

植物根系活力检测试剂盒（TTC微量法）

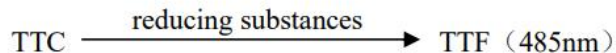
产品货号：BA2019

产品规格：100T/48S

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125mL×1瓶	2-8℃
试剂三	粉剂×3支	室温
试剂四	液体120mL×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：临用前取一支试剂一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℃，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。提供一125mL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/酶标仪、水浴锅/恒温培养箱、台式离心机、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96孔板(非聚苯乙烯材质)、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/酶标仪预热30min以上，调节波长至485nm，可见分光光度计用乙酸乙酯调零。
2. 标准溶液的稀释：
 - (1) 临用前取10μL 10mg/mL TTC标准液，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。）



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) 取1mL 50 μ g/mL TTC标准溶液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20 μ g/mL标准溶液备用（吸取200 μ L 50 μ g/mL TTC-乙酸乙酯标准品加入300 μ L乙酸乙酯混匀即可）。

3. 标准品的测定

取200 μ L 20 μ g/mL标准品和200 μ L乙酸乙酯（即0 μ g/mL）于微量玻璃比色皿或96孔板(非聚苯乙烯材质)中，分别测定其在485nm处的吸光度。计算 ΔA 标准= $A_{(20\mu\text{g/mL})} - A_{(0\mu\text{g/mL})}$ 。 ΔA 标准只需做1-2次。

4. 在2mL EP管按下表步骤加样：

试剂名称（ μ L）	测定管	对照管
样品	0.1g	0.1g
试剂一	1000	-
试剂二	-	1000
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	1000	1000

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200 μ L上清至微量玻璃比色皿或96孔板(非聚苯乙烯材质)中，测定485nm下的吸光值。计算 ΔA 测定= A 测定- A 对照（标准曲线只需做1-2次，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

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 [μ g TTC/(g·h)] = ΔA 测定 \times C标 \div ΔA 标准 $\times V \div (W \times T) = 5 \times \Delta A$ 测定 $\div \Delta A$ 标准 $\div W$

W：根重，g；C标：标准溶液浓度，20 μ g/mL；T：反应时间，4h；V：试剂四的体积即匀浆体积，1mL。

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。

实验实例：

1. 称取0.131g葱的根部，洗净，擦干，按照测定步骤操作，用96孔板（非聚苯乙烯材质）测得计算 ΔA 测定= A 测定- A 对照=0.714-0.082=0.632， ΔA 标准= $A_{(20\mu\text{g/mL})} - A_{(0\mu\text{g/mL})} = 0.660 - 0.042 = 0.618$ ，带入公式计算：
TTC还原强度[μ g TTC/(g·h)] = $5 \times \Delta A$ 测定 $\div \Delta A$ 标准 $\div W = 39.033 \mu$ g TTC/(g·h)。
2. 称取0.126g景天的根部，洗净，擦干，按照测定步骤操作，用96孔板（非聚苯乙烯材质）测得计算 ΔA 测定= A 测定- A 对照=0.422-0.139=0.283， ΔA 标准= $A_{(20\mu\text{g/mL})} - A_{(0\mu\text{g/mL})} = 0.660 - 0.042 = 0.618$ ，带入公式计算：
TTC还原强度[μ g TTC/(g·h)] = $5 \times \Delta A$ 测定 $\div \Delta A$ 标准 $\div W = 18.172 \mu$ g TTC/(g·h)。
3. 称取0.118g蒜的根部，洗净，擦干，按照测定步骤操作，用96孔板（非聚苯乙烯材质）测得计算 ΔA 测定= A 测定- A 对照=0.191-0.025=0.136， ΔA 标准= $A_{(20\mu\text{g/mL})} - A_{(0\mu\text{g/mL})} = 0.660 - 0.042 = 0.618$ ，带入公式计算：
TTC还原强度[μ g TTC/(g·h)] = $5 \times \Delta A$ 测定 $\div \Delta A$ 标准 $\div W = 9.325 \mu$ 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

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com