

ICS 65.020.02
B 39
备案号: 42981-2014

DB21

辽 宁 省 地 方 标 准

DB21/T 2262—2014

食用菌固体菌种制作规程



2014 - 03 - 21 发布

2014 - 05 - 21 实施

辽宁省质量技术监督局 发布

前 言

本标准依据GB/T 1.1-2009起草规则编制。

本标准由辽阳市质量技术监督局归口。

本标准由辽阳市食用菌研究所提出。

本标准起草单位：辽阳市食用菌研究所。

本标准起草人：刘文华、孙艳霞、李 威、陈江霞、王星绕、李 红。

本标准为首次发布。



食用菌固体菌种制作规程

1 范围

本标准规定了各级食用菌固体菌种制作要求、生产工艺流程。

本标准适用于辽宁地区普遍栽培的食用菌品种的各级固体菌种生产。

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，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/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 9687 食品包装用聚乙烯成型品卫生标准

GB 9688 食品包装用聚丙烯成型品卫生标准

GB/T 12728 食用菌术语

NY/T 528 食用菌菌种生产技术规程

NY/T 1731 食用菌菌种良好作业规范

NY/T 1742 食用菌菌种通用技术要求

NY 5010 无公害食品 蔬菜产地环境条件

NY 5358 无公害食品 食用菌产地环境条件

3 要求

3.1 技术人员

应有掌握菌种生产相关知识和技能专业技术人员及检验人员。

3.2 场地选择

应符合 NY 5010 和 NY 5358 的要求，周围 5 千米以内无工矿企业污染源，3 千米以内无生活垃圾堆放和填埋场、工业固体废弃物和危险废弃物堆放和填埋场。

3.3 厂房设置和布局

厂房从结构和功能上满足食用菌菌种生产的基本需要；有各自隔离的原料库、摊晒场、配料分装室（场）、洗涤室、灭菌室、接种室、培养室、贮存室、菌种检验室等。

3.3.1 原料库

原料库要求干燥、通风，防雨，远离畜圈、禽舍，远离火源。

3.3.2 摊晒场

要求平坦、通风良好，光照充足、空旷宽阔，远离火源。最好铺一定面积的水泥地面，便于摊晾、粉碎培养料，也可供培养料堆积发酵时使用。

3.3.3 配料分装室（场）

要求水电方便，空间充足。如安排在室外，应有天棚，防雨防晒。要求地面平整光滑，最好用水泥抹面。配备拌料槽或拌料机、衡器、拌料、配料工具、分装操作台、分装工具。

3.3.4 洗涤室

要因地制宜，就地取材修建上、下水道，下水道口装滤网以免堵塞、污水经下水道流入渗水井，避免污水四处流淌污染环境。

3.3.5 灭菌室

要求水电安全方便，通风良好，空间充足，散热畅通。除去灭菌锅以外，室内应有摆放菌种筐的空间。以电为能源需安装 380 伏、220 伏的电源插座；以蒸气锅炉为热源，或以煤、柴为热源，要把锅炉、土灶的加煤（柴）口、出灰口设在隔壁。灭菌设备，应能满足生产需要。

3.3.6 接种室

要求防尘换气性能良好，内壁和屋顶光滑，便于擦洗消毒，做到空气洁净；门窗要严密，关闭后能与外界空气隔绝。应分里、外两间，外间 2 平方米~3 平方米，是缓冲间；内间 5 平方米~6 平方米，是接种间，均应安有 30 瓦紫外线杀菌灯，缓冲间内配备专用工作服、鞋、帽、口罩、常用消毒药品和小型喷雾器。缓冲间与接种间门的位置不应设在相对的平行线上。接种间墙壁上开一宽 60 厘米、高 40 厘米、深 30 厘米的小橱窗，内外装有对拉的橱门，与接种间外普通房间相通用于接种过程中传递器材。

3.3.7 培养室

房间大小、数量要根据生产规模而定。室温应能保持菌丝发育为宜（25℃左右），冬季有加温设备（暖气、电热线、火墙等），夏季可通风降温；室内空气相对湿度在 70%以下；配备窗帘遮光，避免日光直射培养架；室内墙壁、地面光滑、平整，利于清洁消毒。

