

ICS 65.020.20

B 39

中华人民共和国国家质量监督
检验检疫总局备案号：44307-2015

DB53

云南省地方标准

DB53/T 661—2014

茶树菇菌种

2014 - 12 - 18 发布

2015 - 02 - 18 实施

云南省质量技术监督局 发布

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》给出的规则起草。

本标准由云南省食用菌标准化技术委员会（YNTC 15）提出并归口。

本标准起草单位：中华全国供销合作总社昆明食用菌研究所、云南省供销合作社科学研究所。

本标准主要起草人：桑兰、罗孝坤、徐俊、李洁实、董娇、朱萍。

茶树菇菌种

1 范围

本标准规定了茶树菇菌种的相关术语和定义、质量要求、试验方法、检验规则及标签、标志、包装、运输、贮存等。

本标准适用于茶树菇菌种的生产、流通和使用。

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/T191 包装储运图示标志

GB 4789.28-2013 食品安全国家标准 食品微生物学检验 培养基和试剂的质量要求

3 术语和定义

GB/T 12728-2006界定的以及下列术语和定义适用于本文件。为了便于使用，以下重复列出了GB/T 12728-2006中的一些术语和定义。

3.1

茶树菇

茶树菇 (*Agrocybe cylindracea*) 又称杨树菇、茶薪菇、柳松茸、柱状田头菇等，其中白色的茶树菇又称雪莲菇，隶属担子菌亚门，层菌纲，无隔担子菌亚纲，伞菌目，粪锈伞科，田蘑属。生产上有褐色和白色两个品种。褐色品种特征：子实体单生或丛生；菌盖表面平滑，呈浅土黄色至暗红褐色；菌褶污黄褐色；菌柄较长，脆嫩，纤维质，表面有纤维状条纹，近白色；内菌幕膜质，开伞后菌环留在菌柄上部或沾附于菌盖边缘或自动脱落。

3.2

母种

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、试管种。

[GB/T 12728-2006, 定义2.5.7]

3.3

原种

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 12728-2006, 定义2.5.8]

3.4

栽培种

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

[GB/T 12728-2006, 定义2.5.9]

3.5

颞颞现象

具有不同遗传基因的菌落间相互抑制产生不生长区带或形成不同形式线行边缘的现象。

[GB/T 12728-2006, 定义2.3.21]

3.6

角变

因菌丝体局部变异或感染病毒而导致菌丝变细、生长缓慢、菌丝体表面特征呈角状异常的现象。

[GB/T 12728-2006, 定义2.5.17]

3.7

高温圈

食用菌菌种在培养过程中受高温和通气不足的不良影响,培养物出现的圈状发黄、发暗或菌丝变稀弱的现象。

[GB/T 12728-2006, 定义2.5.18]

3.8

生物学效率

单位质量培养料的风干物质所培养产生出的子实体或菌丝体质量(鲜重),常用百分数表示。如风干料100 kg产生了新鲜子实体50 kg,即生物学效率为50%。

[GB/T 12728-2006, 定义2.1.27]

3.9

锁状联合

一种锁状桥接的菌丝结构,是异宗结合担子菌次生菌丝的特征。

[GB/T 12728-2006, 定义2.2.5]

3.10

菌丝自溶

因生理原因导致的菌丝体被自身代谢的酶所溶解的现象。

3.11

脱壁

因菌龄过长或其他原因导致的菌丝体萎缩、培养料脱水收缩而脱离容器壁的现象。

4 质量要求

4.1 母种

4.1.1 感官要求

应符合表1规定。

表1 母种感官要求

项目	要求
容器(玻璃试管)	完整、无损(18 mm×180 mm或20 mm×200 mm)
棉塞或硅胶塞	干燥、洁净,松紧适度,能满足透气和滤菌要求
培养基灌入量	为试管总容量的四分之一至五分之一

表1 (续)

项目		要求
培养基斜面长度		顶端距棉塞 40 mm~50 mm
接种量 (接种块大小)		(3~5)mm×(3~5)mm
菌种外观	菌丝生长量	长满斜面
	菌丝体特征	菌丝粗壮, 白色或米白色, 浓密, 呈绒毛状, 有锁状联合
	菌丝体表面	均匀、平整、无角变
	菌丝分泌物	无
	菌落边缘	整齐
	杂菌菌落	无
	菌丝自溶	无
	脱壁	无
色素		无或有少量红褐色斑纹
斜面背面外观		培养基不干缩, 颜色均匀
气味		有茶树菇菌种特有的香味, 无酸、臭、霉等异味

