

ICS 65.020.20
B 05
备案号: 52672-2017

DB 15

内蒙古自治区地方标准

DB15/T 1132—2017

猴头菇菌种制作技术规程

Regulation of Strain Manufacture for *Herichium erinaceus*

地方标准信息服务平台

2017-01-15 发布

2017-04-15 实施

内蒙古自治区质量技术监督局 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 菌种生产要求 2

5 母种生产 2

6 原种、栽培种生产 3

附录 A（资料性附录） 母种常用培养基配方 7

附录 B（资料性附录） 原种、栽培种常用培养基配方 8

地方标准信息服务平台

前 言

本标准按照GB/T 1.1-2009给出的规则编写。

本标准由内蒙古自治区农牧业科学院提出。

本标准由内蒙古自治区农牧业厅归口。

本标准起草单位：内蒙古自治区农牧业科学院。

本标准主要起草人：王海燕、孙国琴、庞杰、刘承普 康立茹、解亚杰、于静、李亚娇。

地方标准信息服务平台

猴头菇菌种制作技术规程

1 范围

本标准规定了制作猴头菇（*Hericium erinaceus*）母种、原种和栽培种制作技术流程要点等。
本标准适用于猴头菇母种、原种和栽培种菌种制作要求。

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。

- 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

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

菌种 spawn

通过生产试验验证具有特异性、均一性和稳定性，丰产性好、抗性强的猴头菇菌株或品种，培养生长在适宜基质上具结实性的菌丝培养物，包括母种、原种和栽培种。

3.2

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，以玻璃试管或培养皿为培养容器和使用单位，也称为一级种、试管种。

3.3

原种 pre-culture spawn

由母种移植、扩大培养而成的菌丝体纯培养物。常以菌种瓶（玻璃菌种瓶或塑料菌种瓶）或聚丙烯塑料袋为容器。也称为二级种。

3.4

栽培种 spawn

由原种移植、扩大培养而成的菌丝体纯培养物。常以菌种瓶（玻璃瓶或塑料瓶）或聚丙烯塑料袋为容器。栽培种只能用于扩大到栽培出菇袋或直接出菇，不可以再次扩大繁殖菌种。也称为三级种。

3.5

固体菌种 solid spawn

以富含木质素、纤维素和半纤维素或淀粉含量高的谷物粒等天然物为主要原料，添加适量的有机氮源和无机盐类，具一定水分含量的培养基培养的纯菌丝体。

3.6

液体菌种 liquid spawn

指采用与母种营养成分相同不加琼脂的液体培养基培养而得到的菌丝体，菌丝体在培养基中呈絮状或球状，液体菌种可以作为原种或栽培种直接接种在培养袋中。

4 菌种生产要求

4.1 人员

从事菌种生产的技术人员和检验人员应经过专业培训、掌握猴头菇基础知识及猴头菇菌种生产技术规程要求的相应专业技术人员。

4.2 场地、厂房要求

菌种生产应选择地势高，通风良好，空气清新，水源近，排水通畅，交通便利的场所。1000m之内无酿造厂、集贸市场、规模养殖的畜禽舍、垃圾和粪便堆积场，无污水、废气、废渣、烟尘和粉尘等污染源。

菌种生产厂房应有隔离的摊晒场、原材料库、配料分装库。配套有配料室、搅拌室、装袋（瓶）室、灭菌室、冷却室、接种室、培养室（通风好，有纱窗）、菌种检测室及菌种冷藏库等各环节的设施。冷却室、接种室、培养室应有离子净化设施。

4.3 生产设备

菌种生产应有粉碎机、电子秤、拌料机、装袋（瓶）机、高压灭菌锅或常压灭菌锅、离子净化器、超净工作台或接种箱、恒温培养箱、培养架、摇床、生物显微镜等设备，生产液体菌种还应有液体菌种罐。

5 母种生产

5.1 培养基

参见附录A。

5.2 容器

试管规格为 18mm×180mm 或者 20mm×200mm；培养皿选用直径 7cm~9cm 玻璃培养皿或一次性塑料培养皿。

5.3 培养基分装和灭菌

5.3.1 斜面培养基分装和灭菌

分装培养基至试管1/4处，用棉塞（应采用梳棉，不能使用脱脂棉）或硅胶塞封闭试管口，每5支试管为1把，牛皮纸包棉塞，橡皮筋扎紧，棉塞向上置于灭菌锅中。在121℃~124℃（0.11MPa~0.12MPa）下灭菌25min。

灭菌后温度降到（65±5）℃时，在空气清洁的室内摆斜面，要求斜面长度不超过试管长度的2/3，冷却凝固后备用。从摆好的试管中抽取3%~5%的试管，在28℃下培养48h，无微生物长出为灭菌合格。

5.3.2 平板培养基分装和灭菌

培养基装入300ml~500ml三角瓶至刻度的2/3处，用带滤膜的封口膜封口后放入灭菌锅。玻璃培养皿用报纸包好，同时放入灭菌锅灭菌。在121℃~124℃（0.11MPa~0.12MPa）下灭菌25min。

