

DB13

河北省地方标准

DB13/T 958—2008

金针菇菌种

2008-05-19 发布

2008-06-03 实施

河北省质量技术监督局 发布

前 言

本标准的附录 A 为规范性附录。

本标准由河北省农业厅提出。

本标准起草单位：河北省农业环境保护监测站、河北师范大学生命科学学院。

本标准主要起草人：安沫平、王立安、唐铁朝、通占元、周玉环。

金针菇菌种

1 范围

本标准规定了金针菇 (*Flammulina velutipes*) 菌种的质量要求、试验方法、检验规则及标签、标志、包装、贮运等。

本标准适用于小火菇属 (*Flammulina*) 的金针菇 (*Flammulina velutipes*) 黄色及白色两个品种的菌种生产、流通和使用。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件，其随后所有的修改单（不包括勘误的内容）或修订版均不适用于本标准，然而，鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件，其最新版本适用于本标准。

GB 191 包装储运图示标志 (MOD1) (eqv ISO 780:1997)

GB/T 4789.28 食品卫生微生物学检验 染色法、培养基和试剂

NY/T 528—2002 食用菌菌种生产技术规程

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

3.1

母种 stock culture

经各种方法选育得到的具有结实性的菌丝体纯培养物及其继代培养物，以玻璃试管 (18 mm×18 mm 或 20 mm×20 mm) 为培养容器和使用单位，也称一级种、试管种。

3.2

原种 pre-culture spawn

由母种移植、扩大培养而成的菌丝体纯培养物。也称二级种，常以玻璃菌种瓶或塑料菌种瓶或聚丙烯塑料袋为容器。

3.3

栽培种 spawn

由原种移植、扩大培养而成的菌丝体纯培养物。常以玻璃瓶或塑料瓶或塑料袋为容器，也称三级种。

3.4

拮抗现象 antagonism

具有不同遗传基因的菌落间相互抑制形成不同形式线形边缘的现象。

3.5

角变 sector

因菌丝体局部变异或感染病毒而导致菌丝变细、生长缓慢、菌丝体表面特征成角状异常的现象。

3.6

抑制线 inhibitory line

食用菌菌种在生产过程中受高温等不良环境影响，培养物出现的圈状发黄、发暗或菌丝变稀弱的

现象。

3.7

无棉塑料盖 plastic stop

可代替棉塞，带有某种高分子或纤维材料可满足滤菌和透气要求的塑料盖。

3.8

生物学效率 biological efficiency

单位质量培养料的风干物质与所培养产生出的子实体质量（鲜重）之间的比率。其计算公式为：
子实体鲜重（kg）/培养料风干质量（kg）×100%。

3.9

种性 characters of variety

食用菌品种对温度、湿度、酸碱度、光线和氧气的要求，以及抗逆性、丰产性、出菇潮数、栽培周期等农艺性状及商品性状。

3.10

同工酶 isoenzyme

催化相同生化反应，而结构及理化性质不同的酶分子。通过凝胶电泳使同工酶分离成迁移率不同的区带，经生物化学染色后显示出的同工酶谱，可对生物品种进行酶分子水平的鉴别或鉴定。

3.11

锁状联合 clamp connection

担子菌双核菌丝细胞进行有丝分裂时出现的特殊结构，多发生在菌丝的顶端。

4 质量要求

4.1 母种

4.1.1 容器规格

符合 NY/T 528—2002 中 4.7.1.1 规定。

4.1.2 感官要求

符合表 1 规定。

表 1 母种感官要求

项 目		要 求
容器		完整、无损
棉塞或无棉塑料盖		干燥、洁净、松紧适度，能满足透气和滤菌要求
培养基灌入量		为试管总容积的四分之一至五分之一
培养基斜面长度		顶端距棉塞 40 mm~50 mm
菌种外观	菌丝生长量	长满斜面
	菌丝体特征	洁白、浓密、旺健、细棉絮状、粉孢子少
	菌丝体表面	均匀、舒展、平整、无角变
	菌丝分泌物	无
	菌落边缘	整齐
	杂菌菌落	无
斜面背面外观		培养基不干缩，颜色均匀、无不正常的暗斑、色素

