

ICS 65.020.20
B 31
备案号: 25309-2009

DB32

江 苏 省 地 方 标 准

DB32/T 1374—2009

秀珍菇（黄白侧耳）菌种生产技術规程

Technical rules of pleurotus geesteranus genus production

2009-05-26 发布

2009-07-26 实施

江苏省质量技术监督局 发布

前 言

为了实现秀珍菇（黄白侧耳）菌种生产技术规范化，确保菌种质量，维护菌种生产者、经营者和使用者的合法权益，特制定本标准。

本标准按照 GB/T 1.1-2000《标准化工作导则 第1部分：标准的结构和编写规则》和 GB/T 1.2-2002《标准化工作导则 第2部分：标准中规范性技术要素内容的确定方法》编写。

本标准由江苏江南生物科技有限公司提出。

本标准由江苏江南生物科技有限公司起草。

本标准主要起草人：姜建新、马一鸣、姜小红、胡文豪、荆琴芳、王闯、孙明珍。

秀珍菇（黄白侧耳）菌种生产技术规程

1 范围

本标准规定了秀珍菇（黄白侧耳）菌种生产的场地环境、设施设备、生产技术、检验、包装、运输及贮存。

本标准适用于秀珍菇（黄白侧耳）菌种生产。

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/T 4789.28 食品卫生微生物学检验 染色法、培养基和试剂

GB 5749 生活饮用水卫生标准

GB 15569 农业植物调运检疫规程

NY/T 528 食用菌菌种生产技术规程

NY 5099 食用菌栽培基质安全技术要求

3 场地环境

- 3.1 应选择地势高燥、排水畅通、通风良好、交通便利的地方建造菌种场。
- 3.2 菌种场应远离有“三废”污染的工厂、生活区、禽畜养殖场等。
- 3.3 应选用清洁水源，水质符合GB 5749规定。
- 3.4 生产场地环境卫生及其他条件符合NY/T 528的规定。

4 设施设备

- 4.1 基本设备：按 NY/T 528 中 4.4.1 规定执行。
- 4.2 基本设施：按 NY/T 528 中 4.4.2 规定执行。

5 生产技术

5.1 母种生产

5.1.1 培养基

PDA培养基或PSA培养基。

5.1.2 培养基制作

5.1.2.1 分装

将配制好的PDA培养基或PSA培养基分装至符合NY/T 528规定的 $\Phi 18\text{mm} \times 180\text{mm}$ 或 $\Phi 20\text{mm} \times 200\text{mm}$ 的玻璃试管中，装量为试管长度的1/3左右。试管口应保持干净，随后塞入棉塞或硅胶塞，并用牛皮纸包扎。

5.1.2.2 灭菌

将分装和包扎好的试管直立放在高压灭菌锅内加热灭菌。加热到0.05MPa时，打开排气阀，排尽锅内空气，待压力指针回到零点后，关闭排气阀。重复操作两次。当压力升到0.1MPa（温度为121℃）时，维持30min后停止加热，待指针回到零点，再打开锅盖。

5.1.2.3 斜面培养基制作

从灭菌锅内取出试管，当试管冷却到60℃左右时，趁热将试管倾斜摆放在操作台桌面上，试管口比试管底部高1cm~1.5cm，做成培养基斜面，斜面长度为试管长度的2/3。

5.1.2.4 灭菌效果检查

将灭菌后的培养基置于30℃±2℃条件下1d~2d检查有无细菌或霉菌的菌斑。

5.1.3 消毒与接种

5.1.3.1 消毒

将接种用具、培养基放到接种箱或超净工作台内。接种箱应用甲醛气雾消毒剂消毒，用量5g/m³；有紫外线灭菌灯的，同时开启照射30min。超净工作台使用前应开机30min预热。

5.1.3.2 接种

消毒后进行接种。接种人员要注意清洁卫生，穿戴上经消毒过的工作服、工作帽、口罩，按无菌操作要求，手部和试管菌种表面应用医用酒精消毒。将接种用具用酒精灯进行火焰灭菌，放于箱内支架上冷却后备用。在酒精灯火焰四周的无菌区进行接种操作。开始接种时，左手同时握着转接母种和待接斜面培养基，试管口置于酒精灯火焰上方3cm处的无菌区，用右手迅速分别拔开试管塞，并用接种钩在转接母种试管中挑取绿豆粒大小的菌种体迅速转接到待接斜面培养基内。接种位置为培养基斜面前端1cm处，且菌种体菌丝面朝上。接种后迅速塞上试管塞。将接种好的斜面培养基用牛皮纸包扎试管口，并贴标有菌号和接种日期的标签。标签粘贴位置为距试管口8cm处。

