

LATVIJAS UNIVERSITĀTE
ĶĪMIJAS FAKULTĀTE

**MAKRO- UN MIKROELEMENTU PLŪSMAS
PĒTĪJUMI TAURINĶIEŽU – GUMIŅBAKTĒRIJU
SIMBIOTISKAJĀ SISTĒMĀ**

BAKALaura DARBS

Autore: **Anastasija Konovalova**

Studenta apliecības Nr.: ak17170

Darba vadītājs: Mg.Chem. Māris Bērtiņš

RĪGA

2020

ANOTĀCIJA

Makro- un mikroelementu plūsmas pētījumi tauriņziežu – gumiņbaktēriju simbiotiskajā sistēmā. Konovalova A., darba vadītājs Mg.Chem. Bērtiņš M. Bakalaura darbs, 39 lpp, 23 attēli, 16 tabulas, 27 literatūras avoti, 4 pielikumi. Latviešu valodā.

Darbā tiek veikta sojas un pupu paraugu sagatavošana un analīze. Makro un mikroelementu koncentrācijas noteikšana tika veikta, izmantojot induktīvi saistītas plazmas masspektrometru. Paraugu sagatavošanai izmantoja slapjo mikroviļņu mineralizāciju.

MAKROELEMENTI, MIKROELEMENTI, INDUKTĪVI SAISTĪTAS PLAZMAS MASSPEKTROMETRS, MINERALIZĀCIJA, SOJAS PARAUGI, PUPU PARAUGI.

ABSTRACT

Study of macro- and trace element flows in Legume – Rhizobia symbiotic system.

Konovalova A. research project supervisor Chem. mag. Bērtiņš M. Bachelor thesis 39 pages, 23 figures, 16 tables, 27 literature references, 4 appendices. In Latvian.

The work is carried out in preparation and analysis of samples of soya and beans. The concentration of macro and trace elements was determined/performed using an inductively coupled plasma mass spectrometry. Wet microwave mineralization was used for sample preparation.

MACROELEMENTS, MICROELEMENTS, INDUCTIVELY COUPLED PLASMA MASS SPECTROMETRY, MINERALIZATION, SOYA BEANS SAMPLES, FABA BEANS SAMPLES.

SATURS

APZĪMĒJUMU SARAKSTS	5
IEVADS	6
1. LITERATŪRAS APSKATS.....	7
1.1. Soja [<i>Glycine max (L.) Merrill</i>] un pupas [<i>Vicia faba L.</i>]	7
1.2. Gumiņbaktērijas.....	10
1.3. Elementanalīzes metodes.....	11
1.4. Paraugu sagatavošana	14
1.5. Datu analīzes metode ANOVA	16
2. EKSPERIMENTĀLĀ DAĻA.....	18
2.1. Izmantotā aparatūra un reaģenti.....	18
2.2. Pupu un sojas paraugu ievākšana	19
2.3. Sojas un pupu paraugu sagatavošana analīžu veikšanai	21
2.4. Sojas un pupas paraugu analīze ar ICP-MS.....	21
3. REZULTĀTI UN TO IZVĒRTĒJUMS.....	23
3.1. Makro- un mikroelementu daudzums pupu paraugos	23
3.2. Makro- un mikroelementu daudzums sojas paraugos	29
SECINĀJUMI	37
LITERATŪRAS SARAKSTS	38
PIELIKUMI.....	40

APZĪMĒJUMU SARAKSTS

AAS – atomabsorbcijas spektrometrija.

ETAAS – elektrotermālā atomabsorbcijas spektrometrija (Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry).

HGAAS – hidrīdu ģenerēšanas atomabsorbcijas spektrometrija.

ICP-MS – induktīvi saistītās plazmas masspektrometrija.

LAAS – liesmas atomabsorbcijas spektrometrija.

IEVADS

Makro un mikroelementi spēlē lielu lomu normālai dzīvo organismu funkcionēšanai. Atkarībā no elementu daudzuma organismā, tos iedala makroelementos (lielāks par 0,01%) un mikroelementos (mazāks par 0,01%). Makroelementu trūkums dzīvajos organismos var izraisīt nopietnas problēmas ar veselību – cilvēkiem, dzīvniekiem, bet augiem – deformāciju.

Soja ir vērtīga olbaltumvielu un eļļas augu kultūra. Liela interese par sojas ražošanu ir saistīta ar to, ka neviena cita augu kultūra veģetācijas periodā nedod tik augstu olbaltumvielu un eļļas iznākumu no vienas vienības. Soja ir vienlaikus pārtikas, tehniskā un barības kultūra. Sojas pupiņas ir īpaši produktīvas kultivētajās augsnēs ar lielu fosfora un kālija daudzumu [1].

Pupas ir vērtīga pārtikas kultūra. Pupas ir bagātas ar olbaltumvielām (17 - 30%). Tajās ir arī ciete, vitamīni, cukurs un mikroelementi. Minerālu uzturā svarīgu lomu spēlē tādi elementi kā kālijs, fosfors, kalcijs, sērs, magnijs, dzelzs, no mikroelementiem - mangāns un kobalts, no kuriem atkarīga normāla procesa plūsma - fotosintēze un nitrifikācija [2].

Viens no svarīgākajiem augu barības elementiem ir slāpeklis. Pats par sevi slāpekļa saturs augsnē salīdzinot ar atmosfēru ir zems. Lauksaimniecībā, lai piesaistītu augsnei slāpekli, izmanto augu inficēšanu ar slāpekli saistošajām baktērijām, piemēram, gumiņbaktērijām (Rhizobium), kuras atmosfērā esošo slāpekli pārveido augiem izmantojamā formā – amonija slāpeklī.

Mainoties viena elementa īpatsvaram augos mainās arī citu elementu saturs (Na, K, Ca, P, Zn, Cu) uz kuru izmaiņām pētītajos paraugos arī vērsta uzmanība šajā darbā.

Induktīvi saistītās plazmas masspektrometrijas metode ir ātra un ērta metode vienlaicīgai daudzu elementu noteikšanai.

Darba mērķis: novērtēt makro- un mikroelementu koncentrācijas izmaiņas neapstrādātos (kontroles) un ar gumiņbaktērijām inficētos pupu un sojas pupiņu paraugos.

Darba uzdevumi:

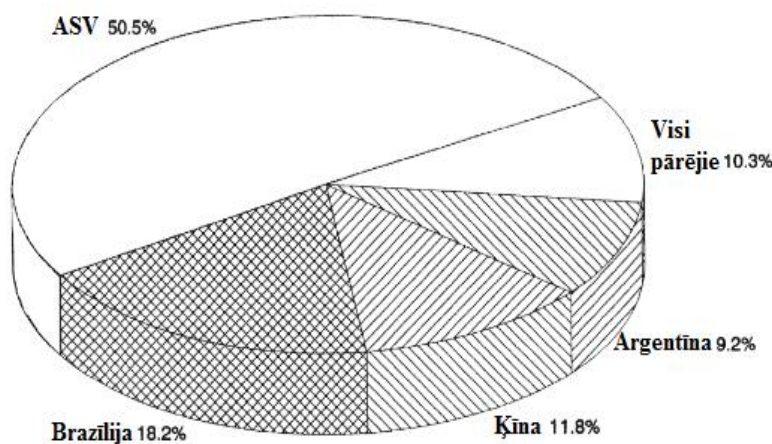
1. Izpētīt un apkopot informāciju par elementanalīzes metodēm;
2. Veikt paraugu mineralizēšanu izmantojot mikroviļņu mineralizācijas metodi;
3. Veikt elementu noteikšanu sagatavotajos paraugos ar ICP-MS metodi;
4. Novērtēt gumiņbaktēriju pielietošanas ietekmi uz mikro- un makroelementu koncentrācijām pupu un sojas pupiņu paraugos.

1. LITERATŪRAS APSKATS

1.1. Soja [*Glycine max (L.) Merrill*] un pupas [*Vicia faba L.*]

Soja. Sojas pupiņas [*Glycine max (L.) Merrill*], ir viena no vecākajām Tālo Austrumu augu kultūrām. Gadsimtiem ilgi Ķīnas un citas austrumu tautas, ieskaitot Japānas un Korejas iedzīvotājus ir izmantojuši pupiņas dažādās formās kā vienu no svarīgākajiem olbaltumvielu un eļļas avotiem uzturā. Šā iemesla dēļ un arī tāpēc, ka sojas pupiņas saražotā proteīna daudzums uz vienu zemes laukuma vienību ir lielāks nekā jebkuram citam kultūraugam, šo mazo, no seniem laikiem zināmo augu sauc par “dzeltenu dārgakmeni”, “lielo dārgumu”, “dabas brīnumproteīnu” un “lauka gaļu”. Tagad šo pupiņu daži uzskata par ieroci pret pasaules badu un nākotnes proteīnu. Pavisam nesen sojas pupiņas tika nosauktas par iespējamo ieroci pret hroniskām slimībām [3].

Sojas pupiņas ir kļuvušas par arvien nozīmīgāku lauksaimniecības produktu, pastāvīgi pieaugot ASV un pasaules ikgadēji saražotajam daudzumam. Pašlaik pasaulē saražotā produkcija tiek paredzēta 137 miljonu tonnu apmērā, un lielākie ražotāji ir Amerikas Savienotās Valstis, Brazīlija, Ķīna, Argentīna un Indija (sk. 1.1.att.). ASV lauksaimnieki katru gadu saražo apmēram pusi no visas sojas ražas pasaulē. Sojas pupiņas ir viena no pasaules vadošajām naudas kultūrām, jo tām ir plaši piemērošanas reģioni un spēja uzņemt slāpekli.

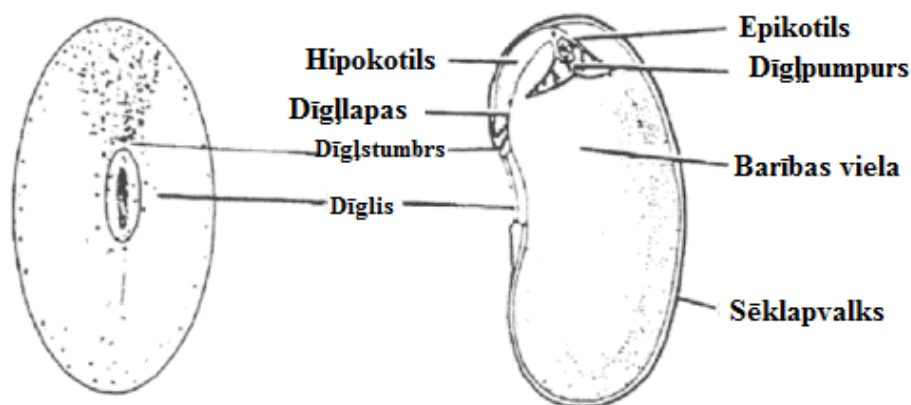


1.1.att. Lielāko ražotājvalstu sojas pupiņu ražošanas tirgus daļa 1994. un 1995. gados.

Agronomijas raksturojums [3]

Sojas pupiņas pieder pie *Leguminosae* dzimtas, *Papilionoideae* dzimtas un *Glycine L.* ģints. Kultivētā forma ar nosaukumu *Glycine max (L.) Merrill* dod ražu katru gadu. Tās augs ir krūmājs ar augstumu no 0,75 līdz 1,25 m, kas sazarojas reti vai blīvi, atkarībā no kultivācijas un augšanas apstākļiem.

Sēklu morfoloģija. Lielākā daļa nobriedušo sēklu sastāv no trim pamatdaļām: sēklas apvalka, embrija un vienas vai vairākām barības vielu uzglabāšanas struktūrām. Tomēr sojas sēklas, kā arī citi pākšaugi, būtībā nesatur endospermu un sastāv no sēklu apvalka un liela, labi attīstīta, dīgļpumpura. Sojas sēklās ir divdīgļlapji, kas funkcionē kā barības vielu rezerves struktūras (sk. 1.2.att). Sēklu apvalks mainās no lineāra līdz ovālam. Apvalks pasargā dīgli no sēnīšu un bakteriālās infekcijas pirms un pēc stādīšanas. Ja tas ir sašķelts, sēklai ir maz iespēju dīgt.



1.2.att. Sojas sēklas (pupiņas) uzbūve.

Dīgtspēja un sēklas attīstība. Sojas sēklas parasti stāda dziļumā no 2 līdz 5 cm atkarībā no augsnes tipa un mitruma apstākļiem. Ļoti svarīgi ir nodrošināt labu augsnes mitrumu dīgtspējas laikā, jo sēklām ir jāsasniedz 50% mitrums pirms dīgšanas sākuma. Tomēr pārmērīgs mitrums ir nelabvēlīgs arī dīgtspējai, iespējams, daļēji tā iemesls ir skābekļa padeves ierobežošana.

Augšanas stadijas un tematiskās grupas. Lielākajai daļai kultūraugu ir divi galvenie augšanas posmi: veģetatīvā un ziedēšanas vai reproduktīvā stadija. Sojas augā periods starp zieda rašanos un ziedēšanas sākšanos veģetatīvā stadijā parasti ilgst 6 – 8 nedēļas. Veģetatīvā augšana, kā arī auga galīgais lielums pirms ziedēšanas ir atkarīgs no daudziem faktoriem, tostarp genotipa, stādīšanas datuma, ģeogrāfiskās atrašanās vietas un vides apstākļiem.

Slāpekļa fiksācija. Viena no svarīgākajām sojas un daudzu citu pākšaugu agronomiskajām īpašībām ir to spēja uzņemt slāpekli no gaisa un pārvērst to metabolizējamā amonija N, šis process pazīstams kā slāpekļa fiksācija. Šī īpašība padara sojas pupiņas par labu rotācijas kultūru, ko izmanto kultūraugiem ar augstu slāpekļa patēriņu, piemēram, kukurūzai. Tas arī palīdz saglabāt sojas pupiņu ražošanas izmaksas relatīvi zemākas salīdzinājumā ar citām kultūrām, kas konkurē par to pašu zemes platību [4].

Pupas. Pupas [*Vicia faba* (L.)] ir pākšaugu raža, kuru tradicionāli izmanto kā galveno olbaltumvielas avotu cilvēku un dzīvnieku uzturam.

Agronomijas raksturojums. Optimālos augšanas apstākļos Faba pupu sēklu dīgtspēja ilgst 10 – 14 dienas. Tomēr tas aizņems daudz ilgāku laiku sausā stāvoklī vai arī tad, kad augsnes temperatūra ir zema. Vidēji Faba pupiņu augam izaug viens zars nedēļā. Tā kā Faba pupiņu stublāji ir salīdzinoši spēcīgi un aug taisni, augs var izaugt 90–130 cm garš, galvenokārt atkarībā no genotipa. Kad augs sasniedz 30 cm augstumu, Faba pupas dod pirmos ziedus. Ziedi un pākstis parādās apmēram 20 cm virs zemes [5].

Slāpekļa fiksācija. Faba pupiņām ir noteikta efektīvā slāpekļa fiksācijas spēja, kas ir visaugstākā starp vēsās sezonas pākšaugiem. Ziņojumos norādīts, ka Faba pupas var fiksēt 50–330 kg · hm⁻² N atkarībā no audzēšanas un vides apstākļiem. Pākšaugiem ir būtiska nozīme augsnes auglības saglabāšanā, ne tikai veicot bioloģisko N fiksāciju, bet arī šķīdinot augsnē nešķīstošo fosforu (P), uzlabojot augsnes fizisko vidi un palielinot augsnes mikrobu aktivitāti. Pākšaugi parasti reaģē uz esošo N koncentrāciju augsnē. Augsnēs ar relatīvi augstu slāpekļa daudzumu pākšaugi dod priekšroku augsnes slāpekļa izmantošanai, nevis lai iesaistītos simbiozē ar gumiņbaktērijām. Tomēr minimāls slāpekļa pielietojums var stimulēt slāpekļa fiksāciju, uzlabojot agrīnu augu augšanu, līdz slāpekļa fiksācija nodrošina pietiekamu slāpekli augu augšanai un attīstībai. No otras puses, mēslošanas līdzekļu daudzumi, kas pārsniedz minimālo “sākuma slāpekli”, parasti nomāc mezgliņus un N fiksāciju.