4.1.2 微生物学要求

无细菌、霉菌等杂菌。

4.1.3 菌丝生长速度

在马铃薯葡萄糖琼脂 (Poteto Dextrose Agar, 简称PDA) 培养基上, 在室温23℃~25℃条件下暗培养, 10 d~15 d长满斜面。

4.1.4 母种栽培性状

母种供种单位, 需经出菇实验确证农艺性状和商品性等种性合格后, 方可用于扩大繁殖或出售。产量性状的生物学效率应不低于50%。

4.2 原种

4.2.1 感官要求

应符合表2规定。

表2 原种感官要求

项目		要求
容器 (培养瓶)		完整, 无损 (750 mL)
棉塞或硅胶塞		干燥、洁净, 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 mm±5 mm
接种量 (每支母种接原种数, 接种物大小)		(6~8) 瓶 (袋), ≥12 mm×15 mm
菌种外观	菌丝生长量	长满容器
	菌丝体特征	洁白浓密, 生长旺盛, 无菌索, 有锁状联合
	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 (袋) 壁, 无干缩

表 2 (续)

项目	要求	
菌种外观	表面分泌物	无
	杂菌菌落	无
	颞颞现象	无
	脱壁	无明显脱壁
	色素	无或有少量红褐色斑纹
气味	有茶树菇菌种特有的香味, 无酸、臭、霉等异味	

4.2.2 微生物学要求

应符合4.1.2规定。

4.2.3 菌丝生长速度

在适宜培养基上, 在室温 23 ℃~25 ℃条件下暗培养, 菌丝长满容器应 30 d~40 d。

4.3 栽培种

4.3.1 感官要求

应符合表3规定。

表3 栽培种感官要求

项目	要求	
容器[培养瓶(袋)]	完整, 无损 [750 mL (17 cm×35 cm)]	
棉塞或无棉塑料盖	干燥、洁净, 松紧适度, 能满足透气和滤菌要求	
培养基上表面距瓶(袋)口的距离	50 mm±5 mm	
接种量[每瓶(袋)原种接栽培种数]	(20~25) 瓶(袋)	
菌种外观	菌丝生长量	长满容器
	菌丝体特征	洁白浓密, 生长旺盛, 有锁状联合
	不同部位菌丝体	生长均匀, 无角变, 无高温圈
	培养基及菌丝体	紧贴瓶(袋)壁, 无干缩
	表面分泌物	允许有少量无色或浅黄色水珠
	杂菌菌落	无
	颞颞现象	无
	脱壁	无明显脱壁
	色素	无或有少量红褐色斑纹
气味	有茶树菇菌种特有的香味, 无酸、臭、霉等异味	

4.3.2 微生物学指标

应符合4.1.2规定。

4.3.3 菌丝生长速度

在适宜培养基上, 在适温 23 ℃~25 ℃下暗培养, 菌丝长满容器应 30 d~40 d。

5 试验方法

5.1 生产要求检验

用肉眼观察。

5.2 感官检验

用肉眼观察（必要时用放大镜观察）、鼻嗅、检查生产记录等方法进行。

5.3 微生物学检验

5.3.1 细菌检验：取少量疑有细菌污染的培养物，按无菌操作接种于 GB 4789.28-2013 中 4.8 规定的营养肉汤培养液中，25℃~28℃振荡培养 1 d~2 d，观察培养液是否浑浊。培养液浑浊，为有细菌污染；培养液澄清，为无细菌污染。

5.3.2 霉菌检验：取少量疑有霉菌污染的培养物，按无菌操作接种于 PDA 培养基（见附录 A）中，25℃~28℃培养 3 d~4 d，出现茶树菇菌落以外的菌落，或有异味者为霉菌污染物，必要时进行水封片镜检。

