

T/MSC003-2023

中国菌物学会团体标准

T/MSC003-2023

猪苓栽培用蜜环菌菌种生产技术规程 【征求意见稿】

2023-**-** 发布

2023-**-**实施

中国菌物学会发布

目 次

前 言	3
1. 范围	4
2. 规范性引用文件	4
3. 术语和定义	4
4. 菌种生产要求	4
5. 生产工艺流程	5
6. 培养基配制	5
7. 接种	6
8. 培养	6
9. 质量检验	7
10. 标志、包装、贮存、运输	7
11. 生产档案	8

征求意见稿2023-12

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》的规定编制。

本标准由中国菌物学会归口。

本标准起草单位：中国医学科学院药用植物研究所、留坝县猪苓科技专家工作站、留坝县农业技术推广中心。

本标准主要起草人：郭顺星、李兵、刘柳、周凌峰、李寿建、刘幽言、王小勇、韩彦斌、陈荣信、殷书学、张斌、殷书超

本标准首次发布时间：

征求意见稿2023-12

1. 范围

本标准规定了猪苓栽培用蜜环菌菌种生产场地、设施设备、生产流程、培养基配置、接种、培养、包装、贮存及运输各环节的关键控制点及技术参数。

本标准适用于猪苓栽培用蜜环菌菌种生产。

2. 规范性引用文件

下列文件对于本标准的应用是必不可少的。凡是注明日期的引用文件，仅所注明日期的版本适用于本标准。凡是不注明日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改版本）适用于本标准。

GB 4789.28-2013 食品微生物学检验 培养基和试剂的质量要求

NY/T 528-2010 食用菌菌种生产技术规程

NY/T 1742-2009 食用菌菌种通用技术要求

GB/T 191-2008 包装储运图示标志

食用菌菌种管理办法（2006年） 中华人民共和国农业部

3. 术语和定义

本标准界定的下列术语和定义适用于本文件。

3.1 菌株 strain

种内或变种内在若干遗传特性上有区别的微生物群体。

3.2 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，也称一级种、试管种。

3.3 原种 mother spawn

由母种移植、扩大培养而成的菌丝体纯培养物，也称二级种。

3.4 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。注：栽培种只能用于栽培，不可再次扩大繁殖菌种。

3.5 菌龄 period of spawn running

菌丝在培养基中生长的时间，即菌种自接种至使用之间的间隔时间。

4. 菌种生产要求

4.1 人员

经过专业培训、掌握蜜环菌基础知识及菌种生产技术规程要求的技术人员,含检验人员。

4.2 场地选择

蜜环菌菌种生产场地选择及其周边的环境卫生要求符合 NY/T 528-2010 的规定。

4.3 设施及布局

设施包括独立的摊晒场、原材料库、配料分装室(场)、灭菌室、冷却室、接种室、培养室、贮存室等。厂房的建造从结构和功能上满足猪苓栽培用蜜环菌菌种生产的基本需要,不同功能区的要求和布局符合 NY/T 528-2010 的规定。

4.4 设备

厂房设备包括磅秤、天平、搅拌机、装瓶装袋机、高压灭菌锅、常压灭菌锅、净化工作台、调温设备、培养架、冰箱等设备。

5. 生产工艺流程

培养基配制→接种→培养→质量检验→标志、包装、贮存、运输。

6. 培养基配制

6.1 培养基

6.1.1 原料要求

化学类试剂:葡萄糖等使用化学纯试剂。

生物制剂和天然材料:天然材料锯末、麦麸、树枝等新鲜、无虫害、无霉变,洁净干燥

6.1.2 培养基配方

母种培养基:PDA培养基(马铃薯葡萄糖琼脂培养基)

配方:马铃薯(去皮)200g,葡萄糖20g,琼脂15g,水1000ml。

原种培养基:锯末麦麸培养基

配方:壳斗科木屑75%,麦麸25%,含水量100%,pH值自然。

栽培种培养基:壳斗科枝条培养基,以青冈树枝条最佳。

配方:各种壳斗科的树枝,要求直径2厘米左右,断成长约5厘米的小段,用水浸泡24h后,装入700mL塑料瓶中,装入八分瓶高度,加水没过枝条。

培养基和试剂的质量应符合 GB 4789.28-2013 的规定。

6.2 分装

母种培养基分装到试管中,灌入量为试管总容积的1/5~1/4;原种和栽培种培养基灌入

700mL 耐高温塑料瓶中 2/3 ~ 3/4 位置。容器、棉塞或者无棉塑料盖标准符合 NY/T 528-2010 要求。

6.3 灭菌

母种培养基在高压灭菌锅内, 121C° ~ 126C°(0.103MPa ~ 0.137MPa)下灭菌 15 ~ 30min。原种和栽培种培养基 0.12MPa, 3h。灭菌完毕后自然降压。灭菌效果应符合 NY/T 528-2010 的规定。