Sēkļu apstrāde. Gumiņbaktērijas augsnē var dzīvot vairākus gadus, tomēr visefektīvākās slāpekļa saistīšanas baktērijas var nebūt starp tām, kas izdzīvo. Lai gan gumiņbaktērijas augsnē paliek dzīvas 3 – 5 gadus, sēklas ieteicams inokulēt katru gadu, lai sasniegtu maksimālo N fiksāciju. Faba pupiņu sēklas jāinokulē ar gumiņbaktērijām, kuras pieder pie *R. leguminosarum* sugas. Inokulanti jātur sausi, svaigi un pareizi jāuzglabā. Sēklas jāinokulē tieši pirms stādīšanas, lai liels skaits gumiņbaktēriju būtu gatavi sākt infekcijas procesu, tiklīdz parādās saknes. Šīs gumiņbaktērijas var ātri inficēt saknes un sākt mezglojuma procesu.

Augsnes auglība

Slāpekļlis. Parasti pākšaugus dēvē par pašatbalstošām kultūrām attiecībā uz slāpekli. Tomēr pākšaugu bioloģiski fiksētā N efektivitāte un lielums ievērojami atšķiras. Pākšaugu sugas, kas atbilst 50 – 90% no to kopējām N prasībām no simbiotiskās slāpekļa fiksācijas, uzskata par efektīvām slāpekļa fiksācijām. Faba pupas un sojas pupas ar 75% un 68% tiek klasificētas kā augstas ietilpības pākšaugi slāpekļa fiksācijai. Acīmredzami, ka vissvarīgākais Faba pupu ieguldījums lauksaimniecības ekosistēmās ir ievērojams atmosfēras slāpekļa daudzums, ko var fiksēt ar uzņemošo pākšaugu un ar to saistīto gumiņbaktēriju.

Fosfors. Fosforam (P) ir liela nozīme pākšaugu mezgliņā un bioloģiskajā N fiksācijā, fotosintēzē un pākšaugu, tostarp faba pupiņu, uzturvērtībā. Fosfora pielietojums bieži palielina

faba pupiņu ražu un biomasu augsnēs ar zemu fosfora daudzumu, norādot, ka P mēslojums ir būtisks graudu ražošanai faba pupiņās.

Kālijs. Kālijs (K) ir būtiska uzturviela un ir iesaistīts augu metabolismā, aktivizējot daudzus fermentus, un tam ir svarīga loma augu ūdens apsaimniekošanā. Faba pupas bieži reaģē pozitīvi uz K pielietojumu, īpaši sausos augšanas periodos. Atbilstoša K pieejamība faba pupiņu augiem pozitīvi ietekmē slāpekļa fiksāciju. Kad faba pupiņām tika uzklāts K mēslojums, tiek palielināta biomasas un graudaugu raža.

Magnijs. Magnija (Mg) deficīts var samazināt faba pupiņu ražību. Mg pieejamību augiem ietekmē dažādi faktori, tai skaitā augsnes mitruma deficīts vai augsts citu katjonu līmenis augsnē. Ziņojumos norādīts, ka pastāv saistība starp Mg piegādi un slāpekļa lietošanas efektivitāti, jo RNS stabilizēšana ir atkarīga no Mg ar tās galveno funkciju glutamīna sintēzes aktivēšanā. Magnija pielietošana bieži rada augstāku hlorofila koncentrāciju un pēc tam augstāku fotosintēzes ātrumu, kas uzlabo pākšaugu ražu.

Sērs. Arvien vairāk tiek pierādīts, ka sēra (S) pielietošana dažādām kultūrām uzlaboja to ražu, samazinoties rūpnieciskajām emisijām un samazinoties S nogulsnešanās augsnēs. Citi S deficīta iemesli augsnēs varētu būt augstas ražas šķirņu kultivēšana un S nesaturošu mēslošanas līdzekļu izmantošana. Sērs ir būtisks pākšauga un gumiņbaktērija simbiotiskajai sistēmai, tāpēc, izmantojot S mēslojumu deficītām augsnēm, var palielināties mezgliņu skaits un svars, kopējā sausna, graudu raža un kopējais slāpekļa daudzums, ko nosaka faba pupās, īpaši augsnēs ar zemu organiskās vielas daudzumu. Parasti pākšaugu kultūrām ir vajadzīgs lielāks S daudzums, salīdzinot ar graudu kultūrām, jo tām ir lielāks olbaltumvielu un sēra saturošo aminoskābju, ieskaitot metionīnu un cisteīnu, daudzums sēklās.

Molibdēns

Molibdēns. Slāpekļa fiksācija faba pupiņās ir cieši saistīta ar dzinuma audu molibdēna (Mo) statusu. Mo pieejamība skābās augsnēs ir ierobežota galvenokārt dzelzs un alumīnija oksīdu sorbcijas dēļ. Tāpēc kaļķa izmantošana skābās augsnēs var ievērojami palielināt Mo pieejamību augsnēs un lielāku Mo saturu Faba pupu sēklās [6].

1.2. Gumiņbaktērijas

Daudziem pākšaugiem ir spēja izveidot bināru simbiozi ar dažām diazotrofām baktērijām, ko kopā sauc par gumiņbaktērijām. Šīs gumiņbaktērijas izraisa sakņu mezgliņu veidošanos, kur notiek bioloģiskā slāpekļa fiksācija. Gumiņbaktērija ir konstatēta alfa-proteobaktēriju ģintī (*Rhizobium*, *Ensifer*, *Bradyrhizobium*, *Mesorhizobium*, *Methylobacterium*, *Devosia*, *Azorhizobium*, *Allorhizobium* un *Shinella*) un beta-proteobaktēriju ģintī (*Burkholderia* un *Cupriavidus*). Kopā ar gumiņbaktērijām pākšaugu mezgliņos kopš tā laika ir atklāta liela endofītisko baktēriju daudzveidība, ieskaitot baktērijas *Bacillus*,

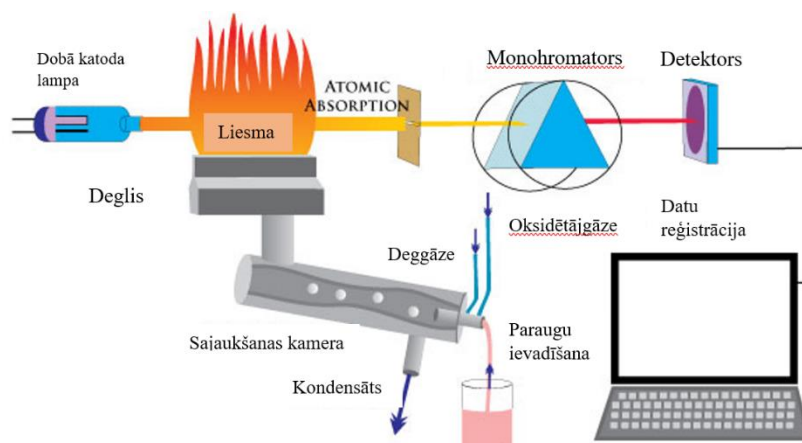
Pseudomonas, *Enterobacter*, *Chryseobacterium* un *Sphingobacterium*. Tā kā šīs baktērijas nevar inducēt mezgliņus vai veikt bioloģisko slāpekļa fiksāciju, tās tiek sauktas par gumiņbaktēriju nesaturošiem endofītiem (GNE). GNE locekļi var sniegt labvēlīgus pakalpojumus saviem saimniekaugiem, piemēram, augu augšanas veicināšanu, rezistenci pret abiotisko stresu, aizsardzību pret patogēniem, kā arī mezglu pastiprināšanu [7].

Pākšaugi-Gumiņbaktērijas. Savstarpējā sadarbībā starp pākšaugiem un augsnes baktērijām, kas pazīstamas kā gumiņbaktērijas, baktērijas no augsnes inficē augu saknes un vairojas sakņu mezgliņos, kur tās saista atmosfēras slāpekli augu barošanai, apmaiņā saņemot ogļhidrātus. Pēc mezgliņu novecošanās izdzīvojušās gumiņbaktērijas nonāk augsnē, kur atkarībā no dzīvotspējas tie var uzturēt pastāvīgās populācijas un atkārtoti inficēt augu saknes nākamajā augšanas ciklā. Šo dabīgo mutuālismu jau sen izmanto lauksaimniecībā, lai pievienotu gumiņbaktērijas kultūraugiem kā inokulantus, aizstātu vai vismaz samazinātu slāpekļa mēslojuma izmantošanu, galvenokārt nitrātu, kas izraisa daudzas vides un cilvēku veselības problēmas. Pievienotais nitrātu daudzums ūdenī veicina eitrofikāciju un aļģu ziedēšanu, kas samazina skābekļa saturu ūdenī, tādējādi izraisot zivju nāvi. Dzeramā ūdens piesārņojums ar nitrātiem rada lielas bažas, jo tas var izraisīt methemoglobinēmiju, īpaši bērniem. Tāpat arī nitrātu metabolīts, nitrozamīns, ir kancerogēns [8]. Gumiņbaktēriju un pākšaugu mutualitātē simbiozes partneri ieguvumi ir skaidri: augs saņem slāpekli no gumiņbaktērijām, kas atrodas mezgliņos, un baktērijas saņem oglekļa savienojumus no auga [9].

1.3. Elementanalīzes metodes

LAAS. Atomabsorbcijas spektrofotometrs galvenokārt sastāv no gaismas avota, kas izstaro elementa līnijas spektru, no atomizatora parauga iztvaikošanai un metāla sāļu sadalīšanai atomos. Par gaismas avotu parasti izmanto dobā katoda lampu vai elektronizlādes lampu bez elektrodiem, kas sastāv no mērāmā elementa. Tiek mērīts enerģijas daudzums un tas ir proporcionāls atomu skaitam gaismas ceļā. Paraugu vispirms žāvē, pēc tam pārogļo, lai sadedzinātu organiskās vielas un iztvaicētu savienojumus. Visbeidzot, to karsē, lai atomizētu elementu. Liesmas atomabsorbciometrijā (LAAS) paraugu iztvaicē un atomizē ar augstas temperatūras liesmu, par atomizatoru izmanto gaisa-acetilēna vai gaisa-slāpekļa oksīda liesmu. Atomtvaika atomi absorbē noteikta viļņa garuma gaismu no dobās katoda lampas, kas iet caur liesmu. Tiek mērīts enerģijas daudzums un tas ir proporcionāls atomu skaitam gaismas ceļā. Pamata stāvoklī atomi absorbē monohromatisko starojumu no avota. Vienā mērīšanas reizē var noteikt vienu elementu [10].

Metodes princips. Atomu absorbcija: paraugu iztvaicē un atomizē ar augstas temperatūras liesmu. Analīzes elementa atomi absorbē noteikta viļņa garuma gaismu no dobās katoda lampas, kas iet caur liesmu. Sastāvdaļas: lampa, liesma, monohromators un detektors. Ūdens un bezūdens paraugi pirms to analīzes jāsgrauj ar skābi, izmantojot atomu absorbciju vai atomu emisijas spektrofotometriju. Paraugā esošie metāli un to sāļi tiek pārveidoti to nitrātos, pateicoties tam, ka visu metālu nitrāti šķīst ūdenī. Tāpēc koncentrēto slāpekļskābi pati par sevi vai savienojumā ar sālsskābi, sērskābi, perhlorskābi vai fluorūdeņražskābi paraugu šķelšanā izmanto kopējo metālu noteikšanai. Tomēr slāpekļskābe vien ir piemērota vairuma metālu izšķīdināšanai [11].



1.3.att. LAAS vispārīga darbības shēma [12]

HGAAS – hidrīda ģenerēšanas atomu absorbcijas spektrometrija. Hidrīdu ģenerēšanas (HG) metode, kuras pamatā ir reducēšana ar nātrija tetrahidroborātu (III) ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$), ir bijusi visplašāk izmantotā metode gaistošo hidrīdu veidojošo elementu, piemēram, As, Sb, Bi, Se, Te, Ge, Sn un Pb, noteikšanai, ja tos kombinē ar atomu vai masspektrometrijas metodēm. Šādi traucējumi rada nopietnas grūtības, piemērojot hidrīda metodes reāliem paraugiem, un tāpēc izpratne par to, kā notiek traucējumi, ir ārkārtīgi svarīga. Pirmo sistemātisko pētījumu par šiem traucējumiem 1975. gadā veica Šmits, kas pētīja 48 minerālelementu atšķirības, nosakot As, Sb, Bi, Se, Te un Ge, izmantojot hidrīdu ģenerēšanas metodi kopā ar atomu absorbcijas spektrometriju (HGAAS), un ziņoja par smagiem vai vidēji smagiem traucējumiem no daudziem elementiem [13].

Hidrīdu ģenerēšanas atomabsorbcijas spektrometrija (HGAAS) ir viena no plašāk izmantotajām metodēm, lai noteiktu hidrīdu veidojošos elementus, jo īpaši pie ļoti mazām mikroelementu koncentrācijām, jo tai ir augsta jutība, tolerance pret neorganiskiem un organiskiem traucējumiem, salīdzinoši zemas izmaksas un augsta parauga caurlaidspēja [14].

Daudzas HGAAS sistēmas galvenās daļas ir identiskas AAS: dobā katoda lampa, gaisa/acetilēna liesma un optiskā sistēma, bet ietver (vairumā sistēmu) optisko šūnu un samērā

sarežģītu hidrīdu ražošanas sistēmu. Atomabsorbcijas spektrometrijā nepieciešamais smidzinātājs netiek izmantots hidrīda ģenerēšanas atomu absorbcijas spektrometrijā [15].

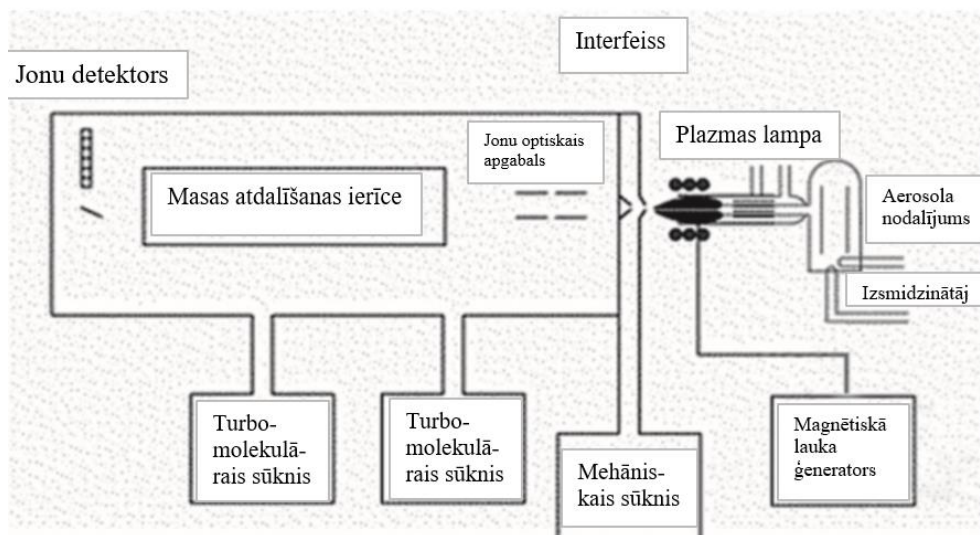
Elektrotermālā atomabsorbciometrija (ETAAS) Atomspektrometrijas metodes bieži izmanto ļoti zemu elementu koncentrāciju noteikšanai bioloģiskajos paraugos. Lielākajai daļai attiecīgo matricu inductīvi saistītās plazmas atomu emisijas spektrometrija (ICP-AES) vai inductīvi saistīta plazmas masspektrometrija (ICP-MS) un elektrotermiskā atomabsorbcijas spektrometrija (ETAAS) ir metodes, kas ļauj precīzi noteikt elementu daudzumus. Izmantojot ETAAS, ir iespējams noteikt mikroelementus ļoti zemā koncentrācijā parauga alikvotās daļās 20–100 μL . Ir zināmi vairāki faktori, kas ietekmē mikroelementu noteikšanu ar ETAAS. [16]

No tiem ir pierādīts, ka elektrotermālā atomabsorbciometrija (ETAAS) ir vispiemērotākā metode cietu paraugu tiešai analīzei, galvenokārt tāpēc, ka nav smidzinātāju sistēmas, kas vienkāršo cietā materiāla ievadīšanu atomizētājos. Turklāt, ņemot vērā parauga ilgo atrašanās laiku ETAAS atomizatorā, daļiņas var izsmidzināt neatkarīgi no tā lieluma vai gaistamības. Turklāt tas uzrāda diezgan zemas noteikšanas robežas, kas ir ļoti vēlamas mikroelementu analīzē. Ņemot vērā visas šīs īpašības, elektrotermālā atomabsorbciometrija mūsdienās ir ļoti ērts veids mikroelementu noteikšanai plašā cieto materiālu klāstā [17]. Atomabsorbciometra grafiņa krāsns uzbūve vienkāršotā formā parādīta 1.4.attēlā.



