

中华人民共和国国家标准

GB 19171—202X 代替 GB 19171—2003

双孢蘑菇菌种

Pure culture of Agaricus bisporus

(草案)

(本稿完成日期: 2024-12)

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

本标准按照 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。

本标准与 GB 19171-2003相比,除结构调整和编辑性改动外,主要技术变化如下:

- a)修改了起草单位和起草人,规范性引用文件,术语和定义,同工酶鉴定方法,生物学效率计算方法,运输要求等。
 - b) 删除了规范性引用文件中已有的术语和定义。
- c)增加了平板母种、液体原种、透气袋栽培种相关指标及检验方法,虫害检测,DNA鉴定方法,液体原种、颗粒菌种和营养肉汤培养基配方等。

本标准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 19171—2003;
- —— 本次为第一次修订。

双孢蘑菇菌种

1 范围

本标准规定了双孢蘑菇(Agaricus bisporus)菌种的质量要求、试验方法、检验规则及标签、标志、包装、贮运等。

本标准适用于双孢蘑菇(Agaricus bisporus)菌种的生产、经销和使用。

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 12728 食用菌术语

NY/T 528 食用菌菌种生产技术规范

NY/T 1097 食用菌菌种真实性鉴定同工酶电泳法

NY/T 1284 食用菌菌种中杂菌及害虫的检验

NY/T 1743 食用菌菌种真实性鉴定 RAPD 法

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标准。

3. 1

同工酶 isoenzyme

催化相同生化反应,而结构及理化性质不同的酶分子。通过凝胶电泳使同工酶分离成迁移率不同的 区带,经生物化学染色后显示出的同工酶谱,可对生物品种进行酶分子水平的鉴别或鉴定。

3. 2

液体原种 liquid mother spawn

由母种移植到液体培养基中并在摇床上恒温振荡培养而成的菌丝体纯培养物。

4 质量要求

4.1 母种

- 4.1.1 容器规格应符合 NY/T 528-2010 中 4.7.1.2 规定。
- 4.1.2 感官要求应符合表 1 规定。

表 1 母种感官要求

人。				
项目		要求		
容器		完整,无损		
试管棉塞或无枕	棉塑料盖	干燥、洁净、松紧适度,能满足透气和滤菌要求		
平板母和	种	平板盖用透气膜黏牢于平板上		
培养基灌入量	(试管)	为试管总容积的四分之一至五分之一		
培养基灌入量	(平板)	25~30mL/只 90mm 平板		
试管培养基斜	面长度	顶端距棉塞 40mm~50 mm		
接种量(接种)	块大小)	(3~5) mm × (3~5) mm		
	菌丝生长量	长满斜面或平板		
	菌丝体特征	洁白或米白、浓密、羽毛状或叶脉状		
世 4 月 河	菌丝体表面	均匀、平整、无角变		
菌种外观	菌丝分泌物	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		
气味		有双孢蘑菇菌种特有的香味,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 母种微生物要求

项目	要求			
菌丝	粗壮			
杂菌	无			
害虫	无			

- 4.1.4 菌丝生长速度: 在 PDA 培养基上,在适温(24℃±1℃)下,15~20 d 长满斜面。
- 4.1.5 母种遗传和栽培性状:供种单位需对母种应用同工酶或 DNA 标记进行菌种真实性鉴定,参照行业标准 NY/T1097 食用菌菌种真实性鉴定同工酶电泳法、NY/T1743 食用菌菌种真实性鉴定 RAPD 法,确认其遗传类型与对照相同,再经出菇试验确定产量及品质等栽培农艺性状合格后,方可用于扩大繁殖或出售。
- 4.1.5.1 菌丝体同工酶、RAPD 鉴定方法:参照行业标准 NYT1097 食用菌菌种真实性鉴定同工酶电泳法, NY/T1743 食用菌菌种真实性鉴定 RAPD 法。
- 4.1.5.2 菌丝萌发、定植与生长能力:接种到适合的培养基后,在正常条件下24h内萌发,定植迅速、菌丝健壮。
- 4.1.5.3 结菇转潮能力: 覆土后 10~16 d 结菇, 16~22 d 采菇, 转潮时间 2~3 d, 每潮菇采收高峰期间隔 6~10 d。
- 4.1.5.4 生物学效率: 在正常条件下生物学效率不低于 30%。

4.2 原种

- 4.2.1 容器规格应符合 NY/T 528-2010 中 4.7.1.3 规定。
- 4.2.2 感官要求应符合表 3、表 4 规定。

表 3 固体原种感官要求

农。			
项目		要求	
	容器	完整,无损	
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	面距瓶(袋)口的距离	50 mm±5mm	
接种量(每	(野支母种接原种数)	试管母种 4~6 瓶 (袋), 平板母种 8~10 瓶 (袋)	
技	接种块大小	≥12 mm× 15 mm	
	菌丝体生长量	长满容器	
	菌丝体特征	洁白浓密、生长旺健	
	表面菌丝体	生长均匀,无角变,无高温圈	
菌种外观	培养基及菌丝体	紧贴瓶(袋)壁,无干缩	
	表面分泌物	无	
	杂菌菌落	无	
	拮抗现象	无	
气味		有双孢蘑菇菌种特有的香味,无酸、臭、霉等异味	

