DB 65

新疆维吾尔自治区地方标准

DB65/T XXXX-2025

野生食用菌种质资源收集与保藏技术规程 (兵团)

Technical regulation for collection and preservation of wild edible fungi (XPCC)

(征求意见稿)

(本草案完成时间: 2025年7月20日)

在提交反馈意见时,请将您知道的相关专利连同支持性文件一并附上。

2025 - 07 - 20 发布

XXXX-XX-XX 实施

目 次

前	言	I	Ι
1	范围	1	1
2	规范	5性引用文件	1
3	术语	吾和定义	1
4	收集	[准备阶段	2
	4.1	掌握野生菌发生情况	2
	4.2	确定地点和时间	2
	4.3	准备物资	2
5	种质	竞资源收集	3
	5. 1	采集对象	3
	5.2	采集要求	
	5.3	采集编号	3
6	子实	字体形态和生态生境特征记录要素	3
	6.1	基本信息记录	3
	6.2	图片记录	
	6.3	子实体形态特征记录要素	
	6.4	生态生境记录要素	4
7	种质	〔资源鉴定	4
	7. 1	形态学鉴定	
	7.2	分子生物学鉴定	4
8	种质	5资源保藏	4
	8.1	标本保藏	
	8.2	菌种保藏	
	8.3	核酸保藏	ō
9	种质	〔资源管理	5
	9.1	建立保种目录	5
	9. 2	库藏更新	5

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。

本文件由新疆农垦科学院提出。

本文件由新疆生产建设兵团农业农村局归口并组织实施。

本文件起草单位:新疆农垦科学院、北京林业大学、石河子大学、福建农林大学、吉林农业大学、 塔里木大学。

本文件主要起草人:武冬梅、高能、崔宝凯、孙一翡、郭新勇、邱君志、许太敏、李长田、胡建伟。 本文件实施应用中的疑问,请咨询新疆农垦科学院。

对本文件的修改意见建议,请反馈至新疆生产建设兵团农业农村局(乌鲁齐市光明路196号)、新疆农垦科学院(新疆石河子市乌伊公路221号)、新疆维吾尔自治区市场监督管理局(乌鲁木齐市新华南路167号)。

新疆生产建设兵团农业农村局 联系电话: 0991-2890281; 传真: 0991-2890294; 邮编: 830002 新疆农垦科学院 联系电话: 0993-6683172; 传真: 0993-6683172; 邮编: 832000

新疆维吾尔自治区市场监督管理局 联系电话: 0991-2818750; 传真: 0991-2311250; 邮编: 830004

野生食用菌种质资源收集与保藏技术规程(兵团)

1 范围

本规程规定了野生食用菌种质资源收集与保藏的术语与定义、种质资源收集的基本要求、种质资源鉴定、标本与菌种资源保藏的方法及种质资源管理。

本规程适用于食用、药用或食药兼用的野生菌种质资源收集和保藏。

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 12728 食用菌术语

NY/T 528 食用菌菌种生产技术规程

NY/T 1742 食用菌菌种通用技术要求

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3. 1

食用菌

是指子实体硕大、可供食用的蕈菌(大型真菌),通称蘑菇,如平菇、香菇、草菇、阿魏菇、双孢 蘑菇、牛肝菌、羊肚菌、巴楚蘑菇等。

3. 2

野生菌

非人工种植、天然分布在野外草地、林地、公园、湿地及其他附着物上、靠自然条件生长,具有经济、生态、科学价值,肉眼可见的大型真菌子实体,包括食用、药用、食药兼用或其他用途的野生菌。 3.3

