

DB61

陕 西 省 地 方 标 准

DB 61/T 509.3—2011

秦岭猪苓蜜环菌菌种

Armillaria Spawn of Qinling's Polyporus

2011 - 01 - 04 发布

2011 - 02 - 01 实施

陕西省质量技术监督局 发 布

前 言

本标准DB61/T 509.1～6—2011的第3部分。

本标准依据GB/T 1.1—2009的起草规则制定。

本标准由陕西省林业厅提出并归口。

本标准起草单位：陕西省微生物研究所、宁陕县质监局、宁陕县科技局。

本标准主要起草人：李峻志、祁鹏、李安利、戴璐、王友洲、刘宝田、韩耀辉、马玉平、郑强、丁仕刚。

本标准首次发布。

秦岭猪苓蜜环菌菌种

1 范围

本标准规定了秦岭猪苓生产中蜜环菌 (*Armillaria mellea* (Vahl ex Fr.) Quél.) 菌种的质量要求、试验方法、检验规则以及菌种产品的标签、标志、包装和贮运要求。

本标准适用于猪苓共生蜜环菌菌种的生产、经销和使用。

2 规范性引用文件

下列引用的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）适用于本标准。

GB/T 191	包装储运图示标志
GB/T 4789.28	食品卫生微生物学检验 染色法、培养基和试剂
GB/T 12728	食用菌术语
GB 19172	平菇菌种
NY/T 528	食用菌菌种生产技术规程
DB61/T 509.2	《秦岭猪苓菌材》

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

3.1

蜜环菌 *Armillaria mellea* (Vahl ex Fr.) Quél.

为伞菌目、小皮伞科、蜜环菌属真菌。在猪苓栽培中，利用其与猪苓的共生关系，提高猪苓的产量和质量。

3.2

菌丝 hypha

构成真菌菌丝体的丝状单元，由孢子或组织萌发后形成。

3.3

菌丝体 mycelium

菌丝的集合体。

3.4

菌落 colony

由菌丝及孢子所形成的单个菌丝丛。

3.5

菌索 rhizomorph

又称根状菌索，某些真菌菌丝集结而成的绳索状结构。

3.6

菌种 pure culture

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

3.7

母种 stock cultuer

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。

3.8

原种 pre-cultuer 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15c m×2 8c m聚丙烯塑料袋为容器。

3.9

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。

3.10

拮抗作用 antagonism

具有不同遗传基因的菌落间产生不生长区带或形成不同形式线行边缘的现象。

3.11

角变 sector

因菌丝体局部变异或感染病毒而导致菌丝变细、生长缓慢、菌丝体表面特征成角状异常的现象。

3.12

高温抑制线 hight emperatuerd line

食用菌菌种在生产过程中受高温的不良影响，培养物出现的圈状发黄、发暗或菌丝变稀弱的现象。

3.13

锁状联合 clamp-connection

为双核细胞形成分裂产生双核菌丝体的一种特有形式，常发生在菌丝顶端，开始时在细胞上产生突起，并向下弯曲，与下部细胞连接，形如锁状。锁状联合是双核菌丝的鉴定标准，凡是产生锁状联合的菌丝均可断定为双核菌丝。形成锁状联合的过程保证了双核菌丝在进行细胞分裂时，每节（每个细胞）都能含有两个异质（遗传型不同）的核，为进行有性生殖、通过核配形成担子打下基础。

3.14

生物学效率 biological efficiency

单位数量培养料的干物质与所培养产生出的子实体或菌丝体干重之间的比率。

3.15

种性 characters of variety

是鉴别菌种或品种优劣的重要标准之一，包括对温度、湿度、酸碱度、光线和氧气的要求，抗逆性、丰产性、栽培周期、商品质量及栽培习性等农艺性状。

4 菌种制作

4.1 树种

应符合DB61/T 509.2中第4.1章规定。

4.2 母种配方

一般应使用附录A中第A.1章规定的改良马铃薯葡萄糖琼脂培养基（改良PDA），第A.2章规定的综合马铃薯葡萄糖琼脂培养基（CPDA），或第A.3章规定的玉米粉PDA培养基。

