

ICS 65.020.20

B 38

备案号:

DB42

湖北省地方标准

DB 42/T 1272—2017

冬虫夏草培植技术规程

Technical regulations for cultivation of *Cordyceps sinensis*

(报批稿)

地方标准信息服务平台

2017 - 05 - 16 发布

2017 - 09 - 01 实施

湖北省质量技术监督局 发布

目 次

前言	III
引言	V
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 术语和定义	1
4 环境与设施	1
4.1 场地环境	1
4.2 培植厂房设施	2
4.3 土壤	2
4.4 植物饲料	2
4.5 水	2
4.6 土壤、饲料和水混合	2
5 工艺流程及技术要求	2
5.1 培植工艺流程图	2
5.2 虫种繁育	2
5.3 菌种培育	3
5.4 冬虫夏草培植	3
5.5 冬虫夏草采收及采后处理	4
6 生产管理及病虫害防治	4
6.1 环境维护	4
6.2 严格检疫	4
6.3 防止病害传播	4
附录 A (规范性附录) 冬虫夏草培植的消毒除菌方法	5
A.1 培植区域使用前消毒灭菌	5
A.2 培植区域日常消毒灭菌	5
A.3 进入培植区域器物消毒除菌	5
A.4 病、弱个体灭活处理	5
参考文献	6

前 言

本标准按照GB/T 1.1—2009《标准化工作导则 第1部分：标准的结构和编写》给出的规则编制。

本标准由湖北省农业科学院归口。

本标准起草单位：宜昌山城水都冬虫夏草有限公司、广东东阳光药业有限公司、西藏高原雪都冬虫夏草有限公司。

本标准主要起草人：李文佳、李全平、朱巧洪、钱正明、贺媛、李文庆、张宗耀、华献春。

地方标准信息服务平台

引 言

冬虫夏草目前在湖北省已经实现规模化产业培植。经查阅，冬虫夏草的培植技术尚无国家标准、行业标准和地方标准。为促进该产业的规范化生产，保证所生产产品质量的稳定可靠，满足市场消费者需要，从源头有效缓解冬虫夏草野生资源日益减少濒临灭绝的问题，特制定冬虫夏草培植技术规程。

地方标准信息服务平台

冬虫夏草培植技术规程

1 范围

本标准规定了冬虫夏草培植的术语和定义、环境与设施、工艺流程及技术要求、生产管理及病虫害防治等。

本标准适用于冬虫夏草的培植。

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 2762 食品安全国家标准 食品中污染物限量
- GB 2763 食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量
- GB 5749 生活饮用水卫生标准
- GB 50073 洁净厂房设计规范

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1 冬虫夏草 *Cordyceps sinensis*

冬虫夏草为麦角菌科真菌冬虫夏草菌 *Cordyceps sinensis* (Berk.) Sacc. 寄生在蝙蝠蛾科昆虫幼虫上的子座和幼虫尸体的复合体。待子座出土约3cm~7cm，子实体未成熟时挖取，除去似纤维状的附着物及杂质。冬虫夏草繁育品为模拟原生态条件下抚育而成的冬虫夏草。

3.2 虫种 host insect species

冬虫夏草的虫种蝙蝠蛾科昆虫属于鳞翅目Lepidoptera，有喙亚目Glossata，外孔次亚目Exoporia，蝙蝠蛾总科Hepialoidea。目前研究发现虫草蝙蝠蛾 *Hepialus armoricanus*、小金蝙蝠蛾 *Hepialus xiaojinensis*、比如蝙蝠蛾 *Hepialus biruensis*、蒲氏蝙蝠蛾 *Hepialus Pui*、玉树蝙蝠蛾 *Hepialus yushuensis* 等60种（邱乙等 2015）。

3.3 菌种 strain

冬虫夏草菌种为中国被毛孢 *Hirsutella sinensis* Liu, Guo, Yu-et Zeng (1989)，隶属于子囊菌门 Ascomycota 粪壳菌纲 Sordariomycetes 肉座菌目 Hypocreales 线虫草科 Ophiocordycipitaceae (Sung *et al.* 2007)。

4 环境与设施

4.1 场地环境

选择人力资源充足，交通便利，生态环境良好，水资源丰富，空气和水环境良好的场地。

4.2 培植厂房设施

厂房须符合GB 50073的洁净厂房要求。其中100万级洁净区面积占总面积的35%，10万级洁净区面积占总面积的34%，一般区间占总面积的31%。洁净区与周围的空间维持一定的压差，按工艺要求决定正压与负压差，气流分布均匀，高效过滤器的检漏大于99.97%，辅助车间采取通风措施，室内的静压值低于洁净区。温度调节范围可-10℃~25℃，相对空气湿度范围30%~99%，光照强度范围0 lx~100 000 lx。

