



中华人民共和国国家标准

GB/T 21459.1—2025

代替 GB/T 21459.1—2008

真菌农药母药产品标准编写规范

Specification for drafting standards of fungal pesticide technical concentrates (TK)

2025-10-31 发布

2026-05-01 实施

国家市场监督管理总局
国家标准管理委员会 发布

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。

本文件是 GB/T 21459 的第 1 部分。GB/T 21459 已经发表了以下部分:

- GB/T 21459.1 真菌农药母药产品标准编写规范;
- GB/T 21459.2 真菌农药粉剂产品标准编写规范;
- GB/T 21459.3 真菌农药可湿性粉剂产品标准编写规范;
- GB/T 21459.4 真菌农药油悬浮剂产品标准编写规范;
- GB/T 21459.5 真菌农药饵剂产品标准编写规范。

本文件代替 GB/T 21459.1—2008《真菌农药母药产品标准编写规范》,与 GB/T 21459.1—2008 相比,除结构调整和编辑性改动外,主要技术变化如下:

- a) 更改了术语和定义(见第 3 章,2008 年版的第 3 章);
- b) 更改了“含菌量”控制项目(见 4.3,2008 版的 4.3);
- c) 删除了“活菌率”控制项目(见 2008 版的 4.3);
- d) 删除了“化学杂质”控制项目及测定方法(见 2008 版的 4.3 和 5.6);
- e) 删除了“毒力”控制项目及测定方法(见 2008 版的 4.3 和 5.7);
- f) 删除了“贮存稳定性”控制项目及测定方法(见 2008 版的 4.3 和 5.11);
- g) 增加了“其他限制性组分”质量分数控制项目及测定方法(见 4.3 和 5.6);
- h) 增加了“酸度或碱度”控制项目及测定方法(见 4.3 和 5.8);
- i) 更改了菌种鉴别要求(见 5.2,2008 版的 5.2);
- j) 更改了有效成分含量测定方法(见 5.4,2008 版的 5.3);
- k) 更改了干燥减量的测定方法(见 5.7,2008 版的 5.8);
- l) 删除了“安全”(见 2008 版的 7.4);
- m) 删除了“验收期”(见 2008 版的 7.5);
- n) 增加了质量保证期(见第 7 章)。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由中华人民共和国农业农村部提出。

本文件由全国农药标准化技术委员会(SAC/TC 133)归口。

本文件起草单位:华北制药集团爱诺有限公司、农业农村部农药检定所。

本文件主要起草人:姜宣飞、王文卓、蔡丽萍、吴进龙、赵永辉、袁善奎、李培泽、刘莹、廖先骏、寇雅岚、赵学强。

本文件于 2008 年首次发布,本次为第一次修订。

引　　言

微生物农药是生物农药中的一类,包括由细菌、真菌、病毒和原生动物等天然的或经人工诱变处理及基因修饰的微生物,通过人工繁殖和加工而成的用于防治病、虫、草、鼠等有害生物的制剂。真菌农药是微生物农药的一种,其有效成分是相关靶标生物的病原真菌活菌体。菌体形态主要有孢子(如分生孢子、芽生孢子、休眠孢子等)和菌丝体等。分生孢子是一种无性繁殖细胞,为真菌农药中最常见的形态,并作为有效成分基本单元。真菌农药母药是指由真菌纯菌种经生物发酵获得的单一形态或组合形态的高含量的真菌活菌体制剂,包含伴随发酵过程的相关生物组分和/或少量化学杂质。

GB/T 21459 拟由 5 个部分构成。

- GB/T 21459.1 真菌农药母药产品标准编写规范。目的在于提供真菌农药母药产品标准的编写规范。
- GB/T 21459.2 真菌农药粉剂产品标准编写规范。目的在于提供真菌农药粉剂产品标准的编写规范。
- GB/T 21459.3 真菌农药可湿性粉剂产品标准编写规范。目的在于提供真菌农药可湿性粉剂产品标准的编写规范。
- GB/T 21459.4 真菌农药油悬浮剂产品标准编写规范。目的在于提供真菌农药油悬浮剂产品标准的编写规范。
- GB/T 21459.5 真菌农药饵剂产品标准编写规范。目的在于提供真菌农药饵剂产品标准的编写规范。



