植物根系活力检测试剂盒(萘胺微板法)

产品简介:

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。植物根系活力(根系脱氢酶活性)可以采用 TTC 还原、萘胺氧化和甲烯蓝吸附等方法测定。根系能氧化萘胺生成红色的萘胺化合物，根系对萘胺的氧化能力与其呼吸强度有密切联系。

植物根系活力检测试剂盒(萘胺微板法)检测原理是在弱酸性条件下，以萘胺为底物，萘胺与对氨基苯磺酸、亚硝酸盐作用生成稳定的红色偶氮化合物，可以根据根系表面着色深浅，通过酶标仪 510nm 检测溶液中未被氧化的萘胺的量，以定量测定根系活力。该试剂盒仅用于科研领域，不适用于临床诊断或其他用途。

产品组成:

编号 / 名称	GCTP1011 100T	Storage
试剂(A): 萘胺标准(5mg/ml)	5ml	4℃ 避光
试剂(B): 根系 Assay Buffer	2×250ml	RT
试剂(C): 磺胺酸显色液	1.5ml	RT 避光
试剂(D): 亚硝酸显色液	1.5ml	4℃ 避光
使用说明书	1 份	

自备材料:

1、蒸馏水

2、电子天平、计时器、滤纸、离心管或试管、恒温箱或水浴锅、酶标仪、96 孔板

操作步骤(仅供参考):

1、配制萘胺标准(50ug/ml) ：按萘胺标准(5mg/ml)：蒸馏水=1：99 混合，即为萘胺标准(50ug/ml)；4℃保存，1 个月内有效。

2、配制根系 Assay Buffer 工作液：按萘胺标准(50μg/ml)：根系 Assay Buffer =1：1 混合，即为根系 Assay Buffer 工作液，即配即用，不宜久置。

3、准备样品和对照:

①样品管：取 0.1~0.3g 植物须根系，洗净，用滤纸吸干，完全浸没于 8ml 根系 Assay Buffer 工作液，室温静置 5min，浸泡液即为待测样品。注意：植物根系活力与培养时间、酸碱、重金属、高温、低温等条件均有关系，在缺陷培养、碱性、重金属、高温情

况下，根系活力会有不同程度的下降。

②对照管：加入 2ml 根系 Assay Buffer 工作液(不加根)，室温静置 5min。

③第一次取样后，将两管 25℃避光孵育 60min 后第二次取样。

4、稀释标准品：取萘胺标准溶液(50μg/ml)，按下表稀释。

加入物(μl)	1	2	3	4	5	6
萘胺标准(50μg/ml)	10	20	40	60	80	100
蒸馏水	90	80	60	40	20	0
萘胺浓度(μg/ml)	5	10	20	30	40	50

5、加样：按照下表设置空白孔、对照孔、标准孔、测定孔，溶液应按照顺序依次加入，并注意避免产生气泡；如果样品中的根系活性过高，可以减少样品用量或适当稀释后再进行测定，样品的检测最好能设置 2 平行孔，求平均值。

加入物(μl)	空白孔	标准孔	对照孔	测定孔
系列萘胺标准(1~6 号孔)	—	24	—	—
根系 Assay Buffer 工作液	—	—	24	—
待测样品	—	—	—	24
蒸馏水	276	252	252	252
磺胺酸显色液	12	12	12	12
亚硝酸显色液	12	12	12	12

6、测定：①将系列标准孔室温静置 20min，空白孔调零，酶标仪测定 510nm 处系列标准管(1~6 号)吸光度；

②将对照孔、测定孔室温静置 20min，酶标仪测定 510nm 处对照孔、测定孔的吸光度(即为 $A_{对照0}$、$A_{测定0}$)；

③将第二次取样的对照孔、测定孔室温静置 20min，再以酶标仪测定 510nm 处对照孔、测定孔的吸光度(即为 $A_{对照1}$、$A_{测定1}$)。

计算：

以系列标准孔(1~6 号)吸光度为纵坐标，以萘胺浓度为横坐标，绘制萘胺标准曲线，根据吸光度与浓度关系直接计算回归方程，根据回归方程计算出 $A_{对照0}$、$A_{测定0}$、$A_{对照1}$、$A_{测定1}$ 所对应的萘胺浓度，即 $C_{对照0}$、$C_{测定0}$、$C_{对照1}$、$C_{测定1}$。

根系活力(μg/ml·g·h)=$\Delta C/(W\times t)$

式中：$\Delta C=(C_{测定0}-C_{测定1})-(C_{对照0}-C_{对照1})$

W=植物须根系的质量(g)

t=孵育时间(h)=1(h)

注意事项：

1、 植物根系活力与培养时间、酸碱、重金属、高温、低温等条件均有关系，在缺陷培养、碱性、重金属、高温情况下，根系活力会有不同程度的下降，请注意实验条件尽量保持一致，以免出现系统误差。