5.1.4 培养

将接种后的试管置于20℃~28℃培养箱或培养室恒温培养8d~10d，当菌丝长满试管斜面，即可用于生产原种。

5.2 原种生产

5.2.1 培养基要求

应符合NY 5099的规定。

5.2.2 培养料配方

配方1：棉籽壳87%、麸皮10%、蔗糖1%、生石灰1%、石膏1%，料水比（1：1.2~1.3）。

配方2：棉籽壳50%、木屑30%、麸皮17%、蔗糖1%、石膏1%、生石灰1%，料水比（1：1.2~1.4）。

5.2.3 堆制发酵

将培养料按配比混合，预湿后起堆，堆制12h~24h，中间翻料一次。装料时检查pH值应达到6.0~7.0，料含水量60%~65%。

5.2.4 装瓶

用750ml玻璃菌种瓶装料，料瓶稍压实装料量至瓶肩为度，后塞棉塞，牛皮纸包扎瓶口。

5.2.5 灭菌

将分装好的原种培养料移入高压蒸汽灭菌锅内密闭加热升温。当压力表指针升至0.05MPa时，打开排气阀，排放锅内空气，待压力表指针降至零时，关闭排气阀，继续加热升温。当压力表指针升至0.1MPa时，打开排气阀，排放锅内空气，待压力表指针降至零时，关闭排气阀，继续加热升温。保持压力0.14MPa~0.15MPa（温度为126℃）时，维持2h。保压结束，停止加热，当灭菌锅压力表指针降至零时，打开锅盖，取出培养料进行冷却。

5.2.6 消毒与接种

5.2.6.1 消毒

按5.1.3.1规定执行。

5.2.6.2 接种

按5.1.3.2规定执行，每支母种接5瓶至8瓶原种。

5.2.7 培养

在22℃~27℃下培养30d~40d,待菌丝长满瓶并在瓶肩形成白色厚垣孢子时结束培养。

5.3 栽培种生产

5.3.1 培养基要求

应符合NY 5099的规定。

5.3.2 培养料配方

按5.2.2规定执行。

5.3.3 堆制发酵

按5.2.3规定执行。

5.3.4 装袋

用20cm×38cm×0.05mm规格的聚丙烯塑料袋装料,料袋稍加压实至料高25cm为度,袋口套上塑料环,塞上棉塞,包扎牛皮纸。

5.3.5 灭菌

高压灭菌按5.2.5规定执行。亦可常压灭菌,即100℃保持10h~12h。

5.3.6 消毒与接种

5.3.6.1 消毒

按5.1.3.1规定执行。

5.3.6.2 接种

按5.1.3.2规定执行,每瓶原种接50袋~60袋栽培种。

5.3.7 培养

按5.2.7规定执行。

6 检验

6.1 外观指标

外观指标应符合表1的规定。

表1 外观指标

项 目		指 标	
		母种	原种、栽培种
容器		洁净、完整、无损	洁净、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	干燥、洁净,松紧适度,能满足透气和滤菌要求
斜面长度, mm		顶端距棉塞40~50	
菌种外观	菌丝生长量	长满斜面	长满瓶(袋)内培养基
	菌丝体特征	纯白或银白色、浓密粗壮,爬壁力强,产生大量白色的厚垣孢子	白色,粗壮、密,瓶肩形成少量的白色厚垣孢子
	菌丝体表面	均匀、舒展、平整、无角变、色泽一致	均匀、舒展、平整、无角变、色泽一致
	菌丝分泌物	无	无
菌种外观	菌落边缘	较整齐	较整齐
	杂菌菌落	无	无
	虫(螨)体	无	无

表 1（续）外观指标

项 目	指 标	
	母种	原种、栽培种
斜面背面外观	培养基无干缩，颜色均匀，无暗斑、无明显色素	培养基无干缩，颜色均匀，无暗斑、无明显色素
气味	具有秀珍菇菌种特有的香味，无异味	具有秀珍菇菌种特有的香味，无异味
培养物镜检	菌丝粗壮、丰满、均匀、菌丝分枝角度大，无杂菌	菌丝粗壮、丰满、均匀、菌丝分枝角度大，无杂菌

6.2 检验方法

6.2.1 感官要求

嗅觉、肉眼观察和测量。必要时用 5 倍放大镜观察。

6.2.2 培养物镜检

用放大倍数不低于 10×40 的光学显微镜对培养物的水封片进行观察，每一检样应观察不少于 50 个视野。

6.2.3 杂菌

将检验样本按无菌操作接种于 GB/T 4789.28-2003 中 4.7 规定的营养琼脂培养基中， 28°C 下培养 1d~2d，观察斜面表面是否有杂菌菌落长出，必要时用显微镜检查。

7 包装、运输及贮存

7.1 包装

母种采用木盒或有足够强度的纸箱，内部用棉花、碎纸或报纸等轻质材料填满。原种和栽培种采用有足够强度的纸箱，内部用棉花、碎纸或报纸等轻质材料填满。箱（盒）内附产品合格证书和包括品种特征特性、培养基配方及栽培技术要点等内容的使用说明书。

7.2 运输

菌种应在 25°C 以下运输。气温高于 26°C 以上时，应使用冷藏车运输，车厢内温度设定在 $12^{\circ}\text{C}\sim 20^{\circ}\text{C}$ 。运输时应有防震、防尘、防雨淋、防冻、防杂菌污染措施，不应与有毒物品混运，不得挤压。

向外省调运的菌种，应按 GB 15569 规定检疫。

7.3 贮存

母种在 $4^{\circ}\text{C}\sim 6^{\circ}\text{C}$ 下保存，每隔 3~4 个月转接一次。每个菌株最多转接 4 次。

原种在 $10^{\circ}\text{C}\sim 15^{\circ}\text{C}$ 下保藏不超过 25d。

栽培种在 $10^{\circ}\text{C}\sim 15^{\circ}\text{C}$ 下保藏不超过 15d。