3.3.8 贮存室

要求清洁、通风、无光或暗光，低温（15℃以下）但冬季不结冰，最好保持 4℃左右；地面撒布石灰，保持干燥。应远离原料库及其他污染源。

3.3.9 菌种检验室

要求水电方便，符合微生物检验室基本要求。

3.4 设备设施

3.4.1 配料设备

磅秤（量程依据生产规模而定）、天平（量程大于 200 克）、量筒（量程 10 毫升~1000 毫升）、量杯（量程 50 毫升~1000 毫升）等衡器量具。切片机、粉碎机等。

3.4.2 拌料设备

拌料时必备的工具具有铁铲、铝锅、电炉或煤炉、塑料桶或铅（铁）桶、专用扫帚和簸箕等；产量大的菌种厂还应配备搅拌机。

3.4.3 装料设备

采用手工装料，应备一块垫瓶（袋）底的木板（供装料时振动用）和一根丁字形捣木（供压料用），以玻璃瓶作容器的要压料和打接种穴，可用瓶料专用打穴器；但具有一定规模的菌种厂，应购置装料机。

3.4.4 灭菌设备

常压蒸汽灭菌锅及高压蒸汽灭菌锅。

3.4.5 接种设备

主要有接种室配备设备（酒精灯、接种工具、70%酒精、5%苯酚溶液、小喷雾器、脱脂棉、玻璃棒、火柴等）、接种箱、超净工作台以及各式接种工具。

3.4.6 培养设备

主要有恒温培养箱、恒温培养室。

3.5 菌种和种源

3.5.1 品种

应使用经省级以上农作物品种审定委员会登记的菌种，并且清楚种性。不应使用来源和种性不清的菌种和生产性状未经系统试验验证的组织分离物作种源生产菌种。应从具有相应技术资质的供种单位引种。

3.5.2 种源质量检验

菌种生产单位每年在种源进入扩大生产程序之前，应进行菌种质量和种性检验，包括纯度、活力、菌丝长势的一致性、菌丝生长速度、菌落外观等，并做出菇试验，验证种性。种源出菇试验方法及种源质量要求，应符合 NY/T 1742 的规定。

4 生产工艺流程

培养基配制→分装→灭菌→冷却→接种→培养（检查）→成品

4.1 培养基配制

4.1.1 培养基配方举例

4.1.1.1 母种培养基配方举例

- 马铃薯葡萄糖琼脂培养基：马铃薯（去皮）200 克，葡萄糖 20 克，琼脂 20 克，水 1000 毫升。
- 马铃薯葡萄糖蛋白胨琼脂培养基：马铃薯（去皮）200 克，葡萄糖 20 克，蛋白胨 10 克，琼脂 20 克，水 1000 毫升。
- 马铃薯蔗糖琼脂培养基：马铃薯（去皮）200 克，蔗糖 20 克，琼脂 20 克，水 1000 毫升。
- 马铃薯麦芽糖琼脂培养基：马铃薯（去皮）300 克，麦芽糖 10 克，琼脂 20 克，水 1000 毫升。
- 马铃薯综合培养基：马铃薯（去皮）200 克，葡萄糖 20 克，磷酸二氢钾 3 克，硫酸镁 1.5 克，维生素 B₁ 2 克~4 克，琼脂 20 克，水 1000 毫升。

4.1.1.2 原种和栽培种培养基配方举例

a 以木屑为主料的培养基配方

- 阔叶树木屑 78%，麸皮或米糠 20%，蔗糖 1%，石膏粉 1%，适于制作香菇、平菇类、黑木耳、金针菇、滑菇、灵芝、猴头菇等木腐型菌种。
- 阔叶树木屑 77%，麸皮或米糠 20%，蔗糖 1.5%，石膏粉 1%，尿素 0.5%，适于制作平菇、凤尾菇和金针菇等菌种。
- 阔叶树木屑 98%，麸皮 1%，尿素 0.4%，磷酸钙 0.3%，磷酸二氢钾 0.2%，硫酸镁 0.1%，适于制作香菇、侧耳类等菌种。

