

## 植物根系活力测试盒（可见分光光度法）

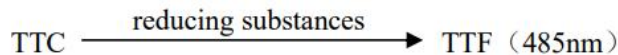
产品货号：BA3056

产品规格：50T

### 产品说明：

根系是植物吸收水分和矿质营养的主要器官，同时又是植物体中重要物质如氨基酸、激素等物质合成、同化、转化的器官，因此根的生长情况和活动能力直接影响植物个体的生长情况、营养水平和产量水平等，根系活力具有重要的实际意义。

TTC可被氢还原成不溶性的红色三苯基甲臜（TTF），TTF在485nm处有吸收峰。当TTC溶液渗入到植物根部组织时，呼吸过程产生的还原物质可将其还原成TTF(红色)，植物根部组织被染成红色。根系活力强弱可用TTC的还原量来表示。此方法检测的根系活力即植物根系的脱氢酶活性。



**注意：**实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

### 产品组成：

试剂名称	规格	保存条件
试剂一A	粉剂×2瓶	2-8℃
试剂一B	粉剂×2瓶	2-8℃
试剂二	液体70mL×2瓶	2-8℃
试剂三	粉剂×3支	常温
试剂四	液体130mL×1瓶（自备）	2-8℃
标准品	粉剂×1支	2-8℃

### 溶液的配制：

1. 试剂一：临用前取一瓶试剂一B加入一瓶试剂一A中，加入30mL试剂二溶解。现用现配。配制好后置于2-8℃保存，一周内使用，若出现红色，则不能使用。
2. 试剂二：若试剂有结晶析出，可40℃加热或者超声溶解。
3. 试剂四：乙酸乙酯，自备。提供一60mL空瓶。
4. 标准品：临用前加入1mL试剂二，充分震荡混匀，即10mg/mL TTC标准液。2-8℃可以保存1周，若出现红色，则不能使用。

### 需自备的仪器和用品：

可见分光光度计、水浴锅/恒温培养箱、台式离心机、可调式移液器、1mL玻璃比色皿、研钵/匀浆器、乙酸乙酯，冰和蒸馏水。

### 测定步骤：

#### 一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

样本的制备：将根部组织洗净，去除根上的泥土，轻轻擦干，不要过分挤压破坏根系细胞。

#### 二、测定步骤

1. 可见分光光度计预热30min以上，调节波长至485nm，可见分光光度计用乙酸乙酯调零。
2. 标准品的稀释：
  - (1) 临用前取10μL 10mg/mL TTC标准品，加入1990μL试剂二，充分混匀，配制成50μg/mL TTC标准品，现用现配。（后续实验需要1000μL，为减小实验误差，故配制大体积。）
  - (2) 取1mL 50 μg/mL TTC标准品加入到一支试剂三内，充分震荡混匀2min。混匀后加入1mL乙酸乙酯，再次充分震荡混匀2min，室温静置分层5min，取上层溶液（此上层溶液即为50μg/mL TTC-乙酸乙酯标准品）。
  - (3) 将上层溶液用乙酸乙酯进行稀释，得到12.5μg/mL标准品备用（吸取250μL 50μg/mL TTC-乙酸乙酯标准品加入 750μL



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

乙酸乙酯混匀即可)。

### 3. 标准溶液的测定

取1000 $\mu$ L 12.5 $\mu$ g/mL标准溶液和1000 $\mu$ L乙酸乙酯(即0 $\mu$ g/mL)于玻璃比色皿中,分别测定其在485nm处的吸光度。计算 $\Delta A$ 标准=A(12.5 $\mu$ g/mL)-A(0 $\mu$ g/mL)。 $\Delta A$ 标准只需做1-2次。

### 4. 在5mLEP管中按下表步骤加样:

试剂名称( $\mu$ L)	测定管	对照管
样品	0.2g	0.2g
试剂一	2000	-
试剂二	-	2000
根部需要全部浸入溶液中,37 $^{\circ}$ C暗反应4h,取出后立即冰浴5min,去滤液,尽量用滤纸吸干根系水分,置于研钵/匀浆器中。		
试剂四	2000	2000

