|  |  |
| --- | --- |
| ICS XXXX |  |
| CCS XXXX |  |

四川省地方标准

DB51/T XXXX—XXXX

DB51

中药材僵蚕人工生产技术规程

（征求意见稿）

XXXX-XX-XX发布

XXXX-XX-XX实施

四川省市场监督管理局  发布

目次

[前言 II](#_Toc25720)

[1 范围 1](#_Toc25976)

[2 规范性引用文件 1](#_Toc28446)

[3 术语和定义 1](#_Toc12778)

[4 防疫要求 2](#_Toc31035)

[5 生产环境质量要求 2](#_Toc10079)

[6 饲育场所及设施设备 2](#_Toc14110)

[7 生产管理 3](#_Toc1549)

[8 生产技术要点 3](#_Toc30889)

[9 僵蚕的收集、干燥、储存 4](#_Toc13520)

[10 质量检测 4](#_Toc28120)

[附录A ..............5](#_Toc15864)

[参考文献 6](#_Toc20702)

1. 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。

请注意本文件的某些内容涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由四川省农业农村厅提提出、归口并解释。

本文件起草单位：四川省农业科学院蚕业研究所（四川省农业科学院特种经济动植物研究所）、西南大学、四川国药天江药业有限公司、四川省南充市桃园生物化学研究开发有限公司、南充盛瑞农业有限公司、四川审元药业有限公司。

本文件主要起草人：青学刚、李文学、王琳璐、周围、刘刚、张友洪、肖文福、陈宝瑞、周跃、陈小平、周安莲、安雎、刘斌彬、尹红、张文。

本文件为首次发布。

中药材僵蚕人工生产技术规程

* 1. 范围

本文件规定了动物源中药材僵蚕养殖与生产技术规范，包括防疫规定，饲育场所及设施设备，生产管理，生产技术要点，僵蚕的收集、干燥、储存和质量检测等要求。

本文件适用于四川省内中药材僵蚕饲育和生产。

* 1. 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 3095 环境空气质量标准

GB 5084 农田灌溉水质标准

GB 15618 土壤环境质量 农用地土壤污染风险管控标准（试行）

DB51/T 849 桑蚕小蚕共育技术规程

DB51/T 1186 大蚕蚕台饲育技术规程

* 1. 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

球孢白僵菌 *Beauveria bassiana （Bals.）Vuillant*

种子囊菌门的虫生真菌、 也是家蚕的一种病原真菌，分类上属于真菌界（*Kingdom fungi*）、双核亚界（*Dikarya*）、子囊菌门（*Ascomycota*）、盘菌亚门（*Pezizomycotina*）、粪壳菌纲（*Sordariomycetes*）、肉座菌亚纲（*Hypocreomycetidae*）、肉座菌目（*Hypocreales*）虫草菌科（*Cordycipitaceae*）、白僵菌属（*Beauveria*）。

僵蚕 *Bombyx Batryticatus*

为蚕蛾科昆虫家蚕(*Bombyx mori L.)* 5龄的幼虫感染白僵菌而致死的干燥体。

含孢量 conidia content

每克白僵菌孢子粉中所含的球孢白僵菌分生孢子的个数。

乳化剂 emulsifier

用于辅助球孢白僵菌分生孢子粉分散于水中的试剂，常用吐温80。

僵死率 mortality rate

家蚕在吐丝结茧前通过球孢白僵菌感染引发白僵病死亡的数量占接种家蚕总量的比值。

发僵室 rigidity room

用于家蚕感染球孢白僵菌死后另行放置的场所，等待白僵菌菌丝突破家蚕体壁并形成分生孢子覆盖蚕体。

* 1. 防疫要求
     1. 僵蚕生产基地建设僵蚕生产基地应远离种茧育、丝茧育养蚕区域5 km以上，且避免共用桑园；
     2. 应配备专业从事僵蚕生产的工作人员，不与普通养蚕工作人员交叉。未接种白僵菌蚕与接种白僵菌蚕交叉饲育期间，养蚕区域和工作人员应严格分开
     3. 条示例僵蚕生产使用后的蚕具应及时浸泡消毒，禁止用于种茧育、丝茧育家蚕饲育。
     4. 其它防疫措施参照当地防疫规定进行。
  2. 生产环境质量要求

空气质量 空气质量应符合GB 3095中的二级标准要求。

土壤质量 土壤质量应符合GB 15618中的二级标准要求。

灌溉水质量 灌溉水质量应符合GB 5084中的二级标准要求。

* 1. 饲育场所及设施设备
     1. 饲育场所选择
        1. 选址要求

选择光照和水源充足、没有工业等污染的区域，桑园建设集中连片，且远离种茧育、丝茧育桑园5 km以上，具备完善的道路系统和排灌系统，统一规划生产基地，具有一定规模，统一肥料、农药和技术管理的条件。

生产基地至少完成两个生产周期僵蚕生产，并有两个收获期僵蚕质量检测数据且符合质量标准。

* + - 1. 小蚕共育室

小蚕全部要求共育，每共育50张小蚕，需配备30 m2带天花板的小蚕共育室，其中：层高2.8 m的饲育室16 m2，贮桑室5 m2，操作间9 m2，要求南北朝向、地面水平、墙壁光滑、有对流窗，饲育室具有环境调节功能，且配备消毒池2 m3，有蚕沙池2 m3，蚕沙池离蚕房30 m以上。