4.3 原种配方

一般应使用附录B中第B.1章规定的木屑麸皮培养基、第B.2章规定的木屑麸皮玉米粉培养基或第B.3章规定的玉米粉蔗糖培养基。

4.4 栽培种配方

一般应使用附录C中第C.1章规定的木屑棉壳培养基、第C.2章中规定的枝条营养液培养基配方。

4.5 培养条件

接入相应菌种，22℃-25℃暗光培养至菌丝或菌索长满。

5 质量要求

5.1 母种

5.1.1 容器规格应符合 NY/T 528 中第 4.7.1.1 章规定，可以使用硅胶塞。

5.1.2 感官要求应符合表 1 规定。

表1 母种感官要求

项目		要求
容器		完整，无损
棉塞或硅胶塞		干燥、洁净，松紧适度，能满足透气和滤菌要求
培养基灌入量		试管总容积的1/4~1/5
斜面长度		顶端距棉塞40~50mm
接种块大小（接种量）		（3~5）mm×（3~5）mm
菌种外观	菌丝生长量	长满90% 以上的斜面表面
	菌丝体特征	均匀粗壮，棕褐色，边缘可为白色
	菌丝体表面	均匀、舒展、平整、无角变
	菌丝分泌物	无
	菌索特征	白色至棕褐色
	菌落边缘	整齐
	杂菌菌落	无
基内外观		有粗壮菌索分布于培养基内部
气味		无酸、腐、臭、霉等异味

5.2 原种

5.2.1 容器规格应符合 NY/T 528—2002 中第 4.7.1.2 章规定。

5.2.2 感官要求应符合表 2 规定。

表2 原种感官要求

项目		要求
容器		完整，无损
棉塞或无棉塑料盖		干燥、洁净、松紧适度，能满足透气和滤菌要求
培养基上表面距瓶口的距离		50±5mm
接种量（每支母种接原种数，接种物大小）		（4~6）瓶（袋），≥12×15mm
菌种外观	菌丝和菌索生长量	长满容器
	菌丝体特征	粉白色或乳白色、浓密、生长旺健
	菌索特征	白色至棕褐色，粗壮，黑暗处有蓝绿色荧光
	培养物表面菌丝体	生长均匀、无角变、无高温抑制线
	培养基及菌丝体	紧贴瓶（袋）壁，无明显干缩
	培养物表面分泌物	无或有少量深黄色至棕褐色水珠
	拮抗作用	无
	杂菌菌落	无
气味		新鲜菌丝香味，无酸、腐、臭、霉等味道

5.3 栽培种

5.3.1 容器规格应符合 NY/T 528 中 4.7.1.3 规定。

5.3.2 感官要求应符合表 3 规定。

表3 栽培种感官要求

项目		要求
容器		完整，无损
棉塞或无棉塞塑料盖		干燥、洁净，松紧适度，满足透气和滤菌要求
培养基上表面距瓶口的距离		50±5mm
接种量（每瓶原种接栽培种数）		30—50瓶（袋）
菌种外观	菌丝和菌索生长量	长满容器
	菌丝体特征	粉白色或乳白色、浓密、生长旺健
	不同部位菌丝体	生长均匀、无角变、无高温抑制线
	菌索特征	白色至棕褐色，粗壮，黑暗处有蓝绿色荧光
	培养基及菌丝体	紧贴瓶（袋）壁，无明显干缩
	培养物表面分泌物	无或有少量深黄色至棕褐色水珠
	拮抗作用	无
	子实体原基	无
	杂菌菌落	无
气味		新鲜菌丝香味，无酸、腐、臭、霉等味道

