

内蒙古自治区地方标准

DB15/T 1055—2024

代替DB15/T 1055-2016

黑木耳菌种制作技术规程

Technical code of practice for strain manufacture of auricularia
auricula

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 1055-2016《黑木耳菌种制作技术规程》，与DB15/T 1055-2016相比，除结构调整和编辑性改动外，主要技术变化如下：

- a) 增加了原料处理中枝条菌种的内容（见 6.1.3）；
- b) 增加了原料处理中粮食菌种处理时间（见表 1）；
- c) 更改了装袋（瓶）中枝条菌种内容（见 6.1.4，2016 年版的 6.1.3）；
- d) 增加了黑木耳原种和栽培种感官容器要求内容（见表 3、表 4）；
- e) 更改了培养基质配方（见附录 A，2016 年版的附录 A）；
- 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 1055-2016；
- 本次为第一次修订。

地方标准信息服务平台

黑木耳菌种制作技术规程

1 范围

本文件规定了黑木耳（*Auricularia auricula*）母种、原种和栽培种有关的定义、菌种制作技术流程要点等。

本文件适用于黑木耳母种、原种和栽培种菌种制作要求。

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 6192 黑木耳
- GB 19169 黑木耳菌种
- NY/T 528 食用菌菌种生产规程
- 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 6192界定的以及下列术语和定义适用于本文件。

3.1

黑木耳 *auricularia auricular*

隶属于担子菌亚门（*Basidiomycotina*）木耳目（*Auricularisles*）木耳科（*Auriculariaceae*）的可食用的大型真菌。

[来源：GB/T 6192-2019，3.1]

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、抗性强的黑木耳菌株或品种，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，以试管或培养皿为培养容器和使用单位，也称为一级种。

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。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。栽培种可以用于扩大到栽培出菇袋或直接出耳。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，掌握黑木耳基础知识及黑木耳菌种生产技术要求。

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、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（有恒温和负压装置）、菌种检验（检测）室及菌种冷藏库等。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、液体菌种罐（30 L~250 L）、冰箱、显微镜等设备。

5 母种生产

5.1 培养基

见附录A。

5.2 容器

试管选用18 mm×180 mm或20 mm×200 mm；培养皿选用直径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。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。培养皿用报纸包好，一起在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，接种前用紫外灯照射30 min，然后用75%酒精进行表面消毒。将3 mm～5 mm的菌块接，接种在培养皿或试管的中部，接种箱内需在1 h内完成接种工作。培养皿用石蜡膜密封。接种过程按照NY/T 528的规定执行，接种后及时贴好标签。

5.5 培养

温度控制在25℃±1℃，空气湿度在75%以下，通风黑暗培养。

接种后第4 d、第7 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；枝条菌种生产采用（120～170）mm×（220～280）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，表面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，枝条表面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500 g～600 g。

枝条菌种人工装袋，每袋装入枝条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

培养基装袋（瓶）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：组合培养基在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2 cm～3 cm的母种块；每个栽培种接入原种量不应少于15 g。菌种都应从容器开口处接种，不应打孔多点接种。

要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10 ℃～15 ℃下贮存，贮存期不超过20 d；在1 ℃～6 ℃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5.4。

取3 mm～5 mm大小母种5～8块接种在液体培养基中，同时加入已灭菌的玻璃碎块3～5块，在23 ℃～25 ℃、振荡频率（搅拌速度）140 r/min～160 r/min，振荡培养5 d～7 d。

6.2.3 菌种罐液体菌种生产条件

6.2.3.1 装罐和灭菌

填装配好的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，接种过程严格执行无菌操作。

接种量为培养基总体积的8%~10%，培养温度（23±2）℃，搅拌转速140 r/min~180 r/min，罐压0.04 MPa，通风量0.7 N·m³/h，培养4 d~6 d。

6.2.3.3 出菇袋接种

液体菌种可作为原种或栽培种使用，液体菌种接种在出菇袋中要采用专用液体菌种接种枪进行，严格执行无菌操作，每袋接种10 mL~15 mL。

7 检验、入库及留样

7.1 检验

7.1.1 母种感官要求

黑木耳母种感官要求符合表2的规定。

表2 黑木耳母种感官要求

项目	要求
容器	完整、无破损、无裂纹、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1/3~1/2
菌丝生长量	长满容器
菌种正面外观	洁白、纤细、平贴培养基生长、均匀、平整、无角变，菌落边缘整齐，无杂菌菌落
斜面或平板背面外观	培养基不干缩、均匀

