

# OBSAH

Úvod.....	11
Část I Rozbory půdních vzorků.....	13
1 Odběr a příprava půdních vzorků pro analýzu.....	14
1.1 Odběry a uchování půdních vzorků.....	14
1.2 Příprava půdních vzorků pro analýzu.....	15
Literatura .....	15
2 Fyzikální vlastnosti půd.....	17
2.1 Stanovení obsahu skeletu v půdním vzorku .....	17
2.1.1 Stanovení půdního skeletu prosátím zeminy.....	17
2.1.2 Stanovení půdního skeletu objemovou metodou .....	18
2.2 Stanovení struktury půdy.....	18
2.2.1 Stanovení zrnitostního složení.....	19
2.2.1.1 Stanovení zrnitostního složení zeminy proséváním na sítích.....	19
2.2.1.2 Stanovení zrnitostního složení zeminy dekantací.....	19
2.2.1.3 Stanovení zrnitostního složení zeminy pipetovací metodou.....	20
2.2.1.4 Stanovení zrnitostního složení zeminy odstředivací metodou .....	21
2.2.1.5 Stanovení zrnitostního složení zeminy vyplavováním.....	21
2.2.2 Rozplavitelnost a stabilita půdních agregátů.....	22
2.2.2.1 Stanovení stability půdních agregátů máčením vodou.....	22
2.3 Stanovení podílu jílové frakce zeminy.....	23
2.3.1 Separace jílových částic sedimentací .....	23
2.4 Stanovení měrného (specifického) povrchu půdy .....	24
2.4.1 Stanovení měrného povrchu půdy na základě sorpce vodních par.....	25
2.4.2 Stanovení měrného povrchu půdy na základě sorpce etylénglykolu metodou podle Dyala-Hendricksova.....	26
Literatura .....	26
3 Fyzikálně chemické vlastnosti půd.....	28
3.1 Stanovení sušiny a vlhkosti zeminy.....	28
3.2 Stanovení nasáklivosti zeminy .....	29
3.3 Stanovení půdní vody.....	29
3.3.1 Stanovení retenční vodní kapacity půdy .....	29
3.3.2 Stanovení maximální vodní kapilární kapacity půdy.....	30
3.3.3 Stanovení vodní kapilární kapacity půdy podle Shawa.....	30
3.3.4 Stanovení plné vodní kapacity půdy .....	31
3.4 Stanovení sacího tlaku půdní vody $p_F$ .....	31
3.4.1 Stanovení hodnot $p_F$ pomocí exikátorů.....	32

3.4.2	Stanovení hodnot $pF$ kryoskopicky.....	32
3.4.3	Stanovení hodnot $pF$ centrifugací.....	33
3.5	Pórovitost půdy.....	34
3.5.1	Stanovení pórovitosti půdy.....	34
3.5.2	Stanovení objemové hmotnosti půdy.....	35
3.5.3	Stanovení redukované objemové hmotnosti půdy.....	35
3.5.4	Stanovení měrné hmotnosti půdy.....	35
3.5.5	Stanovení objemu nekapilárních pórů v půdě.....	36
3.6	Stanovení výměnné sorpční kapacity půdy.....	36
3.6.1	Stanovení kationtové výměnné kapacity titrací kyselinou.....	38
3.6.2	Stanovení titrační acidity a půdní výměnné reakce.....	38
3.6.3	Stanovení kationtové výměnné kapacity $NH_4Cl$ -imidazolem.....	38
3.6.4	Stanovení kationtové výměnné kapacity chloridem draselným.....	39
3.6.5	Stanovení kationtové výměnné kapacity octanem amonným.....	39
3.6.6	Stanovení kationtové výměnné kapacity podle van der MARELA.....	40
3.6.7	Stanovení kationtové výměnné kapacity chloridem barnatým.....	40
3.7	Stanovení saturační kapacity půdy.....	41
3.8	Stanovení pufrovací kapacity půdy.....	41
3.8.1	Stanovení pufrovací kapacity půdy hydroxidem a kyselinou.....	42
3.8.1.1	Stanovení pufrovací kapacity půdy hydroxidem vápenatým a kyselinou chlorovodíkovou.....	42
3.8.1.2	Stanovení pufrovací kapacity půdy hydroxidem sodným a kyselinou sírovou.....	42
3.8.1.3	Stanovení pufrovací kapacity půdy pomocí pufrů.....	42
3.9	Stanovení půdního pH.....	43
3.9.1	Stanovení aktivní půdní acidity ( $pH/H_2O$ ).....	44
3.9.2	Stanovení výměnné půdní acidity $pK$ .....	44
Literatura	.....	44
4	Chemické vlastnosti půd.....	46
4.1	Stanovení uhlíku v půdě.....	46
4.1.1	Stanovení uhlíku v půdě suchou cestou.....	47
4.1.1.1	Stanovení uhlíku spalováním v muflové peci.....	47
4.1.1.2	Stanovení uhlíku elementární analýzou.....	47
4.1.2	Stanovení uhlíku v půdě mokrou cestou.....	48
4.1.2.1	Stanovení uhlíku oxidací $K_2Cr_2O_7$ a titrací $Na_2S_2O_3$ .....	48
4.1.2.2	Stanovení uhlíku oxidací kyselinou chromovou a titrací kyselinou chlorovodíkovou (Knopova metoda).....	48
4.1.2.3	Stanovení obsahu oxidovatelného uhlíku oxidací $K_2Cr_2O_7$ a titrací Mohrovou solí.....	49
4.1.3	Stanovení složení humusu.....	50
4.1.3.1	Extrakce huminových kyselin a fulvokyselin 0,1 M NaOH.....	50
4.1.3.2	Stanovení obsahu $C_{ox}$ huminových kyselin.....	52
4.1.3.3	Stanovení obsahu $C_{ox}$ v roztoku humusových látek.....	53
4.1.3.4	Určení barevného kvocientu $Q$ 4/6 humusových látek.....	53
4.1.3.5	Dělení humusových látek gradientovou elucí na kopolymeru.....	55
4.1.4	Stanovení bílkovin v půdě.....	57