表 4 液体原种感官与理化指标要求

项目	要求
菌液色泽	球状菌丝体呈白色,菌液澄清,呈棕色。
菌液形态	菌液稍粘稠,有大量片状或球状菌丝体悬浮、分布均
	匀、不上浮、不下沉、不迅速分层,菌球间液不混浊。
菌液气味	有液体菌种培养时特有的香气,无异味,如酸、臭味
	等,菌种罐排气口气味正常,无明显改变。
pH 值	5.2~5.5
菌丝干重(g/ 100mL)	>0.95
菌球数量(个/mL)	>450

菌球直径/mm	<1.0
---------	------

- 4.2.3 微生物学指标应符合表 2 规定。
- 4.2.4 菌丝生长速度: 在适宜培养基上,在适温(24℃±1℃)下菌丝长满容器不超过45 d。

4.3 栽培种

- 4.3.1 容器规格应符合 NY/T 528-2010 中 4.7.1.4 规定。
- 4.3.2 感官要求应符合表 5 规定。

表 5 栽培种感官要求

	项目	要求		
容器		完整,无损		
棉塞或无棉	塑料盖(非透气袋、瓶)	干燥、洁净、松紧适度,能满足透气和滤菌要求		
透	(元膜(透气袋)	条状或块状,能满足透气和滤菌要求		
培养基面	面距瓶(袋)口的距离	50 mm±5mm		
接种量[每瓶(袋))原种接栽培种数](非透气袋、	(30~50)瓶(袋)		
	瓶)			
接种量[每瓶(袋) 原种接栽培种数](透气袋)	接种量 0.5%以内		
	菌丝体生长量	长满容器		
	菌丝体特征	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		
 菌种外观	培养基及菌丝体(非透气袋)	紧贴瓶(袋)壁,无干缩		
	培养基及菌丝体(透气袋)	结构松散、菌丝生长均匀		
	表面分泌物	无		
	杂菌菌落	无		
拮抗现象		无		
气味		有双孢蘑菇菌种特有的香味,无酸、臭、霉等异		
		味		

4.3.3 微生物学指标应符合表 2 规定。

4.3.4 菌丝生长速度: 在适宜培养基上,在适温(24℃±1℃)下,非透气袋(瓶)上端接种菌丝长满不超过 45 d,透气袋混合接种菌丝长满不超过 20 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,原种、栽培种按菌种来源、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、栽培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。

6 试验方法

6.1 感官检验

按表6逐项进行。

表 6 感官检测方法

检验项目	检验方法	检验项目		检验方法
容器	肉眼观察	接种量	母种、原种	肉眼观察,生产记录
			栽培种	检查生产记录
棉塞,无棉塑料盖	肉眼观察	菌丝生长量		肉眼观察
母种培养基灌入量	肉眼观察	菌种外观各项		肉眼观察
サ作力が発進八里	內毗观奈	(杂菌菌落除外)		内似处奈

GB 19171-202X

母种正面外观各项	肉眼观察	杂菌菌落	肉眼观察, 必要时用 5× 放大镜或显微镜观察
培养基上表面距瓶(袋) 口的距离	肉眼观察	气味	鼻嗅

6.2 微生物学检测

- 6.2.1 表 2 中菌丝和杂菌的检测参照 NYT1284—2007 食用菌菌种中杂菌及害虫的检验的 7.1.1 和 7.1.2。
- 6.2.2 细菌检验参照 NYT1284-2007 食用菌菌种中杂菌及害虫的检验的 7.1.3。
- 6.2.3 害虫检测参照 NYT1284—2007 食用菌菌种中杂菌及害虫的检验的 7.2。
- 6.3 菌丝生长速度
- 6.3.1 母种: PDA 培养基, 在 24℃±1℃下培养, 计算长满所需天数。
- 6.3.2 固体原种和栽培种:采用附录 B.1、B.2 或 B.4 规定的配方之一,在 24℃±1℃下培养,计算长满所需天数。
- 6.4 母种遗传和栽培性状
- 6.4.1 菌丝体同工酶、DNA 鉴定: 取菌龄为 15~20 d 的母种, 刮取菌丝, 参考 NY/T1097、NY/T1743 中的同工酶、DNA 样品制备及试验方法, 再根据特征条带对比鉴定。
- 6.4.2 栽培性状:使用附录 B.4.1 培养基按表 7 各项观察记录。
- 6.4.2.1 菌丝萌发、定植与生长能力:接种到附录B.4.1培养基(含水量提高到68%)上,在适温($24\%\pm1\%$)下培养,肉眼观察菌丝萌发、定植与生长情况。
- 6.4.2.2 结菇转潮能力:栽培试验,肉眼观察,计算覆土到出第一潮菇的时间。
- 6.4.2.3 生物学效率: 栽培试验,记录、统计产量,按 GB/T 12728-2006 中 2.1.27 规定计算。
- 6.4.2.4 栽培试验:将被检母种制成栽培种。采用附录 B.4.1 的培养基配方(含水量提高到 68%),配制 360 kg 培养基,接种后分三组(每组 2m²)进行常规管理,根据表 7 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。对比二者的检验结果,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;菇体外观形态与对照明显不同或畸形者,为不合格。

