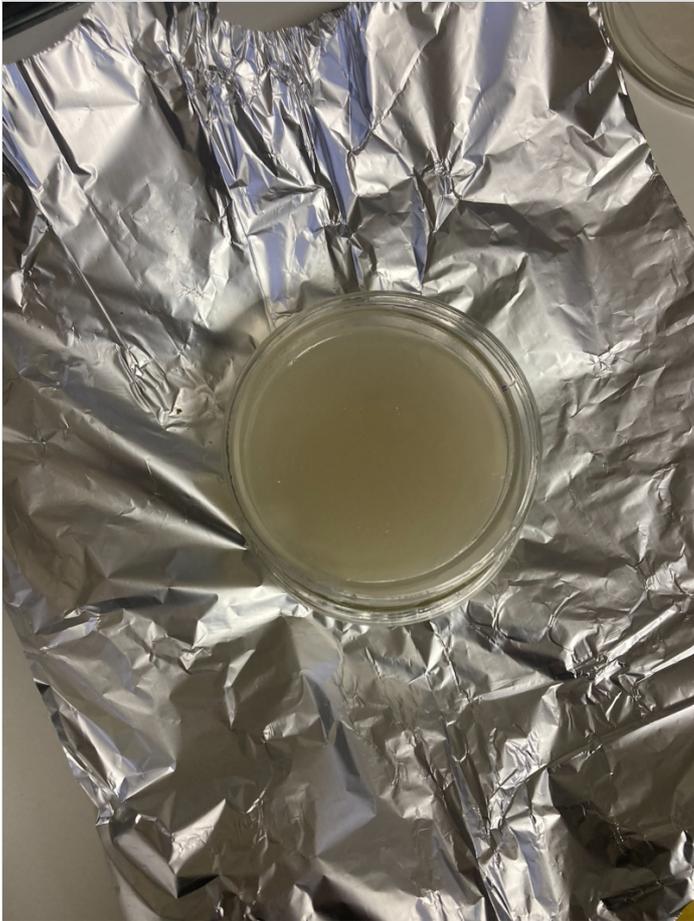
Étape 2 - Préparation des boîtes de Pétri

Pourquoi faire 9 boîtes de Pétri ?

- Faites cuire 300 g de pomme de terre préalablement découpées dans 1 L d'eau pendant 1 h
- Filtrez le jus de pommes de terre et conservez le jus filtré dans un récipient
- Dans un récipient, mélangez 200 mL d'eau, 40 g de jus de pommes de terre, 4 g d'agar agar et 4 g de sucre de betterave jusqu'à obtenir une solution homogène (voir photo 1)
- Portez à ébullition cette préparation pendant 2 minutes (voir photo 2)
- Laissez la refroidir quelques minutes puis versez-la dans les 9 boîtes de Pétri afin d'avoir une gélose de 2 à 3 mm d'épaisseur (voir photo 3)
- Laissez refroidir la gélose jusqu'à ce qu'elle prenne (elle doit être figée et pas liquide)
- Placez 3 boîtes de Pétri superposées au centre de votre feuille d'aluminium puis emballez-les (voir photo 4 et 5). Il est important que l'aluminium se referme sur le dessus des boîtes de Pétri. Réalisez 2 fois la même opération avec les 6 boîtes de Pétri restantes







Étape 3 - Stérilisation des boîtes de Pétri

Stérilisation à la cocotte minute avec manomètre

- Placez un panier vapeur à l'envers à l'intérieur de la cocotte minute
- Versez de l'eau jusqu'à 2 mm du haut du panier vapeur
- Disposez les 3 blocs de boîte de Pétri sur le panier vapeur. Il ne faut pas que les boîtes de Pétri baignent dans l'eau (voir photo 1)
- Fermez le couvercle de la cocotte minute puis chauffez le tout pour stériliser les boîtes de Pétri pendant 1h à 121°C (voir photo 2). Utilisez un manomètre pour contrôler la température (il n'est pas visible sur notre photo)
- Une fois la stérilisation finie, ouvrez la cocotte et laissez refroidir dans un environnement propre et le plus stérile possible. Ici, nous réalisons ces étapes dans le ChampiLab mis en place dans le cadre de notre projet. La cocotte minute est placée devant le flux laminaire (voir photo 6) qui permet de réduire les risques de contamination (voir tutoriel Biosphère Urbaine - ChampiLab)

