

费氏中华根瘤菌 *Sinorhizobium fredii* 二代甘油菌种说明书

● 产品规格 (CAT#: Brh-1011)

费氏中华根瘤菌 <i>Sinorhizobium fredii</i> 二代甘油菌	400μl / 1 支	保存: -80°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

费氏中华根瘤菌 *Sinorhizobium fredii*, 是由我国根瘤菌奠基人陈文新团队于 1988 年正式定名, 是中华根瘤菌属 (*Sinorhizobium*) 的代表物种, 为我国本土特有快生型大豆根瘤菌。

一, 天然分离来源: 宿主来源: 天然共生宿主以栽培大豆为主, 侵染大豆根系形成根瘤; 部分菌株可侵染豇豆、野大豆等其他豆科植物, 宿主范围更广。

二, 土壤生境: 核心分布区: 我国黄淮海、华北、西北盐碱 / 石灰性旱地土壤 (山西、山东、河南、新疆等), 是北方碱性农田中优势土著大豆根瘤菌, 耐盐碱能力突出;

三, 分离方式: 从大豆田间土壤、大豆新鲜根瘤组织中分离纯化得到; 商用菌株为实验室保藏驯化菌株, 原始分离自国内大豆种植区土壤 / 根瘤。

四, 生长特征: 属于快生型根瘤菌, YMA 培养基 28°C 培养 2-3 天即可长出单菌落, 区别于慢生根瘤菌 5-7 天的生长周期。

● 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种扩繁; 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。

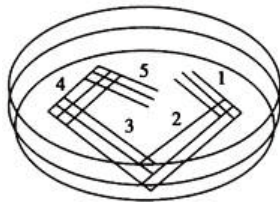


图 1. 五段交叉划线法示意图

● 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

与大豆根系共生形成根瘤, 依靠固氮酶将空气中惰性氮气转化为大豆可吸收的铵态氮; 田间接种可减少 30% - 50% 尿素施用, 降低化肥成本、减轻土壤酸化与面源污染, 被称为大豆 “天然生物氮肥厂”。适配盐碱地大豆种植, 天然耐碱、耐盐特性, 在华北、西北碱性贫瘠土壤中结瘤效率远优于进口慢生根瘤菌; 接种后提升大豆根瘤数量、固氮效率, 显著提升盐碱地大豆产量。促生提质, 代谢有机酸溶解土壤中难溶性磷、钾, 活化根际养分; 提升大豆籽粒蛋白质含量, 改善大豆品质; 同时增强大豆抗旱、抗逆能力。

2, 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: 模式菌株 (HH103、CCBAU45436 等) 基因组测序完整, 用于研究根瘤菌结瘤基因 (nod)、固氮基因 (nif)、共生质粒、菌 - 豆互作信号通路;

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株。

● 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#: RHMI012S	250g	1 瓶	室温、干燥 24 个月
1% 刚果红母液 (过滤除菌)	CAT#: RHMI021L	50ml	1 瓶	4 °C/24 个月
根瘤菌用 YMB 培养基	CAT#: RHMI012L	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。