Biosphère Urbaine : Filière clonage de champignons

Biosphère Expérience

https://wiki.lowtechlab.org/wiki/Biosph%C3%A8re_Urbaine_:_Fili%C3%A8re_clonage_de_champignons

Dernière modification le 06/11/2024

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 - Monter la filière
Étape 2 - Achat du matériel
Étape 3 - Culture en gélose
Étape 4 - Préparation des boîtes de Petri
Étape 5 - Stérilisation des boîtes de Petri
Étape 6 - Clonage du champignon
Étape 7 - Préparation des grains
Étape 8 - 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, Viriginie, 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.

Culture en gélose (10 géloses)
- 10 boîtes de Petri
- 200 mL d'eau
- 300 g de pommes de terre
- 4 g d'agar agar
- 8 g de sucre de betterave
- 4-5 champignons idéalement pas trop vieux (nombre dépend de la variété)

Culture liquide (2 bocaux)
- 2 bocaux avec couvercle à vis (0,5 L)
- 2 bouchons auto refermables (exemple)
- 2 disques filtrants synthétiques (exemple)
- 2 barreau agitateurs aimantés (exemple) + agitateur magnétique (exemple) ou 1 pièce de monnaie pour remplacer les 2 éléments précédents (mais technique moins fiable)
- 2 seringues stériles de 10 mL avec aiguilles rose de 18G (exemple aiguille)

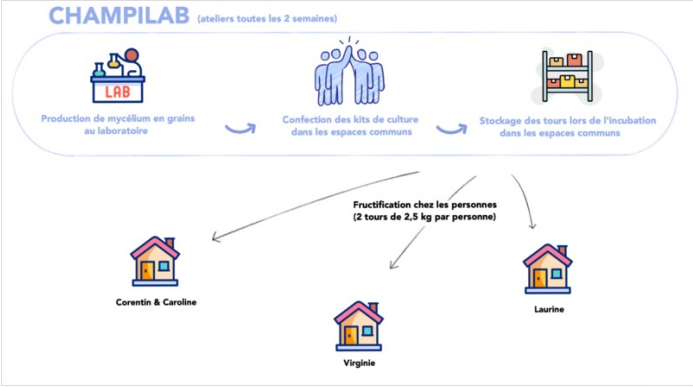
Inoculation des grains (2 sacs)
- 2 sacs de culture
- 2x 1,4 kg de grains de seigle
- 2x 7 g de chaux éteinte
- 2x 800 mL d'eau

Outils

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

- Une perçeuse avec forets
- Un autoclave ou une cocotte minute avec manomètre
- Un scalpel
- Gants hygiéniques
- Masque hygiènique
- Blouse de laboratoire
- Protège chaussure
- Lampe à alcool
- Thermoscelleuse

Étape 1 - Monter la filière



Si vous souhaitez monter une filière de ce type, il vous faudra trouver un espace partagé sur le territoire et des voisins motivés pour participer à la filière. Bien évidement, je vous invite à adapter cette filière selon vos besoins et l'organisation qui vous va le mieux.

Comment trouver un espace partagé ?
Il me fallait trouver un endroit avec plusieurs espaces : un laboratoire, un local de stockage et un espace atelier. En prospectant sur le territoire, j'ai cherché des lieux déjà existants comme un biolab (laboratoire collaboratif pour explorer le vivant) ou des espaces de la ville. Dans notre cas, il n'existe pas de Biolab à Boulogne Billancourt ce qui m'a amené à discuter avec la ville pour trouver le bon espace : la Maison de la Planète.

Comment trouver des personnes pour monter une filière ?
De mon côté, j'ai largement diffusé l'information via les réseaux de la ville (site internet, article dans le journal de la ville), nos réseaux sociaux ou encore les associations du territoire en les contactant par mail et par téléphone. Quelques exemples d'associations : Shifters, Ville en transition, Low-tech Lab..
Plus généralement, j'ai parlé du projet à toutes les personnes que je rencontrai au quotidien. Si vous souhaitez en parler à votre entourage, à vos amis, à vos collègues, je vous invite à utiliser toute la documentation présente sur ce tutoriel pour vous sentir capable de présenter les objectifs et intérêts de monter une telle filière à l'échelle du territoire.

Par ailleurs, 250 citoyens en France et à l'étranger ont expérimenté la culture de pleurotes dans le cadre du programme de sciences participatives. N'hésitez pas à rejoindre les groupes WhatsApp mis en place durant l'expérience! Vous trouverez peut être des personnes, proche de chez vous, intéressées pour monter cette filière.

Étape 2 - 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...

