

食用菌菌种质量鉴定技术规程

Regulation of qaality identification for edible fungi spawn

地方标准信息服务平台

2010-12-17 发布

2011-01-18 实施

湖北省质量技术监督局 发布

前 言

本标准由华中农业大学提出。

本标准起草单位：华中农业大学植物科技学院，农业部微生物产品质量监督检验测试中心（武汉），湖北省食用菌工程技术研究中心。

本标准主要起草人：边银丙、王卓仁、樊晓琳、李维琳、肖扬、徐章逸。

地方标准信息服务平台

食用菌菌种质量鉴定技术规程

1 范围

本标准规定了食用菌菌种质量鉴定技术规程的术语和定义、鉴定技术要求、菌种送样与留样、菌种质量要求、菌种质量鉴定方法、菌种质量的判定、菌种标签、包装、保藏、运输和检验报告。

本标准适用于湖北省主要栽培食用菌：香菇 (*Lentinula edodes*)、黑木耳 (*Auricularia auricula*)、双孢蘑菇 (*Agaricus bisporus*)、平菇 (*Pleurotus ostreatus*)、白灵菇 (*Pleurotus nebrodensis*)、杏鲍菇 (*Pleurotus eryngii* var. *eryngii*) 的母种（一级菌种）、原种（二级菌种）和栽培种（三级菌种）的质量鉴定。

2 规范性引用文件

下列文件对本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅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 12728-2006 食用菌术语
- GB 19169 黑木耳菌种
- GB 19170 香菇菌种
- GB 19171 双孢蘑菇菌种
- GB 19172 平菇菌种
- NY 862 杏鲍菇和白灵菇菌种
- NY/T 528-2002 食用菌菌种生产规程
- NY/T 1097-2006 食用菌菌种真实性鉴定 酯酶同工酶法
- NY/T 1730-2009 食用菌菌种真实性鉴定 ISSR法
- NY/T 1743-2009 食用菌菌种真实性鉴定 RAPD法
- NY 5099 无公害食品 食用菌栽培基质安全技术要求
- NY/T 5333-2006 无公害食品 食用菌生产技术规范
- 《食用菌菌种管理办法》（2006年3月27日农业部令第62号）

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

3.1

菌种纯度 culture purity

指某一菌种只含有特定品种的菌丝体。

3.2

菌种活力 culture vigour

菌种活力包括菌种萌发、定植能力和吃料能力。

3.3

待检菌种 tested culture

指由受检单位或委托方提供的需要检验机构进行检验的菌种，包括母种、原种和栽培种。

3.4

标准菌种 standard culture

指由法定菌种保藏机构进行保藏的、菌种来源明确且种性稳定、活力正常的菌种，包括标准母种、标准原种和标准栽培种。

4 鉴定技术要求

4.1 鉴定技术人员

应符合农业部 2006 年《食用菌菌种管理办法》的要求。

4.2 鉴定单位资质

应符合农业部 2006 年《食用菌菌种管理办法》的要求。

4.3 鉴定场地的选择

鉴定场地所处的环境应不影响检验结果的有效性或不对其所要求的测量准确度产生不利的影响。检验场地的检验工作区域、能源、采光、控温、通风等应该保证有利于正常检验工作的进行。

4.3.1 显微镜观察室

室内要求干燥、通风、环境卫生洁净。显微镜所在试验台有局部照明，远离水源。

4.3.2 微生物培养室

室内应干燥、通风，具有紫外灯等消毒条件，与外间安全隔离。

4.3.3 生化分析室

具有检测食用菌生物学特性和各项理化指标的实验条件。分析用试剂放置于试剂橱中，试剂橱放在人员进出或操作时不易靠近的阴凉地方，避免阳光直射。电烘箱、高速离心机等设备，应远离药剂橱，无菌操作台远离空调。保持周围环境卫生，干燥，注意通风。

