

野生食用菌菌种制作技术规程

Regulation of Strain Manufacture for Wild Edible Fungi

地方标准信息服务平台

2016 - 09 - 25 发布

2016 - 12 - 25 实施

内蒙古自治区质量技术监督局 发布

前 言

本标准按照 GB/T 1.1-2009 给出的规则编写。

本标准由内蒙古自治区农牧业科学院提出。

本标准由内蒙古自治区农牧业厅归口。

本标准起草单位：内蒙古自治区农牧业科学院。

本标准主要起草人：孙国琴、庞杰、王勇、康立茹、解亚杰、张立华、于静、王海燕、孟虎、乔慧蕾、李亚娇。

地方标准信息服务平台

野生食用菌菌种制作技术规程

1 范围

本标准规定了内蒙古可食用野生食用菌母种、原种和栽培种生产有关的定义、制作技术流程要点等。

本标准适用于蒙古口蘑 (*Tricholoma mongolicum*)、污白蘑菇 (*Agaricus excellesus*)、白磷蘑菇 (*Agaricus bernardii*)、蘑菇 (*Agaricus campestris*)、野蘑菇 (*Agaricus arvensis*)、白环柄菇 (*Lepiota alba*)、大肥蘑菇 (*Agaricus bitorquis*)、大白桩菇 (*Leucopaxillus giganteus*)、草原野蘑菇 (*Agaricus campestris*) 可食用野生食用菌母种、原种和栽培种菌种制作要求。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅所注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB 9688	食品包装用聚丙烯成型品卫生标准
GB 19170-2003	香菇菌种
NY/T 528-2010	食用菌菌种生产技术规程
NY/T 1731-2009	食用菌菌种良好作业规范
NY/T 1742-2009	食用菌菌种通用技术要求

3 术语和定义

下列定义和术语适用于本文件。

3.1

野生食用菌 wild edible fungi

能够形成大型肉质或胶质的子实体或菌核类组织并能供人们食用或药用的一类大型真菌。

3.2

菌种 spawn

生长在适宜基质上具结实性的菌丝培养物，包括母种、原种和栽培种。

[NY/T 528-2010，定义3.3]

3.3

母种 stock culture

经分离、杂交、诱变等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，以试管和培养皿为培养容器和使用单位，也称为一级种、试管种。

[GB 19170-2003，定义3.1]

3.4

原种 pre-culture spawn

由母种移植、扩大培养而成的菌丝体纯培养物。常以玻璃菌种瓶或塑料菌种瓶或(12~17) cm×(22~28) cm聚丙烯塑料袋为容器, 也称为二级种。

3.5

栽培种 spawn

由原种移植、扩大培养而成的菌丝体纯培养物。常以菌种瓶(玻璃瓶或塑料瓶)或17 cm×33 cm聚丙烯塑料袋为容器。栽培种只能用于栽培, 不可再次扩大繁殖菌种。也称为三级种。

3.6

固体菌种 solid spawn

以富含木质素、纤维素和淀粉等天然有机物为主要原料, 添加适量的有机氮源和无机盐类, 具一定水分含量的培养基培养的纯菌丝体。

[GB/T 12728-2006, 定义2.5.31]

4 菌种生产要求

4.1 人员

生产所需要的技术人员和检验人员应经过专业培训、掌握野生食用菌基础知识及食用菌生产技术规程要求的相应专业技术人员。

4.2 场地

菌种生产应选择地势高、通风良好、空气清新、水源近、排水通畅、交通便利的场所。300m之内无酿造厂、食用菌栽培场、集贸市场、规模养殖的畜禽舍、垃圾和粪便堆积场, 无污水、废气、废渣、烟尘和粉尘等污染源。

菌种生产厂应有各自隔离的摊晒场、原材料库、配料分装库。配套有配料室、搅拌室、装袋(瓶)室、灭菌室、冷却室、接种室、培养室(通风好, 有纱窗)、菌种检测室及菌种冷藏库等。冷却室、接种室, 培养室应有离子净化设施。

4.3 生产设备

菌种生产应有粉碎机、电子秤、搅拌机、装袋(瓶)机、高压灭菌锅或常压灭菌锅、离子净化器、超净工作台或接种箱、恒温培养箱、培养架、摇床、液体菌种灌、冰箱、显微镜等设备。

