

食用菌菌种繁育技术规程

Techniacal regulations of pure culture making of edible fungi

2006 - 03 - 27 发布

2006 - 05 - 01 实施

四川省质量技术监督局 发布

目 次

前言	II
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 术语和定义	1
4 生产场地	2
5 厂房设置和布局	2
6 设施设备	2
7 使用品种	2
8 生产工艺流程	2
9 技术要求	2
附录 A (资料性附录).....	5
附录 B (资料性附录).....	5

前 言

本标准由四川省农业厅提出并归口。

本标准由四川省质量技术监督局批准。

本标准的附录 A、附录 B 培养料配方（推荐）均为资料性附录。

本标准由四川省农科院食用菌开发研究中心负责起草。

本标准主要起草人：熊鹰 王蓓 唐瑞生 高兴祥 辜继宗 陈能。

食用菌菌种繁育技术规程

1 范围

本标准规定了食用菌各级固体菌种生产的术语和定义、生产场地、厂房设置和布局、设备设施、使用品种、生产工艺流程、技术要求。

本标准适用于各级人工栽培食用菌菌种生产。

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 4789 食品卫生微生物学检验、染色法、培养基和试剂

NY 5099 无公害食品 食用菌栽培基质安全技术要求

DB51/336 无公害农产品（种植业）产地环境条件

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

3.1 菌种 pure culture

为繁殖或栽培而分级制作的食用菌菌丝体纯培养物，按培养的不同阶段可分为母种、原种和栽培种。

3.1.1 母种 stock culture

经选育获得的以玻璃试管为装载容器、琼脂为培养基质凝固剂的菌丝体纯培养物及其继代培养物，也称一级种和试管种。

3.1.2 原种 pre-culture spawn

由母种移植、扩大培养而成的菌丝体纯培养物，有固、液两种形态，也称二级种。固体种是以瓶（袋）盛装的木屑、棉壳、谷粒、粪草等的无菌基质上繁殖而成的菌丝体纯培养物；液体种是以液相基质经发酵培养而成的菌丝体纯培养物。

3.1.3 栽培种 spawn

由原种扩大繁殖而成的直接用于生产子实体的固体或者液体种，也称三级种。栽培种只能用于栽培，不可再次扩繁菌种。

3.2 培养基 culture medium

由食用菌生长发育所需要的营养物质配制而成的基质。分为三种类型：固化培养基、固体培养基和液体培养基。

3.3 种性 characters of strain

即食用菌的品种特性，包括形态特征、生物学特性、生长发育条件、栽培习性及其产量和农艺性状。是鉴别食用菌菌种或品种优劣的重要标准之一。

4 生产场地

4.1 4.1 地理条件

地势平坦、通风良好、水源方便、排水良好、交通便利。

4.2 4.2 环境条件

远离化工厂、垃圾场、禽畜饲养场及其它污染源。环境条件应符合DB51/336的规定。

5 厂房设置和布局

5.1 设置

有各自隔离的摊晒场、原料库、配料分装室（场）、灭菌室、冷却室、接种室、培养室、贮存室、洗涤处、实验室（包括菌种检验）和出菇试验场。厂房建造从结构和功能上满足食用菌生产的基本要求。

