

Salkowskis比色液配制：临用前AB液混合摇匀后使用，现配现用。

植物体内生长素的种类很多，其中吲哚乙酸(IAA)是植物体内普遍存在的一种生长素。于不同的生育期测定不同器官中IAA的含量以及IAA氧化酶的活性，对于研究植物的生长、发育、衰老、脱落等均有重要意义。

注意：以下实验方案仅供参考，具体根据自己实验方案或者有对应的实验文献操作。

吲哚乙酸含量的测定

原理：研究发现在无机酸存在下，吲哚乙酸能与FeCl₃作用，生成红色的整合物。该物质在530nm有最大吸收峰，由此引出IAA的比色定量测定，此法可测出ug量级的IAA。

实验材料、试剂与仪器设备

(一)实验材料：玉米种子。

(二)试剂

1、IAA 标准溶液：精确称取IAA 10mg,先用少量乙醇溶解,后用蒸馏水定容至 100mL(其浓度为100ug/mL)作为贮备液；然后用贮备液配成 0(空白)、0.5、1.0、5.0、10.0、15.0、20.0、25.0ug/ml的系列浓度标准溶液，作为工作液(现用现配)

2、Salkowskis比色液

3、0.1 mol/L NaOH 溶液

4.甲醇。

(三)仪器设备

分光光度计，离心机，粉碎机，天平，水浴锅，移液管，大试管，烧杯。

实验步骤

1.标准曲线绘制：取干洁大试管8支(0~7号)，依次加入IAA系列浓度工作液2mL，分别加入Salkowskis比色液 8mL，于40℃温箱中暗保温30min(加速显色反应)；于530nm 下比色，以OD值为纵坐标，以IAA浓度(ug/mL)为横坐标，绘出一条标准曲线。

2.生长素的提取与测定：将风干的玉米种子(最好是白玉米)用粉碎机磨成细粉(约1mm 大小的细粒，太粗提取不完全，太细加热时易糊化而使离心困难)；称取粉末10g装入烧杯，加入0.1mol/LNaOH 溶液40mL，于100℃水浴中煮沸15 min(上面加盖防止水分蒸干)；取出烧杯后再向其内加入0.1mol/L NaOH

溶液25mL，充分摇匀，用甲醇定容至100mL，静置30min，取上层液离心30min，上清液即为IAA提取液。

取干洁大试管2支，依次各加入上述样品IAA提取液2mL和Salkowskis比色液8mL于40℃温箱中显色30min，在530nm下比色(以标准曲线的“0”调零)，记录OD值。

四、结果计算

样品吲哚乙酸含量(ug/g)= $A \times V1 / W \times V2$

式中：

A--标准曲线上查得的IAA量 (ug)

V1--样品提取液体积 (mL)

W--样品重量 (g)

V2--样品反应液体积 (mL)

Different methods are found in the literature to detect the biosynthesis of IAA. Gordon and Weber, (1951) were the first to provide a colorimetric assay using Salkowski reagent for the detection of IAA. This method has since been widely used for detecting IAA from microorganisms. Salkowski reagent which upon reaction with IAA yields pink color, due to IAA complex formation with and reduction of Fe^{3+}