

NY

中华人民共和国农业行业标准

NY/T 528—2002

食用菌菌种生产技术规程

Technical inspection of pure culture making of edible fungi

2002-08-27 发布

2002-12-01 实施

中华人民共和国农业部 发布

前 言

食用菌菌种生产技术是否规范直接影响菌种的质量,从而影响食用菌产品的质量。我国食用菌菌种生产采用母种、原种、栽培种的三级繁育程序。为了实现食用菌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。

本标准的附录 A、附录 B 均为规范性附录。

本标准由农业部种植业管理司提出。

本标准起草单位:中国微生物菌种保藏管理委员会农业微生物中心、中国农业科学院土壤肥料研究所、农业部食用菌产品质量监督检验测试中心(上海)。

本标准主要起草人:张金霞、贾身茂、王南、左雪梅、申进文。

食用菌菌种生产技术规程

1 范围

本标准规定了各种食用菌各级菌种生产的生产场地、厂房设置和布局、设备设施、使用品种、生产工艺流程、技术要求和贮存运输要求。

本标准适用于各种各级食用菌菌种生产。

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 4789.28—1994 食品卫生微生物学检验 染色法、培养基和试剂

GB 9687—1988 食品包装用聚乙烯成型品卫生标准

GB 9688—1988 食品包装用聚丙烯成型品卫生标准

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

3.1

品种 strain

经各种方法分离、诱变、杂交、筛选而选育出来具特异性、均一（一致）性和稳定性的具有同一个祖先的群体。也常称作菌株或品系。

3.2

菌种 pure culture

经人工培养并可供进一步繁殖或栽培使用的食用菌菌丝纯培养物，包括母种、原种和栽培种。

3.3

母种 stock culture

经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，以玻璃试管为培养容器和使用单位，也称一级种、试管种。

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15 cm×28 cm聚丙烯塑料袋为容器。

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。常以玻璃瓶、塑料瓶或塑料袋为容器。栽培种只能用于栽培，不可再次扩大繁殖菌种。

3.6

种木 wood-pieces

木塞种用的具有一定形状和大小的木质颗粒,也称种粒。

3.7

固体培养基 solid medium

以富含木纤维素或淀粉类天然碳源物质为主要原料,填加适量的有机氮源和无机盐类,具有一定水含量的培养基。常用的主要原料有木屑、棉籽壳、秸秆、麦粒、谷粒、玉米粒等,常用的有机氮源有麦麸、米糠等,常用的无机盐类有硫酸钙、硫酸镁、磷酸二氢钾等。固体培养基包括以阔叶树木屑为主要原料的木屑培养基、以草本植物为主要原料的草料培养基、以禾谷类种子为主要原料的谷粒培养基、以腐熟料为原料的粪草培养基,以种木为主要原料的木塞培养基。

3.8

种性 characters of strain

食用菌的品种特性,是鉴别食用菌种或品种优劣的重要标准之一。一般包括对温度、湿度、酸碱度、光线和氧气的要求,抗逆性、丰产性、出菇迟早、出菇潮数、栽培周期、商品质量及栽培习性等农艺性状。

4 技术要求

4.1 技术人员

菌种厂应有与菌种生产所需的相应专业技术人员。

4.2 场地选择

4.2.1 基本要求

地势高燥,通风良好。排水畅通,交通便利。

4.2.2 环境卫生要求

至少 300 m 之内无禽畜舍,无垃圾(粪便)场,无污水和其他污染源(如大量扬尘的水泥厂、砖瓦厂、石灰厂、木材加工厂等)。

4.3 厂房设置和布局

4.3.1 厂房设置和建造

有各自隔离的摊晒场、原材料库、配料分装室(场)、灭菌室、冷却室、接种室、培养室、贮存室、菌种检验室等。厂房建造从结构和功能上满足食用菌菌种生产的基本需要。

4.3.1.1 摊晒场

要求平坦高燥、通风良好,光照充足、空旷宽阔。远离火源。

4.3.1.2 原材料库

要求高燥、通风良好,防雨,远离火源。

4.3.1.3 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。

4.3.1.4 灭菌室

要求水电安全方便,通风良好,空间充足,散热畅通。

4.3.1.5 冷却室

洁净、防尘、易散热。

4.3.1.6 接种室

要设缓冲间,防尘换气性能良好。内壁和屋顶光滑,经常清洗和消毒。做到空气洁净。

4.3.1.7 培养室和贮存室

内壁和屋顶光滑,便于清洗和消毒。培养室和贮存室墙壁要加厚,利于控温。

4.3.1.8 菌种检验室

水电方便,利于装备相应的检验设备和仪器。

4.3.2 布局

应按菌种生产工艺流程合理安排布局。

4.4 设备设施

4.4.1 基本设备

磅秤、天平、高压灭菌锅或常压灭菌锅、净化工作台、接种箱、调温设备、除湿机、培养架、恒温箱、冰箱、显微镜等及常规用具，产量大的菌种厂还应配备搅拌机、装瓶装袋机。高压灭菌锅应使用经有关部门检验的安全合格产品。