1.4.att. Elektrotermālā atomabsorbciometra shēma [18]

ICP-MS – inductīvi saistītās plazmas masspektrometrija. Inductīvi saistītās plazmas masspektrometrija (ICP-MS) ir neapšaubāmi visstraujāk augošā analītiskā metode mikroelementu noteikšanai dažāda veida paraugos, kas ir pieejama jau šodien, kopš 1983.gada. 80 % no ICP-MS analīzēm, kas tiek veiktas šodien, ietver ģeoloģijas, pusvadītāju, biomedicīnas un kodolieroču pētījumu laukus. Neapšaubāmi, galvenā ICP-MS priekšrocība, salīdzinot to ar citām metodēm, kā liesmas atomabsorbcija (LAAS), elektrotermālā atomabsorbciometrija (ETAAS) vai inductīvi saistītās plazmas optiskās emisijas spektrometrija (ICP-OES), ir spēja veikt ātru elementu noteikšanu analīzes laikā ļoti mazās koncentrācijās ar labu izotopu izšķiršanas iespējām.



1.5.att. ICP masas spektrometra instrumentālie komponenti [19].

1.5.attēlā redzamas aptuvenas noteikšanas robežas visiem elementiem, ko var noteikt ar ICP-MS.

Šķidrā veidā paraugs tiek iesūknēts ar ātrumu 1 mL/min un pārvērsts aerosola veidā pie ātruma 1 L/min. Tālāk, izmantojot izsmidzināšanas kameru no lieliem aerosola pilieniem, atdala smalkos aerosola pilienus, kas veido tikai 1-2% no parauga. Smalkais aerosols pēc tam izdalās no izsmidzināšanas kameras un caur inžektoru nonāk plazmā. Gāze tiek jonizēta un tai pievada elektronus ar augstsprieguma dzirksteli, un veidojas ļoti augstas temperatūras plazma (~9700 °C). ICP-MS plazmu, kas novietota horizontāli, izmanto, lai ģenerētu pozitīvi lādētus jonus, nevis fotonus, jo tie var palielināt signāla troksni. Kad joni ir izveidoti plazmā, tie tiek ievadīti masspektrometrā caur interfeisu, kas sastāv no diviem metāliskiem konusu. Jonu plūsmas kūlis tiek ievadīts masas atdalīšanas ierīcē caur vairākām elektrostatiskām lēcām, ko sauc par jonu optisko apgabalu. Ar turbomolekulāro sūkni tiek regulēts nodalījuma vakuums un uzturēts apmēram 10^{-3} torr. Pēdējais process ir ar jonu detektoru jonu pārvēršana elektriskajā signālā [19,20].

1.4. Paraugu sagatavošana

Paraugu sagatavošanas metodes. Paraugu mineralizēšanai ir galvenā loma gandrīz visos analītiskajos procesos, bet tā nav atzīta par svarīgu posmu analītiskajā ķīmijā, un galvenā uzmanība tiek pievērsta noteikšanas posmam. Šī prioritātes izjūta ir pārāk skaidri atspoguļota daudzu analītisko laboratoriju aprīkojumā un investīciju plānošanā. Tomēr atzinīgi vērtējama tendence pēdējos gados ir vērsta uz to, lai pilnīgāk atzītu paraugu sadalīšanas patieso nozīmi augstas kvalitātes analīžu rezultātu un pamatotu secinājumu meklējumos [21].

Slapjā mineralizācija. Slapjās mineralizācijas metodes elementanalīzei ietver parauga matricas ķīmisko noārdīšanu šķīdumā, parasti skābju šķīdumā, lai palielinātu elementu šķīdību. Parauga mineralizāciju ar dažādām skābēm veic augstā temperatūrā speciāli konstruētā tvertnē, kas palīdz samazināt apkārtējās vides piesārņojuma efektu [22].

Slapjā mineralizācija ar oksidējošām skābēm ir visbiežāk piemērotā parauga sagatavošanas procedūra. Daudzas paraugu sagatavošanas metodes, kas pašlaik tiek izmantotas, faktiski jau tika atklātas 19. gadsimtā [21].

Cietie paraugi parasti satur dažādus adsorbentus un/vai absorbētu ūdeni. Neorganisko materiālu gadījumā: žāvēšanu veic žāvēšanas skapī 105–110 °C temperatūrā dažas stundas, ja paraugā ir gaistošas sastāvdaļas, žāvēšanu veic zemākā temperatūrā. Bieži vien paraugs nešķīst ūdenī un ir jāapstrādā ar skābēm vai skābju maisījumiem, lai veicinātu šķīšanu. Slapjo mineralizāciju var iedalīt divās grupās:

1. Slapjā mineralizācija izmantojot vienu skābi, kur galvenais nosacījums ir, ka izvēlētajam reaģentam vajadzētu izraisīt parauga pilnīgu izšķīšanu. Vispārīgā pieeja ir lietderīgi klasificēt biežāk izmantotās skābes pēc tā, vai tās oksidē paraugu vai nē. Neoksidējošās ir atšķaidītas - sālsskābe, fluorūdeņražskābe, sērskābe un perhlorskābe, bet oksidējošās skābes ir karstas, koncentrētas – sērskābe, slāpekļskābe un perhlorskābes.
2. Slapjā mineralizācija ar skābes maisījumu, kur ir priekšroka attiecībā uz dažām neorganiskām matricām un parasti ir labākas organisko savienojumu sadalei. Slapjajā mineralizācijā izmantotās skābes maisījumus var iedalīt 4 grupās:
 - I. Pilnīga sadalīšanās, parasti ar fluorūdeņražskābi un vēl vienu minerālskābi;
 - II. Spēcīga mineralizācija rutīnas analīzēm, bet nešķīdinot visus minerāļus (pamatā silikātus). Veic ar dažādam oksidējošām skābēm;
 - III. Mērena mineralizācija, izmantojot vājākus skābes maisījumus;
 - IV. Daļēja mineralizācija (skābes izskalošana) [22].

Sausā mineralizācija. Ja paraugā ir daudz organisku vielu, kad tiek analizēti negaistoši metāliskie elementi, sausā mineralizācija ir samērā vienkārša metode, lai atdalītu organiskās vielas, ko var izmantot relatīvi lieliem paraugu daudzumiem un kam nepieciešams veltīt salīdzinoši nelielu analītiķa darba laiku. Izmantojot atvērto trauku metodi, paraugu ievieto piemērotā tīģelī un sadedzina mufelkrāsnī. Tīģeļus, ko izmanto pārpelnošanai, parasti izgatavo no silīcija, porcelāna, platīna vai Pyrex stikla.

Metodes galvenie trūkumi ir dažu elementu iespējamie zudumi iztvaikošanas rezultātā, parauga piesārņošana ar gaisa putekļiem, tā kā reakcija tiek veikta apkārtējās atmosfēras ietekmē (nenoslēgti trauki), un neatgriezeniska analizējamās vielas sorbcija uz trauku sienām.

Analizējamās vielas iztvaikošanas zudumus var samazināt līdz minimumam, ierobežojot temperatūru, kādā tiek veikta pārpelnošana.

Galvenais sausās mineralizācijas mērķis ir nosvērtā parauga ievietošana platīna vai silīcija stikla tīģelī un karsēšana mufelkrāsnī līdz baltiem pelniem. Ja tiek noteikts kāds no gaistošākajiem metāliem, tad temperatūra jāuztur no 400 līdz 450 °C. Vajadzības gadījumā var pievienot sāļus vai sērskābi un, ja nepieciešams, pēdējo pārpelnošanas posmu var veikt ar fluorūdeņražskābi. Tad atlikumu izšķīdina skābē (parasti slāpekļskābē vai sālsskābē) ar koncentrāciju, kas būtu no 1 līdz 5% [23].

Mineralizācija ar mikroviļņu enerģiju. Ar mikroviļņu mineralizāciju ķīmiskajā analīzē saprot organisko vielu un materiālu sadalīšanos ar mērķi izdalīt noteiktus elementus noturīgu neorganisku savienojumu veidā, kas tālāk tiek izmantoti turpmākai analīzei.

Mineralizācijas procesu veic secīgā posmā: paraugu un oksidējošo reaģentu ievieto speciālajā tvertnē no ķīmiski inerta materiāla (stikla, kvarca, fluoroplasta), pēc nepieciešamības, hermētiski noslēdz, paraugu pārvieto uz mikroviļņu sistēmu un reakcijas maisījumu uzsilda.

Priekšrocības mikroviļņu mineralizācijas izmantošanai:

- reproducēšanas uzlabošana;
- zuduma ierobežošana;
- reaģentu plūsmas samazināšana (un parauga papildu piesārņojuma samazināšana);
- atvieglota procesa pārvaldīšana un automatizācija [24].

1.5. Datu analīzes metode ANOVA

Dispersijas analīze (ANOVA) ir viena no biežāk lietotajām metodēm bioloģijas un vides zinātnēs. ANOVA izmanto, lai salīdzinātu ar nepārtrauktu atkarīgu mainīgo y viena vai vairāku kategorisku paredzības (neatkarīgu mainīgo) x līmeņos. Dispersijas analīze varētu būt līdzīga kā t -test, gadījumos, kad ir divas grupas. Neatkarīgie mainīgie lielumi tiek saukti par koeficientu vai režīmu, un dažādās šīs apstrādes kategorijas tiek sauktas par līmeņiem [25].

Nemot vērā, ka ANOVA ir lineārs modelis, tāpat kā lineārā regresija, izņemot to, ka prognozētāja mainīgie ir kategoriski, nevis nepārtraukti.

Vienfaktora ANOVA modelis ir

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \varepsilon_{ij}$$

kur:

Y_{ij} – grupas j -tais novērojums i -tajā grupā;

μ – vispārējā vidējā vērtība;

α_i – i -tās grupas fiksētais efekts;

ε_{ij} – j -tās grupas i -tā elementa atlikums ar vidējo vērtību 0 un dispersiju σ^2 .

ANOVA sadala kopējo novirzi komponentā, ko var izskaidrot ar paredzamo mainīgo (starp apstrādes līmeņiem), un komponentu, ko nevar izskaidrot (līmeņos, atlikušajā dispersijā). Testa statistika F ir šo divu variāciju avotu attiecība.

$$F = \frac{MS_{TRT}}{MS_{RES}}$$

MS_{TRT} – grupas vidējās vērtības kvadrāts;

MS_{RES} – atlikumu vidējās vērtības kvadrāts.

Analīzes veikšana Kvadrātu summas un vidējie kvadrāti ir variāciju mērvienības. F statistika ir MS_{TRT} un MS_{RES} attiecība, un p vērtība ir novērotās F vērtības varbūtība no F sadalījuma (ar dotajām brīvības pakāpēm). Galvenais, kas jāapskata ANOVA tabulā, ir tas, vai paredzētajam mainīgajam ir bijusi būtiska ietekme uz atbildes mainīgo.

ANOVA svarīgie pieņēmumi ir neatkarība, atšķirīguma un normalizēšanās[26].

2. EKSPERIMENTĀLĀ DAĻA

2.1. Izmantotā aparatūra un reaģenti

Izmantotās vielas:

- Makro un mikroelementu standartšķīdums izvēlēto elementu kalibrēšanai (Al, As, Ba, Be, Bi, B, Ca, Cd, Ce, Co, Cr, Cs, Cu, Dy, Er, Eu, Ga, Gd, Ho, In, Fe, La, Pb, Li, Lu, Mg, Mn, Nd, Ni, P, K, Pr, Re, Rb, Sm, Sc, Se, Na, Sr, Tb, Tl, Th, Tm, U, V, Yb, Y, Zn), $\gamma_{\text{NO}_3} = 10 \text{ mg/mL}$;
- Augstas tīrības ūdens (no sistēmas Crystal10, Adrona);
- Koncentrētā slāpekļskābe (67 – 69 %), Fisher Chemical;
- Koncentrēts ūdeņraža peroksīds (30 %), Merck;

Informācija par izmantotajiem reaģentiem ir apkopota 1.pielikumā.

Iekārtas:

- Induktīvi saistītās plazmas masspektrometrs: ICP-MS Agilent 8900;
- Datu apstrādes programmatūra: MassHunter.

Darba režīms:

ICP-MS darba režīma parametri apkopoti 2.1.tabulā.

2.1.tabula

ICP-MS darba režīma parametri

Plazmas režīms	Low Matrix
RF jauda, W	1550
Parauga ņemšanas dziļums, mm	8,0
Nesējgāzes plūsma, L/min	1,08
Plazmas gāzes plūsma, L/min	15,0
He gāzes plūsma, L/min	5,0
Izsmidzināšanas kameras temperatūra, °C	2
Paraugu ņemšanas laiks, sek	0,31
Integrācijas laiks, sek	0,1

Laboratorijas piederumi:

- Plastmasas mētrauki 50 mL;
- 5 mL automātiskā pipete (500 – 5000 μL), Eppendorf;
- Analītiskie svāri Mettler toledo ME204 XB, max 220 g, d = 0,0001g;

- Mikroviļņu krāsns Milestone Start E;
- ICP-MS Agilent 8900.

2.2. Pupu un sojas paraugu ievākšana

Pupu un sojas paraugu ievākšana veikta 2017.gadā jūnijā. Kopā tika ievākti 20 paraugi – 8 sojas paraugi un 12 pupu paraugi. Sojas sēklas tika ievāktas ražas periodā, savukārt visi pārējie analizējamie paraugi ievākti ziedēšanas laikā. Tika izvēlētas 3 Latvijas teritorijas:

- Poķi, Platones pagasts;
- Strazdi, Novadnieku pagasts;
- Liepājas rajons.



2.1.att. Latvijas karte ar paraugu ievākšanas vietām: a – Liepājas rajons, b – Strazdi, c – Poķi

Poķos (skatīt 2.2.tabulu un 2.1.attēlu) tika ievākti kopā 8 paraugi, no kuriem 4 ir augsnes paraugi un 4 pupu paraugi, kuri bija audzēti laukos un ievākti ziedēšanas periodā.

Požu teritorijā ievāktu lapu/stublāju un pupu paraugu raksturojums

Nr.		Audzēšanas veids	Attīstības fāze	Apstrādes varianti
1	Pupas	Lauks	Ziedēšana	Kontrole (K)
2		Lauks	Ziedēšana	<i>Rhizobium leguminosarum</i> (Rh)
3		Lauks	Ziedēšana	Mikorizas preparāts (M)
4		Lauks	Ziedēšana	Rh+Mikoriza
5	Augsne	Lauks	Ziedēšana	Kontrole (K)
6		Lauks	Ziedēšana	<i>Rhizobium leguminosarum</i> (Rh)
7		Lauks	Ziedēšana	Mikorizas preparāts (M)
8		Lauks	Ziedēšana	Rh+Mikoriza

Strazdos (skatīt 2.3.tabulu un 2.1.attēlu) tika ievākti kopā 4 pupu augu paraugi, tas ir lapas un stublāji. Kuri bija audzēti veģetācijas laikā un ievākti ziedēšanas periodā.