4.1.5	Stanovení cukrů v půdě.....	57
4.1.6	Stanovení fenolických látek v půdě.....	57
4.2	Stanovení dusíku v půdě.....	58
4.2.1	Stanovení celkového dusíku v půdě.....	60
4.2.1.1	Stanovení celkového dusíku v půdě Kjeldahlovou metodou.....	60
4.2.1.2	Stanovení celkového dusíku včetně dusičnanů $\text{NH}_4^+$ .....	61
4.2.1.3	Stanovení celkového dusíku včetně fixovaného $\text{NH}_4^+$ v půdě modifikovanou Kjeldahlovou metodou.....	61
4.2.2	Stanovení amoniakálního dusíku v půdě.....	61
4.2.2.1	Stanovení amoniakálního vodorozpuštěného dusíku v půdě.....	62
4.2.2.1.1	Stanovení amoniakálního dusíku plynovou iontově selektivní elektrodou.....	62
4.2.2.1.2	Stanovení amoniakálního dusíku destilací.....	63
4.2.2.1.3	Stanovení amoniakálního dusíku kolorimetricky.....	63
4.2.2.2	Stanovení výměnného amoniakálního dusíku v půdě.....	63
4.2.2.3	Stanovení fixovaného dusíku v půdě.....	63
4.2.3	Stanovení nitrátového dusíku.....	64
4.2.3.1	Stanovení nitrátového dusíku iontově selektivní elektrodou CRYTUR.....	64
4.2.3.2	Redukčně destilační stanovení nitrátového dusíku v půdě.....	65
4.2.4	Stanovení nitritů v půdě.....	65
4.2.5	Stanovení oxidů dusíku a $\text{N}_2$ v půdě.....	66
4.2.5.1	Stanovení $(\text{NO})_x$ absorpcí v roztoku $\text{KMnO}_4$ a $\text{NaOH}$ .....	67
4.2.5.2	Stanovení molekulárního dusíku hmotově spektrometrickou analýzou.....	68
Literatura	.....	68
5	Biologické půdní testy.....	71
5.1	Stanovení půdní biomasy fumigační metodou podle JENKINSONA.....	71
5.2	Stanovení nitrifikačního potenciálu půdy.....	73
5.3	Stanovení indexu využitelnosti půdního dusíku.....	73
Literatura	.....	74
Část II	Analýzy rostlinného materiálu.....	77
6	Stanovení dusíku v rostlinách.....	78
6.1	Stanovení celkového dusíku.....	78
6.1.1	Stanovení celkového dusíku podle KJELDAHLA.....	78
6.1.2	Stanovení celkového dusíku za použití kyseliny salicylové.....	79
6.2	Stanovení volného nitrátového dusíku v rostlinách.....	79
6.3	Stanovení volného amoniakálního dusíku v rostlinách.....	80
6.4	Stanovení dusíku v aminokyselinách rostliny.....	81
Literatura	.....	82
7	Bílkoviny v rostlinách.....	83
7.1	Extrakce bílkovin z vegetativních částí rostliny.....	84
7.1.1	Extrakce rozpustných bílkovin.....	84
7.1.2	Extrakce nerozpustných bílkovin.....	85

