



中华人民共和国国家标准

GB/T XXXXX—XXXX
代替 GB 19169-2003

黑木耳菌种

Pure culture of *Auricularia heimuer*

(征求意见稿)

(本稿完成日期：2025-01)

XXXX-XX-XX 发布

XXXX-XX-XX 实施

国家市场监督管理总局
国家标准化管理委员会

发布

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。

本文件代替 GB 19169-2003《黑木耳菌种》，与 GB 19169-2003相比，除结构调整和编辑性改动外，主要技术变化如下：

——依据《强制性国家标准管理办法》，修改了规范性引用文件，将其更新为最新版本；

——根据现行的黑木耳菌种生产方式，删除并修改了菌种感官评价的部分指标；

——增加了黑木耳液体菌种质量评价指标和液体菌种常用培养基配方。

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。

本文件由中华人民共和国农业农村部提出。

本文件由中华人民共和国农业农村部食用菌标准化技术委员会归口。

本文件起草单位：华中农业大学

本文件主要起草人：周雁、肖扬、边银丙

本文件及其所代替文件的历次版本发布情况为：

—— 2003年首次发布为 GB 19169-2003；

—— 本次为第一次修订。

黑木耳菌种

1 范围

本文件规定了黑木耳 (*Auricularia heimuer*) 菌种的术语和定义、质量要求、试验方法、检验规则及标签、标志、包装、贮运等。

本文件适用于黑木耳菌种的生产、流通和使用。

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 4789.28 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

GB/T 12728 食用菌术语

GB/T 37671 金针菇菌种

NY/T 528 食用菌菌种生产技术规范

3 术语和定义

GB/T 12728和GB/T 37671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和GB/T 37671中的一些术语和定义。

3.1 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,也称一级种、试管种。

[GB/T12728—2006, 定义2.5.7]

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。

[GB/T12728—2006, 定义2.5.8]

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。

注:改写 GB/T12728—2006, 定义 2.5.9

3.4 拮抗现象 antagonism

具有不同遗传物质的菌落间产生不生长区域或形成不同形式线状边缘的现象。

注:改写 GB/T12728—2006, 定义 2.3.21。

3.5 角变 sector

GB/T XXXXX—XXXX

因菌丝体局部变异而导致菌落表面特征性出现菌丝变稀疏或浓密的角状区域的异常现象。

注：改写 GB/T12728—2006，定义 2.5.17。

3.6 高温圈 **clamp connection**

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。

注：改写 GB/T12728—2006，定义2.5.18。

3.7 锁状联合 **clamp connection**

部分异宗配合担子菌的双核菌丝在细胞分裂时，在靠近隔膜处形成的一种桥接状特殊结构，以保持菌丝细胞稳定地双核化，是异宗配合担子菌次生菌丝体的特征。

注：改写 GB/T12728—2006，定义2.2.5。

3.8 耳芽 **primordium of *Auricularia***

子实体发育的早期阶段，是尚未分化子实层的木耳属真菌的幼小子实体组织团，形成于培养基表面的半透明胶质体，呈淡黄色或褐色。

注：改写 GB/T12728—2006，定义2.2.15。

3.9 摇瓶液体菌种 **liquid spawn culturing by shake-flask**

由母种移植到液体培养基中在摇床上恒温震荡扩大培养而成的菌丝体纯培养物。

[GB/T37671—2019，定义3.13]

3.10 发酵罐液体菌种 **liquid spawn culturing by formation tank**

由摇瓶液体菌种移植到发酵罐液体培养基中恒温培养而成的菌丝体纯培养物。

[GB/T37671—2019，定义3.14]

3.11 通风量 **ventilation volume**

液体菌种培养过程中每分钟通入培养基中的无菌空气量。以L/min表示。

[GB/T37671—2019，定义3.15]

3.12 生物学效率 **biological efficiency**

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，即为生物学效率50%。

[GB/T12728—2006，定义2.1.27]