真菌农药母药产品标准编写规范

1 范围

本文件规定了真菌农药母药产品标准的技术要求、试验方法、检验规则、验收和质量保证期、标志、标签、包装和储运等的内容和编写要求。

本文件适用于真菌农药母药产品标准的编写。

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 1601 农药 pH 值的测定方法
- GB/T 1604 商品农药验收规则
- GB/T 1605 商品农药采样方法
- GB 3796 农药包装通则
- GB/T 28135 农药酸(碱)度测定方法 指示剂法
- GB/T 30361 农药干燥减量的测定方法

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

孢子 spore

真菌的繁殖体。

注: 有分生孢子、芽生孢子和厚垣孢子等多种类型。

3.2

分生孢子 conidia

由分生孢子梗上产孢细胞(有顶生/侧生、串生/簇生、形状大小多种、单胞/多胞)产生的无色或有色的无性繁殖细胞。

注: 其为真菌农药中最常见的孢子类型。

3.3

含菌量 microbial density

真菌农药单位质量或体积中所含有效成分形态为活菌落体的数量。

3.4

含孢量 spore content; spore concentration

形态为孢子的真菌农药的单位质量或体积中所含有效成分真菌孢子的数量。

注: 真菌农药单位质量或体积中形态为活孢子的数量。

3.5

活孢率 percentage of alive spores

在一定培养条件下,可萌发(孢子萌芽长度大于孢子长度一半的视为)生长的孢子数占总孢子数的百分率。

注:即孢子萌发率。

3.6

杂菌率 percentage of microbial contaminants

在真菌农药中,除有效成分外其他微生物(如细菌和真菌等)量占总菌量的百分率。

3.7

菌落形成单位 colony forming unit;CFU

单个真菌孢子在固体培养基表面形成的单一菌体群落。

4 技术要求

4.1 有效成分描述

应提供真菌农药母药有效成分的名称和基本生化参数等信息。

所提供的信息应包括菌种中文通用名及其别名,菌种拉丁文学名及其异名,菌种来源、株系分型或代码,菌种生物学分类地位及其鉴定特征等。鉴定特征可以是形态学、生物化学或遗传学特征,应尽可能提供从国际公认机构能得到的鉴定特征的参考文献。如果使用基因修饰过的菌株,还应陈述相关信息,对有特定基因序列应指出登记号。还应标明菌种保藏机构及登记号或编号,母药中有效成分的主要存在形态、生物活性及防治对象,以及菌种保存条件、适宜生长条件等参数(格式见附录 A)。

4.2 外观

应说明母药的组成和颜色、物理状态、形状等。

4.3 真菌农药母药技术指标

真菌农药母药的规范项目及技术指标应符合表 1 的要求。

表 1 真菌农药母药技术指标

项 目 ^a	指 标
有效成分含量 ^b	≥
杂菌率/%	≤
其他限制性组分质量分数/%	标明含量±允许波动范围
干燥减量/%	≤
酸度(以 H ₂ SO ₄ 计)/%	≤
或碱度(以 NaOH 计)/%	≤
或 pH 值	规定范围

^a 所列项目不是详尽无疑的,也不是任何真菌农药母药产品标准都需全部包括的,可根据不同产品的具体情况增减。

^b 有效成分含量指单位质量或体积产品中的含孢量或含菌量,分别以个每克(或毫升)、CFU 每克(或毫升)表示。

5 试验方法

5.1 取样

真菌农药母药产品的取样按照 GB/T 1605 进行,用随机数表法确定取样的包装件;最终取样量应不少于 100 g。

5.2 菌株鉴别试验

采用形态学特征观察和分子生物学鉴定相结合的方式进行。

根据形态学特征鉴别的表述一般应包括:菌落的颜色和形状、产孢器结构、产孢细胞以及孢子的着生方式、几何形状、排列方式、细胞分隔、细胞核数、表面凹凸和(或)纹饰、大小等。如果具有明显区别于其他相似真菌的形态,应特别指出。

