

ПОЛТАВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
Навчально-науковий інститут агротехнологій, селекції та екології
Кафедра біотехнології та хімії

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

На здобуття ступеня вищої освіти

бакалавр

на тему: «ВИКОРИСТАННЯ САЛЦИЛОВОЇ КИСЛОТИ ЯК
ФІЗІОЛОГІЧНО АКТИВНОЇ РЕЧОВИНИ ТА БАКТЕРІАЛЬНОГО
ПРЕПАРАТУ ГРАУНДФІКС У ТЕХНОЛОГІЯХ ВИРОЩУВАННЯ
ПШЕНИЦІ ОЗИМОЇ ДЛЯ ПІДВИЩЕННЯ СТІЙКОСТІ ПРОРОСТКІВ ДО
УМОВ ПОСУХИ»

Виконав: здобувач вищої освіти
за освітньою програмою
Біотехнології та біоінженерія
спеціальності
162 Біотехнології та біоінженерія
ступеня вищої освіти бакалавр
групи 162ББбд_2020
Дробаха Анастасія Віталіївна

Керівник: Короткова Ірина
Валентинівна, кандидат хімічних
наук, доцент

Рецензент: Седлецька Юлія
Валентинівна, агроном із
насінництва ТОВ «РОСТ АГРО»

Полтава – 2024 року

ПОЛТАВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
Навчально-науковий інститут агротехнологій, селекції та екології
Кафедра біотехнології та хімії

Освітньо-професійна програма Біотехнології та біоінженерія

Спеціальність 162 Біотехнології та біоінженерія

Рівень вищої освіти бакалаврський

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри Таміла Ромашко

«11» «вересня» 2024 року

ЗАВДАННЯ
НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ ЗДОБУВАЧА ВИЩОЇ ОСВІТИ
Дробаха Анастасія Віталіївна

1. Тема роботи:

«Використання саліцилової кислоти як фізіологічно активної речовини та бактеріального препарату «Граундфікс» у технологіях вирощування пшениці озимої для підвищення стійкості проростків до умов посухи», керівник роботи к.х.н., доцент, професор кафедри біотехнології та хімії Короткова І.В.

Затверджено засіданням кафедри протокол № 3 від «11» вересня 2023 р.

2. Строк подання здобувачем вищої освіти роботи «10» червня 2024 р.

3. Вихідні дані до роботи: літературні джерела(наукові видання), методи та методики досліджень, перелік реактивів та обладнання, об'єкт дослідження.

4. Зміст розрахунково-пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити).

ВСТУП

РОЗДІЛ 1. ВИКОРИСТАННЯ САЛІЦИЛОВОЇ КИСЛОТИ ЯК ФІЗІОЛОГІЧНО АКТИВНОЇ РЕЧОВИНИ ТА БАКТЕРІАЛЬНОГО ПРЕПАРАТУ ГРАУНДФІКС У ТЕХНОЛОГІЯХ ВИРОЩУВАННЯ ПШЕНИЦІ ОЗИМОЇ ДЛЯ ПІДВИЩЕННЯ СТІЙКОСТІ ПРОРОСТКІВ ДО УМОВ ПОСУХИ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

1.1. Вплив посухового стресу на рослини

1.2. Методи моделювання посух

1.3. Стрес-протекторний вплив фітогормонів на рослини при вирощуванні в умовах посухи

1.4. Властивості саліцилової кислоти у підтриманні стійкості рослин до посухового стресу

1.5. Властивості бактеріальних біостимуляторів та їх вплив на посухостійкість рослин

1.6 Пролін, як представник стресових метаболітів з антиоксидантними властивостями

РОЗДІЛ 2. ОБ'ЄКТ ТА МЕТОДИКА ПРОВЕДЕННЯ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Об'єкт дослідження

2.2. Дизайн експерименту

РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ

3.1. Визначення оптимальної концентрації саліцилової кислоти

3.2. Дослідження стрес-протекторних властивостей саліцилової кислоти та бактеріального препарату Граундфікс на модельній системі ПЕГ 6000

3.3 Біохімічні показники, що характеризують стан захисних систем рослин в умовах посухового стресу

3.4. Технологічні аспекти підвищення стійкості пшениці озимої при вирощуванні в умовах посухи

ВИСНОВКИ

4. Перелік графічного матеріалу: рисунки, таблиці, графіки за темою та об'єктом дослідження.

5. Дата видачі завдання «11» вересня 2023р.

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

Назва етапів виконання кваліфікаційної роботи	Термін виконання етапів роботи	Примітка
1. Вибір і затвердження теми роботи.	04.09.-11.09.23	виконано
2. Складання та погодження розгорнутого плану та завдання на кваліфікаційну роботу	11.09-18.09.23	виконано
3. Опрацювання літературних джерел	18.09-20.10.23	виконано
4. Збір, вивчення і обробка інформації, необхідної для виконання роботи	23.10-20.11.23	виконано
5. Виконання теоретичного розділу роботи	20.11.23-12.01.24	виконано
6. Виконання аналітичних розділів роботи	15.01.-29.03.24	виконано
7. Виконання спеціальних розділів	01.04.-30.04.24	виконано
8. Оформлення тексту роботи	01.05.-31.05.24	виконано
9. Попередній захист роботи на кафедрі	10.06.24	виконано
10. Доопрацювання роботи з урахуванням зауважень і пропозицій	10.06.-20.06.24	виконано
11. Нормоконтроль	20.06.24	виконано
12. Захист кваліфікаційної роботи	21.06.24	виконано

Здобувач вищої освіти

_____ Анастасія ДРОБАХА

Керівник роботи

_____ Ірина КОРОТКОВА

АНОТАЦІЯ

Дробаха Анастасія Віталіївна

Використання саліцилової кислоти як фізіологічно активної речовини та бактеріального препарату «Граундфікс» у технологіях вирощування пшениці озимої для підвищення стійкості проростків до умов посухи

Кваліфікаційна робота за освітньо-професійною програмою Біотехнології та біоінженерія спеціальності 162 Біотехнології та біоінженерія

Полтавський державний аграрний університет, м. Полтава, 2024 рік.

Кваліфікаційна робота складається із вступу, трьох розділів, висновків, списку використаних джерел, що містить 58 найменувань, додатків. Обсяг роботи 52 сторінки, містить 20 рисунків, 2 таблиці. Мета роботи полягає у встановленні впливу саліцилової кислоти як фізіологічно активної речовини та бактеріального препарату «Граундфікс» на стійкість проростків пшениці озимої при вирощуванні в умовах посухи на основі моделі, створеної поліетиленгліколем 6000, для використання в технологіях вирощування культури. Об'єктом дослідження є процес стимуляції насіння пшениці озимої сорту Антонівка бактеріальним препаратом Граундфікс та захист проростків від посухи за використання саліцилової кислоти, як фізіологічно-активної речовини.

На основі виконаних досліджень нами доведено фітостимулюючий ефект саліцилової кислоти у концентрації 10^{-9} моль/л на проростки пшениці сорту Антонівка, яку можна вважати оптимальною. Встановлено, що за обробки насіння пшениці бактеріальним препаратом Граундфікс та проростків розчином саліцилової кислоти в умовах посухового стресу спостерігається стимуляція росту пагонів та коренів проростків пшениці, які перевищують контроль на 51,86% та 24,08%, відповідно. Запропонований комплексний технологічний підхід до підвищення стійкості пшениці озимої при вирощуванні в умовах недостатнього зволоження та періодичних посух.

Ключові слова: біологічно активні речовини, фітогормони, осмотичний стрес, проростки пшениці, бактеріальні біопрепарати.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ	6
ВСТУП	7
РОЗДІЛ 1. ВИКОРИСТАННЯ САЛІЦИЛОВОЇ КИСЛОТИ ЯК ФІЗІОЛОГІЧНО АКТИВНОЇ РЕЧОВИНИ ТА БАКТЕРІАЛЬНОГО ПРЕПАРАТУ ГРАУНДФІКС У ТЕХНОЛОГІЯХ ВИРОЩУВАННЯ ПШЕНИЦІ ОЗИМОЇ ДЛЯ ПІДВИЩЕННЯ СТІЙКОСТІ ПРОРОСТКІВ ДО УМОВ ПОСУХИ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)	12
1.1. <i>Вплив посухового стресу на рослини</i>	12
1.2. <i>Методи моделювання посух</i>	15
1.3. <i>Стрес-протекторний вплив фітогормонів на рослини при вирощуванні в умовах посухи</i>	20
1.4. <i>Властивості саліцилової кислоти у підтриманні стійкості рослин до посухового стресу</i>	24
1.5. <i>Властивості бактеріальних біостимуляторів та їх вплив на посухостійкість рослин</i>	25
1.6 <i>Пролін, як представник стресових метаболітів з антиоксидантними властивостями</i>	33
РОЗДІЛ 2. ОБ'ЄКТ ТА МЕТОДИКА ПРОВЕДЕННЯ ДОСЛІДЖЕНЬ	35
2.1. <i>Об'єкт дослідження</i>	35
2.2. <i>Дизайн експерименту</i>	35
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ	41
3.1. <i>Визначення оптимальної концентрації саліцилової кислоти</i>	41
3.2. <i>Дослідження стрес-протекторних властивостей саліцилової кислоти та бактеріального препарату Граундфікс на модельній системі ПЕГ 6000</i>	44
3.3 <i>Біохімічні показники, що характеризують стан захисних систем рослин в умовах посухового стресу</i>	46
3.4. <i>Технологічні аспекти підвищення стійкості пшениці озимої при вирощуванні в умовах посухи</i>	49
ВИСНОВКИ	58
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	60
ДОДАТКИ	Ошибка! Закладка не определена.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АБК – абсцизова кислота

АФК – активні форми кисню

СК – саліцилова кислота

ПЕГ 6000 – поліетиленгліколь 6000

ФАР – фізіологічно активні речовини

ФГ – фітогормони

РГРВ (Plant growth promotion bacteria) – бактерії, що сприяють росту рослин

ВСТУП

Актуальність теми. Пшениця є найважливішою зерновою культурою у світі. Вона є основним джерелом білка та калорій у щоденному раціоні людини. Залежно від динаміки умов навколишнього середовища, рослини, у тому числі пшениці, зазнають впливу різних абіотичних і біотичних факторів, найпоширенішим серед яких є посуха. Втрати врожаїв основних зернових культур від посухи можуть сягати 50–82% і тому вона становить серйозну загрозу для сільськогосподарського виробництва. Зміна режиму випадання опадів, підвищення рівня CO₂ в атмосфері, підвищення атмосферної температури та гарячі та сухі вітри є основними причинами посухового стресу.

У відповідь на абіотичний стрес рослини виробляють антиоксидантні речовини, такі як флавоноїди, каротиноїди, вітаміни та антиоксидантні ферменти. Дефіцит води спричиняє зниження тургорного тиску та окисне пошкодження активними формами кисню, включаючи супероксидні та гідроксильні радикали, оксид азоту та синглетний кисень, викликаючи зміни швидкості газообміну в листі. Природні механізми посухостійкості у рослин добре розроблені, включаючи морфологічні, фізіологічні та біохімічні адаптації, такі як посухостійка епігенетична пластичність і активація генів. Посухостійкість і трансформація у зернових рослин підтримується за рахунок морфологічних, фізіологічних і біохімічних змін.

Особливо критична посуха для рослин пшениці на початкових фазах розвитку: проростання та появи молодих сходів. Дефіцит води знижує ріст, продуктивність і якість зерна через зниження швидкості транспірації, площі продихових пор, відносного вмісту води та ефективності використання води. Для виживаності в таких умовах в рослинах відбуваються зазначені метаболічні зміни, але задача науковців допомогти рослинам подолати стресові умови, створенні обмеженням води від час вегетації, особливо при вирощуванні в регіонах нестійкого зволоження, до яких належить Полтавщина.

У даний час основні зернові культури інтенсивно вивчаються для виявлення механізмів реагування на посуху та отримання максимальної врожайності та якості зерна. Прискорити цей процес з точки зору витраченого часу і економічних витрат можна за допомогою модельних досліджень, що і застосовано в даній роботі. За допомогою таких моделей можна апробувати ефекти різних видів фітогормональних та бактеріальних препаратів для підвищення стійкості рослин до стресових умов, що сприятиме оптимізації технологій вирощування пшениці і може стати частиною стратегії екологічно сталого землеробства, що зменшить потребу в хімічних засобах захисту рослин і добривах, зменшуючи негативний вплив на навколишнє середовище.

Мета роботи полягає у встановленні впливу саліцилової кислоти, як фізіологічно активної речовини, та бактеріального препарату Граундфікс на стійкість проростків пшениці озимої при вирощуванні в умовах посухи, змодельованої за допомогою поліетиленгліколю 6000, для використання в технологіях вирощування культури.

Виходячи із мети можна виділити такі **завдання дослідження**:

1. Виконати аналіз літературних джерел щодо способів моделювання посухи для рослин, ролі фізіологічно-активних речовин та біостимуляторів у підтриманні посухостійкості рослин;
2. Дослідити концентраційну залежність саліцилової кислоти на основі показників біомаси пагонів та коренів проростків пшениці озимої. Визначити оптимальну концентрацію саліцилової кислоти, що спричиняє максимальний стрес-протекторний ефект;
3. Провести порівняльний аналіз стійкості проростків пшениці до модельної посухи (осмотичного стресу, створеного поліетиленгліколем 6000) за попередньої обробки насіння бактеріальним препаратом зі стимулюючим ефектом Граундфікс та оприскуванням проростків розчинами стресового фітогормону – саліцилової кислоти;

4. Визначити біохімічні показники проростків пшениці (вміст проліну, перекису водню), що відображують стрес-протекторну дію саліцилової кислоти;
5. Запропонувати технологічну схему застосування біостимулятора Граундфікс для передпосівної обробки насіння пшениці та саліцилової кислоти, як речовини зі стрес-протекторною дією, для використання в технології вирощування пшениці озимої в регіонах нестійкого зволоження для підвищення стійкості до умов посухи.

Об'єктом дослідження є процес стимуляції насіння пшениці озимої сорту Антонівка бактеріальним препаратом Граундфікс та захист проростків від посухи за використання саліцилової кислоти, як фізіологічно-активної речовини.

Предмет дослідження: вплив саліцилової кислоти на стійкість проростків пшениці озимої до умов посухи, змодельованою за допомогою непроникного осмотика поліетиленгліколя 6000.

Методи досліджень. Основою виконаної роботи є системний підхід до вивчення впливу саліцилової кислоти на стійкість проростків пшениці озимої при вирощуванні в умовах посухи, для чого застосовані різні методи дослідження, а саме:

- аналіз літературних джерел щодо методів моделювання посухи для вивчення стійкості рослин;
- планування дослідження (підбір методик та об'єкта досліджень);
- метод порівняльного аналізу (порівняння фізіологічних (біомаси пагонів та коренів) та біохімічних (вміст проліну, перекису водню) показників проростків пшениці за різних концентрацій саліцилової кислоти) в умовах модельної посухи;
- метод узагальнення (аналіз результатів дослідження та формулювання висновків).

У ході дослідження використано спеціальні методи:

- ваговий, для визначення біомаси пагонів та коренів проростків

пшениці;

- фізико-хімічний метод – спектрофотометричний метод визначення вмісту проліну, перекису водню.

Наукова новизна одержаних результатів:

- Вперше досліджено вплив саліцилової кислоти, як фізіологічно активної речовини зі стрес-протекторною дією, під час зростання проростків пшениці озимої в посушливих умовах. Визначено оптимальну концентрацію розчину саліцилової кислоти за якої спостерігається максимальний ефект щодо стійкості проростків до посухи.
- Дослідним шляхом доведено стимулюючий ефект бактеріального препарату Граундфікс у передпосівної обробки насіння пшениці озимої та з подальшою обробкою проростків розчином саліцилової кислоти в концентрації 10^{-7} моль/л для підвищення стійкості рослин до умов посухи в технологіях вирощування пшениці озимої.
- Запропонований технологічний підхід щодо використання даних препаратів при вирощуванні в умовах недостатнього зволоження та періодичних посух.

Практичне значення. Результати кваліфікаційної роботи можуть бути використані у технологіях підготовки насіння зернових на насіннєвих заводах та технологіях вирощуванні пшениці озимої в регіонах нестійкого зволоження.

Апробація результатів роботи. Основні положення кваліфікаційної роботи були представлені та обговорення на засіданні кафедри біотехнології та хімії Полтавського державного аграрного університету. За результатами роботи опубліковано тези доповідей на міжнародних конференціях:

- Короткова І.В., Дробаха А.В., Тристан Д.В. Вплив саліцилової кислоти на ріст коренів та загальну біомасу проростків пшениці. Матеріали VIII Міжнародної науково-практичної інтернет-конференції (м. Полтава, 15-16 травня 2024 року). Полтава, 2024. С. 289-292.
- Короткова І.В., Демченко А.В. Зернові культури як джерело біологічно активних сполук. Матеріали VII Міжнародної науково-практичної

інтернет-конференції (м. Полтава, 17-18 травня 2023 року). Полтава, 2023. С. 102-107.