充分研磨(建议在通风橱操作)后全部移至于离心管中,12000rpm,4 $^{\circ}$ C,离心10min,取1mL上清至玻璃比色皿中,测定485nm下的吸光值。计算 $\Delta A$ 测定=A测定-A对照(每一个测定管对应一个对照管)。 $\Delta A$ 测定的测定范围在0.005-1.5之间。

## 三、根系活力计算

### 1. 按照样本质量计算

按照样本质量计算根系活力:以TTC的还原量来表示根系活力

$$\text{TTC还原强度} [\mu\text{g TTC}/(\text{g}\cdot\text{h})] = \Delta A \text{测定} \times C \text{标} \div \Delta A \text{标准} \times V \div (W \times T) = 6.25 \times \Delta A \text{测定} \div \Delta A \text{标准} \div W$$

W: 根重, g; C标: 标准溶液浓度, 12.5 $\mu$ g/mL; T: 反应时间, 4h; V: 试剂四的体积即匀浆体积, 2mL。

### 注意事项:

1. 试剂四容易挥发,有毒,为了您的健康,请穿实验服,戴口罩,戴乳胶手套操作。
2. 若样品37 $^{\circ}$ C暗反应未到4h但根系已出现深粉色,此时可以直接进行下一步实验操作;若 $\Delta A$ 测定大于1.5,可以减少样本质量或者缩短反应时间进行实验,计算公式注意修改。
3. 若4h暗反应结束后,根系没有出现粉色或者 $\Delta A$ 测定小于0.005,可以延长暗反应时间(8h, 16h甚至24h)或者加大样品量,计算公式注意修改。
4. 如果离心后待测的上清依然浑浊,可尝试加大离心转速或者延长时间,例如15000rpm 4 $^{\circ}$ C离心20min。

### 实验实例:

1. 称取0.27g葱的根部,洗净,擦干,按照测定步骤操作,将上清液稀释两倍,用1mL玻璃比色皿测得计算 $\Delta A$ 测定=A测定-A对照=0.530-0.007=0.523,  $\Delta A$ 标准=A(12.5 $\mu$ g/mL)-A(0 $\mu$ g/mL)=0.494-0.000=0.494,带入公式计算:  
TTC还原强度[ $\mu$ g TTC/(g.h)]=6.25 $\times$  $\Delta A$ 测定 $\div$  $\Delta A$ 标准 $\div$ W $\times$ 2(稀释倍数)=49.014 $\mu$ g TTC/(g.h)。
2. 称取0.25g景天的根部,洗净,擦干,按照测定步骤操作,用1mL玻璃比色皿测得计算 $\Delta A$ 测定=A测定-A对照=0.225-0.011=0.214,  $\Delta A$ 标准=A(12.5 $\mu$ g/mL)-A(0 $\mu$ g/mL)=0.494-0.000=0.494,带入公式计算:  
TTC还原强度[ $\mu$ g TTC/(g.h)]=6.25 $\times$  $\Delta A$ 测定 $\div$  $\Delta A$ 标准 $\div$ W=10.830 $\mu$ g TTC/(g.h)。
3. 称取0.24g蒜的根部,洗净,擦干,按照测定步骤操作,用1mL玻璃比色皿测得计算 $\Delta A$ 测定=A测定-A对照=0.274-0.003=0.271,  $\Delta A$ 标准=A(12.5 $\mu$ g/mL)-A(0 $\mu$ g/mL)=0.494-0.000=0.494,带入公式计算:  
TC还原强度[ $\mu$ g TTC/(g.h)]=6.25 $\times$  $\Delta A$ 测定 $\div$  $\Delta A$ 标准 $\div$ W=14.286 $\mu$ g TTC/(g.h)。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话:400-611-0007 13671551480 13643719799

QQ:807961520 731791866

邮箱:zzlybio@126.com