4.4.2 基本设施

配料、分装、灭菌、冷却、接种、培养等各环节的设施规模要配套。冷却室、接种室、培养室和贮存室都要有调温设施。

4.5 使用品种

4.5.1 品种

应使用经省级以上农作物品种审定委员会登记的品种，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。并从具相应技术资质的供种单位引种。

4.5.2 移植扩大

母种仅用于移植扩大原种，一支母种移植扩大原种不应超过 6 瓶(袋)；一瓶原种移植扩大栽培种不应超过 50 瓶(袋)。

4.6 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。

4.7 生产过程中的技术要求

4.7.1 容器

4.7.1.1 母种

使用玻璃试管和棉塞，试管 18 mm×180 mm 或 20 mm×200 mm，棉塞要使用梳棉，不应使用脱脂棉。

4.7.1.2 原种

使用 650 mL~750 mL，耐 126℃ 高温的无色或近无色的玻璃菌种瓶，或 850 mL 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 cm×28 cm 耐 126℃ 高温符合 GB 9688 卫生规定的聚丙烯塑料袋。各类容器都应使用棉塞，棉塞应符合 4.7.1.1 规定；也可用能满足滤菌和透气要求的无棉塑料盖代替棉塞。

4.7.1.3 栽培种

使用符合 4.7.1.2 规定的容器，也可使用≤17 cm×35 cm 耐 126℃ 高温符合 GB 9688 卫生规定的聚丙烯塑料袋。各类容器都应使用棉塞或无棉塑料盖，并符合 4.7.1.2 规定。

4.7.2 培养原料

4.7.2.1 化学试剂类

这类原料如硫酸镁、磷酸二氢钾等，要使用化学纯级试剂。

4.7.2.2 生物制剂和天然材料类

生物制剂如酵母粉和蛋白胨，天然材料如木屑、棉籽壳、麦麸等，要求新鲜、无虫、无螨、无霉、洁净干燥。

4.7.3 培养基配方

4.7.3.1 母种培养基

一般使用附录 A 中第 A.1 章规定的马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA)或第 A.2 章规定的综合马铃薯

葡萄糖琼脂培养基(CPDA),特殊种类需加入其生长所需特殊物质,如酵母粉、蛋白胨、麦芽汁、麦芽糖等,但不应过富。严格掌握 pH 值。

4.7.3.2 原种和栽培种培养基

根据当地原料资源和所生产品种的要求,使用适宜的培养基配方(见附录 B),严格掌握含水量和 pH 值。

4.7.4 分装

母种培养基的分装量掌握在试管长度的四分之一至五分之一,灭菌后摆放成的斜面顶端距试管口不少于 50 mm,原种和栽培种培养基装至距瓶(袋)口不少于 60 mm,灭菌后不少于 45 mm。棉塞大小松紧要适度。原种和栽培种培养基的松紧度要一致。

4.7.5 灭菌

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 h 内进锅灭菌。母种培养基灭菌 0.11 MPa~0.12 MPa,30 min,木屑培养基和草料培养基灭菌 0.12 MPa,1.5 h 或 0.14 MPa~0.15 MPa,1 h,谷粒培养基、粪草培养基和木塞培养基灭菌 0.14 MPa~0.15 MPa,2.5 h。装容量较大时,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 h 之内使灭菌室温度达到 100℃,保持 100℃8 h~10 h。母种培养基、原种培养基、谷粒培养基、粪草培养基和木塞培养基,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。

4.7.6 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—1994 中 4.8 规定的营养肉汤培养基中,于 28℃ 恒温培养,48 h 后检查,无微生物长出的为灭菌合格。