4.3 土壤

a) 土壤要求

土壤有机质含量在3%~16%，pH 5.0~8.0之间，土壤粒径集中在0.05 mm~0.25 mm之间，壤质砂土，有少量的石砾，具强度生草腐殖质累积与弱度氧化还原特征。

b) 土壤处理

经过定点取样检测采集合格的土壤。土壤经流水线消毒后，调节至25%~55%之间的合适湿度，呈具有一定的凝聚性但不粘黏，透气良好的松散物理结构状态。采用规定的消毒检测流程可将土壤重复循环使用。

4.4 植物饲料

a) 植物饲料来源

所用的饲料应为冬虫夏草产区天然或种植的蓼科、蔷薇科、伞形科、百合科、毛茛科、桔梗科、豆科等科属植物的地下根茎部分（张泽锦等 2009；李文佳等 2016）；主要为蓼科的珠芽蓼、小大黄、圆穗蓼等，一般主根肥厚有时多须根（张泽锦等 2009；李文佳等 2016）。

b) 植物饲料要求

品质新鲜、无腐烂、无异味及杂质，有效利用率90%以上；重金属含量符合GB 2762；农药残留符合GB 2763。

4.5 水

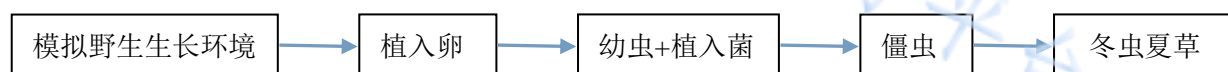
冬虫夏草的培植用水需要符合GB 5749。

4.6 土壤、饲料和水混合

仿照青藏高原冬虫夏草产地土壤及天然植物根茎空间分配结构，铺设培植土壤和饲料植物。土层厚度10 cm~30 cm。根据具体土壤质地与植物饲料根茎质量密度差别，单位范围内土壤与饲料重量比为1:0.5~1:2。

5 工艺流程及技术要求

5.1 培植工艺流程图



5.2 虫种繁育

5.2.1 建立野生蝙蝠蛾成虫繁育基地

在冬虫夏草产区建立成虫繁育基地。根据实际的气候状况，调整基地内土壤水分含量，增加可食植物的物种多样性与数量。

5.2.2 获得蝙蝠蛾卵

收集野生蝙蝠蛾成虫，使其集中交配产卵，收集蝙蝠蛾卵，在完全自然的生长状态下，完成卵、幼虫、蛹阶段的生长发育，蛹羽化为成虫，所产大量卵作为冬虫夏草培植的虫源。

5.3 菌种培育

5.3.1 采集原始菌

5、6月份，于冬虫夏草产区西藏、青海、四川采集优质冬虫夏草。从采集的冬虫夏草中分离菌种，经过菌种鉴定，确定为冬虫夏草菌 *Cordyceps sinensis* (Berk.) Sacc.，应用于生产。

5.3.2 培养基的组成

加富PDA培养基：20%去皮马铃薯煮沸30 min后过滤取滤液，葡萄糖2%~3%，酵母粉1%，蛋白胨0.5%，磷酸二氢钾0.1%，无水硫酸镁0.02%~0.025%，水，pH 6.5~6.8。

培养基的所有材料应符合相应标准和国家相关规定的要求。

5.3.3 1级培养

用接种针纵横切割斜面菌种为块状，挑取3 mm×3 mm的菌块按装量250 mL的量接种于500 mL容量的1级摇瓶中，匀浆机捣碎，摇床培养。通过生物量测定及微生物检测的结果剔除生长过慢及被污染的摇瓶。

5.3.4 2级培养

将1级培养的菌液按10%~20%的量扩至装量于500 mL的1000 mL容量的2级摇瓶中，如上培养，设置温度14℃~20℃，转速100 r/min~150 r/min，剔除生长过慢及被污染的摇瓶。

5.3.5 3~8级培养

与5.3.4同样方法扩至3~8级摇瓶，培养，通过生物量测定及微生物检测的结果剔除生长过慢及被污染的摇瓶。

5.3.6 发酵培养

将摇瓶菌液按体积比15%~20%接种量接入发酵罐中，再逐级发酵放大，进行生物量测定及微生物检测。取样检查是否污染，无污染则可用于生产。

5.3.7 侵染菌体调配

a) 菌丝的获得

洁净环境下，发酵菌液用离心机（1000 r/min, 15 min）获得菌丝。

b) 分生孢子的收集与计数

用接种针直接挑取不同部位的固体发酵菌丝块，并记下重量，用吐温80液洗下分生孢子，离心（1000 r/min, 15 min）收集，再用血球计数板在显微镜下计数，可计算平均每克固体培养基所含的冬虫夏草分生孢子量。

c) 高效侵染菌源的配制

按照子囊孢子50000个/L~80000个/L、分生孢子20000个/L~50000个/L、菌丝300 mg/L~600 mg/L的比例混合调配成高效侵染菌体。

5.4 冬虫夏草培植

5.4.1 寄主幼虫饲育

将蝙蝠蛾卵按照不同批次均匀投放于按4.6的规定备好的培植生态环境中,护理至90%以上寄主幼虫发育至4~6龄适宜侵染的龄期。龄期与幼虫的种类以及所用菌种的浓度与侵染力状态相关。