5.4 菌丝生长速度

5.4.1 母种：PDA（马铃薯葡萄糖琼脂）培养基，在 25℃±1℃下暗培养，计算菌丝长满试管所需天数。

5.4.2 原种和栽培种：采用附录 B 中 B.1 或 B.2 规定的配方，在 25℃±1℃下暗培养，计算菌丝长满培养瓶或培养袋所需天数。

6 检验规则

6.1 抽样

母种按品种、菌株、培养条件、接种时间分批编号，抽样量为 10%，每批数量应不少于 10 支；原种按菌种来源、制种方法和接种时间分批编号，抽样量为 5%，每批数量应不少于 10 瓶；栽培种按菌种来源、制种方法和接种时间分批编号，抽样量为 1%，每批数量应不少于 10 瓶（袋）。超过 100 支（瓶、袋）的，可进行两级抽样。

6.2 留样

各级菌种都要留样备查，留样的数量应每个批号菌种 3 支（瓶、袋）~5 支（瓶、袋），于 4℃~6℃下贮存，母种 5 个月，原种 4 个月，栽培种 2 个月。

6.3 判定规则

判定规则按质量要求进行。检验项目全部符合质量要求的，为合格菌种，其中任何一项不符合要求，均为不合格菌种。

7 标签、标志、包装、运输、贮存

7.1 标签、标志

7.1.1 产品标签

每支（瓶、袋）菌种必须贴有清晰注明以下要素的标签：

- a) 产品名称（如：茶树菇母种）；
- b) 菌株名称（如：……）；
- c) 生产单位（×××菌种厂）；
- d) 接种日期（如：2014.××.××）；
- e) 执行标准。

7.1.2 包装标签

每箱菌种必须贴有清晰注明以下要素的包装标签：

- a) 产品名称、菌种名称；
- b) 厂名、厂址、联系电话；
- c) 出厂日期；
- d) 保质期、贮存条件；
- e) 数量；
- f) 执行标准。

7.1.3 包装储运图示

按 GB/T 191 规定，应注明以下图示标志：

- a) 小心轻放标志；
- b) 防水、防潮、防冻标志；
- c) 防晒、防高温标志；
- d) 防止倒置标志；
- e) 防止重压标志。

7.2 包装

7.2.1 母种外包装采用木盒或有足够强度的纸材制作的纸箱，内部用棉花、碎纸、报纸等具有缓冲作用的轻质材料填满。

7.2.2 原种、栽培种：外包装采用有足够强度的纸材制作的纸箱，菌种间用碎纸、报纸等具有缓冲作用的轻质材料填满。纸箱上部和底部用 8 cm 宽的胶带封口，并用打包带捆扎两道，箱内附产品合格证书和使用说明（包括菌种特性、培养基配方及适用范围等）。

7.3 运输

7.3.1 不得与有毒、有害、有异味的物品混装混运。

7.3.2 气温达 30 ℃ 以上时，需用 2 ℃~20 ℃ 的冷藏车运输；少量或距离较短时可使用生物冰袋或泡沫箱进行运输。

7.3.3 运输中必须有防震、防晒、防尘、防雨淋、防冻、防杂菌污染的措施。

7.4 贮存

7.4.1 母种宜在 5 ℃±1 ℃ 冰箱中贮存，贮存期不超过 90 d。可以用超低温冰箱（-75 ℃）下贮存，贮存期不超过 5 年~15 年。也可在液氮罐（-196 ℃）中贮存，贮存期 15 年以上。

7.4.2 原种应尽快使用，10 d 内可在温度 24 ℃±1 ℃、清洁、通风、干燥（相对湿度 50%~75%）、避光的室内存放。一般在 5 ℃±1 ℃ 下贮存，贮存期不超过 45 d。

7.4.3 栽培种应尽快使用，在温度 $24\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、清洁、通风、干燥（相对湿度 50%~75%）、避光的室内存放不超过 10 d，培养基的栽培种不超过 20 d。在 $5\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 可贮存 45 d。

附录 A
(规范性附录)
PDA 培养基配方

A.1 马铃薯葡萄糖琼脂 (PDA) 培养基

A.1.1 培养基配方

马铃薯200 g (取用浸出液), 葡萄糖20 g, 磷酸氢二钾0.5 g, 硫酸镁0.5 g, 蛋白胨2 g, 琼脂20 g。水1000 mL, pH值自然。

A.1.2 培养基制作

- 1、选择未发芽、无病害、不发青的新鲜马铃薯洗净、去皮。
- 2、称取200g马铃薯, 切成小块装入锅中, 加入清水1000 mL, 加热煮沸15分钟~20分钟, 至马铃薯酥而不烂为度。(加热过程中加以搅拌)
- 3、用3层纱布过滤, 取其滤液, 补水到1000 mL。
- 4、在马铃薯汁液中加入琼脂, 继续加热搅拌至琼脂完全溶化。
- 5、最后加葡萄糖、磷酸二氢钾、硫酸镁、蛋白胨后补水至1000 mL, PH值正常。