5.2 布局

按各操作环节顺序形成一条流水线，灭菌前的操作区域与灭菌后的操作区域相隔离，出菇场与菌种生产车间隔离。

6 设施设备

6.1 基本设备

磅秤、天平、搅拌机、高压灭菌锅、常压灭菌锅、净化工作台、接种箱、接种工具、培养架、恒温培养箱、烘箱、冰箱、显微镜等常规用具和设备。

6.2 基本设施

菌种生产各环节的设施规模要配套，冷却室、接种室、培养室和贮存室要有控温设施。实验室应有配套的检测设备。

7 使用品种

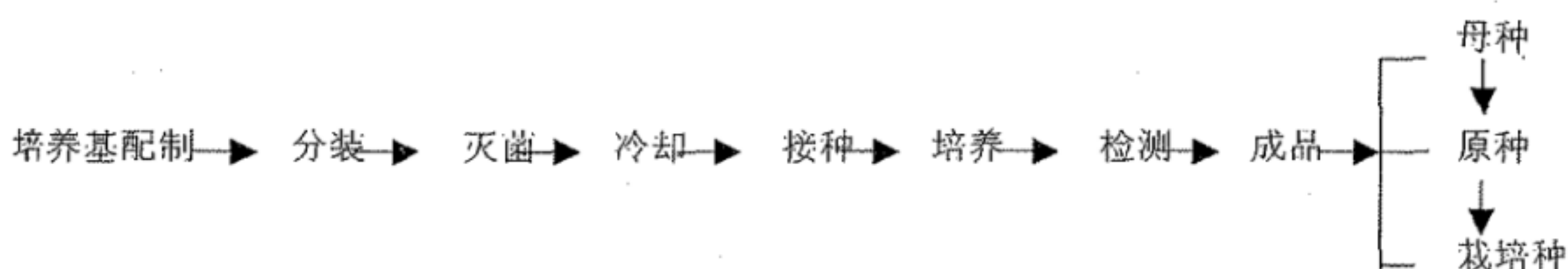
7.1 种源

从具有相应技术资质的供种单位引种，引进品种须通过适应性试验。不使用来源不详、种性不清和未经系统试验验证的品种。

7.2 扩繁

母种仅限于移植扩大原种，一支母种扩接原种3瓶~5瓶；一瓶原种扩接栽培种30瓶（袋）~50瓶（袋）。

8 生产工艺流程



9 技术要求

9.1 人员

具有与菌种生产等级相应的专业技术人员。

9.2 生产操作技术

9.2.1 容器

9.2.1.1 母种

使用玻璃试管和棉塞。试管规格18mm~24mm×180mm~240mm,棉花用未脱脂处理的精梳棉。

9.2.1.2 原种

使用650ml~750ml无色或近无色专用玻璃菌种瓶,或650ml~1000ml耐126℃高温白色半透明塑料菌种瓶。所有容器均应用棉塞或可满足滤菌透气要求的无棉盖体封口。

9.2.1.3 栽培种

使用9.2.1.2规定的容器,也可使用规格14cm~20cm×35cm×0.03~0.05cm高密度低压聚乙烯或耐高压聚丙烯塑料袋。所有容器均应封口,选用9.2.1.2规定的材料。

9.2.2 培养原料

母种生产所需化学试剂和生物制剂应使用化学纯级。各级菌种所用天然原料应符合NY5099之规定。

9.2.3 培养基配方

9.2.3.1 母种培养基

绝大部分种类的食用菌均可用附录A1和A2的培养基配方,特殊种类需加入蛋白胨、麦芽汁或某些原料浸提物,不同品种的pH值应严格掌控。

9.2.3.2 原种和栽培种培养基

根据品种要求和当地原料资源选择适宜配方(见附录B),严格掌控含水量和pH值。

9.2.4 分装

母种培养基装量宜为试管长度的1/4~1/5,灭菌后摆放的斜面长度小于试管长度的3/4。原种和栽培种培养基装料要松紧适度,瓶(袋)口略紧,灭菌后料面应在瓶(袋)口颈部下沿,封口材料不可触及种块。

9.2.5 灭菌

9.2.5.1 方式

母种培养基和原种培养基采用高压灭菌。栽培种培养基可用高压灭菌或常压灭菌。

9.2.5.2 方法

母种培养基分装后立即灭菌,在0.14兆帕压力下,恒压30分钟~35分钟。原种和栽培种培养基配制、装瓶(袋)至堆码上锅应在4小时~6小时内完成,灭菌时间因基质种类而异,木屑、棉籽壳等秸秆类培养基和粪草培养基在0.14兆帕下灭菌2小时~2.5小时,谷粒及木粒培养基限用玻璃瓶盛装,在0.18兆帕~0.2兆帕压力下灭菌。2.5小时~3小时。灭菌锅容量大、堆码紧密时还应适当延长灭菌时间。常压灭菌时,宜在4小时内使灭菌室内温度达100℃,保持恒温12小时~16小时,停火,利用余热闷6小时~8小时后开门出瓶(袋)。

9.2.5.3 检验

随机抽取数支母种培养基置于28℃恒温培养,将被抽检的原种和栽培种培养基经无菌操作接种于GB4789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,即为灭菌合格。

9.2.6 冷却

冷却室使用前应进行清洁和除尘,可用漂白粉溶液或0.2%高锰酸钾溶液拖地,台面及空间用75%酒精或新洁尔灭等擦拭、喷雾。灭菌后的瓶(袋)放置冷却至料温降至30℃以下。

