

DB36

江西省地方标准

DB36/T 1800—2023

灵芝菌种生产技术规程

Technical regulations for spawn production of Ganoderma lingzhi

地方标准信息服务平台

2023-07-01 发布

2024-01-01 实施

江西省市场监督管理局 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 场地环境 2

5 设施设备 2

6 生产技术 2

7 菌种生产档案 4

地方标准信息服务平台

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。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由江西省农业农村厅提出并归口。

本文件起草单位：江西省农业科学院农业应用微生物研究所。

本文件主要起草人：胡佳、魏云辉、戴丹、彭新红、孙鹏。

地方标准信息服务平台

灵芝菌种生产技术规程

1 范围

本文件规定了灵芝菌种生产的场地环境、设施设备、生产技术、菌种生产档案。
本文件适用于工厂化生产企业或专业合作社生产灵芝母种、原种和栽培种。

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 5749 生活饮用水卫生标准
GB/T 8321（所有部分） 农药合理使用准则
GB/T 12728 食用菌术语
NY/T 528 食用菌菌种生产技术规程
NY/T 1276 农药安全使用规范 总则

3 术语和定义

GB/T 12728中确定的术语和定义适用于本文件。

3.1

灵芝 *Ganoderma lingzhi*

灵芝俗称赤芝、红芝、灵芝草等，是我国传统的名贵中药材，隶属于担子菌门（Basidiomycota）、蘑菇纲（Agaricomycetes）、多孔菌目（Polyporales）、灵芝科（Ganodermataceae）、灵芝属（*Ganoderma*）。

3.2

菌种 spawn

生长在适宜基质上具有结实性的菌丝纯培养物。包括母种（一级种）、原种（二级种）和栽培种（三级种）。

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，也称为一级种。

3.4

原种 mother spawn

由母种移植、扩大培养而成的菌丝体纯培养物，也称为二级种。

3.5

栽培种 planting spawn

由原种移植、扩大培养而成的菌丝体纯培养物。栽培种只能用于栽培，不可再次扩大繁殖菌种，也称为三级种。

4 场地环境

4.1 生产场地选择

选择地势平坦、排灌方便、土壤肥沃、通风良好的场所。要求周边环境清洁，无污染源。生产场地应符合NY/T 528的规定。

4.2 生产用水

生产用水应符合GB 5749的规定。

5 设施设备

5.1 基本设施

具备配料室、装袋室、灭菌室、接种室、培养室、贮藏室等设施。

5.2 基本设备

粉碎机、磅秤、天平、高压灭菌锅或常压灭菌锅、操作台、超净工作台或接种箱、空调、除湿机、培养架、恒温培养箱、冰箱、显微镜等。生产量大的菌种厂还应配备搅拌机、装袋机。

6 生产技术

6.1 母种生产

6.1.1 PDA 培养基

称取200g马铃薯切成小块加1000mL水煮沸20min~30min，纱布过滤取滤液定容至1000mL，加入20g葡萄糖和15g~20g琼脂粉，pH自然。

6.1.2 分装和灭菌

将配制好的PDA培养基分装至18mm×180mm或20mm×200mm玻璃试管的1/3处。试管口应保持干净，分装后塞入棉塞或硅胶塞，并用牛皮纸包扎。包扎好的直立放在高压灭菌锅内高压蒸汽灭菌，121℃保持30min。

6.1.3 制作斜面

灭菌后的试管冷却至60℃左右，将试管倾斜摆放在操作台桌面上，试管口比试管底部高1.0cm~1.5cm，做成培养基斜面，斜面长度约为试管长度的2/3。

6.1.4 无菌检测

随机抽取3%~5%的试管斜面（每批抽样量不得少于10支），在30℃±2℃下培养2d，检查有无微生物菌落，无菌落的为合格。

6.1.5 接种

超净工作台或接种箱在接种前用紫外灭菌灯照射30min以上，接种人员要注意清洁卫生，严格按无菌操作要求，手部和菌种试管表面应用医用酒精消毒。接种用具使用前用酒精灯灼烧灭菌。开始接种时，左手握斜面试管，试管口置于酒精灯火焰上方3cm处的无菌区，用右手迅速拔开试管塞，并用接种钩或接种铲在母种试管中挑取3mm~5mm直径的菌块迅速转接到待接斜面培养基上，接种位置为培养基斜面前端1cm处，迅速塞入试管。将接种好的斜面培养基用牛皮纸包扎试管口，并贴标有菌号和接种日期的标签。