4.1.3 接种量

接种块大小为（3~5）mm×（3~5）mm。

4.1.4 菌丝生长速度

在 PDA 培养基上，培养温度为 20℃~25℃条件下，8 d~12 d 长满斜面。

4.1.5 母种遗传性状

供种单位所供母种的遗传特性应与该品种的遗传特性相一致，可采用酯酶（Est）同工酶技术鉴定。

4.1.6 菌丝锁状联合及双核特征

供种单位所供母种需经显微镜或荧光显微镜确定母种菌丝细胞具锁状联合或双核特征后，方可用于扩大繁殖或出售。

4.1.7 母种栽培性状

供种单位所供母种经出菇试验确证农艺性状和商品性状等种性特征合格后，方可用于扩大繁殖或出售。正常条件下，在棉籽壳栽培料上的定植时间一般为 2 d~3 d；第一潮菇生物学效率不低于 50%。

4.2 原种

4.2.1 容器规格

符合 NY/T 528—2002 中 4.7.1.2 规定。

4.2.2 感官要求

符合表 2 规定。

表 2 原种感官要求

项 目		要 求
容 器		完整、无损
棉塞或无棉塑料盖		干燥、洁净、松紧适度，能满足透气和滤菌要求
培养基上表面距瓶（袋）口的距离		50 mm±5 mm
菌种外观	菌丝生长量	长满容器
	菌丝体特征	洁白浓密，生长旺盛
	培养物表面菌丝体	生长均匀，无角变，无高温抑制线
	培养基及菌丝体	紧贴瓶（袋）壁，无干缩
	培养物表面分泌物	无，允许有少量无色或浅黄色水珠
	杂菌菌落	无
	拮抗现象	无
	子实体原基	无
气 味		有金针菇菌种特有的清香味，无酸、臭、霉等异味

4.2.3 接种量

每支母种接原种数为 4~6 瓶（袋），接种物大小为 $\geq 12 \text{ mm} \times 15 \text{ mm}$ 。

4.2.4 菌丝生长速度

在适宜的培养基上，在温度为 20℃~25℃条件下，25 d~30 d 长满容器。

4.3 栽培种

4.3.1 容器规格

符合 NY/T 528—2002 中 4.7.1.3 规定。

4.3.2 感官要求

符合表 3 规定。

表 3 栽培种感官要求

项 目		要 求
容 器		完整、无损
棉塞或无棉塑料盖		干燥、洁净、松紧适度，能满足透气和滤菌要求
培养基上表面距瓶（袋）口的距离		50 mm±5 mm
菌种外观	菌丝生长量	长满容器
	菌丝体特征	洁白浓密，生长旺健，饱满
	培养物表面菌丝体	生长均匀，色泽一致，无角变，无高温抑制线
	培养基及菌丝体	紧贴瓶（袋）壁，无干缩
	培养物表面分泌物	无，允许有少量无色或浅黄色水珠
	杂菌菌落	无
	拮抗现象	无
	子实体原基	允许少量，出现原基总量≤5%
气 味		有金针菇菌种特有的清香味，无酸、臭、霉等异味

4.3.3 接种量

每瓶原种接栽培种数为 20~40 瓶（袋）；接种物大小≥15 mm×20 mm。

4.3.4 菌丝生长速度

在温度为 20℃~25℃条件下，在谷粒培养基上菌丝长满瓶应（15±2）d，长满袋应（20±2）d；在其他培养基上长满瓶应 20 d~25 d，长满袋应 30 d~40 d。

4.3.5 种源

应从具有相应供种资质的供种单位引种。栽培种只能用于栽培，不可再次扩大繁殖菌种。

5 抽样

5.1 抽样应具有代表性。

5.2 母种按品种、培养条件、接种时间分批编号；原种、栽培种按菌种来源、制种方法和接种时间分批编号。按批随机抽取被检样品。

5.3 母种、原种、栽培种的抽样量分别为该批接种量的 10%、5%、1%。但每批抽样数量不得少于 10 支（瓶、袋）；超过 100 支（瓶、袋）的，可进行两级抽样。