Stérilisation à l'autoclave

- Versez de l'eau jusqu'à 2 mm du haut du plateau
- Disposez les 3 blocs de boîte de Pétri sur le plateau. Il ne faut pas que les boîtes de Pétri baignent dans l'eau (voir photo 3)
- Fermez le couvercle de l'autoclave (voir photo 4) puis branchez-le pour stériliser les boîtes de Pétri pendant 1h à 121°C (voir photo 5)
- Une fois la stérilisation finie, ouvrez l'autoclave et laissez refroidir dans un environnement propre et le plus stérile possible. Ici, nous réalisons ces étapes dans le ChampiLab mis en place dans le cadre de notre projet. L'autoclave est placé devant le flux laminaire (voir photo 6) qui permet de réduire les risques de contamination (voir tutoriel Biosphère Urbaine - ChampiLab)





Étape 4 - Clônage du champignon

Le **clônage** est une étape délicate car elle nécessite un espace propre et stérile pour éviter les contaminations. Dans le cadre du projet, nous avons monté un ChampiLab, un atelier partagé où l'on retrouve tout le matériel nécessaire pour réaliser du clônage. Notamment, nous avons fabriqué un flux laminaire avec l'entreprise Breizh Bell, spécialiste de la culture de champignons dans une démarche low-tech (voir tutoriel Biosphère Urbaine - ChampiLab). Le **clônage peut se réaliser avec toute variété de champignons, idéalement pas trop vieux : un jeune champignon aura une croissance plus rapide**. Dans le cadre du projet nous avons généralement clôner des pleurotes.

- Lorsque vous rentrez dans le ChampiLab, mettez une blouse de laboratoire, une charlotte sur la tête, un masque, des gants hygiéniques, des protections de chaussure (voir photo 1)
- Nettoyez les surfaces de travail et le filtre du flux laminaire avec un tissu propre imbibé d'alcool à 70°C (voir photo 1)
- Récupérez les blocs de boîte de Pétri avec des gants résistants à la chaleur et laissez-les refroidir devant le flux laminaire (voir photo 2)
- Pendant ce temps, allumez la lampe à alcool et nettoyez à nouveau vos gants, les surfaces de travail et aspergez le champignon d'alcool à 70°C (voir photo 3)
- Prenez le pied du champignon puis coupez-le en 2 dans le sens de la longueur avec vos doigts (voir photo 4). Une fois le champignon coupé en 2, ne garder qu'une moitié
- Désinfectez le scalpel et passez sa lame dans la flamme afin de le stériliser (voir photo 4)
- A l'aide de la lame du scalpel, coupez un carré de 5 mm de côté dans le cœur du champignon sous le chapeau, au niveau du pied (voir photo 4)

⚠ La lame du scalpel ne doit pas toucher l'enveloppe externe du pleurote, celle-ci n'est pas stérile

- Gardez le morceau de champignon sur le scalpel, ouvrez le couvercle d'une des boîtes de Pétri, et placez le morceau de champignon au centre de la gélose (voir photo 5)
- Refermez la boîte de Pétri et sceller avec le parafilm pour éviter les contaminations par l'air. Appliquez une extrémité du parafilm sur un bord de la boîte de Pétri puis tirez le parafilm pour le déposer sur toute la circonférence (voir photo 5). Il faut que le parafilm recouvre bien l'ouverture créée par le couvercle (voir photo 6)
- Placez vos boîtes de Pétri dans un environnement sombre et ventilé comme un placard. Le développement du mycélium prendra quelques jours

Question ? Comment on fait pour les autres boîtes de Pétri ? Il faut plusieurs champignons ou pas ? Combien ?