2、 实际测定中，结果有正有负，很常见，当出现负值时主要可以考虑以下几点：

①用同一植物不同部位的根再次取样检测；

②适当增加根的用量；

③取新鲜的根样品，尽量不用冰冻的根或取样时间较长的根；

④使用仪器自身的问题，在使用比色皿或酶标条加样测定前先测一次空白孔的 OD 值，有偏差大的需舍弃；

⑤比色皿或酶标孔每一个的加样量都应该保持一致；

⑥采用恒温箱或水浴锅控制反应温度，首先推荐用水浴锅，如果当地温度在 20℃以上可以用室温或恒温箱；

⑦调整二次孵育时间(可选 15~180min)，但一般建议所有样品选择相同的时间方案；

⑧各个样品管的反应时间都应保持一致，特别是反应时间比较短的步骤，想办法尽量缩短时间误差，建议一次检测数量不宜过多；

⑨调整实验方法，采用植物根系活力检测试剂盒(TTC 比色法)或植物根系活力检测液(甲烯蓝比色法)等做验证。

3、 磺胺酸显色液易挥发，请密闭保存，否则检测效率下降。

4、 亚硝酸显色液易失效，避免室温或高温存放，应 4℃保存，临用前恢复至室温即可。

5、 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。

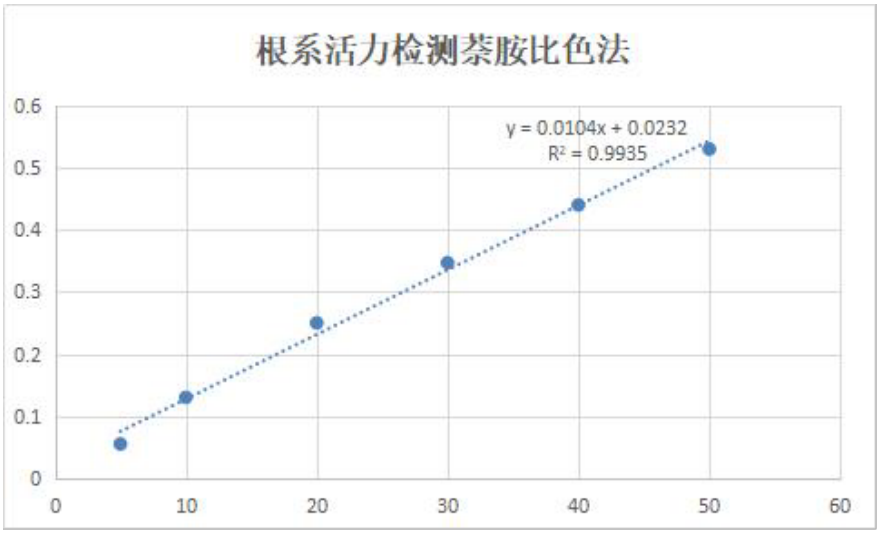
6、 如果没有酶标仪，也可以使用普通的分光光度计测定，但应注意分光光度计比色杯的最小检测体积。

7、 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

8、 试剂开封后请尽快使用，以防影响后续实验效果。

有效期： 6 个月有效。低温运输，按要求保存。

附录 1：参考标准曲线范围：测定萘胺标准在 5~50μg 时，通过分光光度计测定其吸光度多在 0~0.7 之间，测定萘胺标准在 5、10、20、30、40、50μg/ml 时吸光度，据此 作出其标准曲线如下：



注意：由于检测仪器和操作手法等条件的不同，参考值范围会有波动，该值仅供参考，对于要求精确计算根系活力的，可以采用标准曲线进行多点重复测定；根据 Leagene 测定经验显示萘胺浓度在 7μg/ml 以下，萘胺浓度在 50μg/ml 以上，标准曲线会有偏差。

附录 2：定性检测(备选)：

1、挖取处于不同生长状态的水生根系植株(如水稻等)数株，洗净根部后再用滤纸吸去根上吸附的水分。

2、取适量的萘胺标准(50μg/ml)，按萘胺标准(50μg/ml)：蒸馏水=1：1 混合，即为萘胺溶液(25μg/ml)。

3、将植株完全浸没于萘胺溶液(25μg/ml)，避光静置 24~36h，观察根系着色情况。

相关产品：

产品编号	产品名称
GCCC0007	磷酸缓冲盐溶液(10×PBS,无钙镁)
GCCM0004	LB 培养基
GCDC0032	Masson 三色染色液
GCDF0135	组织细胞固定液(4% PFA)
GCDP0013	GUS 染色液(即用型)
GCNR0001	DEPC 处理水(0.1%)
GCPS0013	RIPA 裂解液(强)
GCTC1167	尿素(Urea)检测试剂盒(脲酶波氏比色法)
GCTP1023	植物根系活力检测试剂盒(TTC 比色法)
GCTP1033	植物根系活力检测液(甲烯蓝比色法)