6 检验方法

6.1 感官检验

按表 4 逐项进行。

表 4 感官要求检验方法

检验项目	检验方法	检验项目	检验方法
容器	肉眼观察	菌丝长势	肉眼观察
棉塞、无棉塑料盖	肉眼观察	培养基上表面距瓶（袋）口的距离	肉眼观察
母种培养基灌入量	肉眼观察	菌种外观各项（杂菌菌落除外）	肉眼观察
母种斜面长度	肉眼观察	杂菌菌落	肉眼观察，必要时用 5×放大镜观察
母种斜面背面外观	肉眼观察	气味	鼻嗅

6.2 微生物学检验

6.2.1 细菌检验

取少量菌种培养物，按无菌操作接种于 GB/T 4789.28 中 4.8 规定的营养肉汤培养液中，25℃~

28℃振荡培养 1 d~2 d, 观察培养液是否混浊。培养液混浊, 为有细菌污染; 培养基澄清, 为无细菌污染。

6.2.2 霉菌检验

取少量菌种培养物, 按无菌操作接种于 PDA 培养基 (见附录 A 中 A.1.1) 中, 25℃~28℃培养 3 d~4 d, 出现异常的非金针菇菌丝形态菌落的, 或有异味者为霉菌污染物, 必要时进行水封片镜检。

6.3 母种遗传性状检验 (Est 同工酶鉴定)

取 PDA 加富液体培养基中培养 7 d 左右的菌丝球, 按 1:3:0.5 的比例混合菌丝 (g)、0.1 mol/L 磷酸缓冲液 (mL) 和石英砂 (g), 研磨成匀浆; 台式离心机 10 000 r/min 离心 5 min, 取上清液, 按 5:1:1 的比例混合上清液、40%蔗糖和 0.01%溴酚蓝溶液作为电泳样品。4℃下冷藏备用。采用聚丙烯酰胺凝胶电泳, 用 pH 6.8 的 Tris-HCl 4%浓缩胶; pH 8.9 的 Tris-HCl 缓冲液配制 7.5%的分离胶; 用 pH 8.3 的 Tris-甘氨酸作电极缓冲液。上样量 200 μg, 浓缩胶电压 80 V; 分离胶电压 120 V, 当样品到达分离胶下边缘时, 停止电泳。100 mg 固蓝 B 盐, 溶于 150 mL 磷酸缓冲液 (0.1 mol/L, pH6.5) 中, 过滤待用。使用前称取 50 mg 乙酸-1-萘酯、50 mg 乙酸-2-萘酯, 溶于 3 mL 丙酮中, 然后逐滴倒入上述滤液中, 边加边搅使其均匀混合即可染色, 显现酶谱。

6.4 母种菌丝锁状联合及双核的检验

从试管中挑取菌丝少许, 置于洁净的载玻片上做成水封片, 显微镜下 (400×) 镜检, 可见明显的锁状联合。

从试管中挑取菌丝少许, 置于洁净的载玻片上。先将 70%酒精滴加于菌丝上固定 2~3 min, 蒸馏水稍洗再滴加现配染液 (pH 7.0 的磷酸缓冲液配制的 0.01%丫啶橙) 染色 20 min。蒸馏水清洗多余染液后做成水封片, 荧光显微镜紫外光下 (400×) 观察可见到呈绿色荧光的双核。

6.5 菌丝生长速度检验

6.5.1 母种

PDA 培养基, 20℃~25℃条件下培养, 计算长满所需天数。

6.5.2 原种和栽培种 按附录 A 中 A.2.1、A.2.2、A.2.3、A.2.4 规定的配方任选其一, 在 20℃~25℃条件下, 记录长满所需天数。

表 5 母种农艺性状和商品性状检验记录

检验项目	检验结果	检验项目	检验结果
母种长满所需时间/d		总产/kg	
原种长满所需时间/d		平均单产/kg	
栽培种满袋 (瓶) 所需时间/d		生物学效率/(%)	
第一潮菇产量/kg		菇形、色泽、质地	
第一潮菇生物学效率/(%)		菇盖直径、菌柄长短/mm	

6.6 母种农艺性状和商品性状检验

将被检母种制成原种, 采用附录 A.3 规定的培养基配方, 制作菌袋。按常规方法发菌、出菇, 根据表 5 所列项目, 做好栽培记录。

6.7 留样

各级菌种均须留样备查, 留样的数量应每个批号母种 3~5 支, 原种、栽培种 3~5 瓶 (袋), 于 4℃~6℃下贮存。母种 5 个月 (3 个月转管 1 次), 原种 4 个月, 栽培种 2 个月。