5 母种生产

5.1 培养基

见附录A。

5.2 容器

试管选用18mm×180mm或者20mm×200mm；培养皿选用7cm~9cm玻璃培养皿或一次性塑料培养皿。

5.3 分装和灭菌

培养基降温到80℃以下即可分装。

5.3.1 试管分装和灭菌

分装培养基至试管1/4处，用棉塞或硅胶塞子封闭试管口，每5支试管为1把，牛皮纸包棉塞，橡皮筋扎紧，棉塞向上放置。棉塞应采用梳棉，不能使用脱脂棉。在121℃~124℃（0.11MPa~0.14MPa）下灭菌25min。

灭菌后温度降到（65±5）℃时，在空气清洁的室内摆斜面，要求斜面长度不超过试管长度的2/3。从摆好的试管中抽取3%~5%的试管，在28℃下培养48h，无微生物长出为灭菌合格。

5.3.2 培养皿分装和灭菌

培养基装入300ml~500ml三角瓶至刻度的2/3处，用带滤膜的封口膜封口后灭菌。培养皿用报纸包好，同时放入灭菌锅灭菌。121℃~124℃（0.11MPa~0.14MPa）下灭菌25min。

灭菌后温度降到（65±5）℃时，在超净工作台内将三角瓶中的培养基装至培养皿中，培养基占培养皿高度的1/3~1/2。

5.4 接种

在超净工作台或接种箱内接种，接种前用紫外灭菌灯照射30min，之后用75%酒精进行表面消毒。

接菌过程严格执行无菌操作，接种后及时做好标签。

接种的菌块3mm~5mm，接种在培养皿或试管的中部。培养皿需用石蜡膜密封。

5.5 培养

温度控制在22℃~30℃，空气湿度在75%以下，通风避光培养。

接种后第7天、第10天、第15天和长满培养基后分别进行检验，挑出未活、污染和生长不良的不合格培养物。检验方式应该是逐个检验。

6 原种、栽培种生产

6.1 培养基

见附录B。

6.1.1 容器

原种采用750ml以下、瓶口直径≤4cm、耐126℃高温的透明瓶子，或采用（12~17）cm×（22~24）cm×（0.04~0.05）mm的聚丙烯塑料袋。

栽培种采用同原种要求的瓶子，也可采用（15~17）cm×24cm×（0.04~0.05）mm的聚丙烯塑料袋。

以上聚丙烯塑料袋均要求符合GB 9688的要求。

6.1.2 装袋（瓶）

采用装袋（瓶）机或人工进行装袋（瓶），人工装袋（瓶）需用打孔器在袋口处打孔，孔直径1 cm～1.5 cm深度为8 cm～12 cm，每袋（瓶）装培养基质500 g。

6.1.3 灭菌

培养基质装袋（瓶）后4 h内进行灭菌，灭菌可分为高压灭菌和常压灭菌。

高压灭菌：组合培养基在121 ℃～124 ℃（0.11 MPa～0.12 MPa）下灭菌2 h；粮食培养基在121 ℃～124 ℃（0.11 MPa～0.12 MPa）下灭菌2.5 h。

常压灭菌：在3 h之内使灭菌温度达到100 ℃，保持100 ℃ 10 h～12 h。

6.1.4 接种

原种、栽培种在超净工作台或接种箱内接种，接种前打开紫外灯照射30 min，接种时用75%酒精对超净工作台或接种箱进行表面擦拭消毒。每个原种接入母种块2 cm～3 cm；每个栽培种接种量不得少于15 g。菌种都应从容器开口处接种，不应打孔多点接种。

每批接种应为单一品种，如中途换品种时采用75%酒精对超净工作台或接种箱进行表面擦拭消毒。

6.1.5 培养

温度控制在20 ℃～25 ℃，空气湿度在75%以下，通风避光培养。

6.1.6 贮存

在1 ℃～6 ℃下贮存，贮存期不超过50 d。

7 检验、入库及留样

7.1 检验

7.1.1 母种感官要求见表1。

表1 野生食用菌母种感官要求

项目		要求
容器		完整、无破损、无裂纹
棉塞或无棉盖体		干燥、整洁、松紧适度、能满足透气和过滤要求
菌种外观	菌丝生长量	长满斜面或平板
	菌丝体特征	洁白平整或淡黄色绒状
	菌丝体分泌物	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、无暗斑

7.1.2 原种感官要求见表2。

表2 野生食用菌原种感官要求

项目	要求
容器	完整、无破损、无裂纹、洁净

表2（续）

项目		要求
棉塞或无棉盖体		干燥、整洁、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±5) mm
菌种外观	菌丝生长量	长满容器
	菌丝体特征	生长旺健
	培养物表面菌丝体	生长均匀、无高温抑制线
	培养基及菌丝体	紧贴瓶壁、无干缩
	菌丝分泌物	允许少量无色至棕黄色水珠
	杂菌菌落	无
	子实体原基	无