Структура та обсяг роботи. Загальний обсяг сторінок кваліфікаційної роботи 52. Робота містить 2 таблиці, 20 рисунків та список використаних джерел, що складає 58 позицій.

РОЗДІЛ 1. ВИКОРИСТАННЯ САЛЦИЛОВОЇ КИСЛОТИ ЯК ФІЗІОЛОГІЧНО АКТИВНОЇ РЕЧОВИНИ ТА БАКТЕРІАЛЬНОГО ПРЕПАРАТУ ГРАУНДФІКС У ТЕХНОЛОГІЯХ ВИРОЩУВАННЯ ПШЕНИЦІ ОЗИМОЇ ДЛЯ ПІДВИЩЕННЯ СТІЙКОСТІ ПРОРОСТКІВ ДО УМОВ ПОСУХИ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

1.1. Вплив посухового стресу на рослини

Посуха відома як найбільш руйнівна кліматична загроза, з якою стикається населення планети протягом всього життя. Очікується, що в майбутньому частота та інтенсивність посух у багатьох регіонах зростатиме внаслідок зменшення кількості опадів та збільшення випаровування через глобальну зміну клімату. Просторові масштаби та тривалість нещодавніх посух, таких як Посуха тисячоліття (1997-2009 рр.) на півдні Австралії та Каліфорнійська посуха (2011-2017 рр.) у США, не мають прецедентів принаймні за останні 400 років [1]. Приблизно дві третини населення планети постраждають від посилення посухи, що загрожує продовольчій безпеці, оскільки саме посуху вважають одним із найсильніших стресів, що впливає на продуктивність рослин.

Близько 80–95% свіжої біомаси рослин складається з води, яка відіграє життєво важливу роль у різних фізіологічних процесах, включаючи багаточисельні аспекти росту, розвитку та метаболізму рослин [1, 2]. Непередбачуваний характер посухи залежить від різних факторів, серед яких нерівномірний розподіл опадів під час вегетації рослинних культур, випаровування та здатність ґрунтів зберігати вологу [3, 4]. Крім того, у деяких випадках рослини не можуть поглинати воду з ґрунту, навіть якщо в зоні коренів достатньо вологи [5], явище, відоме як фізіологічна посуха або псевдопосуха [6].

Посуховий стрес впливає на рослини протягом усього життєвого циклу, тобто від проростання до зрілості. Часто посуха супроводжується іншими шкідливими наслідками, такими як засолення, спека та вплив патогенів. В

умовах стресу від посухи порушуються різні молекулярні, біохімічні, фізіологічні, морфологічні ознаки та процеси рослин, спостерігається зниження транспірації та швидкості фотосинтезу, осмотичні зміни, пригнічення росту коренів і пагонів, надлишок активних форм кисню, зміна сигнальних шляхів стресу тощо [7].

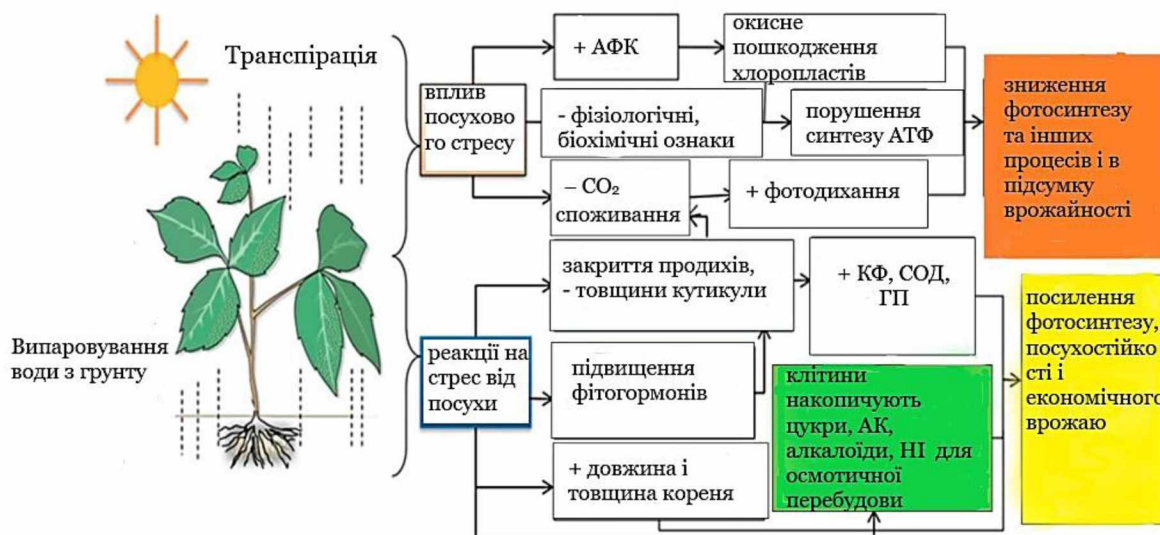


Рис. 1.1 Схема наслідків та адаптації рослин до посухового стресу, модифікована з Ullah et al. [8]

Примітка: КФ - каталаза, СОД – супероксиддисмутаза, ГП – глутатіонпероксидаза, АК – амінокислоти, НІ - неорганічні іони, (-) зменшення, (+) збільшення

Ключовими факторами, які впливають на реакцію рослин на посуху є стадії росту, вік, види рослин, а також тривалість посухи [9]. Механізм стійкості до посухи у різних видів рослин різний, але всі рослини мають здатність зменшувати використання водних ресурсів і регулювати свій ріст, щоб протидіяти несприятливим посушливим умовам навколишнього середовища [10, 11] (Рис.1.1). Відомо, що для підвищення ефективності використання води, коли фізичної адаптації коренів і листя недостатньо, щоб впоратися з певними молекулярними сигналами посухи, включається білок регулярності, що кодує ген, який експресує багато інших генів і сигналів через перехресні перешкоди відповідно до різних регуляторних механізмів [12, 13]. Але це питання потребує подальшого вивчення, щоб задовольнити

майбутній попит людства на продовольчі культури, і тому розробка технологій підвищення посухостійкості сільськогосподарських культур має першорядне значення.

Для покращення стійкості рослин до посухового стресу застосовують певні стратегії селекції, молекулярні та геномні перспективи. Застосування наночастинок, плівкове землеробство, використання посухостійких сортів рослин, надпоглинаючих гідрогелів та біовугілля – приклади деяких методів, які використовуються в рослинництві для полегшення стресу від посухи. Однак більшість із цих практик є трудомісткими та дорогими з обмеженими перевагами.

На теперішній час більш вживаними є і інші способи, які включають ґрунтування насіння біостимуляторами, використання гормонів росту та осмопротекторів. Застосування препаратів на основі бактерій, що стимулюють ріст рослин, виявилось переважною стратегією. Бактеріальні препарати надають рослинам індуковану системну стійкість до посухового стресу за допомогою різноманітних механізмів, таких як покращення антиоксидантної системи, вироблення АСС-дезамінази та фітогормонів, фіксація азоту, солюбілізація фосфатів, утворення сидерофорів та екзополісахаридів, покращення системи коренів та пагонів, посилення швидкості фотосинтезу та вироблення каротиноїдів [14].

Комерційна придатність бактеріальних препаратів, як біостимуляторів, залежить від відбору та продуктивності стійких штамів у різних умовах навколишнього середовища. Одночасно, існує велика кількість ефективних фітогормональних препаратів, здатних захистити рослини від посухового стресу, причому, як наголошують розробники, фітогормональні препарати відіграють не менш важливу роль поряд з бактеріальними. Тому, першочерговим завданням виробника рослинної продукції є обрання ефективних препаратів для протидії негативним проявам умов вирощування виходячи з об'єкту вирощування і фінансової спроможності підприємства.

1.2. Методи моделювання посух

Пшениця є однією з найважливіших зернових культур для сільського господарства України. Клімат і умови Полтавщини забезпечують унікальні переваги для великомасштабного вирощування цієї культури. Проте в останні роки глобальні зміни клімату призвели до непередбачуваних природних аномалій в регіонах вирощування, що відобразилось на обсягах врожаїв. У відповідь на такі зміни температурного режиму і забезпеченість вологою з'явилися різноманітні інноваційні та передові методи вирощування, які включають генетичне вдосконалення та збереження ґрунту для підвищення врожайності при одночасному зниженні потреби у водних ресурсах. Однак, незважаючи на ці досягнення, зміна та мінливість клімату, зокрема, посуха та високі температури, можуть знизити врожайність пшениці приблизно на 50%. Тому, вивчення механізмів адаптації цієї культури до посушливих та водно-дефіцитних умов вирощування і розробка технологічних методів подолання посухового стресу є першочерговим завданням як науковців, так і виробників. Відповідно, необхідно добре розуміти, як посуха впливає на функціональні властивості рослин, оскільки це вплине на продуктивність сільськогосподарського виробництва цієї культури в цілому, отже, є потреба в моделюванні умов посухи і дослідженні поведінки рослин.

На теперішній час розрізняють декілька типів посухи, за різними авторами їх від трьох до шести:

1. Метеорологічна посуха: пов'язана з дефіцитом опадів протягом тривалого періоду часу та є джерелом інших типів посухи.

2. Кліматична посуха: спричинена недостатньою кількістю опадів, а не конкретним числом, представлена відношенням до середнього або нормального значення.

3. Атмосферна посуха, на яку впливають температура, вологість, швидкість вітру, атмосферний тиск та інші метеорологічні змінні на додаток до опадів.

4. Сільськогосподарська посуха, яку також іноді називають «грунтовою» посухою, означає брак води для задоволення потреб рослинництва або росту рослин. Загалом, це означає дефіцит вологи в кореневій зоні ґрунту.

5. Гідрологічна посуха пов'язана з дефіцитом поверхневих і підповерхневих вод.

6. Посуха, пов'язана з управлінням водними ресурсами, яка визначається як нестача води в результаті або фактичного використання водних ресурсів, або руйнування інфраструктури.

З метою вивчення реакції рослин на стрес від посухи, розроблено низку різних методів моделювання посушливого стресу, кожен з яких має певні переваги та недоліки [15].

Одним з основних методів моделювання посухи є **метод контролю ґрунтової води** (рис. 1.2), в якому використовують вимірювач вологості ґрунту. За результатами вимірювань встановлюють тип посухи: легка посуха, помірна посуха та сильна посуха, що відповідає відносному вмісту води в ґрунті 50-60%, 40-50% та 30-40%, відповідно. Очевидною перевагою цього методу є те, що він дуже близький до вирощування в природних умовах з прогресуючої втрати води, тому він може відобразити реальний стан рослини, близький до природного. Недоліками цього методу є величина водного потенціалу (Ψ_w) [16].

Водним потенціалом називається стан вільної енергії у воді. Він може точно характеризувати водний стан рослин, коли використовується разом з відповідними фізіологічними даними, і його можна застосовувати для різних типів ґрунтів та умов навколишнього середовища. Однак ґрунтова посуха зазвичай контролює вміст вологи в ґрунті в певному діапазоні, що також призводить до того, що Ψ_w завжди знаходиться в динамічній зміні залежно від багатьох факторів, включаючи тип ґрунту, час відбору зразків тощо [17].

Як експериментальний ґрунт в дослідженні впливу ґрунтової посухи на морфологію коренів райграсу і бромусу було запропоновано використання

30% супіску і 70% дрібного піску [16], що могло певною мірою зменшити шкоду від відбору коренів для аналізу.

Автори роботи [18] запропонували використовувати комбінацію вермикуліту і перліту для заміни ґрунту для імітації посухи, що дійсно є ефективним заходом, але оскільки цей ґрунт не містить поживних речовин, контроль води неминуче призведе до нестачі поживних речовин у рослині, що вплине на результати експерименту.

У польових дослідженнях посухи обмежуються використанням іригаційних споруд. У дослідженні [19] при вирощуванні пшениці були імітовані різні режими посухи: повна відсутність зрошення від посіву до збору врожаю; обмежене зрошення, з одним поливом на стадії утворення зерен; і достатнє зрошення з одним поливом на стадії утворення зерен і належним зрошенням на стадії наливу зерна. Цей експеримент вважають дуже надійним, оскільки він потребує аналізу великої кількості фенотипових даних, і може відображати справжній стан рослини. Передумовою застосування даного методу є те, що природні опади між сезонами повинні бути відносно стабільними.

Метод гідропонної посухи (відомий як метод зневоднення) є методом вивчення посушливого стресу, в якому листя рослин підвішують у рівномірному потоці повітря для зневоднення при постійній температурі протягом фіксованого часу і визначають відносний вміст води для визначення ступеня стресу від посухи, тобто для регулювання водного статусу листя. Головна перевага цього методу полягає в тому, що водний потенціал можна точно контролювати в режимі реального часу і він має високу повторюваність [20].

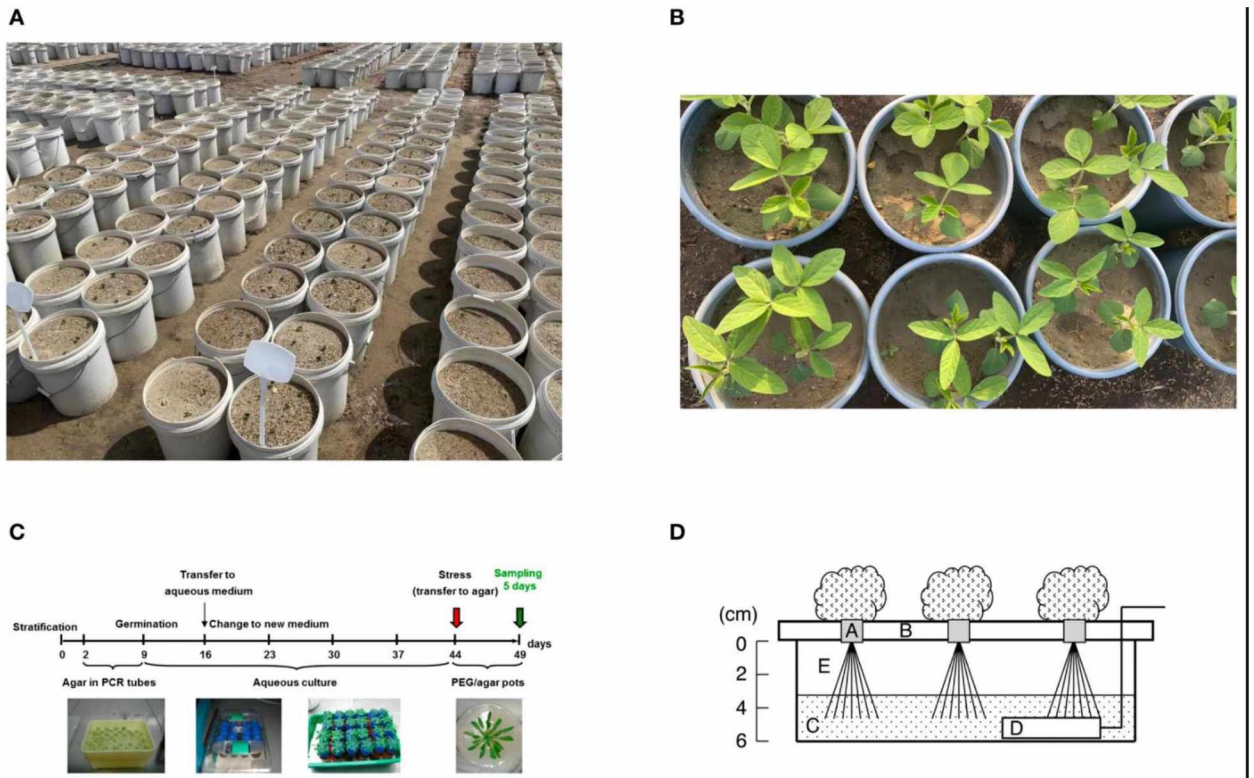


Рис. 1.2 Експериментальні моделі посухи [16]:

A – метод ґрунтової посухи на основі контролю води;

B – експеримент з посухою на основі ПЕГ + пісок;

C – модель інфузії арабідопсису таліани на основі ПЕГ + агар (інкубація затверділого агарового середовища з розчином ПЕГ8000 протягом 5 днів.

D – схематичний вигляд гідропонної системи, що використовується для індукції посушливого стресу для коренів листкових овочів

Моделювання посухи за використання **осмотичних агентів**. Рослини, які переживають ґрунтову посуху, виявляють зневоднення як клітинних стінок, так і самих клітин. Отже, для того, щоб відтворити ефект зневоднення ґрунту, можна використовувати осмотичні агенти – речовини з достатньо великою молекулярною масою і здатними проходити крізь клітинні стінки. Використання таких агентів ускладнюється, якщо вони проходять через клітинну стінку, проникають всередину клітини через клітинну мембрану, метаболізуються або зазнають інших змін.

До поширених осмотиків належать маніт, ПЕГ 6000, ПЕГ 8000 та ін. Стрес від посухи, спричинений цими речовинами, часто називають «осмотичним стресом». Різні осмотичні речовини спричиняють різні ефекти, але ПЕГ 6000 у порівнянні з манітолом за однакового осмотичного

потенціалу є менш шкідливим для рослин, що було доведено дослідженням на проростках кукурудзи. Наразі ПЕГ залишається найпоширенішою речовиною, що використовується в експериментах з моделювання умов посухи. Молекула ПЕГ має велику молекулярну масу, як будь-який полімер, і різну ступінь полімеризації, тому ПЕГ існує як ПЕГ 400, 1500, 4000, 6000, 20000.

