

大豆根瘤菌 *Bradyrhizobium japonicum* USDA 110 二代甘油菌种说明书

● 产品规格 (CAT#: Brh-1012)

大豆根瘤菌 <i>Bradyrhizobium japonicum</i> USDA 110 二代甘油菌	400 μ l / 1 支	保存: -80 $^{\circ}$ C/大于 10 年
YMA 平板	9cm / 2 块	4 度保存/30 天
一次性接种环	4 支	—

● 产品说明

大豆根瘤菌 *Bradyrhizobium japonicum* USDA 110, 原学名: *Bradyrhizobium japonicum*, 现修订正式学名为: *Bradyrhizobium diazoefficiens* USDA 110, 属慢生大豆根瘤菌, 培养 5 - 7 天, 适配酸性土壤, 国际标准模式菌株。菌株编号 USDA 代表美国农业部 (United States Department of Agriculture), 是美国农业部根瘤菌资源库经典标准菌株, 20 世纪中期从美国本土大豆种植田的大豆新鲜根瘤组织中分离纯化得到。天然专一宿主为栽培大豆 (*Glycine max*), 仅能高效与大豆结瘤固氮; 原始分离自北美中性偏酸农田土壤, 全球温带酸性、微酸性大豆产区广泛适配, 在高盐 / 高碱环境下生长、结瘤能力显著下降。

● 操作方法

- 1, 本产品为二代甘油菌株, 客户收到菌株后, 不可直接吸取菌液接种扩繁。应先对菌种进行复壮, 待长出单菌落后挑单菌落接菌扩繁; 复壮方法如下: 在超净台打开盖子, 用接种环沾取少量甘油菌液采用交叉划线法 (图 1) 在 YMA 平板表面轻轻划线 (注意: 不要刺破培养基), 将平板封口后放 30 度培养 2-5 天, 即可长出单菌落。
- 2, 交叉划线法: 划线的目的是经过几次不连续划线达到梯度稀释菌液的效果, 保证能长出单菌落。具体步骤如下:
 - A, -80 度取出的甘油菌应在超净台打开盖子, 立即在表面挑取菌液/菌块划线, 不用等融化后划线, 固体状态时即可用接种环挑取划线, 操作要点是“快速操作, 立即划线”, 目的是最大限度地减少温度波动对菌种造成的“冷休克”和冰晶物理损伤; 如果收到的是液体甘油菌, 可直接划线, 在超净台打开盖子用接种环沾取少量甘油菌液划线。
 - B, 先把接种环打开, 注意不要污染, 图 1 所示为标准的五段交叉划线法, 分五个区, 每个区划三条直线, 第 1、2 区可共用一个接种环, 划好 1、2 区后换一个新接种环划第 3 区, 再换一个新接种环划第 4 区, 再换一个新接种环划第 5 区, 每一次换接种环划线要经过前面划线区的划线痕迹, 这样就相当于对菌种进行稀释。简易划线也可只划 3 个区或 4 个区。
 - C, 客户也可用金属接种环灼烧后划线; 本公司提供的接种环为 ABS 材质, 不可灼烧, 可高温灭菌后二次使用。

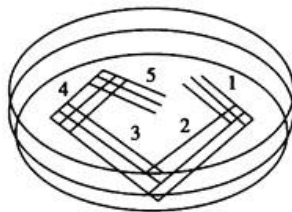


图 1. 五段交叉划线法示意图

● 核心用途

(一) 农业生产应用 (最主要用途)

1, 生物固氮, 替代化学氮肥

与大豆根系形成有效根瘤, 将空气中氮气转化为大豆可利用铵态氮; 在酸性、微酸性红壤、黑土中结瘤竞争力极强, 接种后可减少 40%~60% 大豆施尿素用量, 降低化肥投入、缓解土壤酸化、减少氮素流失污染水体, 是欧美、南美大豆主产区拌种菌剂核心菌种。

2, 适配酸性土壤大豆种植

耐受低 pH 酸性土壤, 在我国南方红壤、东北酸性黑土、南美酸性耕地表现远优于费氏中华根瘤菌; 可提升大豆根瘤数量、固氮酶活性, 稳定提升大豆产量与籽粒蛋白含量。

3, 商用菌剂原料

工业发酵制成液体 / 粉剂根瘤菌拌种剂, 大豆播种前拌种使用; 也可与解磷菌、生防菌复配, 制成复合微生物肥料。

(二) 土壤生态改良

贫瘠、退化盐碱农田修复: 大豆 + 费氏中华根瘤菌轮作体系, 持续补充土壤生物氮, 提升土壤有机质, 逐步改良盐碱化板结耕地; 退耕、荒坡植被修复: 搭配野大豆等本土豆科固氮先锋植物, 修复退化土地。

(三) 科研教学用途

1, 共生固氮分子机制研究;

2, 微生物抗逆研究: 作为耐盐碱、耐贫瘠研究材料, 解析微生物耐酸碱、渗透胁迫分子通路;

3, 高校 / 科研院所微生物实验教学: 根瘤菌分离、纯化、共生盆栽验证实验标准实验菌种。

● 配套培养基

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
根瘤菌用 YMB 培养基	CAT#: RHM1012L	250g	1 瓶	室温、干燥/24 个月

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 MgSO₄*7H₂O, 我们使用 100 mg/L 的无水 MgSO₄。

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。

● 注意事项

1, 客户收到二代甘油菌株后, 应立即放-80 度保存, 不可放-20 度保存。

2, 应减少甘油菌冻融的次数, 冻融的次数越多, 菌种的活力越低;

3, 若扩繁菌种, 注意一次扩繁不要超过四个世代, 以保证菌种基因组的稳定; 扩增后重新保存的菌种必须对菌种做表型、功能验证, 所有表型、功能保持完好的菌株才能作为菌种使用。