ICS 65.020.01
CCS B 38

T/MSC 003-2024

中 国 菌 物 学 会 团 体 标 准

乌天麻栽培 蜜环菌菌种生产技术规程

The cultivation of *Gastrodia elata* f. glauca

technical regulations for spawn production of *Armillaria* spp.

2024-05-23 发布

2024-05-23 实施

中 国 菌 物 学 会 发 布

目 次

前言 I
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 2
5 培养基配制 2
6 菌种生产 3
7 菌种质量 4
8 入库留样 4
9 标志、包装、运输、贮藏等 4
附录 A（资料性） 6

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。

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。

本标准主要起草人：郭顺星，曾旭，刁海欣。

乌天麻栽培 蜜环菌菌种生产技术规程

1 范围

本文件适用于乌天麻（*Gastrodia elata* Bl. f. *glauca* S. Chow）栽培用蜜环菌菌种的生产及使用，包括蜜环菌属的一些种类（*Armillaria* spp.）。

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 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

NY/T 528—2010 食用菌菌种生产技术规程

NY/T 1935—2010 食用菌栽培基质质量安全要求

DB51/T 1640 天麻生产技术规程

3 术语和定义

3.1

乌天麻 *Gastrodia elata* Bl. f. *glauca* S. Chow

乌天麻，为天麻的变型，茎灰棕色，带白色纵条纹，花蓝绿色；其块茎折干率高，是优良品种；在海拔 1200-2000m 的山区栽培生产的乌天麻，品质佳，口感好。

3.2

蜜环菌

为乌天麻块茎生长提供基础营养的共生真菌，为伞菌目小皮伞科蜜环菌属的部分真菌菌株，如高卢蜜环菌 *Armillaria gallica* Marxm. & Romagn.。

3.3

菌种 culture

繁殖或栽培使用的蜜环菌菌丝培养物，生长于适宜基质上。

[来源：GB/T 12728，2.5.6]

3.3.1

母种 stock culture

经各种方法选育出来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。

[来源：GB/T 12728，2.5.7]

3.3.2

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。

[来源：GB/T 12728，2.5.8]

3.3.3

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。

[来源：GB/T 12728，2.5.9]

3.4

培养基 Medium

具有适宜的理化性质，用于微生物生长的基质。

[来源：GB/T 12728，2.1.22]

4 技术要求

4.1 技术人员

技术人员应有与菌种生产相适应的操作人员、检验人员等。

4.2 场地选择

应选择地势较高，通风良好，排水畅通，交通便利的场地。

4.3 厂房设置和布局

4.3.1 厂房布置应按菌种生产工艺流程合理安排布局。可包括独立的摊晒场、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、菌种检验室等。厂房建造结构和功能应满足菌种生产的基本需要。

4.3.2 摊晒场应地面平整开阔，光照充足。

4.3.3 原材料库应恒温干燥，防雨防潮、防虫，防鼠、防杂菌污染、配备防火设施。

4.3.4 配料分装室（场）应水电方便，空间充足。如安排在室外，应有天棚，防雨防晒。

4.3.5 灭菌室应配置水电，通风良好，进出物料方便，热源配套，配置安全监测设置。

4.3.6 冷却室应洁净、防尘、易散热。

4.3.7 接种室应设置缓冲间，防尘换气性能良好，内壁和屋顶光滑，经常清洗和消毒。

4.3.8 培养室和贮存室应内壁和屋顶光滑，便于清洗和消毒；墙壁厚度适当，利于控温、控湿，便于通风；有防虫防鼠措施。

4.3.9 菌种检验室：水电方便，便于安装相应的检验仪器和设备。

4.4 设施及设备

设施及设备包括搅拌机、装瓶（袋）机、高压灭菌锅或常压灭菌锅、超净工作台或接种箱、磅秤、天平、调温设备、除湿机、培养架、恒温箱、冰箱、显微镜等及常规用具。高压灭菌锅应每年通过经有关部门安全检验。

4.4 卫生要求

4.4.1 厂房设置应保持清洁卫生，周围 300 m 内应无禽畜舍，无垃圾、粪便场，无污水和扬尘的水泥厂、砖瓦厂、石灰厂、木材加工厂等其他污染源。

4.4.2 生产使用容器、原料等，卫生应符合 NY/T 528 的规定。

4.5 生产工艺

蜜环菌菌种生产工艺流程宜为培养基配制→分装→灭菌→冷却→接种→培养（检查）→成品。

5 培养基配制

培养基应符合 NY/T 1935 规定，不应选择变质、污染的原料，不应添加农药、肥料等。

天然材料，选择如壳斗科树叶、果树或阔叶树木签或木屑、麦麸、玉米芯等，要求新鲜、无虫、无霉、洁净、干燥；营养补充剂，选择如葡萄糖、硫酸镁、磷酸二氢钾等，需化学纯及以上级别。

菌种推荐配方，见表 1：

表 1 菌种基质配方

菌种名称	菌种级别	基质配方
蜜环菌	母种	（1）去皮有机马铃薯 200 g，麦麸 20g，葡萄糖 20 g，琼脂 8 g，过滤加去离子水定容至 1000 mL。
	原种	（1）土豆 100g，麦麸 30g，木屑 30g，松针 20g，黄豆粉 20g，玉米粉 20g，葡萄糖 10g，硫酸镁 1g，磷酸二氢钾 2g，琼脂 18g，加去离子水定容至 1000 mL。 （2）麦麸 20%，木屑 75%，玉米碴 5%，含水量 75%.
	栽培种	（1）木棒，用含硫酸镁 0.1%，磷酸二氢钾 0.2%的水浸泡 24 小时即可。