3.13 种性 **characters of variety**

食用菌的品质特性，是鉴别食用菌菌种或品种优劣的重要标准之一。一般包括对温度、湿度、酸碱度、光线和氧气的要求，抗逆性、丰产性、出耳迟早、出耳潮数、栽培周期、商品质量及栽培习性等农艺性状。

[NY/T 528—2010，定义3.9]

4 质量要求

4.1 母种（一级菌种）

4.1.1 容器规格应符合 NY/T 528中4.7.1.1规定。

4.1.2 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	完整、无破损、无裂纹
塑料盖、橡胶塞或硅胶塞	干燥、洁净，松紧适度，能满足透气和滤菌要求
培养基灌入量	为试管总容积的五分之一至四分之一
斜面长度	顶端距试管口60 mm~70 mm
菌丝生长量	长满斜面
接种量（接种块大小）	(3~5) mm × (3~5) mm
菌种正面外观	菌丝洁白、纤细，平贴培养基，生长均匀、平整、无角变，菌落边缘整齐，无高温圈，无杂菌菌落
斜面背面外观	培养基不干缩，有菌丝体分泌的黄褐色色素于培养基中
气味	有黑木耳菌种特有的清香味，无酸、臭、霉等异味

4.1.3 微生物学要求应符合表 2 规定。

表 2 母种微生物学要求

项 目	要 求
菌丝形态	粗细不匀，常出现分枝，有锁状联合
细胞核核相	Hoechest或DAPI等染色剂染色后，两个相邻隔膜间有2个细胞核
杂菌	无

4.1.4 菌丝生长速度：在PDA培养基（见附录 A1）上，在适温（25℃±2℃）下，菌丝10 d~15 d长满斜面。

4.1.5 母种农艺性状：供种单位所供母种需经栽培试验，确证种性中农艺性状合格后，方可用于扩大繁殖。

4.2 原种（二级菌种）

4.2.1 固体原种

4.2.1.1 容器规格应符合 NY/T 528中 4.7.1.2规定。

4.2.1.2 感官要求应符合表 3 规定。

表 3 固体二级菌种感官要求

项 目	要 求
容器	完整、无破损、无裂纹
塑料盖或橡胶塞	干燥、洁净，松紧适度，能满足透气和滤菌要求
菌丝生长量	长满容器内所有培养料
菌丝体特征	白色至米黄色，细羊毛状，生长旺健，菌落边缘整齐，无高温圈
培养基及菌丝体	培养基变色均匀，菌种紧贴袋壁，无干缩

菌丝分泌物	允许有少量无色至棕黄色水珠
杂菌菌落	无
拮抗现象及角变	无
耳芽（子实体原基）	允许有少量胶质、琥珀色颗粒状耳芽
气 味	有黑木耳菌种特有的清香味，无酸、臭、霉等异味

4.2.1.3 微生物学要求应符合表 2 规定。

4.2.1.4 菌丝生长速度：在适宜培养基（见附录 B）上，置于摇床上培养，在适温（ $26^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$ ）下，40d~45d长满容器。

4.2.2 液体原种

4.2.2.1 容器规格应符合 GB/T 37671 中 4.4.1.1 规定。

4.2.2.2 感官要求应符合表 4 规定。

表 4 液体二级菌种感官要求

项 目	要 求
容 器	完整、洁净、无破损
塑料盖或橡胶塞	干燥、洁净，松紧适度，能满足透气和滤菌要求
培养基装量	占容器体积的40%至60%
菌丝生长量	静置 30 min 后，菌丝球体积占培养基体积的 4/5 以上；取液体菌种于离心管中，10000rpm 离心 2min，菌丝体压积占培养基体积的 1/2~2/3 以上
菌丝球特征	白色至米黄色，片状、短棒状或球状，大小均匀，生长旺健
培养基滤液颜色	澄清透亮
杂菌菌丝	无
气 味	有黑木耳菌种特有的清香味，无酸、臭、霉等异味

