

植物根系活力试剂盒说明书

(微板法 96 样)

一、产品简介：

植物根系的测定，传统方法是用氯化三苯基四氮唑（TTC）作为脱氢酶的氢受体，但生成的有色物质甲臜是不溶于水以至操作麻烦，且灵敏度低；本试剂盒提供一种简单，灵敏，快速的测定方法，利用改性的氮四唑盐作为氢受体，其生成的有色甲臜物质易溶于水，于 460nm 测定其吸光值，即得脱氢酶活性。

二、试剂盒组分与配制：

试剂名称	规格	保存要求
试剂一	液体 2.1ml×1 瓶	4℃保存
试剂二	液体 34mL×1 瓶	4℃保存

三、所需的仪器和用品：

酶标仪、96 孔板、天平、恒温培养箱或水浴锅、可调式移液器、离心机。

四、植物根系活力测定：

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定，了解本批样品情况，熟悉实验流程，避免实验样本和试剂浪费！

1、样本制备：

先用蒸馏水把根系（尤其是带泥巴的根系）冲洗干净，再用吸水纸吸干水分，称约 0.03g 根系组织，可预先用剪刀剪成小段，放入 EP 管后按照加样表操作（确保根系样本完全被试剂浸没）。

2、上机检测：

- ① 酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 460nm。
- ② 在 EP 管中依次加入：

试剂名称（ μL ）	测定管	空白管（仅做一次）
样本（g）	0.03g	
试剂一	20	20
试剂二	340	340
充分混匀，37℃避光培养 3h，立即于室温（25℃）10000rpm，离心 10min，取出 200 μL 上清液至 96 孔板中，于 460nm 处读取吸光值 A， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ 。		

- 【注】1. 随着反应的进行，液体会呈现黄色现象，酶活性越大，颜色越深。
2. 若 ΔA 差值在零附近徘徊，可以加大样本取样量（如增至 0.08g），或延长避光培养时间（如增至 6 h 或更长），则改变后的样本 W 和反应时间 T 需代入计算公式重新计算。

五、结果计算：

1、按照样本质量计算

酶活单位定义：在 37℃ 时，每克样本每小时催化产生 1 μg 甲臜物质为一个酶活单位。

根系活力 ($\mu\text{g}/\text{h}/\text{g}$ 鲜重) = $(\Delta A \div \epsilon \div d \times V \times 10^6 \times Mr) \div W \div T = 4.83 \times \Delta A \div W$

ϵ ---甲臜物质的摩尔消光系数， $3.1 \times 10^4 \text{ L}/\text{mol}/\text{cm}$ ；

d---光径，0.5cm；

V---反应体系总体积， $360 \mu\text{L} = 3.6 \times 10^{-4} \text{ L}$ ；

T---培养时间，3h；

W---样品质量，g；

Mr---甲臜物质的分子量，624.47；