

DB62

甘 肃 省 地 方 标 准

DB62/T XXXX-XXXX

大球盖菇菌棒生产技术规程

2020-XX-XX 发布

2021-XX-XX 实施

甘肃省市场监督管理局

发布

目次

前言	1
1 范围	2
2 规范性引用文件	2
3 术语和定义	2
4 厂区布局	3
6 设备设施	3
7 母种生产	3
8 原种、栽培种生产	5
9 检验、入库及留样	5
10 附录A	8
11 附录B	9

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》的规定编写。

本文件由甘肃省农业农村厅提出、归口并监督实施。

本文件主要起草单位：甘肃省科学院生物研究所、定西市农业科学研究所、甘肃省药品监督管理局、甘肃省经济作物技术推广站。

本文件主要起草人：杨阿丽、冉永红、高凤、路等学、赵玉卉、郭瑞、谢江波、张学斌、陈小丽、叶丙鑫、何万春。

本文件为首次发布。

本文件由甘肃省科学院生物研究所负责解释。各单位或个人在执行本文件过程中如发现需要修改和补充之处，请随时将意见和建议反馈至甘肃省科学院生物研究所编著组（地址：甘肃省兰州市城关区定西南路 197 号，邮政编码：730000，E-mail: aliyang1012@163.com，联系方式：18993035777），以供今后修订时参考。

大球盖菇菌棒生产技术规程

1 范围

本文件规定了大球盖菇菌棒生产的术语与定义、厂区布局、设备设施、母种生产、原种和栽培种生产、检验、入库及留样的技术要求。

本文件适用于大球盖菇（*Stropharia rugosoannulata*）菌棒的生产。

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 150.4	压力容器 第4部分制造、检验和验收
GB 3095	环境空气质量标准
GB/T 12728	食用菌术语
NY/T 528	食用菌菌种生产技术规程
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
NY/T 5010	无公害农产品 种植业产地环境条件

3 术语与定义

GB/T 12728 界定的以及下列术语和定义适用于本文件。

3.1 大球盖菇 *Stropharia rugosoannulata*

大球盖菇（*Stropharia rugosoannulata*）隶属于担子菌亚门（*Basidiomycotina*）层菌纲（*Hymenomycetes*）伞菌目（*Agaricales*）球盖菇科（*Strophariaceae*）球盖菇属（*Stropharia*），其菇体朵大，酒红色，菌盖半球形，直径约6 cm~10 cm。

3.2 菌种 culture

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 接种 inoculation

将菌种转接到培养基中的操作。

4 厂区布局

4.1 选址

选择地势平坦、排灌方便、通风良好、交通便利的地址。周围无堆放生活垃圾或填埋场，无畜禽养殖场，无工业固体废弃物和危险废弃物堆放或填埋场等。环境要求符合 GB 3095 中环境空气二类区质量要求以及 NY/T 528 和 NY/T 5010 中对产地环境的规定。

4.2 布局

规划应有堆料场、原料库、拌料区、装袋区、灭菌区、冷却区、接种区、培养区、恒温库等。

5 设备设施

5.1.1 根据生产需要进行配备，基本设备应有超净工作台、恒温培养箱、拌料机、装袋机、常/高压蒸汽锅炉等。压力容器应符合 GB/T 150.4 的规定并经政府有关部门检验合格。

5.1.2 堆料场应远离火源，并具有防雨措施；原料库要通风良好、干燥、地面用垫仓板隔离；拌料区、装袋区、灭菌区采用半封闭式厂房，能遮阳、避雨；冷却区、接种区、培养区采用全封闭式厂房，对温度、光照、湿度、通风等环境条件可进行人工调控。