7.2	Příprava acetonového prášku z rostlinného materiálu pro stanovení bílkovin.....	85
7.3	Srážení bílkovin solemi nebo kyselinami.....	86
7.4	Metody kvantitativního stanovení bílkovin.....	86
7.4.1	Stanovení bílkovin na základě určení dusíku podle Kjeldahla.....	86
7.4.2	Stanovení bílkovin biuretovou reakcí.....	87
7.4.3	Stanovení bílkovin podle Levina a Braurera.....	87
7.4.4	Stanovení bílkovin podle Lowryho.....	88
7.4.5	Stanovení bílkovin podle Chaffnera a Weissmanna.....	88
7.4.6	Stanovení bílkovin podle BRADFORDOVÉ.....	89
7.4.7	Spektrofotometrické stanovení bílkovin podle WARBURGA a Christiana.....	90
7.5	Extrakce, frakcionace a stanovení semenných bílkovin.....	90
7.5.1	Extrakce bílkovin ze semen různých plodin.....	91
7.5.1.1	Extrakce bílkovin z pšenice.....	92
7.5.1.1.1	Albuminy a globuliny.....	92
7.5.1.1.2	Prolaminy.....	92
7.5.1.2	Extrakce bílkovin ze semen bobovitých rostlin, hlavně hrachu.....	92
7.5.1.2.1	Albuminy a globuliny.....	92
7.5.1.2.2	Globuliny extrahované 0,05 M NaOH.....	93
7.5.1.2.3	Vicilin a legumin.....	93
7.5.1.3	Metody izolace globulinů specifických pro jednotlivé druhy.....	94
7.5.1.3.1	Tykev ( <i>Cucurbita pepo</i> ).....	94
7.5.1.3.2	Sója ( <i>Glycine max</i> ).....	94
7.5.1.3.3	Podzemnice olejná ( <i>Arachis hypogaea</i> ).....	94
7.5.1.3.4	Víčí bob ( <i>Lupinus sp.</i> ).....	94
7.5.2	Chromatografické a elektroforetické metody stanovení prolaminů trav ( <i>Poaceae</i> ).....	95
7.5.2.1	Analýza gliadinů pšenice.....	95
7.5.2.1.1	Frakcionace gliadinů gelovou filtrací.....	95
7.5.2.1.2	Frakcionace gliadinů na sulfoetylcelulóze.....	95
7.5.2.1.3	Analýza gliadinů elektroforézou v polyakrylamidovém gelu podle CATSIMPOOLASE.....	95
7.5.2.1.4	Analýza gliadinů elektroforézou v polyakrylamidovém gelu podle BUSHUKA a ZILLMANA.....	97
7.5.2.1.5	Analýza gliadinů elektroforézou ve škrobovém gelu podle ŠAŠKA a ČERNÉHO.....	97
7.5.2.2	Analýza zeinů kukuřice.....	98
7.5.2.2.1	Izolace zeinu.....	98
7.5.2.2.2	Elektroforéza zeinu v polyakrylamidovém gelu.....	98
7.5.2.3	Analýza hordeinů ječmene.....	99
7.5.2.4	Analýza gluteninů pšenice.....	100
7.5.2.4.1	Stanovení gluteninů gelovou filtrací.....	100
7.5.2.4.2	Analýza gluteninů elektroforézou v polyakrylamidovém gelu.....	100
7.6	Běžné gelové systémy pro elektroforetické dělení různých typů bílkovin.....	102
7.7	Barvení bílkovin po elektroforetickém rozdělení v polyakrylamidovém gelu.....	105
7.7.1	Barvení roztokem Coomassie brilliant blue R-250.....	105
7.7.1.1	Cylindrické gely.....	105

