

植物根系活力检测试剂盒（TTC可见分光光度法）

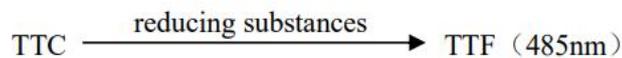
产品货号：BA2277

产品规格：50T/24S

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臃（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。



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

2. 标准品的稀释:

- (1) 临用前取10 μ L 10mg/mL TTC标准品, 加入1990 μ L试剂二, 充分混匀, 配制成50 μ g/mL TTC标准品, 现用现配。(后续实验需要1000 μ L, 为减小实验误差, 故配制大体积。)
- (2) 取1mL 50 μ g/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50 μ g/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12.5 μ g/mL标准品备用(吸取250 μ L 50 μ g/mL TTC-乙酸乙酯标准品加入 750 μ L乙酸乙酯混匀即可)。

3. 标准溶液的测定

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

4. 在5mLEP管中按下表步骤加样:

试剂名称 (μ 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 ΔA 测定=A测定-A对照(每一个测定管对应一个对照管)。 ΔA 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 μ 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 ΔA 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 ΔA 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。



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