种质资源

种质资源是指具有实际或潜在利用价值的、携带生物信息的遗传物质及其载体,可用于食用菌品种选育或其他生物学特性研究的野生资源。

3. 4

子实体

食用菌产生孢子的器官,由组织化的菌丝体组成,如担子果、子囊果。食用菌中供食用的菇体和耳片都是子实体。

3. 5

菌种分离

是一种利用新鲜或干燥野生菌子实体的某一部分、或通过收集孢子获取菌种的方法。

DB65/T XXXX-2025

3.6

菌种

由食用菌菌丝体及适宜的生长基质组成的繁殖材料,包括母种(一级菌种)、原种(二级菌种)和栽培种(三级菌种)。

母种(一级菌种)是从子实体中提纯、复壮后经过各种方法选育得到的具有结实性的菌丝体纯培养物及继代培养物,通常用试管斜面培养基培养。

原种(二级菌种)是由母种再扩繁转移到木屑、棉籽壳或谷料培养基上得到的菌种,培养容器多用菌种瓶。

栽培种(三级菌种)是由原种再扩繁的菌种,可直接用于生产。

3. 7

菌种提纯

采取一定的措施使菌种得到进一步纯化并保持优良性状。

3.8

继代培养

通过定期更换新鲜培养基使菌种得以保持活力(萌发能力和吃料能力等)的方法。

3.9

菌种保藏

根据菌种的生命活动必需的营养、环境等条件,采取低温、干燥、隔绝空气和断绝营养等技术措施,最大限度地减缓其新陈代谢强度,抑制菌丝的生长和繁殖,减少变异的发生,从而保持其固有的形态、生理、遗传等各种优良性状。

3.10

菌种老化

是菌种随着培养时间的延长生理机能衰退的现象。

3. 11

菌种退化

菌种在生长过程中由于遗传变异导致优良性状下降的现象。

3. 12

菌种复壮

良种繁育中提高菌种活力防止菌种退化的技术措施。

4 收集准备阶段

4.1 掌握野生菌发生情况

通过访问或咨询当地野生菌爱好者、保护区工作人员和护林员,了解当地野生菌种类、分布和发生情况。

4.2 确定地点和时间

根据当地森林类型和地形地貌等设计路线,重点调查植被类型多样,人类干扰较少,生态环境良好,生物多样性丰富的林地、湿地等生态类型;采集时间应贯穿各类野生菌生长的不同时期,特有、珍稀经济资源的收集应确定针对性强的时间和地点。

4.3 准备物资

包括交通工具、采集必备物品(相机、采集箱、标本袋、遮光板、刀具、样品标签、记号笔、记录本、烘箱、自封袋、PDA平板或试管、酒精灯、镊子、酒精棉、变色硅胶等)、生活用品(衣物、雨具、冲锋衣、常用药品)和其他物品(温湿度计、指南针、对讲机、望远镜、地图和交通图等)的准备。

5 种质资源收集

5.1 采集对象

包括食用、药用或食药兼用的野生菌。

5.2 采集要求

采集样本(标本)时秉持不采菇蕾、幼菇的原则。采集后尽量将基物归置原位,恢复原貌,保证菌 丝体的再生长。

每种野生菌样本(标本)应采集3-5个子实体,尽量包括不同成熟期的。采集时尽量样本(标本) 保持子实体的完整性,并带有少量基物,做好形态和生态记录。

样本(标本)需轻拿轻放,尽量拿其基部并减少触碰次数,最好用铝箔纸分开包裹每一个不同个体, 质地较硬的可以用牛皮纸袋。

采集的样本(标本)连同采集标签一同装入采集容器。

5.3 采集编号

采集编号通常由省份(拼音简写)+单位(拼音简写)+采样人+样品顺序号组成,顺序号由001开始递增。

6 子实体形态和生态生境特征记录要素

6.1 基本信息记录

包含采集时间、采集的具体地点、采集人、经纬度、海拔、附着物(草地、林地、活树、朽木等)等信息。尽可能写明拉丁属名或种名,中文学名和俗名在确定情况下也应注明。

6.2 图片记录

采用高清相机记录,相机像素至少在1000万像素以上。拍照时参数ISO设置为200,光圈为19-21,曝光补偿为0。最好设置拍照日期,背景尽量简单,黑暗环境可使用补光灯,光照较强时要用遮光板或雨伞遮光。