4.2.2.3 微生物学要求应符合表 2 规定。

4.2.2.4 培养条件：在适宜培养基（见附录 C）上，置于摇床中，振荡频率150 r/min~180 r/min，温度 $25^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$ ，避光培养6 d~7 d。

4.3 栽培种（三级菌种）

4.3.1 固体栽培种

4.3.1.1 容器规格应符合 NY/T 528中4.7.1.3规定。

4.3.1.2 感官要求应符合表 5 规定。

表 5 固体三级菌种感官要求

项 目	要 求
容 器	完整、无破损、无裂纹
塑料盖、橡胶塞或硅胶塞	干燥、洁净，松紧适度，能满足透气和滤菌要求
菌丝生长量	长满容器内所有培养料
菌丝体特征	白色至米黄色，细羊毛状，生长旺健，菌落边缘整齐，无高温圈

培养基及菌丝体	培养基变色均匀，菌种紧贴瓶（袋）壁或略有干缩
菌丝分泌物	允许有少量无色至棕黄色水珠
杂菌菌落	无
拮抗现象及角变	无
耳芽（子实体原基）	允许有少量浅褐色至黑褐色菊花状或不规则胶质耳芽
气 味	有黑木耳菌种特有的清香味，无酸、臭、霉等异味

4.3.1.3 微生物学指标应符合表 2 规定。

4.3.1.4 菌丝生长速度：在适宜培养基（见附录 B）上，在适温（ $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ）下，一般 35 d~40 d长满容器。

4.3.2 液体栽培种

4.3.2.1 容器规格应符合 GB/T 37671中4.4.2.1规定，使用耐 121°C 高温的不锈钢发酵罐。

4.3.2.2 感官要求应符合表 6 规定。

表 6 液体三级菌种感官要求

项 目	要 求
容 器	完整、洁净、无破损
塑料盖或橡皮塞	干燥、洁净，松紧适度，能满足透气和滤菌要求
培养基装量	占发酵罐体积的70%~80%
菌丝生长量	静置30 min后，菌丝球体积占培养基体积的4/5以上
菌丝体特征	白色，片状、短棒状或球状，大小均匀，不迅速分层
培养基滤液颜色	澄清透亮
气 味	有黑木耳菌种特有的清香味，无酸、臭、霉等异味

4.3.2.3 微生物学指标应符合表 2 规定。

4.3.2.4 培养条件：在适宜培养基（见附录 C）内，通风量为 $0.5 \text{ L/min} \sim 1.2 \text{ L/min}$ ，罐压保持在 $0.03 \text{ Mpa} \sim 0.06 \text{ Mpa}$ 之间，温度 $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ，培养6 d~7 d。

5 抽样

5.1 质检部门的抽样应具有代表性。

5.2 母种按品种、培养条件、接种时间分批编号，二级种、三级种按菌种来源、制种方法和接种时间分批编号。按批随机抽取被检样品。

5.3 母种、原种（二级菌种）、栽培种（三级菌种）的抽样量分别为该批菌种量的10%、5%、1%。但每批抽样数量不得少于 10 支（瓶、袋）；超过100支（瓶、袋）的，可进行两级抽样。

摇瓶液体菌种使用时取样30 mL~40 mL留存被检；发酵罐液体菌种分别于放罐前48 h和发酵终止时取样30 mL~40 mL留存被检。

6 试验方法

6.1 感官检验

按表 7 逐项进行。

表 7 感官检验方法

检验项目	检验方法	检验项目	检验方法
容器	肉眼观察	菌丝体特征	肉眼观察
塑料盖或橡皮塞	肉眼观察	菌丝球特征	肉眼观察，必要时用 5× 放大镜或体式显微镜观察
母种培养基灌入量	肉眼观察	培养基	肉眼观察
母种斜面长度	肉眼观察	分泌物	肉眼观察
液体菌种生长量	静置或离心后肉眼观察	杂菌菌落	肉眼观察，必要时用 5× 放大镜观察
母种菌种外观	肉眼观察	耳芽（子实体原基）	肉眼观察
母种斜面背面外观	肉眼观察	气 味	鼻嗅