灭菌后温度降到（65±5）℃时，在超净工作台上将三角瓶中的培养基分装至培养皿中，培养基占培养皿高度的1/3~1/2，冷却凝固后备用。

5.4 接种

在超净工作台或接种箱内接种。接种前用紫外灭菌灯照射30min后再用75%酒精进行表面消毒。

接种过程严格执行无菌操作，接种后及时贴好标签并做好记录。

将3mm~5mm的菌种块接种在培养皿或试管的中部。培养皿用石蜡封口膜密封。

5.5 培养

在18℃~26℃，空气湿度在75%以下，通风避光培养。

接种后第3天、第5天和长满培养基后分别进行逐个检验，保留菌丝体生长健壮、洁白、浓密，菌落边缘整齐，无分泌物的母种，其余淘汰。

菌丝长满试管斜面或培养皿表面即可使用。

6 原种、栽培种生产

6.1 固体菌种

6.1.1 培养基

参见附录B。

6.1.2 容器

原种采用850ml以下、瓶口直径≤4cm、耐126℃高温的菌种瓶，或选用（12~17）cm×（22~28）cm×（0.04~0.05）mm的聚丙烯塑料袋。

栽培种采用和原种相同的菌种瓶，或选用（15~17）cm×（33~35）cm×（0.04~0.05）mm的聚丙烯塑料袋。

6.1.3 装袋（瓶）

采用装袋（瓶）机或人工进行装袋（瓶），人工装袋（瓶）用锥形木棍在袋口处打孔，孔直径1cm~1.5cm，深度为8cm~12cm，每袋（瓶）装干培养基500g~600g。

6.1.4 灭菌

培养基装袋（瓶）后4h内进行灭菌，灭菌可分为高压灭菌和常压灭菌。

高压灭菌：组合培养料在121℃～124℃（0.11MPa～0.14 Mpa）下灭菌2h；粮食培养基在121℃～124℃（0.11MPa～0.14 Mpa）下灭菌2.5h。

常压灭菌：在3h之内使灭菌温度达到100℃，保持100℃ 10h～12h。

6.1.5 接种

原种、栽培种在超净工作台或接种箱内接种，接种前打开紫外灯照射30min，接种时用75%酒精对超净工作台或接种箱进行表面擦拭消毒。每瓶（袋）原种接入2cm～3cm大小母种1块～2块；每瓶（袋）栽培种接入原种量不得少于15g。

要严格按无菌操作接种，每批接种应为单一品种，如中途换品种时采用75%酒精对超净工作台或接种箱进行表面擦拭消毒。

6.1.6 培养

在21℃～26℃，空气湿度在75%以下，通风避光培养。

6.1.7 贮存

原种和栽培种在0℃～4℃下贮存，贮存期不超过50d。

6.2 液体菌种生产

6.2.1 培养基

按附录A中规定。灭菌同5.3.2。

6.2.2 三角瓶液体菌种生产

采用150ml～500ml三角瓶，培养基添加至刻度的2/3处，用带滤膜的封口膜封口后灭菌。灭菌条件同5.3.2。

取3mm～5mm大小母种10块～12块放进液体培养基中，培养温度16℃～26℃，振荡频率（搅拌速度）140 r/min～160 r/min下振荡培养8d～10d。

6.2.3 菌种罐液体菌种生产条件

6.2.3.1 装罐和灭菌

填装培养基至液体菌种罐2/3处，按照液体菌种罐说明书要求，对液体菌种罐和液体培养基灭菌，待液体培养基冷却至30℃以下时进行接种。

6.2.3.2 接种与培养

将培养好的三角瓶液体菌种接入到液体菌种罐中，接种量为培养基总体积的8%～10%，培养温度（23±2）℃，搅拌转速150 r/min～160r/min，灌装0.04Mpa，通风量0.7N m³/h。培养时间3d～5d。

7 检验、入库及留样

7.1 检验

7.1.1 母种感官要求见表 1。

表1 猴头菇母种感官要求

项目	要求
容器	完整、无损、洁净
棉塞或无棉盖体	干燥、整洁、松紧适度、能满足透气和过滤要求
培养基灌入量	为试管总容积的1/4，培养皿高的1/3~1/2
菌丝生长量	长满斜面或平板
菌丝体特征	菌丝体色泽洁白、平整、点片状或星芒状
菌丝体表面	均匀、舒展、平整
菌丝体分泌物	无
菌落边缘	整齐
杂菌菌落	无
斜面背面外观	培养基不干缩，颜色均匀，无暗斑、无色素

7.1.2 原种感官要求见表 2。

表2 猴头菇原种感官要求

项目	要求
容器	完整、无破损、洁净
棉塞或无棉盖体	干燥、整洁、松紧适度、能满足透气和滤菌要求
培养基上表面距瓶（袋）口的距离	(50±5) mm
菌丝生长量	长满容器
菌丝体特征	菌丝体白、生长旺健、整齐
培养物表面菌丝体	生长均匀、无高温抑制线
培养基及菌丝体	紧贴瓶壁、无干缩
菌丝分泌物	无、允许少量无色至棕黄色水珠
杂菌菌落	无
子实体原基	无