ПЕГ є ідеальним регулятором водного потенціалу для імітації посухи ґрунту, оскільки молекули з молекулярною масою 6000 або вище не можуть проходити крізь клітинні стінки, він може точно контролювати водний потенціал і відображати стан рослини при певному осмотичному потенціалі [21].

В експериментах ПЕГ можна використовувати в поєднанні з живильним середовищем для визначення фенотипових змін рослин в умовах гідропоніки, або ПЕГ і живильний розчин у поєднанні з культурою піску для імітації посушливого стресу протягом тривалого часу. На основі ПЕГ-моделей було вивчено багато чутливих до посухи метаболітів, білків або генів рослин.

У той же час використання ПЕГ для моделювання посухи не завжди відтворює природні умови. ПЕГ – це осмотичний агент, який може швидко спричинити втрату води рослинами. В природі зменшення вмісту води в ґрунті під час природної посухи є повільним процесом, тому постає питання, чи можна вважати ПЕГ і ґрунтову посуху спільним стресом від посухи? Зазвичай ПЕГ можна назвати «модельною посухою». Крім того, довготривале застосування ПЕГ може спричинити накопичення солей у піщаному середовищі і, таким чином, спричинити токсичні ефекти. ПЕГ, маніт та інші речовини, що є осмотичними агентами можуть призвести до окислювального стресу в рослинах, внаслідок чого утворюється велика кількість активних форм кисню (АФК). Високий вміст цукру (глюкози або сахарози) також може бути використаний для моделювання осмотичного стресу, але через специфіку матеріалу може призвести до змін в інших метаболічних шляхах.

Загалом, можна вважати, що використання ПЕГ для моделювання посушливого стресу все ще залишається ефективним методом вивчення реакції рослин на посуху в умовах фіксованого водного потенціалу.

1.3. Стрес-протекторний вплив фітогормонів на рослини при вирощуванні в умовах посухи

Посуха, будучи одним із абіотичних стресів, є одним з найбільш руйнівним чинником розвитку та росту рослин [22]. У відповідь на стрес від посухи рослини запускають різні фізіологічні, фенологічні, морфологічні та біохімічні механізми, засновані на підтримці свого клітинного осмотичного потенціалу [23], а також виробляють гормони, які регулюють рефлексії стресу від посухи протягом усього життя, активують різні фізіологічні процеси, такі як негативний фототропізм у коренях, осмотичний баланс та закриття продихів [24].

Зменшення довжини та ваги гіпокотилу у проростків через водний стрес можна пом'якшити застосуванням гіберелінової кислоти, яка допомагає підтримувати внутрішній водний баланс і синтез білка в рослинах, які страждають від посухи [25]. Устьична провідність, а також фотосинтез і швидкість дихання збільшуються у пшениці та кукурудзи після застосування гіберелінової кислоти, і це призводить до вищих урожаїв зерна незважаючи на дефіцит води під час вирощування [26]. Екзогенне застосування абсцизової кислоти, уніконазолу, брасіноліду та жасмонової кислоти може покращити продуктивність зернових культур під час посухи [27, 28]. Представник цитокінінів, бензиладенін, є гормоном, який регулює механізм стійкості до посухи в різних рослинах, включаючи кукурудзу, пшеницю, ячмінь. В умовах стресу від посухи, уніконазол і брасінолоїд сприяють збільшенню активності супероксиддисмутази, пероксидази та каталази в листях рослин [29].

Абсцизову кислоту, яка є сесквітерпеноїдом, було відкрито на початку 1960-х років. Встановлено, що цей фітогормон відповідає за вихід насіння зі стану спокою. Коли рослини піддаються стресу від посухи, охоронні клітини

регулюють осмос, активуючи гени, які кодують білки, щоб запобігти зневодненню всіх рослинних клітин. Крім того, абсцизова кислота модулює архітектуру кореня різними способами, включаючи формування бокового кореня та адаптивні морфологічні зміни, такі як зменшення діаметра ксилеми для сприяння аксіальній гідравлічній провідності ґрунту в умовах дефіциту води. Збільшення концентрації абсцизової кислоти під час посухи діє як сигнал і запускає сигнальний каскад у клітинах, що регулюють тургор клітин. У відповідь на абіотичний стрес біосинтез і перерозподіл абсцизової кислоти спричиняє закриття продихів і знижує швидкість транспірації, обмежуючи ріст клітин [30].

Гібереліни є тетрациклічними дитерпеноїдними карбоновими кислотами, необхідними для біологічних функцій рослин і стресостійкості. Це одна з найдавніших і добре відомих груп регуляторних гормонів, інтегрованих у численні процеси розвитку рослин, такі як проростання насіння, міжвузлове подовження, індуковане цвітіння та розвиток плодів. Відомо понад 250 членів групи гіберелінів, з них лише деякі є біологічно активними і відіграють багатогранну роль у розвитку рослин. Точний механізм, що лежить в основі опосередкованої гіберелінами модуляції стійкості рослин до посухи, залишається невідомим. Однак, відомо, що гібереліни виявляють позитивний вплив на рослини протягом усього їхнього життєвого циклу, сприяючи подовженню та поділу клітин під час ювенільних та дорослих стадій. Багато досліджень виявили, що гібереліни значно покращують стійкість рослин до посухи [31]. Реагуючий на посуху білок, що зв'язує елементи, що реагують на гідrataцію, покращує стійкість до посухи шляхом зниження експресії генів біосинтезу гібереліну. Стверджується, що знижені рівні гіберелінової кислоти в рослинах покращують стійкість до посухи [32]. Подібно до інших гормонів, екзогенне застосування гіберелінів також відновлює фізико-метаболічні особливості рослин і підвищує їх стресостійкість, у тому числі, обумовлену посухою.

Жасмонова кислота – головний регулятор росту рослин є похідним α -лінолевої кислоти. Жасмонова кислота модулює біологічні процеси в рослинах у відповідь на абіотичні стреси, такі як посуха, спека, охолодження [33]. Механізм дії жасмонової кислоти подібний до механізму дії абсцизової кислоти, оскільки обидва гормони індукують закриття продихів, додатково посилюючи виробництво антиоксидантних молекул, таких як дегідроаскорбатредуктаза, аскорбат, глутатіонредуктаза і монодегідроаскорбатредуктаза, і, отже, стресостійкість рослин. Крім того, накопичення жасмонової кислоти в коренях рослин збільшує концентрацію абсцизової кислоти і, таким чином, вони функціонують синергетично, щоб підвищити стресостійкість рослин [34].

Цитокініни біологічно залучені до процесу росту рослин, розвитку та акліматизації до стресу. Представники даної групи гормонів відіграють численні ролі в морфогенезі рослин. Вони регулюють поділ клітин і взаємодіють з ауксинами, щоб контролювати апікальне домінування, бічні розгалуження та співвідношення корінь-пагін у непошкоджених рослинах і культурах тканин. Рослини природним чином виробляють ряд цитокінінів, які приймають участь у передачі сигналів під час стресу. З одного боку цитокініни служать негативним регулятором, індукуючи експресію певних генів, тим самим акліматизуючи рослину під час стресу [35], з іншого боку цитокініни виявляють і позитивний регуляторний ефект, зумовлюючи затримку старіння рослин. Наприклад, інокуляція насіння сої *Azospirillum brasilense* пом'якшує стрес від посухи, індукуючи виробництво ендогенних фітогормонів, таких як цитокініни, що сприяє підвищенню врожайності зерна на 19% [36].

Ауксини є ендогенними регуляторами росту рослин і, переважно, беруть участь у формуванні коренів/пагонів та відносному рості. Доведено, що ауксини працюють у різних клітинних або фізіологічних процесах, таких як прогресія клітинного циклу, розширення клітин, апікальне домінування, розвиток листків та ембріональний розвиток під час дозрівання насіння. Важливим рослинним гормоном, який регулює певні біологічні процеси від

спокою насіння до розвитку, є індолацтова кислота, . Посуховий стрес у рослин викликає швидко надлишкову експресію гену, який належить до сімейства білків флавінмонооксигенази, відповідальних за біосинтез ауксину. Надмірна експресія генів цього сімейства пов'язана з апікальним спокоєм, через що високе стебло стає тонким і підвищує стійкість рослин до посухи. Ауксини також сприяють стійкості рослин до посухи шляхом модуляції кореневої архітектури [37]. Як і цитокініни, вони діють у синергії з абсцизовою кислотою. Таким чином, надмірна експресія генів, що реагують на абсцизову кислоту, спричиняє накопичення АФК та активацію ауксину [38].

Мелатонін (N-ацетил-5-метокситриптамін) є біогенним індолеаміном, структурно пов'язаним з іншими важливими речовинами, такими як триптофан, серотонін, індол-3-оцтова кислота, який виконує низку різноманітних функцій в рослинах. Після його відкриття в рослинах у 1995 році деякі автори постулювали багато фізіологічних ролей мелатоніну, хоча в цілому дослідження мелатоніну в рослинах явно недостатні. Встановлено, що крім антиоксидантних функцій, мелатонін бере участь у багатьох фізіологічних процесах в рослинах, таких як ріст, укорінення, проростання насіння, фотосинтез та захист від абіотичних і біотичних стресів. З ідентифікацією першого рослинного рецептора мелатоніну, цю регуляторну молекулу вважають новим рослинним гормоном [39, 40].

Враховуючи виняткову роль фітогормонів у різних фізіологічних процесах рослин, екзогенне застосування цих гормонів у складі фітогормональних препаратів може підвищити стресостійкість рослин [41]. Крім того, застосування мікробів, що продукують гормони, також може сприяти пом'якшенню несприятливого впливу абіотичних стресів на рослини. Вони не тільки сприяють росту, але й покращують доступність поживних речовин у ґрунті, допомагають у засвоєнні поживних речовин та підвищують стресостійкість рослин.

1.4. Властивості саліцилової кислоти у підтриманні стійкості рослин до посухового стресу

Серед фенольних ендогенних регуляторів росту *саліцилова кислота* є одним з найбільш важливих представників і виявлена майже у всіх видів рослин, тому, саме вона була обрана, як фізіологічно-активна речовина в наших дослідженнях. Відтоді, як у 1979 році було відкрито, що саліцилова кислота стимулює стійкість рослин тютюну до вірусу тютюнової мозаїки, з'являється все більше інформації про те, що СК дійсно є ключовим рослинним гормоном, який регулює імунітет рослин, стійкість до абіотичного стресу, ріст і розвиток рослин шляхом регуляції системи антиоксидантного захисту, швидкості транспірації, руху продихів і швидкості фотосинтезу [42]. Встановлено її роль як регулятора низки біохімічних і фізіологічних процесів у рослинах [43]. Широко вивчена її роль в індукції системної набутої стійкості рослин до різних патогенів [44].

Щодо впливу СК на ріст і розвиток рослин, то слід відмітити його неоднозначність і залежність від концентрації кислоти, умов росту та стадій розвитку рослин, тобто, залежно від концентрації СК здійснює або стимулюючий, або інгібуючий вплив на ріст рослин. Експериментально доведено, що обробка 0,05 мМ СК стимулювала ріст проростків пшениці і формування більших колосків, 0,5 мМ СК посилювала фотосинтез у пшениці. У тютюну 0,1 мМ СК зменшувала ріст пагонів і розмір клітин епідермісу листя. У ромашки 0,05 мМ СК значно стимулювала ріст розеткових листків і коренів на 32 і 65%, відповідно, тоді як 0,25 мМ СК зменшувала його на 40 і 43%, відповідно.

Загалом, для певного виду рослин нижчі концентрації екзогенної СК мають стимулюючий ефект, тоді як вищі можуть негативно впливати на ріст. Слід зазначити, що порогова концентрація СК між стимуляцією та інгібуванням росту може відрізнятися для різних видів рослин. Ці контрастні ефекти, зумовлені різними концентраціями екзогенної СК, вказують на те, що ця сполука відіграє складну роль у рості рослин [45].

Важливу роль відіграє саліцилова кислота у покращенні посухостійкості і підвищенні врожайності культур, у тому числі пшениці озимої, в умовах дефіциту води. СК є молекулою стрес-сигналу, яка активує експресію генів, що реагують на абіотичний стрес, і індукує експресію біосинтетичних ферментів і білків у рослинах пшениці під впливом умов вирощування. Вважається, що експресія цих генів призводить до зниження виробництва АФК у фотосинтетично активних тканинах рослин. В ряді досліджень показано, що застосування СК призвело до позитивного ефекту у захисті рослини від окисного пошкодження, спричиненого посуховим стресом [46, 47]. Ефективним виявилось застосування саліцилової кислоти та її похідних у позакореневій обробці та обробці насіння, що сприяло підвищенню стійкості до посухи посівів пшениці завдяки посиленню каталазної активності пшениці. Застосування саліцилової кислоти в технологіях вирощування пшениці опосередковано збільшує накопичення проліну через збільшення вмісту абсцизової кислоти, що забезпечує стрес-протекторну дію СК при вирощуванні пшениці в умовах посухи [48, 49].

Таким чином, СК можна вважати ефективним фітогормоном, який слід використовувати для послаблення негативних наслідків посухового стресу при вирощуванні пшениці в регіонах нестійкого зволоження.

1.5. Властивості бактеріальних біостимуляторів та їх вплив на посухостійкість рослин

Протягом останніх десятиліть генна інженерія та селекція рослин використовувалися для виведення нових сортів з бажаними характеристиками, такими як висока врожайність та стійкість до абіотичних стресів. Однак комерційний успіх генетично модифікованих культур був меншим через етичні обмеження щодо генетично модифікованих організмів. Для отримання кращої врожайності сільськогосподарських культур було обрано стратегію застосування хімічних добрив. Однак з часом дослідження та емпіричні дані показали, що цей традиційний метод - використання хімічних добрив - не є

сталим через притаманний цим продуктам негативний вплив на навколишнє середовище. Надмірне використання хімічних добрив призводить до токсичного накопичення важких металів, підкислення ґрунту та утворення ґрунтової кірки, що знижує вміст органічної речовини та гумусу в ґрунті. Підкислення ґрунту також зменшує поглинання фосфатів рослинами, підвищує концентрацію шкідливих іонів у ґрунті та пригнічує ріст культур [50].

Перспективною та екологічно безпечною стратегією для сталого сільського господарства та глобальної продовольчої безпеки, що відповідає цілям сталого розвитку Організації Об'єднаних Націй, виявилось включення біостимуляторів у системи землеробства [51].

Біостимулятор рослин - це будь-яка речовина або мікроорганізм, що застосовується до рослин з метою підвищення ефективності живлення, стійкості до абіотичних стресів та/або якісних характеристик врожаю, незалежно від вмісту поживних речовин. У природі здорові та безсимптомні рослини співіснують з різноманітними мікробами, такими як археї, бактерії, гриби та протисти, які утворюють складні мікробні консорціуми та впливають на ріст і продуктивність рослин. Хоча рослини виробили власні адаптації для пом'якшення більшості біотичних та абіотичних стресів у природі, вони також покладаються на своїх мікробних партнерів для виживання в стресових умовах [41].

У кількох дослідженнях повідомляється про широкий спектр позитивного впливу членів мікробіоти на здоров'я рослин, включаючи пригнічення хвороб, збільшення засвоєння поживних речовин, підвищення толерантності до абіотичних стресів, праймінг імунної системи рослин, індукцію системної стійкості, адаптацію до змін навколишнього середовища або сприяння створенню мікоризних асоціацій. Взаємодія між рослинами та асоційованими з ними мікробними спільнотами не є односпрямованою. Рослина-господар також надає нові метаболічні можливості своїм мікробним партнерам, що призводить до адаптації нішевих спеціалізованих мешканців,

які можуть мати позитивний (мутуалістичний), нейтральний (коменсальний) або згубний (патогенний) вплив на пристосованість рослин.

Серед мікроорганізмів, які мають позитивний зв'язок з рослинами, важливу роль відіграють бактерії, що вільно живуть у ґрунті або колонізують ризосферу, філосферу чи внутрішню частину рослинної тканини (ендофіти), оскільки вони [23]:

- стимулюють ріст коренів;
- роблять поживні речовини ґрунту доступними для кореня рослини;
- фіксують атмосферний азот та покращують родючість ґрунту;
- пригнічують ґрунтові патогени та захищають рослини від різних хвороб;
- підвищують стійкість рослин до різних стресових чинників.

Відомо, що асоційовані з корінням бактерії включають штами з родів *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Beijerinckia*, *Burkholderia*, *Erwinia*, *Enterobacter*, *Rhizobium*, *Flavobacterium* і *Serratia*.

Серед них, рід *Bacillus* розглядається як значуща група бактерій для розробки природних добрив та засобів захисту рослин для застосування в сільському господарстві. Встановлено, що *Bacillus spp.* беруть участь у регуляції росту, розвитку та відповіді рослин на біотичні та абіотичні стресові фактори, такі як посуха, засолення, високі та низькі температури, токсичні метали, перезволоження тощо [52]. Деякі представники роду *Bacillus*, такі як *B.megaterium*, *B.circulans*, *B.coagulans*, *B.subtilis*, *B.azotofixans*, *B.macerans*, *B.velezensis* є відомими PGPB (Plant growth promotion bacteria) – ризосферні, епіфітні та ендоефітні бактерії, що сприятливо впливають на зростання та розвиток рослин.