6.2 微生物学检验

包括表 2 中锁状联合观察、细胞核核相观察和杂菌检测。

6.2.1 锁状联合

直接从固体菌种的检验样品中挑取菌丝少许，制成水封片；直接吸取液体菌种培养液制成水封片，或按无菌操作将菌丝球接种于PDA培养基（见附录A.1）上，25℃±2℃培养4 d~7 d后，挑取少许菌丝制成水封片。

用放大倍数不低于10×40的光学显微镜对培养物的水封片进行观察，每一检样应观察不少于50个视野。

6.2.2 细胞核核相检验

从固体菌种的检验样品中挑取菌丝少许，在载玻片上充分分散菌丝，滴加50 μg/mL的Hoechst33258荧光染色液或DAPI染色液，染色3~5 min后置于荧光显微镜下观察，放大倍数不低于10×40。在紫外光激发下，细胞核发出蓝色荧光，相邻隔膜之间存在2个细胞核的为双核菌丝体。

6.2.3 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.1）斜面或平板上，25℃±2℃培养 5 d~7 d，菌落出现白色以外的杂色者，或有异味者为霉菌污染物，必要时制作水封片镜检。

6.2.4 细菌检验

取少量疑有细菌污染的培养物，按无菌操作接入GB/T 4789.28中4.8规定的营养肉汤培养液中，25℃~28℃振荡培养1 d~2 d，观察培养液是否混浊。培养液混浊，为有细菌污染；培养液澄清，为无细菌污染。

6.3 菌丝生长速度

6.3.1 母种

参见附录A中的配方之一，25℃±2℃培养，记录长满直径9 cm平板所需天数。

6.3.2 原种和栽培种

采用附录B中的配方之一，在25℃±2℃培养，记录长满培养基所需天数。

6.3.3 液体原种和液体栽培种

采用附录C中的配方之一，在25℃±2℃培养，记录菌丝球体积占总体积4/5时所需培养天数。

6.4 菌种农艺性状

将被检母种制成原种。采用附录B规定的配方之一，制作菌袋45个。接种后，分三组进行常规管理，根据表8所列项目，做好栽培记录，统计检验结果。同时将该母种的出发菌株设为对照，亦做同样处理。对比两者的检验结果，以时间计的检验项目中，被检母种的任何一项时间较对照菌株推迟5 d以上（含5 d）者，为不合格；产量显著低于对照菌株者，为不合格；子实体外观、耳片剖面形态与对照明显不同或畸形者，为不合格。

表8 菌种农艺性状检验记录

项 目	试验结果	项 目	试验结果
母种长满管所需天数 d		总产 g	
原种长满瓶所需天数 d		单产 g/袋	
母种接种至萌发所需天数 d		单朵耳质量 g	
原种接种至萌发所需天数 d		生物学效率 %	
栽培种接种至定植所需天数 d		耳片朵型、色泽	
栽培种接种至产生耳芽所需天数 d		耳片直径、厚度 mm	
接种至收第一茬耳所需天数 d		耳片剖面髓层	

6.5 留样

各级菌种都应留样备查，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，母种和原种 6个月，栽培种 4个月。抽检的液体菌种样品最多在2℃~4℃环境下保存7 d。

7 检验规则

按质量要求进行检验。检验项目全部符合质量要求者，为合格菌种；其中任何一项不符合要求者，均为不合格菌种。

8 标签、标志、包装、运输、贮存

8.1 标签、标志

8.1.1 产品标签

每支、瓶（袋）菌种需贴有清晰注明以下要素的标签：

- 产品名称（如：黑木耳母种；黑木耳固体原种；黑木耳固体栽培种）；
- 品种名称（如：黑916）；
- 生产单位（如：XX菌种厂）；
- 接种日期（如：2025.XX.XX）；
- 执行标准。

