

中药材 茯苓菌种生产技术规程

Chinese Medicina Materials

Production technology rule for Poria cocos pure culture



2009-10-26 发布

2010-01-01 实施

湖北省质量技术监督局 发布

引 言

茯苓为多孔菌科真菌，其菌核是一种食药兼用资源，由于野生茯苓难以采挖，茯苓商品多由产区农民使用人工分离、培育的“菌种”作为种源栽培提供。为规范茯苓菌种生产，提高茯苓栽培产量及品质，促进茯苓产业的健康可持续发展，北京同仁堂湖北中药材有限公司、湖北省中医药研究院、华中农业大学科技人员在总结多年开展“茯苓规范化种植研究”及长期从事茯苓菌种生产经验的基础上，按照我国《中药材生产质量管理规范（GAP）》、《食用菌菌种生产技术规程》及《湖北省食用菌菌种管理办法》等综合技术要求，制订了本规程。

地方标准信息服务平台

中药材 茯苓菌种生产技术规程

1 范围

本标准规定了茯苓菌种生产技术规程的术语和定义、菌种生产、母种生产、原种生产、栽培种生产、茯苓菌种质量标准与检验、菌种的储存与标签。

本标准适用于湖北省茯苓菌种的规范化生产。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件，其随后所有的修改单（不包括勘误的内容）或修订版均不适用于本标准，然而，鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件，其最新版本适用于本标准。

GB 3095 大气环境质量二级标准

GB 5749 生活饮用水卫生标准

NY/T 528-2002 食用菌菌种生产技术规程

《中药材生产质量管理规范（试行）》国家药品监督管理局 局令2002年第32号

《湖北省食用菌菌种管理办法》湖北省人民政府令2009年第330号

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

3.1 茯苓 *Poria*

多孔菌科真菌茯苓 *Poria cocos* (Schw.) Wolf 的菌核，供药、食两用。

3.2 菌种 *pure culture*

经人工培养并可供进一步繁殖或栽培使用的茯苓菌丝体及其生长基质组成的繁殖材料包括母种、原种、栽培种。

3.3 种苓 *mother sclerotium*

经精心培育、选择，用于分离茯苓母种的优质鲜茯苓菌核。

3.4 菌龄 *cell ages*

菌种菌丝体的生长时间，即菌种自接种至使用之间的间隔时间。

4 菌种生产

4.1 从事茯苓菌种生产经营的单位和个人，其资金、设备和技术条件应当符合《湖北省食用菌菌种管理办法》的规定。

4.2 茯苓菌种生产的环境空气质量符合 GB 3095 的规定。

4.3 茯苓菌种生产用水质量符合 GB 5749 的规定。

5 母种生产

5.1 种苓的选择

- 5.1.1 在传统产区，经提前精心培育而成的优质鲜茯苓菌核；
- 5.1.2 个体较大，近球形，外皮较薄，色黄棕或淡棕，有明显的白色或淡棕色裂纹，重量>2.5kg；
- 5.1.3 生长旺盛，切开或掰开后，内部苓肉色白，茯苓气味浓郁，有乳白色汁液或淡青色浆汁渗出；
- 5.1.4 外皮完整，无虫咬损伤，无腐烂异味；
- 5.1.5 种苓选定后要及时进行分离使用，若需暂短储存或运往他地使用，必须埋于湿沙中储存，以防干燥。

5.2 培养基

- 5.2.1 配方：马铃薯（去皮）200g、葡萄糖 20g、琼脂 20g、水 1000ml。
- 5.2.2 配制：将马铃薯去皮，洗净，切片，加水 1000ml，煮沸 30min，过滤，滤液中加入琼脂，煮至全部溶化，再加入葡萄糖，搅拌溶化，补足水分至 1000ml，分装于试管中，塞上棉塞。
- 5.2.3 灭菌：将配制的母种培养基置高压灭菌锅内，用 0.103MPa 压力（温度 121℃）灭菌 30min，趁热摆放斜面，冷却后备用。

5.3 组织分离

- 5.3.1 分离前准备：按无菌操作法对无菌室或无菌箱内的空气、环境、操作台面、用具及移入的培养基试管等进行表面消毒灭菌，操作人员按无菌操作着装、手部消毒。
- 5.3.2 种苓表面消毒：将选好的种苓用清水冲至无泥沙，待表面稍干后，移入无菌室净化工作台上。用 0.2%升汞或 70%酒精冲洗，进行表面消毒，再用无菌水冲洗数遍，除去表面药液。打开紫外线灯照射 5min~10min。
- 5.3.3 种苓切割：待种苓表面稍干，用灭菌刀从种苓的中央切一浅口，掰开。