Strazdi teritorijā ievāktu lapas/stublāju un pupas paraugu raksturojums

Nr.		Audzēšanas veids	Attīstības fāze	Apstrādes varianti
9	Lapas/stublāji	veģetācijas trauki	ziedēšana	Kontrole (K)
10	Lapas/stublāji	veģetācijas trauki	ziedēšana	Rh+Mikoriza
11	Lapas/stublāji	veģetācijas trauki	ziedēšana	<i>Rhizobium leguminosarum</i> (Rh)
12	Lapas/stublāji	veģetācijas trauki	ziedēšana	Mikorizas preparāts

Liepājas rajonā (skatīt 2.4.tabulu un 2.1.attēlu) tika ievākti kopā 8 sojas paraugi – 2 augsnes paraugi, 2 stublāju paraugi, 2 lapu paraugi un 2 sēklu paraugi. Augsnes, stublāju un lapas paraugi bija audzēti laukos un ievākti ziedēšanas periodā, savukārt, sēklas tika audzētas laukos, bet ievāktas ražas periodā.

Liepājas rajona teritorijā ievākto lapas/stublāju un pupas paraugu raksturojums

Nr.		Audzēšanas veids	Attīstības fāze	Apstrāde
13	augsne	lauks	ziedēšana	Kontrole (K)
14	stublāji	lauks	ziedēšana	
15	lapas	lauks	ziedēšana	
16	sēklas	lauks	raža	
17	augsne	lauks	ziedēšana	<i>Bradirhizobium japonicum</i> (BASF)
18	stublāji	lauks	ziedēšana	
19	lapas	lauks	ziedēšana	
20	sēklas	lauks	raža	

2.3. Sojas un pupu paraugu sagatavošana analīžu veikšanai

Makro un mikroelementu noteikšanai sojas un pupu paraugos tika sagatavoti 20 paraugi (sojas augsne, kāti, lapas un sēklas, augsne, kāti un lapas, un pupas).

Paraugu analīzei izmantoja mikroviļņu mineralizāciju, izmantojot mikroviļņu krāsni.

Mikroviļņu krāsns traukos uz analītiskiem svāriem tika nosvērti analizējami paraugi ar iesvaru ~0,2 g. Tālāk paraugam tika pievienoti 6 mL konc. HNO₃ un 2 mL H₂O₂.



2.2.att. Mineralizācijas procesa temperatūras režīms

2.4. Sojas un pupas paraugu analīze ar ICP-MS

Kalibrēšanas grafiks:

Lai konstruētu kalibrēšanas grafiku, tika izmantots standartšķīdums, kas satur analizējamās makro- un mikroelementu elementus ar koncentrāciju no 0,1 - 1000 µg/L.

Nepieciešamais standartšķīduma tilpums šķīdumu pagatavošanai tika aprēķināts pēc formulas 2.1. un iegūtie rezultāti tika apkopoti 2.5.tabulā.

$$V_{stand.šķ.} = \frac{V_1 \cdot \gamma_1}{\gamma_{stand.šķ.}} \quad (2.1.)$$

$V_{stand.šķīd.}$ – nepieciešamais standartšķīduma tilpums μL ;

$\gamma_{stand.šķīd.}$ – standartšķīduma izejas masas koncentrācija $\mu\text{g/L}$;

V_1 – kolbas tilpums, mL;

γ_1 – izejas šķīduma koncentrācija, $\mu\text{g/L}$.

Aprēķina piemērs:

$$V_{stand.šķ.} = \frac{V_1 \cdot \gamma_1}{\gamma_{stand.šķ.}} = \frac{0,05\text{L} \cdot 1000\mu\text{g/L}}{1000\mu\text{g/L}} = 0,005\text{L} = 5\text{mL}$$

Kalibrēšanas šķīdumu pagatavošanas shēma apkopota 2.5. tabulā.

2.5.tabula

Kalibrēšanas šķīdumu pagatavošanas

Izejas šķīduma koncentrācija, $\mu\text{g/L}$	Standartšķīduma nepieciešama koncentrācija, $\mu\text{g/L}$	Nepieciešamais standartšķīduma tilpums, mL	Kolbas tilpums, mL
10000	1000	5	50
10000	100	0,5	
10000	50	0,25	
100	5	2,5	
100	0,5	0,25	
100	0,1	0,05	

No 10 $\mu\text{g/L}$ koncentrācijas šķīduma tika pagatavoti makro un mikroelementu šķīdumi. Tukšo paraugu pagatavoja no dejonizēta ūdens (Adrona B30).

Paraugu analizēšanai tika pagatavoti kalibrēšanas šķīdumi. Kalibrēšanas rezultāti ir apkopoti grafiskā veidā 2.pielikumā.

Izmantojot automātisko pipeti, katram šķīdumam, pirms atšķaidīšanas līdz atzīmei, pievienoja 0,2 mL koncentrētas slāpekļskābes.

3. REZULTĀTI UN TO IZVĒRTĒJUMS

3.1. Makro- un mikroelementu daudzums pupu paraugos

Makro un mikroelementi analizētajos pupu paraugos tika noteikti ar Induktīvi saistītās plazmas masspektrometrijas metodi. Ir noteiktas 5 makroelementu (Na, Mg, P, K, Ca) un 5 mikroelementu (Fe, Mn, Cu, Zn, Al) koncentrācijas, $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. Pupu paraugu daļas (lapas, sēklas un augsne) bija inokulētas gan ar mikorizas sēnēm (M), gan ar gumiņbaktēriju celmu (Rh).

Iegūtie rezultāti par makro un mikroelementa daudzumu pupu paraugos ir apkopoti 3.pielikumā.

Ar ICP-MS ir iespējams noteikt makro un mikroelementu koncentrāciju ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) analizējamā paraugā. Lai noteiktu elementa koncentrāciju pret masas vienību, jāņem vērā šķīduma tilpums un parauga sākotnējās masa. Masas koncentrāciju ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) ir iespējams aprēķināt izmantojot formulu:

$$\gamma_{par.} = \gamma_1 \cdot \frac{V_{s.p.}}{m_{par.}} \quad (1)$$

γ_1 – noteiktā elementa koncentrācija, $\mu\text{g}/\text{L}$;

$V_{s.p.}$ – sagatavotā parauga tilpums, L;

$m_{par.}$ – parauga masa, g.

Nātrija koncentrācijas aprēķināšanas piemērs pupu lapās:

$$\gamma_{par.} = \gamma_1 \cdot \frac{V_{s.p.}}{m_{par.}} = 6927 \cdot \frac{0,025}{0,2040} = 848,9 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$$

Iegūtie rezultāti par makro un mikroelementa masas koncentrāciju pupas paraugos ir apkopoti 3.1., 3.2. un 3.3 tabulās (F_{krit} visos gadījumos bija 6,59).

3.1.tabula

Noteiktā makro- un mikroelementu koncentrācija pupu lapas paraugos

γ , $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	K	Rh	M	RM	F	p
Na	848,9±1,1	1179,2±1,3	1438,8±1,4	1460,0±1,1	21,1	0,006
Mg	1449,6±1,3	1597,9±0,3	1581,7±0,9	1464,5±1,1	1,0	0,47
P	1288,9±0,7	1353,2±0,7	1786,3±0,8	1508,8±0,2	8,8	0,03
K	11685,0±1,1	13613,0±0,6	13359,0±1,1	11018±2	4,2	0,10
Ca	4641,8±2	5197,8±1,2	4724,1±0,9	4503±2	1,6	0,32
Mn	17,8±1,2	18±2	16,7±0,4	16,9±1,3	3,0	0,16
Fe	54,7±1,2	58±2	48,2±1,4	48,9±1,3	6,2	0,06
Cu	1,3±0,6	0,9±0,2	1,6±1,2	1,3±0,5	0,8	0,54
Zn	14,3±0,4	15,4±0,6	17,0±0,6	16,9±0,6	6,2	0,06
Al	39,5±1,3	37,3±0,6	31±3	30±3	20,9	0,007

K – kontrole; Rh – Rhizobium leguminosarum; M – Mikorizas preparāts; RM – Rhizobium leguminosarum + Mikoriza

Noteiktā makro- un mikroelementu koncentrācija pupu sēklas paraugos

γ , mg·kg ⁻¹	K	Rh	M	RM	F	p
Na	211,9±0,7	242,5±1,3	197,8±0,4	211,9±0,8	3,3	0,14
Mg	770,9±0,5	784,4±0,3	777,9±1,1	756,2±1,3	0,10	0,96
P	2665±2	2468±2	2358±2	2267,3±0,8	2,0	0,26
K	7868,7±0,8	7353±2	7859,3±0,1	7633,2±1,4	0,4	0,76
Ca	410,4±0,7	414,7±1,1	462,6±0,8	404,7±1,0	1,7	0,31
Mn	7±2	5,9±1,5	6,5±0,3	5,9±0,8	1,6	0,31
Fe	26,9±1,2	26,0±1,0	27,2±0,8	29,6±0,8	2,9	0,17
Cu	1,2±0,8	0,9±0,8	1,3±0,8	0,9±0,8	0,4	0,79
Zn	20±2	18,2±0,7	22,4±1,1	21±2	19,4	0,008
Al	<0,013	<0,013	<0,013	<0,013	-	-

K – kontrole; Rh – Rhizobium leguminosarum; M – Mikorizas preparāts; RM – Rhizobium leguminosarum + Mikoriza

Noteiktā makro- un mikroelementu koncentrācija pupu augsnes paraugos

γ , mg·kg ⁻¹	K	Rh	M	RM	F	p
Na	55,7±1,4	45±2	49±2	56,6±1,2	9,5	0,03
Mg	1131,5±0,8	1448,2±1,2	952,9±1,3	1064±2	13,6	0,02
P	314,0±0,5	323±2	293,7±1,1	305±2	0,7	0,59
K	10923,0±1,4	1124,4±1,2	1038,7±0,6	1116,2±1,0	315,5	3·10 ⁻⁵
Ca	2021,9±1,2	2372,4±0,9	1878,3±1,3	2189,6±1,4	4,10	0,10
Mn	51,9±1,3	58,0±1,4	44±2	52,9±0,6	8,7	0,03
Fe	3140,2±0,8	3387,7±0,7	2599,6±0,5	3139,6±1,2	4,7	0,09
Cu	6±2	4,5±1,3	3,4±1,2	3,9±1,3	5,6	0,07
Zn	14,5±0,7	14,6±0,6	11,6±0,2	14±2	12,1	0,02
Al	5188,1±0,6	5157±2	4332,8±1,1	4771±2	2,7	0,18

K – kontrole; Rh – Rhizobium leguminosarum; M – Mikorizas preparāts; RM – Rhizobium leguminosarum + Mikoriza

Minerālelementu saturs ziedēšanās laikā pupu paraugos tiek salīdzināts procentuāli pret kontroles (K) paraugu, kas ir aprēķināts pēc formulas:

$$W\% = \frac{\gamma_{par}}{\gamma_k} \cdot 100\% \quad (2)$$

γ_{par} – apstrādāta parauga elementa koncentrācija, µg/L;

γ_k – kontroles parauga elementa koncentrācija, µg/L;

Nātrija daudzuma aprēķināšanas piemērs lapās inokulācijā ar gumiņbaktērijām:

$$W\% = \frac{\gamma_{par}}{\gamma_k} \cdot 100\% = \frac{1179,2}{848,9} \cdot 100 = 138,9$$

Iegūtie rezultāti par makro un mikroelementa daudzumu pupas paraugos ir apkopoti 3.4. un 3.5. tabulās.

3.4.tabula

Makroelementu saturs pupu paraugos

	Apstrādes varianti	Makroelementi, %				
		Na	Mg	P	K	Ca
Lapas	K	100	100	100	100	100
	R	138,9	110,2	105,0	116,5	112,0
	M	169,5	109,1	138,6	114,3	101,8
	RM	172,0	101,0	117,2	94,3	97,0
Sēklas	K	100	100	100	100	100
	R	114,5	101,8	92,6	93,5	101,1
	M	93,4	100,9	88,5	99,9	112,7
	RM	99,6	98,09	85,1	97,0	98,63
Augsne	K	100	100	100	100	100
	R	81,5	128,0	102,8	102,9	117,3
	M	84,2	84,2	93,5	95,0	92,9
	RM	101,6	94,0	97,3	102,1	108,3

K – kontrole; Rh – Rhizobium leguminosarum; M – Mikorizas preparāts; RM – Rhizobium leguminosarum + Mikoriza

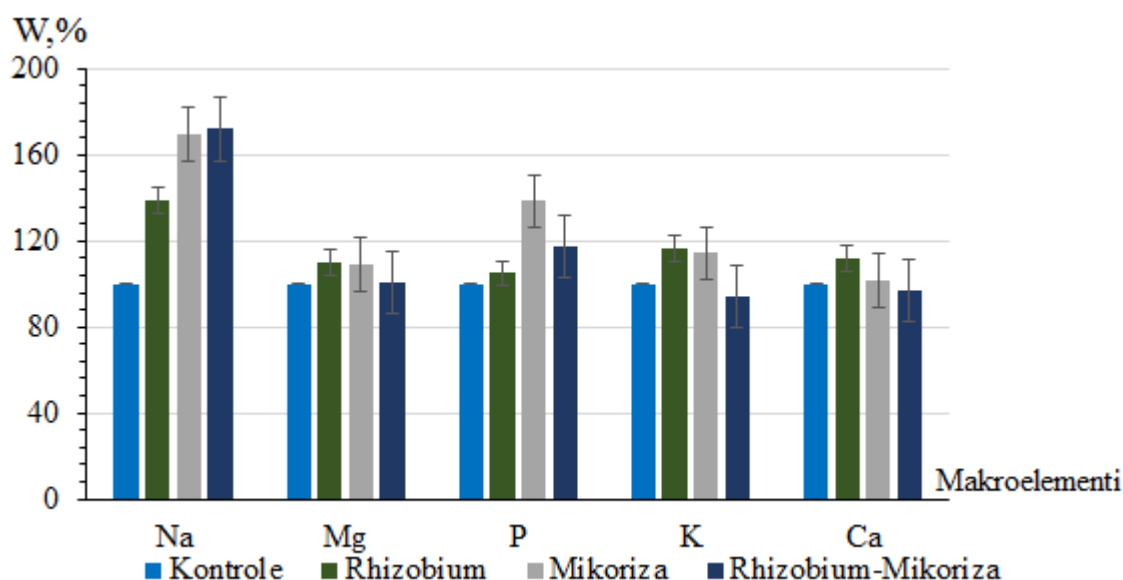
3.5.tabula

Mikroelementu saturs pupu paraugos

	Apstrādes varianti	Mikroelementi, %				
		Mn	Fe	Cu	Zn	Al
Lapas	K	100	100	100	100	100
	R	103,0	106,9	67,6	107,5	94,5
	M	93,4	88,2	120,4	118,9	78,6
	RM	94,6	89,4	102,4	118,3	76,5
Sēklas	K	100	100	100	100	100
	R	105,2	96,7	83,7	93,0	109,3
	M	116,8	101,1	119,0	114,8	313,1
	RM	105,5	109,9	87,5	107,4	93,7
Augsne	K	100	100	100	100	100
	R	111,8	107,9	99,4	68,7	100,8
	M	85,1	82,8	83,5	54,0	80,5
	RM	102,0	99,9	92,0	62,0	97,7

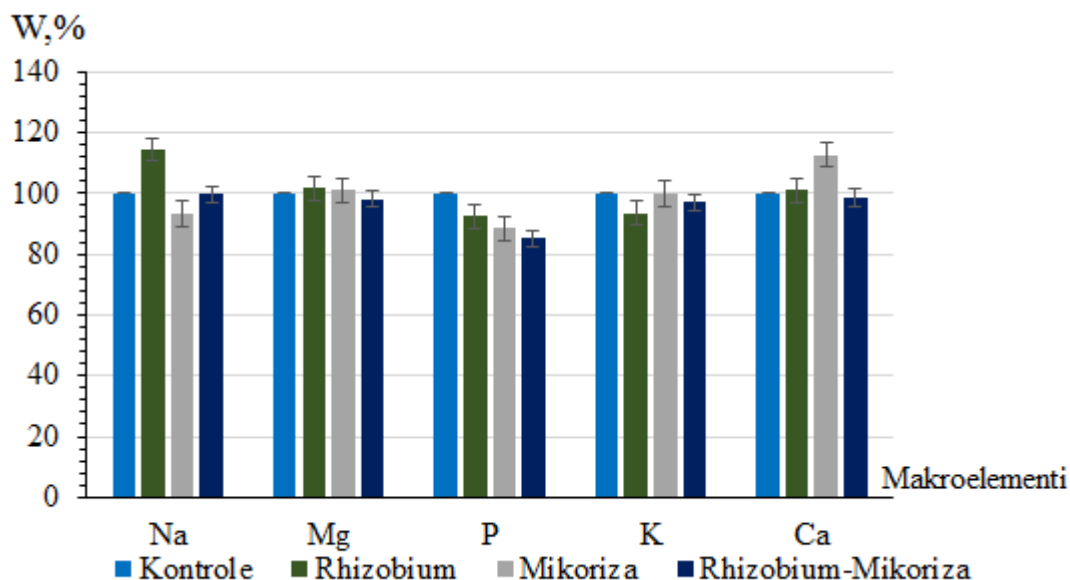
K – kontrole; Rh – Rhizobium leguminosarum; M – Mikorizas preparāts; RM – Rhizobium leguminosarum + Mikoriza

Diagrammu veidā 3.1. – 3.6. attēlos ir parādītā minerālelementu masas daļas (%) pupu paraugos.



