

平菇菌种制作技术规程

Technical code of practice for strain manufacture of pleurotus
mushrooms

地方标准信息服务平台

2024-09-06 发布

2024-10-06 实施

前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件代替DB15/T 1058-2016《平菇菌种制作技术规程》，与DB15/T 1058-2016相比，除结构调整和编辑性改动外，主要技术变化如下：

- a) 增加原种、栽培种中枝条菌种容器的内容（见 6.1.2）；
- b) 增加了原料处理中粮食菌种处理时间（见表 1）；
- c) 增加了原料处理中枝条菌种的内容（见 6.1.3）；
- d) 更改了装袋（瓶）中枝条菌种内容（见 6.1.4，2016 年版的 6.1.3）；
- e) 更改了黑木耳原种和栽培种感官容器要求内容（见表 4、表 5，2016 年版的表 3、表 4）；
- f) 增加了附录 B 注的内容（见附录 B）。

本文件由内蒙古自治区果蔬标准化委员会（SAM/TC 25）归口。

本文件起草单位：内蒙古自治区农牧业科学院、内蒙古自治区农牧业技术推广中心、内蒙古农业大学、克什克腾旗农牧局、呼伦贝尔学院。

本文件主要起草人：庞杰、于传宗、穆宗杰、于凤玲、鲍红春、包妍妍、赵宏宇、孙国琴、李小雷、李亚娇、王海燕、狄洁增、肖强、贾文姝、张慧、张立华、康立茹、乔慧蕾、解亚杰、于静、孟虎、王勇。

本文件及其所代替文件的历次版本发布情况为：

- 2016 年首次发布为 DB15/T 1058-2016；
- 本次为第一次修订。

地方标准信息服务平台

平菇菌种制作技术规程

1 范围

本文件规定了制作平菇菌种的菌种生产要求、母种生产、原种、栽培种生产、检验、入库及留样技术。

本文件适用于的平菇及该属的紫孢侧耳、小平菇、凤尾菇、佛罗里达平菇的母种、原种和栽培种制作要求。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；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 23189 平菇
- NY/T 528 食用菌菌种生产技术规程
- 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

3 术语和定义

GB/T 23189界定的以及下列术语和定义适用于本文件。

3.1

平菇 *pleurotus mushrooms*

隶属于担子菌门(*Basidiomycota*)伞菌目(*Agaricales*)侧耳科(*Pleurotaceae*)侧耳属(*Pleurotus*)的木腐菌。

[来源：GB/T 23189-2008，3.1]

3.2

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、抗性强的平菇菌株或品种，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。

3.3

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。

3.4

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（玻璃瓶或塑料瓶）或（120~170）mm ×（220~280）mm ×（0.04~0.05）mm 聚丙烯塑料袋为容器。也称为二级种。

3.5

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（150~170）mm ×（330~350）mm ×（0.04~0.05）mm 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。

4 菌种生产要求

4.1 人员

生产所需要的技术人员和检验人员应经过专业培训、掌握平菇基础知识及平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。300 m 之内无酿造厂、无食用菌栽培场、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。

菌种生产厂房要求有各自隔离的摊晒场、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（有恒温 and 负压装置）、菌种检测室及菌种冷藏库等各环节的设施。冷却室、接种室，培养室都要有离子净化设施。

4.3 生产设备

菌种生产需要粉碎机、电子秤、搅拌机、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、液体菌种灌（30 L~250 L）、显微镜等设备。

5 母种生产

5.1 培养基

见附录 A。

5.2 容器

18 mm×180 mm 或 20 mm×200 mm 规格试管；直径 7 cm~9 cm 玻璃培养皿或一次性塑料培养皿。

5.3 分装和灭菌

5.3.1 试管分装和灭菌

分装培养基至试管1/4处，用棉塞或硅胶塞子封闭试管口，每5支试管为1把，牛皮纸包棉塞，橡皮

筋扎紧，棉塞向上放置。棉塞应采用梳棉，不能使用脱脂棉。在121℃～124℃（0.11 MPa～0.12 MPa）下灭菌25 min。

灭菌后温度降到50℃～55℃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。从摆好的试管中抽取3%～5%的试管，在28℃下培养72 h，无微生物长出为灭菌合格。

5.3.2 培养皿分装和灭菌

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

灭菌后温度降到50℃～55℃时，在超净工作台内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。

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30 min，然后用75%酒精进行表面杀菌。接种的菌块3 mm～5 mm，接种在培养皿或试管的中部。培养皿需用石蜡膜密封。接种过程按照NY/T 528的规定执行，接种后及时做好标签。

5.5 培养

温度控制在24℃～26℃，空气湿度在75%以下，通风避光培养。

接种后第3 d、第5 d和长满培养基后分别进行检验，挑出未活、污染和生长不良的不合格培养物。检验方式应该是逐个检验。

6 原种、栽培种生产

6.1 固体菌种

6.1.1 培养基

见附录 B。

6.1.2 容器

原种采用850 mL以下、瓶口直径≤4 cm、耐126℃高温的透明瓶子，或采用（120～170）mm×（220～280）mm×（0.04～0.05）mm的聚丙烯塑料袋；