4.7.7 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。

4.7.8 接种

4.7.8.1 接种室(箱)的基本处理程序

清洁→搬入接种物和被接种物→接种室(箱)的消毒处理。

4.7.8.2 接种室(箱)的消毒方法

用药物消毒并用紫外线照射。

4.7.8.3 净化工作台的消毒处理方法

先用 75% 酒精或新洁尔灭溶液进行表面擦拭消毒,然后预净 20 min。

4.7.8.4 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。接种完成后及时贴好标签。

4.7.8.5 接种室(箱)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% 酒精或新洁尔灭溶液擦拭消毒。

4.7.9 培养室处理

在使用培养室的前两天,采用药物消毒。

4.7.10 培养条件

根据培养物的不同生长要求,给予其适宜的培养温度(多在 22℃~28℃),保持空气相对湿度在 75% 以下,通风,避光。

4.7.11 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。

4.7.12 入库

完成培养的菌种要及时登记入库。

4.7.13 记录

生产各环节应详细记录。

4.7.14 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)。

附录 A
(规范性附录)

母种常用培养基及其配方

A.1 PDA 培养基(马铃薯葡萄糖琼脂培养基)

马铃薯 200 g(用浸出汁),葡萄糖 20 g,琼脂 20 g,水 1 000 mL,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 200 g(用浸出汁),葡萄糖 20 g,磷酸二氢钾 2 g,硫酸镁 0.5 g,琼脂 20 g,水 1 000 mL,pH 值自然。

附录 B
(规范性附录)

原种和栽培种常用培养基配方及其适用种类

B.1 以木屑为主料的培养基配方

见 B.1.1、B.1.2、B.1.3,适用于香菇、黑木耳、毛木耳、平菇、金针菇、滑菇、鸡腿菇、真姬菇等多数木腐菌类。

B.1.1 阔叶树木屑 78%,麸皮 20%,糖 1%,石膏 1%,含水量 $58\% \pm 2\%$ 。

B.1.2 阔叶树木屑 63%,棉籽壳 15%,麸皮 20%,糖 1%,石膏 1%,含水量 $58\% \pm 2\%$ 。

B.1.3 阔叶树木屑 63%,玉米芯粉 15%,麸皮 20%,糖 1%,石膏 1%,含水量 $58\% \pm 2\%$ 。

B.2 以棉籽壳为主料的培养基

见 B.2.1、B.2.2、B.2.3、B.2.4,适用于黑木耳、毛木耳、金针菇、滑菇、真姬菇、杨树菇、鸡腿菇、侧耳属等多数木腐菌类。

B.2.1 棉籽壳 99%,石膏 1%,含水量 $60\% \pm 2\%$ 。

B.2.2 棉籽壳 84%~89%,麦麸 10%~15%,石膏 1%,含水量 $60\% \pm 2\%$ 。

B.2.3 棉籽壳 54%~69%,玉米芯 20%~30%,麦麸 10%~15%,石膏 1%,含水量 $60\% \pm 2\%$ 。

B.2.4 棉籽壳 54%~69%,阔叶树木屑 20%~30%,麦麸 10%~15%,石膏 1%,含水量 $60\% \pm 2\%$ 。

B.3 以棉籽壳或稻草为主料的培养基

见 6.3.1、6.3.2、6.3.3,适用于草菇。

B.3.1 棉籽壳 99%,石灰 1%,含水量 $68\% \pm 2\%$ 。

B.3.2 棉籽壳 84%~89%,麦麸 10%~15%,石灰 1%,含水量 $68\% \pm 2\%$ 。

B.3.3 棉籽壳 44%,碎稻草 40 麦麸 15%,石灰 1%,含水量 $68\% \pm 2\%$ 。

B.4 腐熟料培养基

适用于双孢蘑菇、大肥菇、姬松茸等蘑菇属的种类。

B.4.1 腐熟麦秸或稻草(干)77%,腐熟牛粪粉(干)20%,石膏粉1%,碳酸钙2%,含水量 $62\% \pm 1\%$, pH7.5。

B.4.2 腐熟棉籽壳(干)97%,石膏粉1%,碳酸钙2%,含水量 $55\% \pm 1\%$, pH7.5。

B.5 谷粒培养基

小麦、谷子、玉米或高粱 97%~98%,石膏 2%~3%,含水量 $50\% \pm 1\%$,适用于双孢蘑菇、大肥菇、姬松茸等蘑菇属的种类,也可用于侧耳属各种和金针菇的原种。

B.6 以种木为主料的培养基

阔叶木种木 70%~75%,附录 B.1.1 配方的培养基 25%~30%。