3.1.att. Makroelementu saturs lapās (lapās)

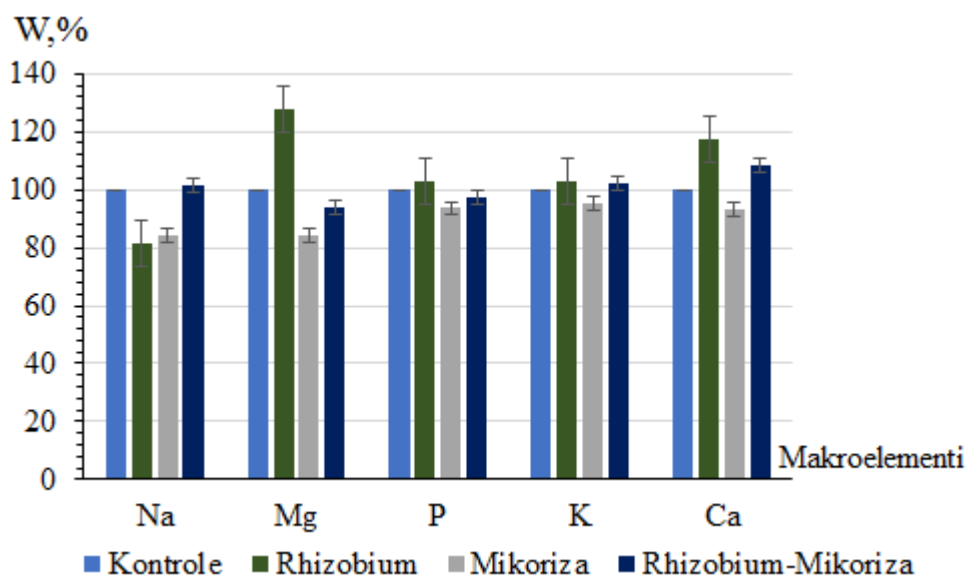
Salīdzinot makroelementu daudzumu lapās, var novērot, ka nātrija daudzums būtiski paaugstinājās, inokulējot augus ar gumiņbaktērijām, savukārt, pēc mikorizas inokulācijas un dubultinokulācijas nātrija daudzums palielinājās vienādi. Kopumā apstrādātajos paraugos nātrija daudzums palielinājās par 40-70%. Magnija un kālija saturs ir paaugstinājies tajos paraugos, kur ir izveidojusies simbiotiskā sistēma – mikoriza vai gumiņbaktērijas. Fosfora saturs mikorizas ietekmē ir būtiski būtiski paaugstinājies un inokulācija būtiski neietekmē kalcija saturu.



3.2.att. Makroelementu saturs pupās (sēklās)

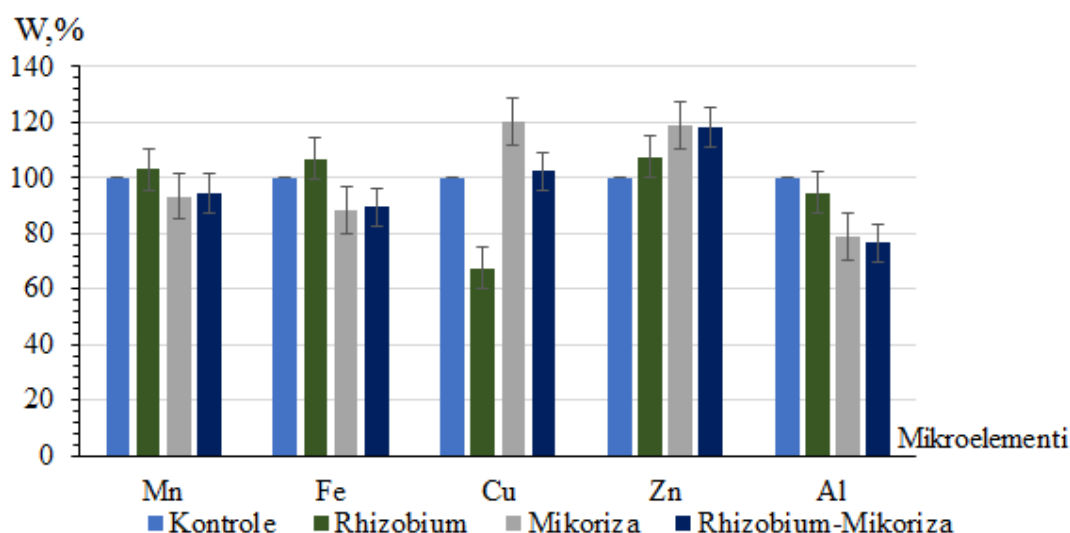
Salīdzinot makroelementa daudzumu sēklās, var novērot, ka lielāks nātrija daudzums novērots augos, kur veikta inokulācija ar gumiņbaktērijām. Kālija un magnija izmaiņas šajos

paraugos ir nebūtiskas. Fosfora saturs augu sēklās, kur pielietota inokulācija ir pazemināts. Lielāks kalcijs saturs novērots sēklās, kur veikta apstrāde ar mikorizu.



3.3.att. Makroelementu saturs pupās (augsnē)

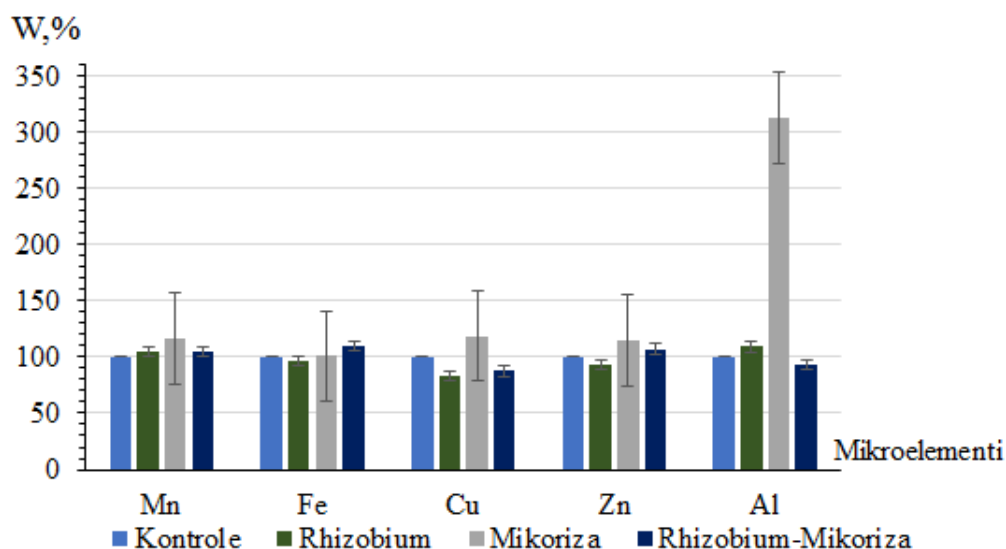
Salīdzinot makroelementu daudzumu augsnē, var novērot, ka nātrijs saturs samazinās par 15-20% augsnē, kur ir viens simbiots – mikoriza vai gumiņbaktērijas, savukārt ar dubultinokulāciju tās saturs būtiski nemainās. Kālija un fosfora saturs mainās līdzīgi inokulācijas gaitā - mikorizas ietekmē nedaudz samazinās, bet gumiņbaktēriju – gandrīz nemainās. Inokulējot ar gumiņbaktērijām magnija daudzums būtiski paaugstinās – par 30%, mikorizas ietekmē samazinās par 18%, un dubultinokulācija uz magnija saturu gandrīz nemaina.



3.4.att. Mikroelementu saturs pupās (lapās)

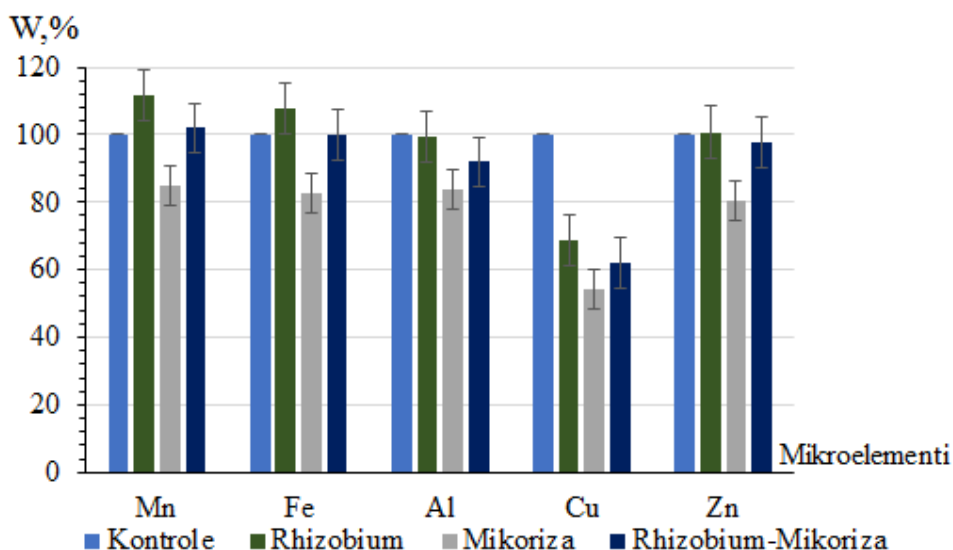
Salīdzinot mikroelementa daudzumu lapās, var novērot, ka inokulācija ar gumiņbaktērijām un mikorizām gandrīz neietekmē mangāna saturu. Dzelzs un alumīnija saturs samazinās mikorizas sēņu ietekmē, savukārt dubultinokulācijas ietekmē, tās samazinās par 10-

23%. Vara saturs inokulācijā ar gumiņbaktērijām būtiski samazinās, par 30%, savukārt, mikorizas ietekmē vara saturs palielinās par 20%. Cinka saturs ir pieaudzis abos gadījumos - gan inokulējot ar gumiņbaktērijām, gan inokulējot ar mikorizu.



3.5.att. Mikroelementu saturs pupās (sēklās)

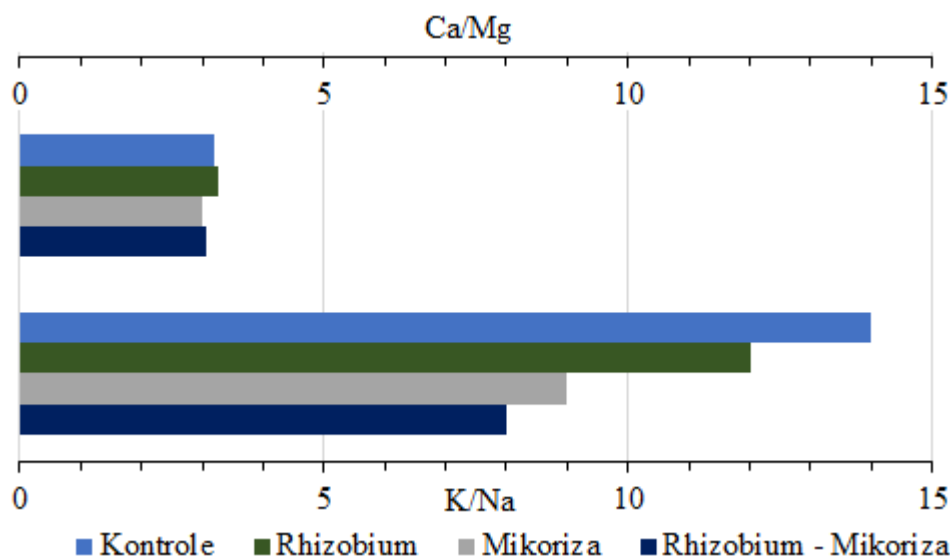
Salīdzinot mikroelementu daudzumu sēklās, var secināt, ka visiem elementiem novēro mikorizas palielinošu ietekmi, it īpaši alumīnijam, kura saturs palielinājās trīs reizes. Inokulācijā ar gumiņbaktērijām mangāna un alumīnija saturs nebūtiski palielinājās, savukārt, dzelzs, vara un cinka saturs samazinās. Dubultinokulācija ievērojami samazināja vara saturu sēklās, līdz 20%, un nebūtiski palielināja dzelzs un cinka saturu.



3.6.att. Mikroelementu saturs pupās (augsnē)

Salīdzinot mikroelementa daudzumu augsnē, var novērot, ka Mangāna un dzelzs saturs inokulācijas gaitā mainījās līdzīgi: inokulācijā ar gumiņbaktērijām saturs nebūtiski palielinās, bet mikorizas variantā – samazinās par 15-20%. Alumīnija un cinka saturs dubultinokulācijā

un inokulācijā ar gumiņbaktērijām praktiski nemainījās, savukārt mikorizas ietekmē cinka un alumīnija saturs samazinās. Savukārt vara saturs samazinās visos gadījumos.



3.7.att. Ca/Mg un K/Na attiecība lapās

Salīdzinot abu pielietoto apstrādes veidu ietekmi uz Ca un Mg attiecību (3.7. attēls), nav novērojamas izmaiņas, savukārt veicot inokulāciju ar gumiņbaktērijām un mikorizu, būtiski samazinās K/Na attiecība augos, kas var būtiski samazināt augu noturību pret augsnes sasāļošanos [26].

3.2. Makro- un mikroelementu daudzums sojas paraugos

Ar ICP-MS iekārtu analizējamās sojas paraugos tika noteiktas 5 makroelementu (Na, Mg, P, K, Ca) un 5 mikroelementu (Mn, Fe, Al, Cu, Zn) koncentrācijas, $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. Sojas sēklas, lapās, kāti un augsne bija inokulēti ar gumiņbaktēriju celmu (Rh).

Iegūtie rezultāti par makro un mikroelementa daudzumu sojas paraugos ir apkopoti 4.pielikumā.

Lai noteiktu minerālelementa koncentrāciju pret masas vienību, jāņem vērā šķīduma tilpums un parauga sākotnējā masa. Masas koncentrāciju ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) minerālelementiem aprēķina pēc (1) formulas.

Nātrija koncentrācijas aprēķināšanas piemērs sēklās:

$$\gamma_{par.} = \gamma_1 \cdot \frac{V_{s.p.}}{m_{par.}} = 45 \cdot \frac{0,025}{0,1701} = 6,6 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$$

Iegūtie rezultāti par makro un mikroelementa masas koncentrāciju sojas paraugos ir apkopoti 3.6.- 3.9. tabulās (F_{krit} visos gadījumos bija 18,5).

