

浙江省地方标准

DB33/ 636.2—2007

无公害杏鲍菇 第 2 部分：菌种

Non-environmental pollution *pleurotus eryngii*
Part 2: Spawn

2007-04-16 发布

2007-05-16 实施

浙江省质量技术监督局 发布

前 言

本部分第5章为强制性条款。

DB33/ 636-2007《无公害杏鲍菇》分为：

- 第1部分：产地环境；
- 第2部分：菌种；
- 第3部分：原辅材料；
- 第4部分：栽培技术规程；
- 第5部分：质量安全要求。

本部分是DB33/ 636-2007的第2部分。

本部分由浙江省农业厅提出并归口。

本部分起草单位：磐安县人民政府食用菌生产办公室、磐安县质量技术监督局。

本部分主要起草人：李强、吕先真、应文立、方正燕、陈有兴、杨海鸥、潘娟莺。

无公害杏鲍菇

第2部分：菌种

1 范围

本部分规定了无公害杏鲍菇菌种的术语和定义、技术要求、质量要求、试验方法、检验规则、标识、包装、运输及贮存。

本部分适用于袋料栽培的无公害杏鲍菇菌种生产。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本部分的引用而成为本部分的条款。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部分，然而，鼓励根据本部分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部分。

GB/T 191	包装储运图示标志
GB/T 4789.28-2003	食品卫生微生物学检验 染色法、培养基和试剂
NY/T 528	食用菌菌种生产技术规程
NY 862	杏鲍菇和白灵菇菌种

3 术语和定义

NY/T 528和NY 862确立的以及下列术语和定义适用于本部分。

3.1

杂菌

除目标菌以外的其他微生物。

3.2

积水

培养基含水量过高而导致的水分游离沉积现象。

3.3

原基

尚未组织化的可发育成子实体的菌丝团集体。

3.4

干缩

因菌龄过长或其他非侵染性因子导致的菌丝体萎缩、色泽变暗、培养基脱离容器壁现象。

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

地势高燥，通风良好。排水畅通，交通便利。至少300m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 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。

4.3.2 原材料库

要求高燥、通风良好，防雨，远离火源。

4.3.3 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。

4.3.4 灭菌室

要求水电安全方便，通风良好，空间充足，散热畅通。

4.3.5 冷却室

洁净、防尘、易散热。

4.3.6 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。

4.3.7 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。

4.3.8 菌种检验室

水电方便，利于装备相应的检验设备和仪器。

4.3.9 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

台秤、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

称料→干拌→湿拌→装瓶（袋）→棉塞封口→包棉塞（原种）→灭菌→冷却→接种→培养→检验→包装出售。

4.7 生产管理

4.7.1 培养基

4.7.1.1 母种配方

马铃薯 200g、琼脂 20g、葡萄糖 20g、水 1000ml。

4.7.1.2 原种、栽培种配方

杂木屑36.5%、棉籽壳37%、麸皮25%、石膏1%、石灰0.5%；料水比为1：(1.2~1.3)。

4.7.2 容器

4.7.2.1 母种

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

4.7.2.2 原种

使用 650ml~750ml、耐 126℃ 高温的无色或近无色的玻璃菌种瓶，或 850ml 耐 126℃ 高温白色半透明符合 GB 9687 卫生规定的塑料菌种瓶，15 cm×28 cm耐 126℃ 高温白色半透明符合 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 4.7.2.1 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。

4.7.2.3 栽培种

使用符合 4.7.2.2 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 4.7.2.2 规定。

4.7.3 灭菌

母种培养基配制分装后应立即灭菌；原种和栽培种培养基分装配制后应在 4h 内进锅灭菌。母种培养基灭菌 0.11MPa~0.12MPa，30min；木屑培养基灭菌 0.12MPa，1.5h 或 0.11MPa~0.12MPa，1h。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 2h 之内使灭菌室温度达到 100℃，保持 100℃8h~10h。母种培养基、原种培养基应高压灭菌，不应常压灭菌。灭菌时应防止棉塞被冷凝水打湿。