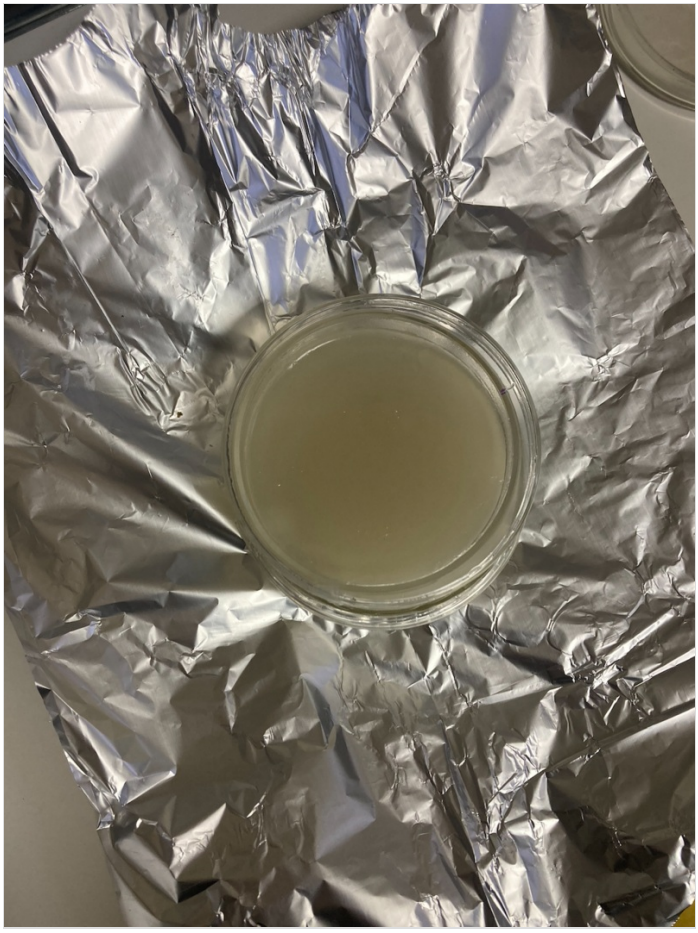
Avant de faire vos achats, nous vous conseillons fortement de lire en entier le tutoriel. Nous vous encourageons à réaliser des achats groupés pour éviter le gaspillage et partager les éventuels frais de livraison.

Étape 3 - Culture en gélose

Les étapes suivantes montrent comment réaliser plusieurs boîtes de Petri nécessaires pour inoculer les grains de seigle.

Étape 4 - Préparation des boîtes de Petri

- 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 8 g de sucre de betterave jusqu'à obtenir une solution homogène (voir photo 1)
- Faîtes chauffer la préparation et lorsque l'ébullition est atteinte, éteignez le feu (voir photo 2)
- Filtrez la préparation puis versez-la dans les 10 boîtes de Petri 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 Petri 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 Petri. Réalisez la même opération avec les boîtes de Petri restantes



Étape 5 - Stérilisation des boîtes de Petri

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 Petri sur le panier vapeur. Il ne faut pas que les boîtes de Petri baignent dans l'eau (voir photo 1)
- Fermez le couvercle de la cocotte minute puis chauffez le tout pour stériliser les boîtes de Petri 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 Petri 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 Petri 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)