7.1.3 栽培种感官要求见表 3。

表3 猴头菇栽培种感官要求

项目	要求
容器	完整、无破损
棉塞或无棉盖体	干燥、整洁、松紧适度、能满足透气和滤菌要求
培养基上表面距瓶（袋）口的距离	(50±5) mm
菌丝生长量	长满容器
菌丝体特征	生长均匀、色泽一致、无角变、无高温抑制线

表 3（续）

项目	要求
培养基及菌丝体	紧贴瓶壁、无干缩
菌丝分泌物	无
杂菌菌落	无
子实体原基	允许少量、出现原基种类≤5%

7.1.4 液体菌种感官要求见表 4。

表4 猴头菇液体菌种感官要求

项目	要求
容器	完整、无破损、无裂纹
菌丝生长量	培养基 1/2~1/3
菌丝体特征	白色至透明块状、生长旺健
培养基	清澈、无杂色
杂菌	无杂菌

7.2 入库

检验参照NY/T 1742和NY/T 1731要求中关于猴头菇的论述要求。菌种检验完成后应及时入菌种库，详细记录各生产环节，菌种库温度保持在0℃~4℃，避光，适当通风但应该对空气进行消毒。

菌种在库中贮存时间不应长于50d，贮存时间超出50d的母种应进行出菇检验后再进行后续生产。

7.3 留样

菌种应留样，每批次留样 3 支试管，贮存在 0℃~4℃，贮存至正常生产条件下出第一潮菇。

地方标准信息服务平台

附 录 A
(资料性附录)
母种常用培养基配方

A.1 PDA改良培养基

A.1.1 麦麸100g加水600ml煮沸20min, 取滤液500ml; 新鲜无病去皮马铃薯200g加水600ml煮沸15min, 取滤液500ml, 二者混合定容至1000ml, 加入硫酸镁(MgSO_4) 0.5g、磷酸二氢钾(KH_2PO_4) 1g、葡萄糖10g、蔗糖10g、琼脂粉10g~15g(用少量凉水调成糊状), pH自然。

A.1.2 新鲜无病去皮马铃薯200g加水1200ml煮沸15min, 取滤液再加入蛋白胨1g、酵母粉1g、硫酸镁(MgSO_4) 0.5g、磷酸二氢钾(KH_2PO_4) 1g、葡萄糖10g、蔗糖10g、琼脂粉10g~15g(用少量凉水调成糊状)定容至1000ml, pH自然。

A.1.3 麦粒100g加水1200ml煮沸15min, 取滤液再加入硫酸镁(MgSO_4) 0.5g、磷酸二氢钾(KH_2PO_4) 1g、葡萄糖10g、蔗糖10g、蛋白胨5g、琼脂粉10g~15g(用少量凉水调成糊状)定容至1000ml, pH自然。

A.1.4 新鲜无病去皮马铃薯200g加水600ml煮沸20min, 取滤液500ml; 100g小麦粒加水600ml煮沸15min, 取滤液500ml, 二者混合定容至1000ml, 加入硫酸镁(MgSO_4) 0.5g、磷酸二氢钾(KH_2PO_4) 1g、蔗糖10g、琼脂粉10g~15g(用少量凉水调成糊状), pH自然。

A.2 PDA培养基

新鲜无病去皮马铃薯200g加水1200ml煮沸20min, 取滤液再加入硫酸镁(MgSO_4) 0.5g、磷酸二氢钾(KH_2PO_4) 1g、葡萄糖10g、蔗糖20g、琼脂粉10g~15g(用少量凉水调成糊状), 定容至1000ml, pH自然。

A.3 制作液体菌种培养基不加琼脂粉。

附录 B

(资料性附录)

原种、栽培种常用培养基配方

B.1 粮食培养基

谷粒、麦粒或玉米粒90%，柠条粉、棉籽壳、木屑、玉米芯粉或豆秸粉9%，石膏1%，水分含量（ 50 ± 2 ）%，石灰水调节pH至6~7。

B.2 组合培养基

B.2.1 阔叶木屑58%、玉米芯21%、麸皮20%、石膏1%、水分含量（ 60 ± 2 ）%、石灰水调节pH至6~7。

B.2.2 柠条粉60%、玉米芯21%、麸皮18%、石膏1%、水分含量（ 60 ± 2 ）%、石灰水调节pH至6~7。

B.2.3 豆秸粉60%、玉米芯21%、麸皮18%、石膏1%、水分含量（ 60 ± 2 ）%、石灰水调节pH至6~7。

B.2.4 棉籽壳80%、麸皮19%、石膏1%、水分含量（ 60 ± 2 ）%、石灰水调节pH至6~7。

B.2.5 柠条粉80%、麸皮19%、石膏1%、水分含量（ 60 ± 2 ）%、石灰水调节pH至6~7。

地方标准信息服务平台