5.4 母种、原种和栽培种的微生物学要求

应符合表4规定。

表4 母种微生物学要求

项目	要求
菌丝生长状态	粗壮、丰满、均匀
锁状联合	无
杂菌	无

6 质量检验

6.1 抽样方法

6.1.1 抽样应在具有代表性的样品中进行。

6.1.2 母种按品种、培养条件、接种时间分批编号；原种、栽培种按菌种来源、制种方法和接种时间分批编号。

6.1.3 母种、原种、栽培种的抽样量分别为该批菌种量的10%、5%、1%。但每批抽样数量不得少于10支（瓶、袋）；超过100支（瓶、袋）的，可进行二级抽样，具体方法为：先按照该批菌种量的10%、5%、1%分成一级抽样单位，再把抽中的一级抽样单位按照菌种量的10%、5%、1%分成若干更小的二级抽样单位进行检验。

6.2 试验方法

6.2.1 感官检验

按表5逐项进行。

表5 感官要求检验方法

检验项目	检验方法	检验项目	检验方法
容器	肉眼观察	接 母种 原 种 种	肉眼观察、测量，检查生产记录
		栽培种	肉眼观察、检查生产记录
棉塞、无棉塑料盖	肉眼观察	培养基上表面距瓶（袋）口的距离	测量
母种培养基灌入量	测量	菌种外观各项（杂菌菌落除外）	肉眼观察
母种斜面长度	测量	杂菌菌落	肉眼观察
母种斜面背面外观	肉眼观察	气味	鼻嗅

6.2.2 微生物学检验

6.2.2.1 表2中菌丝生长状态用放大倍数不低于10×40倍的光学显微镜对培养物的水封片进行观察，每一检样应观察不少于50个视野。

6.2.2.2 细菌检验：取少量疑有细菌污染的培养物，按无菌操作接入GB4789.28中4.8规定的营养肉汤培养液中，25℃—28℃振荡培养1—2天，观察培养液是否混浊。培养液混浊，为有细菌污染；培养液澄清，为无细菌污染。

6.2.2.3 霉菌检验：取少量疑有霉菌污染的培养物，按无菌操作接种于附录A中第A.1章规定的PDA培养基中，25℃~28℃培养3天~5天，出现非蜜环菌菌丝形态菌落的，或有异味者为霉菌污染物，必要时进行水封片镜检。

6.2.3 母种性状检验

按表2规定接种量，将被检母种接入附录B中第B.1、B.2、B.3章规定的任一配方，制作原种45袋。分三组于25±1℃下暗光培养，根据附录D中《母种性状检验记录表》所列项目做好检验记录，统计检验结果。同时将该母种性状正常的上一代出发菌株设为对照，亦做同样处理。对比二者的检验结果，被检母种所接原种长满时间较对照菌株推迟5天以上（含5天）者，为不合格；被检母种所接原种感官指标不符合表2要求者，为不合格。

6.2.4 留样

各级菌种要留样备查，留样的数量应每个批号母种3—5支，原种和栽培种5—7瓶，于4—6℃下贮存，母种150天，原种120天，栽培种180天。

7 菌种的判定与淘汰

7.1 判定规则

按质量要求进行判定。检验项目全部符合质量要求时，为合格菌种。其中任何一项微生物学检验项目不符合要求，即为不合格菌种；其它项目不符合要求，允许复检一次，复检仍不符合要求，即判断为不合格菌种。

7.2 淘汰规则

依据微生物学检验结果进行判定。对于任何一项微生物学检验项目不符合要求的母种，予以复检一次，对复检仍不合格者，应向上抽检其出发菌株，出发菌株的微生物学检验仍不合格者予以淘汰，禁止继续使用。对于微生物学检验项目不符合要求的原种和栽培种，应向上抽检其母种乃至出发菌株，及时判定是否应予淘汰，避免更大损失。

8 标志、包装、运输、贮存

8.1 标志

8.1.1 产品标志

每支、瓶（袋）菌种要贴有清晰注明以下要素的标志。

- a) 产品名称；
- b) 品种名称；
- c) 生产单位；
- d) 接种日期。

8.1.2 包装标志

每箱菌种要贴有清晰注明以下要素的包装标志。

- a) 产品名称、品种名称；
- b) 厂名、厂址、联系电话；
- c) 出厂日期；
- d) 保质期、贮存条件；
- e) 发货单位；
- f) 收货单位；
- g) 数量；
- h) 毛重、净重；
- i) 执行标准。