根据 DNA 分子特征的鉴别应指出特异识别该菌株的检测方法,包括引物碱基序列、克隆载体名称、操作步骤和注意事项等,并给出由鉴别试验得到的 DNA 片段序列图。



5.3 外观

采用目测法进行。

5.4 有效成分含量

5.4.1 方法提要

根据母药中真菌的生物形态提出检测方法,简述方法基本原理如下。

- a) 含孢量:对分生孢子形态的产品建议采用显微计数法,将试样润湿并稀释至适当倍数,配制成孢子悬浮液后,在光学显微镜下用血球计数板计孢子数,然后计算总孢子量,再通过测定活孢率(见附录 B 的 B.1.2),最终确定试样中的含孢量,含孢量=总孢子量×活孢率。
- b) 含菌量:分生孢子或其他形态的产品均可采用菌落形成单位法(见 B.2),将待测试样品稀释后,均匀涂布在固体培养基平板上,统计菌落总数,计算含菌量。

5.4.2 试剂和溶液

见 B.2.2。

5.4.3 仪器及设备

列出试验用主要仪器、设备,并说明其主要特性(技术要求)和特殊要求。当特殊要求在方法中影响安全以及方法的准确度和精确度时,应作详细说明。

特殊类型的仪器设备及其部件,应按制图标准绘图说明。

采用显微计数法计含孢量时,一般包括天平(精确至 0.1 mg),显微镜(物镜×目镜倍数不低于 400 倍),旋涡混合器(转速 ≥ 2000 r/min),血球计数板(精度 $1/400$ mm 2 × 0.1 mm,建议用 25×16 规格),玻璃器皿等。

采用菌落形成单位法时,除上述仪器外,一般还包括高压蒸汽灭菌器(标明规格)、恒温培养箱(5 °C~60 °C)、移液器等。

5.4.4 测定步骤

应准确叙述试验的每一操作步骤,一般包括取样、配制均匀悬浮液、稀释、计数、接种、观察等,如有

预操作或需要定量的都应明确指出。测定步骤中,可能涉及的仪器校正、空白测定、工作曲线、安全措施等都应叙述清楚。

5.4.5 计算

应列出计算公式、简化公式,写明公式中符号、代号和系数的含义、单位。

5.4.6 允许差

应规定每次平行测定结果的允许差不应超过 10%,取其算术平均值作为测定结果。

5.5 杂菌率

一般采用菌落形成单位法,即接种培养,根据不同菌的生长速度和菌落形态特征,从平板上直接分辨菌落并计菌落数,计算杂菌率(见 B.3)。

培养基可选用真菌与细菌通用的培养基,也可分别用细菌的、真菌的专用培养基,必要时可用选择性培养基,但应作详细说明。

根据需要可修订或提出其他方法,但应作说明,包括样品制备步骤、测定步骤和计算方法等。

测定结果误差的限制范围参照 5.4.6。

5.6 其他限制性组分质量分数

按照所采用的具体方法编写。

5.7 干燥减量

按照 GB/T 30361 编写。

5.8 酸度、碱度或 pH 值

酸度或碱度的测定按照 GB/T 28135 编写;pH 值的测定按照 GB/T 1601 编写。

6 检验规则

规定检验的类型、检验项目、组批规则以及判定规则。

7 验收和质量保证期

应规定真菌农药母药产品的验收和质量保证期。质量保证期内有效成分含量应不低于出厂检验值的 70%,且各项指标均应符合本文件要求。

真菌农药母药产品的验收按照 GB/T 1604 编写。

8 标志、标签、包装和储运

8.1 真菌农药母药的标志、标签和包装应符合 GB 3796 的规定,也可根据用户要求或订货协议采用其他形式的包装。

8.2 真菌农药母药应规定包装、储存和运输的技术要求,防止因包装、储存和运输不当引起危险、毒害或环境污染。

附录 A
(资料性)
真菌农药有效成分描述格式

产品中有效成分的理化性质如下：

- a) 菌种中文通用名称；
- b) 拉丁文学名；
- c) 生物学分类地位：门、纲、目、科、属、种；
- d) 鉴别特征：形态学特征；……；DNA 分子片段序列图；……；
- e) 有效成分主要存在形态：分生孢子、芽生孢子、菌丝体等；
- f) 生物活性；
- g) 培养保存条件；



附录 B (资料性) 检测方法示例

B.1 含孢量的测定

B.1.1 总孢子数的测定——显微计数法

B.1.1.1 方法提要

将试样润湿并稀释至适当倍数,配制成孢子悬浮液后,在光学显微镜下用血球计数板计孢子数,然后计算试样中的总孢子量。

B.1.1.2 试剂和溶液

0.05% 吐温 80。

B.1.1.3 仪器和设备

B.1.1.3.1 分析天平: 精确至 0.1 mg。

B.1.1.3.2 可调移液器。

B.1.1.3.3 涡旋混匀仪:转速 $\geq 2\,000\text{ r/min}$ 。

B.1.1.3.4 超净工作台。

B.1.1.3.5 高压蒸汽灭菌器。

B.1.1.3.6 光学显微镜:物镜×目镜倍数不低于400倍。

B 1137 血球计数板:25×16.

