

# 植物根系活力活性检测试剂盒说明书

可见分光光度法

注意：正式测定之前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定。

货号：XZK-C-C109-2

规格：40T

产品内容：

名称	YX-C-C102-40T	Storage
试剂(A): TTC	2×1g	RT 避光
试剂(B): TTC Assay buffer	5×100ml	RT 避光
试剂(C): TTC 终止液	1×100ml	RT
试剂(D): Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	1×1g	RT
使用说明书	1 份	

产品说明：

植物根系是活跃的吸收器官和合成器官，根的生长情况和代谢水平即根系活力直接影响植物地上部的生长和营养状况以及最终产量，是植物生长的重要生理指标之一。TTC(2, 3, 5-氯化三苯基四氮唑)是一种氧化还原物质，是标准氧化电位为 80mV 的氧化还原色素，溶解于水为无色，可以检测根系活力。

植物根系(脱氢酶)活力检测试剂盒(TTC 比色法)检测原理是在弱酸性条件下，以 TTC 为底物，植物根系中脱氢酶能够还原 TTC 生成红色而不溶于水的三苯基甲腙(TTF)，生成的 TTF 比较稳定(不会被空气中的氧自动氧化)，于分光光度计或酶标仪检测吸光度，计算 TTC 还原量，以该还原量表示脱氢酶活性，并作为植物根系活力的指标。该试剂盒主要用于定量测定植物根系中根系活力或脱氢酶活性。该试剂盒仅用于科研领域，不宜用于临床诊断或其他用途。

试验中所需的仪器和试剂：

蒸馏水、离心管和(或)容量瓶、乙酸乙酯、滤纸、恒温箱或水浴锅、研钵或匀浆器、比色杯、96 孔板、分光光度计、酶标仪

操作步骤：

一、粗酶液提取：

1、配制 TTC Assay buffer 工作液：取1g TTC 完全溶解于 250ml TTC Assay buffer 中，即为 TTC Assay buffer 工作液，即配即用，短期4℃避光保存。

2、制作 TTC 标准曲线：取0.25ml TTC Assay buffer 工作液置于 10ml 离心管或容量瓶，加入少许 Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>4</sub> 粉末(一般 2mg 左右，各管量一致)，混匀，产生红色的 TTF，用乙酸乙酯补加至 10ml，混匀，该溶液中TTF浓度为100μg/ml。按下表，分别取上述溶液 0.25、0.5、1、1.5、2ml 置于离心管或容量瓶中，用乙酸乙酯补加至 10ml，即 TTF 含量为 2.5μg、5μg、10μg、15μg、20μg/ml 的系列标

准溶液，以乙酸乙酯为空白调零，以分光光度计或酶标仪测定吸光度，绘制标准曲线。

加入物序号	1	2	3	4	5
TTC Assay buffer 工作液ml	0.25	0.5	1	1.5	2
乙酸乙酯ml	9.75	9.5	9	8.5	8
相当于TTF 含量( $\mu\text{g/ml}$ )	2.5	5	10	15	20

3、准备样品：取0.5 g植物须根系，洗净，用滤纸吸干，完全浸没于10ml TTC Assay buffer 工作液，37°C避光孵育1 h，加入 2ml TTC 终止液。空白对照：取干净的试管，加入 2ml TTC 终止液和10ml乙酸乙酯，37°C避光孵育1 h，以此液作为空白对照。

4、加样：把上述根系取出，滤纸吸干水分，放入研钵或匀浆器中，加入3-4ml乙酸乙酯，充分研磨或匀浆，以提取出 TTF。把红色提取液转移至离心管，并用少量乙酸乙酯把残渣洗涤2-3 次，再将洗涤液一并转移至离心管，最后补加乙酸乙酯至10 ml。

5、根系检测：以空白调零，比色杯光径 1.0cm，以分光光度计或酶标仪测定485nm处 TTF 吸光度。

### 计算：

以系列标准溶液 TTF 浓度(2.5 $\mu\text{g}$ 、5 $\mu\text{g}$ 、10 $\mu\text{g}$ 、15 $\mu\text{g}$ 、20 $\mu\text{g/ml}$ )为横坐标，以对应的吸光度为纵坐标，绘制 TTF 标准曲线，根据 TTF 与吸光度计算回归方程，根据回归方程计算出待测样品的四氮唑还原量，即为根系活力或脱氢酶活性。

$$\text{根系(脱氢酶)活力}(\text{mg/g}\cdot\text{h})=\text{C}\times\text{V}/(\text{1000}\times\text{W}\times\text{t})$$

式中：C=根据标准曲线查得的样品提取液的浓度( $\mu\text{g/ml}$ )

V=样品提取液总体积(ml)

W=植物须根系的重量(g)

t=孵育时间(h)=1(h)

### 注意事项：

- 1、配制好的 TTC Assay buffer 工作液应避光保存，如果见光会变红，影响实验结果。
- 2、提高温度可以增加反应速度，但会降低重氮盐的稳定性，所以反应需在相同条件下进行。
- 3、如果没有分光光度计，也可以使用普通的酶标仪测定，但应注意酶标板每孔最大检测体积
- 4、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。