b 以玉米芯为主料的培养基配方

- 玉米芯 78%，麸皮或米糠 20%，石膏粉 1%，蔗糖 1%，适于制作草菇、平菇、木耳、猴头菇等木腐菌种。
- 玉米芯 80%，米糠 15%，玉米粉 3%，石膏粉 1%，复合肥 1%（制原种改用 0.2%磷酸二氢钾），适于制作平菇等菌种。

c 以麦粒为主料的培养基配方

- 小麦或燕麦 98%，碳酸钙 2%，适于制作除银耳外的木腐型菌和粪草腐型菌种。
- 小麦 93%，碳酸钙或石膏粉 2%，木屑 5%，适于制作蘑菇、平菇等菌种。

d 以粪草为主料的培养基配方

- 粪草（经发酵）90%，糖 1%，麸皮或米糠 8%，碳酸钙或石膏 1%，此培养基适于制作蘑菇菌种。

4.1.2 培养基配制方法

4.1.2.1 母种培养基配制

去皮切块的马铃薯，按配方称取后置于容器中，加清水 1000 毫升，文火煮沸 20 分钟~30 分钟后，用双层湿纱布过滤取汁；对易溶物质，按配方称取后置于容器中，加入其量 1/3~1/4 的水，搅成糊状；对难溶的物质，按配方称取后加适量水，并加热不断搅拌促其溶解；所用微量药物，可称取适量先溶解调成高浓度母液，再按比例换算成相应量加入。

4.1.2.2 原种及栽培种培养基配制

以木屑为主料的培养基配制：按配方称取原料，先将糖溶于适量水中，其他原料进行混合后加入糖水拌匀，使料含水量达 60%~65%（每百千克料加水 120 千克~130 千克）。

以玉米芯为主料的培养基配制：玉米芯经碾碎处理后将其置于 pH 值为 10~11 的石灰水中浸泡一夜，捞出沥至不滴水后，再按木屑培养基的制作方法拌入辅料和调控含水量。

以麦粒为主料的培养基配制：小麦先过筛，除去杂物，再放入清水浸泡，一般 4 月~5 月份浸 24 小时，6 月~9 月份浸 16 小时；捞出并用清水冲洗数次，沥干后置沸水锅中煮沸 3 分钟~5 分钟捞出，入清水冷却至常温，沥去多余水份，即可与辅料拌匀。

以粪草为主料的培养基配制：将干牛粪与稻草（麦草）以 6:4 之比，按堆肥制作工艺进行堆积发

酵 15 天~20 天, 在此过程中要翻堆 2 次~3 次, 挑出半腐熟的稻草, 切成 2 厘米~3 厘米长, 晒干即为粪草备用。制培养基时, 按比例取粪草与其他辅料混匀, 用糖水拌料, 含水量约 60%。

4.2 分装

4.2.1 母种

使用玻璃试管和棉塞, 试管 18 毫米 ×180 毫米或 20 毫米×200 毫米, 棉塞主要使用梳棉, 不应使用脱脂棉。母种培养基的分装量掌握在试管长度的 1/4~1/5, 灭菌后摆放成的斜面顶端距试管口不少于 50 毫米。

4.2.2 原种

使用 650 毫升~750 毫升, 耐 126℃ 高温的无色或近无色的玻璃菌种瓶, 或 850 毫升, 耐 126℃ 高温白色半透明, 符合 GB 9687 卫生规定的塑料菌种瓶, 或 15 厘米×28 厘米, 耐 126℃ 高温, 符合 GB 9688 卫生规定的聚丙烯塑料袋。各类容器应使用棉塞; 也可用能满足滤菌和透气要求的无棉塑料盖代替棉塞。

4.2.3 栽培种

可使用大于等于 17 厘米×33 厘米, 耐 126℃ 高温, 符合 GB 9688 卫生规定的聚丙烯塑料袋。培养基装至距瓶(袋)口不少于 60 毫米, 灭菌后不少于 45 毫米, 原种和栽培种培养基的松紧度要一致。