B.1.1.4 测定步骤

B.1.1.4.1 将试样混合均匀,准确称取……g(mL)试样。

B.1.1.4.2 将每份样品置于……mL 容量瓶中,加入……mL 0.05% 吐温 80,润湿浸泡 30 min 后,用涡旋混匀仪将菌悬液分散均匀,用 0.05% 吐温 80 定容,制得……倍样品稀释液。用移液器吸取……mL 置于……mL 容量瓶中,用 0.05% 吐温 80 定容混合均匀,制得……倍样品稀释液备用。

B.1.1.4.3 用玻璃棒蘸 1 小滴水涂抹在血球计数板计数区两侧的凸条上, 盖上盖玻片使之贴紧固定; 用可调移液器吸取孢子悬浮液, 在盖玻片边缘滴入, 使液体沿边缘渗入盖玻片下, 刚好充满盖玻片与计数板计数区域之间, 应无气泡且计数区域四周凹槽无液体, 如有多余液体用吸水纸吸去。

B.1.1.4.4 待孢子静止后用显微镜观察计数,在血球计数板的中心大方格区内,采取对角线5点(四周及中央的5个中格)计数的方法,计上下区域各5个中方格(16个小方格/中方格),即双线范围内160小方格内孢子数。计数时,对于中方格四周如有压线的孢子,计上双线不计下双线,计左双线不计右双线的孢子数。每份试样点样计数 n 次($n=2$)。

B 1.1.5 计算

试样中的总孢子量按公式(B.1)计算：

$$W_1 = \frac{K_1 \times 400 \times N_1}{160 \times \rho \times m_1 \times 0.1 \times 10^{-3}} \quad \dots \dots \dots \quad (B.1)$$

式中：

W_1 ——试样的总孢子量,单位为个每克(个/g)或个每毫升(个/mL)；

K_1 ——稀释倍数；

400 ——血球计数板计数室小方格的总数($25 \times 16 = 400$)；

N_1 —— p 次计数的总孢子数(上下区域各 5 个中方格中计数的总孢子数)；

160 ——血球计数板上下区域各 5 个中方格的小方格的总数($5 \times 16 \times 2 = 160$)；

p ——计数次数($p=2$)；

m_1 ——试样质量的数值,单位为克(g)或试样体积的数值,单位为毫升(mL)；

0.1 ——血球计数板计数室体积,单位为立方毫米(mm^3)。

B.1.2 活孢率的测定

B.1.2.1 方法提要

将孢子悬浮液均匀涂在放有玻璃纸片的培养基平板上,培养后制片镜检,以孢子萌芽长度大于孢子长度的一半视为萌发,计数萌发与未萌发的孢子总数,计算活孢率。

B.1.2.2 试剂和溶液

B.1.2.2.1 0.05% 吐温 80。

B.1.2.2.2 培养基。

B.1.2.2.3 玻璃纸片。

B.1.2.2.4 乳酸酚棉蓝染色液或锥蓝染色液。

B.1.2.3 仪器和设备

B.1.2.3.1 分析天平:精确至 0.1 mg。

B.1.2.3.2 可调移液器:1 000 μL 。

B.1.2.3.3 涡旋混匀仪:转速 $\geq 2\ 000\ \text{r}/\text{min}$ 。

B.1.2.3.4 恒温培养箱。

B.1.2.3.5 超净工作台。

B.1.2.3.6 高压蒸汽灭菌器。

B.1.2.3.7 光学显微镜:物镜 \times 目镜倍数不低于 400 倍。



B.1.2.4 测定步骤

按组分和比例配制培养基,经高压蒸汽灭菌后在无菌条件下倒入直径为 9 cm 培养皿中(每皿约 15 mL),待其凝固后,放入 1 cm \times 1 cm 的无菌玻璃纸片(经 180 °C 高温灭菌 2 h)。用无菌接种环蘸取已配制好的含孢子 10^6 个/mL \sim 10^7 个/mL 的孢子悬浮液,均匀涂于 3 片玻璃纸片上,然后放入(25±1) °C 恒温箱内恒温培养 24 h。