6 母种生产

6.1 培养基

参见附录 A

6.2 容器

试管选用 18mm × 180mm 或 20mm × 200mm 的规格；培养皿选用 9cm 玻璃培养皿或一次性塑料培养皿。

6.3 培养基分装及灭菌

6.3.1 培养基分装及灭菌

分装培养基至试管 1/4 处，用棉塞（梳棉）或硅胶塞封闭试管口，每 7 支试

管为 1 把,牛皮纸包棉塞,橡皮筋扎紧,棉塞向上置于灭菌锅中。 121°C (0.11MPa) 下灭菌 30min。

灭菌后温度冷却至 $(65\pm 5)^{\circ}\text{C}$ 时,在空气清洁的室内摆斜面,斜面长度在试管的 $2/3$ 处。待冷却凝固后,从摆好斜面的试管中抽取 3%~5%的试管, 28°C 恒温培养 48h,无微生物长出为灭菌合格。

6.3.2 平板培养基分装及灭菌

将培养基装入 500ml 三角瓶至刻度的 $2/3$ 处,用封口膜封口后置于灭菌锅中。玻璃培养皿 10 个一组,用报纸包好后放入灭菌锅中。 121°C (0.11MPa) 下灭菌 30min。

灭菌后温度冷却至 $(65\pm 5)^{\circ}\text{C}$ 时,在超净工作台上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 $1/3\sim 1/2$,待冷却凝固后备用。

空气清洁的室内摆斜面,斜面长度在试管的 $2/3$ 处。从摆好斜面的试管中抽取 3%~5%的试管, 28°C 下恒温培养 48h,无微生物长出为灭菌合格。

6.4 接种

在超净工作台接种。接种前用紫外线灯照射 30min,之后用 75%酒精进行表面消毒。

接种过程严格执行无菌操作,接种后贴好标签,做好记录。

取 3mm~5mm 的菌块接种至培养皿或试管的中部。培养皿需用石蜡膜或封口膜密封。

6.5 培养

接种后将试管或培养皿置于恒温培养箱中, $20^{\circ}\text{C}\sim 26^{\circ}\text{C}$ 恒温避光培养。

接种后第 3 天、第 5 天和长满培养基后分别进行逐个检验,保留菌丝生长健壮、洁白、浓密,菌落边缘整齐,无分泌物的母种。

7 原种、栽培种生产

7.1 培养基

参见附录 B

7.2 容器

原种采用 750ml 及以下、瓶口直径 $\leq 4\text{cm}$ 、耐 126°C 高温的透明菌种瓶。

栽培种采用 $(15\sim 17)\text{cm} \times (33\sim 35)\text{cm} \times (0.04\sim 0.05)\text{mm}$ 的聚丙烯塑料袋。

7.3 装瓶（袋）

采用装瓶（袋）机或人工进行装瓶（袋），瓶（袋）培养基中央插入直径 $1\text{cm}\sim 1.5\text{cm}$ 长 $8\text{cm}\sim 12\text{cm}$ 的接种棒，每瓶（袋）装培养基 $500\text{g}\sim 600\text{g}$ 。

7.4 灭菌

培养基装瓶（袋）后 4h 内进行灭菌，灭菌可分为高压灭菌和常压灭菌。

高压灭菌：组合培养料在 $121^{\circ}\text{C}\sim 124^{\circ}\text{C}$ ($0.11\text{MPa}\sim 0.14\text{MPa}$) 灭菌 2.5h；粮食培养基在 $121^{\circ}\text{C}\sim 124^{\circ}\text{C}$ ($0.11\text{MPa}\sim 0.14\text{MPa}$) 灭菌 3h。