7.7.1.2	Plotnové gely.....	105
7.7.1.3	Barvení gelů po SDS-elektroforéze.....	105
7.7.2	Barvení gelů amoniakálním stříbrem.....	105
7.8.	Vyhodnocování gelů po elektroforéze a obarvení.....	106
7.9	Zpracování výsledků.....	107
Literatura	.....	107
8	Stanovení cukrů v rostlinném materiálu.....	111
8.1	Extrakce.....	111
8.2	Analýza extraktu.....	112
8.2.1	Chemické metody.....	112
8.2.1.1	Nespecifické stanovení cukrů fenolem a kyselinou sírovou.....	112
8.2.1.2	Stanovení redukujících cukrů neokuproinovým činidlem.....	112
8.2.1.3	Stanovení redukujících cukrů kyselinou dinitrosalicylou.....	113
8.2.1.4	Stanovení redukujících cukrů hydrazidem kyseliny <i>p</i> -hydroxybenzoové.....	113
8.2.1.5	Jednoduché kolorimetrické stanovení cukrů v plodech.....	113
8.2.2	Enzymatické metody.....	114
8.2.2.1	Stanovení glukózy pomocí hexokinázy a dehydrogenázy.....	115
8.2.2.2	Stanovení fruktózy a sacharózy pomocí hexokinázo-dehydrogenázové metody.....	115
8.2.2.3	Stanovení glukózy pomocí glukózaoxidázy a peroxidázy.....	115
8.2.2.4	Stanovení glukózy pomocí elektrody s imobilizovanou glukózooxidázou.....	116
8.2.3	Separční metody.....	116
8.2.3.1	Papírová chromatografie (PC) cukrů.....	116
8.2.3.2	Tenkvrstevná chromatografie (TLC) cukrů.....	116
8.2.3.3	Plynová chromatografie (GLC) cukrů.....	117
8.2.3.4	Vysokoučinná kapalinová chromatografie (HPLC) cukrů.....	117
Literatura	.....	117
9	Stanovení škrobu v rostlinném materiálu.....	119
9.1	Enzymatická metoda pro kvantitativní stanovení škrobu.....	119
9.2	Kvantitativní stanovení škrobu za použití skelného papíru.....	121
9.3	Metoda pro rychlé relativní stanovení škrobu.....	123
9.4	Kvantitativní stanovení amylozy a amylopektinu v rostlinném materiálu.....	123
Literatura	.....	125
10	Stanovení aktivity amylázy.....	126
Literatura	.....	127
11	Enzymy metabolismu dusíku.....	128
11.1	Stanovení nitrátreduktázy v rostlině.....	129
11.1.1	Metoda <i>in vitro</i> .....	129
11.1.2	Metoda <i>in vivo</i> .....	132
11.2	Stanovení nitritreduktázy v rostlině.....	133
11.3	Stanovení glutaminsyntetázy v rostlině.....	134
11.3.1	Stanovení GS pomocí transferázové reakce.....	135
11.3.2	Stanovení GS na základě syntetické reakce s použitím kyseliny <sup>14</sup> C-L-glutamové.....	135

11.3.3	Stanovení GS na základě produkce kyseliny glutamylhydroxamové v syntetické reakci.....	136
11.4	Stanovení glutamátdehydrogenázy v rostlině.....	136
11.5	Stanovení glutamát syntázy v rostlině.....	137
11.6	Stanovení aminotransferáz.....	139
11.6.1	Funkce aminotransferáz v metabolismu.....	139
11.6.2	Kompartmentace aminotransferáz a izoenzymy.....	140
11.6.3	Pyridoxal-6-fosfát, koenzym aminotransferáz.....	140
11.6.4	Kinetické vlastnosti aminotransferáz.....	140
11.6.5	Substrátová specifičnost aminotransferáz.....	141
11.6.6	Metody stanovení aktivity aminotransferáz.....	142
11.6.6.1	Přečištění enzymu.....	142
11.6.6.2	Spektrometrické stanovení produktu v UV oblasti.....	143
11.6.6.3	Kolorimetrické stanovení produktu ve viditelné oblasti.....	144
11.6.6.3.1	Kolorimetrické stanovení aktivity glutamát-oxalacetát aminotransferázy podle LANGERA a kol. ....	144
11.6.6.3.2	Kolorimetrické stanovení aktivity glutamát-pyruvát aminotransferázy.....	145
11.6.6.4	Stanovení aktivity aminotransferáz indikátorovou enzymatickou reakcí.....	145
11.6.6.4.1	Stanovení aktivity GOT v listech špenátu.....	145
11.6.6.5	Chromatografická izolace produktu transaminace.....	146
11.6.6.6	Stanovení aktivity transaminace pomocí značených substrátů.....	146
Literatura	.....	146
Rejstřík	.....	149