4.3.4 分子生物学实验室

分子实验室分为核酸检测区(试剂贮存和准备区，样品粉碎区，核酸制备区，扩增区，产物分析区)，蛋白质检测区(蛋白质分离纯化区，蛋白质检测区)和其他区域[设置洗涤消毒室(洗涤、消毒、制备纯水和/或双蒸水、制冰等)、高速/超高速离心机室、低温/超低温冰箱室等]3个区。各区的工作服、实验用具和实验记录本应区分标记，不能混用。

4.3.5 栽培场所和栽培基质

栽培场所应符合 NY/T 5333-2006 的要求。栽培基质应符合 NY 5099 的要求。

5 菌种送样与留样

菌种送样时同一待检菌种应不少于 4 支(瓶、袋)。检验机构应将样品分为 A、B 两份，每份 2 支(瓶、袋)以上，其中 1 份送检，另 1 份留样备查。留样菌种应于 4℃~6℃ 下贮存，贮存时间应符合 GB 19169、GB 19170-2003、GB 19171、GB 19172、NY 862 的规定。

6 菌种质量要求

6.1 菌种种性质量要求

6.1.1 感官特性

黑木耳菌种应符合 GB 19169 规定的质量要求。

香菇菌种应符合 GB 19170 规定的质量要求。

双孢蘑菇菌种应符合 GB 19171 规定的质量要求。

平菇菌种应符合 GB 19172 规定的质量要求。

杏鲍菇和白灵菇菌种应符合 NY 862 规定的质量要求。

6.1.2 生物学特性

表 1 菌种生物学特性的质量要求

项 目	质量要求
母种菌丝生长速度	黑木耳菌种、香菇菌种、双孢蘑菇菌种、平菇菌种、杏鲍菇和白灵菇菌种应依次符合 GB 19169、GB 19170、GB 19171、GB 19172、NY 862 的质量要求
原种、栽培种菌丝生长速度	黑木耳菌种、香菇菌种、双孢蘑菇菌种、平菇菌种、杏鲍菇和白灵菇菌种应依次符合 GB 19169、GB 19170、GB 19171、GB 19172、NY 862 的质量要求
拮抗现象	采用 PDA 琼脂培养基，将待检菌种与标准菌种进行对峙培养。待两个菌落交接后，再继续培养 10d 后观察。如果交接处出现明显的拮抗线、隔离带或隆起成栅栏状，即为拮抗反应，应判定待检菌种与标准菌种属于不同的菌株或品种；如果没有表现出拮抗反应，则应结合其它方法进行判断
菌丝生长温度范围	应符合黑木耳(6~36)℃、平菇(3~35)℃、香菇(5~32)℃、双孢蘑菇(5~30)℃、白灵菇(5~32)℃、杏鲍菇(5~33)℃的温度范围要求，待检菌种与标准菌种相差不应超过 2℃
菌丝生长最适温度	应符合黑木耳(26±2)℃、平菇(25±2)℃、香菇(23±2)℃、双孢蘑菇(24±1)℃、杏鲍菇和白灵菇(25±1)℃的温度范围要求，待检菌种与标准菌种相差不应超过 2℃
菌丝生长最适 pH 值	应符合香菇 pH5.0-6.0、黑木耳 pH5.0-6.5、平菇和白灵菇 pH5.5-6.5、双孢蘑菇 pH6.5-7.0、杏鲍菇 pH6.5-7.5 的 pH 范围要求，待检菌种与标准菌种最适 pH 相差不应超过 0.5

6.1.3 双孢蘑菇酯酶同工酶

应符合 GB 19171 的质量要求。

6.1.4 DNA 指纹图谱

按照 NY/T 1730-2009、NY/T 1743-2009 规定的方法进行。统计待检菌种与标准菌种的 DNA 条带，计算相似系数。若相似系数低于 80%，则判定两者为不同菌株；若相似系数大于 80%，则应结合其它方法进行判断。

