

## 植物根系活力检测试剂盒（TTC可见分光光度法）

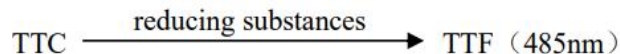
产品货号：BA2277

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A	粉剂×1支	2-8℃
标准品B	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：临用前将标准品B倒入标准品A中，再加入1mL试剂二，充分震荡混匀（可再用溶解好的标准品润洗标准品B管），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（>98%，AR），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



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

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 $\mu$ 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 $\mu$ g/mL标准品备用（吸取250 $\mu$ L 50 $\mu$ g/mL TTC-乙酸乙酯标准品加入 750 $\mu$ L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=  $A_{(12.5\mu\text{g/mL})} - A_{(0\mu\text{g/mL})}$ 。 $\Delta A$ 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

TTC还原强度 [ $\mu$ g TTC/(g.h)] =  $\Delta A$ 测定 $\times$ C标 $\div$  $\Delta A$ 标准 $\times V \div (W \times T) = 6.25 \times \Delta A$ 测定 $\div \Delta A$ 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= $A_{(12.5\mu\text{g/mL})} - A_{(0\mu\text{g/mL})} = 0.494 - 0.000 = 0.494$ ，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) =  $49.014 \mu\text{g TTC}/(\text{g.h})$ 。
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= $A_{(12.5\mu\text{g/mL})} - A_{(0\mu\text{g/mL})} = 0.494 - 0.000 = 0.494$ ，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 $\div W = 10.830 \mu\text{g TTC}/(\text{g.h})$ 。
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= $A_{(12.5\mu\text{g/mL})} - A_{(0\mu\text{g/mL})} = 0.494 - 0.000 = 0.494$ ，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 $\div W = 14.286 \mu\text{g TTC}/(\text{g.h})$ 。



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

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com