Noteiktā makro- un mikroelementu koncentrācija sojas sēklas paraugos

γ , $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	K	Rh	F	p
Na	6,6±0,6	4,6±0,7	262,0	0,0037
Mg	1390,6±1,1	1291,5±0,9	1,12	0,40
P	4739,1±0,9	4121,6±0,4	3,9	0,19
K	11337,9±1,3	10564,1±1,5	1,0	0,42
Ca	655,1±1,2	561,9±1,5	4,9	0,16
Mn	8,0±0,3	8,4±0,6	2,0	0,29
Fe	47,6±1,1	41,6±1,5	7,05	0,12
Cu	7,2±0,2	5,8±0,6	29,4	0,03
Zn	24,9±1,1	23,6±1,4	2,4	0,26
Al	2,3±0,3	4,6±0,5	3241,3	0,00031

K – kontrole; Rh – Rhizobium leguminosarum

Noteiktā makroelementu koncentrācija sojas kātu paraugos

γ , $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	K	Rh	F	p
Na	19,1±1,2	17,2±1,9	27,4	0,035
Mg	3040±2	2694,6±1,4	2,9	0,23
P	962,2±0,8	922,2±0,3	0,4	0,60
K	9914,3±0,9	9291,1±0,7	0,8	0,46
Ca	4965,0±1,4	4325,1±0,9	3,8	0,19
Mn	10,0±0,8	5,0±0,4	1992,0	0,00050
Fe	147,5±0,7	104,0±0,7	26,0	0,036
Cu	0,6±0,2	1,4±0,7	7,4	0,12
Zn	5,8±0,5	6,0±0,8	3,2	0,22
Al	196,8±0,9	136,6±1,4	28,8	0,033

K – kontrole; Rh – Rhizobium leguminosarum

Noteiktā makroelementu koncentrācija sojas lapas paraugos

γ , $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	K	Rh	F	p
Na	15,3±0,8	14,3±0,5	2,8	0,24
Mg	2975,2±1,6	3217,1±1,7	1,2	0,38
P	1454,8±1,3	1472,8±1,8	0,03	0,88
K	7984,9±0,4	8524,6±0,7	0,9	0,45
Ca	6285,3±0,6	7662,5±0,5	7,7	0,12
Mn	24,0±1,1	18,7±0,8	39,6	0,024
Fe	289,6±0,9	303,9±0,4	0,5	0,56
Cu	1,2±0,2	2,5±0,3	756,6	0,0013

γ , mg·kg ⁻¹	K	Rh	F	p
Zn	11,0±1,2	13,2±0,7	104,6	0,0094
Al	403,0±1,6	414±2	0,2	0,73

K – kontrole; Rh – Rhizobium leguminosarum

3.9.tabula

Noteiktā makroelementu koncentrācija sojas augsnes paraugos

γ , mg·kg ⁻¹	K	Rh	F	p
Na	54,4±1,2	56,2±1,4	0,4	0,61
Mg	2092,3±1,3	2141,5±1,1	0,11	0,77
P	191,6±0,4	189,3±0,5	0,03	0,88
K	2043,1±0,8	2170,7±1,2	0,7	0,48
Ca	958,4±0,9	1057,0±1,1	1,9	0,30
Mn	107,5±1,3	164,5±1,6	41,9	0,023
Fe	7203,0±1,1	8923,4±1,8	9,0	0,095
Cu	3,6±0,9	3,5±0,6	0,10	0,79
Zn	18,6±0,9	18,3±0,4	0,11	0,77
Al	10329±3	10473±2	0,04	0,86

K – kontrole; Rh – Rhizobium leguminosarum

Mīnerālelementu saturs ziedēšanās laikā sojas paraugos tiek salīdzināts procentuāli pret kontroles (K) paraugu, kas ir aprēķināts pēc (2) formulas.

Nātrija daudzuma aprēķināšanas piemērs lapās:

$$W_{Na}\% = \frac{\gamma_{par}}{\gamma_k} \cdot 100\% = \frac{8,4}{8,0} \cdot 100 = 105\%$$

Iegūtie rezultāti par makro- un mikroelementu daudzumu pupas paraugos ir apkopoti 3.10. un 3.11. tabulās.

3.10.tabula

Makroelementu saturs sojas paraugos

	Apstrādes varianti	Makroelementi, %				
		Na	Mg	P	K	Ca
Sēklas	K	100	100	100	100	100
	Rh	69,8	92,9	87,0	93,2	85,8
kāti	K	100	100	100	100	100
	Rh	90,1	88,6	95,8	93,7	87,1
lapas	K	100	100	100	100	100
	Rh	93,6	108,1	101,2	106,8	121,9
augšne	K	100	100	100	100	100
	Rh	103,2	102,3	98,8	106,2	110,3

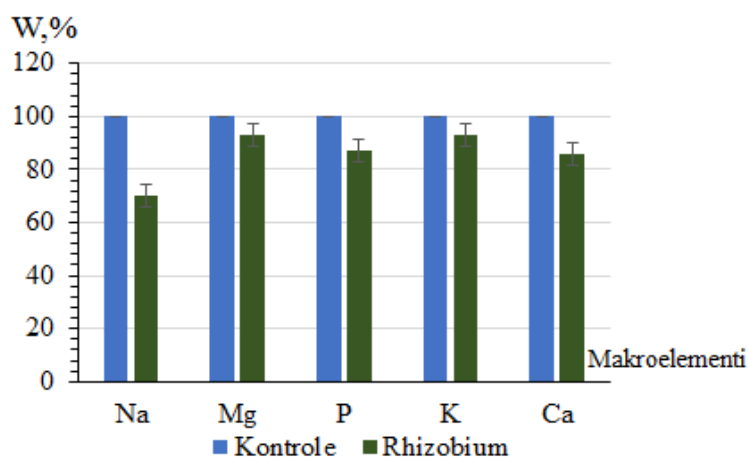
K – kontrole; Rh – Rhizobium leguminosarum

Mikroelementu saturs sojas paraugos

	Apstrādes varianti	Mikroelementi, %				
		Mn	Fe	Cu	Zn	Al
sēklas	K	100	100	100	100	100
	Rh	105,7	87,3	80,6	94,9	202,8
kāti	K	100	100	100	100	100
	Rh	50,3	70,5	217,7	103,2	69,4
lapas	K	100	100	100	100	100
	Rh	77,8	105,0	211,1	119,9	102,7
augšne	K	100	100	100	100	100
	Rh	153,0	123,9	98,6	98,5	101,4

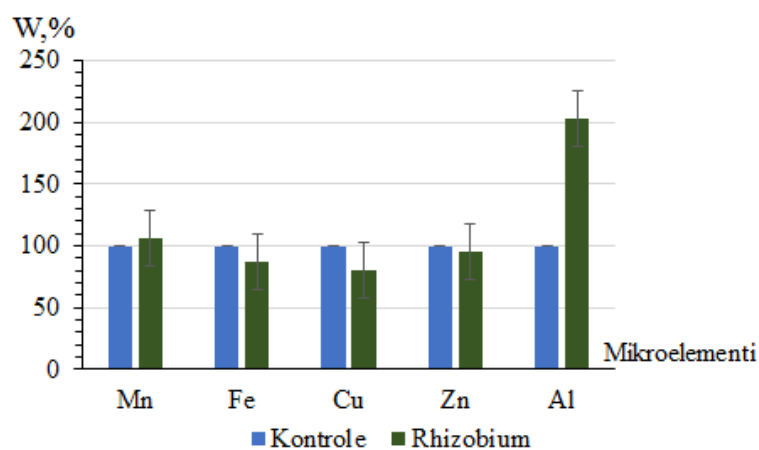
K – kontrole; Rh – Rhizobium leguminosarum

Diagrammu veidā 3.7. – 3.14. attēlos ir parādītā minerālelementu masas daļas (%) sojas paraugos.



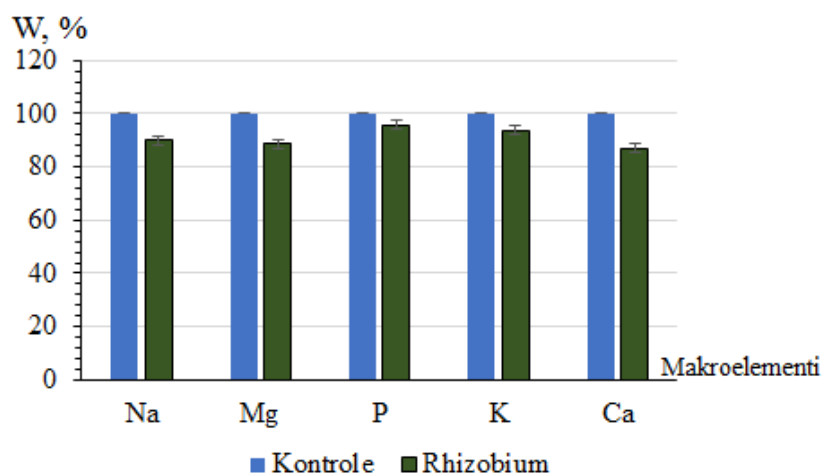
3.7.att. Makroelementu saturs sojā (sēklās)

Salīdzinot makroelementu saturu sojas sēklās var secināt, ka inokulācija ar gumiņbaktērijām būtiski samazināja nātrija saturu. Samazināta koncentrācija, salīdzinot ar kontrolparaugu novērota visiem makroelementiem..



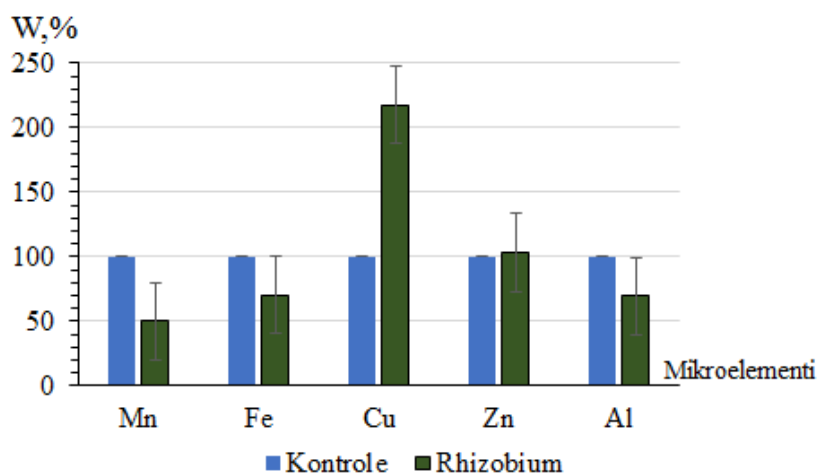
3.8.att. Mikroelementu saturs sojā (sēklās)

Salīdzinot mikroelementu saturu sojas sēklās var secināt, ka dzelzs, vara un cinka saturs veicot inokulāciju ar gumiņbaktērijām nebūtiski samazinās, savukārt mangāna saturs nedaudz palielinās. Alumīnija saturs apstrādātajos paraugos ir apmērām 2 reizes lielāks



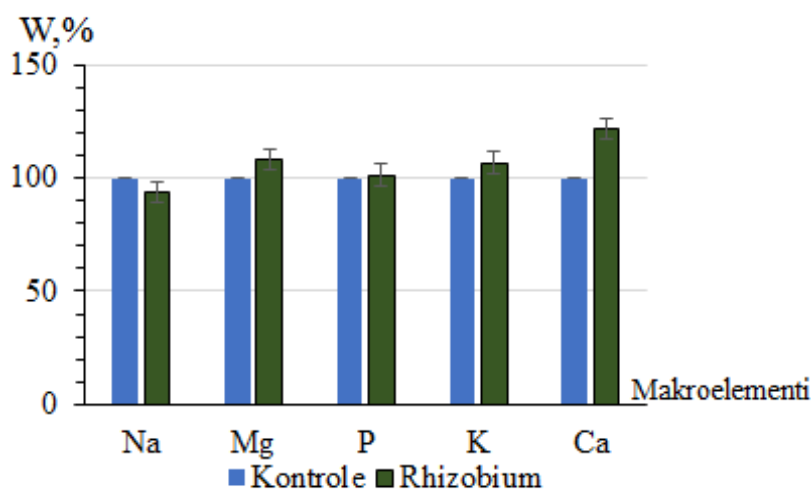
3.9.att. Makroelementu saturs sojā (kātos)

Salīdzinot makroelementu saturu kātos ir novērojams, ka makroelementu saturs nebūtiski samazinās.



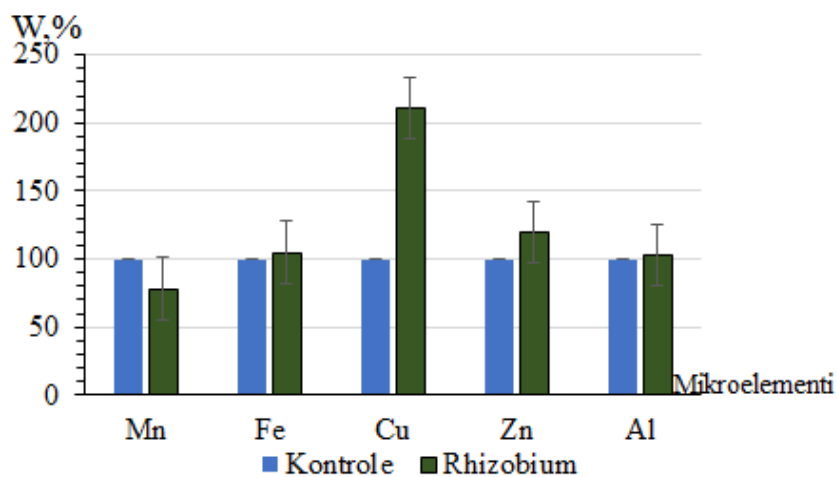
3.10.att. Mikroelementu saturs sojā (kātos)

Salīdzinot mikroelementu saturu kātos ir novērojams, ka cinka saturs mainās nebūtiski, alumīnija un dzelzs saturs veicot apstrādi ar gumiņbaktērijām samazinās par apmēram trešdaļu. Mangāna saturs pēc inokulācijas samazinās uz 50%, bet vara saturs 2 reizēs palielinās.



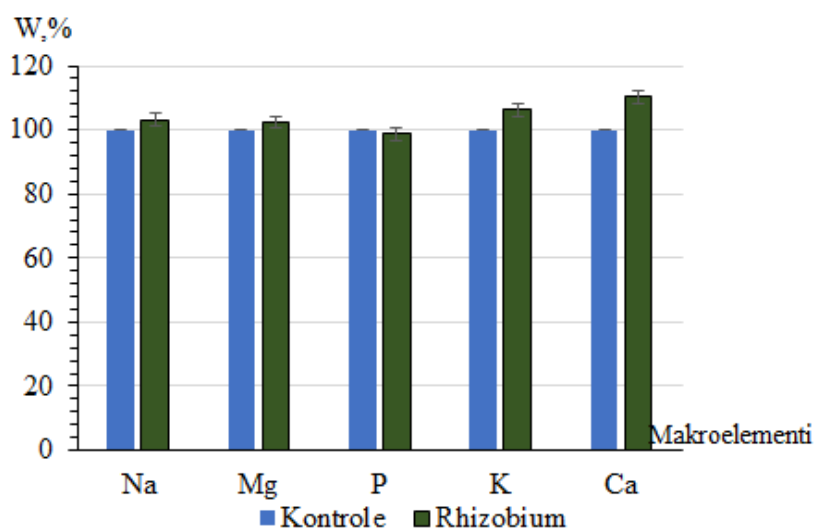
3.11.att. Makroelementu saturs sojā (lapās)

Salīdzinot iegūtos rezultātu par makroelementu saturu lapās ir novērojamas sekojošas tendences, ka makroelementu saturs sojas lapās, izņemot nātriju, palielinās. Nātrija saturs pēc inokulācijas nebūtiski samazinās. Visvairāk gumiņbaktērijas inokulācija ietekmēja kalcija saturu, jo pēc inokulācijas tā saturs palielinās par 20%.