Étape 5 - Préparation des grains

Lorsque le mycélium s'est bien développé dans les boîtes de Pétri (voir photo 1), vous pouvez préparer les grains avant inoculation. Pour rappel, ce tutoriel est prévu pour réaliser 3 sacs de 1,7 kg de mycélium en grains chacun. Adaptez les indications selon le nombre de sac que vous souhaitez réaliser.

Pour chacun de sacs de culture :

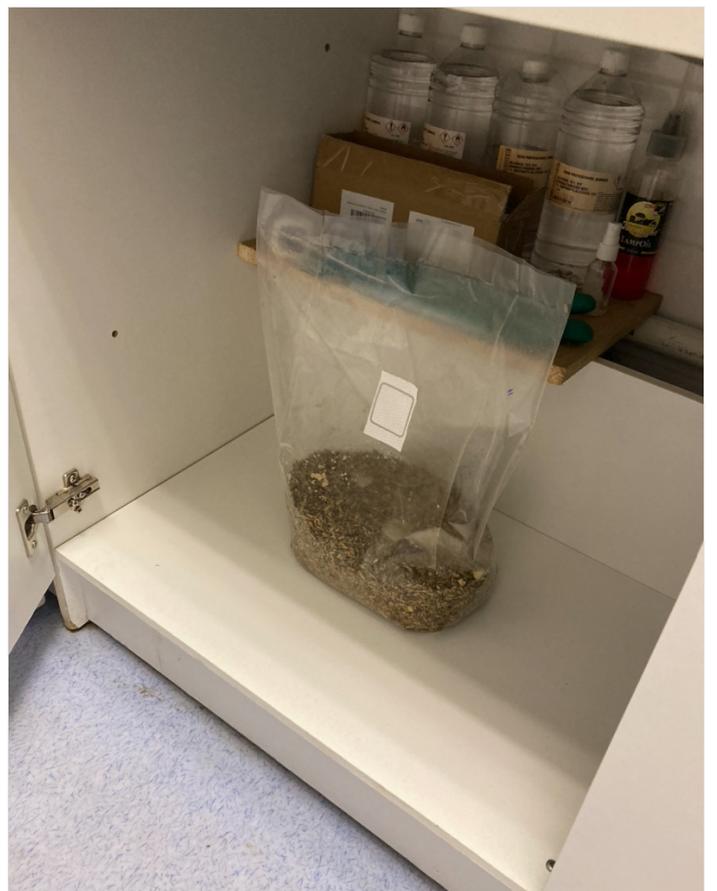
- Versez 1,4 kg de grains de seigle
- Versez ... g de chaux éteinte
- Versez 800 mL d'eau
- Mélangez le tout en seconouant le sac délicatement
- Fermer le sac avec une pince dédiée (voir photo 2) ou des pincettes à ligne en bois
- Laissez reposer pendant 10 à 12h maximum



Étape 6 - Inoculation des grains de seigle

- Nettoyez les surfaces de travail avec de l'alcool à 70°C, allumez la lampe à alcool et désinfectez le scalpel à l'alcool puis en passant sa lame dans la flamme afin de la stériliser
- Découpez la gélose en plusieurs morceaux puis versez le tout dans le sac de grains
- À travers le sac, décomposez la gélose et mélangez le tout pour la répartir uniformément dans les grains
- Scellez le haut du sac en utilisant une thermoscelleuse. Vérifiez que le sac est bien scellé en appliquant une pression dessus : si vous entendez de l'air qui s'échappe, réitérez l'opération un peu plus bas (voir photo)





Notes et références

Document rédigé par Emma Bousquet-Pasturel dans le cadre de programme de sciences participative de Biosphère Expérience.