

DB61

陕西省地方标准

DB 61/T 1158.3—2018

桑黄标准综合体 第3部分：菌种生产技术规范

Integrated Standards of *Phellinus* spp.—

Part 3: Technical Rules for Inoculum Preparation

2018 – 05 – 01 发布

2018 – 06 – 01 实施

陕西省质量技术监督局

发布

目 次

前言 II

1 范围 1

2 规范性引用文件 1

3 栽培场地 1

4 栽培环境 1

5 栽培设施 2

附录 A（规范性附录） 食用菌生产场所处理方法 3

前 言

DB61/T 1158—2018《桑黄标准综合体》分为六个部分：

- 第1部分：生产环境；
- 第2部分：菌种；
- 第3部分：菌种生产技术规程；
- 第4部分：液体菌种生产技术规程；
- 第5部分：桑黄栽培技术规程；
- 第6部分：子实体干品质量要求。

本部分为 DB61/T 1158—2018 的第 3 部分。

本部分按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本部分由陕西省农业厅提出并归口。

本部分起草单位：陕西省微生物研究所、杨凌康宇生物科技有限公司、陕西省园艺蚕桑工作站。

本部分主要起草人：雷萍、吴亚召、张文隽、渠敬峰、王周平、霍国琴、杜芳、杜艳、雷丽、王勇。

本部分由陕西省微生物研究所负责解释。

本部分首次发布。

联系信息如下：

单位：陕西省微生物研究所

地址：西安市雁塔区西影路 76 号

邮编：710043

电话：029-82357027

桑黄标准综合体 第3部分：菌种生产技术规范

1 范围

DB61/T 1158 的本部分规定了桑黄菌种生产的生产技术、质量检验、入库留样和菌种档案的要求。本部分适用于桑黄各级菌种生产。

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，仅所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 4806.7 食品接触用塑料材料及制品

NY/T 528 食用菌菌种生产技术规范

NY/T 1284 食用菌菌种中杂菌及害虫的检验

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要求

DB61/T 1158.2 桑黄标准综合体 第2部分：菌种

《食用菌菌种管理办法》中华人民共和国农业部第62号令（2006年3月27日）

3 生产技术

3.1 一般要求

3.1.1 应按《食用菌菌种管理办法》的规定配备菌种生产技术人员和检验人员。

3.1.2 应按 NY/T 528 要求制定工艺流程，并制定岗位操作规程，明确主要生产环节工序操作要求及岗位职责。

3.2 生产区的设置与布局

3.2.1 生产区的设置

生产区应设置摊晒场、原材料库、配料分装室（场）、灭菌室、冷却室、接种室、培养室和贮存室、菌种检验室，并应符合 NY/T 528 规定要求。

3.2.2 生产区的布局

生产区按照菌种制种工艺流程布局，各操作环节按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，出黄场与菌种生产、培养车间隔离。储料室（库）、晒料场、废物堆积场等带有杂菌的区域应处于场地的下风口。

3.3 设施、设备

3.3.1 生产区的设施配套，冷却室、接种室、培养室和贮存室均应具备调温设施。

3.3.2 磅秤、天平、蒸煮设备、母种培养基分装设备、拌料机、装袋机、高压灭菌和常压灭菌设备、接种工具、恒温培养箱、培养架、烘箱、除湿机、电冰箱、质量检测仪器设备及其它工器具。

3.4 清洁消毒

3.4.1 保持厂区、车间、走道等清洁干净，每周使用消毒剂拖擦地面一次；每月对冰箱、空调、空气过滤网清洁一次。及时清洗使用完毕的机械设备。

3.4.2 培养室使用前 2d 及每批次菌种培养结束后，均需对培养室进行消毒。可使用 66% 二氧异氰尿酸钠烟剂 $3\text{g}/\text{m}^3 \sim 4\text{g}/\text{m}^3$ 密闭熏蒸 24h，然后打开门窗通风换气。

3.4.3 冷却室、接种室、缓冲室使用前后，均进行消毒。接种箱或无菌操作台每次使用结束，用消毒液擦拭干净。

3.4.4 接种人员进入接种室前，更换工作服、帽、鞋，并洗手、消毒。

3.5 菌种来源

3.5.1 应使用种性清楚或者是经过农作物品种审定委员会登记的桑黄菌种。

3.5.2 所有生产菌种应每年进行出黄试验，性状稳定的方可投入生产使用。出黄试验最小规模 45 袋，分三组重复，每组 15 袋。母种每年在种源扩大生产前应进行纯度、活力、菌丝长势的一致性、菌丝生长速度、菌落外观及出黄试验。出黄试验方法及种源质量要求应符合 NY/T 1742 中 5.4 的规定。

3.6 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）；1 瓶（袋）原种移植扩大栽培种不应超过 50 瓶（袋）。

3.7 母种生产

3.7.1 生产工艺流程

培养基配制→分装→灭菌→冷却摆斜面→无菌检验→接种→培养→检验→成品。

3.7.2 容器

使用 $18\text{mm} \times 180\text{mm}$ 或 $20\text{mm} \times 200\text{mm}$ 的玻璃试管。试管塞采用棉塞（梳棉或化纤棉）或硅胶塞。

3.7.3 培养基

按照 DB61/T 1158.2 附录 A 规定配制。

3.7.4 分装

将配制好的培养基立即分装，装量为试管长度的 $1/4 \sim 1/5$ 。试管口应保持干净，随后塞入棉塞或硅胶塞，并用牛皮纸包扎。

3.7.5 灭菌

将分装和包扎好的试管直立放在高压灭菌锅内加热灭菌，打开排气阀，放气 15min，关闭排气阀。当压力升到 0.14MPa（温度为 121°C ）时，恒压 30min。