4.7.4 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。

4.7.5 接种

4.7.5.1 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。

4.7.5.2 接种室（箱）的消毒方法

用药物消毒并用紫外灯照射。

4.7.5.3 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 20min。

4.7.5.4 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。

4.7.5.5 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75%酒精或新洁尔灭溶液进行表面擦拭消毒。

4.7.6 培养室处理

在使用培养室的前两天，采用药物消毒。

4.7.7 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℃），保持相对湿度在75%以下，通风，避光。

4.7.8 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。

4.7.9 入库

完成培养的菌种要及时登记入库。

4.7.10 记录

生产各环节应详细记录。

4.7.11 留样

各级菌种应留样备查,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,于4℃~6℃下贮存,贮存至使用者一正常生产条件下该批菌种出第一潮菇。

5 质量要求

5.1 母种

5.1.1 感官要求

母种感官要求应符合表1 规定。

表1 母种感官要求

项 目		指 标
容器		洁净、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
斜面长度, mm		顶端距棉塞40~50
接种量(接种物), mm ²		(3~5) × (3~5)
菌种外观	菌丝生长量	长满斜面
	菌丝体特征	洁白、健壮、棉毛状
	菌丝体表面	均匀、舒展、平整、无角变、色泽一致
	菌丝分泌物	无
	菌落边缘	较整齐
	杂菌菌落	无
	虫(螨)体	无
斜面背面外观		培养基无干缩, 颜色均匀, 无暗斑、无明显色素
气味		具有杏鲍菇特有的香味, 无异味

5.1.2 微生物学要求

母种微生物学要求应符合表2规定。

表2 母种微生物学要求

项 目	指 标
菌丝生长状态	粗壮、丰满、均匀
锁状联合	有
杂菌	无

5.1.3 菌丝生长速度

杏鲍菇在PDA培养基上, 在25℃±1℃下, 10d~12d长满斜面; 在90mm培养皿上, 8d~10d长满平板。

5.1.4 母种栽培性状

供种单位所供母种应栽培性状清楚, 需经出菇试验确证农艺性状和商品性状等种性合格后, 方可用于扩大繁殖或出售。产量性状在适宜条件下杏鲍菇生物学效率不低于40%。

5.2 原种

5.2.1 感官要求

原种感官要求应符合表3 规定。

表3 原种感官要求

项 目		指 标
容器		洁净、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（袋）口的距离，mm		50±5，
接种量（接种物大小），mm ²		≥12×12
菌种外观	菌丝生长量	长满容器
	菌丝体特征	洁白浓密、生长健壮
	培养物菌丝体表面	生长均匀，无角变，无高温圈
	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
	杂菌菌落	无
	虫（螨）体	无
	拮抗现象	无
	菌皮	无
	出现子实体原基的瓶（袋）数，%	≤3
气味		具有杏鲍菇特有的香味，无异味

5.2.2 微生物学要求

原种微生物学要求应符合5.1.2规定。

5.2.3 菌丝生长速度

杏鲍菇在培养室室温23℃±1℃下，在木屑培养基上35d~40d长满容器。

5.3 栽培种

5.3.1 感官要求

栽培种感官要求应符合表4规定。

表4 栽培种感官要求

项 目		指 标
容器		洁净、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（袋）口的距离，mm		50±5，
菌种外观	菌丝生长量	长满容器
	菌丝体特征	洁白浓密、生长健壮
	不同部位菌丝体	生长均匀，色泽一致，无角变，无高温圈
	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
	杂菌菌落	无
	虫（螨）体	无
	拮抗现象	无
	菌皮	无
	出现子实体原基的瓶（袋）数，%	≤5
气味		具有杏鲍菇特有的香味，无异味

5.3.2 微生物学要求

栽培种微生物学要求应符合5.1.2规定。

5.3.3 菌丝生长速度

杏鲍菇在培养室室温 $23^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 下, 在木屑培养基上 35d~40d 长满容器。