6.1.5 农艺性状

表 2 菌种农艺性状的质量要求

项 目	质量要求
菌种萌发定植能力	母种、原种转接及栽培种播种后应在 24h 之内萌发定植
结菇转潮能力（双孢蘑菇）	覆土后 12d~16d 开始出菇，18d~22d 采收，每潮间隔 7d~10d
生物学效率	待检菌种与标准菌种的差异值应不超过 5%
第 1 潮和第 2 潮菇的产量	待检菌种与标准菌种之间应不存在显著性差异
菇（耳）形（包括脉纹多少、皱缩程度）、质地、色泽	待检菌种与标准菌种应没有明显差异
菇盖直径和厚度、菇柄长度和直径；耳片大小和厚度	待检菌种与标准菌种之间应不存在显著性差异

6.2 菌种纯度质量要求

黑木耳菌种应符合 GB 19169 规定的质量要求。
香菇菌种应符合 GB 19170 规定的质量要求。
双孢蘑菇菌种应符合 GB 19171 规定的质量要求。
平菇菌种应符合 GB 19172 规定的质量要求。
杏鲍菇和白灵菇菌种应符合 NY 862 规定的质量要求。
凡是含有细菌、放线菌、霉菌、螨虫、线虫等生物及其代谢物的菌种应判定为不合格菌种。

6.3 菌种活力质量要求

6.3.1 菌丝萌发、定植能力

菌丝应在 24h 以内萌发、定植。

6.3.2 菌丝生长速度

黑木耳菌种应符合 GB 19169 规定的质量要求。
香菇菌种应符合 GB 19170 规定的质量要求。
双孢蘑菇菌种应符合 GB 19171 规定的质量要求。
平菇菌种应符合 GB 19172 规定的质量要求。
杏鲍菇和白灵菇菌种应符合 NY 862 规定的质量要求。

7 菌种质量鉴定方法

7.1 菌种种性鉴定方法

7.1.1 感官鉴定

黑木耳菌种应按照 GB 19169 规定的感官鉴定方法进行鉴定。
香菇菌种应符合 GB 19170 规定的感官鉴定方法进行鉴定。
双孢蘑菇菌种应符合 GB 19171 规定的感官鉴定方法进行鉴定。
平菇菌种应符合 GB 19172 规定的感官鉴定方法进行鉴定。

杏鲍菇和白灵菇菌种应符合 NY 862 规定的感官鉴定方法进行鉴定。

7.1.2 菌丝显微观察

在载玻片上滴一滴无菌水，用解剖针挑取待检菌株活化的菌丝少许于水滴上，盖上盖玻片。先用 10 倍物镜观察，再转到 40 倍物镜下观察菌丝的形态结构，测量菌丝细胞的宽度，同时与标准菌种比较，观察两者在菌丝直径、分枝密度、分枝特征、锁状联合等方面有无明显差异。至少观察待检菌株的 50 个不同视野。

7.1.3 生物学特性鉴定

7.1.3.1 菌丝生长速度

黑木耳菌种应按照 GB 19169 规定的方法进行鉴定。

香菇菌种应符合 GB 19170 规定的方法进行鉴定。

双孢蘑菇菌种应符合 GB 19171 规定的方法进行鉴定。

平菇菌种应符合 GB 19172 规定的方法进行鉴定。

杏鲍菇和白灵菇菌种应符合 NY 862 规定的方法进行鉴定。

7.1.3.2 拮抗试验

取待检菌种和标准菌种分别进行转管活化后，在同一个平板培养基上相距 3cm 左右进行接种，适温下培养，待两个菌落交接时进行观察。

7.1.3.3 温度试验

将待检菌种与标准菌种进行活化，将直径约 5mm 的接种块接种在 PDA 平皿中（直径 90mm），分别在 3℃、5℃、8℃、10℃、15℃、18℃、20℃、22℃、24℃、26℃、28℃、30℃、32℃、34℃、36℃ 下培养，观察待检菌种与标准菌种在相同温度下的生长速度。