7.1.2 原种感官要求

黑木耳原种感官要求符合表3的规定。

表3 黑木耳原种感官要求

项目	要求
容器	完整、无破损、无裂纹、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
菌丝生长量	长满容器
菌丝体特征	白色，菌丝体生长旺健，菌丝体前段生长整齐
培养基及菌丝体	培养基变色均匀，菌种与瓶（袋）不分离，无干缩
菌丝分泌物	允许少量无色至棕黄色水珠
杂菌菌落	无
耳芽（子实体原基）	允许少量米粒大小的耳芽

7.1.3 栽培种感官要求

黑木耳栽培种感官要求符合表4的规定。

表4 黑木耳栽培种感官要求

项目	要求
容器	完整、无破损、无裂纹、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
菌丝生长量	长满容器
菌丝体特征	白色，生长旺健，菌丝体前段生长整齐
培养基及菌丝体	培养基变色均匀，菌种与瓶（袋）不分离，无干缩
菌丝分泌物	允许少量无色至棕黄色水珠
杂菌菌落	无
耳芽（子实体原基）	允许少量米粒大小的耳芽

7.1.4 液体菌种感官要求

黑木耳液体菌种感官要求符合表5的规定。

表5 黑木耳液体菌种感官要求

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	白色至透明大小均匀的球状
培养基	液体透明
杂菌	无杂菌

7.2 入库

检验按照NY/T 1742、NY/T 1731和GB 19169的规定执行。母种检验完成后应及时入库，详细记录各生产环节，库房温度1℃~6℃，避光，适当通风但应该对空气进行杀菌处理。

黑木耳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，1℃~6℃贮存至购买者购买后正常生产条件下出第一潮菇。

附录 A
(资料性)
母种常用培养基配方

A.1 PDA 改良培养基

A.1.1 麦麸100 g加水600 mL煮沸20 min，滤液定容至500 mL；新鲜无病去皮马铃薯200 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、磷酸二氢钾 (KH_2PO_4) 1 g、葡萄糖10 g、蔗糖10 g、琼脂粉10 g~15 g，煮沸至琼脂粉完全溶化，pH调至5.5~6.5。

A.1.2 新鲜无病去皮马铃薯200 g加水1200 mL煮沸15 min，滤液定容至1000 mL，加入蛋白胨1 g、酵母粉1 g、加入硫酸镁 (MgSO_4) 0.5 g、磷酸二氢钾 (KH_2PO_4) 1 g、葡萄糖10 g、蔗糖10 g、琼脂粉10 g~15 g，煮沸至琼脂粉完全溶化，pH调至5.5~6.5。

A.1.3 100 g麦粒加水1200 mL煮沸20 min，滤液定容至1000 mL，加入硫酸镁 (MgSO_4) 0.5 g、磷酸二氢钾 (KH_2PO_4) 1 g、蛋白胨5 g、蔗糖10 g、葡萄糖10 g、琼脂粉10 g~15 g，pH调至5.5~6.5。

A.1.4 新鲜无病去皮马铃薯200 g加水600 mL煮沸15 min，滤液定容至500 mL；新鲜无霉变小麦粒100 g加水600 mL煮沸20 min，滤液定容至500 mL；二者混合，加入硫酸镁 (MgSO_4) 0.5 g、磷酸二氢钾 (KH_2PO_4) 1 g、蔗糖10 g、琼脂粉10 g~15 g，煮沸至琼脂粉完全溶化，pH调至5.5~6.5。

A.2 PDA 培养基

新鲜无病去皮马铃薯200 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、磷酸二氢钾 (KH_2PO_4) 1 g、葡萄糖10 g、蔗糖20 g、琼脂粉10 g~15 g，煮沸至琼脂粉完全溶化，pH调至5.5~6.5。

注：制作液体培养基不加琼脂粉。

地方标准信息服务平台

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%，石灰水调至pH 6~7，水分含量（50±2）%。

B.2 组合培养基

- B.2.1 锯沫79%、麸子20%、石膏1%、石灰水调至pH 6~7、水分含量（60±2）%。
- B.2.2 柠条粉60%、玉米芯20%、麸子19%、石膏1%、石灰水调至pH 6~7、水分含量（60±2）%。
- B.2.3 豆秸粉60%、玉米芯20%、麸子19%、石膏1%、石灰水调至pH 6~7、水分含量（60±2）%。
- B.2.4 棉籽壳80%、麸子19%、石膏1%、石灰水调至pH 6~7、水分含量（60±2）%。
- B.2.5 柠条粉80%、麸子19%、石膏1%、石灰水调至pH 6~7、水分含量（60±2）%。

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