



中华人民共和国农业行业标准

NY/T 1846—2010

食用菌菌种检验规程

Code of practice for spawn testing of edible mushroom

2010-05-20 发布

2010-09-01 实施

中华人民共和国农业部 发布

前 言

本标准由农业部种植业管理司提出并归口。

本标准起草单位：中国农业科学院农业资源与农业区划研究所、农业部微生物肥料和食用菌菌种质量监督检验测试中心。

本标准主要起草人：张金霞、黄晨阳、高巍、郑素月、张瑞颖、胡清秀、陈强。

食用菌菌种检验规程

1 范围

本标准规定了各类食用菌菌种质量的检验内容和方法以及抽样、判定规则等要求。

本标准适用于各类食用菌各级菌种质量的检验。

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 191 包装储运图示标志(GB/T 191—2008 ISO. 780:1997,MOD)

GB/T 4789.28 食品卫生微生物学检验染色法、培养基和试剂

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

GB/T 23599 草菇菌种

NY/T 528—2002 食用菌菌种生产技术规程

NY 862 杏鲍菇和白灵菇菌种

NY/T 1097 食用菌菌种真实性鉴定 酯酶同工酶电泳法

NY/T 1730 食用菌菌种真实性鉴定 ISSR 法

NY/T 1742 食用菌菌种通用技术要求

NY/T 1743 食用菌菌种真实性鉴定 RAPD 法

NY/T 1845—2010 食用菌菌种区别性鉴定 拮抗反应

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

3.1

送检样品 submitted sample

送到菌种检验机构待检验的、达到规定数量的样品。

3.2

试验样品 working sample

在实验室中从送检样品中分出的部分样品,供测定某一检验项目之用。

4 检验内容和方法

4.1 感官检验

4.1.1 母种

4.1.1.1 容器

用米尺测量试管外径和管底至管口的长度,肉眼观察试管有无破损。

4.1.1.2 棉塞(无棉塑料盖)

手触是否干燥;肉眼观察是否洁净,对着光源仔细观察是否有粉状物;松紧度以手提起棉塞或拔出棉塞的状况检查;棉塞透气性和滤菌性以观察塞入试管口内或露出试管口外棉塞的长度检查。

4.1.1.3 斜面长度

用米尺测量斜面顶端到棉塞的距离。

4.1.1.4 斜面背面外观

肉眼观察培养基边缘是否与试管壁分离,同时观察培养基的颜色。

4.1.1.5 母种外观其他各项

肉眼观察菌丝有无其他色泽及异常,有无螨类,必要时用5倍放大镜检查。

4.1.1.6 气味

在无菌条件下拔出棉塞,将试管口置于距鼻5 cm~10 cm处,屏住呼吸,用清洗干净、酒精棉球擦拭过的手在试管口上方轻轻煽动,顺风鼻闻。

4.1.2 原种和栽培种

4.1.2.1 容器

肉眼观察有无破损。

4.1.2.2 棉塞(无棉塑料盖)

按照4.1.1.2的要求。

4.1.2.3 培养基上表面距瓶(袋)口的距离

用米尺测量。

4.1.2.4 接种量

原种用米尺测量接种块大小,栽培种检查生产记录。

4.1.2.5 杂菌菌落

肉眼观察,必要时用5倍放大镜检查。

4.1.2.6 菌种外观其他各项

肉眼观察菌丝有无其他色泽及异常,有无螨类,必要时用5倍放大镜检查。

4.1.2.7 气味

按照4.1.1.6的要求。

4.2 菌丝微观特征检验

4.2.1 插片培养法

挑取试验样品中少量菌丝分别接种于2个PDA平板上,25℃培养3 d,在菌落边缘处插入无菌盖片,继续在25℃下培养2 d~3 d,取出盖片,盖于载玻片的水滴上,显微镜下观察。先用10倍物镜观察菌丝是否粗壮、丰满、均匀,再转到40倍物镜下观察菌丝的细微结构。需要测量菌丝粗细的可在目镜内装好测微尺,对菌丝直径进行测量。同时观察有无锁状联合、形态结构和特征。每一试检样品应检查不少于30个视野。

4.2.2 水封片观察法

取干净载玻片,滴一滴无菌水,用无菌操作方法挑取试验样品中少量菌丝于水滴中,挑散菌丝,盖上盖玻片,先用10倍物镜观察菌丝是否粗壮、丰满、均匀,再转到40倍物镜下观察菌丝的细微结构。需要测量菌丝粗细的可在目镜内装好测微尺,对菌丝直径进行测量。同时观察有无锁状联合、形态结构和特征。每一试检样品应检查不少于30个视野。

4.3 霉菌检验

从试验样品中挑出3 mm×3 mm~5 mm×5 mm大小的菌种块,在无菌条件下接种于PDA培养基上,置于25℃~28℃温度下培养,5 d~7 d后取出,在光线充足的条件下对比观察。检查菌落是否外观