7 检验规则

判定规则按质量要求进行。检验项目全部符合质量要求时，为合格菌种；其中与菌种纯度（带细菌、霉菌）、菌种外观、遗传稳定性（锁状联合或双核或 Est 图谱）、产量性状相关的指标，任何一项不符合要求，均为不合格菌种。

8 标签、标志、包装、运输、贮存

8.1 标签、标志

8.1.1 产品标签

每支（瓶、袋）菌种必须贴有清晰注明以下要素的标签：

- a) 产品名称（如：金针菇母种）；
- b) 品种名称（如：金 F-21）；
- c) 生产单位（××菌种厂）；
- d) 接种日期（如：2007.××.××）；
- e) 执行标准。

8.1.2 包装标签

每箱菌种必须贴有清晰注明以下要素的包装标签：

- a) 产品名称、品种名称；
- b) 厂名、厂址、联系电话；
- c) 出厂日期；
- d) 保质期、贮存条件；
- e) 数量；
- f) 执行标准。

8.1.3 包装储运图示

按 GB 191 规定，应注明以下图示标志：

每箱菌种必须贴有清晰注明以下要素的包装标签：

- a) 小心轻放标志；
- b) 防水、防潮、防冻标志；
- c) 防晒、防高温标志；
- d) 防止倒置标志；
- e) 防止重压标志。

8.2 包装

8.2.1 母种外包装采用木盒或有足够强度的纸材制作的纸箱，内部用棉花、碎纸、报纸等具有缓冲作用的轻质材料填满。

8.2.2 原种、栽培种：外包装采用有足够强度的纸材制作的纸箱，内部用棉花、碎纸、报纸等具有缓冲作用的轻质材料填满。纸箱上部和底部用 8 cm 宽的胶带封口，并用打包带捆扎两道，箱内附产品合格和使用说明（包括菌种种性、培养基配方及适用范围等）。

8.3 运输

8.3.1 不得与有毒物品混装。

8.3.2 气温达 30℃ 以上时，需用 2℃~20℃ 的冷藏车运输。

8.3.3 运输中必须有防震、防晒、防尘、防雨淋、防冻、防杂菌污染的措施。

8.4 贮存

8.4.1 母种在 5℃±1℃ 冰箱中贮存，贮存期不超过 90 天。

8.4.2 原种应尽快使用，在温度不超过 25℃、清洁、干燥通风（空气相对湿度 50%~70%）、避光的室内存放谷粒种不超过 7 d，其余培养基的原种不超过 14 天。在 5℃±1℃下贮存，贮存期不超过 45 d。

8.4.3 栽培种应尽快使用，在温度不超过 25℃、清洁、通风、干燥（相对湿度 50%~70%）、避光的室内存放谷粒种不超过 7 d，其余培养基的栽培种不超过 20 d。在 1℃~6℃下贮存时，贮存期不超过 45 d。

附 录 A
(规范性附录)
菌种常用培养基及其配方

A.1 常用母种培养基及其配方

A.1.1 PDA 培养基 (1 000 mL)

马铃薯 200 g, 葡萄糖 20 g, 琼脂 20 g。

A.1.2 CPDA 培养基 (1 000 mL)

马铃薯 200 g, 葡萄糖 20 g, 磷酸二氢钾 2 g, 硫酸镁 0.5 g, 琼脂 20 g。

A.2 常用原种和栽培种培养基及其配方

A.2.1 谷粒培养基

小麦、谷子、玉米或高粱 98%, 石膏 2%, 含水量 52%~55%。

A.2.2 棉籽壳麦麸培养基

棉籽壳 84%, 麦麸 15%, 石膏 1%, 含水量 $60\% \pm 2\%$ 。

A.2.3 棉籽壳培养基

棉籽壳 100%, 含水量 $60\% \pm 2\%$ 。

A.2.4 木屑培养基

阔叶树木屑 79%, 麦麸 20%, 石膏 1%, 含水量 $55\% \pm 2\%$ 。

A.3 常用栽培性状检验用培养基

棉籽壳 98%, 石灰 2%, 含水量 $60\% \pm 2\%$ 。