枝条菌种生产采用（120～170）mm×（22～28）mm×（0.04～0.05）mm的聚丙烯塑料袋；

栽培种采用同原种要求的瓶子，也可采用（150～170）mm×（330～350）mm×（0.04～0.05）mm的聚丙烯塑料袋。

6.1.3 原料处理

粮食菌种制备需将粮食提前浸泡8 h～12 h，然后进行煮制，煮制时间见表1，待粮食内部无白芯即可。煮制结束捞出控水，表明无水渍即可拌入辅料。

表1 不同粮食种类煮制所需时间情况

粮食种类	小麦	谷粒	高粱	玉米	荞麦	燕麦
煮制时间（水开以后计时/min）	3~5	15~20	25~35	35~45	25~35	5~8

枝条规格可选用 125 mm×5 mm×7 mm或125 mm×3 mm×7 mm；枝条需要提前浸泡12 h以上，需要水全部漫过枝条，待内部无白芯捞出控水，枝条表明无水渍即可拌入辅料。

6.1.4 装袋（瓶）

采用装袋（瓶）机或人工进行装袋（瓶），人工装袋（瓶）需用打孔器在袋口处打孔，孔直径1 cm~1.5 cm深度为8 cm~12 cm，每袋（瓶）装培养基质500 g~600 g。

枝条菌种人工装袋，每个菌种装入枝条110~120根，顶端可放30 g~50 g粮食菌种或棉籽壳菌种。

6.1.5 灭菌

培养基质装袋（瓶）后4 h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 ℃（0.11 MPa~0.14 MPa）下灭菌2 h；粮食培养基在121 ℃~124 ℃（0.11 MPa~0.14 MPa）下灭菌2.5 h。

常压灭菌：在3 h之内使灭菌温度达到100 ℃，保持100 ℃ 10 h~12 h。

6.1.6 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30 min，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。每个原种接入母种块2 cm~3 cm；每个栽培种接种量不应少于15 g。菌种都应从容器开口处接种，不应打孔多点接种。

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。

6.1.7 培养

温度控制在24 ℃~26 ℃，空气湿度在75%以下，通风避光培养。

6.1.8 贮存

原种和栽培种在0 ℃~4 ℃下贮存，贮存期不超过50 d。

6.2 液体菌种生产

6.2.1 培养基

见附录 A。灭菌同 5.3.2。

6.2.2 三角瓶液体菌种生产

采用 150 mL~500 mL 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。

接种量是取 3 mm~5 mm 大小母种 4~6 块放进液体培养基中，培养温度在 16 ℃~26 ℃，振荡频率（搅拌速度）140 r/min~160 r/min，下振荡培养 3 d~6 d。

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~160 r/min，灌装0.04 MPa，通风量0.7 N·m³/h。培养时间3 d~5 d。

7 检验、入库及留样

7.1 检验

7.1.1 母种感官要求

平菇母种感官要求符合表2的规定。

表2 平菇母种感官要求

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，培养皿高的的1/3~1/2
菌种外观	菌丝生长量	长满斜面或平板
	菌丝体特征	洁白、浓密、旺健
	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

平菇原种感官要求符合表3的规定。

表3 平菇原种感官要求

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
菌种外观	菌丝生长量	长满容器
	菌丝体特征	洁白浓密，生长旺健
	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

平菇栽培种感官要求符合表4的规定。

表4 平菇栽培种感官要求

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
菌种外观	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
	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

平菇液体菌感官要求符合表5的规定。

表5 平菇液体菌种种感官要求

项目	要求
容器	完整、无破损、无裂纹、洁净
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

按照 NY/T 1731、NY/T 1742 的规定执行。菌种检验完成后应及时入菌种库，详细记录各生产环节，菌种库温度应该 0℃~4℃，避光，适当通风但应该对空气进行杀菌处理。

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

7.3 留样

母种应留样，每批次留样 3 支试管，贮存在 0℃~4℃，贮存至购买者购买后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)
母种常用培养基配方

- A.1 新鲜无霉变的麦粒 100 g 加水 1200 mL 煮沸 15 min, 滤液定容至 1000 mL, 加入硫酸镁 (MgSO_4) 0.5 g、磷酸氢二钾 (K_2HPO_4) 1 g、蛋白胨 1 g、蔗糖 10 g、葡萄糖 10 g、琼脂粉 10 g~15 g, pH 自然。
- A.2 新鲜无病去皮马铃薯 200 g 加水 600 mL 煮沸 20 min, 滤液定容至 500 mL; 新鲜无霉变的麦粒 100 g 加水 600 mL 煮沸 15 min, 滤液定容至 500 mL, 二者混合, 加入硫酸镁 (MgSO_4) 0.5 g、磷酸氢二钾 (K_2HPO_4) 1 g、蔗糖 10 g、琼脂粉 10 g~15 g, pH 自然。
- A.3 新鲜无病去皮马铃薯 200 g 加水 1200 mL 煮沸 20 min, 滤液定容至 1000 mL, 加入硫酸镁 (MgSO_4) 0.5 g、磷酸氢二钾 (K_2HPO_4) 1 g、蛋白胨 1 g、蔗糖 10 g、葡萄糖 10 g、琼脂粉 10 g~15 g, pH 自然。
- A.4 新鲜无病去皮马铃薯 200 g 加水 1200 mL 煮沸 20 min, 滤液定容至 1000 mL, 加入蔗糖 20 g、琼脂粉 10 g~15 g, pH 自然。

注: 制作液体菌种培养基不加食用琼脂粉。

附 录 B
(资料性)

原种、栽培种常用培养基质常见配方

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)%，石灰水调至pH 6~7。

B.2 组合培养基

B.2.1 锯沫58%、玉米芯21%、麸子20%、石膏1%、水分含量(60±2%)、石灰水调至pH 6~7)。

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

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

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

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

B.3 枝条培养基

枝条 80%、麸子 20%。

注：柠条粉碎后，按每100斤柠条粉加入1.5斤石灰搅拌均匀后堆积降解3个月后再使用。

地方标准信息服务平台