均匀、边沿整齐,是否具有该菌种的固有色泽;有无绿、黑、黄、红、灰等颜色的粉状分生孢子或异常。

4.4 细菌检验

4.4.1 液体培养基检验法

从试验样品中挑出 $3\text{ mm} \times 3\text{ mm} \sim 5\text{ mm} \times 5\text{ mm}$ 大小的菌种块,在无菌条件下接种于 GB/T 4789.28,4.8 规定的细菌营养肉汤培养基中,置于摇床上在 28°C 下振荡培养 1 d~2 d 后取下,在光线充足的条件下对比观察。检查培养基是否仍呈半透明状,还是出现浑浊或具有异味。

4.4.2 固体培养基检验法

从试验样品中挑出 $3\text{ mm} \times 3\text{ mm} \sim 5\text{ mm} \times 5\text{ mm}$ 大小的菌种块,在无菌条件下接种于 PDA 斜面上,置于 28°C 下培养 1 d~2 d 后取出,在光线充足的条件下对比观察。检查菌落外观色泽是否呈一致的白色、边沿整齐否;培养物接种块周围菌丝是否均匀,是否萌发少、稀疏;接种块周围有无糊状的细菌菌落。

4.5 菌丝生长速度测定

4.5.1 母种

用直径 90 mm 的培养皿干热灭菌后,在无菌条件下倒入规定使用的培养基 20 mL,自然凝固制成平板。取斜面上位一半处 $3\text{ mm} \times 3\text{ mm} \sim 5\text{ mm} \times 5\text{ mm}$ 菌种一块,菌丝朝上接种于平板中央,接种平板 5 个,置于 $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 下培养。48 h 后观察是否有污染发生,如无污染,PDA 培养基培养 6 d 后再观察,如尚未长满,以后每日观察,直至 11 d;PDPYA 培养基培养 8 d 后再观察,如尚未长满,以后每日观察,直至第 10 d。观察并记录长满平板天数。

4.5.2 原种和栽培种

使用符合 NY/T 528 中 4.7.1.3、4.7.1.4 规定的食用菌原种、栽培种的菌种瓶(袋),根据不同的种类,选择附录 B 中适宜的培养基,装 6 瓶(袋)灭菌冷却后备用。取供检菌种按接种量要求接入,在适温下恒温培养。接种后 3 d~5 d 进行首次观察,以后每隔 5 d~7 d 观察 1 次,菌丝长满前 7 d 应每天观察,记录长满瓶(袋)的天数。

4.6 真实性鉴定

按照 NY/T 1097、NY/T 1730、NY/T 1743、NY/T 1845—2010 方法执行。异宗结合种类任选其中 3 种方法,同宗结合种类应选用除拮抗反应之外的 3 种方法。

4.7 母种农艺性状和商品性状

4.7.1 制作原种

以送检母种作为种源,选择适宜的原种培养基配方,制菌瓶(袋)45 个,分 3 组;以法定认可的标准菌株或留样菌种为对照菌种,采用同样方法进行制种管理。

4.7.2 栽培

根据送检菌种类别,选择不同的栽培培养基配方,制作菌袋 45 个(床、块栽培 9 m^2),接种后,分 3 组进行常规管理,做好栽培记录,统计结果。依据不同的菌种,分别按标准 GB 19169、GB 19170、GB 19171、GB 19172、GB/T 23599、NY 862 或 NY/T 1742 中相关规定执行。

4.8 包装、标签、标志检验

按照 GB 19169、GB 19170、GB 19171、GB 19172、GB/T 23599、NY 862 或 NY/T 1742 中相关要求检验。

5 抽样

5.1 抽样方法

采取随机抽样,从批次中抽取具代表性的送检样品。

5.2 抽样数量

母种、原种、栽培种的抽样量分别为该批次菌种的10%、5%、1%。但每批次抽样量不得少于10支(瓶、袋);超过100支(瓶、袋)的,可进行两级抽样。

6 判定规则

6.1 菌种真实性

按照 NY/T 1097、NY/T 1730、NY/T 1743 三个鉴定方法,三种方法的鉴定结果都与对照品种相同的,为品种相同,判定为菌种真实。

按照 NY/T 1097、NY/T 1730、NY/T 1743 三个鉴定方法,三种方法的鉴定结果都与对照品种不同的,为品种不同,判定为菌种不真实。

按照 NY/T 1845—2010 鉴定的异宗结合种类,与对照品种有拮抗反应的,为品种不同,判定为菌种不真实。

6.2 合格菌种

菌种具真实性,菌丝微观形态、培养特征、杂菌和虫(螨)体、菌丝生长速度、母种栽培性状、标签及感官中的菌种外观、斜面背面外观、气味等项均符合标准要求的,为合格菌种。

6.3 不合格菌种

菌种的真实性、菌丝微观形态、培养特征、杂菌和虫(螨)体、菌丝生长速度、母种栽培性状、标签及感官中的菌种外观、斜面背面外观、气味等任何一项不符合标准要求的,为不合格菌种。