7.1.3.4 pH 值测定

取待检菌种活化的菌丝块接入于不同酸碱度(pH4~11)的平板培养基上，置于适宜的温度下培养。当菌落直径达 1cm~2cm 时，在菌落边缘画线作为生长起始线，继续培养。当菌丝快长满平皿时，再画一条终止线。测量起始线与终止线之间的距离，计算菌丝生长速度，获得菌丝生长适宜的 pH 范围和最适 pH 值。

7.1.3 酯酶同工酶鉴定

双孢蘑菇酯酶同工酶测定按照 NY/T 1097-2006、GB 19171 规定的方法进行。

7.1.4 DNA 指纹鉴定

按照 NY/T 1730-2009、NY/T 1743-2009 规定的方法进行。

7.1.5 农艺性状鉴定

7.1.5.1 菌种萌发定植能力

将待检菌种转接到母种 PDA 培养基(详见附录 A.1)和相应的原种、栽培种培养基中(详见附录 A.2、附录 A.3、附录 A.4、附录 A.5)，置于(24±1)℃培养，肉眼观察菌丝的萌发定植情况。

7.1.5.2 子实体形态

将待检菌种与标准菌种转接到附录 B 中相应的培养料或段木中进行出菇试验。双孢蘑菇、香菇、黑木耳、平菇、杏鲍菇和白灵菇均按常规方法栽培后进行子实体形态观察。

7.1.5.3 产量性状

制作待检菌种和标准菌种的三级菌种，按照附录 B 中的培养料配方制作栽培袋（栽培料）或准备段木进行栽培试验，试验采用随机区组排列，不少于 3 次重复，袋栽种类每小区不少于 30 袋，床栽种类每小区不少于 3 平方米，段木种类每小区不少于 30 根，设保护区和保护行。统计待检菌种与标准菌种的单位面积产量或单袋（根）产量，进行差异显著性检验。