检验项目	检验结果	检验项目	检验结果	
母种长满所需时间/天		转潮间隔时间/天		
原种长满所需时间/天		总产/Kg		
栽培种长满所需时间/天		平均单产/Kg		
菌种萌发所需时间/天		平均单菇质量/g		
菌丝发满培养基所需时间/天		生物学效率(%)		
覆土至扭结所需时间/天		菇形、质地、色泽		
覆土至采菇所需时间/天		菇盖直径、厚度、柄长、		
		柄粗(直径)/mm		

表 7 母种栽培中农艺性状和商品性状检验记录

6.5 留样

销售的菌种要留样备查,每批次留样 $3\sim5$ 支(瓶、袋),于 4° C $\sim6^{\circ}$ C下贮存,母种 5 个月,固体原种 4 个月,栽培种 4 个月。

7 检验规则

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

8 标签、标志、包装、运输、贮存

8.1 标签

8.1.1 产品标签

销售的菌种应附有标签和使用说明。标签标注的内容应当与销售菌种相符。

a) 产品名称(如:双孢蘑菇母种);

- b) 品种名称(如:福蘑78),授权品种应当标注品种权号;
- c) 接种日期;
- d) 保藏条件、保质期;
- e) 菌种生产经营许可证编号、信息代码;
- f) 执行标准(如国标 GB 19171-202×);
- g) 生产者名称、生产地点。

8.1.2 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。

8.2 包装

- **8.2.1** 母种外包装采用木盒或有足够强度的纸材制做的纸箱,内部用棉花、碎纸、报纸等具有缓冲作用的轻质材料填满,也可以采用泡沫箱、保温箱等外包装,必要时箱内加冰袋。
- **8.2.2** 固体原种、栽培种外包装采用有足够强度的纸材制做的纸箱,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 8cm 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 在气温 25℃以上时, 需用 2℃~20℃的冷藏车运输。
- 8.3.3 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。

8.4 贮存

- **8.4.1** 母种在 2~4℃下贮存, 贮存期不超过 90 d。
- **8.4.2** 原种应尽快使用。固体原种可在温度 24° C±1 $^{\circ}$ C、清洁、通风、干燥(相对湿度 50%~75%)、避光的 室内存放,贮存期不超过 10 天; 也可在 5° C±1 $^{\circ}$ C下贮存,贮存期不超过 40 天。液体原种不宜贮存。
- **8.4.3** 栽培种应尽快使用,在温度 24℃±1℃、清洁、通风、干燥(相对湿度 50%~75%)、避光的室内存放谷粒种不超过 10 d,其余培养基的栽培种不超过 20 d。在 5℃±1℃下可贮存 90 d。

附录A (规范性附录) PDA 和营养肉汤培养基配方

A.1 PDA培养基

马铃薯200g(取用浸出液),葡萄糖20g,琼脂20g,水1000mL,pH自然。

A. 2 营养肉汤培养基

蛋白胨10g, 牛肉膏3g, 氯化钠5g, 水1000mL, pH7.4。

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 谷粒菌种培养基

谷粒98%, 石膏粉2%, 含水量50%±1%, pH7.5~8.0。

B. 2 颗粒菌种培养基

菜籽粕 32g, 麸皮 10g, 腐熟麦秆或稻杆粉 20g, 硅藻岩颗粒 20g, 珍珠岩 10g、轻质碳酸钙 15g, 起始 pH 7.8, 含水量 54%。

B. 3 液体原种培养基

葡萄糖5g, 小米粉7.5g, 蛋白胨2g, 黄豆粉5g, MgSO₄·7H₂O 0.75g, KH₂PO₄ 2g, 水1000mL, pH自然。

B. 4 腐熟料菌种培养基

B.4.1 腐熟粪草菌种培养基

腐熟麦秆或稻秆(干)77%,腐熟牛粪粉(干)20%,石膏粉1%,碳酸钙2%,含水量62%±1%,pH7.5。

B.4.2 腐熟棉籽壳菌种培养基

腐熟棉籽壳(干)97%,石膏粉1%,碳酸钙2%,含水量55%±1%,pH7.5。

1