

DB51

四川省地方标准

DB51/T 1369—2011

姬菇菌种生产技术规程

地方标准信息服务平台

2011-12-28 发布

2012-03-01 实施

四川省质量技术监督局 发布

目 次

前 言	II
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 术语和定义	1
4 生产条件	1
附录 A（资料性附录） 母种常用培养基及其配方	6
附录 B（资料性附录） 原种和栽培种常用培养基及其配方	7

地方标准信息服务平台

前 言

本标准附录 A 为资料性附录。

本标准由四川省农业厅提出并归口。

本标准由四川省质量技术监督局批准。

本标准由四川省农业科学院食用菌开发研究中心负责起草。

本标准主要起草人：姜邻、唐利民、倪建英、陈晓娟、郭勇、周洁、辜际忠。

地方标准信息服务平台

姬菇菌种生产技术规程

1 范围

本标准规定了姬菇各级菌种生产的生产条件和生产工艺。
本标准适用于姬菇各级菌种生产。

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/T 12728 食用菌术语

NY 5099 无公害食品 食用菌栽培基质安全技术要求

NY/T 528 食用菌菌种生产技术规程

DB51/T 1027 出口姬菇菌种

中华人民共和国农业部第62号令（2006） 食用菌菌种管理办法

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

3.1 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，也称一级种。

[GB/T 12728食用菌术语2.5.7]

3.2 原种 pre-culture spawn

由母种移植、扩大培养而成的菌丝体纯培养物，也称二级种。

[GB/T 12728术语和定义2.5.8]

3.3 栽培种 spawn

由原种移植、扩大培养而成的菌丝体纯培养物，也称三级种。栽培种只能用于栽培，不可再次扩大繁殖菌种。

[GB/T 12728术语和定义2.5.9]

4 生产条件

4.1 技术人员

按照《食用菌菌种管理办法》的规定配备生产技术人员和检验人员。

4.2 场地环境要求

应符合NY/T528的规定。

4.3 厂房设置与布局

4.3.1 设置

应设有各自隔离的原材料库、晒料场、配料分装场、灭菌间、冷却室、接种室、培养室、菌种检验室、菌种贮存室和出菇试验场等。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。

4.3.2 布局

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

4.4 设施设备

4.4.1 基本设施

4.4.1.1 原材料库

防潮防雨、通风、远离火源。

4.4.1.2 配料分装场

水电齐备，空间充裕，通风良好，地面便于冲洗。

4.4.1.3 灭菌间

水电齐备，空间充裕，通风散热。

4.4.1.4 冷却室

配备散热设备，墙壁和地面便于冲洗消毒。

4.4.1.5 接种室

配备降温、除尘设备，四周墙面及屋顶、地面光洁，可清洗消毒。

4.4.1.6 培养室

具有与生产量相适应的培养室面积。具备防蚊虫、鼠害设施，通风良好，无直射阳光，能密闭熏蒸消毒杀虫。部分培养室应具备控温设备和通风换气设备。

4.4.1.7 贮存室

具备低温贮存条件。

4.4.1.8 检验室

水电齐备，利于安装相应的检验设备和仪器。

4.4.2 基本设备

各类必须的称量用具、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。

5 生产工艺

5.1 菌种分级

菌种分为母种（一级种）、原种（二级种）、栽培种（三级种）。

5.2 母种

5.2.1 容器及试管塞

18mm×180mm 或20mm×200mm标准玻璃试管。试管塞为棉塞（梳棉制作）或硅胶塞。

5.2.2 工艺流程

原材料称量、处理→配制→分装→灭菌→冷却摆斜面→无菌检验→接种→培养→检验→成品。

5.2.3 培养基

5.2.3.1 培养基配方

见附录 A。

5.2.3.2 培养基配制

以配制1000ml PDA培养基为例，选无青皮、未发芽的新鲜马铃薯洗净、去皮、去芽眼，称取200g切成5mm厚的薄片。加水1200ml左右煮20~30分钟，煮至熟而不烂，用先预湿的4层纱布过滤。取滤液加入事先用热水软化的20g琼脂，边煮边搅拌至琼脂全部溶化。加入20g葡萄糖搅拌溶化，加水定容至1000ml。趁热分装，装量为试管长度的1/5~1/4，管口不能粘上培养基。

5.2.3.3 灭菌

将分装好的试管直立放入内锅，用牛皮纸包住棉塞，锅内要留有一定的空隙。检查锅内水位，及时灭菌。压力升到0.05Mpa时，打开放汽阀排除冷空气，如此重复一次。压力升至0.14MPa，安全阀自动放气后，恒压35min~40min。

5.2.3.4 摆斜面

灭菌结束，自然降压至零。打开锅盖，自然降温20 min~30 min，并利用余热烘干棉塞。将试管的一端斜放在1cm厚的木条上摆出斜面，斜面顶端距试管口不少于50mm。

5.2.4 灭菌效果检查

随机抽取数支母种培养基置于28℃恒温培养48h，无微生物长出，即为灭菌合格。

5.2.5 接种

5.2.5.1 接种室（箱）或净化工作台的消毒方法

清洁接种室（箱）后，用气雾消毒剂熏蒸，接种室熏蒸2h~3h，接种箱熏蒸30min。并用紫外灯照射。净化工作台台面先用75%酒精或其它消毒剂擦拭消毒，开机30min后接种。