6.4 冷却

将母种培养基置于超净工作台中, 冷却制成斜面。将原种和栽培种培养基置于已消毒的接种室摆放整齐, 冷却至室温备用。

6.5 灭菌效果检查

母种培养基置于 28C°恒温培养; 原种和栽培种培养基在无菌条件下, 挑取碎片接种至 PDA 培养基中, 于 28C°恒温培养。48h 后检查, 无微生物生长的即为灭菌合格。

7. 接种

7.1 接种室消毒

紫外灯照射 30 min。

7.2 超净工作台消毒

75%酒精棉擦拭工作台表面, 紫外灯照射 20 min-30 min。

7.3 接种

母种接种 接种菌块直径 3-5mm 于培养皿或斜面试管斜面的中部, 封口膜或棉塞封口。

原种接种: 每瓶原种培养基中接种母种 1-2 块, 直径 2-3cm。

栽培种接种: 从容器开口处, 每瓶栽培种培养基中接种原种不少于 15g。

8. 培养

8.1 培养条件

培养室控温 23 ~ 27C°, 空气相对湿度 60% ~ 70%、通风、避光培养。

8.2 培养时间

母种培养 7 ~ 14d 至长满培养基; 原种培养 25 ~ 30d、栽培种培养 40 ~ 50d 至长满培养基。

8.3 培养管理

定期检查菌种生长情况, 一般在接种后的第 4、7、11 天检查, 及时挑出容器破损、未

成活、污染、生长不良等的试管和菌袋。

9. 质量检验

9.1 检验数量

母种每支均进行检验。原种、栽培种抽样量分别为该批菌种量的 5%、1%，且每批抽样量不应少于 10 瓶。

9.2 质量要求

母种：容器无破损，菌株无杂菌感染；菌丝体颜色纯正，可见少量黄色分泌物；菌索健壮，分枝多而密。

原种和栽培种：菌丝、菌索长满瓶体，长势旺盛；菌索紧贴瓶壁不收缩，无老化变色；菌索健壮，分枝多而密；水分适宜；可见黄色分泌物。

9.3 微生物检验

杂菌检验应按照 NY/T 1742 的相关规定进行。

9.4 留样

各级菌种留样备查，留样的数量为每个批号菌种 3 个（支、瓶、袋）~5 个（支、瓶、袋），置于 4℃ 冷藏，贮存至使用者在正常条件下培育出蜜环菌。

10. 标志、包装、贮存、运输

10.1 标志

10.1.1 产品标签

符合下表规定。

猪苓栽培用蜜环菌菌种质量要求

菌种名称		菌株名称	
菌种类别		传代次数	
生产单位（盖章）		采购单位（盖章）	
菌种数量		接种日期	
检验结果	合格菌种：支/瓶		
检验意见			
证书签发期		证书有效期	
检验单位			
注：本证一式三份，生产单位、采购单位、检验单位各一份			

审核人（签字）： 校核人（签字）： 检测人（签字）：

10.1.2 包装储运图示标志

符合 GB/T191-2008 规定。

10.2 包装

应符合 NY/T 1742-2009 的相关要求。

10.3 贮存

10.3.1 菌种贮存室（冰箱）不应有毒、有害、有异味、易挥发、易腐蚀物品。

10.3.2 母种贮存于 4~6℃ 冰箱中，菌龄不超过 6 个月。

10.3.3 原种贮存在 10~20℃ 的阴凉处，菌龄不超过 3 个月。

10.3.4 栽培种贮存温度低于 25℃，清洁、通风、干燥、避光的阴凉处存放，菌龄不超过 12 个月。

10.4 运输

栽培菌种宜在栽培季节运输，运输过程中避光、避雨水和高温，防止破损、污染，不应与有毒有害物品混装。

11. 生产档案

菌种生产单位和个人应当建立菌种生产档案，经营档案应当保存至菌种销售后 2 年。