4.3 灭菌

4.3.1 灭菌条件

母种的培养基配制分装后应立即灭菌; 原种和栽培种培养基配制后应在 4 小时内进锅灭菌。母种培养基灭菌 0.11 MPa~0.12 MPa, 30 分钟; 木屑培养基和草料培养基灭菌 0.12 MPa, 1.5 小时, 或 0.14 MPa~0.15 MPa, 1 小时; 谷粒培养基、粪草培养基灭菌 0.14 MPa~0.15 MPa, 2.5 小时。容量较大时, 灭菌时间要适当延长。灭菌完毕后, 应自然降压, 不应强制降压。常压灭菌时, 在 2 小时之内使灭菌室温度达到 100℃, 保持 100℃, 8 小时~10 小时。母种培养基、原种培养基、谷粒培养基、粪草培养基, 应高压灭菌, 不应常压灭菌。灭菌时应防止棉塞被冷凝水打湿。

4.3.2 冷却

冷却室使用前要进行清洁和除尘处理。地面铺消毒过的塑料薄膜后, 将灭菌后的原种瓶(袋)或栽培种瓶(袋)放置在冷却室中冷却到料温降至适宜温度。

4.3.3 灭菌效果的检查

母种培养基置于 28℃ 恒温培养, 原种和栽培种培养基经无菌操作接种于 GB 4789.28 中规定的营养肉汤培养基中, 于 28℃ 恒温培养, 48 小时后检查, 无微生物长出的为灭菌合格。

4.4 接种

4.4.1 接种室及超净工作台消毒方法

试管种(母种)的接种在接种箱或超净工作台内进行。原种(瓶装)和栽培种(瓶装或袋装)可在接种箱、超净工作台或接种室内进行。接种室用药物消毒并用紫外灯照射; 超净工作台先用 75% 酒精进行表面擦拭消毒, 然后紫外灯照射预净 20 分钟。

4.4.2 母种的接种

在进行接种操作之前, 工作人员需先将手洗干净, 然后用 2% 煤酚皂液将手浸洗 2 分钟或用 75% 酒精棉球擦手。接种时左手拿试管, 右手拿接种针, 将接种针放在酒精灯火焰上灼烧, 冷却后, 在酒精灯火焰附近拔开试管棉塞, 试管口向下倾斜, 用酒精灯火焰封锁, 接着把火焰灭菌、并冷却后的接种针伸入斜面菌种的试管内, 钩取一小块带培养基的菌种块, 在菌种块出入试管口时, 不要接触管壁或管口, 也不要过火焰, 迅速把菌种块移接入斜面培养基的中部, 把棉塞头的四周在火焰上烧一下, 然后立即将棉塞塞入试管口, 塞入后将棉塞旋转一两下, 使之与管壁紧贴。根据斜面的大小, 每支斜面菌种可扩大移植 20 支~50 支。

4.4.3 原种和栽培种(瓶装或袋装)的接种

原种接种需按无菌操作, 将母种用接种针移接入瓶内, 一支母种可接 4 瓶~6 瓶原种。

栽培种接种需按无菌操作，用接种匙，长柄镊子或接种铲取出一块蚕豆大的原种，放入栽培种培养基中。可单人操作，也可双人配合操作。进行单人操作时，先将母种棉塞拔出，瓶口经火焰灭菌之后，平放在筐架上，并使瓶口保持靠近火焰上部，然后进行接种。进行双人操作时，各自要有一盏酒精灯，以便进行瓶口、接种工具和棉塞灭菌，其中一人手拿菌种瓶和接种工具，另一人手持栽培种培养基和拔、塞棉花塞。

4.4.4 接种室及超净工作台后处理

接种室每次使用后，要及时清理清洁，排除废气、清除废物，台面要用75%酒精擦拭消毒。

4.5 菌种培养

在使用培养室的前两天，采用药物消毒。菌种培养条件的控制主要是对温度、湿度、空气、光线的控制，依食用菌的生理要求而定。

4.6 培养期的检查

各级菌种培养期间应定期检查，及时拣出不合格菌种。

4.7 入库

完成培养的菌种要及时登记，放入满足3.3.8条件的贮存室。

4.8 记录

生产各环节应详细记录。

4.9 留样

各级菌种都应留样备查，留样的数量应以每个批号母种3支~5支，原种和栽培种5瓶~7瓶（袋），于4℃~6℃下贮存，贮存至使用者在正常生产条件下该批菌种出第一潮菇（耳）。