Біостимулятори на основі *Bacillus spp.* є відносно більш активними, ніж на основі багатьох інших PGPB (наприклад, *Pseudomonas*), оскільки *Bacillus spp.* ефективніше продукують метаболіти і утворюють стійкі спори, які, в свою

чергу, покращують життєздатність рослинних клітин і тому найбільш придатні для сільськогосподарського застосування [53].

Солюбілізація поживних речовин, включаючи фосфор і калій, фіксація атмосферного азоту, виробництво дезамінази 1-аміноциклопропін-1-карбонової кислоти, фітогормонів, що стимулюють ріст рослин, антимікробних сполук, гідролітичних ферментів і сидерофорів, деградація забруднювачів ґрунту, стійкість до абіотичного стресу та індукована системна резистентність – це лише деякі з багатьох прямих і непрямих механізмів, за допомогою яких бактерії сприяють росту рослин.

Однак, незважаючи на функціональну різноманітність бактерій *Bacillus spp.*, завдяки чому вони знайшли широке застосування в біотехнологічній та сільськогосподарській галузях, їхній потенціал ще не повністю вивчений, а, отже, реалізований [54]. Тому, дослідження механізмів, опосередкованих видами *Bacillus*, на стресостійкість рослин є одним з найбільш актуальних наукових завдань у сучасній біотехнології рослин.

Таксономічна класифікація виду Bacillus subtilis:

Домен: Bacteria

Тип: Firmicutes

Клас: Bacilli

Порядок: Bacillales

Родина: Bacillaceae

Рід: Bacillus

Вид: Bacillus subtilis

Рід *Bacillus* вперше був описаний Коном у 1872 році, який охарактеризував його як термостійкі бактерії, що утворюють ендоспори. В даний час цей рід включає понад 336 видів і підвидів, які належать до відділу *Firmicutes* і родини *Bacillaceae* [16]. Морфологічні характеристики бактерій цього роду описані, як паличкоподібні, грампозитивні, аеробні або факультативно анаеробні та каталазопозитивні.

Завдяки своїм фізіологічним можливостям і здатності утворювати ендоспори, *Bacillus spp.* стійкі до несприятливих умов навколишнього середовища і мають широкий діапазон середовищ існування, серед яких – ґрунт. На частку *Bacillus spp.* припадає до 95% популяцій грампозитивних бактерій у ґрунті та ризосфері, що робить їх домінуючим родом. Крім того, вони є одними з найбільш поширених ендофітних бактерій. Популяції *Bacillus spp.* можуть успішно персистувати в ґрунті та ризосфері рослин без будь-якого стійкого впливу на інші бактеріальні популяції. Вищезазначені риси допомагають бактеріальним клітинам розмножуватися і виживати в різних несприятливих кліматичних умовах протягом дуже тривалого часу і забезпечують їм широке застосування в різних галузях, у тому числі у сільському господарстві.

Дані бактерії, які мають багат шарові клітинні стінки, є кращими для виготовлення цільових продуктів завдяки здатності виділяти безліч ферментів, пептидних антибіотиків, молекул сигнальних пептидів та біологічно активних метаболітів, виробляти надзвичайно толерантні ендоспори та швидко рости в різних середовищах. Отже, вони зберігають життєздатність і можуть бути легко сформовані у бактеріальні препарати, що містять корисні штами *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens*, *B. pumilus*, *B. licheniformis*, *B. megaterium*, *B. velezensis*, *B. cereus*, *B. thuringiensis* тощо. Дійсно, біостимулятори на основі бактерій є більш активними порівняно з біостимуляторами на основі інших бактеріальних родів завдяки більш ефективному продукуванню метаболітів та спороутворенню *Bacillus spp.*, що підвищує життєздатність клітин у кінцевих продуктах [28].

Рід *Azotobacter* включає 6 видів, серед яких, *A. chroococcum* є найбільш поширеним у багатьох ґрунтах по всьому світу. Серед сапрофітів, поряд з бульбочковими бактеріями, рід *Azotobacter* є найбільш вивченим. Аеробні бактерії, що належать до роду *Azotobacter*, представляють різноманітну групу вільноживучих діазотрофних (зі здатністю використовувати N₂ як єдине джерело азоту) мікроорганізмів, які зазвичай інгібують ґрунт [21].

Таксономічна класифікація роду Azotobacter:

Домен: Bacteria

Тип: Proteobacteria

Клас: Gammaproteobacteria

Порядок: Pseudomonadales

Родина: Pseudomonadaceae

Рід: Azotobacter

Вид: Azotobacter chroococcum

Бактерії роду *Azotobacter*, які вважаються ризобактеріями, що сприяють росту рослин, синтезують ростові речовини, які значно покращують ріст і розвиток рослин, а також пригнічують ріст фітопатогенів, виділяючи інгібітори. *A. chroococcum* відіграє важливу роль у живленні рослин і сприяє підвищенню родючості ґрунту. Таким чином, він є важливим компонентом інтегрованої системи управління поживними речовинами через його значну роль у підвищенні родючості ґрунту [22].

До родів родини *Enterobacteriaceae*, представники яких описані як RGPB, належать *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Klebsiella*, *Kluyvera*, *Pantoea* і *Serratia*, хоча деякі з цих родів також містять види, які є патогенами рослин [19]. За морфологічними ознаками бактерії роду *Enterobacter* – це грамнегативна пряма паличка, рухлива, з перитрихіальними джгутиками, факультативно анаеробна. Відомо, що *Enterobacter spp.* мають широкий спектр RGP-характеристик, які включають азотфіксацію, розчинення фосфору ґрунту, продукування антибіотиків, здатність виділяти сидерофор, хітиназу, дезаміназу АЦК, гідролітичні ферменти, окрім екзополісахаридів, а також сприяють підвищенню пористості ґрунту. Численні штами ентеробактерій експресують ці активності, які сприяють росту рослин і пригнічують ґрунтові патогени рослин. Через їхню багатогранну роль у процесі вегетації рослин, штами цих бактерій використані при розробці стимуляторів росту рослин та агентів біоконтролю.

Таксономічна класифікація роду Enterobacter:

Домен: Bacteria
Тип: Proteobacteria
Клас: Gammaproteobacteria
Порядок: Enterobacterales
Родина: Enterobacteriaceae
Рід: Enterobacter

Штами бактерії *Paenibacillus polymyxa* були здебільшого виділені з ґрунту та ризосфери, передбачуваних природних місць існування *P. polymyxa* [54]. Одним із основних механізмів захисту рослин певними штаммами *P. polymyxa* є контроль рослинпатогенних грибів, ооміцетів і бактерій шляхом виробництва антибіотичних сполук, таких як нерибосомально синтезовані ліпопептиди поліміксини та фузарицидини, та інших фізіологічно-активних сполук. Так, наприклад, штам *P. polymyxa* E681 суттєво стимулює проростання насіння багатьох культур і виробляє антимікробні сполуки, які захищають рослини від патогенних грибів, ооміцетів і бактерій. Індукована системна стійкість, викликана обробкою насіння або коренів штамом E681, є можливим механізмом захисту системних тканин рослин від біотичних та інших екологічних стресів. Завдяки широкому спектру продукованих сполук і властивостей *P. polymyxa* вважають ефективною бактерією, що не лише стимулює ріст рослин, а і має потенціал біозапіднення, біоконтролю та захисту від абіотичних стресів.

Таксономічна класифікація Paenibacillus polymyxa:

Домен: Bacteria
Тип: Firmicutes
Клас: Bacilli
Порядок: Bacillales
Родина: Paenibacillaceae
Рід: Paenibacillus
Вид: Paenibacillus polymyxa

Всі вищезгадані ризобактерії можуть бути використані при створенні бактеріальних препаратів для використання в сільському господарстві як біостимулятори та біопротектори рослин як альтернатива хімічним препаративним формам [1-3]. Такі бактерії природним чином населяють коріння рослин і навколишній ґрунт (ризосферу), де вони використовують поживні речовини рослинного походження, приносячи користь рослині за допомогою різних прямих або непрямих механізмів [4]. Прямі механізми можуть включати фіксацію атмосферного азоту, розчинення мінеральних фосфатів [5-7], синтез фітогормонів, таких як індол-3-оцтова кислота, які легко поглинаються корінням рослин, а також підвищення стійкості рослин до абіотичного стресу шляхом зниження рівня етилену в рослині-хазяїні за рахунок активності дезамінази 1-аміноциклопропан-1-карбоксилату [8-11]. Непрямі механізми стимуляції росту рослин включають інгібування фітопатогенів, індукцію системної стійкості рослин до патогенів, стабілізацію ґрунтових агрегатів, збереження поживних речовин і структури ґрунту [12].

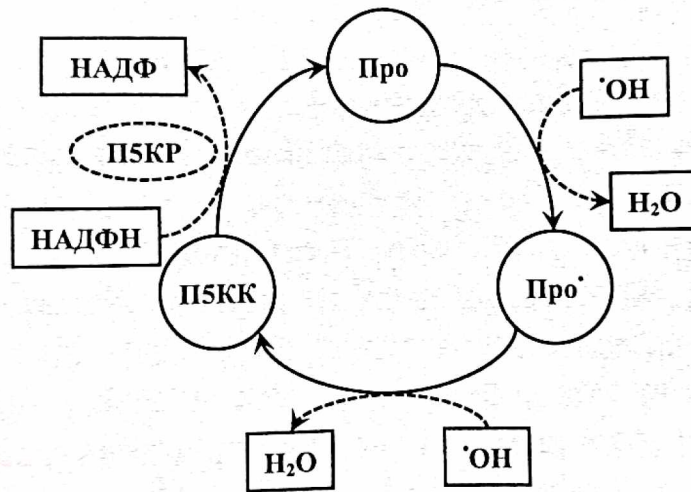
Серед численних біостимуляторів росту рослин, що на теперішній час представлені на ринку, нами було обрано бактеріальний препарат «Граундфікс», який містить комплекс вищезгаданих бактерій *Bacillus subtilis*, *Azotobacter*, *Enterobacter*, *Paenibacillus polymyxa*, *Bacillus megaterium* var. *Phosphaticum*. Доцільність використання даного препарату обумовлена присутністю навіть лише *B. Subtilis*, яка симбіотично або синергетично взаємодіє з рослинами, представляючи взаємно корисну взаємодію рослина-бактерія та володіючи здатністю індукувати ріст і врожайність рослин за умов нормального росту та стресу [55, 56]. Крім того, штами *B. subtilis* здатні колонізувати внутрішні тканини рослин (ендофіти), які вважаються більш ефективними для захисту рослин від стресу, ніж штами ризосфери (епіфіти) [57]. Бактерії також можуть впливати на середовище рослинного ґрунту, зменшуючи втрату азоту в ґрунті сільськогосподарських угідь, підвищуючи ефективність використання азоту та врожайність культур, зменшуючи нітрифікацію та збільшуючи денітрифікацію [57]. Ці механізми стійкості

рослин до посухи, обумовленої *Bacillus* описані в роботах [57]. Однак багато аспектів взаємодії між ендоситом *B. subtilis* і пшеницею в умовах посухи залишаються неясними і потребують подальшого детального дослідження.

1.6 Пролін, як представник стресових метаболітів з антиоксидантними властивостями

Накопичення великої кількості проліну є адаптивною реакцією рослин на різні біотичні та абіотичні стреси. Ця імінокислота є одним із найбільш багатофункціональних стресових метаболітів рослин. У даний час вважається, що, крім відомої функції сумісного осмоліту, він виконує антиоксидантні функції. Також пролін розглядається як низькомолекулярний шаперон, який може брати участь у підтримці нативної структури ферментів, зокрема антиоксидантних.

Останніми десятиліттями найбільша увага приділяється саме антиоксидантним ефектам проліну. Його структурні особливості дають підстави розглядати можливість прямої інактивації радикальних форм кисню. Зокрема, пролін може мати велике значення в інактивації гідроксильного радикала. Авторами роботи [58] запропоновано модель, яка пояснює механізм процесу. Згідно з цією моделлю, молекула проліну по черзі зв'язує два гідроксильні радикали, перетворюючись на Δ^1 -піролін-5-карбонову кислоту, яка за участю НАДФН і Δ^1 -піролін-5-карбоксилатредуктази відновлюється до проліну:



У цілому пролін багатогранно впливає на функціонування рослин у стресових умовах. При цьому багато його ефектів зумовлені прямим і непрямим впливом на про/антиоксидантну рівновагу в клітинах. У той же час пролін може чинити не тільки антиоксидантну, але й прооксидантну дію. Його катаболізм у мітохондріях може спричиняти посилення утворення АФК.

Разом з тим у багатьох дослідженнях вивчаються зв'язки між вмістом проліну і стійкістю видів або сортів рослин до стресових чинників, особливо пов'язаних із зневодненням. У деяких випадках вплив на вміст проліну бути однією з причин стрес-протекторної дії ФАР. Порівняльний аналіз вмісту проліну у рослин за нормальних та стресових умов разом з активністю антиоксидантних ферментів слугує показником ефективності захисної відповіді.

РОЗДІЛ 2. ОБ'ЄКТ ТА МЕТОДИКА ПРОВЕДЕННЯ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Об'єкт дослідження

Для дослідження нами були приготовлені проростки пшениці озимої сорту Антонівка.

Для створення модельної посухи (осмотичного стресу) використано 15% розчин поліетиленгліколю (ПЕГ 6000), приготовлений розчиненням 15 г наважки полімеру у дистильованій воді за кімнатної температури.

Як біостимулятор росту нами було обрано бактеріальний препарат Граундфікс, що містить у своєму складі штами бактерій: *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium var. phosphaticum*, *Azotobacter chroococcum*, *Enterobacter*, *Paenibacillus polymyxa*, характеристика яких наведена у п. 1.5.

Як фізіологічно-активну речовину зі стрес-протекторною активністю обрано саліцилову кислоту.

2.2. Дизайн експерименту

Приготування рослинного матеріалу (проростків пшениці озимої) для встановлення оптимального значення саліцилової кислоти:

1. Насіння пшениці озимої сорту «Антонівка» зі схожістю не менше 70-80% у хімічній склянці промили дистильованою водою, далі залили 70% розчином етанолу та витримали 2 хвилини, спирт злили та залили насіння 2% розчином гіпохлориту натрію на 15 хвилин;

2. Знеражене насіння промили дистильованою водою 8-10 разів, залили ще однією порцією дистильованої води та залишили на 30-40 хвилин;

3. Підготовлене і промите насіння пшениці розклали у стерильні чашки Петрі з орієнтовного розрахунку 200 зернівок на одну чашку, додавши 5 мл дистильованої води. Насіння пророщували в темному термостаті за температури 24°C протягом 2 діб (Рис 2.1.)



Рис. 2.1 Інкубування проростків пшениці у термостаті

Встановлення оптимальної концентрації саліцилової кислоти

Діапазон досліджуваних концентрацій саліцилової кислоти – 10^{-5} – 10^{-9} моль/л.

1. Отримані проростки приблизно однакового розміру з розрахунку 50 проростків на кожен варіант експерименту розклали в чашки Петрі з двома шарами фільтрувального паперу.

2. З маточного розчину СК концентрації 10^{-2} моль/л шляхом розведення приготували серію розчинів концентрації 10^{-5} – 10^{-9} моль/л.

3. Розчини СК визначених концентрацій (10^{-5} – 10^{-9} моль/л) об'ємом 10 мл вносили в кожен чашку відповідних варіантів; в контроль додали 10 мл дистильованої води (рис. 2.2):

КОНТРОЛЬ (дистильована вода)	Варіант 1 (СК 10^{-5} моль/л)	Варіант 2 (СК 10^{-6} моль/л)
Варіант 3 (СК 10^{-7} моль/л)	Варіант 4 (СК 10^{-8} моль/л)	Варіант 5 (СК 10^{-9} моль/л)

Рис. 2.2. Схема дослідження з визначення оптимальної концентрації саліцилової кислоти

4. Оброблені розчином СК проростки пшениці інкубували у закритих чашках Петрі у термостаті за температури 24°C протягом однієї доби;

5. Через добу (на четверту добу від початку експерименту) відібрали по 20 проростків і визначили біомасу пагонів і коренів, зважуванням на технічних терезах ТБМ-0,21-0,001-а-2. Результати представлені у п.3.1.



Рис. 2.3. Визначення біомаси пагонів та коренів проростків пшениці

Приготування рослинного матеріалу (проростків пшениці озимої) для дослідження стрес-протекторних властивостей СК та бактеріального препарату Граудфікс на модельній системі (ПЕГ6000):

1. Насіння пшениці озимої сорту Антонівка зі схожістю не менше 70-80% у хімічній склянці промили дистильованою водою, далі залили 70% розчином етанолу та витримали 2 хвилини, спирт злили та залили насіння 2% розчином гіпохлориту натрію на 15 хвилин.