5.4.2 接种

冬虫夏草菌对蝠蛾幼虫的接种采用针刺、喂食、涂抹、浸泡及喷雾等方法,根据幼虫大小和菌的状态,采用一种或几种组合的接种方式。

5.4.3 接种后管理

接种后幼虫,待其状态恢复后,重新植入其培植环境中继续发育为僵虫,并长出子座,形成冬虫夏草。

5.5 冬虫夏草采收及采后处理

5.5.1 冬虫夏草的采收

待冬虫夏草子座出土3 cm~7 cm,子实体未成熟时,用特制的冬虫夏草采收工具小心拨开土层,将冬虫夏草连同其纤维状附着物一同取出,用特制的刷子轻柔刷去虫体表面的泥土、菌膜和虫卵,即获得冬虫夏草。

5.5.2 采收检验

剔除断草、瘪草、腐烂草。

5.5.3 冬虫夏草储存运输

保存和运输在低温环境下,温度控制在0℃以下,密封包装以防止虫害和鼠害,同时做好防撞措施。

6 生产管理及病虫害防治

6.1 环境维护

定期巡视检查,观察记录环境状况和幼虫、僵虫、鲜草生长发育状况,维持土壤和空气的温湿度,调整光照,定期进行空间消毒、除菌,维持环境洁净度。

6.2 严格检疫

采取预防为主,综合防治的方针。每一批冬虫夏草培植前均须将所使用的厂房区域进行彻底消毒除菌,进入生产培植厂区的原材料、器具等均需灭菌,有害病原菌白僵菌、绿僵菌、拟青霉菌不得于材料及环境中检出(方法见附录A)。

6.3 防止病害传播

各饲育单位相对隔离,禁止不同饲育空间的器具、物品等在未经消毒情况下交叉使用,严格防范幼虫传染病的发生和流行。及时清除发现的病、弱虫及病草等不健康个体,带离饲育区,作灭活处理(方法见附录A)。如发现病弱异常个体超过一定比例控制限,整个饲育单位灭活,清空,彻底消毒后,再次启用。

附录 A
(规范性附录)
冬虫夏草培植的消毒除菌方法

A.1 培植区域使用前消毒灭菌

采用二氧化氯消毒机进行空间消毒，二氧化氯浓度为 $10\text{ mg/m}^3\sim 15\text{ mg/m}^3$ ，消毒 $3\text{ h}\sim 4\text{ h}$ ，通风换气。检测沉降菌，合格后方可启用洁净区。

A.2 培植区域日常消毒灭菌

每周进行地面、墙壁和工作台的灭菌。用75%酒精纱布擦洗培养架、工作台。部分区域采用紫外照射 $20\text{ min}\sim 30\text{ min}$ 。

A.3 进入培植区域器物消毒除菌

布制品、小件玻璃、金属器物，高压蒸汽灭菌（ $121\text{ }^\circ\text{C}$ ， 20 min ）。

大件机械设备用75%酒精喷雾，擦拭表面或在厂房缓冲区紫外消毒，臭氧熏蒸 1 h 。

A.4 病、弱个体灭活处理

发现的病、弱个体须将其投入专用的封闭灭菌筒中，及时带离培植区域，用专用蒸汽灭菌锅，湿热灭菌法将其灭活，尸体远离厂区深埋处理。

地方标准信息服务平台

参 考 文 献

- [1] 邱乙, 程元柳, 彭成, 等. 中国冬虫夏草寄主昆虫研究[J]. 时珍国医国药, 2015, 26: 720~722;
- [2] Sung GH, Hywel-jones NL, Sung JM, et al. Phylogenetic classification of *Cordyceps* and the clavicipitaceous fungi[J]. *Studies in Mycology*, 2007, 57: 5-59;
- [3] 张泽锦. 叶萌. 周祖基. 等. 冬虫夏草寄主昆虫饲养研究进展[J]. 中草药, 2009. 40: 85~87;
- [4] 李文佳, 李全平, 魏再鸿, 等. 土壤和植物对冬虫夏草寄主昆虫规模化饲养的影响[J]. 菌物学报, 2016, 35: 467~475.
-

地方标准信息服务平台