5.4 接种

- 5.4.1 用灭菌的解剖刀或接菌铲在近茯苓皮内侧 2cm~3cm 处，挑取 0.1cm 厚、0.5cm 见方的白色苓肉，接于试管斜面培养基上。
- 5.4.2 贴标签：将分离、接种后的试管，贴上标签，其内容应当符合《湖北省食用菌菌种管理办法》规定。

5.5 培养与剔杂

- 5.5.1 将试管置于 22℃~25℃恒温培养箱中培养 5d~7d。
- 5.5.2 培养 2 天，可见接种块周围长出白色绒毛状的茯苓菌丝。随着培养时间的延长，可见茯苓菌丝在培养基上不断延伸。
- 5.5.3 培养过程中经常观察菌丝生长情况，凡菌丝长速慢、稀疏、不匀、发黑、污染者，须及时剔出。
- 5.5.4 母种转管次数应控制在 2 次~3 次。

6 原种生产

6.1 培养基

- 6.1.1 配方：小麦粒 90%、松木屑 10%、营养液（1%蔗糖、0.5% NH_4NO_3 或 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ）。
- 6.1.2 配制：将麦粒精选，除去瘪粒、杂质，洗净，置 40℃左右的营养液中浸泡 10h，取出，沥干，与一半的松木屑混匀，装于 500ml 原种瓶（袋）中，边装边振摇，并稍压实，装至瓶（袋）肩处。将另

一半松木屑用营养液润湿，覆盖于培养基表面，厚约0.5cm。揩净瓶（袋）内、外壁沾附物，塞棉塞，扎口。

6.1.3 灭菌：将配制的原种培养基用0.1373MPa压力（温度126℃）灭菌2h，或用流通蒸汽（100℃）灭菌8h~10h，冷却后备用。

6.2 接种：在无菌室内，用无菌操作法，挑取长宽各1.5cm左右的优质母种块（连同培养基），移于原种培养基上端中央，随即盖塞或扎口。

6.3 贴标签：在接种后的原种瓶（袋）上贴上标签，其内容应当符合《湖北省食用菌菌种管理办法》规定。

6.4 培养与剔杂

6.4.1 将接种后的原种瓶（袋）置于25℃~30℃培养室中培养。

6.4.2 当茯苓菌丝生长至瓶（袋）内2/3处时，移入10℃~25℃的常温培养室内继续培养。

6.4.3 接种后的母种块，在原种培养基内培养1d~2d，可见茯苓菌丝恢复生长，并逐渐由母种块向外延伸。

6.4.4 培养过程中须经常检查菌丝生长情况，凡表现异常，特别是长速慢、菌丝稀疏、不均、发黑、污染者须及时剔出，深埋。

6.5 清场：每一批次的原种生产完成后，均应进行清场，包括清除生产中的废弃物，作好环境清洁，将物品定位放置，并做好清场记录。

7 栽培种生产

7.1 培养基

7.1.1 配方：松木屑78%、米糠（或麦麸）20%、蔗糖1%、熟石膏1%、水料比1:1.0~1.2。松木屑要求新鲜、干燥，无霉变，使用前应经日晒或室内堆放干燥处理。

7.1.2 配制：首先将蔗糖溶于水，将米糠（或麦麸）与熟石膏混匀，再加入松木屑，拌匀，然后加入蔗糖水翻拌均匀，使培养基含水量65%~70%（即紧握培养基料使指尖稍见渗水为度）。放置30min，待水分均匀渗入料中进行装袋，将菌种袋（Φ12cm，高25cm，厚4丝）撑开，装料，每袋400g左右，压实，擦净袋口内外壁沾附物，扎口。