常压灭菌：3h 内使温度达到 100°C ，在 100°C 下持续灭菌 12h。

7.5 接种

在超净工作台接种。接种前用紫外线灯照射 30min，之后用 75%酒精进行表面消毒。

每瓶原种接入粒径 $2\text{cm}\sim 3\text{cm}$ 大小的母种 1 块~2 块；每袋栽培种接入原种量不得少于 15g。

接种过程严格执行无菌操作，每批接种应为单一品种，如中途换品种需要对超净工作台进行表面擦拭消毒。

7.6 培养

培养温度在 $22^{\circ}\text{C}\sim 26^{\circ}\text{C}$ ，空气湿度在 75%以下，通风避光培养。

7.7 贮存

原种和栽培种在 $0^{\circ}\text{C}\sim 4^{\circ}\text{C}$ 下贮存，贮存期不超过 50d。

8 检验、入库及留样

8.1 检验

8.1.1 母种感官要求

见表 1。

表 1 大球盖菇母种感官要求

项目	要求
容器	完整、无破损、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	试管总容积的 1/4，培养皿高的 1/3~1/2
菌丝生长量	长满斜面或平板
菌丝体特征	健壮、洁白、浓密
菌丝体表面	均匀、舒展、平整
菌丝体分泌物	无
菌落边缘	整齐
杂菌菌落	无
斜面背面外观	培养基不干缩，颜色均匀，无暗斑、无色素、

8.1.2 原种、栽培种感官要求

见表 2。

表 2 大球盖菇原种、栽培种感官要求

项目	要求
容器	完整、无破损、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
培养基上表面距瓶口的 距离	(50±5) mm
菌丝生长量	长满容器
菌丝体特征	健壮、洁白、浓密
培养基表面菌丝体	生长均匀、无高温抑制线
培养基及菌丝体	紧贴瓶壁、无干缩
菌丝体分泌物	无
杂菌菌落	无
子实体原基	无

8.2 入库

检验参照 NY/T 1731 和 NY/T 1742。菌种检验完成后应及时入恒温库，详细记录各生产环节，温度保持在 0℃~4℃，适当通风但应对空气进行消毒。

菌种在库种贮存时间不应长于 50d，贮存时间超过 50 的母种应进行出菇检验后进行后续生产。

8.2 留样

母种应留样，每批次留样 3 支试管，0℃~4℃贮存，贮存至购买者正常生产出第一潮菇。

附录 A

(资料性附录)

母种常用培养基

A.1 新鲜无霉变的麦粒 100g 加水 1200ml 煮沸 15min，取滤液加入硫酸镁 (MgSO_4) 0.5g、磷酸二氢钾 (K_2HPO_4) 1g、蛋白胨 1g、葡萄糖 10g、蔗糖 10g、琼脂 18g (用少量凉水调成糊状) 定容至 1000ml，pH 自然。

A.2 新鲜无病去皮马铃薯 200g 加水 600ml 煮沸 20min，取滤液待用；新鲜无霉变的麦粒 100g 加水 600ml 煮沸 15min，取滤液待用；两种滤液混合后加入硫酸镁 (MgSO_4) 0.5g、磷酸二氢钾 (K_2HPO_4) 1g、蔗糖 10g、琼脂 18g (用少量凉水调成糊状) 定容至 1000ml，pH 自然。

A.3 新鲜无病去皮马铃薯 200g 加水 1200ml 煮沸 20min，取滤液加入磷酸二氢钾 (K_2HPO_4) 1g、蛋白胨 1g、葡萄糖 20g、琼脂 18g (用少量凉水调成糊状) 定容至 1000ml，pH 自然。

A.4 新鲜无病去皮马铃薯 200g 加水 1200ml 煮沸 20min，取滤液加入葡萄糖 20g、琼脂 18g (用少量凉水调成糊状) 定容至 1000ml，pH 自然。

附录 B

(资料性附录)

原种、栽培种常用培养基

- B.1** 麦粒、玉米、高粱等谷粒 98%，石膏粉 1%，碳酸钙 2%，含水量 65%，pH6.0~7.0。
- B.2** 杂木屑 84%，麦麸 15%，石膏粉 1%，含水量 65%，pH6.0~7.0。
- B.3** 麦粒 25%，麦草(麦壳)64%，麦麸 10%，石膏粉 1%，含水量 65%，pH6.0~7.0。