7.1.5.4 生物学效率

统计第一潮菇（耳）至该品种的正常栽培季节结束，分别计算待检菌种和标准菌种的生物学效率，

再比较两者生物学效率的差异。

7.2 菌种纯度鉴定方法

7.2.1 肉眼观察

在光线适宜的条件下，肉眼观察装有菌种的容器中是否混有细菌、霉菌、螨虫、线虫等其它生物及其代谢物。

7.2.2 细菌检测

黑木耳菌种应按照 GB 19169 规定的细菌检验方法进行鉴定。

香菇菌种应符合 GB 19170 规定的细菌检验方法进行鉴定。

双孢蘑菇菌种应符合 GB 19171 规定的细菌检验方法进行鉴定。

平菇菌种应符合 GB 19172 规定的细菌检验方法进行鉴定。

杏鲍菇和白灵菇菌种应符合 NY 862 规定的细菌检验方法进行鉴定。

7.2.3 霉菌检测

黑木耳菌种应按照 GB 19169 规定的霉菌检验方法进行鉴定。

香菇菌种应按照 GB 19170 规定的霉菌检验方法进行鉴定。

双孢蘑菇菌种应按照 GB 19171 规定的霉菌检验方法进行鉴定。

平菇菌种应按照 GB 19172 规定的霉菌检验方法进行鉴定。

杏鲍菇和白灵菇菌种应按照 NY 862 规定的霉菌检验方法进行鉴定。

7.2.4 螨虫和线虫检测

用接种针挑取少许待检菌种的菌丝于载玻片上水滴中，盖上盖玻片，用 10 倍或 40 倍物镜观察，检查是否有螨虫或线虫存在。至少观察 50 个不同的视野。

7.3 菌种活力鉴定方法

7.3.1 菌丝萌发、定植能力

按无菌操作要求，挑取小块待检菌种的菌丝块，转接到 PDA 平板(或斜面)培养基上，置于 24℃ ±2℃ 的温度下培养，观察其萌发出新菌丝的能力。

7.3.2 菌丝生长速度

黑木耳菌种应按照 GB 19169 规定的菌丝生长速度检验方法进行鉴定。

香菇菌种应按照 GB 19170 规定的菌丝生长速度检验方法进行鉴定。

双孢蘑菇菌种应按照 GB 19171 规定的菌丝生长速度检验方法进行鉴定。

平菇菌种应按照 GB 19172 规定的菌丝生长速度检验方法进行鉴定。

杏鲍菇和白灵菇菌种应按照 NY 862 规定的菌丝生长速度检验方法进行鉴定。

8 菌种质量的判定

菌种质量的判定按菌种种性、菌种纯度和菌种活力的质量要求进行。检验项目全部符合质量要求时，为合格菌种；其中任何一项不符合质量要求时，均为不合格菌种。

9 菌种标签、包装、保藏、运输

黑木耳菌种应符合 GB 19169 规定的要求。

香菇菌种应符合 GB 19170 规定的要求。

双孢蘑菇菌种应符合 GB 19171 规定的要求。

平菇菌种应符合 GB 19172 规定的要求。

杏鲍菇和白灵菇菌种应符合 NY 862 规定的要求。

10 检验报告

检验报告内容包括样品菌种的种类、品种名称、菌种分级、受检单位(生产单位)、检验类别、检验依据、样品数量、检测项目、检验结论，并附有检测结果报告书。结果报告书包括样品编号、样品菌种的种类、品种名称、菌种分级、检测项目、检测指标、实测数据、单项结论、检测依据等。检验报告一式两份，分正本和副本，正本交与客户，副本存档。

地方标准信息服务平台

附录 A
(规范性附录)
培养基配方

A.1 母种PDA培养基配方

马铃薯200g(用浸出汁), 葡萄糖20g, 琼脂20g, 水1000mL, pH值自然。

A.2 香菇、黑木耳原种、栽培种培养基配方

阔叶树木屑78%, 麸皮20%, 糖1%, 石膏1%, 含水量 $58\% \pm 2\%$, pH自然。

A.3 平菇原种和栽培种培养基配方

棉籽壳100%, 含水量 $62\% \pm 2\%$, pH自然。

A.4 双孢蘑菇原种、栽培种培养基配方

谷粒98%, 石膏粉2%, 含水量 $50\% \pm 1\%$, pH自然。

A.5 杏鲍菇和白灵菇原种和栽培种培养基配方

阔叶树木屑79%, 麸皮20%, 石膏1%, 含水量 $60\% \pm 2\%$, pH自然。

地方标准信息服务平台

附 录 B
(规范性附录)
培养料配方

B.1 双孢蘑菇腐熟粪草栽培培养料配方

牛粪粉(干) 20%，腐熟稻草秆(干) 77%，石膏1%，碳酸钙2%，含水量 $62\pm 1\%$ ，pH7.5。

B.2 平菇袋料栽培的棉籽壳培养料配方

棉籽壳86%，麦麸10%，石灰2%，石膏1%，过磷酸钙1%，含水量 $62\%\pm 2\%$ ，pH自然。

B.3 杏鲍菇和白灵菇袋料栽培的培养料配方

棉籽壳80%，麦麸15%，玉米粉3%，石膏2%，含水量 $60\%\pm 2\%$ ，pH自然。

B.4 香菇、黑木耳代料栽培料配方

阔叶树木屑78%，麸皮20%，糖1%，石膏1%，含水量 $58\%\pm 2\%$ ，pH自然。

B.5 香菇、黑木耳段木栽培时对段木的要求

阔叶树(栓皮栎、麻栎、枫杨，化香及枫香树)，树龄10-15年，长度1.0-1.2m，深秋或初冬砍伐、架晒，接种时段木含水量40%-50%，气温 5°C - 10°C 时进行接种。

地方标准信息服务平台