用尖镊子分别取下 3 片玻璃纸片放于载玻片上,吸取一滴锥蓝染色液滴于玻璃纸上,约 3 min 后盖上盖玻片(尽量避免气泡存在),光学显微镜下观察并计数萌发的孢子数与未萌发的孢子数,计算活孢率。每次计数至少 300 个孢子。

B.1.2.5 计算

试样的活孢率按公式(B.2)计算：

式中：

W_2 ——试样的活孢率；

N_2 ——萌发孢子个数总和;

N_3 ——未萌发孢子个数总数。

B.1.3 含孢量的计算

试样的含孢量按公式(B.3)计算：

式中：

W₃——试样的含孢量,单位为个每克(个/g)或个每毫升(个/mL);

W₁——试样的总孢子量,单位为个每克(个/g)或个每毫升(个/mL);

W₂——试样的活孢率。

B.2 含菌量的测定——菌落形成单位(CFU)法

B.2.1 方法提要

将待测试样品稀释后,均匀涂布在固体培养基平板上,统计菌落总数,计算含菌量。

B.2.2 试剂和溶液

B.2.2.1 0.05% 吐温 80。

B.2.2.2 培养基。

B.2.3 仪器和设备

B.2.3.1 分析天平: 精确至 0.1 mg。

B.2.3.2 可调移液器: 1 000 μ L。

B.2.3.3 涡旋混匀仪: 转速 $\geq 2\,000\text{ r/min}$ 。

B.2.3.4 恒温培养箱。

B.2.3.5 恒温振荡培养箱。

B236 超净工作台

B237 高压蒸汽灭菌器

B 2.3.8 光学显微镜,物镜×目镜倍数不低于400倍

B 2.4 测定步骤

B 2.4.1 样品的制备

将试样混合均匀,准确称取3g(mL)试样。溶入27mL0.05%吐温80中浸泡30min后,置于恒温振荡培养箱中180r/min,振荡30min,得到稀释10倍的样品溶液,标记为1号。依具体情况设置稀释梯度,每次稀释后置于涡旋混匀仪上将样品混合均匀。梯度稀释示例见表B.1。

表 B.1 梯度稀释示例

编号	1	2	3	4	5	6	7	8
灭菌水稀释液体积/mL	27	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0
加入上一稀释浓度溶液的体积/mL	—	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
累计稀释倍数	10 ¹	10 ²	10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶	10 ⁷	10 ⁸

B.2.4.2 涂板计数

按组分和比例配制培养基,经高压蒸汽灭菌后在无菌条件下倒入直径为9 cm 培养皿中(每皿约15 mL)备用。

选取适宜 3 个梯度稀释液,用移液器各吸取 100 μ L 于培养基平板,用曲玻棒均匀涂布在整个平板表面,每一稀释度做 3 次重复,然后置于(25±1)℃下恒温培养 48 h~72 h 后,取菌落数在 30 个~200 个之间的平板进行计数。

B.2.5 计算

若只有一个稀释度平板上的菌落数在适宜计数范围内,按公式(B.4)计算,作为单位产品中的菌落数:

若两个连续稀释度平板上的菌落数在适宜计数范围内,按公式(B.5)计算,作为单位产品中的菌落数:

式中：

N_4 ——含菌量,单位为CFU每克(CFU/g)或CFU每毫升(CFU/mL);

ΣC ——平板(含适宜范围菌落数的平板)菌落数之和,单位为 CFU;

0.1 —— 涂布平板使用的稀释液体积；

n ——每一稀释度测定次数(*n*=3)；

d —— 调查平板的累计稀释倍数(若两个连续稀释倍数平板上的菌落数在适宜计数范围内,则为高浓度平板的稀释度)。

B.3 杂菌率测定

采用菌落形成单位法,试验步骤按 B.2 进行,检测杂菌时每平板菌落数 ≤ 20 。杂菌率按公式(B.6)计算:

式中：

W_4 ——试样的杂菌率；

N_5 ——细菌杂菌菌落数总和；

N_6 ——真菌杂菌菌落数总和；

N_7 ——有效成分真菌菌落数总和。