5.2.5.2 接种操作

检查、核对菌种。接种人员的手用75%酒精棉球擦拭消毒，接种针和母种试管口用酒精灯火焰消毒。左手平托母种试管和待接种试管，并使管口位于火焰上方无菌区域，但不直接灼烧管口，用经火焰消毒并冷却后的接种针切取3 mm~5 mm×3 mm~5 mm的一块母种迅速转接于待接试管斜面中央，塞好试管塞。接完种及时贴好标签。

5.2.6 培养

接种后置于24℃~25℃的恒温培养箱内培养。定期检查，及时拣出污染和不合格菌种。

5.2.7 菌种质量

参照 DB51/T 1027 出口姬菇菌种的规定。

5.3 原种

5.3.1 容器及封口材料

使用750ml无色或近无色专用玻璃菌种瓶，或850ml~1000ml耐126℃高温白色半透明塑料菌种瓶。所有容器均应用棉塞或可满足滤菌和透气要求的无棉塑料盖封口。

5.3.2 工艺流程

按培养基配方备料→预湿和拌料→配制培养基→装瓶→高压灭菌→冷却（至30℃左右）→接种→培养、检查→成品。

5.3.3 培养基

5.3.3.1 培养基配方

见附录 B。所用原材料应符合 NY5099 的规定。

5.3.3.2 原材料处理

玉米芯、粉碎木屑等颗粒较大，吸水较慢的原材料要进行预湿处理。

5.3.3.3 培养料配制

按照配方量取各种原材料放入搅拌机内混合，糖和石灰等溶入水中加入，充分搅拌，混合均匀，严格掌控含水量60%~65%，调节pH值8~9。

5.3.3.4 装瓶

培养料装至瓶肩处，稍作压实，上紧下松，松紧适度。将瓶口和外瓶壁洗擦干净，封瓶口。

5.3.3.5 灭菌

装瓶完成后及时灭菌，压力升到0.05Mpa时，打开放汽阀排放冷气，直至锅内冷空气排净。压力升至0.14MPa开始计时，灭菌2.5h~3h。灭菌完毕后，应自然降压。

5.3.3.6 冷却

灭菌锅压力归零后，开锅取出菌种瓶，移入预先清洁和消毒的冷却室或接种室内冷却。待冷却至30℃左右准备接种。

5.3.4 接种室（箱）消毒

接种室（箱）用气雾消毒剂熏蒸，接种室熏蒸2h~3h，接种箱熏蒸40min，并用紫外线灯照射。接种前30min，用卫生消毒剂喷雾降尘消毒。

5.3.5 接种

接种的前一天应将需要接的菌种检查准备好。接种时再对菌种进行检查、核对，确保所接菌种无误。接种人员换上接种专用工作服。接种人员的手用75%酒精棉球擦拭消毒，接种钩和母种试管口用酒精灯火焰消毒。一人或两人操作，取下封口材料，将菌种瓶斜靠接种架上，瓶口位于火焰上方无菌区域，但不直接灼烧瓶口，用经火焰消毒并冷却后的接种钩切取12mm×12mm的一块母种迅速接入瓶内，封好瓶口，每支母种接原种3~5瓶。及时贴好标签标识。接种完毕，做好接种场所的清洁卫生并消毒。

5.3.6 培养

培养室内控制室温 22℃~25℃，空气相对湿度 60 %~70%，保持空气清新，避光培养。定期检查

菌种萌发情况，及时拣出污染和不合格菌种。

5.3.7 菌种质量

参照DB51/T 1027出口姬菇菌种的规定。

5.4 栽培种

栽培种与原种生产工艺基本相同，现将不同点表述如下：

——栽培种的容器还可选用规格为12cm~15cm×28 cm的折角聚丙烯菌种袋，或其它规格的菌种袋；

——菌种袋装料时要求袋面平整无皱褶，袋内料面无空隙，松紧适度，用手轻压袋面有弹性为宜；

——栽培种也可以采用常压灭菌。常压灭菌时，宜在4h内使灭菌锅内温度达100℃，保持恒温12h~16h；

——接种时，原种瓶的瓶口内外和外瓶壁用消毒液清洗消毒。瓶口表层菌种和已形成原基的部份要去掉不用，每瓶原种可接栽培种30瓶~50瓶。

5.5 入库

完成培养的菌种要及时登记入库并在适龄期使用。

5.6 记录

生产各环节应详细记录。

5.7 留样

各级菌种都应留样备查。各级菌种各个批次留样数量不得少于5支（瓶、袋），至该批菌种正常生产条件下出菇后方可处置。

地方标准信息服务平台

附 录 A
(资料性附录)
母种常用培养基及其配方

A.1 PDA培养基(马铃薯葡萄糖琼脂培养基)

马铃薯 200g(用浸出汁), 葡萄糖 20g, 琼脂 20g, 水 1000ml, pH 值自然。

A.2 马铃薯麦麸葡萄糖琼脂培养基

马铃薯 200g(用浸出汁), 麦麸 50g(用浸出汁), 葡萄糖 20g, 琼脂 20g, 水 1000ml, pH 值自然。

地方标准信息服务平台

附 录 B
(资料性附录)
原种和栽培种常用培养基及其配方

B.1 棉籽壳木屑玉米芯培养基

棉籽壳 30%，阔叶树木屑（不含芳香烃物质的树木，下同）27%，玉米芯 30%，麸皮 10%，石膏 1%，石灰 2%，含水量 65%。

B.2 木屑培养基

阔叶树木屑 76%，麸皮 20%，糖 1%，石膏 1%，石灰 2%，含水量 65%。

B.3 棉籽壳培养基

棉籽壳86%，麸皮10%，糖1%，石膏1%，石灰2%，含水量65%。

地方标准信息服务平台

地方标准信息服务平台