

植物根系活力检测试剂盒（萘胺法）说明书

微量法

注意：本产品试剂有所变动，请注意并严格按照该说明书操作。

货号：BC5295

规格：100T/96S

产品内容：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体 10 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	液体 110 mL×2 瓶	2-8℃保存
试剂三	液体 2 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂四	液体 20 mL×1 瓶	2-8℃保存
标准品	液体 2 mL×1 瓶	2-8℃保存

溶液的配制：

- 1、试剂三：临用前加入 18 mL 蒸馏水，充分混匀，现用现配。未用完的试剂 2-8℃可以保存 4 周。
- 2、标准品：0.4 mg/mL α -萘胺标准品。

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。

植物根系能氧化吸附在根表面的 α -萘胺，生成红色的 α -羟基-1-萘胺，沉淀于有氧化力的根的表面，使这部分染成红色。 α -萘胺在酸性条件下于对氨基苯磺酸钠和亚硝酸盐作用生成红色的偶氮染料。根系活力可以通过 α -萘胺减少量来表示。



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。

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、可调式移液器、滤纸、微量玻璃比色皿/96 孔板、蒸馏水。

操作步骤：

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。称取 0.2g 于 5mL EP 管中。

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 520nm，可见分光光度计用蒸馏水调零。
- 2、标准品的稀释：将 0.4mg/mL α -萘胺标准品用试剂一稀释为 0.4、0.2、0.1、0.05、0.025、0.0125、0.00625、0.003125、





0.0015625mg/mL 的标准品。(0mg/mL 记为标准空白管)

3、标准品稀释表:

序号	稀释前浓度 (mg/mL)	标准品体积 (μL)	试剂一体积 (μL)	稀释后浓度 (mg/mL)
1	0.4	100	-	0.4
2	0.4	200	200	0.2
3	0.2	200	200	0.1
4	0.1	200	200	0.05
5	0.05	200	200	0.025
6	0.025	200	200	0.0125
7	0.0125	200	200	0.00625
8	0.00625	200	200	0.003125
9	0.003125	200	200	0.0015625
10	0	-	200	0 (标准空白管)

备注: 下述实验中每个标准管需 75μL 标准品 (注意不要在此步骤直接检测标准品吸光值)。

4、在 5mLEP 管按下表步骤加样:

试剂名称 (μL)	测定管	空白管	标准管
样本	0.2g	-	-
试剂二	2000	2000	-
37°C避光反应, 在反应 10min 和 3h 10min 时测定管和空白管需要各吸取 75μL 反应液进行下述第二步反应。 第二步反应需要先按下表在新的 1.5mL EP 管中加入试剂三和试剂四, 再吸取 75μL 上述第一步反应液于 EP 管中。注: 需要先加试剂三和试剂四, 再加反应液, 一定不能颠倒顺序!			
试剂三	75	75	75
试剂四	75	75	75
第一步反应液	75	75	-
标准品	-	-	75

充分混匀, 室温显色 20min, 取 200μL 于微量玻璃比色皿或 96 孔板中, 测定在 520nm 处的吸光度, 显色后需要在 20min 内完成检测。10min 所对应的吸光值记作 A₁, 3h10min 所对应的吸光值记作 A₂。计算 ΔA_{测定}=A_{1测定}-A_{2测定}, ΔA_{空白}=A_{1空白}-A_{2空白}, ΔA=ΔA_{测定}-ΔA_{空白}, ΔA_标=A_{标准}-A_{标准空白管}。(标准曲线和空白管只需做 1-2 次。)

三、根系活力计算

1. 标准曲线的绘制

根据标准管的浓度 (x, mg/mL) 和吸光度 ΔA_标 (y, ΔA_标), 建立标准曲线。根据标准曲线, 将 ΔA (y, ΔA) 带入公式计算样本浓度 (x, mg/mL)。

2. 按照样本质量计算: 以氧化的 α-萘胺的量来表示根系活力

$$\text{根系活力} [\mu\text{g} / (\text{g} \cdot \text{h})] = x \times V_{\text{试剂二}} \times 10^3 \div (W \times T) = 666.67 \times x \div W$$

10³: 单位换算, 1mg/mL=10³μg/mL; V_{试剂二}: 试剂二的体积, 2mL; W: 根系质量, g; T: 反应时间, 3h。



注意事项:

- 1、在 EP 管/96 孔板内加入试剂三、试剂四以及样本的顺序不可改变。
- 2、如果 ΔA 结果不在标准曲线范围内,可以减少样本质量(或者减少第一步反应时间)或者增加样本质量(或者增加第一步反应时间)。
- 3、显色后需要在 20min 内完成检测。

实验实例:

- 1、称取 0.2081g 豆芽的根部,洗净,擦干,按照测定步骤操作,用 96 孔板测得计算 ΔA 测定= $A1_{测定}-A2_{测定}=1.449-1.328=0.121$, ΔA 空白= $A1_{空白}-A2_{空白}=1.555-1.487=0.068$, $\Delta A=\Delta A_{测定}-\Delta A_{空白}=0.121-0.068=0.053$, 标准曲线为 $y=3.2172x+0.0031$, 计算得 $x=0.016\text{mg/mL}$, 带入公式计算:
根系活力 $[\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{h})]=666.67\times x\div W=51.25\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{h})$
- 2、称取 0.2031g 景天的根部,洗净,擦干,按照测定步骤操作,用 96 孔板测得计算 ΔA 测定= $A1_{测定}-A2_{测定}=1.517-1.424=0.093$, ΔA 空白= $A1_{空白}-A2_{空白}=1.555-1.487=0.068$, $\Delta A=\Delta A_{测定}-\Delta A_{空白}=0.093-0.068=0.025$, 标准曲线为 $y=3.2172x+0.0031$, 计算得 $x=0.007\text{mg/mL}$, 带入公式计算:
根系活力 $[\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{h})]=666.67\times x\div W=22.98\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{h})$

相关系列产品:

BC3120/BC3125 植物脱氢酶(PDHA)活性检测试剂盒
BC5270/BC5275 植物根系活力检测试剂盒(TTC 法)