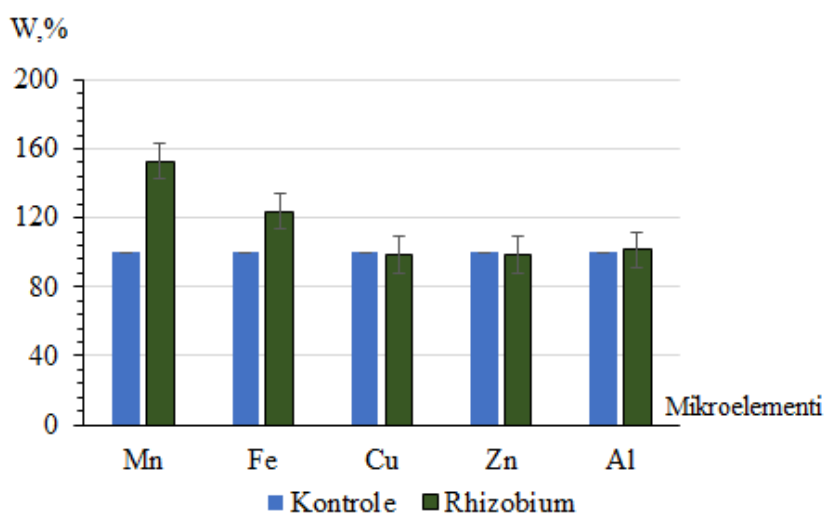
3.12.att. Mikroelementu saturs sojā (lapās)

Salīdzinot iegūtos rezultātu par mikroelementu saturu lapās ir novērojamas sekojošas tendences, ka nav būtiskas atšķirības dzelzij un alumīnijam pēc inokulācijas ar gumiņbaktērijām. Savukart mangāna saturs nedaudz samazinās. Vara saturs gumiņbaktēriju ietekmē palielinās ~2 reizes. Cinka saturs palielinās par 25% pēc inokulācijas.



3.13.att. Makroelementu saturs sojā (augsnē)

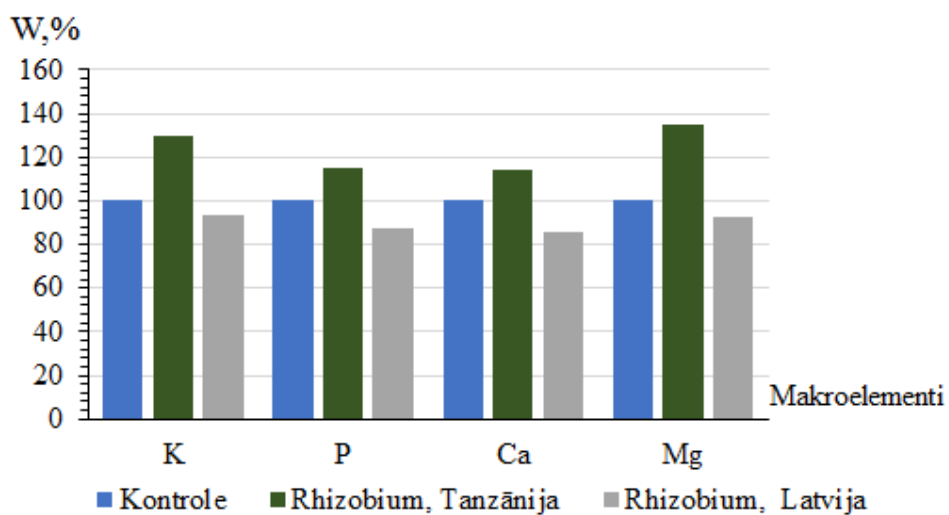
Salīdzinot makro- un mikroelementu saturu sojas augsnē var secināt, ka makroelementu saturs augsnē pēc inokulācijas ar gumiņbaktērijām būtiski neatšķiras.



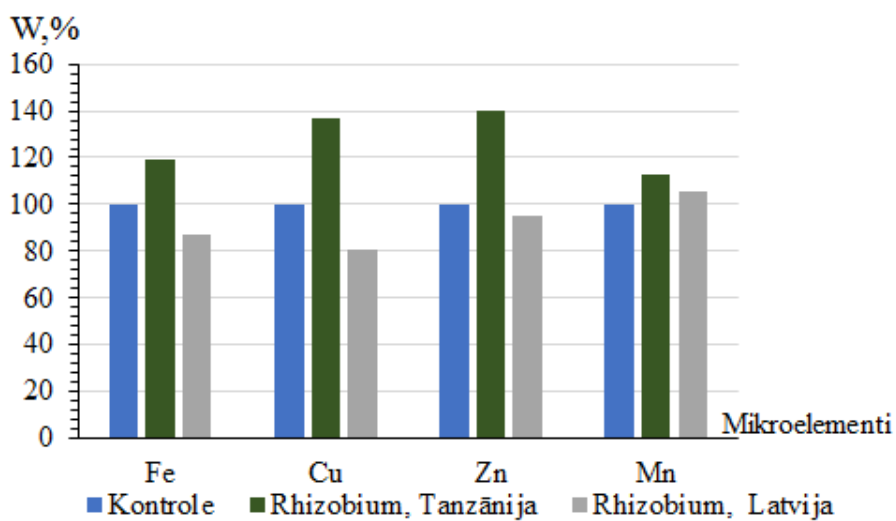
3.14.att. Mikroelementu saturs sojā (augsnē)

Salīdzinot mikroelementu saturu sojas augsnē var secināt, ka vara, cinka un alumīnija saturā nav novērojamas būtiskas atšķirības pēc inokulācijas. Mangāna un dzelzs saturs gumiņbaktēriju ietekmē palielinās. Vara saturs gandrīz uz pusi, bet dzelzs saturs par piektdaļu.

Tanzānijas zinātnieki ar atomabsorbcijas metodi (AAS) analizējuši makro- un mikroelementa saturu sojas pupiņās pirms un pēc inokulācijas ar gumiņbaktērijām (skatīt 3.15. un 3.16.attēlus) [27]. Literatūras dati par minerālelementu saturu gumiņbaktērijas ietekmē var mainīties dažādi, atkarībā no augsnes un klimata. Makro- un mikroelementu saturs pēc inokulācijas palielinās. Iegūtie rezultāti Latvijā ir salīdzināti ar citu valstu zinātnieku pētījumiem.



3.15.att. Makroelementa saturs sēklās salīdzinājumā ar literatūras datiem.



3.16.att. Mikroelementa saturs sēklās salīdzinājumā ar literatūras datiem.

SECINĀJUMI

1. Apstrādājot pupas ar gumiņbaktērijām novērotas statistiski nozīmīgas cinka koncentrācijas izmaiņas sēklās (pupās), nātrija, fosfora un alumīnija koncentrācijas izmaiņas lapu paraugos un nātrija, magnija, kālija, mangāna un cinka koncentrācijas izmaiņas augsnē
2. Apstrādājot soju ar gumiņbaktērijām novērotas statistiski nozīmīgas nātrija, vara un alumīnija koncentrācijas izmaiņas sēklu paraugos, nātrija, mangāna un dzelzs koncentrācijas izmaiņas kātu paraugos, mangāna, vara un cinka koncentrācijas izmaiņas lapu paraugos un mangāna izmaiņas augsnes paraugos.
3. Inokulācija ar *Rhizobia samazina* minerālelementu saturu sojas sēklās un kātos, savukārt, pupiņu sēklās tās saturs palielinās.
4. Mikorizas ietekmē pupiņās palielinās makro- un mikroelementu saturs sēklās un samazinās lapās un augsnē.
5. Inokulācija gan ar *Rhizobia* gan ar mikorizu ietekmē tikai nātrija satura paaugstināšanos tauriņziežu lapās.

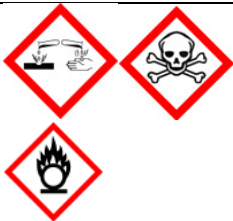


LITERATŪRAS SARAKSTS

1. Спицына, С.Ф.; Третьяков, М.А. Влияние фосфора, калия, азота и микроэлементов на урожайность сои, Вестник Алтайского государственного аграрного университета N4; **2004**, 112-113
2. Пироговская, Г. В.; Русалович, А. М.; Сороко, В. И.; Сазоненко, О. П.; Исаева, О. И.; Аутко, А. А. Эффективность комплексных азотно-фосфорно-калийных удобрений с микроэлементами в технологии возделывания спаржевой фасоли, **2009**, 1.
3. KeShun Liu: *Soybeans: Chemistry, Technology, and Utilization*, pp.1-8.
4. Klare, I.; Markley, S. *Soybeans and Soybean Products* Vol.34 1950, pp.483-486.
5. Fu Tian¹,C.; Peter J.; Young W.; Wang, E. T.; Tamimi S. M.; Chen W. X. *Populationmixing of Rhizobium leguminosarum bv. viciae nodulating Vicia faba: the role of recombination and lateral gene transfer*, 2010, pp.563-564.
6. Etemadi F., Hashemi M., Barker A. V., Zandvakili O. R., Liu X. *Agronomy, Nutritional Value, and Medicinal Application of Faba Bean (Vicia faba L.)*, Horticultural Plant Journal, **2019**, 170-173
7. Baogang Zhang, Nini Du, Yajuan Li, Peng Shi, Gehong Wei *Distinct biogeographic patterns of rhizobia and non-rhizobial endophytes associated with soybean nodules across China*, Science of the Total Environment, **2018**, 569-570
8. Jones, D. G.; Davies D. R. *Temperate Legumes: Physiology, Genetics and Nodulation*, 1983, pp. 760-761.
9. Moyano G., Marco D., Knopoff D., Torres G., Turner C. *Explaining coexistence of nitrogen fixing and non-fixing rhizobia in legume-rhizobia mutualism using mathematical modeling*, Mathematical Biosciences, **2017**, 30-31.
10. Pohl P., Kalinka M., Pieprz M. *Development of a very simple and fast analytical methodology for FAAS/ FAES measurements of Ca, K, Mg and Na in red beetroot juices along with chemical fractionation of Ca and Mg by solid phase extraction*, Microchemical Journal, **2019**, 538.
11. Patnaik P. *Handbook of Environmental Analysis: Chemical Pollutants in Air, Water, Soil*, 1997, pp. 67-68, 70
12. Why should AAS use element lamps? [tieštaite]
<https://chemistry.stackexchange.com/questions/115895/why-should-aas-use-element-lamps?noredirect=1&lq=1> (skatīts 21.01.2020).
13. Henden E., İşlek Y., Kavas M., Aksuner N., Yayayürük O., Çiftçi T. D., İlktaç R. *A study of mechanism of nickel interferences in hydride generation atomic absorption spectrometric determination of arsenic and antimony*, Spectrochimica Acta Part B, **2011**, 793-794.

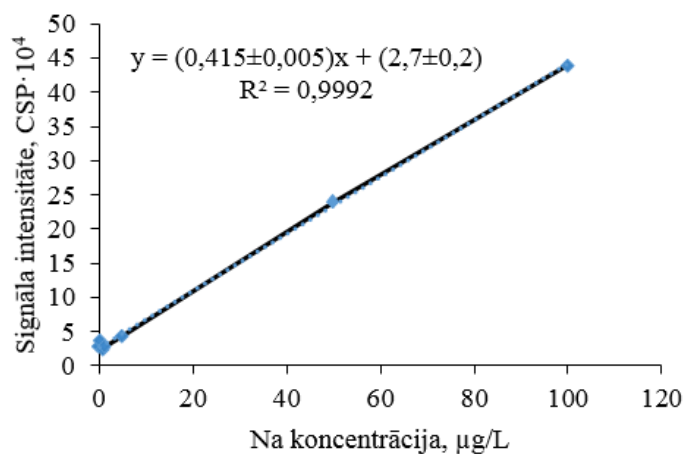
14. Zhang Y., Adeloju S. B. Flow injection–hydride generation atomic absorption spectrometric determination of selenium, arsenic and bismuth, *Talanta*, **2008**, 724-725.
15. Thomas, Dr.; Chasteen, G.; Hydride Generation Atomic Absorption Spectroscopy Sam Houston State University, 2000, 2009; Department of Chemistry https://www.shsu.edu/~chm_tgc/primers/HGAAS.html (skatīts 27.04.2020).
16. Daftsis, E.J.; Zachariadis, G.A. Analytical performance of ETAAS method for Cd, Co, Cr and Pb determination in blood fractions samples; *Laboratory of Analytical Chemistry*; **2006**; pp. 722-723.
17. Cal-Prieto, M.J.; Felipe-Sotelo, M.; Carlosena, A.; Andrade, J.M.; Lo'pez-Mahí'a, P.; Muniategui, S.; Prada D. Slurry sampling for direct analysis of solid materials by electrothermal atomic absorption spectrometry (ETAAS). A literature review from 1990 to 2000; *Department of Analytical Chemistry*; **2001**; pp. 1-2.
18. Materials and methods for GFAAS; Lead poisoning from toys blogspot, 2013. <http://poisonedbylead.blogspot.com/2013/07/materials-methods-for-gfaas.html> (skatīts 15.03.2020)
19. Thomas, R. *Partical Guide to ICP-MS a tutorial for beginners*, 3th edition, 2013, pp.1-4.
20. Agilent Technologies. Agilent 7700 Series ICP-MS [tiešsaite] <http://www.teamcag.com/products/icp/7700%20Series%20ICP-MS%20brochure.pdf> (skatīts 17.03.2020.)
21. Matusiewicz, H. *Wet digestion methods*; 2003, 193-195.
22. Twyman, R. M. *Wet Digestion R The Nature of the Sample Matrix Extraction of the Analyte*; 2000, 146–152.
23. Winefordner, J.D. *Sample Preparation Techniques in Analytical Chemistry*, p.240.
24. Метод пробоподготовки. [tiešsaite] <https://www.lumex.ru/methods/mineralizacziya.php> (skatīts 20.01.2020)
25. GEBEYEHU, S.; SAMWAYS, M. J. Topographic Heterogeneity Plays a Crucial Role for Grasshopper Diversity in a Southern African Megabiodiversity Hotspot, **2004**, 231-233.
26. Al-Ghumaiz, N. S.; Abd-Elmoniem E. M.; Motawei, M. I. Salt Tolerance and K/Na Ratio of Some Introduced Forage Grass Species Under Salinity Stress in Irrigated Areas, **2017**.
27. Nyokia, D.; Ndakidemi, P. A. Rhizobium inoculation reduces P and K fertilization requirement in cornsoybean intercropping, **2018**, 51-54.