采集的图片通常是在野生菌子实体采摘前拍摄的多角度图片,不仅要有采集点全景、生境、伴生植物、标签等,而且还应充分反映成熟子实体的整体和不同部位的局部特征,包含野生食用菌的正面、背面、剖面、局部等(菌盖表面、菌裙或菌管、菌环、菌托等)。

6.3 子实体形态特征记录要素

6.3.1 菌盖特征

菌盖的颜色、形状、大小、鳞片类型、是否伤变色、是否发黏、光滑与否、表面纹饰和菌盖边缘形状等。

菌肉的质地、颜色、气味、厚薄、是否伤变色、是否有汁液等。

6.3.2 菌柄特征

DB65/T XXXX-2025

菌柄的直径、颜色、质地、形状、长度、宽度、中空与否、是否伤变色、基部是否膨大、附属物(鳞片,绒毛等)、有无纵纹或凹陷及菌柄与菌盖的位置关系(中生、偏生、侧生等)。

6.3.3 菌褶或菌管特征

菌褶的颜色、密度、褶幅、是否伤变色、是否有汁液、菌褶与菌柄的位置关系(延生、直生、弯生、 离生等)。南管的管口的形状、颜色、大小、层数、是否伤变色等。

6.3.4 菌环特征

菌环的有无、颜色、质地、菌环与菌柄的位置关系(上位生、中位生、下位生等)、层数(单层、 双层)、是否容易脱落等。

6.3.5 菌托特征

菌托的有无、颜色、大小、形状(袋状、杯状、粉末状等)、是否容易脱落等。

6.3.6 其他特征

如有菌索或菌根需记录颜色、长短、粗细等;如制作孢子印要记录孢子印颜色。

6.4 生态生境记录要素

6.4.1 生态特点

野生菌生长状态,如单生、散生、群生、丛生、簇生、叠生等。

6.4.2 生境特征

通过文字和图片记录野生菌生长的环境特征,包括森林郁闭度、树种、枯落物厚度、土壤温湿度、 坡度和坡向、林下灌木或草木植物的名称。

详细记录野生菌营养类型(腐生、共生或寄生)、基物、土壤腐殖质、腐木、立枯木、枝条、草丛或落叶等; 地生的应记录附近的建群木本植物和草本植物; 木生的应记录相应树种; 如遇不清楚的则需详细拍照记录详细信息。

7 种质资源鉴定

7.1 形态学鉴定

根据野外信息记录、肉眼观察、体视显微镜下观察解剖特征、相差显微镜下观察微观结构特征,综合利用宏观形态特征、显微结构性状、野外生态习性、寄主树木类型和地理分布等进行鉴定。

7.2 分子生物学鉴定

标本分类整理后,根据分子研究需要使用变色硅胶快速干燥适量新鲜的子实体组织得到分子材料。利用真菌基因组DNA提取试剂盒或采用改良的CTAB法提取标本或分离获得的菌丝体基因组DNA,选择内转录间隔区ITS、翻译延长因子EF1a、RNA聚合酶第一大亚基RPB1、第二大亚基RPB2及核糖体大亚基LSU等基因片段进行分子鉴定。

8 种质资源保藏

8.1 标本保藏

用烘干箱(40~45℃)烘干野生菌子实体得到标本,烘干的标本装入自封袋,并标明采样时间、地点、采集人等信息,入库前先放入-20~-40℃的低温冰箱冷冻15~20d,达到杀灭虫卵的目的。

冷冻结束后置入标本盒并添加干燥剂,入库保藏。标本盒上注明标本保藏号、拉丁学名、中文学名、 采集时间、采集人、鉴定人等信息,按照编号放入标本室的防潮、防火标本柜中。每隔2~3个月进行防 潮、防虫检查和处理。