3.7.6 斜面培养基摆放

灭菌结束后，自然降压至指针回到零点，打开放气阀，自然降温20min~30min，并利用余热烘干棉塞。从灭菌锅内取出试管倾斜摆放在操作台面上，斜面长度为试管长度的2/3。

3.7.7 灭菌效果检查

按2%随机抽取母种培养基置于 $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ 恒温培养48h，检查有无细菌或霉菌感染。

3.7.8 接种

3.7.8.1 接种室（箱）或净化工作台的消毒

按照NY/T 528的规定，进行接种箱（室）或无菌操作台及其内部的接种用具消毒。

3.7.8.2 接种操作

检查、核对菌种。严格按照无菌操作接种。接完种后及时贴好标签。

3.7.8.3 培养

接种后将试管置于 $27^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ 培养箱或培养室中培养9d~15d，当菌丝长满试管斜面，即可用于生产原种。

3.8 原种生产

3.8.1 容器

使用13cm×23cm或15cm×28cm规格、耐 126°C 高温的玻璃瓶或聚乙（丙）烯塑料袋。使用满足滤菌和透气要求的无棉塑料盖代替棉塞。

3.8.2 生产工艺流程

按培养基配方备料→配制培养基→预湿和拌料→装瓶（袋）→高压灭菌→冷却至室温→接种→培养、检查→成品。

3.8.3 培养基

按照DB61/T 1158.2附录B规定配制。

3.8.4 培养基配制

棉籽壳、木屑使用前进行预湿处理。按照配方量取各种原材料，严格按料水比加水进行人工或机械搅拌，混合均匀。

3.8.5 装瓶（袋）

培养料分装在玻璃瓶或聚乙（丙）烯塑料袋内，松紧适度。将袋口和袋外壁擦干净后塞棉塞，牛皮纸包扎袋口。也可以用无棉塑料盖封口。

3.8.6 灭菌

将分装好的原种培养料移入高压锅内，升压至0.15MPa，温度 $121^{\circ}\text{C} \sim 125^{\circ}\text{C}$ 灭菌2h。

3.8.7 冷却

灭菌结束后，自然降压至指针回到零点，打开放气阀，自然降温20min~30min，取出菌种瓶（袋），移入冷却室，袋内温度冷却至28℃以下准备接种。

3.8.8 接种

3.8.8.1 接种室（箱）或净化工作台的消毒

按照 NY/T 528的规定，进行接种箱（室）或无菌操作台及其内部的接种用具消毒。

3.8.8.2 接种操作

接种前一天将母种检查准备好，接种时再核对确保无误。严格按照无菌操作接种。接种结束及时贴好标签。每支母种接原种4瓶（袋）~6瓶（袋）。

3.8.8.3 培养

接种后将原种瓶（袋）置于27℃±2℃培养室内培养30d~35d，当菌丝长满瓶（袋）时结束培养，即可用于生产栽培种。

3.9 栽培种生产

3.9.1 容器

使用15cm×28cm×0.005cm或17cm×35cm×0.005cm规格、耐126℃高温，并符合GB 4806.7规定的聚乙烯（丙）烯塑料袋。用无棉塑料盖封口。

3.9.2 培养基

按照DB61/T 1158.2附录B规定配制。

3.9.3 培养基配制

按照本部分3.8.4规定执行。

3.9.4 装袋

按照本部分3.8.5规定执行。

3.9.5 灭菌

高压灭菌：将分装好的栽培种培养料移入高压锅内，温度升至121℃~126℃灭菌3.5h。

常压灭菌：100℃保持20h~30h。

3.9.6 冷却

按照本部分4.8.7规定执行。

3.9.7 接种

3.9.7.1 接种室（箱）或净化工作台的消毒

按照NY/T 528的规定，进行接种箱（室）或无菌操作台及其内部的接种用具消毒。

3.9.7.2 接种操作

提前一天将所需原种检查准备好，接种时再对原种检查核对确保无误。接种人员用75%酒精棉球对手擦拭消毒。用消毒后的接种匙挖取原种迅速转接于栽培种菌袋内，封好袋口，每袋原种接种30袋～50袋栽培种。接种结束及时贴好标签。

3.9.7.3 培养

接种后将栽培种置于 $27^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ 培养室内培养35d～45d，当菌丝长满袋时结束培养，即可用于生产栽培袋。

4 质量检验

4.1 原料检验

4.1.1 原料入库前应经专人检验，确认合格后方可入库。各生产工序阶段产品都要经检验合格后才能转入下一个生产流程。

4.1.2 原辅材料的来源、运输、储存与使用等按照 NY/T 1731 要求执行。

4.2 菌种检查

4.2.1 母种检查

接种36h后应做首次检查，检出未萌发或受污染者。母种菌落长至直径约2cm左右时，进行第二次检查，长满前再检查一次，检出污染或生长不良的菌种。按照NY/T 1284的规定进行检查。

4.2.2 原种及栽培种检查

原种及栽培种在菌丝封口前，隔日例行检查。原种菌丝封口后应每周检查一次，直至长满瓶（袋）。栽培种封口后，满袋前每周检查两次，满袋后每周检查一次。按照NY/T 1284的规定进行检查。

4.2.3 使用种检查

所有菌种使用前应逐个检查。发现标签与菌种不符或可疑者以及排放错误，应及时报告，逐批追溯检查，提出分析意见，并记录。检查应做详细记录。

5 菌种档案

5.1 应建立记录菌种来源、主要性状、保藏方法、保藏条件、转管次数、生产试验结果、出黄试验情况的保藏档案，并长期保存。

5.2 建立母种、原种、栽培种三级菌种的生产档案，保存期限2年。应记录菌种来源、生产时间、基质、培养条件、数量、质量、技术负责人、检验记录等内容。