A.2 母种培养基

A.2.1 培养基配方

马铃薯200 g、葡萄糖20 g、琼脂20 g、硫酸镁0.3 g、磷酸氢二钾0.5 g、蛋白胨0.2 g。

A.2.2 培养基制作

- 1、选择未发芽、无病害、不发青的新鲜马铃薯洗净、去皮。
- 2、称取200 g马铃薯, 切成小块装入锅中, 加入清水1000 mL, 加热煮沸15分钟~20分钟, 至马铃薯酥而不烂为度。(加热过程中加以搅拌)
- 3、用3层纱布过滤, 取其滤液, 补水到1000 mL。
- 4、在马铃薯汁液中加入琼脂, 继续加热搅拌至琼脂完全溶化。
- 5、最后加葡萄糖、磷酸二氢钾、硫酸镁、蛋白胨后补水至1000 mL, PH值正常。
- 6、分装试管, 常采用18 mm~180 mm的试管分装, 培养及高度为试管的1/5左右, 加棉塞, 包扎, 一般5支用牛皮纸包扎成一捆, 放入高压锅内灭菌, 指针至0.04MPa时排放空气, 再开压到0.105MPa维持30分钟, 自然降温至60℃左右出锅, 摆放斜面, 待用。全自动高压锅设定的温度、时间, 到点取出摆放斜面, 待用。

A.3 原种、栽培种培养基

A.3.1 培养基配方

原种配方: 木屑65 %、棉壳15 %、蔗糖1 %、麸皮15 %、碳酸钙1 %、石膏粉1 %、石灰2 %。

栽培种配方：木屑65 %、棉壳15 %、麸皮15 %、石灰2.5 %、普钙1.5 %、尿素0.1 %。

A.3.2 培养基制作

原种、栽培种制作过程：制种原料的选择和配制对菌种生产的质量和使用效果有着直接的关系。

1、拌料：按照配方要求加水拌料，在配料过程中应注意：①木屑要经过2目筛~3目筛，去除木块、木条、霉变料等硬物，按配方要求配制，用机器或人工充分拌匀。②搞好环境卫生，拌料的场地保持干净，减少污染。③掌握料内含水量，具体加水量以拌好料堆闷半小时后，用手握料有水从指缝渗出，但不滴水为宜，一般含水量为60 %~65 %。

2、装瓶：装瓶到3/5处，装瓶后用一木锥棒在料内插一通气孔，插到瓶底为好，最后用干净布将瓶口抹净，用棉塞、牛皮纸包扎好，进行灭菌，采用1.5 kg压力、120 °C高温进行120分钟连续灭菌，停止加温后留在锅内闷4小时为好，取出待用。

3、装袋：装料至袋肩以下，压实、压平料面，套上颈圈，盖通气盖，灭菌待用。注意：装料要松紧适度，过紧影响通气，发菌慢，过松易引起杂菌感染。

A.4 营养肉汤培养液

A.4.1 培养液配方

蛋白胨10 g、牛肉浸粉3.0 g、氯化钠5.0 g、琼脂20 g、PH7.0~7.4±0.1。

A.4.2 培养液制作

用途：用于分子生物学中大肠杆菌的培养，细菌的培养、转种、复壮、增菌的培养。

原理：蛋白胨和牛肉浸粉提供氮源、维生素、氨基酸和碳源、氯化钠维持均衡的渗透压，提供无机盐。

用法：均取本品38 g，加热溶解1000 mL蒸馏水中。

分装三角瓶或试管：121 °C高压灭菌15分钟，备用。

培养时间温度：36 °C±1 °C培养18小时~24小时，观察。

附录 B

(规范性附录)

常用原种和栽培种培养基及其配方

B.1 原种培养基

棉籽壳15 %，杂木屑66 %，麦麸15 %，石灰2 %，石膏粉1 %，普钙1 %，含水量60 %。

B.2 栽培种培养基

杂木屑82 % (细木屑40 % + 粗木屑42 %)，麦麸15 %，石灰2 %，石膏粉1 %，含水量60 %。