6.1.6 培养

接种后的试管置于25℃培养箱或培养室恒温避光培养。分别于接种后第3天和第7天分别进行逐个检验，挑出未活、污染和生长不良的不合格试管。

6.1.7 菌种质量标准

母钟感官质量要求见表1。

表 1 母种感官要求

项目		要求
容器		完整、无损、洁净
试管塞		干燥、洁净、松紧适度，能透气和滤菌
斜面长度		斜面顶端距试管塞底部距离 40mm~50mm
接种块大小		边长 3mm~5mm，厚 2.5mm~3mm
菌种外观	菌丝生长量	菌丝刚长满斜面或占斜面 2/3 以上
	菌丝体特征	整齐浓密、丝状或绒毛状，洁白
	菌落边缘	均匀、整齐
	角变	无
	拮抗现象	无
	原基	无
	脱壁	无
	斜面背面外观	培养基贴壁、不干缩，颜色均匀、无暗斑、无明显色素
气味		有灵芝菌种特有的香味，无酸、臭、霉等异味

6.1.8 母种保藏

在1℃~4℃下避光保藏，保藏期不超过90d。

6.2 原种、栽培种生产

6.2.1 培养料

培养料应符合NY 5099的规定。

配方一：木屑78%，麦麸20%，石膏1%，过磷酸钙1%。

配方二：棉籽壳80%，麦麸18%，石膏1%，石灰 1%。

配方三：棉籽壳50%，木屑30%，麦麸17%，蔗糖1%，石膏1%，石灰1%。

6.2.2 拌料

按照培养料配方准确称取生产所需各种原材料。将原料加水混合后充分拌匀。培养料含水量控制在60%~65%。

6.2.3 装袋

拌料结束后应立即装袋。原种采用规格为（12cm~17 cm）×（22cm~28cm）×0.005cm的低压聚乙烯或高压聚丙烯塑料袋，栽培种采用规格为（15cm~17 cm）×（35cm~38cm）×0.005cm的低压聚乙烯或高压聚丙烯塑料袋。装料要求松紧适中，用线绳打活结或套环加海绵盖体等方式封口，料袋装好后应及时装锅灭菌。

6.2.4 灭菌

采用常压蒸汽灭菌升温要快，要在4h内升温至100℃，料袋中心温度达到100℃后保持18h~22h；若采用高压蒸汽灭菌，灭菌时要求关闭排气阀后高压灭菌锅内温度达到121℃~126℃后保持2.5h~3.0h，根据灭菌条件和灭菌料袋的数量可以适当延长灭菌时间。

6.2.5 冷却

灭菌结束后，待灭菌锅内温度降至60℃~70℃，趁热将料袋搬运到洁净的接种室内自然冷却。

6.2.6 接种

接种在接种室或者接种箱内进行。接种室和接种箱在使用前应使用消毒剂熏蒸等方式进行消毒。料袋搬入接种室或者接种箱后，连同接种工具进行二次消毒。待料袋中心温度冷却至28℃以下接种。接种前，用75%酒精或其他卫生消毒剂对栽培种瓶（袋）外壁进行擦拭消毒。接种时要严格按照无菌操作要求进行操作。接种后重新用线绳扎好袋口或者在套环上迅速盖好海绵盖体。接种室和接种箱在每次使用后，及时做好清理和清洁工作，排除废气和清理废物。

6.2.7 培养

接种后的菌袋放在培养室内进行培养。培养室要求环境干净卫生，且通风、避光、保温条件良好，温度控制在23℃~28℃。培养室在菌袋移入前应进行彻底打扫和喷洒杀虫剂，关闭门窗后用消毒剂熏蒸消毒，使用的杀虫剂和消毒剂应符合NY/T 1276和GB/T 8321的规定。

6.2.8 培养期检查

培养3d后开始不定期检查，及时清理污染杂菌、生长不良等不合格菌袋。

6.2.9 菌种质量标准

原种和栽培种感官质量要求见表2。

表2 原种和栽培种感官要求

项目		要求
容器		完整、无损、洁净
棉塞或无棉塑料盖		干燥、洁净、松紧适度，能透气和滤菌
培养基表面距瓶（袋）口的距离		50mm±5mm
菌种外观	菌丝生长量	长满容器
	菌丝体特征	菌丝体洁白、浓密、粗壮，生长均匀，无高温抑制线
	菌落边缘	均匀、整齐
	角变	无
	拮抗现象	无
	原基	无
	脱壁	无
	培养物表面分泌物	无，允许局部少量淡褐色水珠
气味		有灵芝菌种特有的香味，无酸、臭、霉等异味

6.2.10 原种、栽培种保藏

在1℃～4℃下避光保藏，保藏期不超过50d。

7 菌种生产档案

生产档案应载明生产地点、时间、数量、培养基配方、培养条件、菌种来源、操作人、技术负责人、检验记录、菌种流向等内容。生产档案应当保存至菌种售出后2年。

地方标准信息服务平台