2. Знеражене насіння промили дистильованою водою 8-10 разів, залили ще однією порцією дистильованої води та залишили на 30-40 хвилин.

3. Підготовлене і промите насіння пшениці розклали у стерильні чашки Петрі з орієнтовного розрахунку 200 зернівок на одну чашку, додавши 5 мл

препарату «Граудфікс». Насіння пророщували в темному термостаті за температури 24°C протягом 2 діб.

4. Отримані пагони приблизно однакового розміру розклали відповідно до варіантів експерименту в чашки Петрі з двома шарами фільтрувального паперу за схемою (Рис.2.4):

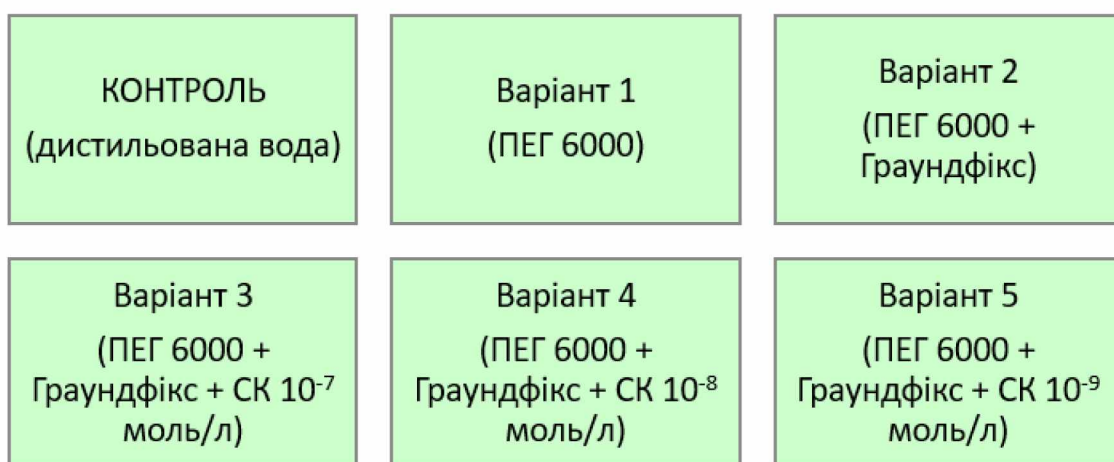
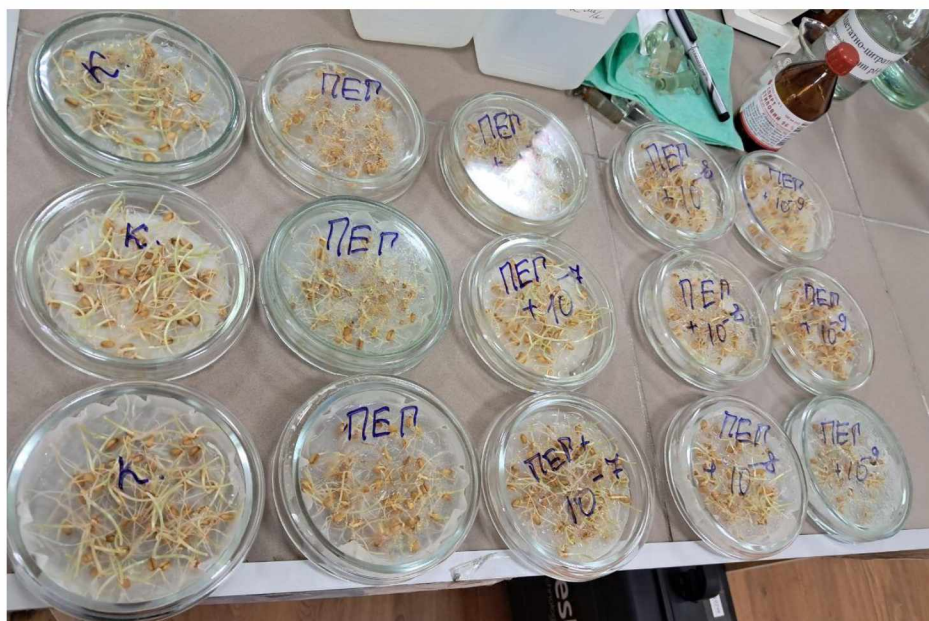


Рис. 2.4. Схема дослідження з визначення стрес-протекторних властивостей саліцилової кислоти та бактеріального препарату Граудфікс на модельній системі (ПЕГ6000)

Протягом однієї доби (третьої з моменту пророщування) проростки пшениці на підготовлених середовищах інкубували у закритих чашках Петрі у термостаті за температури 24°C протягом 1 доби, після чого визначали біомасу пагонів і коренів проростків (кожне повторення складалося не менш, ніж з 20 проростків). Результати представлені у п. 3.2.



*Рис. 2.5. Інкубовані проростки пшениці на модельній системі ПЕГ 6000
(контрольні та дослідні варіанти)*

5. Інгибування росту пагонів та коренів проростків пшениці, спричинене дією ПЕГ, визначали за формулою:

$$I = 100 - (E/C \cdot 100\%),$$

де I – інгибування росту (%), C та E – сира маса органів проростків в контрольному та експериментальному варіантах, відповідно.

Приготування гомогенату проростків пшениці для визначення вмісту проліну

1. Наважку рослинного матеріалу масою 100 мг гомогенізували у дистильованій воді (кінцевий об'єм 10 мл), пробірки з гомогенатом одразу помістили у киплячу водяну баню та кип'ятили протягом 10 хв. Далі гомогенат охолодили і фільтрували через паперовий фільтр.

2. До 1 мл фільтрату додали приготовлену суміш льодяної оцтової кислоти та нінгідринового реактиву (1,25 г нінгідрину розчинили у суміші з 20 мл 6М H_3PO_4 та 30 мл льодяної оцтової кислоти, суміш обережно нагріли на бані до повного розчинення нінгідрину). Пробірки з реакційною сумішшю ретельно закрили ковпачками з фольги та нагрівали на водяній бані при помірному

кипінні протягом 1 год. Контрольна проба (розчин порівняння) містила ті самі реактиви, але замість 1 мл рослинного екстракту 1 мл дистильованої води.

3. Після закінчення кип'ятіння пробірки з пробами охолоджували та вимірювали абсорбцію при довжині хвилі 520 нм на фотометрі ULAB 102 в кюветах з товщиною поглинаючого шару 10 мм. Концентрацію проліну розраховували за калібрувальним графіком, дані для побудови якого отримали, використовуючи комерційний L-пролін. Результати представлені у п.3.3.

Приготування гомогенату проростків пшениці озимої для визначення вмісту пероксиду водню феритіоціанатним методом

1. Пагони та корені проростків пшениці гомогенізували на холоді в 5% розчині трихлороцтової кислоти у співвідношенні – 0,3 г рослинного матеріалу на 10 мл екстрагенту.

2. Проби центрифугували при 8000 g протягом 10 хв за температури 2-4° C.

3. У супернатанті визначали концентрацію H_2O_2 наступним чином:

– в реакційні пробірки вносили по 0,5 мл 2,5 М розчину роданіду амонію, 0,5 мл 50% трихлороцтової кислоти, 1,5 мл супернатанту рослинного матеріалу та 0,5 мл солі Мора;

– у контрольну пробу вносили ті ж самі реактиви за винятком солі Мора. в контрольні зразки замість солі Мора вносили 0,5 мл дистильованої води;

– вимірювання абсорбції проводили за довжини хвилі 480 нм на фотометрі ULAB 102 в кюветах з товщиною поглинаючого шару 10 мм. Концентрацію перекису водню (нмоль/г сирової речовини) визначали за калібрувальним графіком. Результати представлені у п.3.3.

РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ

3.1. Визначення оптимальної концентрації саліцилової кислоти

Для визначення ефекту фітогормонального препарату – саліцилової кислоти – у підвищенні стійкості проростків до посухи, перш за все, виконано дослідження концентраційної залежності саліцилової кислоти щодо впливу на накопичення біомаси пагонів та коренів проростків пшениці. Діапазон дослідних концентрацій становив від 10^{-5} до 10^{-9} моль/л. Визначені показники біомаси коренів та пагонів проростків представлені на Рис. 3.1.

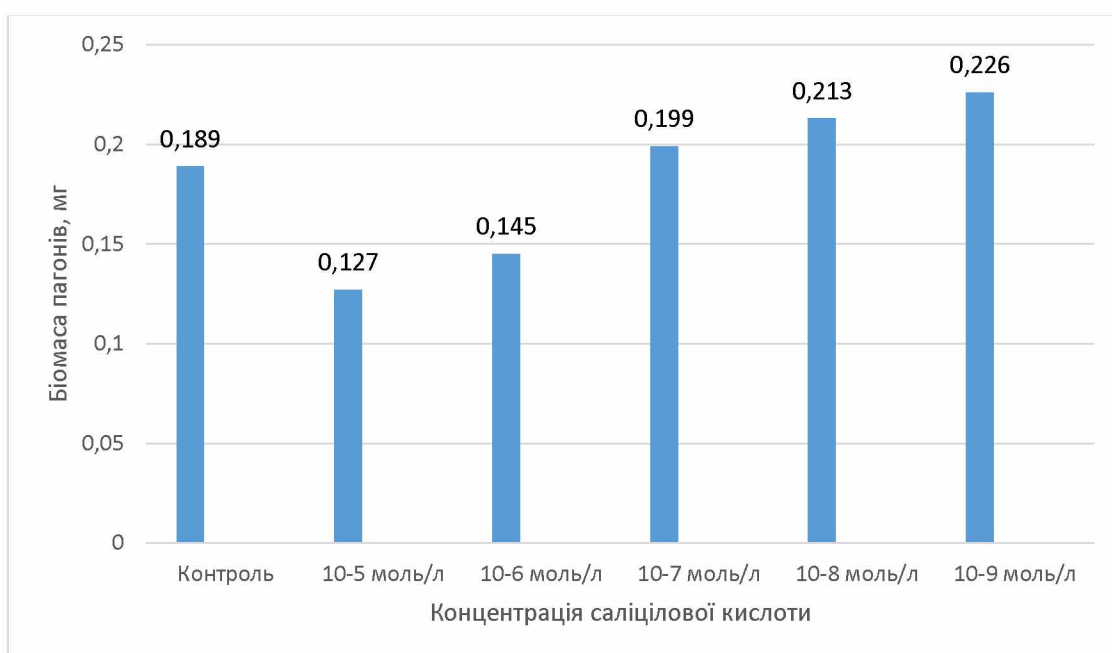


Рис. 3.1. Біомаса пагонів проростків пшениці сорту Антонівка залежно від концентрації саліцилової кислоти

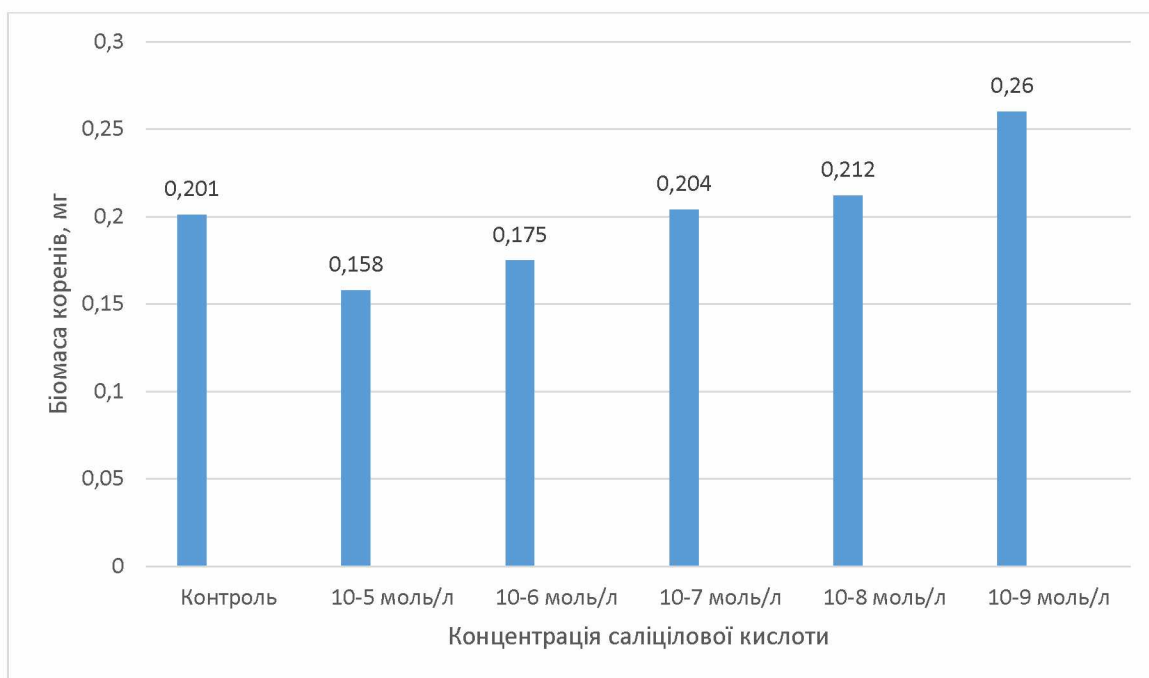


Рис. 3.2. Біомаса коренів проростків пшениці сорту Антонівка залежно від концентрації саліцилової кислоти

Як видно з наведених даних, саліцилова кислота у концентраціях 10^{-5} та 10^{-6} моль/л пригнічує ріст пагонів проростків пшениці на 32,8% та 23,2%, а коренів на 21,4% та 12,9%, відповідно, що свідчить про фітотоксичний ефект саліцилової кислоти у даних концентраціях.

Для інтерпретації отриманих даних використовували показник інгібування росту пагонів та коренів проростків. Результати розрахунку представлені у табл. 3.1.

Таблиця 3.1

Показники інгібування росту пагонів та коренів проростків пшениці сорту Антонівка залежно від концентрації саліцилової кислоти

Концентрація саліцилової кислоти, моль/л	Інгібування росту пагонів, %	Інгібування росту коренів, %
10^{-5}	32,8	21,39
10^{-6}	23,28	12,94
10^{-7}	-5,29	-1,49
10^{-8}	-12,7	-5,47

10^{-9}	-19,58	-29,35
-----------	--------	--------

Отримані від'ємні дані свідчать про те, що інгібування росту пагонів та коренів проростків пшениці сорту «Антонівка» при обробці розчинами саліцилової кислоти концентрація яких 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} моль/л не відбувається.

Таким чином, результати досліджень зводять до висновку, що найбільший фітостимулюючий ефект саліцилова кислота проявляє у концентрації 10^{-9} моль/л. Показники інгібування біомаси пагонів і коренів проростків становлять -19,58 та -29,35%, відповідно.

Крім того, при обробці проростків пшениці СК даної концентрації спостерігали розгалуженість коренів (рис. 3.3).



Рис. 3.3. Проростки пшениці: ліворуч – контроль; праворуч – оброблені розчином саліцилової кислоти $C=10^{-9}$ моль/л

У подальших дослідженнях, крім розчину саліцилової кислоти концентрації 10^{-9} моль/л, яка спричинила максимальний вплив на накопичення біомаси проростків пшениці, було використано також розчини в концентраціях 10^{-7} , 10^{-8} моль/л з помірним фітостимулюючим ефектом.

3.2. Дослідження стрес-протекторних властивостей саліцилової кислоти та бактеріального препарату Граундфікс на модельній системі ПЕГ 6000

Оцінку стрес-протекторних властивостей саліцилової кислоти в концентраціях 10^{-7} – 10^{-9} моль/л та бактеріального препарату Граундфікс, яким попередньо проводили стимулювання насіння, щодо стійкості проростків пшениці до посухового стресу, проводили на модельній системі, створеній агентом осмотичного стресу поліетиленглікалем 6000 (ПЕГ 6000).

Показники біомаси коренів та пагонів проростків пшениці за різними варіантами дослідів представлені на Рис. 3.4 та 3.5.