8.1.2 包装标签

每箱菌种需贴有清晰注明以下要素的包装标签：

- 产品名称、品种名称；
- 厂名、厂址、联系电话；
- 出厂日期；
- 保藏期、贮存条件；
- 数量；
- 执行标准。

8.1.3 包装储运图示标志

GB/T XXXXX—XXXX

按 GB/T 191规定，应有以下图示标志：

- 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。

8.2 包装

8.2.1 母种外包装采用木盒或有足够强度的瓦楞纸箱，内部用棉花、碎纸、气泡纸等具有缓冲作用的轻质材料填满。

8.2.2 固体原种、固体栽培种外包装采用足够强度的瓦楞纸箱或塑料筐，每箱 20 瓶，内部用碎纸、报纸等具有缓冲作用的轻质材料填满。纸箱上部和底部用6-8 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(包括菌种种性、培养基配方及适用范围)。

8.3 运输

8.3.1 不得与有毒物品混装。

8.3.2 气温达30℃以上时，需用 0℃~20℃的冷藏车(船)运输。

8.3.3 运输中必须有防震、防晒、防雨淋、防冻、防杂菌污染的措施。

8.3.4 发酵罐液体菌种现制现用，不作运输。

8.4 贮存

8.4.1 母种一般在4℃~6℃冰箱中贮存，贮存期不超过90 d。

8.4.2 原种一般在0℃~10℃以下冷库中贮存，贮存期不超过40 d。

8.4.3 栽培种应尽快使用，14 d内可在温度不超过25℃、清洁、通风、干燥(相对湿度50%~70%)、避光的室内松散存放。摇瓶液体菌种和发酵罐液体菌种应及时使用，不贮存，应在终止发酵后4 h内完成接种。

附 录 A
(资料性附录)
母种常用培养基及其配方

A.1 PDA 培养基 (马铃薯葡萄糖琼脂培养基)

马铃薯 200g (用浸出汁), 葡萄糖 20g, 琼脂 20g, 蒸馏水 1000mL, pH 值自然。

A.2 CPDA 培养基 (综合马铃薯葡萄糖琼脂培养基)

马铃薯 200g (用浸出汁), 葡萄糖 20g, 磷酸二氢钾 2g, 硫酸镁 0.5g, 蒸馏水 1000mL, pH 值自然。

A.3 木屑浸出汁马铃薯葡萄糖培养基

马铃薯 200g (用浸出汁), 阔叶树木屑 50g (用浸出汁), 葡萄糖 20g, 琼脂 20g, 蒸馏水 1000mL, pH 值自然。

附 录 B
(资料性附录)
原种和栽培种固体菌种常用培养基及其配方

B.1 木屑培养基

阔叶树木屑 78% (直径 0.6cm 左右), 麸皮 20%, 蔗糖 1%, 石膏 1%, 含水量 58%~60%, pH 值 6.2~6.8。

B.2 木屑棉籽壳培养基

阔叶树木屑 63% (直径 0.6cm 左右), 棉籽壳 15%, 麸皮 20%, 蔗糖 1%, 石膏 1%, 含水量 58%~60%, pH 值 6.2~6.8。

B.3 棉籽壳培养基

棉籽壳 79%, 麦麸 20%, 石膏 1%, 含水量 58%~60%, pH 值 6.2~6.8。

附 录 C
(资料性附录)

原种和栽培种液体菌种常用培养基及其配方

C.1 液体培养基 1 (摇瓶)

去皮马铃薯 200 g/L (切块、煮沸、过滤取汁)、葡萄糖 20 g/L、蛋白胨 3 g/L、 KH_2PO_4 1.0 g/L、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5 g/L, pH 自然。

C.2 液体培养基 2 (摇瓶或发酵罐)

蔗糖 8.75 g/L、葡萄糖 8.75 g/L、淀粉 3.1 g/L、麸皮 (过 30 目筛) 2.5 g/L、黄豆粉 1.25 g/L、酵母浸粉 0.5 g/L、 KH_2PO_4 1.25 g/L、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.125 g/L、维生素 B1 0.005 g/L、消泡剂 0.015%, pH 自然。
