

## 植物根系活力检测试剂盒（TTC微量法）

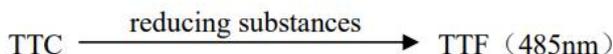
产品货号：BA2019

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。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司  
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

(后续实验需要1000 $\mu$ L, 为减小实验误差, 故配制大体积。)

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

### 3. 标准品的测定

取200 $\mu$ L 20 $\mu$ g/mL标准品和200 $\mu$ L乙酸乙酯(即0 $\mu$ 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 $\Delta A$ 标准=  $A_{(20\mu\text{g/mL})} - A_{(0\mu\text{g/mL})}$ 。 $\Delta A$ 标准只需做1-2次。

### 4. 在2mL EP管按下表步骤加样:

试剂名称 ( $\mu$ 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 $\mu$ 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 $\Delta A$ 测定=  $A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ (标准曲线只需做1-2次, 每一个测定管对应一个对照管)。 $\Delta A$ 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

$$\text{TTC还原强度} [\mu\text{g TTC}/(\text{g}\cdot\text{h})] = \Delta A_{\text{测定}} \times C_{\text{标}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times V \div (W \times T) = 5 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W$$

W: 根重, g; C标: 标准溶液浓度, 20 $\mu$ 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 $\Delta A$ 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0.131g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 $\Delta A$ 测定=  $A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}} = 0.714 - 0.082 = 0.632$ ,  $\Delta A$ 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 $[\mu\text{g TTC}/(\text{g}\cdot\text{h})] = 5 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W = 39.033 \mu\text{g TTC}/(\text{g}\cdot\text{h})$ 。
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 $\Delta A$ 测定=  $A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}} = 0.422 - 0.139 = 0.283$ ,  $\Delta A$ 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 $[\mu\text{g TTC}/(\text{g}\cdot\text{h})] = 5 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W = 18.172 \mu\text{g TTC}/(\text{g}\cdot\text{h})$ 。
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 $\Delta A$ 测定=  $A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}} = 0.191 - 0.025 = 0.136$ ,  $\Delta A$ 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 $[\mu\text{g TTC}/(\text{g}\cdot\text{h})] = 5 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W = 9.325 \mu\text{g TTC}/(\text{g}\cdot\text{h})$ 。



扫一扫 加微信

**上海尚宝生物科技有限公司**  
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com