

ICS 65.020.20
CCS B 39

DB32

江苏省地方标准

DB32/T 4526—2023

双孢蘑菇菌种工厂化生产技术规程

Code of practice for spawn factory production of
Agaricus bisporus

2023-07-25 发布

2023-08-25 实施

江苏省市场监督管理局 发布
中国标准出版社 出版

目 次

前言	Ⅲ
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 术语和定义	1
4 技术要求	1
5 生产工艺	3
6 质量控制与检验	4
7 标签、标志、包装、运输及贮存	5
附录A(资料性) 双孢蘑菇各级菌种的常用培养基配方	7
附录B(资料性) 双孢蘑菇各级菌种培养质量要求	8

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。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由江苏省农业农村厅提出并归口。

本文件起草单位：江苏省农业技术推广总站、江苏蕈源种业科技有限公司、江苏省质量和标准化研究院。

本文件主要起草人：顾鲁同、马金骏、宋金梯、夏冬健、曹思齐、曹艳芳、陆敬利、曾晓萍。

双孢蘑菇菌种工厂化生产技术规程

1 范围

本文件规定了双孢蘑菇菌种工厂化生产的技术要求、生产工艺、质量控制与检验及标签、标志、包装、运输和贮存。

本文件适用于双孢蘑菇菌种工厂化生产。

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 191 包装储运图示标志
- GB/T 12728 食用菌术语
- GB 19171 双孢蘑菇菌种
- GB 50072 冷库设计规范
- GB 50073 洁净厂房设计规范
- NY/T 528 食用菌菌种生产技术规程
- NY/T 1742 食用菌菌种通用技术要求

3 术语和定义

GB/T 12728 界定的以及下列术语和定义适用于本文件。

3.1

批次 **spawn batch**

同一来源、同一品种、同一培养基配方、同一天接种、同一培养条件和质量基本一致的符合规定数量的菌种。

注:每批次数量母种 ≥ 50 支试管(或培养皿)、原种 ≥ 50 瓶(袋,0.5 kg计)、栽培种 $\geq 2\ 000$ 袋(0.5 kg计)。

4 技术要求

4.1 菌种厂条件

4.1.1 厂区选址

地势高燥、通风良好、排水畅通、交通便利。1 000 m 之内无规模养殖的禽畜舍、垃圾和粪便堆积场,无污水、废气、废渣、烟尘和粉尘污染源,500 m 内无食用菌栽培场、集贸市场。

4.1.2 厂房布局

4.1.2.1 总体要求

厂区应设置摊晒场、原材料库、配料分装室(场)、灭菌室、冷却室、接种室、培养室、检验室、冷藏库等。应符合 NY/T 528 的规定。

4.1.2.2 摊晒场

应地面平整、光照充足、空旷宽敞、相互隔离、远离火源。

4.1.2.3 原材料库

应防雨防潮、防虫、防鼠、防火、防杂菌污染。

4.1.2.4 配料分装室(场)

水电方便,空间充足。用于拌料机、装袋机等大型机具作业。

4.1.2.5 灭菌室

水电安装合理,操作安全,应用高温高压自动化控制灭菌柜,灭菌柜进、出口分离。

4.1.2.6 冷却室

配套安装新风输送系统,冷却室与外界隔绝,具备空气万级净化度,洁净、无尘、制冷散热。应符合 GB 50073 的规定。

4.1.2.7 接种室

配套安装新风输送系统,新风口处新风长期开通,保持室内风压高于室外。接种平台上层流罩下空气净化程度应达百级,内壁和地面光滑,易于清洗和消毒。应符合 GB 50073 的规定。