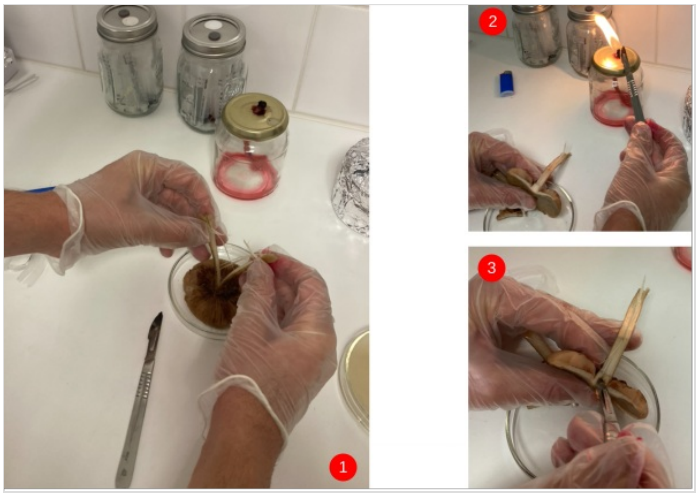
Étape 6 - Clonage du champignon

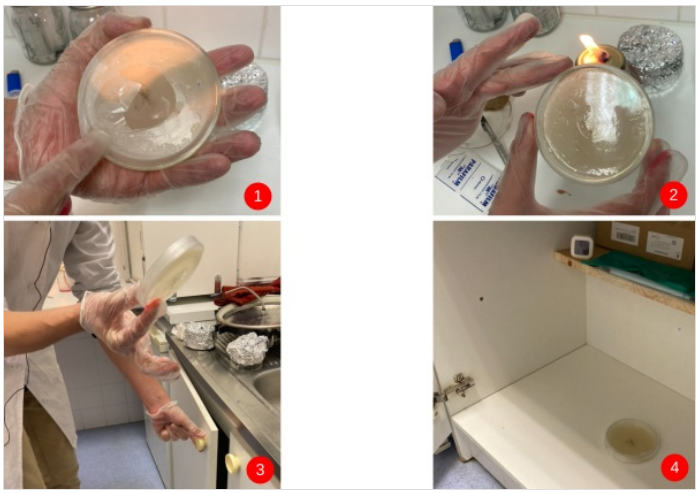
Le clonage est une étape délicate car elle nécessite un espace propre et stérile pour éviter les contaminations. Dans le cadre du projet, nous avons monté un ChampiLab, un atelier partagé où l'on retrouve tout le matériel nécessaire pour réaliser du clonage. Notamment, nous avons fabriqué un flux laminaire avec l'entreprise Breizh Bell, spécialiste de la culture de champignons dans une démarche low-tech (voir tutoriel Biosphère Urbaine - ChampiLab). **Le clonage 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 cloner des pleurotes.**

- Lorsque vous rentrez dans le ChampiLab, mettez une blouse de laboratoire, une charlotte sur la tête, un masque, des gants hygiéniques, des sur-chaussures (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 Petri avec des gants résistants à la chaleur et laissez-les refroidire 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 pieds du champignon puis cassez-le en 2 dans le sens de la longueur avec vos doigts (voir photo 4). Vous pouvez placer une moitié de champignons de côté : la zone d'intérêt sur le dessus proche du flux laminaire pour éviter toute contamination. Vous allez à présent manipuler l'autre moitié de champignons.
- Désinfectez le scalpel et passez sa lame dans la flamme afin de la 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 Petri, et placez le morceau de champignon au centre de la gélose (voir photo 5)
- Refermez la boîte de Petri 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 Petri dans un environnement sombre et ventilé comme un placard. Le développement du mycélium prendra quelques jours





Étape 7 - Préparation des grains

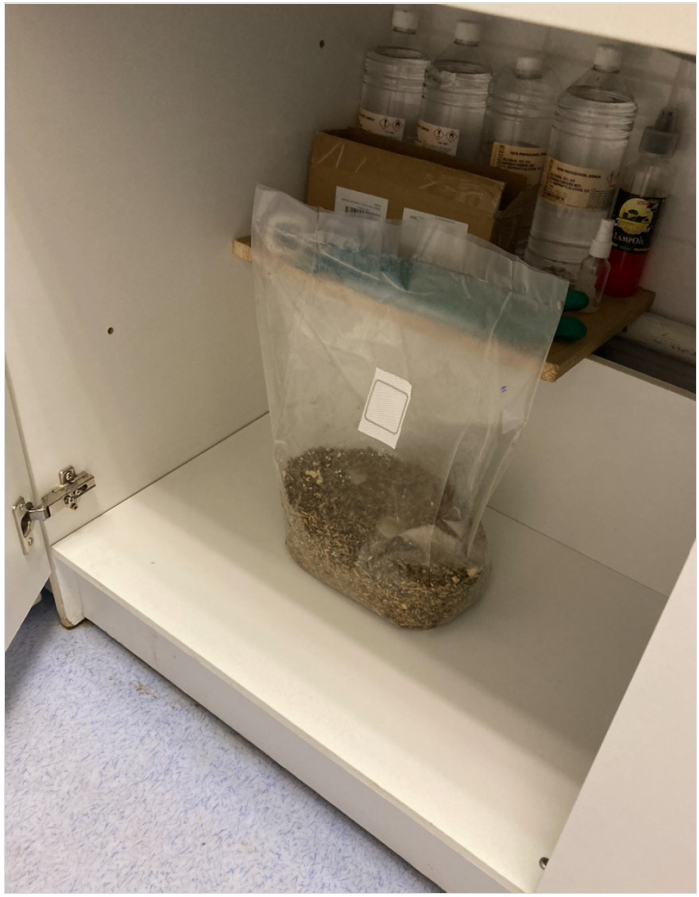
Lorsque le mycélium s'est bien développé dans les boîtes de Pétri (voir photo 1), vous pouvez préparer les grains avant inoculation. Pour rappel, ce tutoriel est prévu pour réaliser 3 sacs de 1,7 kg de mycélium en grains chacun. Adaptez les indications selons le nombre de sac que vous souhaitez réaliser.

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 pinces à ligne en bois
- Laissez reposer pendant 10 à 12h maximum

Étape 8 - 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 humiformément 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.