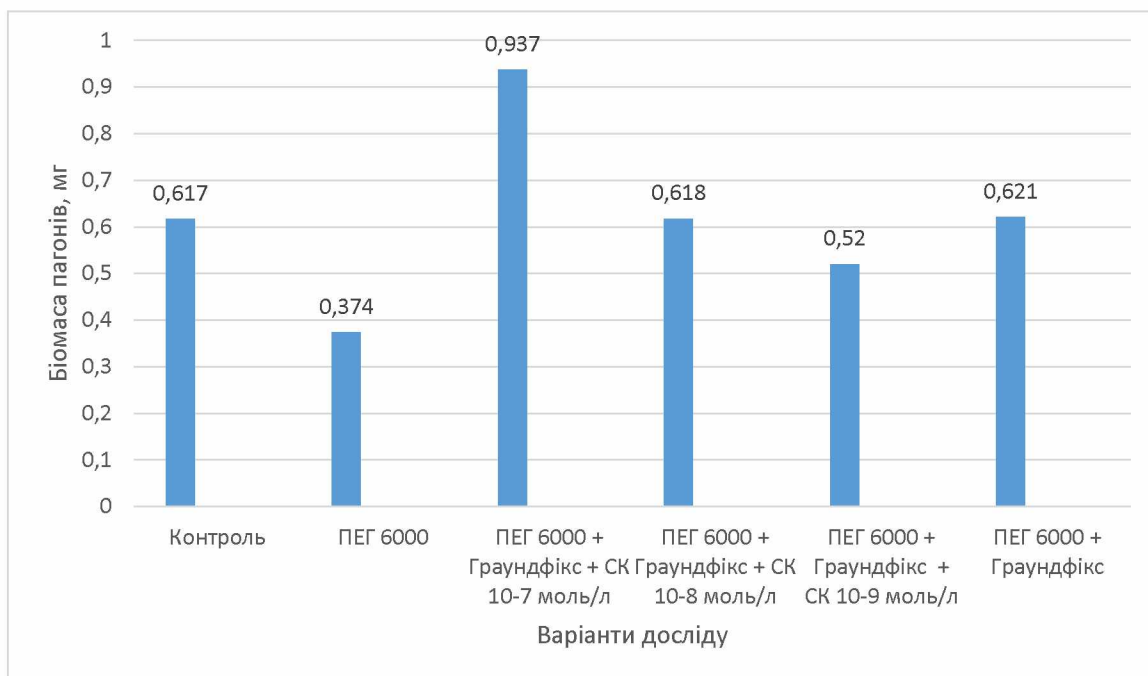


Рис. 3.4. Модуляція інгібуючої дії ПЕГ 6000 на біомасу пагонів проростків пшениці сорту Антонівка за використання біостимулятора Граундфікс та саліцилової кислоти

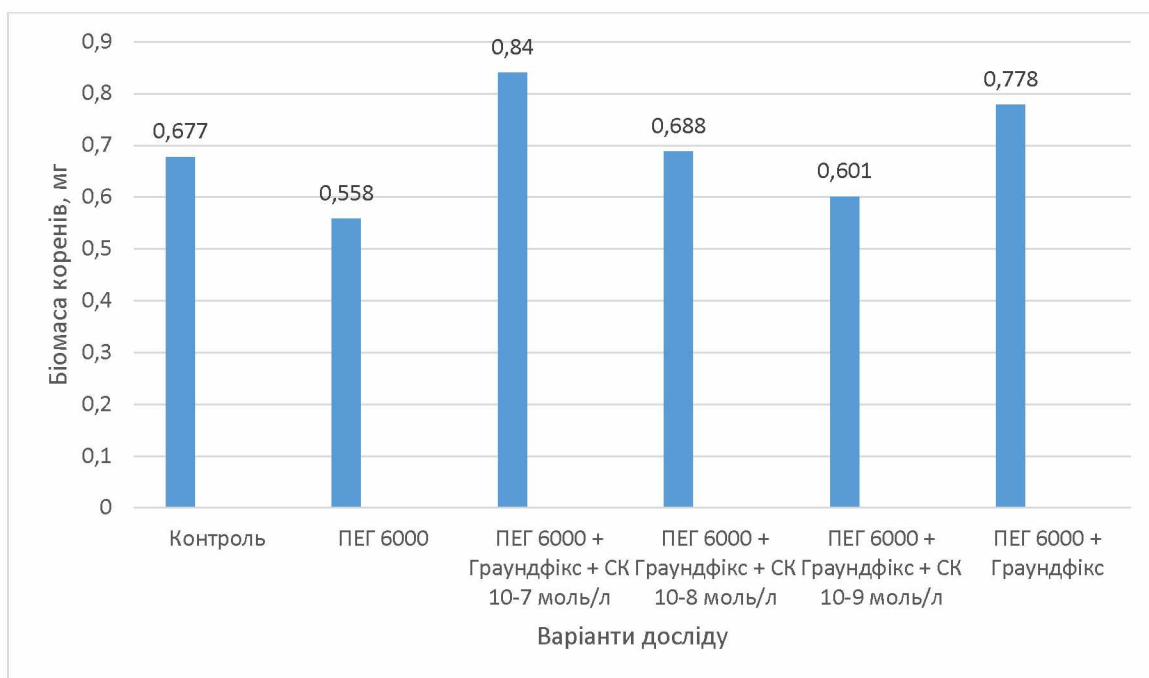


Рис. 3.5 Модуляція інгібуючої дії ПЕГ 6000 на біомасу коренів проростків пшениці сорту Антонівка за використання біостимулятора Граундфікс та саліцилової кислоти

За отриманими даними було розраховано показник інгібування росту пагонів та коренів проростків пшениці сорту Антонівка. Результати відображені у табл. 3.2.

Таблиця 3.2

Показник інгібування росту пагонів та коренів проростків пшениці сорту Антонівка спричинений дією ПЕГ 6000

Дослідні варіанти	Інгібування росту пагонів, %	Інгібування росту коренів, %
ПЕГ 6000 (контроль)	39,38	17,58
ПЕГ 6000 + Граундфікс	-0,64	-14,92
ПЕГ 6000 + Граундфікс + СК 10 ⁻⁷ моль/л	-51,86	-24,08
ПЕГ 6000 + Граундфікс + СК 10 ⁻⁸ моль/л	-0,16	-1,63
ПЕГ 6000 + Граундфікс + СК 10 ⁻⁹ моль/л	15,72	11,23

Добова експозиція проростків пшениці на 15% розчині ПЕГ 6000 (в умовах модельної посухи) викликала пригнічення росту пагонів проростків пшениці сорту Антонівка на 39,38 %, а коренів на 17,58%.

Обробка СК та бактеріальним препаратом Граундфікс пом'якшувала рістінгібувальну дію модельної посухи. Стрес-протекторний ефект на ріст коренів та пагонів СК чинила в концентраціях 10^{-7} та 10^{-8} моль/л, однак, за використання СК в концентрації 10^{-9} моль/л захисної дії не спостерігалось. Загалом, стрес-протекторна дія СК помітніше позначалася на рості пагонів.

Таким чином, результати експерименту щодо дослідження стійкості проростків пшениці до посухи за умов використання біостимулятора Граундфікс та стресового фітогормону – саліцилової кислоти концентрації 10^{-7} моль/л стверджують про їх стрес-протекторну дію. За обробки насіння пшениці бактеріальним препаратом Граундфікс та проростків розчином саліцилової кислоти спостерігається стимуляція росту пагонів та коренів проростків пшениці, які перевищують контроль на 51,86% та 24,08%, відповідно.

3.3 Біохімічні показники, що характеризують стан захисних систем рослин в умовах посухового стресу

Визначення вмісту перекису водню

Серед маркерів розвитку окиснювального стресу у рослинних клітинах за умов посухового стресу, найбільш значущими є показники генерації супероксидного аніон-радикалу, вмісту перекису водню і одного з кінцевих продуктів перекисного окислення ліпідів – малонового діальдегіду. У наших дослідженнях було визначено вміст перекису водню за різних варіантів модуляції посухового стресу на рослини (відповідно до табл.3.2).

Результати відображенні на рис. 3.6 та 3.7.

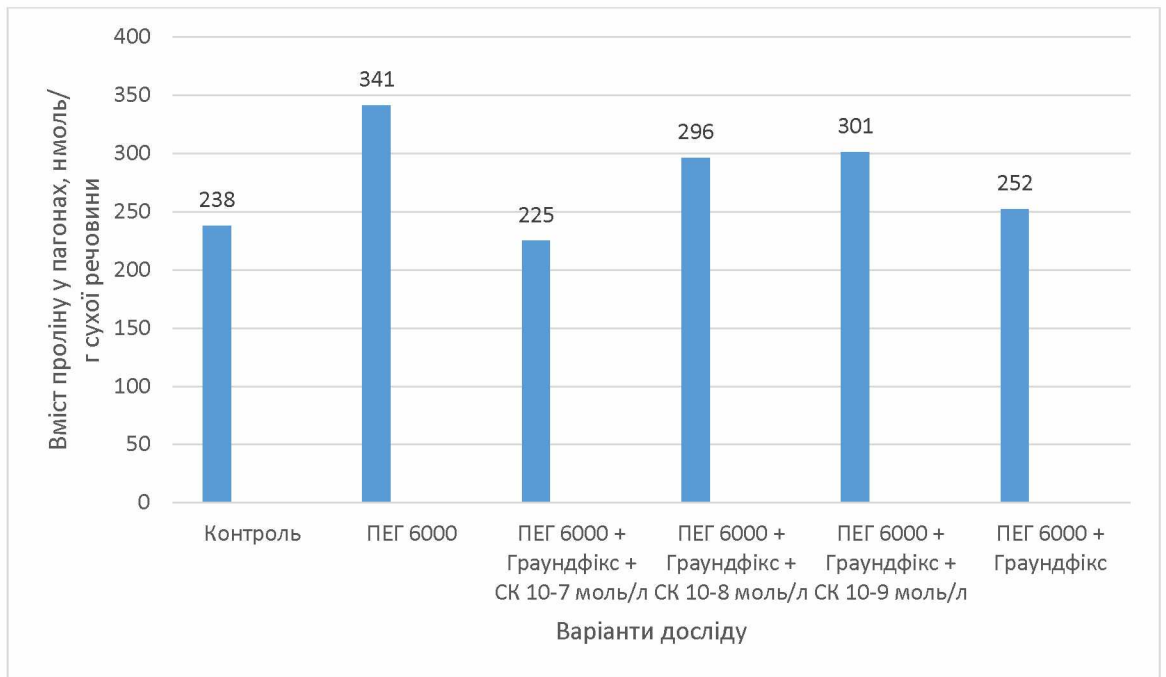


Рис. 3.6 Вміст пероксиду водню у пагонах проростків пшениці сорту Антонівка

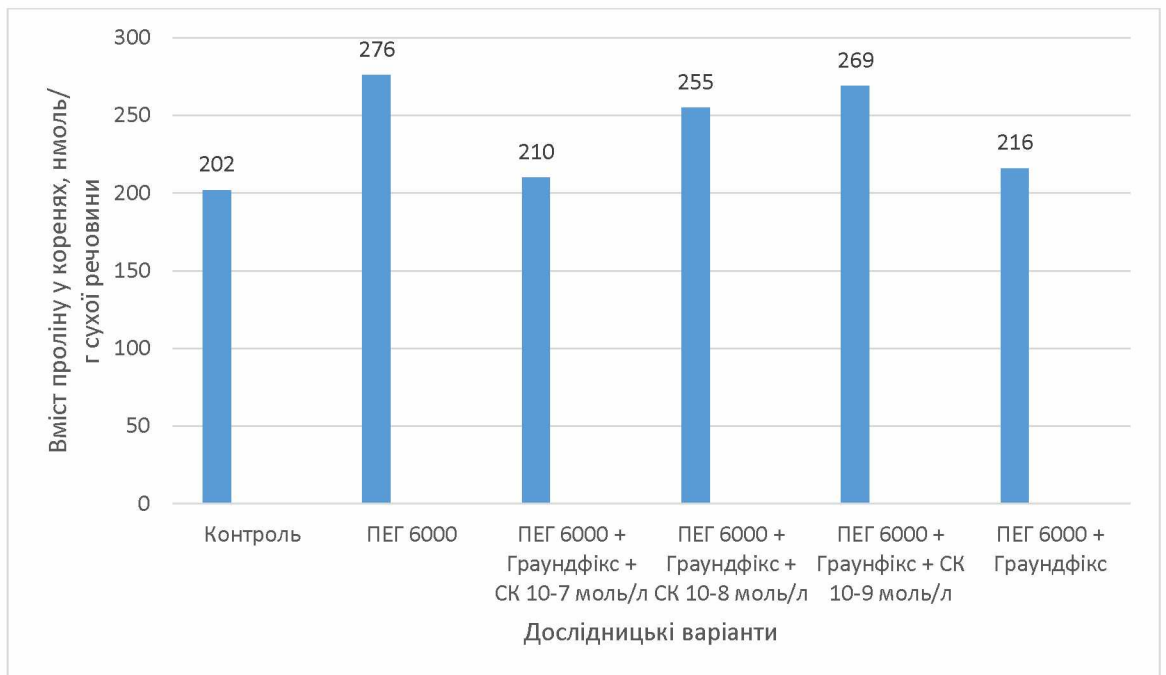


Рис. 3.7 Вміст пероксиду водню у коренях проростків пшениці сорту Антонівка

Вплив модельної посухи спричиняв 1,4-разове підвищення вмісту H_2O_2 у пагонах та 1,3-разове у коренях проростків пшениці сорту Антонівка.

Таким чином, комплексна обробка розчином саліцилової кислоти концентрації 10^{-7} моль/л та бактеріальним препаратом Граундфікс практично повністю усунула підвищення вмісту H_2O_2 , спричинене модельною посухою у коренях та повністю усунула у пагонах проростків пшениці.

Визначення вмісту поліфункціональних стресових метаболітів з антиоксидантними властивостями (вмісту проліну)

Вплив індуктору стійкості – саліцилової кислоти – супроводжувався підвищенням вмісту проліну в проростках пшениці (Рис.3.8).

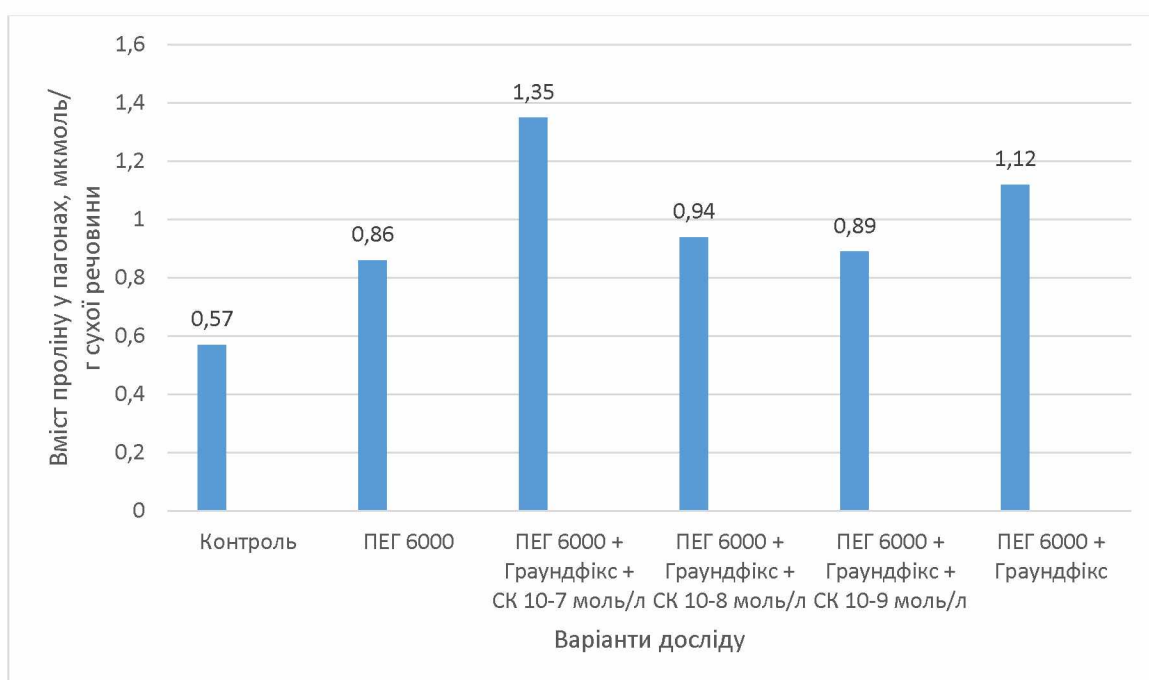


Рис 3.8 Вміст проліну у пагонах проростків пшениці сорту Антонівка

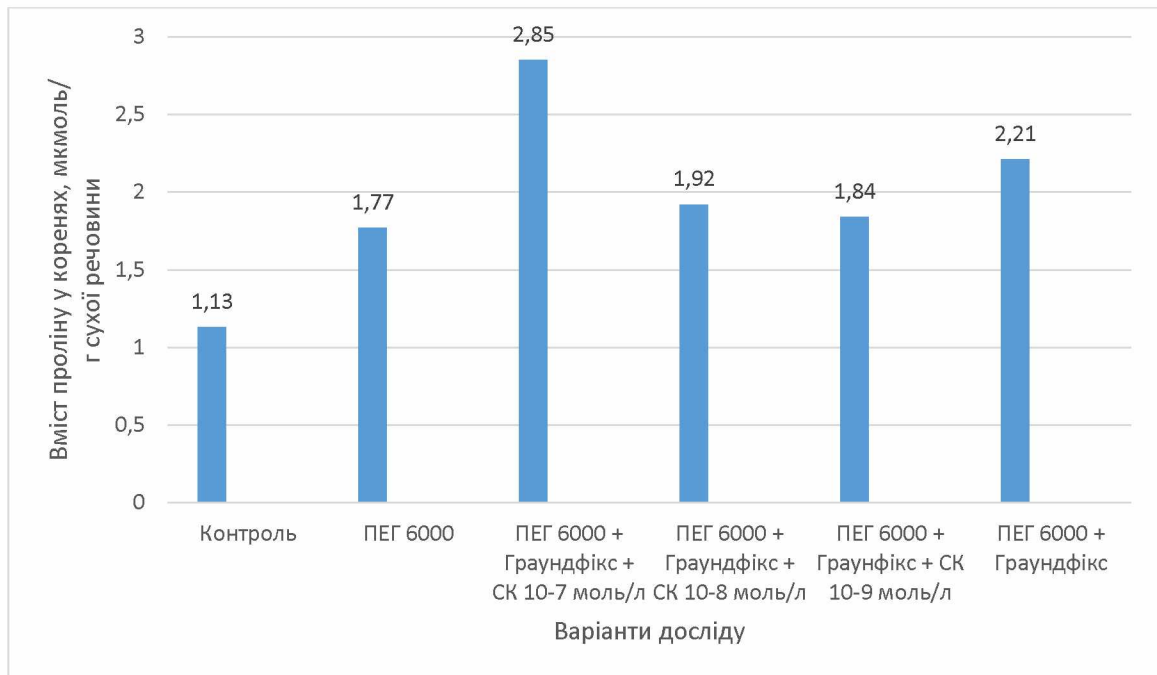


Рис. 3.9 Вміст проліну у коренях проростків пшениці сорту Антонівка

Базовий вміст проліну (контроль) був вищим у пагонах та коренях проростків пшениці сорту Антонівка. Вплив модельної посухи (ПЕГ 6000) викликав збільшення цього показника у коренях на 56,6%, у пагонах на 50,88%.