4.1.2.8 培养室

配套新风输送系统,空气净化程度达万级,温度自动控制;内壁和房屋顶部光滑,便于清洗和消毒;墙壁厚度适当。应符合 GB 50073 的规定。

4.1.2.9 检验室

配套新风输送系统。应符合 GB 50073 的规定。

4.1.2.10 冷藏库

应符合 GB 50072 的要求。

4.2 培养容器

4.2.1 使用原则

每批次菌种的容器规格保持一致。

4.2.2 母种培养容器

使用 20 mm×200 mm 规格玻璃试管,或直径 9 cm 的培养皿。棉塞应使用梳棉或化纤棉,也可用硅胶塞代替棉塞,不可使用脱脂棉。

4.2.3 原种培养容器

使用耐 126 °C 高温、不影响观察菌丝生长情况的带盖塑料瓶或玻璃瓶,或耐 126 °C 高温、具孔径 0.2 μm~0.5 μm 透气膜的聚丙烯塑料袋。

4.2.4 栽培种培养容器

使用尺寸≥18 cm×34 cm,耐 126 °C 高温的聚丙烯塑料折角袋,或耐 126 °C 高温、具 0.5 μm~1.5 μm 孔径透气膜的聚丙烯塑料袋。

4.3 培养基原料

4.3.1 化学试剂类

化学试剂类原料如硫酸镁、磷酸二氢钾等,应使用化学纯或以上级别的试剂。

4.3.2 生物制剂和天然材料类

生物制剂,如酵母粉和蛋白胨;天然材料,如棉籽壳、麦麸等。原料应新鲜、无霉变、洁净、干燥。

4.4 人员要求

生产技术人员、检验人员应取得菌种生产检验所需相应资质。

5 生产工艺

5.1 工艺流程

5.1.1 母种生产工艺流程

培养基配制→高压灭菌→冷却→接种→培养→成品→冷贮。

5.1.2 原种、栽培种生产工艺流程

培养基配制→浸泡→蒸煮→分装→灭菌→冷却→接种→培养→成品→装箱→冷贮→冷链运输。

5.2 培养基配方

配方见附录 A。

5.3 装料

5.3.1 原种培养基装料

宜用 850 mL 耐高温塑料瓶、玻璃瓶,装料 500 g 后,擦洗瓶口旋紧瓶盖;或 18 cm×40 cm,具孔径 0.2 μm~0.5 μm 透气膜的聚丙烯塑料袋,装料 1 000 g,料装好后折下袋口与并排的菌袋靠紧。

5.3.2 栽培种培养基装料

宜用 18 cm×34 cm 聚丙烯塑料折角袋,装料 1 000 g 后,套上盖子;或 40 cm×60 cm,具孔径 0.5 μm~1.5 μm 透气膜的聚丙烯塑料袋,装料 2 500 g,装料后折下袋口与并排菌袋靠紧。

5.4 灭菌

应在培养基配制完成后 4 h 内进行灭菌。母种培养基灭菌条件:0.11 MPa~0.12 MPa,121 ℃,50 min。原种培养基、栽培种培养基灭菌条件 0.14 MPa~0.15 MPa,2.5 h,121 ℃。装料容量较大时,灭菌时间要适当延长。

5.5 冷却

灭菌完毕并降温后,将料拖出灭菌柜。待接种的原种瓶(袋)或栽培种瓶(袋),经冷却到 25 ℃±1 ℃,及时接种。

5.6 接种

5.6.1 接种准备

接种前 15 h 内,将接种室室内空间和地面进行消毒,接种 2 h 前开启室内循环风净化空气。接种人员在准备室穿上防护工作服,经过风淋门进入接种室。

5.6.2 接种方法

在无菌室内百级空气净化工作台上按无菌操作程序接种。用塑料盖子的菌种,开盖接种时间不超过 5 s。用无菌透气膜的聚丙烯塑料袋接种,原种接入一块约 1.5 cm×1.5 cm 母种,栽培种播入约 50 g 菌种,及时将袋口用封口机封闭,并将袋内菌种与培养料摇匀,整理好菌袋竖立于周转筐中。每一筐培养容器应接同一菌株,接种完成后及时贴好标签。

5.6.3 接种后处理

接种后,要及时清理,扫除废物,应用吸尘器吸除灰尘,并擦洗消毒传送带和地面。

5.7 培养

不同菌株应分区分室培养。培养室使用前 1 d~2 d,进行清洁消毒并开启新风系统。在发菌 12 d 内室内温度控制 24 ℃±1 ℃,发菌 13 d~30 d 温度控制 21 ℃±1 ℃,发菌 30 d 至菌丝长满温度控制 19 ℃±1 ℃。保持空气相对湿度 60%,二氧化碳浓度 $5\,000\times 10^{-6}$,黑暗培养。

5.8 入库

当菌丝长满时,应及时整架移入冷库贮存。

6 质量控制与检验

6.1 品种与种源质量检验

6.1.1 品种

从具有相应技术资质的供种单位引种,且种性清楚。不应使用来历不明、种性不清的菌种和生产性状未经系统试验验证的组织分离物作种源生产的菌种。

6.1.2 种源质量检验

母种生产单位每年在种源进入扩大生产程序之前,应进行菌种质量和种性检验,包括纯度、活力、菌丝长势一致性、菌丝生长速度、菌落外观等,做出菇试验,验证种性。种源出菇试验方法及种源质量应符合 NY/T 1742 的规定。

6.2 扩繁移植

1 支母种扩大繁殖不应超过 20 支母种,扩繁代数不应超过 5 代。1 支母种移植扩大原种不应超过 6 瓶(袋);1 瓶(袋)原种移植扩大栽培种不应超过 50 瓶(袋)。