9.2.7 接种

9.2.7.1 接种室(箱)或净化工作台的消毒

按9.2.6方法清洁接种室(箱)后,将冷却的瓶(袋)放入接种室(箱),关闭门窗,用气雾消毒剂熏蒸2小时~3小时。再将三氧杀菌机开启半小时。接种前30分钟,用0.25%新洁尔灭喷雾降尘消毒。净化工作台面先用75%酒精或新洁尔灭擦拭消毒,然后预净30分钟。

9.2.7.2 接种操作

在无菌室(箱)或净化工作台上严格按无菌操作接种。接种完毕及时贴好标签。

9.2.7.3 接种室(箱)后处理

及时清除接种残渣,清洁台面,排除废气,再用75%酒精或新洁尔灭等擦拭消毒。

9.2.8 培养

9.2.8.1 培养室消毒杀虫

使用前2天按9.2.6方法清洁和除尘,并用药物消毒和杀虫。

9.2.8.2 培养条件

调控室(箱)温度,达培养物最适宜的温度(多在22℃~28℃),保持空气相对湿度在75%以下,通风,避光。

9.2.8.3 培养期的检查

定期检查,及时剔除不合格菌种。

9.2.9 入库

完成培养的菌种要及时登记入库并在适龄期使用。

9.2.10 记录

生产各环节应详细记录。

9.2.11 留样

各级菌种都应留样备查。各级菌种各个批次留样数量不得少于5支(瓶、袋),至该批菌种正常生产条件下出菇(耳)后方可处置。

附录 A (资料性附录)

母种常用培养基配方 (推荐)

A.1 PDA培养基 (马铃薯葡萄糖琼脂培养基)

马铃薯200g, 琼脂20g (加热溶化), 葡萄糖20g, 加水定容至1000ml, pH值自然。

A.2 CPDA培养基 (综合马铃薯葡萄糖琼脂培养基)

马铃薯200g, 琼脂20g, 葡萄糖20g, 磷酸二氢钾3g, 硫酸镁1.5g, 维生素B110mg, 加水定容至1000ml, pH值自然。

附录 B (资料性附录)

原种和栽培种常用培养基配方及其适用种类 (推荐)

B.1 木屑培养基配方:

适用于香菇、木耳、平菇、金针菇、滑菇、真姬菇等多种木腐菌类。

阔叶树木屑78%, 细米糠 (或麸皮) 20%, 蔗糖1%, 石膏1%, 含水量60%±3%。

B.2 棉籽壳培养基配方:

适用于木耳、侧耳属各类、金针菇、滑菇、真姬菇、柱状田头菇、草菇等多种木腐或草腐菌类。

B.2.1 棉籽壳90%, 细米糠 (或麸皮) 8%, 蔗糖1%, 石膏1%, 含水量60%±3%。

B.2.2 棉籽壳60%, 玉米芯 (或阔叶木屑) 30%, 细米糠 (或麸皮) 8%, 蔗糖1%, 石膏1%, 含水量60%±3%。

B.3 草粉培养基配方:

适用于草菇、姬菇、大球盖菇等草腐、木腐菌类。

稻 (麦) 草粉45%, 棉籽壳35%, 细米糠 (或麸皮) 18%, 蔗糖1%, 石膏1%, 含水量65%±2%。

B.4 发酵料培养基配方:

适用于双孢蘑菇、姬松茸、大肥菇等蘑菇属的种类。

B.4.1 干牛粪57%, 干稻 (麦) 草36%, 菜籽 (豆、花生) 饼肥2%, 过磷酸钙1%, 石膏2%, 碳酸钙2%, 发酵腐熟, 含水量62%±2%。pH7.5。

B.4.2 发酵棉籽壳 (干) 86%, 麸皮10%, 蔗糖1%, 石膏1%, 碳酸钙2%, 含水量55%±2%。pH7.5。

B.5 谷粒培养基配方:

适用于蘑菇属种类及大部分木腐菌类。

麦 (玉米) 粒88%, 草粉10%, 石膏2%, 含水量50%±2%。

B.6 以木粒、木 (枝) 条、竹片为主料的培养基配方:

木粒适用于香菇、黑木耳等段木多点打孔接种。木条或竹片菌种用于菌筒直接纵插接种。

阔叶树木粒或木 (枝) 条、竹片70%~75%, 附录B.1配方的培养基25%~30%。