8.1.3 包装储运图示

按GB191规定，应注明以下图示标志：

- a) 小心轻放标志；
- b) 防水防潮防冻标志；
- c) 防晒防高温标志；
- d) 防止倒置标志；
- e) 防止重压标志。

8.2 包装

8.2.1 母种外包装采用木盒或有足够强度的纸材制做的纸箱，内部用洁净的棉花、碎纸、泡沫塑料、报纸等具有缓冲作用的轻质材料填满。

8.2.2 原种、栽培种外包装采用有足够强度的纸材制做的纸箱，每箱 20 瓶，内部用清洁的泡沫塑料、碎纸、报纸等具有缓冲作用的轻质材料填满。纸箱上部和底部用胶带封口，并用打包带捆扎两道，箱内附产品合格证书和包括菌种种性、培养基配方及适用范围的菌种使用说明书。

8.3 运输

8.3.1 不得与有毒物品混装。

8.3.2 气温达 30℃以上时，需用 2℃—20℃的冷藏车运输。

8.3.3 运输中须有防震、防晒、防雨淋、防冻、防杂菌污染的措施。

8.4 贮存

8.4.1 母种在 5±1℃冰箱中贮存，贮存期不超过 90 天。

8.4.2 原种在清洁、通风、相对湿度 30%—60%、避光的环境下贮存，25℃±2℃下贮存期不超过 15 天，5℃±1℃下贮存期不超过 40 天。

8.4.3 栽培种制好后，须在清洁、通风、相对湿度 30%—60%、避光的环境下贮存，保持水封 90%以上，24℃±1℃可贮存 90 天，5℃±1℃可贮存 180 天，禁止逾期使用。

附 录 A
(规范性附录)
常用母种培养基及其配方

A.1 改良PDA培养基（改良马铃薯葡萄糖琼脂培养基）

马铃薯200g（用浸出汁），麸皮50g（用浸出汁），葡萄糖20g，琼脂20g，水1000mL，pH值自然，灭菌后直立凝固。

A.2 CPDA培养基（综合马铃薯葡萄糖琼脂培养基）

马铃薯200g（用浸出汁），葡萄糖20g，磷酸二氢钾2g，硫酸镁0.5g，琼脂20g，水1000mL，pH值自然，灭菌后直立凝固。

A.3 玉米粉PDA培养基

马铃薯150g（用浸出汁），玉米粉50g，葡萄糖10g，琼脂20g，水1000mL，pH值自然，灭菌后直立凝固。

附 录 B
(规范性附录)
常用原种培养基及其配方

B.1 木屑麸皮培养基

阔叶树木屑78%, 麸皮20%, 蔗糖1%, 石膏1%, 含水量 $65\pm 2\%$, pH值自然。

B.2 木屑麸皮玉米粉培养基

阔叶树木屑78%, 麦麸10%, 玉米粉10%, 蔗糖2%, 含水量 $65\pm 2\%$, pH值自然。

B.3 玉米粉蔗糖培养基

玉米粉120克, 黄豆粉20克, 蔗糖20克, 水1000毫升, pH值自然。

附 录 C
(规范性附录)
常用栽培种培养基及其配方

C.1 木屑棉壳培养基

阔叶树木屑45%，棉籽壳42%，麸皮10%，蔗糖1.5%，石膏1.5%，含水量 $65\pm 2\%$ ，pH值自然。

C.2 枝条营养液培养基

选直径1.0-2.0cm的桦、栎、榛、杨、柳、枫等阔叶树枝条，切成3~5cm小节，装瓶后加入营养液至没过枝条1.0cm，保持PH值5.5—6.8，封口后高温灭菌。营养液配方：马铃薯10%（用浸出汁），葡萄糖2%， KH_2PO_4 0.15%、 MgSO_4 0.075%，VB₁0.001%，制成水溶液。