6.3 灭菌效果检验

母种培养基随机抽取 3%~5% 的试管,直接置于 28℃ 恒温培养;原种和栽培种培养基按每次灭菌的数量随机抽取 1% 作为样品,挑取其中的基质颗粒经无菌操作接种于 PDA 培养基中,于 28℃ 恒温培养。48 h 后检查,无微生物长出的为灭菌合格。

6.4 培养质量要求

各级菌种培养质量要求见附录 B,应符合 GB 19171 的规定。

6.5 记录

生产各个环节都应有详细记录,建立菌种可追溯制度,保存记录至此批菌种栽培出菇采收结束。

6.6 留样

各级菌种都应留样备查,留样的数量应以每个批号 2 支(瓶、袋),母种于 4℃±1℃ 贮存;原种和栽培种于 5℃±1℃ 贮存,贮存至少 120 d。

7 标签、标志、包装、运输及贮存

7.1 标签、标志

出售的菌种应贴标签,注明品种名称、菌种级别、接种日期、生产单位、地址电话等。外包装上应有防晒、防潮、防倒立、防高温、防雨、防重压等标志,标志应符合 GB/T 191 规定。

7.2 包装

母种的外包装用木盒或有足够强度的纸盒,原种和栽培种的外包装使用有足够强度的纸箱。盒(箱)

内除菌种外的空隙用轻质材料填满塞牢。

7.3 运输

各级菌种运输时不应与有毒有害物品混装混运。运输中应做好防晒、防潮、防雨、防冻、防高温及防止杂菌污染等措施,当气温高于 20℃时应使用冷链运送。

7.4 贮存

应在干燥、低温、无阳光直射、无污染的冰箱或冷库中贮存。母种置于 4℃±1℃冰箱、原种和栽培种置于 5℃±1℃的冷库内贮存,母种贮存期不超过 90 d,原种贮存期不超过 40 d,栽培种贮存期不超过 90 d。

附录 A

(资料性)

双孢蘑菇各级菌种的常用培养基配方

A.1 母种培养基

使用马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA)或综合马铃薯葡萄糖琼脂培养基(CPDA),加上3%发酵草料水煮液,pH值6.5~7.0。

A.2 原种培养基

A.2.1 小米棉籽壳培养基

小米20%~40%,棉籽壳发酵料55%~75%,生石灰2%,碳酸钙3%,含水量55%~60%,pH值8~9。

A.2.2 棉籽壳麦麸培养基

棉籽壳和麦麸发酵料98%,石灰2%,含水量50%~55%,pH值8~9。培养料装瓶填料要松紧适度,瓶中间打一小孔。

A.3 栽培种培养基

A.3.1 小麦棉籽壳

红皮小麦86%,棉籽壳发酵料10%,生石灰1%,碳酸钙3%,经浸泡后小麦含水量43%,浸泡后的小麦经100℃蒸煮,蒸煮后小麦含水量45%,棉籽壳发酵料含水量52%,pH值8~9。

A.3.2 小米棉籽壳

小米35%,棉籽壳发酵料60%,生石灰2%,碳酸钙3%,含水量46%~50%,pH值8~9。

附 录 B

(资料性)

双孢蘑菇各级菌种培养质量要求

双孢蘑菇各级菌种培养质量要求见表 B.1。

表 B.1 双孢蘑菇各级菌种培养质量要求

菌种	菌丝	菌落或培养基	培养物镜检	气味	培养周期
母种	菌丝体洁白或米白、浓密、羽毛状或叶脉状,菌丝体表面均匀、平整、无角变,无菌丝分泌物	菌落边缘整齐,无膏状、蜡状细菌或酵母菌菌落及霉菌菌落	镜检菌丝粗壮,无杂菌菌丝及孢子,无虫及虫卵	有双孢蘑菇菌种特有的香味,无酸、臭、霉等异味	在适温(24℃±1℃)下,15 d~20 d长满试管(或培养皿)
原种	菌丝体洁白浓密、生长旺健,培养物表面菌丝体生长均匀,无角变,无高温圈,培养基及菌丝体紧贴瓶壁,无干缩	培养物表面无分泌物,无拮抗现象	菌丝粗壮、无杂菌菌丝和孢子、无虫及虫卵	有双孢蘑菇菌种特有的香味,无酸、臭、霉等异味	在适温(24℃±1℃)下菌丝长满瓶不超过45 d,透气袋不超过20 d
栽培种	菌丝体洁白浓密、生长旺健,不同部位菌丝体生长均匀,无角变,无高温圈,索状菌丝明显	培养基及菌丝体紧贴瓶(袋)壁,无收缩,培养物表面无分泌物,无各种杂菌孢子、菌丝无拮抗现象	菌丝粗壮、无杂菌菌丝和孢子、无虫及虫卵	有双孢蘑菇菌种特有的香味	在适温(24℃±1℃)下菌丝长满菌种袋不超过45 d,透气袋不超过20 d