

ICS 65.020
B60

DB35

福建省地方标准

DB35/T 1233—2011

食用菌菌种活力检测技术规范

Measurement technical regulation of mushroom spawn activity

2011 - 12 - 31 发布

2012 - 03 - 15 实施

福建省质量技术监督局 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》的起草规则编写。

本标准由福建省农业厅提出并归口。

本标准起草单位：福建农林大学、福建省食用菌技术推广总站、福建省农业科学院。

本标准主要起草人：邓优锦、廖剑华、江玉姬、上官舟建、朱坚、肖淑霞、黄志龙、张金文、阮淑珊、吴小平、温志强、谢宝贵。

食用菌菌种活力检测技术规范

1 范围

本标准规定了食用菌菌种活力检测技术规范的感官评定、细胞核数量检测、温度胁迫萌发检测、菌丝再生能力检测评价食用菌菌种活力的方法。

本标准适用于香菇、毛木耳、黑木耳、金针菇、杏鲍菇、真姬菇、双孢蘑菇、草菇、鸡腿菇的母种、原种和栽培种。

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/T 12728-2006 食用菌术语

GB/T 19171 双孢蘑菇菌种

GB/T 23599 草菇菌种

NY/T 1846-2010 食用菌菌种检验规程

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

3.1

菌种活力

菌种的生长、繁殖能力。

3.2

高温胁迫

过高温度对生物体所处的生存状态产生的生理机能代谢下降。

3.3

插片法

采用平皿培养菌丝，在菌丝还未萌发时将灭菌的盖玻片与培养基表面成30度角倾斜插入离菌种块约1cm处的培养基中，待菌丝生长至盖玻片约1/3处时，拔出盖玻片，反面放置载玻片上观察，从而获得可以在显微镜上观察菌丝生长脉络的一种真菌菌丝显微制片方法。

3.4

高温抑制线

食用菌菌种在生产过程中受高温的不良影响，培养物部分区域呈现发黄、发暗或菌丝变稀弱的现象与正常菌丝出现的明显界线。

3.5

壁料分离

菌种培养基因收缩而导致与试管壁、菌种瓶、塑料袋等容器壁分开的现象。

3.6

最高温度

食（药）用菌生长发育温度范围的上限。

4 方法与步骤

4.1 抽样

按“NY/T 1846-2010”中5.1和5.2进行抽样。

4.2 感官评定

4.2.1 母种

母种出现下列情况之一，判定菌种活力已减弱：

- a) 斜面培养基干缩，出现质壁分离；
- b) 菌丝明显变色或出现暗斑。

4.2.2 原种与栽培种

原种与栽培种出现下列情况之一，判定菌种活力已减弱：

- a) 菌丝明显变色，菌种变软、大量吐黄水；
- b) 出现壁料分离；
- c) 产生高温抑制线；
- d) 菌种明显失水变轻。

4.3 细胞核数量检测

4.3.1 适宜的食用菌品种

本检测适用于草菇。

4.3.2 细胞核数量测定

采用插片法培养获取待观察菌丝。无菌条件下，在距待测母种接种块1cm~2cm处，原种或栽培种的中央位置，挑取大小约0.5cm×0.5cm×0.5cm的菌丝块，转接至平板PDA培养基中央（当待测菌种为母种时，接种块的菌丝面朝上），于菌种最适宜的温度下培养。

取出带菌丝的盖玻片，滴一滴DAPI（4',6-联脒-2-苯基吡啶二盐酸盐）染料至载玻片中，并反向盖上带菌丝的盖玻片，荧光显微镜下随机选取50个视野观察，每个视野随机选1个完整细胞进行细胞核数量测定，并做好记录。

4.3.3 活力评价

4.3.3.1 测定正常菌种菌丝细胞的平均细胞核数量，作为参考系。

4.3.3.2 重复计数3次，并与正常菌种进行统计分析，如待测菌种菌丝细胞的平均细胞核数量显著低于正常菌种，说明该菌种活力减弱。

4.4 高温胁迫萌发检测

4.4.1 处理温度的设定

处理温度等于最高温度减去2℃。

4.4.2 实验步骤

4.4.2.1 取待测菌种，挑取大小约0.5cm×0.5cm×0.5cm的菌丝块，转接至PDA平板培养基中央，于处理温度下放置1个小时。

4.4.2.2 待测菌种取样位置，母种为距接种块1cm~2cm处，原种或栽培种为菌种瓶的中央位置，若待测菌种为母种，接种块的菌丝面朝上。

4.4.2.3 将处理好的平皿放置菌株最适培养温度培养，每隔2小时~3小时观察一次。

4.4.3 活力评价

测定待测菌种3次，每次3个重复，若萌发时间比正常菌种延长2倍以上，判定待测菌种活力减弱。

4.5 菌丝再生能力检测

4.5.1 栽培基质中菌丝再生能力检测

4.5.1.1 培养基

4.5.1.1.1 木生菌

杂木屑（细）78%、麦麸20%、糖1%、石膏1%，含水量58%~62%，pH值自然。

4.5.1.1.2 草生菌

草菇培养基按“GB/T 23599—2009”中A.2.2的草菇培养基配方，双孢蘑菇的按照“GB 19171—2003”中B.2.1的双孢蘑菇培养基配方。

4.5.1.2 实验步骤

4.5.1.2.1 取待测菌种，挑取大小约0.5cm×0.5cm×0.5cm的菌丝块，转接至装培养料试管上表面中央，于最适的温度下培养。

4.5.1.2.2 按本标准4.4.2.2进行。

4.5.1.2.3 记录萌发时间，当菌丝长至1cm~2cm时，在菌丝前缘画线作为生长起始线，记录时间。

4.5.1.2.4 画线后放回培养，当菌丝生长最快的试管即将长满时，在菌丝前缘画终止线，记录时间，测量起始线与终止线之间的距离，计算菌丝生长速度。

4.5.1.3 活力评价

测定待测菌种3次，每次3个重复，若萌发时间或生长速度比正常菌种延长2倍以上，判定待测菌种活力减弱。

4.5.2 搔菌法检测

4.5.2.1 实验步骤

取待测菌种，按无菌操作要求，用接种铲或接种耙搔除菌种表面（母种斜面、原种或栽培种瓶袋料面）一薄层培养基，塞回棉花塞，放于适宜的温度下培养，观察其萌发出新菌丝的能力。

4.5.2.2 活力评价

按本标准4.4.3进行。