PIELIKUMI

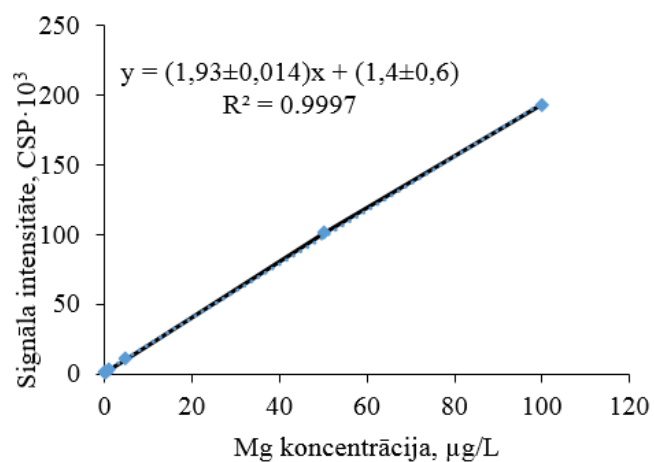
1.pielikums Informācija no reaģentu drošības datu lapām

Vielu saraksts	Bīstamība	Koncentrācija
Slāpekļskābe		H272- H290- H314-H315-H318 H319- H330- H331
Ūdeņraža peroksīds		H302- H318 H412 P264- P270- P273- P280 P305+P351+P338+ P310 P501
Salsskābe		H290- H314- H335 P280 P301+P330+P331 P303+P361+P353 P305+P351+P338+ P310

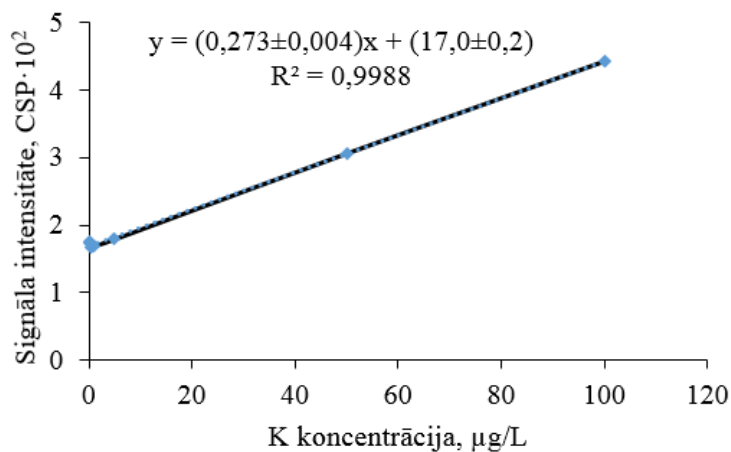
2.pielikums. Kalibrēšanas grafiki makro- un mikroelementa noteikšanai



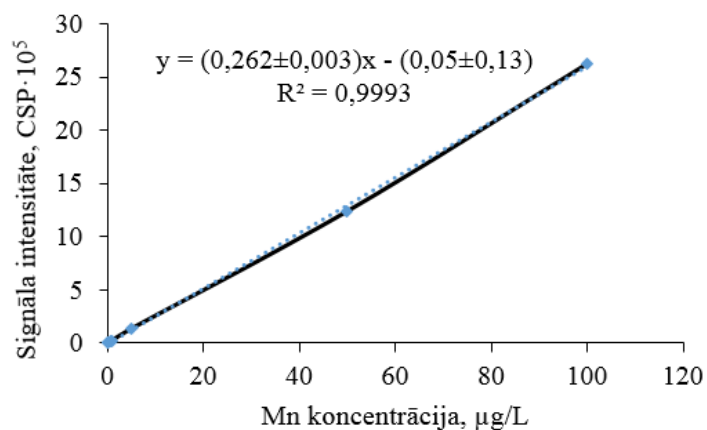
1.att. Elementu jonu signāla intensitātes atkarība no nātrija (Na) koncentrācijas izmaiņām



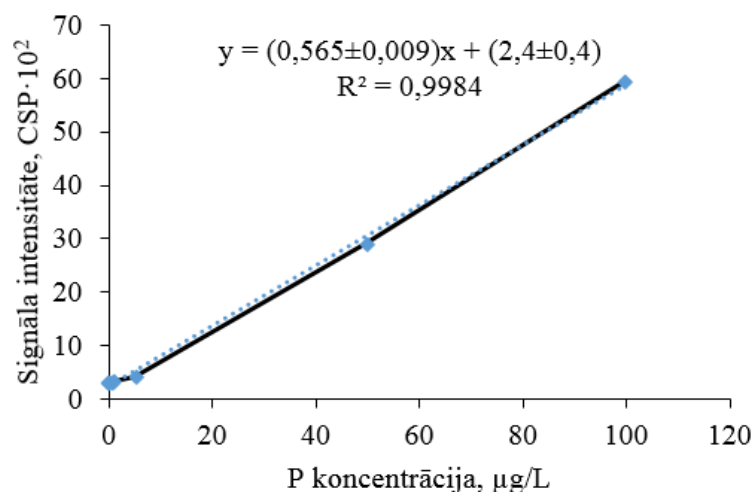
2.att. Elementu jonu signāla intensitātes atkarība no magnija (Mg) koncentrācijas izmaiņām.



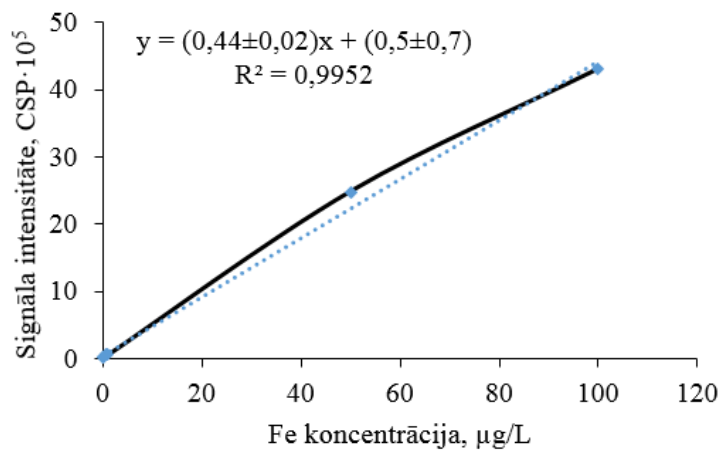
3.att. Elementu jonu signāla intensitātes atkarība no kālija (K) koncentrācijas izmaiņām.



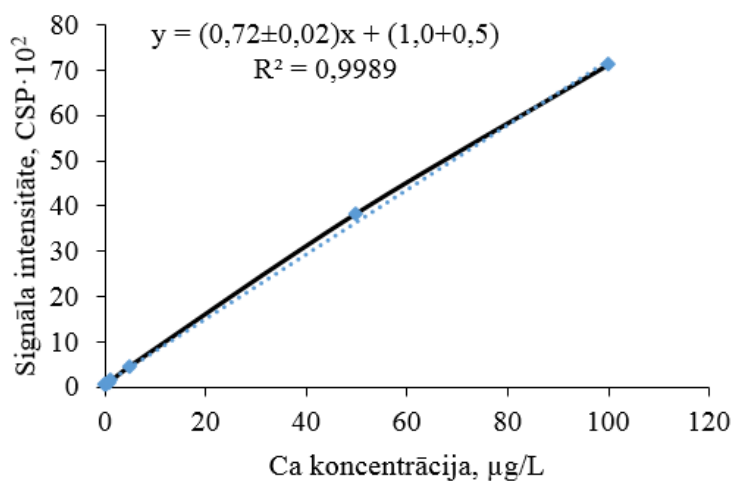
4.att. Elementu jonu signāla intensitātes atkarība no mangāna (Mn) koncentrācijas izmaiņām



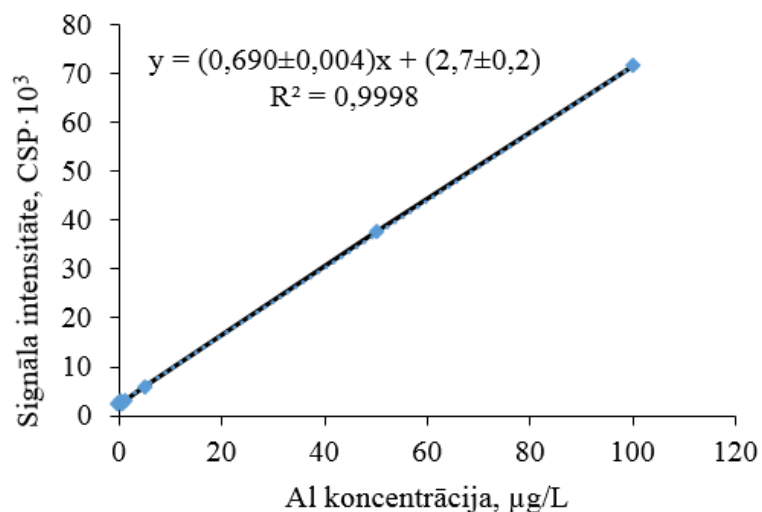
5.att. Elementu jonu signāla intensitātes atkarība no fosfora (P) koncentrācijas izmaiņām



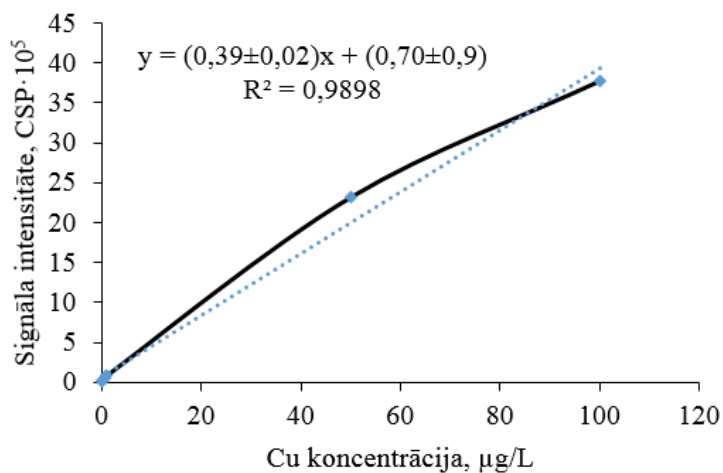
6.att. Elementu jonu signāla intensitātes atkarība no dzelzs (Fe) koncentrācijas izmaiņām



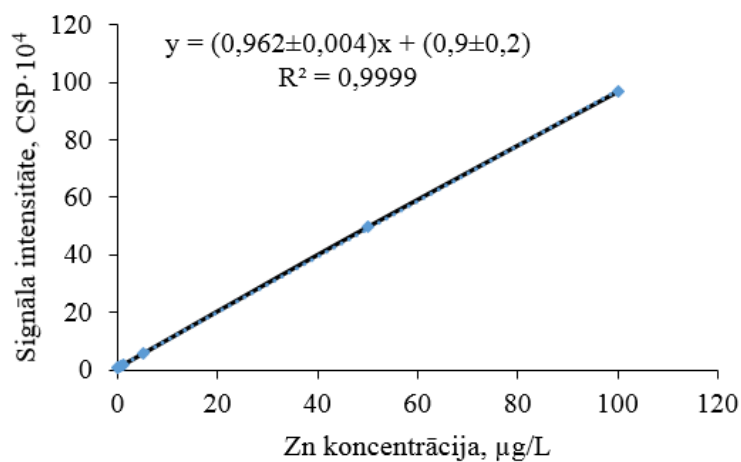
7.att. Elementu jonu signāla intensitātes atkarība no kalcija (Ca) koncentrācijas izmaiņām



8.att. Elementu jonu signāla intensitātes atkarība no alumīnija (Al) koncentrācijas izmaiņām



9.att. Elementu jonu signāla intensitātes atkarība no vara (Cu) koncentrācijas izmaiņām.



10.att. Elementu jonu signāla intensitātes atkarība no cinka (Zn) koncentrācijas izmaiņām.

3.pielikums Makro- un mikroelementu noteikšanas rezultāti pupas paraugos

3. pielikuma 1.tabula

Noteiktas ar ICP-MS makroelementu koncentrācijas analizējamās pupas lapas, sēklas un augsnes paraugos

	Apstrādes varianti	m _{iesv} ,g	Elementu koncentrācija, µg·L ⁻¹				
			Na	Mg	P	K	Ca
Lapas	K	0,2040	6927	11829	10517	95348	53885
	Rh	0,1544	7282	9868	8357	84071	45551
	M	0,1990	11453	12591	14219	106334	52691
	RM	0,2027	11838	11874	12233	89332	52309
Sēklas	K	0,2359	1999	7271	25133	74196	5440
	Rh	0,2958	2869	9281	29205	87000	6891
	M	0,2411	1908	7502	22741	75795	6354
	RM	0,1843	1556	5575	16714	56272	4278
Augsne	K	0,1907	433	8587	2389	8296	21244
	Rh	0,2136	388	12273	2757	9608	27607
	M	0,2783	523	10608	3269	11563	28615
	RM	0,2137	475	9354	2636	9590	27898

K – kontrole; Rh – Rhizobium leguminosarum; M – Mikorizas preparāts; RM – Rhizobium leguminosarum + Mikoriza

3. pielikuma 2.tabula

Noteiktas ar ICP-MS makroelementu koncentrācijas analizējamās pupas lapas, sēklas un augsnes paraugos

	Apstrādes varianti	m _{iesv} ,g	Elementu koncentrācija, µg·L ⁻¹				
			Fe	Mn	Cu	Zn	Al
Lapas	K	0,2040	446	146	11	117	322
	Rh	0,1544	361	114	5	94,9	245
	M	0,1990	384	133	13	135	230
	RM	0,2027	396	137	11	137	247
Sēklas	K	0,2359	254	52,4	10	184	1,33
	Rh	0,2958	308	69,2	11	215	1,80
	M	0,2411	262	62,6	12	216	4,23
	RM	0,1843	218	43,2	7	155	0,962
Augsne	K	0,1907	25111	429	61	120	44333
	Rh	0,2136	22554	361	36	101	37890
	M	0,2783	27223	484	35	118	42378
	RM	0,2137	30673	506	39	131	45974

K – kontrole; Rh – Rhizobium leguminosarum; M – Mikorizas preparāts; RM – Rhizobium leguminosarum + Mikoriza

4.pielikums Makro- un mikroelementu noteikšanas rezultāti sojas paraugos

4. pielikuma 1.tabula

Noteiktas ar ICP-MS makroelementu koncentrācijas analizējamās sojas lapas, sēklas un augsnes paraugos

	Apstrādes varianti	m _{iesv} ,g	Elementu koncentrācija, µg·L ⁻¹				
			Na	Mg	P	K	Ca
Sēklas	K	0,1701	45	9469	32244	77144	6318
	Rh	0,1823	34	9440	30119	77212	5849
Kāti	K	0,1571	120	19102	6047	62301	44113
	Rh	0,1526	105	16448	5629	56713	37274
Lapas	K	0,1634	100	19446	9508	52189	58846
	Rh	0,1876	108	24129	11054	63985	82033
Augsne	K	0,4533	987	37938	3474	37045	23343
	Rh	0,3446	774	29518	2610	29921	19525

K – kontrole; Rh – Rhizobium leguminosarum

4. pielikuma 2.tabula

Noteiktas ar ICP-MS mikroelementu koncentrācijas analizējamās sojas lapas, sēklas un augsnes paraugos

	Apstrādes varianti	m _{iesv} ,g	Elementu koncentrācija, µg·L ⁻¹				
			Mn	Fe	Cu	Zn	Al
Sēklas	K	0,1701	54	324	49	173	16
	Rh	0,1823	62	304	42	170	33
Kāti	K	0,1571	63	927	4	36	1237
	Rh	0,1526	31	635	9	36	834
Lapas	K	0,1634	157	1893	8	72	2634
	Rh	0,1876	140	2253	19	99	3068
Augsne	K	0,4533	1949	130605	65	337	187280
	Rh	0,3446	2267	123000	49	252	144359

K – kontrole; Rh – Rhizobium leguminosarum

PATEICĪBAS

Autore izsaka pateicību LLU Augsnes un augu zinātņu institūta profesorei Inai Alsiņai un Lilai Dubovai par sniegtajām konsultācijām un iespēju izmantot pupu un sojas paraugus šī darba tapšanā.

Bakalaura darbs “Makro- un mikroelementu plūsmas pētījumi tauriņziežu – gumiņbaktēriju simbiotiskajā sistēmā” izstrādāts LU Ķīmijas fakultātē Analītiskās ķīmijas katedrā.

Ar savu parakstu apliecinu, ka pētījums veikts patstāvīgi, izmantoti tikai tajā norādītie informācijas avoti un iesniegtā darba elektroniskā kopija atbilst izdrukai.

Autors: _____

(personiskais paraksts)

Anastasija Konovalova

(paraksta atšifrējums)

Rekomendēju/nerekomendēju darbu aizstāvēšanai

Vadītājs: Ķīm. mag. Māris Bērtiņš: _____

(personiskais paraksts)

_____ *(datums)*

Recenzents: docents Dr. chem. Jānis Ģībietis: _____

(personiskais paraksts)

_____ *(datums)*

Darbs iesniegts Ķīmijas fakultātē: _____ *(datums)*

Dekāna pilnvarotā persona, metodiķe: _____ Vija Gutāne

(personiskais paraksts)

Darbs aizstāvēts bakalaura gala pārbaudījuma komisijas sēdē:

_____ protokols Nr. _____ *(ieraksta sekretārs)*

(datums)

(protokola Nr.)

Komisijas sekretāre, lektore: _____

(personiskais paraksts)

_____ *(paraksta atšifrējums)*