7.1.3 栽培种感官要求见表 3。

表3 野生食用菌栽培种感官要求

项目		要求
容器		完整、无破损、无裂纹
棉塞或无棉盖体		干燥、整洁、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±5) mm
菌种外观	菌丝生长量	洁白浓密、生长旺健
	菌丝体特征	生长均匀、无角变、无高温抑制线
	培养基及菌丝体	紧贴瓶壁、无干缩
	菌丝分泌物	允许少量无色至棕黄色水珠
	杂菌菌落	无
	子实体原基	无

7.2 入库

检验参照NY/T 1742和NY/T 1731的要求。母种检验完成后应及时入库，详细记录各生产环节，库房温度应该4℃～6℃，避光，适当通风但应该对空气进行杀菌处理。

母种在库中贮存时间不应长于50d，贮存时间超出50d的母种应该进行出菇检验后再进行后续生产。

7.3 留样

母种应留样，每批次留样3支试管，贮存在1℃～6℃，贮存至购买者购买后正常生产条件下出第一潮菇。

附 录 A
(资料性附录)
母种培养基配方

A.1 PDA改良培养基

A.1.1 麦麸100 g加水600 ml煮沸20 min, 滤液定容至500 ml; 新鲜无病去皮马铃薯200 g加水600 ml煮沸15 min, 滤液定容至500 ml, 二者混合, 加入硫酸镁 (MgSO_4) 0.5 g、磷酸二氢钾 (KH_2PO_4) 1 g、葡萄糖10 g、蔗糖10 g、琼脂粉10 g~15 g, 煮沸至琼脂粉完全溶化, pH自然;

A.1.2 新鲜无病去皮马铃薯200 g加水1200 ml煮沸15 min, 滤液定容至1000 ml, 加入蛋白胨1 g、酵母粉1 g、加入硫酸镁 (MgSO_4) 0.5 g、磷酸二氢钾 (KH_2PO_4) 1 g、葡萄糖10 g、蔗糖10 g、琼脂粉10 g~15 g, 煮沸至琼脂粉完全溶化, pH自然;

A.1.3 100 g麦粒加水1200 ml煮沸20 min, 滤液定容至1000 ml, 加入硫酸镁 (MgSO_4) 0.5 g、磷酸二氢钾 (KH_2PO_4) 1 g、蛋白胨5 g、蔗糖10 g、葡萄糖10 g、琼脂粉10 g~15 g, pH自然;

A.1.4 新鲜无病去皮马铃薯200 g加水600 ml煮沸15 min, 滤液定容至500 ml; 新鲜无霉变小麦粒100 g加水600 ml煮沸20 min, 滤液定容至500 ml; 二者混合, 加入硫酸镁 (MgSO_4) 0.5 g、磷酸二氢钾 (KH_2PO_4) 1 g、蔗糖10 g、琼脂粉10 g~15 g, 煮沸至琼脂粉完全溶化, pH自然;

A.2 PDA培养基

新鲜无病去皮马铃薯200 g加水1200 ml煮沸15 min, 滤液定容至1000 ml, 加入硫酸镁 (MgSO_4) 0.5 g、磷酸二氢钾 (KH_2PO_4) 1 g、葡萄糖10 g、蔗糖20 g、琼脂粉10 g~15 g, 煮沸至琼脂粉完全溶化, pH自然。

附 录 B
(资料性附录)
培养基质常见配方

B.1 粮食培养基

谷粒、麦粒或玉米粒90 %，柠条粉、棉籽壳、木屑、玉米芯粉或豆秸粉9%，石膏1%，石灰水调节pH至7.5~8.5，水分含量(50±2) %。

B.2 组合培养基

- B.2.1 锯沫79%、麸子20%、石膏1%、石灰水调节pH至7.5~8.5、水分含量(60±2) %。
- B.2.2 柠条粉60%、玉米芯20%、麸子19%、石膏1%、石灰水调节pH至7.5~8.5、水分含量(60±2) %。
- B.2.3 豆秸粉60%、玉米芯20%、麸子19%、石膏1%、石灰水调节pH至7.5~8.5、水分含量(60±2) %。
- B.2.5 柠条粉80%、麸子19%、石膏1%、石灰水调节pH至7.5~8.5、水分含量(60±2) %。

地方标准信息服务平台