6 试验方法

6.1 感官要求

6.1.1 容器、棉塞、无棉塑料盖、斜面背面外观

肉眼观察。

6.1.2 培养基上表面距瓶(袋)口的距离、斜面长度、接种量、菌种外观(除杂菌菌落、虫(螨)体、子实体原基外)

肉眼观察和测量。

6.1.3 杂菌菌落、虫(螨)体

肉眼观察, 必要时用 $5\times$ 放大镜观察。

6.1.4 子实体原基

随机抽取样本100瓶(袋), 肉眼观察有无原基, 计算。

6.2 微生物学检验

6.2.1 菌丝生长状态、锁状联合

用放大倍数不低于 10×40 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 杂菌

6.2.2.1 细菌检验

将检验样本按无菌操作接种于GB/T 4789.28-2003中4.7规定的营养琼脂培养基中, 28°C 下培养1d~2d, 观察斜面表面是否有细菌菌落长出, 必要时用显微镜检查。

6.2.2.2 霉菌检验

将检验样本按无菌操作接种于PDA培养基中, $25^{\circ}\text{C} \sim 28^{\circ}\text{C}$ 下培养3d~4d, 观察是否有杏鲍菇菌丝形态菌落或有异味, 必要时用水封片镜检。

6.3 菌丝生长速度

6.3.1 母种

PDA培养基, 90mm直径的培养皿, 倾倒培养基25ml~30ml/皿, 菌龄7d~10d的菌种为接种物, 用灭菌过的5mm直径的打孔器在菌落周围相同菌龄处打接种物, 接种后立即置于 $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 黑暗培养, 计算长满所需天数。

6.3.2 原种和栽培种

在选定的培养基上接种后立即置于 $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 黑暗培养, 计算长满所需天数。

7 检验规则

7.1 批次

同一种源、同一接种时段和同一培养条件生产的母种为一批次; 同一种源、同一接种时段、同一制作方法和同一培养条件生产的原种、栽培种为一批次。

7.2 抽样

母种按品种、培养条件、接种时间分批编号, 原种和栽培种按菌种来源、制种方法和接种时间分批编号。按批随机抽取被检样品。

母种、原种、栽培种的抽样量分别为该批菌种量的10%、5%、1%随机取样, 但每批抽样数量不少于10支(瓶、袋); 超过100支(瓶、袋)的, 可进行两级抽样。

7.3 判定规则

检验项目全部符合要求时, 为合格菌种; 其中任何一项目不符合要求, 均为不合格菌种。

8 标识、包装、运输及贮存

8.1 标识

菌种包装储运标志应符合GB/T 191规定，每支（瓶、袋）菌种产品标签应标明产品名称、品种名称、生产单位、接种时间、执行标准等内容。每箱菌种包装标签应标明产品名称、品种名称、生产单位、厂址、联系电话、出厂日期、保质期、贮存条件、数量、执行标准等内容。

8.2 包装

母种采用木盒或有足够强度的纸箱，内部用棉花、碎纸或报纸等轻质材料填满。原种和栽培种采用有足够强度的纸箱，内部用棉花、碎纸或报纸等轻质材料填满。箱（盒）内附产品合格证书和使用说明（包括菌种种性、培养基配方及适用范围等）。

8.3 运输

菌种应在25℃以下包装运输；气温达30℃以上时，应用低于20℃的冷藏车运输。运输时应有防震、防尘、防雨淋、防冻、防杂菌污染措施，不应与有毒物品混运，不得挤压。

8.4 贮存

母种应在4℃～6℃条件下贮存，贮存期不超过90d。

原种在4℃～6℃条件下贮存，贮存期不超过45d；在温度不超过25℃、清洁、通风、干燥（相对湿度50%～70%）室内存放，谷粒种不超过7d，其余培养基的原种不超过14d。

栽培种在4℃～6℃条件下贮存，贮存期不超过45d；在温度不超过25℃、清洁、通风、干燥（相对湿度50%～70%）室内存放，谷粒种不超过10d，其余培养基的原种不超过20d。