* + - 1. 大蚕室

每50张大蚕，需配备100 m2以上大蚕室，配备蚕台蚕架，可饲养大蚕面积达2000 m2以上，蚕房通风换气条件良好，交通便利，与小蚕共育室有一定距离，不影响周围其他农业生产。

* + - 1. 发僵室

每50张僵蚕，要求配备100 m2以上发僵室，可将采收僵蚕摊开平铺，配置调节温湿度设备，便于消毒，且远离桑园和蚕房。

* + - 1. 储藏室

每50张僵蚕需配备100 m2以上储藏室，储藏室要求低温、干燥，配置可调控温湿度的设备。

* 1. 生产管理
     1. 生产基地应具备现场指导人员、监督管理人员，并建立生产档案。
     2. 应生产档案应包含以下内容：蚕品种、菌种、生产人员、消毒、接种时间和接种浓度等生产过程关键操作步骤及操作人员。
     3. 生产档案及相关文件应妥善保管，对于每个批次的养殖全过程信息至少保存3年。
  2. 生产技术要点
     1. 蚕品种选择

根据饲育季节，选择僵蚕专用蚕品种或当地常用个体较大的家蚕品种。

* + 1. 菌种选择

选用菌种应以僵死率为标准，选择家蚕接种后120h~144h僵死率达到95%以上的菌种，不得使用来源不明的白僵菌菌种。

* + 1. 1龄~5龄蚕饲育

1龄~3龄小蚕饲育参照DB51/T 849 执行，4龄~5龄大蚕饲育参照DB51/T 1186执行。

* + 1. 僵蚕生产
       1. 接种时间

5龄起蚕24h内接种白僵菌。

* + - 1. 接种环境准备

保持接种环境温度25℃~27℃，湿度不低于75%，并将该温度、湿度维持到接种后30min。

* + - 1. 菌液的配置和用量

按照球孢白僵菌孢子粉(含孢量≥1×1010个/g，含孢量测定见附录A)2g~3g、0.1 g吐温80、2000 mL水(无菌水或冷开水)的比例配置成菌液，菌液浓度为1×107个／mL~5×107个／mL，配置时，先使用100 mL~200 mL水将吐温80混匀形成母液，将母液和孢子粉倒入水中，充分混匀，温度保持在25℃~27℃，待用。

按照每张标准蚕种（25000 头蚕）接种2000 mL菌液接种。

* + - 1. 接种

采用体表喷雾接种的方法，将1000 mL孢子粉液使用喷雾器（喷头带罩）将菌液均匀喷洒于家蚕5龄起蚕体表，喷雾器要求雾点细密，喷洒均匀，确保1L孢子粉液将每头蚕体喷湿，喷后30 min正常给桑饲养。

* + - 1. 采收

接种后正常饲育，120 h~144 h后蚕发病死亡，待有80%僵死蚕后开始采收。

* + - 1. 接种后管理

接种后正常饲育，120 h~144 h后蚕发病死亡，待有80%僵死蚕后开始采收。

* 1. 僵蚕的收集、干燥、储存
     1. 收集养护

蚕体死亡硬化后及时收集，平摊为单层放置于干净的烘盘中，放入发僵室，发僵室温度保持在25℃~27℃，相对湿度不低于75%，观察白僵菌突出体表时间，当白僵菌分生孢子布满蚕体，变白后，准备干燥。

* + 1. 干燥

将收集养护好的僵蚕放入烘箱烘干，烘干温度50℃~60℃，烘干至水分含量到13%以下。

* + 1. 包装储存

烘干好的僵蚕收集整理，包装好后，标注好品名、产地、生产日期、生产批次和重量等信息，储存在不高于20℃的干燥条件下，避免阳光直射，防虫、防鼠，存放待售。

* 1. 质量检测

按《中华人民共和国药典》第一部僵蚕项检测并符合相关规定。

2. （资料性）  
   含孢量的测定
   1. 试剂

吐温80。

* 1. 仪器设备

光学显微镜、精度为千分之一的天平、组织捣碎机、血球记数板(16×16)、微量移液器、玻璃器皿等。

操作过程

用精度为千分之一的天平准确称取球孢白僵菌孢子粉1 g，装入组织捣碎机的盛液杯中，同时加入0.1 mL的吐温80、200 mL清水，以5000 r／min的速度搅拌2 min，加清水定容至500 mL，再以5000r／min的速度搅拌1 min，使之成为均匀的孢子悬浮液。将孢子浓度控制在每中格20～40个，如果不合适可以稀释样品调节成此浓度。取深度为0.1 mm、血球计数板格为16×16个中格，盖上配套专用盖玻片，用吸管吸取配制好的悬浮液沿盖玻片的边缘滴入，使孢子液恰好充满盖玻片于载玻片之间，以孢子液不入槽为度，多余孢子液用滤纸吸去。放在显微镜载物台上静置1 min～2 min，待浮动的孢子静止后，放大400倍检视计数。

结果计算

血球计数板记数格为16个中格，每个中格为16个小格，则计算双线范围内任一斜对角线上的四个中格共64个小格的孢子总数。记数时每中格的四周如有压线的孢子，计上线不计下线，计左线不计右线。按公式(1)计算待测样品的孢子含量：

………………………………(A. 1)

式中：

S —— 含孢量，亿孢子／g；

S1 ~ S4 —— 任意4个中格中孢子的数量；

T —— 稀释倍数。

每个样品设3个重复。允许误差率为10％。

参考文献

[1] 中华人民共和国药典 一部

[2] 中华人民共和国动物防疫法