8.2 菌种保藏

通常以分离获得的纯培养的菌丝体(母种)作为保藏形式,菌种制备应符合NY/T 528和NY/T 1742 规定的要求。同一菌株应选用两种或两种以上的方法进行保藏,只能用一种方法保藏的菌株必须备份并存放于两个以上的保藏设备中;重要菌种则应异地保藏备份。

保藏方法有短期库保藏、中期库保藏和长期库保藏。

8.2.1 短期库保藏(斜面低温保藏)

将需要保藏的菌种接种在适宜的斜面培养基上,适温培养,待菌丝布满斜面时置于医用保藏箱保藏。 大部分品种保藏温度为2~4℃,一些高温品种,如草菇、毛木耳等保藏温度为13~16℃。每隔一定时间 (3~6个月)转接至新的斜面培养基上,生长后继续保藏,如此循环不间断。

8.2.2 中期库保藏(石蜡油封藏或自然基质保藏)

石蜡油封藏是以灭菌后的液体石蜡覆盖培养成熟的菌种斜面,石蜡油高出斜面顶端1cm,通过与空气隔绝降低菌丝体的代谢活动和减少培养基水分蒸发,加硅胶塞并用石蜡封口。保藏温度为低温或室温,一般可保藏2~3年。

自然基质保藏是以不含毒性、刺激性和抑菌成分又富含营养的天然物质作为培养基保存菌种的方法,通常以木屑、枝条、麦粒为主。木屑培养基适用于木腐类和草腐类食用菌,麦粒培养基几乎适用于所有食用菌。保藏温度为2~4℃,一般可保藏2~3年。

8.2.3 长期库保藏(液氮超低温保藏)

液氮超低温保藏是将菌种装在含有冷冻保护剂的安剖瓶内,将安剖瓶放入液氮(-196℃)中进行保藏。理论上菌丝体可以无限期存活,一般可保藏15年以上。

8.3 核酸保藏

将核酸分子(DNA或RNA)溶于合适的溶液后置于4℃、-20℃或-70℃条件下存放。一般4℃条件下可保藏6个月左右,-70℃条件下可保藏5年以上。

9 种质资源管理

9.1 建立保种目录

建立"野生食用菌种质资源保种目录"的Excel文件,用表格记录保藏菌株的各项背景信息,并定期备份和更新。

9.2 库藏更新

DB65/T XXXX—2025

短期、中期与长期保藏库保藏的菌株均有一定的保藏期限,为确保种性与活力不变,要求在一定期限内及时转管更新,避免出现杂菌污染、培养基干缩及菌丝失活等问题。

9.2.1 短期库更新

以标签上的接种日期为准,每隔3~6个月,从短期库提取库藏菌株,在无菌条件下挑取适宜大小的的菌种块,转接至PDA平板,室温培养活化,满板后转接入新的PDA斜面培养基中,适温培养,待菌丝长满试管斜面后3d~5d再重新入库保藏。

9.2.2 中期库更新

以标签上的接种日期为准,每隔3~5年,从中期库提取库藏菌株,在无菌条件下挑取适宜大小的的菌块,用无菌滤纸吸干矿物油,转接至PDA平板,室温培养活化,满板后转接入新的PDA斜面培养基中,待菌丝长满试管斜面后3d~5d再重新入库保藏。

9.2.3 长期库更新

以保藏目录中的入库日期为准,每隔10~15年,从长期库中提取库藏菌株,于35℃恒温水浴锅中解冻,在无菌条件下挑取适宜大小的菌种块,用无菌滤纸吸干甘油,转接至PDA平板,室温培养活化,满板后转接入新的PDA斜面培养基中,再重新切取菌种块,装入冻藏管中,注入甘油防冻剂,浸入液氮罐保藏。

9.2.4 异常情况处理

若短期库中菌株出现杂菌污染、菌丝生长不良和菌种失活等问题,则弃之不用;从中期库中提取相同编号菌株活化、转接更新;中期库更新若仍有问题,则从长期库中提取相同编号菌株活化、转接更新,并在种质资源库更新与维护管理登记表中做好记录,特殊情况应在备注栏中注明。

6