Отже, комплексна обробка бактеріальним препаратом Граундфікс та саліциловою кислотою у концентрації 10^{-7} моль/л призвела до максимального збільшення вмісту проліну у пагонах у 2,4 рази, а у коренях у 2,5 рази, що є свідченням ефективності запропонованої захисної системи.

3.4. Технологічні аспекти підвищення стійкості пшениці озимої при вирощуванні в умовах посухи

I. Характеристика підприємства

Кваліфікаційна робота була виконана на базі виробничої лабораторії ТОВ «РОСТ АГРО».

ТОВ «РОСТ АГРО» – відомий український насіннєвий завод, розташований в Кременчуцькому районі Полтавської області. Завод щорічно виробляє 350-450 тис. посівних одиниць елітного насіння озимої пшениці,

твердої ярої пшениці, ячменю, кукурудзи, гороху, сої, квасолі. На сьогоднішній день власний земельний банк товариства складає 8500 га, кількість співробітників – 125 осіб [38].

Технологічні заходи з виробництва насіння зазначених культур на підприємстві включають ряд ключових етапів:

1. Вибір земельних ділянок, які відповідають вимогам для вирощування культури з урахуванням ґрунтових умов, кліматичних особливостей та доступу до водних ресурсів.

2. Підготовка ґрунту: виконання необхідних робіт з обробітку ґрунту для створення оптимальних умов для вирощування культури.

3. Вибір оптимальних сортів культури, що відповідають регіону вирощування.

4. Агротехнічні заходи: виконання обробітків, внесення добрив, засобів захисту рослин від хвороб, шкідників, забур'яненості.

5. Управління водними ресурсами: організація систем поливу для відповідного волого-забезпечення у разі необхідності (надвисокий температурний режим періоду вегетації культури).

6. Моніторинг вегетаційного періоду: спостереження за розвитком рослин, вчасне виявлення проблем та прийняття заходів для їх вирішення.

7. Збір та зберігання насіння: організація процесу збору насіння в оптимальні строки дозрівання. Використання відповідних методів сушіння та зберігання для забезпечення якості насіння.

8. Контроль якості отриманої продукції: проведення тестування насіння для визначення його якості та відповідності стандартам.

9. Ведення документації щодо сертифікації насіння та вивчення вимог ринку.

10. Маркетинг та реалізація: розробка стратегії маркетингу та продажу насіння. Взаємодія з аграрними підприємствами та іншими зацікавленими сторонами.

На підприємстві функціонує виробнича лабораторія, яка виконує такі функції:

1. Тестування та відбір сортів, що відповідають вимогам виробництва та мають високий потенціал врожаю.

2. Генетичні дослідження: вивчення генетичної структури рослин для розробки нових сортів з високою стійкістю до хвороб, шкідників та інших стресових умов.

3. Аналіз якості та стійкості: використання різноманітних методів аналізу для визначення якості та стійкості насіння до стресових чинників, таких як хвороби чи погодні умови (тематика нашої кваліфікаційної роботи присвячена вивченню саме цього питання).

4. Тестування сушіння та зберігання: вивчення оптимальних умов сушіння та зберігання насіння для забезпечення його довготривалої якості та збереження високої пророщуваності.

5. Дослідження споживчої якості насіння: визначення основних показників якості насіння відповідно до ДСТУ-4138-2002 та ISTA 2017, у тому числі хімічних показників складу насіння.

II. Технологія підготовки насіння та обробки посівів пшениці озимої

На даному виробництві використовують наступну технологічну схему підготовки посівного матеріалу (Рис. 3.10):

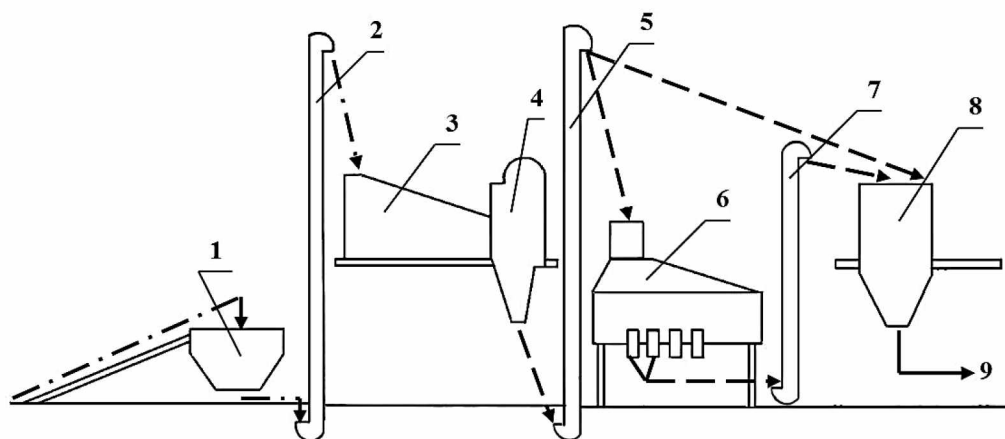


Рис. 3.10. Технологічна схема лінії для підготовки посівного матеріалу

1 – бункер приймальний; 2,5,7 – норія для насіння; 3 – сепаратор БСХМ-16 4 – аспіратор БСХ-100.20; 6 – стіл гравітаційний ПСС; 8 – дозатор «Норма С»; 9 – шнековий протруювач

Схема включає: сепаратор БСХМ-16 (для очищення насіння від частинок різних геометричних розмірів, 3; камера аспіраційна марки БСХ-100.20 із замкнутим циклом повітря і діаметральним вентилятором для видалення аеродинамічних легких домішок, 4; пневматичний сортувальний стіл призначений для поділу насіння, що мають однакові розміри частинок, але різну питому вагу, 6; напівавтоматичний дозатор для відважування необхідної порції насіння від 5 до 50 кг, 8; шнековий протруювач (ПС-10), 9.

Всі реагенти для обробки насіння, які традиційно використовуються на даному підприємстві потрапляють в протруювач: Кінто Дуо (2,5 л/т), Роял Фло (1 л/т), Вайбранс (0,1 л/т), Круїзер (0,5 л/т), Планта Фол (0,15 кг/т), вода 5,75 л/т. Серед зазначених препаратів Планта Фол є добривом NPK 20:20:20, ефективність якого, як вказує виробник, значно посилюється, якщо використовувати спільно зі стимуляторами росту рослин. **Саме тому, ми пропонуємо його використання сумісно зі бактеріальним препаратом Граундфікс.**

Але, на теперішній час, набули поширення стаціонарні протруювачі періодичної дії типу AL-50 (Польща). Він відрізняється тим, що розрахована доза препарату подається в розпиленому стані в бункер під час перемішування насіння в ньому спіральним змішувачем. Через певний час, оброблене насіння, через заслінку спрямовують у вивантажувальний шнек (Рис. 3.11).

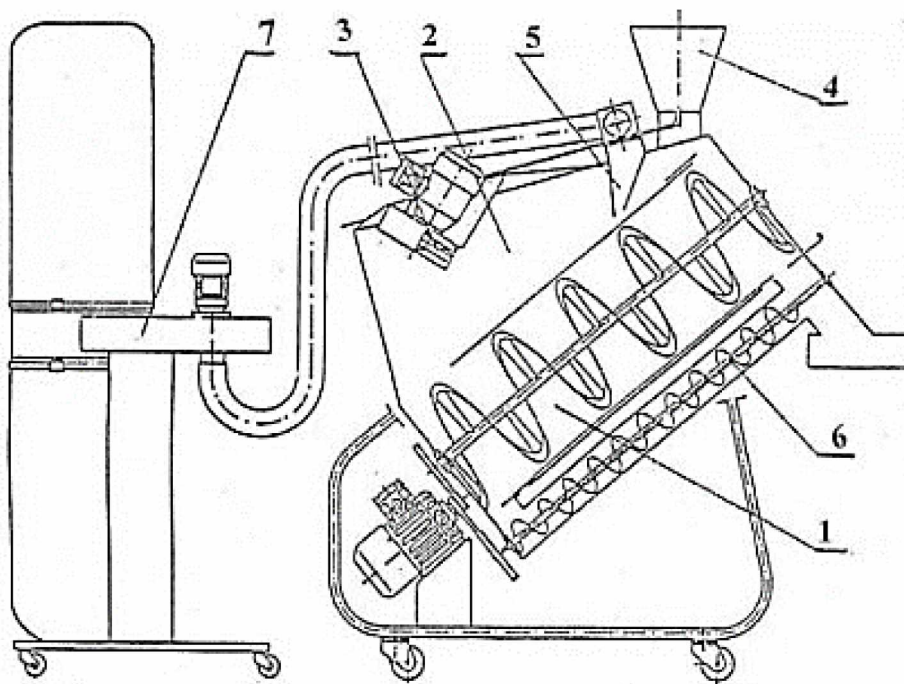


Рис. 3.11. Схема протруювача AL-50

1 – камера зрошування, 2 – камера протруювання, 3 – ротатійний розтилювач, 4 – емність для протравлюючої рідини, 5 – заборник пилу, 6 – шнековий транспортер, 7 – аспіраційна система

Технологія обробки насіння бактеріальним препаратом Граундфікс у протруювачі AL-50:

При обранні технології обробки насіння пшениці біопрепаратом Граундфікс для промислового виробництва нами враховано всі ключові аспекти. Ця технологія включає підготовку насіння, розрахунок необхідної кількості біопрепарату, процес обробки насіння у протруювачі та зберігання і транспортування обробленого насіння:

Процес обробки насіння складається зі стадій:

- *Завантаження насіння в камеру зрошування (1):* Насіння надходить до камери зрошування, де його поверхня зволожується для кращого прилипання протруюючої рідини;

- *Переміщення насіння до камери протруювання (2):* Насіння переміщується з камери зрошування до камери протруювання, де продовжується процес очищення насіння через заборник пилу (5) аспіраційної

системи (7) від дрібного сміття і пилу, що забезпечує якісне протравлення насіння;

– *Обробка насіння протруювачами та стимулятором росту Граундфікс*: Суміш для обробки насіння, включаючи стимулятор росту, міститься в ємності 4 і автоматично потрапляє в ротаційний розпилювач (3) і потім в камеру протравлення (2), де і відбувається процес обробки насіння за допомогою ротаційного розпилювача, який рівномірно розпилує всі внесені препарати (Кінто Дуо, 2,5 л/т; Роял Фло, 1 л/т; Вайбранс, 0,1 л/т; Круїзер, 0,5 л/т; Планта Фол, 0,15 кг/т; вода, 5,75 л/т, у тому числі бактеріальний препарат Граундфікс, 15 л/т). Ротаційний рух забезпечує рівномірне покриття кожної насінини;

– *Видалення випарів і надлишкової вологи (7)*: Аспіраційна система витягує випари та надлишкову вологу з камери протруювання, створюючи оптимальні умови для процесу;

– *Транспортування обробленого насіння (7)*: Оброблене насіння транспортується за допомогою шнекового транспортера (6) до виходу з протруювача і через вивантажувальний отвір потрапляє до закріпленого стандартного мішка.

– *Зберігання обробленого насіння*: для зменшення вологості насіння до рівня, безпечного для зберігання (~ 12-14%) використовують сушарки. Зберігають оброблене насіння в сухих, прохолодних умовах з хорошою вентиляцією у герметичних контейнерах або мішках для захисту від вологи та шкідників. Кожну партію насіння маркують із вказівкою дати обробки, типу біопрепарату і дози. Транспортування обробленого насіння здійснюється у відповідних умовах, щоб уникнути пошкодження або впливу зовнішніх факторів (волога, високі температури).

У цілому весь процес можна представити схемою (Рис. 3.12):



Рис. 3.12. Схема обробки насіння пшениці біопрепаратом Граундфікс

Технологія обробки посівів пшениці озимої розчином саліцилової кислоти

Обробку посівів пшениці розчином саліцилової кислоти у концентрації 10^{-7} моль/л необхідно проводити у фазу розвитку рослин ВВСН 11 з появою першого листка (перший листок розгорнутий).

Для оприскування проростків пшениці в польових умовах ми пропонуємо обприскувач польовий навісний ОН-400 (Рис. 2.3), який з'єднується з будь-яким трактором.

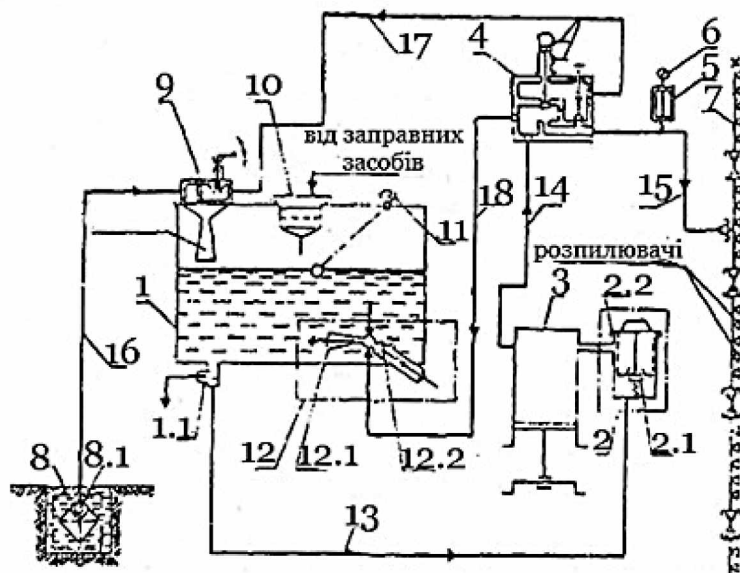


Рис. 3.13. Схема обприскувача ОН-400

1 – бак; 1.1 – відстійник; 2 – фільтр всмоктувальний; 2.1 – клапан; 2.2 – кришка фільтра; 3 – насос; 4 – пульт керування; 5 – розподільно-демпферний пристрій; 6 – манометр; 7 – штанга; 8 – головка всмоктувального рукава; 8.1 – клапан; 9 – перемикач; 10 – фільтр заливний; 11 – рівнемір; 12 – гідромішалка із запобіжним клапаном; 12.1 – гідромішалка; 12.2 – запобіжний клапан; 13, 14, 15, 16, 17, 18 – з'єднувальні магістралі

Принцип роботи обприскувача:

1. Від вала відбору потужності трактора приводиться в дію трипоршневий насос продуктивністю 85 л/хв. З бака через фільтр (2) насос (3) подає розчин саліцилової кислоти по рукаву (14) до пульта керування (4). На цій ділянці, тобто у всмоктувальній магістралі, тиск незначний.

2. На пульті управління тиск регулюється редуційним клапаном до 2 МПа і по рукаву (15) саліцилова кислота під тиском подається до розпилювачів, встановлених на штангах (7).

3. У нагнітальній магістралі між пультом управління і робочими органами розміщений розділювально-демпферний пристрій (5) з манометром (6). Частина саліцилової кислоти з пульта управління подається по рукаву (18) до запобіжного клапана (12.2), розташованого у фланці. На цьому ж фланці встановлена гідравлічна мішалка (12.1). Надлишок саліцилової кислоти з пульта управління по рукаву (17) надходить назад у бак.

4. Заправляється обприскувач через горловину бака з фільтром (10). Під час заправки закривається доступ рідини до розпилювачів за допомогою перекидного пристрою на пульті керування (4). Під час перекриття розпилювачів, частина протруювачів разом з розчином саліцилової кислоти (10^{-7} моль/л) надходить каналом у гідромішалку (12.1), запобіжний клапан (12,2). Інший потік суміші для оприскування прямує каналом до перемикача (9), де створюється розрядження, і рідина з резервуару надходить через рукав (16) у бак обприскувача.

5. Приймач рукава має клапан (8.1) зворотного витоку рідини. Клапан (2.1) всмоктувального клапана (2) призначений для перекриття рідини під час очищення фільтра.

Даний пристрій є зручним у використанні і може бути приєднаний до будь-якого транспортного засобу.

