

根瘤菌用 YMA 培养基说明书

● 产品规格和内容：

包装名称	货号	包装含量	包装数量	保存条件/时间
根瘤菌用 YMA 培养基	CAT#: RHM1012S	250g	1 瓶	室温、干燥/24 个月
1%刚果红母液 (过滤除菌)	CAT#: RHM1021L	50ml	1 瓶	4 °C/24 个月

● 产品组分简介：

产品组分	根瘤菌用 YMA 培养基 配方 g/L	根瘤菌用 YMB 培养基 配方 g/L
酵母提取物	1.0g	1.0g
甘露醇	10.0g	10.0g
磷酸氢二钾	0.5g	0.5g
无水硫酸镁	0.1g	0.1g
氯化钠	0.1g	0.1g
碳酸钙	1.0g	—
Agar (琼脂粉)	15.0g	—

附言：1、原始配方 (Atlas, 2004) 含有 200 mg/L $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ，我们使用 100 mg/L 的无水 $MgSO_4$ 。

2、YMB 为 YMA 的液体培养基形式，主要用于扩繁，不用于菌株分离和鉴定，不含碳酸钙和刚果红。

3、刚果红母液以无菌的液体形式提供，在 YMA 灭菌后冷却到 50 度以下加入培养基。刚果红终浓度 0.025 g/L。

● PH 值(25°C) 6.8 ± 0.2 ，本产品加入 PH7.0 的去离子水后 PH 接近 6.8，可不调 pH 值直接使用。

● 产品说明

根瘤菌用 YMA 培养基，即酵母粉甘露醇琼脂培养基 (Yeast Extract Mannitol Agar, YMA)，主要用于发根农杆菌、根瘤菌、土壤农杆菌的分离、纯化、菌落鉴别、斜面保藏、平板计数试验。作用原理：仅农杆菌、根瘤菌可高效利用甘露醇，自带弱筛选效果；根瘤菌等目标菌代谢甘露醇产生有机酸，有机酸分泌到培养基中，溶解碳酸钙形成菌落外围透明圈；加入刚果红后：根瘤菌等目标菌落呈乳白色或淡红色，其他杂菌多呈现深红 / 玫红色，因此特别适用于根瘤菌，部分农杆菌的菌株分离、菌种鉴定、菌体扩繁试验。

● 使用方法

- 1、称量：称取本品干粉 27.7 g，加入 0.9 L 去离子水。
- 2、溶解：搅拌或加热搅拌至培养基完全溶解，定容到 1L。
- 3、灭菌：分装至适当容器后，115°C 高压灭菌 15 分钟（禁止 121 °C，防止碳酸钙分解）。
- 4、倒板：灭菌后冷却至约 45-50°C，摇匀后加入刚果红/抗生素，倒平板或摆斜面，凝固后即可使用。

● 培养条件与菌落特征：

接种目标菌株，培养温度：28 °C；培养时长：3 - 7 d，典型菌落：乳白色或加刚果红后粉红色、光滑隆起、半透明，外圈有清晰碳酸钙透明水解圈。

● 质控菌株培养：放置 30°C需氧培养 5d。

菌株	ATCC 编号	菌株生长情况
苜蓿根瘤菌	ATCC9930	+++
大豆根瘤菌	ATCC10004	+++

● 刚果红使用方法

YMA 里加刚果红（常用终浓度 0.025 g/L，即 0.0025%；1L YMA 培养基中加原液 2.5ml），是鉴别显色助剂，用来快速区分根瘤菌目标菌落与土壤 / 根瘤中的杂菌、部分农杆菌等干扰菌。

显色原理

染料吸附差异机制：刚果红可结合菌体表面多糖、纤维素类胞外聚合物；不同菌表面组分差异巨大：

慢生根瘤菌（Bradyrhizobium，大豆慢生型）：几乎不吸附刚果红 → 菌落乳白色 / 奶白色，或浅红色；

快生根瘤菌（Rhizobium，苜蓿、蚕豆、三叶草等）：粉色，极少深红；

杂菌（芽孢杆菌、霉菌、土壤普通革兰氏阴性菌）、部分农杆菌：强吸附染料 → 菌落明显深红 / 玫红。

辅助分型：快慢生根瘤菌之间吸色深浅也有细微区别，可做简易表型初筛标记。

● 注意事项

- 高温会破坏碳酸钙鉴别体系，严格控温 115°C 灭菌；抗生素、刚果红均不耐高温，必须灭菌后再加。
- 高温、长时间灭菌会导致培养基颜色变深，营养降解，影响菌落形态分化。
- 平板 4 °C 避光可短期保存 14 d 左右。
- 本品仅供微生物实验科研使用，不可用于临床诊断、食品、药品治疗。