7.1.3 灭菌：将上述料袋用0.1373MPa压力（温度126℃）灭菌2h，或用流通蒸汽（100℃）灭菌8h~10h，冷却后备用。

7.2 接种

7.2.1 在无菌室内，用无菌操作法，将原种瓶（袋）打开，除去原种表面的菌膜及表面培养物。

7.2.2 用接种枪或接种匙取5g左右略加捣碎的原种块，移于栽培种培养基上，封口。

7.3 贴标签：在接种后的菌袋上贴上（印有）标签，其内容符合《湖北省食用菌菌种管理办法》规定。

7.4 培养与剔杂

7.4.1 高温培养：将接种后的菌种袋连同周转箱一起置于高温培养室内，在25℃~30℃温度下培养。

7.4.2 常温培养：待菌丝生长延伸至培养料2cm~3cm处，移入10℃~25℃的常温培养室内继续培养，20d~30d，茯苓菌丝可长满菌袋。

7.4.3 培养过程中，经常检查培养室温、湿度变化及菌丝生长情况，发现菌丝长速明显缓慢，菌丝稀疏、不均、地图斑、发黑、杂菌污染，及时剔出，深埋。

7.4.4 菌丝满料后，逐一检查菌种质量，合格品装入专用包装袋内，按批号归类就地储存。

7.5 清场：每一批次栽培种生产完成后，均应进行清场，包括清除生产中的废弃物，作好环境的清洁，将物品归位，并做好清场记录。

8 茯苓菌种质量标准与检验

8.1 母种质量标准与检验

8.1.1 母种质量标准

8.1.1.1 菌龄<30d；

8.1.1.2 菌丝色白、均匀、致密、粗壮，茯苓特异香气浓郁；

8.1.1.3 菌丝体表面可见晶莹的露滴状分泌物；

8.1.1.4 菌种试管完整无损，棉塞严密，无杂菌污染。

8.1.2 母种检验

8.1.2.1 按照茯苓母种质量标准，在自然光下采取目测方法，每隔 2d 于培养过程中观察各试管菌种生长速度、菌丝形态；

8.1.2.2 凡表现异常，特别是长速慢、菌丝稀疏、不均、发黑、污染者应及时淘汰剔出；

8.1.2.3 菌丝长满斜面后，按上述质量标准逐支检查，合格者置冰箱 4℃ 保存；

8.2 原种质量标准与检验

8.2.1 原种质量标准

8.2.1.1 菌龄 20d~45d；

8.2.1.2 菌丝生长旺盛，洁白、均匀、致密，爬壁现象明显，有根状菌索尤佳；

8.2.1.3 菌丝体尖端可见乳白色露滴状分泌物，茯苓特异香气浓郁；

8.2.1.4 菌种瓶（袋）完整无损，无杂菌污染。

8.2.2 原种检验

8.2.2.1 按照茯苓原种质量标准，在自然光下采取目测方法，于培养过程中经常观察各菌种瓶（袋）内菌丝生长情况；

8.2.2.2 凡发现菌丝长速明显缓慢，菌丝稀疏、不均、地图斑、发黑、污染者，应及时剔出；

8.2.2.3 菌丝在瓶（袋）内长满后，按上述质量标准逐瓶（袋）检查，合格者方可转入下一道工序，作为茯苓栽培种生产的种源；

8.3 栽培种质量标准与检验

8.3.1 栽培种质量标准

8.3.1.1 菌龄 30d~60d；

8.3.1.2 菌丝洁白致密，生长均匀，布满菌袋内；

8.3.1.3 菌丝体尖端可见晶莹露滴状分泌物，茯苓特异香气浓郁；

8.3.1.4 菌袋完整无破损，菌丝充满菌种袋（满料），手握菌种袋，感觉坚实，无松散，无软化。菌丝无发黄、发黑，地图斑，无软化，无子实体出现，无杂菌污染。

8.3.2 栽培种检验

8.3.2.1 按照茯苓栽培种质量标准，在自然光下采取目测法，于菌种培养过程中经常观察各菌种袋内菌丝生长情况；

8.3.2.2 发现菌丝体发黄、发黑、不均、地图斑、污染者，应及时剔出；

8.3.2.3 逐一检查各菌种袋，应符合上述质量标准，且菌丝长满菌种袋（满料），菌丝无倒伏现象。手握菌种袋，感觉坚实，无松散，无软化；

9 菌种的储存与标签

9.1 母种、原种、栽培种的标签内容均应符合《湖北省食用菌菌种管理办法》中有关规定。

9.2 母种储存

9.2.1 母种检验合格后，应置于4℃冰箱保存条件下进行储存。

9.2.2 母种储存保质期的菌龄<30d。

9.3 原种储存

9.3.1 原种检验合格后，应及时使用，或置于10℃~25℃的常温培养室内储存。

9.3.2 储存期间应按时进行抽样检查，及时剔出不合格品，并认真作好菌种储存及抽样检查记录。

9.3.3 原种储存保质期的菌龄<45d。

9.4 栽培种储存

9.4.1 栽培菌种检验合格后，应及时使用，或置于10℃~25℃的常温培养室内储存。

9.4.2 储存时，应将菌种按一定数量装入专用包装袋中，单层置于货架或垫板上，码放整齐，不得叠放，以免使菌种局部温度过高，导致衰亡。

9.4.3 储存期间应按时进行抽样检查，及时剔出不合格品，并认真作好菌种储存及抽样检查记录。

9.4.4 栽培菌种储存保质期的菌龄<60d。

地方标准信息服务平台