Таким чином, запропонований комплексний технологічний підхід до підвищення стійкості пшениці озимої при вирощуванні в умовах недостатнього зволоження та періодичних посух, який включає обробку насіння перед посівом бактеріальним стимулятором росту Граундфікс за допомогою протруювача AL-50 з подальшим оприскуванням проростків на стадії появи першого листка розчином саліцилової кислоти концентрації 10^{-7} моль/л обприскувачем ОН-400.

ВИСНОВКИ

На основі проведеного дослідження було доведено вплив саліцилової кислоти, як стрес-протекторного фітогормона, та бактеріального препарату Граундфікс на стійкість проростків пшениці озимої при вирощуванні в умовах посухи на основі моделі, створеної поліетиленгліколем 6000, для використання в технологіях вирощування культури. Отримані результати дозволили зробити наступні висновки:

1. Експериментально доведено фітостимулюючий ефект саліцилової кислоти у концентрації 10^{-9} моль/л на проростки пшениці сорту Антонівка, яку можна вважати оптимальною. Показники інгібування біомаси пагонів і коренів проростків за даної концентрації кислоти становлять -19,58 та -29,35%, відповідно. Встановлено, що концентрації розчинів саліцилової кислоти 10^{-6} та 10^{-5} моль/л є замалими для протидії осмотичному стресу, створеному ПЕГ 6000, тому їхнє використання можна вважати не доцільним.

2. Дослідження стрес-протекторної дії саліцилової кислоти на проростки пшениці за умов модельної посухи довели ефективність концентрацій саліцилової кислоти 10^{-7} та 10^{-8} моль/л, за використання саліцилової кислоти в концентрації 10^{-9} моль/л захисної дії не спостерігалось.

3. Встановлено, що за обробки насіння пшениці бактеріальним препаратом Граундфікс та проростків розчином саліцилової кислоти в умовах посухового стресу спостерігається стимуляція росту пагонів та коренів проростків пшениці, які перевищують контроль на 51,86% та 24,08%, відповідно.

4. Підтвердженням посилення стрес-протекторного ефекту саліцилової кислоти у концентрації 10^{-7} моль/л за обробки насіння пшениці бактеріальним препаратом Граундфікс є збільшення вмісту проліну у пагонах у 1,2 рази та коренях проростків пшениці у 1,3 рази порівняно з контролем.

5. Запропонований комплексний технологічний підхід до підвищення стійкості пшениці озимої при вирощуванні в умовах

недостатнього зволоження та періодичних посух, який включає обробку насіння перед посівом бактеріальним стимулятором росту Граундфікс за допомогою протруювача AL-50 з подальшим оприскуванням проростків на стадії появи першого листка розчином саліцилової кислоти концентрації 10^{-7} моль/л обприскувачем ОН-400. Таке поєднання зазначених препаратів забезпечить синергетичний ефект, підсилюючи захисні механізми рослин пшениці і покращуючи їх живлення, ріст та розвиток.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Brodersen C.R.; Roddy A.B.; Wason J.W.; McElrone A.J. Functional status of xylem through time. *Annu. Rev. Plant Biol.* 2019. № 70. P. 407–433.
2. Abbasi T.; Abbasi S.A. Biomass energy and the environmental impacts associated with its production and utilization. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 2010. № 14. P. 919–937.
3. Passioura J.B.; Angus J.F. Improving productivity of crops in water-limited environments. In *Advances in Agronomy*. 2010. № 106. P. 37–75.
4. Devinentis A.J. Scales of Sustainable Agricultural Water Management. Ph.D. Thesis, University of California, Davis. 2020.
5. Daryanto S.; Wang L.; Jacinthe P.A. Global synthesis of drought effects on cereal, legume, tuber and root crops production: A review. *Agric. Water Manag.* 2020. № 179. P. 18–33.
6. Salehi-Lisar S.Y.; Bakhshayeshan-Agdam H. Agronomic Crop Responses and Tolerance to Drought Stress. In *Agronomic Crops*. 2020. P. 63–91.
7. Ortiz N.; Armada E.; Duque E.; Roldán A.; Azcón R. Contribution of arbuscular mycorrhizal fungi and/or bacteria to enhancing plant drought tolerance under natural soil conditions: Effectiveness of autochthonous or allochthonous strains. *J. Plant Physiol.* 2015. № 174. P. 87–96
8. Ullah A.; Sun H.; Yang X.; Zhang X. Drought coping strategies in cotton: Increased crop per drop. *Plant Biotechnol. J.* 2017. №15. P. 271–284.
9. Gray S.B.; Brady S.M. Plant developmental responses to climate Chang. *Dev. Biol.* 2016. № 419. P. 64–77.
10. Osakabe Y.; Osakabe K.; Shinozaki K.; Tran L.S.P. Response of plants to water stress. *Front. Plant Sci.* 2014. № 5. P. 86.
11. Bielach A.; Hrtyan M.; Tognetti V.B. Plants under stress: Involvement of auxin and cytokinin. *Int. J. Mol. Sci.* 2017. № 18. P. 14-27.
12. Yadav S.; Modi P.; Dave A.; Vijapura A.; Patel D.; Patel M. Effect of Abiotic Stress on Crops. In *Sustainable Crop Production*. 2020.

13. Shahid M.J.; Ali S.; Shabir G.; Siddique M.; Rizwan M.; Seleiman M.F.; Afzal M. Comparing the performance of four macrophytes in bacterial assisted floating treatment wetlands for the removal of trace metals (Fe, Mn, Ni, Pb, and Cr) from polluted river water. *Chemosphere*. 2020. 243. P. 125-128.
14. Ahluwalia O., Singh P.C., Bhatia R. A review on drought stress in plants: Implications, mitigation and the role of plant growth promoting rhizobacteria. *Resources, Environment and Sustainability*. 2021. №5. P. 10-32.
15. He J.; Du Y.L.; Wang T.; Turner N.C.; Yang R.P.; Jin Y.; Xi, Y.; Zhang C.; Cui T.; Fang X.W.; et al. Conserved Water Use Improves the Yield Performance of Soybean (*Glycine Max (L.) Merr.*) under Drought. *Agric. Water Manag.* 2017. №179. P. 236–245.
16. Wang X, Li X, Zhao W, Hou X and Dong S. Current views of drought research: experimental methods, adaptation mechanisms and regulatory strategies. *Front. Plant Sci.* 2024. №15. P. 137-145
17. Zhang, Y. M., Hu, H. Y., Bai, X. M., Cory, M., Javier, G. F., Iván, P. O. Effects of soil water restriction on root growth and root morphology of perennial ryegrass and pasture brome. *Chin. J. Eco-Agriculture*. 2022. №30. P. 1784–1794.
18. Seminario, A., Song, L., Zulet, A., Nguyen, H. T., González, E. M., Larrainzar, E. Drought stress causes a reduction in the biosynthesis of ascorbic acid in soybean plants. *Front. Plant Sci.* 2017. №8. P. 52-61.
19. Zhou, Q., Li, Y., Wang, X., Yan, C., Ma, C., Liu, J., et al. Effects of different drought degrees on physiological characteristics and endogenous hormones of soybean. *Plants (Basel Switzerland)*. 2022. №11. P. 22-32.
20. Liu, M.-J., Sui, X.-Q., An, S.-Z. The effect of dehydration on cynodon dactylon L. Leaf photosynthetic apparatus. *Acta Agrestia Sin.* 2018. № 26. P. 441–446.
21. Guan, Z., Wang, L., Duan, L., Zhou, Z., Zhang, F., Wang, Y. Effects of PEG simulated drought stress on seed germination of *Abutilon theophrasti medicus*. *Seed*. 2022. №41. P. 66–70

22. Fahad S., Bajwa A. A., Nazir U., Anjum S. A., Farooq A., Zohaib A. Crop production under drought and heat stress: Plant responses and Management Options. *Front. Plant Sci.* 2017. №10. P. 33-39
23. Ali M., Afzal S., Parveen A., Kamran M., Javed M. R., Abbasi G. H. Silicon mediated improvement in the growth and ion homeostasis by decreasing Na⁺ uptake in maize (*Zea mays* L.) cultivars exposed to salinity stress. *Plant Physiol. Biochem.* 2021. №158. P. 208–218.
24. Chhaya, Yadav B., Jogawat A., et al. An overview of recent advancement in phytohormones-mediated stress management and drought tolerance in crop plants, *Plant Gene.* 2021. № 25. P. 10-14.
25. Javid, M.G.; Sorooshzadeh, A.; Moradi, F.; Modarres Sanavy, S.A.M.; Allahdadi, I. The role of phytohormones in alleviating salt stress in crop plants. *Aust. J. Crop Sci.* 2011. №5. P. 726.
26. Nawaz, F.; Naeem, M.; Zulfiqar, B.; Akram, A.; Ashraf, M.Y.; Raheel, M.; Shabbir, R.N.; Hussain, R.A.; Anwar, I.; Aurangzaib, M. Understanding brassinosteroid-regulated mechanisms to improve stress tolerance in plants: A critical review. *Environ. Sci. Poll. Res.* 2017. №24. P. 15959–15975.
27. Ahmad, I.; Kamran, M.; Ali, S.; Cai, T.; Bilegjargal, B.; Liu, T.; Han, Q. Seed filling in maize and hormones crosstalk regulated by exogenous application of uniconazole in semiarid regions. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 2018. №25. P. 33225–33239.
28. Fahad, S.; Nie, L.; Chen, Y.; Wu, C.; Xiong, D.; Saud, S.; Hongyan, L.; Cui, K.; Huang, J. Crop plant hormones and environmental stress. In *Sustainable Agriculture Reviews*. 2015. P. 371–400.
29. Seleiman MF, Al-Suhaibani N, Ali N, Akmal M, Alotaibi M, Refay Y, Dindaroglu T, Abdul-Wajid HH, Battaglia ML. Drought Stress Impacts on Plants and Different Approaches to Alleviate Its Adverse Effects. *Plants (Basel)*. 2021. №10(2). P. 259.

30. Muhammad Aslam M., Waseem M., Jakada B. H., Okal E. J., Lei Z., Saqib H. S. A. Mechanisms of abscisic acid-mediated drought stress responses in plants. *Int. J. Mol. Sci.* 2022. №23. P. 10-14.
31. Iqbal S, Wang X, Mubeen I, Kamran M, Kanwal I, Díaz GA, Abbas A, Parveen A, Atiq MN, Alshaya H, Zin El-Abedin TK, Fahad S. Phytohormones Trigger Drought Tolerance in Crop Plants: Outlook and Future Perspectives. *Front Plant Sci.* 2022. №3. P. 16-19.
32. Yang X., Lu M., Wang Y., Wang Y., Liu Z., Chen S. Response mechanism of plants to drought stress. *Horticulturae* 2021. №7. P. 50.
33. Babenko L. M. , Kosakivska I.V., Skaterna T. D. Jasmonic acid: Role in biotechnology and regulation of plants biochemical processes. *Biotechnologia Acta.* 2015. №8. P. 53.
34. de Ollas C., Hernando B., Arbona V., Gómez-Cadenas A. Jasmonic acid transient accumulation is needed for abscisic acid increase in citrus roots under drought stress conditions. *Physiologia plantarum* 2013. №147. P. 296–306.
35. Niemann M. C., Weber H., Hluska T., Leonte G., Anderson S. M., Novák O., et al.. The cytokinin oxidase/dehydrogenase CKX1 is a membrane-bound protein requiring homooligomerization in the endoplasmic reticulum for its cellular activity. *Plant Physiol.* 2018. №176. P. 2024–2039.
36. M - Bulegon L. G., Guimarães V. F., Battistus A. G., Inagaki A. M., Costa N. V. D. Mitigation of drought stress effects on soybean gas exchanges induced by *Azospirillum brasilense* and plant regulators. *Pesquisa Agropecuária Trop.* 2019. №4. P. 9-13.
37. Fadiji A. E., Santoyo G., Yadav A. N., Babalola O. O. Efforts towards overcoming drought stress in crops: Revisiting the mechanisms employed by plant growth-promoting bacteria. *Front. Microbiol.* 2022. №13.
38. O - Li G., Wang Q., Lu L., Wang S., Chen X., Khan M. H. U., et al. Identification of the soybean small auxin upregulated RNA (SAUR) gene family and specific haplotype for drought tolerance. *Biologia* 2022. №77. P. 1197–1217.

39. Arnao MB, Hernández-Ruiz J. Melatonin in Plants: More Studies are Necessary. *Plant Signal Behav.* 2007. №2. P. 381.
40. C - Zixin Zhang, Yang Zhang, Melatonin in plants: what we know and what we don't. *Food Quality and Safety.* 2021. №5. P. 20-21
41. Ashraf, M.; Akram, N.A.; Al-Qurainy, F.; Foolad, M.R. Drought tolerance: Roles of organic osmolytes, growth regulators, and mineral nutrients. In *Advances in Agronomy*; Academic Press: Cambridge, MA, USA, 2011. №111. P. 249–296.
42. Nazar R., Umar S., Khan N.A., Sareer O. Salicylic acid supplementation improves photosynthesis and growth in mustard through changes in proline accumulation and ethylene formation under drought stress. *South Afr. J. Bot.* 2015. №98. P. 84–94.
43. Zafar, Z.; Rasheed, F.; Mushtaq, N.; Khan, M.U.; Mohsin, M.; Irshad, M.A.; Summer, M.; Raza, Z.; Gailing, O. Exogenous Application of Salicylic Acid Improves Physiological and Biochemical Attributes of *Morus alba* Saplings under Soil Water Deficit. *Forests* 2023. № 14. P. 236.
44. Zhang Y, Xu S, Ding P, Wang D, Cheng YT, He J, Gao M, Xu F, Li Y, Zhu Z, Li X, Zhang Y. Control of salicylic acid synthesis and systemic acquired resistance by two members of a plant-specific family of transcription factors. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2010. №19. P. 107.
45. Li A, Sun X and Liu L. Action of Salicylic Acid on Plant Growth. *Front. Plant Sci.* 2022. № 13. P. 87.
46. Najafabadi M.Y., Ehsanzadeh P. Photosynthetic and antioxidative upregulation in drought-stressed sesame (*Sesamum indicum* L.) subjected to foliar-applied salicylic acid. *Photosynthetica.* 2017. №55. P. 611–622
47. Kang G., Li G., Xu W., Peng X., Han Q., Zhu Y., Guo T. Proteomics reveals the effects of salicylic acid on growth and tolerance to subsequent drought stress in wheat. *J. Proteome Res.* 2012. №11. P. 6066–6079.
48. Miura, K.; Tada, Y. Regulation of water, salinity, and cold stress responses by salicylic acid. *Front. Plant Sci.* 2014. №5. P. 4.

49. Sedaghat, M.; Tahmasebi-Sarvestani, Z.; Emam, Y.; Mokhtassi-Bidgoli, A. Physiological and antioxidant responses of winter wheat cultivars to strigolactone and salicylic acid in drought. *Plant Physiol. Biochem.* 2017. № 119. P. 59–69.
50. Campbell, D.I.; Laybourn, C.E.; Ian, J. Blair Measuring Peat Moisture Content Using the Dual-Probe Heat Pulse Technique. *Aust. J. Soil Sci.* 2002. №40. P. 177–190.
51. Gebre, M.G.; Earl, H.J. Effects of Growth Medium and Water Stress on Soybean [*Glycine Max (L.) Merr.*] Growth, Soil Water Extraction and Rooting Profiles by Depth in 1-m Rooting Columns. *Front. Plant Sci.* 2020. №11. P. 487.
52. Etesami H., Jeong B.R., Glick B.R. Potential use of *Bacillus* spp. as an effective biostimulant against abiotic stresses in crops – A review. *Current Research in Biotechnology.* 2023. №5.
53. Tiwari S., Prasad V., Lata C. Chapter 3 - *Bacillus*: Plant Growth Promoting Bacteria for Sustainable Agriculture and Environment. *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering*, 2019. P. 43-55.
54. Langendries S, Goormachtig S. *Paenibacillus polymyxa*, a Jack of all trades. *Environ Microbiol.* 2021. № 23(10). P. 5659-5669
55. Witkowicz, R.; Skrzypek, E.; Gleń-Karolczyk, K.; Krupa, M.; Biel, W.; Chłopicka, J.; Galanty, A. Effects of application of plant growth promoters, biological control agents and microbial soil additives on photosynthetic efficiency, canopy vegetation indices and yield of common buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench). *Biol. Agric. Hort.* 2021. № 37. P. 234–251.
56. Ma, Y.; Zhang, S.; Hu, J.; Chen, S.; Wang, J. Effects of molybdenum fertilizer combined with *Bacillus subtilis* strain on the growth of Chinese cabbage and the content of nitrate in soil. *Horticulturae.* 2022. № 8. P. 970.
57. Lastochkina, O.V. Adaptation and tolerance of wheat plants to drought mediated by natural growth regulators *Bacillus* spp.: Mechanisms and practical importance (Review). *Agric. Biol.* 2021. № 56. P. 843–867.

58. Signorelli, S., Coitin, O., E.L., Borsani, O., & Monza, J. Molecular mechanisms for the reaction between OH radicals and proline: insights on the role as a reactive oxygen species scavenger in plant stress. *The Journal of Physical Chemistry*. 2014. №118. P. 37-47