6 菌种生产

6.1 菌种质量

6.1.1 应选择适宜乌天麻栽培用的菌株，从具有相应资质的单位引种，且种性应清楚。

6.1.2 种源生产菌种不应使用来历不明、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。

6.1.3 蜜环菌母种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、菌丝长势的一致性、菌丝生长速度、菌落外观等，验证种性。

6.2 菌种制作

应按照 NY/T 528 执行。

6.2.1 母种生产

蜜环菌母种宜每年 8 月至 9 月生产，宜为原种生产前 1.5 个月至 2 个月。按步骤执行：

a) 基质配制按表 1 配方确定，可适度增减。

b) 分装：培养基装入玻璃试管内。每只试管的分装量宜为试管长度的 1/2 至 2/3，塞上棉塞或硅胶塞。

c) 灭菌：高压灭菌锅灭菌压力 0.12 MPa ~ 0.15 MPa，灭菌温度 121 C° ~ 122 C°，灭菌时间 30 min，灭菌结束后蜜环菌母种应直立放置，冷却备用。

d) 接种：在超净工作台上或接种箱内，用无菌操作法，用接菌铲挑取直径 0.5cm 的纯菌种，转接于试管斜面培养基上。并贴标签。标签内容应包括编号、来源、接种时间等。

e) 培养、检查：蜜环菌接种后，将接种好的试管放置在 18 C° ~ 20 C°的恒温培养箱中，待蜜环菌菌丝长满培养基（18 d ~ 30 d）。培养过程中应及时剔出菌丝长速慢，稀疏、不匀、发黑、污染者。

f) 母种转管次数不应大于 5 次。

6.2.2 原种生产

蜜环菌原种宜每年 10 月至 11 月生产，宜在原种生产前 1.5 个月至 2 个月。按步骤执行：

a) 基质配制按表 1 配方确定，可适度增减。

b) 分装：培养基装入 500 mL 菌种瓶，装至瓶肩处，中间打一通气孔，盖塞。

c) 灭菌：高压灭菌锅灭菌压力 0.12 MPa ~ 0.15 MPa，灭菌温度 121 C° ~ 125 C°，灭菌时间 90min，冷却后备用。

d) 接种：在超净工作台上或接种箱内，用无菌操作法，挑取直径 1.5 cm ~ 3.0 cm 左右的优质母种块（连同培养基），移植接种于原种培养基上端中央，随即盖塞或扎口。并对同一批次的贴上标签。标签内容应包括编号、来源、接种时间等。

e) 培养、检查：蜜环菌接种后，将接种好的菌种袋放置在 18 C° ~ 20 C°的恒温培养室中培养 30 d ~ 60 d，蜜环菌菌丝即可长满整个培养基。培养过程中应及时剔出菌丝长速慢，稀疏、不匀、发黑、污染者。

6.2.3 栽培种生产

蜜环菌栽培种宜每年的 12 月至次年 1 月生产，宜为天麻栽培前的 2 个月 ~ 3 个月。按步骤执行：

a) 基质配制按表 1 配方确定，可适度增减。

b) 分装：培养基装入菌种瓶或菌种袋，填装至瓶肩处或距离袋口为 5 cm 左右，盖塞。

c) 灭菌：高压灭菌锅灭菌压力 0.12 MPa ~ 0.15 MPa，灭菌温度 121 C° ~ 125 C°，灭菌时间 210 min，冷却后备用。

d) 接种：在无菌室内，用无菌操作法，挑取直径 3.0 cm ~ 4.0 cm 左右的优质原种块（连同培养基），移植接种于原种培养基上端中央，随即盖塞或扎口。并对同一批次的贴上标签，标签内容应包括编号、来源、接种时间等。

e) 培养、检查：蜜环菌接种后，将接种好的菌种袋放置在 18 C° ~ 20 C°的恒温培养室中培养 60 d ~ 75 d，蜜环菌菌丝长满整个培养基，培养过程中应及时剔出菌丝长速慢，稀疏、不匀、发黑、污染者。

7 菌种质量

蜜环菌母种、原种及栽培种，应菌丝健壮，新鲜，无污染，无霉变，如附录所示。

8 入库留样

8.1 入库

完成培养的菌种应及时登记入库。菌种生产各环节应记录时间、菌株、操作人员等。

8.2 留样

菌种应留样备查，留样的数量宜为每个批号菌种不少于 10 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。

9 标志、包装、运输、贮藏等

9.1 标志

9.1.1 标签

标签应符合表 2 的规定。

表 2 乌天麻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）：

9.1.2 包装储运图示标志

包装储运图示标志应符合 GB/T191 的规定。

9.2 包装

包装应符合 NY/T 1742 的规定。

9.3 运输

栽培菌种宜在栽培季节运输，运输过程中应避光、避雨水和高温。气温 30C°以上时，需用 2 C°～20 C°的冷藏车运输。防止破损、污染，不应与有毒有害物品混装。

9.4 贮藏

9.4.1 菌种贮存室不应有毒、有害、有异味、易挥发、易腐蚀物品，还应防鼠。

9.4.2 母种宜贮存于 4 ℃～6 ℃冰箱中，菌龄不应超过 6 个月。

9.4.3 原种宜贮存在 10 ℃～20 ℃的阴凉处，菌龄不应超过 3 个月。

9.4.4 栽培种贮存温度应低于 25 ℃，清洁、通风、干燥、避光的阴凉处存放，菌龄不应超过 12 个月。

9.5 生产档案

应建立菌种生产档案，生产档案应保存至菌种销售后 3 年。

附录 A（资料性）：

图 1 乌天麻栽培用蜜环菌母种、原种及栽培种